

**SZENT ISTVÁN  
EGYETEM**

**ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR, BUDAPEST**

## **DOKTORI ÉRTEKEZÉS**

**Kíméletes hőkezelés és nagy hidrosztatikus  
nyomáskezelés kombinálásának hatása sertéshús  
egyes minőségjellemzőire**

**Készítette: Kenesei György**

**Témavezető: Dr. Dalmadi István, egyetemi docens, PhD**

**Készült a Szent István Egyetem Élelmiszertudományi karának  
Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszékén**

**Budapest, 2018**

## TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK .....	2
RÖVIDÍTÉSEK .....	4
1 BEVEZETÉS .....	6
2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....	8
2.1 A hús összetétele, szerkezete, jellemzői .....	8
2.2 Kíméletes tartósító technológiák .....	10
2.2.1 Sous-vide technológia .....	10
2.2.2 Nagy Hidrosztatikus Nyomáskezelés (HHP) .....	22
2.2.3 Kombinált tartósítási módszerek és a gátelmélet .....	28
2.3 A Listeria Monocytogenes.....	36
2.4 Vizsgálati módszerek.....	37
2.4.1 Közeleli infravörös spektroszkópia (NIR) .....	37
2.4.2 Gél elektroforézis (SDS-PAGE) .....	39
2.4.3 A DSC termo-analitikai vizsgálati módszer .....	41
2.4.4 Az elektronikus orr .....	43
3 CÉLKITŰZÉS .....	46
4 ANYAG ÉS MÓDSZER .....	47
4.1 A vizsgálatok alapanyaga és előkészítése .....	47
4.2 Az alkalmazott kezelések .....	49
4.2.1 Egyszeres kezelések .....	49
4.2.2 Kombinált kezelések .....	50
4.2.3 Tárolási kísérlet .....	51
4.3 Alkalmazott vizsgálati módszerek.....	52
4.3.1 pH-érték meghatározása .....	52
4.3.2 Tömegveszteség meghatározása .....	52
4.3.3 Szárazanyag tartalom meghatározása.....	52
4.3.4 Víztartó képesség vizsgálata: préselési próba .....	53
4.3.5 Színmérés .....	53
4.3.6 Állományváltozás mérése.....	54
4.3.7 Lipid oxidáció mérése – TBA értékek meghatározása.....	55
4.3.8 A DSC termoanalitikai vizsgálat.....	56
4.3.9 Poliakrilamid-gélelektroforézis vizsgálat (SDS-PAGE).....	58

4.3.10	Zsírsvav összetétel meghatározása.....	59
4.3.11	Közeli infravörös spektroszkópia – NIR.....	60
4.3.12	Elektronikus orr vizsgálat.....	61
4.3.13	Mikrobiológiai vizsgálatok .....	62
4.4	Alkalmazott statisztikai programok, módszerek .....	63
4.5	A PQS adatelemzés .....	64
4.6	A mérések és vizsgálatok helyszíne .....	64
5	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS .....	65
5.1	A pH értékek alakulása.....	65
5.2	Szárazanyag tartalom mérés eredménye.....	66
5.3	Tömegveszteség értékek alakulása.....	67
5.4	Víz tartó képesség (WHC) eredményei .....	68
5.5	Szín mérés eredményei .....	69
5.6	Állománymérés eredményei .....	73
5.7	Lipid oxidáció: TBA-szám alakulása .....	76
5.8	DSC - Fehérje állapot vizsgálati eredmények .....	77
5.9	Gél elektroforézis: SDS-PAGE eredményei.....	80
5.10	Mikrobiológiai vizsgálatok eredményei .....	85
5.10.1	A mezofil aerob és fakultatív anaerob összcsíraszám.....	85
5.10.2	A mezofil anaerob és fakultatív anaerob összcsíraszám.....	86
5.10.3	A <i>L. monocytogenes</i> challenge teszt eredménye.....	87
5.11	A zsírsvav analízis eredménye .....	89
5.12	Az elektronikus orr jelválaszok elemzése .....	91
5.13	A NIR spektrumok elemzése .....	92
5.14	Főkomponens analízis eredményei.....	94
6	KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK.....	98
7	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK .....	100
8	ÖSSZEFOGLALÁS .....	102
9	SUMMARY .....	104
10	FELHASZNÁLT IRODALOM .....	104
	MELLÉKLETEK .....	117
	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	125

## RÖVIDÍTÉSEK

a*	CIELab színtérben a vörös (+) / zöld (-) színtényező
APS	ammónium-perszulfát
b*	CIELab színtérben a sárga (+) / kék (-) színtényező
C-érték	Főzési érték (cooking value), a termék főzöttségi szintjének mértékét fejezi ki (nem minden esetben egységes mert nem mindig ugyanazon tulajdonság alapján határozzák meg: pl. vitamin-tartalom, állomány, szín, komplex érzékszervi bírálat, stb.)
CDA	kanonikus diszkriminancia analízis
CIE	Nemzetközi világítástechnikai Bizottság (Commission International d'Éclairage)
Da / kDa	Dalton / kilo-Dalton (molekulatömeg)
DSC	kalorimetrikus mérés technika vagy az ehhez használt berendezés neve (Differential Scanning Calorimetry)
$\Delta E^*$	CIELab színtérben két pont között számított színíngerkülönbség
F-érték	Hőkezelési egyenérték szám, kifejezi, hogy egy adott hőkezelés, egy adott referencia mikroorganizmus ( $z=10\text{ }^\circ\text{C}$ ) $121,1\text{ }^\circ\text{C}$ -ra átszámítva milyen hőterhelést kapott
$F_{\max}$	Az állomány mérés során mért legnagyobb erő érték, N
HHP	nagy hidrosztatikus nyomás (kezelés) (High Hydrostatic Pressure)
L*	CIELab színtérben a világossági színtényező
LTL	sertés karaj (Longissimus Thoracis et Lumborum)
LT-LT	kis hőmérsékletű-hosszú idejű hőkezelés (Low temperature – Long time)
MDA	Malon dialdehid
MOS	Félvezető fénoxid szenzor (metal oxid semiconductor)
MOSFET	Félvezető fénoxid tranzisztor szenzor (metal oxid semiconductor field effect transistor)
OKK-OÉTI	Országos Közegészségügyi Központ - Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet
P-érték	pasztörözési érték, $100\text{ }^\circ\text{C}$ alatti hőkezelésnél használatos hőkezelési egyenérték szám
PC	főkomponens (principal component)
PCA	főkomponens analízis (principal component analysis)

PQS	Polar Qualification System – adatredukciós módszer spektrumok kiértékelésére a számított minőségpontok összehasonlításával
RTE	készétel (Ready-to-eat)
S-érték	Sterilizációs érték, hőkezelésnél használatos hőkezelési egyenérték szám
SDS-PAGE	elektroforetikus elválasztástechnika (Nátrium dodecil szulfát poliakrilamid gélelektroforézis)
SV	sous-vide
TBA	Thio Barbituric Acid – tiobarbitursav szám
TBARS	Thio Barbituric Acid Reactive Substances – tiobarbitursavval reagáló komponensek
TCA	Triklór - ecetsav
TEMED	N, N,N',N' - tetrametil - etilén - diamin
TKE	telepképző egység (CFU)
TRIS	Trisz - (hidroximetil) - amino – metán
WHC	(water holding capacity) víztartó képesség

# 1 BEVEZETÉS

A bőség idején - amikor több élelem áll rendelkezésünkre, mint amit el tudnánk fogyasztani – felmerül az élelmiszereink tárolásának és az ínséges időkre történő megőrzésének kérdése. A betakarított termény tartalékolása, a vadász-zsákmány későbbi felhasználása is már tartósító eljárásokat igényelt. Ez, az idők kezdete óta fontos, megoldandó feladat volt.

A fejlett országokban, az élelmiszerekkel szemben támasztott igények sokat változtak az elmúlt néhány évben. Napjaink fogyasztói egyre tudatosabban és egyre tájékozottabban választják meg a megvásárolt termékeket. Olyan élelmiszereket szeretnének vásárolni, amely minél kevesebb tartósítószerrel és egyéb hozzáadott szintetikus vagy vegyi anyagot tartalmaznak, továbbá minél kevesebb feldolgozási lépésen estek át, ugyanakkor azt is elvárják, hogy biztonságos és hosszan eltartható legyen az az étel, amit elfogyasztanak. Ez a látszólagos ellentmondás készteti arra az élelmiszeripari termelőket, hogy olyan tartósító eljárásokat fejlesszenek ki, amelyek ezeknek az elvárásoknak képesek megfelelni. Az utóbbi 20-30 évben világszerte folyamatosan növekvő tendenciát mutat a minimálisan feldolgozott, kiváló minőségű és mikrobiológiailag biztonságos, hosszú fogyaszthatósági idővel rendelkező termékek piaca (CARDELLO et al., 2007; BAJOVIC et al., 2012). Jelentősen növekszik a készételek és a konyhakész termékek piaci részesedése is. Az elmúlt tíz év során megfigyelhető, hogy a máshol készült, de otthon elfogyasztott ételek, elsősorban készételek (RTE), a családok körében is egyre inkább elfogadottá válnak (CONTINI et al., 2016). Ezt a folyamatot olyan tényezők katalizálják, mint az életmódunk megváltozása, a nem otthoni étkezések számának folyamatos emelkedése, az egyre komolyabban megjelenő igény a jó minőségű tömeges ellátás biztosítására, az élelmiszerbiztonság egyre fontosabb szempontjai, valamint a tervezhető gyártási folyamat megvalósítása.

A konvencionális tartósító technológiák legtöbbször az élelmiszermátrixba történő gyors és drasztikus beavatkozást jelentenek, amelyekkel nagy mennyiségű élelmiszer gazdaságos kezelése végezhető el. Egyre inkább azok a módszerek kerülnek előtérbe, melyek az alapanyagok értékes komponenseit, minőségi paramétereit is szem előtt tartják. A „friss” állapot megőrzése és a minél enyhébb behatással elért kíméletes tartósítás egyre fontosabb kérdés lett az élelmiszerbiztonsági szempontok mellett (KNORR et al., 2011). Ezen technológiák nemzetközileg elfogadott elnevezése az angol „minimal processing” kifejezés. Ez a szóösszetétel hűen fejezi ki a szükséges és elégséges tartósító hatás elérése érdekében alkalmazandó lehető legkisebb hatás elvét (FELLOWS, 2009).

A sous-vide hőkezelés is (olyan LT-LT típusú kíméletes hőkezelés, melyet vákuumcsomagolt élelmiszereken végeznek) és a nem termikus hatású nagy hidrosztatikus nyomáskezelés is (HHP: High Hydrostatic Pressure) az ilyen kíméletes technológiák közé sorolható. Ezek alkalmazása egyre inkább rutinszerűen történik. A sous-vide az elérhető méretű és fogyasztói áru berendezései már a háztartásokban segítik az ételkészítést, míg a nagy hidrosztatikus nyomáskezelő egységek és berendezések száma világszerte intenzív emelkedést mutat (CAMPUS, 2010; CASAMATTA, 2009). Az egyértelműen pozitív eredmények és hatások mellett mindkét módszernek hátrányai is tapasztalhatóak. Élelmiszerbiztonsági kockázatot jelenthet az enyhe hőkezelés tervezése (a termék nem homogén vagy nem elégséges hőterhelést kap) és az azt követő megfelelő tárolás biztosítása is (SHEARD és RODGER, 1995; MOHÁCSI et al., 2011; BALDWIN, 2012). A HHP kezelés esetében a komponensek eltérő, nem mindig kiszámítható viselkedése jelenthet kihívásokat (RASTOGI et al., 2007; BUCKOW et al., 2013). Kihívást jelent annak a látszólagos ellentmondásnak a feloldása is, hogy az értékes komponensekkel szemben kíméletes kezelések sokszor a mikroorganizmusokra gyakorolt hatásukban is enyhének mutatkoznak (RASTOGI et al., 2007).

2009-ben készített szakdolgozatomban feltérképeztem a sous-vide magyarországi tapasztalatait. Ekkor volt alkalmam megismerni ennek a kedvelt ételkészítési technológiának a sok pozitívuma mellett a gyenge pontjait is. Az alkalmazókkal történt interjúk is rámutattak a technológia néhány kritikus pontjára (eltarthatóság és a tárolási hőmérséklet kérdésköre, a felhasználásra kerülő alapanyagok minősége, a technológia tudományos hátterének ismerete). A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés Magyarországon is széles körű kutatás tárgya, az elmúlt években komoly előrelépések történtek a technológia kutatásában és ipari alkalmazásában. Ez köszönhető a Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék 2010-ben beszerzett 2 literes kezelőtérrel rendelkező HHP berendezésének is. Az egyre hozzáférhetőbb készülékek és a módszer egyre szélesebb körben történő alkalmazása lassan elérhető közelségbe hozza a HHP tartósító eljárást is.

## 2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1 A hús összetétele, szerkezete, jellemzői

Táplálkozásbiológiai és élvezeti értéküket egyaránt figyelembe véve a hús és az abból előállított húskészítmények mindig is nélkülözhetetlen szerepet töltek be az emberek táplálkozásában. A táplálkozástudománnyal foglalkozó szakemberek, dietetikusok is egyetértenek abban, hogy a kiegyensúlyozott húsfogyasztás (napi 10-20 dkg) kedvező hatású az egészségre. Ez elsősorban a teljes értékű fehérje-, magas vitamin-, és gazdag ásványianyag-tartalmának köszönhető. A nagy fehérje bevitt igénylő csoportok (gyermekek, várandós anyák, nehéz fizikai munkát végzők, sportolók) számára fogyasztása egyenesen javasolt. Tekintettel arra, hogy a magyar fogyasztók tradicionálisan az ételeik elkészítéséhez sertéshúst használnak. 2010-15 között az átlagos fogyasztás 25-27 kg/fő/év körül alakult, amely az összes húsfogyasztás 43-44%-a (KSH, 2017). Így a sertéshús meghatározó szerepet játszik a fehérjeszükségletünk biztosításában. A hús az érzékeny, gyorsan romló élelmiszerek közé sorolható, a baktériumok és egyéb mikroorganizmusok ideális tápközege, számos tápanyagot (például víz, glikogén, aminosavak, peptidok, foszfor, fémionok stb.) tartalmaz, ami kiváló a mikrobák szaporodásához. Amennyiben nem szorítjuk vissza a mikrobák szaporodását, a hús gyorsan romlik, továbbá a patogén mikroorganizmusok a fogyasztók egészségét is veszélyeztethetik (GASZTONYI és LÁSZTITY, 1993).

A hús szűkebb értelmezésben a vágóállatok izomszövetét jelöli, tágabb értelemben beletartozik még több, egyéb állati szövet is. (ín-, kötő-, vagy zsírszövet, vér, enzimek). A hús átlagosan mintegy 75% vizet, 20% fehérjét, 5% zsírt és egyéb anyagokat tartalmaz. A hús pontos összetételét befolyásolja a húsrész helye – a testtáj, az állat fajtája, neme, kora, tápláltsága, általános fizikai állapota, a tartásának körülményei (GASZTONYI és LÁSZTITY, 1993).

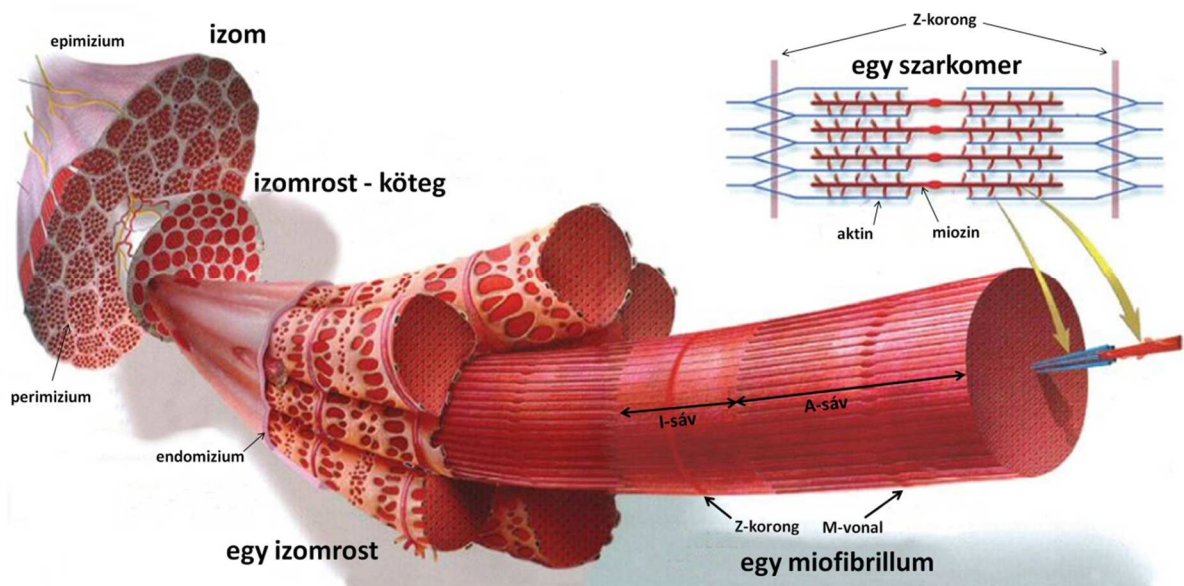
A húsban lévő fehérjéket három fő csoportba lehet sorolni:

- 1.) miofibrilláris fehérjék (50-55%) – pl. az aktin és a miozin,
- 2.) kötőszöveti fehérjék (10-15%) – kollagén, elasztin
- 3.) szarkoplazma fehérjék (30-34%) – pl. hemoglobin, mioglobulin, enzimek

Az izomszövet legnagyobb részt harántcsíkt izomnyalábokból áll, melyet több izomrost alkot. Ezek belsejében helyezkednek el a miofibrillumok. (1. ábra) Az izomrostok kötőszöveti rostokból álló inakkal kapcsolódnak a csontokhoz, ízületekhez. A mozgáshoz szükséges erőátvitel ezeken a pontokon valósul meg az izom és a csont között.



A harántcsíkolt izom fibrilláiban a sötét és világos szakaszok váltakozva találhatók meg. Az A-sáv a sötét szakasz neve (polarizált fényben anizotróp tulajdonságokat mutat), I-sáv a világos szakaszé (izotróp). Az A-sávot osztja ketté az M-vonal, a középcsík, az I-sávot pedig a Z-korong, a közticsík. A fibrillumokon belül a vastag és a vékony filamentumok szabályosan, rendezetten helyezkednek el. A mozgás során ezek a filamentumok csúsznak egymásba (kontrakció), vagy húzódnak szét (relaxáció). A vastag filamentum főbb fehérjealkotói: a miozin, M-vonal fehérjék, C-protein. A vékony filamentum fehérjéi az F-aktin, az  $\alpha$ - és  $\beta$ -aktinin, troponin, tropomiozin (LAWRIE és LEDWARD, 2006).



1. ábra Az izom szerkezeti felépítése (ANDERSEN et al., 2000 felhasználásával)

Az izomnyalábokat és az izomrostokat kötőszöveti hátrtyák borítják (epimizium, perimizium). Ezek a kötőszövetes részek a hús állomány szempontjából fontos intramuszkuláris peri- és endomizium hálózatot alkot, amely kollagénben gazdag szövetrendszer. A hús porhanyós állományának előfeltétele a kötőszöveti fehérjék (kollagén, elasztin) megfelelő hőkezelése.

A hús színét meghatározó fehérjemolekulák a porfirinvázus mioglobin és a vér pigmentje, a hemoglobin. Mindkét fehérje tartalmaz hem csoportot. (mioglobin: 1 db, hemoglobin: 4 db). A hem-ben elhelyezkedő vas-ion állapota, kötése révén a kapcsolódásai határozzák meg a kialakuló színezetet. A két fehérjemolekula koncentrációjától jelentősen függ a szín telítettsége, melyet elsősorban az állatfaj és az izom típusa határoz meg (GASZTONYI és LÁSZTITY, 1993).

## **2.2 Kíméletes tartósító technológiák**

### **2.2.1 Sous-vide technológia**

#### **A sous-vide rövid története, a technológia kialakulásának főbb lépései**

1960-ban E.F. KOHMAN a Food Technology-ban jelentetett meg tanulmányt – Frigi Canning címmel. Prekurzorként tekinthető ez a cikk, amely az eltarthatósági idő megnövelését tárgyalja, abban az esetben, ha a termék hermetikusan lezárva kerül hőkezelésre. Ekkor még a csomagolóanyag a fémdoboz és az üveg volt. Az újdonságot a cikkben az jelenti, hogy Kohman felhívja a figyelmet a hőkezelést követő hűtőtárolás jelentőségére, mivel szerinte ez a hőkezelés önmagában a termék minőségmegőrzését tekintve nem elegendő. Két fő okot említ, amely módszerének kidolgozására ösztönözte. Az egyik a piacon jelenlévő nagy hőmérsékleten sterilizált konzervipari termékek „gyatra” érzékszervi minősége. A másik, a zöldségek, gyümölcsök esetében megjelenő előny, az enzimek (részleges) inaktiválása utáni hűtőtárolás jelentősen meghosszabbította az eltarthatósági időt. (FARBER és DODDS,1995 cit. KOHMANN,1960)

Az első formális alkalmazásra Svédországban, Nacka system elnevezéssel kerül sor 1960-65-ben. A stockholmi városi tanács kezdeményezésére fejlesztették ki ezt a rendszert, melynek célja az volt, hogy központi termelés megvalósítása mellett több kórház étel ellátása legyen biztosítható. A Nacka rendszerben az ételeket hagyományos konyhatechnológiai eljárásokkal készítették el, ügyelve arra, hogy az ételek maghőmérséklete mindig meghaladja a 80 °C-t. A késztermékeket még melegen műanyag tasakokba adagolták, majd légmentesen lezárták. A tasakok ezután 3 percre forró (100°C) vízfürdőbe kerültek. Az ételek azonnali lehűtése következett 10 °C, majd fokozatosan 4 °C-ra. A csomagolt ételek max 21 napos eltarthatósággal 4 °C alatti hűtőkamrában várták a felhasználást. A tálalás előtt 80 °C-os maghőmérsékletre melegítették az ételadagokat (LIGHT és WALKER, 1990).

A Nacka módszer nem terjedt el széles körben, de felkeltette a közétkeztetés területén dolgozó szakemberek figyelmét több országban is. A Franciaországba importált Nacka technológia ott már Delphin módszer néven a Sepial üzem által került továbbfejlesztésre majd alkalmazásra a catering szektorban. A húsiparban a Gatineau (szilárd csomagolóanyag) és a Soplaryl (flexibilis csomagolás) eljárások terjedtek el, ezek során a sonkákat a végső csomagolásukban hőkezelik.

Kürti Miklós 1969-ben népszerű előadás keretében hívta fel a figyelmet a hőmérséklet fontos szerepére ezúttal szakterületétől részben eltérve az élelmiszerek vonatkozásában is. 1974-ben

Georges Pralus francia séf kezdte el a sous-vide technológiát alkalmazni a gasztronómiában. A Troisgros étterem felkérésére a húsiparban alkalmazott műanyag fóliával (Cryovac) kísérletezett a libamáj sütési veszteségének csökkentésére. A libamájból a sütés során kiolvadó zsír 30-50% veszteséget jelentett. Vákuumtasakban elkészítve ez 5% körüli értékre csökkent (PRALUS, 1985).

A mai sous-vide technológián a tasakolt, légmentesen lezárt alapanyagok kis hőmérsékleten, 100 °C alatt (esetenként a vöröshúsoknál akár 65-80 °C, és akár 42 °C a halaknál, a la minute felszolgálásnál) történő hőkezelését, majd azt követően annak gyors, +3 °C alá történő lehűtését és hűtőtárolását, majd a tálalás előtti regenerálását, felmelegítését értjük.

SCHELLEKENS és MARTENS (1992) a következőképpen definiálta a sous-vide hőkezelést: nyers alapanyagok, vagy nyers alapanyagok és félkész termékek, melyeket ellenőrzött hőmérsékleti körülmények között adott ideig, hőstabil fóliába légmentesen becsomagolva főzünk.

Néhány kutató, mint a francia Bruno Goussault hosszú időt szánt a sous-vide termékek mikrobiológiájának kutatására és igazolta, hogy ezek a termékek megfelelő technológiai fegyelem mellett előállítva biztonságosak (GOUSSAULT, 1987). Kidolgozott ipari rendszerük évek óta problémamentesen működik. Franciaországban 1985 és 1988 között mintegy 50%-kal nőtt azon termékek piaca, amelynél a végfelhasználónak már csak a befejező konyhatechnológiai műveleteket kell elvégezni. Ezalatt az étel néhány perces sütése vagy főzése illetve, melegítése és tálalása értendő. 1989-re ezen ételek mennyisége elérte a 12000 tonnát, és az akkori becslések szerint a következő évek növekedése elérheti akár a 25%-ot is (ROZIER et al., 1990). A 2000-es évek elején a technológia gyors, széleskörű terjedése és az alkalmazók tájékozatlansága következtében több országban megszorodtak a sous-vide-hoz köthető élelmiszerbiztonsági problémák is. Az Egyesült Államokban a hatóságok több étterem bezárását is fontolgatták. A megoldást a bezárás helyett jelentette, hogy a HACCP rendszeren belül, speciálisan a sous-vide technológiára kidolgozott ellenőrzési rendszert kiépítését írták elő (BOWEN, 2006 a és b). A sous-vide rendszer alkalmazását az angolszász országokban szigorúbban szabályozzák, inkább a biztonsági szempontok érvényesülnek (RYBKA-RODGERS, 1999 és 2001), míg más európai államok, élükön Franciaországgal sokszor inkább a gasztronómiai élményt helyezik előtérbe.

A technológia az 1990-es évektől széles körben terjedt el az ipari és nagykonyhai felhasználás mellett a háztartásokban is. Hazánkban is egyre többen alkalmazzák a hétköznapi során és bár jelentős élelmiszerbiztonsági kockázattal kell számolni a kíméletesen hőkezelt termékek

forgalmazásakor, újdonságként már megjelentek a kiskereskedelemben is a sous-vide hőkezelt hús termékek. Ennek megítélése ellentmondásos. A feldolgozóipar egyes szereplői a termék iránti fokozódó fogyasztói érdeklődés miatt a kínálatbővítés mellett érvelnek. A tudomány oldaláról felmerülő bizonytalanság elsősorban a szabályozás megoldatlan helyzetének és az alkalmazók sokszor hiányos ismereteinek köszönhető.

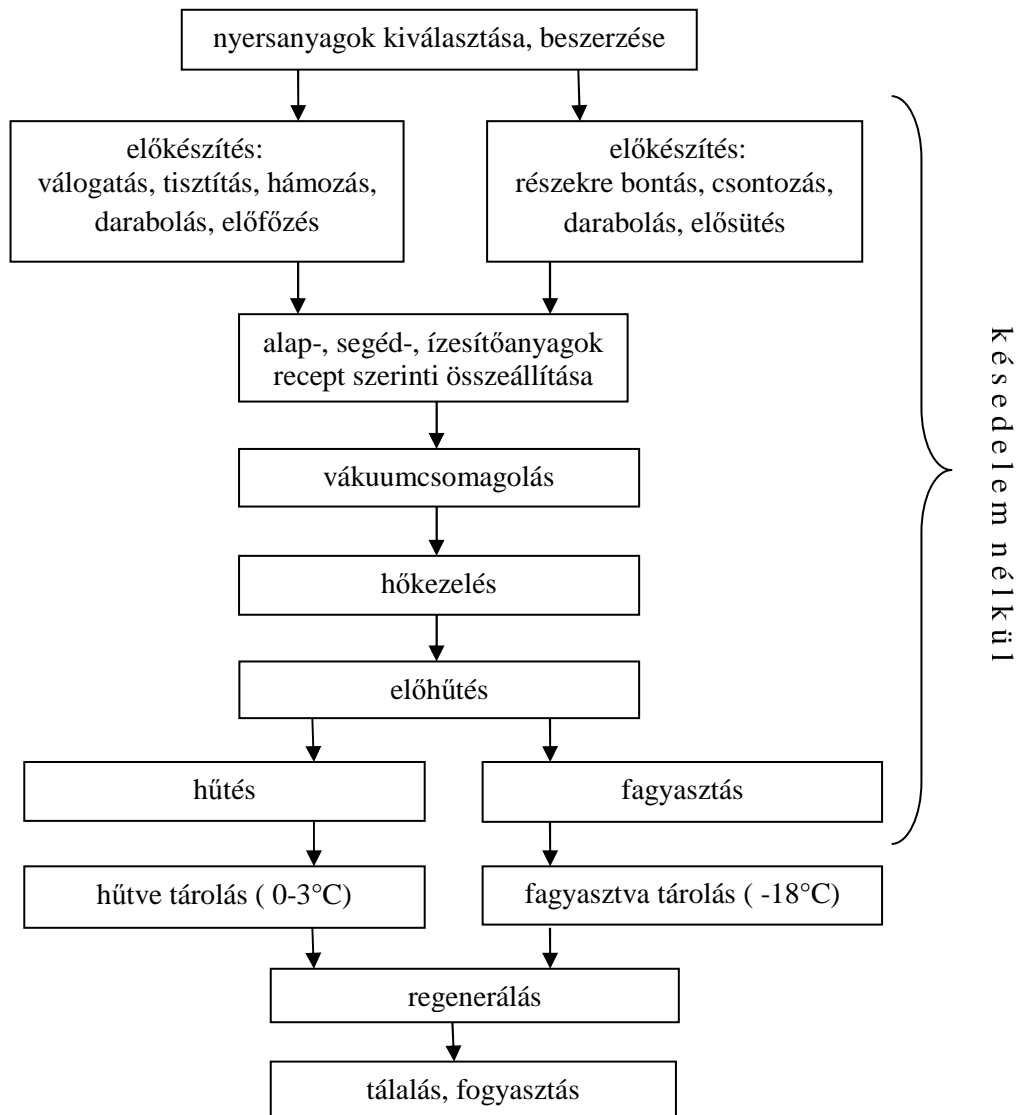
### **A sous-vide, mint rendszer**

A sous-vide hőkezelés különböző élelmiszeripari műveletek sorozata, technológiai lépések szigorú egymás utáni végrehajtása. A legfontosabbakat megemlítve: az állati és a növényi alapanyagok kiválasztása, válogatása, előkészítése (pl. bontás, darabolás), feldolgozása (fűszerezés, adagolás), vákuumcsomagolása, hőkezelése, lehűtése, hűtve tárolása, regenerálása, tálalása (2. ábra). Minden egyes lépés precíz előírás szerint, folyamatos ellenőrzés mellett történik. Ez a szigorú rend megköveteli az előretekintést, a tervezést, a szervezettség magas fokát. Ebben a rendszerben nem lehet ad hoc konyhatechnológiai módszerekkel, csupán a gyakorlati tapasztalatokra hagyatkozva ételkészítést folytatni. Az egyes lépéseknek, e rendszer minden elemének fontos szerepe van a végtermék minőségében, eltarthatóságában, vagy a készétel biztonságát tekintve. A gyártási folyamatban lépések nem hagyhatók ki, nem cserélhetők fel, a gyártási gyakorlat paraméterei pontosan betartandók. Csak így, a rendszer egészét átlátó tervezéssel lehet a sous-vide nyújtotta előnyöket kihasználni anélkül, hogy megtapasztaljuk negatív hatásait is (JUNEJA, 1998; TIAMPO, 2006; PECK et al., 2006; MOHÁCSI et al., 2011).

Minden technológia/recept egy adott egyedi termékhez, alapanyaghoz kapcsolódik. Az alapelvek (F vagy P hőkezelési egyenértékek, a C főzési egyenérték), az ízlés és a célcsoport elvárásainak ismeretében végezzük el a hőkezelést, amely általában 65 °C és a 100 °C tartományban van. Minél alacsonyabb a hőmérséklet annál hosszabb a kezelési idő (DUQUENOY, 2007). A hőkezelés hőmérséklete és az ideje számos egyéb tényezőtől is függhet: az alapanyag minőségétől, méretétől, frissességétől, összetételétől, a fogyasztók ízlésvilágától. Húsok esetében a húsrész, az állatfajta, a tartási módja, a vágás és feldolgozás körülményei egészítik ki a listát. Az egyes nyersanyagokhoz, húsrészekhez tartozó hőmérsékleteket a gyakorlat többször felülírja. Egyes táblázatok az adatokat szeletvastagság szerinti bontásban közlik (BALDWIN, 2012).

A hőkezelés méretezése az iparban az egyenértékek alapján, pontos számítással történik (DUQUENOY, 2007). A gyakorlatban ugyanakkor a próbafőzés és a folyamatos kontroll

szükséges és ajánlott. A termékek készítésénél figyelembe kell venni, hogy a hús a vákuumfőzést követően még további hőkezelést kaphat (pl. a steak sütése, készételek regenerálása).



2. ábra A sous-vide technológia folyamat ábrája (ROZIER et al., 1990 felhasználásával)

Holdsworth hőkezelés csoportosítása a hőközlő közeg-, és a maghőmérséklet figyelembe vételével:

- 1.) Nagy hőmérsékleten (+70 °C), nagy maghőmérséklet eléréséig.
- 2.) Nagy (+70 °C) hőmérsékletű hőkezelés, de a maghőmérséklet nem emelkedik jelentősen.
- 3.) Kis hőmérsékleten történő hőkezelés és a maghőmérséklet sem emelkedik 70 °C fölé.

Ezek külön-külön is alkalmazhatók, de lehet egy főzési cikluson belül kombinálni a három típust. Például a 2. a felületi fehérjék koagulálására, majd a 3. alkalmazása a textúra kialakítása végett (HOLDSWORTH és SIMPSON 2007).

A vákuumfőzés kíméletes hőkezelési eljárás, alkalmazása során nem alakulnak ki pörkanyagok, a Maillard reakció nem indul be, jellegzetes sült íz-jellemzők nincsenek.

Amennyiben ezek a készítendő étel karakterét meghatározzák, úgy a jelleget adó elősütés során kell azt a technológia sorba beilleszteni. Az elősütés az érzékszervi tulajdonságok javításán túl számottevő felületi csíraszám csökkenést is eredményez (BECKER ET AL., 2016).

A hőkezelésre vonatkozó előírások országoként eltérőek, de egy irányba mutatnak. Több nemzeti élelmiszerbiztonsági hivatal honlapján, oktató anyagokban is található táblázatba foglalva az elégséges hőkezelést adó hőmérséklet-idő paraméterek ( pl. FSAI, 2006. Guidance Note 20.). Ezek mindegyike valamilyen patogén referencia mikroba figyelembevételével készült (leggyakrabban a *Clostridium botulinum*, a *Salmonella spp.*, vagy a *Listeria monocytogenes*). Termék és alapanyag függvénye, hogy melyik mikroorganizmus hőpusztulási jellemzőit vesszük figyelembe. Belgiumban az engedélyezett legkisebb főzési hőmérséklet 65 °C. A magyar ajánlás: min. 80°C-os maghőmérséklet 30 percig hõn tartva, 6D elv (FEHÉR, 2003).

A hőkezelést követően szükséges a termék hőmérsékletének csökkentése arra a szintre, ahol a túlélő mikroorganizmusok növekedése jelentősen lelassul. A termék visszahűtésének sebessége két okból lényeges. Az egyik, hogy a 10-50 °C-os zónán, a mikroorganizmusok többségének növekedéséhez legkedvezőbb hőmérséklet-tartományon, a lehető leggyorsabban kell a terméket áttemelni. A másik a technológiai kérdés. A túl gyors lehűtés, illetve a hőkezelést követő pihentetés hiánya megakadályozza a főzés során a termékből kiszivárgó nedvek újra megkötését. Bár a sous-vide eljárásnál a fólia, mint egy védőréteggént működik, és ezzel a reabszorpció jelentősen megnövekszik (vö. sütés után a hagyományos, egészben sült húsokat is pihentetik mielőtt szeletelnék). Így a szabályok betartása mellett egy több lépcsőben előhűtéssel megvalósuló hűtés javasolt (AUPHAN, 1992).

Magyarországon a termék lehűtése az OKK-OÉTI véleménye szerint 0-3 °C-os tartományba 90 percen belül szükséges (FEHÉR, 2003). A francia, a belga és az ír szabályozás szerint két óra alatt 70 °C-ról 10 °C alá kell lehűteni a terméket, míg a végső tárolási hőmérséklet 0-3 °C. (FSAI, 2006. Guidance Note 20.) Ezekből a példákból kiderül, hogy a szabályozás célja a termék hőmérsékletének szabott időn belüli csökkentése, és a 3 °C alatti tartományban történő tárolás elérése. Ennek fő oka, hogy a *C. botulinum* 3,5 °C alatti hőmérsékleten nem képes

toxintermelésre illetve a vegetatív, hidegtűrő patogén mikroorganizmusok veszélyével a hőkezelés után megszűnő versengő gátlás miatt is számolnunk kell (BETTS, 1998).

### **Az optimális hőkezelés, a gőztérben és a vízfürdőben végzett hőkezelés összehasonlítása**

A technológia során célunk:

- a mikroorganizmusok tevékenységének blokkolása, elpusztítása, hogy a termék a minőség-megőrzési időn belül biztonsággal fogyasztható legyen. (P vagy S-érték)
- a termékre jellemző állag, textúra kialakítása (főzési vagy C-érték)
- minimalizáljuk az értékes élelmiszer összetevők veszteségeit, hőbomlásukat csökkentjük (vitaminok, ásványi anyagok, esszenciális zsírsavak)

A fenti célok megvalósítása során sajnos ellentmondásokkal kerülünk szembe, ugyanis komoly érdekkülönbség van a biztonság és az érzékszervi minőség, az állag között. A mikrobák inaktiválása más hőmérsékletet kíván, mint az állomány kialakítása vagy a vitaminvesztés minimalizálása. Ezek optimális értékeinek számításával, becslésével kell a megfelelő hőkezelési képletet összeállítani (STRINGER, 2012; STRINGER és METRIS, 2017; POLYÁKNÉ és DALMADI, 2007).

A hőkezelés során a legkomolyabb változások - mint a tömegcsökkenés, a szövetek keményedése, a lévesztés, vagy az elszíneződés - a fehérjék szerkezetében bekövetkező denaturáció vagy átalakulás következménye (TORNBERG, 2005; MYHRVOLD et al., 2011; ROLDAN et al., 2014). A változások több lépcsőben mennek végbe a hőmérséklet emelkedésének függvényében. (PAN és SINGH, 2001). A megfelelő technológiai tervezéssel a sous-vide technológia egyedi érzékszervi tulajdonságú (CREED, 1995) és biztonságos termékeket eredményez. A technológiai és élelmiszerbiztonsági kérdések mellett a gazdasági szempontok is megjelenhetnek mivel a fehérjék szerkezetváltozása a kezelési hőmérséklet és idő megválasztásával jelentős lévesztésben és térfogatváltozásban nyilvánulhat meg (KENESEI, 2009).

ROLDÁN és munkatársai (2014) a sous-vide kezelés hatását vizsgálták bányai karajon, a különböző minőségi paraméterek vonatkozásában. A vizsgálati mintákat hőmérséklet-idő kombinációiban 60 °C, 70 °C és 80 °C-on valamint 6, 12 és 24 órán keresztül főzték. Ezt követően a minták gyors 2 °C-ra történő lehűtését, majd ezen a hőmérsékleten történő tárolását végezték. A súlyvesztés egyértelmű korrelációt mutatott a főzési hőmérséklettel. A magasabb hőmérséklet nagyobb súlyvesztést okozott. A szerzők megjegyzik, hogy az

eredmények azonos trendet mutatnak más kutatók korábbi vizsgálatainak eredményeivel, amelyeket marha, valamint sertéshússal végeztek.

A főzési idő növelése - bár kisebb arányban, mint a kezelési hőmérséklet - de szignifikáns hatással van a súlyvesztésre (KENESEI, 2012).

Az állományérés során vizsgált paraméterekre (rugalmasság, kohézióképesség, rágási munka) szignifikáns hatással volt a hőmérséklet, valamint a főzési idő. A minták keménysége csökkenő tendenciát mutatott a főzési idő, valamint hőmérséklet növelésével fordítottan arányos módon. A legpuhább minta a 80 °C-on 24 órán keresztül kezelt tétel volt, amely valószínű a kötőszöveti burok teljes szétesésének köszönhető (ROLDÁN et al., 2014).

Az élelmiszerek kíméletesebb hőkezelése vízfürdőben vagy gőztérben valósítható-e meg? A gőztérben a közeg és a termék hőmérséklete közötti nagy  $\Delta T$  érték következtében a mintában / termékben kialakuló többirányú jelentős hőmérséklet gradiens, valamint a berendezésben az egyenletes hőeloszlás bizonytalansága jelent hátrányokat (KENESEI, 2012). Ez utóbbi komoly élelmiszerbiztonsági kérdéseket is felvet a termék állományának, színének megfelelő kialakítása mellett.

Energiafelhasználás szempontjából is érdemes összehasonlítani a berendezések elektromos teljesítmény felvételét, hangsúlyozva, hogy ezek névleges adatok – a berendezések nem ekkora teljesítménnyel működnek a hőkezelés teljes ideje alatt. A kombi-gőzpárolók gyártmánytól függően általában 10-12 kW-nál kezdődnek és a kapacitásuk növekedésével ez arányosan növekszik, nem ritka a 70-80 kW teljesítményű berendezés sem. A vízfürdő rendszerű medencés változat ezzel szemben (szintén mérettől függően) 1-3 kW, ipari méretű medencénél 10 kW körüli energia igényű. Alapvető fontosságú adat a pontos számításhoz (BROYART, 2009).

A berendezés technikai adatai mellett a folyamat során a hőátadás vizsgálata is érdekes eredményt adhat.

A hőátadás alapegyenlete Newton nyomán:  $Q = \alpha * A * \Delta T * \tau$

ahol: Q: hőmennyiség,

$\alpha$ : hőátadási tényező,

A: hőátadás felülete,

$\Delta T$ : a két közeg hőmérsékletének különbsége,

$\tau$ : idő.



Az „A” – hőátadási felület, a két berendezésnél adott és állandó. A „ $\Delta T$ ” – a közeg és a hús hőmérséklet különbsége, a beállított hőkezelési hőmérséklet értékek szerint változik. A „ $\tau$ ” – idő, a kísérleti terv szerint változott. A hőátadási tényező igen sok anyagi, áramlási és termodinamikai tényezőtől, illetve ezek kölcsönhatásától függ: a közeg fajtája (gőz, gáz, folyadék), az áramlás jellege, a geometriai méretek, a fal alakja és minősége, a közeg anyagi jellemzői. A folyadékok esetében a hőátadási tényező  $10^2$ - $10^3$  W/m<sup>2</sup>K nagyságrendű (az ipari alkalmazásoknál törekednek a maximális  $\alpha$  elérésére: buborékos forrás esetén  $10^3$ - $10^4$  W/m<sup>2</sup>K). Mérésem során a vízfürdőben valószínűsíthetően az alacsonyabb határértéket közelíti, mert a hőkezelés során nem volt kényszeráramlás és forrásról messze nem beszélhetünk a technológia lényegéből, a kéméletes hőkezelésből adódóan. A gőzpárolónál a kondenzációval történő hőátadás a  $10^5$ - $10^6$  W/m<sup>2</sup>K nagyságrendű  $\alpha$  hőátadási tényező mellett valósul meg, tehát ez mintegy 2-3 nagyságrenddel magasabb értéket jelent (BROYART, 2009).

SHEARD és RODGER 1995-ben tíz sous-vide programmal ellátott modern kombi-gőzpárolót vizsgált meg működés közben, külső helyszíneken. A készülékek gyakorlatilag újak voltak, egyik sem volt két és fél évesnél régebbi – és egyetlen vizsgált berendezés sem melegítette egyenletesen a vákuumozott csomagokat. Az eltérések a beállított hőmérséklet 25-55%-a között mozogtak! Így adódott az eredmény, hogy a teljesen feltöltött polcokon az ételek egy része túlfőtt, számos esetben pedig elégtelen hőkezelést kapott. Frissebb, hasonló vizsgálati eredményt sajnos nem találtam, de érdekes lenne összehasonlítani, hogy a mai +15 év fejlesztési eredményeit felvonultató gépek ugyanazokkal a mérési feltételekkel milyen eredményt adnának. SHEARD és ROGER vizsgálata felhívta a figyelmet a validáció, az ellenőrzés fontosságára, és a megfelelő berendezés/technológia alkalmazására. Az Ír Élelmiszerbiztonsági Hivatal 20. számú ajánlásában foglalkozik a berendezések hőtérképének elkészítésével, és annak módszertanával is (FSAI, 2006).

### **A hőkezelés hatása: fehérjeváltozások, víztartó képesség, húspuhulás mechanizmusa**

A miofibrilláris fehérjék (főleg aktin és miozin) és a kötőszöveti fehérjék (főleg kollagén) a melegítés során összehúzódnak, míg a szarkoplazma fehérjék kitágulnak. Ezeket a változásokat általában denaturációnak nevezzük. Kémiai szempontból a húsfehérjék kicsapódása, denaturálódása a másodlagos, harmadlagos és negyedleges szerkezetet kialakító kötések (H-kötés, Van der Waals kapcsolódás, hidrofób kapcsolódás, diszulfid kötés) felszakadását és a fehérje térbeli átrendeződését, kitekeredését jelenti (GASZTONYI-

LÁSZTITY, 1992). További hőhatásra a fehérje-rendszer további leépülése következik be ide értve a peptid kötések hidrolízisét, az építőelemek, az aminosavak bomlását is (DUTSON és ORCUTT, 1984).

A denaturálódás folyamán a fehérjék elvesztik funkciójukat, a harmad- és negyedleges szerkezetükben bekövetkező változások eredményeképpen. A főzés során fellépő léveszteség összefüggésbe hozható a denaturálódás fokával, a hő okozta szerkezeti változás mértékével (MURPHY és MARKS, 2000).

Az izom víztartalmának mintegy 80%-a a vastag (miozin) és a vékony (aktin) filamentumok közé van bezárva. 40 és 60 °C között az izomrostok haránt irányban zsugorodnak és a rostok közötti rés megnő, felszabadítva az utat a víz eltávozásához. Melegítéskor az izomrostok haránt és hosszanti irányban is összezsugorodnak, a szarkoplazma fehérjék aggregálódnak és gélt képeznek, a kötőszövet összezsugorodik és oldódik. Az izomrostok 35-40 °C-nál kezdenek el zsugorodni, és a zsugorodás a hőmérséklet emelkedésével majdnem lineárisan nő kb. 80 °C-ig. A szarkoplazma fehérjék aggregációja és gélesedése kb. 40 °C-nál kezdődik és kb. 60 °C-nál fejeződik be. A kötőszövetek zsugorodása 60 °C-nál kezdődik el, de a zsugorodás mértéke 65 °C felett sokkal intenzívebb és ezért jelentősebb vízveszteséget okoz (TORNBORG, 2005). (1. Táblázat)

A hús víztartó képessége az a tulajdonság, ami megmutatja, hogy a hús mennyire képes a saját víztartalmát megtartani (pl. hő, vagy mechanikai hatás során). A hús víztartalmának 90-95%-a szabad víz és csak a fennmaradó 5-10% van kötött állapotban. A kötött állapotú víz megoszlása a következő: 70% miofibrillumokban, 20% az extracelluláris térben és mintegy 10 % a szarkoplazmában. A kötött víz leginkább a fehérjékhez rögzülnek különböző funkció csoportokkal. éppen ezért függ a hús víztartó képessége nagyban a miofibrilláris fehérjék állapotától. A víztartó képességét a hús 68-70 °C-on teljesen elveszíti (CASAMATTA, 2009). A fehérjék állapota és a tömegveszteség közötti összefüggéseket DSC mérésekkel elemezte ZIELBAUER és munkatársai (2016) is, megállapítva a nagyon szoros kapcsolatot a víztartó képesség és a kezelési idő-hőmérséklet paraméterek között.

A hús vörös színét a mioglobin fehérje jelenléte okozza. A húsfhérjék közül az albuminok a nyers húsban natív állapotukban áttetszőek, így a mioglobin színét érzékeljük. A hődenaturáció során az albuminok is koagulálnak, ennek következtében egy fehér réteget képeznek, ami a hús színérzetét szürkés-barnára változtatja. A vörös húsok esetében ez a változás erőteljesebb az izmok magasabb mioglobin tartalma miatt (CASAMATTA, 2009).

Az állomány és a hő indukálta fehérje denaturáció közti kapcsolatot több tanulmány is igazolta, mint ahogyan a fehérjék oldódásának hőmérsékletfüggését is (MURPHY és MARKS, 2000).

1. Táblázat A hőmérséklet hatására a húsban bekövetkező főbb változások (0,1 MPa) (GHAZALA, 1998; DUTSON és ORCUTT, 1984; TORNBORG, 2005; MYHRVOLD et al., 2011 alapján)

35-40 °C	izomrostok alakváltozása, összehúzódás és zsugorodás; fehérjebontó enzimek (pl. katepszin) aktivitása nő
45-50 °C	aktomiozin komplex diszociál, víztartó képesség csökken
50 °C -	miozin denaturáció, állományváltozás
53-63 °C	kollagén oldódás/denaturáció
~60 °C	kollegináz enzim inaktiválódik
60-65 °C	miofibrilláris fehérjék további összehúzódása
65 °C -	kollagén összehúzódás
70 °C -	kollagén zselatinizálódása, omlósság javul
~75 °C	aktin denaturációja, G-aktin monomerek konformáció változása
100 °C	víz forráspontja - hagyományos főzési hőmérséklet
140 °C +	Maillard reakciók sebessége felgyorsul

A hőmérséklet emelkedésével az izomszövetek dezintegrációja növekszik. Erőteljesebb hőhatásra és gyorsabb melegítési ütem esetén jelentősebb szerkezeti változás mutatkozik az alacsonyabb hőmérséklet-tartományban. A 60-70 °C-os tartományban a hús puhulása észrevehető, ám ez nem mutatható ki egyértelműen állományméréssel. Valószínűsíthető, hogy más hatások (pl. a vízvesztés) ellensúlyozzák a hő indukálta szöveti változásokból eredő puhulási folyamatot (HEARNE et al., 1978).

A hőkezelt hús állományát a hő indukálta denaturálódás, a kötőszöveti és miofibrilláris fehérjék változása és a fehérjék oldódása következtében alakul ki. A hőközlés hatására bekövetkező állományváltozás egyrészt a kollagén oldódásának zselatinizálódása – ez a hús szöveteinek puhulását eredményezi, másrészt a miofibrilláris fehérjék denaturálódása történik meg, ami ellenkező irányú hatással bír. Ha a húsok fehérjéi a hőkezelés során nem, vagy nem irreverzibilisen denaturálódnak, így képesek lesznek jobban megőrizni nedvességtartalmukat. Ez azt jelenti, hogy a termék apadása minimális lehet. Ezen hatások együtt adják a vákuum alatti főzés elméleti alapjait. A legkedvezőbb eredmény a kollagén maximális oldott

állapotánál és a miofibrilláris fehérjék kicsapódásának alacsony szinten tartása esetén érhető el. Ez a 60-65 °C hőmérsékleti tartományban optimális (JELINKOVÁ et al., 1996).

A vákuumfőzés különösen alkalmas a húsok jellegzetes, erre a hőkezelési módszerre jellemző állományának kialakítására. Puhábbá, porhanyóssá válik a hús, nem szárad ki, víztartalma a szövetekben marad, ízeit megőrzi, a hús belseje egységes rózsaszínű a hem csökkent oxidációja következtében. A hús porhanyósságát befolyásolja a kollagén tartalma, a kollagén keresztkötései, így annak oldhatósága. Ezen jellemzők az állatok tartásával, korukkal, fajtavál összefüggő tulajdonságok.

A hús fehérje csoportjainak változása kihat az aminosavak, mint fehérje-alkotóelemek, és a belőlük képződő másodlagos anyagcsere termékként megjelenő, biogén amin tartalomra is.

A szabad aminosavakból dekarboxilezés során keletkező biogén aminok nagy mennyiségben pszeudoallergiás tünetet válthatnak ki az arra érzékeny embereknél. ÖRI-KOROMPAI és munkatársai (2014 és 2015) vizsgálták a sous-vide kezelt húsok szabad aminosav és biogén amin tartalmának alakulását. A húsok szabad aminosav tartalma sous-vide kezelés hatására csökkent. (sertés esetében kontrol: 4366 µg/g; sous-vide: 2875 µg/g). Az összes biogén amin tartalom a 4 hetes tárolási idő alatt növekedett ugyan de a sous-vide mintákban 80-90% - kal alacsonyabb volt a kontrolhoz viszonyítva. A kezelt sertéshús esetében a biogén amin tartalom 18 és 89 µg/g volt. A szerzők megállapítása szerint a sous-vide kezelés amellett, hogy hatékonyan csökkentette az összcsíraszámot a szabad aminosav és a biogén amin tartalmat is kedvezően befolyásolta.

A hőkezelés indukálta színváltozásokkal több kutatás is foglalkozott. Általános megállapításként az L\* (világossági tényező) értékeinek növekedéséről, azaz a hús világosodásáról és az a\* (piros-zöld színtényező) csökkenéséről, azaz a piros színezet csökkenéséről számolnak be (GHAZALA, 1998; CHRISTENSEN et al., 2012; CASAMATTA, 2009; SALAMON et al, 2015). Ezeknek a változásoknak a mértéke függ a kezelt hús típusától, és az alkalmazott kezelések intenzitásától (idő, óra – hőmérséklet, °C).

A sous-vide főzés alkalmazása óta számos adat jelent meg a különböző termékek hőkezeléséről, hőmérsékleti tartományokról (KÜRTI, 1969; BARBOSA-CONOVAS ET AL., 2005; GOUSSAULT, 1987; KELLER, 2008; BALDWIN, 2012). A szakkönyveket átolvasva és a saját kutatás eredményeim alapján megállapíthatom, hogy ezek az információk kiindulási pontok az alkalmazók számára. Mindannyian egyéni kísérleteikkel jutnak el a számukra tökéletesen elkészített recepthez és a biztonságos végtermékhez.

## Sous-vide termékek eltarthatósága – tárolási próbák

A sous-vide termékek előállításának paradoxonja, hogy egy hosszabb eltarthatóságú terméket szeretnénk egy kíméletes tartósító eljárással megvalósítani. Ezért kell fokozott körültekintéssel eljárni az ilyen termékek esetében. Tárolási próbákkal és mikrobiológiai vizsgálatokkal javasolt ellenőrizni, hogy a hőkezelés elégséges volt-e, illetve megállapítani és validálni a lehetséges eltarthatósági időt (NYATI, 2000).

DÍAZ és munkatársai (2009), lazac minták sous-vide kezelést követő hűtve tárolása alatt a minták mikrobiológiai állapotát ellenőrizték. A mintákat 80 °C-os hőmérsékleten 45 percen keresztül hőkezelték, majd gyorsan 3 °C-ra hűtötték. A 2 °C-on való tárolás során 0, 5 valamint 10 héten keresztül vizsgálták a minták mikrobiológiai állapotát. A kezelést követő 2 °C-on 10 héten át történő tárolás során a minták mikrobaszáma nem mutatott érdemi növekedést az aerob és anaerob pszichotrófok, a tejsavbaktériumok, valamint az élesztők és penészek tekintetében. A szerzők szerint az *Enterobacteriaceae* mentesség alátámasztja a sous-vide technológia higiéniai alkalmasságát.

SZÜCS és munkatársai (2015) sertéshúsban a *Listeria monocytogenes* hőpusztulását vizsgálták a különböző kezelési hőmérsékletek hatására a következőket tapasztalták. A 40 percig 55 °C-on történő hőkezelés során a *Listeria* szám csökkenés log 0,6 TKE/cm<sup>3</sup> nagyságrend, míg a 60 °C-os hőkezelés értéke esetében ez log 2,25 TKE/cm<sup>3</sup> alakult. A 65 °C-os hőmérséklet pusztító hatása a korábbi értékekhez képest drasztikusan csökkentette a kiindulási sejtszámot, mintegy 6 nagyságrend mértékben, amely így a kezdeti sejtszámot 10 perc alatt gyakorlatilag nullára redukálta. A vákuumcsomagolás szignifikáns mértékben ( $p < 0,05$ ) javította a mikrobák pusztulását a légköri mintákhoz képest 55 °C-on és 60 °C-on. Ennek a megállapításnak részben ellentmond STRINGER (2012) felvetése, hogy a vákuum/redox mennyire befolyásolja egy adott mikroorganizmus hőérzékenységet. Előadásában az *E.coli* O157-H7 törzsre vonatkozó példát mutatott be. A redox potenciál csökkenésével a hat nagyságrendnyi pusztuláshoz szükséges hőkezelési idő ( $T = 59$  °C) 2-5 szeresére nőtt. A sous-vide termékek esetében a csomagolás kedvező hatását legtöbbször az oxidációs folyamatok visszaszorítása és a keresztzennyeződés megakadályozása kapcsán említjük. Ezek a kutatások is a sous-vide rendszer összetettségére hívják fel a figyelmet. Az anaerob környezet, a vákuumcsomagolás eddig kevésbé vizsgált hatása egy újabb faktor, amely szerepet játszhat biztonságos termékek előállításában. SZÜCS (2015) kutatásai során nem csak a vákuumcsomagolás szerepét igazolta, de bemutatta, hogy eltérő környezetben eltérő viselkedést mutattak a vizsgált törzsek, a többi között a *L. monocytogenes* is. Az

élelmiszer-mátrixban mutatott nagyobb ellenállóképesség a hőkezelési paraméterek ennek megfelelő módosítását teszi szükségessé. Az anaerob mikroorganizmusok mellett hangsúlyt kell fektetni a fakultatív anaerob szervezetek vizsgálatára is.

STRINGER és METRIS (2017) elemzi az elérhető receptúrák alapján a hőkezelési adatokat és összeveti prediktív mikrobiológiai modellekkel. Szorgalmazza további adatok gyűjtését, a még pontosabb és megbízhatóbb tervezhetőség érdekében. Stringer részletes adatgyűjtése nagyon fontos kapocs a kutatási eredmények és a modellek összehasonlításánál.

MOL és munkatársai (2012), a 70 °C-os gőztérben 10 percig történő hőkezelést követő 4±1 °C, valamint 12±1 °C-on történő hűtőtárolás hatását vizsgálták bonító (*sarda sarda*) minőségi paramétereire vonatkozóan. A mezofil és pszichrofil populáció az első néhány napban sem a 4 °C, sem pedig a 12 °C-os tárolási hőmérsékleten nem mutatott növekedést. A 12 °C-on történő tárolás esetében az anaerob baktérium szám az első három napban nem változott, míg ez a 4 °C-os tárolás esetében huszonegy napig volt igazolható. A tárolási periódus végére a mezofil valamint pszichrofil mikrobák száma meghaladta a megengedett 6 log TKE/g-os határértéket. A tanulmány rámutat, hogy az anaerob baktériumok növekedését gátolhatja a sous-vide csomagolás a halak esetében, ugyanakkor hangsúlyozza, hogy a tárolási hőmérséklet hatása jelentős. A pH alakulása mindkét tárolási hőmérséklet esetén azonos módon kis mértékű növekedést mutatott.

### **2.2.2 Nagy Hidrosztatikus Nyomáskezelés (HHP)**

A nagy hidrosztatikus nyomású technológiákat több iparágban már évtizedek óta alkalmazzák például a fém- és olajiparban, különleges kerámiákat, műanyagokat vagy mesterséges gyémántot állítanak elő. A nagy hidrosztatikus nyomás mikroorganizmusokra gyakorolt hatásáról ROGER számolt be először 1895-ben. Az első élelmiszeripari alkalmazásáról először 1899-ben a HITE közölt eredményeket, a tej eltarthatóságát célzó kutatások során alkalmazott HHP kezelést. Berendezése már a 20. század fordulóján képes volt a 6800 bar elérésére (MERTENS és DEPLACE, 1993), de a technológia fejlettsége és az eljárás sajátossága miatt ipari léptékben történő alkalmazása csak több évtizeddel később vált elérhetővé. A technológia terjedése az iparban a 2000-es évek elejétől nagymértékű, gyorsuló ütemű növekedést mutat (PURROY, 2013).

Az egyik vezető gyártó, a Hiperbaric adatai szerint 2012-ben HHP technológiával már 350 ezer tonna termék került előállításra. Csak ez a társaság mára több mint 150 kezelő-

berendezést telepített 6 kontinens 30 országában és az összes működő berendezések száma már több százra tehető (HIPERBARIC, 2017; SAMSON, 2013).

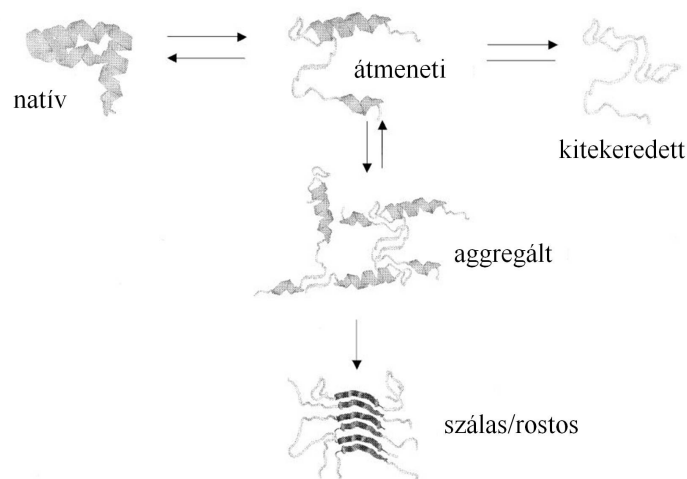
Ez a nem termikus elven működő eljárás képes az élelmiszerben található patogén és romlást okozó mikroorganizmusok inaktiválására, megnövelve ezzel a termék eltarthatóságát és ezzel megfelelni az egyre szigorúbb élelmiszerbiztonsági elvárásoknak (HOOVER et al., 1989; KNORR, 2001). A HHP technológia részben a hatásmechanizmusa részben a nem termikus volta miatt, kíméletes eljárás, amely minimális hatást gyakorol az élelmiszer érzékszervi tulajdonságaira, tápanyagtartalmára és funkcionális jellemzőire (BELLO et al., 2014). A nyomáskezelést legtöbbször a 10-30 °C-os hőmérséklet tartományban alkalmazzák (CAMPUS, 2010). A kezeléseket azonban mintegy 2-3 °C-os adiabatikus hőmérséklet emelkedésre kell számítani, ami a víz és a vizes oldatok kompresszállás alatti viselkedésére vezethető vissza. Ezt a hőmérséklet emelkedést befolyásolja a nyomás felépülésének rátája is (CHEFTEL és CULIOLI, 1997).

A technológia során a kezelőkamrában történő folyamatok a Pascal törvény és Le Chatelier-elv alapján írhatók le. Ezek alapján a hidrosztatikus nyomáskezelés jellegzetes tulajdonsága, hogy a kezelni kívánt anyagot a kezelőtérben lévő nyomásközvetítő közegbe helyezve, a kezelt anyag méretétől és geometriájától függetlenül a nyomás minden irányban, izosztatikus módon, azonnal és egységesen érvényesül (MERMELSTEIN, 1998). A technológia alkalmazása során fontos, hogy a felhasználásra kerülő csomagolóanyag alkalmas legyen a ~15%-os térfogat változásra (BUCKOW és BULL, 2012).

Az alkalmazott nyomásértékek 100 és 1000 MPa közöttiek, azonban a legnagyobb nyomásértékeket elsősorban laboratóriumi mérések keretében alkalmazzák, az élelmiszeriparban legelterjedtebb az 500-600 MPa nyomású kezelés (MERMELSTEIN, 1998; NAGY, 2015). Az első kereskedelmi forgalomban kapható HHP kezelt termék (gyümölcskészítmények) először 1990-ben a japán piacon jelent meg. (CHEFTEL és CULIOLI (1997). Azóta alkalmazhatósága egyre szélesebb körben terjed és a kezelt termékválaszték is szélesedik. Mai alkalmazási területe kiterjed már az érlelt húskészítményekre, kolbászokra (OMER et al., 2010), vákuumcsomagolt pizstrágra (MATEJKOVÁ et al., 2013), osztriga feldolgozásra (LI et al, 2009) sajtokra (NOVELLA-RODRIGEZ et al., 2002), savanyú káposztára (PENAS et al., 2010), egyéb hústermékekre, (AYMERICH et al., 2008) és készételekre (PICOUET et al., 2011; YI et al., 2013; ESPINOSA et al., 2015).

Habár a kezelés során a nyomásérték izosztatikusan a tartály minden pontján azonos, a sejtek károsodása nem egyforma, ami a mikrobák eltérő rezisztenciájának következménye. A vegetatív sejtek, gombák, penészek érzékenyebbek, míg a baktérium spórák komolyabb nyomásrezisztenciájúak. (RITZ et al., 2001).

A légkörinél nagyobb nyomásértékek fehérjékre gyakorolt hatásáról 1914-ben BRIDGMANN számolt be először. Méréseinél a tojásfehérje hődenaturációjához hasonló állapotot tapasztalt szobahőmérsékleten. A megfigyelések leírása után, a részletes magyarázat a jelenségre csak a 20. század végén, az analitikai módszerek fejlődésével vált lehetővé. A fehérjeszerkezet szintjeinek (elsődleges: aminosav szekvencia, másodlagos: hidrogén kötések által kialakított struktúra, harmadlagos: több másodlagos kötés által kialakított térszerkezet, negyedleges: több fehérje alegység összetett kapcsolódása) megértése mellett a fehérje molekulák stabil és instabil állapotainak kutatása jelentett nagy előrelépést a kezelések hatásainak tanulmányozásában.



3 ábra Fehérje állapotok és az aggregáció folyamata (CARRELL-GOOPTU, 1998 felhasználásával)

A fehérjék natív állapotban biológiailag aktívak, funkciójukat képesek ellátni. (pl. izom összehúzódás/működés, oxigént köt meg, vagy enzimaktivitást mutat) Ebben a stabil állapotban a fehérjék szabadentalpiája a legalacsonyabb, a szerkezetet sok másodlagos kötés stabilizálja. Az oldhatósága jó, mivel a poláros oldalláncok a molekula külső felszínén helyezkednek el. A denaturált állapotában a fehérje kitekeredett állapotban van, az oldhatósága csökken, funkcióját nem vagy csak részben tudja betölteni. A denaturációt követően a fehérjék aggregálódása következhet be, melynek során hidrofób kölcsönhatásokkal kötődnek egymáshoz (3. ábra). Ezek az aggregátumok lehetnek amorf



vagy rendezett formájúak is. A természetes, natív és a denaturált közötti intermedier állapotban a fehérje merev szerkezete megszűnik. A húsok esetében a miozin aggregátumai felelősek elsősorban a rugalmas gél szerkezet kialakulásáért. A harmadlagos szerkezet rendezetlensége és a másodlagos kötések részleges felbomlása miatt átmeneti instabil helyzet alakul ki (SOMKUTI, 2013). A fehérjék elsődleges szerkezetét jelentő aminosav lánc nem sérül, a kovalens kötésekre a nagyobb hidrosztatikus nyomás sincs hatással (HENDRICKX et al., 1998).

SMELLER (2002) összegezte a kutatók egyetértését abban, hogy a fehérjék disszociációja a 100-200 MPa tartományban indul, míg a fehérjék kitekeredését és szerkezeti változását a legalább 500 MPa nagyságú kezelés eredményezi. Arra is felhívja a figyelmet, hogy ezen hatások megjelenése nagyban függ a fehérje típusától és a natív állapotbeli struktúrájától (pl. hány monomer kapcsolódik egymáshoz).

## 2. Táblázat Nagy nyomás értékeken bekövetkező főbb változások (T=20-22 °C)

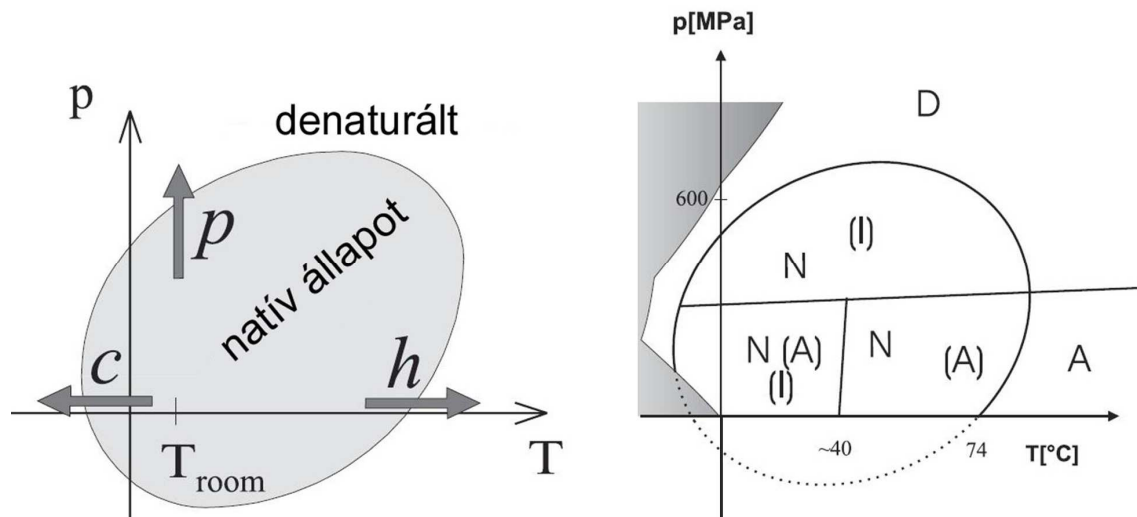
(BOUTON, 1977; CHEFTEL és CULIOLI, 1997; HENDRICKX et al., 1998; HOGAN et al., 2005; SMELLER, 2002; RASTOGI et al., 2007; TORNBERG, 2013 alapján)

0,1 MPa	légtörny nyomás – natív állapot
50 MPa	fehérje szintézis gátlása
100 MPa	gáz vakuólumok térfogata csökken, ( $\Delta V_{H_2O} = 3\%$ ) reverzibilis fehérje denaturáció, disszociáció első fázisa
150 MPa	monomerek létrejötte pl.:F és G-aktin szétesése
200 MPa	foszfolipidek szerkezetváltozása, membrán sérülések, sejt szivárgás
300 MPa	irreverzibilis denaturáció kezdete, enzimaktivitás csökken, sejt lízis
400 MPa -	denaturáció, vízmolekulák disszociációja ( $\Delta V_{H_2O} = 12\%$ )
500 MPa -	aggregálódás, gélesedés
600 MPa	teljes fehérje denaturáció, ( $\Delta V_{H_2O} = 15\%$ )
800+ MPa -	spórák érzékenységi küszöbértéke

WINTER és DZWOLAK (2004) megállapították, hogy a lipid rendszer az a biológiai rendszer, amely a leginkább nyomásérzékeny. Ezen csoporton belül, a hosszabb hidrofób láncokkal rendelkező lipidek a nyomásérzékenyebbek (SMELLER, 2002). CHEFTEL-CULIOLI 1997-es áttekintő cikkükben, több kutatóra hivatkozva, a nyomás értékek növelésével a lipidek oxidációjának felgyorsulásáról számoltak be. A nagy hidrosztatikus nyomással történő kezelés során a sejt morfológiai változásokon is átesik, a kezelés a sejtfalat elválasztja a sejtmembrántól (PATTERSON, 2005).

A kezelés mikrobiológiai hatása több faktortól is függhet: a mikroorganizmus típusától, a növekedési fázistól, az alkalmazott nyomásértéktől, a kezelés időtartamától, az élelmiszer-mátrix összetételétől, továbbá meghatározó szerepe van a hőmérsékletnek, pH-nak és a vízaktivitásnak is (RASTOGI et al., 2007).

A HHP kezelés hatására változás következik be a mikroorganizmusok morfológiai tulajdonságaiban és a sejtmembrán szerkezetében, valamint a biokémiai reakciókban is, mely hatások együttes következménye a mikrobapusztulás (LUDWIG et al., 1996). Ezt a HHP biokémiai vonatkozásairól szóló összefoglalójában SMELLER (2002) is alátámasztja. Megjegyzi, hogy a fehérjék viselkedését leíró nyomás-hőmérséklet viszonylatban lejátszódó fázisváltozásokat ábrázoló ellipszis-diagram (4. ábra) lehet a kulcs a mikrobák inaktiválásának magyarázatánál is. (Hawley-féle diagram: a nyomás és a hőmérséklet függvényében ábrázolt fehérje állapotok)



4. ábra A fehérjék Hawley-féle általános elliptikus fázisdiagramja (j) és a mioglobin kibővített fázisdiagramja a feltételezett állapotainak jelölésével. p: nyomás indukálta denaturáció; h: hődenaturáció; c: hideg denaturáció; N: natív állapot; D: denaturált állapot; A: aggregált állapot; I: átmeneti, intermediér állapot; a metastabil állapotokat zárójel jelöli. (SMELLER, 2002 felhasználásával)

Ez a diagram, ami a fehérjék viselkedését jellemzi, a membránokra, nukleinsavakra nem érvényes. Így a sejtmembránok változásai és sérülése (SMELT, 1998; HOOVER et al., 1989) mellett ez lehet a fő magyarázata a mikroorganizmusok pusztulásának. Ezt igazolhatja a kis hőmérsékleten megfigyelt vírus inaktiválás SMELLER által idézett néhány példája is. 2002-es közlésében már SMELT és munkatársai is több hatás együttes eredményének tulajdonítja az inaktivációt.

CHEFTEL (1995) megállapítása szerint a vegetatív sejtek pusztulása 200-300 MPa-nál kezdődik meg. A hatékonyság növelhető a nyomásérték valamint a kezelési idő emelésével. Az USDA-FSIS is felismerte, hogy a nagy nyomás alkalmazása elfogadható élelmiszerbiztonsági beavatkozás a *Listeria monocytogenes* elpusztításához a feldolgozott húskészítményekben (USDA-FSIS, 2012). A nagynyomású kezelés más patogén mikroorganizmus ellen is hatásos, mint pl. az *E. coli*, a *Salmonella*, a *Vibrio* ellen és még számos penész, élesztő és egyéb baktérium ellen, melyek az élelmiszerek romlását okozzák. A nagynyomású kezelés önmagában a vegetatív mikroorganizmusok inaktiválására szolgál, de a kezelés hővel történő kombinálása alkalmas lenne a spórák eltávolítására is, úgy, hogy e közben kedvezőbb minőségű termék lenne elérhető (BALASUBRAMANIAM, 2009).

SOUZA és munkatársai (2011) a nagy hidrosztatikus nyomás hatását vizsgálták sertéshús különböző részeire. A mérés során egy kb. 95 kg-os hasított sertést választottak ki. A mintákat 215 MPa nyomás alatt kezelték 3-5 percen keresztül, 33,3 °C-on. A nem nyomáskezelt minták szolgálták kontrollmintaként. A kísérlet során a sertéskarajjal is végeztek vizsgálatokat, miközben több kémiai-fizikai paramétert vizsgáltak. Az eredmények alapján a pH érték a kezelése során nőtt, pH 5,78-ról pH 6,26-ra. Csepegési veszteséget számítottak, amely jelentős mértékben csökkent, 2,16%-ról 0,30%-ra. A színmérés során az L\* értékek 46,73-ról 50,60-ra nőttek, tehát a hús világosabb lett a kezelés során. Az a\* értékek 6,07-ről 5,13-ra csökkentek, tehát a hús pirossága kevésbé intenzív lett a kezelés után. A b\* értékek 3,06-ról 1,59-re csökkentek, a sárga színezet intenzitása csökkent.

CHEFTEL és CULIOLI (1997) a nyomáskezelés hatására világosodást (L\* növekedés), a hús színének fakulását, a vörös színezet csökkenését (a\* csökkenés) közölték. A folyamat a nyomás nagyságával és a kezelés időtartamával erősödött.

CHEAH és LEDWARD (1997) darált sertéshús mintákon vizsgálták a lipid oxidációs folyamatokat. A mintákat 19 °C-on 20 percig 400 - 800 MPa-on nyomáskezelték, majd 4 °C-on aerob körülmények között tárolták. A hús TBA értékét mérték, ami a kezeletlen kontrolhoz viszonyítva többszörösére emelkedett. A tárolás során további TBA szám növekedést tapasztaltak. Megállapításuk szerint a hem sérülése és denaturálódása során felszabaduló vas katalizálja a folyamatot. FAUSTMAN és munkatársai (2010) összefoglalják a miooglobin és a lipid oxidáció kapcsolatát és kölcsönhatásait. MA és munkatársai 2007-ben végzett kutatásukban megerősítik a fentieket, kihangsúlyozva a kezelési hőmérséklet szerepét is.

### 2.2.3 Kombinált tartósítási módszerek és a gátelmélet

A technológiai fejlődéssel, igényeink változásával az élelmiszertartósítás célja is és a módszerei is változtak. Az ősi szárítás, sózás, fermentálás, savanyítás, sütés empirikus módszerein túl ma kifinomult, precíz technológiák széles választéka áll egy mérnök rendelkezésére. A teljesség igénye nélkül LEISTNER (2000) már legalább hatvan akadályt („hurdle” - gátat) említ. Ezek a gátak, különböző tartósító és minőségmegőrző megoldások hivatottak minimalizálni azt a minőségi változást, ami a szedés/betakarítás/vágás/előállítás pillanatában megkezdődik és egészen az élelmiszer elfogyasztásáig tart (RASO és BARBOSA-CANOVAS, 2003).

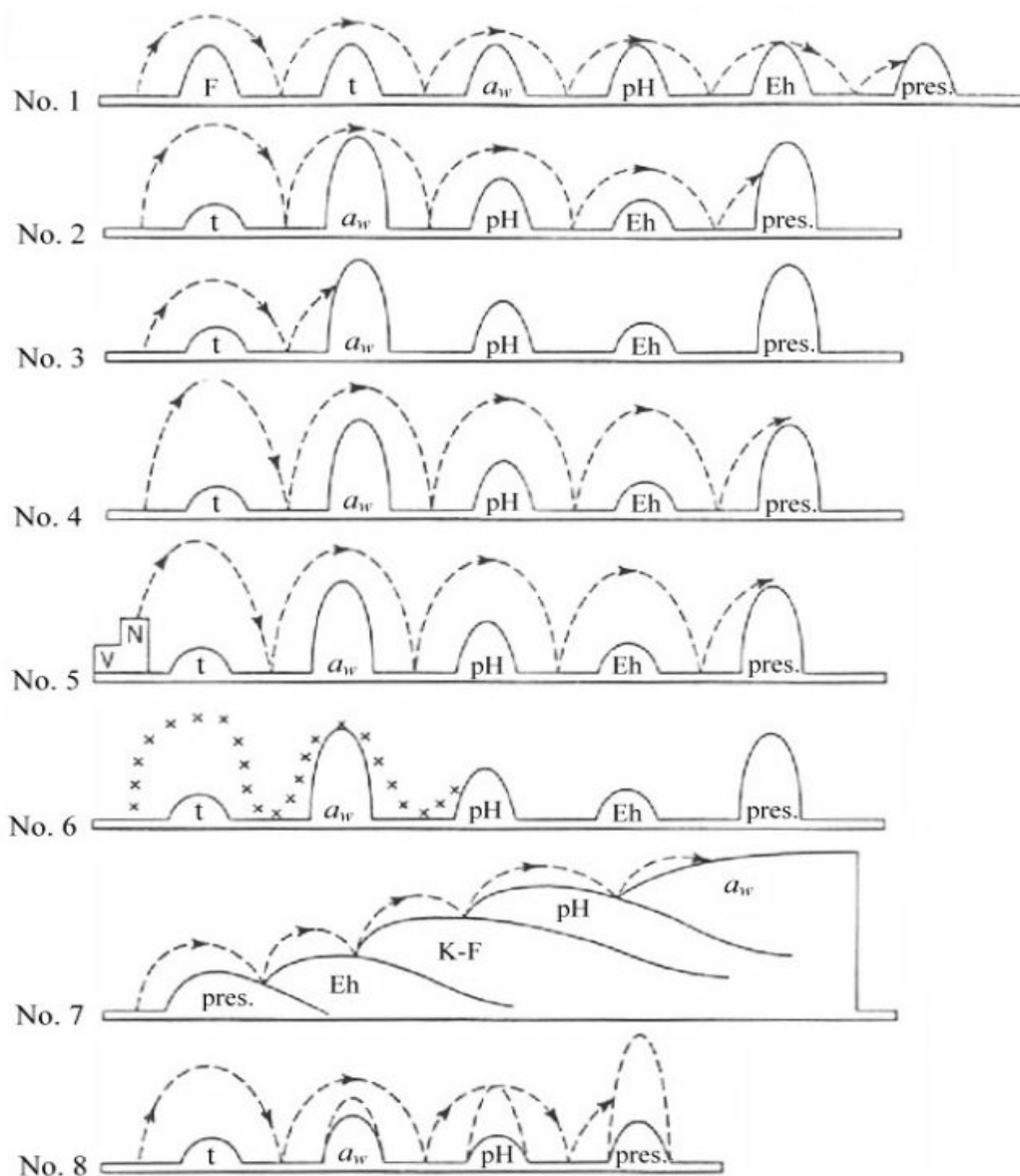
LEISTNER 1970-es évek végén foglalta össze először az élelmiszerek tartósításnál együttesen ható tényezőket. Azóta számos közleményben foglalkozott az élelmiszer-tartósítás azon témakörével, ahol több technológia vagy módszer együttes hatásával érik el a kívánt tartósságot és őrzik meg az alapanyag értékes komponenseit. Ennek alap gondolata a hadászatban jól ismert stratégia, a több ponton történő „támadás”. Az önmagukban gyenge, nem elégséges hatások együttes eredménye, az összehatás már megfelelő biztonsági szintet jelenthet. A 5. ábrán vizuálisan szemléltetett gátrendszer jelentheti a megoldást.

Az 1-es példa elméleti esetet mutat, ahol minden gát ugyanolyan intenzitással van jelen. A 2-3-4 példák az eltérő induló csíraszámú minták esetén érvényes, míg az 5-ös példa ugyanolyan gátak alkalmazását mutatja egy tápanyagban gazdag közegben (trambulin hatás). A 6-os példa szubletális sérült sejtek viselkedését, míg a 7-es a fermentált húskészítmények és érlelt sonkák példáját mutatja. Végül a 8-as ábrázolja a kombinált tartósító eljárásoknál ideális esetben jelentkező szinergens hatást. (LEISTNER, 1992)

Kiemelten fontos megismerni az egyes mikroorganizmusok életműködését, homeosztázisát, anyagcseréjét, stressz reakcióit. Ezek az ismeretek jelentik a gátak alapjait, mivel egy-egy gát a patogén vagy romlást okozó mikroorganizmus egy-egy kritikus pontját célzottan támadja.

A másik lényeges kérdés, az alkalmazni kívánt akadály (technológia, állapot, adalékanyag, komponens) megismerése.

Az átgondolt, a célnak megfelelő és jól megtervezett gát-sorozatban az egyes akadályok nem csak additív hatásokkal, hanem szinergens módon egymás hatását erősítik. Ez a szinergencia teszi lehetővé azt, hogy a kombinációk esetében az egyes hatások kisebb erősségűek, kevésbé intenzívek vagy drasztikusak legyenek.



5. ábra A „gát” hatás illusztrálása nyolc példával (jelmagyarázat: F: hőközlés, t: hőelvonás,  $a_w$ : vízaktivitás beállítás, pH: savasság beállítása, Eh: redox potenciál, K-F: kompetitív flóra, V: vitaminok, N: tápanyagok, pres.: tartósítószer) (LEISTNER, 1992)

GENIGEORGIS (1993) is felveti az első európai sous-vide szimpóziumon a sous-vide technológiai sorba illeszthető akadályok alkalmazását. Leistnerhez hasonlóan a pH, a vízaktivitás, és a versengő mikroflóra lehetőségét is számba veszi egy-egy további gátként.

A kíméletes sous-vide hőkezelést kombinálva a nem termikus technológiák közé sorolt nyomáskezeléssel kedvező hatás érhető el (ZHENG et al., 2015; SUN et al., 2017). Az egymás utáni kezelésként alkalmazott kétlépcsős technológia során is alkalmazható a gátelmélet (LEISTNER, 1994 és 2000). Ennek értelmében ugyanolyan szintű tartósító hatás eléréséhez kisebb intenzitású kezelések is elegendőek amennyiben több hatást is alkalmazunk

egyszerre. A gátmélet alkalmazásával elegendő lehet egy rövidebb idejű vagy alacsonyabb hőmérsékletű hőkezelés és/vagy kisebb nyomás szint alkalmazása (RASO - BARBOSA-CANOVAS, 2003). E két fizikai tartósító eljárás együttes alkalmazására már az 1980-as években találunk példát (ROBERTSON et al.,1984). (3. táblázat)

Ekkor a fő hangsúly még elsősorban a hús állományának kialakításán volt. Itt is érdemes megemlíteni BOUTON és munkatársainak korai (1977) kutatásait mely a hús nyomáskezelésének időzítésével foglalkozik. A vágás utáni pre-rigor és a post-rigor állapotban nyomáskezelt húsnál más-más eredmény érhető el. Míg az elsónél puhító hatást észleltek addig az utóbbi esetében a kezelés ellenkezőleg hatott és keményebb húst eredményezett. JUNG (2000) hasonló eredményeket publikált. A közelmúltban már olyan ígéretes kutatási eredményeket jelentettek meg melyek a tartósító hatást és az érzékszervi tulajdonságokat együtt tartják szem előtt.

A HHP kezelés hozzáférhetősége és a technológia költségeinek kedvező alakulása, a nyomáskezelő berendezések egyre szélesebb körű elterjedését és ezen kutatások felgyorsulását eredményezheti. MA és LEDWARD 2004-ban publikálta a hő és nyomáskezelés marhahús állományára gyakorolt hatásáról szóló munkáját. Ebben részletesen tárgyalták a fehérjék denaturációját és ennek összefüggését az állománnyal. A hatást összességében kedvezőnek ítélték. Kilenc évvel később megjelent cikkükben (MA és LEDWARD, 2013) már érdekes kérdést vetnek fel: Megéri-e nyomáskezelni a nyers húsokat? A ráfordított idő, energia, a berendezés költsége és az esetlegesen fellépő nem kívánt szerkezeti és egyéb fizikai változások (keményedés, kedvezőtlen szín kialakulása) állnak szemben a kezelés nyújtotta nem mindig egyértelműen kedvező hatásokkal. Hangsúlyozzák, hogy az állomány kialakítás és a színtabilizálás szempontjából a nyomáskezelés helye/ideje a meleg húson, pre-rigor állapotban, kis nyomásértéken lenne indokolt. Ez technológiailag nehezen kivitelezhető feladat. A post-rigor nyomáskezelés csak hőkezeléssel kiegészítve, vagy nagy nyomásértékeken hatásos. Ebben az esetben pedig a húson megjelenik a szín- és ízváltozás, a „főtt” külső a denaturáció következtében.

A sous-vide technológiával kis hőmérsékleten, kombináltan alkalmazva ez a jelenség nem jelent hátrányt. A primer kezelés a sous-vide, ez alakítja ki a hús jellegzetes karakterét (speciális állomány, íz, szín). A szekunder kezelésként alkalmazott HHP a stabilitás és az élelmiszerbiztonság szempontjából fontos kezelés. RODRIGEZ-CALLEJA (2012) csirkemell eltarthatóságát vizsgálja HHP kezelésre alapozott „gát-rendszer” alkalmazásával.

**3. táblázat.** A doktori kutatásomhoz kapcsolódó főbb publikációk összefoglaló táblázata melyek a kombinált hő és nyomáskezelés témakörében jelentek

KUTATÓ	ÉV	ALAPANYAG	KEZELÉS	SORREND	P [Pa]	T [°C]	FŐ VIZSGÁLATI IRÁNY	MEGJ.
Robertson et al.	1984	marha és bivaly	kombinált hő és nyomás	szim	150	60	állomány, pH	
Macfarlane et al.	1986	birkahús	hő + nyomás	szim	150	60	állomány, SDS-PAGE, SEM	
Meyer et al.	2000	többféle készétel	kombinált hő és nyomás	szim	620 - 690	90 - 116	review jelegű összefoglaló cikk	
Carballo et al.	2000	sertés húspép	kombinált hő és nyomás	szim ; eu	300	70	szín, állomány, Δm	fagyasztott hús
Krebbers et al.	2003	paradicsom püré	kombinált hő és nyomás	szim	300 - 700	20 - 90	likopin, mikrobiológia, viszkozitás	
Otero-Sanz	2003	-	nyomás és hő				hővezetés modellezés nyomáskezelés alatt	review
Ma and Ledward	2004	marha hátszín	kombinált hő és nyomás	e.u.	200 - 800	20 - 70	pH, DSC, állomány	
Matser et al.	2004	többféle	kombinált hő és nyomás					review
Bertram et al.	2004	marha hátszín	hő + nyomás	P+H	150	45	NMR, állomány	
Buzrul-Alpas	2004	pepton oldat	kombinált hő és nyomás	szim	138 - 345	25 - 50	Listeria inocula	előtanulmány
Zamri et al.	2006	csirkemell	kombinált hő és nyomás	szim, e.u.	0,1 - 800	20 - 70	állomány, DSC. SDS-PAGE	3 kombináció
Ma et al.	2007	marha és csirke	kombinált hő és nyomás	szim	0,1 - 800	20 - 70	TBARS	
Mathys et al	2007	többféle	kombinált hő és nyomás				élelmiszerbiztonság-sterilizés	
Rodrigo et al.	2007	paradicsom püré; eper lé	kombinált hő és nyomás	szim	300 - 700	100 - 140	szín, pH	
Hong et al.	2008	sertés karaj	hő + nyomás	szim, e.u.	300	75	szín, WHC, pH, állomány	3 kombináció
Raso-Barbosa-Canovas	2010	többféle	kombinált HHP				non-thermal kezelések	Review
Picouet et al.	2011	lazac szelet	hő + nyomás	e.u.	210 - 400	40	szín, pH, állomány, érzékszervi, mikrobiológia	
Bajovic et al.	2012	többféle	HHP kombinált				széles vizsg. Spektrum	Review
Yi et al	2013	garnélarák borban (RTE)	hő és nyomás	k	550	85	pH, SZA., szín, TBA, mikrobiológia, érzékszervi	Készétel
Tokifuji et al	2013	sertéshús pép	hő + nyomás	e.u.	400	80	SDS-PAGE, emészthetőség, é.sz., állomány, Δm	
Huang et al	2015	darált sertéshús	hő + nyomás	szim	200 - 600	20 - 50	TBARS, zsírsav összetétel	
Espinosa et al.	2015	tengeri keszeg	hő + nyomás	e.u.	300 - 600	65	pH, TBARS, mikrobiológia	
Zheng et al.	2015	csirkehús pogácsa	kombinált hő és nyomás	szim.; e.u.	200	75	állomány, WHC	3 kombináció
Chakraborty et al.	2015	ananász	hő + nyomás	szim	200 - 600	50 - 70	pH, color, C-vitamin, antioxidáns, flavonoid	
Sun et al.	2017	marha steak	nyomás + hő	e.u.	450 - 600	55	pH, a <sub>w</sub> , SZA., TBA, mikrobiológia (E.coli)	

e.u.: egymás utáni kezelés; szim: szimultán kezelés; k: külön kezelés

A kombinációban alkalmazott eljárás fő indoka, hogy az ugyanazon kezelési körülmények és paraméterek mellett a kombinált alkalmazás során a hőkezelés hatékonysága növelhető illetve a nyomáskezelés szintje csökkenthető (RASO és BARBOSA-CANOVAS, 2003). A kezelési paraméterek beállításánál mindenképpen figyelembe kell venni az egyes fajok hő és nyomásrezisztenciáját. Bizonyos patogén fajok törzsei az alacsony hőmérsékleten végzett nyomáskezelés hatására eltérő rezisztenciával reagálnak. Azonban ez a különbség megszüntethető akár enyhén emelt (50 °C) hőmérsékleten történő nyomáskezeléssel. Így a mérsékelt hidrosztatikus nyomás (ebben a példában: 375 MPa) és 50 °C-os hőmérséklet kombinált alkalmazása sikeresen alkalmazható a patogének 6 nagyságrendnyi csökkentése érdekében (ALPAS et al., 1999).

Fontos kihangsúlyozni, hogy a sous-vide kezelés önmagában is egy három-hat elemű kombinált tartósító eljárás, tehát jó példa a Leistner-i gátelmélet alkalmazására. A sous-vide együtt alkalmazza (i) a vákuum csomagolást, amivel a légmentesen lezárt tasakokban anaerob körülményeket hozunk létre, (ii) precíz szabályozású enyhe (55-90 °C) hőkezelést és a gyors hőmérséklet csökkentést követő (iii) hűtve tárolást. További akadályok lehetnek (iv) a só illetve (v) az antimikrobás hatású fűszerek, valamint (vi) az elősütés amennyiben az része a technológia sornak. A nagy hidrosztatikus nyomás lehet egy további gát ebben a technológia sorban.

A Leistner-Rödel (LEISTNER, 1992) által definiált SSP (Shelf Stable Product – polcálló termék) előállításához e két módszer kombinációján túlmenően más paraméterek ( $a_w$ , pH,  $E_h$ ) szabályozására is szükség lenne. Ennek a hő-nyomás ikertechnológiának az alkalmazása stabil, biztonságos terméket eredményezhet és talán lehetőséget ad a hőkezelést követő szigorú hűtőtárolás lazítására, ami a hűtőlánc fenntartásával jelentős költséget jelent.

A PA/PE tasak és a vákuumcsomagolás mindkét technológia számára megfelelő, ez megkönnyíti a termékek kezelhetőségét és kizárja a kereszt és utószennyeződés lehetőségét.

Sok esetben a hagyományos pasztörözés és a szobahőmérsékleten történő nyomáskezelés önmagában nem elegendő egy stabil és biztonságos termék előállításához. A baktérium spórák és a szubletális sérülésekből felépülő pszichrofil mikrobacejték további problémát jelentenek. Emelt hőmérséklet (120 °C<), vagy emelt nyomásérték (800 MPa<) vagy a kettő szimultán alkalmazása szükséges a patogének illetve a spórák inaktiválásához. (BALASUBRAMANIAM, 2009). Élelmiszerek nagy nyomásértéken történő sterilizálására (60-90 °C, 600-800 MPa), melyek a baktérium spórák inaktiválásával a teljes sterilitás elérését célozzák, már a 2000-es évektől találunk példákat (KREBBERS et al., 2003;



MATSER et al., 2004; MATHYS et al., 2007; BALASUBRAMANIAM, 2009, MA és LEDWARD, 2013; HYGREEVA és PANDEY 2016). Az irodalmi források és a Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszéken zajló kutatások gyakorlati tapasztalatai alapján az emelt hőmérsékleten történő nyomáskezelés több kérdést is felvet: (i) A kezelés alatt a hőmérséklet pontos nyomonkövetése nehézkes, nem megoldott, (ii) a paraméterek pontos beállításának módszere, (iii) állásidő növekedés a fokozott igénybevétel miatt, a berendezés gyakoribb karbantartást igényel, gyakoribbak az alkatrész meghibásodások, (iv) az előző pont eseményeinek költségvonzata, (v) az ilyen típusú kombinált kezelés még a kíméletes technológiák közé sorolható?

A szimultán kezelések esetében több kutató is felveti a hővezetési tulajdonságok megváltozását és ezzel a kezelés homogenitása sérülhet. (RASTOGI et al., 2007; OTERO és SANZ, 2003).

Tekintettel arra, hogy a sous-vide hőkezelés és a HHP technológiák kíméletes eljárások, alkalmazásuk során a paraméterek megválasztása is a kíméletes, lehető legkisebb behatás elve szerint történik. Önmagukban való alkalmazásuk több kockázatot is rejt az élelmiszerbiztonság tekintetében, különösen abban az esetben, amikor a technológiai paraméterek a „legkíméletesebb” kezelés érdekében alacsony szinteken kerülnek beállításra. Ezért úgy gondolom, hogy a gát elmélet elvei alapján, ezek együttes alkalmazása lehetőséget teremt a biztonságos és ugyanakkor érzékszervi tulajdonságait tekintve is megfelelő termék előállítására.

A hő és nyomáskezelés kombinált alkalmazásáról szóló főbb közléseket a 3. táblázatban összefoglalva mutatom be. Néhányat ezek közül kiemelek - elsősorban a dolgozatom szempontjából releváns témaköröket - ismertetve a főbb kutatási irányokat.

ZAMRI és munkatársai (2006) csirkemell állományát vizsgálta különböző hő (20-70 °C) és nyomás (200-800 MPa) kombinációkban, a kezeléseket egyidejű/szimultán alkalmazása során. Az állománymérés mellett a fehérjék vizsgálatát végezték DSC és gél-elektroforézises módszerekkel. Eredményei közül kiemelendő, hogy a hőmérséklet és a nyomás emelésével a keménység értékek 2-3-szoros növekedést mutattak, míg a fehérjék denaturációja 40 °C feletti hőmérséklet-nyomás kombinációk esetében gyakorlatilag már nem mutatott változást. A mérések a DSC termogramokon megfigyelhető miozin és az aktin csúcsok eltűnését korreláltnak találja a keménység értékek emelkedésével. A 60 és 70 °C hőmérsékleten végzett

nyomáskezeléseknél néhány esetben új endoterm csúcsok megjelenését jelezték a  $80 < ^\circ\text{C}$  hőmérséklet tartományban.

HONG és munkatársai, (2008) kombinált hő és nyomáskezelt sertéskaraj vizsgálatát végezte. Mérték a kezelések hatására bekövetkező pH, víztartó képesség, szín, és állomány változást. A kezeléseket mindkét sorrendben és szimultán is elvégezték. A hőkezelés  $75\text{ }^\circ\text{C}$ -on 30 percig tartott, ehhez társult 100-200-300 MPa nyomáskezelés. Az  $L^*$  értékeket a kezelési sorrend nem befolyásolta, kizárólag a nyomás nagysága. A vörös színezet és a keménység a szimultán kezelések esetében eltért az egymás után alkalmazott kezelésektől. A kezelési sorrend szinte egyetlen esetben sem volt meghatározó. A víztartó képességnél 100 MPa nyomásértéknél a kezelések mindegyike szignifikánsan különböző volt. A nyomás növelésével ez az eltérés eltűnik, a 300 MPa esetében a két konzekutív kezelés tér csak el a szimultán kezelés értékétől.

Marha steak vizsgálatát SUN és munkatársai (2017) végezték el. A kombinált kezelésben a nyomáskezelés (450 és 600 MPa) megelőzte az  $55\text{ }^\circ\text{C}$ -os sous-vide hőkezelést. A fordított kezelési sorrend nem került vizsgálatra. A HHP kezelés 5 nagyságrenddel csökkentette a mikrobaszámot, amit a szerzők megfelelőnek tartanak, kihangsúlyozva, hogy a hús így alkalmassá válik a biztonságos laikusok által végzett „házi” sous-vide ételek elkészítéséhez is. A nyomáskezelt minták nem változtattak jelentősen a húsok mért paraméterein (pH,  $a_w$ , szárazanyagtartalom). A nyomáskezelés hatása nem volt megfigyelhető az elősütött sous-vide termék  $L^*$ ,  $a^*$  és  $b^*$  szintényezőin. A szerzők ugyanakkor mintegy 25%-os eltérést figyeltek meg a nagyobb nyomásérték hatására a keménység jellemzőben. A HHP kezelést indokolt és megfelelő primer gátnak tekintik.

ZHENG és munkatársai (2015) csirke húspépek vizsgálatát végezték HHP és hő kezelés kombinációival. A kezeléseket mindkét sorrendben és szimultán alkalmazásban is elvégezték. A paraméterek: 200 MPa HHP 5 perces tartásidővel szobahőmérsékleten, és 30 perces,  $75\text{ }^\circ\text{C}$ -on végzett hőkezelés. A tömegveszteségben szignifikáns eltérés volt tapasztalható a kezelési sorrendek között. A szimultán kezelés esetében volt a legkisebb a tömegveszteség. (az egyszeres hőkezelést is ideértve). Az állományjellemzőkben is szignifikáns eltérések mutatkoztak valamennyi kezelés között. A hő-nyomás és a szimultán kezelések javították a húspép állományát szerkezetét és a víztartó képességet. A húspép gélképzési tulajdonságának javulását várták a kombinált kezelésnél, ahol a nyomáskezelés volt a primer technológia. Ezt a méréseik nem igazolták.

PICOUET és munkatársai (2011) kombinált hő és nyomáskezelés hatását vizsgálták lazac szeleteken. A sous-vide kezelést követően három nyomásértéken történt HHP kezelés. A sous-vide kezelés során a lazac szeleteket legfeljebb  $2.4 \pm 0.1$  °C/perc ütemben 19 perc alatt maximum  $40.7 \pm 0.1$  °C-ig melegítették, majd 1-2 °C-os hűtőkádba helyeztek. Ezt követően a minták 4 °C-on temperált helyiségben kerültek tárolásra. A sous-vide főzést követő 1-2 órában a minták 210 MPa, 310 MPa, valamint 400 MPa-os 5 perces nyomáskezelést kaptak. A kezelést követően a minták  $4 \pm 1$  °C-on kerültek tárolásra. A mintákat vizsgálták az 1,4,6,8,11, valamint a 13. napon. Mikrobiológiai paraméterek tekintetében a teljes élő aerob csíraszám (továbbiakban: TVC), valamint a *Enterobacteriaceae* kerültek elemzés alá. A vizsgálat rámutat, hogy már a 310 MPa nyomáskezeléssel kombinált sous-vide kezelés a termék mikrobiológia stabilitását biztosítani tudja a TVC esetében 6, míg az *Enterobacteriaceae* esetében 8 napon keresztül. A többi vizsgált tulajdonság esetében jelentős változás csak a minták színezetében volt tapasztalható, míg a pH, állomány és érzékszervi változások nem voltak szignifikánsak.

ESPINOSA és munkatársai (2015) tengeri durbincs filéből (*Sparus aurata*) és fűszereket tartalmazó szószból készült homogén keveréket állítottak elő, amelyet PA/PE tasakban hőkezelték. A mintákat 60 °C-os maghőmérséklet eléréséig hőkezelték. A mintákat három csoportra osztották, kontroll és 300 MPa és 600 MPa nyomáskezelt. A kezelést 5 °C-on 5 perces tartásidővel végezték. A minták minden esetben  $2 \pm 1$  °C-on kerültek tárolásra. A következő mikroorganizmus csoportokat vizsgálták: *Enterobacteriaceae*, tejsavbaktériumok, kóliformok, anaerob pszichotrófok, élesztők és penészek, valamint *E. coli*. Habár a kombinált kezelés nem pusztította el teljesen a kezdeti mikrobaszámot, a 300 MPa, valamint 600 MPa-on történő kezelés biztosította a mikrobiológiai követelmények teljesülését a fogyasztásra késztermék 62 napos tárolása során. A csak sous-vide kezelt és kombinált minták összes mikrobaszámában nem volt szignifikáns eltérés. Sem a nagynyomású kezelés, sem pedig a tárolási idő nem volt szignifikáns ( $p > 0,05$ ) hatással a mikrobaszámra. Amellyel kapcsolatban a szerzők felhívják a figyelmet, hogy ez más tanulmány megállapításával ellentétes eredmény. A tejsavbaktériumok, anaerob pszichotrófok, *Enterobacteriaceae* valamint élesztő és penész szám  $< 1$  log TKE/g értéket mutattak minden minta esetében a vizsgálat teljes időtartama alatt.

Ezek alapján a doktori kísérleteim során a kombinált hő és nyomáskezelés hatásaira fókuszáltam, vizsgálva a fizikai, kémiai, mikrobiológiai területen történő változásokat a sertéshús esetében.

Fenti példák mutatják, hogy a kombinációban alkalmazott két kezelés több esetben is kedvező eredményeket adott. Megjegyzendő, hogy az is jó eredmény lehet, ha pl. az érzékszervi tulajdonságok tekintetében egy primer hőkezelés kiegészítve a nyomáskezeléssel nem mutat eltérést az egyszeres hőkezeléssel összehasonlítva. Ennek következtében javuló mikrobiológiai állapot mellett más, a fogyasztót a döntésében befolyásoló paraméter nem változik. Indokolt tehát egy komplex kutatás lefolytatása arra vonatkozóan, hogy a kezelési sorrend (primer kezelés lehet a hő vagy nyomás) mennyire meghatározó az együttes alkalmazás során.

### **2.3 A *Listeria Monocytogenes***

A *Listeria* (L.) nemzetségbe számos különböző faj tartozik: *Listeria monocytogenes*, *L. grayi*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. fleischmannii*, *L. weihenstephanensis*, *L. aquatica*, *L. floridensis*, *L. cornellensis*, *L. grandensis* és *L. riparia* (BAKKER et al., 2014). Ezek közül csak kettő patogén faj, a *L. monocytogenes* és a *L. ivanovii*. A *L. monocytogenes* komoly emberi és állati megbetegedést okoz, miközben a *L. ivanovii* szinte csak állati fertőzésekhez köthető. A humán liszteriózis élelmiszer eredetű megbetegedés. Alátámasztott, hogy a humán liszteriózis okozója 99%-ban a szennyezett élelmiszeripari termék. A liszteriózis előfordulása alacsony, ez 2-15 esetet jelent egy millió lakosból, ezzel szemben a halálozási ráta igen magas. A *Listeria monocytogenes* egy Gram-pozitív, fakultatív anaerob baktériumfaj, mely a liszteriózis okozója (HAIN et al., 2006). Ez az élelmiszerpatogén baktérium 0,4-45 °C-os hőmérséklet-tartományban, széles pH tartományban (4,0-9,6), és akár 0,9-es vízaktivitás mellett is képes szaporodni (VÄLIMAA et al., 2015).

A liszteriózis különböző formákban fordul elő, idegrendszeri problémákat okozhat, anyai-újszülötti és láz kíséretében gasztoenteritisszel járhat, illetve súlyos esetekben agyi fertőzéshez és akár halálhoz is vezethet (ÁLVAREZ-ORDÓÑEZ et al., 2015). Az egészséges felnőtt egyedek gyakran lehetnek tünetmentes hordozók, de csecsemőknél, időseknél, várandós nőknél és legyengült immunrendszerű egyéneknél súlyosabb tüneteket okoz. Ezekben az esetekben a halálozási ráta eléri a 10-30%-ot (esetenként akár 50% is lehet). A nyugati országokban a *L. monocytogenes* felelős számos esetben az olyan ételfertőzésekért, melyeket tejtermékek, feldolgozott húsok, saláták és más olyan fogyasztásra kész ételek okoznak, melyek nem igényelnek hőkezelést fogyasztás előtt. Ennek az az oka, hogy ez a baktériumfaj széles körben megtalálható a környezetben, a talajban, folyókban, legelőkön, így az élelmiszertermelés első és második szakaszában is szennyező vektorként lép fel. Továbbá,

mivel a *L. monocytogenes* alacsony hőmérsékleten is képes szaporodni, még ha a kezdeti mikroba szám alacsony is, az élelmiszerek tárolása során számuk olyan szintet érhet el, mely már megbetegedést okozhat (TAKAHASHI et al., 2015). A *L. monocytogenes* túlélését elősegítő illetve ellenőrzését és eltávolítását megnehezítő legfontosabb tényezők az élelmiszeripari alapanyagokban és berendezéseken a nagyfokú rezisztencia az extrém környezeti körülményekhez (pl. biofilmek képzése szilárd felületeken), illetve a tisztító- és fertőtlenítőszerrel szembeni ellenálló képesség (PINO et al., 2015).

A nyomáskezelésnél (PATTERSON, 2005) két csoportot különböztet meg. Elkülönítette a kis nyomásértékeket, ami csak szubletális sérüléseket okoz és a szaporodást csak átmenetileg gátolja, illetve a nagyobb értékeket, amelyek már a vegetatív sejtek inaktiválására is alkalmasak. A szubletális hatás következtében sérült sejtek regenerálódását meghatározza a kezelést követően a környezeti paraméterek alakulása.

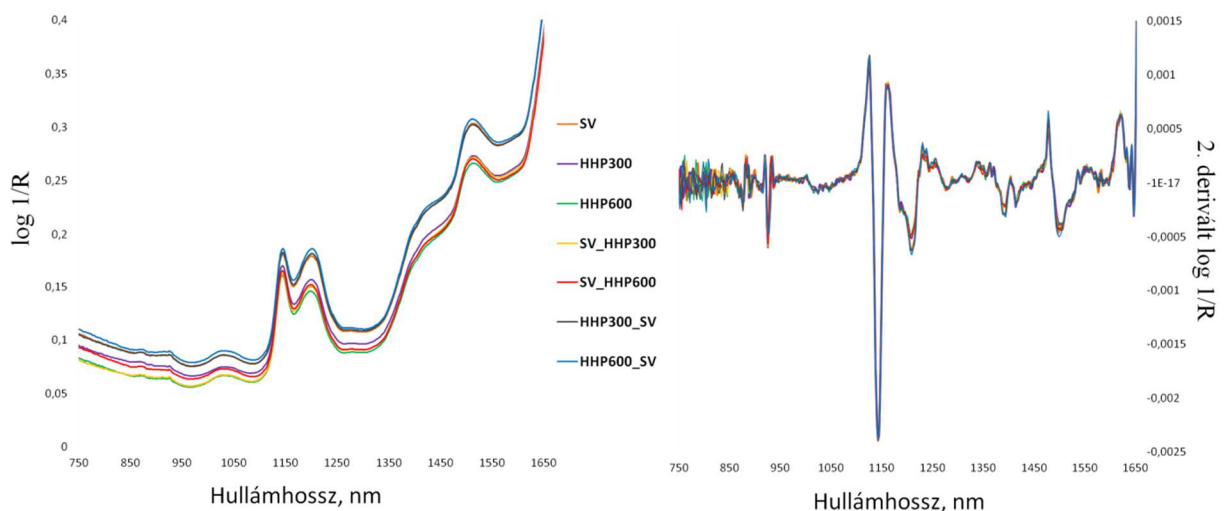
Egy későbbi kutatásukban PATTERSON és munkatársai (2011) *Listeria monocytogenes*-szel végzett challenge teszt során, csirkemellen vizsgálták a nagynyomású kezelés hatását. A csirkemell filét előzetesen megfőzték, majd vákuumcsomagolást követően 25 KGy-en besugározták. Az így sterilizált mintákat 1 ml  $10^8$ - $10^9$  TKE/ml sejszámú *Listeria monocytogenes* szuszpenzióval oltották be. A csomagolást úgy zárták le, hogy szükséges mennyiségű levegő maradjon a szaporodáshoz. A minták egy részét *Weissella viridescens* baktériummal is beoltották, amely gátolja némely *Listeria* törzs szaporodását, egy részéhez pedig 2% nátrium-laktátot adtak a gátlás érdekében. A mintákat 600 MPa-on kezelték 2 percen keresztül 20 °C-on, majd 8 °C-on tárolták, és a 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49., 77. és 105. napon vettek mintát a tárolási kísérlet során.

## **2.4 Vizsgálati módszerek**

### **2.4.1 Közeli infravörös spektroszkópia (NIR)**

A NIR mérés technika egyre több analitikai alkalmazásban kerül felhasználásra. Nagy előnye, hogy aránylag gyors mérést tesz lehetővé és a mintánk állapotáról szinte azonnal képet kaphatunk. A minta előkészítés is egyszerű, sok esetben a minta az eredeti állapotában is már vizsgálható. A mérés roncsolás mentesen történik, így olyan alkalmazási területen is jól használható, ahol egy folyamat nyomon követése a cél. (pl.: érési folyamatok) A NIR mérés technika hátrányai közé sorolható, hogy mennyiségi meghatározás esetén kalibrációt igényel és a mérés eredménye igen erősen függ a kalibráló módszertől. Nehézséget okozhat az is, hogy a felvett spektrumok kiértékelése sokszor komoly és hosszú elemzést igényel. A

spektrumok jelválaszként történő értékelése, az információ kinyerése a rezgések átlapolódása és egymás maszkolása okán csak összetett többváltozós statisztikai módszerekkel oldható meg (GERGELY, 2005). SZIGEDI (2015) e témában írta PhD dolgozatát a NIR technika élelmiszeripari alkalmazhatóságáról, elsősorban komponensek meghatározásának módszerfejlesztéséről. PREVOLNIK és munkatársai (2010) NIR spektroszkópia segítségével vizsgálták a sertéshús víztartó képességét. Három mérési módszerrel is korreláltatták a felvett spektrumokat és ebben az esetben is a kalibráció megbízhatósága játszott központi szerepet a mérések során. NARSAIAH és JHA (2012) összegzi, hogy a hús NIR vizsgálatainak többsége a fehérje, az intramuszkuláris zsír és a víztartalom meghatározására irányul. Megemlíti ugyanakkor, hogy a mérés technika alkalmas a technofunkciós és érzékszervi paraméterek becslésére is.



6. ábra Egyszeres és kombinált hő- és nyomáskezelt sertéskarajok felvett (bal), és a simított-2.derivált (jobb) NIR spektrumai. (KENESEI et al., 2015a felhasználásával)

BÁZÁR (2011) doktori dolgozatában sertéshús és sertés alapú állattermékeket vizsgált NIR módszerrel. Kvalitatív méréseket végzett sertéshúsok, zsírok és húskészítmények osztályozhatóságára – az eltérő fajtájú és tartásmódú csoportok elkülönítését vizsgálta. Kvantitatív mérései a sertéshús és a sertézsír összetételi adatainak becslésére vonatkozott. KAFFKA és munkatársai (1986) élelmiszerek NIR mérések alapján történő minősítéséről számolnak be. HORVÁTH (2009) sertéshús minőségváltozását követte nyomon, mikrobiológiai állapotát elemezte a NIR spektroszkópiával. A közeli infravörös spektroszkópiás módszert sertéshús esetében alkalmasnak, és a hagyományos technikáknál gyorsabbnak ítélte meg a mikrobiológiai minőség mérésére.

Hőkezelt halhúson sikeresen alkalmazták a hőkezelés erősségének becslésére. A 30 és 90 °C között hőkezelt mintákat 650-1100 nm NIR tartományban vizsgálták. A kalibráció után illesztett modell ( $R=0,98$ ) segítségével 1,85 °C átlagos hibával sikerült a hőkezelttség mértékének megállapítása (UDDIN, 2006). A hőkezelés során bekövetkező minőségváltozások alapján THYHOLT és munkatársai (1998) a hőkezelés végpontját határozták meg NIR spektroszkópia segítségével.

Saját korábbi közlésemben a kombinált hő- és nyomáskezelt sertéskarajok NIR spektrumainak összehasonlításával foglalkoztam (6. ábra). A diszkriminancia analízissel történő elemzés a kezelések közötti eltéréseket-hasonlóságokat a csoportok megfelelő elkülönítésével feltárta (KENESEI et al., 2015a). Ezeket a dolgozat eredmények fejezetében részletesen kifejtem. Ezek alapján, a kombinált hő- és nyomáskezelt sertéskaraj vizsgálata során ennek a roncsolás mentes mérés technikának igazolt az alkalmazása.

#### **2.4.2 Gél elektroforézis (SDS-PAGE)**

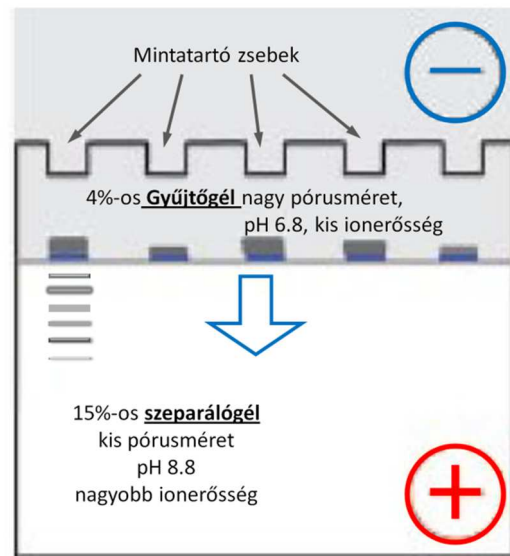
Az elektroforézis olyan elválasztási technika, amelynek alapja a töltéssel rendelkező molekulák elektromos térbeli mozgékonyága. A pozitív töltésű molekulák a negatív elektród irányába vándorolnak, míg a negatív töltésűek pedig a pozitív elektród felé. Az ionok vándorlási sebessége eltérő, ezért lehetséges az elválasztásuk. A vándorlási sebességet a molekula töltése, a mérete és formája is befolyásolja.

A fehérjék poliakrilamid gélben történő szétválasztása széles körben alkalmazott módszer a fehérje alegységek vizsgálatára és a molekulatömegek meghatározására (CLAEYS et al., 1995). Az egydimenziós PAGE módszer térhálós szerkezetű poliakrilamid gél közeget használ, ami az akrilamid és az N,N'-metilén-bis-akrilamid polimerizációja során alakul ki. A polimerizációt az APS (ammónium-perszulfát) és a TEMED katalizátorok segítik. A gélben az akrilamid mennyiség beállításával szabályozható a gél pórusmérete, ami a fehérjék méret szerinti szétválasztást segíti. A gélek kezelhetősége szempontjából az 5-15%-os akrilamid koncentráció a megfelelő. Ez alatt a gél lágy szerkezetű, 15% feletti értéknél pedig rideg és túl sűrű szerkezetű lesz. Az akrilamid koncentrációjának növelésével a kisebb molekulatömegű fehérjék hatékonyabb szeparációja lehetséges. Az elválasztás hatékonyságát az akrilamid koncentráció mellett a futtató puffer pH értékének helyes megválasztása is befolyásolja. A puffer szerepe a pH állandó értéken tartása mellett az áram vezetése is. A gél két részből áll a felső rész a minták befogadására szolgáló zsebes gyűjtő-gélből és az alsó szeparáló- vagy elválasztó-gélből. A gyűjtő-gél kis denzitású, laza akrilamid hálós ezért a fehérjéket akadály

nélkül átereszt. A szeparáló-gél funkciója a kisebb pórusokkal a méret szerinti szétválasztás (7. ábra).

Az SDS-PAGE esetében a polipeptideket kizárólag molekulatömegük szerint választjuk szét. A futtató gél nátrium-dodecilszulfát (SDS) tartalma a fehérjék hidrofób részeihez kapcsolódik. Ez a detergens hatású anyag a fehérjeláncot részlegesen kitekeri, és hozzákapcsolódva negatív töltést kölcsönöz neki. A fehérjeoldatokhoz  $\beta$ -merkaptoetanol redukálószerrel adva, a peptid láncok közötti diszulfid hidak felbomlanak és a fehérje alegységeire bomlik. Az SDS-sel kezelt fehérje nettó töltése egyenesen arányos lesz a méretével, s így a mobilitását már csak a mérete és a molekulatömege határozza meg. A kisebb molekulatömegű fehérje gyorsabban halad a gélben, a kiindulóponttól számított  $R_f$  értéke nagyobb lesz. A kész gélek megfestése után lehetséges a fehérjék detektálása (a festék a gélben lévő fehérjékhez kötődik, amivel a sávok láthatóvá válnak). A leggyakrabban alkalmazott színezési eljárás a Coomassie Blue R-250 és az érzékenyebb ezüst-színezés (MACZÓ, 2015).

Kombinált hő és nyomáskezelt húsfehérjéket vizsgált gél-elektroforetikus módszerrel MACFARLANE és munkatársai (1986) birka, ZAMRI és munkatársai (2006) csirkemell, TOKIFUJI és munkatársai (2013) sertéshús esetében. MACFARLANE és munkatársai (1986) a kombinált kezelés állományra és a hús szerkezetére gyakorolt hatást elemezték. Legfontosabb megfigyeléseik a konnektin fehérje molekula erőteljesebb degradációja és a miozin vékony-vastag filamentum irreverzibilis szétesése a kombinált (szimultán alkalmazott) kezelés hatására. TOKIFUJI és munkatársai (2013) a darált sertéshús gélesedési folyamatait vizsgálta elsősorban. Céljuk a nyelési nehézségekkel küzdők számára, könnyen fogyasztható és emészthető termék előállítás volt. A hő és nyomáskezelt mintákon fokozott fehérje aggregációt figyeltek meg a 30-60 kDa fehérje mérettartományban (főbb érintett fehérjék: aktin, miozin könnyű lánc, troponin, tropomiozin). A hő és a nyomáskezelt hús-gélek és fehérjekivonatok SDS-PAGE mintázata jól mutatta a kezelések hatásait. A kombinált kezelések esetében fokozott aggregáció és részben ennek köszönhetően a sávok kevésbé tiszta



7. ábra Az SDS-PAGE gél felépítése



szétválása volt megfigyelhető. ZAMRI és kutatótársai 2006-os közlése a kíméletes hőkezelésnél megerősíti korábbi kutatások eredményeit. A kombinált minták vizsgálatánál rámutat a nyomáskezelés hatására eltolódó denaturációs hőmérsékletekre is (pl. aktin +80 °C). Ezt a jelenséget tapasztaltam korábbi sertéshúson végzett méréseim során is (KENESEI et al. 2017b).

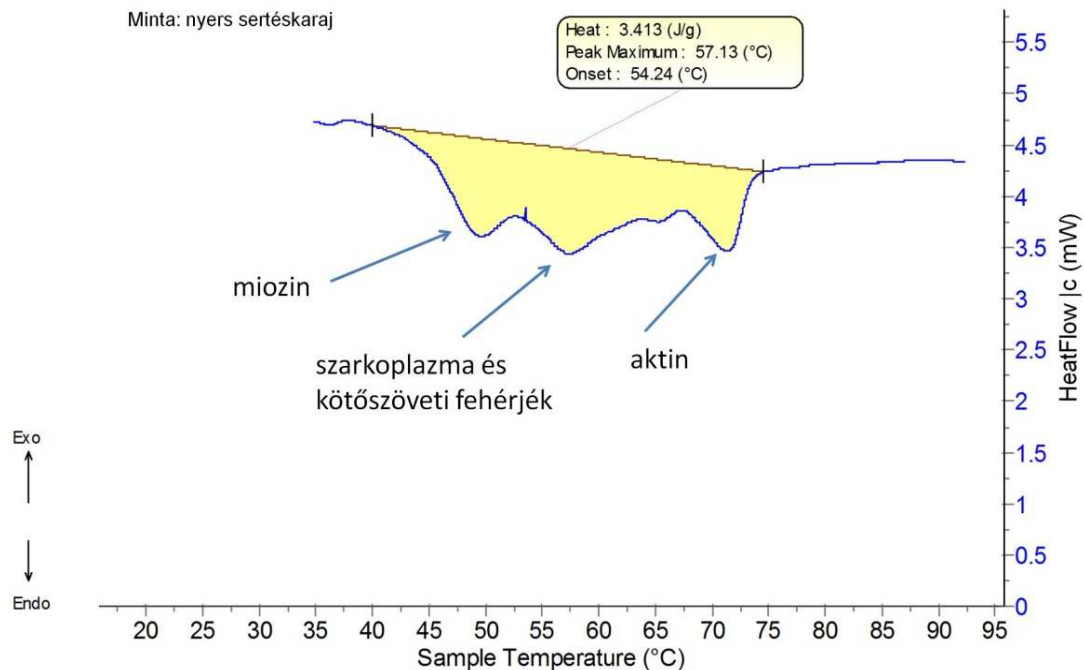
### **2.4.3 A DSC termo-analitikai vizsgálati módszer**

A DSC, a Differential Scanning Calorimetry rövidítése. Magyar megfelelője a differenciális pásztázó kalorimetria. A DSC-t az anyagtudományok, polimer kutatások után az élelmiszeripar is több területen sikeresen alkalmazza. A mérés alkalmas a biológiai rendszerek stabilitásának vizsgálatára azon az elven, hogy az anyagban bekövetkező változások (pl.: kristályosodás, olvadás, denaturáció, fázisváltozás, aggregáció) során a vizsgált minta hőkapacitása is megváltozik.

A DSC méréstechnika alkalmazása először a 60-as években gyorsult fel, majd a műszerek fejlesztésével egyre pontosabb és érzékenyebb mérésekkel egyre összetettebb rendszerekben került alkalmazásra. A fehérjék hő indukálta szerkezetváltozásai nagy érzékenységgű berendezést kívánnak meg, mivel a denaturáció során igen kis (mW) hőáramok mérését kell elvégezni (BILIADERIS, 1983; OZAWA, 2000).

Az általam használt Setaram microDSC III mikrokaloriméter képes ezen kis hőáramokat is észlelni a mintában végbemenő változások során – ez teszi alkalmassá a fehérjék hődenaturációja során az entalpiaváltozás követésére. A berendezés egy adott hőmérséklet tartományban egy ismert hőfizikai tulajdonságú referencia mintához viszonyítva méri a hőáramot (FARKAS, 1994). A referencia anyag megválasztásánál elsődleges szempont, hogy a vizsgált hőmérsékleti tartományban hőtani értelemben stabil legyen, fázisátalakulás, üvegesedés ne következzen be. A berendezés a referencia anyag és a minta hőmérsékletét azonos értéken tartja a mérés során a hőmérsékleti program beállított értékei alapján. A mintában végbemenő endoterm jelenség esetén (olvadás, denaturáció, oldódás) a minta hőmérséklete elmarad a referenciaanyagéhoz képest, így az azonos hőmérséklet fenntartásához többlet hőt kell a mintával közölni. Exoterm reakció esetében (pl. fagyás, kristályosodás) a minta hőleadóként viselkedik, a referencia anyag igényel többlet energiát ahhoz, hogy a két hőmérsékletet azonos értéken tartsuk. Ezt a hőt detektálja és rögzíti a berendezés a mérés alatt és jeleníti meg termogram formájában a kiértékelés során. A görbe

alatti terület arányos a fázisátalakulási hővel, a hőáram intenzív növekedésének kezdeti hőmérséklete pedig a fázisátalakulás hőmérséklete.



8. ábra Nyers sertéskaraj DSC görbéje a három nagy fehérjecsoporthoz tartozó csúccsal

Nyers húsok mérése során, a kapott görbéknek általában három jellemző csúcsa különíthető el a hőmérséklet függvényében (8. ábra). A miozin 48-55 °C között, a szarkoplazma és kötőszöveti fehérjék 55-65 °C, míg az aktin fehérjecsoport esetében a 70-75 °C közötti tartományban történik meg a fehérjék szerkezetváltozása, hődenaturációja. Ezek a csúcsok átlapolódnak mivel az egyes fehérjecsoportok fázisátalakulásának szakaszai egyidejűleg történnek. A csúcsok szétválasztása matematikai módszerekkel lehetséges. A görbék lefutását nyers hús estében elsősorban az izomszövet eredete (állatfajta, testtáj) határozza meg. A húsminta állapota (pl. pH, előkezelések, adalékanyagok jelenléte) befolyásolja a csúcsok elhelyezkedését és azt, hogy a csúcs milyen hőmérséklet-tartománynál jelentkeznek. A csúcsok méretéből a natív állapotban lévő fehérjék mennyiségére következtethetünk. Egyes fehérjék (pl. lyozyme) esetében a pH változása akár 10-20 °C-kal is eltolhatja a denaturáció hőmérsékletét (BILIADERIS, 1983 cit. PRIVALOV, 1974). A denaturációs csúcsok eltolódása figyelhető meg főként a 60 °C alatti hosszú időtartamú LT-LT hőkezeléseknél is.

Az egyes csúcsok hiánya vagy megléte következtetni enged a húson elvégzett kezelésre. A különböző denaturációt okozó hatások (nyomás vagy hőmérséklet) eltérő fehérjecsoportokra hatnak (KENESEI et al. 2017b).

FINDLAY és munkatársai kihangsúlyozták az egyes fehérjecsoportok denaturációs tartományait és az időtartamát valamint azt, hogy a fehérjék denaturációs állapota fontos szerepet játszik a vízmegtartó képesség alakulásában. Méréseik (marhahús esetében) a fentiektől kissé nagyobb hőmérséklet tartományokat rögzítettek. A denaturációs átmenet a miozin esetében 57 °C-on 5 perc után fejeződik be. Ehhez nedvességvesztés is társul. Az 5 percig tartó 70 °C-os hőbehatásnak köszönhetően denaturálódnak a szarkoplazmatikus fehérjék továbbá a kollagén fibrillák zsugorodása tapasztalható. Az aktomiozin F és G részét alkotó aktin teljes denaturációja 81 °C körül megy végbe (FINDLAY et al.,1986). ZAMRI (2006) hasonló megállapításra jutott csirkehús esetében.

ZIELBAUER és munkatársai (2016) sous-vide kezelt húsokat elemeztek: a tömegveszteség és a fehérje-állapot kapcsolatát vizsgálták DSC berendezés segítségével. A mérések a hőmérséklet és az idő paraméterek helyes megválasztását célozták, hogy a hús állománya és lédúsága is optimális legyen.

#### **2.4.4 Az elektronikus orr**

Az érzékszerveink közül a szaglás az, amelynek használata során nemcsak a korrallal változó, egészségi állapottól és egyéb külső körülményektől is függő, szubjektív tényezővel kell számolnunk, de a szaglóhám, mint „humán szenzor” a leggyorsabban kifáradó érzékszervünk. A szaglás az ízérzékelésünkre is hatással van, egy különleges eszköz, amelynek pontos működése még nem teljesen tisztázott. Az emberi szaglászerv elektronikus kemoszenzorokkal történő kiváltása komoly előrelépés az illékony komponensek objektív vizsgálatában (GARDNER és BARTLETT, 1992). A módszer vegyszermentes és kevésbé időigényes technika, mint az illékony komponensek pontos beazonosítását is lehetővé tevő gázkromatográfiás módszer. A mérés technika alkalmas lehet hús, tea, bor, méz, kávé vizsgálatára is (LOUTFI et al., 2015).

Az elektronikus orr elnevezés arra utal, hogy a készülékben elektro-kémiai érzékelő-sor és egy minta-felismerő rendszer található, mely képes egyszerű és összetett illatok felismerésére (GARDNER és BARTLETT, 1994). Az elektronikus orr esetében három fő részből beszélhetünk, ezek a mintavevő egység (a szenzorok), a jelfeldolgozó egység és az egyszerű vagy összetett szagok azonosításához szükséges megfelelő mintafelismerő algoritmus. Az egyes érzékelők más és más vegyületcsoportokra érzékenyek - hasonlóan az emberi orrban is megtalálható receptorokhoz. A szenzorok működésének alapja a molekulák katalitikus reakcióit követő feltöltődési folyamatokon alapul, a felszíni folyamatok változást indukálnak

a szenzor elektromos ellenállásában, de vannak olyan esetek, hogy a dielektromos állandót, vagy a hőmérsékletet változtatják meg. A műszerben lévő szenzorok anyaga három csoportra osztható, úgy, mint szerves kristályos vagy poli-kristályos anyagok (pl.: félvezetők, fémoxidok), szerves anyagok és polimerek, valamint biológiai anyagok (fehérjék, enzimek). A szerves kristályos szenzorok igen kedveltek az élelmiszervizsgálatokra specializált műszereknél. Lehetnek félvezető fém-oxidok (MOS szenzorok), félvezető fém-oxid tranzisztorok (MOSFET szenzorok), szerves polimer-vezetők (CP szenzorok) vagy piezoelektromos kristályok. A legkedveltebb a MOS és MOSFET érzékelők alkalmazása, mivel ezek függenek legkevésbé a pH és a hőmérséklet változásától, valamint a jelenlevő nedvességtől. Az emberi szaglórendszerhez való még nagyobb mértékű hasonlóságot különböző szenzortípusok egy készüléken belüli együttes alkalmazásával próbálják meg elérni ([www.hhpresearch.blogspot.hu](http://www.hhpresearch.blogspot.hu)). Hátránya ugyanakkor az, hogy az átfedéssel eltérő vegyületcsoportokra szenzitív érzékelők jelválaszai alapján pontos vegyület beazonosítás, komponens térkép nem készíthető. Az illatminták összehasonlítása viszont a kapott szenzor-jelválaszok komplex összehasonlításával objektív módon lehetővé válik. A mérési eredmények kiértékeléséhez és az információ kinyeréséhez többváltozós statisztikai módszerek szükségesek.

Az elektronikus orr-t egy-két évtizedes használata során, számos területen alkalmazták. Az élelmiszeriparon kívül számos iparág használja, kozmetikumok tesztelésére, hatósági vizsgálatokra, orvos-biológiai mérésekre. Az élelmiszeripari alkalmazása során a nyersanyagok és késztermékek minőségellenőrzésére, eltarthatósági vizsgálatokra, a tárolás során lejátszódó folyamatok megfigyelésére, élelmiszerhamisítás beazonosítására, fajtaazonosításra, a frissesség és érettség nyomon követésére vagy a mikrobiális fertőzöttség megállapítására is alkalmas módszer (WILSON és BAIETTO, 2009).

Korábbi, natúr és fűszerezett sertés modellanyagon végzett kutatásom során ugyanazokat az egyszeres és kombinált kéméletes hő- és nyomáskezeléseket alkalmaztam, mint a doktori dolgoztomban szereplő mintákon. Az elektronikus orral mért eredményeket diszkriminancia analízissel értékeltem ki. Sikeresen elkülönültek a kombinált kezelésű minták sorrend szerint és a nyomáskezelés szintje szerint is (KENESEI et al., 2015b).

DALMADI és munkatársai (2015) az eltérő sorrendben alkalmazott kombinált hő és nyomáskezelés hatását elemezték. Az előzőkhöz hasonló megállapításra jutottak a sertés- és marhahús mintákon végzett vizsgálatok alapján.

Sous-vide kezelt bányi illékony komponenseit vizsgálta HS-SPME módszerrel ROLDÁN (2015) ami az elektronikus orr méréssel ellentétben pontos komponens összetételi adatokat eredményezett az eltérő hőmérsékleteken kezelt húsok esetében.

SCHINDLER és munkatársai (2010) 400 és 600 MPa-on nyomáskezelt csirke és marhahús aromaprofilját vizsgálták. Megállapításuk szerint a két nyomás-szint között nincs jelentős eltérés az illékony komponensekben.

### 3 CÉLKITŰZÉS

Kísérleti munkám során céloom a két kéméletes tartósító technológia - a sous-vide és a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés - kombinált alkalmazása során végbemenő fizikai, kémiai, biokémiai és mikrobiológiai változások vizsgálata, az eltérések kimutatása és minél pontosabb meghatározása.

A két tartósító technológia (a kéméletes hőkezelés, a sous-vide, és egy nem-termikus módszer, a HHP) kombinált alkalmazása során milyen új fellépő hatásokkal kell számolnunk? Észlelünk-e az egyszeres kezelésekkel szemben más irányú változásokat? Szinergens hatású-e a hő- és nyomáskezelés együttes alkalmazása?

A dolgozat elkészítése során céloom volt annak megállapítása is, hogy a vizsgálati módszerek közül melyek alkalmasak arra, hogy a kezelt hús minták egyes tulajdonságai közti eltéréseket a leghatékonyabban detektálják.

Választ szeretnék kapni arra vonatkozóan is, hogy a gátelmélet elvét szem előtt tartva, ez a két technológiát kombináló módszer alkalmazható-e a sous-vide termékek eltarthatósági idejének meghosszabbítására és/vagy az élelmiszerbiztonságuk javítására a sertéskaraj esetében.

A fentiek alapján kiemelten vizsgáltam:

- A kezelési sorrend hatását (SV – HHP és HHP – SV)
- A nyomás szint hatását (300 és 600 MPa)
- A tárolási próba során az egyszeres és kombinált kezeléssel készült minták minőségi és élelmiszerbiztonsági paramétereinek stabilitását 2 °C és 8 °C tárolási hőmérsékleten

## 4 ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1 A vizsgálatok alapanyaga és előkészítése

A kísérleteim elvégzéséhez csontozott egész sertéskarajt (hosszú- és rövidkaraj) vásároltam. A *musculus Longissimus thoracis és lumborum* (LTL) két háti izomcsoportot jelöl, melyek gyakran *Longissimus dorsi* – hosszú hátizom elnevezéssel szerepelnek a közlésekben. Az izomcsoport mérete, anatómiai felépítése, viszonylag homogén szerkezete miatt alkalmas a hús témájú kutatások alapanyagaként. Ennek a húsrésznek kiemelendő még az értéke, a kereskedelmi fontossága, a magas fogyasztói kedveltsége és a sokoldalú felhasználhatósága is (KAUFMANN et al., 1990).

4. Táblázat. A felhasznált sertéskaraj alapanyag összetétele, fizikai és kémiai tulajdonságai

Szárazanyag tartalom	(g/100g)	26,71 ± 0,46
Fehérje tartalom	(g/100g)	21,74 ± 0,61
Zsír tartalom	(g/100g)	1,43 ± 0,23
pH		5,97 ± 0,21
Víztartó képesség	mm <sup>2</sup> / mg	2,52 ± 1,75
Szín (CIELab)	L*	48,55 ± 1,32
	a*	6,85 ± 1,58
	b*	1,76 ± 0,45
DSC	denaturációs hő (J/g)	3,09 ± 0,36
Állomány	keményység - tű (N)	2,28 ± 0,39
	keményység - gömb (N)	11,79 ± 0,21
TBA	mg MDA/kg	1,78 ± 0,17
Mikrobiológiai jellemzők	anaerob és fakultatív anaerob TKE (logN/g)	3,02 ± 0,89
	aerob és fakultatív anaerob TKE (logN/g)	3,33 ± 0,46
	<i>L. Monocytogenes</i> TKE (logN/g)	5,33 ± 0,61*

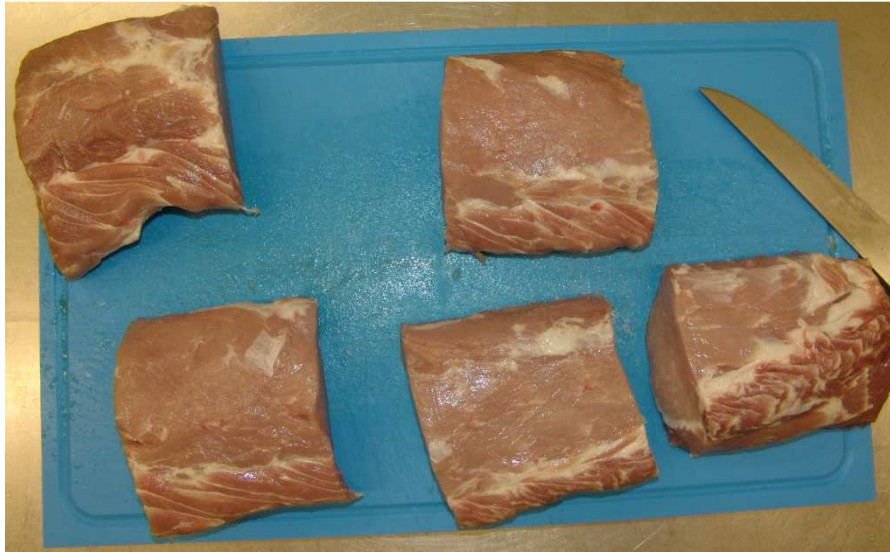
A feltüntetett értékek átlagok ± SD (n=6)

\* A beoltást követően került meghatározásra

A mérések három eltérő állatból származó párhuzamos mintán összesen hat ismétléssel történtek a fizikai és mikrobiológiai vizsgálatoknál. Az ettől eltérő körülményeket a vizsgálati módszernél ismertetem.

Vizsgálataim során összesen nyolc eltérő állatból származó, egész, csontozott sertéskarajt használtam fel. Négy LTL izom a fizikai és mikrobiológiai vizsgálatoknál, további négy a NIR, az elektronikus orr, a zsírsav analízis és a fehérje elválasztásos méréseknél került kezelésre és elemzésre. A mintákat egy budapesti nagykereskedésben szereztem be, minden tétel a Lac-Hús Kft Hajdúnánási telephelyéről származott. Tömegük a csomagoláson feltüntetett érték alapján 2,85 és 4,13 kg között volt. A nyers hús mintán végzett mérések

eredményeit a 4. Táblázat tartalmazza. Az alapanyag tulajdonságai, minőségi paraméterei és összetételi minősítése az AOAC (1990) iránymutatásai és a vonatkozó MSZ. szerint kerültek megállapításra.



9. ábra Sertéskaraj – a darabolás művelete (saját felvétel)

A külső felületi kötő- és zsírszövetek eltávolítása után a mintákat feldaraboltam. (9. ábra) A kezelésre kerülő minták átlagos tömege  $45,87 \pm 4,36$  g volt.

A hús minták Multivac C100 (MULTIVAC Sepp Hagenmüller SE & Co. KG, Germany). berendezéssel vákuumcsomagolásra kerültek egy  $90 \mu\text{m}$  PA/PE tasakba, ( $20 \mu\text{m}$  PA -  $70 \mu\text{m}$  PE, AMCO Kft., Hungary) melynek oxigén permeabilitása  $50 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}$  ( $23 \text{ }^\circ\text{C}/75\% \text{ HR}$ ) és víz/gőz áteresztőképessége  $2,6 \text{ g}/\text{m}^2/24\text{h}$  ( $23 \text{ }^\circ\text{C}/85\% \text{ HR}$ ).

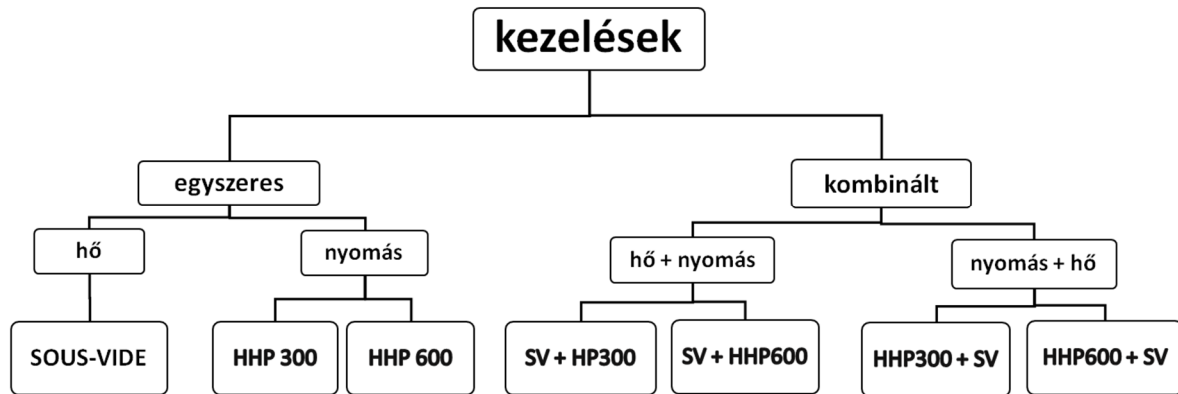
A mikrobiológiai mérésekhez külön minta sorozat készült. A Listeria challenge teszthez (ALVAREZ-ORDONEZ et al., 2015) húsból izolált *Listeria monocytogenes* H3 típust használtam. Az inokulátum előkészítése a kezeléseket megelőző nap történt. A friss tenyészetek BH táplevesben (Merck 1.10493) majd az átmosást követően steril sóoldatban kerültek felhasználásra. A kész, felhasználásra kerülő tenyészet telepszámát Palcam Agar Base (Merck 111755) kiegészítve Palcam Listeria Selective Supplement (Merck 112122) hozzáadásával szélesztéses lemezöntéssel határoztam meg. (inkubálási idő:  $37 \text{ }^\circ\text{C} / 24 \text{ h}$ ).

A minták felülfertőzése a rákövetkező napon a *L. monocytogenes* szuszpenzióval úgy történt, hogy az egyes minták tömegét figyelembe véve a mintában a telepszám a  $10^5$  TKE/g legyen.



## 4.2 Az alkalmazott kezelések

A mintákon hő- és nyomáskezelést alkalmaztam önállóan, egyszeres kezelésként vagy egymás után kombinációban végrehajtva. A kezelések rendszerét a 10. ábra mutatja be.



10. ábra A doktori kutatásom során alkalmazott kezelések áttekintése

### 4.2.1 Egyszeres kezelések

A sous-vide hőkezelést egy 25 literes vízfürdős termosztátban (Labor Műszeripari Művek LP507/1) végeztem 60 °C-os hőmérsékleten 60 percen keresztül.

A hőkezelési paraméterek meghatározása az alkalmazók (BALDWIN, 2012; KELLER, 2008) és a saját korábbi tapasztalataim (KENESEI, 2012; KENESEI et al., 2013) alapján kerültek meghatározásra, melyeket az irodalmi ajánlások is alátámasztanak (SVAC, 1991).



11. ábra Resato FPU 100-2000 HHP berendezés a nyomásfokozó egységgel (b) és a kezelőkamrával (j)

A HHP kezelés során a hús mintákat RESATO FPU-100-2000 (Resato International B.V., Assen, the Netherlands). típusú berendezéssel nyomáskezelttem (11. ábra). A kezelő kamra térfogata 2 liter, a nyomásközvetítő közeg a gyártó által ajánlott RESATO PG Fluid volt. A kezelések során a nyomás-felépülés sebessége 100 MPa/perc volt. A minták nyomáskezelése 300 és 600 MPa nyomásértékeken, öt perces tartási idővel, szobahőmérsékleten történt. A kezelések alatt a minták hőmérséklete az adiabatikus hőmérséklet emelkedést is figyelembe véve, egyetlen esetben sem haladta meg a 28-30 °C-ot. A nyomás felépülési idejét illetve a kezelés végén a dekompreszió idejét nem számítottam bele a kezelési időbe.

A kezelési paraméterek kiválasztása szakirodalmi adatok és gyakorlati tapasztalatok alapján történt. A 300 MPa nyomásérték az a „belépő” szint, aminek már érdemi hatása van a termékek mikrobiológiai állapotára (HOOVER et al., 1989; PATTERSON, 2005; BALASUBRAMANIAM, 2009), ugyanakkor a 600 MPa érték az ipari alkalmazás során is egy általánosan elfogadott kezelési szint a HHP technológia esetében (PICOUET et al., 2011; JOFRÉ et al., 2009; MERMELSTEIN, 1998; PURROY, 2013). Ez a nyomás-szint már alkalmas arra, hogy az élelmiszerek csíraszámát több nagyságrenddel is csökkentse, meghosszabbítva ezzel az eltarthatósági időt. (JOFRÉ et al. 2009)

#### 4.2.2 Kombinált kezelések

A kombinált kezelések a fent ismertetett két kezelés – a sous-vide és a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés - egymás utáni térben és időben elkülönített alkalmazását jelenti mindkét sorrendben. Kísérleteim során alkalmazott kezelések paramétereit az 5. táblázat foglalja össze. A kezelések között eltelt idő legfeljebb 1 óra volt.

5. Táblázat. A kísérleti minták csoportjai és azok jelölése – az egyszeres és a kombinált kezelések paramétereinek bemutatása

CSOPORT	VÁKUUM	HŐKEZELÉS		NYOMÁSKEZELÉS			SORREND
		Hőm., °C	Idő, min	MPa	Idő, min.	Hőm., °C	
SV	+	60	60	-	-	-	-
HHP 300	+	-	-	300	5	környezeti	-
HHP 600	+	-	-	600	5	környezeti	-
SV + HHP 300	+	60	60	300	5	környezeti	Hő + Nyomás
SV + HHP 600	+	60	60	600	5	környezeti	Hő + Nyomás
HHP 300 + SV	+	60	60	300	5	környezeti	Nyomás + Hő
HHP 600 + SV	+	60	60	600	5	környezeti	Nyomás + Hő

Az egyik kezelt mintasorozat a 12. ábrán látható (0 napos minták a kezeléseik után).



12. ábra Két kezelési sorozat mintái, a kezeléseket követően (0.napi minták; balról jobbra: SV, HHP300, HHP600, SV+HHP300, SV+HHP600, HHP300+SV, HHP600+SV)

#### 4.2.3 Tárolási kísérlet

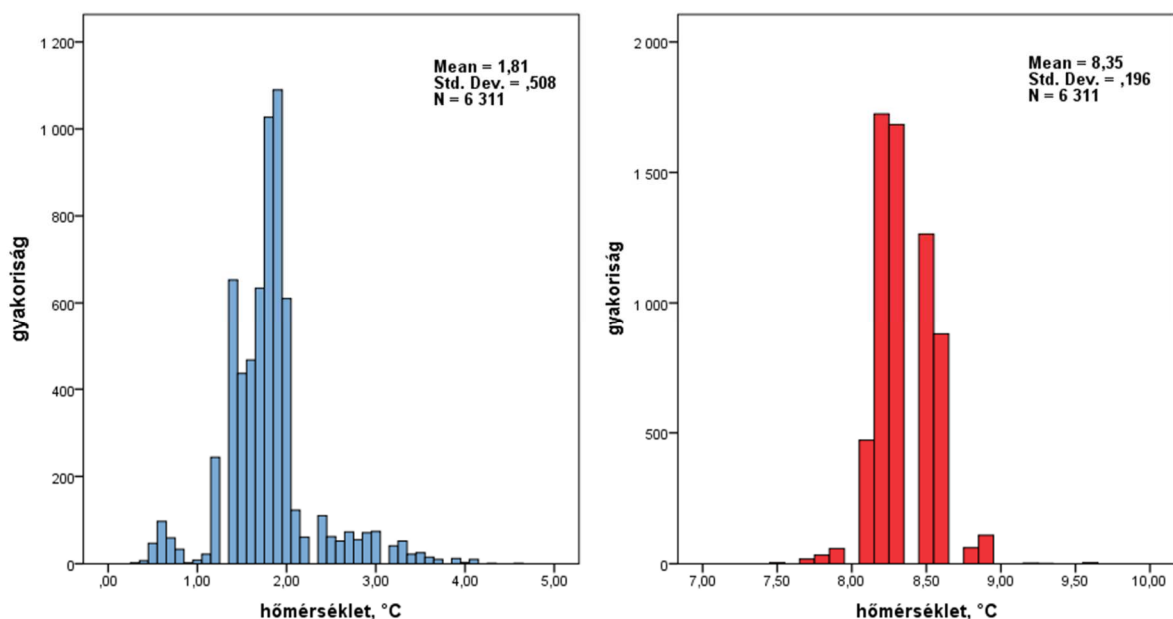
A tárolási próba célja annak megállapítása volt, hogy az eltérő kezelésű hús minták minőségi és fizikai-kémiai tulajdonságai hogyan alakulnak adott tárolási hőmérsékleten. A másik kutatási irány az, hogy a tárolási időszak alatt az alkalmazott kezelések hatása mennyire érvényesül, a kombinált kezelések elősegítik-e a termékek minőségmegőrzését.

A hét különböző kezelést kapott mintát 21 napig tároltam két hőmérsékleten. Az egyik tárolási hőmérséklet az előírásoknak és ajánlásoknak is megfelelő 2 °C volt (SVAC, 1991; BETTS, 1998; FSAI, 2006; FEHÉR, 2003; JOFRÉ et al. 2009).

A másik, a nagyobb hőmérsékletű, 8 °C-os tárolás volt. Ez a hőmérséklet a javasolt tartományon kívül esik, túllépi azt. Az eddigi tapasztalatok szerint az ideális körülményeknél ez jóval nagyobb hőmérsékleti érték (NYATI, 2000). Itt azt vizsgáltam, hogy az egyszeres kíméletes kezeléseket utáni szigorú tárolási paraméterek vajon lazíthatóak-e a kombinált kezeléseket esetében. A minták a három hetes tárolási periódus végén kerültek vizsgálatra.

A tárolás során a hőmérséklet alakulását műszeresen rögzítettem, folyamatosan nyomon követtem. (Extech RHT10 temperature data logger)

A teljes tárolási időszak alatti hőmérséklet eloszlást a 13. ábra mutatja be. A 2 °C-os tárolótér átlaghőmérséklete a tárolási periódus alatt  $1,81 \pm 0,5$  °C, míg a 8 °C-osé  $8,35 \pm 0,2$  °C volt.



13. ábra A hőmérséklet alakulása a 2 °C és a 8 °C-os tárolási időszak alatt.

### 4.3 Alkalmazott vizsgálati módszerek

#### 4.3.1 pH-érték meghatározása

A pH mérést Testo 206 típusú (Testo AG. Németország) kézi pH mérő készülékkel végeztem, mintánként három párhuzamos mérés történt. A készülék a hőmérséklet mérésére is alkalmas, ami a pH erős hőmérséklet-függése miatt fontos adat.

#### 4.3.2 Tömegveszteség meghatározása

A tömegveszteséget a kezelés előtt és a kezelést követően elvégzett tömegméréssel határoztam meg. A tömegmérést KERN PLJ 3500-2NM mérlegen végeztem. A veszteség értékét a minta eredeti tömegének %-ban adom meg.

#### 4.3.3 Szárazanyag tartalom meghatározása

A szárazanyag tartalom meghatározása Sartorius Thermo Control YTC 01L szárazanyag mérő (Sartorius AG. Goettingen, Germany) készülékkel történt. A bemért mintamennyiség 1,5-2,5 g volt. A készülék az MSZ ISO 1442:2000 szabványnak megfelelően 105°C-on tömegállandóságig szárította a mintákat. A mérések három ismétléssel történtek.

#### 4.3.4 Víztartó képesség vizsgálata: préselési próba

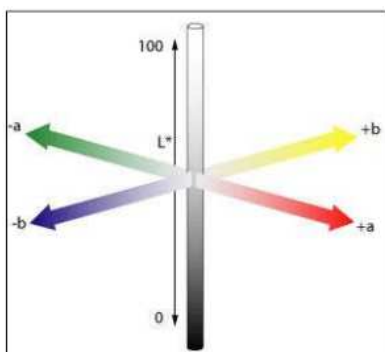
A préselési próbát GRAU és HAMM (1953) néhány pontban módosított módszere alapján végeztem. A módszerrel olyan víztartó képességet határozhatunk meg, mely azt fejezi ki, hogy a minta mechanikai hatásra milyen mértékben képes megtartani saját víztartalmát. A módszer lényege, hogy a préselés (mechanikai hatás) a minta mennyire engedi vagy tartja meg a nedvességét. A vizsgálat során lemértem a karajból vett húsminta tömegét (~1,5-2 mg) rátettem egy ismert tömegű szűrőpapírra, üveglapok közé helyeztem, majd ráhelyeztem egy 0,5 kg-os súlyt. Az 5 perces préselési idő letelte után, a papírt kiszárítottam, a húsból távozó nedvesség által hagyott folt tömegét lemértem, majd meghatároztam a folt felületét. A víztartó képesség értékek kiszámítását a bemért hús tömege és a préselés során kialakult folt felületének felhasználásával végeztem. Az eredmény mértékegysége [ $\text{mm}^2/\text{mg}$ ], ami azt fejezi ki, hogy egységnyi tömegű hús-minta mekkora foltot hagy a szűrőpapíron. Minél nagyobb a folt mérete annál kevésbé képes az adott minta a saját nedvességtartalmának megtartására.

#### 4.3.5 Színmérés

A színmérés Minolta CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta, Inc. Japan) tristimulusos kézi műszerrel történt. (14. ábra) A mérés elve: a készülék a mérőfejében található xenon ívlámpát használja fényforrásként és a mérendő felületről visszaverődő hullámokat nagy szenzitivitású szilikon cellák érzékelik. A mért színinger összetevők a CIELAB (CIE, 1978) rendszer szerint meghatározott  $L^*$  (világossági-),  $a^*$  (vörös-zöld-),  $b^*$  (sárga-kék-) színtényezők. E három kombinációja pontosan definiál egy színt a színinger térben. (15. ábra) A műszer kalibrálását a



14. ábra Minolta CR-400 színmérő (forrás: Minolta)



15. ábra CIELab színinger tér (CIE, 1978)

mérések előtt, a gyártó által tartozékként mellékelt kalibráló fehér standard (CRA43) táblára végeztem.

A mérések 8 mm átmérőjű (aperture) mérőfelülettel, „illuminant C” megvilágítási módban történtek. A „C” sugárzéeloszlás a 6774 K színhőmérsékletű déli napfénynek felel meg. A megfigyelési geometria (observer) szöge  $2^\circ$  volt. A mérés minden esetben a minták frissen feltárt (vágott) belső felületén történt.

A három alapérték meghatározása után kiszámoltam a színínger különbséget ( $\Delta E^*$ ) is az

$$\Delta E_{ab}^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{\frac{1}{2}} \quad (\text{LUKÁCS, 1982})$$

ahol:  $\Delta E^*$  a színkülönbség,

$\Delta L^*$  a két színpont  $L^*$  értékének különbsége ( $L^*$ minta 1 –  $L^*$ minta 2),

$\Delta a^*$  a két színpont  $a^*$  értékének különbsége ( $a^*$ minta 1 –  $a^*$ minta 2),

$\Delta b^*$  a két színpont  $b^*$  értékének különbsége ( $b^*$ minta 1 –  $b^*$ minta 2).

Ezen számított távolság ( $\Delta E^*$ ) értékeket megfeleltettem az alábbi kategóriák szerint (Lukács, 1982), hogy az emberi szem mennyire képes érzékelni a műszerrel mért színeltéréseket:

**nem észrevehető**, ha a  $\Delta E^*$  értéke 0 - 0,5

**alig észrevehető**, ha a  $\Delta E^*$  értéke 0,5 - 1,5

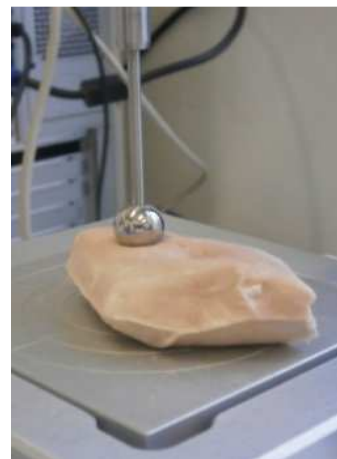
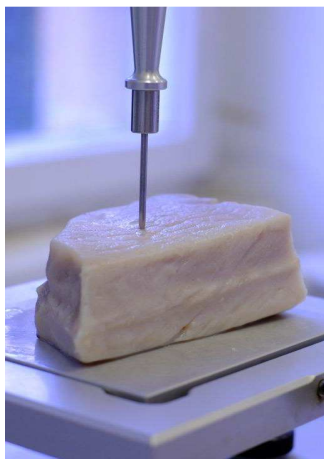
**észrevehető**, ha a  $\Delta E^*$  értéke 1,5 - 3,0

**jól látható**, ha a  $\Delta E^*$  értéke 3,0 - 6,0

**nagy**, ha a  $\Delta E^*$  értéke 6,0 - 12,0

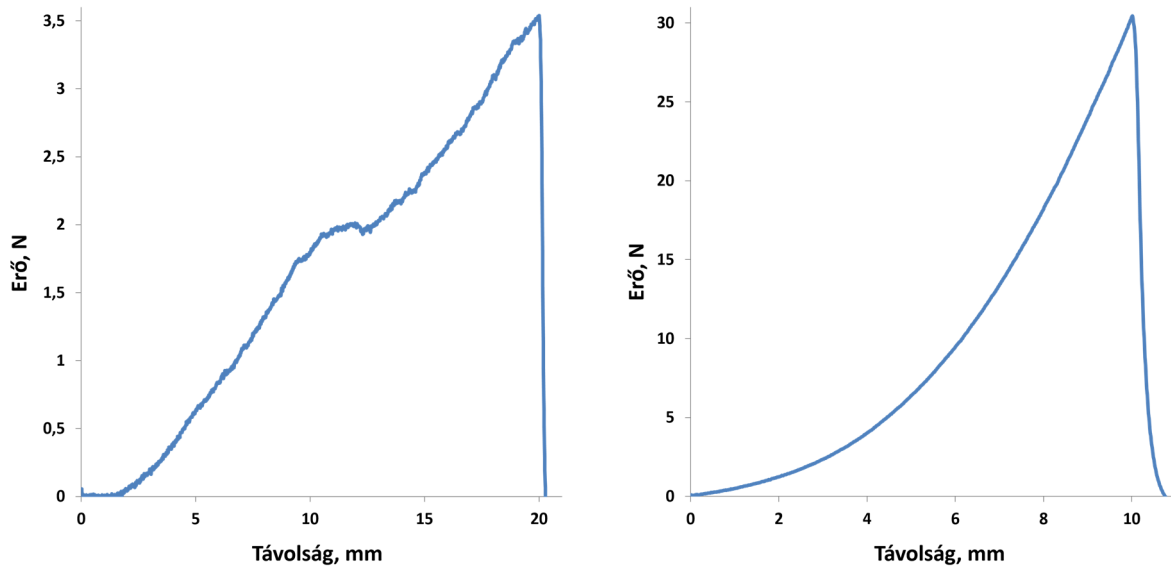
#### 4.3.6 Állományváltozás mérése

Az állománymérést egy 50kg-os erőmérő cellával felszerelt SMS TA.XT. Plus (Stable Micro Systems Ltd. Godalming, Surrey, UK) típusú műszerrel végeztem (16/a. ábra). A minták keménységének meghatározásához a P2/N típusjelű 2 mm átmérőjű tű mérőfejet használtam. (16/b. ábra) A P/0,5S típusjelű ½” átmérőjű gömb mérőfejjel (16/c. ábra) a tapintást, az élelmiszer megnyomását modellező roncsolás mentes mérést végeztem.



16. ábra SMS TA XT plus állománymérő berendezés és a mérőfejek: P2/N tű; P/0.5S gömb

A mérések során a fej sebessége a mérési fázis előtt és alatt is 2mm/s volt. Az adatrögzítés 0,049N erő értéknél (trigger force) indult. A mérések szobahőmérsékletű mintákon történtek (19 °C ±1,5 °C). A tű mérőfejjel történő roncsolásos vizsgálat során a tű beszúrása 20 mm, míg a gömb mérőfej estében a benyomás 10 mm mélységig történt.



17. ábra A mérés során felvett egy-egy jellegzetes állománygörbe:  
tű (b) és a gömb (j) mérőfejjel

A mérés során felvételre került az erő-távolság görbe. Egy-egy jellegzetes állománygörbe a 17. ábrán látható. Megfigyelhető a két görbe közötti alapvető különbség a roncsolásos (tű) és a mintát csak kissé összenyomó (gömb) mérőfejnél. Ebből az adatsorból számítottam ki mindkét mérőfej esetében a két-két állományjellemzőt: (i) a minta megszúrása/benyomása során mért legnagyobb erőt ( $F_{max}$ , N) és (ii) a mérőfej 20/10 mm mélyre történő beszúrásához/benyomásához szükséges munkát (W, J). Az állománymérés során egy mintához hat párhuzamos mérés tartozik. Az adatok kiértékelését a berendezéshez tartozó Texture Exponent 32 szoftverrel végeztem el.

#### 4.3.7 Lipid oxidáció mérése – TBA értékek meghatározása

A lipid-peroxidáció mértékének egyik széles körben használt jelzőszáma a másodlagos oxidációs anyagcseretermék detektáló módszer, a TBA-szám (tiobarbitursav) vagy TBARS érték (tiobarbitursavval reagáló komponensek). Az irodalomban ismertetett módszer (BOTSOGLOU et al., 1994) alapján vizes-savas extrakcióval választjuk el a TBA reaktív vegyületcsoportokat. A mérés során a húspanban lévő MDA (malondialdehid) a TBA-val (tiobarbitursav) reagálva egy rózsaszínű komplexet képez, mely spektrofotometriásan

mérhető. Ez a mérés sajnos nem teljesen szelektív, mivel a TBA-val egyéb dialdehidok is reagálnak, ugyanakkor a változás mértéke jól szemlélteti a lipid peroxidációs folyamatok előrehaladását mivel valamennyi reagáló vegyület a lipid peroxidáció során keletkezik. (PIKUL et al., 1989)

A TBA szám meghatározásához a következő vegyszereket használtam: 25%-os triklór ecetsavat, 0,6%-os tiobarbitursavat (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Németország) és 10 ml/l tetra-etoxi-propánt (TEP) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Németország). A mérés során 4g aprított hús mintát MSE homogenizátorban 20 ml desztillált víz hozzáadásával homogenizáltam, majd hozzáadtam a 25%-os TCA oldatot és 4 °C-on



18. ábra Hitachi U-2900  
Spektrofotométer

30 percig rázattam. Zárható centrifugacsőbe áttöltve 4°C-on 10 percig Beckmann centrifugában 5000 1/min fordulatszámom centrifugáltam. A felülúszót leszűrtem. A szűrletből 3,5 ml-hez adtam 1,5 ml 0,6%-os TBA oldatot, melyet 30 percig 95 °C-on melegítettem. Az elszíneződött keveréket azonnal lehűtöttem és Hitachi U-2900 típusú spektrofotométerrel 532 nm-en fotometráltam. (18. ábra)

A kalibrációs egyenes felvételéhez a fenti metódus szerint, de a szabad levegőn kevésbé instabil 1,1,3,3 tetra-etoxi-propánt (TEP) használtam, melynek savas hidrolízise során malondialdehid keletkezik. A TBA-értéket a 0, 1, 5, 10 ml/l TEP oldatokon mért abszorbancia (Abs) segítségével a következő empirikus összefüggésből számítottam:  $MDA (mg/kg) = (Abs - 0,0175)/0,0122$ .

#### 4.3.8 A DSC termoanalitikai vizsgálat

A húsmintákban a fehérjék denaturációs állapotának nyomonkövetése egy SETARAM micro DSC III differential scanning calorimeter berendezéssel történt (SETARAM Instrumentation Caluire, France). (19. ábra) A szkennelt hőmérséklet tartomány 20 és 95 °C között volt. A felfűtési sebesség 1 °C/perc. A műszer mintatartója 1 cm<sup>3</sup> térfogatú, mely elégséges helyet

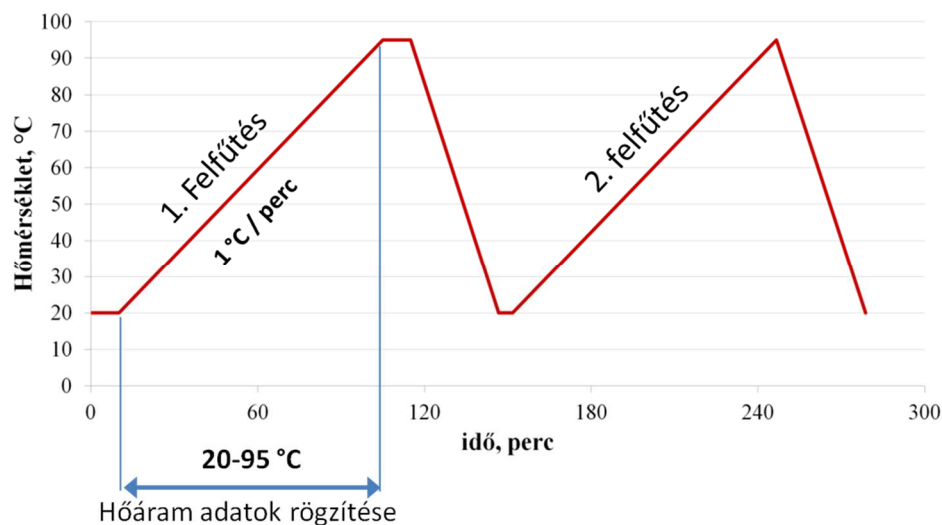


19. ábra Setaram microDSC III



biztosít a húsminták számára. Méréseim során referenciaként az ismert hőfizikai tulajdonságú desztillált vizet használtam ( $m=0,7445\text{g}$ ). A mintatartóba ezzel a referenciával 3 tizedes jegyig megegyező tömegű hús mennyiséget mértem be KERN ABJ 220-4M analitikai mérlegen.

A DSC méréshez szükséges mintákat közvetlenül a hő- és nyomáskezelések és a hús-minták lehűtése után vákuum csomagolva lefagyasztottam és  $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltam a mérés elvégzésének időpontjáig. A mérések a kezelést és tárolást követő három héten belül megtörténtek. A fagyasztott mintákból apróra vágott húsdarabkákat használtam a méréshez és a lehető legjobban tömörítve légzárvány mentesen helyeztem a mintatartó aljába.



20. ábra Az alkalmazott DSC hőmérséklet-program grafikus képe

A minták egymást követően kétszer kerültek felfűtésre a  $20\text{-}95\text{ }^{\circ}\text{C}$  hőmérséklettartományban. Az első felfűtés során bekövetkezik a fehérjék denaturálódása – ennek a változásnak a termodinamikai jelenségeit (hőfejlődés, hőelnyelés) rögzíti a műszer. A visszahűtés utáni második felfűtés során megbizonyosodhatunk arról, hogy a mintánkban a fehérje denaturáció irreverzibilis volt. Ebben a szakaszban a minta zsírtartalmáról is egyértelműbb adatot nyerünk, mivel a fehérjékben már további változás nem történik. A zsírok olvadásakor jelentkező csúcsok a fehérjéket célzó mérést zavarják, a detektálható hőáram értékeket módosítják, elsősorban a miozin endoterm jele esetében. A szilárd-folyékony állapotváltozás a denaturációhoz hasonlóan endoterm folyamat, a sertészsír esetében  $35\text{-}45^{\circ}\text{C}$  közötti tartományban jelentkezhet.

A hőmérséklet program grafikus képét a 20. ábra mutatja. Az első felfűtés 1 °C/perc sebességgel történt, 5 perces hõn-tartással 95°C-on, míg a lehütések, illetve a második felfűtés 3 °C/perc sebességű volt. A két felfűtés között a mintát 5 percig 20 °C-on tartotta a berendezés.

A mérés során a rögzített hõáram-görbék segítségével meghatároztam az egyes minták fehérjetartalmának a folyamat során a 30-90 °C tartományban bekövetkező entalpiaváltozását. A görbék kiértékelése a microDSC III berendezéssel kompatibilis gyártói SETSOFT2000 és Calisto programok segítségével illetve PQS adatredukciós módszerrel történt.

#### 4.3.9 Poliakrilamid-gélelektroforézis vizsgálat (SDS-PAGE)

Az SDS-PAGE elektroforetikus vizsgálatok LAEMMLI (1970) által kidolgozott néhány pontban módosított módszere alapján történtek. A miofibrilláris és a szarkoplazma fehérjekivonatokat KRETZSCHMAR (1995) eljárása szerint készítettem. A húsmintákat gépi aprítás után sóoldattal (1g hús + 2 ml 0,05 M NaCl oldat) homogenizáltam 13500 1/min fordulatszámom 3 percig (Ultra Thurrax T25, Ika Werk Staufen, Germany). A minták melegedését elkerülendő a homogenizátor mintatartókat jégágyban hűtöttem az aprítási folyamat alatt.

A homogenizált szuszpenziót 10000g fordulaton 15 percig centrifugáltam (Beckman J2-21, California, USA). A felülúszót leszűrtem – ezt a kivonatot használtam a szarkoplazma fehérjék vizsgálatához. Az üledéket egyszer átmostam 0.05 M NaCl oldattal, majd leszűrtem. A miofibrilláris fehérjék kinyeréséhez az üledéket 2 ml 0.7 M NaCl oldattal egy percen át homogenizáltam. Az így kapott homogenizátumot 15 percig centrifugáltam. A felülúszót leszűrve megkaptam a miofibrilláris fehérjéket tartalmazó kivonatot. (21. ábra)



21. ábra Az egyszeres és a kombinált kezelésű sertéskaraj minták előkészítése SDS-PAGE vizsgálatához: miofibrilláris fehérjekivonatok

A fehérjekivonatokhoz 2x Laemmli puffert és 2-Mercaptoetanolt adtam. A szarkoplazma fehérjéknél 20x hígítást, a miofibrilláris fehérjéknél 2x hígítást alkalmaztam. Az így kapott mintaoldatokból 10-10  $\mu$ l-t pipettáztam a gyűjtőgél zsebeibe.

4%-os gyűjtőgél és 15%-os elválasztó gél használtam a futtatáshoz. A mérésnél használt standard: Precision Plus All blue volt (Bio-Rad). A sztenderdben 10 ismert molekulatömegű fehérjeminta található a 250 kDa - 10 kDa méret intervallumban. A minták futtatását 160V állandó feszültség alatt Bio-Rad Mini-PROTEAN 4 Cell (Biorad, USA) típusú berendezéssel végeztem. A szétválasztási folyamat végét az jelezte, amikor a brómfenol-kék front vonal elérte a gél alsó szélét. A futtatás után a géleket 30 percig „Coomassie Brilliant Blue” (R250, Biorad) 0,2%-os festékkoldattal színeztem. A kész gélek mosás után kerültek szkennelésre és kiértékelésre a Gel Doc XR Scannerrel (transz-white átvilágítási módban) és a berendezéshez tartozó Quantity One (ver.4.6.8.) szoftverrel (22. ábra). A felhasznált analitikai tisztaságú oldószereket és vegyszereket a Sigma, a Reanal Finomvegyszergyár Rt. és a Bio-Rad Magyarország Kft-től szereztem be.



22. ábra Bio-Rad Mini-PROTEAN 4 és a Gel Doc XR Scanner

#### 4.3.10 Zsírsvav összetétel meghatározása

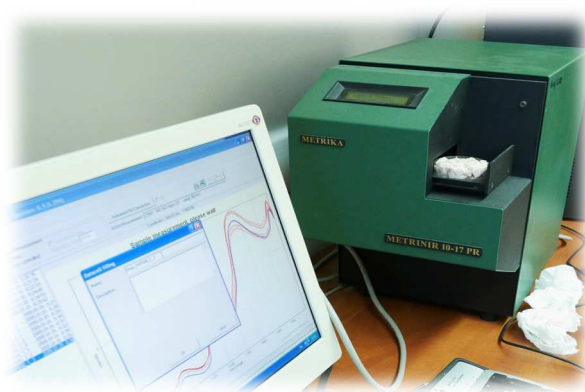
A zsírok extrakciója FOLCH et Al. (1957) módosított módszere alapján, a zsírsvavösszetétel meghatározása a Kaposvári egyetem saját mérési protokollja szerint került elvégezésre. A liofilizált mintákból történő mintaelőkészítést a Kaposvári Egyetem Állattudományi Kar, Mezőgazdasági Termékfeldolgozás és Minősítés Tanszék Technológiai Laboratóriumának segítségével végeztem el. Az egyes mintákból kb. 300 mg-ot Erlenmeyer lombikban, 20 ml 2:1 metanol-kloroform elegy hozzáadásával homogenizáltak. Az elegy elkészítéséhez ultra-

tiszta oldószereket (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, (Németország) alkalmaztak és 0,01 wv%-os butil-hidroxi-toluolt adtak hozzá antioxidánsként. A zsírokból sav-katalizált ( $H_2SO_4$ ) módszerrel állítottak elő zsírsav metil-észtereket (CHRISTIE és HAN, 2010). A módszert kvantitatív, amelyhez nonadekánsav (C19:0) belső standardot használtak. A méréseket Shimadzu 2010 gázkromatográfiás berendezéssel végezték el, amely SP-2380 (Supelco, Bellefonte, USA) típusú kapilláris kolonnával (30 m x 0,25 mm belső átmérő x 0,20  $\mu$ m) és lángionizációs detektorral (FID 2x10<sup>-11</sup>) volt felszerelve. A gázkromatográfiás körülmények a következők voltak: injektor hőmérséklete: 270 °C, detektor hőmérséklete: 300 °C, hélium áram: 28 cm / 66 sec. A hőprogram a következő volt: 80-205 °C: 2,5 °C / perc, 5 perc 205 °C, 205-250 °C-10 °C / perc, 5 perc 250 °C-on. Az egyes zsírsavak azonosításához ismert összetételű zsírsav standard keveréket (Mixture ME100 (90-1100, Larodan Fine Chemicals AB, Svédország)) használtak.

#### 4.3.11 Közeli infravörös spektroszkópia – NIR

A méréseket a magyar fejlesztésű, METRIKA NIR készülékkel végeztem (METRINIR 10-17 PR). Ez a berendezés a 700-1700 nm-es közeli infravörös frekvenciatartományban mér (23. ábra).

A mérés során a spektrumokat a fenti intervallumban, transzflexiós módban, 2 nm-es lépésközzel rögzítettem a berendezés saját MetriNIR® szoftverének segítségével. A húsminták nedvesség tartalmát liofilizálással eltávolítottam és porított formában használtam a mérés során (24. ábra). A minták két független betöltéssel, 3-3 forgatással kerültek vizsgálatra. A mintatartó tálka elforgatása 120° volt - minden mérés után azonos irányban. Így az adatértékelés során minden mintához hat spektrum-felvétel tartozott. Az 55 mm átmérőjű mintatartóba az előzőleg liofilizált és porított minták egyenletes rétegben kerültek betöltésre. A berendezést minden mintasorozat előtt kalibráltam. A NIR spektrumok kezelése és kiértékelése több lépcsőben történt. A mérés során rögzített adatsorokat exportáltam majd az Unscrambler szoftver segítségével a spektrumok simítása (Savitzky-Golay szűrővel: 2-2 jobb-bal) és a 2. derivált spektrum-adatsor képzése következett. Az elvégzett simítás a spektrális zaj csökkentését szolgálja, de ez a 2-2 szomszédos pontot átlagoló függvény-transzformáció az információtartalmat még nem



23. ábra METRINIR 10-17 PR készülék

befolyásolta. Az így kapott spektrális adatsor többváltozós statisztikai kiértékelése az IBM SPSS (Ver. 20, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) szoftverrel történt. Főkomponens analízis (PCA) és diszkriminancia analízis (CDA) segítségével.



24. ábra A minták mérés előtti aprítása

#### 4.3.12 Elektronikus orr vizsgálat



25. ábra NST 3320 elektronikus orr

A húsmintákat Applied Sensor Technology NST-3320 típusú elektronikus orr segítségével vizsgáltam. (25. ábra). A 3x7 mintám mindegyikéből 3-3 üvegcsényit készítettem elő. Egy 30 ml térfogatú üvegcsébe 4 g hús került bemérésre, ügyelve arra, hogy az aprítottság foka minden esetben azonos legyen, így közel azonos volt a mintahalmazok fajlagos felülete. Az üvegek a teflon bevonatú záróelemmel és kupakkal lezárva készen álltak a mérésre. (26. ábra).

A mérésekhez használt NST 3320 típusú elektronikus orr (Applied Sensor Technology, Svédország) 23 szenzorból álló érzékelősorral mér. Ebből 10 katalitikus fémérzékelő (metal oxide semiconductor field effect transistor, MOSFET), 12 fém-oxid félvezető (metal oxide semiconductor, MOS) és egy relatív nedvességtartalmat meghatározó szenzor.



26. ábra Elektronikus orr vizsgálatra készült karaj minták és a mintatartó üvegcsék

Tiszta referenciagázként szárítóoszlopon (szilika gél) és aktív szén oszlopon átáramoltatott környezeti levegő szolgált. A gázáramlás sebessége 50 ml/perc volt. Az alapvonal felvétele 10 másodpercig tartott, amit 30 másodperces mintagáz áramoltatás követett. A szenzorok regenerálódása 260 másodpercet vett igénybe és egy 60 másodperces öblítéssel egészült ki. A mérésig 20 °C-on tartott minták hőmérsékletét 30 °C-ra emeltem, és 15 percig ott tartottam, hogy a head-space minél jobban feldúsuljon illékony komponensekben. A tizenöt perces termosztálás biztosította a minták azonos hőmérsékletét is. A szenzorokként rögzített adatsorból mérésenként az alapvonal és a maximális jelintenzitás különbségét használtam fel a többváltozós statisztikai elemzés bemeneti adataként.

#### 4.3.13 Mikrobiológiai vizsgálatok

A 0. napon a nyers alapanyag minősítése, mikrobiológiai állapotának ellenőrzése és a kezelt minták vizsgálata történt. A második vizsgálati időpont a 2 °C és 8 °C-os hőmérsékletű tárolási periódus végén, a 21. napon volt. Meghatározásra került az aerob és anaerob összcsíraszám valamint a *L. monocytogenes* száma (TKE/g).

#### Mezofil anaerob és fakultatív anaerob baktérium szám meghatározása

A húsmintákat hígító oldattal (1 gramm pepton, 0,85 gramm NaCl, 1000 ml desztillált víz) stomacherben homogenizáltam, majd a homogén elegyből tizedelő hígítási sort készítettem. A hígítási sor megfelelő tagjaival lemezöntést végeztem RCM (Reinforced Clostridial Medium) agarral. A készített táptalajhoz tetrazólium-kloridot (TTC) adtam, hogy megkönnyítsem a telepek számlálását, mivel a TTC-t a mikroorganizmusok redukálják, így azok piros színű termékeket, telepeket hoznak létre (27. ábra).



27. ábra Leoltott lemezek - az összcsíraszám meghatározása (saját kép)

A lemezeket anaerosztátba helyeztem – Anaerocult A-val, mely segít létrehozni és fenntartani az anaerob környezetet. A mintákat 30 °C-on 24-48 óráig inkubáltam.

#### Mezofil aerob és fakultatív aerob baktérium telepszám meghatározása

A meghatározás menetét a 4.3.13.1.-es pontban leírtak szerint végeztem, annyi különbséggel, hogy RCM táptalaj helyett TGE (Tryptone Glucose Extract) agarral történt a leoltás, és anaerosztát helyett aerob módon történt a lemezek inkubálása.

### ***Listeria monocytogenes* telepszám meghatározása (challenge test)**

A feldarabolt karaj mintákat beoltottuk *Listeria monocytogenes* H3 törzs szuszpenziójával  $10^5$  sejt/g induló sejtszámra, majd 90 µm-es laminált poliamid-polietilén fóliákban levákuumoztuk őket. Kontrollként *Listeria* mentes (beoltatlan) karajt használtunk. A minták *Listeria monocytogenes* számának meghatározása TAL (Thin Agar Layer) módszerrel történt. A TAL módszer lényege, hogy a szelektív tápagart (Palcam agar) felülrétegezzük egy nem szelektív táptalajjal (TGE agar). Ezzel elérhetővé válik a sérült sejtek regenerálódása is, ugyanakkor a szelektivitást okozó összetevők átdiffundálnak a nem szelektív táptalajba. Ezzel az eljárással el lehet különíteni a *Listeria*-t a termékben jelenlévő többi mikroorganizmustól (BELÁK et al., 2011). Ezzel párhuzamosan felülrétegzés nélküli Palcam agarra is leoltottam, amin csak az ép, sérülésmentes sejtek képesek növekedni. A kétféle lemezen kapott sejtszám különbségéből meghatároztam a sérült sejtek számát. Az így elkészített lemezeket 24-48 órán át inkubáltam 37 °C-on.

#### **4.4 Alkalmazott statisztikai programok, módszerek**

Az eredmények kiértékeléséhez az alap statisztikai módszereknél (átlag, szórás, eloszlás) a Microsoft Excel programot használtam. Az eredményeket egy- és kétváltozós varianciaanalízissel és többváltozós statisztikai módszerekkel is értékeltem. A többváltozós módszerek közül Lineáris kanonikus diszkriminancia (CDA) elemzést alkalmaztam a NIR, az elektronikus orr és a zsírsavanalízis eredményeire. Főkomponens elemzést (PCA) végeztem a mért tulajdonságok komplex kiértékeléséhez (IBM SPSS. Ver. 20, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA).

A lineáris kanonikus diszkriminancia-analízis (CDA) egy felügyelt statisztikai módszer, amely a megfigyeléseket azok egyedi jellegzetességei alapján az előre definiált csoportok valamelyikébe sorolja. Az elemzés során az a cél, hogy a csoportok közti variancia maximális legyen és a csoporton belüli pedig a lehető legalacsonyabb szinten maradjon. A csoportok így lesznek a lehető legjobban elkülöníthetőek. A csoportba sorolást a diszkriminancia analízis több tulajdonság alapján végzi - kiválasztja azokat a változókat, amelyek a csoportok különbözőségét a legjobban magyarázzák. (DALMADI et al., 2007)

A főkomponens elemzés ezzel szemben egy nem felügyelt adatredukciós módszer. Ennél a módszernél az összes magyarázott variancia maximalizálása a cél. A csoportok kialakulása természetes módon történik meg az elemzés során. A számos mérési változóból képzett főkomponensek kialakítása úgy történik, hogy az első főkomponens magyarázza a csoport

varianciájának legnagyobb hányadát. A második az elsőre merőlegesen helyezkedik el a statisztikai térben. A sorban következő főkomponensek a fennmaradó varianciát magyarázzák csökkenő sorrendben. Az értékes információt hordozó főkomponensek erősségének mérőszáma a saját érték. Ez minél nagyobb annál erőteljesebb a magyarázó értéke. A kiértékelés során az 1-nél magasabb saját értékű komponensek kerülnek érdemi feldolgozásra. (DALMADI et al., 2007)

#### **4.5 A PQS adatelemzés**

A PQS adatredukciós és minősítő módszert Kaffka és Gyarmati 1991-ben mutatta be. A módszert elsősorban NIR spektrumok elemzésére használták, de van példa DSC görbék kiértékelésére is (KERTI, 2000). Ez a nemlineáris osztályozó módszer a hagyományosan Descartes-féle derékszögű koordináta-rendszerben felvett spektrumot polár koordináta-rendszerben ábrázolja, ahol a spektrum egyes pontjai null-vektorok súlytényezőiként írhatók le. A szögelfordulás a hullámhossznak, vagy a DSC görbe esetében a hőmérsékletnek, a vektor hossza, azaz a sugár pedig az abszorbanciának (NIR) vagy a hőáramnak (DSC) felel meg. Az így kapott spektrumnak meghatározható a tömegközéppontja, vagy minőségpontja (Q), melynek a kétdimenziós (X,Y) minőségsíkon felvett pozíciója a spektrum változásán keresztül az anyagi minőség csekély változására rendkívül érzékenyen reagál (BÁZÁR, 2011). A felvett DSC termogramok (35-90°C) minőségpontjainak meghatározása a PQS32 szoftver (MetriNIR Kutató, Fejlesztő és Szolgáltató Kft. Budapest) segítségével történt. Az egyes minták minőségpontjainak egymáshoz viszonyított pozíciója a hasonlóságot vagy az eltérést mutatja meg (KAFFKA-SEREGÉLY, 2002).

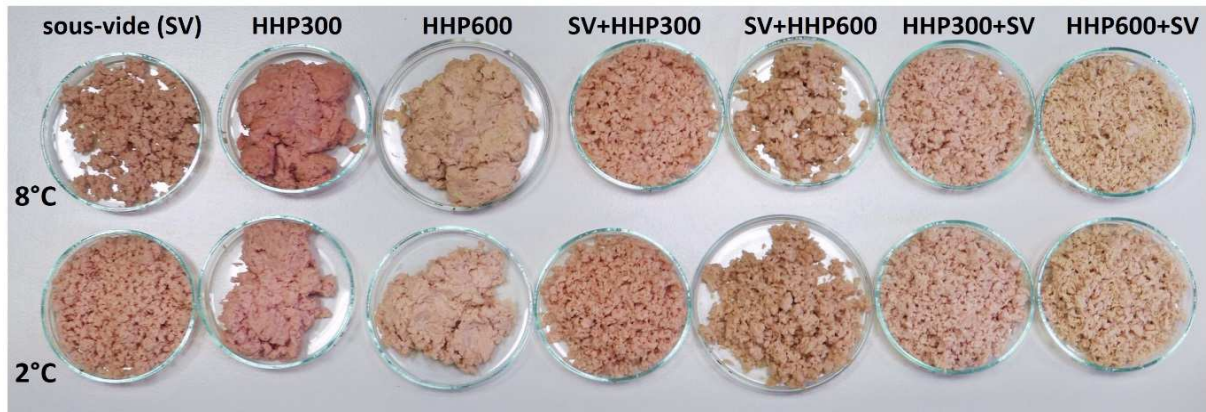
#### **4.6 A mérések és vizsgálatok helyszíne**

A minták nagy hidrosztatikus nyomással és sous-vide technológiával történő kezelése, a fizikai-kémiai vizsgálatok valamint a tárolási próba a Szent István Egyetem Hűtő- és Állattermék Technológiai Tanszékén valósultak meg. A mikrobiológiai vizsgálatot az Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszéken végeztük. A zsírsavanalízis a Kaposvári Egyetem Állattudományi Kar, Mezőgazdasági Termékfeldolgozás és Minősítés Tanszék Technológiai Laboratóriumában történt.



## 5 EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

Az elvégzett mérések eredményeit általában oszlopdiagramon mutatom be a hét kezelés x 3 tárolási pont csoportosításban. A kezelések mintasorrendje minden esetben a 28. szemléltető ábrán is látható elrendezés.



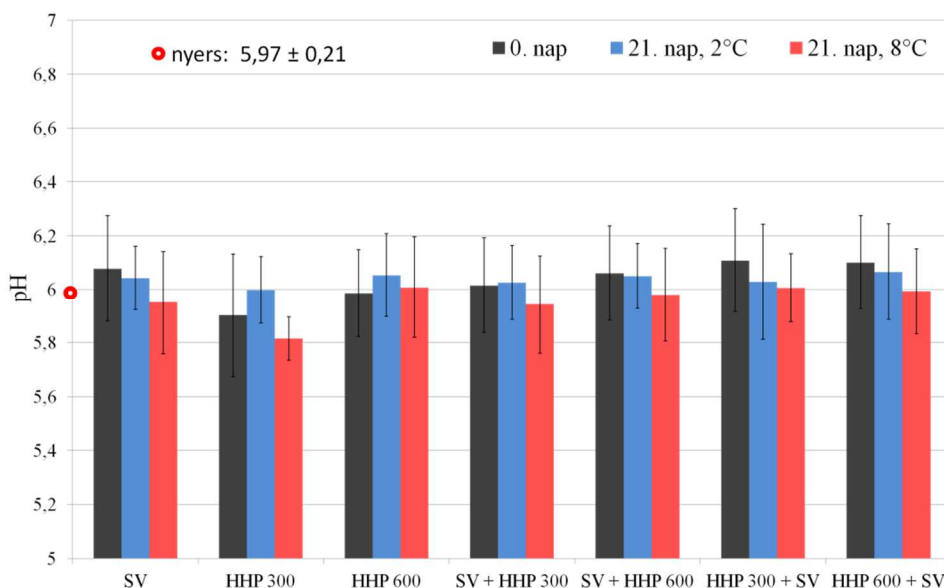
28. ábra A vizsgálatokra előkészített 21 napos tárolt egyszeres és kombinált kezelésű sertéskaraj minták.

A komplex kiértékelést igénylő adatsoroknál a kanonikus diszkriminancia elemzést és a főkomponens elemzést alkalmaztam.

A bemutatott mérési eredményeket és a variancia analízis összehasonlító eredményeit, összefoglaló táblázatos formában az 1., 2., 3. melléklet tartalmazza. A vizsgált tulajdonságok közötti összefüggések elemzésére elvégzett korreláció vizsgálat eredménye a 7. mellékletben kerül bemutatásra.

### 5.1 A pH értékek alakulása

A minták pH értéke jelentős eltéréseket nem mutatott (29. ábra). A kezelések közötti illetve a azonos kezeléseknél a tárolás hatására az abszolút eltérés sehol nem haladta meg a 0,2 értéket. A kombinált kezeléseknél sem a sorrend sem a nyomás szintje nem volt szignifikáns hatással a mért értékekre (1. melléklet). Egy korábbi, sertéskarajon végzett kutatás sem igazolt összefüggést a nyomásérték illetve kezelés sorrendje esetében (HONG et al., 2008) Ugyanakkor az általuk vizsgált szimultán hő és nyomáskezelte mintán mért pH értékek szignifikáns ( $p < 0,05$ ) eltérést mutattak az egymás után alkalmazott kombinált kezelésekkel összehasonlítva, mindkét sorrend esetében.

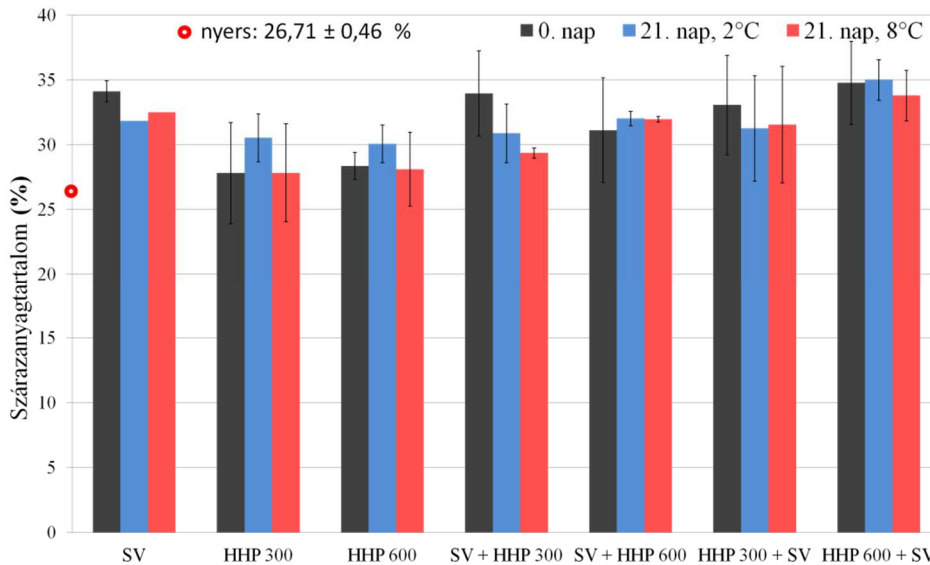


29. ábra A sertéskaraj pH értékének alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

A HHP kezelések következtében sem a CHEFTEL és CULIOLI (1997) által megfigyelt enyhe pH csökkenést sem a SOUZA és munkatársai (2011) által közölt megemelkedett pH értékeket nem tapasztaltam. Ugyanakkor a 8 °C-os tárolási hőmérséklet minden esetben mintegy egy-két tizedértékű pH csökkenést eredményezett a 21 napos tárolási időszak alatt. A mért pH értékek szignifikáns, erős korrelációt mutatnak a szárazanyag (0,655,  $p = 0,001$ ) és az aerob - fakultatív anaerob csíraszám (-0,709,  $p < 0,001$ ). Közepesen erős kapcsolat figyelhető meg továbbá a pH és mindhárom színtényező, a tömegveszteség, az *L. monocytogenes* és az anaerob - fakultatív anaerob csíraszám esetében is. (7. melléklet)

## 5.2 Szárazanyag tartalom mérés eredménye

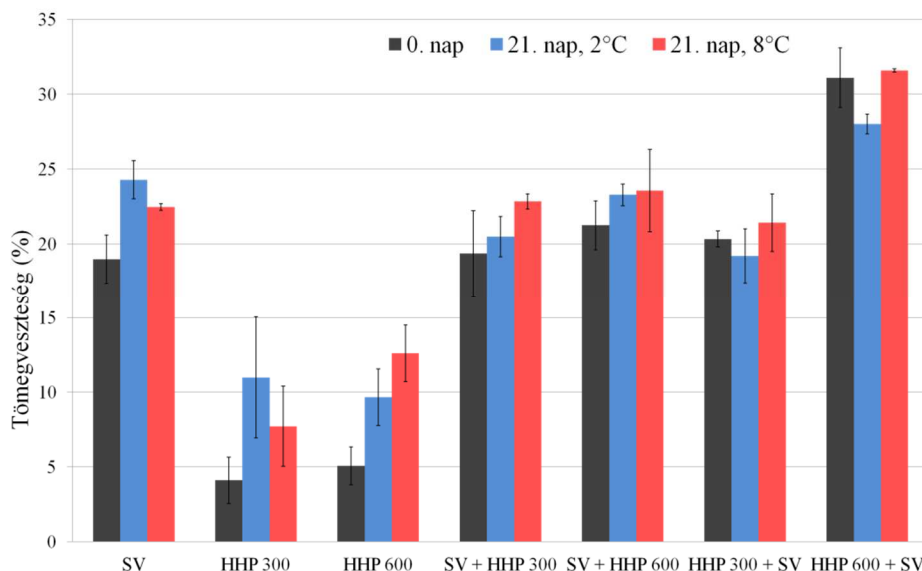
A szárazanyag tartalom mérés eredményei (30. ábra) jelzik a mintákon elvégzett kezelések erősségét. A tárolt mintáknál jellegzetes, tendenciózus változás ugyanakkor nem volt megfigyelhető. Sem a kezelés sorrendje sem a nyomás szintje nem volt szignifikáns hatással a mért értékekre (1. melléklet), aminek a csoportokon belüli magas variancia érték lehet az oka. A várt eredmény a kisebb tömeget veszítő mintánál a kisebb szárazanyag tartalom lenne. Az adatok így csak részben magyarázzák a tömegveszteségnél mért értékeket (31. ábra). Ennek ellenére a két paraméter között erős korreláció (0,809,  $p < 0,001$ ) igazolható. A szárazanyag tartalom további mért jellemzőkkel mutat erős vagy közepesen erős összefüggést: vörös színezet ( $a^*$ ), állományjellemzők, mikrobiológiai eredmények, víztartó képesség. (7. melléklet)



30. ábra A sertéskaraj szárazanyag tartalmának alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

### 5.3 Tömegvesztés értékek alakulása

A húsok tömegének alakulása a nem csak a kezelések utáni eladható termékmennyiség, azaz a kihozatal miatt fontos. A tömegvesztés befolyásolja az élvezeti értéket, meghatározza a húsok egyik legfontosabb érzékszervi tulajdonságát, a lédúságot is.



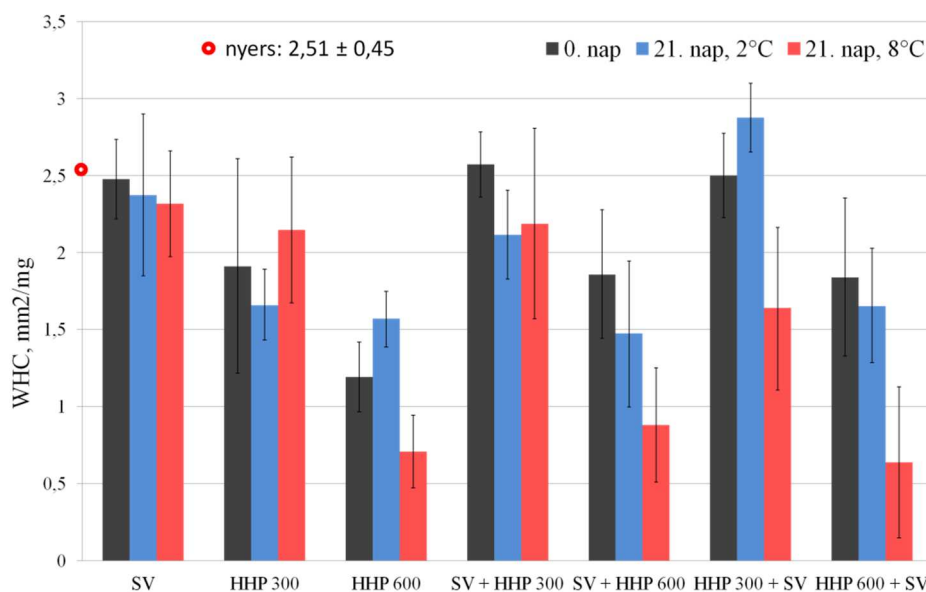
31. ábra A sertéskaraj tömegvesztés értékeinek alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

A kezelések hatására eltérő mértékű tömegváltozások voltak megfigyelhetőek (31. ábra). A sous-vide hőkezelés során fellépő 18-20% körüli tömegcsökkenés az alkalmazott idő-

hőmérséklet viszonylatban a várt tartományban van. A két nyomáskezelés esetében megfigyelhető 5-10%-os értékek a HHP technológia szövetszerkezetre gyakorolt valóban kíméletes hatását mutatják. Megjegyzendő, hogy az egyszeres sous-vide kezeléssel szemben három kombinált kezelés (SV+HHP300, SV+HHP600, HHP300+SV) nem mutat magasabb veszteségértéket, tehát a második kezelésként használt HHP nem növeli tovább a sous-vide kezeléssel okozott léveszteség értéket. A kombinált kezelések közül viszont kiemelkedik a HHP600+SV kezelés, amelynél a másik háromhoz viszonyítva, mintegy 10%-kal nagyobb tömegveszteséget mértem. Mindezek ellenére a varianciaanalízis igen erős ( $p < 0,001$ ) szignifikáns hatást mutatott ki mind a nyomásértékre mind a kezelési sorrendre vonatkozólag. Ennél a mért tulajdonságnál a két paraméter együttes hatása (interakciója) is 99,9%-os szinten nagyon erős szignifikáns hatást mutat (1. melléklet). A tömegveszteség statisztikailag igazolható kapcsolatot mutat az állományjellemzőkkel, az  $a^*$  és  $b^*$  színtényezővel és a korábban már említett pH illetve szárazanyag tartalom értékekkel. (7. melléklet)

#### 5.4 Vízartó képesség (WHC) eredményei

A húsknál elsődleges szempont a víztartalom megtartásának aránya. A kezelések során elengedett víz az 5.3 részben is említett jelentőséggel bír.



32. ábra A sertéskaraj víztartó képességének alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

A mérési módszer technikai megoldásaiból adódóan a szórásértékek igen jelentősek (32. ábra) a víztartó képesség eredményeinél. A kapott értékeket összevetve a tömegveszteség és az entalpia mért eredményeivel arra a következtetésre jutottam, hogy nem azonos intenzitású

kezelések esetében ez a módszer nem alkalmas arra, hogy kezelések között összehasonlításokat tegyünk e paramétert illetően. A várt eredmény az lenne, hogy a kevésbé sérült/denaturálódott fehérjekészlettel rendelkező mintánk víztartó képessége jobb (alacsonyabb nominális értékű). Ezt indokolná az is, hogy a fehérjék vízmegtartó képessége natív állapotukban a maximális. Ezzel szemben az eredményeink nem ezt tükrözik. A mérést megzavarja az, hogy az eltérő kezelések eltérő mértékű tömegvesztést indukálnak. Ez jelentős részben vízvesztést takar. Azok a minták, amelyek már a kezelés hatására nagyobb mértékű vízvesztést szenvedtek el, kisebb foltot hagynak a préselési próba során. Nem meghatározható, hogy a kis terület milyen arányban köszönhető a kisebb víztartalomnak és mennyiben a víztartó képességnek. Ez hamisan azt a látszatot keltheti, hogy a minta víztartó képessége javult.

Ha ettől eltekintve értékeljük az eredményeket, akkor kiemelendő a két 600 MPa-os kombinált kezelés, amelyek a az egyszeres sous-vide kezeléshez viszonyítva jobb értékeket mutatnak és az egyszeres HHP 600 MPa kezeléssel azonos tartományban mozognak. A kezeléseket önmagukhoz hasonlítva elmondható, hogy a tárolás alatt a víztartás erőssége kis javulást mutat, ami magyarázható a fehérjék regenerálódásával.

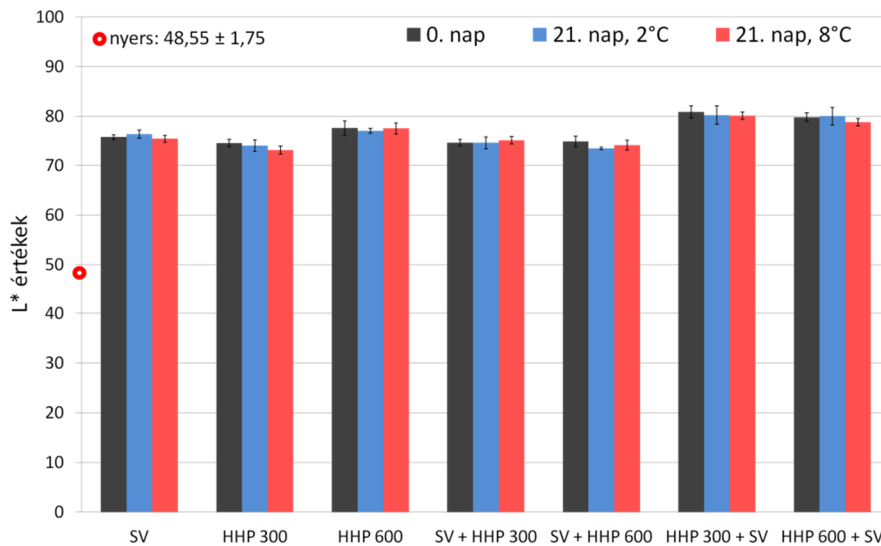
A fenti eredmények ellenére a víztartó képesség esetében erős szignifikáns kapcsolat figyelhető meg a szárazanyagtartalom ( $0,749$ ,  $p < 0,001$ ) és a tömegvesztés ( $0,820$ ,  $p < 0,001$ ) mért értékeivel. Kiemelendő még az erősen szignifikáns, közepesen erős negatív korreláció mindhárom vizsgált mikrobiológiai érték esetében. (7. melléklet)

## **5.5 Színmérés eredményei**

A világossági tényező vizsgálatánál megfigyelhető kisebb különbségek mutatkoznak a kezelések között (33. ábra). A legvilágosabb minták a nagy hidrosztatikus nyomással majd sous-vide technológiával kombináltan kezelt minták voltak. A nyomás értéke sem és a kezelési sorrend sem jelentkező szignifikáns hatásként a kombinált kezeléseknél. Ennek ellenére a HHP kezelést követő sous-vide kezelés mintegy 5-6 pontértékkal világosabb színezetet mutatott függetlenül a nyomás szintjétől.

A sous-vide kezelés, a 300 MPa-os kezelés és a sous-vide kezeléssel kombinált nagy hidrosztatikus nyomású kezelések  $L^*$  értékei közel azonosak. Kissé ( $+4-5 L^*$  érték) világosabb színezetűek azok a kezelések, melyeknél a 600 MPa-os nyomásérték megjelent. Ennek feltételezhető oka az albumin denaturálódása miatt bekövetkező opálosodás. Ez már  $50\text{ }^\circ\text{C}$  felett megkezdődik, de a csúcspontja  $65\text{ }^\circ\text{C}$ -os hőmérséklet közelében van. A  $60\text{ }^\circ\text{C}$ -os

sous-vide hőkezelés és a 300 MPa nyomáskezelés sem teljesen érinti ezt a fehérjecsoportot. Az  $L^*$  értékek közepesen erős negatív korrelációt ( $-0,596$ ,  $p = 0,004$ ) mutatnak a mért  $a^*$  színtényező értékeivel. (7. melléklet) Hasonló kutatás (HONG et al., 2008) – sokkal kisebb  $L^*$  értékek, azaz sötétebb húsminta esetében – ugyanezeket a megállapításokat tette.



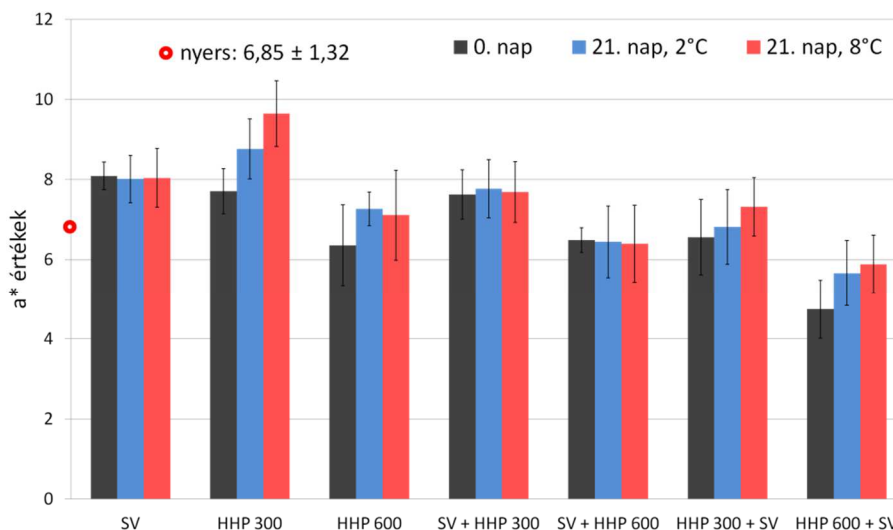
33. ábra A sertéskaraj  $L^*$  értékeinek alakulása belső felületen, a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

Az  $a^*$  értékek a pozitív tartományban a vörös színárnyalatot jelentik. A húsok esetében ez a paraméter jelzi a szín kialakulásért felelős két makromolekula - a hemoglobin és a mioglobin - állapotát. A sertéskaraj alapszínezetére nem a vörös árnyalat jellemző, de a kezelések közötti eltéréseket a 34. ábra ennek ellenére jól mutatja. A legkevésbé érintette a két szín-molekulát az egyszeres 300 MPa-os kezelés. A DSC és a gél-elektroforetikus vizsgálat (41. és 45. ábra) is alátámasztja a fentieket, jól mutatja, hogy ezen kezelés oszlopában figyelhető meg a legintenzívebb jel a fenti fehérjék sávjában (~16-17 kDa sáv – mioglobin és a 64,5 kDa sáv - hemoglobin). A DSC görbe esetében a 300 MPa-os kezelés az 55-65 °C-os tartományban mutatja ezt a csúcsot (40. ábra).

A sous-vide kezelést követő nyomáskezelés az  $a^*$  értéket a 300 MPa estében nem változtatta meg, a nagyobb nyomásérték esetében viszont a piros színtényező csökkenése figyelhető meg. Ugyanez erősebb változásként figyelhető meg a fordított, nyomás+hőkezelés sorrend esetében. A kezelési sorrend és a nyomáskezelés szintje is igen erős ( $p < 0,001$ ) szignifikáns hatással volt a húsminták piros színezetére (1. melléklet). A nyomásérték emelése tehát a piros színezet csökkenését eredményezte. A sorrend tekintetében azok a minták őrizték meg

jobban a piros színezetüket, amelyek a hőkezelést követően lettek nyomáskezelve. HONG és munkatársai (2008) kicsit kisebb mért  $a^*$  értékek mellett ugyanilyen szignifikáns ( $p < 0,05$ ) eltérést mértek a két kezelési sorrend között (SV+300:  $a^*=6,1\pm 0,44$ ; 300+SV:  $a^*=5,43\pm 0,19$ ).

A vörös színezet esetében szignifikáns, erős kapcsolat igazolható a zöld színtényező ( $0,804$ ,  $p < 0,001$ ) és a TBA szám ( $0,796$ ,  $p < 0,001$ ) között. Kiemelendő továbbá a közepesen erős korreláció a DSC entalpia értékekkel ( $0,614$ ,  $p=0,003$ ). (7. melléklet)

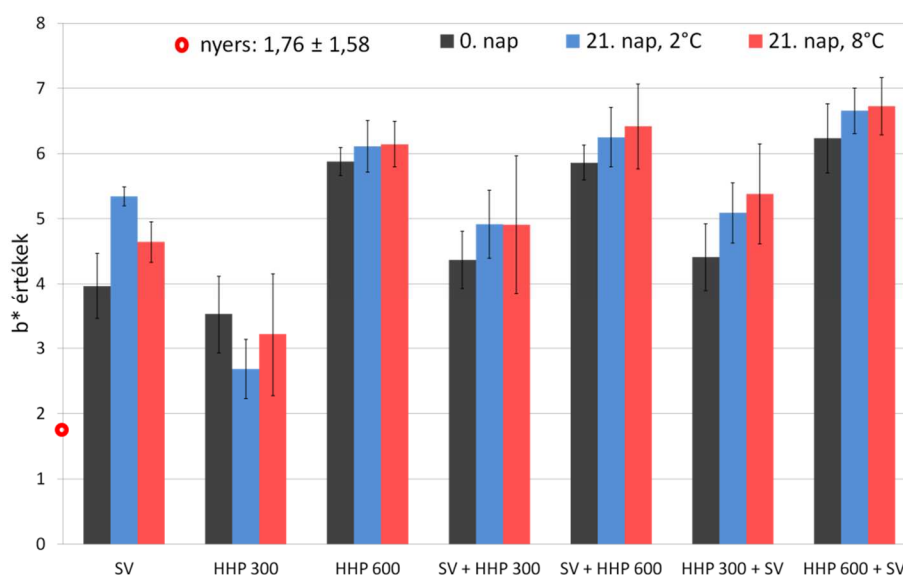


34. ábra A sertéskaraj  $a^*$  értékeinek alakulása belső felületen, a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

A  $b^*$  pozitív értékei a sárga színezetet jelölik (35. ábra). Azoknál a mintáknál figyelhető meg a legnagyobb  $b^*$  érték, ahol 600 MPa-os nyomáskezelés alkalmazása történt. A tárolás során a sárga színezet értéke majdnem minden esetben növekedést mutatott. Ez a jelenség a nagyobb tárolási hőmérsékleten intenzívebben jelentkezett.

A  $b^*$  értékek esetében a kezelési sorrend nem, a nyomás értéke viszont igen erős ( $p < 0,001$ ) szignifikáns hatást jelentett. (1. melléklet) Ez a sárga színezet erőteljesebb megjelenését jelenti a nagyobb nyomásértékek esetében. Ez is egyezik HONG és munkatársai (2008) által mért eredményekkel mind a nyomás szint mind a sorrend tekintetében. Megjegyzendő, hogy az általuk mért  $b^*$  értékek a 13-15-ös tartományban vannak, szemben az általam mért 7-8 körüli  $b^*$  értékekkel, ami a mintájuk lényegesen sárgább színezetét jelenti.

A sárga színezet ( $b^*$ ) erős kapcsolata igazolható volt a mért TBA értékekkel ( $0,808$ ,  $p < 0,001$ ), valamint közepesen erős összefüggés volt szignifikáns a tömegveszteség ( $0,523$ ,  $p = 0,015$ ) és a DSC entalpia értékek ( $-0,589$ ,  $p = 0,005$ ) esetében. (7. melléklet)



35. ábra A sertéskaraj b\* értékeinek alakulása belső felületen, a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

A szín vizsgálatánál mindhárom színtényezőt figyelembe véve a  $\Delta E^*$  érték mutatja az egyes kezelések és tárolási időpontok közötti színbeli eltéréseket. Az egyszeres kezelések eltérő hatását illetve a kombinált kezeléseknél a sorrend felcserélésének a hatását a 6. táblázat mutatja.

A vizsgált színínger különbségek számottevőek. Két egyszeres kezeléspártól eltekintve (0. nap SV és HHP300 és a 2 °C/21 nap SV és HHP600 párosok) a „jól látható” vagy a „nagy” tartományba esik.

6. Táblázat. Kezelések hatása a sertéskaraj minták színére - színínger-különbségek ( $\Delta E^*$ ) számított értékei két adott kezelés között, az egyes tárolási időpontokban vizsgálva

Összehasonlított kezelések	0. nap		21 nap / 2°C		21 nap / 8°C	
	$\Delta E^*$	Érzékelt különbség	$\Delta E^*$	Érzékelt különbség	$\Delta E^*$	Érzékelt különbség
SV és HHP 300	1,34	alig észrevehető	3,62	jól látható	3,12	jól látható
SV és HHP 600	3,17	jól látható	1,25	alig észrevehető	4,76	jól látható
HHP 300 és HHP 600	4,07	jól látható	4,79	jól látható	5,82	jól látható
SV+HHP 300 és HHP 300+SV	6,28	nagy	5,68	jól látható	4,99	jól látható
SV+HHP 600 és HHP 600+SV	5,19	jól látható	6,56	nagy	4,67	jól látható

A 7. táblázatban feltüntetett  $\Delta E^*$  értékek alapján a tárolás színre gyakorolt hatását elemezhetjük. Ebben az esetben az eltérések az „alig észrevehető” és az „észrevehető”



tartományban vannak, tehát a színeltérés sem a 0. nap és a tárolt minták között, sem a két eltérő hőmérsékleten tárolt minta között nem jelentős. A tárolás összességében csak kisebb változást eredményezett és a két tárolási hőmérsékleten tárolt minták között is alig észrevehető a különbség.

7. Táblázat. A tárolás hatása a sertéskaraj minták színére - színinger-különbségek ( $\Delta E^*$ ) számított értékei egy adott kezelés esetében a tárolási időpontok között

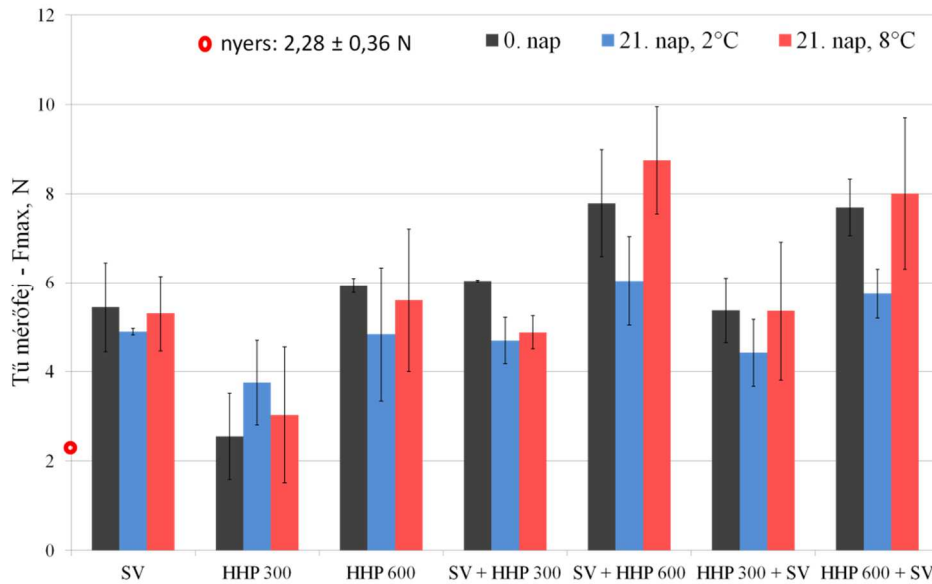
Összehasonlított kezelések	0. nap – 21 nap / 2°C		0.nap – 21 nap / 8°C		21 nap / 2°C – 21 nap / 8°C	
	$\Delta E^*$	Érzékelt különbség	$\Delta E^*$	Érzékelt különbség	$\Delta E^*$	Érzékelt különbség
SV	0,76	alig észrevehető	1,51	észrevehető	1,18	alig észrevehető
HHP 300	1,44	alig észrevehető	2,41	észrevehető	1,36	alig észrevehető
HHP 600	1,10	alig észrevehető	0,80	alig észrevehető	0,50	nem észrevehető
SV + HHP 300	0,57	alig észrevehető	0,72	alig észrevehető	0,51	alig észrevehető
SV + HHP 600	1,47	alig észrevehető	0,94	alig észrevehető	0,68	alig észrevehető
HHP 300 + SV	0,95	alig észrevehető	1,45	alig észrevehető	0,60	alig észrevehető
HHP 600 + SV	1,03	alig észrevehető	1,59	észrevehető	1,23	alig észrevehető

## 5.6 Állománymérés eredményei

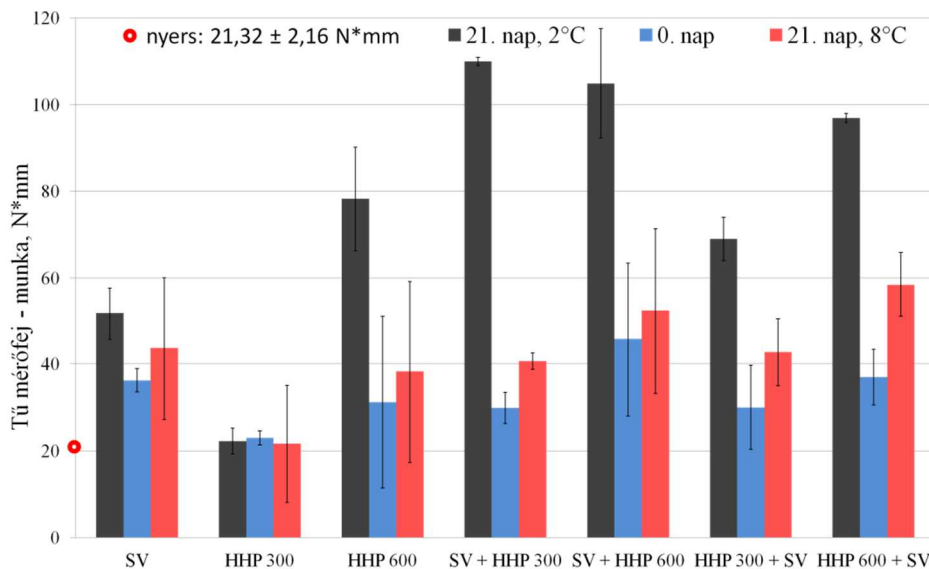
(36. ábra) A tú mérőfejjel mért keménység értékek ( $F_{max}$ ) alapján a nyers mintához (2,28 N) képest a 300 MPa kezelt minta nem mutat eltérést. A HHP 600 és a sous-vide egyszeres kezelésű mintákon nagyon hasonló keménység értékeket mértem. A hőkezelés – HHP 300 MPa kezelés kombinációja az egyszeres sous-vide kezeléshez hasonló eredményt adott, tehát a hőkezelés során kialakult állományjellemzőt a kis (300 MPa) nyomáskezelés nem befolyásolta. Kiemelendő a kombinált kezeléseknél a 600 MPa nyomásértékkel kezelt minták melyek mindkét kezelési sorrend esetében a legkeményebbnek bizonyultak. Ezt támasztja alá az 1. mellékletben feltüntetett adat is: a kombinált kezelésű minták esetében a sorrendnek nem, viszont a nyomás szintnek igen erős szignifikáns hatása van ( $p < 0,001$ ) a sertéskaraj keménységére (1. melléklet). MA és LEDWARD, 2004-es kutatása marhahús esetében tesz hasonló megállapításokat, azaz a nyomáskezelés értékének növelésével a húsok keményedését figyelték meg.

A tárolás során a 0. napi eredményekhez képest a 2 °C-on tárolt minták esetében a 300 MPa nyomáskezelt minta kivételével, a kezeléstől függetlenül a mért erő értékek csökkenése, puhulás tapasztalható. Ezzel szemben több kezelés esetében a 8 °C-on tárolt minták keményedése volt megfigyelhető.

A tú mérőfejjel mért maximális erő értékek erős, szignifikáns összefüggést mutatnak a gömb mérőfejjel mért állományjellemzőkkel ( $F_{\max}$ : 0,702,  $p < 0,001$ ; és munka: 0,721,  $p < 0,001$ ) és közepesen erős korrelációt mutatnak a tömegveszteség (0,492,  $p = 0,023$ ) a TBA szám (0,566,  $p = 0,007$ ), és a sárga színezet mért értékeivel (0,458,  $p = 0,037$ ). (7. melléklet)



36. ábra A sertéskaraj tú mérőfejjel mért keménység értékeinek ( $F_{\max}$ ) alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében



37. ábra A sertéskaraj tú mérőfejjel mért összmunka (w) értékeinek alakulása a különböző kezelések és a tárolás függvényében

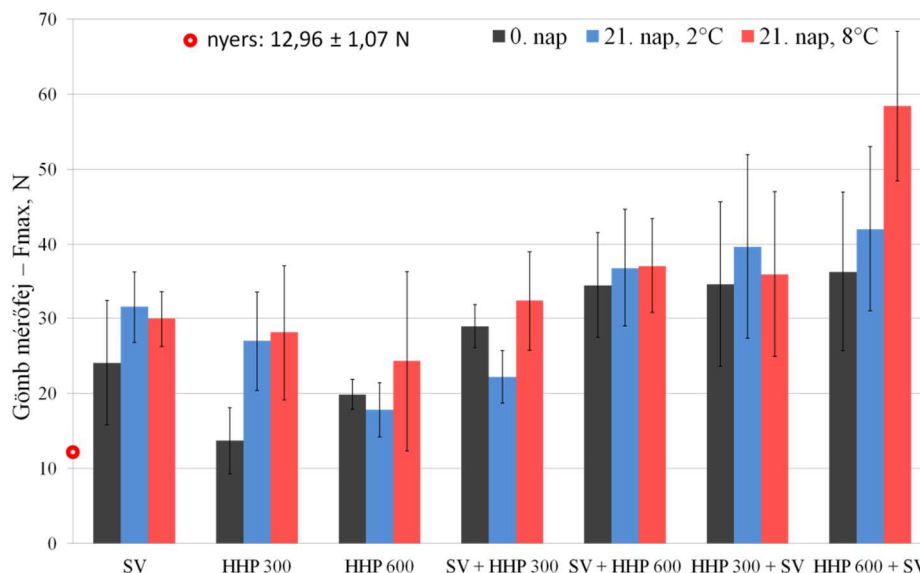
A tú mérőfejjel végzett mérés során a 20 mm-re történő behatolás alatt rögzített erő-távolság görbe alatti területének integrálásával megkapjuk az összmunka értékét. (37. ábra) A tárolási időszak alatti puhulás emelendő ki, ami a hús fehérjékben bekövetkező proteolitikus

folyamatokkal is magyarázható és a szövetszerkezet dezintegrációját eredményezi (LAWRIE, 2006).

A gömb mérőfejjel történt méréseknél a maximális erő ( $F_{max}$ , N) és a munka ( $N \cdot mm$ ) között nem tapasztalható a túvel történt penetrációs méréshez hasonló eltérés. (38. és 39. ábrák)

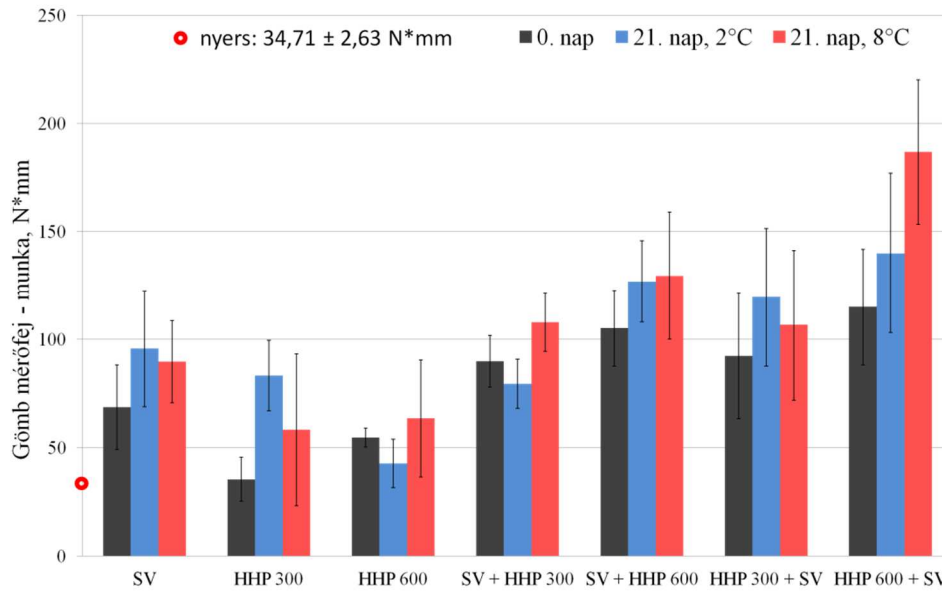
A két mért paraméter hasonló tendenciákat jelez, és azonos összefüggésekre mutat rá. Ennek a mérőfejnek a használata a hús tapintással érzékelhető állományának műszeres megvalósítása.

Az eredmények alapján elkülönül a két egyszeres nyomáskezelt minta a kisebb keménység étkeivel. Ezek a minták, különösen a 300 MPa-on kezelt állománya a nyers húshoz hasonló volt. A kezelési sorrend kérdésében - bár nem szignifikáns, a magasabb variancia értékek miatt, 1. melléklet) - a nyomáskezelést követő hőkezelés mindkét nyomásértéknél keményebb mintákat eredményezett.



38. ábra A sertéskaraj gömb mérőfejjel mért keménység-jellemzőjének ( $F_{max}$ ) alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

Az állománymérés eredménye a kezelés sorrendjét tekintve egybevág HONG és munkatársainak (2008) közlésével: a nyomáskezelést követő hőkezelés keményebb mintákat eredményezett mint a hasonló kezelések fordított sorrendű alkalmazása. A 300 MPa nyomás-szint esetében a mért vágási erő értékek: SV+HHP300:  $9,7 \pm 0,54$  N; HHP300+SV:  $12,1 \pm 0,58$  N. Méréseiknél nagyobb hőmérsékletű kezelést (80 °C) és eltérő állománymérési módszert alkalmaztak, a két kezelési sorrend között ( $p < 0,05$ ) szignifikáns volt az eltérés.

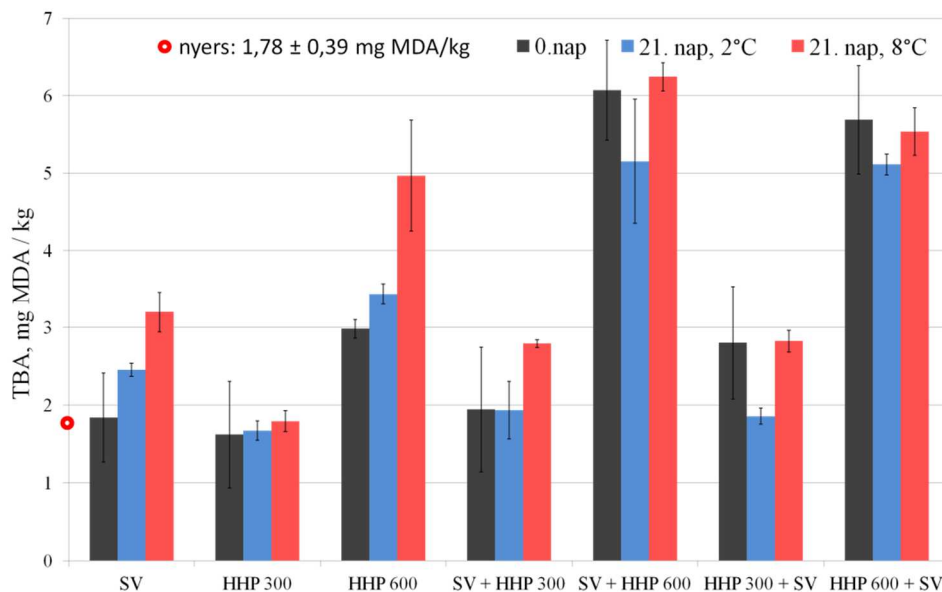


39. ábra A gömb mérőfejjel mért összmunka (w) alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

## 5.7 Lipid oxidáció: a TBA-szám alakulása

A TBA értékek mérési eredményeit az 40. ábrán mutatom be.

A nyomásértékek emelésével a lipid oxidáció jelzőszámainak növekedését, a reakciók fokozódását figyelték meg marha- és csirkehúsban, tengeri olajokon és sertés zsírban is (Cheftel és Culioli, 1997; Ma et al., 2007). Ezen megfigyelések alapján egyértelműsíthető kapcsolat van a HHP kezelés során alkalmazott nyomásérték és a mért TBA értékek között.



40. ábra A sertészsír TBA értékeinek alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

Méréseim során is szignifikánsnak mutatkozott a nyomás szint hatása ( $P < 0,043$ ). (1. melléklet) Egyértelműen megfigyelhető, hogy a 600 MPa-os nyomásérték mind az egyszeres kezelésnél mind a kombinált kezelések esetében növelte az oxidációs termékek mennyiségét.

Huang és munkatársai (2015) sertéshús vizsgálata során, hasonlóan emelkedő mennyiségű másodlagos oxidatív anyagcseretermékeket mértek a nyomás szint emelésével. Kutatásukban a legmagasabb TBARS értéket az 50 °C-on végzett 400 MPa-os nyomáskezelés kombinációjánál mérték ( $1,67 \pm 0,2$  mg MDA/kg). Ez az érték nagyságrendileg megfelel a kísérletemben a 0. napon a 300 MPa és ennek sous-vide kezeléssel kombinált mintáinál mért értékeknek (40. ábra). A 2 °C-os tárolási hőmérsékleten a minták nem, vagy csak igen kismértékű változást mutattak. A 8 °C-os 21 napos tárolási idő alatt néhány mintánál a TBA szám enyhe emelkedése volt tapasztalható, de összességében a tárolás alatt tendenciózus változás nem figyelhető meg. A kezelési sorrendnek nem volt kimutatható hatása a lipid oxidációs folyamatra (1. melléklet).

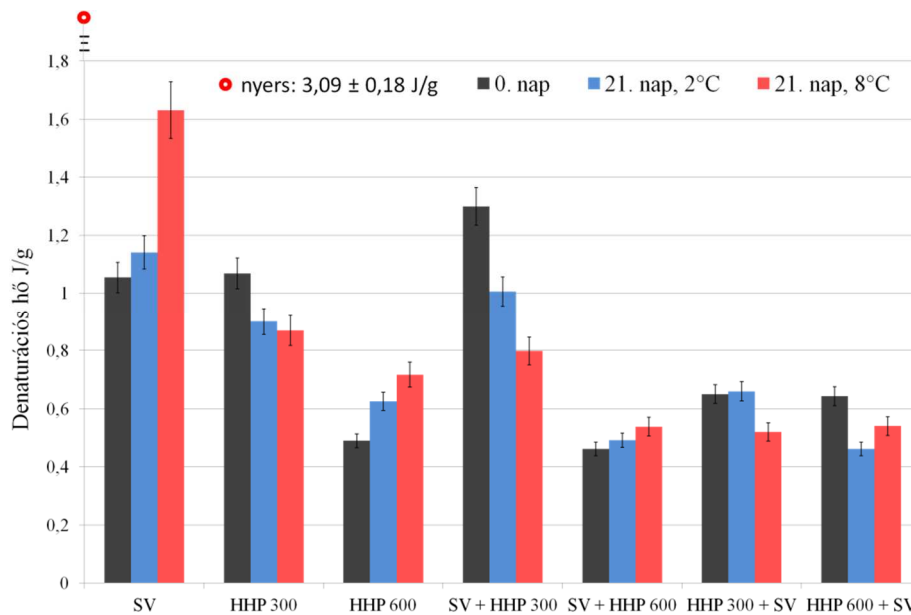
A TBA érték jelentős hatása a hús minőségváltozására irodalmilag is igazolt. CHEFTEL és CULIOLI (1997) egyenesen a HHP kezelés korlátozó faktorának nevezik. FAUSTMANN, (2010) a hús színanyagának elsősorban a mioglobint, degradációjával és a katalitikus hatású vas kilépésével magyarázzák a folyamatot. A TBA szám erős korrelációt mutat a vörös és a zöld színezettel ( $a^*$ :  $-0,796$ ,  $p < 0,001$ ; és  $b^*$ :  $0,808$ ,  $p < 0,001$ ). Kiemelendő még a közepesen erős kapcsolat a mért tömegvesztés ( $0,503$ ,  $p = 0,02$ ) és DSC entalpia ( $-0,550$ ,  $p = 0,01$ ) értékekkel. (7. melléklet)

A negatív és pozitív korrelációs eredmények is összhangban vannak az 55. és 57. ábrán, a főkomponens elemzés 1-2 és 3-4 főkomponens loading plotján is jól megfigyelhető TBA érték elmozdító hatásával (mindkét térben a +/- irányban).

## **5.8 DSC - Fehérje állapot vizsgálati eredmények**

A DSC mérések eredményét többféle információ alapján lehet kiértékelni. Egyrészt a felvett hőáram görbékből meghatározott denaturációs entalpia értékek alapján (41. ábra), másrészt a görbék alakjának és az egyes csúcsok elhelyezkedése szerint tehetünk megállapításokat (42. ábra). A mért entalpia értékekre mind a nyomás érték ( $p = 0,003$ ) mind a kezelési sorrend ( $p = 0,067$ ) szignifikáns hatással volt (1. melléklet). A magasabb nyomásértékkel kezelt mintáknál nagyobb mértékű denaturáció figyelhető meg. A hőkezelést követő nyomáskezelés bár eltérő lefutású DSC görbét eredményezett, összességében kisebb mértékben denaturálta a minták

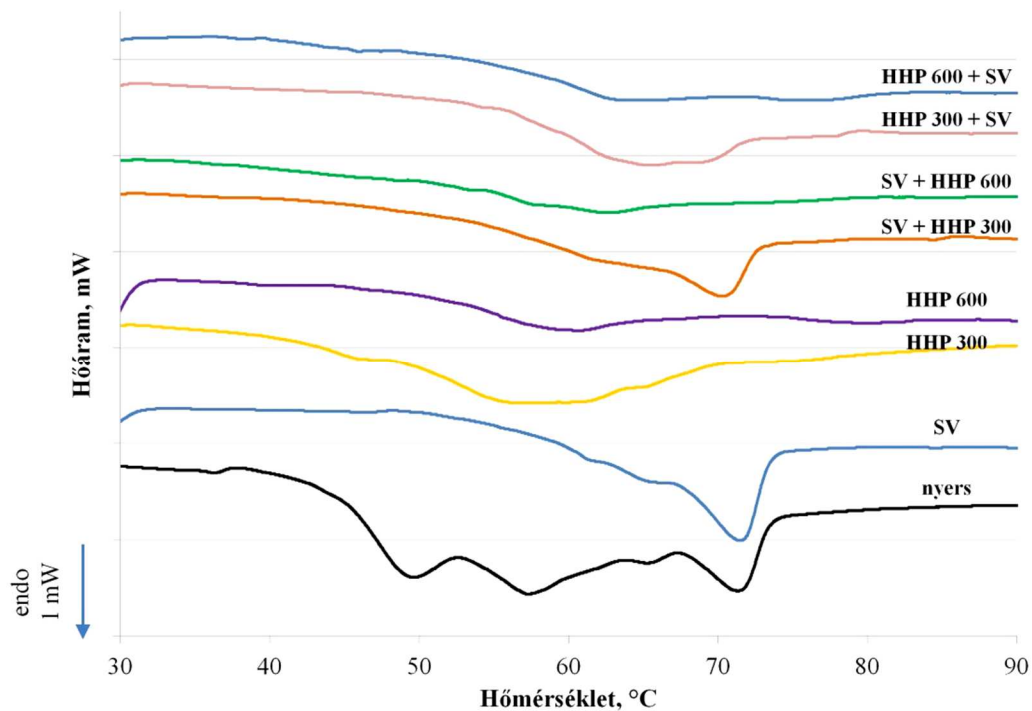
fehérje készletét, mint az azonos kezelések fordított sorrendű alkalmazása. Ez a 300 MPa nyomásértéknél jelentkezik hangsúlyosabban (vö. 42. ábra). A két faktor kölcsönhatása is ( $p = 0,02$ ) jelentős volt.



41. ábra A sertéskaraj denaturációs entalpia értékeinek alakulása a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

Az entalpia értékeket a nyers sertés karajon mért 3,09 J/g értékhez (4. táblázat) illetve a kezeléseket egymáshoz viszonyítva vizsgálhatjuk a kezeléskombinációk hatását a fehérjékre. Az egyszeres kezeléseknél a sous-vide és a 600 MPa-on nyomáskezelt mintáknál megfigyelhetjük az eltérő hatásmechanizmust a hő és a nyomás indukálta fehérje denaturációnál. A 600 MPa-os minta – bár több a dolgozatom készítése során is mért fizikai tulajdonsága is kíméletesebb behatásra enged következtetni – a fehérjéknél mért entalpia érték alapján sokkal erősebb hatása van, mint a sous-vide hőkezelésnek. A 600 MPa-os kezelés entalpia értéke mintegy fele a SV esetében mértnek. Az alapvető eltérés a hő- és a nyomáskezelt minták között, a DSC görbékből is jól látszik. A két kezelés típus eltérő módon hat a fehérjékre, pontosabban, eltérő fehérjecsoportokra hat elsődlegesen. A hőkezelés hatását megfigyelve - a hőkezelés hőmérsékletétől függően – a görbe az X-tengelyen balról jobbra „simul ki” a termoanalitikai mérés, a DSC módszer alapelve miatt. Intenzívebb (hosszabb vagy nagyobb hőmérsékleten) a felvett görbe egyre jobban az alapvonalhoz tart. A nyomáskezelt minták szemben a kötőszöveti és szarkoplazma fehérjék kevésbé érzékenyek, aminek a következménye, hogy a nyomáskezelt minták DSC görbéjén először az aktin és a miozin csúcsok mutatnak változásokat. Természetesen ez a folyamat is függ az alkalmazott

nyomás értéktől és azt növelve, pl. 600 MPa-on a denaturáció már az 55-65 °C-os mérési tartományban is jelentkezik.

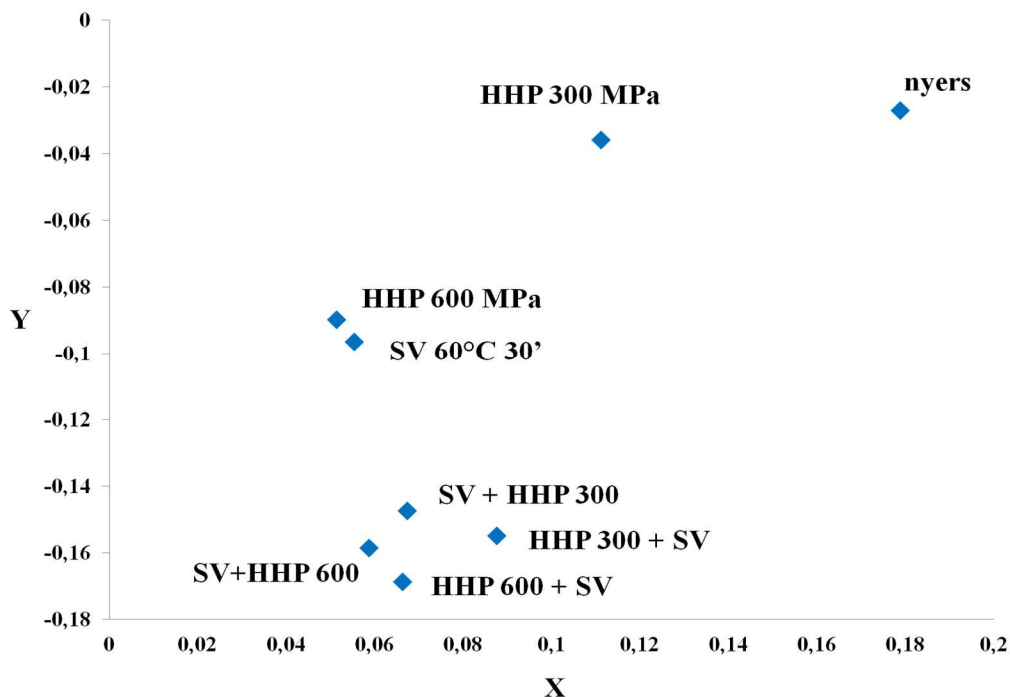


42. ábra Az egyszeres és a kombinált kezelést kapott 0.napos sertéskaraj minták DSC görbéi

A kombinált kezelések esetében az eredmény összetettebb. A hőkezelés után alkalmazott 300 MPa nyomáskezelés gyakorlatilag nem volt már hatással a sous-vide kezelt mintára, az aktin csúcs minimális csökkenés mellett, a 71-73 °C-os tartományban jelentkezik. Entalpia értékét tekintve pedig meghaladja az egyszeres sous-vide kezelésnél mért értéket (1,3 és 1,05 J/g). A tárolás során viszont megfigyelhetőek a változások a két kezelés között. Míg a SV kezelésnél a tárolás során valószínűsíthetően a reverzibilis denaturáció után néhány fehérjecsoport regenerálódott, a SV+300 kezelésnél a tárolás további fehérje sérüléseket okozott, így ellentétes irányú hatás figyelhető meg. A 300 és 600 MPa-os egyszeres kezelésű nyomáskezelt minták nagy hasonlóságot mutatnak a HHP+SV minták görbéivel. A két-két görbét összevetve megfigyelhető a kismértékű entalpia csökkenés mellett a szarkoplazma fehérjecsoport denaturációs tartományának mintegy 10 °C-kal történő eltolódása. A tárolás során, a termogramok a 0. napos mérési eredményekhez viszonyítva nem mutatnak jelentős eltéréseket (4. Melléklet).

A DSC mért entalpia értékei korrelálnak a vörös (0,614,  $p = 0,003$ ) és a zöld színezettel (-0,589,  $p = 0,005$ ) illetve a TBA számmal (-0,550,  $p = 0,01$ ). (7. melléklet)

A kezelések között felállítható „erősségi-sorrend” figyelhető meg a főkomponens elemzésnél, az 1-2 főkomponens térben (56. ábra) amit a DSC mérések eredményei is jól tükröznek.



43. ábra Az egyszeres és a kombinált hő- és nyomáskezelt sertéskaraj minták PQS minőségpontjainak elhelyezkedése az X-Y polár koordináta térben, a 0. napos minták esetében. (KENESEI et al., 2017b)

Hasonló elrendeződést tapasztaltam a DSC görbék PQS adatredukciós módszer alkalmazásával történő kiértékelésénél is (43. ábra). Az erősségi sorrend itt is megfigyelhető, hasonló lefutású görbékkel, ugyanakkor figyelembe kell venni, hogy az itt alkalmazott 60 °C-os hőkezelés csak 30 percig tartott. Az egyszeres sous-vide és a 600 MPa nyomáskezelés minőségpontjainak nagyon közeli elhelyezkedése mutatja, hogy a két kezelés „erőssége” ebben az esetben nagyon hasonló (annak ellenére, hogy elsődlegesen más-más fehérjecsoportokra hat a két kezeléstípus). Az egyszeres sous-vide kezeléshez a kombinált kezelések közül a SV+HHP300 került a legközelebb, azonban a PQS térben a DSC mérési adatok alapján valamennyi kombinált kezelés sokkal meghatározóbban elkülönül az egyszeres kezelésektől mint más mérések esetében a diszkriminancia elemzés eredményei alapján (51., 53., 55., ábrák).

## 5.9 Gél elektroforézis: SDS-PAGE eredményei

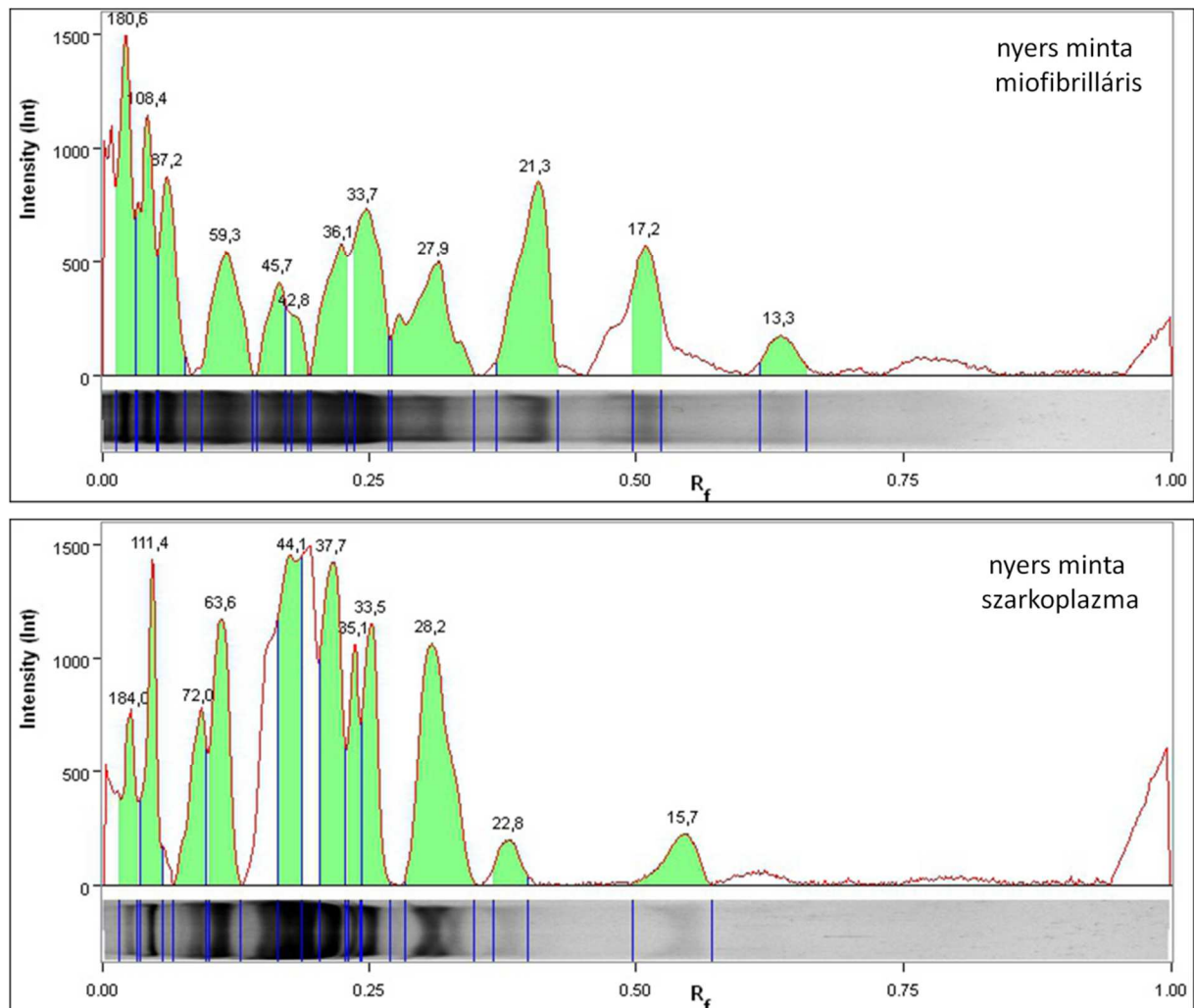
Az SDS-PAGE eredményeit a futtatásnál használt standard segítségével értékeltem ki. A mérésnél használt BIORAD Precision Plus Standard 10 ismert molekulatömegű referencia



fehérjét tartalmaz a 250 - 15 kDa tömeg tartományban (gél 1. oszlopa). Ezek beazonosítása után a Quantity One szoftver segítségével - ezekhez viszonyítva - a további oszlopokban található sávok molekulatömegét számítottam ki.

A molekulatömeg alapján történt a sávokhoz tartozó fehérjék beazonosítása. A kiértékelés a 0. napi mintákat elválasztó géleken történt. A 0.napos és a tárolt minták fehérjetérképe hasonló elrendeződést mutat, a tárolás során a szeparált fehérjecsoportok között jelentős változás nem mutatható ki. A tárolt mintákról készült gélek az 5. mellékletben láthatóak.

Az egyes mintáknál a szeparált sávok intenzitása és a  $R_f$  érték alapján készült a denzitogram, ami az egyes sávok beazonosítását és a vizuális értelmezést is könnyíti. A 44. ábrán a nyers sertéskaraj oszlopában elválasztásra került fehérjecsoportok láthatóak. A denzitogramok csúcsai alapján az egyes szeparált fehérjecsoportok arányait is meghatároztam (8. és 9. táblázat).

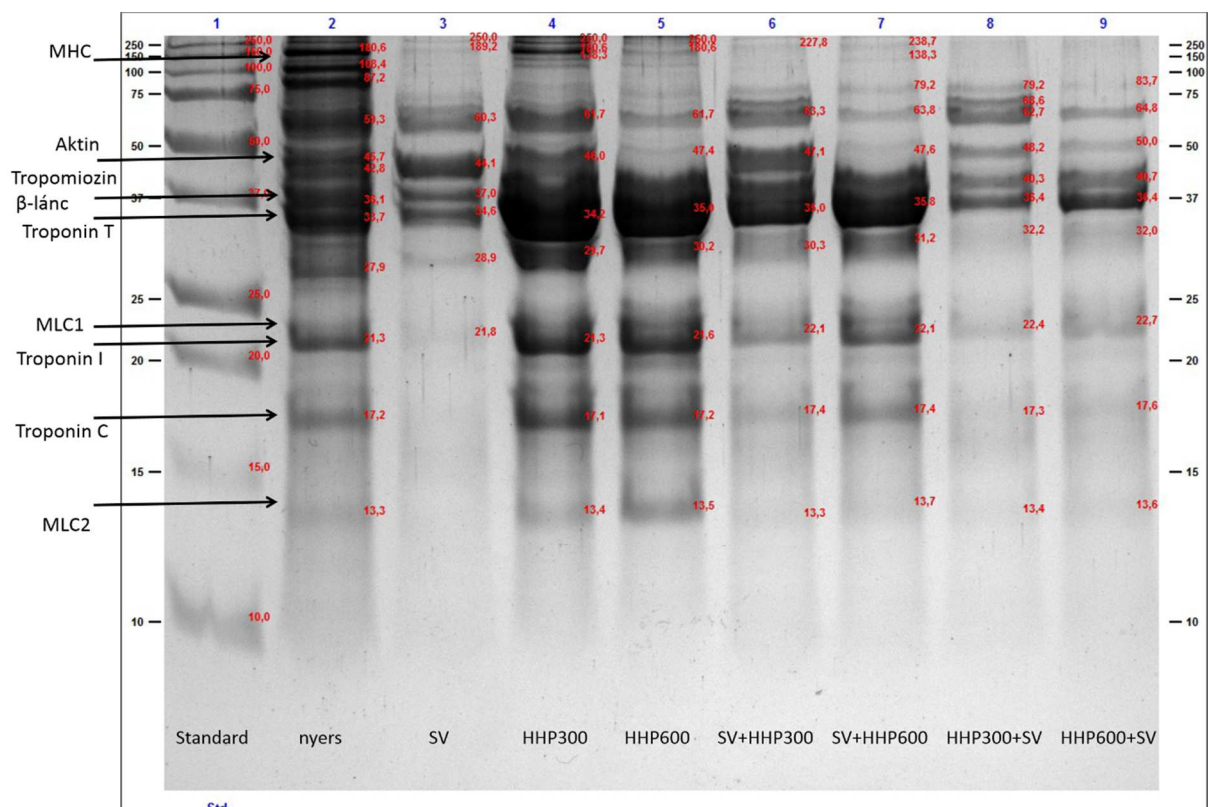


44. ábra A nyers sertéskaraj miofibrilláris (fent) és szarkoplazma (alul) fehérje kivonatainak SDS-PAGE sávjairól készült denzitogram

A nyers mintánál 13 miofibrilláris és 12 szarkoplazma fehérjesávot sikerült elkülöníteni. A miofibrilláris gélen azonosított főbb komponensek: a miozin nehéz lánc (MHC, 250 kDa), miozin M-vonal fehérje (180 kDa),  $\alpha$ -aktinin (87 kDa), aktin (45,7 kDa),  $\beta$ - és  $\gamma$ -aktinin (36 és 33 kDa), miozin könnyű lánc1 (MLC1, 28 kDa), troponin I (21,3 kDa), miozin könnyű lánc2 (MLC2, 17,2 kDa), miozin könnyű lánc3 (MLC3, 13,3 kDa).

A 45. ábra a standard sávon túl, a nyers, a három egyszeres és a négy kombinációban kezelt 0. napos minta szeparált miofibrilláris fehérjecsoportjait mutatja be, míg a 8. táblázat az ehhez tartozó adatokat tartalmazza.

A szétválasztás során kapott fehérje mintázat jellegzetes és nagyon eltérő képet mutat az egyes kezeléseknél. Megfigyelhető a 60 °C-os hőkezelés denaturáló hatása, a gélen csak az aktin, troponin T, tropomiozin fehérjesávok láthatóak. Ezek hőérzékenysége meghaladja a 60 °C-ot, így oldhatóságukat és natív szerkezetüket is megőrizték. A DSC görbén látható, hogy a csúcsok a SV minta esetében a 60 °C feletti tartományban jelennek meg (42. ábra).



45. ábra Az egyszeres és kombinált hő- és nyomáskezelte sertéskaraj minták miofibrilláris fehérjéinek elektroforetikus képe.

A két egyszeres-nyomáskezelés oszlopában észrevehető a nyomás indukálta denaturáció eltérő hatásmechanizmusa. A 300 MPa kezelés enyhe hatása is igazolódik, sokkal több elkülönülő, ép sáv jelentkezik a gélen. A 600 MPa ezzel ellentétben már erősebb hatást

gyakorolt a fehérjecsoportokra. Kiemelendő a 30-50 kDa sávban megjelenő erős aggregáció. A hőkezelést követő nyomáskezelés esetében hasonló jelenség látható, azzal, hogy ez a 600 MPa kezelés esetében intenzívebben jelenik meg. A 300 MPa esetében ez csak a fenti 30-50 kDa méret tartományban, míg a 600 MPa esetében ez már a kisebb molekulaméretnél (10-25 kDa) is jelentkezik. A fordított sorrendű kezelésnél a mintázat inkább az egyszeres hőkezelésű mintáéra hasonlít, azzal, hogy a 75-80 kDa tartományban új és kisebb sávok jelentek meg. Az alsó mérettartományban gyakorlatilag nincs értékelhető fehérje frakció és az aggregáció sem volt kimutatható. Sertéshús mintákról (egyszeres hő és nyomáskezelés és kombinált alkalmazás) készült gélek elektroforetikus mintázata (TOKIFUJI et al., 2013) nagyon hasonló képet mutat a 45. ábrán bemutatott eredménnyel. Az egyik legfontosabb megfigyelés, hogy a kezelés sorrendjének a hatása hogyan jelenik meg az egyes fehérje sávokon. A nyomáskezelést követő hőkezelés esetében a minta sávjai az egyszeres hőkezelt mintára, míg a hőkezelést követő nyomáskezelésnél a hasonlóság az egyszeres nyomáskezelt mintával áll fenn. Ez utóbbi esetében is megjelennek a nyomáskezelés okozta aggregációs sávok. A két kutatás eredménye annak ellenére mutat hasonló gél mintázatot, hogy TOKIFUJI és munkatársai (2013) 1:1 arányú víz-hús összetételű pépet vizsgáltak.

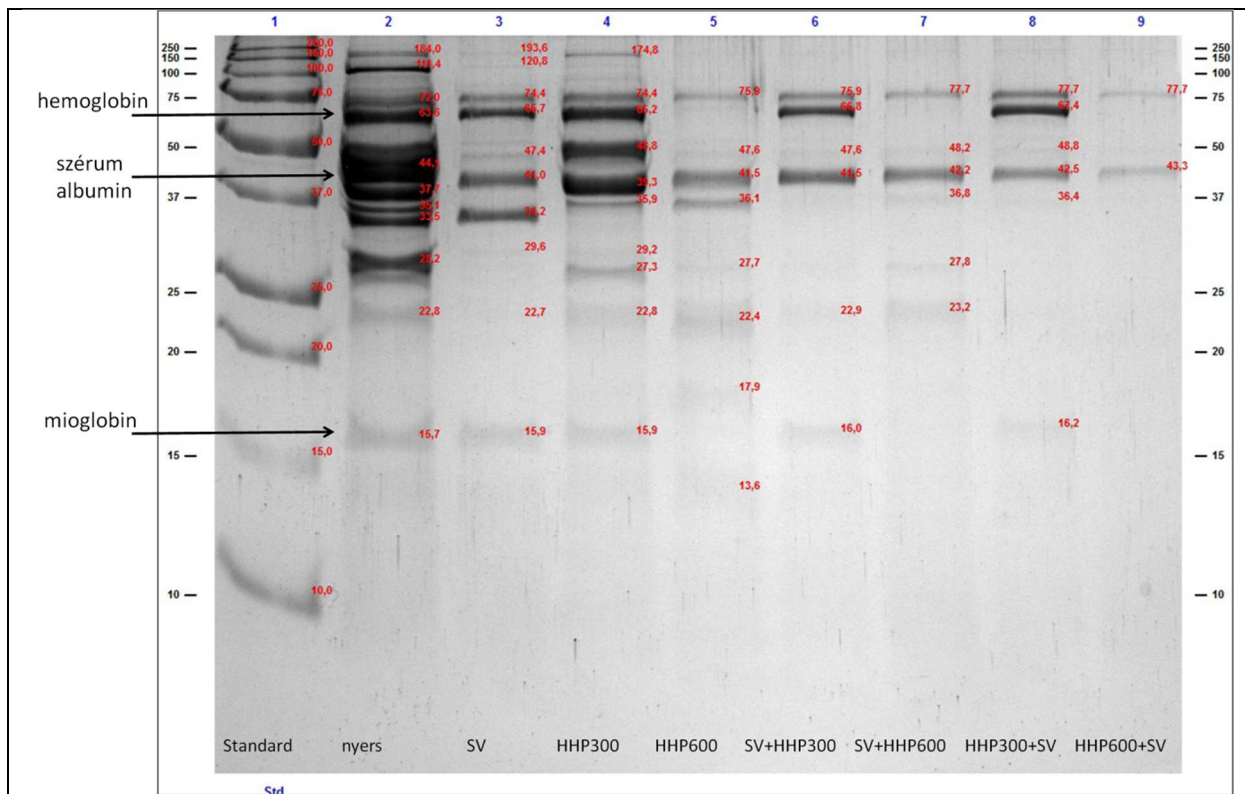
#### 8. Táblázat Az egyszeres és kombinált hő- és nyomáskezelt sertéskaraj miofibrilláris fehérjék SDS-PAGE eredménye: szeparált fehérje sávok.

LANE / sáv	1			2			3			4			5			6			7			8			9		
	standard	nyers		SV		HHP 300		HHP 600		SV + HHP 300		SV + HHP 600		HHP 300 + SV		HHP 600 + SV											
BAND / öv	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>r</sub>	%
1	250	0,012	8,5	250	0,08	3,3	250	0,008	0,8	250	0,01	1,5	250	0,011	0,6	227,8	0,015	0,9	238,7	0,014	0,6	79,2	0,071	3,6	83,7	0,066	1,2
2	150	0,027	7,7	180,6	0,022	11,3	189,2	0,021	1,3	180,6	0,022	3,8	180,6	0,022	1	63,3	0,106	14,5	138,3	0,032	0,3	68,6	0,092	9,7	64,8	0,102	7,3
3	100	0,048	6,7	108,4	0,044	9,1	60,3	0,114	23,9	138,3	0,032	1,3	61,7	0,11	2,7	47,1	0,159	15,3	79,2	0,071	1	62,7	0,107	11,3	50	0,146	4,6
4	75	0,077	11,7	87,2	0,062	7,9	44,1	0,174	31,7	61,7	0,11	6,6	47,4	0,158	1,3	35	0,234	36,8	63,8	0,104	2,2	48,2	0,154	9,8	40,7	0,192	24,3
5	50	0,146	12,8	59,3	0,117	8,8	37	0,214	12,7	46	0,165	6,1	35	0,234	50	30,3	0,283	7,1	47,6	0,157	2,3	40,3	0,195	17,9	36,4	0,22	30,2
6	37	0,214	7,7	45,7	0,166	4	34,6	0,238	20,7	34,2	0,242	43,5	30,2	0,284	10,9	22,1	0,394	17,3	35,8	0,225	54,6	36,4	0,22	21,9	32	0,264	6
7	25	0,349	14,3	42,8	0,181	1,9	28,9	0,299	3,9	29,6	0,29	11	21,6	0,402	18,4	17,4	0,501	6,6	31,2	0,273	14	32,2	0,262	7,6	22,7	0,383	15
8	20	0,43	9,5	36,1	0,223	7,1	21,8	0,398	5	21,3	0,407	15	17,2	508	9,5	23,3	0,637	1,4	22,1	0,394	15,7	22,4	0,389	9,3	17,6	0,496	8,5
9	15	0,577	5	33,7	0,246	10,5				17,1	0,51	9,2	13,5	628	5,7				17,4	0,5	7,5	17,3	0,503	5,2	13,6	0,626	3,1
10	10	0,776	15,9	27,9	0,312	11,2				13,4	0,633	1,9							13,7	0,622	1,8	13,4	0,632	2			
11				21,3	0,407	14,8																					
12				17,2	0,508	7,3																					
13				13,3	0,635	2,8																					

A szarkoplazma gélen azonosított főbb komponensek: hemoglobin (63,6 kDa), szérum albumin (44,1 kDa), miogloblin (15,7 kDa) (46. ábra). A szarkoplazma fehérjéknél a kezeléseket közül a 300 MPa-os kezelés van a legkisebb hatással a sertéskarajból kivont fehérje mintákra. A kezelési sorrend a 300 MPa nyomásérték mellett a fehérje mintázatban nem, vagy csak minimális eltérést eredményezett. A nagyobb, 600 MPa-os nyomáskezelés alkalmazása a

sous-vide hőkezelést követően enyhén kíméletesebbnek mutatkozik (erősebb sáv mintázat és +2 sáv a 20 kDa mérettartományban) mint az ellentétes sorrendű kezelés. A DSC görbék bemutató 42.-es ábrával összevetve megállapítható (42. ábrán: 55-70 °C-os hőmérséklet tartomány), hogy a nyomáskezelés a szarkoplazma fehérjéket kevésbé, illetve csak a nagyobb nyomásértékeken denaturálja.

Megállapítható továbbá, hogy a kombinált kezeléseknél ezek a denaturációs tartományok a nagyobb hőmérsékletek irányába tolódnak el. ZAMRI és munkatársai (2007) csirkemellen végzett méréseik során a miofibrilláris fehérjekivonatok DSC termogramjain a 80 °C fölötti tartományban jelentek meg endoterm csúcsok egyes esetekben. Ez magyarázható új fehérjecsoport megjelenésével is, bár a csúcsok mérete és alakja az aktin csoporthoz igen hasonló, így valószínűbb, hogy a 200 MPa nyomáskezelés hatására bekövetkező szerkezeti módosulással magyarázható a jelenség.



46. ábra Az egyszeres és kombinált hő- és nyomáskezelte sertéskaraj minták szarkoplazma fehérjéinek elektroforetikus képe.

9. Táblázat Az egyszeres és kombinált hő- és nyomáskezelt sertéskaraj szarkoplazma fehérjék SDS-PAGE eredménye: szeparált fehérje sávok.

LANE / sáv	1			2			3			4			5			6			7			8			9				
	standard			nyers			SV			HHP 300			HHP 600			SV + HHP 300			SV + HHP 600			HHP 300 + SV			HHP 600 + SV				
BAND / öv	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%	Mol. Súly	R <sub>f</sub>	%		
1	250	0,019	11,1	250	0,014	1,7	193,6	0,026	4,7	174,8	0,028	4,6	75,9	0,084	12,7	75,9	0,084	19,6	77,7	0,081	16,7	77,7	0,081	20,9	77,7	0,081	35,7		
2	150	0,033	9,9	184	0,027	5	120,8	0,043	1,1	74,4	0,087	8,1	47,6	0,163	4,9	66,8	104	33,5	48,2	0,16	4,5	67,4	0,103	45,8	43,3	0,184	64,3		
3	100	0,053	5	111,4	0,047	7,3	74,4	0,087	12,3	65,2	0,108	22,2	41,5	0,194	40,1	47,6	0,163	1,7	42,2	0,19	52,6	48,8	0,157	3,3					
4	75	0,085	8,5	72	0,092	6,3	65,7	0,107	24,1	48,8	0,157	21,7	36,1	0,228	17,1	41,5	0,194	34,3	36,8	0,221	5,8	42,5	0,188	23,1					
5	50	0,152	13,6	63,6	0,112	11,2	47,4	0,164	2,5	39,3	0,206	2,6	27,7	0,314	3,1	22,9	0,379	4,6	27,8	0,313	4,5	36,4	0,225	1,8					
6	37	0,22	8,1	44,1	0,18	15,8	41	0,196	22,7	35,9	0,229	3,9	22,4	0,388	18,8	16	0,537	6,3	23,2	0,375	15,7	16,2	0,53	5,1					
7	25	0,348	15,1	37,7	0,215	14,4	34,2	0,245	25	29,2	0,297	0,8	17,9	0,482	2,2														
8	20	0,428	8,1	35,1	0,237	5,9	29,6	0,293	0,6	27,3	0,32	5,9	13,6	0,614	1,3														
9	15	0,568	4,2	33,5	0,252	8,6	22,7	0,382	0,2	22,8	0,381	3,5																	
10	10	0,756	16,4	28,2	0,309	17,5	15,9	0,541	6,8	15,9	0,539	3,4																	
11				22,8	0,381	2,3																							
12				15,7	0,545	4																							

## 5.10 Mikrobiológiai vizsgálatok eredményei

A kombinált kezelések mikrobiológiai vizsgálatainak eredménye alapján sem a kezelési sorrend, sem az alkalmazott nyomásérték nem volt szignifikáns hatással a három vizsgált mikroba-csoportra (1. melléklet, anaerob és aerob összcsíraszám). Megjegyzendő, hogy a *L. monocytogenes* esetében ezek a hatások nem voltak értelmezhetőek mivel minden esetben a kimutatási határ alatti TKE értékeket mértem. Azonban ennek ellenére megállapítható, hogy a kombinált kezelések hatása jelentős az egyszeres kezelésekkel összehasonlítva. Az eredmények értékelésénél figyelembe vettem, hogy a kísérleti mintáim további hőkezelést, befejező konyhatechnológiai lépést (felmelegítést min. 65 °C maghőmérsékletre) igénylő félkész termékek voltak.

Ezek az eredmények bemutatásra kerültek a dublini FoodMicro 2016-os konferencián (KISKÓ et al., 2016).

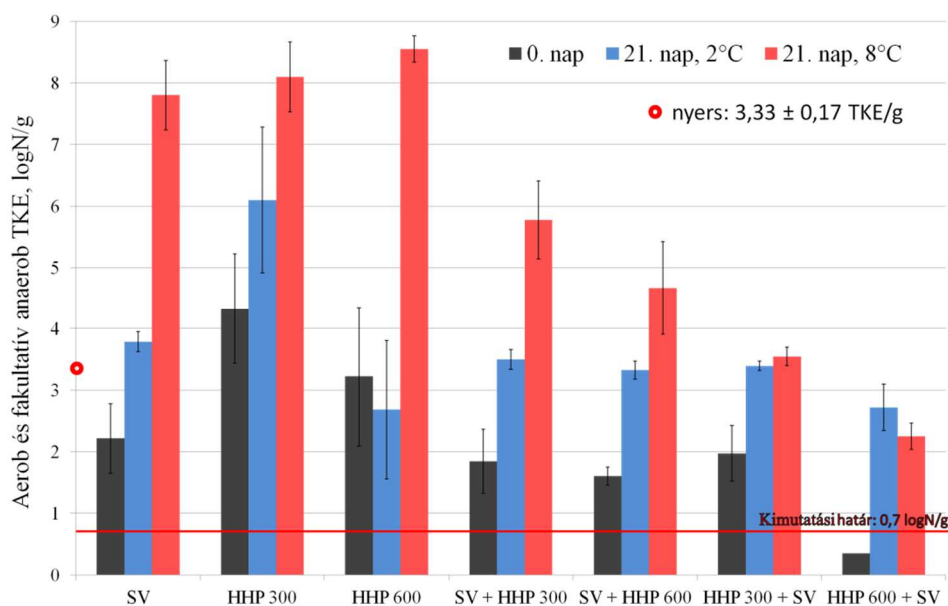
### 5.10.1 A mezofil aerob és fakultatív anaerob összcsíraszám

A kezelt mintákban meghatározott aerob és fakultatív anaerob összcsíraszám értékeket a 47. ábra mutatja be.

A 300 MPa-os nyomáskezelés önmagában nem alkalmas a 21 napos eltarthatóságú termék gyártására, a csíraszám még a szigorú tárolási hőmérséklet ( $T < 2$  °C) ellenére sem maradt stabil. Érdeemes kiemelni, hogy a 300 MPa-os nyomáskezelést követően – a nyersanyag átlagos 3,3 logN/g értékéhez képest enyhén emelkedett 4,2 logN/g átlagos telepszámértéket mértem. (A szórásértékek figyelembe vételével, ez a két minta esetében nagyságrendileg

azonos mikrobiális állapotot jelent.) A 600 MPa-on nyomáskezelt minta – a csak sous-vide kezelt mintához hasonlóan a 2 °C-on tárolt mintáknál még megfelelő eredményt mutatott ( $10^3$ - $10^4$  TKE/g), de az emelt hőmérsékletű (8 °C) tárolás során a minták már túllépték a megfelelő élelmiszerminőségi küszöböt.

A kombinált kezelésű mintáknál, a 0. napi mérés alapján a sous-vide egyszeres mintákhoz viszonyítva is mintegy fél nagyságrendnyi csíraszámcsökkenést mutatott, kivéve a HHP600+SV kezelést, ami a kimutatási határ (0,7 logN/g) alá csökkentette ezt az értéket. A tárolás során a kombinált kezelések közti különbségek is jól megfigyelhetők, különösen a nagyobb, 8 °C-os tárolás esetében érzékelhetőek a hatás-különbségek. Az alapkezelésekhez viszonyítva a kombinált kezelések kettő-öt nagyságrendnyi csíraszám csökkenést eredményeztek az aerob és fakultatív anaerob mikroorganizmusoknál. Az aerobok jelentős mértékű pusztulásához természetesen a vákuumcsomagolás is hozzájárult, hiszen az obligát aerobok (mint pl. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes* stb., melyek nyers húson dominálnak és pszichotrófok) elpusztulnak a vákuumcsomagolás hatására.



47. ábra Az aerob és fakultatív anaerob összcsíraszám alakulása sertéskaraj mintákon, a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

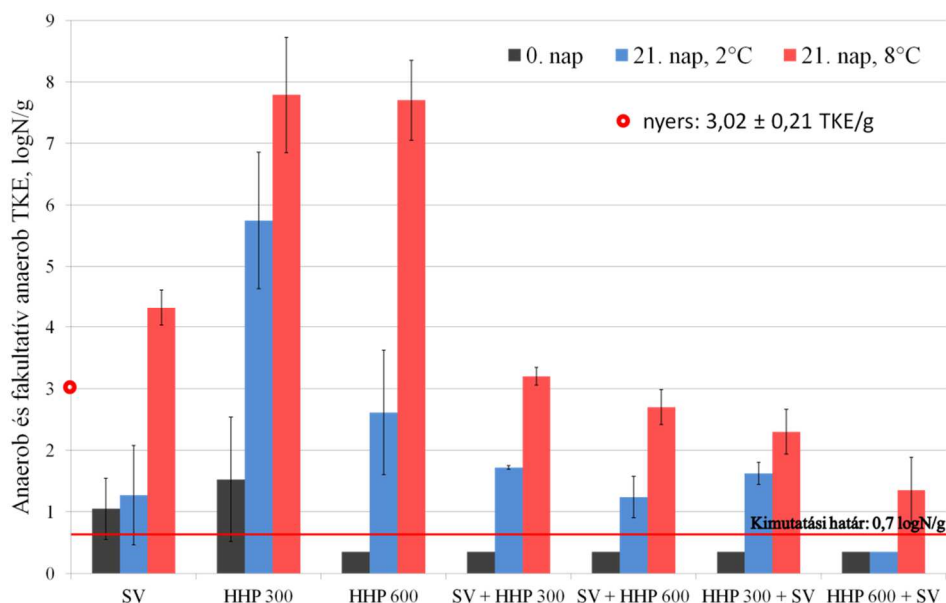
### 5.10.2 A mezofil anaerob és fakultatív anaerob összcsíraszám

A kezelt mintákban meghatározott anaerob és fakultatív anaerob összcsíraszám értékeket a 48. ábra mutatja be.

A kezeléseket követően mért, 0. napi értékeknél a 600 MPa-os egyszeres kezelés és valamennyi kombinált kezelés a kimutatási határérték (0,7 logN/g) alatti csíraszámot mutatott.

Külön kiemelendő, hogy erre a mikrobapopulációra a 600 MPa nyomáskezelés erősebb (kb. -1 nagyságrend) hatással volt mint a 60 °C-os egy órás hőkezelés. Az egyszeres sous-vide és a HHP 300 MPa-os kezelések anaerob csíraszámát is az 1-1,5 logN/g érték körül mértem. A kombinált kezelések az anaerob összcsíraszám esetében, az aerob vizsgálathoz hasonló tendenciákkal, kedvező eredményt mutattak. A kombinált kezelések a sous-vide kezeléshez viszonyítva 1-3 nagyságrendnyi csíraszám csökkenést eredményeztek. Megfigyelhető a nyomáskezelést követő hőkezelés valamivel erősebb hatása is (vö. főkomponens analízis 58. ábra). Összességében megállapítható, hogy az anaerob mikroorganizmusok a kezelésekre érzékenyebben reagáltak, valamennyi kombinált kezeléssel tartósított minta anaerob összcsíraszám a  $10^3$ -on TKE/g érték alatt maradt mindkét tárolási hőmérsékleten. Az eredményeknél itt is megfigyelhető az egyes kezelések közötti intenzitáskülönbség. A HHP600+SV minta az anaerob szervezetek szempontjából stabil maradt még a 21 napos 8 °C-os tárolási periódus alatt is.

Ezek alapján megállapítható, hogy az anaerob TKE számának kedvező alakulása indokolja és alátámasztja a hő és nyomáskezelés ilyen kombinációban történő alkalmazását.



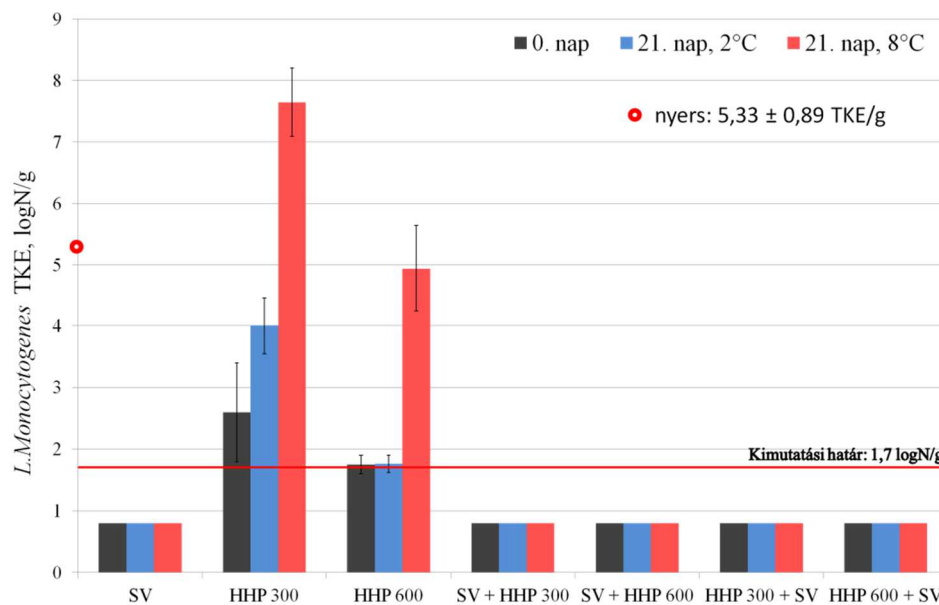
48. ábra Az anaerob és fakultatív anaerob összcsíraszám alakulása sertéskaraj mintákon, a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

### 5.10.3 A *L. monocytogenes* challenge teszt eredménye

A *L. monocytogenes* H3 húsból izolált törzsével történt challenge teszt valamennyi kombinált kezeléssel tartósított minta és az egyszeres sous-vide hőkezelés esetében is a kimutatási határ (1,7 logN/g) alá csökkentette a csíraszámot (49. ábra). Az egyszeres hőkezelés esetében a *L.*

*monocytogenes* inaktiválására STRINGER (2017) 60 °C-on legalább 43,5 perces hőntartást javasol. Csirkehús esetében, a 60 °C-on 45 percig végzett sous-vide kezelés 3,5 nagyságrendnyi csíraszám csökkenést eredményezett (7,5 logN/g → 4 logN/g) (KARYOTIS et al., 2017). Ezek alátámasztják a sous-vide mintán általam mért kielégítő eredményt, amit a 60 perces hőkezeléssel értem el.

A két egyszeres nyomáskezelés is jelentős hatással volt a minták TKE számára. A 300 MPa-os szint is mintegy két és fél nagyságrenddel csökkentette a *L. monocytogenes* sejtszámot, míg a 600 MPa-os kezelés után a sejtszám már a kimutatási határ közelében volt. A 0. napon a dúsítást követően a jelenlét/hiány próba csak a 300 MPa egyszeres nyomáskezelt mintában mutatta ki a *Listeria* jelenlétét. Sérült sejteket csak az egyszeres nyomáskezelt mintáknál tudtam kimutatni (300 MPa-os minta: 2,8 logN/g; 600 Mpa-os minta: 1,5 logN/g).



49. ábra A *L. monocytogenes* TKE számának alakulása sertéskaraj mintákon a különböző egyszeres és kombinált kezelések és a tárolás függvényében

A két tárolási hőmérséklet a 21 napos időszak alatt megmutatta a két nyomásérték közötti intenzitás-különbséget. A 300 MPa-os kezelt minták egyik tárolási hőmérsékleten sem voltak stabilak, mindkét esetben intenzív növekedést mutatott a sejtszám. A 2 °C-os tárolás esetében elérte a  $10^4$  értéket, a 8 °C-on tárolt minták pedig a 0.napi érték háromszorosát ( $>10^7$  TKE/g). Ez a kezelés önmagában nem képes a kellő élelmiszerbiztonsági szintet megvalósítani, sem a 0. napi sem a tárolt minták esetében. A 600 MPa-os kezelést követő 2 °C-os hőmérsékleten 21 napig tárolt mintáknál a sejtszám stagnál. A 8 °C-os tárolási hőmérséklet viszont már a szubletális sérült sejtek regenerálódását és szaporodását eredményezte a 21 napos tárolási



időszak végére. Megállapítható, hogy az egyszeres 600 MPa-os kezelést követően is szükséges a szigorú hűtőtárolás.

A mikrobiológiai vizsgálatokról összegezve elmondható, hogy a kombinált kezelések hatása egyértelműen megfigyelhető a mért TKE számának növekedésében/csökkenésében. A legfontosabb eredmény, hogy az ajánlott tárolási hőmérsékletet jóval túllépve, a kombinált kezeléssel tartósított minták esetében a 21. napos tárolási periódus végén is az élelmiszerbiztonsági feltételeknek megfelelő, fogyasztható terméket kaptam.

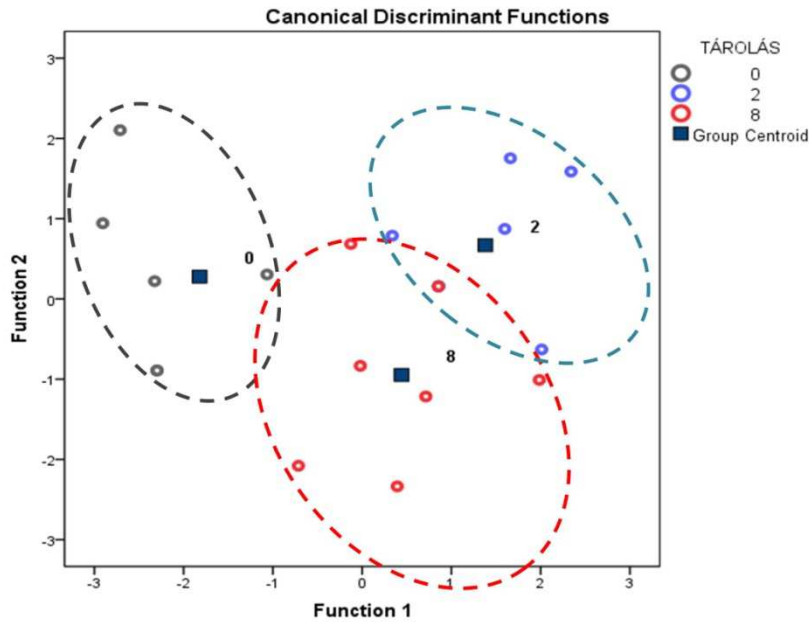
A 4/1998. (XI. 11.) EüM rendelet (az élelmiszerekben előforduló mikrobiológiai szennyeződések megengedhető mértékéről) határértékeket ismertet a félkész és készételek esetében melyek hőkezelés után fogyaszthatóak. E szerint a minták megengedett *S. aureus* száma  $10^2$ - $10^4$  TKE/g, *Salmonella* nem fordulhat elő a mintavétel során (0/25g ;n=10). A termék aerob összcsírászama a  $10^4$ - $10^5$  TKE/g elfogadási tartományban mozoghat, míg a *Listeria* esetében a 100 TKE-et nem haladhatja meg. Mérésemnél a jelenlét-hiány próbát a tárolt mintákon nem végeztem el, így csak valószínűsíthető, hogy a kimutatási határ alatti *L.monocytogenes* eredmény – figyelembe véve a challenge teszt miatti magas  $10^5$  TKE/g kiindulási értéket – megfelel ezen követelménynek.

### **5.11 A zsírsav analízis eredménye**

A minták zsírsav összetételének elemzése során 22 zsírsav került azonosításra és mennyiségi meghatározásra. A részletes eredményeket, a kezelésekre lebontott adattáblázatot a 4. sz. mellékletben csatoltam a dolgozatomhoz.

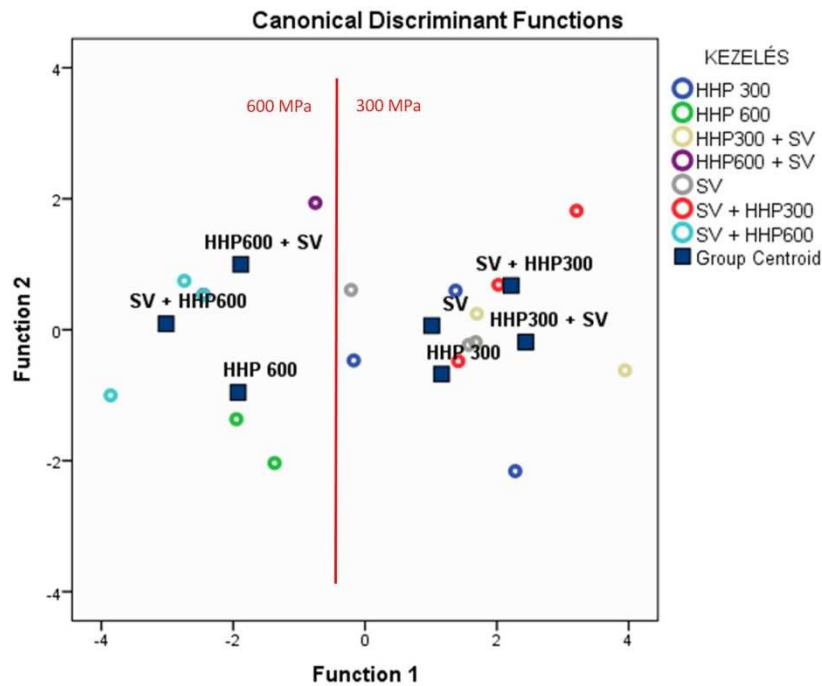
A kiértékelés többváltozós statisztikai módszerrel, kanonikus diszkriminancia analízis segítségével történt.

A diszkriminancia térben a kezelések hatása is nyomon követhető, a modell ezen a megbízhatósági szinten is jól láthatóan elkülöníti az eltérő nyomás-szinteken kezelt mintákat. Az első diszkrimináns irány szerint elkülönül a két nyomás szint, ezen a két fő csoporton belül pedig kissé elkülönülnek a kombinált kezelésektől az egyszeres kezelések csoportjai (51. ábra). A legfontosabb megfigyelés a 600 MPa nyomáskezelés hatása a zsírsavösszetételre. (bal oldali külön csoport az első diszkrimináns irány negatív tartományában) Ez megegyezően a lipid oxidációs mérések eredményével kimutatja a nagyobb nyomásérték zsírszerű anyagokra gyakorolt erőteljesebb hatását. (vö. 40. ábra: és 1. melléklet: szignifikáns faktor a nyomás érték,  $p < 0,05$  a TBA értékek esetében)



50. ábra Sertéskaraj zsírsav összetételének diszkriminancia elemzése, valamennyi egyszeres és kombinált kezelés adatával, a tárolás szerinti bontásban

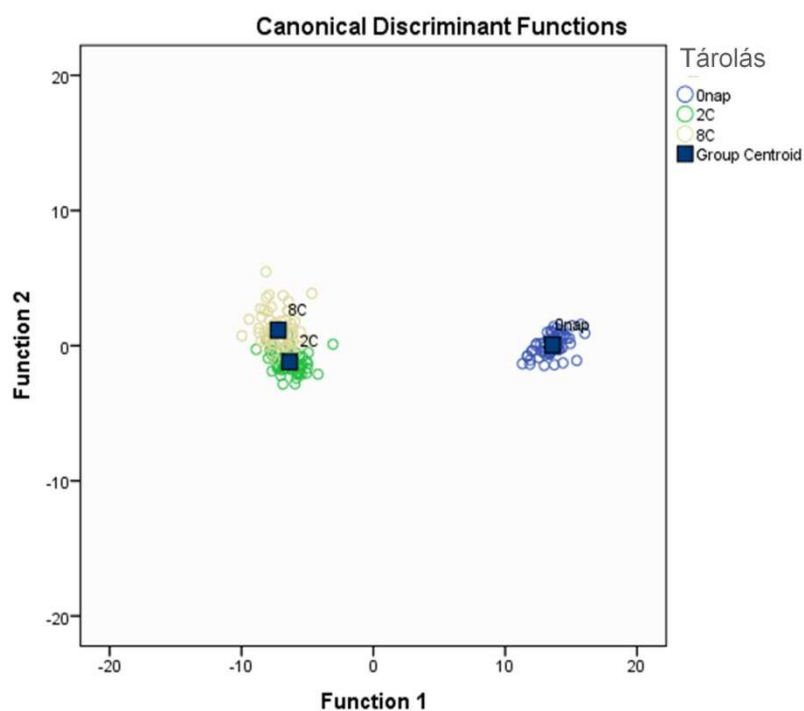
Ezek alapján megállapítható, hogy az emelt nyomás-szint a lipidek oxidációjára mind a zsírsavak állapotára jelentős hatással van. Ezek az eredmények összhangban vannak CHEFTEL-CULIOLI, 1997; és CHEAH és LEDWARD (1997) korábbi kutatásainak megállapításaival és a témában megjelent közléssel is (KENESEI et al. 2017a).



51. ábra Sertéskaraj zsírsav összetételének diszkriminancia elemzése, valamennyi egyszeres és kombinált kezelés adatával, a kezelések szerinti bontásban

## 5.12 Az elektronikus orr jelválaszok elemzése

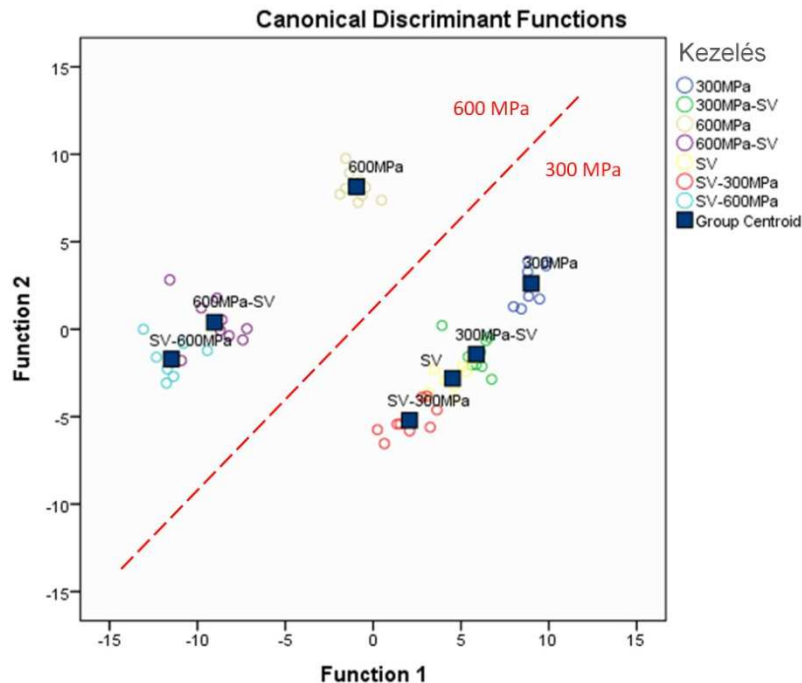
A kiértékelés többváltozós statisztikai módszerrel, kanonikus diszkriminancia analízis segítségével történt. Az alkotott modell alapján a sikeres újrabesorolások aránya a tárolás/hőmérséklet esetében 89,9%-os, míg a keresztvalidáció során 87,8%-os találati aránnyal sorolta be helyesen a megfelelő csoportba. A statisztikai térben a csoportok elkülönülése ebben az esetben a 0.nap és a tárolt állapot közötti különbséget hangsúlyozza ki (52. ábra). A tárolási periódus alatt a tárolási hőmérséklettől és kezeléstől függetlenül számottevő változás következett be az illékony komponensek összetételében.



52. ábra Az elektronikus orr sertéskaraj jelválaszainak diszkriminancia elemzés eredményei, valamennyi egyszeres és kombinált kezelés adatával, a tárolás szerinti bontásban

A kezelések illékony komponensekre gyakorolt hatása esetében a sikeres újrabesorolások aránya 98,4% míg a keresztvalidáció során 76,2% volt. A statisztikai tér (-/-) és a (+/+) sarka közötti átló mentén (53. ábra) történő szétválás figyelhető meg. Az egyik oldalon azok a kezelések helyezkednek el melyek valamilyen formában 600 MPa kezelést (is) kaptak, ezen belül elkülönül a két kombinált kezelés csoportja az egyszeres 600 MPa-os kezeléstől. A másik térfélen található a hőkezelt minták csoportja és azon csoportok, melyek 300 MPa-os kezelést kaptak. Itt a kombinált kezelések csoportjai a primer kezelési csoport mellett helyezkednek el. Valószínűsíthető, hogy a csoportok ilyen elrendeződését nagyban

befolyásolták a lipid oxidációs reakciók következtében megjelenő illékony komponensek. Ezt támasztja alá az 5.11 pontban bemutatott zsírsav elemzés eredménye illetve ROLDÁN és munkatársainak (2015) sous-vide kezelt húsok HS-SPME vizsgálat következtetése is.



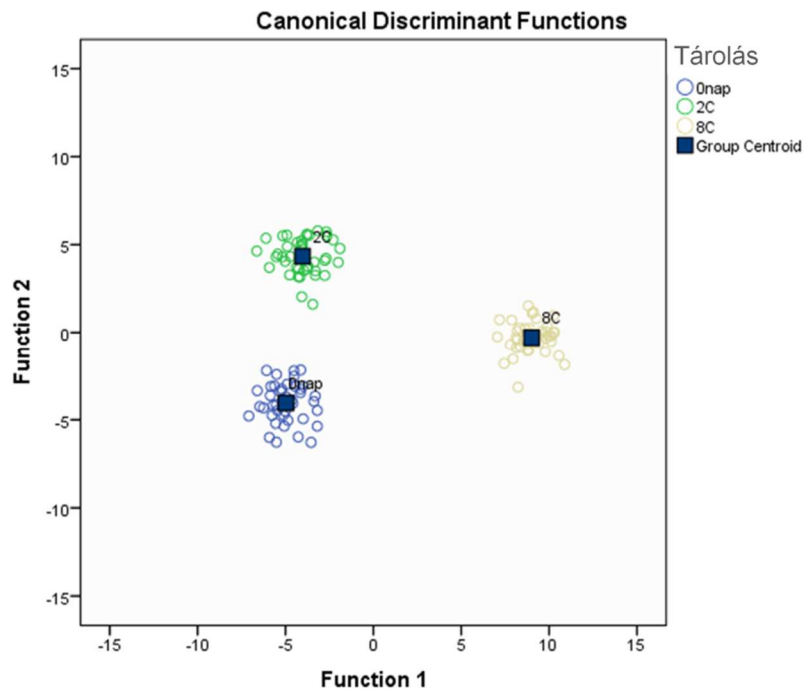
53. ábra Az elektronikus orr sertéskaraj jelválaszainak diszkriminancia elemzés eredményei, valamennyi egyszeres és kombinált kezelés adatával, a kezelések szerinti bontásban

### 5.13 A NIR spektrumok elemzése

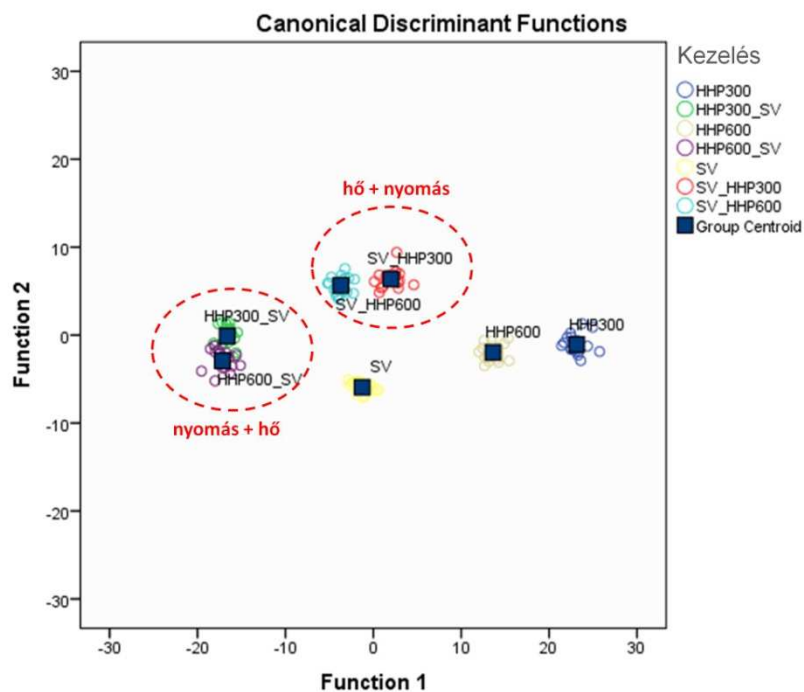
A NIR spektrumok összetett információ hordozók, különböző összetételi, állapotbeli jellemzőket írnak le és alkalmasak mennyiségi és minőségi elemzésre is (PRIETO et al. 2009). A már ismertetett paraméterek közül akár több is megjelenhet (víztartalom-változás, fehérje szerkezeti változások, zsírok átalakulása/oxidációja, pH változás, szín paraméterek változása) egy-egy spektrumban, jelezve ezzel a változások összetettségét. Ezek vizsgálata történhet egyedileg, egy adott tulajdonságra jellemző spektrumtartományban jelentkező jelválasz elemzésével. A teljes felvett spektrum, mint az összetett élelmiszer-mátrix minőségi és mennyiségi jellemzőinek komplex információhordozója többváltozós statisztikai kiértékelést vagy adatredukciós módszer alkalmazását teszi szükségessé.

A diszkriminancia elemzés során az alkotott modell alapján a sikeres újrabesorolások aránya a tárolás/hőmérséklet esetében 100%-os, míg a keresztvalidáció során is igen magas 98,4%-os találati aránnyal sorolta be helyesen, a megfelelő csoportba. A kezelések esetében ez az arány 100% és 99,2% volt. A NIR spektrumok CDA elemzése egyrészt sikeresen szétválasztotta a

két tárolt mintacsoportot a 0.napi mintáktól, másrészt a spektrumok a 2 °C és a 8 °C tárolási hőmérséklet között is eltérést igazolnak (54. ábra).



54. ábra A sertéskaraj NIR spektrumok diszkriminancia elemzés eredményei, valamennyi egyszerű és kombinált kezelés adatával, a tárolás szerinti bontásban

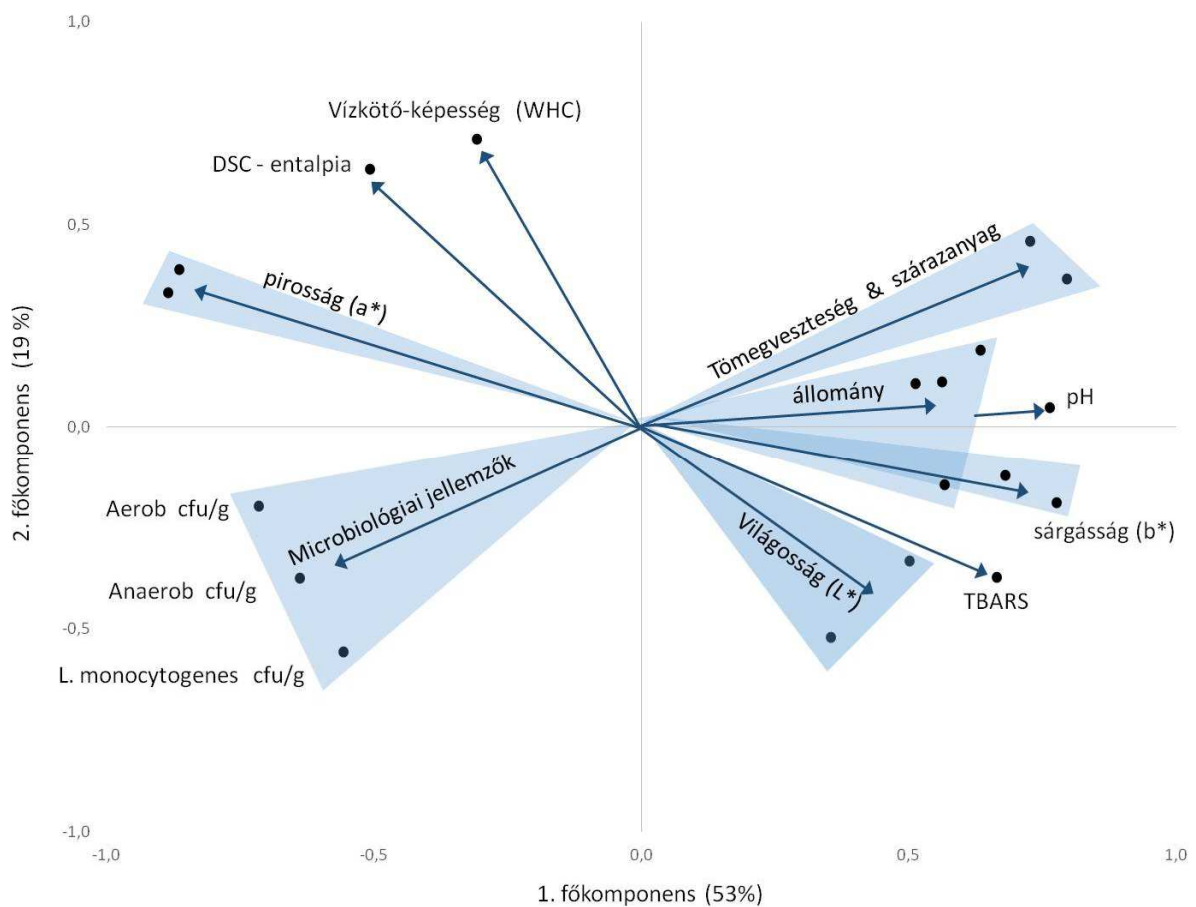


55. ábra A sertéskaraj NIR spektrumok diszkriminancia elemzés eredményei, valamennyi egyszerű és kombinált kezelés adatával, a kezelések szerinti bontásban

A zsírsavanalízis és az elektronikus orr eredményeivel ellentétben, a CDA, a NIR eredmények alapján, a kezeléseket a sorrend szerinti csoportokba különíti el (55. ábra). Az első diszkrimináns irány felállít (jobbról-balra) egy elméleti erősségi (kezelés hatás/drasztikusság) sorrendet. A technofunkciós mérési eredményeket figyelembe véve, összességében a legenyhébb kezelés a HHP 300 MPa nyomáskezelés (Jobbra/+). Balra haladva az első diszkrimináns irány negatív tartománya felé, a kezelések hatása egyre intenzívebb. (vö. főkomponens elemzés eredménye, 5.14 fejezet)

## 5.14 Főkomponens analízis eredményei

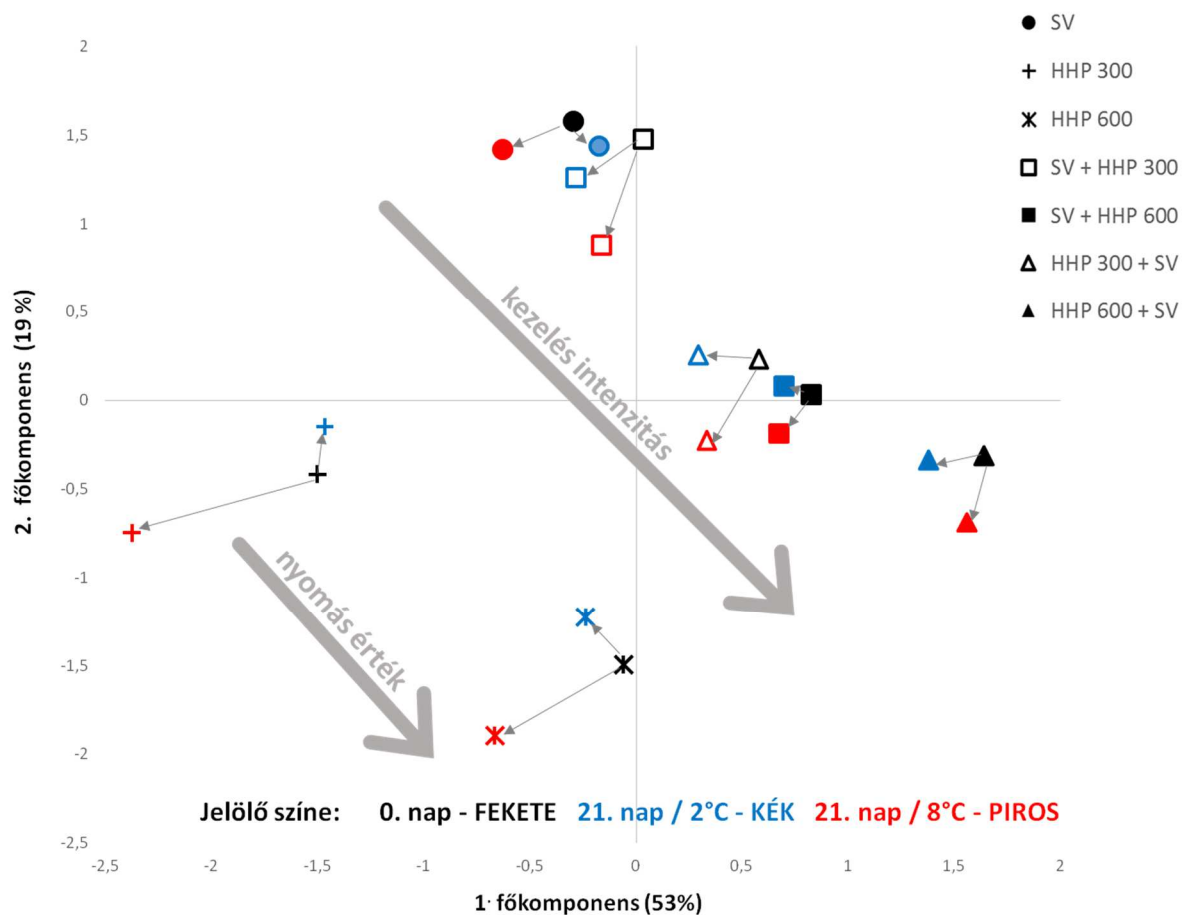
A főkomponens elemzésben valamennyi számszerűsíthető eredménnyel bíró mérés adatai szerepelnek, melyek a diszkriminancia elemzésnél nem kerültek önállóan kiértékelésre. Ezek tehát: a tömegvesztés, a szárazanyag tartalom, a víztartó képesség, a három színtényező ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), az állományjellemzők ( $F_{max}$  és a munka), a TBA szám, a mikrobiológiai mérések eredményei, és a DSC entalpia érték.



56. ábra A sertéskaraj mérési eredményeinek főkomponens elemzése - loading plot az 1-2 főkomponens térben

Az elemzés során a csoportalkotásnál 18 főkomponens került kialakításra. Ezek közül négy olyan főkomponens van, amelynek sajátértéke egynél nagyobb. Ez a négy, a variancia 93%-át magyarázza összesen. Ezeket a főkomponenseket páronként ábrázolva (1-2 és 3-4), a kutatás célkitűzésének szempontjából minden fontos információ kinyerhető.

A paraméterek hatását a loading plot ábra mutatja (56. ábra). Azt az impulzust mutatja be grafikusán, hogy az adott 1-2 főkomponens által meghatározott statisztikai térben ezeknek a mért paramétereknek a hatására milyen irányú elmozdulás figyelhető meg az egyes minták helyzetében.



57. ábra A különböző kezelésű sertéskaraj minták elhelyezkedése a főkomponens térben az 1. és 2. főkomponens függvényében ábrázolva.

A mért jellemzők közül kiemelendő, hogy valamennyi mikrobiológiai érték egy irányba hat. Ezekkel ellentétes irányú hatás viszont a minták víztartalmának csökkenése (a szárazanyag tartalom és a tömegveszteség növekszik). Kiemelendő még a grafikon (-/+) negyedében található három tulajdonság - az a\* - piros színezet, a víztartó képesség és a DSC entalpia érték, mindhárom igen erősen függ a minta fehérje állapotától, a denaturáció fokától. A piros

szín intenzitással pontosan szemben helyezkedik el a TBA érték. Ezt alátámaszthatja FAUSTMAN és munkatársai (2010) megállapítása, hogy a lipid oxidációs folyamat és a hem degradációja során felszabaduló vas ion között szoros kapcsolatot van.

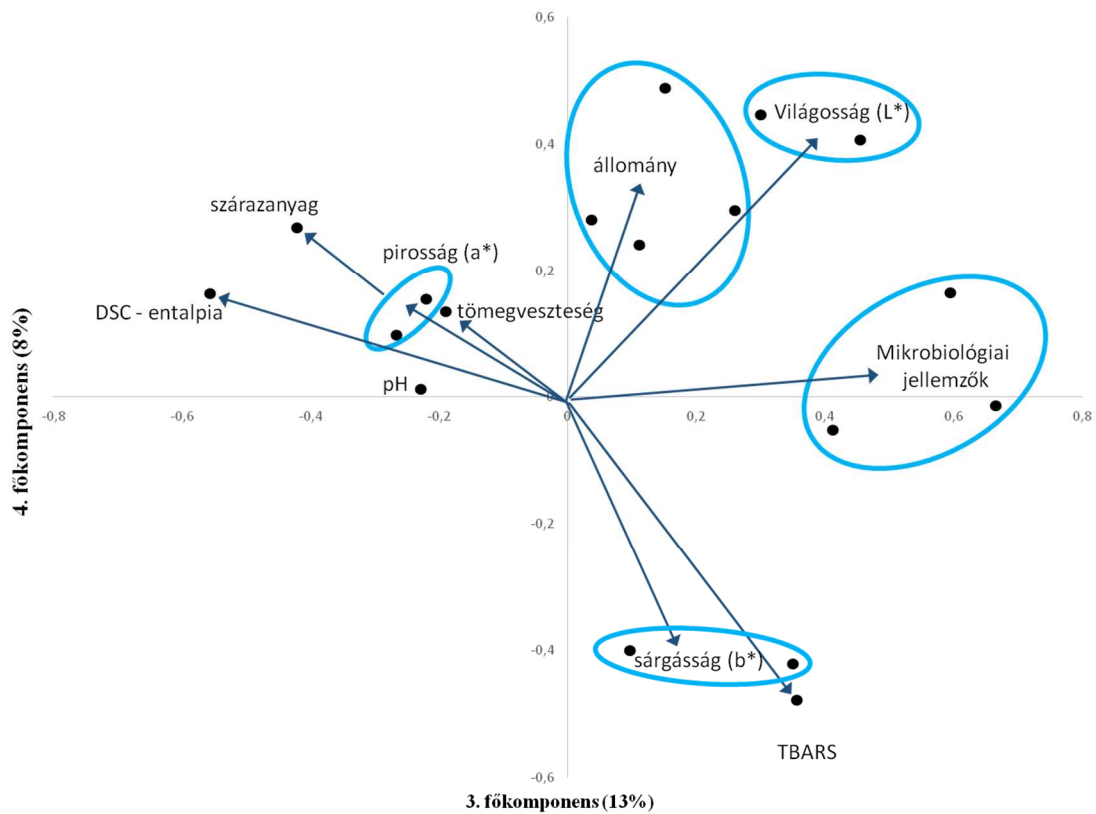
A 1. és a 2. főkomponens score-plot ábrája (57. ábra) a hét kezelés (eltérő jelölők) és ezek tárolt mintáinak (eltérő szín) egymáshoz viszonyított pozícióit mutatja meg. Általánosságban elmondható, hogy két mintapont közötti nagyobb távolság a minták közti nagyobb eltérést jelel. Azt, hogy ez az eltérés milyen tulajdonságokban nyilvánul meg, a loading értékek magyarázzák.

Az elkülönülés a kezelés intenzitása szerint figyelhető meg az 1-2 főkomponens térben. A korábban külön-külön értékelt mérések eredményeit is figyelembe véve a tér (-/+ ) és (+/-) átlója irányában egy intenzitás gradiens szerint rendeződtek el a minták (hosszabb szürke nyíl). A SV és a SV+HHP300 mintáktól, mint a legkisebb behatással kezelt mintáktól a nyíl mentén a HHP600+SV kombinált kezelt mintáig figyelhetjük meg ezt. A két egyszeres nyomáskezelt minta a tér másik felén, jól elkülönül a hőkezelést is kapott mintáktól. A két nyomásérték is az előbbi intenzitás-iránnyal megegyezően helyezkedik el (rövidebb szürke nyíl). A tárolás hatása is nyomonkövethető. Az egyes kezelések mintái szinte minden esetben a (-/-) tartomány, azaz a mikrobiológiai paraméterek irányába mozdultak el.

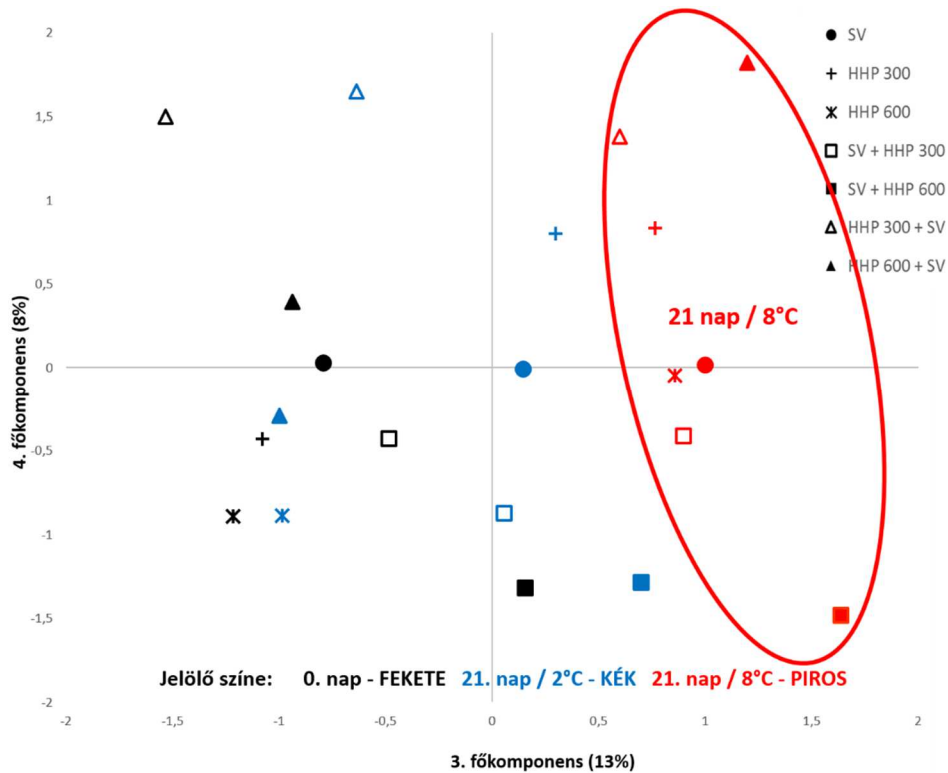
A 8 °C tárolási hőmérséklet esetében az elmozdulások kissé nagyobbak. Ez a 2 °C-hoz képest nagyobb tárolási hőmérséklet hatására bekövetkező intenzívebb változásokat takarhat. Az egyszeres nyomáskezelést kapott két minta esetében a változások mindkét tárolási hőmérsékleten sokkal jelentősebbek, mint a másik öt kezelésnél (hőkezelték), így megállapítható, hogy önmagában a HHP kezelés nem alkalmas ilyen termékek előállítására (vö. mikrobiológiai mérési eredmények 47., 48., 49. ábra).

A 3. és a 4. főkomponens tér loading értékeit az 58. ábra, míg a score-plot az 59. ábrán látható. A 3-4 főkomponens által meghatározott statisztikai térben a tárolás illetve annak hőmérséklete szerint különülnek el a mintáink. A szétválasztás a 3. főkomponens irányában jött létre. A 8 °C-on tárolt minták jól elkülönülnek a 0.napos és a 2 °C-on tárolt mintáktól. A 0.napos és a 2 °C-on tárolt minták elkülönülése nem ennyire mutat egyértelmű képet. Megfigyelhető viszont több kezelés esetében is a 3. főkomponens tengellyel szinte párhuzamos irányban elhelyezkedő „0.nap – 2 °C tárolt – 8 °C –tárolt” minta sorrend. A 8 °C-on tárolt minták elkülönülése jelzés értékű, hogy a vizsgált minőségi paraméterek ezen az emelt hőmérsékleten, összességében erőteljesebb változást mutatnak.





58. ábra A sertéskaraj mérési eredményeinek főkomponens elemzése – loading plot, a 3 - 4 főkomponens térben értelmezve



59. ábra A különböző kezelésű sertéskaraj minták elhelyezkedése a főkomponens térben a 3. és 4. főkomponens függvényében ábrázolva.

## 6 KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A doktori kutatásom során két kéméletes tartósító eljárás kombinált alkalmazásánál fellépő változásokat vizsgáltam sertéskaraj alapanyagon. A sous-vide kéméletes hőkezelés és a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés mint egy kétlépcsős kombinált kezelésként történő alkalmazása során igazolást nyert, hogy a kezelés sorrendje számos paraméternél meghatározó.

A sous-vide technológia bár alkalmas speciális állományú és ízvilágú termékek előállítására, de a hőkezelés (pasztórozás) kis erőssége miatt a kezelést követően szigorú ( $T < 3\text{ °C}$ ) hűtőtárolás szükséges a termék minőségének megőrzése valamint az élelmiszerbiztonsági szempontok miatt. Ez még a rövid tárolási idejű termékeknél is elengedhetetlen. A sous-vide hőkezelés önmagában is a gátelmélet alapjaira épül. A 3-6 különböző hatás kombinációja (anaerob környezet, hőkezelés, hűtőtárolás) eredményezi a termék biztonságát. Ezeket kiegészítve egy további „gáttal”, a HHP kezeléssel egy stabilabb, biztonságosabb terméket kapunk. Ennek köszönhetően lehetővé válik a szigorú hűtőtárolási paraméterek enyhítése, ami a gazdasági szempontok mellett logisztikai előnyöket is jelenthet. Másrészt a termék biztonságos kezelhetőségét javíthatja azáltal, hogy az esetleges hőmérsékletingadozásokat és a hűtlánc egyes elemeiben az időszakos hőmérséklet túllépéseket jelentős minőségváltozás és élelmiszerbiztonsági kockázatnövekedés nélkül viseli. Méréseim alapján igazolást nyert, hogy a kombinált kezelésű minták minősége a  $8\text{ °C}$ -os tárolási hőmérséklet mellett is a megfelelőségi és élelmiszerbiztonsági határértékeket nem haladta meg. A kombinált kezelések hatása a minták mikrobiológiai állapotára jelentős az egyszeres kezelésekkel összehasonlítva. A kombinált kezelések közül azok, amelyek mikrobiológiai hatása erőteljesebb volt, sajnos az egyéb mért tulajdonságok tekintetében kevésbé bizonyultak kéméletesnek (tömegveszteség, szín, állomány, illékony komponensek, TBA emelkedett értékeket illetve eltéréseket mutattak).

A tárolási hőmérséklet tartomány így kibővíthető, de a hatások további kiterjesztett vizsgálatát szükségesnek tartom. A vízkötési formák további vizsgálata termogravimetriás méréssel (TGA módszer) segítene a két kezelés során fellépő fehérjeszerkezeti változások és tömegveszteség összefüggésének pontosabb leírásához. A TGA mérésnél a minták tömegváltozását rögzítjük a DSC méréshez hasonló felfűtési módszerrel. Elektronmikroszkópos (SEM) képalkotással vizualizálva a szerkezetben bekövetkező változásokat, kézzelfoghatóbb, az ipari alkalmazók felé jobban, szemléletesebben átadható ismeretre tehetnénk szert. A szabad aminosav illetve biogén-amin tartalom mérését a

kombinált kezeléseknél is indokolja az egyszeres sous-vide illetve a HHP kezelt mintákon korábban történt hasonló vizsgálatok biztató eredménye.

Méréseimmel egyértelműen alátámasztottam a kéméletes hő és a HHP kezelés-kombinációban történő alkalmazása javítja az élelmiszerbiztonságot és a megfelelő technológiai paraméterek megválasztása esetén a termék minőségi tulajdonságaira gyakorolt hatása is kielégítő.

A gyakorlati alkalmazhatóság kérdésében is előrelépés történt a közelmúltban. A sous-vide technológia mára széles körben elérhető, a kiskereskedelembe is beszerezhetőek a precíz hőmérsékletszabályozásra alkalmas kisüzemi és háztartási méretű berendezések. A HHP kezelés, a technológia gyors terjedése ellenére még nehezebben hozzáférhető. A berendezések ára igen magas és a világszerte működő HHP egységek száma néhány százra tehető csak. A megoldások között szerepel olyan regionális telepítésű berendezések üzembe helyezése, amelyek bérkezelést is vállalnának. Ez megoldhatja a kihasználtság kérdését és a beruházás megtérülését is gyorsíthatja. Ezen feltételek jövőbeni teljesülése esetén a sous-vide kezelés kiegészítve a nagy hidrosztatikus nyomáskezeléssel kismértékű minőségi változások mellett, jelentős élelmiszerbiztonsági előrelépést jelenthet.

A fenti biztató eredmények ellenére nagyon fontos kihangsúlyozni a kéméletesen hőkezelt termékek fokozott élelmiszerbiztonsági kockázatát. A sous-vide termékek előállítása, forgalmazása és árukezelése során kiemelten fontos a szakmai és tudományos háttér ismerete.

## 7 ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Bebizonyítottam, hogy a kezelési módszerek kombinálásával (nyomáskezelés: 300 vagy 600 MPa, 5 perc, szobahőmérséklet; kíméletes hőkezelés: 60 °C-os 60 perc) a sertéskaraj (*musculus Longissimus thoracis és lumborum*) a 21 napos 8°C-os tárolás alatt is mikrobiológiailag megfelelő maradt, még akkor is, ha az alkalmazott nyomáskezelés szintje csak 300 MPa volt. Ezzel szemben az alkalmazott kezelési szintek önmagukban történő alkalmazása nem eredményezett mikrobiológiailag stabil terméket a 21 napos 8 °C-os tárolás során.
2. Igazoltam, hogy a nyomáskezelést (300 vagy 600 MPa, 5 perc, szobahőmérséklet) követő kíméletes hőkezelés (60 °C-os 60 perc) sertéskaraj (*musculus Longissimus thoracis és lumborum*) esetében élelmiszerbiztonsági szempontból stabilabb terméket eredményez, mint az azonos kezelések fordított sorrendben történő alkalmazása, mivel a nyomáskezelt minták hőkezelése után nagyobb tárolási hőmérséklet (21 nap 8 °C-on) mellett is a kimutathatósági szint alatt maradt a *Listeria monocytogenes* száma, és a mezofil aerob, a mezofil anaerob valamint a fakultatív anaerob mikrobák száma is kisebb, mint a hőkezelés után nyomáskezelt minták esetében.
3. Kísérleteimmel igazoltam, hogy a kombinált kíméletesen hőkezelt (60°C-os 60 perc) és nyomáskezelt (300 vagy 600 MPa, 5 perc, szobahőmérséklet) sertéskaraj (*musculus Longissimus thoracis és lumborum*) esetében az alkalmazott nyomás értéknek szignifikáns hatása van a minták tömegveszteségére, vörös-zöld színezetére (CIELab a\*), sárga-kék színezetére (CIELab b\*) és a fehérjék denaturációjának mértékére.
4. Kísérleteimmel igazoltam, hogy a kombinált kíméletesen hőkezelt (60 °C-os 60 perc) és nyomáskezelt (300 vagy 600 MPa, 5 perc, szobahőmérséklet) sertéskaraj (*musculus Longissimus thoracis és lumborum*) esetében a kezelési sorrendnek szignifikáns hatása van a minták tömegveszteségére, vörös-zöld színezetére (CIELab a\*) és a fehérjék denaturációjának mértékére.
5. Igazoltam, hogy a kíméletes hőkezelést (60 °C-os 60 perc) követő nyomáskezelés (300 vagy 600 MPa, 5 perc, szobahőmérséklet) sertéskaraj (*musculus Longissimus thoracis és*

*lumborum*) esetében kíméletesebb technológia, mint az azonos kezelések fordított sorrendben történő alkalmazása, mivel a kíméletesen hőkezelt minták nyomáskezelése után egyes minőségi tulajdonságok (fehérje állapot, szín-tartás, tömegveszteség) kisebb mértékben változtak, mint a nyomáskezelt minták hőkezése után.

6. Bebizonyítottam, hogy a kémiai érzékelősor (elektronikus orr) és a közeli infravörös spektroszkópia (NIR) alkalmas a kombinált kezeléssel tartósított (nyomáskezelés: 300 vagy 600 MPa, 5 perc, szobahőmérséklet; kíméletes hőkezelés: 60 °C-os 60 perc) sertéskaraj (*musculus Longissimus thoracis és lumborum*) megkülönböztetésére a komplex jelválaszok alapján. Az elektronikus orr a nyomáskezelések szintjei között, míg a NIR technika a kezelési sorrend alapján mutatott ki nagyobb különbségeket.

## 8 ÖSSZEFOGLALÁS

A sous-vide hőkezelés alkalmazása egyre elterjedtebb és egyre inkább rutinszerűen történik. A témához kapcsolódó tudományos irodalom is megállapítja, hogy jelentős élelmiszerbiztonsági kockázattal kell számolni a kíméletesen hőkezelt termékek előállításakor és forgalmazásakor. Az újdonságként a kiskereskedelembe is megjelent sous-vide hőkezelt hús termékek megítélése ezért ellentmondásos. A sous-vide kezelés önmagában is legalább három elemű (vákuum, hőkezelés, hűtés) kombinált tartósító eljárás, tehát jó példa a Leistner-i gátelmélet alkalmazására. A nagy hidrosztatikus nyomás lehet egy további gát ebben a technológia sorban, hogy ezek a kedvelt érzékszervi tulajdonságú termékek megőrizve ezeket a minőségi paramétereket kisebb élelmiszerbiztonsági kockázatot jelentsenek.

A doktori kutatásom során ennek a két kíméletes eljárásnak, a sous-vide (vákuumtasakban végzett LT-LT típusú hőkezelés) és a nem termikus HHP technológia kombinált, de térben és időben elkülönített alkalmazása került a középpontba.

Hogyan hat ez a két lépéses technológia az alapanyagként választott sertéskaraj tulajdonságaira? Az egyszeres kezelésekhöz viszonyítva fellépnek-e új hatások?

Az egyszeres kíméletes hőkezelés (60 °C /60 perc) és az egyszeres nyomáskezelés (300 és 600 MPa, 5 perc) mellett ezeket a kezeléseket mindkét kezelési sorrendben, kombinációban is alkalmaztam.

Kutatásom során vizsgáltam a fizikai-kémiai paramétereket (pH, tömegveszteség, szárazanyag %, szín, állomány, víztartó képesség, TBA, zsírsavösszetétel) a mikrobiológiai paramétereket (aerob, anaerob és fakultatív anaerob összcsíraszám, *L. monocytogenes* challenge teszt) a fehérjék szerkezetének változásait (DSC, SDS-PAGE), elektronikus orr segítségével vizsgáltam az illékony komponensek változását, míg a NIR spektrumok elemzése komplex összehasonlítást tett lehetővé. Az ajánlásoknak megfelelő 2 °C-os és azon jóval túllépő 8 °C-on végzett 21 napos tárolási kísérlet során a minták stabilitását vizsgáltam.

Mérési eredményeim alapján megállapíthatom, hogy a kezelési módszerek kombinálásával a sertéskaraj minták a 21 napos 8°C-os tárolás alatt is mikrobiológiailag megfelelőek maradtak, még akkor is, ha az alkalmazott nyomáskezelés szintje csak 300 MPa volt. Ezzel szemben az alkalmazott kezelési szintek, (az egyszeres hőkezelés vagy nyomáskezelés) önmagukban történő alkalmazása nem eredményezett mikrobiológiailag stabil terméket a 21 napos 8 °C-os tárolás során. A 300 MPa-on nyomáskezelt minta a kis (2°C) tárolási hőmérséklet mellett is a romláshatárt meghaladó csíraszám értékeket mutatott mindhárom mikroba csoportnál.

A „nyomáskezelést követő kíméletes hőkezelés” sorrendű kombinált kezelés élelmiszerbiztonsági szempontból stabilabb terméket eredményez, mint az azonos kezelések fordított sorrendben történő alkalmazása. Ebben az esetben, a mintákban a nagyobb tárolási hőmérséklet (21 nap 8 °C-on) mellett is a kimutathatósági szint alatt maradt a *Listeria monocytogenes* száma (ez legalább 5 nagyságrendnyi csíraszám csökkenést jelent), míg a mezofil aerob, a mezofil anaerob valamint a fakultatív anaerob mikrobák száma is jelentősen, mintegy két nagyságrenddel kisebb értékeket mutatott a fordított sorrendű kezelésekkel összehasonlítva.

A sous-vide hőkezelést követő nyomáskezelés kíméletesebb technológiának bizonyult, mint az azonos kezelések fordított sorrendben történő alkalmazása. A fehérjék denaturációjának foka, a szín megőrzése és a tömegveszteség kisebb mértékben változtak, mint a fordított sorrendű kezelések esetében. Kísérleteimmel igazoltam, a kezelési sorrend szignifikáns hatását ezen tulajdonságokra.

Az elektronikus orr és a közeli infravörös spektroszkópia (NIR) alkalmas a kombinált kezeléssel tartósított sertéskaraj megkülönböztetésére a komplex jelválaszok alapján. Az elektronikus orr a nyomáskezelések szintjei között, míg a NIR technika a kezelési sorrend alapján mutatott ki nagyobb különbségeket. A mért tulajdonságok többváltozós statisztikai kiértékelése során sikerült a kezelések erősségi sorrendjét meghatároznom.

A kombinációban alkalmazott hő és nyomáskezelés esetében több mért tulajdonság sem mutatott további degradációt/változást az egyszeres kezelésekhez viszonyítva. Ennek fő jelentősége elsősorban a hőkezeléshez, a jelleget kialakító sous-vide kezeléshez hasonlítva van. Ha fontos minőségi paraméterek nem változnak jelentős mértékben a technológia-sorba beillesztett HHP kezelés hatására, és az élelmiszerbiztonság sem sérül, úgy ennek a kombinált duális kezelésnek megalapozott lehet a használata. A 300 MPa nyomásértéknél fentiek megvalósultak, a 600 MPa nyomás szint néhány esetben további minőségváltozást okozott a mintákban (szín, tömegveszteség, TBA, állomány). Az a kezelés kombináció (HHP600+ SV) amelyik a 8 °C-os 21 napos tárolási periódus alatt a legstabilabb mikrobiológiai állapotot eredményezte, volt a legerőteljesebb hatással a minták egyéb minőségi jellemzőire is.

A két hőmérsékleten elvégzett tárolási próba alapján megválaszolható az a kérdés, hogy a sous-vide termékek tárolása és az árukezelés során a hőmérséklet túllépés milyen mértékben növeli az élelmiszerbiztonsági kockázatot illetve milyen egyéb minőségváltozások jelentkeznek. Az emelt (8 °C) tárolási hőmérsékleten is stabil kombinált kezelésű minták igazolják a kutatásban alkalmazott kezelés kombináció hatékonyságát.

## 9 SUMMARY

The sous-vide mild heat treatment is becoming more and more popular and it is already applied on a daily basis as a routine. The literature on this topic also states that there is an important risk concerning food safety when producing and marketing mild heat treated products. As a novelty, sous-vide meat products appeared in retail, is therefore controversial. Sous-vide treatment applies a combination of three hurdles (vacuum packaging, heat treatment, refrigeration), a combination of preservation methods, which is a good example of using the Leistner hurdle theory. High hydrostatic pressure may be another barrier in this technology line so that these products of preferred sensory properties pose a lower risk.

During my doctoral research, these two minimal processing methods were in focus. The consecutive application of the sous-vide (anaerob LT-LT type heat treatment) and non-thermal HHP technology was investigated.

How does this two-step technology affect the properties of pork chops chosen as a raw material? Are there new effects compared to single treatments?

Beside the single heat treatment (60 ° C / 60 min) and single pressure treatment (300 and 600 MPa), I applied these treatments in combination in both treatment orders as well.

My research included the analysis of the microbiological parameters (aerobic, anaerobic and facultative anaerobic count, *L. monocytogenes* challenge test with an initial 5,3 logN/g) the changes in the structure of proteins (DSC, SDS-PAGE), pH, weight loss, dry matter%, color, texture, water holding capacity, TBA, fatty acid composition. The analysis of volatile components with electronic nose and analysis of NIR spectra allowed a complex comparison. During the 21-day storage experiment at 2 ° C and 8 ° C, the stability of the samples was investigated.

Based on my results, I can conclude that by combining the treatment methods, samples remained microbiologically adequate even during 21 days of storage at 8 ° C, even if the applied pressure treatment level was only 300 MPa. In contrast, the applied treatment levels (single heat treatment or pressure treatment) alone did not result in a microbiologically stable product during the 21 days storage at 8 ° C. At 300 MPa, the pressure-treated sample also exhibited the germ levels above the deterioration threshold even at the low (2 ° C) storage temperature for all three microbe groups.

The combined treatments where heat treatment followed the pressure treatment results in a safer and more stable product than in the case of using same treatments in reverse order. In this case, the *Listeria monocytogenes* remained below the detection level even at the higher



storage temperature (21 days at 8 ° C), while the number of mesophilic aerobes, mesophilic anaerobic and facultative anaerobic microbes was significantly reduced by about two orders compared to the treatments in reverse order.

Pressure treatment with sous-vide heat treatment proved to be a more gentle technology than applying the same treatments in reverse order. The degree of denaturation of the proteins, the preservation of color and weight loss were less varied than in the reverse order treatments. Based on my experiments, I found a significant effect of the treatment sequence on these properties.

Electronic nose and near infrared spectroscopy (NIR) are suitable for distinguishing pork chops preserved by combined methods based on their complex signal response. The electronic nose was able to make difference between the pressure levels and the NIR technique showed greater differences in the order of treatment.

In the combination of heat and pressure treatment, several measured properties showed no further degradation / change compared to the single treatments. Its main significance is primarily related to the sous-vide heat treatment that creates the special organoleptic character. If important quality parameters do not change significantly due to HHP treatment in the technology row and food safety is not compromised, this combined dual treatment may be well-founded. At 300 MPa, the above values have been achieved. With a pressure treatment at 600 MPa in some cases causing further quality changes were observed in the samples (color, weight loss, TBA, texture). The treatment combination (HHP600 + SV), which resulted in the most stable microbiological condition during the 21-day storage period of 8 ° C, had the most powerful effect on other quality characteristics of the samples as well.

Based on the storage test carried out at two temperatures, it is possible to answer the question of how far the temperature exceeds the food safety risk and what other quality changes occur at handling and storing the sous-vide products. Combined treated samples that remained stable at elevated (8 ° C) temperatures demonstrate the effectiveness of the combination of the two minimal processing treatments applied in the study.

## 10 FELHASZNÁLT IRODALOM

1. ALPAS, H., KALCHAYANAND, N., BOZOGLU, F., SIKES, A., DUNNE, C.P., RAY, B. (1999): Variation in Resistance to Hydrostatic Pressure among Strains of Food-Borne Pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(9), 4248–4251.
2. ÁLVAREZ-ORDOÑEZ, A., LEONG, D., HICKEY, B., BEAUFORT, A., JORDAN, K. (2015): The challenge of challenge testing to monitor *Listeria monocytogenes* growth on ready-to-eat foods in Europe by following the European Commission (2014) Technical Guidance document. *Food Research International*. 75, 233-243.
3. ANDERSEN, J., SCHJERLING, P., SALTIN, B. (2000): Muscle génes et performances. *Pour la science*. 276, 50
4. AOAC. (1990): Official methods of analysis (15th ed). Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
5. AUPHAN, G. (1992): Alliance Technologique et Agronomique, *Process Magazine* 1076, p.26-28.
6. AYMERICH, T., PICOUET, P.A., MONFORT, J.M. (2008): Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*. 78(1-2), 114–129.
7. BAJOVIC, B., BOLUMAR, T., HEINZ V. (2012): Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products *Meat Science*. 92(3), 280–289.
8. BAKKER, H.C., WARCHOCKI, S., WRIGHT, E.M., ALLRED, A.F., AHLSTROM, C., MANUEL, C.S., STASIEWICZ, M.J., BURRELL, A., ROOF, S., STRAWN, L.K., FORTES, E., NIGHTINGALE, K.K., KEPHART, WIEDMANN, D.M. (2014): *Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatica* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 64. 1882–1889.
9. BALASUBRAMANIAM, V. M. (2009): Opportunities and Challenges in High Pressure Processing of Foods. *International Forum on Emerging Food Technologies in Food Processing*, c1.
10. BALDWIN, D. E. (2012): Sous vide cooking: A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 1, 15-30.
11. BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. et al. (2005): Novel Food processing technologies. CRC Press, New York. p. 475-489.
12. BÁZÁR, GY. (2011): Közeli infravörös spektroszkópia alkalmazási lehetőségei sertéshús és húskészítmények, valamint sertésszír minősítésében. Doktori értekezés. Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar.
13. BECKER, A., BOULAABA, A., PINGEN, S., KRISCHEK, C., KLEIN, G. (2016): Low temperature cooking of pork meat - Physicochemical and sensory aspects. *Meat Science*. 118, 82–88.
14. BELÁK, Á., KISKÓ, G., KOVÁCS, M., MARÁZ, A., MOHÁCSINÉ, F. CS., POMÁZI, A. (2011): Gyors és molekuláris biológiai módszerek alkalmazása élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálatára - Gyakorlati kézikönyv, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 2.9.1.
15. BELLO, T. F. E., MARTÍNEZ, G. G., CEBERIO, K. F. B., RODRIGO, D., LÓPEZ, M. A. (2014): High Pressure Treatment in Foods. *Foods*. 3(3), 476-490.
16. BERTRAM, H.C., WHITTAKER, A.K., SHORTHOSE, W.R., ANDERSEN, H.J., KARLSSON, A.H. (2004): Water characteristics in cooked beef as influenced by ageing and high-pressure treatment- NMR micro imaging study. *Meat Science*. 66, 301-306.

17. BETTS, D. G. (1998): Critical factors affecting the safety of minimally processed chilled foods. In: Ghazala, S. (ed.) *Sous-vide and cook-chill processing for food industry* (pp.135-145) (1st. ed.) Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland
18. BILIADERIS, C.G. (1983): Differential Scanning Calorimetry in Food Research-A Review. *Food Chemistry*. 10, 239-265.
19. BOTSOGLOU, N.A., FLETOURIS, D.J., PAPAGEORGIOU, G.E., VASSILOPOULOS, V.N., MANTIS, A.J., TRAKATELLIS A.G. (1994): Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42, 1931–1937.
20. BOUTON, P.E., HARRIS, P.V., MACFARLANE, J.J., O'SHEA J.M. (1977): Effect of pressure treatments on the mechanical properties of pre- and post-rigor meat. *Meat Science*. 1 307-318
21. BOWEN, D. (2006 A): With city inspectors in kitchen, Chefs can't cook in vacuum. *New York Times*, márc.9.
22. BOWEN, D. (2006 B): Chefs wait for rules on sous vide. *New York Times*, márc.15.
23. BRIDGMAN, P.W. (1914): The coagulation of albumen by pressure. *Journal of Biological Chemistry*. 19, 511-512.
24. BROYART, B. (2009): Cuisson des produits alimentaires, UV Transformation et conservation des aliments. *AgroParisTech, Massy* 1-26.
25. BUCKOW, R., BULL, M. (2012): High Pressure Processing for seafood & meat products. *Csiro*. 34.
26. BUCKOW, R., SIKES, A., TUME, R., (2013): Effect of High Pressure on Physicochemical Properties of Meat, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 53(7), 770-786.
27. BUZRUL, S., ALPAS, H. (2004): Modelling the synergistic effect of high pressure and heat on inactivation kinetics of *Listeria innocua*: a preliminary study. *FEMS Microbiology Letters*. 238, 29-36.
28. CAMPUS, M. (2010): High Pressure Processing of Meat, Meat Products and Seafood *Food Engineering Reviews*. 2, 256–273
29. CARBALLO, J., COFRADES, S., SOLAS, M.T., JIMENEZ-COLMENERO, F. (2000): High pressure/thermal treatment of meat batters prepared from freeze thawed pork. *Meat Science*. 54, 357-364.
30. CARDELLO, A., SCHUTZ, HG., LESBER, LL. (2007): Consumer perceptions of foods processed by innovative and emerging technologies: a conjoint analytical study. In *Food Science and Emerging Technologies*. 8, 73–83.
31. CARRELL, R.W., GOOPTU, R. (1998): Conformational changes and disease - serpins, prions and Alzheimer's. *Current Opinion in Structural Biology*. 8, 799-809.
32. CASAMATTA, A. (2009): Les impacts de l'utilisation de la cuisson basse température en restauration collective. *Mémoire, Master Alimentation, Université de Toulouse*. 20-29
33. CHAKRABORTY, S., SRINIVASA, P., MISHRA, H. N. (2015): Effect of combined high pressure–temperature treatments on color and nutritional quality attributes of pineapple (*Ananas com. L.*) puree *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 28, 10–21.
34. CHEAH, P.B, LEDWARD, D.A. (1996): High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. *Meat Science*. 43(2), 123-134
35. CHEFTEL, J. C. (1995): Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*. 1(2-3), 75-90.
36. CHEFTEL, J. C., CULIOLI J. (1997): Effects of High Pressure on Meat: A Review. *Meat Science*. 46(3), 212.

37. CHRISTENSEN, L., GUNVIG, A., TØRNGREN, M. A., AASLYNG, M. D., KNØCHEL, S., CHRISTENSEN, M. (2012): Sensory characteristics of meat cooked for prolonged times at low temperature. *Meat Science*. 90(2), 485–489.
38. CHRISTIE, W.W. & HAN, X. (2010): *Lipid analysis – Isolation, separation, identification and lipidomic analysis*. The Oily Press, Lipid Library. London, U.K. 448.
39. CIE International Commission on Illumination, (1978): *Recommendations on Uniform Color Spaces, Color-Difference Equations, Psychometric Color Terms*, Supplement No. 2 to CIE Publication No. 15, Colorimetry.
40. CLAEYS, E., UYTTERHAEGEN, L., BUTS, B., DEMEYER, D. (1995): Quantification of Beef Myofibrillar Proteins by SDS-PAGE. *Meat Science*. 39, 177-193
41. CONTINI, C., ROMANO, C., SCOZZAFAVA, G., CASINI, L. (2016): Food habits and the increase in ready-to-eat and easy-to-prepare products. In: Kotzekidou, P. (szerk.) *Food Hygiene and Toxicology in Ready to Eat Foods*. Academic Press, 3-14.
42. CREED, P.G. (1995): Sensory and nutritional quality of sous-vide foods. *Food Control*. 6(1), 45-52.
43. DALMADI, I., SALAMON, B., KENESEI, GY. (2015): Effects of combinations of minimal processing techniques on the properties of pork and beef meat determined by electronic nose. *Food Science Conference 2015 - Integration of science in food chain. Book of proceedings (ISBN:978-963-503-603-5)* 40-43.
44. DALMADI, I., SEREGÉLY, ZS., KAFFKA, K., FARKAS, J. (2007): Néhány többváltozós kemometriai módszer alkalmazása műszeres analitikai vizsgálatok értékelésére. *Élelmiszervizsgálati közlemények*. LIII (4), 222-238.
45. DÍAZ, P., NIETO, G., GARRIDO, M. D., BANÓN, S. (2008): Microbial, physical–chemical and sensory spoilage during the refrigerated storage of cooked pork loin processed by the sous vide method. *Meat Science*. 80 (2), 287–292.
46. DUTSON, T.R. ÉS ORCUTT, M.W. (1984): Chemical Changes in Proteins Produced by Thermal Processing. *Journal of Chemical Education*. 61(4), 303-308.
47. DUQUENOY, A. (2007): *Traitement thermiques de conservation des produits alimentaires – L’Appertisation*. AgroParisTech, Massy 1-17.
48. ESPINOSA, M. C., DÍAZ, P., LINARES, M. B., TERUEL, M. R., GARRIDO, M. D., (2015): Quality characteristics of sous vide ready to eat seabream processed by high pressure, *LWT - Food Science and Technology*. 64 (2), 657-662.
49. EüM rendelet 4/1998. (XI. 11.) (net.jogtar.hu)
50. FARBER, J.M., DODDS, K.L. (1995): *Principles of Modified-Atmosphere and Sous-vide Product Packaging*. Technomic Publ. AG, Basel. Chapter 3, 37-63.
51. FARKAS, J. (1994): A DSC-termoanalitikai módszer néhány élelmiszertudományi alkalmazása, *Élelmiszervizsgálati Közlemények*. XL (3), 180-189.
52. FAUSTMAN, C., SUN, Q., MANCINI, R., SUMAN, S.P. (2010): Review: Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*. 86, 86–94.
53. FEHÉR, Á. (2003): *Új élelmiszer-előállítási technológiák egészségügyi megítélése*, Semmelweis Egyetem Eü. Főiskolai jegyzet, ppt, OKK-OÉTI.
54. FELLOWS, P.J. (szerk.) (2009): *Food processing technology*, Woodhead Publishing, Ltd., 290-297.
55. FINDLAY, C. J., STANLEY, D. W., GULLET, E. A. (1986): Thermomechanical properties of beef muscle. *Meat Science*. 22, 57-70.
56. FOLCH, J.M., LEEAS, M., SLOANE-STANLEY, G.H. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226, 495-509.

57. FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND - FSAI (2006): Guidance Note No. 20. Industrial Processing of Heat-Chill Foods - <http://www.fsai.ie/assets/0/86/204/bc344239-e0cd-47ee-9dbb-4e747fada893.pdf>
58. GARDNER, J., BARTLETT, P. N. (1992): Odours- The stimulus for an electronic nose. In: *Sensors and Sensory Systems for an Electronic Nose*. UK: Springer Science & Business Media, 10.
59. GARDNER, J. W., BARTLETT, P. N. (1994): A brief history of electronic noses. *Sensors and Actuators B*, 18-19. kötet, 211-220.
60. GASZTONYI, K., LÁSZTITY, R. (1992): *Élelmiszer-kémia 1. Mezőgazda Kiadó. Budapest, p.187-251.*
61. GASZTONYI, K., LÁSZTITY, R. (1993): *Élelmiszer-kémia 2. Mezőgazda Kiadó. Budapest*
62. GERGELY, SZ. (2005): Közeli infravörös spektroszkópia alkalmazása a búza érésdinamikai folyamatainak követésében. *Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi egyetem, Biokémiai és Élelmiszertudományi Tanszék, Doktori értekezés*
63. GENIGEORGIS, C.A. (1993): Additional hurdles for 'sous-vide' products. *First European 'Sous Vide' Cooking Symposium, 25-26 March, 1993. Heverlee, Belgium*
64. GHAZALA, S. (1998): *Sous Vide and Cook-Chill Processing for the Food Industry*. Aspen Publishers. Inc. , Gaithersburg, Maryland. 28., 39-41.
65. GOUSSAULT, B. (1987): *La cuisson sous-vide, Utilisation des cuissons á basse temperature, Paris, France. p.12-53.*
66. GRAU, R., G. HAMM. (1953): Eine Einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung in Muskel. *Die Naturwissenschaften*. 40(1), 277-259.
67. HAIN, T., STEINWEG, C., CHAKRABORTY, T. (2006): Comparative and functional genomics of *Listeria* spp. *Journal of Biotechnology*. 126, 38.
68. HEARNE, L. E., PENFIELD, M. P. and GOERTZ, G. E. (1978): Heating effects on bovine semitendinosus: shear, muscle fiber measurements, and cooking losses. *Journal of Food Science*. 43(1), 10–12.
69. HENDRICKX, M., LUDIKHUYSE, L., VAN DEN BROECK, I., WEEMAES, C. (1998): Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science & Technology*. 9 197-203.
70. HITE, B.H. (1899): The effects of pressure in the preservation of milk. *West Virginia Agricultural Experiment Station Bulletin*. 58, 15.
71. HOGAN, E., KELLY, AL., SUN, D-W. (2005): High pressure processing of foods: an overview. in *Emerging Technologies for Food Processing* (Sun Da-Wen, ed.), Academic Press. p 3–31.
72. HOLDSWORTH, D., SIMPSON, R. (2007): *Thermal processing of Packaged foods*. 2nd Edition. Springer Science, New York,
73. HONG, G. P., SHIM, K. B., CHOI, M. J., MIN, S. M. (2008): Effects of Thermal Processing Combined with High Hydrostatic Pressure on the Characteristics of Cooked Pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 28(4), 415-421.
74. HOOVER , D.G., METRICK, C., PAPINEAU, A. M., FARKAS, D.F., KNORR, D. (1989): Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technology*. 43 (3) 99-107.
75. HORVÁTH, K. (2009): *Műszeres gyorsmódszerek alkalmazása sertéshús minőségváltozásának jellemzésére. Doktori Értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem, Hűtő és Állattermék Technológiai Tanszék.*

76. HUANG, Y., GAN, Y., LI, F., YAN, C., LI, H., FENG, Q., (2015): Effects of high pressure in combination with thermal treatment on lipid hydrolysis and oxidation in pork LWT - Food Science and Technology. 63, 136-143.
77. HYGREEVA, D., PANDEY, M.C. (2016): Novel approaches in improving the quality and safety aspects of processed meat products through high pressure processing technology - A review Trends in Food Science & Technology. 54 175-185.
78. JELINKOVÁ, J. (1996): Effect of Sous Vide Processing on the Texture and Other Properties of Meat (Short-Stay Report) Process Optimisation and Minimal Processing of Foods, European Commission COPERNICUS PROGRAMME Concerted action CIPA-CT94-0195.
79. JOFRÉ, A., AYMERICH, T., GRÉBOL, N., GARRIGA, M. (2009): Efficiency of high hydrostatic pressure at 600 MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenience meat products. LWT - Food Science and Technology. 42, 924–928.
80. JUNEJA, V.K. (1998): Hazards associated with non-proteolytic *Clostridium botulinum* and other spore-formers in extended-life refrigerated foods. In: Sous vide and cook-chill processing for food industry Ghazala, S. (Ed.) Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, 243-273.
81. JUNG, S., DE LAMBALLERIE, A.M., GHOUL, M. (2000): Textural changes in bovine meat treated with high pressure. High Pressure Research. 19, 69–74.
82. KAFFKA, K.J. & GYARMATI, L.S. (1991): Qualitative (Comparative) analysis by near infrared spectroscopy. Biston, R. & Bartiaux-Thill, N. (szerk.) Proceedings of the Third International Conference on Near Infrared Spectroscopy, Agricultural Research Centre Publishing. Gembloux (Belgium), 135–139.
83. KAFFKA, K.J., HORVÁTH, L., GÖNCZY, J.L., CZABAFFY, A., NÁDAI, B.T. (1986): Qualifying foods by near infrared reflectance spectroscopy. Periodica Polytechnica, Chemical Engineering. 30(3-4), 153-157.
84. KAFFKA, K.J., SEREGÉLY ZS. (2002): PQS (Polar Qualification System) the new data reduction and product qualification method. Acta Alimentaria, 31(1), 3–20.
85. KARYOTIS, D., SKANDAMIS, P.N., JUNEJA, V.K. (2017): Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in *sous-vide* processed marinated chicken breast. Food Research International. 100(1), 894-898.
86. KAUFFMANN, R.G., HABEL, R.E., SMUIDERS, F.J.M., HARTMAN, W., BERGSTRÖM, P.L. (1990): Recommended terminology for the muscle commonly designated *Longissimus dorsi*. Meat Science. 28, 259-265.
87. KELLER, T. (2008): Under pressure: Cooking sous-vide. Workman, Artisan Publishers, New York 26-42. és 272-281.
88. KENESEI, GY. (2009): Vákuumfőzött termékek: innovációs technológia alkalmazása a hazai vendéglátásban és közétkeztetésben. Élelmiszermérnök BSc Szakdolgozat. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék
89. KENESEI, GY. (2012): A sous-vide technológia alkalmazhatósága a húsok állományának kialakításában. Élelmiszermérnök MSc Diplomamunka. Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar, Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék
90. KENESEI, GY., DALMADI, I., DARNAY, L., FRIEDRICH, L., POLYÁK-FEHÉR, K., BALLA, CS., VOZÁRY, E. (2013): Impedance measurement of sous-vide and high hydrostatic pressure treated *Longissimus dorsi* of pork. Food Science Conference 2013 - With research for the success of Darányi Program: Book of proceedings. (ISBN:978-963-503-550-2) 291-294.

91. KENESEI, GY., BONCZ, P., JÓNÁS, G., DALMADI, I. (2015a): NIR spectrum of the combined LTLT and HHP treated *Longissimus dorsi* of pork. Food Science Conference, Budapest Book of proceedings. (ISBN:978-963-503-603-5), 121-124.
92. KENESEI, GY., VÉGH, A., SALAMON, B., DALMADI, I. (2015b): Sensory analysis and electronic nose of pork meat patties treated by heat and/or high hydrostatic pressure. Food Science Conference, Budapest, Book of proceedings. (ISBN:978-963-503-603-5), 125-128.
93. KENESEI, GY., ROMVÁRI, R., DALMADI, I. (2017a): Fatty acid composition of thermal / pressure processed pork chops. EuroFoodChem XIX. Budapest, Hungary, Book of Abstracts. (ISBN:978-963-9970-79-5), 148.
94. KENESEI, GY., JÓNÁS, G., SALAMON, B., DALMADI, I. (2017b): Thermograms of the combined High Hydrostatic Pressure and Sous-vide treated *Longissimus dorsi* of pork. Journal of Physics: Conference Series 950, 042007 (doi :10.1088/1742-6596/950/4 /042007)
95. KERTI, K. (2000): Thermoanalytical analysis of cocoa butter and its alternatives. PhD értekezés, Szent István Egyetem
96. KISKÓ, G., KENESEI, GY., DALMADI, I. (2016): Effect of combined sous-vide and high hydrostatic pressure treatments on the quality and safety of pork chop. In: FoodMicro 2016 Dublin. Abstract Book. 595.
97. KNORR, D. (2001): High pressure processing for preservation, modification and transformation of foods. Oral presentation at XXXIX. European High Pressure Research Group Meeting, Santander (Spain), 16-19 September 2001.
98. KNORR, D., FROEHLING, A., JAEGER, H., REINEKE, K., SCHLUETER, O., SCHOESSLER, K. (2011): Emerging Technologies in Food Processing. Annual Reviews in Food Science. 2, 203-235.
99. KREBBERS, B., MATSER, A. M., HOOGERWERF, S. W., MOEZELAAR, R., TOMASSEN, M.M.M., VAN DER BERG, R.W. (2003): Combined high-pressure and thermal treatments for processing of tomato puree: evaluation of microbial inactivation and quality parameters. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 4, 377-385.
100. KRETZSCHMAR, U. (1995): Funktionelle Eigenschaften von Sarcoplasmaproteinen. Fleischwirtschaft. 75, 76–79.
101. KSH (2017): Statisztikai tükrök: Élelmiszermérlegek és tápanyagfogyasztás <https://www.ksh.hu/docs/hun/xftp/stattukor/elelmfogy/elelmfogy15.pdf>
102. KÜRTI, M. (1969): Fizikus a konyhában – előadása alapján, Hervé This beszámolója
103. LAEMMLI, U.K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. Nature. 227, 680-685.
104. LAWRIE, R.A., LEDWARD, D.A. (2006): Lawrie's meat science. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Abington Hall, Abington, Cambridge, England 7th Ed.
105. LEISTNER, L. (1992): Food preservation by combined methods. Food Research International. 25, 151-158.
106. LEISTNER, L. (1994): Further developments in the utilization of hurdle technology for food preservation, Journal of Food Engineering. 22, 421-432.
107. LEISTNER, L. (2000): Basic aspects of food preservation by hurdle technology. Review International Journal of Food Microbiology. 55, 181-186.
108. LI, D., TANG, Q., WANG, J., WANG, Y., ZHAO, Q., XUE, C. (2009): Effects of high-pressure processing on murine norovirus-1 in oysters (*Crassostrea gigas*) in situ. Food Control. 20(11), 992-996.
109. LIGHT, N., WALKER, A. (1990): Cook-chill catering technology and management. Elsevier Science Publishers LTD, Crown House, Linton Road, Barking, Essex IG11 8JU, England. ISBN 1585166543758

110. LUDWIG, H., van Almsick, G., Sojka, B. (1996): High pressure inactivation of microorganisms. *Progress in Biotechnology*. 13, 237-244.
111. LOUTFI, A., CORADESCHI, S.; MANI, G. K.; SHANKAR, P.; BOSCO B. R., J., (2015): Electronic noses for food quality. *Journal of Food Engineering*. 144, 103-111.
112. LUKÁCS, GY. (1982): Színmérés, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 125-167.
113. MA, H. J., LEDWARD, D. A. (2004): High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Science*. 68(3), 347–355.
114. MA, H. J., LEDWARD, D. A. (2013): High pressure processing of fresh meat-Is it worth it? *Meat Science*. 95(4), 897–903.
115. MA, H. J., LEDWARD, D. A., ZAMRI A.I., FRAZIER R.A., ZHOU G.H. (2007): Effects of high pressure/thermal treatment on lipid oxidation in beef and chicken muscle. *Food Chemistry*. 104, 1575–1579.
116. MACFARLANE, J. J., MCKENZIE, I. J., TURNER, R. H. (1986): Pressure-Heat Treatment of Meat: Changes in Myofibrillar Proteins and Ultrastructure. *Meat Science*. 17, 161-176.
117. MACZÓ, A. (2015): BAB EREDETŰ ALFA-AMILÁZ ENZIM INHIBITOROK, MINT BIOLÓGIAILAG AKTÍV FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA. Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet, Biológia Osztály. Doktori értekezés p37-38.
118. MATEJKOVÁ, K., KRÍZEK, M., VÁCHA, F., DADÁKOVÁ, E. (2013): Effect of high-pressure treatment on biogenic amines formation in vacuum-packed trout flesh (*Oncorhynchus mykiss*): *Food Chemistry*. 137, 31-36.
119. MATHYS, A., TOEPFL, S., HEINZ, V., KNORR, D. (2007): Food sterilisation under high pressure – Fundamentals, new insights and challenges. *European Congress on Chemical Engineering (ECCE-6) Copenhagen, Book of Abstracts (Ed.: Ghani R.- Dam-Johansen K.)* 2768.
120. MATSER, A.M., KREBBERS, B., VAN DER BERG, R.W., BARTELS, P.V. (2004): Advantages of high pressure sterilisation on quality of food products. *Trends in Food Science & Technology*. 15, 79-85.
121. MERMELSTEIN, N. H. (1998): High Pressure Processing Begins. *Food Technology*. 52 (6) 104-106.
122. MERTENS, B., DEPLACE, G. (1993): Engineering aspects of high pressure technology in the food industry. *Food Technology*. 47 (6) 164–169. p.
123. MEYER, R.S. (2000): Ultra high pressure, high temperature food preservation process. US Patent 6017572A
124. MEYER, R.S., COOPER, K.L., KNORR, D., LELIEVELD, H.L.M. (2000): High Pressure Sterilisation of Foods. *Food Technology*. 54(11), 67-72.
125. MOHÁCSI-FARKAS, CS., KISKÓ, G., NAGY, A.V. (2011): Kíméletes élelmiszer-tartósító eljárások – sous-vide technológia. *Élelmiszer-biztonság*. 1-2, 32-34.
126. MOL, S., OZTURAN. S., COSANSU, S. (2012): Determination of the quality and shelf life of sous vide packaged bonito (*sarda sarda*, bloch, 1793) stored at 4 and 12°C. *Journal of Food Quality*. 35(2), 137-143.
127. MURPHY, R.Y. and MARKS, B.P. (2000): Effect of meat temperature on proteins, texture and cook loss for ground chicken breast patties. *Poultry Science*. 79, 99-104.
128. MYHRVOLD, N., YOUNG, C., BILET, M. (2011): *Modernist cuisine: The art and science of cooking*. Bellevue, WA: The Cooking Lab.
129. NAGY, A. (2015): A sous-vide kezelés és a nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazásának hatása sertéskaraj minőségére. Budapesti Corvinus Egyetem, Hűtő- és Állattermék Technológiai Tanszék, TDK dolgozat



130. NARSAIAH, K., JHA S. N. (2012): Nondestructive methods for quality evaluation of livestock products. *Journal of Food Science and Technology*. 49(3), 342–348
131. NOVELLA-RODRIGUEZ, S., VECIANA-NOGUES, M. T., SALDO, J., VIDAL-CAROU M. C. (2002): Effects of high hydrostatic pressure treatments on biogenic amine contents in goat cheeses during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(25), 7288-7292.
132. NYATI, H. (2000): An evaluation of the effect of storage and processing temperatures on the microbiological status of sous vide extended shelf-life products. *Food Control*. 11, 471-476.
133. OMER, M. K., ALVSEIKE, O., HOLCK, A., AXELSSON, L., PRIETO, M., SKJERVE, E. (2010): Application of high pressure processing to reduce verotoxigenic *E. coli* in two types of dry-fermented sausage. *Meat Science*. 86(4), 1005–1009.
134. OTERO, L., SANZ, P.D. (2003): Modelling heat transfer in high pressure food processing: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 4, 121-134.
135. OZAWA, T. (2000) Thermal analysis - review and prospect. *Thermochimica Acta* 355, 35-42
136. ÓRI-KOROMPAL, E., SIMON-SARKADI, L., MEDNYÁNSZKY, ZS , KISKÓ, G., KENESEI, GY., FRIEDRICH, L. (2015): A sous vide kezelés hatása húskok szabad aminosav és biogén amin tartalmára. MKE 2. Nemzeti Konferencia program és előadás összefoglalók (ISBN:978-963-9970-57-1) Magyar Kémikusok Egyesülete. 199.
137. ÓRI-KOROMPAL, E., SIMON-SARKADI, L., MEDNYÁNSZKY, ZS., KISKÓ, G., KENESEI, GY., FRIEDRICH, L.(2014): Effect of sous-vide treatment on biogenic amine content of different meat during storage. European Chemistry Congress - 5th EuCheMS, Istanbul, Törökország, Book of Abstracts vol. 3. 650.
138. PAN, Z., SINGH, R.P. (2001): Physical and Thermal Properties of Ground Beef During Cooking, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*. 34, 437-444.
139. PATTERSON, M.F. (2005): A review: Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of Applied Microbiology*. 98, 1400-1409.
140. PATTERSON, M.F., MCKAY, A.M., CONNOLLY, M., LINTON, M. (2010): Effect of high pressure on the microbiological quality of cooked chicken during storage at normal and abuse refrigeration temperatures. *Food Microbiology*. 27, 266-273.
141. PATTERSON, M.F., MACKLE, A., LINTON, M. (2011): Effect of high pressure, in combination with antilisterial agents, on the growth of *Listeria monocytogenes* during extended storage of cooked chicken. *Food Microbiology*. 28, 1506-1508.
142. PECK, M.W., GOODBURN, K.E., BETTS, R.P., STRINGER, S.C. (2006): *Clostridium botulinum* in vacuum packed (VP) and modified atmosphere packed (MAP) chilled foods. IFR Final Project Report (B13006)
143. PENAS, E., FRIAS, J., GOMEZ, R., VIDAL-VALVERDE, C. (2010): High hydrostatic pressure can improve the microbial quality of sauerkraut during storage. *Food Control*. 21(4), 524-528.
144. PICOUET, P. A., COFAN-CARBO S., VILASECA H., CARBONÉ BALLBÈ L., CASTELLS P. (2011): Stability of sous-vide cooked salmon loins processed by high pressure *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 12, 26–31.
145. PIKUL, J., LESZCZYENSKI, D. E., KUMMEROW, F. A. (1989): Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37, 1309-1313.
146. PINO, I.O., ROJO, D. G., IBÉRICA, S., MARÍN, T., MARÍN, J. P., LOBERA, M. S. (2015): Risk factors and the keys to success in the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Hygiene*. 26(4), 7.

147. POLYÁKNÉ, F. K., DALMADI, I. (2007): Vákuumfőzött (sous vide) termékek előállítása In: Balla, Cs.-Siró, I. (szerk.) Élelmiszerbiztonság és minőség. Mezőgazda Kiadó. Budapest. II.kötet,153-176.
148. PRALUS, G. (1985): Une histoire d'amour: La cuisine sous-vide. Publié par George Pralus. Paris. 35-59.
149. PREVOLNIK, M., CANDEK-POTOKAR, M., SKORJANC, D. (2010): Predicting pork water-holding capacity with NIR spectroscopy in relation to different reference methods. *Journal of Food Engineering*. 98, 347-352.
150. PRIETO, N., ROEHE, R., LAVIN, P., BATTEN, G., ANDRÉS, S. (2009): Application of near infrared spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Science*. 83, 175-186.
151. PURROY, F. (2013): Commercial HPP: Evolution of industrial equipment on to automation. *Hiperbaric*. 4.
152. RASO, J., BARBOSA-CANOVAS, G.V. (2003): Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43(3), 265-285.
153. RASTOGI, N.K., RAGHAVARAO, K.S.M.S., BALASUBRAMANIAM, V.M., NIRANJAN, K., KNORR, D. (2007): Opportunities and Challenges in High Pressure Processing of Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 47, 69-112.
154. RITZ, M., THOLOZAN, L., FEDERIGHI, M., PILET, F. M. (2001): Morphological and Physiological Characterization of *Listeria monocytogenes* Subjected to High Hydrostatic Pressure. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(5), 2240-2247.
155. ROBERTSON, J., BOUTON, P.E., HARRIS, P.V., MACFARLANE, J.J., SHORTHORSE, W.R. (1984): Pressure-Heat Treatment of Meat: Comparison of Beef and Buffalo Meat. *Meat Science*. 10, 285-292.
156. RODRIGEZ-CALLEJA, J.M., CRUZ-ROMERO, M.C., O'SULLIVAN, M.G., GARCÍA-LÓPEZ, M.L., KERRY, J.P. (2012): High-pressure-based hurdle strategy to extend the shelf-life of fresh chicken breast fillets. *Food Control*, 25, 516-524.
157. RODRIGO, D., VAN LOEY, A., HENDRICKX, M. (2007): Combined thermal and high pressure color degradation of tomato purée and strawberry juice. *Journal of Food Engineering*. 79(2), 553-560.
158. ROGER, M.H. (1895): Action des Hautes Pressions sur Quelques Bacteries. *Archives de Physiologie Normale et Pathologique* 7:12.
159. ROLDAN, M., ANTEQUERA, T., ARMENTEROS, M., RUIZ, J. (2014): Effect of different temperature-time combinations on lipid and protein oxidation of sous-vide cooked lamb loins. *Food Chemistry*. 149, 129-136.
160. ROLDAN, M., RUIZ, J., PULGAR, J.S.D., PÉREZ-PALACIOS, T., ANTEQUERA, T. (2015): Volatile compound profile of sous-vide cooked lamb-loins at different temperature-time combinations. *Meat Science*. 100, 52-57.
161. ROZIER, J. ET AL. (1990): Plats cuisinés à l'avance et cuisson sous-vide. *Maitrise de la qualité hygiénique*. APRIA-CDIUPA, Massy, 2-63.
162. RYBKA- RODGERS, S. (1999): Developing HACCP plan for extended shelf- life cook- chill ready- to- eat meals. *Food Australia*. 51, 430- 433.
163. RYBKA- RODGERS, S. (2001): Improvement of food safety design of cook- chill foods. *Food Research International*. 34, 449- 455.
164. SALAMON, B., KENESEI, GY., DARNAY, L., CSEHI, B., DALMADI, I. (2015): Effect of different temperature-time combinations on colour features of sous-vide cooked beef round.

- Food Science Conference 2015 - Integration of science in food chain. Book of proceedings. (ISBN:978-963-503-603-5) 217-220.
165. SAMSON C. T. (2013): Procesado de alimentos por altas presiones. Hiperbaric. 14.
  166. SCHINDLER, S., KRINGS, U., BERGER R.G., ORLIEN, V. (2010): Aroma development in high pressure treated beef and chicken meat compared to raw and heat treated. *Meat Science*. 86, 317–323.
  167. SCHELLEKENS, W., MARTENS, T. (1992): Sous-vide cooking ALMA Catholic University Leuven, EUR 15018EN EC Commission, Section DG XII. Brussels
  168. SHEARD, M., RODGER, C. (1995): Optimum heat treatments for 'sous vide' cook-chill products. *Food Control*. 6 (1) 53-56.
  169. SMELLER, L. (2002): Pressure-temperature phase diagrams of biomolecules. Review, *Biochimica et Biophysica Acta*. 1595, 11-29.
  170. SMELT, J.P. (1998): Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends Food Science and Technology*. 9, 152-158.
  171. SMELT, J.P., HELLEMONS, J.C., WOUTERS, P.C., VAN GERWEN, S.J.C. (2002): Physiological and mathematical aspects in setting criteria for decontamination of foods by physical means. *International Journal of Food Microbiology*. 78, 57–77.
  172. SOMKUTI, J. (2013): Fehérjék nyomás által indukált szerkezetváltozásainak jellemzése infravörös és fluoreszcencia spektroszkópiai módszerekkel. Doktori értekezés, SOTE, Budapest, DOI:10.14753/SE.2014.1919
  173. SOUS VIDE ADVISORY COMMITTEE (SVAC) (1991): Code of Practice for Sous Vide Catering Systems.
  174. SOUZA, C.M., BOLER D.D., CLARK D.L., KUTZLER, L.W., HOLMER, S.F., SUMMERFIELD, J.W., CANNON, J.E., SMIT, N.R., MCKEITH, F.K., KILLEFER, J. (2011): The effects of high pressure processing on pork quality, palatability, and further processed products. *Meat Science*. 87, 420-422.
  175. STRINGER, S.C. (2012): Sous-vide food safety. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food (ACMSF) előadás anyag, Institute of Food Research, Norwich
  176. STRINGER, S.C., METRIS, A. (2017): Predicting bacterial behaviour in sous vide food *International Journal of Gastronomy and Food Science*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijgfs.2017.09.001>
  177. SUN S., SULLIVAN G., STRATTON J., BOWER C., CAVENDER G. (2017): Effect of HPP treatment on the safety and quality of beef steak intended for sous vide cooking. *LWT - Food Science and Technology*. 86, 185-192.
  178. SZIGEDI, T. (2013): Módszerfejlesztés Fourier-transzformációs közeli infravörös technika (FT-NIR) alkalmazási körének kibővítésére élelmiszeripari mintákon. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Alkalmazott Kémia Tanszék, Doktori Dolgozat. DOI: 10.14267/phd.2014009 33
  179. SZÜCS, P. (2015): Élelmiszerek mikrobiológiai stabilitásának növelése kéméletes hőkezeléssel (sous-vide technológia) Doktori Dolgozat. Nyugat-magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi kar, Élelmiszertudományi Intézet
  180. SZÜCS, P., VAJDA, K., SZIGETI, J., MOLNÁR, J., LAKATOS, E., ÁSVÁNYI, B. (2015): A Sous-vide, mint kéméletes hőkezelési technológia élelmiszer-higiéniái vonatkozásai. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 19(1), 75-91.
  181. TAKAHASHI, H., TAKAHASHI, T., MIYA, S., YOKOYAMA, H., KUDA, T., KIMURA, B. (2015): Growth inhibition effects of ferulic acid and glycine/sodium acetate on *Listeria monocytogenes* in coleslaw and egg salad. *Food Control*. 57, 105.

182. TIAMPO, J. (2006): The nutrition, food safety, and operational benefit of sous-vide technology for North American restaurants. [www.techneusa.com/SealAppeal.pdf](http://www.techneusa.com/SealAppeal.pdf). 1-19.
183. THYHOLT, K., ENERSEN, G., ISAKSSON, T. (1998): Determination of endpoint temperatures in previously heat treated beef using reflectance spectroscopy. *Meat Science*. 48, 49-63.
184. TOKIFUJI, A., MATSUSHIMA, Y., HATCHISUKA, K., YOSHIOKA, K. (2013): Texture, sensory and swallowing characteristics of high-pressure-heat treated pork meat gel as a dysphagia diet. *Meat Science*. 93, 843-848.
185. TORNBERG, E. (2005): Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*. 70, 493-508.
186. TORNBERG, E. (2013): Engineering processes in meat products and how they influence their biophysical properties. *Meat Science*. 95, 871-878.
187. UDDIN, M., OKAZAKI, E., AHMAD, M.U., FUKUDA, Y., TANAKA, M. (2006): NIR Spectroscopy: A non-destructive fast technique to verify heat treatment of fish meat gel. *Food Control*. 17(8), 660-664.
188. USDA-FSIS (2012): (USDA - Food Safety and Inspection Service) FSIS Directive on HPP 6120.2 4
189. YI, J., ZHANG, L., DING, G., HU, X., LIAO, X., ZHANG Y. (2013): High hydrostatic pressure and thermal treatments for ready-to-eat wine-marinated shrimp: An evaluation of microbiological and physicochemical qualities *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 20, 16–23.
190. VÄLIMAA, A. L., TILSALA-TIMISJÄRVI, A., VIRTANEN, E. (2015): Rapid detection and identification methods for *Listeria monocytogenes* in the food chain - A review. *Food Control*. 55, 104.
191. VAJDA, K., SZIGETI, J., ÁSVÁNYI, B., SZŰCS, P. (2015): Sous-vide húsookban előforduló humán patogén baktériumok hőrezisztenciájának vizsgálata. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*. LXI (3), 729-736.
192. WILSON, A. D., BAIETTO, M., (2009): Applications and Advances in Electronic-Nose Technologies. *Sensors*. 9. kötet, 5099-5148.
193. WINTER, R., DZWOLAK, W. (2005): Exploring the temperature–pressure configurational landscape of biomolecules: from lipid membranes to proteins. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*. 363(1827), 537–563.
194. ZAMRI, A.I., LEDWARD, A., FRAZIER, R.A., (2006): Effect of combined heat and high-pressure treatments on the texture of chicken breast muscle (*Pectoralis Fundus*): *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(8), 2992–2996.
195. ZHENG, H., XIONG,G., HAN,M., DENG,S., XU,X., ZHOU,G. (2015): High Pressure / Thermal Combinations on Texture and Water Holding Capacity of Chicken Batters, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 30, 8–14.
196. ZIELBAUER, I., FRANZ, J., VIEZENS, B., VILGIS, A. T. (2016): Physical Aspects of Meat Cooking: Time Dependent Thermal Protein Denaturation and Water Loss. *Food Biophysics*. 11, 34-42.
197. [www.hiperbaric.com](http://www.hiperbaric.com)
198. [www.hhpresearch.blogspot.hu](http://www.hhpresearch.blogspot.hu)
199. [www.konicaminolta.com](http://www.konicaminolta.com)

## MELLÉKLETEK

M1. A kezelési sorrend, a nyomás-érték és az interakciójuk hatása a kombinált kezelésű sertés LTL minták mért jellemzőire

		<i>P</i> (Kezelési sorrend)	<i>P</i> (Nyomás értéke)	<i>P</i> (Kezelési sorrend x Nyomás érték)
Szárazanyag	(%)	0,085	0,101	0,361
Tömegveszteség	(%)	<0,001***	<0,001***	<0,001***
pH		0,197	0,859	0,557
Szín	L*	0,105	0,154	0,245
	a*	<0,001***	<0,001***	0,565
	b*	0,030*	<0,001***	0,619
DSC	denaturációs hő (J/g)	0,067*	0,003**	0,020*
Állomány	keményység (N)	0,508	<0,001***	0,817
TBARS	mg MDA/kg	0,989	0,043*	0,985
Mikrobiológia	anaerob TVC (log <sub>10</sub> , cfu/g)	0,373	0,898	0,407
	aerob TVC (log <sub>10</sub> , cfu/g)	0,268	0,523	0,957
	<i>L. monocytogenes</i> TVC (log <sub>10</sub> , cfu/g)	n/a	n/a	n/a

\*\*\* nagyon erős szignifikáns hatás  $P < 0,001$ ; \*\* erős szignifikáns hatás  $P < 0,01$ ; \*szignifikáns hatás  $P < 0,05$   
n/a – nem értelmezhető, minden esetben a kimutatási határ alatti adat

## M2. Az egyszeres kezelésű sertéskaraj minták mérési eredményei

		0. nap	21. nap / 2°C	21. nap / 8°C	
<b>Szárazanyag (%)</b>	SV	65,91 ± 1,59 <sup>a,X</sup>	68,20 ± 0,76 <sup>a,X</sup>	67,52 ± 1,54 <sup>a,X</sup>	
	HHP 300	71,30 ± 0,82 <sup>a,X</sup>	69,50 ± 0,59 <sup>a,X</sup>	72,20 ± 1,16 <sup>a,X</sup>	
	HHP 600	71,63 ± 1,16 <sup>a,X</sup>	69,96 ± 0,93 <sup>a,X</sup>	71,92 ± 0,16 <sup>a,X</sup>	
<b>Tömegvesztés (%)</b>	SV	18,96 ± 0,66 <sup>a,Y</sup>	24,28 ± 0,52 <sup>a,Y</sup>	24,65 ± 1,18 <sup>a,Y</sup>	
	HHP 300	4,12 ± 0,63 <sup>a,X</sup>	7,73 ± 1,09 <sup>b,X</sup>	11,00 ± 0,84 <sup>b,X</sup>	
	HHP 600	5,08 ± 0,52 <sup>a,X</sup>	9,67 ± 0,77 <sup>b,X</sup>	12,61 ± 0,77 <sup>c,XX</sup>	
<b>pH</b>	SV	6,08 ± 0,09 <sup>a,X</sup>	6,04 ± 0,05 <sup>a,X</sup>	5,95 ± 0,08 <sup>a,X</sup>	
	HHP 300	5,90 ± 0,07 <sup>a,X</sup>	6,00 ± 0,05 <sup>a,X</sup>	5,82 ± 0,03 <sup>a,X</sup>	
	HHP 600	5,99 ± 0,07 <sup>a,X</sup>	6,05 ± 0,06 <sup>a,X</sup>	6,01 ± 0,08 <sup>a,X</sup>	
<b>Szín</b>	<b>L*</b>	SV	75,75 ± 0,20 <sup>a,X</sup>	76,36 ± 0,33 <sup>a,X</sup>	75,42 ± 0,30 <sup>a,XX</sup>
		HHP 300	74,55 ± 0,29 <sup>a,X</sup>	74,04 ± 0,88 <sup>a,Y</sup>	73,15 ± 0,91 <sup>a,X</sup>
		HHP 600	77,58 ± 0,60 <sup>a,Y</sup>	77,02 ± 0,21 <sup>a,X</sup>	77,49 ± 0,79 <sup>a,Y</sup>
	<b>a*</b>	SV	8,09 ± 0,14 <sup>a,Y</sup>	8,01 ± 0,24 <sup>a,Y</sup>	8,04 ± 0,13 <sup>a,Y</sup>
		HHP 300	7,71 ± 0,23 <sup>a,Y</sup>	8,76 ± 0,31 <sup>ab,XY</sup>	9,65 ± 0,38 <sup>b,Z</sup>
		HHP 600	6,36 ± 0,41 <sup>a,X</sup>	7,27 ± 0,17 <sup>a,X</sup>	7,11 ± 0,14 <sup>a,X</sup>
	<b>b*</b>	SV	3,97 ± 0,21 <sup>a,X</sup>	5,35 ± 0,06 <sup>c,Y</sup>	4,65 ± 0,14 <sup>b,Y</sup>
		HHP 300	3,53 ± 0,24 <sup>b,X</sup>	2,68 ± 0,18 <sup>a,X</sup>	3,22 ± 0,25 <sup>ab,X</sup>
		HHP 600	5,88 ± 0,09 <sup>a,Y</sup>	6,11 ± 0,16 <sup>a,Z</sup>	6,15 ± 0,11 <sup>a,Z</sup>
<b>DSC</b>	<b>denaturációs hő (J/g)</b>	SV	1,05 ± 0,03 <sup>a,X</sup>	1,14 ± 0,03 <sup>a,X</sup>	1,63 ± 0,23 <sup>a,X</sup>
		HHP 300	1,07 ± 0,05 <sup>a,X</sup>	0,90 ± 0,02 <sup>a,X</sup>	0,87 ± 0,19 <sup>a,X</sup>
		HHP 600	0,57 ± 0,05 <sup>a,X</sup>	0,63 ± 0,11 <sup>a,X</sup>	0,72 ± 0,16 <sup>a,X</sup>
<b>Állomány</b>	<b>keményesség (N)</b>	SV	5,44 ± 0,43 <sup>a,X</sup>	4,78 ± 0,07 <sup>a,X</sup>	5,30 ± 0,28 <sup>a,X</sup>
		HHP 300	2,55 ± 0,32 <sup>a,Y</sup>	3,75 ± 0,33 <sup>a,Y</sup>	3,03 ± 0,81 <sup>a,X</sup>
		HHP 600	5,93 ± 0,14 <sup>a,X</sup>	4,83 ± 0,94 <sup>a,X</sup>	5,60 ± 1,23 <sup>a,X</sup>
<b>TBARS</b>	<b>mg MDA/kg</b>	SV	1,84 ± 0,23 <sup>a,X</sup>	2,45 ± 0,03 <sup>a,Y</sup>	3,20 ± 0,11 <sup>b,Y</sup>
		HHP 300	1,67 ± 0,28 <sup>a,X</sup>	1,67 ± 0,05 <sup>a,X</sup>	1,79 ± 0,06 <sup>a,X</sup>
		HHP 600	2,98 ± 0,29 <sup>a,Y</sup>	3,44 ± 0,05 <sup>a,Z</sup>	4,97 ± 0,05 <sup>b,Y</sup>
<b>Mikrobiológia</b>	<b>anaerob TVC (log<sub>10</sub>, cfu/g)</b>	SV	1,05 ± 0,20 <sup>a,X</sup>	1,27 ± 0,35 <sup>a,X</sup>	4,30 ± 0,12 <sup>b,X</sup>
		HHP 300	1,53 ± 0,48 <sup>a,X</sup>	5,75 ± 1,11 <sup>a,X</sup>	7,79 ± 0,38 <sup>a,Y</sup>
		HHP 600	< KH	2,61 ± 0,62 <sup>a,X</sup>	7,70 ± 0,27 <sup>b,Y</sup>
	<b>aerob TVC (log<sub>10</sub>, cfu/g)</b>	SV	2,21 ± 0,23 <sup>a,X</sup>	3,80 ± 0,00 <sup>a,X</sup>	7,80 ± 0,23 <sup>b,X</sup>
		HHP 300	4,13 ± 0,77 <sup>a,X</sup>	6,10 ± 1,16 <sup>a,X</sup>	8,10 ± 0,23 <sup>a,X</sup>
		HHP 600	2,68 ± 1,18 <sup>a,X</sup>	3,22 ± 0,59 <sup>b,X</sup>	8,55 ± 0,09 <sup>b,X</sup>
	<b><i>L. monocytogenes</i> TVC (log<sub>10</sub>, cfu/g)</b>	SV	< KH	< KH	< KH
		HHP 300	2,59 ± 0,65 <sup>a,X</sup>	4,00 ± 0,19 <sup>a,Y</sup>	7,64 ± 0,23 <sup>a,Z</sup>
		HHP 600	< KH	< KH	4,94 ± 0,29 <sup>b,Y</sup>

A feltüntetett értékek átlagok ± SE (6 mérésre alapozva)

Azonos sorban eltérő kisbetűvel jelölt értékek (a,b,c, ...) szignifikánsan különböznek ( $P < 0,05$ )

Azonos oszlopban egy adott paraméter esetében, az eltérő nagybetűvel (X,Y,Z, ...) jelölt értékek szignifikánsan különböznek ( $P < 0,05$ )

n/a – nem értelmezhető, kimutatási határ alatti

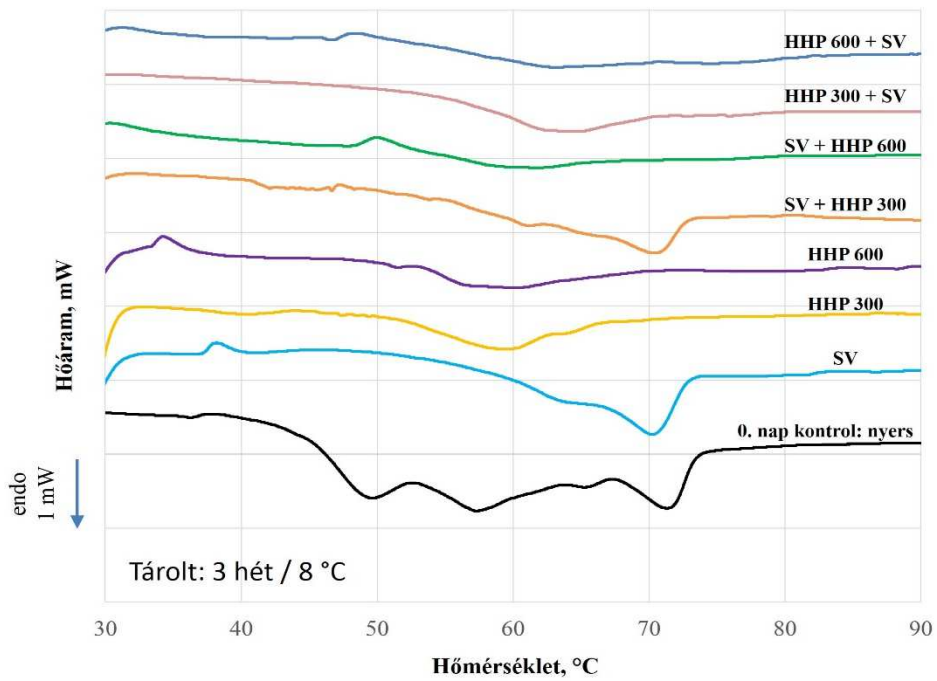
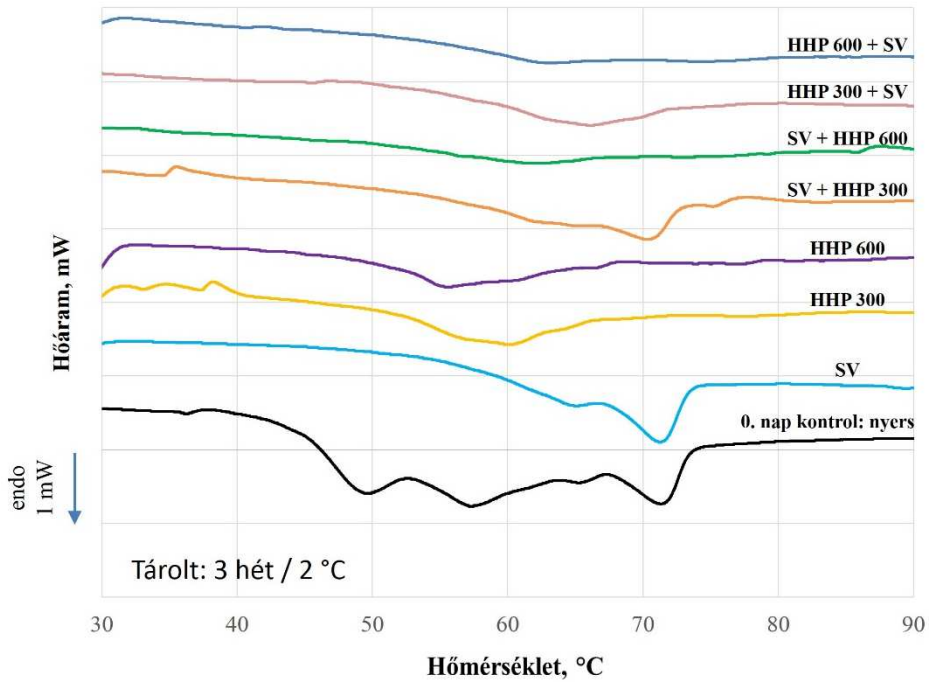
Kimutatási határ: 0,7 log<sub>10</sub>, cfu/g (aerob and anaerob TVC) és 1,7 log<sub>10</sub>, cfu/g (*L. monocytogenes* TVC)

### M3. A kombinált hő és nyomáskezelt sertéskaraj minták mérési eredményei

		Kezelési sorrend	Nyomás	0. nap	21. nap / 2°C	21. nap / 8°C
<b>Szárazanyag (%)</b>		SV + HHP	300 MPa	33,91 ± 2,06	30,85 ± 0,23	29,33 ± 1,09
			600 MPa	31,09 ± 1,57	31,99 ± 1,66	31,93 ± 1,83
		HHP + SV	300 MPa	33,03 ± 1,31	31,23 ± 0,64	31,52 ± 0,79
			600 MPa	34,74 ± 1,32	34,96 ± 0,47	33,76 ± 0,87
<b>Tömegvesztés (%)</b>		SV + HHP	300 MPa	19,34 ± 0,21	20,48 ± 0,22	22,82 ± 0,74
			600 MPa	21,24 ± 1,12	23,26 ± 1,72	23,55 ± 0,27
		HHP + SV	300 MPa	20,31 ± 0,78	19,18 ± 1,17	21,41 ± 0,55
			600 MPa	31,09 ± 0,04	28,01 ± 0,67	31,59 ± 0,29
<b>pH</b>		SV + HHP	300 MPa	6,02 ± 0,07	6,03 ± 0,09	5,94 ± 0,05
			600 MPa	6,06 ± 0,07	6,05 ± 0,07	5,98 ± 0,06
		HHP + SV	300 MPa	6,11 ± 0,07	6,03 ± 0,06	6,01 ± 0,07
			600 MPa	6,10 ± 0,08	6,07 ± 0,05	5,99 ± 0,07
<b>Szín</b>	<b>L*</b>	SV + HHP	300 MPa	74,64 ± 0,28	74,61 ± 0,49	75,11 ± 0,43
			600 MPa	74,91 ± 0,43	73,49 ± 0,94	74,15 ± 0,69
		HHP + SV	300 MPa	80,82 ± 0,50	80,21 ± 0,75	80,07 ± 1,05
			600 MPa	79,78 ± 0,36	79,99 ± 0,70	78,79 ± 1,17
	<b>a*</b>	SV + HHP	300 MPa	7,63 ± 0,39	7,77 ± 0,38	7,69 ± 0,30
			600 MPa	6,48 ± 0,30	6,44 ± 0,33	6,40 ± 0,30
		HHP + SV	300 MPa	6,56 ± 0,25	6,82 ± 0,30	7,32 ± 0,31
			600 MPa	4,75 ± 0,13	5,66 ± 0,37	5,88 ± 0,40
	<b>b*</b>	SV + HHP	300 MPa	4,37 ± 0,21	4,92 ± 0,19	4,91 ± 0,31
			600 MPa	5,86 ± 0,22	6,25 ± 0,14	6,42 ± 0,18
		HHP + SV	300 MPa	4,41 ± 0,18	5,09 ± 0,21	5,38 ± 0,43
			600 MPa	6,24 ± 0,11	6,66 ± 0,19	6,73 ± 0,27
<b>DSC</b>	<b>denaturációs hő (J/g)</b>	SV + HHP	300 MPa	1,30 ± 0,02	1,01 ± 0,35	0,80 ± 0,11
			600 MPa	0,46 ± 0,04	0,49 ± 0,04	0,54 ± 0,11
		HHP + SV	300 MPa	0,65 ± 0,28	0,66 ± 0,18	0,52 ± 0,07
			600 MPa	0,64 ± 0,23	0,46 ± 0,16	0,54 ± 0,13
<b>Állomány</b>	<b>keményesség (N)</b>	SV + HHP	300 MPa	6,03 ± 0,30	4,69 ± 0,31	4,87 ± 0,63
			600 MPa	7,79 ± 0,26	6,04 ± 0,23	8,75 ± 1,13
		HHP + SV	300 MPa	5,37 ± 0,01	4,42 ± 0,21	5,35 ± 0,15
			600 MPa	7,69 ± 0,67	5,75 ± 0,41	8,00 ± 0,81
<b>TBARS</b>	<b>mg MDA/kg</b>	SV + HHP	300 MPa	1,93 ± 0,41	1,94 ± 0,19	2,79 ± 0,02
			600 MPa	6,07 ± 0,26	5,15 ± 0,49	6,24 ± 0,07
		HHP + SV	300 MPa	2,80 ± 0,62	1,86 ± 0,04	2,82 ± 0,06
			600 MPa	5,69 ± 0,49	5,11 ± 0,05	5,54 ± 0,13
<b>Mikrobiológia</b>	<b>anaerob TVC (log<sub>10</sub>, cfu/g)</b>	SV + HHP	300 MPa	< KH	1,72 ± 0,02	3,20 ± 0,10
			600 MPa	< KH	1,24 ± 0,24	2,70 ± 0,20
		HHP + SV	300 MPa	< KH	1,62 ± 0,08	2,30 ± 0,10
			600 MPa	< KH	< KH	1,35 ± 0,45
	<b>aerob TVC (log<sub>10</sub>, cfu/g)</b>	SV + HHP	300 MPa	1,85 ± 0,37	3,50 ± 0,12	5,78 ± 0,45
			600 MPa	1,60 ± 0,10	3,32 ± 0,10	4,67 ± 1,10
		HHP + SV	300 MPa	1,97 ± 0,32	3,39 ± 0,05	3,55 ± 0,11
			600 MPa	< KH	2,72 ± 0,27	2,25 ± 0,15
	<b><i>L. monocytogenes</i> TVC (log<sub>10</sub>, cfu/g)</b>	SV + HHP	300 MPa	< KH	< KH	< KH
			600 MPa	< KH	< KH	< KH
		HHP + SV	300 MPa	< KH	< KH	< KH
			600 MPa	< KH	< KH	< KH

Kimutatási határ (KH) : 0,7 log<sub>10</sub>, cfu/g (aerob és anaerob TVC); 1,7 log<sub>10</sub>, cfu/g (*L. monocytogenes* TVC)

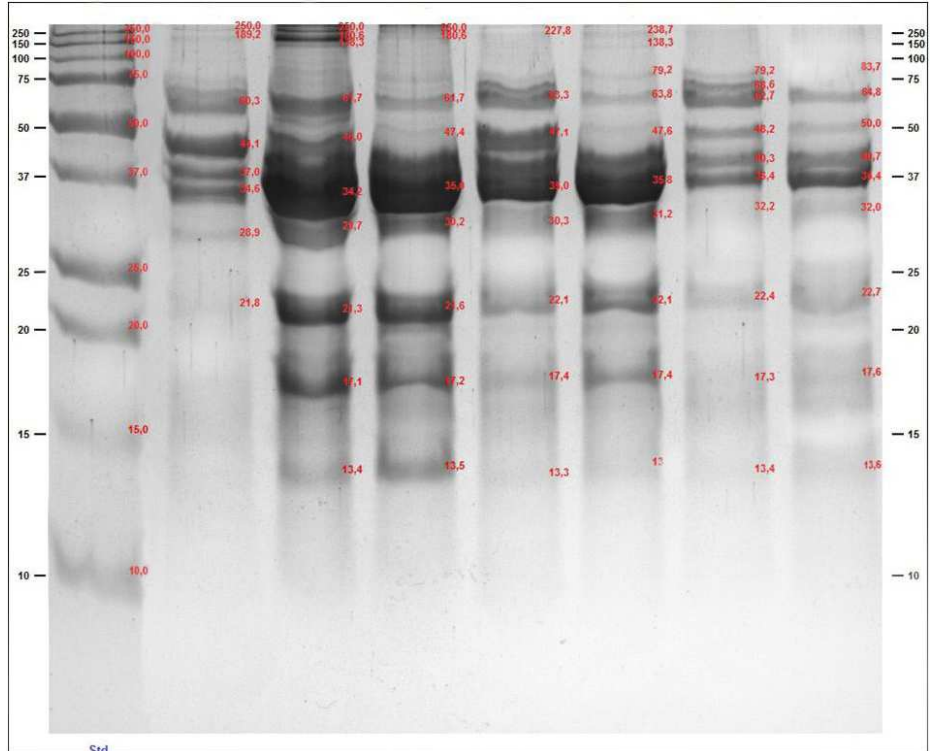
M4. A 3 hétig 2 és 8 °C-on tárolt egyszeres hő és nyomáskezelésű és kombinált kezelésű sertéshús minták DSC termogramjai



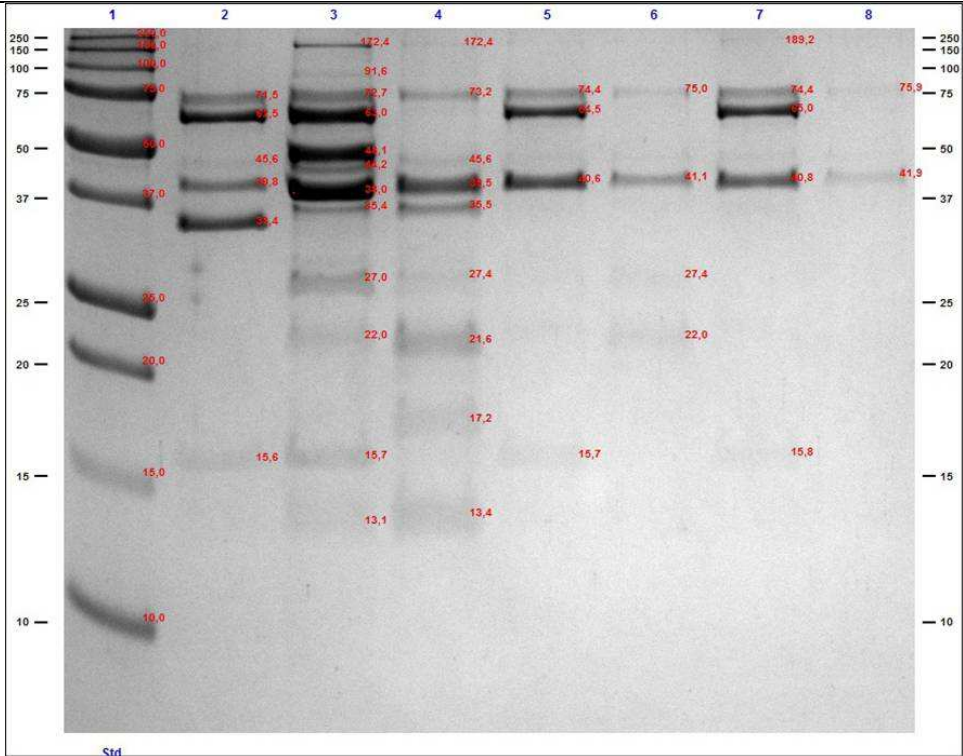


M5. Kombinált hő és nyomáskezelte sertéskaraj 2 °C és 8 °C –on 21 napig tárolt minták SDS-PAGE eredménye

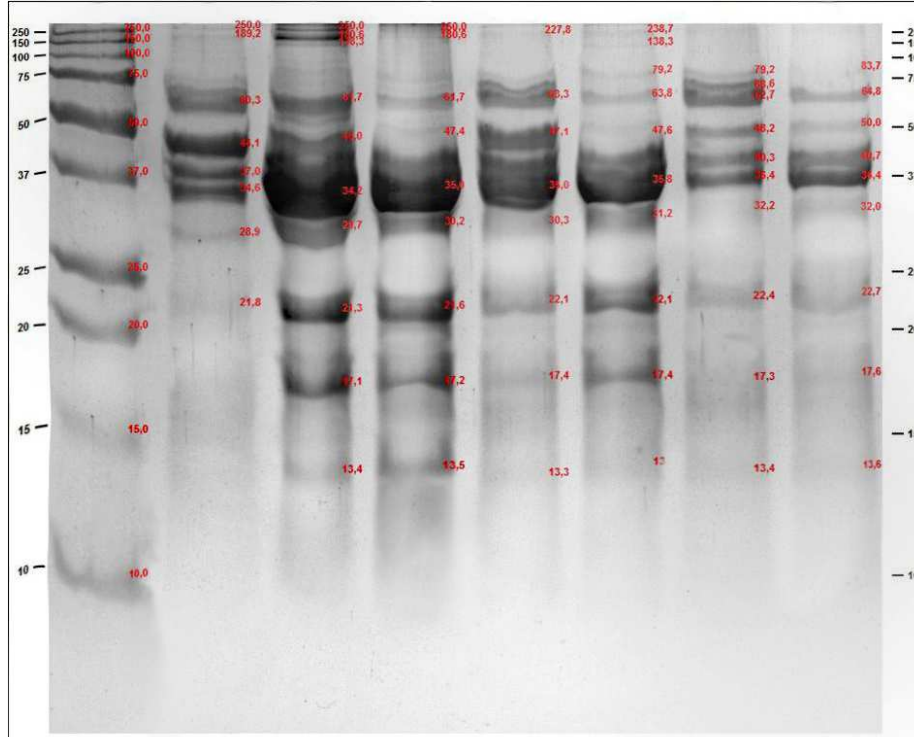
A sertéskaraj minták miofibrilláris fehérjéinek elektroforetikus képe (21 nap / 2 °C)



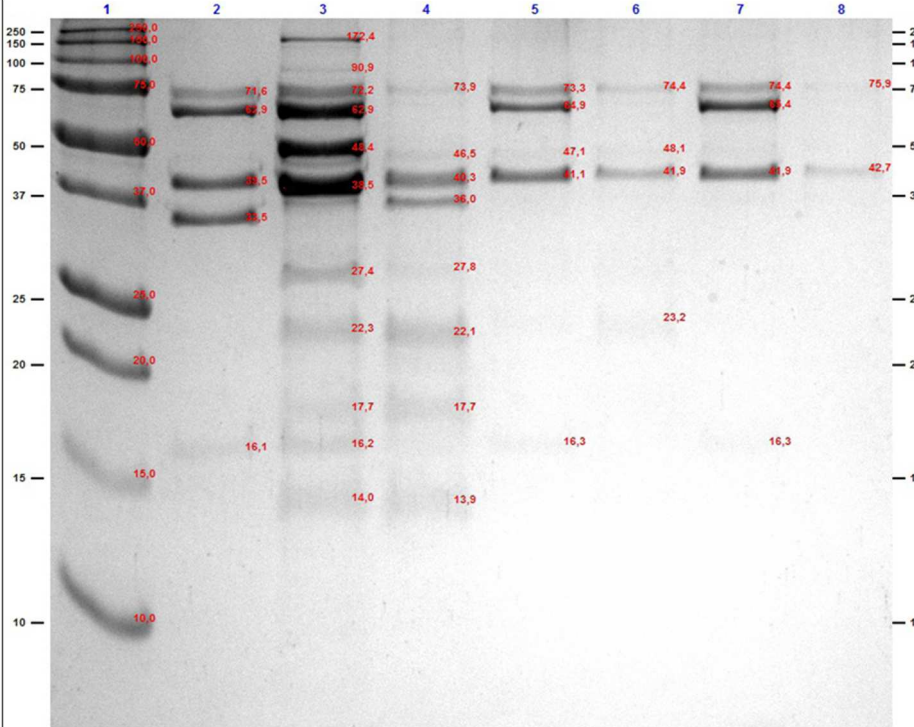
A sertéskaraj minták szarkoplazma fehérjéinek elektroforetikus képe (21 nap / 2 °C)



A sertéskaraj minták miofibrilláris fehérjéinek elektroforetikus képe (21 nap / 8 °C)



A sertéskaraj minták szarkoplazma fehérjéinek elektroforetikus képe (21 nap / 8 °C)



Std

M6. A kombinált hő és nyomáskezelt sertéskaraj minták zsírsavösszetételének eredményei

kezelés	SV	SV	SV	HHP 300	HHP 300	HHP 300	HHP 600	HHP 600	HHP 600	SV+	SV+	SV+	SV+	SV+	SV+	HHP300	HHP300	HHP300	HHP600	HHP600	HHP600
	0	2	8	0	2	8	0	2	8	0	2	8	0	2	8	0	2	8	0	2	8
	0nap	3hét	3hét	0nap	3hét	3hét	0nap	3hét	3hét	0nap	3hét	3hét	0nap	3hét	3hét	0nap	3hét	3hét	0nap	3hét	3hét
Kaprinsav C10:0	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,1	0,07	0,07	0,08	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,07	0,06	0,07	0,07
Laurinsav C12:0	0,06	0,07	0,05	0,05	0,05	0,07	0,05	0,06	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Mirisztinsav C14:0	0,94	0,86	0,93	0,88	0,77	1,03	0,8	0,89	0,95	0,78	0,88	0,91	0,79	0,85	0,87	0,92	0,91	0,89	0,88	0,85	0,86
Mirisztóleinsav C14:1	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Pentadekánsav C15:0	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,03	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Palmitinsav C16:0	22,51	22,16	22,72	21,76	21	22,55	21,38	21,87	23,03	21,16	22,21	22,59	21,33	21,98	22,48	22,56	22,57	22,16	22,12	22,13	22,13
Palmitoleinsav C16:1	1,62	1,69	1,82	1,69	1,84	1,97	1,71	1,59	1,58	1,87	1,74	1,7	1,54	1,59	1,53	1,63	1,74	1,98	1,58	1,56	1,56
Margarinsav C17:0	0,3	0,25	0,28	0,35	0,25	0,29	0,25	0,29	0,28	0,24	0,27	0,31	0,28	0,28	0,28	0,3	0,27	0,25	0,3	0,27	0,29
Sztearinsav C18:0	15,64	15,62	15,39	15,22	14,04	14,83	14,55	15,83	17,38	13,38	15,65	15,68	14,43	15,53	16,86	15,85	16,04	14,57	15,52	16,06	15,84
Elaidinsav+ Olajsav C18:1n9	40,15	40,51	41,81	40,47	40,7	42,11	39,42	39,71	39,8	40,3	41,79	41,15	37,79	39,87	39,04	40,45	42,18	42,84	40,1	39,54	39,53
Vakcénsav C18:1n7	3,08	3,33	3,28	3,41	3,73	3,42	3,49	3,21	3,04	3,68	3,29	3,13	3,33	3,2	3,09	3,09	3,22	3,55	3,11	3,19	3,16
Linolsav C18:2	11,95	11,8	10,59	12,01	12,65	10,22	13,46	12,6	10,31	13,29	10,7	11,59	15,11	12,68	12,05	11,97	10,16	10,23	12,76	12,42	12,58
γ-linolénsav C18:3n6	0,03	0,03	0,02	0,04	0,06	0,02	0,05	0,04	0,1	0,06	0,03	0,02	0,05	0,04	0,03	0,02	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03
α-linolénsav C18:3n3	0,68	0,4	0,46	0,44	0,37	0,42	0,49	0,47	0,43	0,38	0,43	0,53	0,45	0,47	0,44	0,52	0,38	0,4	0,44	0,33	0,45
Arachidinsav C20:0	0,19	0,17	0,16	0,16	0,15	0,16	0,15	0,18	0,41	0,14	0,16	0,16	0,15	0,15	0,18	0,17	0,16	0,16	0,17	0,13	0,17
Eikozénsav C20:1	0,65	0,68	0,71	0,67	0,68	0,72	0,7	0,74	0,6	0,65	0,71	0,69	0,67	0,69	0,72	0,69	0,58	0,71	0,7	0,6	0,71
Eikozadiénsav C20:2	0,44	0,4	0,39	0,43	0,41	0,4	0,43	0,46	0,4	0,41	0,4	0,43	0,47	0,43	0,42	0,43	0,4	0,39	0,47	0,47	0,45
Eikozatriénsav C20:3n6	0,34	0,24	0,17	0,26	0,34	0,21	0,33	0,23	0,45	0,37	0,2	0,14	0,36	0,24	0,23	0,17	0,17	0,21	0,16	0,17	0,24
Arachidonsav C20:4n6	1,03	1,36	0,87	1,68	2,38	1,16	2,33	1,36	0,93	2,61	1,11	0,6	2,58	1,49	1,33	0,82	0,75	1,21	1,15	1,71	1,48
Eikozatriénsav C20:3n3	0,09	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,1	0,03	0,08	0,09	0,09	0,08	0,09	0,08	0,09	0,09	0,08	0,13	0,1	0,09
Eikozapentaénsav C20:5n3	0,03	0,04	0,02	0,04	0,07	0,03	0,07	0,04	0,03	0,09	0,03	0,02	0,08	0,04	0,04	0,02	0,01	0,03	0,04	0,05	0,05
Dokozapentaénsav C22:5n3	0,15	0,19	0,12	0,23	0,32	0,14	0,11	0,2	0,09	0,36	0,16	0,1	0,36	0,2	0,18	0,14	0,13	0,16	0,18	0,23	0,21
	100	100	99,99	100,01	100,01	99,98	99,97	99,99	100,02	100,02	100,02	100	100,01	99,98	100,01	100	99,97	100,02	100	100,02	100

M7. Az egyszeres és kombinált kezelésű sertéskaraj minták mért paramétereinek korreláció vizsgálat eredménye

	pH	száraz anyag (%)	szín L*	szín a*	szín b*	Gómb Erő (N)	Gómb Gőrbé alatti ter. (N*mm)	Tű Erő(N)	Tű Gőrbé alatti ter. (N*mm)	Lévesztés (%)	DSC - entalpia (J/g)	Aerob és fak. Anaerob TKE	Anaerob és fak. Anaerob TKE	L. Monocyt ogenes TKE	TBA mg MDA/kg	WHC mm <sup>2</sup> /mg
	Pearson Correlation	,655**	,512*	1												
pH	Sig. (2-tailed)	0,001	0,018													
	Pearson Correlation	1	0,384													
szárazanyag (%)	Sig. (2-tailed)		0,086													
	Pearson Correlation		1													
szín L*	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
szín a*	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
szín b*	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
Gómb Erő (N)	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
Gómb Gőrbé alatti ter. (N*mm)	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
Tű Erő(N)	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
Tű Gőrbé alatti ter. (N*mm)	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
Lévesztés (%)	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
DSC - entalpia (J/g)	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
Aerob és fak. Anaerob TKE	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
Anaerob és fak. Anaerob TKE	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
L. Monocytogenes TKE	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
TBA mg MDA/kg	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															
WHC mm <sup>2</sup> /mg	Sig. (2-tailed)															
	Pearson Correlation															

\*\* szignifikáns korreláció p=0,01 (2-oldali)

\* szignifikáns korreláció p=0,05 (2-oldali)

erős korreláció  
közepesen erős korreláció

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki segítette, támogatta, észrevételezte vagy türelmével elviselte a doktori értekezésem elkészítését!

Különösen hálás vagyok:

Dr. Dalmadi Istvánnak a számtalan tanácsért, ötletért, türelméért és témavezetői munkájáért,

Polyákné Dr. Fehér Katalinnak és Dr. Balla Csabának, akik útnak indítottak,

Dr. Vozáry Eszternek, Dr. Kiskó Gabriellának, Simonné Dr. Sarkadi Líviának, Csehi Barbarának, Dr. Romvári Róbertnek, a közös munkákért, az észrevételekért, javaslatokért és technikai segítségükért,

Csukáné Nemes Mártának a sok-sok apró és a sok-sok nagyobb segítségért,

A hallgatóimnak a közös munkákért, akikkel számos mérést együtt végeztünk.

Dr. Friedrich László tanszékvezetőknek,

az Élelmiszertudományi Kar Hűtő- és Állattermék Technológiai Tanszék összes dolgozójának.

Családomnak és barátaimnak.