

Aktív ultrahang hatásának vizsgálata a marhahús enzimrendszerére

TDK dolgozat

Perendi Endre Péter
1. évf. MSc hallgató



TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-
0005

TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0023

Témavezető:
Dr. Vén Csilla
egyetemi tanársegéd

**Budapest
2012.**

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1 A HÚS	4
2.1.1. <i>A hús fogalma</i>	4
2.1.2. <i>A hús alkotórészei, fehérjék</i>	4
2.1.3. <i>A húsban bekövetkező változások a vágás során</i>	6
2.1.4. <i>A hús érlelése során megfigyelhető változások</i>	7
2.1.5. <i>A hús enzimszisztemének változásai az érés alatt</i>	8
2.1.6. <i>Hús porhanyósítása</i>	8
2.2. AZ ULTRAHANG	10
2.2.1. <i>Az ultrahang fajtái, és fizikai jellemzői</i>	10
2.2.3. <i>Az aktív ultrahang kísérő jelenségei</i>	11
2.2.4. <i>Az aktív ultrahang élelmiszer-ipari alkalmazása</i>	13
2.2.5. <i>A nagy intenzitású ultrahang hatása a húsok szerkezetére, állományára</i>	14
2.3. SPEKTROSKÓPIA	15
2.3.1. <i>Általánosan a spektroszkópiáról</i>	15
2.3.3. <i>A spektrofotométer felépítése</i>	15
2.3.4. <i>Az UV-VIS spektroszkópia</i>	16
2.3.5. <i>Az UV-VIS spektrofotometria felhasználási területei</i>	18
3. CÉLKITŰZÉS	19
4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	20
4.1. AZ ALAPANYAG	20
4.2. AKTÍV ULTRAHANGOS KEZELÉS	20
4.3. AZ ÉRLELÉSI KÍSÉRLET SORÁN ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK.....	21
4.3.1. <i>A minták színmérése</i>	22
4.3.2. <i>Hús érettségének vizsgálata savanyú foszfatáz enzim próba alapján</i>	24
4.4. AZ EREDMÉNYEK SZÁMÍTÁSÁNAK, ÉRTÉKELÉSÉNEK MENETE	26
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSEK.....	27
5.1. <i>A MARHAHÁTSZÍN SZÍNÉNEK ALAKULÁSA AZ ÉRLELÉS, ÉS AKTÍV ULTRAHANGOS KEZELÉS SORÁN.....</i>	27
5.2. <i>A FOSZFATÁZAKTIVITÁS (SAVANYÚ FOSZFATÁZ ENZIM) VÁLTOZÁSA AZ ÉRLELÉS SORÁN.....</i>	33
5.2.1. <i>A savanyú foszfatáz enzimaktivitásának változása az öt hónapos fagyasztva tárolás után.....</i>	35
6. ÖSSZEFOGLALÁS	36
IRODALOMJEGYZÉK	38

1. Bevezetés

Magyarországon 1970 és 1980 között az egy főre jutó évi marha- és borjúhúsfogyasztás 10 kg körül mozgott, majd fokozatosan csökkent, majd a 2007-es adatok szerint mindössze 3,1 kg-ot tett ki (KSH, 2007.). Jelenleg a vörös húsok negatív táplálkozás-élettani megítélése, az állatállományban tömegesen fellépő betegségek pl.: a BSE betegségtől való félelem, negatívan érintette szerte Európában, így hazánkban is a marhahúsfogyasztást.

A marhahús porhanyóssága az egyik legfontosabb, fogyasztói megítélésben szerepet játszó minőségi tényező. Ahhoz, hogy a marhahús fogyasztása iránti kereslet újra fellendüljön, a fogyasztók bizalmát kell megerősíteni, a magyar jó minőségű marhahús előállításával.

A kereskedelem figyelme leginkább az érlelés felé fordult. Az érlelés a vágott testek lehűtéséhez szükséges időt meghaladó tárolás, amely a fehérjebontó enzimhatás kiteljesedését szolgálja. A rigor mortis feloldódásával indul be az érési folyamat, amely akár több hétig is eltarthat.

Annak ellenére, hogy a magyar piacon egyre gyakrabban jelenik meg érlelt marhahús, az érlelési technológiát még nem igazán alkalmazzák a hazai gyakorlatban.

Az érlelésnek több módja ismeretes. Hagyományos érlelés esetén a fehérjebontó proteázok hatására puhul a rágós hús (Koohmaraie, 1994). Kémiai érlelés során fehérjebontó enzimkészítményeket adagolnak a termékekhez. A mechanikai porhanyósítás csoportjába tartozik például a tenderizálás, tumblerezés, illetve az ultrahangos kezelés is. A késes tenderizer alkalmazásakor a kötőszöveti hálót, a nebulint roncsoljuk részlegesen. Ezáltal a hőkezelés hatására csökken a zsugorodás mértéke, így nem préselődik ki a hús víztartalma, a hús lédsabb, porhanyósabb marad (Hayward et al., 1980).

Az ultrahang alkalmazása egy viszonylag új módszer a marhahús porhanyósításában, amely a szövetek roncsolásán, és az izomrostok távolságnövelésén alapszik (Vén, 2010).

Dolgozatomban az aktív ultrahang alkalmazása során a húsban bekövetkező esetleges fehérjedenaturációt vizsgáltam, melyet a savanyú foszfátáz enzim változásával lehet nyomon követni. A hús érése során a savanyú foszfátáz enzim aktivitása is változhat (Lawrie, 1979), így vizsgáltam az érési periódus alatt bekövetkező enzimváltozást is.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 A hús

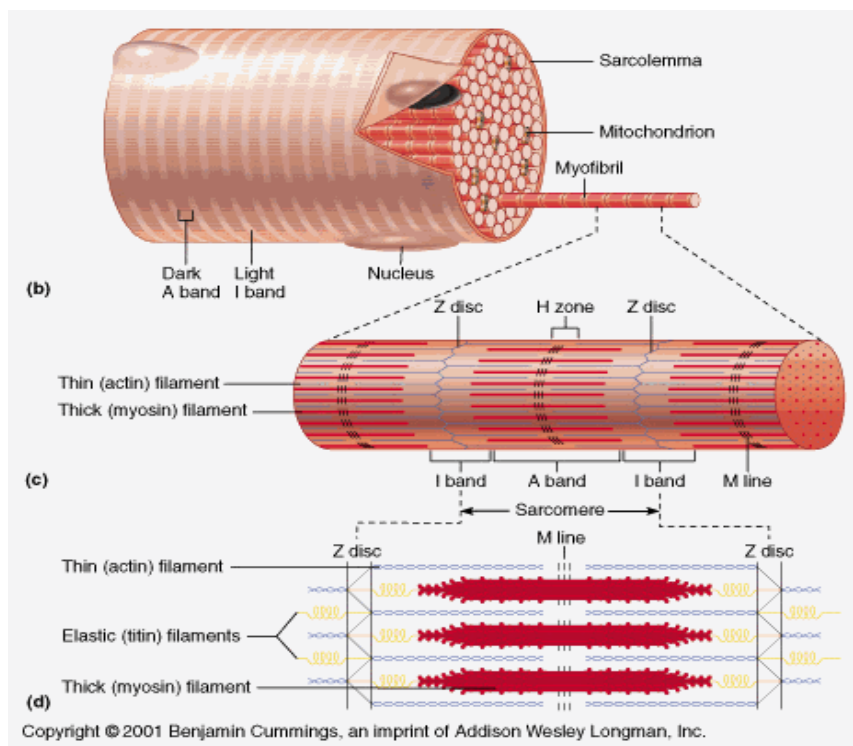
2.1.1. A hús fogalma

Húsnak nevezzük általában a vágóállatok emberi élelemként alkalmas minden részét. Szűkebb értelemben a húson a vázizomzatot értjük, illetve ide tartozik több fogyasztásra alkalmas rész is, mint a kötőszövet (kollagén, elasztin, vér, nyirokerek, hámszövet), és az egyéb fogyasztható szervek, belsőségek (Lásztity, Törley 1993). A marha-, sertés-, és juhhúst „vöröshúsnak” nevezik, a csirke-, és pulykahúst a „fehérhúsok” közé sorolják.

A hús táplálkozás-élettani szempontból kedvező aminosav-összetételű fehérjéket, és hasznos ásványi anyag komponenseket, vitaminokat tartalmaz (Hajós, 2000). A hús fedezi a szervezet számára szükséges esszenciális aminosavakat is.

2.1.2. A hús alkotórészei, fehérjék

Az élelmiszeripari értelemben vett hús izomszövetből, zsírszövetből és kötőszövetből épül fel, amely tartalmazza a szöveteket ellátó idegeket és véredényeket. Az izomszövet legnagyobb részét kitevő haráncsíkt izomnyalábok izomrostokból állnak, amelyek belsejében helyezkednek el a miofibrillumok (**1. ábra**). Az izomrostok kötőszöveti rostokból álló inakba folytatódnak. Ez az összeköttetés lehetővé teszi, hogy az izomrost összehúzódásakor az erőátvitel a legkisebb veszteséggel jusson át a mozgató szervekre. A miofibrillák a rostokban a hossz tengellyel párhuzamosan rendeződnek, hosszanti csíkokat alkotnak (Kosáry, 2006). A rostokban található miofibrillumokat az izommozgásban szerepet játszó szerkezeti fehérjék építik fel. A fibrillumon belül szabályos elrendezésben, fésűszerűen helyezkednek el a vastag és a vékony filamentumok. Az izomösszehúzódás (kontrakció) alatt a vékony és vastag filamentumok egymásba csúsznak. A vastag filamentumot miozin, C - protein és M – vonal fehérjék, a vékony filamentumot a - és b - aktinin, F - aktin, tropomiozin és troponin komplex alkotja (GRUZSAL 1974). A miofibrillumok közti teret a szarkoplazma tölti ki, amely fehérjéi az energiatermelő folyamatokban, a metabolitok-, valamint az oxigén szállításában vesznek részt.



1. ábra: Az izom felépítése

(Forrás: <http://www.znanje.org/i/i27/07iv09/07iv0918/kontrakcija.htm>)

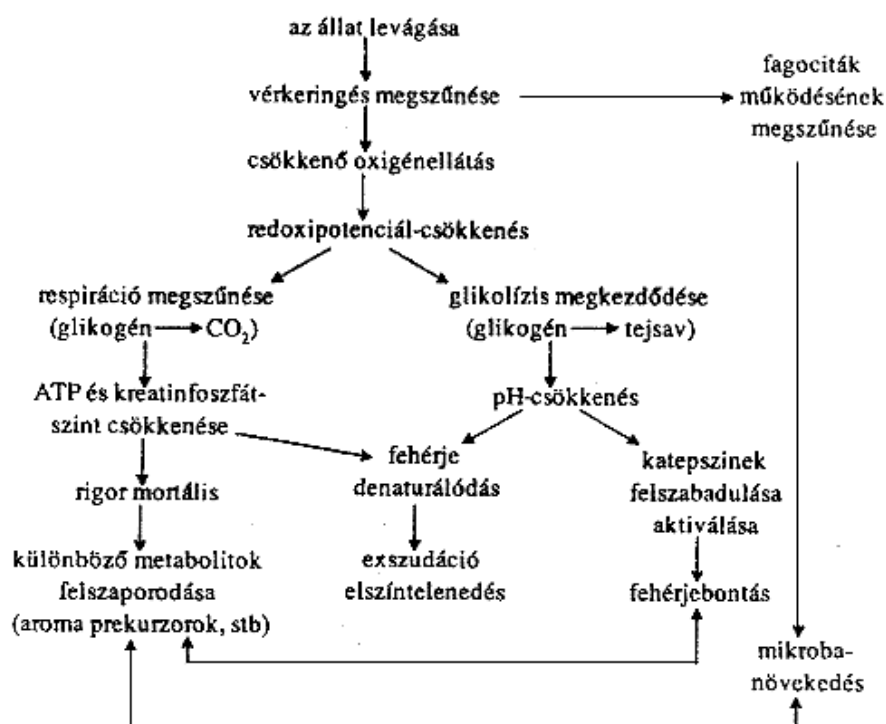
A húsok fehérjéi oldhatóság szerint három nagy csoportba sorolhatók.

A miofibrilláris fehérjék közé tartozik az aktin, miozin, aktomiozin, és a tropomiozin fehérje. Ezek térben elnyúlt alakzatot mutatnak. A vastag filamentumban található miozin, a C-protein és az M-vonal fehérjék. A miozin egyik legfontosabb tulajdonsága az ATP-áz aktivitás, másik lényeges tulajdonsága, hogy az aktinnal komplexet képez. A kalcium, és a magnézium ionok aktiválják. A vékony filamentumok fő fehérjéi az aktin, a tropomiozin, a troponin komplex, és az α - valamint a β aktinin. A globuláris G-aktin fiziológiai körülményeknek megfelelő ionerősségű közegben F-aktinná képes polimerizálódni.

A szarkoplazma fehérjék közé sorolható a miogén, mioglobin, hemoglobin, mitokondriális fehérjék, liposzómák, lizoszómák, és enzimek is. Az enzimek közt lényegesek a glükózlebontást, és az energiatermelést végzők szerepe. A szállítófehérjék közül a mioglobin, amely mint a hús alapvető színanyaga élelmiszertechnológiai szempontból is kiemelkedő jelentőségű. A mioglobin adja a hús pingmentjének a 90%-át, a maradék 10% a hemoglobin. A mioglobin 96%-a fehérjekomponens, a globin, a maradék 4%-ot a proszetikus csoport, a hem alkotja. Ez határozza meg a vegyület színét. A mioglobin az izomszövet elsődleges oxigénszállító pigmentje (Ordway, Garry 2004).

A kötőszöveti fehérjék csoportját a kollagén, elasztin és retikulin alkotja. Ezek a fehérjék a másik kettővel ellentétben nem teljes értékű fehérjék, mert triptofánt nem tartalmaznak. A kötőszöveti fehérjék vízben, vagy sóoldatban oldhatatlanok.

2.1.3. A húspan bekövetkező változások a vágás során



2. ábra: A hús vágás utáni átalakulása
(Forrás: Dióspatonyi, 2006., <http://www.kfki.hu/>)

Az állatok levágása után az izomszövetben megváltoznak a biokémiai folyamatok, megszűnik az izomszövet kapcsolata a májjal, a vérellátás, és így az oxigénellátás is. A **2. ábrán** láthatjuk a húspan a vágás utáni biokémiai folyamatok alakulását.

A pre-rigor, vagyis a hullamerevség előtti fázisban a frissen vágott hús redoxpotenciálja az oxigénellátás megszűnésével csökken. Ezáltal a terminális oxidáció nem tud végbemenni, így csak jóval kevesebb mennyiségű ATP képződik anaerob körülmények között. Ezt az ATP-szintet csökkenti a sarcoplazma ATP-ázának folyamatos működése. A pre-rigort biokémiailag a csökkenő kreatin-, foszfát-, és ATP-szint jellemzi.

A hullamerevség, azaz a rigor mortis állapota az izmok merevedéskor következik be. Ezt az állapotot a fehérjék denaturációja, és a pH savas irányba történő eltolódása jellemzi. Az ATP

hiányában az addig különálló aktin és miozin összekapcsolódik aktomiozinná. A hullamerevség kialakulásakor az anaerob viszonyok miatt más húsalkotók is megváltoznak. A szénhidrátok, elsősorban a glikogén anaerob lebomlása során keletkező tejsav a szervek közötti kapcsolat megszűnése miatt az izomszövetben marad, ezért a kémhatás 5,5-5,6 körüli pH értékre csökken, ami a hús izoelektromos pontjához közelítve meghatározza a hús vízmegtartó, és vízkötőképességét. Ezek a változások erősen befolyásolhatják a húsok technológiai viselkedését (Magyarné, 2009).

A hullamerevség bizonyos idő után feloldódik, ennek okai között szerepel a fehérjebontó enzimek működése is. A szarkolemma lizoszómái katepszineket és más proteolitikus enzimeket tartalmaznak. Például a kalpain enzim hatására az aktin és miozin között kialakult rigorkötés meggyengül, illetve az oldott anyag koncentráció nő, ezáltal nő a porhanyósság is. A hullamerevség utáni állapot (post rigor) során a hús fokozatosan puhul, az ízt és az egyéb érzékszervi tulajdonságokat javító változások ekkor következnek be (Ingram, Simonsen, 1980).

2.1.4. A hús érlelése során megfigyelhető változások

A húsfeldolgozás során a szokásos normális húsérési folyamat a fentiekben leírt három szakasz eredménye. Normál esetben, az izomszövetben felhalmozódó tejsav következtében 24 óra elteltével a pH 5,5 körüli értékre áll be, a végző pH érték pedig 5,7-5,8 lesz.

Bizonyos esetekben a húsérés másképp alakul. Ha az izomszövet a vágás előtt lényegesen több glükózt tartalmaz, akkor a pH már egy óra elteltével 5,1-5,2-es értékre csökken, majd pH 5,3-5,4-es értékre emelkedik, és ez lesz a végső érték. Ezt a fajta húst PSE húsnak nevezzük (Pale: halvány, Soft: puha, Exudativ: vizenyős). Ha vágás előtt az állatok nincsenek pihentetve, akkor a húspan kevés lesz a glikogén, és a vágás után lassú pH csökkenést okoz ez. Az ilyen típusú húsoknak a végső pH értéke 6,2-6,3. Jellemzőjük a sötét hússzín, a feszes állomány. Levet nem eresztenek, ragadós tapintásúak, és könnyen omlanak. Ezt a fajta húshibát DFD-nek nevezzük (Dark: sötét színű, Firm: keményebb, Dry: száraz tapintású).

A hús színét a benne található húspigmentek koncentrációja, illetve azok kémiai állapota határozzák meg. A mioglobinnal bíborvörös színű pigment, amely rendkívül alacsony parciális oxigénnyomás mellett fordul elő. Kémiai állapota alapján lehet dezoximioglobin (bíborvörös), oximioglobin (cseresznyepiros) illetve metmioglobin (szürkés barnás), attól függően, hogy milyen mértékben oxidálódik. A hosszabb ideig tárolt húsok redukálóképessége csökken, emiatt a belső mioglobin és

a felületi oximioglobín réteg között egy harmadik, barnás színű metmioglobín réteg jelenik meg, ami egyre vastagodik, miközben az oximioglobín réteg vékonyodik. (Kropf, 1993).

2.1.5. A hús enzimrendszerének változásai az érés alatt

A porhanyósodás folyamatában többféle enzim hatása érvényesül. A porhanyósodás mértéke a rigor fázis után a kalpainok mennyiségétől függ, amit az eredeti mennyiség és az inaktiválódás foka határoz meg. A teljes porhanyósodás után maradó úgynevezett háttér - rágósság a kötőszövettel, miofibrillum - rövidüléssel, intramuszkuláris zsírral és a víztartó képességgel (duzzadás/zsugorodás) függ össze.

A hús és húskészítmények hőkezelésére különböző enzimek aktivitásából következtethetünk. Ilyen pl. a kataláz (Katona és Pusztai, 1975), a piruvátkináz (Davis et al., 1988) és a foszfátáz (Körmendy, 1963).

A foszfátáz enzim az élő szervezet különböző szerveiben fordul elő. Megkülönböztetünk savanyú (pH-optimum: 5,4) és lúgos (pH-optimum: 9,7) foszfátáz enzimet (Zsarnóczy, Körmendy, 1992).

A savanyú foszfátáz enzim az izomszövetben is előfordul, valószínűleg a hús érése során bekövetkező ATP-bomlás egyik részfolyamatának katalizátoraként (Lawrie, 1979).

Az izomszövetben a foszfátáz enzim a lizoszómákban van jelen, melyek membránjai a hús hűtőtárolása alatt megsérülnek és ezért az enzim a szarkoplazma mátrixában is kimutatható (Kas et al., 1983).

A foszfátáz enzim meghatározásának az alapja, hogy a savanyú foszfátáz enzim hő hatására inaktiválódik. A főzés után megmaradó foszfátázaktivitás a dinátrium-fenil-foszfátból felszabaduló fenol mennyiségével mérhető. A keletkezett fenolt 2,6-dibróm-kinon-4-klórinnal reagáltatva kék színű vegyület keletkezik, melynek mennyisége 610nm-en spektrofotometriásan mérhető (Körmendy, 1963).

A reakció folyamán felszabaduló fenol mennyiségével arányos abszorbancia, melyből az enzimaktivásra következtethetünk, nagymértékben függ a mérési körülményektől.

A mérés kiindulási alapjának a korábbi, Körmendy (1963) által kidolgozott eljárást, és annak LIND-féle (1984) változatát tekintetem. Ezeknél a módszereknél a kezdeti szubsztrátum-koncentráció $0,01 \text{ mol/dm}^3$, a pH érték 6,5. A szuszpenzió elkészítésében van lényeges eltérés; a szuszpenzió töménysége az előbbi módszernél $0,048 \text{ g hús/cm}^3$, az utóbbinál $0,2 \text{ g hús/cm}^3$.

2.1.6. Hús porhanyósítása

A hús porhanyósításának több módja ismeretes. Az egyik a kémiai porhanyósítás, amely során fehérjebontó enzimek készítményeket adagolnak a termékekhez. Ezek főleg növényi proteázok, mint a papain és a ficin (Kang, Rice, 1970). Egy másik módja a mechanikai porhanyósítás. Ennek során az izom szerkezetet roncsoljuk. A rostok fellazításával megnöveljük a miofibrillumok közti teret. A mechanikai porhanyósítás csoportjába tartozik pl.: a késes-, fogaskerekes tenderizálás, a tumbleres kezelés, illetve az aktív ultrahangos kezelés is.

2.2. Az ultrahang

2.2.1. Az ultrahang fajtái, és fizikai jellemzői

Ultrahangnak nevezzük az emberi hallástartomány felső határánál, a 20000 Hz-nél nagyobb mechanikai rezgésszámú hullámokat. Ultrahangot rezgéskeltők segítségével állítjuk elő. Ezek közül ismerjük az elektromechanikus (elektromágneses, magnetosztatikus, piezoelektromos), aerodinamikus, hidrodinamikus és mechanikus átalakítókat. Legelterjedtebbek az elektromechanikus átalakítók. Ezek fő részei a generátor, amely a szükséges frekvenciájú váltakozó elektromos áramot termeli, illetve a sugárzó, amely a generátortól kapott elektromos energiát mechanikai rezgéssé alakítja, és azt a vele érintkező közegnek átadja. Technikailag akár 10^9 frekvenciájú ultrahang is előállítható. Az ilyen nagy frekvenciájú ultrahang hossza a levegőben 340 nm, vízben 1500 nm. Számos élőlény- pl. a denevér, a delfin- használja tájékozódásra a nagy frekvenciás passzív ultrahangot. Az ultrahangok fizikai tulajdonságai megegyeznek a hallható hangokéval, de a rövid hullámhosszuk miatt terjedésük, a közeghatáron létrejövő törésük, és visszaverődésük a fényhez hasonló. Az ultrahangok terjedési sebessége 340 m/s, a vízben 1500 m/s körüli érték, az élő szövetekben a terjedési sebesség kb. 1540 m/s (Friedrich, 2008).

Az ultrahangnak két típusát különböztetjük meg: a passzív-, és az aktív ultrahangot. A tudományos életben elfogadott megállapodás szerint az 1 W/cm^2 alatti ultrahangot passzív ultrahangnak, a felette lévő aktív ultrahangnak nevezzük.

A passzív ultrahang fizikai alkalmazásának alapja, hogy az ultrahang homogén közegben állandó sebességgel, és exponenciálisan csökkenő intenzitással terjed. A passzív ultrahangot többek között szilárd anyag belső hibáinak kimutatására, ultrahangos test átvilágításra, és diagnosztikára használjuk. A passzív ultrahang alkalmazásánál a fényelhajlás mérése lehetőséget ad a terjedési sebesség, és ezen keresztül az anyagállandók meghatározására, amely roncsolásmentes szerkezetkutatásra ad lehetőséget (Budó, Pócza, 1962).

A nagyfrekvenciájú ultrahangnak ($>1 \text{ MHz}$) a roncsolásmentes anyagvizsgálat területén való alkalmazásai jelentősek (Kundu, 2004). Továbbá ezt használják orvosi képalkotásra (Wells, 1999), és az állatok zsírvastagság vizsgálatára, húsminősítésre (Fisher, 1997). A passzív mérés technikában 1 W/m^2 - 10000 W/m^2 energia használatos.

2.2.2. Az aktív ultrahang

Az ultrahangok másik csoportja, a 10000 W/m^2 feletti aktív ultrahang. Moser és Pálmai (1992) szerint az aktív ultrahang biológiai hatásai lehetnek az életfunkciók serkentése, gátlása, illetve a sejtek, szövetek irreverzibilis, morfológiai károsítása. Az ultrahang biológiai hatása függ az ultrahang intenzitásától, a behatás időtartamától, a frekvenciától, és a sejtektől, szövetektől. Az egyes anyagoknak eltérő az abszorpciós koefficiense és az egyes anyagok energia-abszorpciós képessége nő a frekvenciával. Az anyagban az ultrahang energiája exponenciálisan csökken az úttal. Az aktív ultrahangtechnikában 10000 W/m^2 (1 W/cm^2) feletti intenzitásokkal dolgoznak.

2.2.3. Az aktív ultrahang kísérő jelenségei

Az aktív ultrahang alkalmazásának fizikai alapjai igen sokrétűek. Legtöbbször a tér együttlmozgató hatására, a sűrűlódásra, a hőhatásra, és a kavitációra szoktak hivatkozni. Ezek a fizikai hatások következtében a besugárzott közegben másodlagos fizikai, kémiai, és biológiai hatások is kialakulnak. A biológiai hatások közül jelentősek a kis intenzitásnál a sejtek életműködésére gyakorolt serkentő hatás, nagy intenzitásnál a roncsoló hatás. A kétkomponensű rendszerre gyakorolt hatások is jelentősek, pl. emulzióképzés, koagulálás, szuszpenziók kicsapátása. Ezen kívül okozhat pl. felmelegedést, oxidációs folyamatokat gyorsíthatja. Összefoglalva, az aktív ultrahang fő jellemzője, hogy a kezelt mintán szerkezetbeli változást okoz, ezáltal megváltoztatja a minta valamilyen tulajdonságát.

Az aktív ultrahang anyagtulajdonság-befolyásoló képessége az anyagban kialakuló hullám-, és akusztikai jelenségekkel függ össze. A longitudinális hullámok terjedése váltakozó kompresszió, és depresszió formájában jön létre. A légtérben a sűrűsödések, és ritkulások egyenlő távolságban követik egymást (Bérces et al., 2003)

Ha két azonos típusú, frekvenciájú, és amplitudójú, de ellentétes irányú hullám találkozik, akkor állóhullám alakul ki. Akusztikai állóhullám esetében természetesen a közeg nincs nyugalomban.

2.2.3.1. A kavitáció

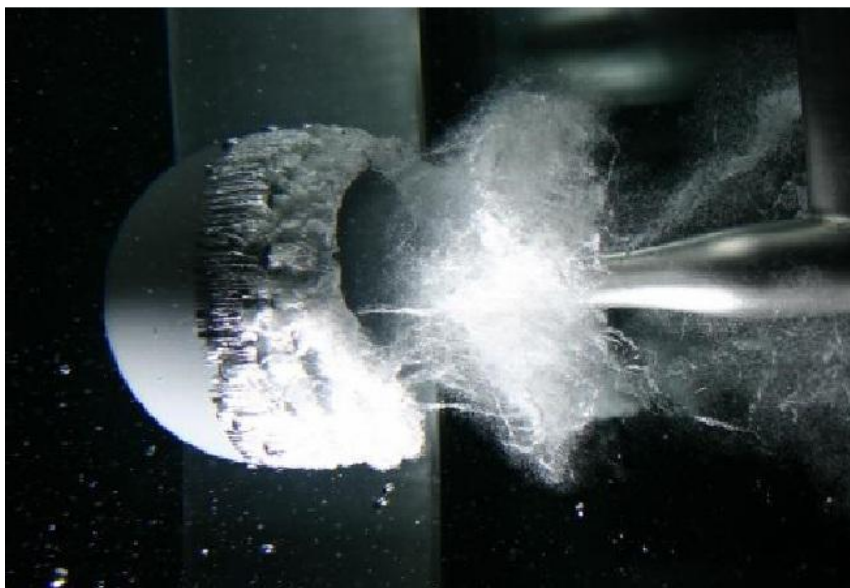
A legbonyolultabb, és a legtöbb aktív hatást okozó fizikai jelenség a kavitáció. A kavitáció majdnem minden aktív ultrahang folyamatban szerepet játszik. Kavitáció során a mikro-méretű buborékok szétpattannak, és sokkoló erejű hullámokat hoznak létre. Megfelelően nagy frekvenciájú, és amplitudójú nyomásváltozás esetén a húzási félperiódusban a kohéziós erők nem képesek az

anyag részecskéit összetartani. Az így keletkező belső üregek a következő nyomási félperiódusban összeomlanak, és eközben helyileg nagy mechanikai energia szabadul fel.

A kavitációt különböző csoportokba sorolhatjuk: akusztikai kavitáció, tranziens (tehetetlenségi) kavitáció, és stabil kavitáció.

Az akusztikai kavitáció az alapjelenség, vagyis az ultrahangos besugárással létrehozott buborékképződés. Ha egy folyadékban buborékok alakulnak ki, és ezeket megfelelő frekvenciájú és intenzitású ultrahanggal besugározzák, egy ideig növekszik a méretük, majd hirtelen összeroppannak (Flynn, 1964). Az összeroppanás következtében a buborék belsejében nagy nyomás, és magas hőmérséklet alakul ki.

A tranziens kavitáció során a kavitációs üreg egy akusztikai ciklus során megnövekszik, majd hirtelen összeomlik (**3. ábra**). Ha a kavitáció nem a szilárd fal mellett omlik össze, akkor inkább a kémiai roncsoló hatás érvényesül, mivel a tranziens kavitáció során a molekulák széttöredezése is megfigyelhető. Schnett-Abraham et al. (1992) szerint a tranziens kavitáció összeomlásánál akár 100 MPa nyomás és 5000 K hőmérséklet feletti értékek is kialakulhatnak, ezek a fizikai paraméterek pedig potenciálisan felelősek a sejtmembrán károsodásáért.



3. ábra: Tranziens kavitációs üreg összeomlás pillanatában
(Forrás: <http://www.amc.edu.au/>)

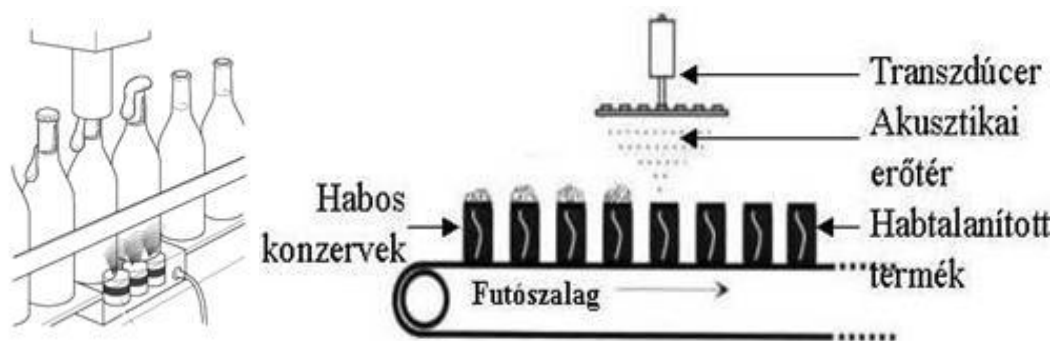
A stabil kavitáció jelensége alacsonyabb akusztikai nyomás amplitúdók mellett következik be, és a buborék adott körülményeknek megfelelő egyensúlyi sugár körüli oszcillációját foglalja magában, több ezer akusztikai ciklust is átfogó növekedési időtartammal (Atchley, Crump 1988).

2.2.3.2. Az akusztikai áramlás

Az ultrahang hatására a folyadékban kialakuló jelenséget, amely a folyadék nem lineáris viselkedése következtében jön létre, akusztikai áramlásnak nevezzük. A jelenség oka, hogy a folyadék kevésbé nyomható össze, mint amennyire ki tud tágulni, illetve a térben nem egységes az energiadiSSIPáció. Az áramlást a tehetetlenségi erő által a folyadék dinamikájának nemlineáris viselkedése és a hajtóerőként funkcionáló nemlineáris akusztikai áramlás biztosítja (Friedrich, 2008).

2.2.4. Az aktív ultrahang élelmiszer-ipari alkalmazása

A nagy intenzitású ultrahang alkalmazása növeli a só diffúzióját a húsban, zsír-víz emulzió kialakítására képes, gyorsítja a hús érlelését, és növeli a porhanyósságot (Dolatowski, 1988; Sajas and Gorbato, 1978). Reynold et al. (1978) tanulmányukban ismertetik az aktív ultrahang pozitív szerepét a pácolási technikában. Az ultrahang hullámok által gerjesztett energia egy része hővé alakul a kezelés során, így a nagy intenzitású ultrahang alkalmas a húsipari termékek hőkezelésére is (Pohlman et al., 1995; Reynolds et al., 1978). Az alacsony frekvenciájú ultrahang az izom rostjait feltárja, a sejtmembránok roncsolása során lizozim enzimet szabadít fel, ami a szarkoplazmában gyorsítja a proteolízist (Roncales et al., 1992). Bezzubov et al. (1967) szerint az ultrahangrezgések roncsoló hatását fel lehet használni csíráatlanítás, pasztörözés, fertőtlenítés céljából, mely hevítés nélküli élelmiszerkezelési eljárást tehet lehetővé, így a kezelt anyag íze, illata és vitaminállománya jobban megőrizhető lehet. Fehérjék aminosav molekulákra bomlanak, az enzimek fehérjéi pedig oxidálódnak ultrahangsugárzásra, így azok inaktiválódnak. A zsírok, sőt a viaszok is hidrolizálnak és könnyen szappanosíthatók ultrahang hatására. Ultrahang hatására a sejt tartalmának bonyolultabb fiziko-kolloidális elváltozásai is bekövetkeznek. Davis (1949) leírása alapján a tej ultrahangos kezelése jelentősen csökkentheti a tejben lévő mikroflórát, ugyanakkor a kezelt tej színe, illata nem változik. Mason et al. (1994) megállapították, hogy az ultrahang élelmiszeripari alkalmazási területei többek között a keverés, vegyítés, emulzifikálás, jégkristály kialakulás gyorsítás, húsok és borok érlelése, tisztítás, homogenizálás lehet. Mason et al. (1996) szonokémiai tapasztalataikat használták a sejtek élettévesékenységének befolyásolására, sterilizációra, enzimaktivitás befolyásolásra, extrakcióra, kristályosításra, emulgeálásra, szűrésre, szárításra az ultrahanggal. Az ultrahang alkalmazható a konzervek zárás előtti habzásának megszüntetésére, vagy éppen ellenkező irányból alkalmazva más termékeknél a zárás előtti palackozás előtt álló termékek habosításra (4. ábra) (Lőrincz, 2006).



4. ábra: Az ultrahang konzervipari alkalmazásai (A, habosítás, B, habtörés)
(Forrás: <http://www.freeweb.hu/lorincza/labinfo/6szlabresz.htm>)

2.2.5. A nagy intenzitású ultrahang hatása a húsok szerkezetére, állományára

A porhanyósság az egyik legfontosabb minőségi tulajdonság a marhahúsoknál. Az érlelés széles körben ismert módja a marhahús porhanyósságának javítására. A hús porhanyósságát két fő komponens határozza meg a szerkezetét illetően. Az egyik a kötőszöveti háló, ami a hús rágósságát okozza, a másik az izom összehúzódásáért felelős hosszú miofibrillumok (Tarrant, 1988).

Érleléskor a miofibrilláris frakció proteolitikus lebomlása során javul a porhanyósság (Koohmaraie, 1994).

Az egyik lehetőség a porhanyósításra az ultrahang alkalmazása a szövetek roncsolásával, az izomrostok távolságnövelésével. A kialakult kavitáció során keletkező mikro-buborékok megváltoztatják a miofibrillumok felületét és kapcsolódását (Williams, 1983).

2.3. Spektroszkópia

2.3.1. Általánosan a spektroszkópiáról

A spektroszkópia tudománya valamely közeg atomjai, molekulái, vagy egyéb kémiai elemei által abszorbeált, szórt (reflektált), vagy emittált elektromágneses sugárzás hullámhossz függvényében történő mérésével, és vizsgálatával foglalkozik. Mivel az abszorpció, vagy az emisszió a kölcsönható kémiai részecske energiaállapotában bekövetkező változással van összefüggésben, és minden egyes anyagnak karakterisztikus energia állapotai vannak, a kölcsönható anyagot azonosítani lehet.

A spektroszkópia két fő csoportja az atomspektroszkópia, és a molekula-spektroszkópia. A két nagy csoporton kívül ismeretes még a tömeg-spektrosmetria (MS), az ultrarövid idejű spektroszkópia, lézer-spektroszkópia, impedancia-spektroszkópia, és az ion-spektroszkópia.

Az atom-spektroszkópiával elemanalízis, a molekula-spektroszkópiás módszerekkel vegyületanalízis végezhető.

2.3.3. A spektrofotométer felépítése

A spektrofotométer olyan optikai berendezés, amellyel a gyakorlatilag monokromatikus fény intenzitását illetve az intenzitás változását nagy pontossággal mérni lehet. A spektrofotométereket több szempontból osztályozhatjuk. Az egyik felosztás, a mérés hullámhossz tartománya szerint ismerünk ultraibolya, látható és infravörös tartományban mérő spektrofotométereket. A másik felosztás, a fényelbontás módja szerint prizmás és rácsos spektrofotométereket.

A spektrofotométer fő részei: sugárforrás, mintatér, monokromátor, detektor és erősítő, kijelző rendszer.

A sugárforrás a látható fény tartományában wolfram lámpa, az UV tartományban általában hidrogén, vagy deutérium lámpa.

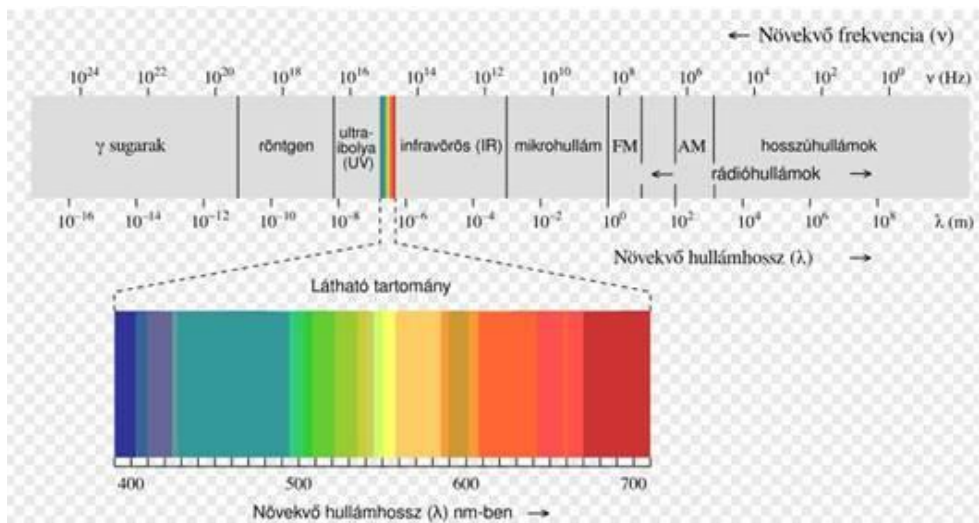
Mintatérként különböző hosszúságú (0,1-5 cm) és kialakítású üveg, kvarc, ritkábban műanyag küvetákat használnak. Fontos ezeknél, hogy a fény útjába kerülő oldalaik egymással párhuzamosak legyenek, és pontosan meghatározott legyen az egymástól mért távolságuk.

A monokromátor a fényforrás összetett fényének felbontására, ill. a kívánt hullámhosszúságú monokromatikus fény kiválasztására szolgál. A prizmás készülékek a fénytörés

hullámhosszfüggésén, míg a rácsos monokromátorok a diffrakció, illetve interferencia jelenségén alapulnak.

Detektorként fotocellát, fotoelektron-sokszorozót, diódasort használhatnak (Erdey, Mázor, 1979).

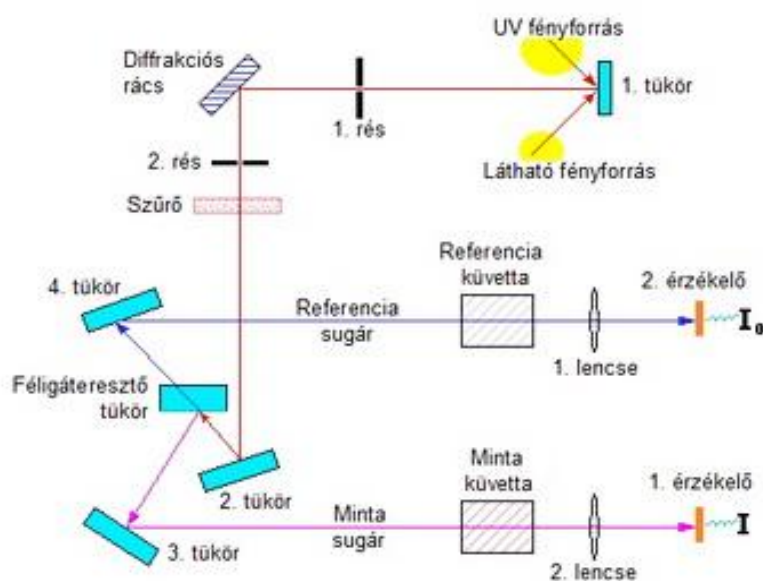
2.3.4. Az UV-VIS spektroszkópia



5. ábra: Elektromágneses spektrum

(Forrás: http://www.szrfk.hu/rtk/folyoirat/2009_4/2009_4_Nagy_Janos.html)

Kémiai analízisre és szerkezet-meghatározásra alkalmazott spektroszkópai eljárás. Azon az elven alapul, hogy a molekulákban az elektronátmenetek az elektromágneses spektrum látható és ultraibolya tartományában történnek, egy adott átmenet egy jellemző hullámhosszon történik (5. ábra). A spektrométernek két forrása van: egy az ultraibolya és egy másik, a látható fényre (a kettő együtt adja a műszer teljes hullámhossz-tartományát). Ha a teljes hullámhossz-tartományt használják, a forrás egy megfelelő pontnál cserélődik. A forrásból kilépő sugárzást két egyenlő intenzitású sugárra bontják. Az egyik sugár a minta híg oldatán halad keresztül, míg a másik egy tiszta oldószeren, melyet referenciaként használnak, amivel az elsőt összehasonlítják a transzmittancia után (6. ábra).



6. ábra: UV-Vis spektroszkóp működési elve
(Forrás: <http://www.vilaglex.hu/Fizika/Html/UVViSpek.htm>)

Az ultraibolya (UV, $200 \text{ nm} \leq \lambda \leq 400 \text{ nm}$), illetve a látható (VIS, $400 \text{ nm} \leq \lambda \leq 800 \text{ nm}$) fény elnyelésekor (abszorpciójakor) a molekulák elektroneloszlása megváltozik: kötő, lazító, vagy nemkötő elektronjaik kisebb energiájú pályákról nagyobb energiájúakra ugranak át, azaz gerjesztődnek.

Egy molekula azon részleteit, amelyekben az elektronátmenetek létrejönnek kromoforoknak nevezzük. Szerves molekuláknál ezek főként konjugált kettős kötések, hármas kötések, és heteroatomos kötések. Azt az energiatartományt, amelyenél egy adott kromofor elnyel, elnyelési sávnak nevezzük (Galbács et al., 2008).

Egy UV- látható spektroszkópiai mérés során a mintánkat folytonosan változó hullámhosszúságú UV, illetve látható fénnel sugározzuk be, és a fény hullámhosszának függvényében vizsgáljuk, hogy a fény mekkora hányadát nyeli el a minta.

Ennek a mennyiség jellemzésére leggyakrabban az abszorbanciát (A) használjuk, ami nem más, mint a mintára eső fény intenzitása (I_0), és a mintán áteresztett fény intenzitása (I), hányadosának a logaritmusa: $A = \lg(I_0/I)$.

Az UV- látható spektroszkópiát mind szerkezetvizsgálati, mind analitikai célokra alkalmazzuk. A vegyület UV- látható spektruma alapján következtetéseket vonhatunk le az anyag szerkezetére vonatkozólag, az abszorbancia koncentrációfüggését kihasználva pedig oldatok koncentrációját

határozhatjuk meg. Ez utóbbi alapja a Lambert-Beer törvény, mely szerint az abszorbanca egyenesen arányos a koncentrációval.

2.3.5. Az UV-VIS spektrofotometria felhasználási területei

Az UV-VIS tartományban mért abszorpció alapján rendkívül sok szerves és szervetlen anyagot meg lehet határozni. A látható tartományban olyan anyagokat mérhetünk, amelyek színesek. Mivel ebben a tartományban a legegyszerűbb mérni, célszerű a gyengén színezett vagy teljesen színtelen anyagokat is valamilyen kémiai reakció segítségével színes vegyületekké változtatni. Ilyen derivatizációs eljárást főleg a nyomelemek és más alacsony koncentrációjú anyagok, mint például az ammónia, nitrátok, meghatározására használunk.

3. Célkitűzés

Az aktív ultrahang alkalmazása hazánkban még nem elfogadott, alkalmazásának feltétele az ultrahang hatásmechanizmusának és hatásának vizsgálata, feltérképezése. A hús érése során a savanyú foszfátáz enzim aktivitása változhat, valamint az esetleges hőhatás (aktív ultrahang hatásmechanizmusa) csökkentheti az enzim aktivitását. Vizsgálataim céljául tűztem ki ezek alapján, az aktív ultrahang hatására történő enzimváltozás nyomon követését. Valamint vizsgáltam a hús érlelési periódusa alatt ugyanezen enzim aktivitása változik-e.

Célom volt megvizsgálni:

- Hogyan befolyásolja az aktív ultrahangos kezelés időtartama a savanyú foszfátáz enzim aktivitását.
- Milyen eltérések tapasztalhatók az egy-, illetve fél órán keresztül kezelt húsok színében.
- Vizsgáltam a savanyú foszfátáz enzim aktivitásának változását az érlelési periódus alatt.

4. Anyag és módszer

4.1. Az alapanyag

A vizsgálataimhoz marhahátszín használtam fel. Az állat életkora 21 hónap volt. A húsból 100-200 g körüli, kb. 2 cm széles szeleteket vágtam. Összesen 33 darab hátszín szelet volt. A minták egyharmadát fél órán keresztül, a másik harmadát egy óráig kezeltem ultrahanggal. A többi húsminta a kezeltlen kontrol minta volt. A hússzeleteket vákuumcsomagolásban, hűtőben (2°C-on) tároltam az érlelési kísérlet ideje alatt (**7. ábra**).



7. ábra: Szeletelt marhahátszín
(Forrás: Saját fotó)

4.2. Aktív ultrahangos kezelés

A kb. 2 cm vastagságú marhahátszín szeleteket külön-külön vákuumtasakba csomagoltam, majd az aktív ultrahangos készülék kezelőterébe hideg vizet töltöttem, és ebbe helyeztem el a mintákat. A minták kezelését Active Ultrasound Laboratory típusú (400W/20kHz) nagy intenzitású ultrahangos mechanikai rendszer segítségével végeztem (**8. ábra**).

Az ultrahangos kezelés során a legnagyobb, 5 cm átmérőjű ultrahangsugárzó fejet használtam. A kezelés során 19,97 kHz frekvenciájú, 3 W/cm² ultrahanggal kezeltem a húsmintákat.



8. ábra: Ultrahang generátor a szabályozó egységgel
(Fotó: <http://huto.uni-corvinus.hu/>)

4.3. Az érlelési kísérlet során alkalmazott vizsgálati módszerek

Az aktív ultrahangos kezelés után a mintáimat a 2°C-os hűtőtérbe helyeztem. Az első vizsgálatot a kezelés napján végeztem, majd a következő napokon:

1. táblázat: A vizsgálatok napjai:

Vizsgálat napja

- 1.
- 2.
- 3.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.
- 13.
- 15.
- 17.
- 20.

Az érlelési periódus során a következő vizsgálatokat végeztem:

- Szín (L^* , a^* , b^*)
- Enzimaktivitás-meghatározás (savanyú foszfatáz)

4.3.1. A minták színmérése

A minták felületén bekövetkezett színváltozásokat egy Minolta CR-200 típusú színmérő készülék segítségével tudtam mérni az érlelés ideje alatt (**9. ábra**).

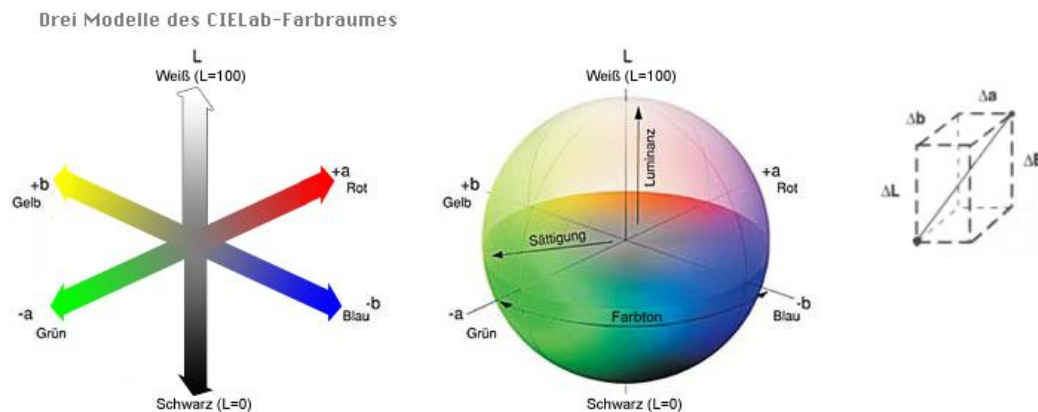


9. ábra: Minolta CR-200 típusú színmérő készülék

(Forrás: <http://www.severnsaleslabequip.com/used-equipment/light-and-colour/u12021-minolta-cr200-portable-chroma-meter.html>)

A színmérés az additív színkeverés elvén alapszik. Ez azt jelenti, hogy bármely szín előállítható három adott hullámhosszúságú fény keverékeként. A három alapszínínger általában a vörös, a kék, és a zöld.

A CIELAB színtér az ellentétes színpárok rendszerén alapul. A rendszer azt modellezi, hogy a receptorokból érkező jelek világos vagy sötét, piros vagy zöld, és kék vagy sárga kategóriába sorolhatók. Ezen elmélet szerint egy szín nem lehet egyszerre piros és zöld, illetve sárga és kék. A háromdimenziós CIELAB színinger rendszerben az L^* a világossági tényező, amely megmutatja, hogy a tárgy a megvilágító fény hány százalékát veri vissza. A $+a^*$ a vörös színezetet jelenti, a $-a^*$ a zöldet. A $+b^*$ a sárga színezet, a $-b^*$ a kék színezet (**10. ábra**).



10. ábra: CIELAB színinger tér (Forrás:

<http://www.dma.ufg.ac.at/app/link/Allgemein%3AModule/module/15518/sub/15627>)

A színinger-térben két színpont közti színekülönbséget a térbeli Phitagorasz-tétellel tudjuk kiszámolni. A képlet segítségével meghatároztam az első mérési nap, illetve az adott mérési napon mért színek közötti különbséget.

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$$

ΔE^* = színekülönbség

ΔL^* = L^* minta 1- L^* minta 2

Δa^* = a^* minta 1- a^* minta 2

Δb^* = b^* minta 1- b^* minta 2

A **2. táblázatban** azok a színekülönbség értékek láthatóak, amelyeknél már az átlagos emberi szem érzékeli a különbséget.

2. táblázat: A színekülönbségek vizuális érzékelési képessége

ΔE_{ab}^*	Szemmel érzékelhető különbség
<0,5	Nem érzékelhető
0,5...1,5	Alig észrevehető
1,5...3,0	Észrevehető
3,0...6	Jól látható
6...12	Nagy

A színmérés során első feladatomban a műszer kalibrálása volt. A mintákon három párhuzamos mérést végeztem különböző helyeken. Mérés után a mintákat újra levákuumoztam, majd a fagyasztóba tettem.

4.3.2. Hús érettségének vizsgálata savanyú foszfatáz enzim próba alapján

A fagyasztóból kivett húsmintákból nagyon apróra vágva kimértem 5 g-ot egy óraüvegre (11. ábra).



11. ábra: Húsminták aprítása, kimérése (Forrás: Saját fotó)

Ezután a homogenizátor lombikba tettem a mintát, és hozzáadtam 50 cm³ hideg (kb.: 5°C-os) 5,40 pH-jú 0,05 mol/dm³-es citrátpuffert. Azért fontos, hogy a puffer hideg legyen, mert így elkerülhetjük, hogy a homogenizálás során felmelegedjen a hússzuszpenzió. Az MSE homogenizátorral (12. ábra) maximális fordulatszám mellett (2000 fordulat/perc) 4-szer 10 másodpercig, 20 másodperces szünetekkel homogenizáltam a mintákat. A 20 másodperces szünet is a felmelegedés elkerülése végett volt fontos. Új minta homogenizálása előtt desztillált vízzel alaposan lemostam a homogenizátor forgó késpengéjét.



12. ábra: MSE homogenizátor (Forrás: Saját fotó)

A homogenizált, leszűrt hússzuszpenziókból 3-szor 10 cm^3 -t pipettáztam ki 20 cm^3 -es csiszolt dugós kémcsőbe (13. ábra).



13. ábra: Kémcsőbe kimért szuszpenziók (Forrás: Saját fotó)

A vakpróbákat az enzim inaktiválódása céljából 30 percig 100°C -os forrásban lévő vízbe helyeztem, majd szobahőmérsékletűre hűtöttem le.

Ezután a 3-szor 11 darab kémcsövet, valamint a közben frissen elkészített $0,05\text{ mol/dm}^3$ dinátrium-fenil-foszfát oldatot 37°C hőmérsékletű ultratermosztátba helyeztem 15 percre (14. ábra).



14. ábra: Ultratermosztát (Forrás: Saját fotó)

A 15 perc letelte után hozzáadtam a $0,05\text{ mol/dm}^3$ dinátrium-fenil-foszfát oldatból 5 cm^3 -t a szuszpenziókhoz. A tökéletes keveredés érdekében negyedóránként óvatosan megfordítottam a

kémcsövet. Pontosan egy óra elteltével a szuszpenzióhoz kellett adni, a már előre elkészített 20%-os triklórecetsavból 5 cm^3 -t.

Az elegyeket ezután leszűrtem. A szűrletekből kipipettáztam 5 cm^3 -t 10 cm^3 -es csiszolt dugós kémcsövekbe. Ezután hozzáadtam 5 cm^3 $0,5\text{ mol/dm}^3$ Na_2CO_3 -oldatot, és $0,1\text{ cm}^3$ 0,4%-os 2,6-dibróm-kinon-4-klórimid-oldatot, majd összekevertem.

Az oldatokat ezután 30 percig sötét helyre tettem, a maximális színkialakulás érdekében.

A kész oldatokból 1 cm -es küvettába töltöttem, majd 610 nm hullámhosszon megmértem az abszorbanciát desztillált vízzel szemben.

4.4. Az eredmények számításának, értékelésének menete

Az abszorbancia értékét (a) úgy kaptam meg, hogy a két párhuzamos minta abszorbanciáját átlagoltam ($\bar{a}_m$), majd levontam belőle a vakpróba abszorbanciáját (a_v).

A foszfatázaktivitást a következő fogalomra hivatkozva adtam meg: egységnyi az a foszfatázmenyiség, ami az adott körülmények között 1000 g mintából 60 perc alatt $1\text{ }\mu\text{mol}$ fenol felszabadulását katalizálja (Lind, 1984).

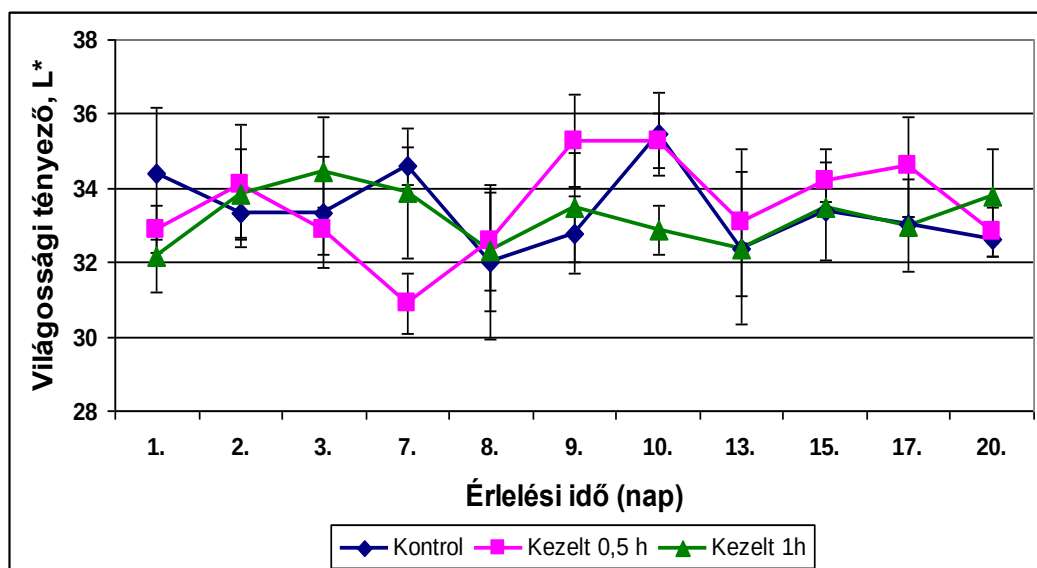
A [$\mu\text{mol fenol}/1000\text{ g minta}$] képletéből levezetve, az abszorbanciát (a) 3820 -al kell szorozni. Így megkaptam a foszfatázaktivitás értékét.

Vizsgálataim során kapott eredményekből az MS-Excel-ben található adatelemző Solver program segítségével kétmintás T-próbát végeztem, a szignifikancia szint $\alpha = 0,05$ volt.

5. Eredmények és értékelések

5.1. A marhahátszín színének alakulása az érlelés, és aktív ultrahangos kezelés során

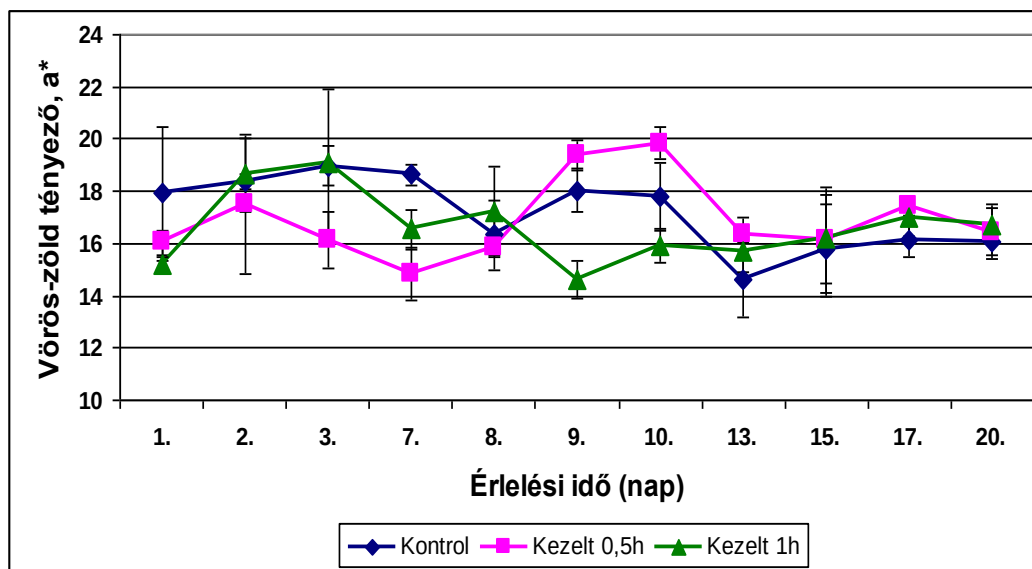
Vizsgálatom célját képezte a hátszínminták világossági tényezőjének megfigyelése is az érlelés során. Mint azt a **15. ábra** is mutatja, a hátszín az érlelési idő alatt nem mutattak jelentős mértékű világosodást, vagy sötétedést. A kiindulási sötétebb árnyalat megmaradt az érlelés utolsó napjáig. A hús színével kapcsolatban általánosan elmondható, hogy a vágás utáni meleg hús, és a DFD hús elnyeli a fény nagy részét. A kontrol minta, és a két aktív ultrahanggal kezelt minta között szignifikánsan nincs különbség (**3. táblázat**). Ebből kifolyólag megállapíthattam, hogy az aktív ultrahangos kezelés nincs hatással a világossági tényezőre.



15. ábra: A világossági tényező (L*) alakulása az érlelés során

3. táblázat: Kétmintás T-próba a világossági tényező (L^*) alakulására

Kétmintás t-próba	Kontrol, Kezelt 0,5h	Kontrol, Kezelt 1h	Kezelt 0,5h, Kezelt 1h
df	20	20	20
t érték	-0,205430277	0,419212085	0,581992488
P(T<=t) egyszélű	0,419656235	0,339764699	0,28353748
t kritikus egyszélű	1,724718218	1,724718218	1,724718218



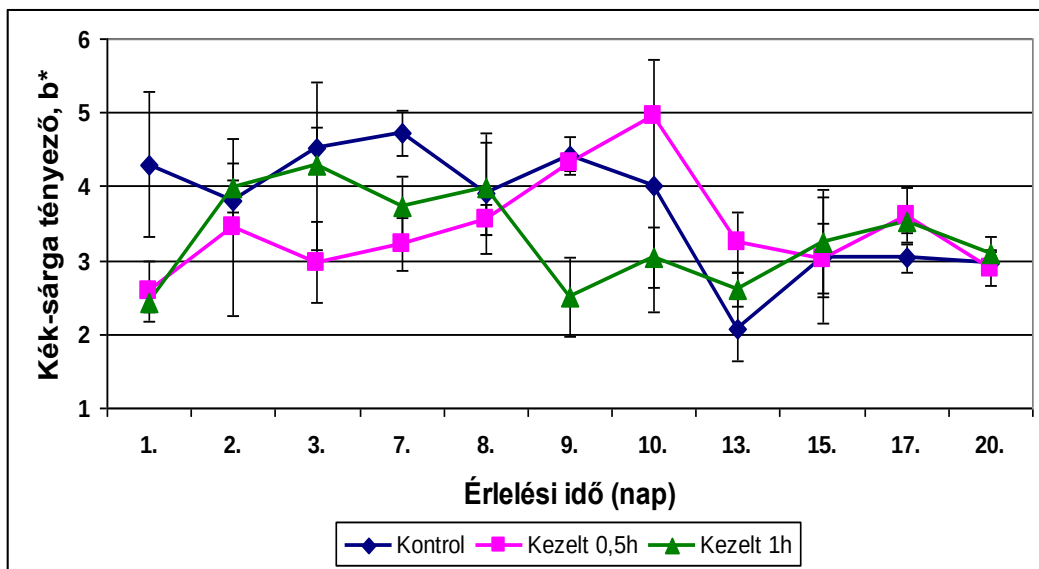
16. ábra: A hátszín szeletek vörös színezetének (a^*) alakulása az érlelés során

Vizsgálataim során, mint azt a **16. ábra** is mutatja, jelentős színváltozást nem tapasztaltam. Ez valószínűleg a vákuumcsomagolásnak is köszönhető. A kontrol minták esetében kisebb mértékű csökkenés látható, tehát enyhén eltolódott a vörösbarna szín irányába. Az egy órán keresztül kezelt minták esetében a harmadik nap után szintén eltolódást figyelhetünk meg a barnás szín irányába. A kontrol minták, és az aktív ultrahanggal kezelt minták esetében nem beszélhetünk szignifikáns különbségről (**4. táblázat**). Az aktív ultrahangos kezelés nincs hatással a hátszín szeletek vörös-zöld szintényezőjére.

4. táblázat: Kétmintás T-próba a vörös-zöld tényező (a^*) alakulására

Kétmintás t-próba	Kontrol, Kezelt 0,5h	Kontrol, Kezelt 1h	Kezelt 0,5h, Kezelt 1h
df	20	20	20
t érték	0,38228238	0,908290634	0,4822442
P(T<=t) egyszélű	0,353141971	0,187270005	0,317434053
t kritikus egyszélű	1,724718218	1,724718218	1,724718218

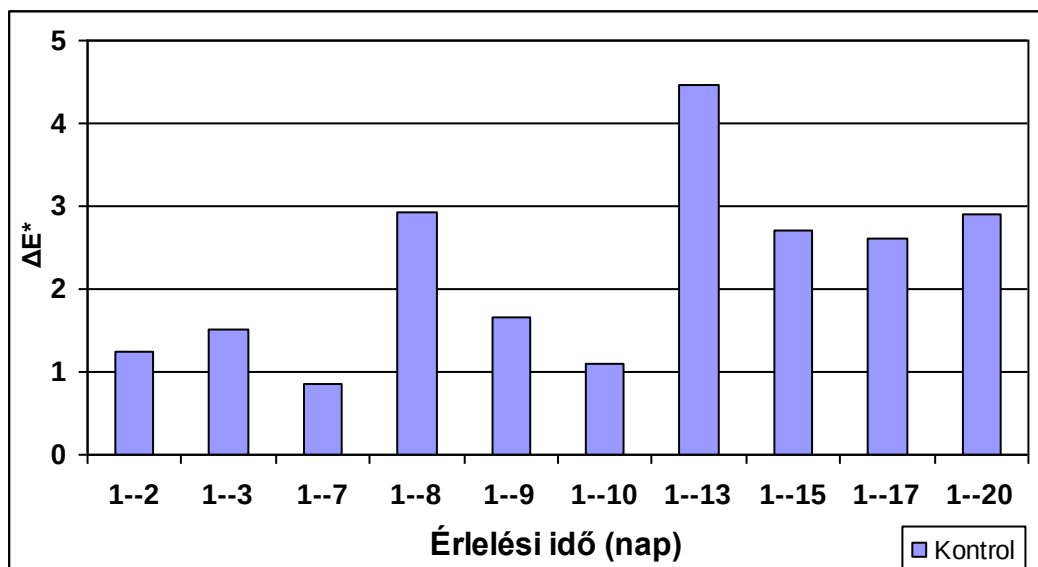
A CIELAB színtér másik ellentétes színpárja, a kék-sárga színtényező. A **17. ábrán** a kék-sárga színtényező (b^*) alakulását figyelhetjük meg az érlelési napok függvényében. Mindhárom vizsgált minta kék-sárga színtényező értéke az érlelés végére beállt a 3-as körüli értékre. A vizsgált hátszínek b^* értékei nagyjából egyformán változtak, a 10. és a 13. napi kiugró értéket leszámítva. Itt sem tapasztaltam szignifikáns különbséget a kontrol, és az aktív ultrahanggal kezelt minták között (5. táblázat).



17. ábra: A kék-sárga tényező (b^*) alakulása az érlelés során

5. táblázat: Kétmintás T-próba a kék-sárga tényező (b^*) alakulására

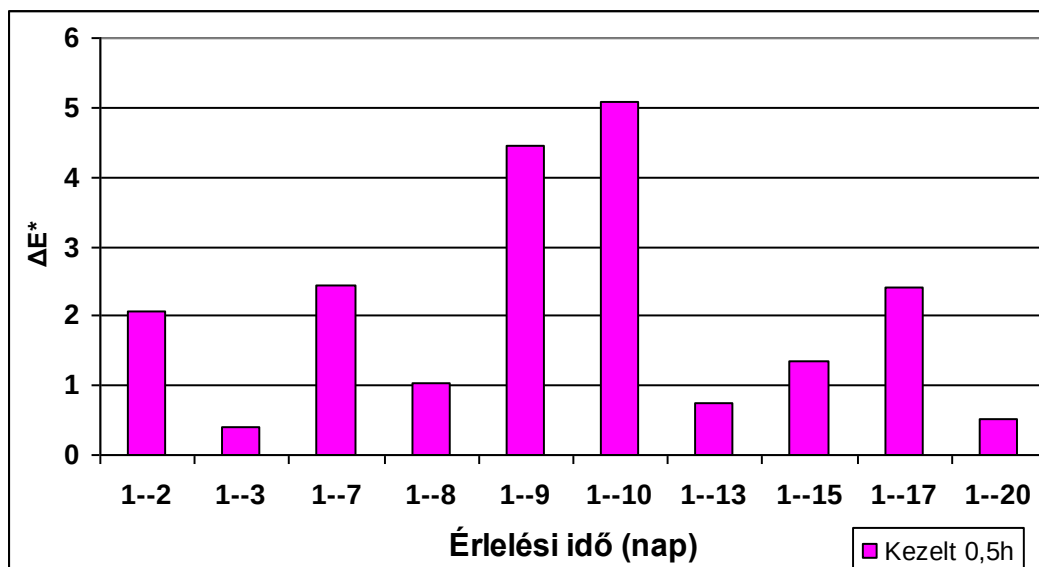
Kétmintás t-próba	Kontrol, Kezelt 0,5h	Kontrol, Kezelt 1h	Kezelt 0,5h, Kezelt 1h
df	20	20	20
t érték	0,848568487	1,256563138	0,434324798
P(T<=t) egyszélű	0,203081814	0,111695404	0,334351128
t kritikus egyszélű	1,724718218	1,724718218	1,724718218



18. ábra: A ΔE^* alakulása a kontrol minták esetében

A **18. ábrán** a kontrol minták színekülönbségét (ΔE^*) szemléltetem diagram segítségével, amely az első mérési nap, illetve az adott mérési napon mért hátszín szeletek színe között jelentkezett. A diagramról leolvasható, hogy az érzékelt különbségek nagy része az „alig észrevehető”, illetve az „észrevehető” kategóriába került. A 13. mérési napon adódott nagyobb mértékű eltérés. Az értékekből arra következtettem, hogy az érlelési idő előre haladtával csak kis mértékben változott (nőtt) a vizsgált hátszín szeletek színe az első mérési naphoz képest. A kis mértékű színváltozás oka lehet a minták vákuumsomagolásban való tárolása.

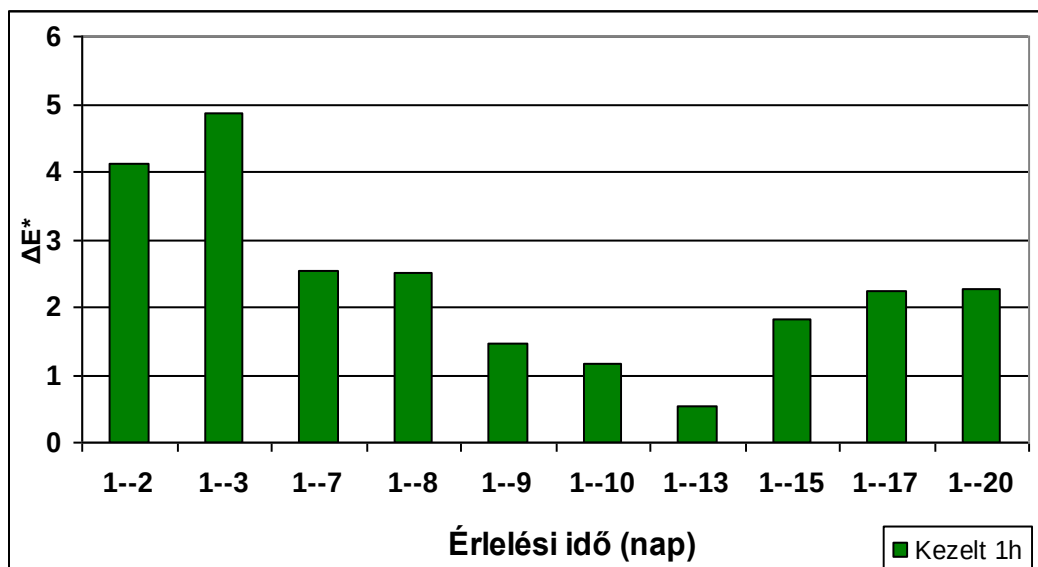
<0,5	Nem érzékelhető
0,5...1,5	Alig észrevehető
1,5...3,0	Észrevehető
3,0...6	Jól látható



19. ábra: A 30 percen át kezelt minták ΔE^* változása az érlelés során

A következő (**19. ábra**) ábrán az aktív ultrahanggal fél órán keresztül kezelt minták színekülönbsége (ΔE^*) látható. Ezeknél a hátszín szeleteknél is az első mérési napon, és az adott mérési napon keletkezett színekülönbségeket ábrázoltam. A 9. és a 10. nap kivételével csak épphogy észrevehető volt a színváltozás az első mérési naphoz képest. Az érlelési idő előre haladtával a színeltérés nem mutatott növekedést. A kontrol mintákhoz képest a fél óráig kezelt minták az érlelési idő végére nem mutattak színekülönbség növekedést.

<0,5	Nem érzékelhető
0,5...1,5	Alig észrevehető
1,5...3,0	Észrevehető
3,0...6	Jól látható



20. ábra: A ΔE^* alakulása az 1 órás aktív ultrahangos kezelés után

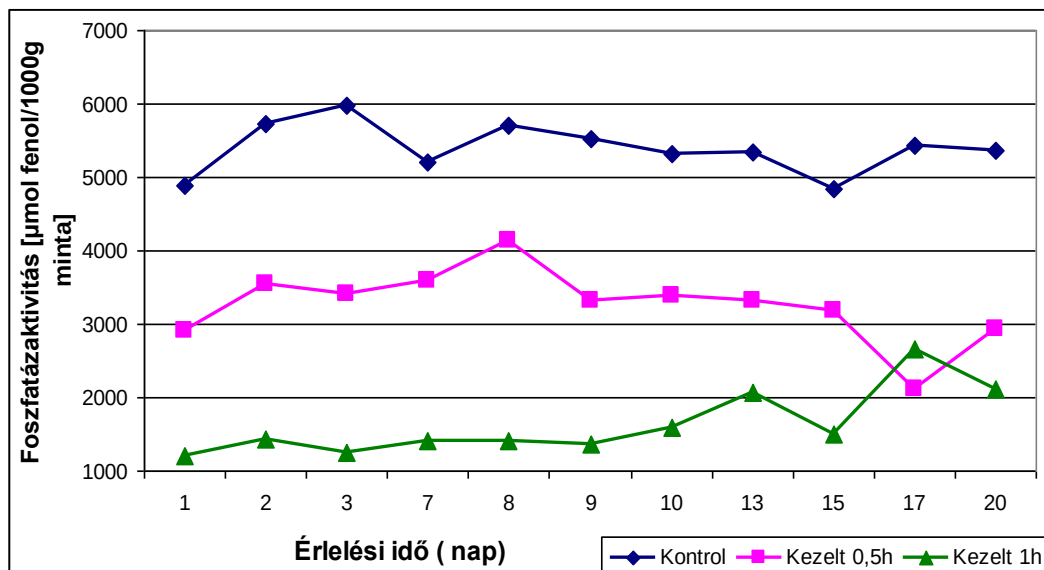
A **20. ábrán** az egy órán át kezelt marhahátszín szeletek színkülönbsége (ΔE^*) látható. A 2. és a 3. napon vizsgált minták nagyobb színeltérést mutatnak, mint a többi napon vizsgált hátszín szeletek. Ennek egy lehetséges oka, hogy a hátszín szeletekben különféle kémiai folyamatok indultak be, amik színváltozást okoznak. A későbbiekben a színkülönbségek nagyjából az „észrevehető” kategóriába sorolhatók, tehát jelentős mértékű színváltozás nem következett be az első napi minta színéhez képest. Az egy órán keresztül kezelt hátszín szeletek esetében is elmondható, hogy kevésbé növekedett a színkülönbség az érlelési idő végére, a kontrol mintákkal ellentétben. Mint az a **6. táblázatban** is látható, kontrol, és a kezelt hátszín minták színkülönbségében nincs szignifikáns eltérés.

<0,5	Nem érzékelhető
0,5...1,5	Alig észrevehető
1,5...3,0	Észrevehető
3,0...6	Jól látható

6. táblázat: Kétmintás T-próba a hátszín szeletek színkülönbségére (ΔE^*)

Kétmintás t-próba	Kontrol, Kezelt 0,5h	Kontrol, Kezelt 1h	Kezelt 0,5h, Kezelt 1h
df	18	18	18
t érték	0,232420041	-0,282587355	-0,453974722
P(T<=t) egyszélű	0,40941695	0,390358512	0,327636591
t kritikus egyszélű	1,734063592	1,734063592	1,734063592

5.2. A foszfatázaktivitás (savanyú foszfatáz enzim) változása az érlelés során



21. ábra: A hátszín szeletek savanyú foszfatáz enzim aktivitásának változása közvetlenül az érlelési kísérlet lezárulásával.

A savanyú foszfatáz enzim aktivitását két időpontban is vizsgáltam. Az első időpont közvetlenül az érlelési kísérlet lezajlása után volt, a második mérést az öt hónapos fagyasztva tárolás után végeztem.

A hús érése során a savanyú foszfatáz enzim aktivitása változhat, valamint az esetleges hőhatás (aktív ultrahang hatásmechanizmusa) csökkentheti az enzim aktivitását. A vizsgálatom egyik tárgyát képezte az aktív ultrahang kezelés hatására történő enzimváltozás nyomon követése.

Az első mérés során látható (**21. ábra**), hogy a kontrol minták esetében a savanyú foszfatáz aktivitása folyamatosan 5000-6000 $\mu\text{mol fenol}/1000 \text{ g}$ minta körüli értéken mozgott. Az érlelési idő előre haladtával az enzim aktivitása nem csökkent.

A diagramon nagyon jól látható, hogy a fél órás aktív ultrahangos kezelés szinte a felére csökkentette a savanyú foszfatáz aktivitását, 3000 $\mu\text{mol fenol}/1000 \text{ g}$ minta körüli értékre.

Az aktív ultrahanggal egy órán át kezelt hátszín minták foszfatáz aktivitása volt a legkisebb. A fél órán keresztül kezelt mintákhoz képest itt is feleződtek az értékek. 3000 $\mu\text{mol fenol}/1000 \text{ g}$ minta körüli értékről 1000 $\mu\text{mol fenol}/1000 \text{ g}$ minta körüli értékek lettek.

A kontrol, a fél órás-, és az egy órás aktív ultrahangos kezelés között szignifikáns különbséget találtam (**7. táblázat**).

Az általam mért savanyú foszfatáz enzim aktivitás értékek alapján megállapíthatjuk, hogy az aktív ultrahangos kezelés, illetve annak kísérőjelensége hatással van a savanyú foszfatáz enzim aktivitására. A kezelés időtartamának függvényében változott az enzimaktivitás. Ebből arra tudunk következtetni, hogy az aktív ultrahanggal történő érlelés során figyelembe kell venni annak kísérőjelenségét is, melynek során enyhe hőhatás érvényesül.

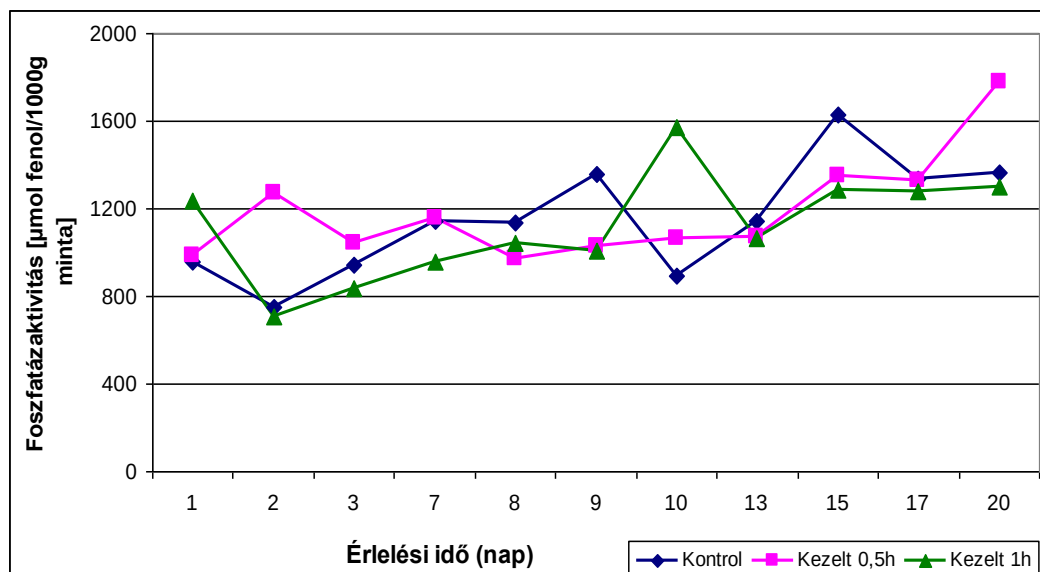
7. táblázat: Kétmintás T-próba a savanyú foszfatáz enzim aktivitásának változására (közvetlen az érlelés utáni vizsgálat)

Kétmintás t-próba	Kontrol, Kezelt 0,5h	Kontrol, Kezelt 1h	Kezelt 0,5h, Kezelt 1h
df	20	20	20
t érték	11,57107143	22,11522867	7,942726706
P(T<=t) egyszélű	1,28973E-10	7,8574E-16	6,51138E-08
t kritikus egyszélű	1,724718218	1,724718218	1,724718218

8. táblázat: Kétmintás T-próba a savanyú foszfatáz enzim aktivitására a fagyasztva tárolás után

Kétmintás t-próba	Kontrol, Kezelt 0,5h	Kontrol, Kezelt 1h	Kezelt 0,5h, Kezelt 1h
df	20	20	20
t érték	-0,346499933	0,30940596	0,676437537
P(T<=t) egyszélű	0,366292964	0,380106577	0,253255586
t kritikus egyszélű	1,724718218	1,724718218	1,724718218

5.2.1. A savanyú foszfatáz enzimaktivitásának változása az öt hónapos fagyasztva tárolás után



22. ábra: A savanyú foszfatáz aktivitásának változása az öt hónapos fagyasztás után

A hátszín szelet mintákat a második mérés időpontjáig fagyasztóban tároltam. A **22. ábrán** látható, hogy a hátszín szeletek savanyú foszfatáz aktivitása viszonylag állandó értékek között mozog, és nem mutat nagymértékű eltérést az érlelési idő előre haladtával. Nem lehet egyértelmű különbséget tenni a kontrol, illetve a különböző ideig aktív ultrahanggal kezelt minták enzimaktivitása között. A kontrol, a fél órás-, és az egy órás ultrahangos kezelés között nincs szignifikáns különbség (**8. táblázat**).

A vizsgálati eredményekből arra következtettem, hogy a két mérés között eltelt idő (5 hónap) alatt a foszfatázaktivitás lecsökkent egy minimális szintre, és beállt egy viszonylag állandó értékintervallumra, vagyis a fagyasztás során tovább működött a savanyú foszfatáz enzim.

6. Összefoglalás

Magyarországon az 1970-es évektől kezdődően fokozatosan csökkent a marhahúsfogyasztás. Ebben közre játszott az állatállományban fellépő különféle betegségek, illetve a vörös hús táplálkozás-élettani negatív megítélése. Ahhoz, hogy a marhahús fogyasztása javuló tendenciát mutasson, megfelelően jó minőségű hússal kell a fogyasztó bizalmába férközni. A kereskedelem figyelme az érlelés felé fordult, viszont idehaza még nem igazán alkalmazzák az érlelési technológiát. A marhahús minőségében a porhanyósság kapja az egyik legfontosabb szerepet. A hús porhanyósításában az ultrahang alkalmazása egy viszonylag új módszer.

Dolgozatomban az aktív ultrahang alkalmazása során bekövetkező enzimváltozás nyomonkövetését tűztam ki célul, illetve, hogy a hús érlelési periódusa alatt ugyanezen enzim aktivitása változik-e.

Vizsgáltam a hátszín minták CIELAB színösszetevőit (L^* , a^* , b^*). Ezek eredményei jelentős mértékű változást nem mutattak az érlelési kísérlet ideje alatt. Megállapítottam, hogy az aktív ultrahangos kezelés nincs hatással a hátszín szeletek színének változására. Ennek jelentősége a fogyasztói megítélésben van, mert egyik legfontosabb tényező a hús színezete.

A hús és húskészítmények hőkezelésére pl. a foszfatáz enzim alapján is következtethetünk (Körmendy, 1963). A foszfatáz enzim egyik fajtája a savanyú foszfatáz, amely az izomszövetben is előfordul. Ennek az enzimnek az aktivitása változhat az érlelés során (Lawrie, 1979), továbbá az aktív ultrahang egyik hatásmechanizmusa, a hőhatás csökkentheti az enzim aktivitását.

A savanyú foszfatáz aktivitásának vizsgálatát két időpontban végeztem, közvetlenül az érlelés után, illetve öt hónappal később.

Az első méréskor a kontrol mintákhoz képest a fél órán keresztül kezelt minták enzimaktivitása szinte feleződött, illetve az egy óráig kezelt hátszín szeletek savanyú foszfatáz enzim aktivitása is felére csökkent a fél órán keresztül kezelt mintákéhoz képest.

Megállapítottam, hogy az aktív ultrahangos kezelés csökkenti a savanyú foszfatáz enzim aktivitását, továbbá a kezelés időtartama is összefüggésben van a savanyú foszfatáz aktivitásának csökkenésével.

A fagyasztva tárolást követő mérések során a különböző módon kezelt hátszín minták savanyú foszfatáz enzim aktivitása között jelentős eltérést nem detektáltam. Vizsgálatom alapján megállapítottam, hogy a két mérés között eltelt idő alatt az enzim aktivitása egy minimális szintre csökkent, a fagyasztva tárolás során is működött a savanyú foszfatáz enzim.

Az érlelés során mért eredményeim alapján megállapítottam, hogy az aktív ultrahang nincs hatással a hús színezetére. Továbbá megállapítottam, hogy az aktív ultrahangos kezelés csökkenti a savanyú foszfatáz enzim aktivitását, illetve az enzim működik a fagyaszás ideje alatt is.

Irodalomjegyzék

1. Alliger, H., (1975): Ultrasonic disruption. American Laboratory 10, p. 75±85.
2. Atchley, A.A., Crump, L.A. (1988): Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics. In.: Suslick, S.K. (1988): Ultrasound, Its Chemical, Physical, and Biological Effects. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 1-63.
3. Bezzubov, A.D., Garlinszkaja, E.I., Fridman, V.M. (1967): Ultrahang felhasználása az élelmiszeriparban. Budapest p. 27., 29., 94., 106.
4. Bérces, Gy., Tasnádi, P., Skrapits, L. (2003): A fizika alapjai. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, p.18
5. Budó, Á., Pócsa, J. (1962): Kísérleti fizika. Tankönyvkiadó, Budapest, p. 319, 361.
6. Davis, C.E., Searcy, G.K., Blankenship, L.C., Townsend, W.E. (1988): Pyruvate kinase activity as an indicator of temperature attained during cooking of cured pork. J. Food Prot. 51:773
7. Davis, J.G. (1949): Ultrasonics and alternatives to the pasteurization of milk. Dairyman 66., p. 321.
8. Dolatowski, Z.J., (1988): Ultrasonics. 2- influence of ultrasonics on the ultrastructure of muscle tissue during curing. Fleischwirtschaft 68, p. 1301±1303.
9. Erdey, L., Mázor, L. (1974): Analitikai kézikönyv, Műszaki kiadó, Budapest, 1974.
10. Fisher, A.V. (1997): A review of the technique of estimating the composition of livestock using the velocity of ultrasound. Computers and Electronics in Agriculture, 17(2), p. 217–231.
11. Flynn, H.G. (1964): In Physical Acoustics, Vol. 1B, ed., Mason, W.P. Academic Press, New York, pp 57-172.
12. Friedrich, I. (2008): Ultrahang alkalmazása húskészítmények minősítésében és gyártástechnológiájában, Doktori disszertáció, Budapesti Corvinus Egyetem
13. Galbács, G., Galbács, Z., Sipos, P. (2008): Műszeres analitikai kémiai gyakorlatok, JATEPress, Szeged, 2008
14. Gruzsal, E. (1974): Az állatok sejtjei és szövetei. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
15. Hajós, GY. (2000): A húsfehérjék humánbiológiai megítélése. A Hús, 1. p. 16-18.
16. Hayward, L.H., Hunt, M.C., Kastner, C.L., Kropf, D.H. (1980): Blade tenderization effects on beef longissimus sensory and Instron textural measurements. Journal of Food Science, 45 (4), 925–930, 935.p.
17. <http://huto.uni-corvinus.hu/>: Aktív ultrahang generátor, kép

18. <http://www.amc.edu.au/cavitation.tunnel/instrumentation>: Tranziens kavitációs üreg összeomlás pillanatában, kép
19. <http://www.dma.ufg.ac.at/app/link/Allgemein%3AModule/module/15518/sub/15627>: Színíngér tér értelmezése, kép
20. <http://www.freeweb.hu/lorincza/labinfo/4szlabresz.htm>: Az ultrahang konzervipari alkalmazásai, kép
21. <http://www.kfki.hu/chemonet/hun/food/technol/husipar/husipar.html#2>: A hús vágás utáni alakulása, kép
22. <http://www.severnsaleslabequip.com/used-equipment/light-and-colour/u12021-minolta-cr200-portable-chroma-meter.html>: MINOLTA CR200, kép
23. http://www.szrftk.hu/rtk/folyoirat/2009_4/2009_4_Nagy_Janos.html: Elektromágneses spektrum, kép
24. <http://www.vilaglex.hu/Fizika/Html/UVViSpek.htm>: UV-Vis spektroszkóp működési elve, kép
25. Ingram, M., Simonsen, B. (1980): Microbiology of Meats and Meat Products – in: Microbial Ecology of Foods,2.
26. Kang, C.K., Rice, E.E. (1970): Degradation of various meat fractions by tenderising enzymes. Journal of Food Science, 35 (1970), pp. 563-565
27. Katona, F., Pusztai, S. (1975): Élelmiszerhigiéniai vizsgálatok állatorvosi laboratóriumokban. Mezőgazdasági kiadó, Budapest
28. Kas, J., Vana, V., Kopečný, J., Rauch, P. (1983): Stability of lysosomes in beef and pork muscle post mortem. J. Lebensm. Unt. Forsch. p. 177:461
29. Koohmaraie, M. (1994): Muscle proteinases and meat aging. Meat Science, 36(1–2), p. 93–104.
30. Kundu, T. (2004): Ultrasonic nondestructive evaluation – engineering and biological material characterization. Boca Raton: CRC Press.
31. Kosáry, J. (2006): A táplálkozás biokémiája
32. Körmendy, L. (1963): A húskészítmények főttségének megállapítására szolgáló eljárások kritikai vizsgálata, különös tekintettel a foszfatázaktivitás meghatározására. Kandidátusi disszertáció, Budapest
33. Kropf, D. H.,(1993): Colour Stability-Factors affecting the colour of fresh meat. Meat Focus International, p. 269-275
34. KSH, (2007): Élelmiszermérlegek és tápanyagfogyasztás, 1970-2001 Budapest

35. Lawrie, R.A. (1979): Meat science. Pergamon Press, Oxford.
36. Lásztity, R., Törley, D. (1993): Élelmiszer – kémia, 2 Mezőgazda kiadó, Budapest.
37. Lind, J. (1984): USDA-FSIS, Chemistry Laboratory Guidebook. 10028, III. E, 3011. p. 3-27.
38. Lőrincz, A. (2006): Az aktív ultrahang alkalmazása napjainkban, Mosonmagyaróvár, p. 19.
39. Magyar, H.K. (2009): Műszeres gyorsmódszerek alkalmazása sertéshús minőségváltozásának jellemzésére, Doktori disszertáció, Budapesti Corvinus Egyetem
40. Mason, T., Newman, A., Sukhvinder, P., Charter, C. (1994): Sound solution. World Water Environ. Eng. (April), p. 16.
41. Mason, T.J., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P. (1996): The uses of ultrasound in food technology. Ultrasonics Sonochemistry. Vol. 3., Issue. 3., pp. S253-S260.
42. Moser, M., Pálmai, Gy. (1992): A környezetvédelem alapjai. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest. p. 382.
43. Ordway, G.A., Garry D.J. (2004): "Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle". Journal of Experimental Biology 207 (Pt 20): 3441–6. doi:10.1242/jeb.01172. PMID 15339940.
44. Pohlman, F.W., Dikeman, M.E., Zayas, J.F., Unruh, J.A., Kropf, D.H., Stroda, S., (1995): Effects of ultrasound and convection cookery to different endpoint temperatures on beef longissimus and pectoralis muscle cooking and sensory properties, shear force, and microscopic morphology. 41st ICoMST, San-Antonio, USA 11, p. 328±329.
45. Reynolds, J.B., Anderson, D.B., Schmidt, G.R., Theno, D.M., Siegel, D.G., (1978): Effects of ultrasonic treatment on binding strength in cured ham rolls. Journal of Food Science 43, p. 866±869.
46. Roncales, P., Ceña, P., Beltran, J.A., Jaime, I., 1992. Ultrasonication of lamb skeletal muscle fibres enhances post mortem proteolysis. 38th International Congress of Meat Science and Technology, Clermont-Ferrand, France 3, p. 411±414.
47. Sajas, J.F., Gorbatow, W.M., (1978): Use of ultrasonics in meat technology. Fleischwirtschaft 6, p. 1009±1012.
48. Schnett-Abraham, I., Trommer, E., Levetzow, R. (1992): Ultrasonics in sterilisation sinks. Applications of ultrasonics on equipment for cleaning and disinfection of knives at the workplace in slaughter and meat cutting plants. Fleischwirtschaft. Vol. 72., No. 6., pp. 864-867.
49. Tarrant, P.V. (1998): Some recent advances and future priorities in research for the meat industry. Meat Science, 49(Supplement 1), S1–S16.

50. Vén, Cs. (2010): A marhahús érésének vizsgálata, az érlelési technológia fejlesztése. Doktori disszertáció, Budapesti Corvinus Egyetem.
51. Wells, P.N.T. (1999): Ultrasonic imaging of the human body. Reports on progress in physics, 62(5), p. 671–722.
52. Williams, A.R. (1983): Ultrasound: biological effects and potential hazards. London: Academic Press.
53. Zsarnóczy, G., Körmendy, L. (1992): Új módszer húskészítmények hőkezelésének ellenőrzésére a foszfatáz próba alapján. A Hús 1992/3. p. 135-140.