



SZENT ISTVÁN EGYETEM

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁSKEZELÉS HATÁSA ÁLLATI
EREDETŰ TERMÉKEK FEHÉRJESZERKEZETI ÉS FIZIKO-KÉMIAI
TULAJDONSÁGAI**

Csehi Barbara

Budapest

2019

Szent István Egyetem - Élelmiszertudományi Doktori Iskola

A doktori iskola megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

Tudományága: Élelmiszertudományok

Vezetője: Simonné Dr. Sarkadi Livia,
Egyetemi tanár, DSc
Szent István Egyetem

Témavezetők: Pásztorné Dr. Huszár Klára
Egyetemi docens, PhD
Hűtő és Állatitermék Technológiai Tanszék
Élelmiszertudományi Kar
Szent István Egyetem

Dr. Friedrich László Ferenc
Egyetemi docens, PhD
Hűtő és Állatitermék Technológiai Tanszék
Élelmiszertudományi Kar
Szent István Egyetem

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezetők jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK	5
1. BEVEZETÉS	6
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
2.1 ÁLLATI EREDETŰ TERMÉKEK AZ ÉLELMISZERIPARBAN	9
2.1.1 Állati eredetű termékek jelentősége és eloszlásuk.....	9
2.1.2 Táplálkozás-élettani szerepük.....	12
2.2 ÁLLATI EREDETŰ TERMÉKEK ÖSSZETÉTELE.....	15
2.2.1 A hús összetétele és fehérjei.....	15
2.2.2 Vér, mint élelmiszeripari melléktermék, fehérjei.....	20
2.2.3 A tojás összetétele, fehérjei.....	22
2.2.4 A tej összetétele, fehérjei.....	25
2.3 NAGY HIDROSZTATIKAI NYOMÁSKEZELÉS	27
2.3.1 A technológia ismertetése, berendezései	27
2.3.2 Hagyományos tartósító eljárások, hőkezelés vs. HHP kezelés.....	30
2.4 NAGY HIDROSZTATIKAI NYOMÁSKEZELÉS HATÁSA A FEHÉRJÉKRE.....	31
2.4.1 A technológia hatása a fehérjékre és azok funkcionalitására	31
2.4.2 A hús és húsfehérjékre	34
2.4.3 Vér és vérfehérjékre.....	34
2.4.4 A tojásra és fehérjéire.....	35
2.4.5 A kezelés hatása a tejre.....	35
2.5 ELEKTROFORETIKUS ÉS TERMODINAMIKAI TECHNIKÁK.....	36
2.5.2 Elektroforetikus technikák az élelmiszeriparban.....	36
2.5.2 Izoelektromos fókuszálás	37
2.5.3 SDS-poliakrilamid gélelektroforézis.....	37
2.5.4 Natív-poliakrilamid gélelektroforézis	38
2.5.5 Kapillár elektroforézis	39
2.5.6 Differenciális pásztázó kalorimertia	39
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	40
3.1 ANYAGOK.....	40
3.2 NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁSKEZELÉS	40
3.3 FIZIKO-KÉMIAI MÉRÉSEK.....	42
3.3.1 Színmérés.....	42
3.3.2 pH érték meghatározása	44
3.3.3 Látszólagos viszkozitás mérése.....	44

3.4 FEHÉRJE VIZSGÁLATI MÓDSZEREK	44
3.4.1 Mintaelőkészítés és a fehérjék hígítása.....	44
3.4.2 Miofibrilláris és szarkoplazma fehérjék izolálása.....	45
3.4.3 Izoelektromos fókuszálás (IEF)	45
3.4.4 SDS-poliakrilamid gélelektroforézis (SDS-PAGE).....	47
3.4.5 Natív-poliakrilamid gélelektroforézis (NATIV-PAGE).....	48
3.4.6 Összpigment tartalom és mioglobin formák meghatározása.....	49
3.4.7 Imidazol dipeptidek meghatározása (Kapillár elektroforézis)	51
3.4.8 Termodinamikai vizsgálatok (DSC).....	51
3.5 STATISZTIKAI MÓDSZEREK.....	52
4. EREDMÉNYEK.....	53
4.1 MARHAHÁTSZÍN HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI	53
4.1.1 Marhahátszín színmérés eredményei.....	53
4.1.2 Marhahátszín pH mérés eredményei	55
4.1.3 Marhahátszín izoelektromos fókuszálás eredményei (IEF).....	56
4.1.4 Marhahátszín SDS-PAGE eredményei	57
4.1.5 Marhahátszín NATIV-PAGE eredményei.....	59
4.1.6 Marhahátszín összpigment tartalmának és mioglobin formáinak eredményei.....	60
4.1.7 Imidazol dipeptidek meghatározása marhahátszín esetében.....	62
4.1.8 Marhahátszín termodinamikai méréseinek eredményei (DSC).....	64
4.2 MARHAVÉR HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI.....	66
4.2.1 Marhavér színmérés eredményei	66
4.2.2 Marhavér pH mérés eredményei	68
4.2.3 Marhavér látszólagos viszkozitás eredményei	69
4.2.4 Marhavér izoelektromos fókuszálás eredményei (IEF)	70
4.2.5 Marhavér SDS-PAGE eredményei	71
4.2.6 Marhavér NATIV-PAGE eredményei	72
4.2.7 Marhavér termodinamikai méréseinek eredményei (DSC)	72
4.3 SERTÉSKARAJ HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI	74
4.3.1 Sertéskaraj színmérés eredményei.....	74
4.3.2 Sertéskaraj pH mérés eredményei	76
4.3.3 Sertéskaraj izoelektromos fókuszálás eredményei (IEF).....	76
4.3.4 Sertéskaraj SDS-PAGE eredményei	77
4.3.5 Sertéskaraj NATIV-PAGE eredményei.....	78
4.3.6 Sertéskaraj összpigment tartalma.....	79

4.3.7 Sertéskaraj termodinamikai méréseinek eredményei (DSC).....	80
4.4 CSIRKEMELL HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI	82
4.4.1 Csirkemell színmérés eredményei.....	82
4.4.2 Csirkemell pH mérés eredményei	84
4.4.3 Csirkemell izoelektromos fókuszálás eredményei (IEF).....	84
4.4.4 Csirkemell SDS-PAGE eredményei	85
4.4.5 Csirkemell NATÍV-PAGE eredményei.....	86
4.4.6 Csirkemell összpigment tartalma.....	87
4.4.7 Csirkemell termodinamikai méréseinek eredményei (DSC).....	88
4.5 TOJÁSLÉ (TELJES ÉS FEHÉRJELÉ) HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI	89
4.5.1 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) színmérés eredményei.....	89
4.5.2 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) pH mérés eredményei	94
4.5.3 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) látszólagos viszkozitás eredményei.....	95
4.5.4 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) SDS-PAGE eredményei	97
4.5.5 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) NATIV-PAGE eredményei.....	98
4.5.6 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) termodinamikai méréseinek eredményei (DSC).....	100
4.6 TEJ HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI.....	102
4.6.1 A tej színmérésének eredményei	102
4.6.2 A tej pH mérés eredményei	104
4.6.3 A tej látszólagos viszkozitás eredményei	105
4.6.4 A tej SDS-PAGE eredményei	106
4.6.5 A tej NATIV-PAGE eredményei.....	107
4.7 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	109
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	111
6. ÖSSZEFOGLALÁS	113
SUMMARY	117
MELLÉKLETEK (M1) IRODALOMJEGYZÉK	121
MELLÉKLETEK (M2)	134
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	136

RÖVIDÍTÉSEK

ABP	<i>animal based protein</i>	állati eredetű fehérje
ΔE^*	<i>colour difference</i>	színinger-különbség
a^*	<i>green–red colour component</i>	piros-zöld színezet
ACC	<i>American College of Cardiology</i>	Amerikai Kardiológus Kollégium
AFM	<i>atomic force microscopy</i>	atomi erőmikroszkóp
AHA	<i>American Heart Association</i>	Amerikai Szív Szövetség
ANOVA	<i>One-way ANOVA</i>	varianciaanalízis
APS	<i>ammonium persulfate</i>	ammónium-perszulfát
b^*	<i>blue–yellow colour component</i>	sárga-kék színezet
BSA	<i>bovine serum albumin</i>	szarvasmarha szérum albumin
CDH	<i>coronary heart disease</i>	szívkoszorúér betegség
CE	<i>capillary electrophoresis</i>	kapillár elektroforézis
DMb	<i>deoxymyoglobin</i>	deoximioglobin
DSC	<i>differential scanning calorimetry</i>	differenciális pásztázó kaloriméter
HDL	<i>high density lipoprotein</i>	nagy sűrűségű lipoprotein (koleszterin)
HHP	<i>high hydrostatic pressure</i>	nagy hidrosztatikus nyomáskezelés
L^*	<i>lightness value</i>	világossági tényező
LDL	<i>low density lipoprotein</i>	kis sűrűségű lipoprotein (koleszterin)
LSD	<i>least significant difference</i>	legkisebb szignifikáns differencia
MMb	<i>metmyoglobin</i>	metmioglobin
MHC	<i>myosin heavy chain</i>	miozin nehéz lánc
MLC	<i>myosin light chain</i>	miozin könnyű lánc
OMb	<i>oxymyoglobin</i>	oximioglobin
PAGE	<i>polyacrylamide gel electrophoresis</i>	poliakrilamid gélelektroforézis
PDCAAS	<i>Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores</i>	fehérje emészthetőséggel korrigált aminosav érték
PEF	<i>pulsed electric field</i>	pulzáló elektromos térerő
SDS	<i>sodium dodecyl sulfate</i>	nátrium-dodecil-szulfát
TCT	<i>thrombin clotting time</i>	trombin alvadási idő
TEM	<i>transmission electron microscopy</i>	transzmissziós elektronmikroszkópia
TEMED	<i>N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine</i>	N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin

1. BEVEZETÉS

Az élelmiszer-feldolgozás folyamata során számos fizikai behatásnak teszik ki az élelmiszereket annak érdekében, hogy a nyers növényi és állati eredetű termékeket a fogyasztóknak szánt terméké alakítsák át. A demográfiai változások kihívásaira reagálva az élelmiszeripar számos új technológiát és módszert dolgoz ki és használ, annak érdekében, hogy csökkentse vagy megakadályozza az élelmiszerek romlását, valamint színekben, állományban és ízekben gazdag élelmiszereket kínáljon a fogyasztók számára. Az élelmiszerek feldolgozása nélkül ezen kihívások nem kielégíthetők, mivel az élelmiszerek - azok romlása nélkül - nagy távolságokra nem szállíthatók (NORTON, SUN 2008).

Az utóbbi évtizedekben élelmiszeripar területén a fogyasztói igények is jelentősen átalakultak - a fogyasztók szokásai, életmódja folyamatosan fejlődik, változik - egyre tudatosabbak, és egyre inkább úgy vélik, hogy az élelmiszerek közvetlenül hozzájárulnak az egészségükhöz (SIRÓ et al. 2008). Ebből adódóan a minimálisan feldolgozott élelmiszerek iránti kereslet is jelentősen növekszik (BANSAL et al. 2015), a fogyasztók az élelmiszerek minőségét táplálkozási tulajdonságaik és érzékszervi jellemzőik alapján ítélik meg (NORTON, SUN 2008). Kíméletes, nem-termikus feldolgozási technológiának számít a pulzáló elektromos térerő (PEF), az ultrahanggal történő kezelés, oszcillációs elektromágneses térerő, sugárzásos tartósítás, mikrohullám alkalmazása és a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés (HHP) is. A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés olyan tartósító eljárás, mely számos baktérium és enzim inaktiválására képes, miközben a termék tápértékét, érzékszervi- és funkcionális tulajdonságait csak kis mértékben befolyásolja. Ez az új technológia hatalmas potenciállal rendelkezik az élelmiszeriparban az élelmiszerbiztonság javításában, a minőségmegőrzési idő növelésében és az élelmiszerromlás gátlásában, miközben az élelmiszerek megőrzik a friss, tartósítószermentes, minimálisan feldolgozott élelmiszerek jellemzőit (CONSIDINE et al. 2008).

A kíméletesen feldolgozott termék kutatásában számos területre kell kitérni, többek között nem csak az élelmiszerbiztonságra és felügyeletre, hanem az élelmiszerromlást előidéző folyamatokra, a fiziko-kémiai változásokra és tápérték tulajdonságokra is, azonban ezen a területen a fejlesztések még mindig nagy kihívást jelentenek (DÁVILA-AVIÑA et al. 2015).

A HHP kezelés hatására a fehérjék szerkezetében olyan változások mehetnek végbe, melyek kihathatnak a termék funkcionalitására is. A fehérjék a nyomáskezelésre és annak mértékére eltérően reagálhatnak, és a változásokat számos tényező befolyásolhatja. A technológia hatására bekövetkező változások sok esetben még nem kellően tisztázottak, azonban a technológiai folyamatok fejlesztéséhez elengedhetetlenek.

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés technológiájával diplomadolgozatom során ismerkedtem meg. Vizsgálataim és kutatásaim során döntöttem el, hogy ezzel az ígéretes technológiával szeretnék a továbbiakban is dolgozni, és folytatva eddigi kutatásaimat az állati eredetű termékekkel további méréseket végezni.

Célkitűzések:

Irodalmi ismeretek alapján az egyes állati eredetű termékek eltérő érzékenységgel reagálnak a nagy hidrosztatikus nyomáskezelésre. Mivel, az állati eredetű termékek esetében a fehérjék szerepe meghatározó, mind az érzékszervi, mind pedig a techno-funkciós tulajdonságok kialakításában, ezért a fehérjék szerkezetében bekövetkező változásokat, továbbá a termékek fiziko-kémiai tulajdonságaiban bekövetkező változásokat szeretném feltérképezni, annak érdekében, hogy az optimális technológiai paramétereket megválaszthassam, valamint, hogy a kíméletes tartósítás (HHP) háttérét, hatásait jobban megismerhessem.

A bevezetésben ismertetett előzmények alapján kísérleteim és vizsgálataim során az alábbi célokat, részfeladatokat fogalmaztam meg a vizsgált termékek (marhahátszín, sertéskaraj, csirkemell, marhavér, tyúktojás (tojásfehérjelé és teljes tojáslé) és tehéntej) esetében:

1. Húsminták és vér esetében:

- 1.1. Marhahátszín, marhavér, sertéskaraj és csirkemell nagy hidrosztatikus nyomáskezelése és a kezelés hatásának nyomonkövetése a termékek fiziko-kémiai tulajdonságaira, mint például színre, pH-ra és vér esetében a látszólagos viszkozitásra.
- 1.2. Marhahátszín, marhavér, sertéskaraj és csirkemell esetében célul tűztem ki, hogy a HHP kezelés hatására a fehérjékben végbemenő változásokat kövessem nyomon elektroforetikus, spektrofotometriás és termodinamikai technikákkal (IEF, SDS-PAGE, NATÍV-PAGE, CE, DSC).
- 1.3. Marhahátszín, sertéskaraj és csirkemell esetében célom volt az összpigment tartalom meghatározása, valamint marhahátszín esetében a mioglobin formák relatív arányának elemzése.

2. Tyúktojás (fehérjelé és teljes tojáslé) esetében:

- 2.1. Fehérjelé és teljes tojáslé nagy hidrosztatikus nyomáskezelése és a kezelés hatásának nyomonkövetése a termékek fiziko-kémiai tulajdonságaira, mint például színre, pH-ra és látszólagos viszkozitásra.
- 2.2. Tojásfehérjelé és teljes tojáslé esetében célul tűztem ki, hogy a HHP kezelés hatására a fehérjékben végbemenő változásokat vizsgáljam elektroforetikus és termodinamikai technikákkal (SDS-PAGE, NATÍV-PAGE, DSC).

3. Tehéntej esetében:

- 3.1. Tej nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatásának nyomonkövetése a termékek fizikokémiai tulajdonságaira, mint például színre, pH-ra és látszólagos viszkozitásra.
- 3.2. Tej esetében célul tűztem ki, hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására a fehérjékben végbemenő változásokat kövessem nyomon elektroforetikus technikákkal (SDS-PAGE, NATÍV-PAGE).

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

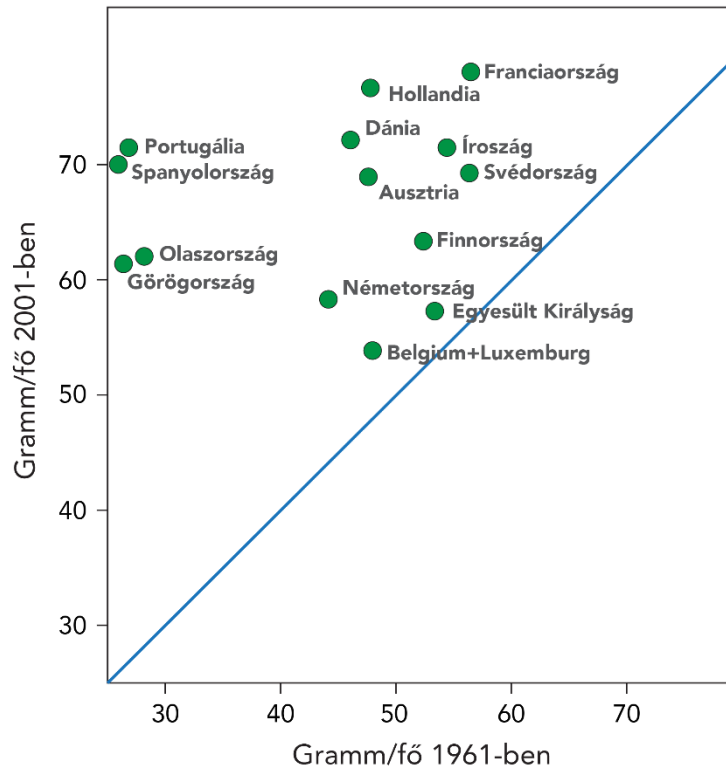
2.1 ÁLLATI EREDETŰ TERMÉKEK AZ ÉLELMISZERIPARBAN

2.1.1 Állati eredetű termékek jelentősége és eloszlásuk

Az állati eredetű termékek (hús, tej, tojás és hal) teljes mennyisége, valamint egy főre jutó fogyasztása is globális mértékben növekszik. Ez a növekedés a jobb életszínvonalat, a fogyasztói keresletet és a hatékony termelést tükrözi (SCANES 2018). Az állati eredetű termékekből származó legfontosabb tápanyag a fehérje, fogyasztásának növekedése világszinten körülbelül 50 évvel ezelőtt kezdődött (SANS, COMBRIS 2015). Az állati eredetű fehérje fogyasztása átlagosan Európában 50 g/nap, Afrikában ez az érték kevesebb, mint 10 g/nap fejenként. A fogyasztási különbségek országonként eltérőek lehetnek, melyet meghatározhat az életszínvonal, a fehérjeforrások hozzáférhetősége, a fogyasztói elvárások és szokások, valamint a vallási elvek (DUBLECZ 2011).

Az utóbbi évtizedekben a húsfogyasztás világszerte emelkedett. 1961-ben az egy főre jutó 23,1 kg/fő/év fogyasztás 2013-ban már elérte a 43,2 kg/fő/év-et. Ugyanez igaz a tejtermékekből származó fehérjékre is (SANS, COMBRIS 2015, RITCHIE, ROSER 2017). Az országok közötti változás iránya és üteme erősen változó tendenciát mutat. Kínában 1961 óta a húsfogyasztás 15-szörösére nőtt, Ausztráliában 2013-ban az egy főre jutó éves átlagos fogyasztás eléri a 116 kg-ot, Magyarországon ez az érték 65 kg (RITCHIE, ROSER 2017). A kereslet növekedésével a fejlődő országokban robbanásszerűen megnövekedtek a monogasztrikus fajok (sertés, baromfi) száma (DELGADO 2003). Az élelmiszerek birodalmában a hús egyedülálló helyet foglal el kiemelkedő társadalmi szerepe végett. Miközben a világ népessége megduplázódott a 20. század második felében, a hús iránti kereslet ötszörösére emelkedett, ami azt eredményezte, hogy a világ gabona termelésének 40%-át az állatállomány takarmányozására kell fordítani (EVANS 1998, AIKING 2011). A húsfehérjék magas biológiai értékkel rendelkeznek, valamint az emberi táplálkozásban is fontos szerepük van (PARUNOVIĆ et al. 2012; GULYÁS et al. 2015). Az állati eredetű fehérjék kínálatának növekedését figyelhetjük meg 1961 és 2001 között az **1. ábrán** az EU 15 tagországában (BOER et al. 2006).

Állati fehérje fogyasztás 1961-ben és 2001-ben



1. ábra: 1961 és 2001 között az EU 15 tagországának állati fehérje fogyasztásának változása (BOER et al. 2006 nyomán).

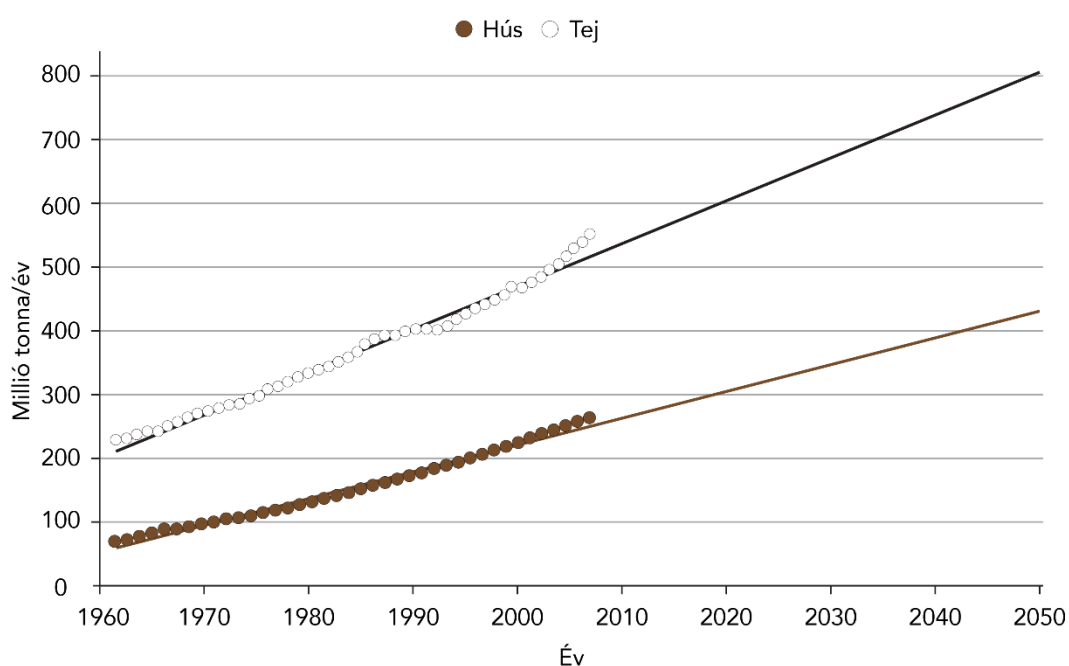
Az előrejelzések szerint a világ népességének növekedésével továbbra is emelkedni fog a hústermelés és a kereslet, annak ellenére, hogy ez jelentős környezeti terheléssel jár együtt. 2050-re 2,3 milliárd emberrel nő meg a világ népessége és 70%-kal több élelmiszerre lesz szükség (BRUINSMA, 2009). A hústermelés emelkedésének egy lehetséges mértékét mutatják Steinfeld és munkatársainak (2006) adatai:

1. táblázat: A világ populációja és a hústermelés 1950 és 2050 között (STEINFELD et al. 2006 nyomán).

Év	A világ népessége (milliárd)	Hústermelés (milliárd kg)
1950	2,7	45
2000	6,0	229
2050	9,1	465

1. táblázat is mutatja, hogy a 2000 és 2050 közötti időszakban a hústermelés megkétszereződése várható, és ez a tendencia várható a tejtermelésben is (STEINFELD et al. 2006). A globalizációt, növekedést és a feldolgozott élelmiszerek elterjedését mutatja, hogy az Egyesült Államokban fogyasztott húsok kétharmada feldolgozásra kerül (DANIEL et al. 2011).

Az állati eredetű termékek csoportjában a hús mellett jelentős mennyiséget képviselnek a tejtermékek is. A tejfogyasztás az elmúlt évtizedekben csökkent, különösen a fejlett országokban (KEARNEY 2010). Ennek egyik oka a laktóz intolerancia megjelenése és diagnosztizálása (ZINGONE et al. 2017), másik oka pedig a szénsavas üdítőitalok és gyümölcslevek fogyasztásának növekedése (CAVADINI et al. 2000; DUFFEY, POPKIN 2007). A folyékony tej fogyasztásának visszaszorulása és csökkenése közegészségügyi probléma, így a csökkenés megállítására megelőző intézkedéseket kell kidolgozni (POPKIN 2010, YANTCHEVA et al. 2016). Az Európai Bizottság 2014-es adatai alapján az Európai Unió teljes tejtermelésének becsült értéke évi 165 millió tonnára tehető (EUROSTAT 2014). A tejfogyasztás csökkenése mellett azonban a világ számos országában növekedés tapasztalható, mint például az Egyesült Államokban és Kínában (KEARNEY 2010). Világszinten megfigyelhető, hogy a tej- és tejtermékek termelésének üteme továbbra is növekvő tendenciát mutat, ahogy azt a **2. ábra** is mutatja.



2. ábra: A FAOSTAT adatok alapján 1960 és 2007 között a húsipar és a tejtermelés növekedési ütemének lineáris előrejelzése 2050-ig (BOLAND et al. 2013 nyomán).

Azonban tisztában kell lennünk azzal, hogy a bemutatott előrejelzés nem veszi figyelembe az egyes korlátozó tényezőket, mint például környezeti körülmények változását, a földterületek hozzáférhetőségét, az éghajlati és termesztési viszonyok változását stb. (BOLAND et al. 2013). Elmondható, hogy az állati eredetű termékek fogyasztásának jövőbeni alakulása, előrejelzése szerint a tejfogyasztás továbbra is csökken (legalábbis a fejlett országokban), a hús és

tojásfogyasztás emelkedni fog, míg a vaj és a sajt fogyasztásában nem lesz érzékelhető változás globális szinten (KEARNEY 2010).

2.1.2 Táplálkozás-élettani szerepük

A fehérjeellátás az általános ételmiszerellátás része (BOLAND et al. 2013). Az egészség megőrzéséhez, a növekedéshez, a reprodukcióhoz és az emberek és az állatok optimális teljesítményéhez elengedhetetlen a fehérjék fogyasztása. Táplálkozási szempontból nem is önmagára a fehérjére van szükségünk, hanem annak összetevőire, az aminosavakra. Az esszenciális aminosavak elengedhetetlenek, mivel a szervezet nem tudja szintetizálni őket, így azokat táplálékkal kell bejuttatni a szervezetbe. Az emberek szempontjából kilenc nélkülözhetetlen esszenciális aminosav van (hisztidin, izoleucin, leucin, lizin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofán és valin). Félig esszenciális aminosavak a cisztein és a tirozin, melyeket csak egy másik esszenciális aminosav segítségével lehet előállítani (BOLAND et al. 2013). A fehérjék biokémiai útjai rendkívül bonyolultak és összetettek, az aminosavak változatossága és az átalakulások bonyolultsága miatt (GASZTONYI, LÁSZTITY 1993). Általánosságban elmondható, hogy az aminosavak anyagcseréje dinamikus és összetett folyamat, melyet még mindig csak rész információk alapján ismerünk. Az aminosavak anyagcseréjének szempontjából a növényi és állati eredetű fehérje fogyasztás hatása összességében még nem ismert (MARIOTTI 2017). Az állati eredetű termékek könnyen emészthető fehérje forrást biztosítanak az aminosavak megfelelő arányával, fehérjetartalmuk és zsírtartalmuk magas, gazdagok telített zsírsavakban. A hús, a hal, a tojás és a tejtermékek értékes ásványi anyagokat tartalmaznak, beleértve a kalciumot, a cinket és a vasat, de gazdagok vitaminokban is, mint például a B12-vitaminban (SCANES 2018). A hús összetett tápanyagforrás, melyet korábban az optimális emberi növekedés és fejlődés szempontjából létfontosságúnak tartottak (HIGGS 2000). Habár néhány epidemiológiai adat összefüggésbe hozta a húsfogyasztást számos megbetegedéssel, mint például a rákos, kardiovaszkuláris és metabolikus betegségekkel, a húsfogyasztás fontos szerepet játszott az emberi faj fejlődésében, különösen az agyi és intellektuális fejlődésben. A hús szerepe, különösen a vörös húsok szerepe fehérjeforrásként egyértelmű, azonban a húsok fehérjetartalma széles skálán változhat. Az átlagos fehérjetartalom 22%, de akár 12,3%-tól (kacsa hús) 34,5%-ig (csirke mell) is terjedhet (PEREIRA, VICENTE 2013). Elmondható, hogy azokban az országokban, ahol a hús az étrend jelentős részét képezi, a vashiány kevésbé gyakori (UZEL, CONRAD 1998). Ez különösen fontos annak tudatában, hogy a vashiányból eredő vérszegénység a világ egyik legelterjedtebb táplálkozással kapcsolatos rendellenessége (WHO 2001, PIZZARO et al. 2016). A hem vas (Fe) húsból vagy húskészítményekből szívódik fel, és viszonylag kis részét

képviseli a teljes táplálékfelvételnek, de jobban hasznosul, mint a nem hem eredetű vas (HALLBERG et al. 1979). Lényeges megemlíteni, hogy a FAO a fehérje emészthetőséggel korrigált aminosav érték (Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores; PDCAAS) alapján a húsoknak magas emészthetőségi értéket állapított meg. A PDCAAS alapján a legmagasabb értéket 1,00-et a tojásfehérje és a kazein fehérjék kapták. A marhahús 0,92-es értéket kapott, míg a vegetáriánus étrendben fontosnak számító fehérje források, mint például a pinto bab, csicseriborsó, borsó és lencse 0,57 és 0,71 közötti értékeket értek el. A búza glutén és a rizs-búza glutén pedig csak 0,25-ös és 0,26-os értékeket kapott (FAO/WHO 1991).

A tej és tejtermékek fogyasztása sok esetben az egészséges és kiegyensúlyozott étrend fontos elemeként szerepel, azonban számos vitás kérdés merül fel e termékek felnőttkori fogyasztásánál. A viták ellenére az epidemiológiai vizsgálatok megerősítik a tej emberi táplálkozásban betöltött jelentőségét, és megerősítik a fogyasztásának szerepét számos szív- és érrendszeri betegség megelőzésében, a rák egyes formáiban, az elhízásban és a cukorbetegségben (PEREIRA 2014). Az élelmiszerek, valamint az állati eredetű termékek között a tej különleges helyet foglal el. A tej az egyedüli élelmiszer, mely az ember számára (ugyan csak kis időre), de elegendő energiát és tápanyagot tartalmaz az életfenntartáshoz. A tejet és tejtermékeket különböző módon csoportosíthatjuk, melynek értelmében az első csoportba tartoznak a folyékony termékek, mint például a tej, savó és az író. Második csoportba tartozik a vaj, harmadikba a sajtok és a negyedik csoportba sorolhatjuk a fermentált készítményeket. A tej legnagyobb része víz, ezen felül tartalmaz még zsírt, fehérjét, szénhidrátot és ásványi anyagokat. Megállapították, hogy a tejszír az összes lipid közül a legkönnyebben emészthető, megtalálhatóak benne a rövid szénláncú zsírsavak is, melyek elősegítik a bélfal regenerációját. Az n-6-, n-3-zsírsavak aránya 2,5:1-hez, mely optimális. A tejfehérjék közül számos a bioaktív fehérje, melyek opioid agonisták, opioid antagonisták, antimikrobiotikusak, immunstimulálók, immunmodulálók, antihipertenzív hatásúak, ezen felül előfordulnak TCT-aggregációt gátló és LDL-csökkentő fehérjék is (KUKOVICS 2009). Mint már korábban említésre került, a FAO adatai szerint a kazein fehérjék a legmagasabb emészthetőségi értéket kapták. Az állati eredetű termékek gazdagok ásványi anyagokban, ez alól a tej sem kivétel. Magas a kálium, nátrium, kalcium és szeléntartalma van. Táplálkozásbiológiai szempontból a tej fontosságát -többek között- magas kalcium-tartalma adja, mely döntő fontosságú a megfelelő csonttömeg kialakulásának szempontjából (CSAPÓ, CSAPÓNÉ KISS 2002). A tej és tejtermékek egészségmegőrző tulajdonságokkal rendelkeznek, mint például elősegítik a szervezet immunválaszát, segítik a vírusok elleni védekezést, valamint késleltetik a gyomor kiürülését, ezzel befolyásolhatják az étvágy szabályozását is (HAUG et al. 2007). A tej összetétele és fő egészségügyi hatásai az 2. táblázatban figyelhetők meg.

2. táblázat: A tej összetétele, tápanyagok százalékos referencia értékei fél liter teljes tej esetében és azok fő egészségügyi hatásai (HAUG et al. 2007, USDA 2019 nyomán).

Tej alkotóelem	Koncentráció 1 L nyers tejben	0,5 L teljes tej százalékos hozzájárulása a napi beviteli referencia értékhez	Egészségre gyakorolt hatás
Zsír	33 g/L		Energiában gazdag
Telített zsírsavak	19 g/L		Emeli a koleszterinszintet. Gátolja a baktériumokat, vírusokat
Olajsav	8 g/L		Segíti a szívkoszorúér-betegség megelőzését és a membránstabilitást
Laurinsav	0,8 g/L		Vírusölő és antibakteriális
Mirisztinsav	3 g/L		Növeli az LDL és HDL mennyiségét
Palmitinsav	8 g/L		Növeli az LDL és HDL mennyiségét
Linolsav	1,2 g/L		Omega-6 zsírsav
Alfa linolénsav	0,75 g/L		Omega-3 zsírsav
Fehérje	32 g/L	30-40%	Esszenciális aminosavak
Laktóz	53 g/L		
Kalcium	1,1 g/L	40-50%	Csontok, fogak, vérnyomás, súlykontroll
Magnézium	100 mg/L	12-16%	Idősek számára, asztma kezelés
Cink	4 mg/L	18-25%	Immunrendszer működése
Szelén	37 ug/L	30%	Rák, allergia, szívkoszorúér-megbetegedés
E-vitamin	0,6 mg/L	2%	Antioxidáns
A-vitamin	28 ug/L	15-20%	Látás, sejt-differenciálódás
Folsav	50 ug/L	6%	DNS-szintézis, sejtsztódás, aminosav metabolizmus
Riboflavin	1,83 mg/L	60-80%	Riboflavinhiány megelőzése
B ₁₂ -vitamin	4,4 ug/L	90%	Kulcsszerep a folsav metabolizmusban
D-vitamin	0,6 ug/L	5%	Csontképződés
Foszfor	0,84 g/L	60-70%	Az energia tárolásának elősegítése

Az állati eredetű termékek harmadik nagy csoportját a tojás alkotja. A tyúktojást a természet tökéletes élelmiszerének tartják, mivel a tojásfehérje természetes forrása a kiváló minőségű fehérjének, valamint gazdag esszenciális aminosavakban. A tojássárgája antioxidánsok, aromás aminosavak, karotinoidok, vitaminok, és foszfolipidek forrása. Ezért a jelenlegi kutatási tendenciák központjában a tojás, már mint egészségmegőrző és egészséget támogató élelmiszerként szerepel. A tojást nemcsak táplálék összetevőjeként ismerik el, hanem olyan anyagnak is, mely számos értékes bioaktív anyagot tartalmaz, melyek főleg az élelmiszeriparban, de az orvostudományban, az állatgyógyászatban, a farmakológiában és a biotechnológiában is használatosak (LESNIEROWSKI, STANGIERSKI 2018). A tojás szerepében történő változást jól szemlélteti, hogy az Amerikai Szív Szövetség (AHA) és az Amerikai Kardiológus Kollégium (ACC) a táplálkozási ajánlásokban változásokat eszközölt. Eddig a magas koleszterinszintje miatt a tojást a fokozott kockázatú személyek nem építhették be étrendjükbe, azonban ezen irányelveket módosították és eltávolították, kellő bizonyíték hiányában. Ahelyett, hogy szigorúan korlátozná a koleszterin fogyasztást, az AHA és az ACC irányelvek mostantól olyan étkezési mintákat javasolnak, melyek kedvezően befolyásolják a vér lipidszintjét. Megjegyzendő, hogy az

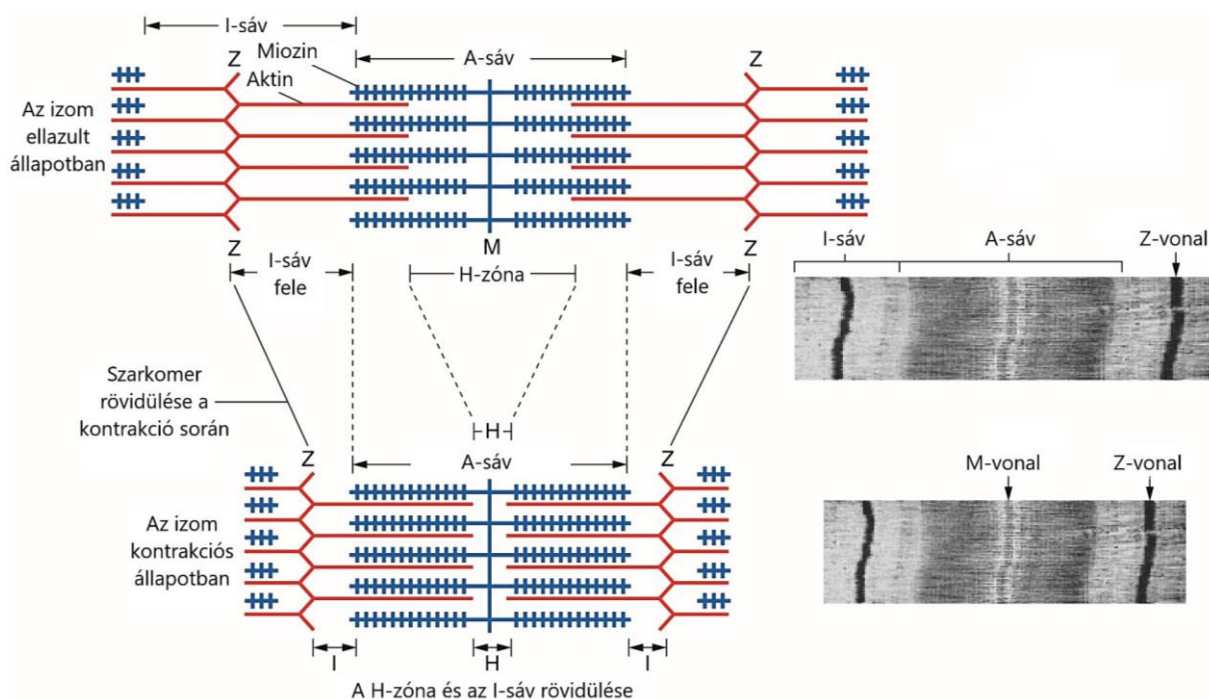
amerikaiak 2015-2020-as táplálkozási irányelveiből eltávolították a koleszterinbevitel (300 mg / nap) korlátozásának ajánlását is (CLAYTON et al. 2017).

2.2 ÁLLATI EREDETŰ TERMÉKEK ÖSSZETÉTELE

2.2.1 A hús összetétele és fehérjei

Kémiai szempontból a hús körülbelül 75% vízből, 19% fehérjéből, 3,5% oldható, nem fehérje alkotókból és 2,5% zsírból áll. Azonban egy ilyen összetett anyag jellege és változatossága miatt nem írható le ilyen egyszerűen. Nem szabad elfelejteni, hogy a hús egy post-mortem aspektusa egy biológiai anyagnak, mely izomszövetekből, kötő- és támasztószövetekből, hámszövetből, idegszövetekből és vérszövetből áll (LAWRIE, LEDWARD 2006, GASZTONYI, LÁSZTITY, 1993). Az élelmiszeriparban hús alatt az izomszövetet értjük, azonban a hús tartalmaz ezenkívül zsírszövetet, ínszövetet, kötőszövetet, és egyes esetekben csontszövetet is (KOSÁRY, 2014). Az izomszövet jelentős részét a harántcsíkolt izmok adják, melyek izomkötegekből állnak.

Az izomkötegeket felépítő izomnyalábok pedig izomrostokból épülnek fel. A harántcsíkolt izomsejt vázlatát látható a **3. ábrán**, ahol megfigyelhetők az izomrostot felépítő ismétlődő alegységek a szarkomerek is.



3. ábra: A szarkomer izomösszehúzódása.

A miofibrillumokon belül szarkomer egységeket találunk, melyek az izomrostban helyezkednek el hosszanti irányban. A szarkomereken belüli strukturális szerkezetet a harántcsíkolat mutatja.

Forrás: <http://www.milngavietutors.com/p/cfe-advanced-higher-biology.html> nyomán

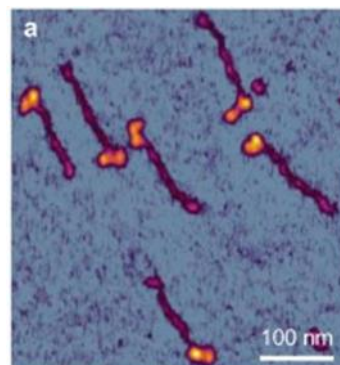
A húsfehérjék három csoportba sorolhatók oldhatósági paramétereik alapján, melyek a miofibrilláris, szarkoplazma és a kötőszöveti fehérjék. A miofibrillumok, mint például a miozin, troponin, tropomiozin, aktin, titin, α -, és β -aktinin, csak koncentrált só oldatban oldódnak. A körülbelül 20 különböző miofibrilláris fehérje közül a legfontosabbak a miozin, aktin és a titin, melyek túlsúlyban vannak és az összfehérje 65-70%-át teszik ki (BELITZ, 2009) Az izomrost protoplazmája, tehát a szarkoplazma fehérjék az energiatermelő folyamatokban, az oxigénszállításban és a metabolitok kapcsán töltnek be feladatokat (JÁNOSI, 2006). Vízben és híg sóoldatban oldódnak, és számos kiemelten fontos fehérje tartozik hozzájuk, mint például a mitokondriális és globuláris fehérjék, a mioglobín és a hemoglobín. A harmadik nagy csoportba, pedig a kötőszöveti és egyéb szilárdító fehérjék tartoznak, melyek vízben (alacsony hőmérsékleten) oldhatatlanok, ilyenek például a kollagén, elasztin, retikulín és a keratin. A vágóállatok izomszövetének átlagos összetétele (%) a 3. táblázatban látható.

3. táblázat: Vágóállatok izomszövetének átlagos összetétele (GASZTONYI, LÁSZTITY 1993 nyomán).

ÖSSZETEVŐK	%	%
VÍZ		75,5
FEHÉRJE		18
Miofibrillumok	miozin, tropomiozin, troponin, és -aktinin	
	M-fehérje	7,5
	aktin	2,5
Szarkoplazma	miogén, globulinok	5,6
	mioglobín	0,36
	hemoglobín	0,04
Szarkolemma	citokróom C	0,002
Kötőszövet és egyéb	elasztin, kollagén és egyéb, nem oldódó	2
ZSÍR		3
NEM FEHÉRJE, NITROGÉNTARTALMÚ VEGYÜLETEK		1,57
Kreatin		0,55
Inozin monofoszfát		0,3
Di- és trifoszfó piridin nukleotid		0,07
Szabad aminosav		0,35
Karnozin és anszerin		0,3
SZÉNHIDRÁT		0,28
Glikogén		0,1
Glükóz-6-foszfát		0,17
Glükóz		0,01
VITAMINOK, SZERVES SAVAK, EGYÉB SZERVES VEGYÜLET		1
Tejsav		0,9
Vitaminok, egyéb intermedierek		0,1
SZERVETLEN ALKOTÓRÉSZEK		0,65
Foszfor		0,2
Kálium		0,35
Nátrium		0,05
Magnézium		0,02
Egyéb szervetlen		0,03

Miozin:

Miozin molekulák a vastag filamentumokat alkotják, és a miofibrillumok több mint 50%-át adják. A miozin molekula aszimmetrikus, molekulatömege körülbelül 500 kDa, a hosszúságának és az átmérőjének az aránya 100:1-hez (LAWRIE, LEDWARD 2006). A miozin két nehéz (200 kDa) és négy könnyű alegységből (kb. 20 kDa) áll. A nehéz láncok α -hélix szerkezetet alkotnak, melynek a végén a két globuláris fej találkozik. A globuláris fejek a **4. ábrán** tekinthetők meg. Az ATP-áz aktivitás a fejekben lokalizálódik. A molekula sajátossága, mint ATP-bontó enzim, hogy a Ca^{2+} nagymértékben, míg a Mg^{2+} kis mértékben aktiválja (BELITZ, 2009).



4. ábra: Miozin AFM morfológiája (KELLERMAYER et al. 2018).

Aktin:

Az aktin a vékony filamentum fő eleme, és kontraktilis apparátus fehérjéinek körülbelül 22%-át teszi ki. Két formája létezik, a G-aktin, mely viszonylag kis globuláris egységekből áll, molekula tömege 42 kDa, valamint az F-aktin, melyben a globuláris egységek összeállnak, és kettős láncot alkotnak (**5. ábra**). A helikális szerkezetben minden monomer további négy monomerrel áll kapcsolatban, axiálisan és ferde irányban is (GASZTONYI, LÁSZTITY 1993). Sók és ATP jelenlétében a G-aktin polimerizálódik F-aktinná. Az aktin a miozinnal komplexet képez létrehozva a kontraktilis aktomiozint, mely megtalálható az aktív és a pre-rigor izomban, valamint a rugalmatlan rigor-mortis izomban is (BAILEY, 1954).

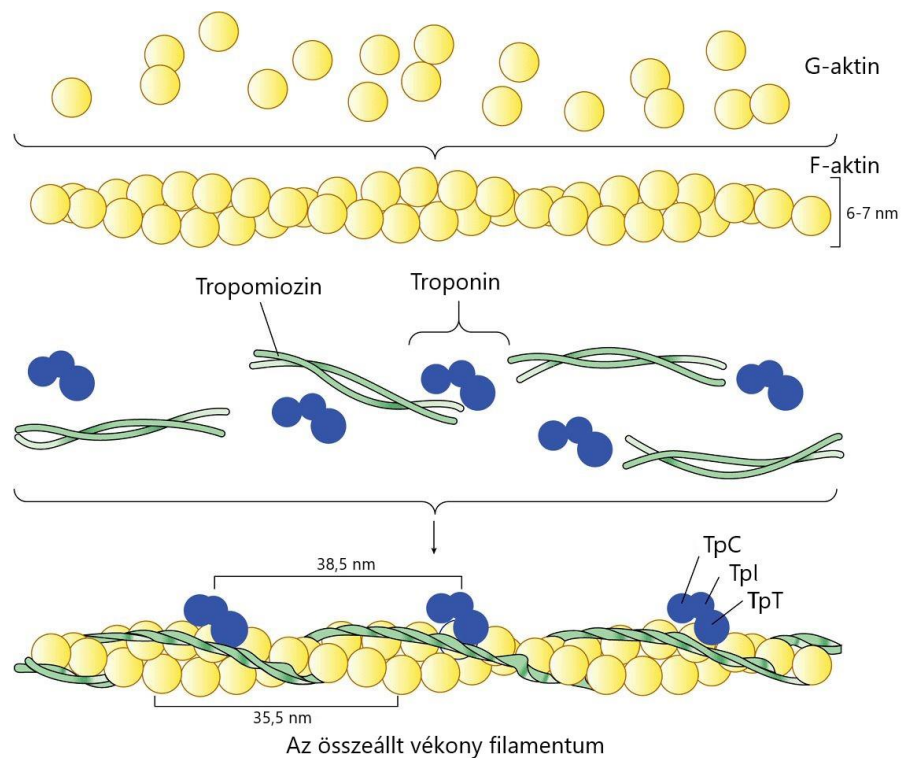
Titin:

A szarkomerben a miozin és az aktin mellett a harmadik szál a titin, mely a Z- és az M-vonalak között helyezkedik el (GRANZIER, LABEIT, 2006, HENDERSON et al. 2017). A titin a miozin szálakat összekapcsolja a Z-vonallal, valamint kialakít egy rugalmas régiót az aktinnal. Így a titin a szarkomer fő „törzsét” alkotja. A titin az eddig ismert legnagyobb fehérje, a molekula 90%-a globuláris egységekből áll. Elektromos térben nagyon lassan mozog (mérete miatt), nagy része más fehérjékhez kötődik, kifejezetten a miozinhoz (MARUYAMA et al. 1989, BELITZ, 2009).

Tropomiozin és a troponin komplex:

A tropomiozin kétszálú 100%-ban α -hélix szerkezetű hosszúkás fehérje (2×42 nm), melynek molekula tömege 68 kDa (RYNKIEWICZ et al. 2016). Olyan dimer, mely 7 aktin protomerrel van kölcsönhatásban, és a teljes aktin filamentumon végig húzódik (KOLLÁR, 2009).

A két lánc azonos számú aminosavat tartalmaz, azonban ezek szekvenciái 39 ponton eltérők (BELITZ, 2009).



5. ábra: Vékony filamentum vázlatos ábrázolása, a három fő fehérje térbeli konfigurációja (aktin, miozin, tropomiozin).

Az ábra felső részén a G-aktin molekula részei, középső részén az F-aktinba összeállt aktin monomerek, a tropomiozin száljai és a troponin alegységei láthatók. Az ábra alsó részén az F-aktinból, tropomiozinból és a troponin három alegységéből (TpC, Tpl, TpT) összeállt vékony filamentum látható.

Forrás: basicmedicalkey.com/muscle-the-cytoskeleton nyomán

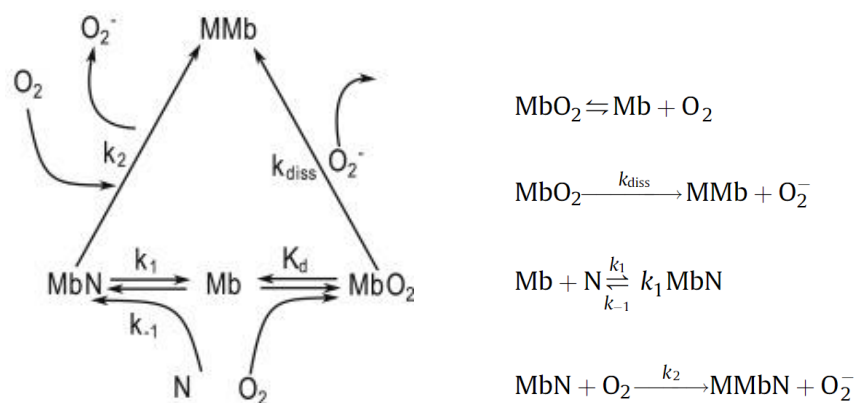
Troponin:

A troponin az aktin szálakon „ülő” fehérje, mely az aktin és a miozin szálak közötti kapcsolatot felügyeli az izomösszehúzódás során Ca^{2+} függő konformációváltással. A komplexnek három eleme van, melyek a troponin T, troponin I és troponin C. A troponin T a fehérjerendszer stabilitásában játszik szerepet, a troponin I az akto-miozin kölcsönhatásban, míg a troponin C a szerkezetében bekövetkező konformációs változással az izomműködést befolyásolja (METSKAS, RHOADES, 2016, KOLLÁR, 2009).

Mioglobin:

A mioglobin olyan globuláris fehérje, amely képes megkötni és elengedni az oxigén molekuláját, molekula tömege 16,9 kDa. Vas (II)-t tartalmazó hem csoportból és egy

polipeptidláncból áll. A mioglobin oxigénaffinitása jelentősen nagyobb, mint a hemoglobiné (PATKÓS, 2007). A mioglobin adja a hús színét, ezért élelmiszeripari szempontból kiemelkedően fontos. A mioglobin a hús összes pigmentjeinek 95%-át, míg a hemoglobin az 5%-át teszi ki (INCZE, 1996). A mioglobinnak három különböző oxidációs formája van (**6. ábra**), ez a dezoximioglobin (DMb), oximioglobin (OMb) és a metmioglobin (MMb) (TANG et al. 2004, MANCINI, HUNT 2005). A friss hús színét a három pigment relatív aránya és eloszlása határozza meg. A három pigment átalakulására hatással lehetnek a környezeti tényezők, mint például a hőmérséklet, relatív nedvességtartalom és a fény (GAO et al., 2014). Kutatások bizonyították a mioglobin és a lipioxidáció közötti kapcsolatot (FAUSTMAN et al. 2010). A hús felszínén végbemenő mioglobin átalakulásokat és egyenleteket, redox rendszereket a Brantley modell mutatja be (BRANTLEY et al. 1993; TOFTESKOV, BAILEY 2017).



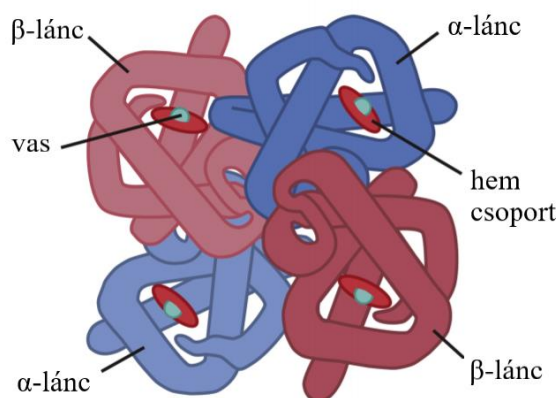
6. ábra: Brantley modell kémiai reakció mechanizmusa

(BRANTLEY et al. 1993; TOFTESKOV, BAILEY 2017 nyomán).

A modell szempontjából a nagyon reaktív O_2^- mind a biomolekuláris, mind pedig a disszociációs reakciók esetében az (O_2) oxidálja az Mb(II)-t. (Mb-mioglobin, MbO₂-oximioglobin, MMb-metmioglobin, K_d-egyensúlyi állandó, Mb(II)-mioglobin teljes koncentrációja, N-nukleofil, esetleg víz)

Hemoglobin:

A hemoglobin a vörösvértestekben (eritrocitákban) található fehérje, mely főként az oxigén szállításáért felelős (PATKÓS, 2007). A hemoglobin négy hemje - amely vas (II)-t tartalmaz - képes megkötni egy-egy oxigén molekulát, és így kialakul az oxihemoglobin. A hemoglobin szerkezeti felépítése a **7. ábrán** figyelhető meg. Abban az esetben, amikor a vas kötőhely betöltetlen marad, dezoxihemoglobinnról beszélhetünk (RICHARDS et al. 2002). A hús színét a mioglobin mellett a hemoglobin is befolyásolja. A hemoglobin alkotja a vörösvérsejt frakciójának 95%-át (száraz tömegre vetítve), ami jó táplálkozási és funkcionális tulajdonságokkal bír (TOLDRÁ et al. 2008). Táplálkozásbiológiai szempontból elmondható, hogy a hem vas könnyebben szívódik fel, mint a főleg növényi forrásokból származó nem hem forma (IN et al. 2002).



7. ábra: Hemoglobin szerkezete (DIEPSTRATEN, HART 2019 nyomán).

Felépítése szerint a hemoglobin két α és két β alegységet tartalmaz. A hem molekulát négy pirrolgyűrű alkotja, mely egy vasatomot tartalmaz.

2.2.2 Vér, mint élelmiszeripari melléktermék, fehérjei

A vér olyan folyékony állapotú sajátos kötőszövet, mely plazmából és benne szuszpendált alakos elemekből áll, gazdag vas és fehérjeforrás (GASZTONYI, LÁSZTITY 1993). Funkciói között találjuk a víz, oxigén és a tápanyagok szállítását azok felhasználási helyeire, valamint részt vesz a kiválasztási, védekezési és kommunikációs feladatok ellátásában. Ha a plazmából eltávolítjuk a fibrinogént (0,3-0,4%) kaphatjuk a folyékony állapotú, halványsárga vérsavót, más néven szérumot. A sejtes elemek, mint például a vörösvérsejt (eritrocita), fehérvérsejt (leukocita) és vérlemezkék (trombociták) részt vesznek a szervezet homeosztázisának fenntartásában. A vörösvérsejtek nem rendelkeznek sejtmaggal, flexibilisek és alakjuk lehet ellipszis vagy kör. Átmérőjük változó: 4 μm a kecskénél, 6 μm a sertésnél, 10 μm a bálnánál, 50 μm vagy több a madaraknál, kétéltűeknél, hüllőknél vagy halaknál. A 4-14 μm átmérőjű, pigmenteket nem tartalmazó fehérvérsejtek kisebb számban vannak jelen a vérben, mint a vörösvérsejtek (BELITZ, 2009). A marhavér összetétele a *4. táblázatban* látható.

4. táblázat: Szarvasmarhavér összetétele százalékos arányban GASZTONYI és LÁSZTITY (1993) nyomán.

Összetételei jellemző (%)	Szarvasmarha		
	Vér	Szérum	Vörösvérsejtek
Nedvesség	80,9	91,4	59,2
Szárazanyag	19,1	8,6	40,8
Össz. Fehérje	17,3	7,3	38
Hemoglobin	10,3	-	31,6
Cukor	0,07	0,1	-
Nátrium	0,37	0,43	0,22
Kálium	0,04	0,03	0,07
Vas	0,035	-	0,12
Kalcium	0,006	0,012	-
Magnézium	0,003	0,004	0,002
Klór	0,31	0,37	0,18
Foszfor	0,04	0,03	0,07
Koleszterin	0,19	0,13	0,34
Lecitin	0,24	0,17	0,37

A melléktermék feldolgozásban a vér jelentős része, és a vérben lévő körülbelül 18% fehérje nagy része jelenleg kihasználatlan (IN et al. 2002). Becslések szerint Kína 1 500 000 tonna sertés vért termel évente, melynek fehérje tartalma megegyezik 2 000 000 tonna húséval vagy 2 500 000 tojáséval (WANG et al. 2007). A feldolgozatlan fehérjeforrás így csupán elvesztegetett lehetőség, ezen felül jelentős környezeti terhelést jelent, megsemmisítése igen nagy költségekkel jár.

A vért és a vérfehérjék egy részét a húsipar használja fel, mint élelmiszer összetevő úgymint természetes színezőanyag, emulgálószer, zsírhelyettesítő vagy állománykialakító. A vágóhidakról érkező vérnek csupán körülbelül 30 %-át használja fel az élelmiszeripar világszerte (OFORI, HSIEH 2012). A vér egyik legismertebb felhasználási módja a színezékként való alkalmazás, mely azért is fontos, mert a fogyasztói preferenciákat szignifikánsan befolyásolja a hús színe (CLAUS, DU 2013). Továbbá a vér a hőkezelés során végbemenő lékiválás mennyiségét csökkenti azáltal, hogy megköti a vizet és a zsírt, valamint mátrixot alakít ki, mely képes megkötni a tápanyagokat és aromanyagokat (CHEN, LIN 2002, OFORI, HSIEH 2012).

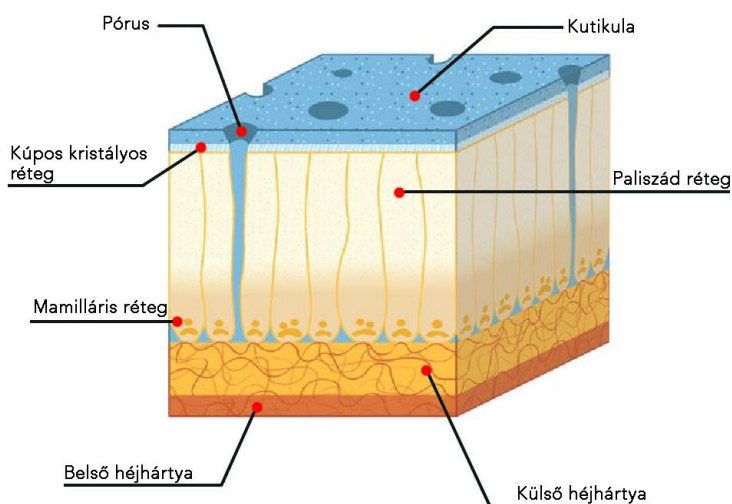
A vér feldolgozása a húsipar egy fontos problémájára is részben megoldást nyújthat. Ez nem más, mint a nitrit kiváltása. A húsipar számára az egyik legnehezebb problémát az jelenti, hogy a nitrit kiváltására egy életképes alternatívát találjon. A nitrit pozitívan befolyásolja a hús textúráját, színét, ízét és antimikróbás tulajdonságokkal is bír. Kiváltására csak olyan összetett elegyek lehetnek képesek, melyek rendelkeznek a nitrit tulajdonságaival. Az elegy egyik javasolt

színezőanyaga a CCMP (cooked cured meat pigment), melyet szarvasmarha és/vagy sertés vörösvérsejtekből állítanak elő, hasonló színező erővel bír, mint a nitrit, viszont nincs mutagén hatása. A hemoglobin hem vasának oxidációs állapotától függ a szín, melynek értelmében az oxihemoglobin piros színű, a methemoglobin pedig szürkés-barnás színezetű (OFORI, HSIEH 2012). A vér, mely az összes frakcióját tartalmazza, csak korlátozott mennyiségben adagolható élelmiszerekhez. A vér jellegzetes szagát, színét és fémest ízét a hem rész adja (DUARTE et al. 1999). A vérben lévő hemoglobin alkalmas lehet a vashiány kialakulásának megelőzésére jó felszívódási képessége miatt, azonban a végtermék érzékszervi tulajdonságainak veszélyeztetése nélkül a vér körülbelül csak 0,5%-tól 2,0%-ig adagolható (LIU et al. 1996, OFORI, HSIEH 2012). Ennek értelmében a vért a további (akár élelmiszeripari) felhasználhatóságához frakcióira kell bontani, vagy szorgalmazni kell a vérből készült ételek innovációját. Számos nemzeti étel van világszerte, amely vér felhasználásával állítanak elő. Ilyen például: a véres palacsinta, véres puding (Swedish blodplättar, blodpudding), különböző kolbászok, szalámik vagy a mindenki számára ismert véreshurka. Ezek az ételek nemcsak hozzátartoznak a gasztronómiai különlegességekhez, hanem magas vastartalmukkal hozzájárulnak az egészségmegőrző táplálkozáshoz is.

2.2.3 A tojás összetétele, fehérjéi

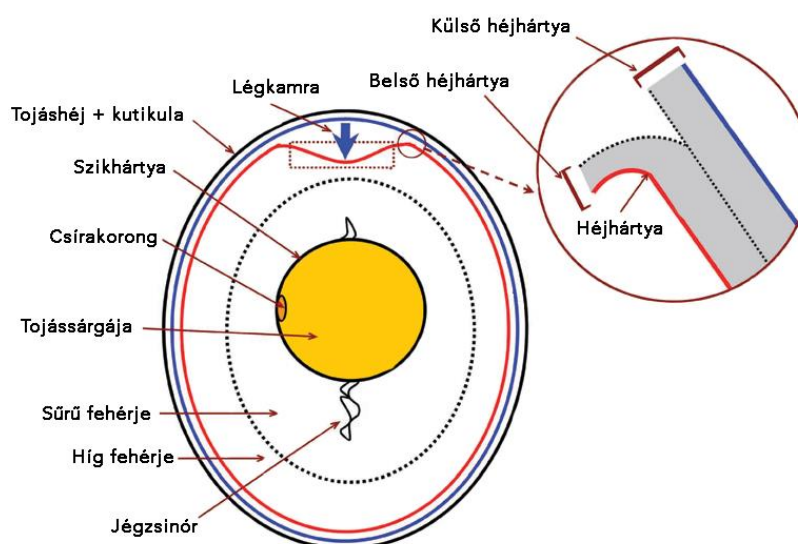
A tojás már ősidők óta az emberi táplálkozás részét képezi. Olyan, szinte tökéletes fehérjeforrás, mely könnyen emészthető, kiváló minőségű tápanyagokat tartalmaz, és ezenfelül biztosítja a szükséges napi tápanyagok jelentős részét (MINE 2007). Mind a háztartásokban, mind pedig az élelmiszeriparban sokféleképpen használják fel a tojást, mint alapanyagot.

A tojást 0,2-0,4 mm vastag porózus héj veszi körül, mely egy fehérje-mucopoliszacharid komplex 50:1 arányban. A tojáshéj keresztmetszeti rajza a **8. ábrán** figyelhető meg.



8. ábra: A tojáshéj keresztmetszeti rajza (BALÁŽ 2014 nyomán).

A meszes héjon belül két hárttyát találunk (külső és belső), melyek egy légkamrát alakítanak ki. A friss tojásokban a légkamra mérete 5 mm átmérőjű, ennek mérete a tárolási idő előrehaladásával növekszik, így mérete a tojások frissességének egyik minőségi jelzője (BELITZ 2009, LÉGRÁDY 2001). A tojássárgáját három rétegben veszi körül a kitűnő emulgeáló tulajdonságokkal rendelkező pszeudoplasztikus tojásfehérje, és a szikhárttya (MINE 2008). A tojásban a héj körülbelül 9-11%-ot, a tojássárgája 25-33%-ot, a tojásfehérje pedig 56% - 64%-ot tesz ki (CHERIAN et al. 2002). A tojás felépítése és szerkezete a **9. ábrán** látható.



9. ábra: A tojás szerkezete (BALÁŽ 2014 nyomán).

A tyúktojás átlagos súlya 58 g, a fő összetevői a víz (~74%), a fehérje (~12%) és a lipidek (~11%) (BELITZ 2009). A tojásfehérje több mint 40 fehérjéből áll, legfontosabb fehérjéje az ovalbumin, mely az összes tojásfehérje 54%-át alkotja. A tojásfehérjében megtalálható még az ovotranszferrin és az ovomukoid, mely 12% és 11%-ot tesznek ki, valamint az ovomucin, ovoglobulin, ovomakroglobulin, ovoglyco-protein, flavoprotein, ovoinhibitor, avidin és cisztatin is (SUGINO et al. 1997). A tojásfehérje tartalmaz enzimeket is, mint például a lizozim, foszfatáz és a kataláz. Ezen enzimek közül a lizozim a tojásfehérje 3,5%-át teszi ki, antibakteriális tulajdonságai miatt az élelmiszeripar előszeretettel alkalmazza. A tojássárgájában lévő fehérjék lipoproteinekként találhatók meg (HUI 2006).

Ovalbumin:

Az ovalbumin 385 aminosavból álló foszfoglukoprotein, melynek molekulatömege 44,5 kDa (DOI et al. 1997). Az ovalbuminnak három frakciója különböztethető meg az A₁, A₂ és A₃, melyek csupán foszfortartalomban különböznek, relatív arányuk A₁:A₂:A₃=85:12:3 (GASZTONYI, LÁSZTITY 1993). Az ovalbumin fehérje kompakt és globuláris konformációban is megtalálható (SAVADKOOHI et al., 2016, SHENG et al. 2018). A natív ovalbumin 33%-a α-

hélix, 5%-a béta redő és 62%-a véletlenszerű, nem ismétlődő struktúrát tartalmaz (BATRA et al. 1989). Izoelektromos pontja (pI) 4,5, az egyetlen olyan tojásfehérje, amely szabad szulfhidril (SH) csoportokkal rendelkezik. A négy SH csoport a fehérje magjában található (BEVERIDGE, ARNTFIELD 1979).

Ovotranszferrin:

Az ovotranszferrin, mely a tojásfehérje 12% - 13%-át adja 686 aminosavból álló fehérje (WU, ACERO-LOPEZ 2012). 15 diszulfid kötéssel rendelkezik, izoelektromos pontja 6-6,5, a leginkább hőálló glikoprotein (GHARBI, LABBAFI 2018). Az ovotranszferrin molekula két homológ félből áll, melyek mindegyike egyetlen vaskötő helyet tartalmaz, molekulatömege 78 kDa (WILLIAMS et al. 1978). Antimikrobiális tulajdonsága abból ered, hogy a mikroorganizmusok fejlődéséhez szükséges vasat elvonja, ezért széles körben használják élelmiszer adalékként, összetevőként vagy az állatgyógyászatban. Legutóbbi kutatások beszámoltak bioaktivitásáról, fungicid, virucid, daganatellenes, vérnyomáscsökkentő és immunmoduláló hatásairól is (WU, ACERO-LOPEZ 2012).

Ovomukoid:

Az ovomukoid a tojásfehérjék 11%-át teszi ki, hőálló glikolizált fehérje, mely 20% - 25% szénhidrátot tartalmaz. Molekulatömege 28 kDa, izoelektromos pontja 4,1. Három tandem doménből áll, melyek diszulfidkötésekkel vannak összekapcsolva, így a molekula nagyon ellenálló a hővel és a proteolitikus emésztéssel szemben (JULIÁ et al. 2007). A három domén közül az I-es és a II-es α -típusú, míg a III domén β -típusú, így tehát a molekula összesen kilenc diszulfidkötést tartalmaz, valamint szulfatált oligoszacharidokat és szialil-oligoszacharidokat (ZHU et al. 2018).

Ovomucin:

Az ovomucin egy szulfatált glikoprotein, mely a tojásfehérje gél textúrájáért felelős. Az ovomucin alegységei szerint két formára bontható az α - és a β -ovomucinra (ZHU et al. 2018). Vízen nem oldódik, de sóoldatokban (pH=7 felett) igen (GASZTONYI, LÁSZTITY 1993).

Lizozim:

A lizozim a természetben, egyes állati és emberi szövetekben is előforduló enzim, mely muramidáz aktivitást mutat. 129 aminosavat tartalmaz egy polipeptidláncban, mely két doménből áll α -hélixhez kapcsolva. Molekulatömege 14,4 kDa. A lizozim alkalmazható Gram-negatív baktériumok gátlására, ezért az élelmiszeripar, gyógyszeripar szívesen alkalmazza (ZHU et al. 2018).

2.2.4 A tej összetétele, fehérjéi

A tej olyan polidiszperz rendszer, mely különböző szerves és szervetlen alkotórészekből áll. A minőségi élelmiszerek közé tartozik, tartalmazza mindazon anyagokat, melyek a szervezet felépítéséhez szükségesek (BALATONI, KETTING 1981). Zsír a vízben emulzió, ami diszperziós közege a tejalkotóknak, mint például a fehérjéknek, lipideknek, ásványi anyagoknak és vitaminoknak (CSAPÓ, SCHÄFFER 2001).

A nyers tehéntejben körülbelül 3,5% fehérje található, mely táplálkozási szempontból fontos fehérjeforrás. A tejfehérjék (szarvasmarha esetében) két csoportra oszthatóak, kazein fehérjékre és savófehérjékre, melyek a tej egyik legfontosabb összetevői. A tejben fellelhető nitrogéntartalmú anyagok 95%-át fehérjék, 5%-át pedig úgynevezett nem fehérje alkotók adják. A nem fehérje eredetű (nitrogén tartalmú) anyagok lehetnek szabad aminosavak vagy egyéb nitrogén tartalmú vegyületek. (TÓTH 1998).

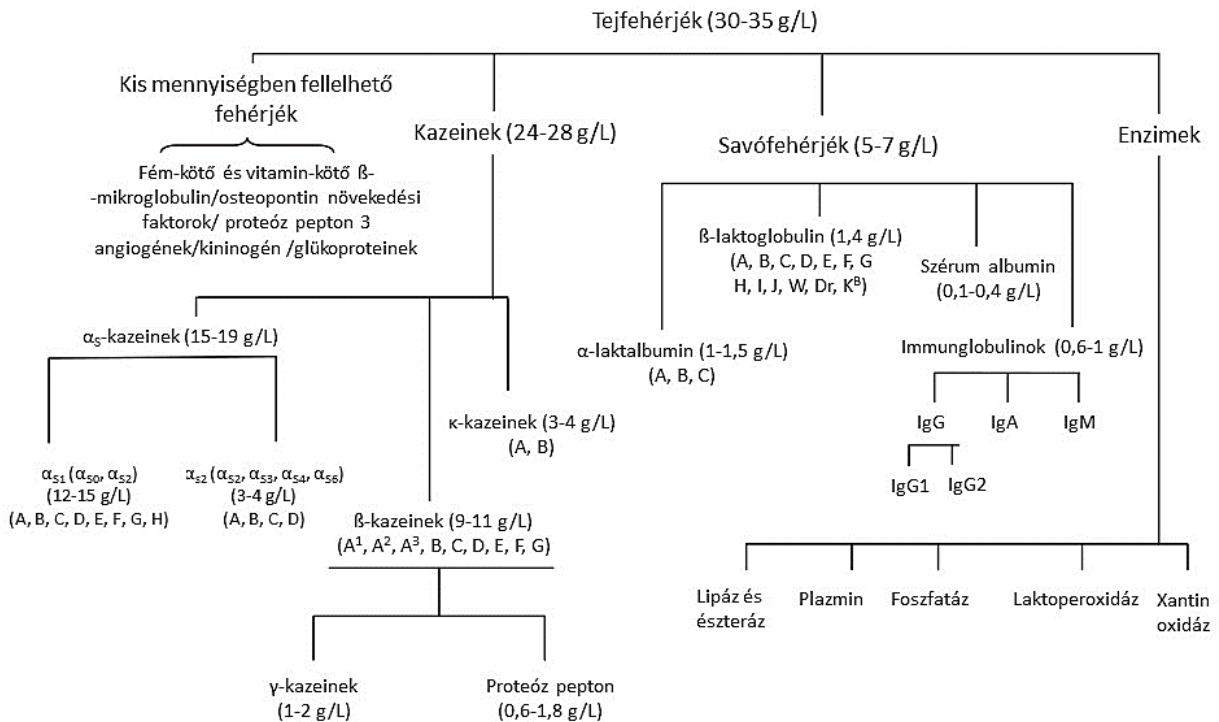
Kazein és komponensei:

A tehéntejben a fehérjék 80%-át a kazein fehérje adja, mely elektroforetikus elválasztással négy alegysége bontható, az α_{S1} - α_{S2} -, β - és κ -kazeinre (WONG et al. 1996, NOLLET, TOLDRÁ 2010). Mennyiségi eloszlásukat tekintve a kazein fehérje 37%-át az α_{S1} kazein, 10%-át az α_{S2} kazein, 35%-át a β -kazein, míg 12%-át a κ -kazein frakció adja (SWAISGOOD 1982).

Az α_S -kazein egy foszfoprotein, melyben a foszfocsoportok nagy része nem egy terminális peptidláncszakaszon található meg. Az α_S -kazein kalciumionok hatására könnyen kicsapódik, azonban a micellákban a κ -kazeinnel stabil. Az alvadékképzési műveletekben (a sajtgyártásban) ezen κ -kazein peptid láncát hasítja le a rennin, destabilizálja a micellát és lehetővé teszi az alvadék kialakulását (GASZTONYI, LÁSZTITY 1993). A kazein csoport rövid ismertetői a felsorolásban, a tejfehérjék ágrajzai pedig a **10. ábrán** láthatók.

- Az α_{S1} kazein (α_{S1} -CN) 199 aminosavból álló, 23 kDa molekulatömegű kazein frakció. Az α_{S2} kazein pedig dipoláris szerkezettel rendelkező, 207 aminosavat tartalmazó 25 kDa molekulatömegű fehérje frakció (FARRELL et al., 2004).
- A β -kazein (β -CN) olyan foszfoprotein, mely a kazeinek közül a leginkább hidrofíll, 10%-ban α -hélix, 17%-ban β -redő, míg 70%-ban véletlenszerű, nem ismétlődő struktúrát tartalmaz (HUI 2006). A kalciumionok hatására jelentősen csökken az oldhatósága, kifejezetten nagy hőmérsékleten. Molekulatömege 24 kDa (FARRELL et al., 2004) .
- A κ -kazein (κ -CN) 1 fő (szénhidrát mentes) és 6 kisebb komponensből álló alegység, melynek molekulatömege 18 kDa. A κ -kazein a kazein micellák stabilitásában játszik

szerepet, az aminosavak mellett tartalmaz még szénhidrát komponenseket, valamint foszforsavat is (BELITZ 2009, FARRELL et al., 2004).



10. ábra: A szarvasmarha tejben lévő főbb fehérjék frakcióinak és hozzávetőleges koncentrációjának és genetikai változatainak megoszlása (HUI 2006 nyomán).

A savófehérjék az összes tejfehérje körülbelül 20%-át teszik ki. A savófehérjék fő frakciója a β -laktoglobulin, a szarvasmarha szérum albumin (BSA), az α -laktalbumin és az immunglobulinok, melyek együttesen a tejsavófehérjék 95%-át adják. A kazeinokkal ellentétben a savófehérjék másodlagos, harmadlagos és legtöbb esetben negyedleges szerkezettel is rendelkeznek. A többségük globuláris fehérje, szerkezetük miatt érzékenyek a hőkezelésre. A savófehérjék irreverzibilis denaturálódása 70 °C felett megy végbe. A denaturlált állapotban lévő aggregátumok a kazein micellák felszínéhez kötődnek, így csökkentik a micella stabilitását (HUI 2006, DONATO, GUYOMARC' 2009). A savófehérjék körülbelül 70 %-át a β -laktoglobulin alkotja, 25%-át pedig az α -laktalbumin. Az α -laktalbumin vízdoldékony, míg a β -laktoglobulin vízben oldhatatlan (WONG et al. 1996).

α -laktalbumin:

Az α -laktalbumin (α -LA) egy viszonylag kicsi (MW=14 kDa), savas fehérje, mely a laktózsztintáz komponense. Részt vesz a laktóz bioszintézisében az emlőmirigyben. Az α -laktalbumin rendelkezik egy erős Ca^{2+} -kötő hellyel, mely a molekula natív szerkezetének stabilitása szempontjából fontos. Kalcium-kötő képességét gyakran használják ki fehérje interakciók és

kötések modellezésére, mivel képes más fém ionokat (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) is megkötni. A legtöbb α -laktalbumin, beleértve az embert, tengeri malacot, szarvasmarhát, kecskét, tevét, lovat és nyulat is 123 aminosav maradékából áll. Röntgen krisztallográfia vizsgálatok alapján az α -laktalbumin három-dimenziós szerkezete a lizoziméhoz nagyon hasonló. A natív α -laktalbumin két doménből áll, egy nagyobb α -hélix doménből és egy kisebb β -redő doménből, melyeket egy kalcium-kötő hurok köt össze (PERMYAKOV, BERLINER 2000).

β -laktoglobulin:

β -laktoglobulin (β -LG) a tehéntej savójának fő fehérje komponense, mely 162 aminosavból álló globuláris fehérje. Molekulatömege 18,4 kDa. A β -laktoglobulin a kérődzők tejében fordul elő, szarvasmarha esetében négy genetikusan különböztethető meg (A,B,C, D). A κ -kazeinhez kapcsolt β -laktoglobulin komplex a tej hőstabilitását változtatja meg, valamint feltehetően szerepet játszik a tejallergia kapcsán is. A β -laktoglobulint a rosszul oldódó táplálékkiegészítők hordozójának javasolják, mivel belső ürege képes a hidrofób molekulák megkötésére (BIRÓ 2014, CHENG et al. 2018).

2.3 NAGY HIDROSZTATIKAI NYOMÁSKEZELÉS

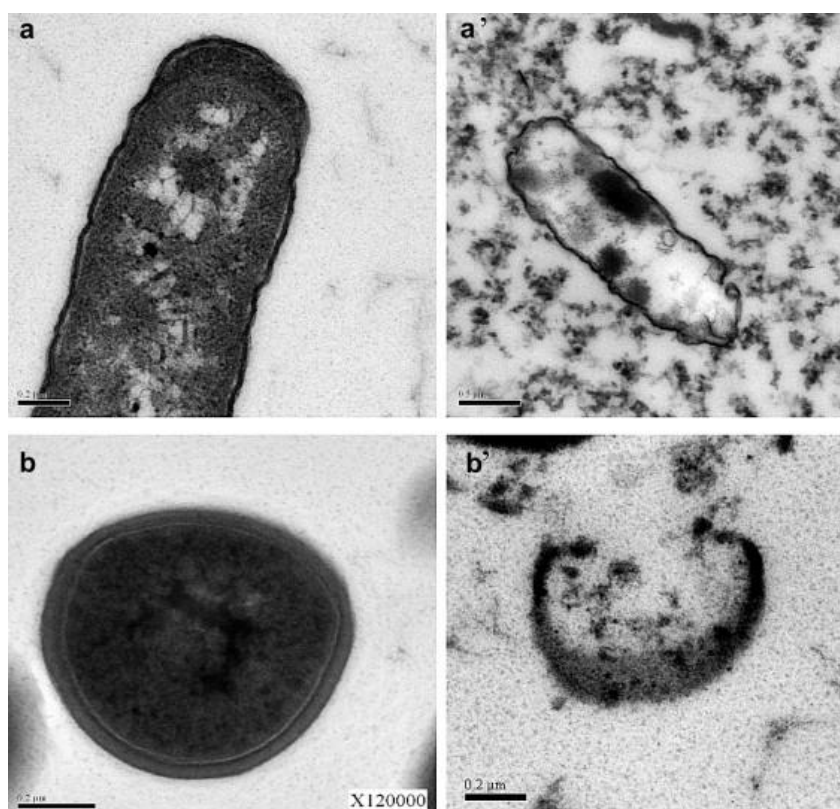
2.3.1 A technológia ismertetése, berendezései

Az új és feltörekvő élelmiszer feldolgozási technológiák közül a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés (HHP), a mikrohullám és a pulzáló elektromos térerő (PEF) a három legígéretesebb, növekvő kereskedelmi érdeklődésű technológiának számítanak az élelmiszerek, bioaktív peptidok és fehérjék szempontjából (JERMANN et al. 2015). Kutatási nézőpontból a HHP kezelés alkalmazásának területei kiemelt figyelmet kapnak, mind az élelmiszerek eltarthatóságának növelése, mind pedig a fehérjék módosítása végett (CHEFTEL 1995). A különböző területek egyre inkább a HHP feldolgozás felé fordulnak, mivel az egyik leginkább fenntartható és zöld technológiának tekinthető (RASTOGI et al. 2007).

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés (HHP) egy olyan kíméletes nem-termikus tartósító eljárás (GROSSI et al. 2016), melynek hatására az élelmiszerben lévő mikroorganizmusok részben vagy teljesen inaktiválódnak. A mikroorganizmusok inaktiválásával a termék minőség megőrzési ideje növelhető (MOREIRA et al. 2015). A technológiát az élelmiszerek biztonságának növelésére, és minőségének hosszabb távú biztosítására használják (CONSIDINE et al. 2008; RENDUELES et al. 2011). Olyan alternatív kezelés, melynek során a termék organoleptikus és tápérték tulajdonságai csak kis mértékben változnak (CAMPUS, 2010, CHERET et al. 2005).

A tartósítási eljárás fő célja, hogy az élelmiszerek romlásáért, valamint a fogyasztók megbetegedéséért felelős (patogén) mikroorganizmusokat inaktíváljuk. A nyomáskezelésre legérzékenyebbek a penészek és az élesztők, a Gram-negatív mikroorganizmusok közepesen ellenállóak, míg a Gram-pozitív mikroorganizmusok vegetatív sejtjei és spórái a legellenállóbbak, inaktíválásuk csak nagyon magas nyomásértéken lehetséges (BELLO et al. 2014).

A hatásmechanizmus során Huang és munkatársai leírták, hogy 500 MPa nyomás gátolhatja a mikroorganizmusok fehérjeszintézisét valamint csökkentheti a mikrobiális riboszómák számát (HUANG et al. 2014). A 100 MPa nyomás a sejtfehérjék részleges denaturációját okozhatja, 200 MPa nyomás esetében pedig a mikroorganizmus belső szerkezete és a sejtmembrán is károsodhat. A nyomás növelésével 300 MPa vagy a feletti nyomás esetében a mikroorganizmus irreverzibilis károsodása léphet fel, melynek következtében bekövetkezik a sejthalál (MORALES et al. 2008, BELLO et al. 2014). A HHP kezelés hatása *E. coli* és *S. aureus* sejtek esetében a **11. ábrán** figyelhető meg (500 MPa 30 min).



11. ábra: *E. coli* és *S. aureus* sejtek nagy hidrosztatikai nyomáskezelés (500 MPa 30 min) előtt és után transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM) alatt (YANG et al. 2012 nyomán).

Az ábra a és b részén a nyomáskezelés előtti felvétel látható, a sejtek fala és membránja ép, a sejt citoplazma egységes. Az a' és b' felvételeken a nyomáskezelés utáni állapot látható, ahol a sejtek külső és belső struktúrája sérült, a citoplazmatikus anyag aggregálódott.

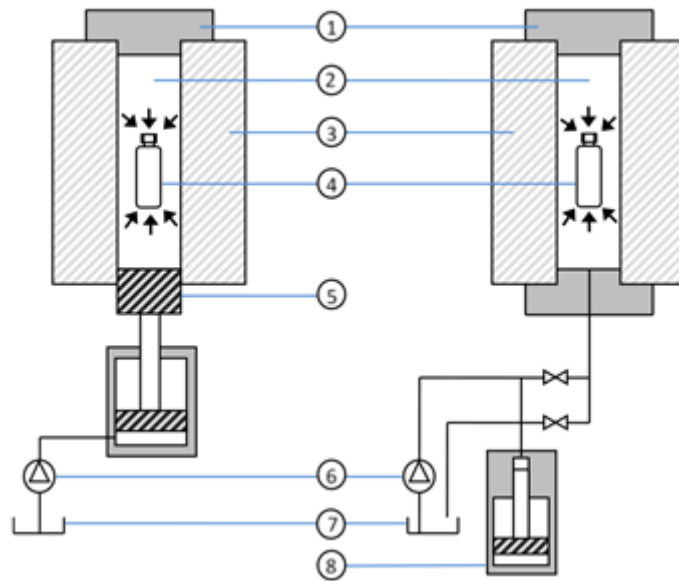
A kezelés mikroorganizmusokra gyakorolt hatása a mikroorganizmusok fiziológiai állapotától is függ. A log fázisban lévő mikroorganizmusok érzékenyebbek a HHP kezelésre, mint a stacionárius fázisban lévők. Ez azzal magyarázható, hogy a log fázisban a mikroorganizmus a sejtosztódás folyamatában van, amikor a környezeti stresszre és hatásokra sokkal érzékenyebb (AYVAZ et al. 2012). A vegetatív patogéneknél 2-4 log egység csökkenés figyelhető meg a HHP kezelés hatására különböző hús- és halkészítményeknél, melynek következtében biztonságosabb élelmiszerek, valamint fokozott eltarthatóság kapható (BAJOVIC et al. 2012; SALAMON et al. 2016).

A HHP kezelés hatására a fehérje molekulák szerkezeti változásokon mehetnek keresztül, melynek mértéke változó lehet. Előfordulhat a fehérje kitekeredése, denaturációja, változhat aktivitása. Természetesen a fehérjék eltérő mértékben reagálnak a nyomás nagyságára (KO et al. 2003; CHERET et al., 2005). Az új fehérje konformáció miatt a fehérje funkcionalitása is változik, mint például a koaguláció, aggregáció, vagy módosul a gélesedés mértéke is (CHEFTEL & CULIOLI, 1997; IWASAKI et al., 2006). A fehérjében végbemenő változásokat befolyásolják a kezelés paraméterei, mint például a nyomás nagysága, időtartama, vagy pedig a kezelés hőmérséklete (SUN & HOLLEY, 2010).

Az első nagy hidrosztatikus nyomású berendezést Hite 1899-ben alkalmazta élelmiszer (tej) kezelésére. A felfedezést követően leírták a kezelés mikroorganizmusokra gyakorolt hatását, azonban az első élelmiszerek kezelésére szánt berendezés csupán 1990-ben jelent meg Japánban (YALDAGARD et al. 2008). A berendezés nyomástartó edényét kettős hengerekből állították össze, hogy csökkentsék a berendezések élettartamának rövidülését annak folyamatos használata miatt. A kezelőtér rozsdamentes acélból készült, mivel a nyomásközvetítő közeggel folyamatos érintkezésben volt.

A hőkezeléssel szemben a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés független a kezelni kívánt élelmiszer alakjától és méretétől. Ennek oka, hogy a nyomás közvetítés nem a tömeg/idő függvénye (ELAMIN et al. 2015). A kezelőtérben elhelyezett élelmiszere a hidrosztatikus nyomás a Pascal-elv szerint egyenletesen (izo-sztatikusan), pillanatszerűen és egész tömegében érvényesül (DALMADI 2009, WILSON et al. 2008). A kezelni kívánt (csomagolt) termékeket a nyomásközvetítő közeg veszi körbe, mely a legtöbb berendezés esetében víz (RASTOGI 2013).

A technológia folyamatos fejlődésen ment keresztül az elmúlt években, míg végül a berendezéseknek két fajtája terjedt el: a direkt (dugattyús) és az indirekt (szivattyús), melyeknek sematikus vázlata a **12. ábrán** látható.



12. ábra: A HHP kezelés nyomás fokozásának két típusa: direkt (bal) és az indirekt (jobb) rendszerek (ELAMIN et al. 2015 nyomán).

1. záró fedél, 2. nyomás közvetítő közeg, 3. kezelő kamra, 4. termék, 5. dugattyú, 6. szivattyú, 7. puffer tartály, 8. nyomásfokozó egység

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelést az élelmiszeripar főként húskészítmények, osztrigák, friss tintahal, kacsamáj, gyümölcslekvárok, gyümölcslevek, saláta öntetek, avokádó krém és készételek esetében alkalmazza (POLYDERA et al. 2003). A Hiperbaric 2012-es adatai alapján a 350 000 tonna feldolgozott élelmiszer (HHP kezelt) közül 28% növényi, 26% hús, 15% tenger gyümölcsei és hal, 14% gyümölcslevek és italok, 17% pedig az egyéb élelmiszer kategóriába tartozik (BELLO et al. 2014).

2.3.2 Hagyományos tartósító eljárások, hőkezelés vs. HHP kezelés

Általánosságban elmondható, hogy az élelmiszeriparban az élelmiszerek eltarthatóságának növelése céljából valamilyen feldolgozási művelet alkalmazása szükséges. Ilyen például a fagyasztás, szárítás vagy a hőkezelés is. A hagyományos hőkezeléses tartósítás során a termékek érzékszervi, táplálkozási és minőségi tulajdonságai sok esetben sérülhetnek (ROECK et al. 2010). Világszinten a fogyasztók egyre elkötelezettebbek az általuk fogyasztott élelmiszerek minőségével és biztonságával kapcsolatban. Ez kifejezetten igaz az egészséges élelmiszerek esetében, melyet jól szemléltet az a tény, hogy az utóbbi időben 30%-os növekedés jelentkezett a friss, hűtött és az egészséges élelmiszerek kereskedelmében (NORTON, SUN 2008). Ezen igények kielégítése szempontjából az élelmiszeripar fejlesztette és javította a hőkezelés paramétereit, bevezette a HTST (high temperature short time) és az UHT (ultra high temperature), valamint az aszeptikus

töltés/csomagolás technológiáját. Ez alatt a fogyasztók körében a minimálisan feldolgozott élelmiszerek iránti kereslet is szignifikánsan emelkedett, mivel ezen élelmiszerek táplálkozás és íz szempontjából jobbak, miközben megfelelnek élelmiszerbiztonsági oldalról, másrésről pedig hosszú minőségmegőrzési idővel rendelkeznek (CHEVALIER et al. 2001). A minimálisan feldolgozott élelmiszerek tartósítására olyan technológiákat fejlesztettek ki, melyek a mikroorganizmusok és az enzimek inaktiválásához nem használnak hőt. Ezen új technológiák például az oszcillációs mágneses térerő (oscillatory magnetic fields), a pulzáló elektromos térerő (PEF), az ultrahang (ultrasound), a besugárzás (irradiation) és a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés (HHP) (BELLO et al. 2014).

Elmondható, hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés a hőkezelés méltó alternatívájának bizonyult (LUDIKHUYZE et al. 2002). A kezelés során a hőmérséklet csak kis mértékben emelkedik, és a nyomás nem befolyásolja a kovalens kötések, ezért a nagy hidrosztatikus nyomással kezelt termékek érzékszervi és táplálkozási szempontból nagyon hasonlítanak a feldolgozatlan termékekre. Habár a kezelés alatt hő keletkezik, annak mértéke sosem éri el a hagyományos hőkezelés mértékét, és a folyamat hűtési eljárással könnyen szabályozható (BELLO et al. 2014).

Azonban a kereskedelmi forgalomban alkalmazott nyomásszinteknek a spórák sok esetben ellenállnak, ezért a HHP kezelésen átesett termékeket hűteni kell, vagy olyan élelmiszereket kell választani a kezeléshez, melyeknek nagy a savtartalmuk (ROECK et al. 2010). Bár néhány szerző beszámolt a HHP kezelés esetleges mellékhatásairól, általános meggyőződés, hogy a HHP kezelés előnyösebb a hőkezeléssel szemben (VERVOORT et al. 2012).

A hőkezelés során a gyümölcsök és zöldségek textúrája, mely ezen élelmiszerek fő minőségi jellemzője, szignifikánsan megváltozik, szöveti lágyulás következik be a poliszacharidok depolimerizációja miatt (VERVOORT et al. 2012).

2.4 NAGY HIDROSZTATIKAI NYOMÁSKEZELÉS HATÁSA A FEHÉRJÉKRE

2.4.1 A technológia hatása a fehérjékre és azok funkcionalitására

Az élelmiszerfehérjék funkcionális tulajdonságai három csoportba sorolhatók GALAZKA és munkatársai (2000) munkája alapján:

- **Hidratációs tulajdonságok**, melyek a fehérje-víz kölcsönhatásoktól függenek. Jelentősen befolyásolhatják a nedvesíthetőséget, duzzadási képességet, adhezivitást, diszpergálhatóságot, oldhatóságot, viszkozitást, vízkötő- és víztartó képességet.

- **Határfelületi tulajdonságok**, beleértve a felületi feszültséget, emulgeálási és habképző tulajdonságokat.
- **Aggregációs és gélesedési tulajdonságok**, melyek a fehérje-fehérje kölcsönhatásoktól függenek.

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására a fehérje molekulák szerkezeti változásokon mehetnek keresztül, melynek mértéke eltérő lehet (KO et al. 2003). Az élelmiszerkémia és mikrobiológia területén a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatása a Le Chatelier-elv szerint zajlik le. Ennek értelmében, ha egy egyensúlyi rendszert megzavarnak, akkor a rendszer úgy reagál, hogy a zavar mértékét minimalizálja. Ez azt jelenti, hogy a kezelés bizonyos változásokat stimulál, például kémiai reakciókat, fázisátalakulást, molekulák konfigurációjának változását, olyanokat, melyek a méretük vagy térfogatuk csökkenését eredményezi. Azonban ellenzi azokat a reakciókat, amelyek a térfogat növekedését idéznék elő. A Le Chatelier-elv a fehérjékben végbemenő változásokra is hatással van. Tehát az egyensúlyi állapotában megzavart fehérje a nyomás növekedésével olyan kötések kialakítását szeretné előidézni, amelyekkel visszaállíthatja egyensúlyi állapotát (NORTON, SUN 2008).

A makromolekulák (fehérjék, lipid membránok, DNS, RNS) biológiai funkciójuk betöltéséhez egyedi, három dimenziós struktúra (natív vagy feltekeredett) kialakítása szükséges. A nyomás növekedésével a termodinamikai egyensúly megbomlik a natív (N) és a denaturált kitekeredett (U) állapot között, melyet CHEN és MAKHATADZE (2017) jól ír le munkájában:



Az egyensúly megbomlása miatt a natív (N) és a denaturált (U) állapot között a rendszer hőmérsékleti válaszát a Van 't Hoff-egyenlet írja le, mely standard entalpiaváltozású folyamat esetén adja meg az összefüggést az egyensúlyi állandó és a hőmérséklet változása között.

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad [2]$$

A kitekeredés entalpia változása a $\Delta H = H_U - H_N$, K az egyensúlyi állandó, R az egyetemes gázállandó. A hőmérséklet reciprokanak függvényében egyenes kapható az egyensúlyi állandó (K) természetes logaritmusának ábrázolásával. Az egyenes meredeksége az egyetemes gázállandó és a szabadentalpia változás hányadosának ellentettje $-\frac{\Delta H}{R}$, az egyenes tengelymetszete a standard entrópia változás és az egyetemes gázállandó hányadosa $\frac{\Delta S}{R}$. A két

egyensúlyi állapot ($N; U$) között a nyomáskezelésre a választ a térfogat változás adja meg a kitékeredésen keresztül (ΔV_{Tot}).

$$\left(\frac{\partial \ln K}{\partial P}\right)_T = -\frac{\Delta V_{Tot}}{RT} = -\frac{\Delta V_{Tot,U} - \Delta V_{Tot,N}}{RT} \quad [3]$$

Az egyenletek összekapcsolásával megkaphatjuk a fehérje stabilitás nyomás-hőmérséklet fázisdiagramját.

$$\begin{aligned} \Delta G(P, T) = \Delta H - \Delta S & \quad [4] \\ & \cdot T - \Delta C_p \left[T \cdot \ln \left(\frac{T}{T_o} - 1 \right) + T_o \right] + \Delta \alpha \\ & \cdot (P - P_o) \cdot (T - T_o) + \Delta V_{Tot} \cdot (T - T_o) + \frac{\Delta \beta}{2} \\ & \cdot (P - P_o)^2 \end{aligned}$$

Ahol a ΔH , ΔS , és ΔV_{Tot} a kitékeredett entalpia, entrópia és a térfogat változás egy adott referencia hőmérsékleten T_o ($T_o = 300K$) és referencia nyomáson P_o ($P_o = 0,1 MPa$). A ΔC_p a kitékeredés hő kapacitásának változása.

$$\Delta \beta = \left(\gamma \Delta V / \gamma P \right)_T \quad [5]$$

$$\Delta \alpha = \left(\gamma \Delta V / \gamma T \right)_P \quad [6]$$

Ezt követően megállapítható, a nagy hidrosztatikus nyomás a fehérjék stabilitására gyakorolt hatásának meghatározásában, a ΔV_{Tot} a kulcs paraméter (CHEN, MAKHATADZE 2017).

A kezelés a molekulák közötti hidrofób és elektrosztatikus kölcsönhatásokra negatívan, roncsolóan hat, mivel a hidrofób kötések és ionpárok kialakulását nagy térfogatváltozás kíséri. Ezzel szemben a hidrogénkötés kialakulása kicsi (általában negatív) térfogatváltozással társul, így ezek a kölcsönhatások relatív érzéketlenek a nyomáskezelésre. Ez azt jelenti, hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés a globuláris fehérjék negyedleges és harmadlagos struktúráját szétszakítja, míg a másodlagos struktúrára viszonylag kis hatást gyakorol. A fehérjetartalmú kolloid aggregátumokat (pl. kazein micellák) disszociálhatja, melyeket az ionos és hidrofób erők tartanak össze. A globuláris fehérjék nyomás indukált denaturálódása aggregációhoz és végső soron - megfelelő körülmények között és elég nagy koncentrációban - gélesedéshez vagy csapadékképződéshez vezethet (GALAZKA et al. 2000). Így tehát a nyomáskezelés lényegében a kovalens kötések, és a kis molekulatömegű molekulákat pl: vitaminokat, ízanyagokat, színezékeket nem (vagy csak kis mértékben) befolyásolja, azonban a nagyméretű és mikrobiális

sejtekre/sejtszerkezetekre (fehérjékre, sejtmembránokra, lipidekre, enzimekre) roncsolóan hat (LINTON, PATTERSON 2000; MUNTEAN et al. 2016).

2.4.2 A hús és húsfehérjékre

A fogyasztói preferenciákat a hús színe szignifikánsan befolyásolja, így kihatással van a vásárlás valószínűségére is (CLAUS, DU 2013). A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés megváltoztatja a hús színét a mioglobin szerkezetének változása következtében (BAK et al. 2014). Kimutatták, hogy a hús elszíntelenedése szorosan kapcsolódik a mioglobin spontán változásához (BEKHIT et al. 2003). A kezelés hatására a friss húsokban lévő mioglobinban konformációs változások mennek végbe, mint például a globin denaturációja vagy a vas-ion oxidációja, mely a hús elszíntelenedéséhez vezet (TOLDRÀ et al. 2008). Megfigyelték, hogy a HHP kezelés magas nyomásértékeknél lipidoxidációt okoz friss húsok esetében, amely a minőség és az eltarthatóság csökkenéséhez vezet, azonban a lipidoxidációt különböző antioxidánsok hozzáadásával meg lehet előzni (BOLUMAR et al. 2014). A marhahús esetében a lipidoxidáció mértéke alacsonyabb 200 MPa-on, mint a csirke vagy sertés esetében (MEDINA-MEZA et al. 2014).

A HHP kezelés a fehérje gélesedését okozza hőkezelés nélkül. A húsfehérjéknél a kezelés által indukált denaturáció mechanizmusa eltér a hőkezelésértől. Például az aktin denaturációs hőmérséklete magasabb, mint a mioziné, az aktin mégis érzékenyebb a nyomáskezelésre, mint a miozin (LEE et al. 2011). Reológiai és morfológiai mérések alkalmával megállapították, hogy a miozin háromdimenziós szerkezetében nincs különbség a HHP és a hőkezelés között, azonban rugalmassági eltérések megfigyelhetők (IWASAKI et al. 2005).

2.4.3 Vér és vérfehérjékre

A kiváló funkcionális és magas biológiai értékének köszönhetően a vért (pl.: sertésvért) és származékait a (plazmát és vörösvértesteket) előszeretettel alkalmazzák az élelmiszeriparban élelmiszer összetevőként. A plazmafehérjék funkcionális tulajdonságai közé tartozik, hogy stabilizálnak habokat és emulziókat, valamint képesek a hő által indukált gélképződésre (SAGUER et al. 2007).

A vér nyomáskezelése és annak felhasználása egy kevésbé kutatott téma. Azonban elengedhetetlen, hogy megvizsgáljuk, hogy a vér milyen fizikai és kémiai változásokon megy keresztül a nyomáskezelés hatására, és hogy ezek a változások a későbbiek során hogyan befolyásolják a termék tulajdonságait. A fehérje- és víz-rendszereknél, mint amilyen a vér, a HHP kezelés hatására gélképződés léphet fel. A hemoglobin esetében megfigyelték, hogy a kezelési idő befolyásolja a gélszerkezet kialakulását (DUMOULIN, HAYASHI 1998). A HHP kezelés a vér

mikrobiológia szennyeződésének csökkentésére alkalmas, úgy hogy minimális hatással van a funkcionalitásra (PARÉS 1998). Azonban a 400 MPa feletti nyomás csökkenti a sertésvér stabilitását, emulgeáló tulajdonságát (PARÉS, LEDWARD 2001). Kimutatták, hogy a vér 400 MPa-on való 15 perces kezelése jelentős javulást okozott a mikrobiológiai minőségben, és nem befolyásolta hátrányosan a színt vagy a fehérjék oldhatóságát sem (TOLDRÀ et al. 2004). Fénymikroszkópos és AFM (atomic force microscopy) vizsgálatok során megállapították, hogy a vörösvértestek 220 MPa-os nyomáskezelése a vörösvértestek felületén kidudorodásokat hoz létre, valamint előfordul a sejtek összeállása is (CEYLAN et al. 2009). Sertésvér vörösvérsejt frakció 400 MPa-os kezelésének következtében az L^* a^* és b^* értékek szignifikánsan megemelkedtek, a kezelt minták világosabbak, vörösebbek és sárgábbak lettek a kontroll mintákhoz képest (TOLDRÀ et al. 2002).

2.4.4 A tojásra és fehérjéire

A tojásfehérjék számos jó táplálkozási és funkcionális tulajdonsággal rendelkeznek, ezért sok élelmiszerben használatosak. Táplálkozási szempontból a tojás gazdag még vitaminokban, ásványi anyagokban, foszfolipidekben és egyéb lipidekben is. A teljes tojáslélet habképző és emulzifikáló tulajdonságai végett is alkalmazzák. A tojásban található albumin a hab tartósságában játszik szerepet (AHMED et al. 2003).

A tojástermékek nagy hidrosztatikus nyomáskezelése esetében főként a reológiai és mikrobiológiai tulajdonságokat vizsgálták szélesebb körben. Bizonyították a fokozott mikrobiológiai stabilitást és biztonságot a teljes tojáslé valamint tojástermékek esetében (CASTILLO et al. 2014; NÉMETH et al. 2012). Az ovalbumin 30 perces 400 MPa alatti nyomáskezelése esetén nem lép fel gélképződés. Ez annak tudható be, hogy a molekula háromdimenziós szerkezetét nem kovalens kötések stabilizálják, hanem négy diszulfid kötés és egyéb erős kötések, kölcsönhatások. Azonban 400 MPa felett már gélképződés léphet fel a kezelés hatására (HAYAKAWA et al. 1996; GALAZKA et al. 1999, 2000).

2.4.5 A kezelés hatása a tejre

A természetes, nyers (hőkezelés nélküli), kiváló minőségű élelmiszerek iránti keresletnövekedés érdeklődést váltott ki az új, nem-termikus feldolgozási technológiákkal kapcsolatban. A szakirodalom szerint a tej 400 és 500 MPa-os nagy hidrosztatikus nyomáskezelésével a pasztörözött tejhez hasonló minőséget lehet biztosítani. Bizonyították, hogy a 15 perces 400 MPa-on (20°C) és a 3 perces 600 MPa-on (20°C) végzett HHP kezeléssel a tej 10 napig eltartható 10 °C-on (MUKHOPADHYAY, UKUKU 2018).

A szakirodalomban leírtak szerint, a β -lactoglobulin - a savófehérjék fő komponense - a nagy hidrosztatikus nyomáskezelésre érzékenyebb, mint az ovalbumin, vagy a szérum albumin (BSA). Az oldatban lévő natív β -lactoglobulin vizsgálata során megállapították, hogy a HHP kezelés jelentős mértékben befolyásolja a molekula konformációs és aggregációs tulajdonságait, amely a koncentráció növekedésével csak fokozódik. Az aggregátumok feltehetőleg a molekulák közötti diszulfid hidak kialakulása miatt jönnek létre (GALAZKA et al. 2000). A sovány tejben a kazein micellák a körülbelül 200 MPa nyomáskezelés határára szignifikánsan destabilizálódnak, így megváltoznak fizikai-kémiai és funkcionális tulajdonságaik (NEEDS et al. 2000a). A tehéntej dinamikus viszkozitása növekszik, míg turbiditása csökken a nyomáskezelés hatására (DESOBRY-BANON et al. 1994).

2.5 ELEKTROFORETIKUS ÉS TERMODINAMIKAI TECHNIKÁK

2.5.1 Elektroforetikus technikák az élelmiszeriparban

A fogyasztók élelmiszerekkel és az élelmiszer biztonsággal kapcsolatos aggodalmai miatt az élelmiszertudomány új analitikai módszereinek alkalmazása és fejlesztése nagymértékben megnövekedett. Ezen igények kielégítése céljából az élelmiszervizsgáló laboratóriumoknak és minőségellenőrző intézményeknek gyorsabb, hatékonyabb, tisztább és olcsóbb analitikai eljárásokra van szükségük. Az alkalmazott módszereknek, vizsgálati technikáknak tájékoztatást kell tudniuk nyújtani az élelmiszerek feldolgozásáról, sok esetben ki kell tudniuk mutatni a hamisítást vagy akár a szennyeződések is. Az elektroforetikus technikák fő alkalmazási területei a fajok azonosítása, transzgenikus élelmiszerek kimutatása, mikrobiológiai és toxikológiai analízis stb. (GARCÍA-CAÑAS et al. 2004).

Az élelmiszer vizsgálatok során alkalmazott fő elektroforetikus technika az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis volt (fehérjék és peptidok elemzéséhez), azonban már a kapillár elektroforézis is széles körben elterjedt az élelmiszer összetevők monitorozása szempontjából (CANCALON 2006).

A poliakrilamid gélelektroforézis (PAGE) egy széles körben alkalmazott hatékony analitikai technika, melyet a fehérjék és nukleinsavak kutatásában használnak. Napjainkban a gélelektroforézisnek két fő típusa van, az 1-D PAGE és a 2-D PAGE. Az 1-D elválasztás tartalmazza egyszer az SDS-PAGE módszert, mely a legszélesebb körben alkalmazott elektroforetikus technika a fehérjék molekulatömeg szerinti elválasztására. Másszor pedig tartalmazza a NATÍV-PAGE-t, ahol az elválasztás tömeg/töltés arány szerint zajlik le. Ez a technika lehetővé teszi az enzimaktivitások *in situ* vizsgálatát. A 2-D elválasztás során az első dimenzióban a fehérjéket izoelektromos pontjuk alapján különítik el (IEF) a második dimenzióban

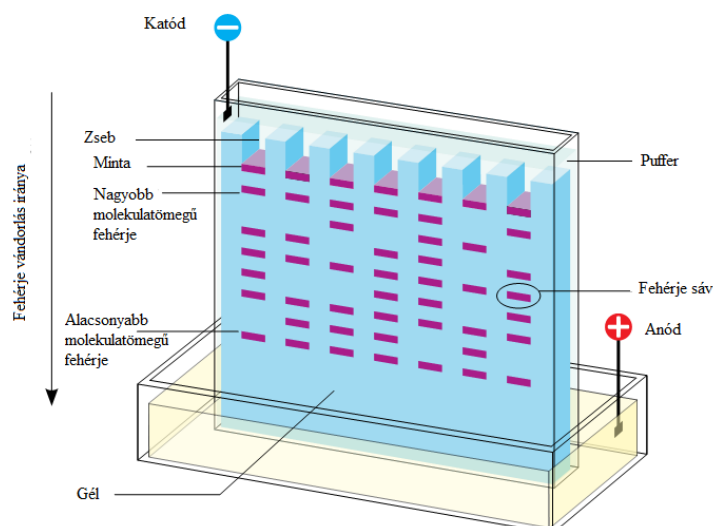
pedig molekulatömeg szerint választják el a részecskéket (SDS-PAGE) (MITTELMANN et al. 2013).

2.5.2 Izoelektromos fókuszálás

Az izoelektromos fókuszálás (IEF) során - mely szintén az elektroforetikus módszerekhez tartozik - a fehérjék izoelektromos pontjuk alapján válnak el, tehát ennél az elválasztásnál pH gradiensben lejátszódó elektroforézisről beszélünk. A technika nem függ az elválasztás idejétől, megbízható és jó felbontású eredményt ad (JÁNOSI, 2006). Az elektroforetikus módszereket a húskutatásban elsősorban idegen fehérjék kimutatására, valamint az állatfajok azonosítására használják. Ezenkívül, az izomfehérjéknek az egyes ipari technológiák hatására bekövetkező, és a húsminőséggel összefüggő változásainak kimutatására és nyomonkövetésére is sikerrel alkalmazzák (SZERDAHELYI, 2000). A különböző típusú fehérjékhez eltérő festési módszert alkalmazhatunk. Összfehérje festésnél kékfestést vagy ezüsfestést, specifikus festésnél pedig mioglobinfestést vagy vas-festést alkalmazhatunk. A mioglobinfestés a hem fehérjékre specifikus, míg a vas-festés a nem hem eredetű fehérjékre.

2.5.3 SDS poliakrilamid gélelektroforézis

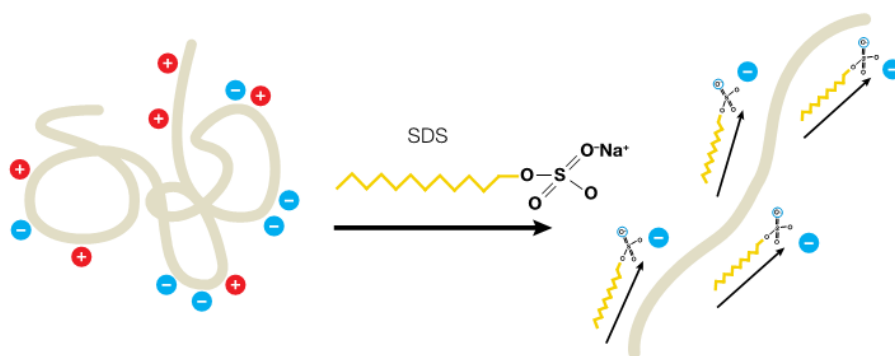
A növényi és állati fehérjék és peptidek vizsgálatában, izolálásában, azonosításában és jellemzésében az elektroforetikus módszerek kiemelkedő jelentőségűek (SZERDAHELYI et al. 1995). Az elektroforézis alapja, hogy az elektromos töltéssel rendelkező oldott anyagok árammal létrehozott elektromos mező hatására elmozdulnak. A minta részecskéi lehetnek elektrolitok vagy makromolekulák is. A részecskék sebességét befolyásolja a részecske tulajdonsága, az elektromos tér, a részecske környezetében lévő anyag és a hordozó tulajdonsága (HAJÓS, IDEI 2001). A molekulák ionizáltsági állapota a futtató puffer pH-jától függ (LUDÁNYI 2011). A hordozó tulajdonsága alapján többfajta elektroforetikus módszer létezik. A peptidek és fehérjék gélelektroforézissel való elválasztása során a molekulák mérete és töltése egyaránt számít. A folyamat sematikus ábráját láthatjuk a **13. ábrán**.



13. ábra: A fehérjék elektroforetikus elválasztásának ábrája poliakrilamid gélen.

Forrás: www.bio-rad.com

Az SDS-PAGE (nátrium-dodecil-szulfát tartalmú gél, másnéven Laemmli-féle SDS-gél) egy olyan elektroforézis módszer, melynek során a fehérjéket molekulatömeg szerint választjuk szét. Ez azért lehetséges, mert a fehérjemolekulákat az SDS negatív töltésfelhővel vonja be, így elvesztik eredeti töltésüket és elsődlegesen csak molekulatömegük szerint vándorolnak. Az SDS hatását figyelhetjük meg a **14. ábrán**.



14. ábra: Az SDS hatása a fehérje konformációjára és töltésére.

Forrás: www.bio-rad.com

2.5.4 Natív poliakrilamid gélelektroforézis

A NATÍV-PAGE abban tér el a SDS-PAGE-től, hogy sem a gél, sem pedig a futtató puffer nem tartalmaz SDS-t. A szétválasztásnál a molekula töltése és tömege számít. Ennél az eljárásnál a minták molekulatömeg szerinti szétválasztása nem lehetséges. Vannak olyan esetek, amikor a denaturációt vagy aggregációt NATÍV-PAGE segítségével jobban ki lehet mutatni.

2.5.5 Kapillár elektroforézis

Biológiai mintáknál előnyös a kapillár elektroforézis használata, mivel jó az elválasztás hatékonysága, reprodukálható, nagy szelektivitással bír, kevés minta elegendő, valamint a beinjektálás előtt minimális a minta előkészítése (ZINELLU et al. 2011). Az eljárás lényege, hogy a pufferral töltött kapillárisban a minta komponensei a tömeg/töltés arány különbségből adódó, látszólagos mozgékonyaságukban mutatkozó különbség alapján válnak el. A minták heterogenitásából adódó különbségek miatt a részecskék más sebességgel vándorolnak, így vándorlási idejük eltérő, és így elkülönülve érnek a detektorhoz (HAJÓS, IDEI 2001).

2.5.6 Differenciális pásztázó kalorimetria

Az élelmiszerkutató területén a zsírok, szénhidrátok és fehérjék fizikai és kémiai tulajdonságainak meghatározására, a változások monitorozására a DSC termoanalitikai technika sikerrel alkalmazható. A legtöbb élelmiszer az aratás, feldolgozás, előkészítés során találkozik a számos hőkezelési eljárás valamelyikével, mint például: a gőzöléssel, sütéssel, pasztörizálással, sterilizálással, hűtéssel vagy a fagyasztással. Ezen technológiai folyamatok hatásainak monitorozása fontos a termékfejlesztés és a minőség-ellenőrzés szempontjából, mivel a kezelések számos esetben megváltoztatják a termékek fiziko-kémiai és funkcionális tulajdonságait. A változások vizsgálatára, modellezésére ezért ez a viszonylag gyors, kevés minta-előkészítést igénylő, szilárd és folyadék vizsgálatára is alkalmas termoanalitikai technika az élelmiszerkutatóban nagyon praktikus (NOLLET 2004b).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 ANYAGOK

A kísérletekhez különböző állati eredetű termékeket választottam ki. Ezen élelmiszer típusok/csoportok adják az EU legnagyobb mennyiségben fogyasztott állati eredetű termékeit (FAO, 2013).



Marhahús

(marhahátszín - *Longissimus dorsi*)

Sertéshús

(karaj - *Longissimus dorsi*)

Csirkehús

(csirkemell – *Pullum pectus*)

Marhavér

Tojás

(teljes tojáslé és fehérjelé)

Tej

(nyers tej)

15. ábra: A kísérletekhez felhasznált állati eredetű termékek.

Forrás: saját szerkesztés (thehealthybutcher.com; consumerreports.org)

A húsminták kiválasztásánál alapvető szempont volt, hogy kötőszövetől mentes, friss homogén színhús legyen. A húsmintákat frissen egy helyi húsboltból szereztem be, a vágást követő napon és a hűtlánc megszakítása nélkül szállítottam a kísérletek helyére. A teljes tojáslé és fehérjelét a Capriovus Kft. (Szigetcsép) biztosította számomra nyers állapotban. A marhavért és a tej mintákat családi gazdaságunkból szereztem be (Csehiné Sikos Mária, Pápa).

3.2 NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁSKEZELÉS

Nyomáskezeléshez a Resato FPU-100-2010 (Resato International B.V, Hollandia) típusú berendezést használtam (**16. ábra**).



16. ábra: Resato FPU-100-2010.

Forrás: <http://huto.etk.szie.hu>

A mintákat egységesen 5 perces nyomáskezelésnek vettem alá a következő nyomásértékeken: 0 MPa (nyomáskezelés nélküli, kontroll minta) 100 MPa, 200 MPa, 300 MPa, 400 MPa, 500 MPa és 600MPa. A tej minták esetében az első két nyomáskezelési értéket az összehasonlíthatóság végett hőkezelésre cseréltem, az alábbi paraméterekkel: pasztörözött (72°C; 42s) és sterilizett (121°C; 15 min). A miogolbin formák relatív arányainak meghatározása során a húsminták esetében a 150 MPa, 300 MPa, 450 MPa és 600MPa-os nyomáskezelési értékekkel dolgoztam. A nyomásközvetítő közeg a cég által forgalmazott Resato PG Fluid volt. A mintákat egységesen nyomás és hőálló polyethylene (Cryovac ©, BB4L) tasakokba csomagoltam légmentesen, átlagos tömegük 250-300 g volt. A minták kezdeti hőmérséklete 1-4°C között volt (a kezelésig olvadó jég között helyeztem el). A berendezés adiabatikus melegedése végett a nyomáskezelés alatt (például csirke hús esetében) ~ 3°C/100 MPa-os melegedéssel kell számolni (de HEIJ et al. 2003). A HHP berendezés a beállított nyomás paramétereket 1-2 percen belül elérte. A kezelési ciklus végén a dekompresszió 30-40 s volt. A nyomáskezelést követően a mintákat hűtve tároltam 4°C-on. A mérések három független minta esetében lettek elvégezve. Az 5. táblázat szemlélteti a vizsgálati mátrixot és a kezelési értékeket:

5. táblázat: Vizsgálati mátrix.

Vizsgálat anyagok		Kezelés					
marhahús (hátszín)	K	100 MPa	200 MPa	300 MPa	400 MPa	500 MPa	600 MPa
sertéshús (karaj)	K	100 MPa	200 MPa	300 MPa	400 MPa	500 MPa	600 MPa
csirkehús (mell)	K	100 MPa	200 MPa	300 MPa	400 MPa	500 MPa	600 MPa
marhavér	K	100 MPa	200 MPa	300 MPa	400 MPa	500 MPa	600 MPa
teljes tojáslé	K	100 MPa	200 MPa	300 MPa	400 MPa	500 MPa	600 MPa
tojásfehérjelé	K	100 MPa	200 MPa	300 MPa	400 MPa	500 MPa	600 MPa
tej (nyers)	K	pasztőrözött (72°C; 42s)	sterilizett (121°C; 15 min)	300 MPa	400 MPa	500 MPa	600 MPa

3.3 FIZIKO-KÉMIAI MÉRÉSEK

3.3.1 Színmérés

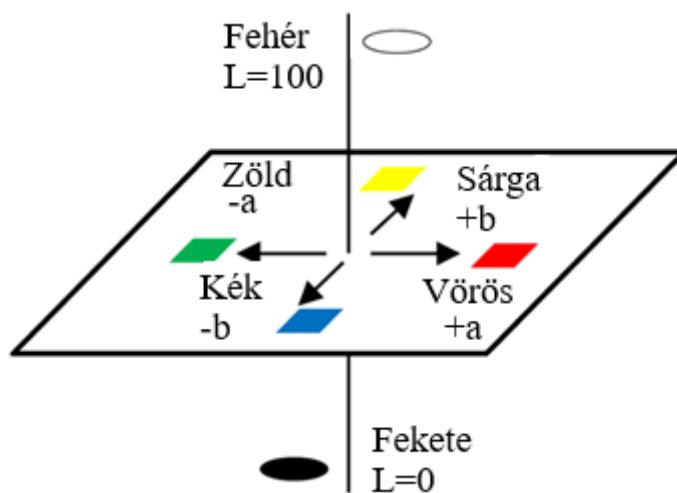
Színmérésemhez MINOLTA CR-400 (Minolta Co. Ltd., Osaka, Japán) típusú színmérő készüléket használtam. A CIELAB rendszer alapját a CIE XYZ rendszer képezi, ahol a minta színét három elsődleges érték határozza meg, az X, Y és a Z, az úgynevezett tristimulusos értékek, melyek a minta azonosításához szükséges elsődleges színek (vörös, zöld és kék) mennyiségei (NOLLET 2004b). Reflexiós színmérés során a készülék által megadott három adat az L^* , a^* és b^* , melyek segítségével lehet következtetni a minták színére és színváltozására. Az L^* a világossági tényező, mely 0 és 100 közötti értéket vehet fel. Az a^* értékei a vörös-zöld színezet, míg b^* a sárga-kék színezet jellemzői. A színmérő készülék **17. ábrán** látható.



17. ábra: MINOLTA CR-400 típusú tristimulusos színmérő készülék.

Forrás: <https://www.konicaminolta.eu>

A méréseket szobahőmérsékleten, hagyományos fényforrás használata mellett végeztem. A mérések és sorozatok elvégzése előtt a színmérő készüléket standard fehér kerámia lappal kalibráltam. Kísérleteim során minden minta esetben 10-10 párhuzamos mérést végeztem el, az eredmények későbbi statisztikai értékelése végett. A színingertér rendszere a **18. ábrán** látható.



18. ábra: CIELAB színingertér.

Forrás: <https://www.researchgate.net> nyomán

A kezeletlen és a kezelt minták közötti teljes színingertér különbség (ΔE^*) számításához az L^* , a^* , b^* értékek átlagát vettem, és a következő egyenlettel számoltam:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5} \quad [7]$$

Ahol ΔL^* , Δa^* , és Δb^* a kezeletlen és a kezelt minták L^* , a^* és b^* értékeinek különbségei (HUTCHINGS 1999).

3.3.2 pH érték meghatározása

A pH mérés során Testo 206-pH2 típusú (Testo AG, Németország) készülékkel végeztem el a méréseimet, mely folyadékok és félkemény anyagok pH mérésére is alkalmas. A készülék a beépített hőmérsékletérzékelő segítségével méri a termék maghőmérsékletét is. A kísérletek során minden esetben három párhuzamos mérést készítettem.

3.3.3 Látszólagos viszkozitás mérése

A látszólagos viszkozitás méréseknél a Rheomat 115 (Contraves, Malajzia) rotációs viszkoziméterrel dolgoztam KONCZ (1992) módosított módszere alapján. A koaxiális hengeres (koncentrikus) viszkozimétereknél a folyadék a két mérőhenger közötti részben van. A mérés előtt minden minta azonos hőmérsékletűre (5°C) lett beállítva. A vizsgált mintákból a 145-ös jelű mérőhengerbe 100 ml-t kimértem, a mérőtestet és a rendszert rögzítettem, majd elindítottam a mérést. Egy független minta esetében három párhuzamos mérés történt. A mérés indítását követően mind a 15 sebességi fokozaton elvégeztem a mérést és az adatokat regisztráltam. A látszólagos viszkozitás (nem newtoni folyadékok esetében) a leolvasott értékből (α) a mérőrendszer állandó ($z = 195,5$) és a modulhoz ($7/7$) és a sebességfokozathoz tartozó sebességgradiensből ($D=57,20$ 1/s) számítható ki.

$$\text{Nyírófeszültség:} \quad \tau = \alpha * z \text{ [mPa]} \quad [8]$$

$$\text{Látszólagos viszkozitás:} \quad \eta = \frac{\tau}{D} \text{ [mPa]} \quad [9]$$

3.4 FEHÉRJE VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

3.4.1 Mintaelőkészítés és a fehérjék hígítása

A húsminták esetében elkülönítettem a miofibrilláris és a szarkoplazma fehérjét, a kinyerési módszert a következő alfejezetben részletezem (3.4.2).

A vér alvadási folyamatának megakadályozása végett alvadás gátlót használtam (EDTA). A vér folyékony és oldott állapota miatt a (3.4.3) fejezetben ismertetett módszert alkalmaztam IEF mérésekor, természetesen az elektroforetikus technikáknál a minta hígítását követően. Hasonló fizikai tulajdonságai miatt a tojáslevek esetében a mintaelőkészítés, valamint a minta hígítását követően közvetlenül mértem.

A tejminták esetében különböző hőkezelési módszerek hatásait is vizsgáltam a HHP kezelés mellett, ennek megfelelően az adott mintákat pasztörizáltam és sterilizáltam. A

pasztörizálás során 72°C és 42 s-nak megfelelő hőegyenértékkel számoltam (MLW RH3 termosztát, Németország és ELLAB TM 9604, Dánia) míg a sterilizálás során 121°C-on, 15 perces hőntartásnak megfelelő hődózissal dolgoztam (STK 133 autokláv).

Az elektroforetikus technikák alkalmazása során minden esetben a tapasztalati 3-5 mg/ml fehérje tartalomra törekedtem, azonban egyes esetekben a jobb gélkép és a jobb kiértékelhetőség végett ettől eltértem.

3.4.2 Miofibrilláris és szarkoplazma fehérjék izolálása

A miofibrilláris és szarkoplazma fehérjék izolálásához KRETZSCHMAR (1995) munkáját vettem alapul. A kontroll és a nyomáskezelt húsmintákat kutter (Sirman, Olaszország) segítségével aprítottam. A kellően homogenizált mintákból analitikai mérlegen bemértem 5 g mintát 50 ml-es centrifugacsövekbe (PP). A mintákhoz 10 ml 0,05 M-os NaCl oldatot adtam, és 3 percig, fél perces szünetekkel homogenizáltam (Ultra-Turrax T25, Ika Werk, Németország) 13 500 fordulatszámon jeges hűtés mellett. A keletkezett homogén szuszpenziót 15 percig 10 000-es fordulatszámon centrifugáltam (Beckman J2-21, USA). A felülúszó tartalmazta a szarkoplazma fehérjéket, melyet a további vizsgálatokig fagyasztószekrényben (-24°C) tároltam.

A miofibrilláris fehérjék kinyeréséhez a csapadékot kétszer 10 ml 0,05 M-os NaCl oldattal kimostam és 15 percig 10 000 fordulatszámon centrifugáltam. A centrifugálás után visszamaradt felülúszót eltávolítottam, és a csapadékhoz 10 ml 0,7 M-os NaCl oldatot adagoltam és 1 percig homogenizáltam (Ultra-Turrax T25, Ika Werk, Németország). Ezt követően 15 percig centrifugáltam, és a keletkezett felülúszót eltávolítottam és szűrtem. A szűrlet tartalmazta a miofibrilláris fehérjék kivonatát, melyet a mérések megkezdéséig fagyasztva tároltam (-24°C).

3.4.3 Izoelektromos fókuszálás (IEF)

Vékonyréteg izoelektromos fókuszálás során elkészítettem az agaróz gélt, mely 12 * 12 cm nagyságú (1,69 g D (-) szorbit; 0,14 g agaróz; 17 ml desztillált víz) volt. A keveréket 30 percig lefedve vízfürdőn forraltam, majd hozzáadtam 834 µl (pH: 5-8) amfolitot (Servalit) és a gél-bond film hidrofíl oldalára öntöttem. A mintákat műanyag felvivőcsík segítségével juttattam a géltre a szilárdulást követően (3 µl). Standardnak ló mioglobint (horse skeletal muscle, Calbiochem, USA) tartalmazó oldatot alkalmaztam. A gél két szélére anód és katód oldattal átitatott szűrőpapír csíkot helyeztem. Az anód (+) oldat 1%-os H₂SO₄ oldat, (H₂SO₄ 98%-os) a katód (-) oldat 2%-os etiléndiamin oldat. Az elválasztást 10°C-on végeztem 150 percig (Pharmacia ECPS 3000/150, Svédország). Az izoelektromos fókuszálás során használt módszerhez HAJÓS és DELINCÉE (1983) munkáját vettem alapul. A feszültség paramétereinek változtatását a 6. táblázat mutatja.

6. táblázat: Izoelektromos fókuszálás beállított feszültség paraméterei.

Feszültség (V)	Idő (perc)
50	20
100	10
200	20
400	30
600	20
800	30
1000	20

Az elválasztást követően a gél un. pszeudoperoxidáz vagy másnéven mioglobin festésnek vettem alá. A folyamat során a pI-juk alapján elvándorolt fehérjék barnás-vörös színezetet vesznek fel, mivel a hemfehérjék (hemoglobin és mioglobin) a hidrogénperoxid jelenlétében katalizálják az ortodianizidin oxidációját (BAUER, HOFMANN 1987). A festéshez használt oldat összetevői:

- 9 ml O-dianizidin oldat
- 21 ml foszfát puffer (pH 5,0)
- 600µl 30%-os H₂O₂

Fehérje kinyerési eljárások az izoelektromos fókuszáláshoz:

A húsminták esetében HAJÓS és DELINCÉE (1983) munkáját vettem alapul. A vér vérszérumra és alakos elemekre (vörösvértetekre) való szétválasztása során 10 µl vérhez 40 µl 0,1 M-os NaCl oldatot adagoltam, melyet pár másodperces homogenizálás követett (TechnoKartell, Olaszország). Ezt követően a mintát 3 percig 6500 fordulaton centrifugáltam (Hettich Mikro 120, Németország). A keletkező felülúszó alkotta a vérszérumot. A csapadékhoz 40 µl 0,065 M-os KCl oldatot adagoltam. 5 percig homogenizáltam, majd 5 percig 13 000 fordulaton centrifugáltam. A keletkező felülúszó alkotta az alakos elemeket (HAMILTON, KICKLER 2007).

3.4.4 SDS-poliakrilamid gélelektroforézis (SDS-PAGE)

Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis során a fehérjék molekulatömegük szerint válnak el. Az elektroforézis során a vertikális rendszerben (acrylamid/bis-acrylamid, 830×730×1.0 mm) készített gélekkel dolgoztam, LAEMMLI (1970) módosított módszerével. Az elválasztást a Bio-Rad (Bio-Rad mini Protein Tetra System, Bio-Rad, USA, **19. ábra**) készülékén végeztem el. A főgél 15%-os míg a gyűjtőgél 6%-os akrilamid gél volt, a használt vegyszerek mind analitikai tisztaságú vegyszerek voltak. A használt molekula standardok (Precision Plus Protein Standards All Blue and Dual Xtra, Bio-Rad, USA) molekulatömege 250–10 kDa és 250-2 kDa között volt. A minta kivonatokat Laemmli (2×Laemmli sample buffer and 2-mercaptoethanol, Bio-Rad, USA) mintaoldóval hígítottam.

A 15%-os főgél összetétele:

- 6 ml 30 % -os akrilamid/ bis akrilamid oldat (29:1)
- 2,7 ml 2 M-os TRIS (trisz-(hidroxi-metil)-amino-metán) puffer, pH 8,8
- 75 µl SDS oldat (10%-os nátrium-dodecil-szulfát)
- 3,09 ml desztillált víz
- 9 µl TEMED (N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin)
- 75 µl APS oldat (ammónium-peroxi-diszulfát)

A 6%-os gyűjtőgél összetétele:

- 0,75 ml 30 % -os akrilamid/ bis akrilamid oldat (29:1)
- 495 µl 0,5 M-os TRIS (trisz-(hidroxi-metil)-amino-metán) puffer, pH 6,8
- 42 µl SDS oldat (10%-os nátrium-dodecil-szulfát)
- 2,4 ml desztillált víz
- 5 µl TEMED (N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin)
- 38 µl APS oldat (ammónium-peroxi-diszulfát)

Futtató puffer összetétele szerint 3,03 g TRIS, 14,4 g glicin és 1 g SDS 1000 ml-re vetítve. A jelölő festék a futtató pufferből és brómfenolkék keverékéből állt.

A mintát és a mintaoldószert 2 percig forraltam, majd a lehűtött 10 µl mintát vittem fel a géltre. Az elválasztást átlagosan 45-60 percig konstans 200 V-on végeztem. Az elválasztást követően fixálás, mosás, festés és újbóli mosás következett. A fixálás 20%-os TCA (tiklór-esetsav) oldatban

végeztem 20 percig. Ezt követte a PAGE-gélmosó (50 ml desztillált víz; 50 ml ecetsav; 100 ml etanol). A gyors kékfestés során 0,2%-os Coomassie Brilliant Blue (R250, Bio-Rad) festéket használtam:

- 0,2 g Coomassie Brilliant Blue (R250, Bio-Rad)
- 50 ml desztillált víz
- 10 ml ecetsav (98%)
- 50 ml etanol

A festés időtartama 15-20 perc. A felesleges festék 10%-os ecetsav oldattal távolítható el. Az eredményeket a Gel Doc XR+ System (Bio-Rad) berendezéssel dokumentáltam. A gélek kiértékelését és a denzitométeres méréseket Quantity One (Bio-Rad) és Image Lab 5.1 (Bio-Rad) programokkal végeztem el.



19. ábra: Bio-Rad mini Protein Tetra System.

Forrás: www.bio-rad.com

3.4.5 Natív-poliakrilamid gélelektroforézis (NATIV-PAGE)

A natív-elektroforézis során a molekulák vagy részecskék vándorlását csupán a komponens töltés/tömeg aránya szabja meg (LUDÁNYI 2011). Így a molekula saját tulajdonságai érvényesülhetnek, zavaró vagy befolyásoló hatásoktól mentesen. Mivel a részecske, vagy a vizsgált fehérje natív állapotban van, így a technológiából származó módosítások vagy befolyásoló hatások jobban kimutathatók (SZERDAHELYI 2000). A natív fehérjéket a 3.3.3-as fejezetben

ismertetett Laemmli-féle gérendszerben, de detergens és kaotróp ágens kizárásával választottam el (WALL et al. 1995). A vizsgálatok során használt hígítások megegyeznek, azonban a mintaoldó, az alkalmazott futtató puffer és szacharóz keveréke (0,2 g/ml). Az elválasztást átlagosan 70 percig konstans 200 V-on végeztem.

3.4.6 Összpigment tartalom és mioglobin formák meghatározása

A húsminták esetében a mintamátrix nagysága miatt a mioglobintartalom és a mioglobin formák meghatározása során más nyomáskezelési értékeket használtam, remélve, hogy a minták közötti különbségek szemléletesebbek lesznek. A minták megoszlása: 0 MPa (nyomáskezelés nélküli, kontroll minta), 200 MPa, 400 MPa, 600 MPa-on kezelt.

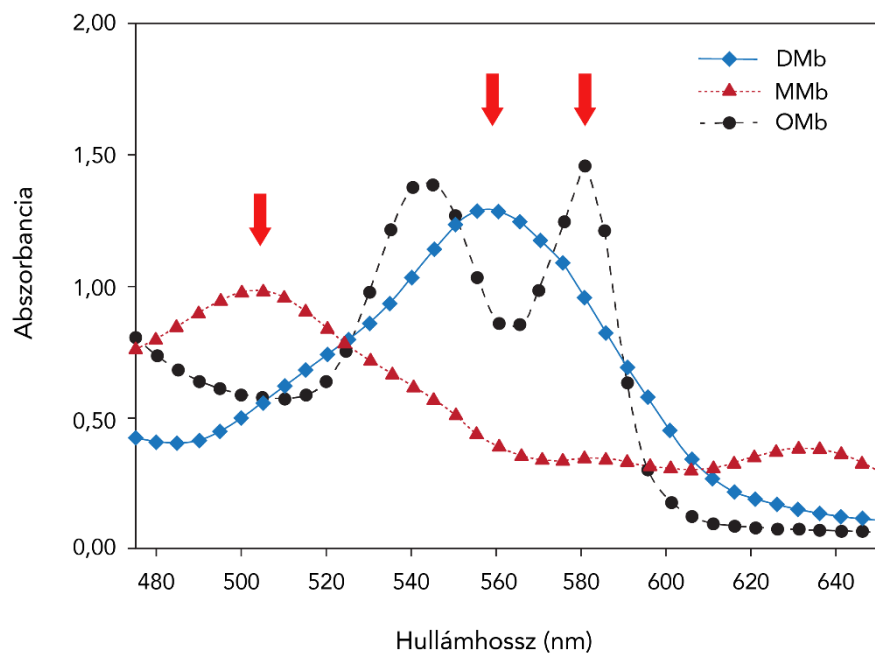
Az összpigment tartalom meghatározása során a hús hem tartalmú komponenseiből a hem részt szerves oldószerrel kivontam, majd hemin-hidroklorid formában spektrofotometriásan meghatároztam (ZSARNÓCZAY 2011). A vizsgálandó mintákat kutter (Sirman, Olaszország) segítségével aprítottam és homogenizáltam, majd 10 g-ot bemértem analitikai pontossággal. A homogenizált mintához 3 ml desztillált vizet és négy részletben 40 ml acetont adtam hozzá, majd összeráztam. Ezt követően a szuszpenzióhoz hozzáadtam 0,5 ml koncentrált sósavat. A reakció ideje alatt (120 perc) a mintákat sötétben tároltam. Ezt követően a mintákat leszűrtem. 20 ml mintához 1 ml triklór-etilént adagoltam. Desztillált víz vak ellenében, 530 nm hullámhosszon mértem az abszorbanciát (Hitachi U-2900 spektrofotométer, Japán). A kalibrációs görbe felvételéhez 5 mg hemin-hidrokloridot 50 ml-es mérőlombikba mértem, majd acetont, vizet, sósavat 40:10:0,5 arányú eleggyel jelre töltöttem, majd további 0,5 ml elegyet adtam hozzá. A 40 ml hemin-hidroklorid-os oldathoz 2 ml triklór-etilént adagoltam. Ezután hígítási sort készítettem: az oldatból 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 és 10,0 ml –ert pipettáztam, melyet 10 ml –re egészítettem ki az eleggyel. Ezt követően desztillált víz vak ellenében 530 nm hullámhosszon mértem az abszorbanciát. Kalibrációs egyenes segítségével végeztem el a szükséges számításokat, melynek értelmében a hús mioglobin tartalma:

[10]

$$\text{Mioglobin} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Abszorbancia} * 17000}{\text{Bemérés}(g) * 0,245 * 652}$$

A mioglobin formák meghatározása során TANG és munkatársai (2004) munkáját vettem alapul. A húsmintákból 2 g-ot analitikai pontossággal bemértem és hozzáadtam 20 ml 4°C-os 40 mM-os foszfát puffert (pH 7,4). A szuszpenziót 10 000-es fordulatszámon 10 másodpercig

homogenizáltam (Ultra-Turrax T25, Ika Werk, Németország), majd 7000-es fordulatszámon 30 percig centrifugáltam (Beckman J2-21, USA) 4°C-os hőmérsékleten. A felülúszót leszűrtem, és foszfát puffer vak ellenében 200-800 nm hullámhossz tartományban mértem az abszorbanciát. A mioglobint formák maximális elnyelésénél (503 nm, 557 nm és 582 nm) meghatároztam az abszorbanciát (**20. ábra**), és az egyenletek segítségével számoltam a mioglobin oxidációs formák százalékos eloszlását (TANG et al. 2004).



20. ábra: Deoximioglobin (DMb), metmioglobin (MMb) és oximioglobin (OMb) abszorpciós spektruma. Az ábrán 525 nm-nél látható az izobesztikus pont, valamint a nyilaknál az abszorpciós maximumok. A deoximioglobin abszorpciós csúcsa 557 nm, a metmioglobiné 503 nm, míg az oximioglobiné 582 nm (TANG et al. 2004 nyomán).

Egyenletek:

$$\% MMb = (-0,159R_1 - 0,085R_2 + 1,262R_3 - 0,520) * 100 \quad [11]$$

$$\% DMb = (-0,543R_1 + 1,594R_2 + 0,552R_3 - 1,329) * 100 \quad [12]$$

$$\% OMb = (0,722R_1 - 1,432R_2 - 1,659R_3 + 2,599) * 100 \quad [13]$$

$$R_1 = \frac{A_{582}}{A_{557}} \quad [14]$$

$$R_2 = \frac{A_{557}}{A_{525}} \quad [15]$$

$$R_3 = \frac{A_{503}}{A_{525}} \quad [16]$$

3.4.7 Imidazol dipeptidok meghatározása (Kapillár elektroforézis)

Az imidazol dipeptidok kinyerése a nyers kontroll és HHP kezelt húsmintákból történt marhahátszín esetében MARCOLINI és munkatársai (2015) módosított munkája alapján. A homogenizálást követően 5,0 g húsmintát kimértem. A mintához 10 ml CE tisztaságú vizet adagoltam. Ezt követően a mintákat 2x2 percig jégűtés mellett homogenizáltam (Ultra-Turrax T25) segítségével. A homogén szuszpenziót 10 000-es fordulatszámra 30 percig centrifugáltam 4 °C-on (Beckman, J2-21). A kapott felülúszó részt szűrőpapír segítségével leszűrtem és a szűrletet vízfürdőn (100 °C-on) 10 percig forraltam. A forralás végeztével az oldatot jeges vízfürdőn hűtöttem le. A szobahőmérsékletűre lehűlt oldatot 10 percig 5000 fordulatszámra centrifugáltam és a centrifugálás után visszamaradt felülúszót szűrőpapír segítségével leszűrtem. A kapott szűrlet mennyiségét a további számítások végett feljegyeztem.

A karnozin és anszerin mennyiségeinek meghatározását a Bio Focus 2000 (Bio-Rad, USA) típusú kapillár elektroforézis berendezésen végeztem. Az előzőleg kivont húskivonatból 20 µl-t kimértem, és hozzáadtam 80 µl puffert (2,5 pH; 100 mM sodium phosphate). A berendezésben a beállított hőmérsékletnek minden esetben 38 °C. A mosási programhoz 0,1 M-os NaOH oldatot használtam. A zavartalan működéshez a mintáknak buborékmentesnek kellett lenniük. A mérés pontos időtartama 10 perc, ez alatt az idő alatt a berendezés felvette az elektroforetogramokat, melyeket a későbbiek során kiértékeltem.

3.4.8 Termodinamikai vizsgálatok (DSC)

A kontroll és a nyomáskezelt minták termodinamikai vizsgálata során a Micro DSC III (Setaram, Franciaország) típusú mikrokalorimétert használtam (**21. ábra**) A referenciaminta desztillált víz volt. A mintákat 20-95 °C közötti hőmérséklet tartományban mértem, 1,5 °C/perc felfűtési sebesség mellett. Ugyan állati termékek esetében (pl. vér) számos esetben 3 °C/perc felfűtési sebességet alkalmaztak, a pontosabb eredmények érdekében választottam a szakirodalomtól eltérő sebességet (DÁVILA et al. 2007). A bemért minta mennyiség minden esetben 778±10 mg. A kapott hőáramgörbék kiértékelését Callisto Processing 1.706 programmal végeztem el.



21. ábra: Micro DSC III mikrokaloriméter (Setaram, Franciaország).

Forrás: saját felvétel

3.5 STATISZTIKAI MÓDSZEREK

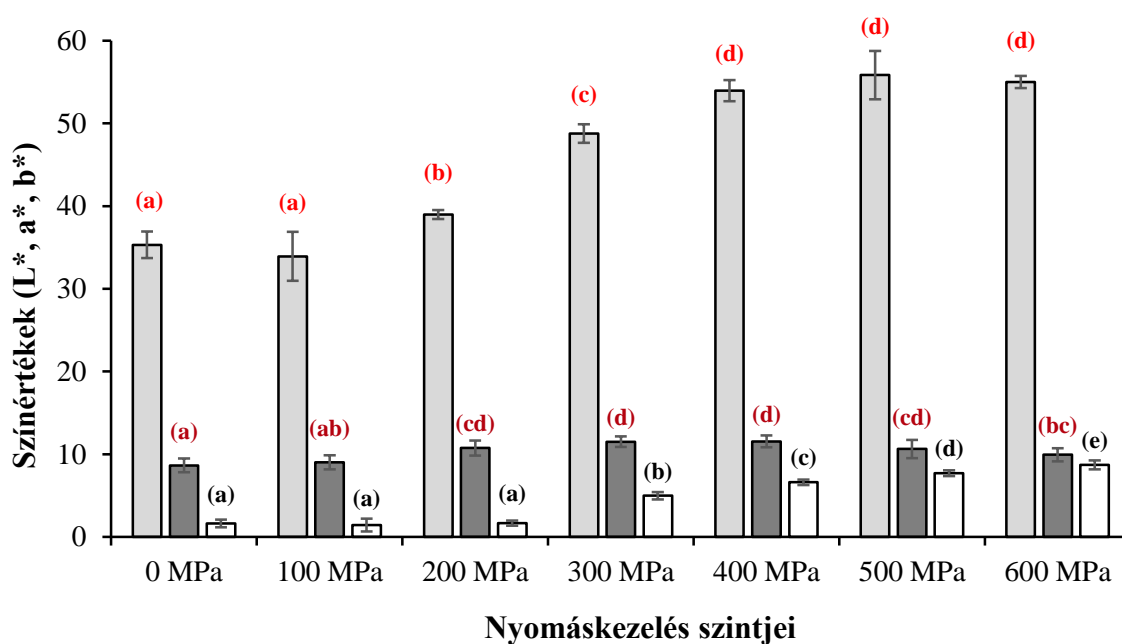
Az eredmények statisztikai kiértékelését egytényezős varianciaanalízis (One-way ANOVA) segítségével végeztem el az SPSS program használatával (IBM SPSS. Ver. 20, SPSS Inc. Chicago, USA), minden esetben 95%-os konfidencia intervallum megadásával. A magyarázó modellek közés tartozó ANOVA olyan módszer, mely egy vagy több független változó hatását vizsgálja egy vagy több függő változóra (SAJTOS, MITEV 2007). Ahhoz, hogy arról is információt kapjunk, hogy a nyomáskezelésben részesült csoportok között van-e szignifikáns különbség a Tukey-tesztet végeztem el, mely kellően szigorú és jobban megbízható, mint más post hoc tesztek (pl. LSD). A többszörös középérték összehasonlító tesztek (pl. Tukey) másik nagy előnye, hogy nem csak páronkénti összehasonlítás végezhető velük, hanem úgynevezett homogén csoportok is képezhetők a kezelések szintjeiből.

4. EREDMÉNYEK

4.1 MARHAHÁTSZÍN HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI

4.1.1 Marhahátszín színmérés eredményei

A színmérések eredményeit a **22. ábra** szemlélteti, ahol az oszlopok tetején lévő sávok jelölik a szórást, míg a zárójelbe helyezett betűkódok a minták egymáshoz képesti szignifikancia állapotát. Az L^* világossági szintényező vizsgálata esetében igen jól megfigyelhető, hogy a 100-200 MPa nyomáskezelés még nem okozott számottevő változást az L^* értékeiben, azonban a 300-600 MPa nyomáskezelések már igen. A minták színezete jelentős mértékben világosabb lett. Az L^* értékeiben 300 MPa nyomáskezelés hatására bekövetkező több mint 30%-os növekedés egyfajta határértéknek is tekinthető (CSEHI et al. 2016b). A 400, 500 és 600 MPa-on nyomáskezelt minták esetében lényegében már nem látunk nagy eltéréseket a minták L^* értékeit illetően. Ha megnézzük az ábra alatt található, a minták kezelését követően készült fényképes összeállítását, akkor a leírtak az emberi szem számára is jól észrevehetők.



22. ábra: Marhahátszín színmérésének eredményei és a minták fényképes bemutatása.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d), (e) csoport besorolások mutatják.

□ L^* ■ a^* □ b^*

Az a* vörös színtényező értékeinél 200 MPa feletti nyomáskezelés esetében a kontroll mintához képest szignifikáns eltérés volt kimutatható, azonban látható, hogy az egyes csoportok közötti szignifikáns különbség nem minden esetben áll fenn, tehát egyes nyomáskezelési értékek hasonló lefutásúak. A b* sárga színtényező esetében a 300 MPa-os nyomáskezelés hatására erős növekedés következett be az értékekben, majd ez tovább növekedett a magasabb nyomáson végzett kezelések hatására, vagyis a minták színezete egyre inkább a sárga színtartomány irányába mozdult el.

A varianciaanalízis eredménye szerint a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés szignifikánsan befolyásolta mind az L*, a* és b* színtényezőök változását a kezelések következtében (P<0,005 minden esetben).

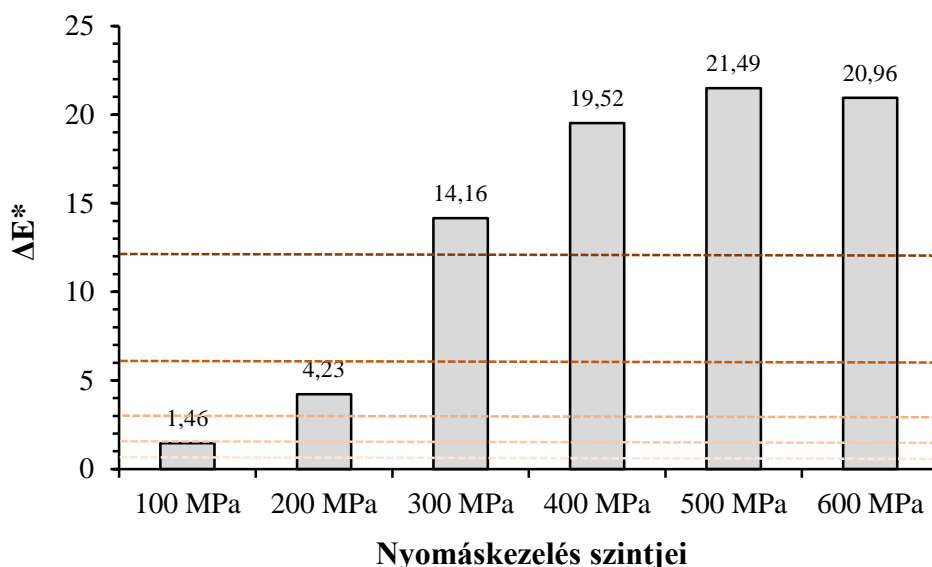
7. táblázat: Marhahátszín minták színértékeinek átlag és ΔE^* eredményei.

Nyomáskezelés szintjei [MPa]	L*	a*	b*	ΔE^*
0	35,32 ± 1,59	8,64 ± 0,84	1,64 ± 0,45	0
100	33,92 ± 2,96	9,02 ± 0,85	1,44 ± 0,79	1,46
200	38,98 ± 0,55	10,76 ± 0,91	1,68 ± 0,29	4,23
300	48,78 ± 1,12	11,51 ± 0,64	4,99 ± 0,44	14,16
400	53,96 ± 1,28	11,55 ± 0,72	6,62 ± 0,32	19,52
500	55,84 ± 2,09	10,65 ± 1,10	7,70 ± 0,34	21,49
600	55,00 ± 0,72	9,94 ± 0,80	8,71 ± 0,54	20,96

■ szignifikáns változás 95%-os valószínűségi szinten ■ alig vehető észre ■ jól látható ■ nagy

A kontroll mintához képesti szignifikáns eltérések a 7. táblázatban szürkével jelölve láthatók. A Tukey-teszt elvégzésével az L* és a* esetében négy homogén alcsoportot kaptunk, míg a b* esetében ötöt, melyek betűjelei (a, b, c, d és e) az oszlopok tetején láthatók. Az egyes csoportok között szignifikáns a különbség, míg egy-egy csoporton belül az eredmények között nincs szignifikáns különbség (pl. 400-500-600 MPa nyomáskezelések L* értékei között P=0,068, így homogénnek tekinthetők az ebben a csoportban lévő eredmények). Elmondható, hogy egy-egy eredmény több csoporthoz is tartozhat a besorolások szerint.

A számított ΔE^* színínger-különbség értékei az 7. táblázatban osztályozva lettek az emberi szem szempontjából. Megállapítható, hogy az érzékelt különbség egyik esetben sem esett a „nem észrevehető” kategóriába. Az adatok a 100 MPa nyomáskezelés esetében az „alig észrevehető”, 200 MPa nyomáskezelés hatására a „jól látható” kategóriába estek, míg a 300 MPa-os, és az a feletti nyomáskezelési szintek esetében az érzékelt különbségek a „nagy” kategóriába tartoznak. Ezen adatok kiugró voltát a **23. ábra** szemlélteti a legjobban.



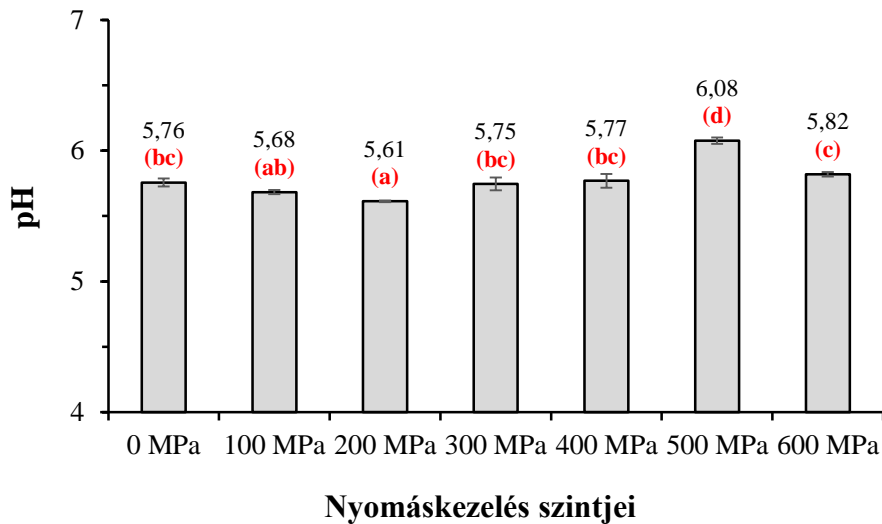
23. ábra: A nyomáskezelt marhahátszín minták színindex-különbségeinek ábrázolása a kontroll mintához képest. A szaggatott vonalak az emberi szem számára érzékelhető eltéréseket, kategóriákat mutatja:

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

4.1.2 Marhahátszín pH mérés eredményei

A **24. ábra** tartalmazza a nyomáskezelések hatására bekövetkező pH értékek változását. Alacsony szintű nyomáskezeléseket (100-200 MPa) alkalmazva valamelyest csökkent a marhahátszín pH értéke, míg magasabb szintű nyomáskezelések hatására növekedés volt tapasztalható. Ez a növekedés az 500 MPa kezelést alkalmazva volt a legmagasabb, pH=6,08 értékkel. MA és LEDWARD (2004) is a nyomáskezelés hatására fellépő kismértékű pH növekedésről számol be nyers marhahátszín esetében. Megállapította, hogy mind a hőkezelés mind pedig a nyomás is képes a pH emelésére, azonban e hatások nem additívek.

A pH emelkedését annak tulajdonítják, hogy a húsban rendelkezésre álló savas csoportok csökkennek a fehérjék denaturációval járó konformációs változások eredményeként (MCARDLE et al. 2010).



24. ábra: Kontroll és nyomáskezelt marhahátszín minták pH eredményei.

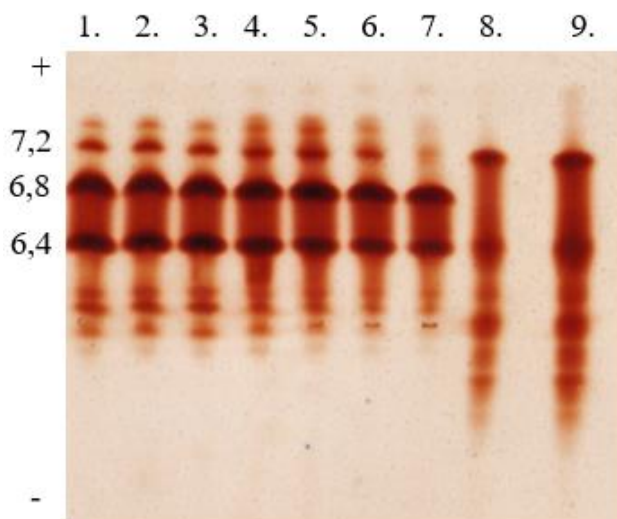
A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d) csoport besorolások mutatják.

A színméréshez hasonlóan elvégezve a statisztikai elemzést megállapítható, hogy a nyomáskezelés itt is szignifikánsan befolyásolta a minták pH értékét a kontroll mintához képest ($P < 0,005$). Látható, hogy itt nagyobb az átfedés az egyes homogén csoportok között, vagyis kevesebb esetben fordul elő szignifikáns eltérés az egyes csoportok között.

4.1.3 Marhahátszín izoelektromos fókuszálás eredményei (IEF)

Az elektroforetikus módszereket a húskutatásban elsősorban idegen fehérjék kimutatására, valamint az állatfajok azonosítására használják. Az izomfehérjéknek az egyes ipari technológiák hatására bekövetkező, és a húsminőséggel összefüggő változásainak kimutatására és nyomonkövetésénél is sikerrel alkalmazzák (SZERDAHELYI 2000).

A vizsgálatok során a hem-fehérjék, valamint a nyomáskezelés hatásának kimutatására izoelektromos fókuszálást használtam specifikus pszeudó-peroxidáz festékkel. Az IEF során a fehérjék natív állapotban vannak, így az esetleges változásokat könnyebben ki lehet mutatni. A gélben az amfolittal kialakított pH gradiens pH 5-től pH 8-ig terjedt. Amint a **25. ábrán** is látható, a hem-fehérjék a szarvasmarhára jellemző fő mioglobinsávoknál, izoelektromos pontoknál mutathatók ki specifikus festéssel 7,2; 6,8 és 6,4. (HOFFMANN, BLÜCHEL 1986).



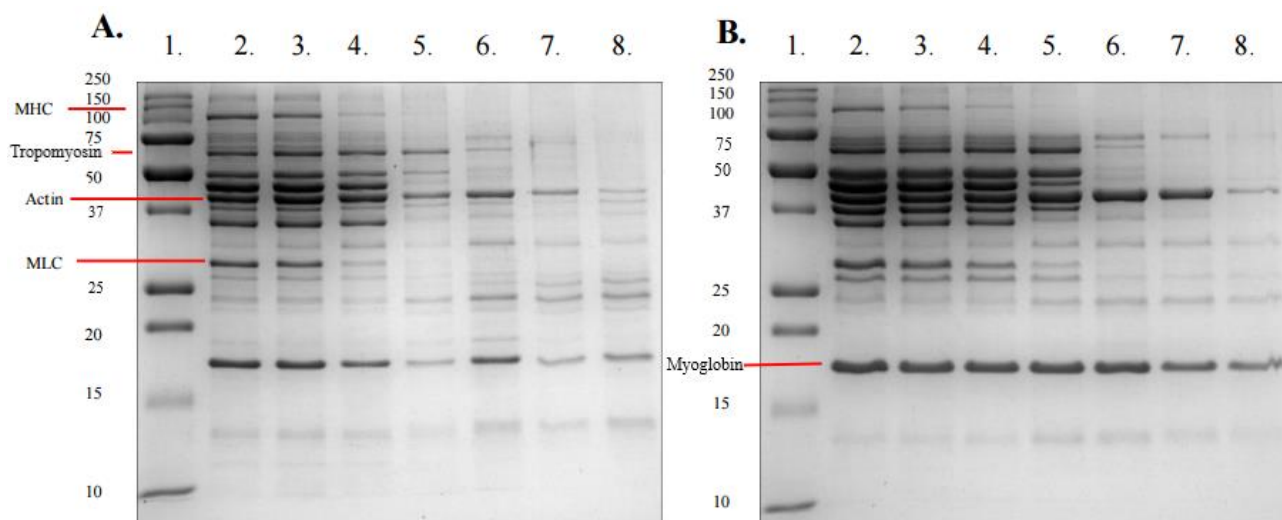
25. ábra: A kontroll és a nyomáskezelt marhahátszín minták IEF eredményei,

(1. 0 MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa, 8-9. ló mioglobinsztenderd., A gélben kialakított pH gradiens pH 5-től pH 8-ig terjed. Az ábra bal oldalán láthatók a szarvasmarhára jellemző fő mioglobinsávok, izoelektromos pontok).

Az IEF eredményein látható, hogy a marhahátszín esetében a mioglobin denaturációja csak nagyon kis mértékű - és az is főként a 600 MPa-os nyomáskezelésnél figyelhető meg – mivel az aktivitását elvesztett (denaturált) mioglobin specifikus pszeudo-peroxidáz festékkel nem festhető. Ezen felül látható, hogy 300 MPa felett megjelennek új sávok, (a mioglobin sávjai felett), melyek valószínűsíthetően bomlástermékek. A bomlástermékek megjelenése, valamint a kismértékű denaturáció feltehetően kapcsolatban áll a marhahátszín színváltozásával is, mely további vizsgálati eredményeit a 4.1.6 fejezetben részletezem.

4.1.4 Marhahátszín SDS-PAGE eredményei

A fehérjék oldhatósága, annak vizsgálata kiemelt fontossággal bír, mert az oldhatóság változása befolyásolja a hús funkciós tulajdonságait és minőségi paramétereit (JOO et al. 1999). A nyomáskezelés hatására a húsban lévő fehérjék (szarkoplazma és miofibrilláris) oldhatósága megváltozik (MARCOS et al. 2010). Az oldhatóság megváltozása mögött feltehetően a nyomáskezelés hatására bekövetkező denaturáció és aggregáció áll (GALAZKA et al. 2000; IWASAKI et al. 2006). Azonban a fehérjékben végbemenő változások számos környezeti körülménytől függenek, melyek még nem teljesen tisztázottak (BUCKOW et al. 2013). Ezen felül az egyes fehérjék érzékenysége függhet az adott állatfajtól valamint az egyes testtájaktól is. Marhahátszín vizsgálataim SDS-PAGE eredményei a 26. ábrán láthatók.



26. ábra: Kontroll és nyomáskezelt marhahátszín SDS-PAGE elválasztási képei,

A: miofibrilláris fehérjék, B: szarkoplazma fehérjék,

(1. Sztenderd, 2. 0 MPa, 3. 100 MPa, 4. 200 MPa, 5. 300 MPa, 6. 400 MPa, 7. 500 MPa, 8. 600 MPa).

A **26. ábra** elő részén (A.) látható a marhahátszín miofibrilláris fehérjéinek elválasztási képe. Ezen fehérjék felelősek a miofibrilláris szerkezetért, hozzájárulnak az izomrostok folytonosságához és erősségéhez. A miofibrillum szerkezeti gerincét a miozin és az aktin adja (TOLDRÀ, REIG 2012).

Legnagyobb mennyiségben 54%-át alkotó fehérjéje a miozin. Két nehézlánc (MHC ~ 200 kDa) és négy könnyűlánc van (MLC ~20 kDa). Az aktin molekula tömege 42 kDa, a tropomiozin molekulatömege pedig (~70 kDa) (BELITZ, 2009). Fontos szabályozó fehérjék még a tropomiozin és troponinok (C, T, I) melyeknek szerepük van az izom összehúzódásában és elernyedésében. A titin és nebulin az izomsejtek integritásához járulnak hozzá (TOLDRÀ, REIG 2012).

Az ábrán az első oszlop a molekula sztenderd, mely 250 kDa-tól 10 kDa-ig teszi lehetővé a fehérjék azonosítását. Látható a miofibrilláris fehérjék csoportjában található miozin könnyű (MLC) és nehéz láncainak (MHC) legnagyobb része a HHP kezelés hatására aggregálódott és dentaurálódott, miközben az aktint még 600 MPa nyomáskezelés követően (ugyan nagyon kis mértékben) de ki lehetett mutatni. A denzitométeres adatok alapján az aktin intenzitása a kontroll mintához képest 84%-ot csökkent, míg a miozin nehéz láncai (MHC) 600 MPa nyomáskezelés követően már nem voltak detektálhatók. Az alacsony nyomáskezelési értékek (100 MPa és 200 MPa) esetén a miofibrilláris fehérjék intenzitása hasonló volt a kontroll mintáéhoz, azonban a nagy nyomáskezelési értékek (300 MPa vagy nagyobb) esetében az az intenzitás 50%-kal csökkent, ezért a 300 MPa-t ebben az esetben egyfajta küszöbértéknek tekinthetjük (CSEHI et al. 2016b).

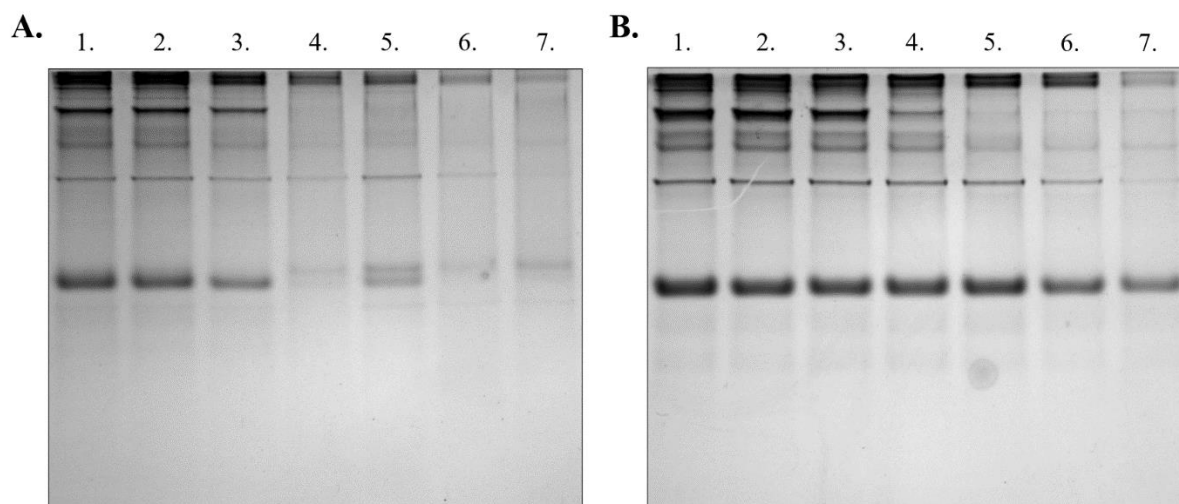
A **26. ábra** (B.) felén láthatjuk a marhahátszín szarkoplazma fehérjéinek SDS-PAGE elválasztási képét. A szarkoplazma fehérjék csoportjába tartozik a legtöbb glikolitikus

folyamatban található enzim és a mioglobin (TORNBERG, 2005). A szarkoplazma fehérjék csoportjába tartozó fehérjék legtöbb része vízben oldható, és az izomban lévő összes fehérje 30-35%-át adják. A fő szarkoplazma fehérjéje a mioglobin (TOLDRÀ, REIG 2012), mely a húsok színét adja, így élelmiszeripari szempontból kiemelten fontos.

A géliképen látható, hogy a kontroll mintához képest a 100, 200, 300 és 400 MPa-os nyomáskezelés nem okoz változást a mioglobin elektroforetikus elválasztási képében. Nagyobb nyomásértékek alkalmazásakor 500 és 600 MPa-nál a denzitométeres adatok alapján a mioglobin intenzitása csökken. Az 500 MPa-nál a kontroll mintához képest 30 %-kal csökken, míg 600 MPa-nál 45 %-ot csökken az intenzitása. Látható, hogy a kezelés hatására nincs teljes denaturáció, sőt a legtöbb fehérjéhez viszonyítva a mioglobin a nyomáskezelést „jól” bírta. Ebből arra is lehet következtetni, hogy a nyomáskezelés hatására bekövetkező elszíntelenedés mögött nem csupán csak a denaturáció áll, azonban a denaturáció eltérő mértékben hozzájárulhat a hús színváltozásához. Ezen megállapítást támasztja alá MARCOS és munkatársainak (2010) megállapítása, melynek értelmében a szarkoplazma fehérjék nyomás indukált denaturációja bizonyos mértékben befolyásolhatja a marhahús színváltozását. A kezelés hatására a friss húsokban lévő mioglobinban konformációs változások mennek végbe, mint például a globin denaturációja vagy a vasion oxidációja, mely a hús elszíntelenedéséhez vezethet (TOLDRÀ et al. 2008). Tanulmányok kimutatták, hogy a hús elszíntelenedése szorosan kapcsolódik a mioglobin spontán változásához is (BEKHIT et al. 2003). Összességében elmondható, hogy a marhahátszín miofibrilláris és szarkoplazma fehérjéinek 300 MPa feletti nyomáskezelése a fehérjék nagyobb részének már részleges, vagy teljes denaturáció/aggregációt okoz. Ettől eltérő eredményt, csak a mioglobinnál volt tapasztalható.

4.1.5 Marhahátszín NATIV-PAGE eredményei

A marhahátszín nem denaturáló közegben végzett vizsgálata során hasonló eredményt kaptam, mint az SDS-PAGE vizsgálatok során (**27. ábra**). Megállapítható, hogy a legtöbb miofibrilláris (A.) és szarkoplazma (B.) fehérje natív állapotának elvesztése a nagyobb nyomáskezelési értékeken következett be, mivel ott a fehérjék már nem voltak oldatba vihetők, így nem jelentek meg a gélen. A szarkoplazma fehérjék (B.) NATIV-PAGE elválasztási képén látható markáns fehérje sáv a migrációs tulajdonságok és mintázat alapján a mioglobin.



27. ábra: Kontroll és nyomáskezelt marhahátszín NATÍV-PAGE elválasztási képei, (A: miofibrilláris fehérjék, B: szarkoplazma fehérjék)

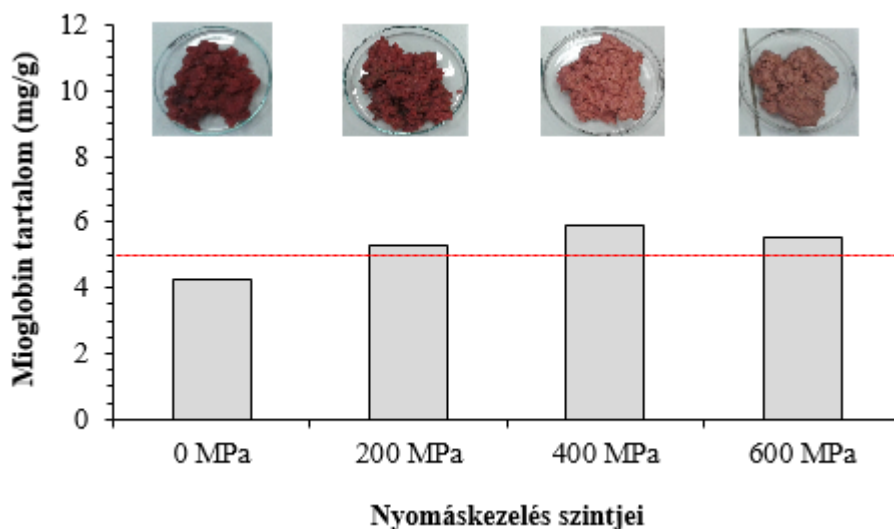
1. 0 MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa

Megfigyelhető, a mioglobinnal szemben - az SDS-PAGE vizsgálatokhoz hasonlóan - még az 500 és 600 MPa-os nyomáskezelt értékeknél is a fehérje egy része natív állapotban marad, mely szintén alátámasztja, hogy a mioglobin változása a nyomáskezelt következtében nem csupán a denaturáció eredménye.

4.1.6 Marhahátszín összpigment tartalmának és mioglobin formáinak eredményei

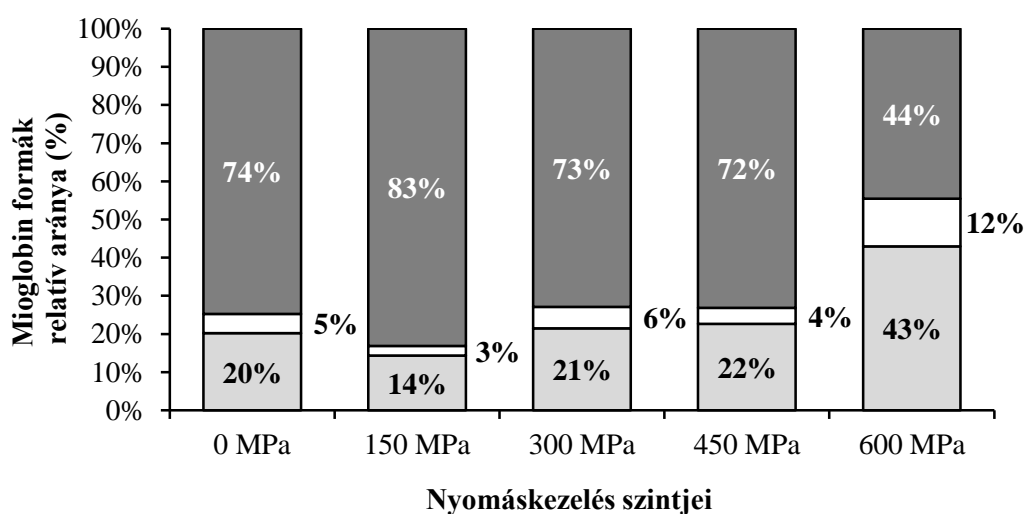
A nagy hidrosztatikus nyomáskezelt hatására, 4.1.1 fejezetben ismertetett eredmények alapján a húsok elszíntelenedése, kifakulása következik be. Az IEF, SDS-PAGE valamint a NATÍV-PAGE eredmények alátámasztották, hogy a marhahátszín elszíntelenedésben szerepet játszik a mioglobin denaturációja, azonban a folyamat összetettsége végett más tényezők is befolyásolnak. Az alábbi fejezetben a vizsgált marhahátszín összpigment tartalmának eredményei és mioglobin formáinak relatív aránya kerül bemutatásra, annak érdekében, hogy az adott folyamatról több ismeretanyag álljon rendelkezésre. Az eredmények szemléltetésére készített fényképek a *Mellékletek* fejezetben az **M2a** és **M2b.ábrákon** tekinthetők meg.

A friss hús színét a három mioglobin forma relatív aránya határozza meg: a mioglobin (Mb, Fe²⁺), oxymoglobin (OMb, Fe²⁺) és metmioglobin (MMb, Fe³⁺)(NOLLET 2004a). A mioglobin koncentráció sok tényezőtől függhet, ilyen például az állat kora vagy a vizsgált testtáj típusa is (TOLDRÀ, REIG 2012). A **28. ábrán** látható a kontroll és a nyomáskezelt marhahátszín mioglobin koncentrációi (mg/g). Az ábrán feltüntetett piros szaggatott vonal a marhahús átlagos mioglobin tartalmát mutatja (NOLLET 2004a).



28. ábra: A kontroll és a nyomáskezelt marhahátszín minták mioglobin koncentrációjának ábrázolása. A piros vonal a NOLLET (2004a) szerinti átlag értéket mutatja.

Szembevetendő, hogy a kontroll mintához képest a nyomáskezelt mintáknál a mioglobin koncentráció szinte nem is változik, miközben az ábrán feltüntetett képeken szemmel látható a változás. Az itt mért eredményekből arra lehet következtetni, hogy a marhahátszínben lévő mioglobin csupán kis mértékben denaturálódik a HHP kezelés hatására és/vagy az alábbi módszer segítségével a hem tartalmú komponensek mennyiségének kimutatása során nem befolyásoló tényező az adott fehérje állapota, így tehát a denaturált állapotban lévő hem komponens is kimutatható. Megállapítható azonban, hogy a mioglobin valamely oxidációs formában megmarad a folyamat végén. A **29. ábra** mutatja a marhahátszín esetében a mioglobin formák relatív arányának változását a nyomáskezelés függvényében.



29. ábra: A kontroll és a nyomáskezelt marhahátszín minták mioglobin formáinak relatív (%) aránya.

□ MMb (%) □ DMb (%) ■ OMb (%)

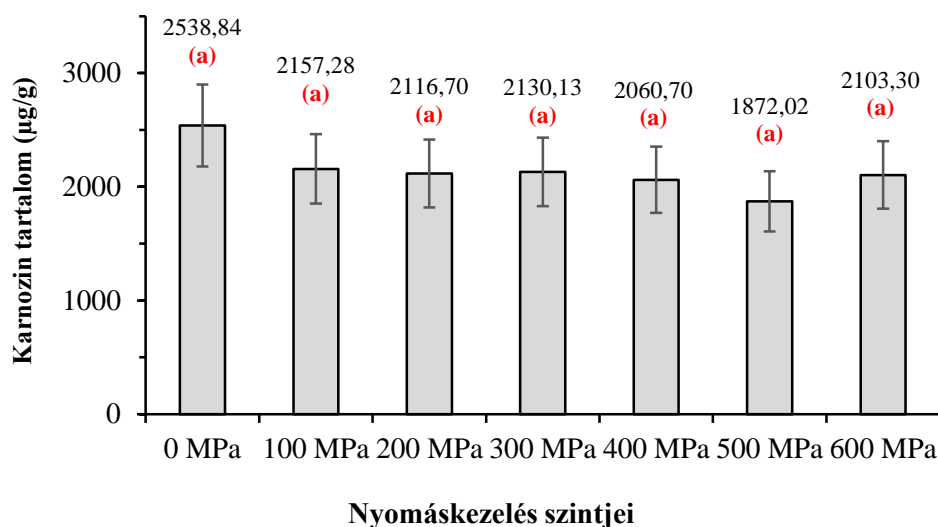
Mint ahogy az ábrán is látható, ezen oxidációs formák relatív aránya változhat. A vizsgálatok során megállapítható, hogy a nyomáskezelés hatására az oximioglobinn (OMb) aránya csökken, ezzel egy időben a metmioglobinn (MMb) aránya növekszik. A dezoximioglobinn (DMb) arány a 450 MPa-os nyomáskezelési szinthez képest a háromszorosára növekszik a 600 MPa-os nyomáskezelési értéken. A 600 MPa-os nyomáskezelés esetében a metmioglobinn relatív aránya ~20%-ról felmegy ~45%-ra. Hasonló következtetésre jutott CARLEZ és munkatársai (1995) is marha darálthús vizsgálataik során, melynek értelmében a 400-500 MPa-os (10 perc) nyomáskezelés hatására a metmioglobinn aránya az oximioglobinn rovására növekedett. JUNG és munkatársai (2003) megállapították, hogy a HHP kezelés nagyságának hatása jobban befolyásolja a hús színét és metmioglobinn tartalmát, mint a kezelési idő. Ezek alapján elmondható, melyet más szerzők is leírtak (TOLDRÀ et al. 2008), hogy feltehetően a vas-ion oxidációja is jelentős mértékben befolyásolja a marhahús színváltozását, melyet a metmioglobinn arányának növekedése okoz az oximioglobinn tartalomhoz képest.

4.1.7 Imidazol dipeptidiek meghatározása marhahátszín esetében

A kapott elektroforetogramokon (**31** és **32. ábra**) a karnozinn és anszerinn jól felismerhető, mivel a vizsgált minták nagy mennyiségben tartalmazták a két dipeptidet. A mért elektromigrációs idő jól reprodukálható a mérés során, mely megkönnyítette a kiértékelés folyamatát. A kiértékeléséhez a már korábban felvett kalibráció adatait használtam. A kapott egyenlettel, valamint a görbe alatti területek segítségével kiszámoltam a karnozinn (**30. ábra**) és anszerinn tartalmát. A karnozinn- és anszerinn tartalom meghatározásához használt egyenletek a következők:

$$x_k = \frac{7,97 * \text{karnozin csúcsterület} - 101171,18}{11139} \quad [17]$$

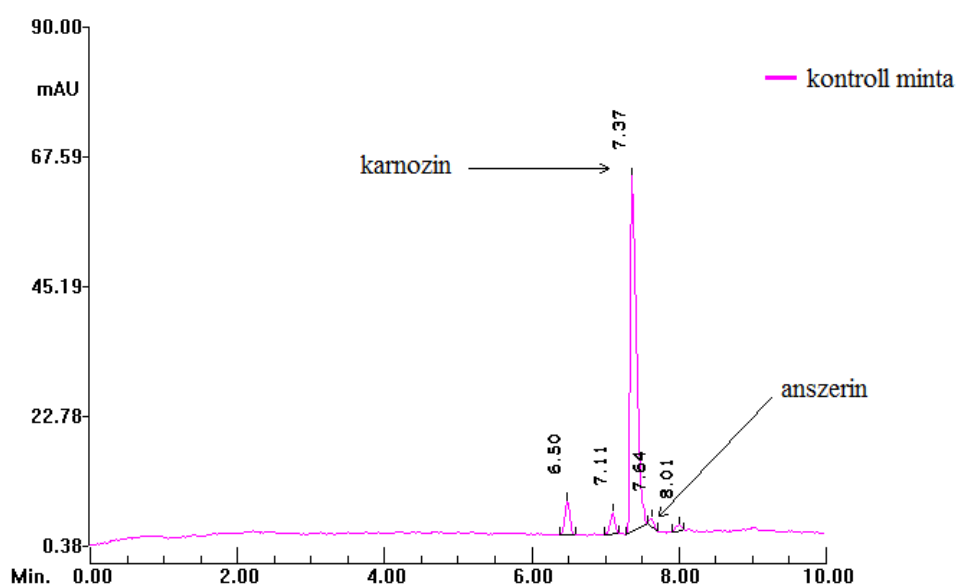
$$x_a = \frac{7,97 * \text{anszerin csúcsterület} - 59097,55}{12649,2} \quad [18]$$



30. ábra: Karnozintartalom változása a nyomás függvényében.

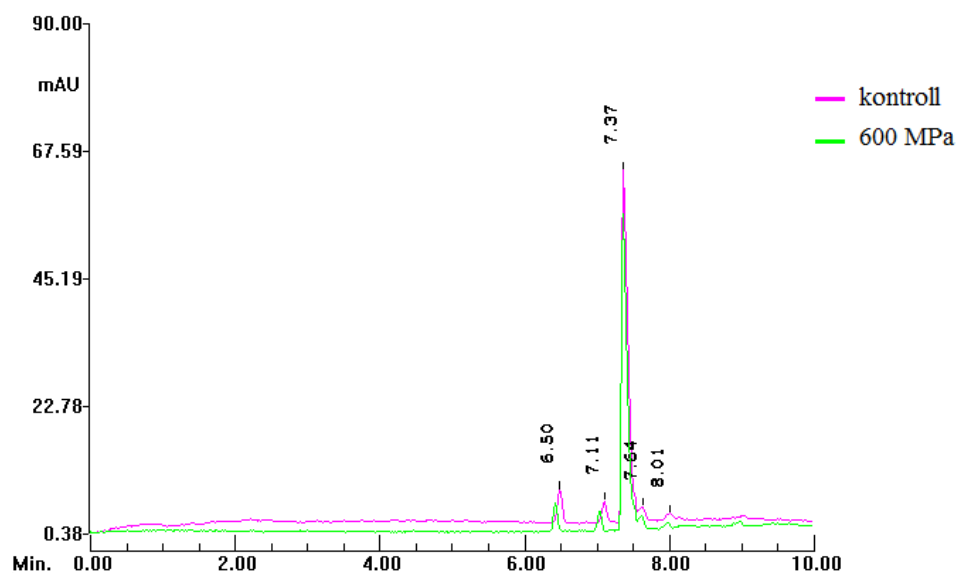
A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a) csoport besorolás mutatja.

Amint a grafikonon is látható, a HHP kezelés nem okozott szignifikáns változást a karnozintartalomban ($P > 0,005$). Ezen adatok értelmében a karnozin ellenáll nemcsak a fagyasztásnak, hőkezelésnek és fagyasztva szárításnak, hanem a nyomáskezelésnek is. A kezelések nem okoznak jelentős változást a mérhető koncentrációban (SZERDAHELYI 2013). Mért eredményeimet alátámasztja SUZUKI és munkatársai (1994) eredményei, ahol a karnozintartalom meghatározást a HHP kezelést követően HPLC berendezésen végezték el. Az adott mintában mért karnozin tartalom TOLDRÀ és REIG (2012) adataihoz képest kisebb ($3725 \mu\text{g} / \text{g}$), melynek eltérő volta származhat az egyedek közötti különbségekből is.



31. ábra: Kontroll mahahatszín minta elektroforetogramja.

A másik vizsgált dipeptid az anszerin, mely sokkal kisebb mennyiségben van a szarvasmarha húsmintákban, mint a karnozin. Megállapítható a mérésekből, hogy a HHP kezelés hatására nem tapasztalható jelentős változás az anszerin tartalomban. A húsminták átlagos anszerin tartalma 36,74 $\mu\text{g/g}$ volt. A **31. ábrán** láthatjuk kontroll minta elektroforetogramját, ahol megfigyelhető a karnozin és az anszerin csúcs is.



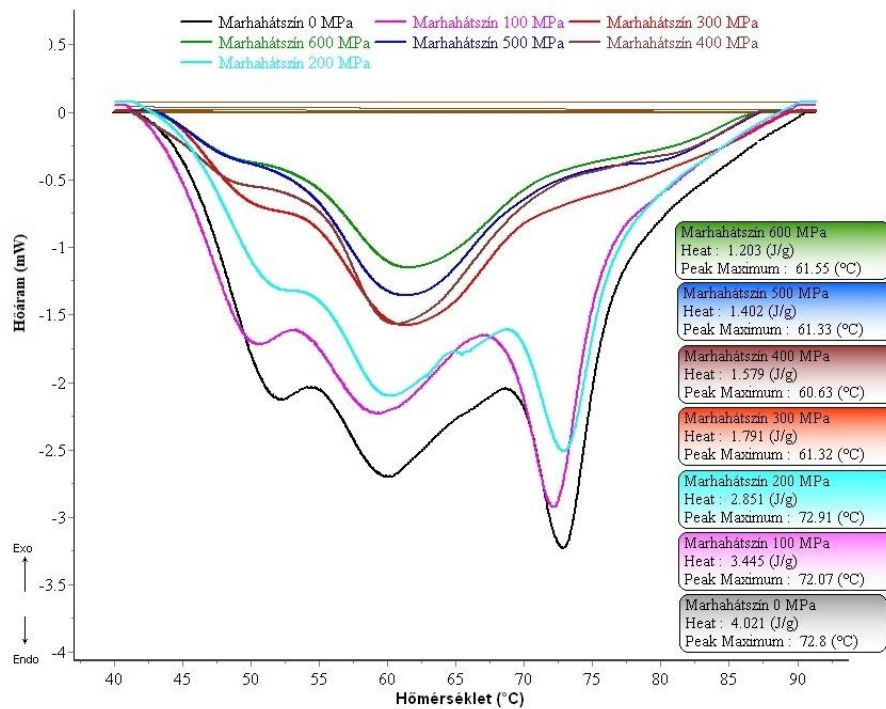
32. ábra: Kontroll és a 600 MPa-on kezelt húsminta elektroforetogramja.

A nyomáskezelés hatására bekövetkező kismértékű változást szemlélteti a **32. ábra**, melyen rózsaszínnel láthatjuk a kontroll, zöld színnel pedig a 600 MPa-on kezelt húsminta karnozin és anszerin elektroforetogramját. Összességében megállapítható, hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés nem okozott szignifikáns eltérést a kimutatható karnozin és anszerin tartalomban.

4.1.8 Marhahátszín termodinamikai méréseinek eredményei (DSC)

A DSC termoanalitikai módszer segítségével információkat kaphatunk a görbe alatti területek alapján a denaturálódott és aggregálódott fehérjék mennyiségéről, valamint a görbék csúcsaiból és a hozzájuk tartozó denaturációs hőmérsékletekből következtethetünk az egyes fehérjefrakciókban bekövetkező változásokra. Nyers húsok mérése során a kapott görbéknek általában 3 jellemző kalorimetrikus csúcsa különíthető el a hőmérséklet függvényében, melyek megléte vagy hiánya következtetni enged a húson elvégzett kezelésre (KENESEI et al. 2017). A **33. ábra** szemlélteti a marhahátszín esetében a hőáramgörbék változását a különböző szintű nyomáskezelések hatására. A kezeletlen minta hőáramgörbéjén még tisztán kivehető a 3 jellemző kalorimetrikus csúcs, a miozin denaturációs hőmérséklete 52°C körül, a szarkoplazma fehérjék denaturációs hőmérséklete 60°C körül, valamint az aktin denaturációs hőmérséklete 73°C körül.

A nyomáskezelések hatására a görbe alatti területek szemmel láthatóan is elkezdnek csökkenni, és ezzel együtt a miofibrilláris fehérjék kalorimetrikus csúcsai is kezdenek eltűnni a hőáramgörbékről, 300 MPa és a feletti nyomáskezelések esetében pedig már „kiszimulnak” a hőáramgörbék ezen szakaszai, mely arra enged következtetni, hogy a miofibrilláris aktin és miozin fehérjék érzékenyebbek a nyomáskezelésekre, mint a kötőszöveti és szarkoplazma fehérjék.



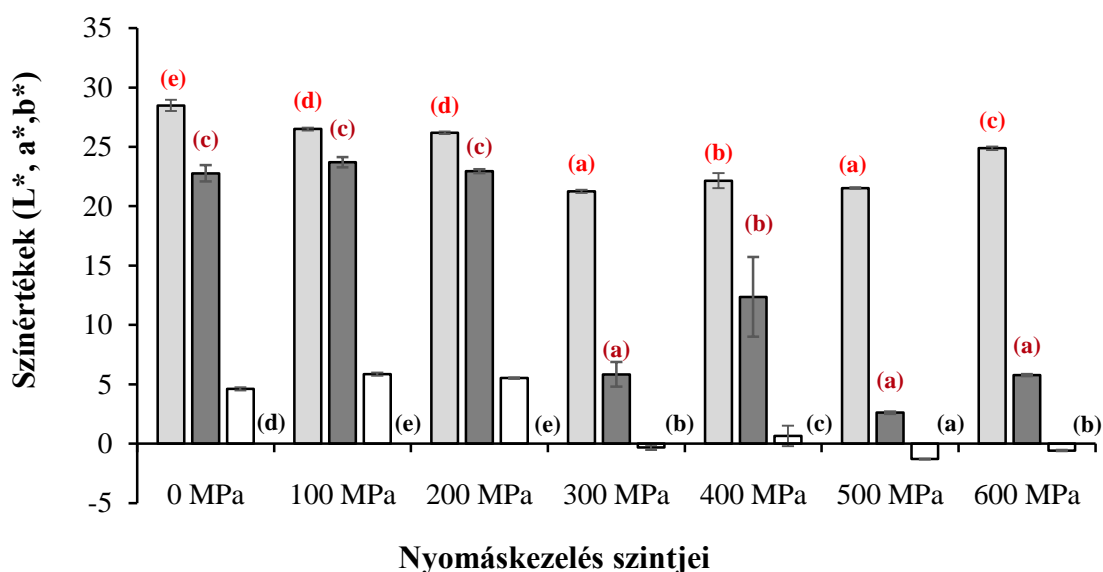
33. ábra: A kontroll és nyomáskezelt marhahátszín minták termogramja.

A nyomáskezelések növelésével a denaturációs entalpia értékek is egyre csökkennek, ahogy a fehérjék egyre nagyobb hányada denaturálódik a nyomáskezelések hatására. A legmagasabb szintű 600 MPa-os kezelés esetében a denaturációs entalpia értéke 4,021 J/g értékről 1,203 J/g értékre redukálódott, mely közel 70%-os csökkenés.

4.2 MARHAVÉR HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEIEI

4.2.1 Marhavér színmérés eredményei

A marhavér nyomáskezelés hatására bekövetkező színváltozásának vizsgálati eredményeit a **34. ábrán** vehetjük szemügyre. Az L^* világossági szintényező értékei szignifikánsan csökkennek ($P < 0,05$) a nyomáskezelések, különösen a 300, 400 és 500 MPa-os kezelés hatására, vagyis a minták színezete sötétebb lett. Ezen eredmények eltérőek a marhahús mintáktól, ahol láthattuk, hogy az L^* értékei szignifikánsan növekedtek (világosodtak a minták).



34. ábra: Marhavér színmérésének eredményei és a minták fényképes bemutatása.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d), (e) csoport besorolások mutatják. □ L^* ■ a^* □ b^*

Az a^* vörös színtényező esetében a 300 MPa nyomáskezelés esetében és azt követően látható különösen intenzív változás, az eredmények drasztikus csökkenést mutatnak a kontroll mintához képest, mely változás az emberi szem számára az ábra alatt lévő fényképes összeállításon is jól megfigyelhető, ahogy a minták élénkpiros színezete elsötétül. Ez statisztikailag is jól megfigyelhető, mivel a kontroll minta homogén csoportot (c) alkot a 100 és 200 MPa nyomáskezelésű mintákkal ($P=0,304$), míg a többi eredmény az (a) vagy (b) csoportba tartozik. A b^* sárga színtényező esetében is látható a 300 MPa vagy afeletti nyomáskezelések hatására bekövetkező csökkenés a sárga színezetben. TOLDRA és munkatársai (2002) sertésvérből származó vörösvérsejt frakció nyomáskezelése során a színértékek növekedését tapasztalta, míg

kísérleteim során - az eredeti mátrixában lévő minták esetében - a színértékek csökkenését tapasztaltam.

A vér színét legnagyobb részben a vérben lévő színes hemoglobin adja, ezért a nyomáskezelésre bekövetkező színváltozás feltehetően kapcsolatban van a hemoglobinnal. BOU és munkatársai (2019) megállapították, hogy a csirke hemoglobin relatívan stabil marad a nagy hidrosztatikus nyomáskezelést követően, azonban methemoglobin és oldhatatlan hem formák jelennek meg. A színváltozás feltehetően a hem molekuláris, valamint a vas-ion redox kémiaiával kapcsolatos. Az 8. táblázat adatai tartalmazzák a színértékek átlag és ΔE^* eredményeit. A táblázatban szürkével jelölt cellák a kontroll mintához képesti szignifikáns eltérést mutatja.

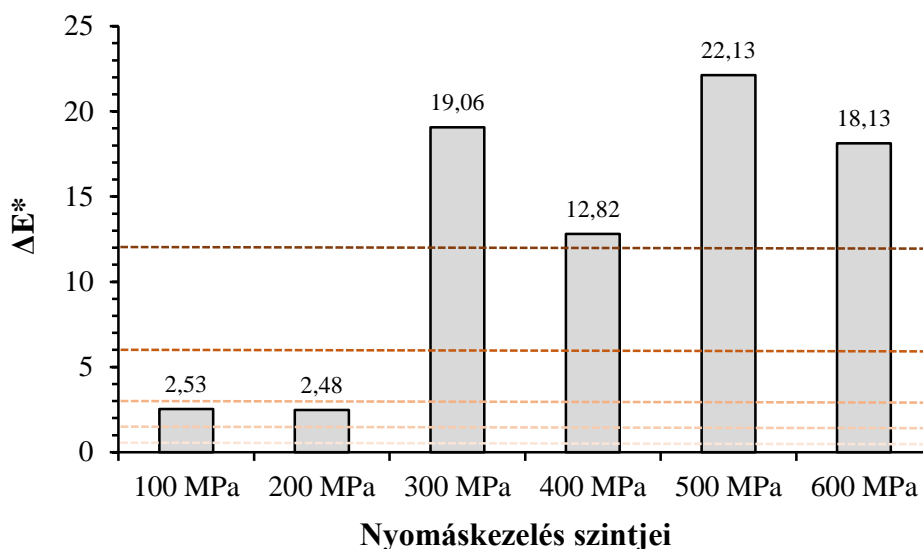
8. táblázat: Marhavér minták színértékeinek átlag és ΔE^* eredményei.

Nyomáskezelés szintjei [MPa]	L*	a*	b*	ΔE^*
0	28,49 ± 0,48	22,77 ± 0,68	4,61 ± 0,14	0
100	26,50 ± 0,13	23,71 ± 0,44	5,85 ± 0,13	2,53
200	26,19 ± 0,10	22,95 ± 0,17	5,52 ± 0,06	2,48
300	21,25 ± 0,13	5,84 ± 1,03	-0,32 ± 0,21	19,06
400	22,15 ± 0,64	12,36 ± 3,36	0,65 ± 0,87	12,82
500	21,53 ± 0,06	2,61 ± 0,10	-1,30 ± 0,03	22,13
600	24,89 ± 0,15	5,78 ± 0,08	-0,58 ± 0,06	18,13

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

■ szignifikáns változás 95%-os valószínűségi szinten

A fentebb leírt változásokat a színezetben szintén alátámasztja a színínger-különbségek alakulása (35. ábra). A minták színváltozása a 100 és 200 MPa nyomáskezelések hatására még az észrevehető kategória alatti tartományban maradnak, ugyanakkor a 300 MPa nyomáskezelést követően a nagy kategóriába tartozik minden esetben.

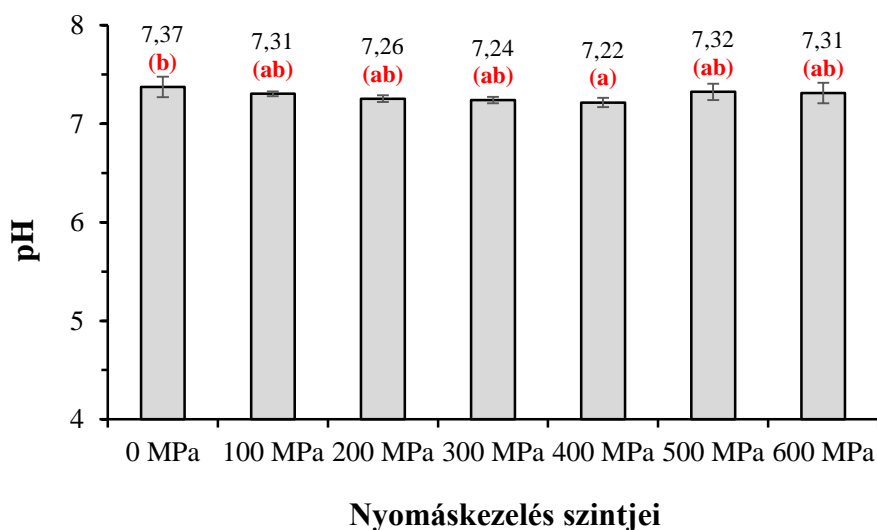


35. ábra: A nyomáskezelt marhavér minták színinger-különbségeinek ábrázolása a kontroll mintához képest. A szaggatott vonalak az emberi szem számára érzékelhető eltéréseket, kategóriákat mutatja:

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

4.2.2 Marhavér pH mérés eredményei

A marhavér nyomáskezelések hatására bekövetkező pH érték változásait a **36. ábra** szemlélteti. Az eredmények alapján elmondható, hogy a nyomáskezelések hatására csupán egy esetben lehetett szignifikáns csökkenést kimutatni a minták pH értékében (P=0,019).



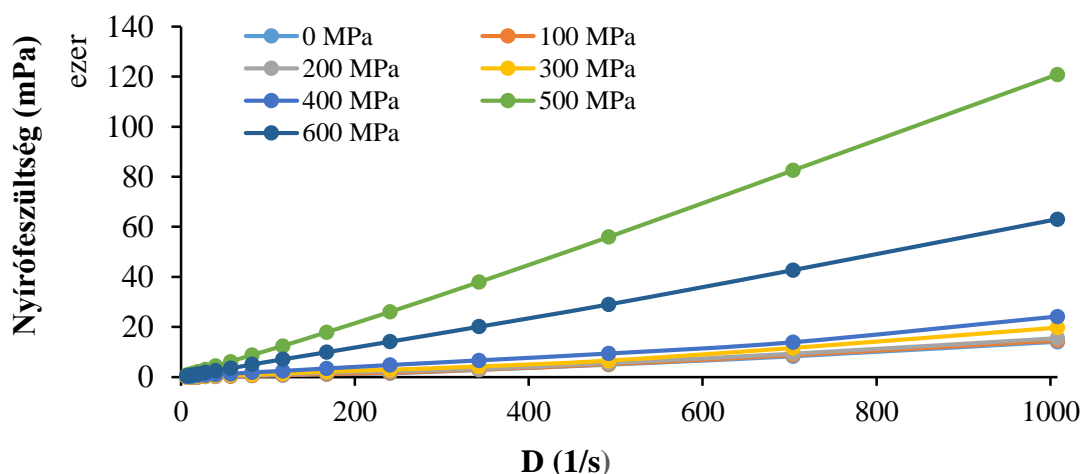
36. ábra: Kontroll és nyomáskezelt marhavér minták pH eredményei.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b) csoport besorolások mutatják.

Az egyes kezelések közötti eltérések nem számottevők, mivel a Tukey-teszt szerint is csak két homogén csoport különíthető el és a legtöbb eredmény ezek között mutat átfedést.

4.2.3 Marhavér látszólagos viszkozitás eredményei

Rotációs viszkoziméter segítségével vizsgáltam, hogy a különböző nyomáskezelések hogyan hatnak a termékek látszólagos viszkozítására. A **37. ábra** szemlélteti a különböző deformációsebességek függvényében kapott nyírófeszültség értékeket. A folyásgörbe alapján az látható, hogy a nyomáskezelések szintjeinek növelésével egyre növekedtek a nyírófeszültség értékek is. Különösen az 500 és 600 MPa nyomáskezelések esetében történt lényeges növekedés az értékekben, sőt nagyságrendbeli különbség is megfigyelhető volt, vagyis jelentős mértékben növekedett a marhavér minták látszólagos viszkozitása ($\eta_{400 \text{ MPa}}=23,95 \text{ Pas}$, $\eta_{500 \text{ MPa}}=119 \text{ Pas}$ $\eta_{600 \text{ MPa}}=62,54 \text{ Pas}$, legnagyobb deformációsebesség esetében). A fényképes illusztrációban szemmel is látható, ahogy a marhavérben az egyre nagyobb szintű nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására a fehérjék koagulálnak, melynek hatására sűrűbben folyóvá válik a vizsgált anyag.



37. ábra: Kontroll és nyomáskezelt marhavér minták nyírófeszültségének ábrázolása.

A különböző folyásgörbékre az Ostwald-de-Waele modellt illesztettem, hogy a folyásgörbe paramétereit számszerűsíthessem (CZVIKOVSKY et al. 2007):

$$\tau = K * D^n \quad [19]$$

ahol:

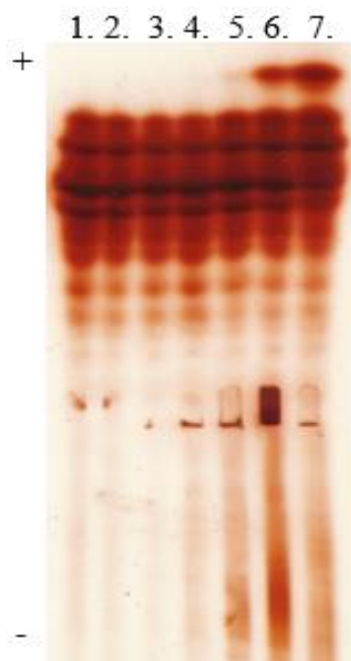
- τ – nyírófeszültség (MPa)
- K – konzisztencia állandó
- D – deformációsebesség $1/s$
- n – folyásindex

A modell lehetőséget ad a folyásindex értékek meghatározására is, amely megmutatja, hogy milyen típusú folyadékokról van szó, avagy a marhavér minták Newtoni folyadéktól való eltérésének mértékét. Newtoni folyadék esetén az $n=1$, amennyiben $n<1$ akkor pszeudoplasztikus folyadékokról van szó, és ha az $n>1$, abban az esetben pedig dilatáló folyadékról beszélhetünk.

A modellillesztések során a korrelációs koefficiensek alapján ($r^2=0,79-0,99$) a modell minden esetben megfelelőnek bizonyult. Az n hatványkitevő minden esetben kisebb volt, mint 1, ami nyírásra vékonyodó („shear thinning”) reológiai viselkedést jelöl, vagyis a deformációsebesség növelésével csökken a folyásgörbe meredeksége, vagyis csökken a viszkozitás is. Ez valószínűleg annak tulajdonítható, hogy a mérés közben a sérült (denaturált/aggregált) fehérje töredékek könnyebben a nyírás irányába rendeződnek.

4.2.4 Marhavér izoelektromos fókuszálás eredményei (IEF)

A **38. ábrán** láthatók a kontroll és a nyomáskezelt marhavér izoelektromos fókuszálás eredményei. A vizsgálat során a specifikus pszeudo-peroxidáz festéssel a hem-fehérjéket (pl: hemoglobin, mioglobin) tettük láthatóvá. Megállapítható, hogy az alacsony és közepes nyomáskezelési értékeken (100, 200 MPa és 300 MPa) számottevő változás nem történt. 400 MPa-nál és annál magasabb értékeken látható, hogy a sávok felett új sávok jelennek meg, a sávok intenzitásának csökkenése nagyon kismértékű, eltűnésük nem következik be.



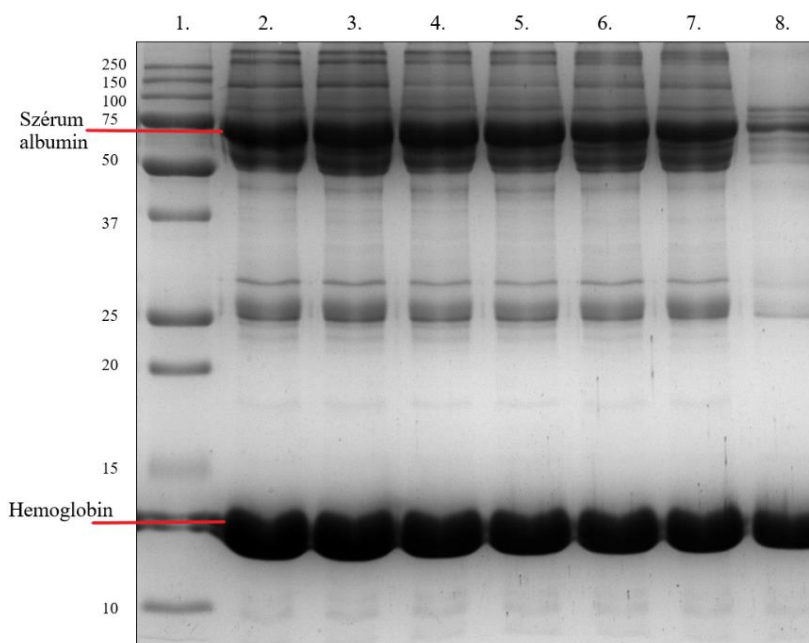
38. ábra: A nyomáskezelt vérminták izoelektromos fókuszálás eredményei,

1. 0MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa.

A sávok intenzitásának csökkenése – ami a denaturáció jele - a HHP kezelés hatására a hemfehérjék esetében csupán kismértékű. A nagy nyomáson kezelt, a 400 MPa, 500 MPa és a 600 MPa-on kezelt mintáknál, de főként az 500 és 600 MPa-os mintáknál jelentek meg új sávok, melyek átalakulásra és bomlástermékek jelenlétére utal, mint azt ahogy BOU és munkatársai (2019) is tapasztalták.

4.2.5 Marhavér SDS-PAGE eredményei

A vér fő összetevői a plazma (60-65%) és a sejtes elemek (35-40%). A vörösvértetek legnagyobb részben fehérjék (35%), 90%-kat a hemoglobin adja (TOLDRÀ et al. 2002). A plazma fehérjék 50-60%-kát albuminok, 40-50%-át globulinok és 1-3%-át a fibrinogén alkotja (DÀVILA et al. 2007). A marhavér SDS-PAGE elválasztási képen (39. ábra) láthatók a vérfehérjék molekulatömeg szerinti megoszlásban. Az elválasztási képen jelölve láthatók a két, relatív nagy arányban előforduló fehérje, a szarvasmarha szérum albumin (BSA; 66 kDa) és a hemoglobin (~15 kDa). A gélen a kontroll és a nyomáskezelt minták között első szemrevételezésre, csupán csak a 600 MPa-al kezelt mintánál látható jelentős eltérés. A denzitométeres adatokat figyelembe véve megállapítható, hogy a hemoglobin a 400 és 500 MPa-os HHP kezelését követően csupán 5%-ot csökkent az intenzitása a kontroll mintához képest. 600 MPa-os nyomáskezelést követően a hemoglobin 77%-a volt csak oldatba vihető, így 23%-ot csökkent az intenzitása.



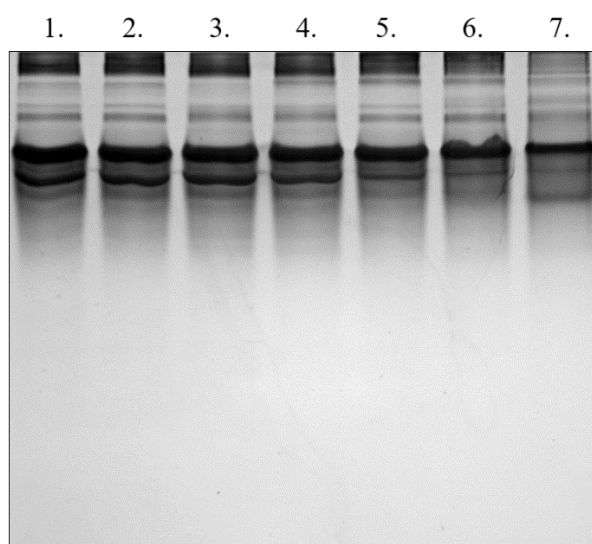
39. ábra: Kontroll és nyomáskezelt marhavér minták SDS-PAGE elválasztási képe,

1. Sztenderd, 2. 0 MPa, 3. 100 MPa, 4. 200 MPa, 5. 300 MPa, 6. 400 MPa, 7. 500 MPa, 8. 600 MPa.

Az albumin esetében a kontroll mintához képest az első csökkenés a 400 MPa-nál volt tapasztalható (23%). 500 MPa-nál szintén 23%-os míg 600 MPa-nál már 72%-os intenzitás csökkenés volt megfigyelhető a denzitométeres adatokban.

4.2.6 Marhavér NATIV-PAGE eredményei

A marhavér NATÍV-poliakrilamid gélelektroforézis vizsgálata során hasonló eredményeket kaptam, mint a denaturáló közegben végzett elválasztás során (**40. ábra**). Mivel a NATÍV-PAGE vizsgálatok a technológia folyamatok feltérképezésére is használható, ezért a HHP kezelés hatását is vizsgálni lehet vele. A NATÍV gélen végzett denzitométeres kiértékelések alapján elmondható, hogy a kontroll minta teljes intenzitását alapul véve a vérfehérjék denaturációja és aggregációja a magasabb nyomásértékeken 400-500 és 600 MPa-os kezdődött meg. De, amint az elválasztási képen is látható, még a legmagasabb (600 MPa) nyomáskezelési értéknél is számos fehérjesáv látszik, melyből arra lehet következtetni, hogy ezen fehérjék a nyomáskezelésre „jól” reagáltak, és megőrizték natív térszerkezetüket.

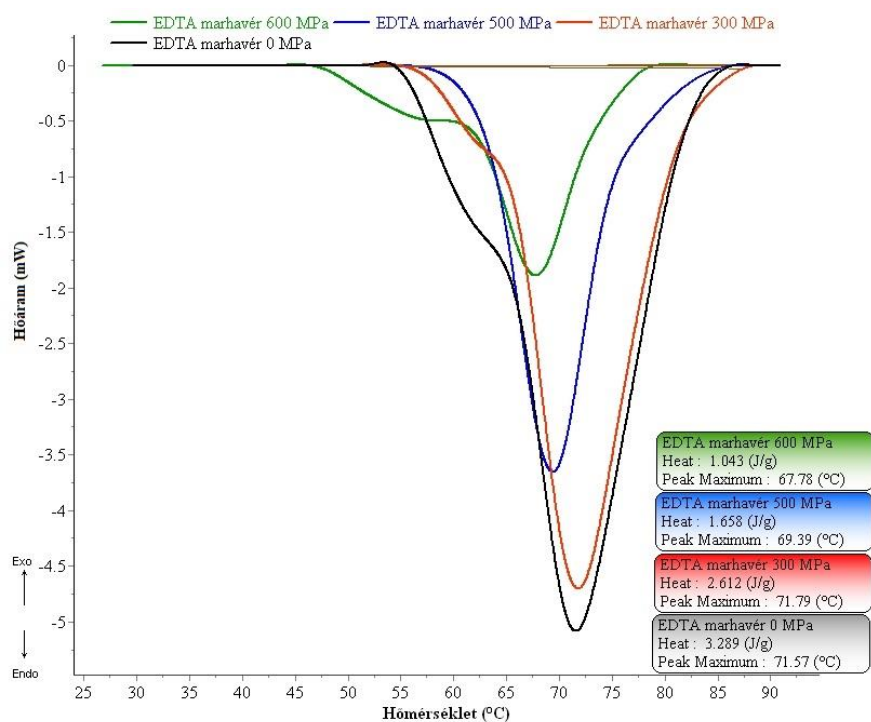


40. ábra: A kontroll és nyomáskezelt marhavér minták NATÍV-PAGE elválasztási képe,

(1. 0 MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa).

4.2.7 Marhavér termodinamikai méréseinek eredményei (DSC)

A marhavér termodinamikai elemzése során főként a 60°C és a 80°C közötti hőmérséklet tartományban figyelhető meg változás (**41. ábra**). A nyomáskezelés során a DSC vizsgálatoknál az alacsony és közepes nyomásértékeken (100 MPa, 200 MPa és 300 MPa) végzett kezelés nem okozott jelentős különbségeket a görbék alakjában és a kalorimetrikus tulajdonságokban sem, ezért az ábrán ezen értékek közül csak a 300 MPa-on kezelt mintát tüntettem fel.



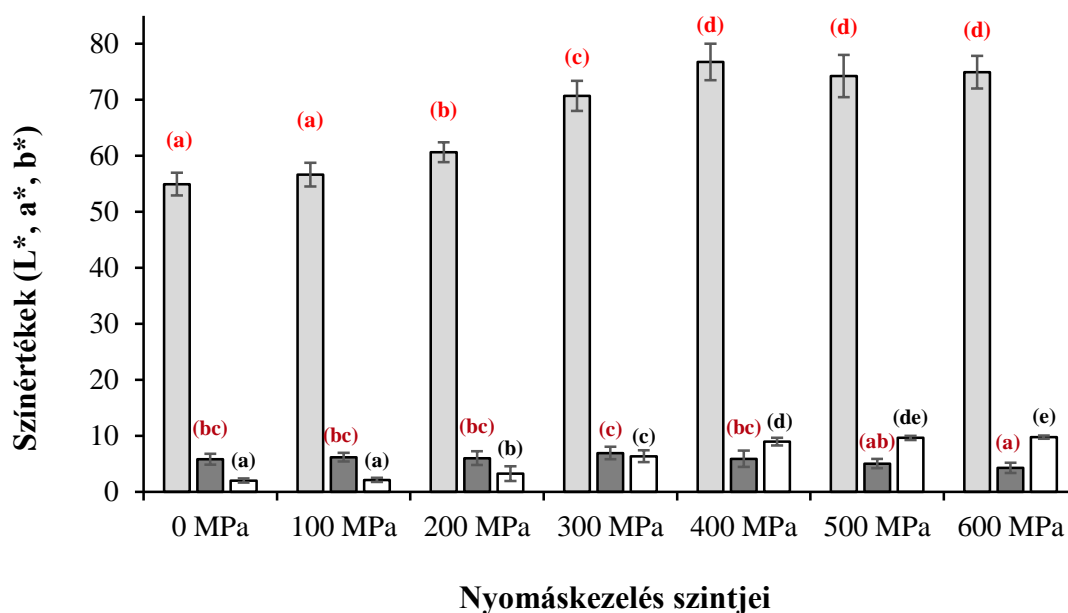
41. ábra: A kontroll és nyomáskezelt marhaver minták termogramja.

Az ábrán az entalpikus csúcsok mind aggregáló, mind pedig denaturáló jelenségeket mutatnak. A szakirodalmi adatokból arra lehet következtetni, hogy a detektált csúcs (68 °C - 70°C) az albumin, mely a vér fehérjéinek legnagyobb részét adja (DÁVILA et al. 2007). A termogramon látható, hogy a nagy nyomáskezelt értékeken, mint például az 500 MPa és a 600 MPa-nál csökkenés figyelhető meg mind a csúcshőmérséklet, mind a denaturációs entalpia értékekben a kontroll mintához viszonyítva (CSEHI et al. 2017). Ebből arra következtethetünk, hogy nagymértékben csökkent azoknak a fehérjéknek a mennyisége, amelyeket a termikus analízis során hővel denaturálni tudtunk. A marhaver denaturációs entalpiája az 500 MPa nyomás hatására 50%-ára csökkent, míg 600 MPa nyomás hatására 68%-kal lett kevesebb. Ezen kívül a csúcshőmérsékletben, amely a fehérjék 50%-os denaturált állapotát jelzi, technológiai szempontból jelentős változás következett be. A termogramból megállapítható, hogy a HHP kezelés a nagyobb hőmérsékleten denaturálódó fehérjékre hat jobban, mivel a nyomásértékek növelésével azok mennyisége csökken. DÁVILA és munkatársai (2007) hőkezelt oldat minták esetében megállapították, hogy az albuminok ugyan aggregálódnak és denaturálódnak a hőkezelés hatására, de sokáig oldatban maradnak.

4.3 SERTÉSKARAJ HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI

4.3.1 Sertéskaraj színmérés eredményei

A sertéskaraj esetében is hasonlóan történt a minták színmérésének kivitelezése és az eredmények statisztikai kiértékelése, mint a marha termékek esetében. A színmérés összefoglaló eredményeit a **42. ábrán** láthatjuk, valamint az eredmények számszerű megjelenítését a *9. táblázat* tartalmazza. A kontroll mintához képest mindhárom szintényező esetében szignifikáns változásokat okoztak a nyomáskezelések ($P < 0,05$).



42. ábra: Sertéskaraj színmérésének eredményei és a minták fényképes bemutatása.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d), (e) csoport besorolások

mutatják. □ L* ■ a* □ b*

Az L* világossági szintényező változásait megvizsgálva azt tapasztalhatjuk, hogy a nyomáskezelések hatására növekedtek az L* átlagértékek, vagyis a minták színezete egyre világosabbá vált, akárcsak a marhahátszín esetében, mely jól megmutatkozik az ábra alatt lévő fényképes illusztrációban is. Itt is a növekedés különösen a 300 MPa vagy az azt meghaladó esetben nevezhető nagyobb léptékűnek, melyet a számszerű értékek változása is megmutat, mivel az L* értéke 60,64-ről hirtelen 70,70-re növekedett. A 400 MPa nyomás kezelést követően az 500-600 MPa kezelések már nem növelték oly mértékben az L* értékeket. A homogenitás vizsgálatok szerint is ezek egy csoportba tartoznak, vagyis köztük már nincs szignifikáns különbség ($P = 0,154$). A döntő változások valószínűleg a 200-300-400 MPa nyomáskezelések esetében játszódnak le. Az

a* vörös színtényező értékeiben nem történtek jelentős mértékű változások 500 MPa-ig, azonban 600 MPa-os kezelést követően már szignifikáns változás volt kimutatható a kontroll minához képest.

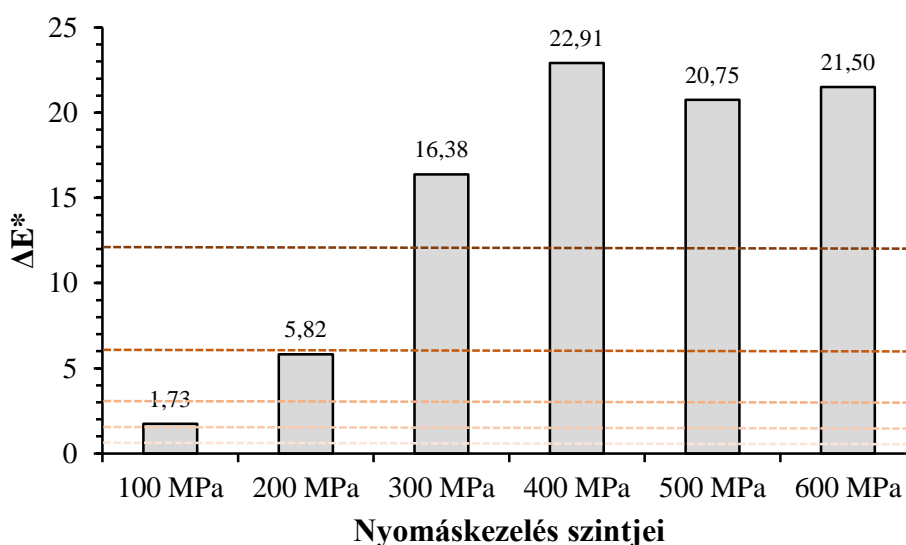
9. táblázat: A kontroll és a nyomáskezelt sertéskaraj színértékeinek átlag és ΔE^* eredményei.

Nyomáskezelés szintjei [MPa]	L*	a*	b*	ΔE^*
0	54,95 ± 2,01	5,83 ± 0,96	2,01 ± 0,38	0
100	56,64 ± 2,12	6,18 ± 0,76	2,12 ± 0,37	1,73
200	60,64 ± 1,75	6,01 ± 1,24	3,26 ± 1,33	5,82
300	70,70 ± 2,69	6,93 ± 1,12	6,35 ± 1,06	16,38
400	76,78 ± 3,26	5,90 ± 1,45	8,96 ± 0,67	22,91
500	74,24 ± 3,78	5,03 ± 0,83	9,63 ± 0,39	20,75
600	74,93 ± 2,93	4,26 ± 0,91	9,79 ± 0,29	21,50

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

■ szignifikáns változás 95%-os valószínűségi szinten

A b* sárga színtényező esetében az értékek folyamatosan növekedtek, vagyis a minták színezeti pontja egyre inkább a sárga színezet felé mozdult el a színtérben. Ezt a változást a homogenitásvizsgálat szempontjából a csoportonkénti besorolás is jól tükrözi. Itt is két átlag érték között a legnagyobb különbség a 300 MPa nyomáskezelés hatására jelent meg.



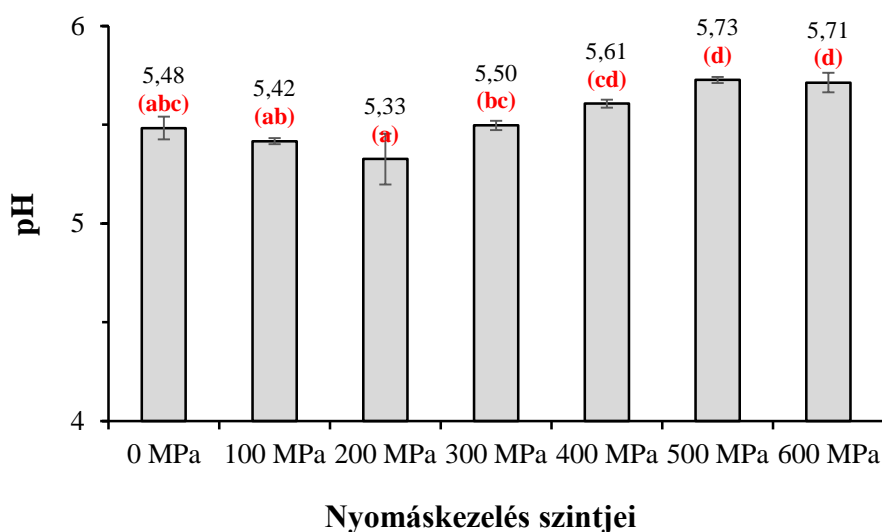
43. ábra: A nyomáskezelt sertéskaraj színinger-különbségeinek ábrázolása a kontroll mintához képest. A szaggatott vonalak az emberi szem számára érzékelhető eltéréseket, kategóriákat mutatja: ■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

A színinger-különbség értékeket megvizsgálva (43. ábra) a 100 MPa nyomáskezelés még nem okozott észrevehető változásokat a sertéskaraj színezetében, viszont a 200 MPa-os kezelés már jól láthatóan változtatta meg a színezetet. Leginkább mégis a 300 MPa-os kezelést kell

megvizsgálunk, mivel ez az a határérték, ahol az egyes színösszetevőkben egyfajta ugrás mutatkozott az értékekben. Ez jól megmutatkozik a színínger különbségben is, mivel itt is hirtelen a nagy kategóriába kerül a változások besorolása 16,38-as értékkel, mely a 400 MPa-os kezelés hatására még tovább emelkedik, azonban az 500 és 600 MPa-os kezelések esetében már nem növekszik tovább.

4.3.2 Sertéskaraj pH mérés eredményei

A **44. ábra** mutatja be a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására bekövetkező pH érték változások eredményeit sertéskaraj esetében. A kisebb szintű nyomáskezelések még alapvetően nem okoztak változást a pH értékekben.



44. ábra: Kontroll és nyomáskezelt sertéskaraj minták pH eredményei.

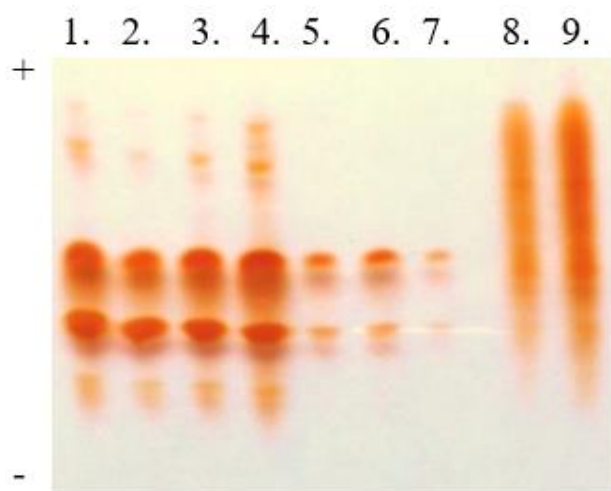
A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d) csoport besorolások mutatják.

A statisztikai vizsgálat alapján is a kontroll minta eredménye ugyanazon homogén csoportokba tartozik a 100, 200 és 300 MPa nyomással kezelt eredményeivel („a” csoport $P=0,062$, „b” csoport $P=0,637$), a diagramon jól láthatóak a csoportok közötti átfedések is. A magasabb szintű, 400-600 MPa nyomáskezelések hatására azonban növekedés figyelhető meg a pH értékekben, hasonlóan a marhahátszín mintához. A növekedés a már említett, a HHP kezelés hatására a fehérjékben végbemenő konformációs változások miatt csökkenő savas csoportok eredménye (MCARDLE et al. 2010).

4.3.3 Sertéskaraj izoelektromos fókuszálás eredményei (IEF)

Hasonlóan, mint a marhahátszín vagy a marhavér esetében a sertéskaraj esetében is elvégzésre kerültek az IEF mérések. Az elválasztás során a vizsgált fehérjék a hem-fehérjék, jelen esetben a

hús színét adó mioglobin. A sertéskaraj izoelektromos fókuszálás eredményei a **45. ábrán** láthatók. Az elválasztás során a vizsgált fehérjék natív állapotban vannak, és a kialakított pH gradiensben (pH 5-től pH 8-ig) vándorolnak. Az elválasztási képen látható, hogy a kontroll, 100 MPa, 200 MPa és 300 MPa-on kezelt minták esetében nincs különbség a sertés mioglobin esetében. Azonban a 400 MPa, 500 MPa és a 600 MPa-os kezelések során a mioglobin denaturálódott és aggregálódott, elvesztette aktivitását. Ezen eredmény kiemelt figyelmet érdemel, mivel ha megnézzük a marhahátszín esetében az IEF eredményeket, akkor megállapítható, hogy a sertéskaraj esetében kisebb nyomáskezelési értéknél (300 MPa felett) elveszíti natív állapotát a mioglobin, mint a marhahátszín esetében (CSEHI et al. 2016b).



45. ábra: Sertéskaraj minták izoelektromos fókuszálás eredményei,

(1. 0 MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa, 8-9. ló mioglobin sztenderd).

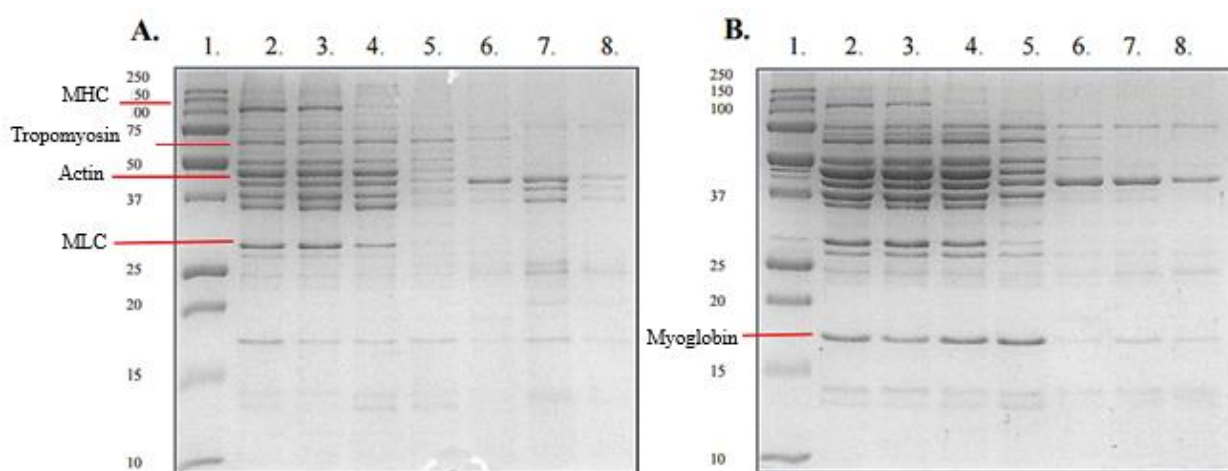
Ezen eredmény egybeesik a sertéskaraj színmérés eredményeivel is, ahol az L^* eredmények a Tuckey teszt alapján a 300 MPa feletti nyomással kezelt mintákat egy szignifikancia csoportba sorolta ($P < 0,05$).

4.3.4 Sertéskaraj SDS-PAGE eredményei

A **46. ábrán** látható, a sertés miofibrilláris (A.) és szarkoplazma fehérjéinek (B.) SDS-PAGE elválasztási képe. Az elválasztási képen az első oszlop a molekula sztenderd, mely a fehérjék molekulatömeg szerinti azonosítását teszi lehetővé. A másodiktól a nyolcadik oszlopig a nyomáskezelte minták találhatók 100 MPa-tól 600 MPa-ig. A fehérje profil, a nyomáskezelési paramétereket figyelembe véve, hasonlóságokat mutat a marhahátszín mintákkal, azonban jelentős különbségek is találhatók.

A miofibrilláris fehérjék csoportjába tartozó miozin nehéz és könnyű láncai (MHC és MLC) a 200 MPa feletti nyomáskezelési értékeken aggregálódnak és denaturálódnak - nem

lehetett oldatba vinni őket az erős detergens használata mellett sem – így, a gélen a sávjaik eltűntek vagy halványultak. A denzitométeres adatok szerint a miozin nehéz lánc (MHC) a kontroll mintához viszonyítva 200 MPa-on 35%-ot csökkent, míg 300 MPa-on és felette már csak nagyon kis mértékben volt kimutatható. XUE és munkatársai (2017) nyúlhús HHP kezelését követően (300 MPa) hasonló eredményre jutottak, melynek értelmében a miofibrilláris fehérjék a kezelés hatására denaturálódtak, a fehérjék oldhatóságának szignifikáns csökkenését előidézve ezáltal. Az aktint, hasonlóan a marhahátszín mintákhoz, még a 600 MPa-os nyomáskezelést követően is ki lehetett mutatni, ugyan jelentős intenzitás csökkenés mellett (85%). A tropomiozin esetében alacsony kezelést követően nem történt változás, míg 400 MPa-os nyomás alkalmazását követően már ez a fehérje nem volt kimutatható a gélben.



46. ábra: Kontroll és nyomáskezelt sertéskaraj SDS-PAGE elválasztási képe, (A: miofibrilláris fehérjék, B: szarkoplazma fehérjék)

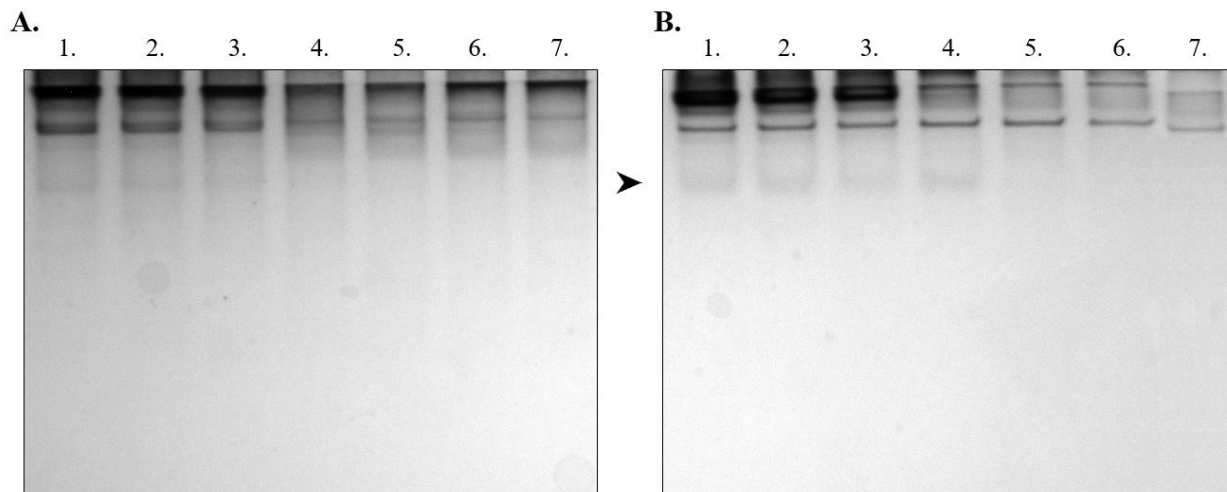
(1. Standard, 2. 0 MPa, 3. 100 MPa, 4. 200 MPa, 5. 300 MPa, 6. 400 MPa, 7. 500 MPa, 8. 600 MPa).

A sertés szarkoplazma fehérjéknél (B.) a legfontosabb változás a mioglobinnál volt tapasztalható. A nyomáskezelés hatására a mioglobin sávjának az intenzitása a denzitométeres adatok alapján több mint 80%-kal csökkentek a 400 MPa-nál és az a feletti nyomásértékeknél. A sertés mioglobin a 400 MPa felett szinte teljes mértékig denaturálódott és aggregálódott. Ezen eredmények megegyeznek az IEF által kapott eredményekkel.

4.3.5 Sertéskaraj NATÍV-PAGE eredményei

A 47. ábrán megfigyelhetők a kontroll és a nyomáskezelt sertéskaraj NATÍV-PAGE elválasztási képei. Az ábra bal oldalán (A.) látható a sertés miofibrilláris fehérjéinek kivonatából készült gél, míg a jobb oldalon (B.) a szarkoplazma fehérjék kivonatának elválasztási gélképe. Hasonlóan, mint a marhahús mintánál a nyomáskezelés hatására bekövetkező denaturáció és aggregáció eredményei láthatók a miofibrilláris és a szarkoplazma fehérjéknél 300 MPa nyomáskezelés

értéktől. A natív gélen (B.) a migrációs tulajdonságok és a mintázat alapján a nyíllal jelölt fehérje a mioglobin, melynek sávja sokkal halványabbak, mint a marhahátszín esetében volt tapasztalható. Természetesen ez teljesen érthető, mivel a sertéshús mioglobin koncentrációja alacsonyabb, mint a marhahúsé.



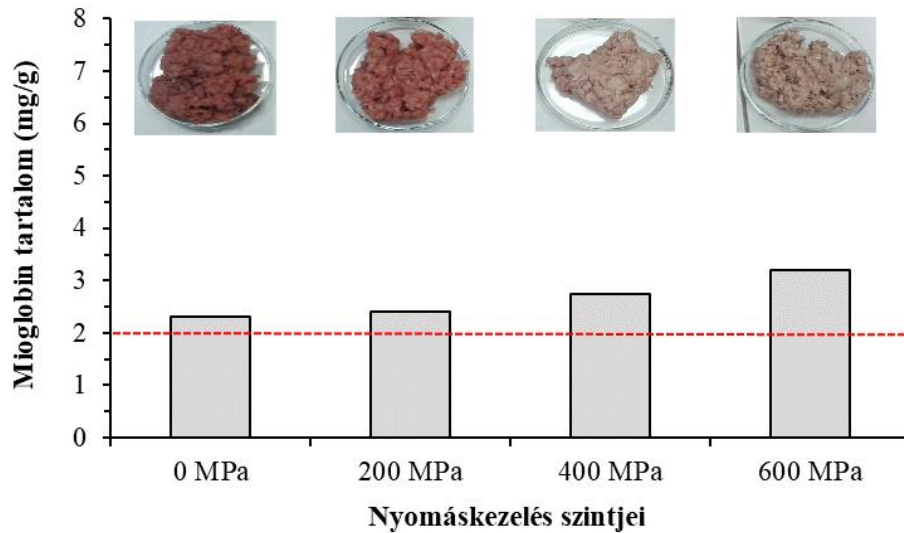
47. ábra: Kontroll és nyomáskezelt sertéskaraj NATÍV-PAGE elválasztási képei, (A: miofibrilláris fehérjék, B: szarkoplazma fehérjék)

1. 0 MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa.

Megállapítható, mint az IEF és az SDS-PAGE elválasztás során is, hogy a 400, 500 és 600 MPa-os nyomáskezelés hatására a vizsgált mioglobin sáv szinte teljes mértékben eltűnik, mely a géltulajdonságokat és paramétereket ismerve denaturáció és aggregáció eredménye.

4.3.6 Sertéskaraj összpigment tartalma

Az **48. ábrán** láthatók, a kontroll és a nyomáskezelt sertéskaraj mioglobin koncentrációi (mg/g). Az ábrán feltüntetett piros szaggatott vonal a sertéshús átlagos mioglobin tartalmát mutatja SAVELL (2015) szerint. A mért mioglobin koncentrációk minden minta esetében a sertéshús átlagos mioglobin koncentrációja felett találhatók. A kontroll minta és a nyomáskezelt minták között jelentős különbség nem volt kimutatható, a legnagyobb (600 MPa) nyomáskezelési értékeknél sem, három független minta átlagát tekintve. A diagramon látható enyhe emelkedő tendencia feltehetően a nyomáskezelés következtében fellépő lévesztesség/vízvesztesség ingadozásából is származhat.

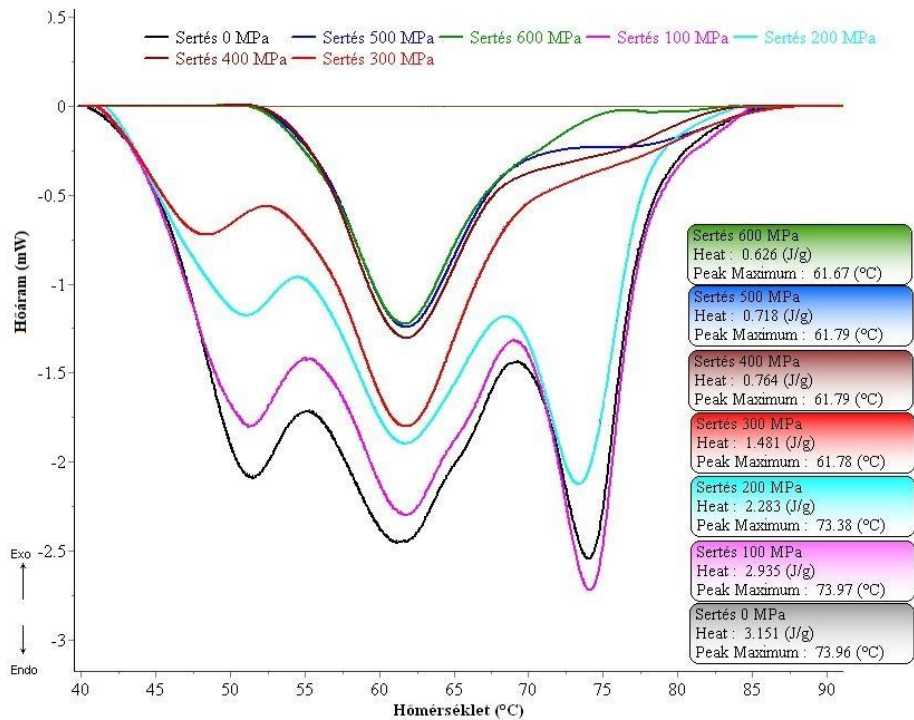


48. ábra: A kontroll és a nyomáskezelt sertéskaraj minták mioglobin koncentrációjának ábrázolása. A piros vonal SAVELL (2015) szerinti átlag értéket mutatja.

A diagram felett elhelyezett fényképeken jól látható a darált sertéskaraj színváltozása. A kontroll mintához képest a 400 MPa és 600 MPa-on kezelt minták teljesen elvesztették eredeti színezetüket és jelentősen kifakultak.

4.3.7 Sertéskaraj termodinamikai méréseinek eredményei (DSC)

A sertéskarajhoz tartozó hőáramgörbéken alapvetően, jelen esetben is, 3 denaturációs csúcs jelenik meg, mely a 3 korábban említett fehérjefrakciónak felel meg (**49. ábra**). Az első csúcsnak, ahol jellemzően 50-53°C a denaturációs hőmérséklet, a miozin felel meg, a középső csúcsok 62-64°C-os denaturációs hőmérsékletek esetében a szarkoplazma fehérjéket foglalják magukba, míg az utolsó csúcsok a másik miofibrilláris fehérje, az aktin változásának eredményeit ábrázolják 73-74°C-os denaturációs hőmérsékletek körül. A denaturációs entalpia értékek a nyomáskezelések szintjeinek növelésével, jelen esetben is, folyamatosan csökkenő tendenciát mutatnak, akárcsak a marhahátszín esetében.



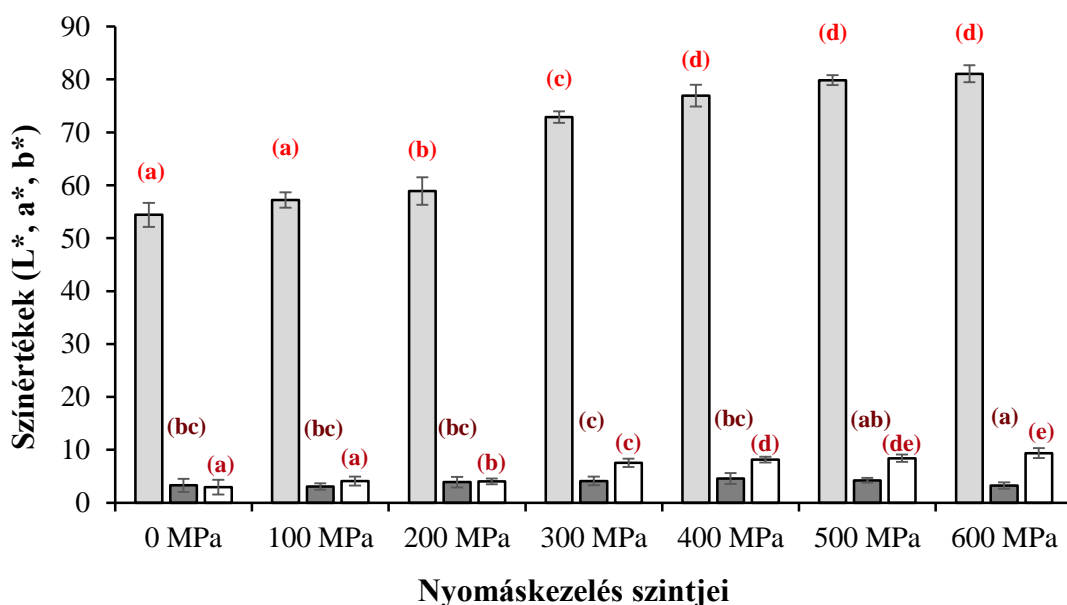
49. ábra: A kontroll és nyomáskezelt sertéskaraj minták termogramja.

A 600 MPa nyomáskezelés esetében, a kontroll mintához képest, a denaturációs entalpia 80%-kal csökkent, vagyis igen jelentősnek mondható a fehérjedenaturálódás mértéke. 300 MPa nyomáskezelés hatására az aktin kalorimetrikus csúcs teljesen „kisimul” a hőáramgörbén, míg 400 MPa nyomáskezelés hatására már a mioziné is. Ezek alapján itt is megállapítható, hogy a szarkoplazma fehérjék kevésbé érzékenyek a nyomáskezelésekkel szemben, mint a miofibrilláris fehérjék.

4.4 CSIRKEMELL HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI

4.4.1 Csirkemell színmérési eredményei

A csirkemell filé alapvetően egy sokkal világosabb húsfajta, mint a sertés vagy a marha. A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására itt is szemmel láthatóan érvényesült az a hatás, mely a többi húsminta esetében is megfigyelhető volt, miszerint a minták színezete egyre világosabbá vált az egyre magasabb szintű nyomáskezelések következtében.



50. ábra: Csirkemell színmérésének eredményei és a minták fényképes bemutatása.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d), (e) csoport besorolások mutatják.

□ L* ■ a* □ b*

A színmérési eredményeit, valamint a csirkemell filék fényképes összeállítását mutatja be az **50. ábra**. Az L* világossági szintényező esetében szignifikáns változás már a 200 MPa-os nyomáskezelés esetében kimutatható. A 300 MPa-os nyomáskezelés hatására a mért értékekben, jelentős növekedés volt tapasztalható, 58,91-es átlagértéket (200 MPa) a 72,89-es átlagérték követte (300 MPa). A kontroll mintához képest a 400 MPa, 500 MPa és 600 MPa-os nyomáskezelések is szignifikáns változást mutattak ki. Látható, hogy az említett csoportok között azonban nem szignifikáns a differencia ($P=0,154$), a statisztikai elemzés szerint. A változások döntő része már a közepes szintű nyomáskezelések esetében bekövetkezett. Az a* vörös színtkomponens eredményeit megvizsgálva nem történtek jelentős mértékű változások, szignifikáns változás csak a 600 MPa-os nyomáskezelési szint esetében lehetett kimutatni. A b*

esetében hasonló lefutást kaphattunk, mint az L* értékeinél. A 200 MPa-os nyomáskezelést követően a minták a kontroll mintához képest szignifikáns eltérést mutattak (b*) egészen 600 MPa-ig, melyet a homogenitás vizsgálat csoportonkénti besorolása is jól szemléltet (Tukey-teszt). A minták színezete a növekvő b* értékekkel egyre sárgább lett.

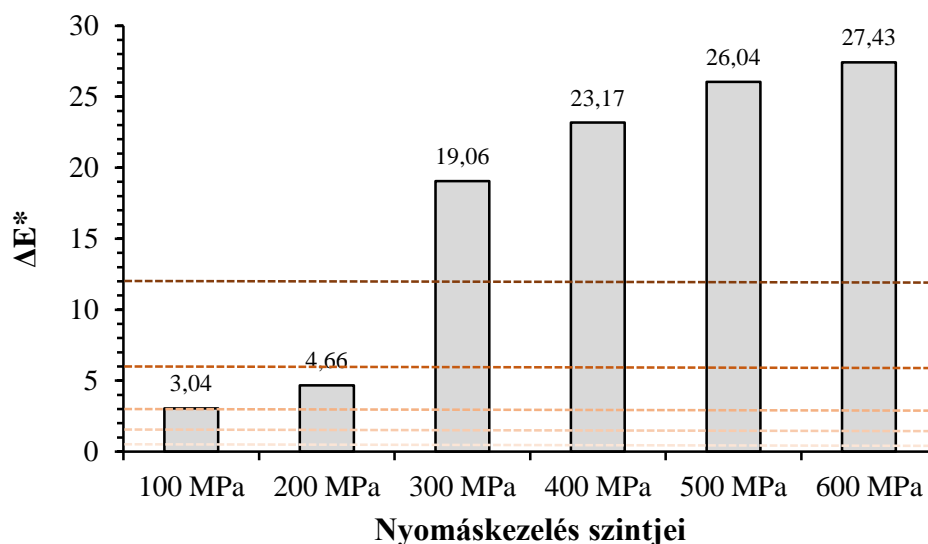
10. táblázat: A kontroll és a nyomáskezelt csirkemell színértékeinek átlag és ΔE^* eredményei.

Nyomáskezelés szintjei [MPa]	L*	a*	b*	ΔE^*
0	54,41 ± 2,25	3,29 ± 1,23	2,94 ± 1,40	0
100	57,21 ± 1,46	3,07 ± 0,59	4,11 ± 0,86	3,04
200	58,91 ± 2,61	3,90 ± 1,01	4,01 ± 0,54	4,66
300	72,89 ± 1,11	4,12 ± 0,81	7,54 ± 0,78	19,06
400	76,94 ± 2,07	4,59 ± 1,03	8,18 ± 0,55	23,17
500	79,85 ± 0,94	4,24 ± 0,47	8,42 ± 0,68	26,04
600	81,07 ± 1,61	3,27 ± 0,61	9,37 ± 0,95	27,43

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

■ szignifikáns változás 95%-os valószínűségi szinten

Az egytényezős varianciaanalízis (ANOVA) alapján, a nyomáskezelések mindhárom szintényező esetében szignifikáns változásokat eredményeztek a kezeletlen mintákhoz képest ($P < 0,05$). A 10. táblázat tartalmazza a színmérések átlag eredményeit. A táblázatban szürkével jelölve látható a kontroll mintákhoz képesti szignifikáns eltérés (Tukey-teszt).



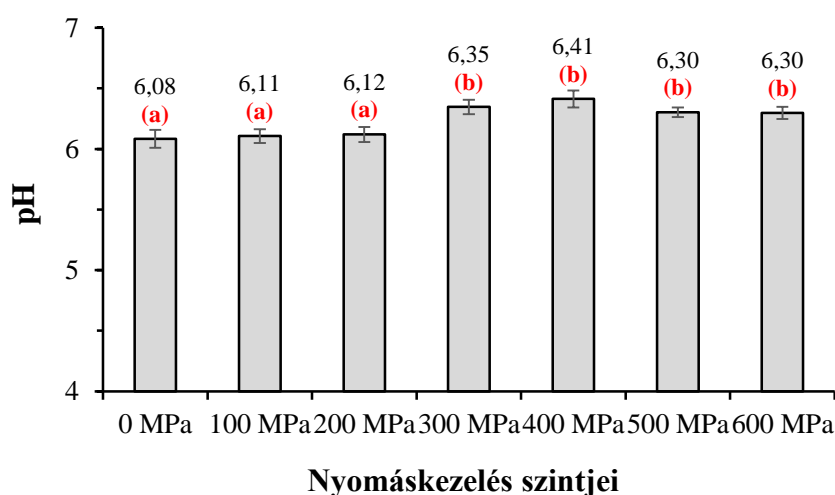
51. ábra: A nyomáskezelt csirkemell színinger-különbségeinek ábrázolása a kontroll mintához képest. A szaggatott vonalak az emberi szem számára érzékelhető eltéréseket, kategóriákat mutatja: ■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

A színinger-különbség változásának vizsgálata alapján is megállapítható (51. ábra), hogy a 100-200 MPa nyomáskezelések is már észrevehető változásokat okoztak a csirkemellfilé színezetében,

azonban, különösen a 300 MPa-os nyomáskezelés okozott először kiemelkedő mértékű változást, majd a nyomásszintek további növelésével folytatódott az értékek emelkedése is.

4.4.2 Csirkemell pH mérés eredményei

A csirkemell pH vizsgálata esetén (**52. ábra**) elmondható, hogy a 100 és 200 MPa-os nyomáskezelés még nem okozott szignifikáns változást a pH értékekben. A 300 MPa vagy azt meghaladó szintű nyomáskezelések hatására, azonban szignifikáns növekedés volt megfigyelhető ($P < 0,05$). Ez a növekedés közel azonos mértékűnek vehető, tekintve hogy a Tukey-teszt alapján azonos homogén csoportba tartoznak a csoportok („b” csoport $P = 0,276$). Megállapítható, hogy húsoknál (marhahátszín és sertéskaraj) tapasztalt pH érték növekedés a csirkemell esetében is kimutatható volt.

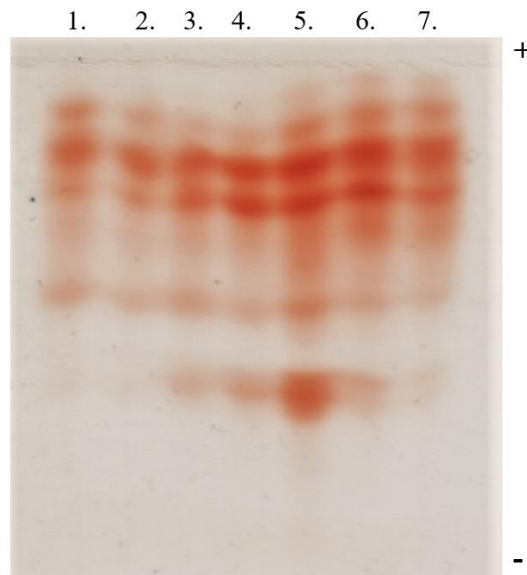


52. ábra: Kontroll és nyomáskezelt csirkemell minták pH eredményei.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b) csoport besorolások mutatják.

4.4.3 Csirkemell izoelektromos fókuszálás eredményei (IEF)

A pseudo-peroxidáz festékekkel megfestett csirkemell minták IEF elválasztási képe az **53. ábrán** látható. A csirkemell esetében a vizsgált mioglobinnel alacsonyabb, mint a sertés és a marhahús esetében. Az elválasztási képen látható a kontroll és a nyomáskezelt minták hem-fehérjeinek izoelektromos pont alapján történő elválasztása. A kontroll és a 100 MPa-os nyomáskezelés esetében nem tapasztalható különbség. A kontroll minta mintázatához képest azonban a 200 MPa-os nyomáskezelést követően – a vérmintákhoz hasonlóan – új sávok jelennek meg, melyek feltehetően bomlástermékek, vagy fehérje fragmentumok. Ezen új sávok megjelenése és intenzitása főként a 300 MPa-tól 600 MPa-os tartományban a legnagyobb.

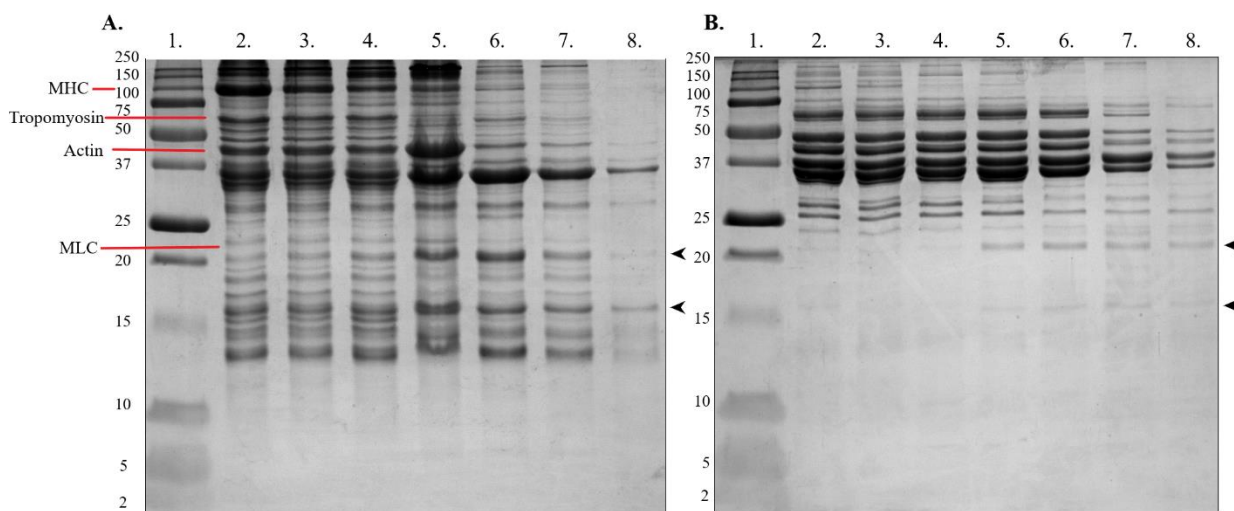


53. ábra: Csirkemell minták izoelektromos fókuszálás eredményei,
(1. 0 MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa).

4.4.4 Csirkemell SDS-PAGE eredményei

A kontroll és a nyomáskezelt csirkemell minták miofibrilláris és szarkoplazma fehérjének extrakcióját követően az SDS-PAGE elválasztás során az alábbi eredményeket kaptam (**54. ábra**). A hús fehérjének állapotát befolyásoló technológiai folyamat (HHP) hatásainak kimutatására használt alábbi módszerem hasonló GAO és munkatársainak (2009) munkájukhoz, ahol a csirkehústra gyakorolt hő hatások mértékét SDS-PAGE módszer segítségével mutatták ki. Az SDS-PAGE elválasztási kép bal oldalán (A.) a miofibrilláris fehérjék profilja, míg a jobb oldalon (B.) a szarkoplazma fehérjék profilja látható. Ahogy a korábbi vizsgálatok során itt is az első oszlop az azonosításhoz használt molekula sztenderd, azt követi a kontroll, majd pedig a nyomáskezelt minták 100 MPa-tól 600 MPa-ig.

A miofibrilláris fehérjék elválasztási képek denzitométeres adatai alapján megállapítható, hogy a kontroll mintához képest a 100 és a 200 MPa-os nyomáskezelések nem okoztak változást a fehérje mintázat összetételében és eloszlásában. Látható ellenben, hogy a 300 MPa-os kezelést követően, a sávok intenzitása csökken és egyes sávok el is tűnnek. Ennek mértéke a 600 MPa-os mintánál a legnagyobb, ahol a kontroll mintához képest az összes fehérjék intenzitásának mértéke ~92%-ot csökkent (400 MPa nál ~12%, 500 MPa-nál ~38%). A miozin nehéz láncai (MHC) és könnyű láncai (MLC) a nyomáskezelés hatására nagymértékben denaturálódtak és aggregálódtak. A miozin nehéz láncai (MHC) esetében ezen intenzitás csökkenés 300 MPa-nál ~16%, a nyomáskezelés szintjének növelésével ez az érték folyamatosan növekedett, míg 500 és 600 MPa-nál már nem, vagy csak alig lehetett kimutatni a fehérjét az elválasztási képen.



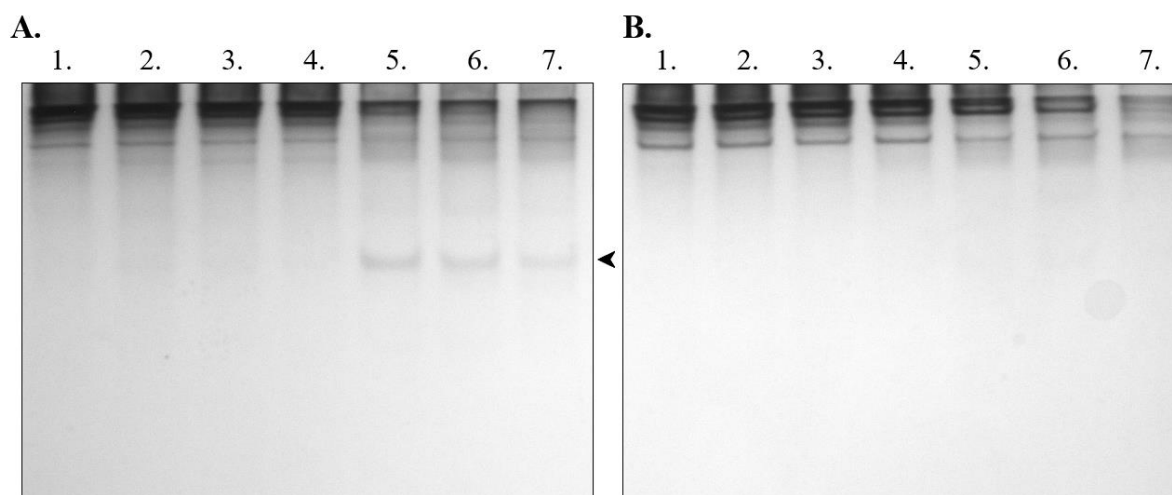
**54. ábra: Kontroll és nyomáskezelt csirkemell SDS-PAGE elválasztási képei,
A: miofibrilláris fehérjék, B: szarkoplazma fehérjék**

(1. Sztenderd, 2. 0 MPa, 3. 100 MPa, 4. 200 MPa, 5. 300 MPa, 6. 400 MPa, 7. 500 MPa, 8. 600 MPa).

Ami hangsúlyozott figyelmet érdemel az elválasztási képen (A.) az az, hogy a nyilakkal jelölt részekenél egyes - a 300 MPa feletti kezelésen átesett minták - sávjainak intenzitása megnőtt (~50%-kal például 400 MPa-os kezelés esetében). Ezen eredmény hasonló az IEF során kapott eredményekhez, ahol a HHP kezelés hatására új sávok jelentek meg. A jelenség mögött feltehetően a nyomáskezelés hatására bekövetkező, a fehérjék denaturációja és aggregációja következtében megjelenő összeállt fehérjékről van szó. A bemutatott vizsgálati eredmény nem csupán a miofibrilláris de a szarkoplazma fehérjék (B.) elválasztási képén is megfigyelhető ugyanazon nyomásértékek esetében (300 MPa, 400 MPa, 500 MPa és 600 MPa).

4.4.5 Csirkemell NATÍV-PAGE eredményei

A csirkemell minták NATÍV-PAGE elválasztási képe az **55. ábrán** látható. A fehérjék az elválasztás során natív állapotban, alegységeikkel együtt vándorolnak. Az ábrán látható a miofibrilláris (A.) és szarkoplazma (B.) fehérjék gélképe. Mind a két gélképről elmondható, hogy a kontroll mintával szinte teljes mértékig megegyezik a 100 MPa, 200 MPa, és a 300 MPa-on kezelt csirkemell minták mintázata.



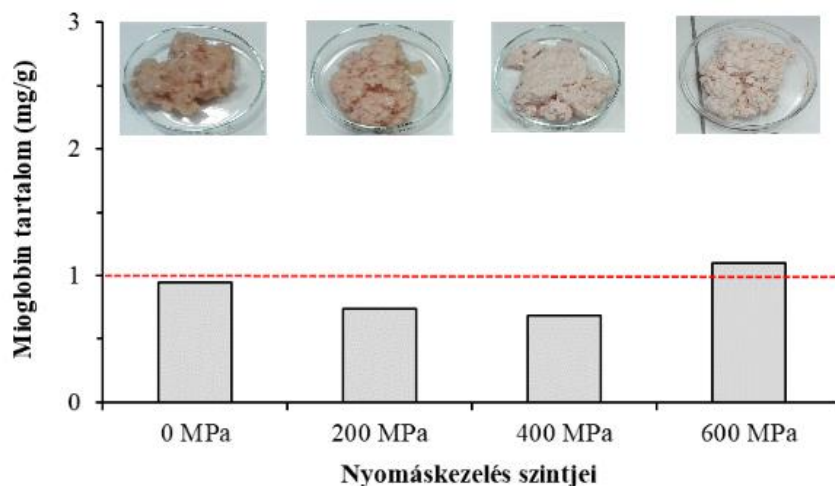
55. ábra: Kontroll és nyomáskezelt csirkemell NATÍV-PAGE elválasztási képei, (A: miofibrilláris fehérjék, B: szarkoplazma fehérjék)

1. 0 MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa.

Az elválasztási képeken látható, hogy a denaturáció és aggregáció 300 MPa feletti nyomásértékeken következik be, mivel a sávok intenzitása csökken. A miofibrilláris fehérjék 400, 500 és 600 MPa-os kezelésen átesett mintáinál a kontroll mintához képest új sávok jelentek meg. Mint, ahogy az SDS-PAGE vizsgálatoknál említésre került, ez valószínűsíthetően a denaturált és aggregált fehérje töredékek, fragmentumok megjelenése a gélben. Összeségében elmondható, hogy ez a mérési eredmény az IEF és SDS-PAGE vizsgálatok során kapott eredményekkel egybe esik.

4.4.6 Csirkemell összpigment tartalma

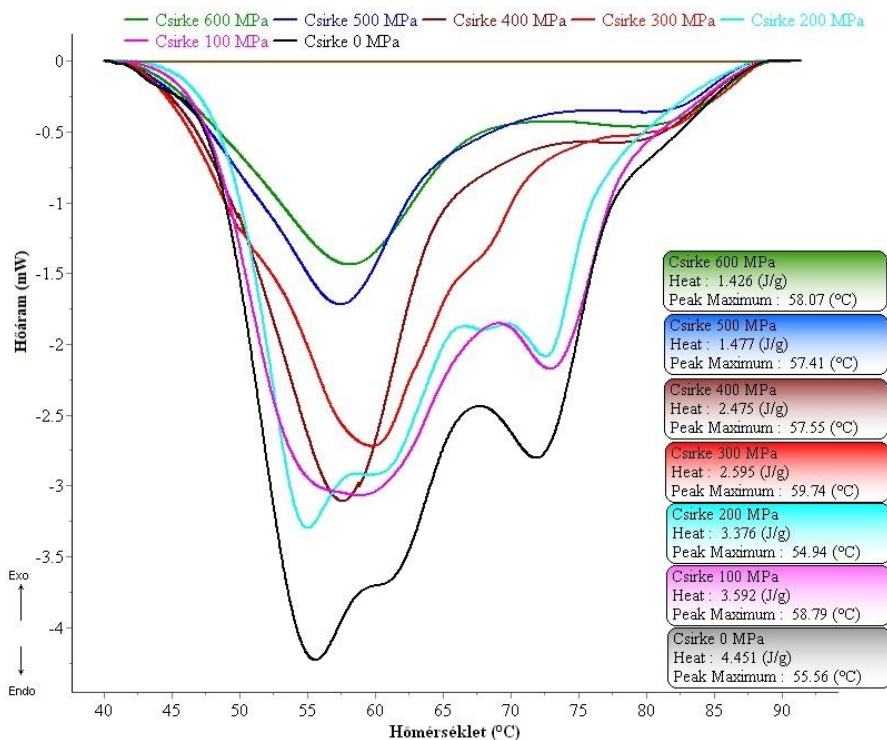
Az **56. ábrán** a mért kontroll és a nyomáskezelt csirkemell minták mioglobin koncentrációja figyelhető meg. A csirkehús átlagos mioglobin tartalmát szaggatott piros vonallal jelöltem az ábrán (NOLLET 2004a). Azonban a szakirodalomban fellelhető cikkek szerint, ennél jóval alacsonyabb értékek is kaphatók. Mint, ahogy az ábrán is látható, a kontroll minta mioglobin tartalma majdnem eléri az „átlagos” szintet. A nyomáskezelt minták esetében kezdetben csökkenés, majd enyhe növekedés figyelhető meg. Azonban elmondható, hogy valójában ezen értékek között számottevő különbség nem tehető. A diagrammon feltüntetett fényképek esetében elmondható, hogy szemmel látható eltérések vannak. A csirkemell minta kezdeti halvány rózsaszín színe a 600 MPa-os nyomáskezelés hatására teljesen kivilágosodik. A minta színadatai a 4.4.1 fejezetben tekinthetők meg.



56. ábra: A kontroll és a nyomáskezelt csirkemell minták mioglobinn koncentrációjának ábrázolása (a piros vonal a (NOLLET 2004a) szerinti átlag értéket mutatja).

4.4.7 Csirkemell termodinamikai méréseinek eredményei (DSC)

A csirkemellből készült mintákon végzett fehérje denaturációs vizsgálatok eredményeiből (57. ábra) arra következtethetünk, hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelések szintjeinek növelésével a még összes denaturálható fehérje mennyisége folyamatosan csökken. Az 55°C-os denaturációs hőmérséklet körül található miozin és a 62-64°C-os denaturációs hőmérséklet körül található szarkoplazma fehérjék hőáramgörbéin a denaturációs csúcsok több esetben egybeolvadtak, mivel azok nagyon közel találhatóak egymáshoz.



57. ábra: A kontroll és nyomáskezelt csirkemell minták termogramja.

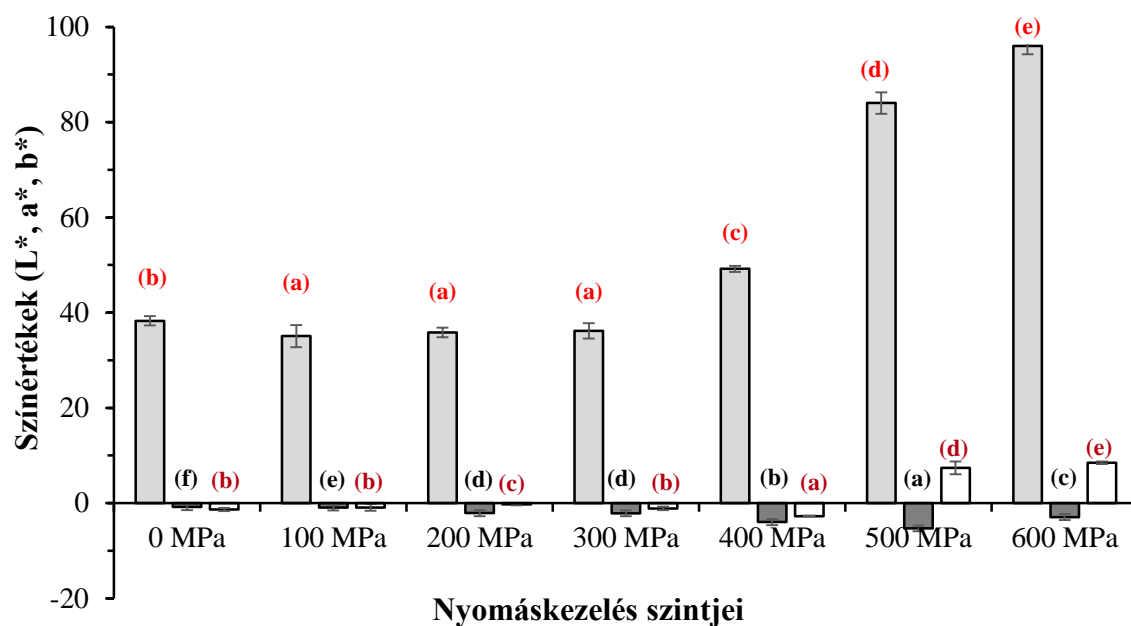
A denaturációs entalpia értékei a kezeletlen mintához képest 100 és 200 MPa nyomáskezelések esetében 20 és 25%-kal csökkentek, 300 és 400 MPa kezelések hatására 42 és 45%-kal, míg 500 és 600 MPa esetében 66 és 68%-kal csökkentek, vagyis az egyre magasabb szintű nyomáskezelések hatására egyre kevesebb denaturálható fehérje maradt a csirkemellfilé mintákban. A denaturációs csúcsok alakjainak változása azt mutatja, hogy a nyomáskezelések szintjeinek emelésével a miofibrilláris fehérjék csúcsai folyamatosan eltűnnek vagy kisimulnak, mely arra enged következtetni, hogy a miofibrilláris fehérjék csirkemell esetében is kisebb ellenállást mutatnak a nyomáskezelésekkel szemben, mint a szarkoplazmafehérjék.

4.5 TOJÁSLÉ (FEHÉRJELÉ ÉS TELJES TOJÁSLÉ) HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI

4.5.1 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) színmérés eredményei

A **58. ábrán** láthatjuk a tojásfehérjelé nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására bekövetkező színváltozásának eredményeit. Az ábra alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a 100-200-300 MPa nyomáskezelések nem befolyásolják jelentős mértékben a fehérjelé színezetét, azonban a 400 MPa nyomáskezelés hatására már lényeges változások vehetők szemügyre, mely változások még erősebbé válnak az 500 és 600 MPa nyomáskezelések hatására.

Az L* világossági színtényező értékei emelkedtek a leglátványosabban, a színezet tulajdonképpen sokkalta világosabb lesz, de a b* sárga színjellemző értékeiben is jelentős növekedés figyelhető meg, míg az a* vörös-zöld színtényező valamelyest csökken a növekvő szintű nyomáskezelések hatására.



58. ábra: Tojásfehérjé színérésének eredményei és fényképes bemutatása.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d), (e) csoport besorolások mutatják. □ L* ■ a* □ b*

A világosodást jól magyarázza a nyomáskezelések hatására bekövetkező fehérje denaturáció és/vagy aggregáció, mivel a fehérjék kicsapódásuk közben az emberi szem számára fehér színűvé válnak, ahogy azt az ábra alatti fényképes illusztráció is jól tükrözi, így a minták színpontja is a világos tartomány felé mozdul el a színtérben.

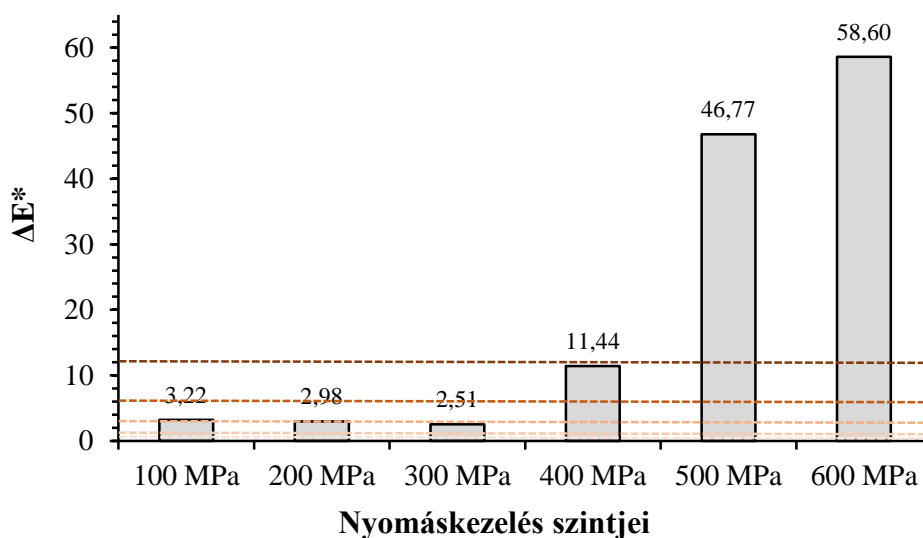
11. táblázat: A kontroll és a nyomáskezelt tojásfehérjé színértékeinek átlag és ΔE^* eredményei.

Nyomáskezelés szintjei [MPa]	L*	a*	b*	ΔE^*
0	38,29 ± 0,99	-0,82 ± 0,19	-1,34 ± 0,36	0
100	35,10 ± 2,32	-0,92 ± 0,86	-0,90 ± 0,69	3,22
200	35,83 ± 1,02	-2,10 ± 0,18	-0,24 ± 0,23	2,98
300	36,19 ± 1,62	-2,16 ± 0,16	-1,10 ± 0,36	2,51
400	49,20 ± 0,62	-3,99 ± 0,15	-2,72 ± 0,11	11,44
500	84,02 ± 2,26	-5,31 ± 0,27	7,39 ± 1,34	46,77
600	96,03 ± 1,77	-2,91 ± 0,14	8,45 ± 0,27	58,60

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

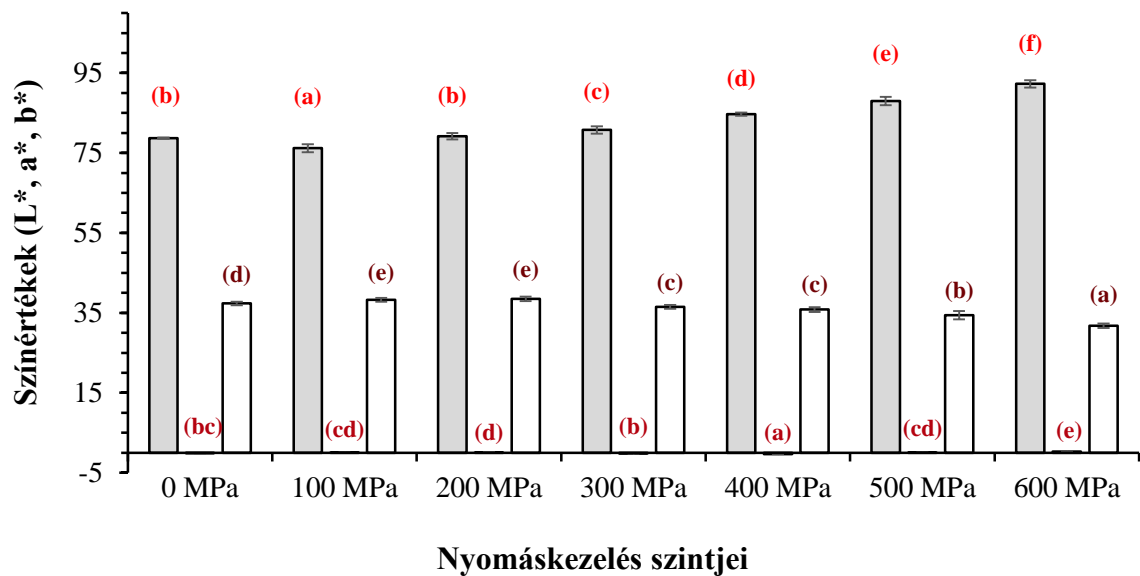
■ szignifikáns változás 95%-os valószínűségi szinten

A statisztikai eredmények alapján (11. táblázat), a nyomáskezelések mindhárom szintényező esetében is szignifikáns változást okoztak ($P < 0,05$). Az L^* értékeiben jóllehet a Tukey-teszt csak a 100-200-300 MPa nyomáskezelt mintákat sorolja homogén csoportba, a számszerű értékeket megvizsgálva, a kezeletlen minta is közel áll ehhez a csoporthoz ($L^*_0=38,29$), különösképpen, ha a magasabb szintű nyomáskezelések hatására végbemenő intenzívebb változásokhoz képest nézzük ($L^*_{400}=49,2$; $L^*_{500}=84,02$; $L^*_{600}=96,03$). Ebből fakadóan a 400-500 és 600 MPa-on átesett minták más-más csoportbesorolást kaptak a Tukey-teszt alapján. KÁLMÁNNÉ TUBOLY (2009) munkájában hasonló megállapítást tett, melynek értelmében az L^* értékek 400 és 500 MPa kezelést követően nagymértékű növekedést mutattak tojásfehérje esetében. A b^* esetében igen hasonlóak a csoportbesorolások, vagyis itt tulajdonképpen nem a 300 MPa hanem a 400 MPa vagy a fölötti nyomáskezelések hatására történnek színezetbeli változások.



59. ábra: A nyomáskezelt fehérjé színinger-különbségeinek ábrázolása a kontroll mintához képest. A szaggatott vonalak az emberi szem számára érzékelhető eltéréseket, kategóriákat mutatja: ■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

A színinger-különbség értékeinél megfigyelhető (59. ábra), hogy az alacsonyabb szintű nyomáskezelések hatására a színezetbeli változások mértéke még csak az észrevehető vagy a jól látható kategóriába esik, addig a 400 MPa nyomáskezelés hatására már a nagy kategóriába kerül, és a tovább növelt nyomásszintek esetében igen kimagasló értékeket mutat a változások mértéke.



60. ábra: Teljes tojáslé színmérésének eredményei és fényképes bemutatása.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d), (e) csoport besorolások mutatják. □ L* ■ a* □ b*

A teljes tojáslé színváltozását megvizsgálva azt állapíthatjuk meg (**60. ábra**), hogy a növekvő szintű nyomáskezelések hatására itt is folyamatosan növekvő tendenciát mutatott az L* világossági színtényező értéke, azonban sokkal visszafogottabb mértékben. Alapvetően mindhárom színtényezőre szignifikáns változással hatott a nagynyomású kezelés ($P < 0,05$), ezenfelül, az L* színjellemző esetében a Tukey-teszt alapján jóformán majd minden kezelés között szignifikáns a különbség mértéke a csoportba sorolások alapján, vagyis folyamatos a változások mértéke, a minták színezete fokozatosan egyre világosabbá vált. Az a* vörös-zöld színtényező esetében jelentős változások nem történtek, azok irányát tekintve az eredmények fluktuációt mutatnak. Az értékeket megvizsgálva láthatjuk, hogy a legalacsonyabb érték $a^*_{400} = (-0,31)$ volt, míg a legmagasabb mindössze $a^*_{600} = 0,26$. A b* sárga színösszetevő esetében a nyomás szintjeinek növelésével egyre csökkenő értékeket kaptunk, mely szerint a teljes tojáslé egyre inkább veszített a sárga színintenzitásából, mely a fényképes ábrázolásokon is észrevehető. A változást okozhatja a teljes tojásban lévő tojásfehérje kezelés hatására bekövetkező pelyhesedés, mely színváltozással, világosodással jár. Ezen eredményt alátámasztja THAKUR és NELSON (1998) megfigyelése, mely szerint a - tojásfehérjét nem tartalmazó - tojássárgája 400 MPa-os nyomáskezelés esetében is megőrizte eredeti színét.

A tojásfehérjéhez képest a kevésbé erős változások, feltételezhetően annak tulajdoníthatók, hogy a teljes tojáslé esetében a fehérjék egy olyan élelmiszermátrixban vannak a tojássárgájával együtt, mely környezetben egyfajta védelmet élveznek a nagy hidrosztatikus nyomáskezeléssel szemben, így kevésbé könnyen denaturálhatók.

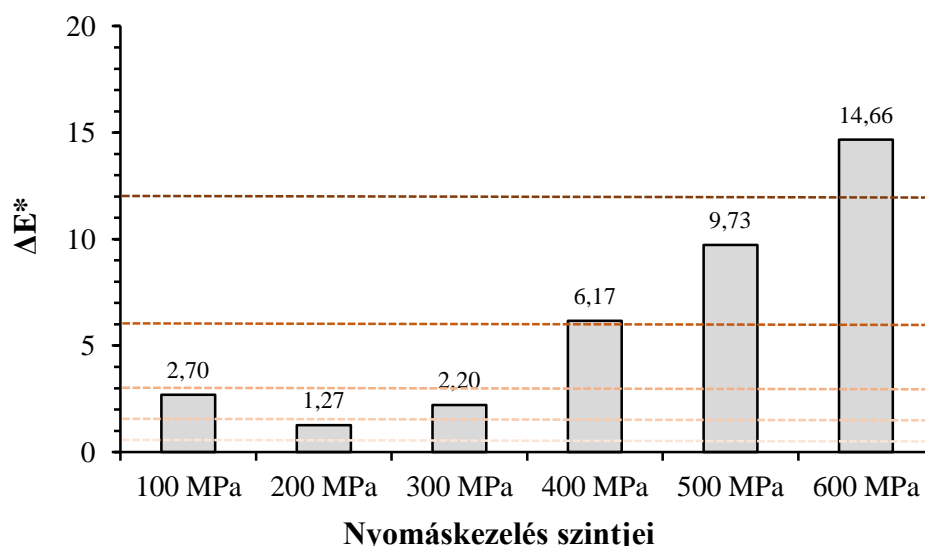
12. táblázat: A kontroll és a nyomáskezelt teljes tojáslé színértékeinek átlag és ΔE^* eredményei.

Nyomáskezelés szintjei [MPa]	L*	a*	b*	ΔE^*
0	78,72 ± 0,17	-0,13 ± 0,05	37,34 ± 0,43	0
100	76,20 ± 0,99	-0,00 ± 0,21	38,27 ± 0,49	2,70
200	79,19 ± 0,81	0,05 ± 0,08	38,50 ± 0,55	1,27
300	80,75 ± 0,93	-0,16 ± 0,06	36,48 ± 0,45	2,20
400	84,70 ± 0,43	-0,31 ± 0,07	35,82 ± 0,59	6,17
500	88,00 ± 1,05	0,00 ± 0,06	34,41 ± 1,07	9,73
600	92,29 ± 0,94	0,26 ± 0,11	31,77 ± 0,53	14,66

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

■ szignifikáns változás 95%-os valószínűségi szinten

A színínger-különbség változások (61. ábra) értékei jelen esetben is, akárcsak a tojásfehérjé esetében, a 400 MPa nyomáskezelés hatására kerültek a „nagy” változást jelentő tartományba, alacsonyabb nyomáskezeléseknél mindössze az észrevehető vagy alig észrevehető kategóriába tartoztak. Az 500 és 600 MPa nyomáskezelések hatására itt is tovább növekedtek a színínger-különbség értékek, azonban jóval csekélyebb mértékben, mint a tojásfehérjé esetében, vagyis a változások kevésbé voltak erősek.

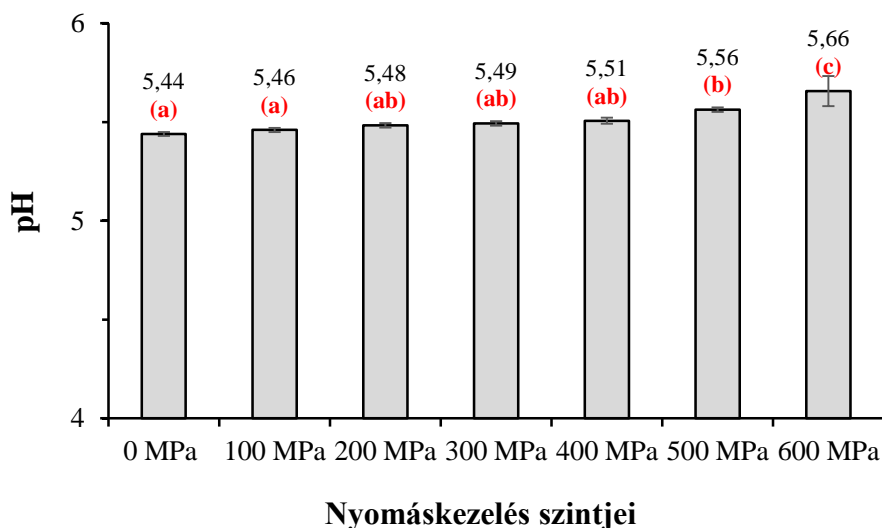


61. ábra: A nyomáskezelt teljes tojáslé színínger-különbségeinek ábrázolása a kontroll mintához képest. A szaggatott vonalak az emberi szem számára érzékelhető eltéréseket, kategóriákat mutatja:

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

4.5.2 A tojáslé (fehérjélé és teljes tojáslé) pH mérés eredményei

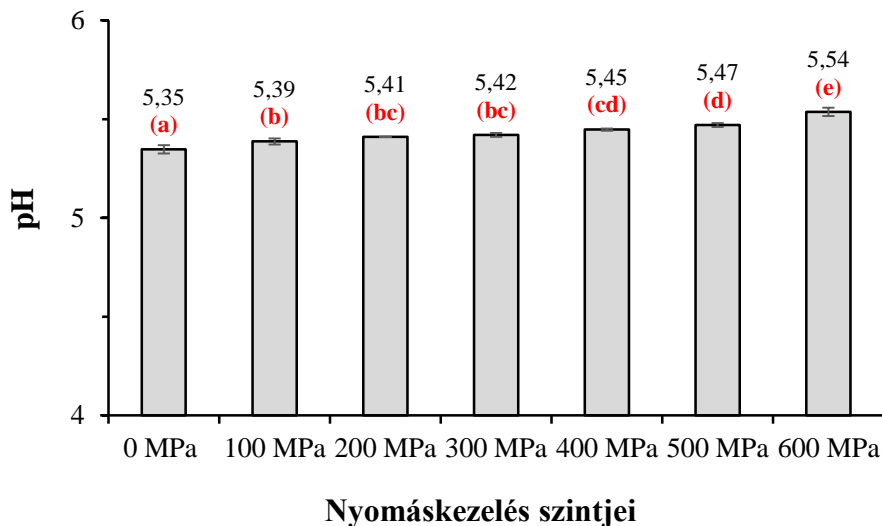
A 62. ábra illusztrálja a tojásfehérjélében bekövetkező pH érték változásokat a nyomáskezelések során. A növekvő nyomáskezelési szintek hatására a tojásfehérjélé pH értékei is folyamatosan növekvő értékeket mutatnak. Az egytényezős varianciaanalízis alapján ugyan szignifikáns a változás a nyomáskezelések következtében a kontroll mintához képest, azonban az értékeket megvizsgálva azt tapasztaljuk, hogy ezek a változások csekélyek.



62. ábra: Kontroll és nyomáskezelt tojásfehérjélé minták pH eredményei.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c) csoport besorolások mutatják.

A Tukey-teszt is egy homogén csoportba sorolja a kontroll, 100, 200, 300 és 400 MPa nyomáskezelések pH értékeit ($P=0,178$), vagyis az „a” csoportba tartozó értékek között nincs szignifikáns különbség, akárcsak a „b” csoportba ($P=0,073$) tartozó elemek között sem (a több csoporthoz is tartozó elemek esetében az épp az adott csoporthoz besorolva nem szignifikánsak a különbségek).



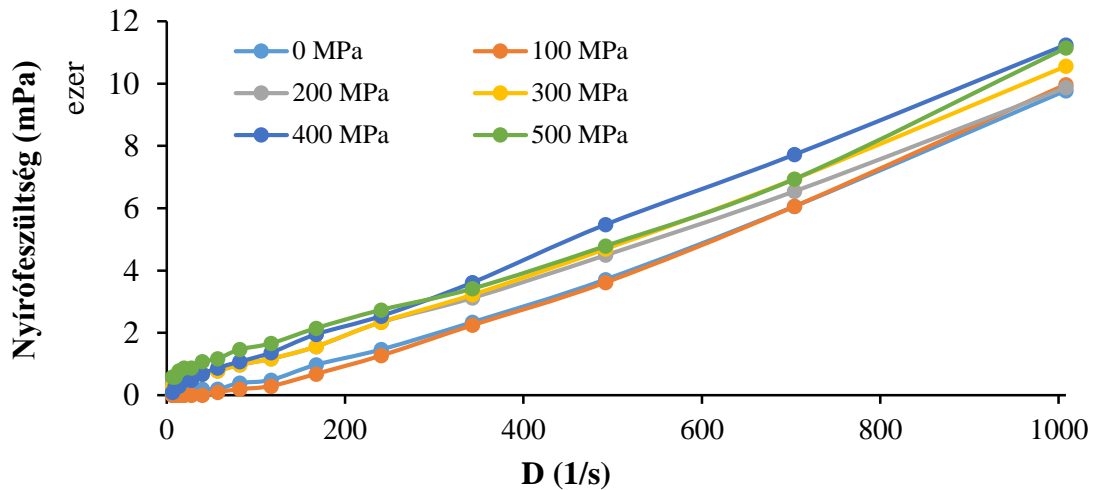
63. ábra: Kontroll és nyomáskezelt teljes tojáslé minták pH eredményei.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d), (e) csoport besorolások mutatják.

A nyomáskezelések következtében a teljes tojáslé pH értékeinek változását a **63. ábra** mutatja be. Az értékeket közelebbről is megvizsgálva azt tapasztalhatjuk, hogy ugyan a változás csekély, de folyamatosan növekvő tendenciát mutat, vagyis a növekvő nyomáskezelési értékek hatására a pH értékek is folyamatosan növekednek. A Tukey-teszt homogenitásvizsgálata alapján az eredmények szerinti csoportba sorolások és átfedések is a kismértékű, de változó értékekről tesznek tanúbizonyságot.

4.5.3 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) látszólagos viszkozitás eredményei

A tojásfehérjelé viszkozitásban nem mutatkoztak olyan jelentős különbségek, mint a marhavér minták esetében, azonban a tendenciájuk nagyon hasonló. A kapott nyírófeszültség értékeket a **64. ábra** szemlélteti a sebességgradiens függvényében.

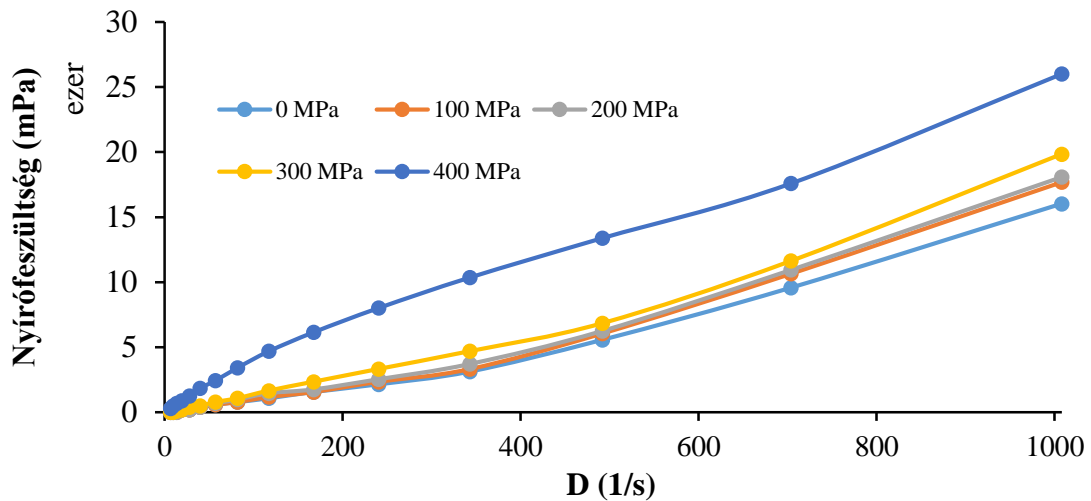


64. ábra: Kontroll és nyomáskezelt tojásfehérjélé minták nyírófeszültségének ábrázolása.

(Megjegyzés: A sorozatból a 600 MPa-os minta a túlzott gélesedés miatt nem volt lemérhető.)

Összehasonlítva a nyírófeszültség, valamint látszólagos viszkozitás számadatait elmondható, hogy alacsonyabbak ($\eta_{500 \text{ MPa}}=11,15 \text{ Pas}$, a legnagyobb deformációsebesség esetében), mint a marhavér mintáké. Azonban itt is megfigyelhető, hogy a nyomáskezelés szintjeinek növelésével növekszik a termékek nyírófeszültsége is, vagyis egyre inkább sűrűbben folyó termék kapható. A nyomáskezelés hatására a tojásfehérjélé egyértelmű gélesedése következett be. Ostwald-de-Waele egyenletet illesztve a görbékre ($r^2 = 0,89-0,96$) a kapott konzisztencia állandók is egyre inkább növekedést mutatnak a nyomáskezelések szintjének növelésével. Az n-folyásindex értékek minden esetben $n < 1$, vagyis a tojásfehérjélé mintákra alapvetően a pszeudoplasztikus viselkedés a jellemző. DUMOULIN és munkatársai (1998) szintén vizsgálták a tojásfehérje és -sárgája nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására fellépő változásait. Megállapították, hogy a szobahőmérsékletnél alacsonyabb vagy magasabb hőmérsékletek pozitívan hatottak a tojásfehérje gélképződésére. Tojássárgája esetében azonban a hőmérséklet csökkenése negatívan befolyásolta a gélképződést. A vizsgálatokat 210 MPa-tól 500 MPa-ig végezték el $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ -tól $+50 \text{ }^\circ\text{C}$ -ig.

A teljes tojáslevek esetében a folyásgörbék a **65. ábrán** vehetők szemügyre. Itt a tojásfehérjéléhez képest a számértékek valamivel magasabbak, vagyis általánosságban nagyobb a minták látszólagos viszkozitása ($\eta_{300 \text{ MPa}}=19,68 \text{ Pas}$, a legnagyobb deformációsebesség esetében).



65. ábra: Kontroll és nyomáskezelt teljes tojáslé minták nyírófeszültségének ábrázolása.

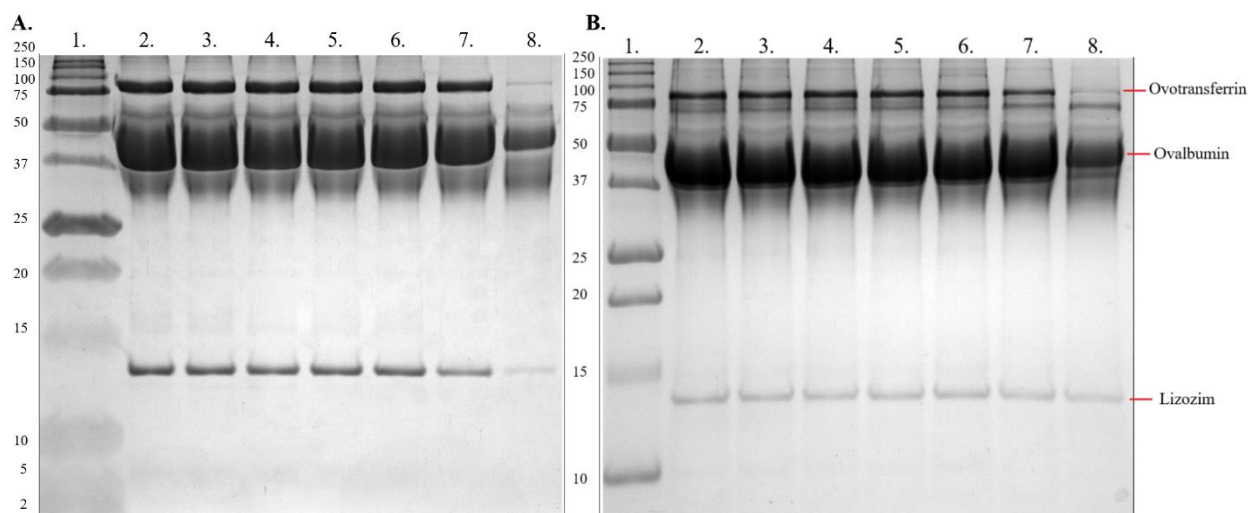
(Megjegyzés: A sorozatból az 500 MPa-os és a 600 MPa-os minta a túlzott gélesedés miatt nem volt lemérhető.)

Ha növeljük a nagy hidrosztatikus nyomáskezelések szintjeit, akkor jelen esetben is egyre inkább növekednek a nyírófeszültség értékek, vagyis növekszik a minták látszólagos viszkozitása. Különösen a 400 MPa nyomáskezelés hatására vehető észre egy nagyobb léptékű növekedés az adatokban ($\eta_{400 \text{ MPa}}=25,79 \text{ Pas}$, a legnagyobb deformációsebesség esetében), feltételezhetően a fehérjekoaguláció és aggregáció következtében. A folyásindex értékek jelen esetben is pszeudoplasztikus jellegűnek írják le a minták viselkedését.

4.5.4 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) SDS-PAGE eredményei

A denaturáló közegben végzett elválasztás során a tojásfehérjéket a szakirodalomban megtalálható molekulatömegnél lehetett azonosítani molekulatömegük és migrációs mintázatuk alapján (66. ábra). A géleken a legnagyobb mennyiségben megjelenő fehérje az ovalbumin volt, mely a tojás fehérjéinek 54%-át adja (RAIKOS et al. 2006). Mint ahogy a tojásfehérjelé (A.) elválasztási képén megfigyelhető, az alacsony és közepes értékeken végzett nyomáskezelés (100-300 MPa és 400 MPa) között az SDS-PAGE módszerével nem lehetett számottevő különbséget kimutatni. A HHP kezelés a hőkezeléssel szemben kevésbé okoz extrém aggregációt a tojásfehérjében található fehérjék esetében, ezáltal egyfajta előnyt élvez (GHARBI, LABBAFI 2018). Az ovalbumin denzitométeres adataiban csökkenést a 600 MPa-os nyomáskezelésnél lehetett először kimutatni, ahol a csökkenés mértéke közel 50% volt. Az lizozim esetében az 500 MPa-os nyomáskezelés hatására a fehérje 75%-a volt csak oldatba vihető, tehát az intenzitás itt 25%-ot csökkent. 600 MPa esetében ez a csökkenés elérte a 86%-ot. Így, elmondható, hogy a lizozim a nagyobb nyomáskezelés hatására (500 és 600 MPa) számottevően denaturálódott és

aggregálódott. A lizozimhoz hasonlóan viselkedett az ovotranszferrin is, bár ennél a fehérjénél az intenzitás 600 MPa-nál 95%-ot csökkent.



66. ábra: A kontroll és nyomáskezelt tojáslevek SDS-PAGE elválasztási képe, (A: tojásfehérjelé, B: teljes tojáslé)

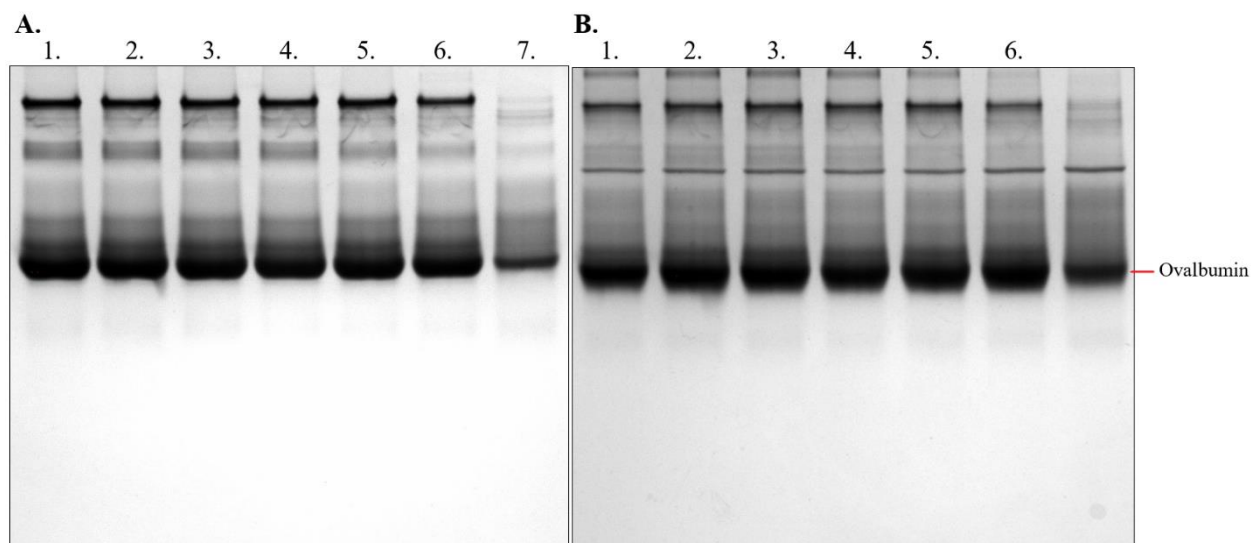
(1. Sztenderd, 2. 0 MPa, 3. 100 MPa, 4. 200 MPa, 5. 300 MPa, 6. 400 MPa, 7. 500 MPa, 8. 600 MPa).

A **66. ábra** második részénél (B.) az SDS-PAGE elválasztási kép változásai nagy hasonlóságot mutatnak a tojásfehérjeléhez. Összehasonlítva, a teljes tojáslé esetében az ovalbumin intenzitásának csökkenése kisebb volt, mint a tojásfehérjelé esetében (45%). A lizozim változása a teljes tojáslében szintén kisebb volt, mint a fehérjelében (500 MPa-ál 13%, 600 MPa-nál 41%). Ez a tendencia az ovotranszferrinnél is folytatódott, ahol az intenzitás 600 MPa-nál 54%-ot csökkent. Ahogy az adatok is mutatják, a tojás fehérjéi eltérő közegekben máshogy viselkednek a nyomáskezelés hatására. A fehérjelé a teljes tojásléétől főként zsírtartalmában különbözik. Itt megmutatkozik a szakirodalomban is leírt védő szerep, melynek hatására a teljes tojáslében lévő fehérjék „védettebbek” a nyomáskezelés denaturáló hatásával szemben. Ezen ismeret technológiai megvalósítása látható a tojáslevek pasztöröző gépeinek beállításain is, ahol a fehérjelét mindig alacsonyabb hőmérsékleten kezelik, mint a teljes tojáslevet.

4.5.5 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) NATIV-PAGE eredményei

A NATIV-PAGE vizsgálatok során hasonló eredményeket kaptam mind a tojásfehérjelé és a teljes tojáslé esetében, mint az SDS-PAGE vizsgálatok során. Az elválasztási képeken (**67. ábra**) látható, hogy az alacsonyabb és a közepes nyomáskezelési értékek nem okoztak változást a mintákban. AHMED és munkatársai (2003) teljes tojáslé NATIV-PAGE vizsgálata során hasonló eredményre jutottak, melynek értelmében a natív fehérjéket a nyomás (300 MPa és 400MPa) nem befolyásolta. A 600 MPa-os nyomáskezelés esetében az elválasztási

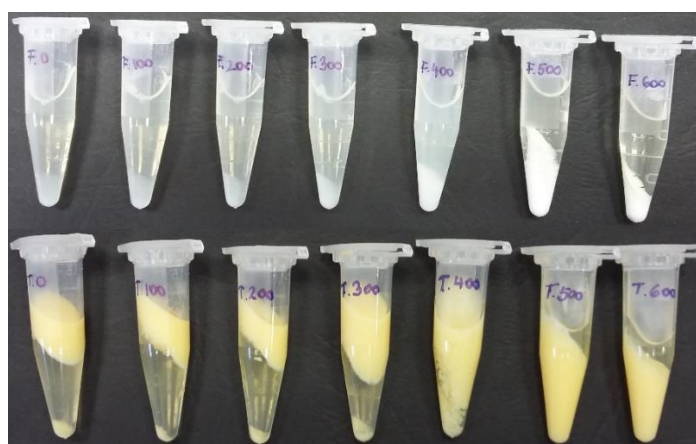
képen látható, hogy a fehérjék legnagyobb része elvesztette natív szerkezetét, és aggregálódott, denaturálódott.



67. ábra: A kontroll és nyomáskezelte tojáslevek NATÍV-PAGE elválasztási képe, (A: tojásfehérjélé, B: teljes tojáslé)

(1.0 MPa, 2. 100 MPa, 3. 200 MPa, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa)

A fehérjék natív szerkezetének elvesztése aggregációhoz vezet, mely a későbbiekben a termék állományára, gélesedésére is hatással lesz. RAIKOS és munkatársai (2007) is megfigyelték, hogy a hőkezelt tojássárgája és fehérje esetében a nagy molekulatömegű aggregátumok keletkezése bizonyos mértékig meghatározza a tojásgélek szerkezeti és állomány tulajdonságait. Tojáslé esetében jól szemlélteti a fehérjék megváltozott oldhatósági tulajdonságát és az aggregátumok képződését a **68. ábra**. Az ábrán a kontroll és a nyomáskezelte minták láthatók centrifugálás után (10 000ford/perc, 10 min).

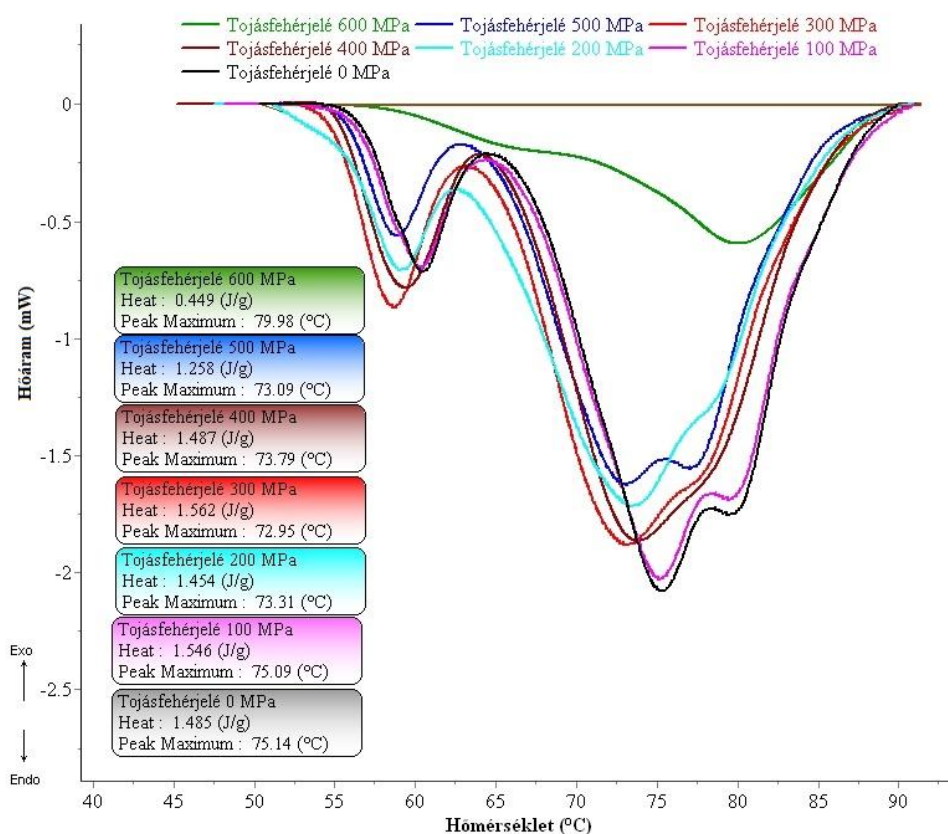


68. ábra: A kontroll és a nyomáskezelte tojásfehérjélé és teljes tojáslé centrifugálást követően.

A képen megfigyelhető a teljes tojáslé esetében, hogy a még natív állapotban lévő fehérjék a felülúszóban találhatóak, míg a nyomás növekedésével később a csapadékban jelennek meg, megváltozott oldhatósági paramétereik végett.

4.5.6 A tojáslé (fehérjelé és teljes tojáslé) termodinamikai méréseinek eredményei (DSC)

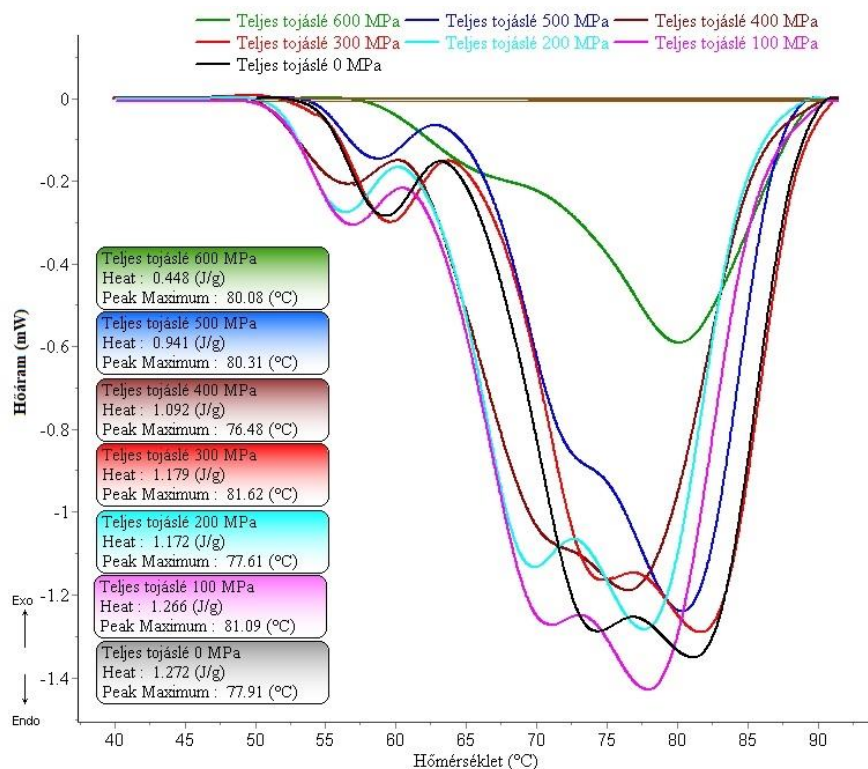
A tojásfehérjelé hőáramgörbéjének elemzése során (69. ábra) alapvetően 2 kalorimetrikus csúcsot lehet elkülöníteni. Az első kalorimetrikus csúcs a tojásfehérje 4 fő komponense közül (konalbumin, lizozim, ovalbumin, globulinok) a lizozim és a konalbumin hődenaturációs eredményeit tartalmazza, ahol a denaturációs pontok közelsége miatt azok csúcsai egybeolvadtak, melyben szerepet játszott a termék homogenizálása is, míg a második csúcs az ovalbumin és globulinok denaturációját jellemzi (NÉMETH 2012).



69. ábra: A kontroll és nyomáskezelt tojásfehérjelé minták termogramja.

A kezeletlen tojásfehérjelé és a 100-500 MPa nyomáskezeléseken átesett fehérjelevek denaturációs csúcshőmérsékletei az ovalbumin és globulinok esetében egymáshoz igen hasonlóak voltak, 73-75°C körül ingadoztak, míg a 600 MPa nyomáskezelt tojásfehérjelé csúcshőmérséklete majdnem 80°C volt. A lizozimot és konalbumint jellemző első kalorimetrikus csúcsok vizsgálata esetén is megfigyelhető hasonló csúcshőmérsékletek közötti különbség, ami arra enged következtetni, hogy a növekvő szintű nyomáskezelések hatására, különösen a 600 MPa esetében

először a hőérzékenyebb fehérjék denaturálódnak. A denaturációs entalpia értékek alapján, a kontroll mintához képest, a 100-500 MPa nyomáskezelések még nem okoztak jelentős változásokat a fehérjék denaturációjában, azonban a 600 MPa nyomáskezelés igen, ahol a denaturációs entalpia körülbelül a harmadára, 1,485 J/g-ról 0,449 J/g-ra csökkent.



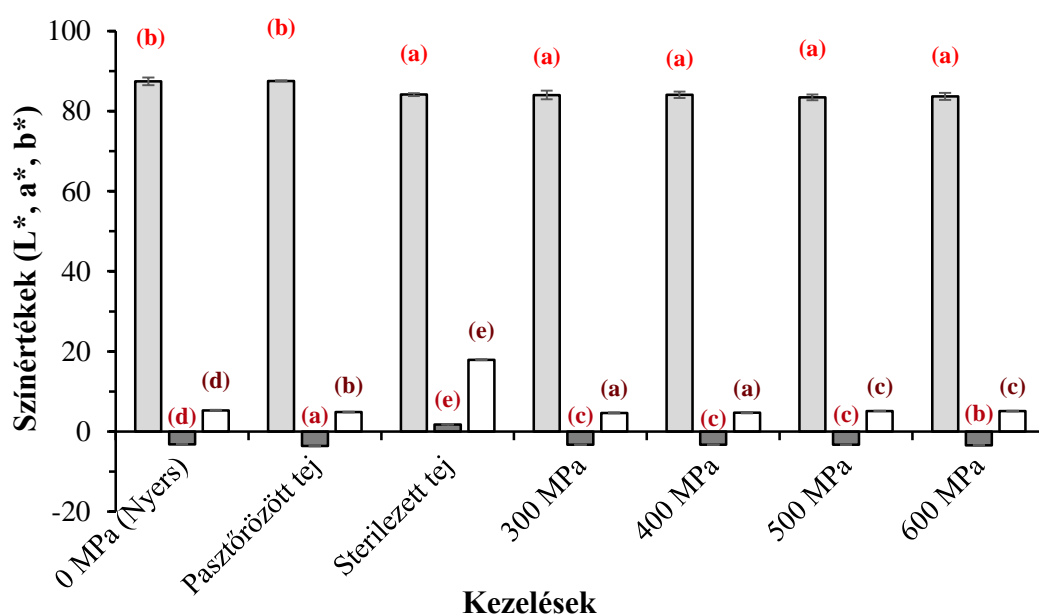
70. ábra: A kontroll és nyomáskezelt teljes tojáslé minták termogramja.

Teljes tojáslevek esetében (70. ábra) is alapvetően hasonló következtetések vonhatók le, vagyis hogy a 100-500 MPa nyomáskezelések még nem okoznak igazán jelentős mértékű változásokat a fehérje denaturálható mennyiségében, azonban a 600 MPa nyomáskezelés hatására közel a harmadára csökken a denaturációs entalpia. Így, alapvetően a kétféle tojástermékre igen hasonlóan hatnak a különböző szintű nyomáskezelések.

4.6 TEJ HHP KEZELÉSÉNEK MÉRÉSI EREDMÉNYEI

4.6.1 A tej színmérésének eredményei

A 71. ábra szemlélteti a tej színezetében bekövetkezett változásokat a különböző szintű nyomáskezelések hatására. A szakirodalmi adatok alapján, a 100 és 200 MPa nyomáskezelések nem okoznak nagymértékű változásokat a nyers tej színezetében, így ezek helyett pasztörözött és sterilizett tej vizsgálatával egészítettem ki a méréseimet, tekintve, hogy a különböző hőkezelések mértéke lényegesen nagyobb változásokat képes okozni a színezetben, így az eredmények összehasonlítása is jobban rá tud világítani a nyomáskezelések következtében történő változásokra.



71. ábra: Hőkezelt és nyomáskezelt tejek színmérésének eredményei.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c), (d), (e) csoport besorolások

mutatják. □ L* ■ a* □ b*

A varianciaanalízis eredményei alapján megállapítható, hogy mind az L*, a* és b* színértékek esetében történt szignifikáns változás a kontroll mintához képest. NEEDS és munkatársai (2000b) is szignifikáns változást mutattak ki mindhárom színértéknél fölözött tej nyomáskezelése alkalmával (600 MPa, 15 min).

Megvizsgálva az L* világossági szintényező értékeit az látható, hogy a pasztörözött tej igen hasonló jellemzőkkel bír, mint a nyomáskezelt minták, azonban a sterilizett tej esetében már

csökkennek az L^* értékek. A csökkenés a magasabb szintű nyomáskezelések esetében is kimutatható, vagyis a tej színezete ugyan kis mértékben, de sötétebb lett. A Tukey-teszt homogenitás vizsgálata szerint is a nyers tej és a pasztörözött tej között nincs szignifikáns különbség, valamint a sterilizett tej és a 300-600 MPa nyomáskezelte minták L^* értékei képviselnek azonos csoportot, nincs köztük szignifikáns különbség ($P=0,410$). A nyomáskezelések szintjeinek növekedésével alapvetően nem változtak további mértékben a minták L^* értékei, és ez leginkább a sterilizett tej L^* értékeivel azonos.

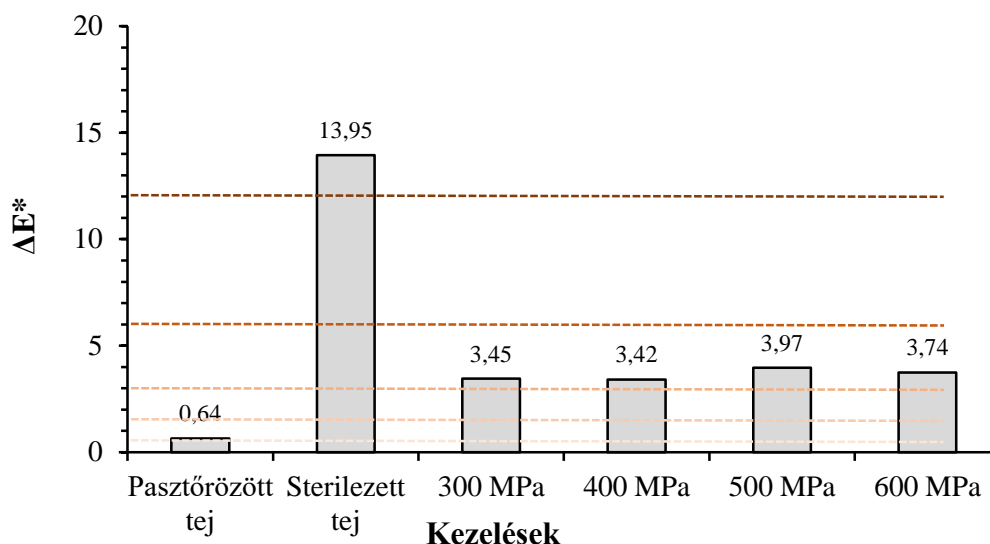
13. táblázat: A kontroll, hőkezelt és nyomáskezelte tejek színértékeinek átlag és ΔE^* eredményei.

Nyomáskezelés szintjei [MPa]	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
0	87,41 ± 0,94	-3,18 ± 0,06	5,31 ± 0,10	0
100	87,51 ± 0,12	-3,63 ± 0,04	4,87 ± 0,07	0,64
200	84,13 ± 0,34	1,79 ± 0,03	17,93 ± 0,11	13,95
300	84,02 ± 1,05	-3,28 ± 0,09	4,67 ± 0,14	3,45
400	84,05 ± 0,80	-3,30 ± 0,08	4,69 ± 0,16	3,42
500	83,45 ± 0,71	-3,30 ± 0,07	5,13 ± 0,05	3,97
600	83,68 ± 0,86	-3,47 ± 0,08	5,12 ± 0,06	3,74

■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

■ szignifikáns változás 95%-os valószínűségi szinten

Az a^* vörös színjellemző esetében a nyers, pasztörözött és nyomáskezelte tejek értékei nagyon közel állnak egymáshoz (13. táblázat), a legalacsonyabb érték az $a^*_{0}=(-3,18)$, míg a legmagasabb az $a^*_{paszt}=(-3,63)$. Egyedül a sterilizett tej a^* értéke mutat ezekről eltérő értéket. Alapvetően ugyanez a szisztéma jellemző a b^* sárga színjellemző esetére is, de itt a sterilizett tej b^* értéke igen jelentős mértékben eltér a többi számadattól ($b^*_{ster}=17,93$), ez kiválóan megmutatkozik a fényképes illusztráció alapján is, ahol a sterilizett tej színezete lényegesen sárgábbnak látszik.

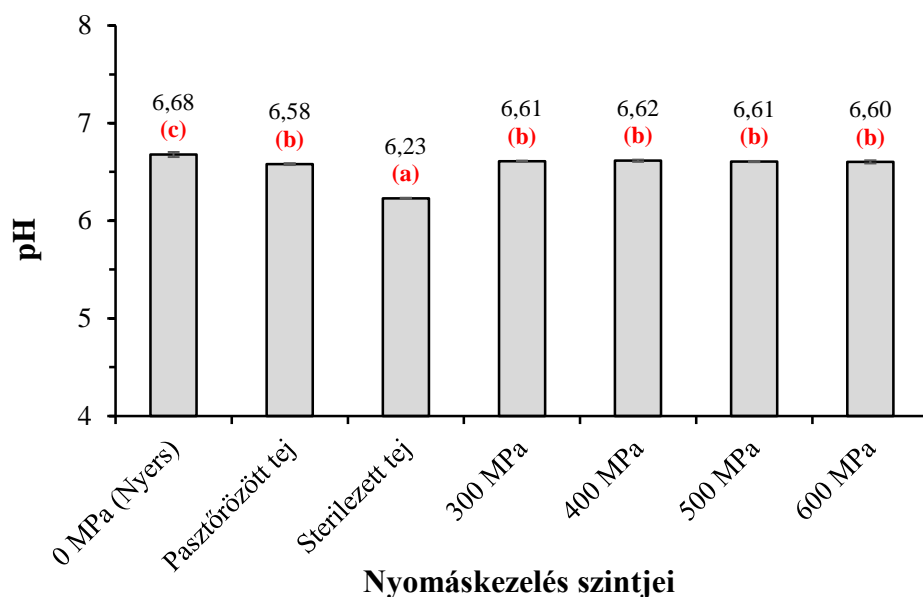


72. ábra: A nyomáskezelt és hőkezelt tejek színinger-különbségeinek ábrázolása a kontroll mintához képest. A szaggatott vonalak az emberi szem számára érzékelhető eltéréseket, kategóriákat mutatják: ■ nem vehető észre ■ alig vehető észre ■ észrevehető ■ jól látható ■ nagy

Ahogy az egyes tejminták színezetének színkomponenseiben bekövetkező változásokat összegzi a színinger-különbség (72. ábra), az értékek alapján a nyers tej és a pasztőrözött tej színezet között alig vehető észre különbség. A nyers tej és a nyomáskezelt tejek között minden esetben jól látható a különbség, míg a sterilizált tej esetében ez már túl is lépi a nagy kategóriát, vagyis a sterilizálás hatására lényegesen intenzívebb változások következnek be a nyers tej színezetében, mint a pasztőrözés vagy a különböző szintű nyomáskezelések hatására.

4.6.2 A tej pH mérés eredményei

A pH értékek közötti különbségeket a 73. ábrán figyelhetjük meg. Az egytényezős varianciaanalízis és a Tukey-teszt homogenitás vizsgálata alapján a hőkezelés és a nyomás kezelés is szignifikánsan megváltoztatta a nyers tej pH értékét ($P < 0,05$), azonban megfigyelhető, hogy a teszt az összes nyomáskezelt tej pH értékét egy homogén csoportba sorolta a pasztőrözött tej értékével, vagyis ezek között nem talált szignifikáns különbséget ($P = 0,057$). Ezekben az esetekben kismértékben csökkent a pH érték a nyers tejhez képest, azonban a sterilizálás hatására már több tizednyi értékkel, erősebben csökkent.

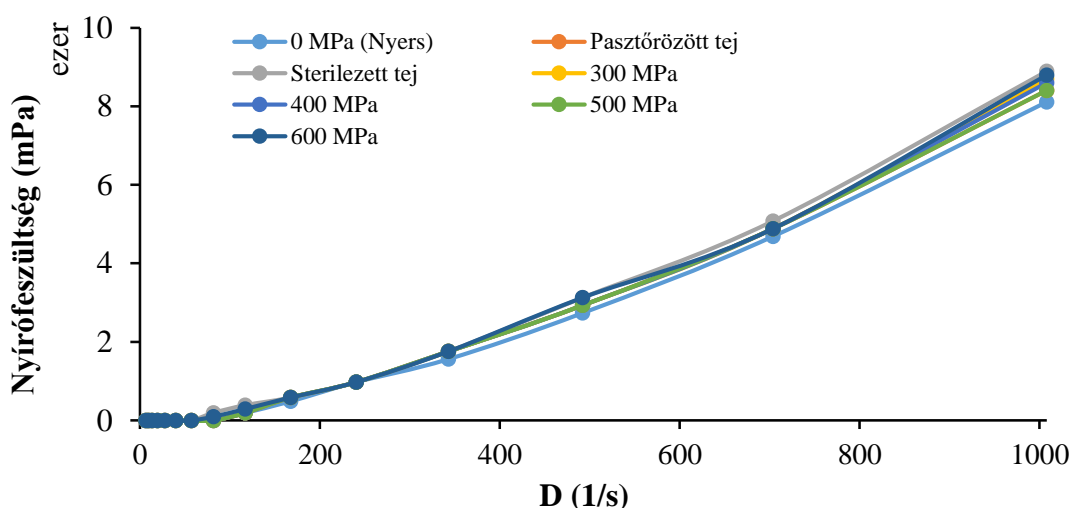


73. ábra: Kontroll, hőkezelt és nyomáskezelt tej minták pH eredményei.

A homogenitás vizsgálat (Tukey-teszt) eredményeit az oszlopok feletti (a), (b), (c) csoport besorolások mutatják.

4.6.3 A tej látszólagos viszkozitás eredményei

A nagy hidrosztatikus nyomásban részesített vagy hőkezelt tejminták esetében a nyírófeszültség értékek kismértékben növekedtek, melyet az irodalmi részben ismertetett szerzők is tapasztaltak. A tej minták a HHP kezelés hatására nem szenvedtek olyan jelentős mértékű változást, mint a tojás vagy marhavér minták, mely adódik a fehérje koncentráció különbségekből is.



74. ábra: A nyomáskezelt és hőkezelt tejek nyírófeszültségének ábrázolása.

A kontroll mintához képest csekély mértékű növekedést mutatnak az eredmények, valamint elmondható, hogy a nyomáskezelések és a hőkezelések között nem lehet jelentős különbségeket kimutatni (74. ábra). A tej viszkozitásának növekedését MUSSA és RAMASWAMY (1997) a kazein micellák szétesésével magyarázza. A látszólagos viszkozitás eredmények a sterilizett tej

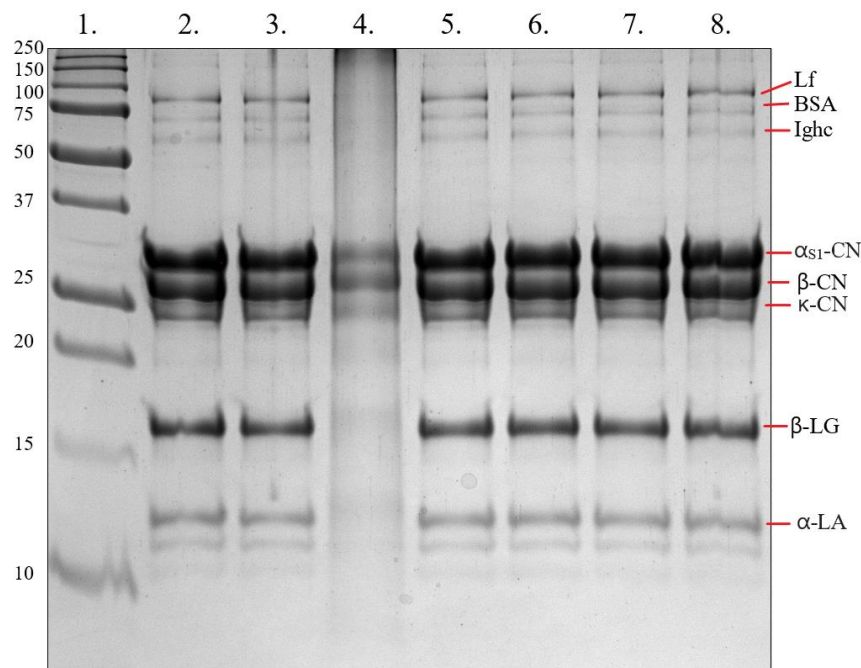
esetében a legmagasabbak, vagyis a nyomáskezelések kevésbé változtatták meg a tej viszkozitását, mint a sterilizálás. Az n folyásindex jelen esetekben is minden esetben $n < 1$, vagyis nyírásra vékonyodó tulajdonságú marad a kezelések hatására is.

4.6.4 A tej SDS-PAGE eredményei

A fehérjék a molekula tömeg szerinti szétválasztás során a tejfehérjékre jellemző molekulatömegeknél voltak kimutathatók. A kazeinek (α_{S1} -CN, β -CN és κ -CN) 23 – 29 kDa között, a β -laktoglobulin (β -LG) 16 kDa-nál, az α -laktalbumin (α -LA) variánsai 11-12 kDa-nál, a laktoferrin (Lf) 87 kDa-nál, a szérum albumin (BSA) 68 kDa-nál és az immunglobulin nehézlánca (Ighc) 60 kDa-nál voltak észlelhetők (CROWLEY et al. 2016, PESIC et al. 2012).

Hasonlóan PESIC és munkatársai (2012) munkájához megállapítható, hogy az SDS-PAGE módszer segítségével vizsgált nyers és pasztőrözött tej (72°C; 42s) minták között jelentős különbség nem volt kimutatható. A nyers tej és a pasztőrözött tej minta között (a denzitométeres adatok alapján) 10%-os különbség volt tapasztalható. Elmondható, hogy a nyers tej elválasztási képe szinte teljes mértékben megegyezik a nyomáskezelte mintákéval (300 MPa, 400 MPa, 500 MPa és 600 MPa). A nyers tej intenzitása és a 300 MPa-on kezelt minta között csupán 1% eltérés volt tapasztalható. A nagyobb nyomáskezelési értéken kezelt minták esetében is a különbség 8% alatt maradt még a 600 MPa-on kezelt minta esetében is. Az SDS-PAGE vizsgálatok szerint a 600 MPa-on kezelt tejminta elválasztási képe a mérések alapján a pasztőrözött tejhez hasonlított a leginkább.

A negyedik oszlopban található a sterilizáción átesett minta (121°C; 15 min), melyen egyértelműen láthatóak a hőkezelés denaturáló hatásának jelei. A sterilizált minta esetében mind a kazein fehérjék jelentős része, mind pedig a savófehérjék teljes része denaturálódott a kezelés során, ezáltal a gélben nem detektálhatók a megváltozott oldhatósági paramétereik végett. A **75. ábrán** látható a kontroll, hőkezelte és nyomáskezelte minták elválasztási képe.



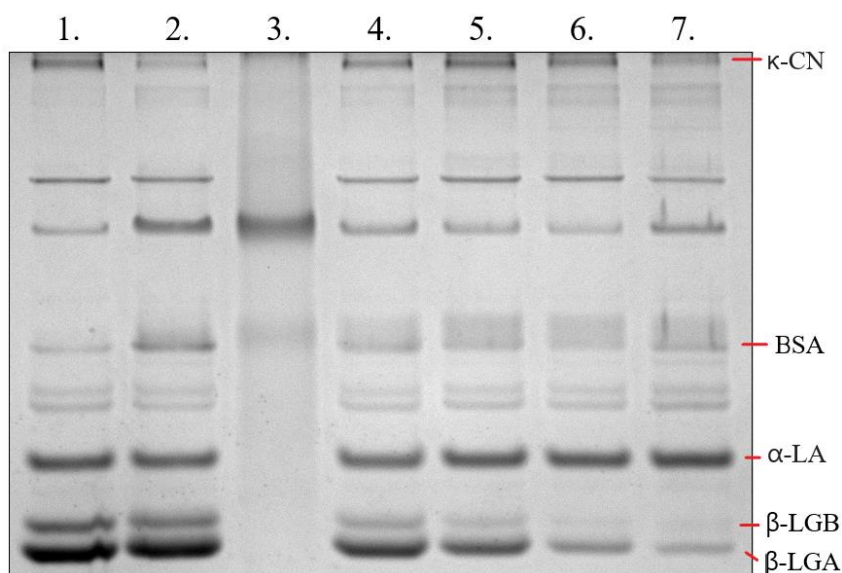
75. ábra: A kontroll, hőkezelt és nyomáskezelt tejek SDS-PAGE elválasztási képe,

(1. Sztenderd, 2. 0 MPa (Nyers), 3. Pasztörözött, 4. Sterilizett, 5. 300 MPa, 6. 400 MPa, 7. 500 MPa, 8. 600 MPa).

A sterilizett minta kazein fehérjéinek intenzitása a hőhatásra több mint 40%-ot csökkent. Azonban, ennek tudatában is kimondható, amit PÁSZTOR-HUSZÁR (2008) is megírt munkájában, hogy a kazein fehérjék jóval stabilabban viselkednek hő hatására, mint a savófehérjék.

4.6.5 A tej NATIV-PAGE eredményei

A biológiai fehérjekomplexek elválasztása és a natív szerkezet vizsgálata esetében a NATÍV-poliakrilamid gélelektroforézis vizsgálatok számottevőek (PÁSZTOR-HUSZÁR 2008; LUDÁNYI 2011). A savófehérjékre gyakorolt hőhatás vizsgálatára a NATÍV-PAGE módszer alkalmas (LIN et al. 2010). A tejmintákon végzett hőkezelés és nyomáskezelés eredményei a **76. ábrán** láthatók. Jelen vizsgálat során megállapítható, hogy a κ -kazein a pasztörözés hatására denaturálódott, intenzitása 54%-ot csökkent. Ehhez hasonló intenzitás csökkenés csak a legmagasabb nyomásértéken (600 MPa) kezelt minta esetében volt tapasztalható 58%. A pasztörözés nem okozott jelentős változást az α -laktalbumin szerkezetében, sem pedig a β -laktoglobulinéban. A β -laktoglobulin két variánsáról (A és B) elmondható, hogy a pasztörözés nem okoz jelentős szerkezeti változást (CSEHI et al. 2016a), míg nyomáskezelés hatására a β -laktoglobulin A variáns 400 MPa nyomáson, míg a β -laktoglobulin B variáns már 300 MPa nyomáson elkezd denaturálódni, 500 MPa nyomáson pedig teljesen denaturálódik/aggregálódik. A sterilizés hatására az összes tejfehérje denaturálódott, aggregálódott. Az elválasztási képen látható sáv elmosódásának mértékéből jelentős aggregáció feltételezhető.



76. ábra: A kontroll, hőkezelt és nyomáskezelt tejek NATÍV-PAGE elválasztási képe,

(1. 0 MPa (Nyers), 2. Pasztörözött, 3. Sterilezett, 4. 300 MPa, 5. 400 MPa, 6. 500 MPa, 7. 600 MPa).

Lin és munkatársai (2010) vizsgálataihoz hasonlóan elmondható, hogy a savófehérjék között az α -laktalbumin mutatta a legmagasabb hőtoleranciát. Azonban, míg vizsgálatukban az α -laktalbumin 32% maradt natív állapotban (100°C; 10 min), addig vizsgálataimban ez jóval magasabb érték 91% (72°C; 42s). De mint látható, a pasztörözés körülményei jelen esetben jóval kíméletesebbek voltak. Pesic és munkatársai (2011) megállapításai egybeesnek a sajátjaimmal, melynek értelmében a β -laktoglobulin jelen esetben a leginstabilabb tejfehérje. β -laktoglobulin vizsgálata azért is fontos, mert a tejsavófehérjék denaturációjának mértékét gyakran a β -laktoglobulin denaturációjának mértéke határozza meg, mivel a savófehérjék körülbelül 50 %-át adja (JOVANOVIC et al. 2007).

A nyomáskezelés hatására a β -laktoglobulin variánsai a nagyobb nyomáskezelési értékeken (500 MPa és 600 MPa) elveszítik natív térszerkezetüket, és denaturálódnak. Ezen megfigyelés kiemelt figyelmet érdemel, mivel az allergiás embereknek e fehérjék okozzák a legnagyobb problémát allergológiai szempontból. Így, ezen fehérjék inaktiválása a nagy nyomáskezelés hatásával kívánatos lehet.

4.7 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Elektroforetikus mérések tézisei:

1. A szarkoplazma fehérjék csoportjába tartozó **mioglobin** esetében megállapítottam, hogy az elektroforetikus elválasztási képek alapján (izoelektromos fókuszálás, SDS-poliakrilamid gélelektroforézis és NATÍV-poliakrilamid gélelektroforézis) a kontroll mintához képest a 100, 200, 300 és 400 MPa-os nyomáskezelés (5 perc) nem okoz változást a **marhahátszín (*Longissimus dorsi*)** mioglobin elektroforetikus elválasztási képében. A fehérje oldhatóságában és natív állapotában változás főként csak az 500 és 600 MPa-os nyomáskezelés esetében figyelhető meg.

Csehi B, Szerdahelyi E, Pásztor-Huszár K, Salamon B, Tóth A, Zeke I, Jónás G, Friedrich L, Changes of protein profiles in pork and beef meat caused by high hydrostatic pressure treatment. ACTA ALIMENTARIA HUNGARICA 45:(4) pp. 565-571. (2016)

2. Kimutattam, hogy **sertéskaraj (*Longissimus dorsi*) mioglobinja** esetében az elektroforetikus elválasztási képek alapján (izoelektromos fókuszálás, SDS-poliakrilamid gélelektroforézis és NATÍV-poliakrilamid gélelektroforézis) a kontroll mintához képest a 100, 200, 300 MPa-os nyomáskezelés (5 perc) nem okoz változást a mioglobin elektroforetikus elválasztási képében, azonban az e feletti nyomáskezelési értékek (400, 500 és 600 MPa, 5 perc) a mioglobin natív állapotának elvesztését, valamint oldhatóságának jelentős csökkenését okozzák.

Csehi B, Szerdahelyi E, Pásztor-Huszár K, Salamon B, Tóth A, Zeke I, Jónás G, Friedrich L, Changes of protein profiles in pork and beef meat caused by high hydrostatic pressure treatment. ACTA ALIMENTARIA HUNGARICA 45:(4) pp. 565-571. (2016)

3. Kimutattam, hogy **marhahátszín (*Longissimus dorsi*)** (0,7M-os NaCl oldattal történő extrakciója esetében) miofibrilláris fehérjéinek SDS-poliakrilamid gélelektroforézis elválasztási képe és a denzitométeres adatai alapján 300 MPa-nál és az a feletti nyomáskezelési értékeknél (400, 500, 600 MPa; 5 perc) a fehérjék intenzitás értékei legalább 50%-ot csökkentek, mely a fehérjék oldhatóságában történt változás eredménye. Ebben az esetben a 300 MPa-os (5 perc) nyomáskezelés az SDS-PAGE és a színmérés alapján egyfajta küszöbértéknek tekinthető.

4. **Marhahátszínben (*Longissimus dorsi*)** történő imidazol dipeptidek (karnozin és anszerin) esetében megállapítottam, hogy a nyomáskezelés (100-tól 600 MPa-ig, 5 perc) nem okozott szignifikáns változást a karnozin és anszerin tartalomban ($P > 0,005$) az alkalmazott kapillár elektroforézis módszer alapján.
5. Kimutattam, hogy **csirkemell (*Pullum pectus*)** esetében a 400, 500 és 600 MPa-os nyomáskezelés (5 perc) a kontroll mintához képest bomlástermékek és aggregátumok megjelenését eredményezi, melyek az elektroforetikus elválasztási képeken figyelhetők meg (izoelektromos fókuszálás, SDS-poliakrilamid gélelektroforézis és NATÍV-poliakrilamid gélelektroforézis).
6. Kimutattam, hogy a **marhavér, tojás** és részben a **tej** esetében is, hogy a folyékony közegben oldott állapotban lévő fehérjék ellenállóbbak a nyomáskezeléssel szemben, denaturációjuk, aggregációjuk főként a magas nyomáskezelési szintek esetében (500 MPa és leginkább 600 MPa) következik be.

Elektroforetikus és termoanalitikai mérések tézise:

7. **Tojásfehérjelé és teljes tojáslé** esetében megállapítottam, hogy az elektroforetikus elválasztási képek valamint a termodinamikai mérések alapján (SDS-poliakrilamid gélelektroforézis, NATÍV-poliakrilamid gélelektroforézis és DSC esetében) a kontroll mintához képest a 100, 200, 300, 400 és 500 MPa-os nyomáskezelés (5 perc) nem okoz jelentős változást a tojásfehérjelé elektroforetikus elválasztási képeiben, valamint a denaturációs entalpia adataiban. A fehérje oldhatóságában és natív állapotában változás főként csak a 600 MPa-os nyomáskezelés esetében figyelhető meg.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A kíméletes feldolgozási technológiák elterjedése és használata nagy ütemben halad előre. A fogyasztói igények változására és a globalizáció kihívásaira válaszolnunk kell. Az élelmiszeripar szereplőire egyre nagyobb terhet ró, hogy megfelelő minőségű és mennyiségű étellel lássa el a világ folyamatosan növekvő népességét. Az új technológiákra és megoldásokra fogékonyak kell lennünk, hogy ebben a felgyorsult és egyre nagyobb igényeket támogató világban helyt tudjunk állni. Dolgozatom alapjául egy olyan nem-termikus tartósító eljárást választottam, mely a kíméletes feldolgozási technológiák egyike. Az élelmiszeripar egy ígéretes szegmensét képviseli, telepített berendezései világviszonylatban gyorsuló ütemben növekednek. A technológia hatásáról azonban számos kérdés még a mai napig megválaszolatlan.

Doktori dolgozomban a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatását vizsgáltam állati eredetű termékek esetében. A vizsgálati területként kiválasztott három állatfajnak (szarvasmarha, sertés és csirke) különböző termékeit vettem alá a nyomáskezelésnek. A vizsgált anyagok a marhahátszín, marhavér, sertéskaraj, csirkemell, tojás és tej voltak. A dolgozat elkészítése és az eredmények kiértékelése során számos kérdést sikerült megválaszolni, azonban számos új kérdés is felmerült. A kísérletek során egyértelműen megállapítható volt, hogy hasonlóan a mikroorganizmusokhoz az egyes állati eredetű termékeknek is eltérő az „érzékenysége” a nagy hidrosztatikus nyomáskezelésre. Munkám során a vizsgált termékek fiziko-kémiai tulajdonságaira és fehérjéire fektettem a hangsúlyt, mivel e termékek esetében a fehérjék szerepe meghatározó, a fehérjeszerkezetben és fiziko-kémiai állapotban beállt változások számos esetben kihathatnak a technofunkciós tulajdonságokra is. Megállapítottam, hogy a kezelés az egyes fehérjékre és fehérje csoportokra is eltérő mértékben hat. A marhahátszínben lévő mioglobint a HHP kezelés hatására csak nagyobb 500 és 600 MPa-os nyomáskezelés esetében változik (natív állapota és oldhatósága), míg ugyanezen fehérje változása sertéskarajnál már 400 MPa-nál elkezdődik. Csirkemell esetében a kezelés hatására a 300 MPa-nál és a feletti nyomáskezelési értékeknél aggregátumok, fehérje töredékek jelennek meg, mely elektroforetikus technikákkal kimutatható. A marhavér, tojás és egyes méréseknél a tej esetében is kísérleteim kimutatták, hogy a nyomáskezelésre a folyékony közegben, oldott állapotban lévő fehérjék ellenállóbbak, denaturációjuk, aggregációjuk főként a magas szintű nyomáskezelési értékeken (500 MPa, de főként a 600 MPa) következik be. Azonban ezen mérési eredmények okozati háttere még nem minden esetben tisztázott kellő mértékben, így további mérés technikák alkalmazása segíthetne abban, hogy tisztább képet kaphassunk a technológia hatásairól.

A HHP kezelés gyakorlat alkalmazása valamint fejlesztése szempontjából a kezelés határainak meghatározása elengedhetetlen, ezért a mért eredmények alapján a maximális nyomáskezelési érték javaslataim a következők:

- Marhahátszín: 400 MPa, 5 perc
- Sertéskaraj: 300 MPa, 5 perc
- Csirkemell: 300 MPa, 5 perc
- Marhavér: 400 MPa, 5 perc
- Tojásfehérjélé: 400 MPa (500 MPa a felhasználás módjától függően), 5 perc
- Teljes tojáslé: 400 MPa (500 MPa a felhasználás módjától függően), 5 perc
- Tej: 500-600 MPa, 5 perc

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az emberi történelemmel egyidős az állati eredetű termékek fogyasztása, táplálkozásunk mindennapi részét képezik. Fogyasztásuk több szempontból is előnyös. Gazdagok fehérjékben, ásványi anyagokban, zsírokban és esszenciális aminosavakban. Fogyasztásuk elősegíti a szervezet optimális működését. Korunk társadalma egyre inkább tisztában van az egészségmegőrző táplálkozás és az egészséges élelmiszerek fogalmával, így elengedhetetlen hogy az élelmiszeripar is megpróbálja ezeknek az igényeknek megfelelni. A kíméletes feldolgozástechnológiák alkalmazása egyre szélesebb körben terjed, ez alól nem jelentenek kivételt az állati eredetű termékek sem.

Doktori dolgozatomban különböző állati eredetű termékeket vettem alá kíméletes feldolgozási technológiának, a nagy hidrosztatikus nyomáskezelésnek. A HHP kezelés hatására az egyes állati eredetű termékek tulajdonságai változhatnak. A változás mértéke, függhet a kezelés körülményeitől, a vizsgált állatfajtól és akár a vizsgált testtájtól is. Vizsgálataim fő tárgyát az állati eredetű termékek (marhahátszín, marhavér, sertéskaraj, csirkemell, tojás és tej) nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására bekövetkező változásainak feltérképezése (fiziko-kémiai, fehérjeszerkezeti) adta. A vizsgálati mátrix – a tej kivételével – minden esetben megegyező volt, 100 MPa-tól 600 MPa-ig (5 perc) kezeltem a termékeket 100 MPa-os léptéknöveléssel. Kontroll mintaként a HHP kezelés nélküli minták szolgáltak.

A vizsgált, állati eredetű termékek esetében célul tűztem ki, hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására a fehérjékben végbemenő változásokat kövessem nyomon. Célom volt az elektroforetikus, spektrofotometriás és termodinamikai technikákkal (IEF, SDS-PAGE, NATÍV-PAGE, CE, összpigment és mioglobín formák relatív arányának meghatározása, DSC) vizsgálni a technológiai kezelés hatását a fehérjékre és azok szerkezetére, valamint a termékek fiziko-kémiai tulajdonságaira, mint például színre, pH-ra és látszólagos viszkozításra.

Szín mérés eredmények:

Kísérleteim során a húсок esetében megállapítható (marhahátszín, sertéskaraj, csirkemell), hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés szignifikánsan befolyásolta mind az L^* , a^* és b^* szintényezők változását a kezelések következtében a kontroll mintákhoz képest (ANOVA). Mindegyik hús esetében látható, hogy a kezelések hatására a minták színe kivilágosodott, L^* értékei növekedtek. Marhahátszínnél L^* értékek esetében 300 MPa nyomáskezelés hatására az adatok több mint 30%-os növekedése volt megfigyelhető, mely egyfajta határértéknek is tekinthető. A marhahátszín, sertéskaraj és csirkemell esetében a 400, 500 és 600 MPa-os nyomáskezelések a minták L^* értékeit

illetően már nem okoztak számottevő változást. Az a^* vörös-zöld színtényező értékeinél nem, azonban a b^* sárga-kék színtényező értékeinél nagy növekedés volt tapasztalható a 300 MPa-os és az annál nagyobb nyomáskezelési értékek esetében, melynek értelmében a minták színezete mindhárom húsfajta esetében a sárga színtartomány irányába mozdult el. A színváltozás, mint azt más szerzők is leírták feltehetően a mioglobinnal történő denaturációjával, a mioglobin formáinak arányával, valamint a vas-ion oxidációjával van összefüggésben, melyet doktori dolgozatomban is bizonyítottam. Marhavér esetében az L^* világossági színtényező értékei szignifikánsan csökkennek a nyomáskezelések, különösen a 300, 400 és 500 MPa-os kezelés hatására, vagyis a minták színezete sötétebb lett. Ezen eredmények eltérőek a húsmintáktól, ahol láthattuk, hogy az L^* értékei szignifikánsan növekedtek (világosodtak a minták). Az a^* vörös-zöld és b^* sárga-kék színtényező esetében 300 MPa-tól a mért eredmények csökkenést mutatnak a kontroll mintához képest, mely változás az emberi szem számára is jól megfigyelhető.

Tojásfehérjé esetében megállapítható, hogy ugyan szignifikáns változást okoz a HHP kezelés a minták színezetében, azonban a színadatok ugrásszerű változása csak magasabb (400 MPa, de főként inkább az 500 és 600 MPa) nyomáskezelési értékeken következik be, melyet a számított ΔE^* színíngert-különbség is jól mutat. Teljes tojáslé színmérésénél elmondható, hogy a mindhárom színtényezőre szignifikáns változással hatott a nagy nyomású kezelés. A b^* sárga-zöld színtényező esetében a nyomás szintjeinek növelésével egyre csökkenő értékek kaphatók, mely szerint a teljes tojáslé egyre inkább veszített a sárga színintenzitásából, mely feltehetően a nyomáskezelés hatására fellépő pelyhesedés eredménye. Tej színmérését követően megállapítható, hogy a Tukey-teszt homogenitás vizsgálata szerint a nyers tej és a pasztörözött tej között nincs szignifikáns különbség az L^* értékekben valamint a sterilizált tej és a 300-600 MPa nyomáskezelésű minták L^* értékei képviselnek azonos csoportot. Az a^* és b^* vörös színjellemző esetében a nyers, pasztörözött és nyomáskezelésű tejek értékei nagyon közel állnak egymáshoz, ettől a mintázattól, csak a sterilizált tej tér el.

pH mérés eredmények:

Az állati eredetű termékek HHP kezelés hatására bekövetkező pH változásával kapcsolatban megállapítható, hogy minden vizsgált termék esetében a kezelés szignifikáns változást okozott a kontroll mintához képest, azonban ezek más-más nyomáskezelési értékeken következtek be. Általánosságban elmondható, hogy az adatok a marhahátszín, sertéskaraj, csirkemell, tojásfehérjé és teljes tojáslé esetében növekedtek. Szakirodalom alapján elmondható, hogy a pH növekedés a fehérjék denaturációjával járó konformációs változások miatt bekövetkező savas

csoportok csökkenése végett következnek be. Marhavér és tej esetében stagnálás, valamint kismértékű csökkenés volt megfigyelhető.

Látszólagos viszkozitás eredmények:

A látszólagos viszkozitás mérések olyan termékek esetében lettek elvégezve, melyek folyékony halmazállapotúak, mint például a vér, tojásfehérjelé, teljes tojáslé és a tej. A vizsgált termékek esetében megfigyelhető volt, hogy a nyomásszintek növelésével egyre inkább növekedtek a mintákhoz tartozó látszólagos viszkozitás értékek, egyértelmű gélesedés következett be. Ez a növekedés a marhavér és a tojás esetében volt a legerősebb, míg a tej esetében voltak a legkisebbek a mérhető különbségek. Tojásfehérjelé esetében a 600 MPa-os, teljes tojáslé esetében az 500 és 600 MPa-os nyomáskezelések olyan gél szerkezet kialakulását eredményezték, melyeket a reométerrel nem lehetett lemérni.

Spektrofotometriás mérési eredmények:

Marhahátszín, sertéskaraj és csirkemell esetében az összpigment tartalom, azon belül is a mioglobinnak koncentráció meghatározásánál elmondható, hogy a kontroll mintához képest a nyomáskezelt minták mioglobinnak koncentrációja szinte nem is változott. Az eredményekből arra lehet következtetni, hogy az alkalmazott mérési módszer segítségével a hem tartalmú komponensek mennyiségének kimutatása során nem befolyásoló tényező az adott fehérje állapota, így tehát a denaturált állapotban lévő hem komponens is kimutatható. Marhahátszín mioglobinnak formáinak relatív arányával kapcsolatosan megállapítható, hogy a nyomáskezelés hatására az oximioglobinnak (OMb) aránya csökken, ezzel egy időben a metmioglobinnak (MMb) aránya növekszik, melyet más szerzők is tapasztaltak. Megállapítható, hogy a vas-ion oxidációja jelentős mértékben befolyásolja a húsminták színváltozását, melyet a metmioglobinnak arányának növekedése okoz az oximioglobinnak tartalomhoz képest. A dezoximioglobinnak (DMb) arány a 450 MPa-os nyomáskezelési szinthez képest a háromszorosára növekszik a 600 MPa-os nyomáskezelési értéken. A 600 MPa-os nyomáskezelés esetében a metmioglobinnak relatív aránya 20%-ról kb. 45%-ra növekedett.

Elektroforetikus mérési eredmények:

Megállapítottam, hogy a kezelés az egyes fehérjékre és fehérje csoportokra is eltérő mértékben hat. A marhahátszínben lévő mioglobinnak a HHP kezelés hatására csak nagyobb 500 és 600 MPa-os nyomáskezelés esetében változik (natív állapota és oldhatósága), míg ugyanezen fehérje változása sertéskarajnál már 400 MPa-nál elkezdődik. Marhahátszín nyomáskezelése egy nyomáskezelési értéken sem okozott szignifikáns változást a mért karnozinnak és anszerinnak tartalmában az alkalmazott kapillár elektroforézis módszer alapján. Ezen felül elmondható, hogy a marhahátszín miofibrilláris

fehérjéinek SDS-PAGE elválasztási képe és a denzitométeres adatai alapján 300 MPa-nál és az a feletti nyomáskezelési értékeknél (400, 500, 600 MPa) a fehérjék intenzitás értékei legalább 50%-ot csökkentek, mely a fehérjék oldhatóságában történt változás eredménye. Csirkemell esetében a 400, 500 és 600 MPa-os nyomáskezelés a kontroll mintához képest bomlástermékek és aggregátumok megjelenését eredményezi, melyek az elektroforetikus technikákkal kimutathatók. A marhavér és tojás (egyres mérések esetén a tej) esetében kísérleteim kimutatták, hogy a nyomáskezelésre a folyékony közegben oldott állapotban lévő fehérjék ellenállóbbak a nyomáskezeléssel szemben, denaturációjuk, aggregációjuk főként a magas nyomáskezelési szintek esetében (500 MPa és leginkább 600 MPa) következik be. Tojásfehérjé és teljes tojáslé esetében megállapítottam, hogy a kontroll mintához képest a 100, 200, 300, 400 és 500 MPa-os nyomáskezelés nem okoz jelentős változást a tojásfehérjé elektroforetikus elválasztási képeiben, valamint a denaturációs entalpia adataiban. A fehérje oldhatóságában és natív állapotában változás főként csak a 600 MPa-os nyomáskezelés esetében figyelhető meg.

Termodinamikai mérési eredmények:

A nyomáskezelések szintjeinek növelésével a vizsgált állati eredetű termékeknél minden esetben csökkent a denaturációs entalpia értéke, vagyis a denaturálható fehérje mennyisége. Azonban a csökkenések mértéke termékenként eltérő mértékű volt. Megállapítható, hogy a három vizsgált hús esetében (marhahátszín, sertéskaraj, csirkemell) az izom felépítésében részt vevő miofibrilláris fehérjék (miozin, aktin) érzékenyebbek a nyomáskezeléssel szemben, mint a kötőszöveti és szarkoplazma fehérjék. A marhavér termogramján detektált csúcs (68 °C - 70°C) az albumin, mely a vér fehérjéinek legnagyobb részét adja. A nagy nyomáskezelési értékeken, mint például az 500 MPa és a 600 MPa- nál jelentős csökkenés figyelhető meg mind a csúcs hőmérséklet, mind a denaturációs entalpia értékekben a kontroll mintához viszonyítva. A tojásfehérjé és teljes tojáslé esetében a 100-500 MPa nyomáskezelések még nem okoznak igazán jelentős mértékű változásokat a fehérje denaturálható mennyiségében, azonban a 600 MPa nyomáskezelés hatására közel a harmadára csökken a denaturációs entalpia értéke.

SUMMARY

The consumption of livestock products is as old as the human history and part of our daily diet. Consumption of them is beneficial in many different ways. They are rich in proteins, minerals, fats and essential amino acids. Consuming them helps the human body to function optimally. Our society today is increasingly aware of the concept of healthy nutrition and healthy food, therefore it is essential that the food industry also tries to meet these needs. The application of minimal processing technologies is becoming more widespread across the world, in case of livestock products as well.

In my thesis I have subjected different livestock products to one of this minimal processing technology, the high hydrostatic pressure treatment. The properties of the different livestock products may change due to the HHP treatment. The extent of the change may depend on the parameters of the treatment, the species of animal and the different body area/muscles from the product was made. The main objective of my research was the examination of changes (physico-chemical, protein structure) of livestock products (beef sirloin, beef blood, pork loin, chicken breast, eggs and milk) due to high hydrostatic pressure treatment. The matrix of the treatment parameters was the same in case of each product (except milk), the food products were treated from 100 MPa up to 600 MPa (5 minutes) in 100 MPa increments. Samples without HHP treatment served as control.

In the case of the studied livestock products my aim was to trace and examine the changes in the proteins as a result of the high hydrostatic pressure treatment. For this purpose of my experiment I used electrophoretic, spectrophotometric and thermodynamic techniques (IEF, SDS-PAGE, NATIV-PAGE, CE, determination of the relative proportion of total pigment and myoglobin forms, DSC) to study the effects of the treatments on proteins and their structure, and the physico-chemical properties of the products such as color, pH and dynamic viscosity.

Colour measurement results:

It can be concluded that during my experiments in the case of meat products (beef sirloin, pork loin, chicken breast), due to the high hydrostatic pressure treatment both of the L*, a* and b* colour values significantly changed compared to the control samples (ANOVA). In case of each meat products can be seen as their colours are lightened, the L* values increased. For beef sirloin, L* values especially showed a more than 30% increase in data after 300 MPa pressure treatment, which treatment level also can be considered as a treshold. In case of beef sirloin, pork loin and chicken breast, the 400, 500 and 600 MPa pressure treatments no longer significantly altered the L* values of the samples. There was a substantial increase in b* yellow-blue color values after

pressure treatment level of 300 MPa and above, however not for the a^* red-green color values, thus the coloration of the samples was shifted towards the yellow color range in all three types of meat. In the case of beef blood, the L^* color values are significantly decreased by pressure treatments, especially at 300, 400, and 500 MPa, which resulted in a darker coloration of the samples. These results were different from the meat samples, where we could see that the L^* values increased significantly (the colour of the samples became lighter). For the color components of a^* red-green and b^* yellow-blue, the measured results show a decrease from 300 MPa and above treatments compared to the control sample, which change can be observed well even by the human eye. In the case of liquied egg white it can be concluded that although the HHP treatment causes a significant change in the colour of the samples, the sudden change of the color data occurs only at higher pressure level values (400 MPa, but mainly 500 and 600 MPa), which is also shown by the calculated ΔE^* colour difference value. For the results of the liquied whole egg colour measurement it can be stated that all three color components were significantly affected by the high pressure treatment. For the b^* yellow-green color component increasing pressure levels resulted in a decreasing tendency of values, indicating that liquied whole egg has increasingly lost its yellow color intensity. Regarding milk color measurement it can be established as Tukey test homogeneity test shows that there is no significant difference in L^* values between raw milk and pasteurized milk and L^* values for sterilized milk and 300-600 MPa pressure-treated samples represent the same group. In case of the a^* and b^* values the results of raw, pasteurized and pressurized milk are very close to each other, only sterilized milk shows a difference in the range.

pH measurement results:

Regarding the change in the pH value of livestock products after HHP treatments, it can be concluded that the treatments caused a significant change in the pH values of each kind of products compared to the control samples, however, these changes occurred at different pressure levels. In general, there was an increase in the data of beef sirloin, pork loin, chicken breast, liquid egg white and liquid whole egg, while data were decreased in case of beef blood and milk.

Dinamyc viscosity results:

Dinamyc viscosity measurements have been performed on products that are in liquid state such as beef blood, liquid egg white, liquied whole egg and milk. It was observed in each case of the studied products that the dinamyc viscosity values of the samples increased with higher pressure level treatments. This increase was the most intensive for beef blood and liquied egg products, while the smallest difference was measured for milk. In the case of 600 MPa pressure treatment of

liquied egg white and the 500 and 600 MPa treatment of liquied whole egg resulted in the formation of such a gel structure which could not be measured with the rheometer.

Spectrophotometric results:

During the determination of total pigment content, especially the myoglobin concentration in the pressure treated beef sirloin, pork loin and chicken breast samples were not changed comperad to the untreated samples. From the results it can be concluded that with the applied measurement method the state of the given protein is not a determining factor in the measurement of the amount of heme-containing components, because the heme component in denatured state can also be detected. Concerning the relative proportion of myoglobin forms of beef sirloin it can be stated, that the pressure treatment resulted a decrease in the oxymoglobin (OMb) ratio, while at the same time the ratio of metmioglobin (MMb) increases. Deoxymoglobin (DMb) ratio triples at 600 MPa pressure treatment compared to 450 MPa level. In case of 600 MPa pressure treatment the relative ratio of methmioglobin increased from 20% to about 45%.

Electrophoretic measurement results:

It was found that the HHP treatment affects different proteins and groups of proteins with different extent. Myoglobin in the beef sirloin changes due to HHP treatment only at higher pressure levels of 500 and 600 MPa (its native state and solubility), meanwhile changes in the same protein begin at 400 MPa incase of pork loin. The pressure treatments of beef sirloin on different levels did not cause any significant changes in the measured carnosine and ancerin content according to the applied capillary electrophoresis method. In addition, based on the SDS-PAGE resolution and densitometry data of myofibrillar proteins in beef, at 300 MPa and above (400, 500, 600 MPa), the protein intensity values were reduced by at least 50% as a result due to the change in protein solubility. In chicken breast 400, 500, and 600 MPa pressure treatment resulted the appearance of degradation products and aggregates compared to the control sample, which can be detected by electrophoretic techniques. In case of beef blood and liquied egg products (milk also in some measurements), my experiments have shown that proteins in liquid state are more resistant to pressure treatment, their denaturation and aggregation mainly happen at higher pressure levels (500 MPa and mostly 600 MPa). In case of liquid egg protein and liquid whole egg I found that the pressure treatment of 100, 200, 300, 400 and 500 MPa did not cause significant changes in the electrophoretic separation patterns of the egg products and in the denaturation enthalpy datas compared to the control samples. Changes in protein solubility and native state are observed mainly after 600 MPa pressure treatment.

Thermodynamic measurement results:

By increasing the levels of pressure treatments, the value of denaturation enthalpy was reduced, in other words the amount of protein what still can be denatured was reduced in each case of the examined livestock products. However, the extent of the decreases was different in case of the different kind of food products. It can be stated that in the three examined meat (beef sirloin, pork loin, chicken breast) the myofibrillar proteins (myosin, actin) involved in muscle building are more sensitive against pressure treatment than connective tissue and sarcoplasmic proteins. The peak detected on the beef blood thermogram (68°C - 70°C) is albumin, which makes up most of the blood proteins, significant decreases were observed in both peak temperature and denaturation enthalpy compared to the control sample at pressure treatments of higher levels such as 500 MPa and 600 MPa. In case of liquid egg white and liquid whole egg products the 100-500 MPa pressure treatments do not yet caused a significant change in the denatured amount of protein, but 600 MPa pressure treatments reduced the denaturation enthalpy by nearly one third.

MELLÉKLETEK (M1) IRODALOMJEGYZÉK

- Ahmed, J., Ramaswamy, H.S., Alli, I., Ngadi, M., 2003. Effect of high pressure on rheological characteristics of liquid egg. *LWT - Food Science and Technology* 36, 517–524. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00050-1](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00050-1)
- Aiking, H., 2011. Future protein supply. *Trends in Food Science & Technology*, New challenges in food preservation. 22, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.005>
- Ayvaz, H., Schirmer, S., Parulekar, Y., Balasubramaniam, V.M., Somerville, J.A., Daryaei, H., 2012. Influence of selected packaging materials on some quality aspects of pressure-assisted thermally processed carrots during storage. *LWT - Food Science and Technology* 46, 437–447. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.004>
- Bailey, K., Neurath, H., 1954. *The Proteins*. Elsevier, Academic Press, New York, 951. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395721-4.X5001-X>
- Bajovic, B., Bolumar, T., Heinz, V., 2012. Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat Sci.* 92, 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.024>
- Bak, K.H., Thulstrup, P.W., Orlien, V., 2014. Spectroscopic studies on the effect of high pressure treatment on the soluble protein fraction of porcine longissimus dorsi. *Food Chemistry* 148, 120–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.017>
- Balatoni, M., Ketting, F., 1981. *Tejipari Kézikönyv. Mezőgazda Kiadó, Budapest*, 1-760.
- Baláz, M., 2014. Eggshell membrane biomaterial as a platform for applications in materials science. *Acta Biomaterialia, Biomineralization* 10, 3827–3843. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.03.020>
- Bansal, V., Siddiqui, M.W., Rahman, M.S., 2015. Minimally Processed Foods: Overview, in: Siddiqui, M.W., Rahman, M.S. (Eds.), *Minimally Processed Foods*. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–15. https://doi.org/10.1007/978-3-319-10677-9_1
- Batra, P.P., Sasa, K., Ueki, T., Takeda, K., 1989. Circular dichroic study of conformational changes in ovalbumin. *J. Protein Chem.* 8, 221–229.
- Bauer, F., Hoffmann, K., 1987. Elektrophoretische Tierartbestimmung – Steigerung der Empfindlichkeit durch Peroxidasefärbung der Myoglobine. *Fleischwirtschaft* 861–867.
- Bekhit, A.E.D., Geesink, G.H., Ilian, M.A., Morton, J.D., Sedcole, J.R., Bickerstaffe, R., 2004. Pro-oxidant activities of carnosine, rutin and quercetin in a beef model system and their effects on the metmyoglobin-reducing activity. *Eur Food Res Technol* 218, 507–514. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0904-7>
- Bekhit, A.E.-D.A., Geesink, G.H., Ilian, M.A., Morton, J.D., Sedcole, R., Bickerstaffe, R., 2003. Particulate metmyoglobin reducing activity and its relationship with meat color. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6026–6035. <https://doi.org/10.1021/jf030093e>
- Bello, E.F.T., Martínez, G.G., Ceberio, B.F.K., Rodrigo, D., López, A.M., 2014. High Pressure Treatment in Foods. *Foods* 3, 476–490. <https://doi.org/10.3390/foods3030476>
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P., 2009. *Food Chemistry*, 4th ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 569.
- Beveridge, T., Arntfield, S., 1979. Heat Induced Changes in Sulphydryl Levels in Egg White. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 12, 173–176. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(79\)73130-0](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(79)73130-0)

- Bio-Rad | Products for Life Science Research & Clinical Diagnostics | Bio-Rad [Document], n.d. URL <http://www.bio-rad.com/> (accessed 4.15.19).
- Bíró G., 2014. Élelmiszer-higiéniá,VI. Tejtermelési Higiéniá, Agroinform Kiadó, https://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_533_ElelmiszerHigienia/ch06
- Boland, M.J., Rae, A.N., Vereijken, J.M., Meuwissen, M.P.M., Fischer, A.R.H., van Boekel, M.A.J.S., Rutherford, S.M., Gruppen, H., Moughan, P.J., Hendriks, W.H., 2013. The future supply of animal-derived protein for human consumption. *Trends in Food Science & Technology* 29, 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.07.002>
- Bolumar, T., Andersen, M.L., Orlie, V., 2014. Mechanisms of radical formation in beef and chicken meat during high pressure processing evaluated by electron spin resonance detection and the addition of antioxidants. *Food Chemistry* 150, 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.161>
- Bou, R., Llauger, M., Joosse, R., García-Regueiro, J.A., 2019. Effect of high hydrostatic pressure on the oxidation of washed muscle with added chicken hemoglobin. *Food Chemistry* 292, 227–236. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.067>
- Brantley, R.E., Smerdon, S.J., Wilkinson, A.J., Singleton, E.W., Olson, J.S., 1993. The mechanism of autooxidation of myoglobin. *J. Biol. Chem.* 268, 6995–7010.
- Bruinsma, J., 2009. The resource outlook to 2050: By how much do land, water and crop yields need to increase by 2050? [Document]. FAO. URL <http://www.fao.org/wsfs/forum2050/wsfs-background-documents/wsfs-expert-papers/en/> (accessed 12.10.18).
- Buckow, R., Sikes, A., Tume, R., 2013. Effect of High Pressure on Physicochemical Properties of Meat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53, 770–786. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.560296>
- Campus, M., 2010. High pressure processing of meat, meat products and seafood. *Food Engineering Reviews* 2, 256–273.
- Canalon, P.F., 2006. Electrophoresis and Isoelectric Focusing in Food Analysis. *Encyclopedia of Analytical Chemistry, Major Reference Works* 1–22. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a1007>
- Carlez, A., Veciana-Nogues, T., Cheftel, J.-C., 1995. Changes in Colour and Myoglobin of Minced Beef Meat Due to High Pressure Processing. *LWT - Food Science and Technology* 28, 528–538. <https://doi.org/10.1006/fstl.1995.0088>
- Castillo, A.L., Németh, C., Németh, Z., Tóth, K., Jónás, G., Friedrich, L., Surányi, J., Póti, P., 2014. Nagy hidrosztatikus nyomás hatása az élelmiszerek mikrobiológiai állapotára: laboratóriumi és félüzemi készüléken mért eredmények. *Magyar Állatorvosok Lapja* 136, 473–478.
- Cavadini, C., 2000. US adolescent food intake trends from 1965 to 1996. *Archives of Disease in Childhood* 83, 18–24. <https://doi.org/10.1136/adc.83.1.18>
- Ceylan, C., Severcan, M., Bozoglu, F., Severcan, F., 2009. Evaluation of high hydrostatic pressure effects on bovine red blood cells and platelets. *High Pressure Research* 29, 358–368. <https://doi.org/10.1080/08957950902941014>
- Cheftel, J.C., 1995. Review : High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food sci. technol. int.* 1, 75–90. <https://doi.org/10.1177/108201329500100203>
- Cheftel, J.C., Culioli, J., 1997. Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science* 46, 211–236. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(97\)00017-X](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00017-X)
- Chen, C.R., Makhatadze, G.I., 2017. Molecular determinant of the effects of hydrostatic pressure on protein folding stability. *Nat Commun* 8. <https://doi.org/10.1038/ncomms14561>

- Chen, M.-J., Lin, C.-W., 2002. Factors Affecting the Water-Holding Capacity of Fibrinogen/Plasma Protein Gels Optimized by Response Surface Methodology. *Journal of Food Science* 67, 2579–2582. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08780.x>
- Cheng, H., Fang, Z., Wusigale, Bakry, A.M., Chen, Y., Liang, L., 2018. Complexation of trans- and cis-resveratrol with bovine serum albumin, β -lactoglobulin or α -lactalbumin. *Food Hydrocolloids* 81, 242–252. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.037>
- Chéret, R., Delbarre-Ladrat, C., de Lamballerie-Anton, M., Verrez-Bagnis, V., 2005. High-Pressure Effects on the Proteolytic Enzymes of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Fillets. *J. Agric. Food Chem.* 53, 3969–3973. <https://doi.org/10.1021/jf048061u>
- Cherian, G., Holsonbake, T.B., Goeger, M.P., 2002. Fatty acid composition and egg components of specialty eggs. *Poult. Sci.* 81, 30–33. <https://doi.org/10.1093/ps/81.1.30>
- Chevalier, D., Le Bail, A., Ghoul, M., 2001. Effects of high pressure treatment (100–200 MPa) at low temperature on turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle. *Food Research International* 34, 425–429. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00187-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00187-3)
- Claus, J.R., Du, C., 2013. Nitrite-embedded packaging film effects on fresh and frozen beef color development and stability as influenced by meat age and muscle type. *Meat Sci.* 95, 526–535. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.029>
- Clayton, Z.S., Fusco, E., Kern, M., 2017. Egg consumption and heart health: A review. *Nutrition* 37, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.12.014>
- Considine, K.M., Kelly, A.L., Fitzgerald, G.F., Hill, C., Sleator, R.D., 2008. High-pressure processing – effects on microbial food safety and food quality. *FEMS Microbiol Lett* 281, 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01084.x>
- Crowley, S.V., Dowling, A.P., Caldeo, V., Kelly, A.L., O'Mahony, J.A., 2016. Impact of α -lactalbumin: β -lactoglobulin ratio on the heat stability of model infant milk formula protein systems. *Food Chemistry* 194, 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.077>
- Csapó J., Csapóné Kiss Z., 2002. Tej és tejtermékek a táplálkozásban. Mezőgazda Kiadó, Budapest. pp.10-105
- Csapó J., Schäffer B., 2001. A tej tulajdonságai, in: Tejgazdaságtan. Dinasztia Kiadó, Budapest, pp. 64–68.
- Csehi, B., Pásztor-Huszár, K., Salamon, B., Tóth, A., Zeke, I., Jónás, G., Friedrich, L., 2016a. The analysis of protein and physico-chemical changes in high hydrostatic pressure or heat treated whole milk, in: High Pressure Science and Technology 54th EHPRG International Meeting Abstract Book. Bayreuth, Germany, p. 14.
- Csehi, B., Szerdahelyi, E., Németh, C., Jónás, G., Salamon, B., Pásztor-Huszár, K., Friedrich, L., 2017. Increasing the microbiological stability of blood (as food industrial by-product) by high hydrostatic pressure treatment, in: Book of Abstracts. Institute, of Physics Chinese Academy of Sciences Center for High Pressure Science & Technology Advanced Research Southern University of Science, Beijing, Kína, p. 539.
- Csehi, B., Szerdahelyi, E., Pásztor-Huszár, K., Salamon, B., Tóth, A., Zeke, I., Jónás, G., Friedrich, L., 2016b. Changes of protein profiles in pork and beef meat caused by high hydrostatic pressure treatment. *Acta Alimentaria* 45, 565–571. <https://doi.org/10.1556/066.2016.45.4.14>
- Czvikovszky, T., Nagy, P., Gaál, J., 2007. A polimertechnika alapjai, Az ömledékreológia alapjai (5.2) <https://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tkt/polimertechnika-alapjai/ch05s02.html>

- Dalmadi, I., 2009. Hőkezeléssel és nagy hidrosztatikus nyomással pasztörözött bogyógyümölcs-pürék minőségjellemzőinek alakulása a tárolási hőmérséklet függvényében, in: Doktori Disszertáció. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.
- Daniel, C.R., Cross, A.J., Koebnick, C., Sinha, R., 2011. Trends in meat consumption in the USA. *Public Health Nutrition* 14, 575–583. <https://doi.org/10.1017/S1368980010002077>
- Dávila, E., Parés, D., Cuvelier, G., Relkin, P., 2007. Heat-induced gelation of porcine blood plasma proteins as affected by pH. *Meat Sci.* 76, 216–225. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.11.002>
- Dávila-Aviña, J.E., Solís-Soto, L.Y., Rojas-Verde, G., Salas, N.A., 2015. Sustainability and Challenges of Minimally Processed Foods, in: Siddiqui, M.W., Rahman, M.S. (Eds.), *Minimally Processed Foods*. Springer International Publishing, Cham, pp. 279–295. https://doi.org/10.1007/978-3-319-10677-9_12
- de Boer, J., Helms, M., Aiking, H., 2006. Protein consumption and sustainability: Diet diversity in EU-15. *Ecological Economics* 59, 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2005.10.011>
- de Heij, W.B.C., van Schepdael, L.J.M.M., Moezelaar, R., Hoogland, H., Matser, A.M., van den Berg, R.W., 2003. High-Pressure Sterilization: Maximizing the Benefits of Adiabatic Heating. *Food Technology* 57, 37–41.
- De Roeck, A., Mols, J., Duvetter, T., Van Loey, A., Hendrickx, M., 2010. Carrot texture degradation kinetics and pectin changes during thermal versus high-pressure/high-temperature processing: A comparative study. *Food Chemistry* 120, 1104–1112. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.060>
- Delgado, C.L., 2003. Rising consumption of meat and milk in developing countries has created a new food revolution. *J. Nutr.* 133, 3907S–3910S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3907S>
- Desobry-Banon, S., Richard, F., Hardy, J., 1994. Study of Acid and Rennet Coagulation of High Pressurized Milk. *Journal of Dairy Science* 77, 3267–3274. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77267-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77267-2)
- Diepstraten, S.T., Hart, A.H., 2019. Modelling human haemoglobin switching. *Blood Reviews* 33, 11–23. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2018.06.001>
- Doi, E., Kitabatake, N., 1997. Structure and functionality of egg proteins, in: *Food Proteins and Their Applications*. Marcel Dekker, New York, pp. 325–340.
- Donato, L., Guyomarc'h, F., 2009. Formation and properties of the whey protein/κ-casein complexes in heated skim milk – A review. *Dairy Science and Technology* 89, 3–29. <https://doi.org/10.1051/dst:2008033>
- Duarte, R.T., Carvalho Simões, M.C., Sgarbieri, V.C., 1999. Bovine Blood Components: Fractionation, Composition, and Nutritive Value. *J. Agric. Food Chem.* 47, 231–236. <https://doi.org/10.1021/jf9806255>
- Dublecz, K., 2011. Állati termékek táplálkozás-élettani szerepe, 2011th ed. Pannon Egyetem. https://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0059_allati_termekek_tapl_elettani_szerepe/index.html
- Duffey, K.J., Popkin, B.M., 2007. Shifts in patterns and consumption of beverages between 1965 and 2002. *Obesity (Silver Spring)* 15, 2739–2747. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.326>
- Dumoulin, M., Hayashi, R., 1998. High pressure, a unique tool for food texturization. *Food Sci Technol Int* 4, 99–113.
- Dumoulin, M., Ozawa, S., Hayashi, R., 1998. Textural Properties of Pressure-Induced Gels of Food Proteins Obtained under Different Temperatures including Subzero. *J Food Science* 63, 92–95. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1998.tb15683.x>

- Elamin, W.M., Endan, J.B., Yosuf, Y.A., Shamsudin, R., Ahmedov, A., 2015. High Pressure Processing Technology and Equipment Evolution: A Review. *Journal of Engineering Science and Technology Review* 8, 75–83.
- Electrophoresis and Isoelectric Focusing in Food Analysis | Request PDF [WWW Document], n.d. . ResearchGate. URL https://www.researchgate.net/publication/229489777_Electrophoresis_and_Isoelectric_Focusing_in_Food_Analysis (accessed 3.25.19).
- EUROSTAT, 2014. Milk and milk products [Document]. Agriculture and rural development - European Commission. URL https://ec.europa.eu/agriculture/milk_en (accessed 12.10.18).
- Evans, Lloyd T., Evans, Lewis T., Evans, Lloyd Thomas, 1998. *Feeding the Ten Billion: Plants and Population Growth*. Cambridge University Press.
- FAOSTAT, 2013. FAOSTAT. URL <http://www.fao.org/faostat/en/#data/CL> (accessed 12.10.18).
- FAO/WHO, 1991. Protein quality evaluation [Document]. URL <http://www.fao.org/3/t0501e/t0501e00.pdf> (accessed 3.7.19).
- Farrell, H.M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E., Creamer, L.K., Hicks, C.L., Hollar, C.M., Ng-Kwai-Hang, K.F., Swaisgood, H.E., 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk--sixth revision. *J. Dairy Sci.* 87, 1641–1674. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73319-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73319-6)
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., Suman, S.P., 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Sci.* 86, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.025>
- Galazka, V., Smith, D., Ledward, D., Dickinson, E., 1999. Interactions of ovalbumin with sulphated polysaccharides: effects of pH, ionic strength, heat and high pressure treatment. *Food Hydrocolloids* 13, 81–88. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(98\)00073-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(98)00073-3)
- Galazka, V.B., Dickinson, E., Ledward, D.A., 2000. Influence of high pressure processing on protein solutions and emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 5, 182–187. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(00\)00055-8](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(00)00055-8)
- Gao, H., Mao, M., Liang, C., Lin, C., Xiang, J., 2009. Detection of the end point temperature of thermal denatured protein in fish and chicken meat through SDS-PAGE electrophoresis. *Journal of Ocean University of China* 8, 95–99. <https://doi.org/10.1007/s11802-009-0095-8>
- Gao, X., Wang, Z., Miao, J., Xie, L., Dai, Y., Li, X., Chen, Y., Luo, H., Dai, R., 2014. Influence of different production strategies on the stability of color, oxygen consumption and metmyoglobin reducing activity of meat from Ningxia Tan sheep. *Meat Sci.* 96, 769–774. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.026>
- García-Cañas, V., González, R., Cifuentes, A., 2004. The combined use of molecular techniques and capillary electrophoresis in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 23, 637–643. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.07.005>
- Gasztonyi, Lásztity, 1993. *Élelmiszer-kémia 2. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 72.*
- Gharbi, N., Labbafi, M., 2018. Effect of processing on aggregation mechanism of egg white proteins. *Food Chemistry* 252, 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.088>
- Granzier, H.L., Labeit, S., 2006. The giant muscle protein titin is an adjustable molecular spring. *Exerc Sport Sci Rev* 34, 50–53.
- Grossi, A., Olsen, K., Bolumar, T., Rinnan, Å., Øgendal, L.H., Orlien, V., 2016. The effect of high pressure on the functional properties of pork myofibrillar proteins. *Food Chemistry* 196, 1005–1015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.062>

- Gulyás, G., Czeglédi, L., Béri, B., Harangi, S., Csósz, E., Szabó, Z., Janáky, T., Jávora, A., 2015. Proteomic analysis of skeletal muscle at different live weights in Charolais bulls. *Acta Alimentaria* 44, 132–138. <https://doi.org/10.1556/AAlim.44.2015.1.14>
- Hajós, G., Delincée, H., 1983. Structural investigation of radiation-induced aggregates of ribonuclease. *International Journal of Radiation Biology* 44, 333–342.
- Hajós, G., Idei, M., 2001. Elektroforetikus és elektrokratográfiás módszerek fejlődése és alkalmazási lehetőségei I. *Magyar Kémikusok Lapja* 56, 364–368.
- Hallberg, L., Bjørn-Rasmussen, E., Howard, L., Rossander, L., 1979. Dietary heme iron absorption. A discussion of possible mechanisms for the absorption-promoting effect of meat and for the regulation of iron absorption. *Scand. J. Gastroenterol.* 14, 769–779.
- Hamilton, R.G., Kickler, T.S., 2007. Bovine hemoglobin (glutamer-250, Hemopure)-specific immunoglobulin G antibody cross-reacts with human hemoglobin but does not lyse red blood cells in vitro: ANTIBODY RESPONSES TO BOVINE HEMOPURE. *Transfusion* 47, 723–728. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01176.x>
- Haug, A., Høstmark, A.T., Harstad, O.M., 2007. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids Health Dis* 6, 25. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>
- Hayakawa, I., Linko, Y.-Y., Linko, P., 1996. Mechanism of High Pressure Denaturation of Proteins. *LWT - Food Science and Technology* 29, 756–762. <https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0118>
- Henderson, C.A., Gomez, C.G., Novak, S.M., Mi-Mi, L., Gregorio, C.C., 2017. Overview of the Muscle Cytoskeleton. *Compr Physiol* 7, 891–944. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160033>
- Higgs, J.D., 2000. The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology* 11, 85–95. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)00055-8](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00055-8)
- Hoffmann, K., Blüchel, E., 1986. Bestimmung der Tierart von rohem Muskelfleisch anhand der Myoglobin-muster im pH-Gradienten-Gel. *Fleischwirtschaft* 916–921.
- Hűtő Tanszék honlapja, [Document], n.d. URL <http://huto.etk.szie.hu/> (accessed 4.15.19).
- Huang, H.-W., Lung, H.-M., Yang, B.B., Wang, C.-Y., 2014. Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing. *Food Control* 40, 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.007>
- Hui, Y.H., n.d. *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering - 4 Volume Set*. CRC Press Taylor & Francis Group.
- Hutchings, J.B., 1999. *Food Color and Appearance*, 2nd ed. Springer US.
- In, M.-J., Chae, H.J., Oh, N.-S., 2002. Process development for heme-enriched peptide by enzymatic hydrolysis of hemoglobin. *Bioresour. Technol.* 84, 63–68.
- Incze, Z., 1996. A nyers hús színe és színtalabilitása, Húsipari továbbképző napok, Budapest
- Iwasaki, T., Noshiroya, K., Saitoh, N., Okano, K., Yamamoto, K., 2006. Studies of the effect of hydrostatic pressure pretreatment on thermal gelation of chicken myofibrils and pork meat patty. *Food Chemistry* 95, 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.024>
- Iwasaki, T., Washio, M., Yamamoto, K., Nakamura, K., 2005. Rheological and morphological comparison of thermal and hydrostatic pressure-induced filamentous myosin gels. *Journal of Food Science* 70, E432–E436.
- Jánosi, A., 2006. Fajspecifikus húsazonosítás polimeráz láncreakción alapuló technikákkal.
- Jermann, C., Koutchma, T., Margas, E., Leadley, C., Ros-Polski, V., 2015. Mapping trends in novel and emerging food processing technologies around the world. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 31, 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.06.007>

- Joo, S.T., Kauffman, R.G., Kim, B.C., Park, G.B., 1999. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Science* 52, 291–297.
- Jung, S., Ghoul, M., de Lamballerie-Anton, M., 2003. Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *LWT - Food Science and Technology* 36, 625–631. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00082-3)
- Jovanovic, S., Barac, M., Macej, O., Vucic, T., Lacnjevac, C., 2007. SDS-PAGE Analysis of Soluble Proteins in Reconstituted Milk Exposed to Different Heat Treatments. *Sensors* 7, 371–383. <https://doi.org/10.3390/s7030371>
- Julià, S., Sánchez, L., Pérez, M.D., Lavilla, M., Conesa, C., Calvo, M., 2007. Effect of heat treatment on hen's egg ovomucoid: An immunochemical and calorimetric study. *Food Research International* 40, 603–612. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.11.004>
- Kálmánné Tuboly, E., 2009. Nagy hidrosztatikus nyomású technológia alkalmazásának hatásai néhány élelmiszer mikrobiológiai állapotára és más minőségjellemzőire, in: Doktori disszertáció. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest.
- Kearney, J., 2010. Food consumption trends and drivers. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 2793–2807. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0149>
- Kellermayer, M., Sziklai, D., Papp, Z., Decker, B., Lakatos, E., Mártonfalvi, Z., 2018. Topology of interaction between titin and myosin thick filaments. *Journal of Structural Biology* 203, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2018.05.001>
- Kenesei, G., Jónás, G., Salamon, B., Dalmadi, I., 2017. Thermograms of the combined High Hydrostatic Pressure and Sous-vide treated (Longissimus dorsi) of pork. *Journal of Physics: Conference Series* 950, 042007. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/950/4/042007>
- Ko, W.C., Jao, C.L., Hsu, K.C., 2003. Effect of Hydrostatic Pressure on Molecular Conformation of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Myosin. *Journal of Food Science* 68, 1192–1195. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09623.x>
- Kollár, V., 2009. A harántcsikolt izom szerkezete, az izomműködés és szabályozás molekuláris alapjai, http://biofizika2.aok.pte.hu/hu/oktatas/biofizika_bio/20092010/20_izom_KV_0910.pdf
- Koncz, K., 1992. A viszkozimetriás állománymérés alkalmazási lehetőségei a hűtőiparban. in: Doktori Disszertáció. Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Budapest.
- Konica Minolta Business Solutions Europe GmbH [Document], n.d. URL <https://www.konicaminolta.eu/eu-en> (accessed 4.15.19).
- Kosáry, J., 2014. A táplálkozás biokémiája jegyzet, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Budapest.
- Kretschmar, U., 1995. Funktionelle Eigenschaften von Sarcoplasmaproteinen. *Fleischwirtschaft* 75, 76–79.
- Kukovics S., 2009. A tej szerepe a humán táplálkozásban. Melánia Kiadó Kft., Budapest. 9 pp.
- Laemmli, V. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685.
- Lawrie, R.A., Ledward, D.A., 2006. *Lawrie's Meat Science - 7th Edition*. CRC Press, Woodhead Publishing Limited.
- Lee, E.-J., Kim, Y.-H., Lee, N.-H., Hong, S.-I., Yamamoto, K., Kim, Y.-J., 2011. The role of sarcoplasmic protein in hydrostatic pressure-induced myofibrillar protein denaturation. *Meat Science* 87, 219–222. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.10.012>
- Légrády Péter, 2001. Tojás, táplálkozás, egészség. E.P.E. Kft. : Maecenas, Budapest.

- Lesnierowski, G., Stangierski, J., 2018. What's new in chicken egg research and technology for human health promotion? - A review. *Trends in Food Science & Technology* 71, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.022>
- Lin, S., Sun, J., Cao, D., Cao, J., Jiang, W., 2010. Distinction of different heat-treated bovine milks by native-PAGE fingerprinting of their whey proteins. *Food Chemistry* 121, 803–808. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.088>
- Linton, M., Patterson, M.F., 2000. High pressure processing of foods for microbiological safety and quality. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 47, 175–182. <https://doi.org/10.1556/AMicr.47.2000.2-3.3>
- Liu, X.Q., Yonekura, M., Tsutsumi, M., Sano, Y., 1996. Physicochemical Properties of Aggregates of Globin Hydrolysates. *J. Agric. Food Chem.* 44, 2957–2961. <https://doi.org/10.1021/jf9505786>
- Ludányi, A., 2011. A fehérjekutatás modern módszertana. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest.
- Ludikhuyze, L., Van Loey, A., Indrawati, Hendrickx, M., 2002. High pressure processing of fruit and vegetables, in: *Fruit and Vegetable Processing*. Elsevier, pp. 346–362. <https://doi.org/10.1533/9781855736641.3.346>
- Ma, H.-J., Ledward, D.A., 2004. High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Science* 68, 347–355. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.04.001>
- Mancini, R.A., Hunt, M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.* 71, 100–121. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>
- Marcolini, E., Babini, E., Bordoni, A., Di Nunzio, M., Laghi, L., Maczo, A., Picone, G., Szerdahelyi, E., Valli, V., Capozzi, F., 2015. Bioaccessibility of the Bioactive Peptide Carnosine during in Vitro Digestion of Cured Beef Meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, (20) 4973-4978.
- Marcos, B., Kerry, J.P., Mullen, A.M., 2010. High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators. *Meat Science* 85, 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.12.014>
- Mariotti, F., 2017. 35 - Plant Protein, Animal Protein, and Protein Quality, in: Mariotti, F. (Ed.), *Vegetarian and Plant-Based Diets in Health and Disease Prevention*. Academic Press, pp. 621–642. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803968-7.00035-6>
- Maruyama, K., 1989. Connectin/titin, giant elastic protein of muscle. *FASEB J.* 11, 341–345.
- McArdle, R., Marcos, B., Kerry, J.P., Mullen, A., 2010. Monitoring the effects of high pressure processing and temperature on selected beef quality attributes. *Meat Science* 86, 629–634. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.001>
- Medina-Meza, I.G., Barnaba, C., Barbosa-Cánovas, G.V., 2014. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 22, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.10.012>
- Metskas, L.A., Rhoades, E., 2016. Order–Disorder Transitions in the Cardiac Troponin Complex. *Journal of Molecular Biology* 428, 2965–2977. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.06.022>
- Mine, Y., 2008. *Egg Bioscience and biotechnology*. INC.
- Mine, Y., 2007. Egg proteins and peptides in human health--chemistry, bioactivity and production. *Curr. Pharm. Des.* 13, 875–884.
- Mittelmann, N.Á., Saavedra, E.D., Calvo, E.M.G., Méndez, A.M., Carmona, J.C.P., López, S.P., Calvo, E.S., Jiménez, C.T., Ruiz, C., Corpas, F.J., Palma, J.M., 2013. Polyacrylamide gel electrophoresis: a powerful tool in the food-processing sector.

- Morales, P., Calzada, J., Avila, M., Nuñez, M., 2008. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef by single-cycle and multiple-cycle high-pressure treatments. *J. Food Prot.* 71, 811–815.
- Moreira, S.A., Duarte, R.V., Fernandes, P.A.R., Alves, S.P., Bessa, R.J., Delgadillo, I., Saraiva, J.A., 2015. Hyperbaric storage preservation at room temperature using an industrial-scale equipment: Case of two commercial ready-to-eat pre-cooked foods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 32, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.016>
- Mukhopadhyay, S., Ukuku, D.O., 2018. The role of emerging technologies to ensure the microbial safety of fresh produce, milk and eggs. *Current Opinion in Food Science, Food Chemistry and Biochemistry * Food Bioprocessing* 19, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.013>
- Muntean, M.-V., Marian, O., Barbieru, V., Cătunescu, G.M., Ranta, O., Drocas, I., Terhes, S., 2016. High Pressure Processing in Food Industry – Characteristics and Applications. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 5th International Conference “Agriculture for Life, Life for Agriculture” 10, 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.09.077>
- Mussa, D.M., Ramaswamy, H.S., 1997. Ultra High Pressure Pasteurization of Milk: Kinetics of Microbial Destruction and Changes in Physico-chemical Characteristics. *LWT - Food Science and Technology* 30, 551–557. <https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0223>
- Needs, E.C., Stenning, R.A., Gill, A.L., Ferragut, V., Rich, G.T., 2000a. High-pressure treatment of milk: effects on casein micelle structure and on enzymic coagulation. *Journal of Dairy Research* 67, 31–42.
- Needs, E.C., Capellas, M., Bland, A.P., Manoj, P., Macdougall, D., Paul, G., 2000b. Comparison of heat and pressure treatments of skim milk, fortified with whey protein concentrate, for set yogurt preparation: effects on milk proteins and gel structure. *Journal of Dairy Research* 67, 329–348. <https://doi.org/10.1017/S0022029900004301>
- Németh, C., 2012. Tojáslevek kis hőmérsékletű hőkezelése, in: *Doktori Disszertáció*. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Doktori Iskola, Budapest.
- Németh, C., Balla, C., Juhász, R., Suhajda, Á., Mráz, B., Németh, Z., 2012. Teljes tojásle pasztörözése nagy hidrosztatikus nyomással. *Magyar Állatorvosok Lapja* 134, 252–256.
- Nollet, L.M.L. (Ed.), 2004a. *Handbook of food analysis: Physical characterization and nutrient analysis*, 2. ed., rev. and expanded. ed, Food science and technology. Dekker, New York, NY.
- Nollet, L.M.L., 2004b. *Handbook of Food Analysis: Methods and instruments in applied food analysis*, 2. ed., rev. and expanded. ed, Food science and technology. CRC Press, New York, NY.
- Nollet, L.M.L., Toldra, F. (Eds.), 2010. *Handbook of Dairy Foods Analysis*, 1 edition. ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Norton, T., Sun, D.-W., 2008. Recent Advances in the Use of High Pressure as an Effective Processing Technique in the Food Industry. *Food Bioprocess Technol* 1, 2–34. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0007-0>
- Ofori, J.A., Hsieh, Y.-H.P., 2012. The Use of Blood and Derived Products as Food Additives. *Food Additive* 13. <https://doi.org/10.5772/32374>
- Parés, D., 1998. Characterization and utilisation of porcine plasma from industrial slaughterhouses, University of Girona, Doktori disszertáció.
- Parés, D., Ledward, D.A., 2001. Emulsifying and gelling properties of porcine blood plasma as influenced by high-pressure processing. *Food Chemistry* 74, 139–145. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00105-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00105-4)

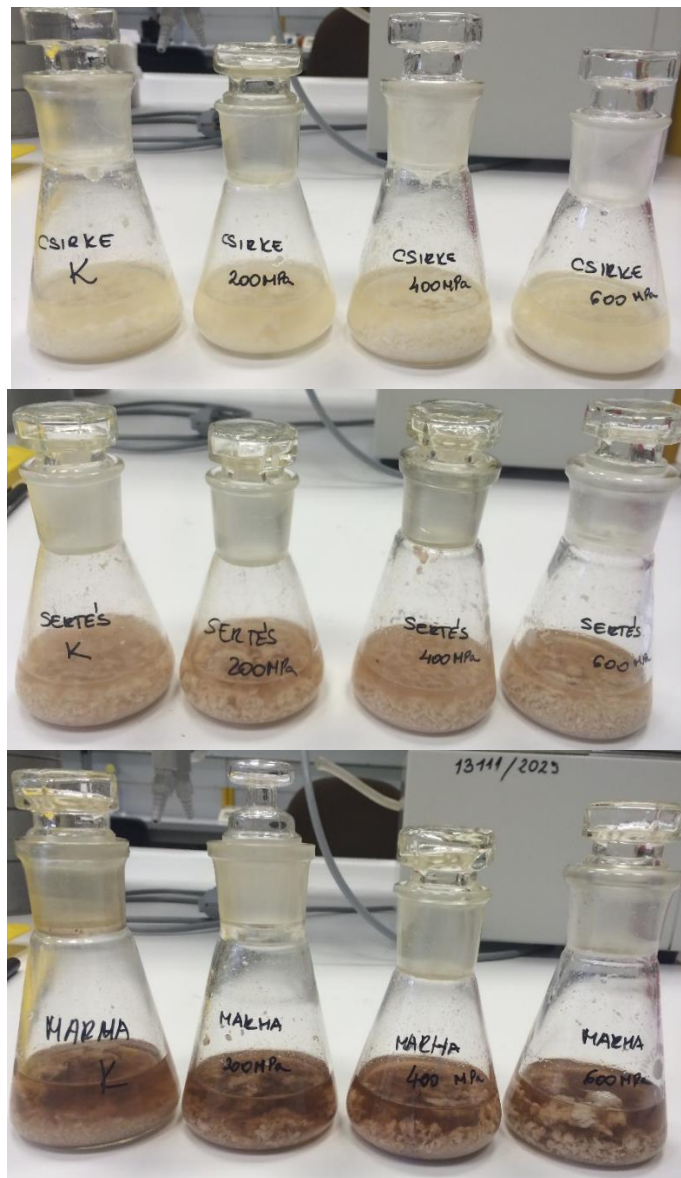
- Parunović, N., Petrović, M., Matekalo-Sverak, V., Radojković, D., Vranić, D., Radović, Č., 2012. Cholesterol and total fatty acid content in *m. longissimus dorsi* of Mangalitsa and Swedish Landrace. *Acta Alimentaria* 41, 161–171. <https://doi.org/10.1556/AAlim.41.2012.2.3>
- Pásztor-Huszár, K., 2008. Protein changes of various types of milk as affected by high hydrostatic pressure processing, in: *Doktori Disszertáció*. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Doktori Iskola.
- Patkós A., 2007. *Biológiai kislexikon*. Typotex Elektronikus Kiadó Kft.
- Pereira, P.C., 2014. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition* 30, 619–627. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.10.011>
- Pereira, P.M. de C.C., Vicente, A.F. dos R.B., 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science* 93, 586–592. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.018>
- Permyakov, E.A., Berliner, L.J., 2000. α -Lactalbumin: structure and function. *FEBS Letters* 473, 269–274. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01546-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01546-5)
- Pesic, M., Barac, M., Vrvic, M., Ristic, N., Macej, O., Stanojevic, S., 2011. Qualitative and quantitative analysis of bovine milk adulteration in caprine and ovine milks using native-PAGE. *Food Chemistry* 125, 1443–1449. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.045>
- Pesic, M.B., Barac, M.B., Stanojevic, S.P., Ristic, N.M., Macej, O.D., Vrvic, M.M., 2012. Heat induced casein–whey protein interactions at natural pH of milk: A comparison between caprine and bovine milk. *Small Ruminant Research* 108, 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.06.013>
- Pizarro, F., Olivares, M., Valenzuela, C., Brito, A., Weinborn, V., Flores, S., Arredondo, M., 2016. The effect of proteins from animal source foods on heme iron bioavailability in humans. *Food Chemistry* 196, 733–738. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.012>
- Polydera, A.C., Stoforos, N.G., Taoukis, P.S., 2003. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering* 60, 21–29. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00006-2](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00006-2)
- Popkin, B.M., 2010. Patterns of beverage use across the lifecycle. *Physiology & Behavior, Beverages and Health* 100, 4–9. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.12.022>
- Raikos, V., Campbell, L., Euston, S.R., 2007. Rheology and texture of hen's egg protein heat-set gels as affected by pH and the addition of sugar and/or salt. *Food Hydrocolloids* 21, 237–244.
- Raikos, V., Hansen, R., Campbell, L., Euston, S.R., 2006. Separation and identification of hen egg protein isoforms using SDS–PAGE and 2D gel electrophoresis with MALDI-TOF mass spectrometry. *Food Chemistry* 99, 702–710. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.047>
- Rastogi, N.K., 2013. *Recent Developments in High Pressure Processing of Foods*, SpringerBriefs in Food, Health, and Nutrition. Springer US.
- Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S., Balasubramaniam, V.M., Niranjana, K., Knorr, D., 2007. Opportunities and Challenges in High Pressure Processing of Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47, 69–112. <https://doi.org/10.1080/10408390600626420>
- Rendueles, E., Omer, M.K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., Prieto, M., 2011. Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT - Food Science and Technology* 44, 1251–1260. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.001>
- ResearchGate | Share and discover research [Document], n.d. . ResearchGate. URL <https://www.researchgate.net/> (accessed 4.15.19).
- Richards, M.P., Modra, A.M., Li, R., 2002. Role of deoxyhemoglobin in lipid oxidation of washed cod muscle mediated by trout, poultry and beef hemoglobins. *Meat Sci.* 62, 157–163.

- Ritchie, H., Roser, M., 2017. Meat and Seafood Production & Consumption. Our World in Data. <https://ourworldindata.org/meat-and-seafood-production-consumption> (accessed 8.28.19).
- Rynkiewicz, M.J., Fischer, S., Lehman, W., 2016. The propensity for tropomyosin twisting in the presence and absence of F-actin. *Arch Biochem Biophys* 609, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.09.008>
- Saguer, E., Dàvila, E., Toldrà, M., Fort, N., Baixas, S., Carretero, C., Parés, D., 2007. Effectiveness of high pressure processing on the hygienic and technological quality of porcine plasma from biopreserved blood. *Meat Science* 76, 189–193. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.009>
- Sajtos L., Mitev A., 2007. SPSS kutatási és adatelemzési kézikönyv. Alinea Kiadó, Budapest. 163-203 pp.
- Salamon, B., Tóth, A., Palotás, P., Südi, G., Csehi, B., Németh, C., Friedrich, L., 2016. Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on organoleptic properties and shelf life of fish salad with mayonnaise. *Acta Alimentaria* 45, 558–564. <https://doi.org/10.1556/066.2016.45.4.13>
- Sans, P., Combris, P., 2015. World meat consumption patterns: An overview of the last fifty years (1961–2011). *Meat Science*, 61st International Congress of Meat science and Technology (61st ICoMST), 23-28 August 2015, Clermont Ferrand, France 109, 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.012>
- Savadkoochi, S., Bannikova, A., Mantri, N., Kasapis, S., 2016. Structural properties of condensed ovalbumin systems following application of high pressure. *Food Hydrocolloids, Functional Hydrocolloids: A Key to Human Health* 53, 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.021>
- Savell, J.W., 2015. Meat Color [WWW Document]. *Meat Science*. URL <https://meat.tamu.edu/ansc-307-honors/meat-color/> (accessed 3.19.19).
- Scanes, C.G., 2018. Chapter 3 - Animal Products and Human Nutrition, in: Scanes, C.G., Toukhsati, S.R. (Eds.), *Animals and Human Society*. Academic Press, pp. 41–64. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805247-1.00003-4>
- Sheng, L., Huang, M., Wang, J., Xu, Q., Hammad, H.H.M., Ma, M., 2018. A study of storage impact on ovalbumin structure of chicken egg. *Journal of Food Engineering* 219, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.08.028>
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A., 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. *Appetite* 51, 456–467. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.05.060>
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T.D., Nations, F. and A.O. of the U., Castel, V., Rosales, M., M, M.R., Haan, C. de, 2006. *Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options*. Food & Agriculture Org.
- Sugino, H., Nitoda, T. and Juneja, L.R., 1997. General chemical composition of hen eggs. In: *Hen Eggs, Their Basic and Applied Science*; Yamamoto, T.; Juneja, L. R.; Hatta, H.; Kim, M., Eds.; CRC Press, Inc.: New York, New York, pp. 13-24.
- Sun, X.D., Holley, R.A., 2010. High Hydrostatic Pressure Effects on the Texture of Meat and Meat Products. *Journal of Food Science* 75, R17–R23. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01449.x>
- Swaigood, H.E., 1982. Chemistry of Milk Proteins, in: *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1: Proteins, Parts A&B*. PF Fox, pp. 1–61.
- Szerdahelyi, E., 2000. Húsok és hústermékek fehérjéinek és biogén aminosavainak változásai, in: *Doktori Disszertáció. Központi Élelmiszerkutató Intézet, Biológia Osztály, Budapest*.

- Szerdahelyi, E., Hajós, G., Molnár, P.E., 1995. Tehéntej meghatározása hazai sajtokban izoelektromos fókuszálással. *Élelmiszervizsgálati Közlemények* 41, 225–231.
- Szerdahelyi, E., Korompai, E., Nagy, A., Alarcon-Rojo, A.D., Janacua-Vidales, H., Marcolini, E., Gelencsér, É., 2013. Biologically active dipeptides in raw and processed meat samples, in: *Abstract Book. 2nd International Conference on Food Digestion, Madrid*. pp 66.
- Tang, J., Faustman, C., Hoagland, T.A., 2004. Krzywicki Revisited: Equations for Spectrophotometric Determination of Myoglobin Redox Forms in Aqueous Meat Extracts. *Journal of Food Science* 69, C717–C720. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09922.x>
- Thakur, B.R., Nelson, P.E., 1998. High-pressure processing and preservation of food. *Food Reviews International* 14, 427–447. <https://doi.org/10.1080/87559129809541171>
- Themes, Picture, U.F.O., 2017. Muscle & the Cytoskeleton. *Basicmedical Key*. URL <https://basicmedicalkey.com/muscle-the-cytoskeleton/> (accessed 4.15.19).
- Tofteskov, J., Hansen, J.S., Bailey, N.P., 2017. Modelling the autoxidation of myoglobin in fresh meat under modified atmosphere packing conditions. *Journal of Food Engineering* 214, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.002>
- Toldrá, F., Reig, M., 2012. Biochemistry of Raw Meat and Poultry, in: Simpson, B.K. (Ed.), *Food Biochemistry and Food Processing*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 285–302. <https://doi.org/10.1002/9781118308035.ch15>
- Toldrà, M., Busquets, A., Saguer, E., Parés, D., Carretero, C., 2002. Effects of High Hydrostatic Pressurised Treatment on Porcine Blood Red Cells Fraction. *Food sci. technol. int.* 8, 41–48. <https://doi.org/10.1106/108201302022916>
- Toldrà, M., Dàvila, E., Saguer, E., Fort, N., Salvador, P., Parés, D., Carretero, C., 2008. Functional and quality characteristics of the red blood cell fraction from biopreserved porcine blood as influenced by high pressure processing. *Meat Science* 80, 380–388. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.12.025>
- Toldrà, M., Elias, A., Parés, D., Saguer, E., Carretero, C., 2004. Functional properties of a spray-dried porcine red blood cell fraction treated by high hydrostatic pressure. *Food Chemistry* 88, 461–468. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.060>
- Tornberg, E., 2005. Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science* 70, 493–508. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.021>
- Tóth L., 1998. Állattartási technika. *Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest*, 411-451.
- USDA, 2019. Unites States Department of Agriculture, National Nutrient Database for Standard, URL <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list> (accessed 9.2.19).
- Uzel, C., Conrad, M.E., 1998. Absorption of heme iron. *Semin. Hematol.* 35, 27–34.
- Vervoort, L., Van der Plancken, I., Grauwet, T., Verlinde, P., Matser, A., Hendrickx, M., Van Loey, A., 2012. Thermal versus high pressure processing of carrots: A comparative pilot-scale study on equivalent basis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 15, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.02.009>
- Wall, J.R., Hayes, M., Scalise, D., Stolarski, C., Nebes, V., Kiljanski, J., Salvi, M., Sato, M., 1995. Native gel electrophoresis and isoelectric focusing of a 64-kilodalton eye muscle protein shows that it is an important target for serum autoantibodies in patients with thyroid-associated ophthalmopathy and not expressed in other skeletal muscle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80, 1226–1232. <https://doi.org/10.1210/jcem.80.4.7714092>

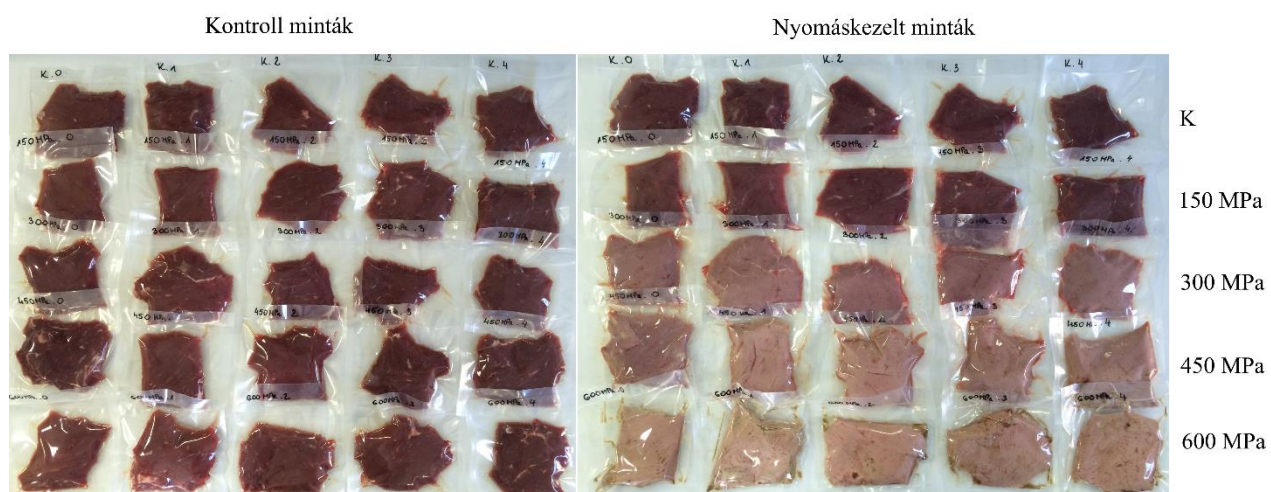
- Wang, J.Z., Zhang, M., Ren, F.Z., Han, B.Z., Wang, L., Chen, S.W., Humera, A., 2007. Changes of chemical and nutrient composition of porcine blood during fermentation by *Aspergillus oryzae*. *World journal of microbiology & biotechnology*.
- WHO, 2001. World Health Organization, Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control.
- Williams, J., Evans, R.W., Moreton, K., 1978. The iron-binding properties of hen ovotransferrin. *Biochem J* 173, 535–542.
- Wilson, D.R., Dabrowski, L., Stringer, S., Moezelaar, R., Brocklehurst, T.F., 2008. High pressure in combination with elevated temperature as a method for the sterilisation of food. *Trends in Food Science & Technology* 19, 289–299. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.01.005>
- Wong, D.W., Camirand, W.M., Pavlath, A.E., 1996. Structures and functionalities of milk proteins. *Crit Rev Food Sci Nutr* 36, 807–844. <https://doi.org/10.1080/10408399609527751>
- Wu, J., Acero-Lopez, A., 2012. Ovotransferrin: Structure, bioactivities, and preparation. *Food Research International, Functional Foods and Nutraceuticals* 46, 480–487. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.012>
- Xue, S., Yang, H., Liu, R., Qian, C., Wang, M., Zou, Y., Xu, X., Zhou, G., 2017. Applications of high pressure to pre-rigor rabbit muscles affect the functional properties associated with heat-induced gelation. *Meat Science* 129, 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.03.006>
- Yaldagard, M., Mortazavi, S.A., Tabatabaie, F., 2008. The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects. *African Journal of Biotechnology* 7, 2739–2767.
- Yammamoti, T., Juneja, L.R., Hatta, H., Kim, M., 1997. General chemical composition of hen eggs, in: *Hen Eggs: Basic and Applied Science*. CRC Press.
- Yang, B., Shi, Y., Xia, X., Xi, M., Wang, X., Ji, B., Meng, J., 2012. Inactivation of foodborne pathogens in raw milk using high hydrostatic pressure. *Food Control* 28, 273–278. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.04.030>
- Yantcheva, B., Golley, S., Topping, D., Mohr, P., 2016. Food avoidance in an Australian adult population sample: the case of dairy products. *Public Health Nutrition* 19, 1616–1623. <https://doi.org/10.1017/S1368980015003250>
- Zhu, Y., Vanga, S.K., Wang, J., Raghavan, V., 2018. Impact of food processing on the structural and allergenic properties of egg white. *Trends in Food Science & Technology* 78, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.005>
- Zinellu, A., Sotgia, S., Campesi, I., Franconi, F., Deiana, L., Carru, C., 2011. Measurement of carnosine, homocarnosine and anserine by FASI capillary electrophoresis UV detection: Applications on biological samples. *Talanta* 84, 931–935. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.02.030>
- Zingone, F., Bucci, C., Iovino, P., Ciacci, C., 2017. Consumption of milk and dairy products: Facts and figures. *Nutrition* 33, 322–325. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.07.019>
- Zsarnóczai, G., 2011. Nitritmennyiségek hatásának vizsgálata húskészítményekben, in: *Doktori disszertáció*. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Budapest.

MELLÉKLETEK (M2)



M2a. ábra: A kontroll és a nyomáskezelt húsminták (marhahátszín, sertéskaraj és csirkemell) összpigment tartalmának meghatározása TANG et al. 2004 nyomán.

Forrás: saját felvétel



M2b. ábra: Kontroll és a nyomáskezelt marhahátszín minták a mioglobin formák meghatározása előtt.

Forrás: saját felvétel

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet és hálámat szeretném kifejezni témavezetőimnek **Pásztorné Dr. Huszár Klárának**, akihez bármikor fordulhattam kérdéseimmel, és fejlődésemet mindvégig segítette valamint **Dr. Friedrich Lászlónak**, aki utamat egyengette, biztosította számomra a szükséges infrastruktúrát, szorgalmazta a dolgozat mielőbbi elkészültét.

Szeretném kifejezni köszönetemet a NAIK ÉKI Biológiai Osztály munkatársainak, **Némethné Dr. Szerdahelyi Emőkének** és **Háderné Sólyom Katalinnak**, akik nélkül dolgozatom nem készülhetett volna el, és akik támogatásukról mindvégig biztosítottak doktori dolgozatom alatt.

Köszönöm **Jónás Gábornak** a nyomáskezelésben valamint **Zeke Ildikónak** és **Hidas Karinának** a DSC vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségét.

Külön köszönet illeti családomat, páromat, szeretteimet és barátaimat, hogy támogattak, bátorítottak és bíztattak doktori munkám elvégzése során.