



DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Nagy hidrosztatikus nyomás hatása különböző típusú tejek
fehérjéire**

**Készítette:
Pásztorné Huszár Klára**

**Témavezető:
Farkas József MHAS, emeritusz professzor**

**Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Hűtő és Állattermék Technológiai Tanszék**

Budapest, 2008

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

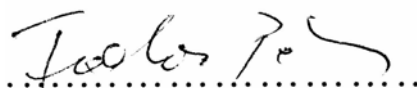
tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Fodor Péter
egyetemi tanár, D.Sc.
Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Alkalmazott Kémia Tanszék

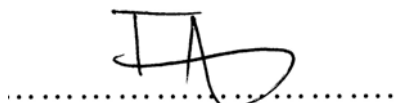
Témavezető: Dr. Farkas József
emeritusz professzor, MHAS
Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Hűtő és Állatitermék Technológiai Tanszék

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatban előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.



Az iskolavezető jóváhagyása



A témavezető jóváhagyása

Nagy hidrosztatikus nyomás hatása különböző típusú tejek fehérjéire

Bevezetés

Az új táplálkozási elveknek, irányvonalaknak megfelelően olyan technológiák kifejlesztése és alkalmazása szükséges, amelyek:

- (1) megőrzik vagy javítják a nyersanyag minőségét valamint fiziko-kémiai funkcionalitását;
- (2) fenntartják vagy fokozzák a kész termék tápértékét és élettani hatását;
- (3) javítják a termék biztonságosságát.

A kíméletes feldolgozás (minimal processing) megfelel ezeknek a kívánalmaknak. A kíméletes feldolgozásban rejlő gondolat az, hogy fenntartsuk az élelmiszer természetes tulajdonságait és meghosszabbítsuk a minőségmegőrzési időt valamint csökkentsük az előállítási költségeket és a környezetet károsító hatásokat úgy, hogy a termék továbbra is biztonságos maradjon.

A kíméletes tartósítási módok bevezetését új, nem-termikus valamint termikus (hőkezelésen alapuló) élelmiszer feldolgozási technológiák kifejlesztése és alkalmazása tette lehetővé. Ezek a technológiák általában kevésbé invazívak, mint az élelmiszeriparban használt hagyományos módszerek. Az új, nem-termikus eljárások egyike az élelmiszerek nagy hidrosztatikus nyomással való tartósítása. Mivel ezt a technikát csak az elmúlt kb. húsz évben vezették be az élelmiszer feldolgozás területén, alapvető vizsgálatok szükségesek, hogy jobban megértsük a tapasztalt jelenségek kinetikáját, mechanizmusát és több kísérleti eredményre van szükség a törvényi, rendeleti szabályozás jóváhagyásához.

Mivel a nagy hidrosztatikus nyomásnak az élelmiszerekre gyakorolt hatásáról még nem áll rendelkezésünkre elegendő kutatási eredmény ill., mivel a Hűtő és Állatitermék Technológiai Tanszéken rendelkezésemre állt egy laboratóriumi méretű nagynyomású berendezés, érdeklődésem az ebben az új technikában rejlő lehetőségek felé fordult. Kutatásom során a nagy hidrosztatikus nyomásnak a tej kezelésében való alkalmazását ill. a tej komponenseire gyakorolt hatását vizsgáltam.

Célkitűzés

Munkám célja az volt, hogy minél jobban megismerjem a nagy nyomás különböző állatfajok tejére gyakorolt hatását, különös tekintettel a tejfehérjékre. A vizsgálatok során mind modern proteomikai módszereket alkalmaztam, mind pedig spektrofluorometriás vizsgálatokat végeztem annak érdekében, hogy megállapítsam, a spektrofluorometria, amely

nem tartozik a tipikus fehérje vizsgálati módszerek közé, megfelelő információt nyújt-e a fehérje összetevők változásáról a korszerű proteomikai módszerekkel összehasonlítva.

Az új élelmiszer feldolgozási technikák bevezetésének egyik fontos tényezője, hogy az új feldolgozási módszer befolyásolja-e az adott élelmiszer esetleges allergén jellegét, mivel az új élelmiszerek potenciális allergének lehetnek. Elengedhetetlen, hogy megállapítsuk annak a kockázatát, hogy egy új feldolgozási technológia nem hoz-e létre vagy nem aktivál-e egy mindeddig ismeretlen vagy biológiailag nem aktív immunreaktív szerkezetet. Ebből fakadóan további célom volt, hogy megvizsgáljam, hogy a nagy hidrosztatikus nyomás hatással van-e a tejfehérjék immunreaktivására a különböző típusú tejekben.

Anyag és módszer

A vizsgált anyagok a következők voltak: női tej, teljes és sovány tehéntej, teljes juhtej, teljes kecsketej, teljes kancatej és tehéntej savó.

A mintákat különböző nyomásokon különböző nyomáson tartási idővel kezeltük. A nyomás értékek 100 és 800 MPa között változtak, 100 MPa-onként növelve a nyomást, a tartási idő 5, 10, 20, 30 és 40 perc volt.

A következő vizsgálati módszereket alkalmaztam:

- Poliakrilamid gél elektroforézis (SDS PAGE és natív PAGE, két-dimenziós PAGE);
- Immunblottolás (Western blottolás);
- Spektrofluorometria.

A spektrofluorometriás méréseknél teljes tehéntejet, kecsketejet és tehéntej savót vizsgáltunk. A minták felét nyomáskezeltük, a másik részét hőkezelésnek vetettük alá (70°C-tól 100 °C-ig 10 °C-onként növelve a hőmérsékletet, a hőtartási idő 5 és 30 perc között változott 5 perccel növelve a tartási időt). A két tartósítási mód hatását hasonlítottuk össze. A triptofán emissziót, retinol emissziót valamint a retinol gerjesztési intenzitását mértük. A triptofán emisszió mérésekor a gerjesztési hullámhossz 290 nm volt és az emisszió intenzitását 305 és 450 nm közötti tartományban vettük fel. A retinol emissziós spektrumának detektálásakor a kibocsátott fény intenzitását 350-500 nm között mértük 321 nm-es fényel történő gerjesztés hatására. A retinol gerjesztési spektrumainak felvételekor az intenzitást 410 nm-es emissziós hullámhosszon mértük a 380-600 nm hullámhossz tartományban.

A dolgozatban a nagy hidrosztatikus nyomás különböző típusú tejekre, elsősorban az egyes tejfehérjékre kifejtett hatását tanulmányoztam. A fehérje vizsgálatok során korszerű

proteomikai módszereket és a spektrofotometriát alkalmaztam és hasonlítottam össze. A retinol vizsgálata csak fluoreszcens spektroszkópiával történt. A tejfehérjék nagy hidrosztatikus nyomás hatására esetlegesen bekövetkező immunreaktivitás változását immunblottolás segítségével követtük nyomon.

A különböző tejek (női tej, tehéntej, kecsketej, juhtej és kancatej) fehérje összetételét SDS és két-dimenziós PAGE módszerrel hasonlítottuk össze.

Eredmények és értékelésük

A kontroll mintáknál (nyers tej) a két albumin típusú tejet egyértelműen meg lehetett különböztetni a többi, kazein típusú tejtől. A 2D-PAGE géleken világosan látszott a tejmintákban lévő eltérő kazein mennyiség. Több, a kazein frakciót jelző folt jelent meg a tehéntej és a kecsketej mintákat tartalmazó géleken és ezek intenzívebbek is voltak, mint a többi tejminta foltjainak intenzitása. Amint az a szakirodalomból már ismert, a női tej nem tartalmazott β -Lg frakciót. Az α -La mennyisége kisebb volt a kecsketejben és a tehéntejben, mint a női tejben vagy a kancatej mintákban. A juhtej elemzésekor két sáv helyett négy sáv jelent meg a gél azon helyén, ahol az α -La megjelenése volt várható.

A következő kísérletsorozatban a nagy hidrosztatikus nyomás tejfehérjékre gyakorolt hatását vizsgáltuk gél elektroforézissel. A nyomáskezelést 600 MPa-on 5 percig végeztük. Azt tapasztaltuk, hogy a a tejmintákban lévő fehérjék különbözőképpen reagáltak a nyomáskezelésre.

A kontroll mintával összehasonlítva a női tejben a kazein frakció intenzitása egyáltalán nem vagy csak nagyon kis mértékben csökkent. A nagy nyomás hatására az α -La frakció intenzitása csekély mértékben csökkent.

A kancatej fehérjéire a nagy nyomás csak minimális hatást gyakorolt. Elhanyagolható változásokat figyeltünk meg a kazein frakció intenzitásában. A β -Lg frakció intenzitása nőtt meg a leginkább, de ez a növekedés sem volt szignifikáns. Az α -La sávok intenzitása csupán ~5%-kal lett nagyobb a kezeletlen mintához képest.

A kecsketej fehérje frakciói a nagy hidrosztatikus nyomásra különbözőképpen reagáltak. Az α -La két csúcsa közül a denzitogramon az első (kisebb Rf értékű) nem változott, míg a második számottevően, kb. 34%-kal nőtt. A β -Lg-nak megfelelő két csúcs viszont jelentős mértékben (~55%-kal) csökkent.

Tehéntejben csak minimális csökkenés volt megfigyelhető az α -La fehérje frakcióban. A két β -Lg sáv intenzitása lényegesen kisebb lett. A csökkenés mértéke 50% körüli volt, hasonló a kecsketejéhez.

Mivel Magyarországon a tehéntejet állítják elő és fogyasztják a legnagyobb mennyiségben más tejelő állatok tejéhez képest, ezért a nagy hidrosztatikus nyomásnak a tehéntej fehérjéire kifejtett hatását részletesebben is vizsgáltam. A tehéntej mintákat egyrészt különböző nyomásokon (100 és 800 MPa tartományban) 10 percig, másrészt 600 MPa nyomáson különböző időtartamokig (5, 10, 20, 30 és 40 perc) kezeltem, így a nyomás nagyságának és a tartási idő hosszának a hatását tudtam vizsgálni.

A legnyilvánvalóbb változások a β -Lg frakcióban következtek be. A PAGE géleken megjelenő sávok intenzitása alapján a pasztörözött tej (72°C, 40 s) β -Lg tartalma a 300 MPa-on 10 percig nyomáskezelt tejéhez volt hasonló. A nyomás növelésével a β -Lg frakció fokozatosan denaturálódott. A 800 MPa nyomáson kezelt tejekben az ehhez a frakcióhoz tartozó sávok már alig voltak láthatóak. A nagyobb molekulatömegű fehérjék sávjai az egyre nagyobb nyomással történt kezelés után egyre diffúzabb eloszlást mutattak, amely aggregációra utalt. Kis mennyiségű (~10%) natív β -Lg maradt a mintákban 800 MPa-on 20 percig tartó nyomáskezelt követően is. A β -Lg két sávban jelent meg a géleken, amelyek a fehérje frakció két izoformjának feleltek meg. A két izoform különböző módon reagált a nagy hidrosztatikus nyomásra; a β -Lg B izoformja denaturálódott hamarabb, mint az A izoform. Gradiens gélben vizsgálva a kazein frakciók sávjainak intenzitása nőtt a nyomáskezelt mintákban. Az α -La tartalmat tekintve nem tapasztaltam jelentős változást a különböző nyomáskezelt mintákban.

A nagy hidrosztatikus nyomással történő kezelés időtartama is hatással volt a tejfehérjékre. Minél hosszabb volt a tartási idő, annál jobban csökkent a β -Lg sávok intenzitása. Ebben az esetben is a β -Lg B izoform bizonyult érzékenyebbnek a nyomással szemben, mint a β -Lg A. A nyomáskezelt időtartama sem a kazein, sem az α -La sávok intenzitását nem befolyásolta jelentősen az általam alkalmazott elválasztási módszer szerint.

Abból a célból, hogy a fehérjék és a tejszír között létrejövő kölcsönhatásokat vizsgálni lehessen, a fehérjék molekulatömeg szerinti elválasztásának képét is vizsgáltam a kontroll valamint a nyomáskezelt soványtej (0.21 g/100g zsír) és teljes tej (4.37 g/100g zsír) mintákban.

A fehérje sávok intenzitása másként változott a soványtej és a teljes tej mintákban. Kifejezett különbségek jelentek meg a β -Lg frakciók intenzitásában sovány- és teljes tej mintákban 600 ill. 800 MPa nyomáson. A β -Lg frakciók intenzitása sokkal határozottabban

csökkent a soványtejben az előbb említett nyomásokon mint teljes tejben. A denzitogramokon jól látható, hogy ~4%-kal kisebb zsírtartalom kb. 40% csökkenést okozott a soványtej minták β -Lg sávjainak intenzitásában az alkalmazott nyomás értékeken. Ez a jelenség a zsír fehérjékre gyakorolt nyomással szembeni védő hatására utalt. Ez a hatás a nagy nyomással történő kezelés következtében fellépő lipid-fehérje kölcsönhatásnak köszönhető.

Összefoglalva megállapítható, hogy az elektroforetikus fehérjemintázat alapján a nagy hidrosztatikus nyomással kezelt fehérje frakciók intenzitása csökkent a nyomás és a tartási idő növelésével. A csökkenés mértéke a tej típusától függően változott és a különböző fehérje frakciók is különbözőképpen reagáltak a nyomásra.

A nagyobb nyomás tartományban a fehérje frakciók, elsősorban a β -Lg intenzitása kevésbé csökkent teljes tejben, mint soványtejben

A kimutatható fehérjék mennyiségének csökkenése a tejfehérjék nagy nyomás hatására létrejövő (részleges) denaturációjával/aggregációjával magyarázható. A nagy nyomás alkalmazása jelentősen csökkenti az oldhatóságukat. Azt, hogy a fehérje frakciók nem-termikus, főként reverzibilis denaturációja/aggregációja a tejfehérjék konformációját és biológiai aktivitását kedvezően vagy kedvezőtlenül változtatja-e meg, a továbbiakban még tisztázni kell.

Bár eddig nem ismeretes élelmiszerek nagy hidrosztatikus nyomásos kezelésének esetleges kockázata, de fontos a nagy nyomás alkalmazásának ilyen irányú tisztázása is. Éppen ezért vizsgálataim kiterjedtek a kontroll és nyomáskezelt tejfehérjék immunreaktivitásának ellenőrzésére is.

A kontroll mintákban a kazeinnek megfelelő fehérje frakciók adták a legerősebb immunválaszt. A juh-, kecske- és tehéntej sokkal intenzívebb választ adott, mint a másik két állattól származó tej. A β -Lg mindegyik állati eredetű tejben immunreaktivitást mutatott. Az α -La-ra a leggyengébb immunválaszt a női és a kancatejtől kaptam. A többi három tejben e fehérje frakció immunreaktivitása kimutatható volt. Két aktív sáv jelent meg a géleken. Azonban amikor egy másik betegről származó tej pozitív humán szérummal végeztük a vizsgálatokat, más eredményeket kaptunk.

Nyomáskezelés után a legbiztosabb eredményeket a kancatej és a kecsketej mutatta. A legkisebb változások a tehéntejben mentek végbe.

Az antigén-antitest komplexeket nyomáskezelt tehéntejben vizsgáltuk, ahol az 1. antitest β -Lg ellen nyúlban kifejlesztett antitest ill. tejfehérje allergiás egyéni humán vérszérum volt, míg a 2. antitest peroxidáz jelzett anti-nyúl IgG ill. peroxidáz jelzett anti- humán IgE volt. A különböző antitestekkel eltérő eredményeket kaptunk. Amikor anti- β -Lg IgG antitestet

használtunk, nem találtunk különbséget a kazein és az α -La immunreaktivitása között a kontroll és a nyomáskezelt mintákban. A β -Lg immunreaktivitásának csökkenése megfelelt a fehérje frakció intenzitás-csökkenésének. Háromszáz MPa nyomáson történt kezelés masként hatott a β -Lg B izoformra, mint a β -Lg A-ra. Ezen a nyomáson a β -Lg B intenzitása megközelítőleg a fele volt a kezdeti intenzitásának, míg a β -Lg A csak nagyon kis mértékű csökkenést mutatott. Hatszáz MPa-on viszont a két β -Lg izoform intenzitása közel azonos volt.

Amikor tej-pozitív humán szérum immunreakcióit vizsgáltuk, a kazein frakciók határozott választ adtak. A nagy nyomás csökkentette a frakciók immunreaktivitását, de a csökkenés mértéke 400 MPa nyomáson elérte a maximumát, a nyomás növelése további csökkenést nem okozott. A többi fehérje frakció nem mutatott immunkémiai reakciót, feltehetően azért, mert az illető beteg csak kazeinre volt érzékeny.

Az adott vizsgálati körülmények között csak a soványtejben tapasztaltuk az immunreaktivitás csökkenését, teljes tejben nem.

A vizsgálatba vont egyéb tej típusok bizonyos fehérje frakcióinak immunreaktivitása is csökkent a nagy nyomás hatására. Az alkalmazott elválasztási és immunblottolási módszer alapján a csökkenés mértéke nem volt szignifikáns, a kancatejet kivéve. Ezek szerint a nagy hidrosztatikus nyomás önmagában nem elegendő hipoallergén tej vagy tejtermékek előállításához.

A fluorometriás vizsgálatokat hőkezelt és nyomáskezelt tehéntejjel, tehéntej savóval és kecsketejjel végeztük. A triptofán emisszió, retinol emisszió és gerjesztés intenzitását mértük és hasonlítottuk össze.

Függetlenül a vizsgált anyagtól és a spektrum jellegétől (emissziós vagy gerjesztési), az általános tendencia volt megfigyelhető, hogy a fluoreszcencia intenzitása a kezelési hőmérséklet növelésével nőtt, a nyomás növelésével pedig csökkent.

A Trp emisszió vizsgálatok a tehéntej savó intenzitása volt a legkisebb, amelyet a teljes tehéntej követett. A teljes kecsketej intenzitása volt a legnagyobb. A különbségek a tejek ill. a savó eltérő összetételéből adódtak. A savó csak savófehérjéket tartalmaz, kazeint, amely a tehéntej legnagyobb mennyiségű fehérje frakciója, nem. A kecsketej fehérjetartalma pedig nagyobb, mint a tehéntejé. A kontroll savó emissziós spektrumának maximuma 334 nm-nél volt található, míg a 100°C-on 30 percig kezelt mintáé 341,7 nm-nél, tehát jelentős eltolódás volt megfigyelhető a hosszabb hullámhossz irányába. A tehéntejben a Trp emisszió még jobban változott, mint a savóban. A nyers tehéntejben az emissziós spektrum csúcsa 342 nm-nél jelentkezett. A kecsketejben mértük a legnagyobb intenzitást és ez a tej reagált a

legerősebben a hőre ill. a nyomásra, mivel az emisszió intenzitása valamivel nagyobb mértékben változott, mint a tehéntejé. Megközelítően 1 nm-rel tolódott el az emissziós csúcs helye a hosszabb hullámhossz irányába.

A teljes tehéntej mintákat egy éjszakán át hűtőszekrényben tároltuk. A minták emissziós spektrumainak intenzitását közvetlenül a kezelés után illetve a tárolás után mértük. A tárolt minták triptofán emissziójának intenzitása kisebb volt, mint a "friss" mintáké. Nem csak a tárolt minták intenzitása, hanem a spektrumaik közötti különbségek is kisebbek voltak. Ez szerkezeti átrendeződésre utalt, a tejfehérjék, elsősorban a β -Lg részleges szerkezeti újrendeződése ment végbe a tárolás során. Ez körülbelül 20°C hőmérséklet csökkenés által okozott konformáció változásnak felelt meg.

A Trp nyomás alatti fluoreszcens viselkedésében tapasztalt tendencia a következőképpen magyarázható. Krisztallográfias vizsgálatok azt mutatták, hogy a Trp környezetének polaritása jól korrelál a fluoreszcens emisszió energiájával. Nagyobb nyomásokon a Trp natív környezete lényegesen polárisabbá válik. A vízmolekulák behatolnak a fehérje belsejébe és körülveszik a Trp maradékokat. Ezáltal a dipól fluorofor elektronmezejével erős kölcsönhatás válik lehetővé. A natív és a nyomáskezelt fehérjék szerkezete eltér egymástól. A nyomás hatására a fehérje hidrofób részében lévő Trp tartalmú régió közelebb kerül a molekula magjához és így leányékoltabbá, védettebbé válik a környezettől. A fehérje belsejében lévő üregek kitöltődnek a nyomás hatására vagy pedig a fehérje annyira összenyomódik, hogy a rések eltűnnek. Ennek eredményeként a fehérje funkcionális tulajdonságai eltűnnek és gyengül a hidrofób régiók stabilitása.

A fehérjék a hőre ellenkezőképpen reagáltak, mint a nyomásra. A hőmérséklet olyan szerkezeti változásokat okozott, hogy a Trp-tartalmú oldalláncok a fehérje, elsősorban a β -Lg felületéhez közelebb kerültek és ezáltal hozzáférhetőbbé váltak az oldószer számára. Ez nyitottabb szerkezetre utalt. A hőkezelés hatására a fehérjék (részlegesen) kibomlanak és a hidrofób régiók, amelyek Trp-t tartalmaznak, elveszítik árnyékoló, védő hatásukat és a Trp fokozatosan a környezetbe jut.

A retinol emissziós és gerjesztési intenzitását is mértük a két különböző tejben és savóban. Azonos tendenciák jelentek meg ebben az esetben is, mint a Trp vizsgálatoknál: az emisszió és a gerjesztés intenzitása nőtt a hőmérséklet növelésével és csökkent a nyomás növelésével.

A hőkezelt tehéntejben a legnagyobb különbség a kontroll és a 70°C-on kezelt minta retinol emissziója között volt megfigyelhető. A nyomáskezelt minták között a 400 és 600 MPa nyomáson kezelt minták intenzitása különbözött a legnagyobb mértékben. A gerjesztési intenzitások vizsgálatakor a maximális különbséget a 70 és 80°C-on hőkezelt minták között

regisztráltuk. A nyomáskezelt minták esetében a legnagyobb különbség a gerjesztési intenzitásban a kontroll és a 200 MPa-on kezelt minták között adódott. A 400-600 MPa-on kezelt minták gerjesztési spektrumai szinte átfedték egymást, ami arra utalt, hogy 400 MPa-nál nagyobb nyomás már nem okozott további változásokat.

Mind az emissziós, mind pedig a gerjesztési intenzitások kisebbek voltak a kecsketejben, mint a tehéntejben a kecsketej kisebb retinol tartalma miatt. Az emissziós maximum a tehéntejben 407 nm-nél, míg a kecsketejben 409 nm-nél jelent meg. A gerjesztési spektrumok alakja különbözött az emissziós spektrumokétól. Egy csúcs és két kisebb váll volt látható a kisebb hullámhosszokon. A gerjesztési maximumot mindkét tejben 319 nm-nél mértük. A legnagyobb különbséget mind az emisszió, mind pedig a gerjesztési intenzitás tekintetében a kontroll és a 70°C-on hőkezelt, valamint a kontroll és a 200 MPa nyomáson tartott minták között találtuk.

A gerjesztési és emissziós görbék intenzitásának növekedését az okozta, hogy hőkezelés hatására retinol jutott ki a zsírgolyócskákból. A nagy hőmérséklet denaturálja a zsírgolyócska membránjában lévő krioglobulinokat és ez gátolja vagy megakadályozza a zsírgolyócskák aggregációját és a felfölöződést. Az erőteljes hőkezelés hatására a lipidek és a fehérjék egy része kiszabadul a zsírgolyócska membránjából, így a zsírgolyócskák részben "csupaszá" válnak, képesek összeolvadni és nagy zsírcsomókat alkotni. Így a roncsolt membránú zsírcsomókban oldott retinol jobban ki van téve a gerjesztő fénynek, mert kevésbé árnyékolta, mint kezdeti állapotában az ép zsírgolyócska belsejében.

A nagy nyomás ellenkező hatást gyakorolt a retinol fluoreszcenciájára, mint a hőkezelés. A nagy nyomás a zsír kristályosodását idézte elő, és a szilárd zsír mennyisége nagyobb a nyomáskezelt tejszínben és tejben, mint a kezeletlen mintákban. A fluoreszcencia jelensége szilárd fázisban kisebb mértékű. Ezen kívül az a tény, hogy a lipolízis bomlástermékeinek mennyisége nem nő a nyomáskezelt tejben arra utal, hogy a nagy nyomás nem károsítja a zsírgolyócska membránját és ezáltal a zsírgolyócskák nem darabolódnak szét. Ily módon a retinol a zsírgolyócskában marad és jobban védve van a környezettől. Ezen kívül a zsírgolyócskák kompaktabbak, tömörebbek nyomáskezelés után, ami szintén azt eredményezi, hogy a retinol fluoreszcencia jobban le van árnyékolva.

A β -Lg fontos szerepet játszik a retinol felhalmozódására a tejben. Vizsgálatok szerint a β -Lg megkötö a retinolt. Hőkezelés során a β -Lg natív szerkezete denaturálódik. A fehérje másodlagos, harmadlagos és negyedleges szerkezetének változása a központi kálix irreverzibilis változását okozhatja. Ezáltal a retinol nem tud a fehérjéhez kapcsolódni, hanem

a környezetbe jut. Ennek eredményeként a β -Lg denaturációjának szinergista hatása van a retinol fluoreszcencia emissziós és gerjesztési intenzitásának növekedésére.

Összefoglalás

A fent említett eredmények alapján azt állapíthatjuk meg, hogy a különbségek az intenzitás változás mértékében, valamint az, hogy a nyomáskezelt minták spektrumainak csúcsának helye kevésbé tolódott el a hosszabb hullámhossz irányába, azt mutatja, hogy a nagy nyomás kevésbé hatott a tejre, elsősorban a tejfehérjékre és a tejszírra, mint a hőkezelés. Azaz a tej nagy hidrosztatikus nyomással való kezelése a fő összetevőkre gyakorolt hatásának tekintetében kíméletesebb feldolgozási technikának bizonyul, mint a hőkezelés.

A két különböző technikával, azaz a gél elektroforézissel és spektrofluorometriával kapott eredmények alátámasztották egymást. Gél elektroforézis alkalmazásakor a különböző nyomáskezelt tejfehérje frakciók sávjainak intenzitása csökkent a nyomás illetve a tartási idő növelésével, amely a frakciók mennyiségének csökkenésének jele. Ezekkel az eredményekkel összhangban a Trp és retinol emissziós és gerjesztési spektrumainak intenzitás szintén csökkent, párhuzamosan a növekvő nyomással illetve tartási idővel. A két különböző módszerrel kapott hasonló tendenciák alátámasztják azt a feltételezést, hogy a spektrofluorometria egy jól alkalmazható alternatíva lehetne a fehérje kutatásban. Azonban a PAGE és a spektrofluorometria révén szerzett információ jellege különböző. A proteomika korszerű módszerei csak specifikusan célzott vizsgálatoknál helyettesíthetők fluorometriás mérésekkel, de ahol alkalmazható, a fluoreszcens spektroszkópia gyors, megbízható és jól reprodukálható eredményeket ad szemben az időigényes elektroforetikus módszerekkel.

Eddigi eredményeim alapján kutatásaimat a jövőben egyfelől a spektrofluorometriai módszerek, másfelől a nagy hidrosztatikus nyomás más tejipari termékeknél (pl. fermentált termékek, mint joghurt vagy sajt) való alkalmazási lehetőségeinek irányába szeretném kiterjeszteni. A spektrofluorometriát illetően adatbázist szeretnék összeállítani a kezelési paraméterek szisztematikus beállítása és az ezekhez tartozó fluoreszcencia intenzitás mérés révén. Megfelelően nagy adatbázis segítségével az ismeretlen minta azonosítása és besorolása lehetségessé válna hatékony matematikai statisztikai módszerekkel kiegészítve. Ezáltal azt is meg lehetne határozni, hogy milyen jellegű kezelést alkalmaztak és, hogy a termék megfelelő kezelést kapott-e. Ezáltal a spektrofluorometria új és hatékonyabb eszköz lehetne a tejipari minőségellenőrzésben. A nagy hidrosztatikus nyomás más tejtermékeknél való alkalmazása

terén még sok nyitott kérdés áll előttünk a nagy nyomásnak a koagulációra, állományra, érésre és a fehérjék funkcionális tulajdonságaira vonatkozóan.

Új tudományos eredmények

1. Nagyobb zsírtartalmú tej védő hatást gyakorol a nagy nyomással szemben a tejfehérjékre, elsősorban a β -Lg-ra. A nagyobb tejsír tartalom nyomással szembeni védő hatását az immunreaktivitásra vonatkozó vizsgálatok is alátámasztják.
2. Nyomáskezelés hatására (600 MPa, 5 perc) a kancatej immunreaktívása teljes mértékben megszűnik. Ily módon a nyomáskezelt kancatej alternatívát jelenthet a tehéntej-fehérje allergiában szenvedők számára.
3. A β -laktoglobulin két izomerje különbözőképpen reagált a nyomáskezelésre. A β -laktoglobulin immunreaktívásának csökkentéséhez 300 MPa-nál nagyobb nyomásra van szükség.
4. A hőkezelés és a nyomáskezelés ellenkező módon hat a triptofán emisszióra a vizsgált anyagokban. A triptofán emisszió intenzitása a hőkezelés hőmérsékletének emelkedésével nő, a nyomás növelésével csökken állandó tartási idő mellett. A triptofán emisszió intenzitása a tartási idő növelésével állandó hőmérsékleten nő, állandó nyomáson pedig csökken.
5. A hőkezelés és a nyomáskezelés ellenkező módon hat a retinol emissziós és gerjesztési intenzitására a vizsgált anyagokban. A retinol emissziós és gerjesztési intenzitása a hőkezelés hőmérsékletének emelkedésével nő, a nyomás növelésével csökken állandó tartási idő mellett. A retinol emissziós és gerjesztési intenzitása a tartási idő növelésével állandó hőmérsékleten nő, állandó nyomáson pedig csökken.
6. Teljes kecsketejnél a retinol emissziós valamint gerjesztési intenzitásában a legnagyobb arányú változás a kontroll (nyers) és a legkisebb mértékben kezelt minták között van. A nagyobb mértékű kezeléseknél a mért emissziós és gerjesztési intenzitás értékek alig változnak, tehát a kezdeti változások a legnagyobbak.

Publikációs lista

Folyóiratcikkek

IF-es folyóiratcikk

L. Friedrich, E. Tuboly, K. Pásztor-Huszár, Cs. Balla, Cs. Vén (2008): Non-destructive measurement of rind thickness of dry sausage using ultrasound technique. *Acta Alimentaria*. 37 (3) (elfogadva, megjelenés alatt)

Á. Koncz, L. Mészáros, J. Farkas, K. Pásztor-Huszár, R. Helt, N. Lechner: Pasteurization of raw milk by high hydrostatic pressure. *Acta Alimentaria*, 36 (4) 471-481. p. (IF₂₀₀₅=0.274)

Urbányi, Gy., Farkas, J., Mihályi, V., Incze, K., Horti, K., Huszár, K. (1991): Effects of additives on colour stability of sliced Bologna-type sausage made of pork. *Acta Alimentaria*. 20, 131-150. p. (IF₁₉₉₁=0.106)

NEM IF-es folyóiratcikk

Dalmadi, I. Kántor, D.B., Wolz, K. Polyák-Fehér, K. Pásztor-Huszár, K., Farkas, J. Fekete, A. (2007): Instrumental analysis of strawberry puree processed by high hydrostatic pressure or thermal treatment. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 3 (1), 47-66. p.

Pásztorné Huszár K., Strixner T. (2008): Különböző tartósítási módok hatásának spektrofluorometriás vizsgálata tehén- ill. kecsketejben. *Élelmezési Ipar*. 62 (4) 111-116. p.

Mészáros L., Koncz K-né, Farkas J., Pásztorné Huszár K., Helt R., Lechner N.(2003): A nyers tej pasztörözése nagy hidrosztatikus nyomással. *Tejgazdaság*. LXIII. 1, 10-14.p.

Konferencia kiadványok

Magyar nyelvű (full paper)

Pásztorné Huszár K., Koncz K-né, Tuboly E. (2004): A nagy hidrosztatikus nyomás hatása a nyers tehéntej néhány fizikai-kémiai tulajdonságára és mikrobiológiai állapotára. *XXX. Óvári Tudományos Napok, Congress Proceedings CD, Mosonmagyaróvár, 2004. 10. 07.*

Koncz Á., Pásztor-Huszár K., Horti K., Mészáros M. (2006): Kereskedelmi forgalomban lévő trappista sajtok állományának vizsgálata. *XXXI. Óvári Tudományos Nap, CD, Mosonmagyaróvár, 2006. október 5.,*

Magyar nyelvű (abstract)

Mészáros L., Koncz K-né, Farkas J., Pásztorné Huszár K., Helt R., Lechner N. (2002.): A nyers tej pasztörözése nagy hidrosztatikus nyomással. *XIV. Élelmiszertudományi Konferencia kiadványa, Budapest, 2002. p.13.*

Koncz K-né, Mészáros L., Farkas J., Pásztorné H. K., Helt R., Lechner N.(2003.):A nyers tej pasztörözése nagy hidrosztatikus nyomással. „*Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly*” *Tudományos Ülésszak Összefoglalók, Budapest, 2003. november 6-7. p. 70.*

Pásztorné Huszár Klára, Oroszi György, Hajós Gyöngyi, Farkas József (2005): A nagy

hidrosztatikus nyomás hatása a tej színére és viszkozitására valamint a tejfehérjék biokémiai tulajdonságaira. *Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly Tudományos Ülésszak, Összefoglalók, Budapest, 2005 Október 19-20., p. 88-89.*

Koncz Kálmánné, Pásztorné Huszár Klára, Horti Krisztina, Dalmadi István (2005): Félkemény tehén- és kecskesajtok állományának vizsgálata. *Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly Tudományos Ülésszak, Összefoglalók, Budapest, 2005. Október 19-20. p., 78-79.*

Koncz Kálmánné dr., Horti Krisztina, Dalmadi István, Pásztorné Huszár Klára, Kadarkuti Péter (2006): Tárolási körülmények hatása különböző csomagolású Trappista sajtok minőségére. *Műszaki Kémiai Napok '06, Konferencia Kiadvány, Veszprém, 2006. április 25-27., p. 190.*

Pásztorné Huszár Klára, Thomas Strixner (2007): Hőkezelés illetve nagy hidrosztatikus nyomásos kezelés hatására tehéntejben és kecsketejben bekövetkező változások spektrofluorometriás vizsgálata. „Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly” Tudományos Ülésszak, 2007. november 7-8., Összefoglalók, Budapest, p. 236-237.

Somogyi L., Dalmadi I., Pásztorné Huszár K., Sántha B. (2007): Növényi és állati eredetű zsiradékok blendjének elemzése. „Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly” Tudományos Ülésszak, 2007. november 7-8., Összefoglalók, Budapest, p. 142-143.

Koncz Kálmánné, Pásztorné Huszár Klára, Horti Krisztina, Dalmadi István, Kadarkuti Péter (2007): Friss trappista sajt érlelése különböző csomagolásban. „Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly” Tudományos Ülésszak, 2007. november 7-8., Összefoglalók, Budapest, p. 128-129.

Nemzetközi konferencia (full paper)

Pásztor-Huszár, K., Mészáros, L., Koncz, Á., Lechner, N., Takács, K.(2004.): The effect of high hydrostatic pressure on raw bovine milk. *2nd Central European Congress on Food, Congress Proceedings CD, Budapest, 2004. április 25-28.*

Tuboly, E., Pásztor-Huszár, K., Dalmadi, I., Farkas, J. (2004): Studies on bovine milk treated by high hydrostatic pressure. *2nd Central European Congress on Food, Congress Proceedings CD, Budapest, 2004. április 25-28.*

Klára Pásztor-Huszár, Ágota Koncz, György Oroszi (2005): High pressure effects on phosphatase enzyme activity and protein characteristics of bovine milk. *Innovation and Utility in the Visegrad Fours International Scientific Conference, Proceedings of the International Scientific Conference, Nyíregyháza, 2005 October 13-15., p. 467-472.*

L. Friedrich, E. Tuboly, K. Huszar, Cs. Balla (2006): Non-destructive measurement of the callus thickness of dry sausage using ultrasound technique. *3rd Central European Congress on Food, Proceedings of the 3rd Central European Congress on Food CD, Sofia (Bulgaria), 2006. 22-24. May, p. 1-8.*

Nemzetközi konferencia (abstract)

Klara Pasztor-Huszar, Thomas Strixner, Kinga Horvath (2008): Spectrofluorometric detection of changes in milk as a result of heat or HHP treatment. *4th Central European*

Congress on Food, Book of Abstracts, Cavtat (Croatia), 15-17. May, 2008. p. 192.
ISBN 978-953-99725-2-1

Klára Pásztor-Huszár, György Oroszi, Gyöngyi Hajós, József Farkas (2005): Effect of high hydrostatic pressure on physical and biological characteristics of milk and milk proteins. *320th Scientific Colloquium, 292nd Abstract booklet, Budapest, 21st April 2005, p. 5.*

Á. Koncz, K. Pásztor-Huszár, K. Horti, I. Dalmadi (2005): Viscosity of Hungarian yoghurts and their statistical analysis. *10th International Workshop on Chemical Engineering Mathematics, Abstract booklet, Budapest, 2005. August 18-20., p. 30.*

Ágota Koncz, Klára Pásztor-Huszár, Krisztina Horti, István Dalmadi (2006): Study of the viscosity of commercial fruit flavoured yoghurts. *7th International Conference on Food Science, Proceeding, Szeged, 2006. április 20., p.100-101.*

Könyv, könyvrészlet, jegyzet

Magyar nyelvű (megkezdett ívenként)

Koncz Kálmánné, Pásztorné Huszár Klára, Dalmadi István (2006): Nagy hidrosztatikus nyomás élelmiszer-ipari alkalmazása In: Pásztorné Huszár Klára, Kiss István (szerk.): *Minőségkímélő élelmiszer-technológiák és élelmiszer-biztonság*, Mezőgazda Kiadó, Budapest ISBN 963 286 301 1, pp. 50-58.

Koncz Kálmánné, Pásztorné Huszár Klára, Dalmadi István (2006): Nyers tej nagy hidrosztatikus nyomású kezelése In: Pásztorné Huszár Klára, Kiss István (szerk.): *Minőségkímélő élelmiszer-technológiák és élelmiszer-biztonság*, Mezőgazda Kiadó, Budapest ISBN 963 286 301 1, pp. 61-65.

Koncz Kálmánné, Pásztorné Huszár Klára, Dalmadi István (2007): Nyers tej nagy hidrosztatikus nyomású kezelése In: Balla Csaba, Síró István (szerk.): *Élelmiszer-biztonság és -minőség*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 135-139. p.
ISBN 978-963-286-386-3
ISBN 978-963-286-388-7

Koncz Kálmánné, Pásztorné Huszár Klára, Dalmadi István (2007): Nagy hidrosztatikus nyomás élelmiszer-ipari alkalmazása In: Balla Csaba, Síró István (szerk.): *Élelmiszer-biztonság és -minőség*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 124-134. p.
ISBN 978-963-286-386-3
ISBN 978-963-286-388-7

Könyvszerkesztés, hazai

Pásztorné Huszár K., Kiss I. (szerk.) *Minőségkímélő élelmiszertechnológiák és élelmiszerbiztonság*. Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszer-tudományi Kar és Mezőgazda Kiadó, Budapest, 2006
ISBN 963 286 301 1