



ENZIMES FEHÉREJEBONTÁSNÁL KELETKEZETT FRAKCIÓK VIZSGÁLATA

TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI DOLGOZAT

Készítette:

Homolya Nóra

Fejes Kitti

Biomérnök hallgatók

Konzulens:

Dr. Hodúr Cecilia

egyetemi tanár

2012

Összefoglalás

Tudományos Diákköri munkánk célja, hogy a tej-fehérje alapú, bioaktív anyagok kinyerhetőségét és mennyiségük növelhetőségét megvizsgáljuk. A kísérleteinkhez enzimeket és membrán szeparációt alkalmaztunk. Munkánk során vizsgáltuk a tejben található értékes anyagok besűrítését, ezért fölözött tejet ultraszűrővel, különböző vágási értékű ultraszűrő membránok alkalmazásával szűrtünk, majd a minták beltartalmi értékeit infravörös tartományban mérő tej-analizátorral mértük.

Vizsgáltuk az ultraszűrések fluxusait, nyomásra normalizált és relatív fluxus értékeit, visszatartási értékeit, valamint a minták tejcukor, tejfehérje, szárazanyag és összes fehérje tartalmát is.

Vizsgáltuk továbbá különböző koncentrációjú pepszin enzimkezelések hatását a fölözött tej ultraszűrésének paramétereire, valamint a kinyert frakciók mennyiségére. Munkánk során megállapítottuk, hogy az ultraszűrés hatékony módszer a tej értékes anyagai közül különösen a tejfehérjék sűrítésében. A pepszinnel történő kezeléseket követő ultraszűréseknél nyert adatokból elmondható, hogy az enzimkezelés alapján véve jelentős mértékben javítja a membránszűrés fluxus értékeit, vagyis a fehérjék lebontása lejáródott.

A méréseket szobahőmérsékleten, 300 rpm keverési fordulatszám mellett, 0,3 MPa nyomáson végeztük. A kiindulási minták térfogata 200 ml volt. A membránszűréseket minden esetben kétszeres sűrítési arány eléréséig végeztük, így 100 ml szűrlet állt rendelkezésünkre a további vizsgálatokhoz. Az enzimkezelések során a fölözött tejmintát 40°C-ra melegítve, sósav hozzáadása mellett biztosítottuk az enzim működéséhez megfelelő pH-t és hőmérsékletet, majd 2 órára 40°C-os vízfürdőbe helyeztük. Ezt követően ultrahanggal kezeltük a mintákat, hogy a denaturált fehérjéből keletkezett csapadékot megszüntessük és könnyebben szűrhető mintákat kapjunk. A mintákat 500 rpm kevertetés mellett 0,3 MPa nyomáson, 10 kDa vágási értékű membránszűrővel szűrtük. A szűrletek tejfehérje, tejszír, tejcukor, összes fehérje és szárazanyag tartalmát vizsgáltuk, valamint a minták zavarosságát is. Enzimes kezelés során két sorozatot végeztem különböző enzimkoncentrációkat vizsgálva (1,5 % és 2 % -os koncentrációval).

Tartalomjegyzék

ÖSSZEFOGLALÁS	2
BEVEZETÉS	4
1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
1.1 A tej alkotóelemei	5
1.2 Bioaktív anyagok a tejben	6
1.3 Membrán-szeparációs eljárások	9
1.4 Nyomáskülönbségen alapuló membrános eljárások	10
1.4.1 Mikroszűrés (MF)	11
1.4.2 Ultraszűrés (UF)	11
1.4.3 Nanoszűrés (NF) és Reverz ozmózis (RO)	12
1.5 Membrántechnika alkalmazása a tej értékes anyagainak kinyerésében	13
2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	15
2.1 Fölözött tej	15
2.2 Analitikai vizsgálatok	15
2.3 Enzimkezelések	16
2.4 Membránszűrő berendezés	16
2.5 Membránok	17
2.6 A fölözött tej ultraszűrése	18
2.7 Membránszeperációs eljárások számításai	19
2.8 Ultrahang kezelés	19
3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKEKELÉSÜK	21
3.1 Membránok vízfluxus értékei	21
3.2 Fölözött tej ultraszűrése	22
3.3 Visszatartási értékek vizsgálata	27
3.4 Az enzimkezelések hatása az ultraszűrésre	28
ÖSSZEFOGLALÁS	32
IRODALOMJEGYZÉK	33

Bevezetés

A tejben található értékes anyagok közül a legfontosabbak az emberi szervezet számára a tejfehérjék, tejcukor, ásványi anyagok és a vitaminok. A tejfehérjék az egyik legértékesebb tápanyagfehérjék közé tartoznak. Az emberi szervezet számára nélkülözhetetlen esszenciális aminosavakat tartalmaznak. A bioaktív fehérjék (pl.: savófehérjék vagy immunpeptidek) az emberi szervezet védekezőképességét segítik elő, rákellenes hatásúak, gátolják a vérrögzépződést és mikroba gátló hatással is bírnak. A tejcukor - az ásványi anyagok, elsősorban a kalcium és a magnézium felszívódását segíti elő. A tejcukorból hőkezelés hatására és a tejcukor lebontásakor a szervezetben laktulóz és laktitol képződik, amely anyagok az ún. bélazonos tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok kizárólagos, fontos tápanyagai. Az ezekkel gyártott savanyú tejkészítmények, az ún. probiotikus savanyú tejtermékek egészségvédő, jótékony hatással vannak a szervezetre, csökkentik az érlemeszesedés és a vastagbélrák veszélyét, valamint védik a szervezetet a kórokozók káros hatásaitól. Az ásványi anyagok a tejben és a tejtermékekben kémiaiilag vagy komplex vegyületben kötött formában vannak jelen. Az emésztés során felszabadulnak és biológiaiilag aktív anyagokká ún. metabolitokká válnak, így már részt vesznek az anyagcserében. Az elemek közül elsősorban a kálium és nátrium, valamint a kalcium és a foszfor továbbá a szelén érdemelnek említést. A tej és a tejtermékek igen gazdagok a zsírolékony vitaminokban, a B-vitamin-csoport tagjai is megtalálhatóak bennük, sőt, közülük az egyik legfontosabb a B12 vitamin is.

A TDK dolgozatunkban ezért főlözött tej enzimes bontását vizsgáltuk ultraszűrő berendezéssel. Az enzimes bontás, ill. a membrán szeparáció hatását a szűrlet beltartalmi értékeit vizsgálatával követtük nyomon. Az analitikai vizsgálatokat Bently típusú IR tej-analizátorral (Bently-150 milk-analyser, Bently Instruments, USA) végeztük el, mértük a minták tejfehérje-, tejszír-, tejcukor-, összes-nitrogén tartalomból számított fehérje- és szárazanyag tartalmát. A membránszűréseknél 1, 5, 10, 30, és 100 kDa vágási értékű regenerált cellulóz membránokat használtunk.

1. Irodalmi áttekintés

1.1 A tej alkotóelemei

A tej közel 88 %-a víz, 5-6 %-a tejcukor (laktóz), ami β -D glükóz és β -D galaktóz molekulákból épül fel. A tej 3-4 %-át tejszír alkotja, amely apró cseppekként összeállva a fényt megtöri, ez okozza a tej fehéres színét. 3-4 % a tejfehérje tartalom, aminek 88-90 %-át a kazein fehérje alkotja, amely micellás szerkezetű, instabil molekula, könnyen denaturálódik magas hőmérséklet vagy alacsony pH hatására. A kazein micellákat κ -kazein burkolja be, hidrofíl, stabil molekulát alkotva. A tejfehérjék között 10-12 %-ban a laktalbumin is jelen van, amely molekulára jellemző, hogy tej melegítésekor a tej felszínén keletkező bőrréteget a kicsapódott laktalbumin alkotja. A tej vitaminokat (riboflavin, A- és D vitamin) és kalciumot is tartalmaz (Kovács, 2009).

A tejszír összetételére jellemző, hogy viszonylag nagyobb mennyiségben (6-8 %-ban) tartalmaz rövid szénláncú (4-8 szénatom számú) zsírsavakat, amelyek növekedést elősegítő hatással rendelkeznek (<http://fogyasztovedelem.info>). A tejszír igen bonyolult összetételű, 97-98 %-a trigliceridek és észterek, valamint foszfolipidek és szterolok alkotják. Az értékes zsírban oldható vitaminok (A, D, E és K) hordozója, amelyek közül mennyiségileg az A-vitamin emelhető ki. A tejszírban a zsírokon belül kb. 62 % telített zsírsav, 30 % egyszerűen és 4 % többszörösen telített zsírsav van.

A tejfehérjék az egyik legértékesebb tápanyagfehérjék közé tartoznak, az emberi szervezet számára nélkülözhetetlen esszenciális aminosavakat tartalmazzák. A tejfehérjék közül a kazein jól emészthető. A tejben található bioaktív fehérjék (savófehérjék, immunpeptidek, laktoferrin, béta-laktoglobulin, stb.) elsősorban a szervezet védekezőképességét segítik elő, rákellenes hatásúak, gátolják a vérrögzépződést és mikroba gátló hatással is bírnak (<http://fogyasztovedelem.info>). Ma ipari méretekben állítják elő a tejből és a tejszármazékokból a jótékony hatású bioaktív fehérjéket, amiket a gyógyszeripar különböző gyógyhatású készítmények előállítására használ fel.

A tejcukrot korábban tejipari szintenyészetek tápanyagforrásaként alkalmazták, ma már tudják, hogy az ásványi anyagok, elsősorban a kalcium és a magnézium felszívódását segítik elő. A tejcukorból egyfelől hőkezelés hatására, másfelől a tejcukor lebontásakor a szervezetben laktulóz és laktitol képződik, amely anyagok az ún. bélazonos tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok kizárólagos, fontos tápanyagai. Az ezekkel gyártott savanyú tejkészítmények, az ún. probiotikus savanyú tejtermékek a legújabb kutatások szerint

egészségvédő, jótékony hatással vannak az emberi szervezetre, így többek között csökkentik az érlemeszedést, a vastagbélrák veszélyét, továbbá védik a szervezetet a kórokozók káros hatásaitól.

Az ásványi anyagok a tejben és a tejtermékekben kémiai vagy komplex vegyület formájában, kötötten vannak jelen. Ha az emésztés során felszabadulnak és biológiailag aktív anyagokká ún. metabolitokká válnak, akkor már részt vesznek az anyagcsere folyamatokban is. Ellenkező esetben változatlanul távoznak a szervezetből. A tej és a tejtermékek fontos ásványianyag-források a szervezet számára. A sok makro- és mikroelem közül elsősorban a kálium és nátrium, valamint a kalcium és a foszfor, továbbá a szelén érdemelnek figyelmet. A szelén antioxidáns hatása miatt érdemel említést. A tej ugyan kevés szelént tartalmaz, de annak jó hasznosulását biztosítják a jelenlevő bioaktív fehérjék (www.dinero.hu). A tej és a tejtermékek igen gazdagok a zsírolékony vitaminokban, de a B-vitamin-csoport tagjai is megtalálhatók, közülük az egyik legfontosabb a B12 vitamin.

1.2 Bioaktív anyagok a tejben

A bioaktív anyagokról nagyon sok minden mondható el, többek között az, hogy az ismert tápanyagoknál jóval hatékonyabbak élettani tulajdonságaikat illetően, és ezeknek az élettani hatásaiknak a révén egészségvédők, egészségmegőrzők, vagyis olyan makro- és mikro tápanyagok, amelyek fokozottabban védik az emberi szervezetet, az ember egészségét. Jelentős mértékben segítik (Szakály, 2001):

- az emberi szervezet harmonikus működését: homeosztázis¹,
- a betegségek megelőzését,
- a betegségek gyógyítását.

Az élelmiszeripari termékeket 4 nagy csoportba tudjuk sorolni, előállítási alapanyagaik szerint. Ez a négy nagy csoport a tejtermékek, a hústermékek, a gabonafélék, és a zöldségek és gyümölcsök. A legújabb kutatások bebizonyították, hogy ezeken az alapvető élelmiszercsoportokon belül a tejtermékekben találhatóak a legnagyobb számban biológiailag aktív anyagok. Ilyenek lehetnek pl. a vérnyomást növelő *Angiotenzin-I* konvertáló enzim

¹ „Az élő szervezetnek a változó külső és belső körülményekhez való alkalmazkodó képessége, amellyel önmaguk viszonylagos biológiai állandóságát biztosítják.” (<http://hu.wikipedia.org/wiki/Homeoszt%C3%A1zis>)

(Angiotensin-I Converting Enzyme =ACE) gátlását végző *Kazein Dodeka Peptid* (CDP), amelynek tejből kivont készítményével végzett sikeres élettani vizsgálatok igazolták, hogy hatása vetekszik a legjobb gyógyszerekével (50 mg → 30 min 27% szisztolés vérnyomás csökkenés) is. (Szakály és trs, 2001)

A főlözött tejben megtalálható bioaktív anyagok közül az α -kazein és a β -kazein teszik ki a legnagyobb hányadot. Ezekben a fehérjékben nagy arányban megtalálhatóak olyan nyomelemek, mint a kalcium és a foszfor. A fehérjékre jellemző tulajdonság még, hogy oldhatóságuk vízben elég rossz, ezért a tejben csak szuszpenzió formájában találhatóak meg. Élettani hatásukat tekintve sokkal jobbak a savófehérjéktől, mert eltérő fizikai tulajdonságot hordoznak. A legnagyobb különbség az emésztési ráta illetve a felszívódás gyorsasága között van. A tejsavófehérje gyorsan kiürül a gyomorból és jut a véráramba, míg a kazein egyfajta gél képezve lassan halad végig az emésztőrendszeren és így lassan, fokozatosan lép a keringésbe. A tejsavó fehérje tehát egy gyors, nagymérvű ám rövid aminosav beáramlást okoz, míg a kazein nem okoz hirtelen nagymértékű aminosav beáramlást a véráramban, ugyanakkor alkalmas egy alacsonyabb, de hosszabb távon is stabil aminosav-szint biztosítására. (Szakály, 1991)

Kimutatható különbség van a kazein és a laktalbumin között fehérjék biológiai hatásai között. A laktalbuminnak van a legnagyobb a biológiai értéke az összes tejfehérje közül, amellyel még a tojás fehérjénél is kedvezőbb biológiai értékeket mutat. A különböző kísérletek szerint laktalbuminból csak 14,5 g szükséges az ember napi esszenciális aminosav-szükségletének kielégítéséhez, addig ez az érték tojásalbuminból 17,4 g, tejfehérjéből pedig 28,4 g. A laktalbumin ezért a legnagyobb biológiai értékű fehérjének tekinthető, bár részesedése az összes fehérjén belül csak mintegy 20%. A tej másik nagy alkotó eleme a kazein fehérje, amelynek glutamin tartalma kiemelkedően magas. A magas glutamin tartalom peptid formában található meg a kazeinben, így a felszívódása és a hasznosulása is kiváló. A peptid formájú glutamin biológiai aktivitása mintegy kétszerese a szabad L-glutaminénak. (Csapó és trs., 2002)

A tej bioaktív fehérjeinek ipari mértékű előállítása igen költséges folyamat, mivel nagyon magas beruházási költségekkel kell számolnunk. A tejben megtalálható bioaktív fehérjék előállításuk történhet főccstejből, normál tejből és tejszármazékokból is. A normál tejből jellemzően immunmegkötő foszfolipidek, illetve kazein- és savófehérje koncentrátumok előállítása folyik, míg főccstejből speciális magzati bovinszérum gyártására van lehetőség. (Csapó és trs, 2002)

A kazein kationnal alkotott micellákban stabilizálódik, kiegészítőként általában háromféle kazeint használhatnak fel kalcium- vagy nátrium-kazeinátot, mely a kazeinnek kalciummal illetve nátriummal alkotott sói, valamint micelláris kazeint. Minőségileg a micelláris kazein a legjobb választás, ám ez legköltségesebb forma. A micelláris kazeint ultraszűrési eljárással szeparálják, mellőzve minden egyéb kémiai behatást, így természetes formájában a legjobb biológiai tulajdonságokat hordozza. A kazein egy meglehetősen stabil fehérjefajta, jól ellenáll mind a hő, mind a pH változásoknak. (Csapó és trs., 2002)

A tejből nyert kazein koncentrátumokat később más iparágak használhatják fel. Leginkább elterjedt felhasználási területe a különböző testépítő izomnövelő szerek gyártása, de káliumkazeinát derítőszerként a borgyártásban is jelentős szerephez jut.

Az alábbi táblázatban a tejben megtalálható fontosabb fehérjék megoszlását mutatjuk be.

1. táblázat: Tejfehérjék relatív megoszlása és molekulásúlya (Csapó és trs., 2002)

	Fölözött tejben [%]	Mw [kD]
α-kazein	45-55	23,000
κ-kazein	8-15	19,000
β-kazein	25-35	24,000
γ-kazein	3-7	--
α-Laktalbumin	2-5	14,437
β-Laktoglobulin	7-12	18,000
szérum albumin	0.7-1.3	68,000
Laktoferrin	0.2-0.8	87,000
Immunoglobulinok:		
IgG1	1-2	160,000
IgG2	0.2-0.5	160,000
IgM	0.1-0.2	~1,000,000
IgA	0.05-0.10	~400,000
Pepton frakció	2-6	4,100 - 200,000

1.3 Membrán-szeeparációs eljárások

A membrán-szeeparációs eljárások alapja maga a membrán, amit permszelektív gátként foghatunk fel két fázis között, mivel permeábilis, mert bizonyos anyagok átjuthatnak rajta és ugyanakkor bizonyos komponensekre, molekulákra szelektívek. A membránokat többféle szempont szerint lehet csoportosítani: felépítésük, vágási értékük, vagy alapanyaguk szerint. A membránok alapanyaga szerint beszélhetünk természetes és szintetikus membránokról. A szintetikus eredetű membránok szilárd valamint folyadék állapotúak lehetnek. A szilárd membránokhoz tartoznak a szerves és szervetlen alapanyagú membránok, amelyeken belül is beszélhetünk a polimer membránokról, illetve kerámia és fém membránokról. A szilárd membránokat morfológiájuk alapján szimmetrikus és aszimmetrikus csoportokba sorolhatjuk. A szimmetrikus membránokra jellemző anyagátadási ellenállást a teljes membrán-vastagság adja. Az aszimmetrikus membránok egyik legegyszerűbb szerkezetű csoportjára jellemző, hogy a pórusokat úgy alakították ki, hogy a méretük felülről lefelé növekedjen. A változó pórusméret javítja a szelektivitást és a fluxus értékét (Fábry, 1995).

Az élelmiszeriparban általában szintetikus polimerekből előállított membránokat alkalmaznak, mivel jól tisztíthatók, jó nyomás és pH-tűrésűek és könnyen kezelhető membránok. A leggyakoribb szintetikusmembrán-anyagok közé tartozik a cellulóz-acetát, cellulóz-nitrát, poli-tetra-fluor-etilén, poliszulfon, poliészter, polipropilén, polikarbonát és a polibenzimidazol (Galambos és trs., 2004).

A membránok konfigurációjuk alapján is csoportosíthatók lapmembránokra, spiráltekercses-, csőmembrán- és üreges szálmodulokra. A lapmembrán előnye, hogy viszonylag kis térfogatba nagy membránfelület építhető be (Bélafiné, 2002). Hátrányai közé tartoznak, hogy a nagy szárazanyag-, illetve kolloid terhelés esetén nehéz tartani a megfelelő áramlási viszonyokat valamint eltömődésre hajlamosak. A spiráltekercs modulok a lapmembránok továbbfejlesztett változatai, nagyobb fajlagos szűrőfelület jellemző rájuk. A kialakításuk miatt nagy keresztáramú áramlási sebesség kialakulását teszi lehetővé és így eltömődési hajlamuk is kisebb. A csőmembrán modulok előnye, hogy közel turbulens áramlás hozható létre bennük, így nagy szárazanyag-tartalmú és nagy viszkozitású folyadékok szűrésére is alkalmas. Az üreges szálmodul a csőmembránoktól csupán a membráncsövek átmérőjében különbözik. A modulok nem tartalmaznak tartó- vagy hordozóréteget, hanem a speciálisan kialakított csőfal struktúrája adja a mechanikai stabilitást.

A bio-iparoknál, így az élelmiszeriparban is a membrán-szeperációs műveletek közül a membránszűrési műveletek nagy szerepet töltenek be, mivel a bio-iparok számára szükséges leválasztandó, szétválasztandó, tisztítandó anyagok mérettartománya megfelel a membránszűrési technikák szétválasztási tartományának, azaz a mikrométeres – nanométeres méreteknél. A membránon áthaladó komponensek összességét a permeátumnak, vagy szűrletnek, míg a visszamaradó komponensek összességét sűrítménynek hívják. Membránszűrés kétféle szűrési módot tesz lehetővé, az egyik az ún. hagyományos (dead-end) szűrés, amely esetében a szűrendő anyag a membránra merőleges irányból érkezik. A hajtóerő hatására a kisebb molekulák, komponensek áthaladnak a membránon, míg a nagyobb méretű molekulák visszamaradnak, és ezek feldúsulnak a membrán felületén, elzárva a pórusokat és így egy koncentráció polarizációs réteget alakítanak ki.

A másik módszer a keresztáramú (cross-flow) eljárás, amely során a szeperálandó fluidum a membrán felületével párhuzamos irányból érkezik, viszont a hajtóerő hatására komponensek merőlegesen haladnak át a membránon. A párhuzamos áramlás elsodorja a membrán felületére esetlegesen lerakódott komponenseket, így csökkentve a koncentráció polarizáció jelenségét és növelve az eljárás teljesítményét.

A membránszűrők előnye, hogy kémiaiilag egységes anyagból készülnek, számos szerves oldószerrel, savval, lúggal szemben ellenállóak. Az oldott anyagot nem adszorbeálja és a szűrési veszteség is kicsi. Számos szűrési cél kivitelezésére alkalmasak, mint például az analitikai minták, oldatok tisztítása, oldatok steril szűrése, biológiai anyagok koncentrációja, tisztítása, valamint levegő vagy gázok szétválasztása. A folyamathoz vákuum vagy túlnyomás szükséges.

1.4 Nyomáskülönbségen alapuló membrános eljárások

A nyomáskülönbségen alapuló membrános eljárásoknál a membrán-szeperációs művelet hajtóereje a membrán két oldala között fennálló nyomáskülönbség. Az ilyen eljárásra jellemző a folytonos fázisú oldószer és a viszonylag kis koncentrációban jelen lévő oldott anyag. Az oldott anyag részecske méretének megfelelően különböző membrános eljárásokat fejlesztettek ki: mikroszűrés, ultraszűrés, nanoszűrés és a fordított (vagy reverz) ozmózis. A különböző eljárásokra jellemző paramétereket az 2. táblázatban mutatjuk be.

2. táblázat: Mérettartomány és alkalmazott nyomás az egyes eljárásoknál (Hodúr és mts., 2007)

Membrános eljárás	Mérettartomány	Nyomás (MPa)
Mikroszűrés	0,1-10 μm	0,01-0,1
Ultraszűrés	1-500 kDa	0,1-1
Nanoszűrés	>300 Da	0,5-2
Reverz ozmózis	25-99,9 % NaCl retenció	2-10

1.4.1 Mikroszűrés (MF)

A mikroszűrés az a membrános művelet, amely a legközelebb áll a klasszikus szűrési eljáráshoz. Az itt alkalmazott membránoknál a kialakított pórusok mérete, mely jó közelítéssel megegyezik a membrán vágási értékével, egzakt módon megadható. Az eljárás során szitathatás érvényesül, és mechanikus leválasztás történik. A membrán pórusméretéből (0,1-10 μm) következik, hogy a mikroszűrő berendezések membránja az oldatban lévő molekulákat teljes egészében átengedi, csak a nem oldott formában található anyagokat (kolloidok, baktériumok) tartja vissza. A mikroszűrők segítségével olcsón és nagy teljesítménnyel lehet oldatok steril szűrését végezni anélkül, hogy hőkezelést kapna az oldat.

1.4.2 Ultraszűrés (UF)

Az ultraszűrő membránok már a nagyobb mérettel jellemezhető, szerves makromolekulák (fehérjék, poliszacharidok) leválasztására is alkalmasak. A membránon a vízmolekulák, a sók és kisebb móltömegű anyagok képesek átjutni. A mikroszűrő membránokhoz hasonlóan az ultraszűrő membránok is pórusosak, amelyeknél a visszatartást elsősorban az oldott részecskék, anyagok mérete és alakja határozza meg, ahol az anyagtranszport egyenesen arányos az alkalmazott nyomással. Az ultraszűrés tartománya általában 500 és 100 000 Dalton (Da) molekulatömeg közé tehető. Ez a membránok vágási értéke (NMWL: Nominal Molecular Weight Limit, Névleges molekulatömeg), ami már nem jellemezhető pórusmérettel, itt már a Da-ban megadott vágási értékeket alkalmazzuk a szétválasztási tartomány jelölésére.

A hajtóerő szintén a membrán két oldalán fellépő nyomáskülönbség, az ún. transzmembrán-nyomás (TMP: transmembrane pressure). Mivel azonban az ultraszűrő membránok pórusai nagyságrendekkel nagyobbak az NF vagy RO membránokhoz képest, így a szükséges transzmembrán nyomás is lényegesen kisebb lehet. Elmondható, hogy ez a membrán konfigurációjától függően 0,2-1 MPa nyomásérték között lehet. Az ultraszűrés anyagtranszportja elsősorban a nyomás-gradiens hatására diffúziós mechanizmussal, bonyolult nemlineáris matematikai megközelítéssel írhatók le. A membránok minőségét is más paraméterek együttesen határozzák meg: a két legfontosabb a már említett cut off vagy névleges vágási érték és a membrán hidraulikai tulajdonságaira utaló vízegyenérték.

Az oldószer membránon keresztül való átáramlása miatt a membrán felszínén megnövekedhet az oldat koncentrációja a makromolekulára nézve és folyamatosan növekedhet mindaddig, amíg el nem éri a gél kialakulási koncentráció szintjét, amit a membrán felületén kialakuló gélrétegnek nevezünk. Egyensúlyi állapot esetében ez a koncentráció különbség, ami a membrán felülete és az oldat belseje között ily módon kialakul állandósul és egy ellentétes irányú diffúciónak lesz a hajtóereje. Amennyiben a koncentráció hányados állandó, a térfogatáram értékét az anyagátadási együttható fogja meghatározni, tehát az oldat tulajdonságai és az áramlási viszonyok nagy jelentőséggel bírnak az ultraszűrésnél.

1.4.3 Nanoszűrés (NF) és Reverz ozmózis (RO)

A nyomáskülönbségen alapuló membrános eljárások közül a nanoszűrés és a fordított (reverz) ozmózis akkor alkalmazható, ha kis molekulatömegű oldott anyagot, pl.: szervetlen sók vagy kicsiny szerves molekulát, mint a glükóz oldószertől való elválasztását kell megoldani. Az ultraszűréshez képest kisebb vegyületek szeparációjához kisebb pórusméretű és nagyobb ellenállású membránt kell használnunk. A nagyobb membránellenállás miatt jóval nagyobb nyomást kell alkalmazni és ezeknél a kis molekulatömegű anyagoknál az ozmózisnyomás is jelentős, amit szintén le kell győzni. Az oldott anyagot (pl. sót) a membrán nem engedi át, míg az oldószert (pl.: vizet) átereszti. Ha az alkalmazott nyomás kisebb, mint az ozmózisnyomás, a víz a hígabb oldat (pl. tiszta víz) felől fog áramlani a töményebb oldat felé. Ha viszont a nyomás nagyobb, mint az ozmózisnyomás az adott esetben, a víz a töményebb oldat felől áramlik a hígabb felé.

Valójában a nanoszűrő membránok átmenetet képeznek az ultraszűrésnél alkalmazott pórusos membránok és a nem-pórusos, sűrű membránok között (ez utóbbiakat pl. pervaporációnál, gázszeperációnál használják).

A nanoszűrésnél általában 1 és 2 MPa közötti, míg a fordított ozmózisnál 2-10 MPa nyomást alkalmaznak. A fordított ozmózist sok helyen alkalmazzák, ilyen lehetnek az oldószertiítások, ahol a permeátum lesz a termék pl.: tengervíz és bakkvíz sótalanítása, vagy ultratiszta víz termelése. A koncentrálásra, mely során a betáplált anyag maradéka lesz a termék, az élelmiszeriparban használják pl.: gyümölcslevek, tej, kávé, cukoroldatok besűrítésére (Bélafiné, 2002).

1.5 Membrántechnika alkalmazása a tej értékes anyagainak kinyerésében

Napjainkban a tej értékes komponensei közül a savófehérjék kinyerésére számos technika ismert. Ezek közül a membrántechnika alkalmazása igen elterjedt (Atra és trs., 2005; Yorgun és trs., 2008; Fachin és trs., 2005; Butylina, 2006). A tej fehérjéinek természetes tulajdonságait –oldhatóság, habképző és emulzifikáló képesség, gélképző képesség- a membrántechnika után is megőrzi, és a termékkel is kíméletesen bánt (Saxena, 2009, Pouliot, 2008).

A nyomáskülönbségen alapuló membrános eljárások közül a tejben lévő fehérjék leválasztására leggyakrabban az ultraszűrés alkalmazása az elterjedt. Számos kutatócsoport vizsgálta már a főlözött tej ultraszűrésének hatékonyságát (Rinaldoni és trs., 2009; Salvatore és trs., 2011; Hodúr és trs., 2009a). A fehérjék elkülönítésére azonban (ultraszűrésen belül) nincs lehetőség, mivel a molekulaméretük nagyon közel esik egymáshoz (pl.: β -lactoglobulin és α -lactalbumin) (Metsamuuronen és trs., 2011).

A fehérjemolekulák méretük miatt a sűrítményben tarthatók, míg a laktóz és az egyéb anyagok szűrletként választhatók le (Yee és trs., 2007; Cheang, Zydneý, 2004; Rektor, Vatai, 2004). A tej és a savó ultraszűrésekor jelentkező viszonylag gyors eltömődés (magas ellenállási értékek kialakulása) miatt, vagy a savó előkezelése vagy valamely más módszer alkalmazása szükséges (Rektor, 2009). A fehérjék miatt az alkalmazott UF membránok nagyon eltömődnek, így hatékony tisztítási eljárások alkalmazása szükséges (Bouzid és trs., 2008; Paugam és trs., 2006). Egy ilyen hatékony tisztítási módszert írtak le Popovic és trs.: a 30 perces 0,5 %-os enzimés (P3-ultrasil 53) kezelés 55°C-on, majd 30 perces 1 %-os

citromsav oldatos tisztítás 55°C-on, végül 1 %-os NaOH-os lúgos mosás 70°C-on (Popovic és trs., 2011).

A membránok eltömődésének mértéke azonban nagymértékben függ a működtetési paraméterektől is, pl.: hőmérséklet (Konrad és trs., 2012; Karlsson és trs., 2007).

A tejiparban általában nagy mennyiségű változó minőségű, összetételű szennyvíz keletkezik, amit ugyancsak kezelni kell (pl. a szervesanyag tartalmát csökkenteni kell a környezetbe eresztés előtt).

2. Anyagok és módszerek

2.1 Fölözött tej

Az alapanyagként szolgáló fölözött tej jellemző analitikai értékeit, úgymint: tejszír-, fehérje-, tejcukor-, szárazanyag- és összes fehérje tartalom a 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. Táblázat: Fölözött tej beltartalmi értékei

Minta	Tejszír [g/100g]	Fehérje [g/100g]	Tejcukor [g/100g]	Száraz anyag [g/100g]	Össz. fehérje [%]
Fölözött tej	0.05	2.97	5	8.87	3.22

2.2 Analitikai vizsgálatok

A munkánk során használt Bentley gyártmányú B150 típusú tej-analizátor pontos, kompakt, gyors vizsgálatot biztosított. A berendezés lehetőséget ad a tej- és különböző tejtartalmú termékek beltartalmi értékeinek vizsgálatára: tejszír, fehérje, tejcukor és szárazanyag tartalom (1. ábra).

A minták mérése előtt a műszert kalibráltuk 40°C-os desztillált vízzel, majd minden mintát egyesével megmértünk. A mintákat 40°C körüli hőmérsékletre melegítettük vízfürdő segítségével. A megfelelő gomb megnyomásával a berendezés szivattyúja felszívott kb. 10-15 ml mintát, majd a képernyőn leolvasható volt a minta tejszír, tejfehérje, tejcukor, szárazanyag és összes fehérje tartalma. A minták lemérése után háromszoros mosást végeztünk 40°C-os desztillált vízzel. A desztillált vizes mosások után tisztító mosást is végeztünk, hogy a berendezést kitisztítsuk.



1. ábra: Bentley mérőműszer
(www.bentleyhungary.hu)

2.3 Enzimkezelések

A főlözött tejet pepszin enzimmal kezeltük 1,5 %-os és 2,0 %-os enzimkoncentráció mellett. A mérések során biztosítottuk az enzimkezeléshez szükséges körülményeket (40 °C, pH 2) melyek az enzim működésének optimális feltételeit biztosították.

4. Táblázat: Kezelt tejre vonatkozó paraméterek

	1,5 %-os enzim konc.	2 %-os enzim konc.
Tej mennyiség (ml)	250 ml	200 ml
Sósav (ml)	4,25 ml	2,5 ml
Pepszin (g)	3,75 g	5 g

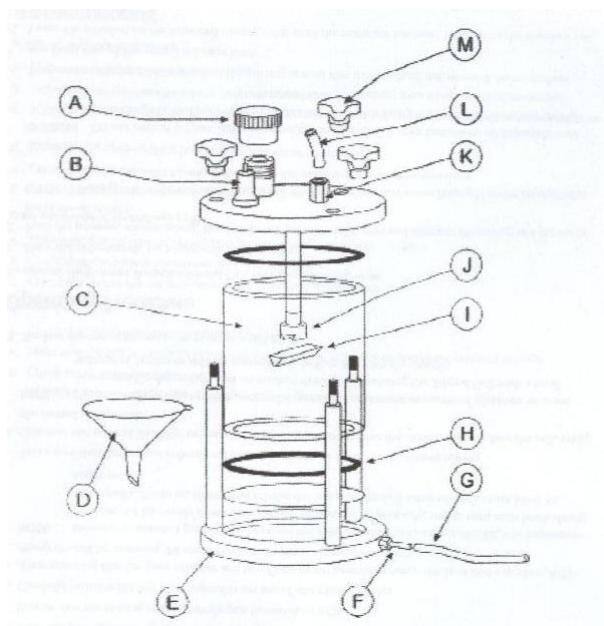
A vízfürdő után ultrahang segítségével roncsolást/homogénezést végeztünk, hogy a csapadékként megjelenő denaturálódott fehérjéket szétroncsoljuk a könnyebb ultraszűrési vizsgálatok elvégzéséhez.

2.4 Membránszűrő berendezés

Munkánk során a membránsszeparációt egy speciális, micellaképzéssel segített ultraszűrés végrehajtására is alkalmas (MEUF: Micellar-enhanced ultrafiltration; Millipore; Svédország) berendezéssel végeztük (2. ábra). A berendezés kompaktasága és tulajdonságai lehetővé teszik, hogy magasabb hőmérséklet tartományban is mérjünk. A berendezések előnye a többi membránszűrő berendezéshez képest, hogy a membránok könnyen cserélhetők,

a paraméterek könnyen változtathatók, így ezek kimérése laboratóriumi körülmények között egyszerűen megvalósítható.

A berendezések maximális térfogata 75 ill. 300 ml. Mindkét ultraszűrő berendezés maximális működtetési nyomása 0,6 MPa. Az üvegfal könnyen tisztítható speciális vastagított üvegből készült.



- A – Záró kupak
- B – Biztonsági szelep
- C – Üvegfal
- D – Tölcsér
- E – Alap
- F – Szűrő nyílás
- G – Elvezető cső
- H – Gumigyűrű tömítés
- I – Mágnes keverő
- J – Mágnes keverő tartó
- K – Nyomást bevezető csőcsatlakozás
- L – Nyomást bevezető cső
- M – Rászorító

2. ábra: Ultraszűrő berendezés részei

2.5 Membránok

A méréseink során regenerált cellulóz alapanyagú membránokat használtunk, melyek pórus struktúrája hasonló a cellulóz észterekből készített membránokéhoz. Méréseinkhez 47 és 76 mm-es átmérőjű membránok álltak rendelkezésünkre, melyek aktív membrán szűrési felülete 15 ill. 40 cm². A membránok tulajdonságait a 5. táblázatban tüntettük fel.

5. táblázat: Membránok jellemzői

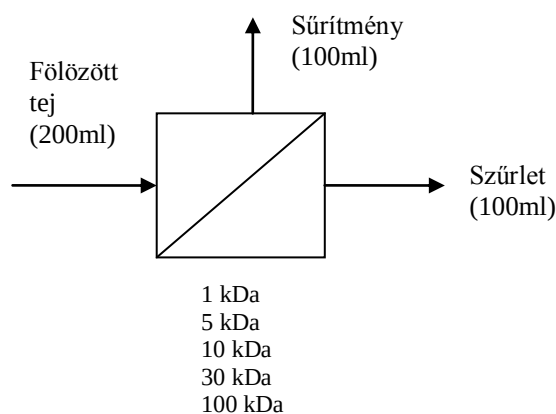
Membrán vágási értéke [kDa]	Anyaga	Max. hőmérséklet	pH tűrés
1	Regenerált cellulóz	50°C	3 - 13
5			
10			
30			
100			

2.6 A fölözött tej ultraszűrése

Méréseink során fölözött tejet ultraszűrtünk különböző vágási értékű - 1 kDa, 5 kDa, 10 kDa, 30 kDa és 100 kDa - regenerált cellulóz membránokkal. A regenerált cellulóz membránok közös jellemzője, hogy pórus struktúrájuk hasonló a cellulóz-észterekből készített membránokéhoz, de azokhoz képest sokkal rezisztensebbek az oldószerekkel szemben. A membránszűrés folyamatát az 3. ábrán mutatjuk be. Előzetes membránszűrés kísérletekkel az alkalmazott nyomáskülönbség (TMP: transmembrane pressure) értékeit meghatároztuk: további méréseimhez 0,3 és 0,5 MPa nyomást alkalmaztam. A kevertetés mértéke 500 rpm volt, hogy a membrán felületén minél magasabb nyíró erőt hozzak létre, annak érdekében, hogy gátoljam a membrán eltömődését, polarizációs réteg kialakulását.

A szűrésnél az egyes mérések kiindulási térfogata 200 ml volt, amiből 100 ml szűrlet és 100 ml sűrítmény keletkezett, tehát kétszeres sűrítési arányig (VRR: volume reduction ratio) folytattuk a membránszűrést.

$$VRR = \frac{V_{feed}}{V_{feed} - V_{perm}} \quad (1)$$



3. ábra: Membránszűrés sémája

2.7 Membránszeparációs eljárások számításai

Egy adott membrán hatékonysága az áteresztőképességével, fluxusával határozható meg. A fluxus, vagy más néven a térfogatáram-sűrűség, az a térfogat, amely a membrán egységnyi felületén egységnyi idő alatt átáramlik. A méréseink során kapott adatokból az alábbi képlet felhasználásával tudtuk a fluxus értékeket kiszámítani

$$J = \frac{dV}{dt} \cdot \frac{1}{A} \quad [\text{l m}^{-2} \text{h}^{-1}] \quad (2)$$

ahol J fluxus, A aktív membrán felület [m^2], V a szűrlet térfogata [m^3], t az idő [s].

Vizes oldatoknál a visszatartást, R (retenció), a következő képlet felhasználásával számoltuk ki:

$$R = \frac{c_f - c_p}{c_f} = 1 - \frac{c_p}{c_f} \quad (3)$$

ahol c_f az oldott anyag koncentrációja a betáplálási áramban, míg c_p az oldott anyag koncentrációja a permeátumban. R értéke 1 (illetve százalékosan kifejezve 100 %) és 0 (%) között változhat, ahol a határok egyrészt a komponens teljes visszatartását ($R=1$), másrészt az oldott anyag és az oldószer membránon keresztüli szabad áramlását jelentik ($R=0$) (Fábry, 1995).

A fluxus értékeken túl fontos a membránok eltömődésének mértékét mutató eltömődési indexek értékeinek megadása, amit a fluxus-idő függvények analíziséből a 4. egyenlet segítségével határoztunk meg.

$$J = J_0 \cdot t^{-k} \quad [\text{l m}^{-2} \text{h}^{-1}] \quad (4)$$

2.8 Ultrahang kezelés

A méréseink során az enzimkezelések esetén ultrahang berendezést használtunk a minták homogenizálása érdekében (Hielscher, UP100H Ultrasonic device, Németország). Az ultrahanggal történt kezeléssel lehetőségünk nyílt a mintákban lévő csapadék megszüntetésére, azaz a denaturálódott fehérjék „visszaoldására”, így a maradék szilárd

csapadék centrifugával történt leválasztása után nyert felülúszóval már el tudtuk végezni a membránszűrési műveletet.

Ez a berendezés kis mérete miatt laboratóriumokban minták előkészítésére, mint például: emulgeálásra, homogenizálásra, gáztalanításra is alkalmas eszköz. Kis mennyiségű minták (5 ml) esetén is jól használható, de ilyenkor számolni kell a minta gyors felmelegedésével és ez esetben hűtővizet kell alkalmazni.

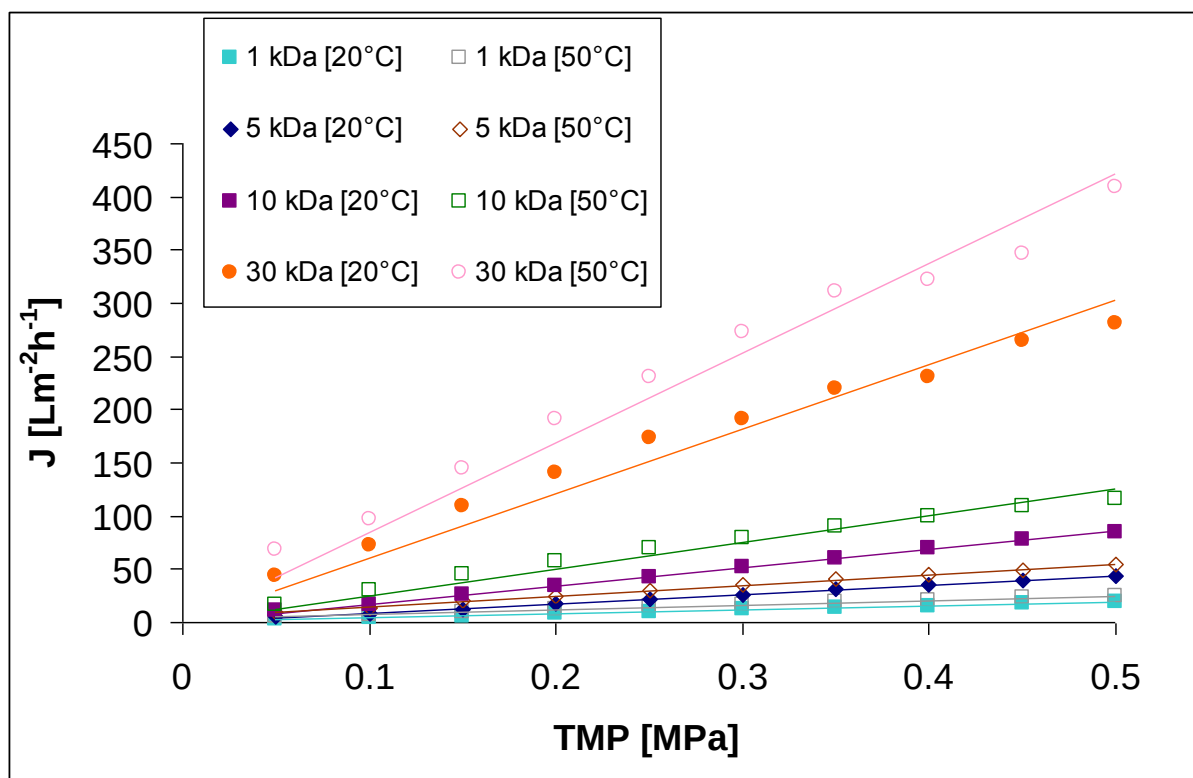
3. Eredmények és értékelésük

A kísérletek eredményeit csoportosítva, megfelelő ábrákba szerkesztve mutatjuk be. A vízfluxus értékek bemutatásával kezdjük az eredmények ismertetését, mert ezek az értékek jellemzik a legjobban a membránok permeabilitását.

3.1 Membránok vízfluxus értékei

Méréseink során az 1, 5, 10 és 30 kDa vágási értékű membránok vízfluxusait növekvő nyomásértékek mellett meghatároztuk és összehasonlítottuk. A méréseket 20 °C-on és 50 °C-on is elvégeztük a hőmérséklet hatásának bemutatása miatt. A 4. ábrán jól látható, hogy a nyomás növelésével a fluxus lineárisan növekszik.

Az 1 kDa-os membrán fluxus értékei adott nyomásokon a legkisebb, míg a 30 kDa-os membrán jóval magasabb fluxus értékeket mutatott. Az 5 és 10 kDa vágási értékű membrán fluxus értékei a két végponti cut-off értékű membrán közé esik, a vágási értékükkel arányosan.



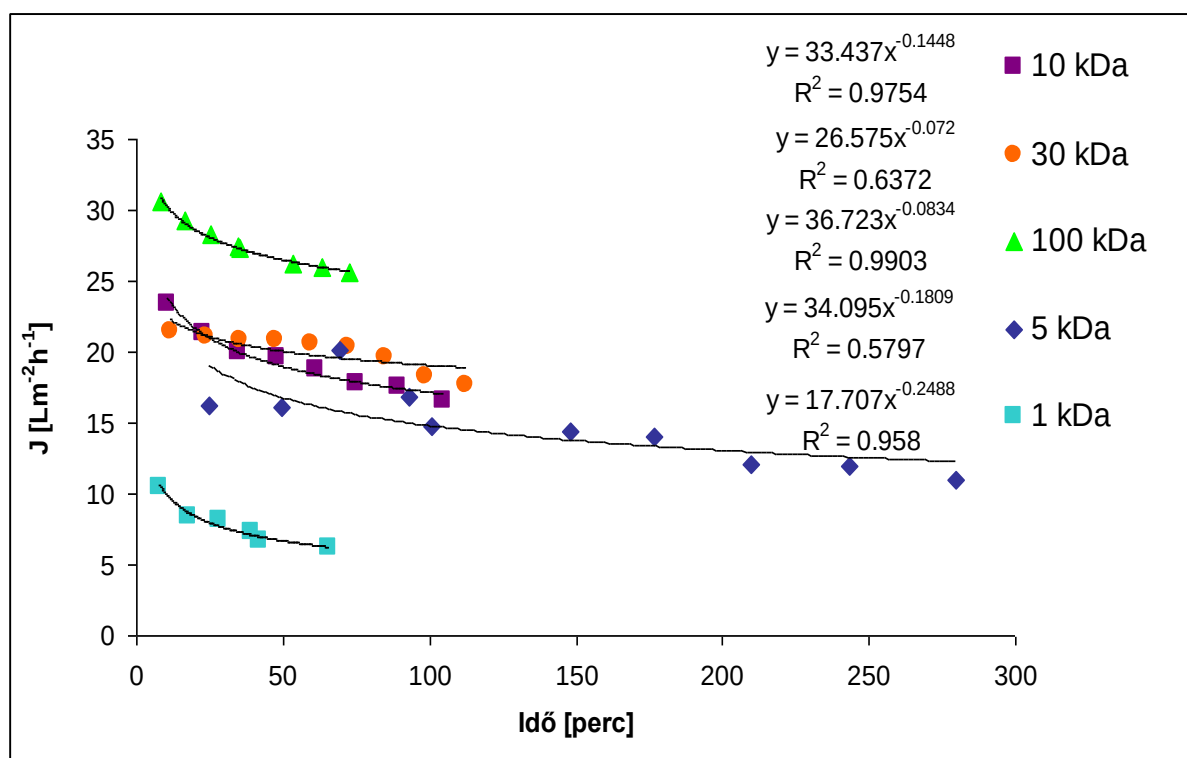
4. ábra. Ultraszűrő membránok vízfluxus értékei 20°C és 50°C-on mérve

A 4. ábrán jól láthatóak az 50 °C-on és a 20 °C-on mért desztillált víz fluxus értékek közötti különbségek. Minden vágási értékű membrán esetében, minden nyomás érték esetében a magasabb hőmérséklet nagyobb fluxus értéket eredményezett. A nyomás függvényében hasonló, lineárisan növekvő tendencia figyelhető meg. Az sem meglepő, hogy a legkisebb pórusméretű, 1 kDa vágási értékű membránon mértük a legalacsonyabb fluxus értékeket.

Ezek a tiszta membránnal, desztillált vízzel végzett mérések a membránok egymáshoz viszonyított, alap-áteresztőképességét jellemzik, illetve a későbbiekben a tej szeparálását követő mosási művelet hatékonyságának ellenőrzésére szolgálnak majd.

3.2 Fölözött tej ultraszűrése

Méréseink során fölözött tejet használtunk alapanyagként, mivel a fölözött tejben található tejszír igen hamar eltömi a membránok pórusait. A fölözött tej membránszűrésénél az 1, 5, 10, 30, és 100 kDa-os vágási értékű membránokat használtunk. Az alacsonyabb vágási értékű membránoknál (1 és 5 kDa) 0,5 MPa nyomáson, míg a magasabb: 10, 30 és 100 kDa-os membránoknál 0,3 MPa nyomáskülönbséget alkalmaztunk. A két különböző nyomáskülönbség érték miatt, a fluxus értékek összehasonlíthatósága céljából, nem a fluxus értékeket, hanem az u.n. nyomásra normalizált fluxus (J_n) értékeket ábrázoltuk (5. ábra). Nyomásra normalizált fluxus érték az egységnyi idő alatt, egységnyi felületen, egységnyi nyomáskülönbség hatására átáramló permeátum térfogatot jelöli: J_n , [$\text{Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{MPa}^{-1}$]. Megfigyelhető, hogy a legnagyobb pórusméretű membrán (100 kDa) fluxusai adják a legmagasabb értékeket ebben az esetben is, és a vágási értékek csökkenésével arányosan csökkennek a normalizált fluxus értékek.



5. ábra. Fölözött tej különböző, vágási értékű membránnal végzett ultraszűrésének normalizált fluxus értékei az idő függvényében

A fluxus értékeken felül fontos a membránok eltömődésének mértékét mutató eltömődési indexek értékeinek megadása is, amit a normalizált-fluxus – idő függvények mérési adatpontjainak felhasználásával, és a (4) egyenlet segítségével határoztunk meg.

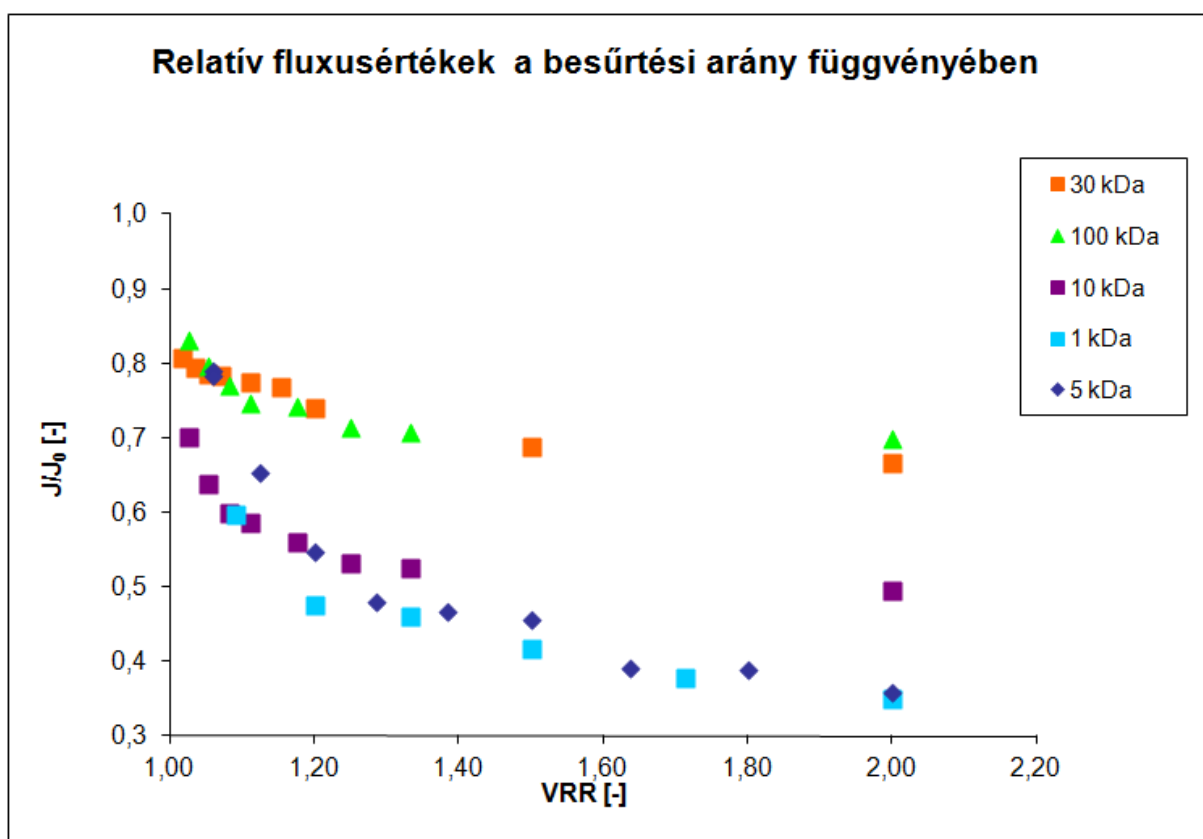
A k értéke, vagyis az eltömődési index értéke a független változó kitevője. Értékeit a 6. táblázatban mutatjuk be.

6. táblázat: Eltömődési indexek értékei egylépcsős membránszűrésnél

vágási érték	eltömődési index
kDa	k
1	0,249
5	0,181
10	0,145
30	0,072
100	0,083

Az eltömődési index értékekből megállapítható, hogy a kisebb pórusméretű membránok eltömődési indexei nagyobbak, mint a nagyobb pórusméretű membránoknál mért értékek, azaz a membrán pórusmérete és az eltömődési index fordítottan arányosak egymással.

A 6. ábrán a különböző vágási értékű membránokkal végzett szűrési művelet relatív fluxus értékeit mutatjuk be. A relatív fluxus értékek a J_0 , azaz a 0 időhöz tartozó fluxus értékhez viszonyítja az aktuális időpontban, vagy az aktuális besűrítési arány esetében mért fluxus értékeket. Az arányszám nagysága, még inkább a csökkenésének mértéke felvilágosítást ad a szeparációs művelet lefolyásáról, az eltömődés dinamikájáról. Ezek az értékek elsősorban egy ipari léptékű berendezés/művelet tervezéséhez szolgáltatnak fontos alapadatokat.

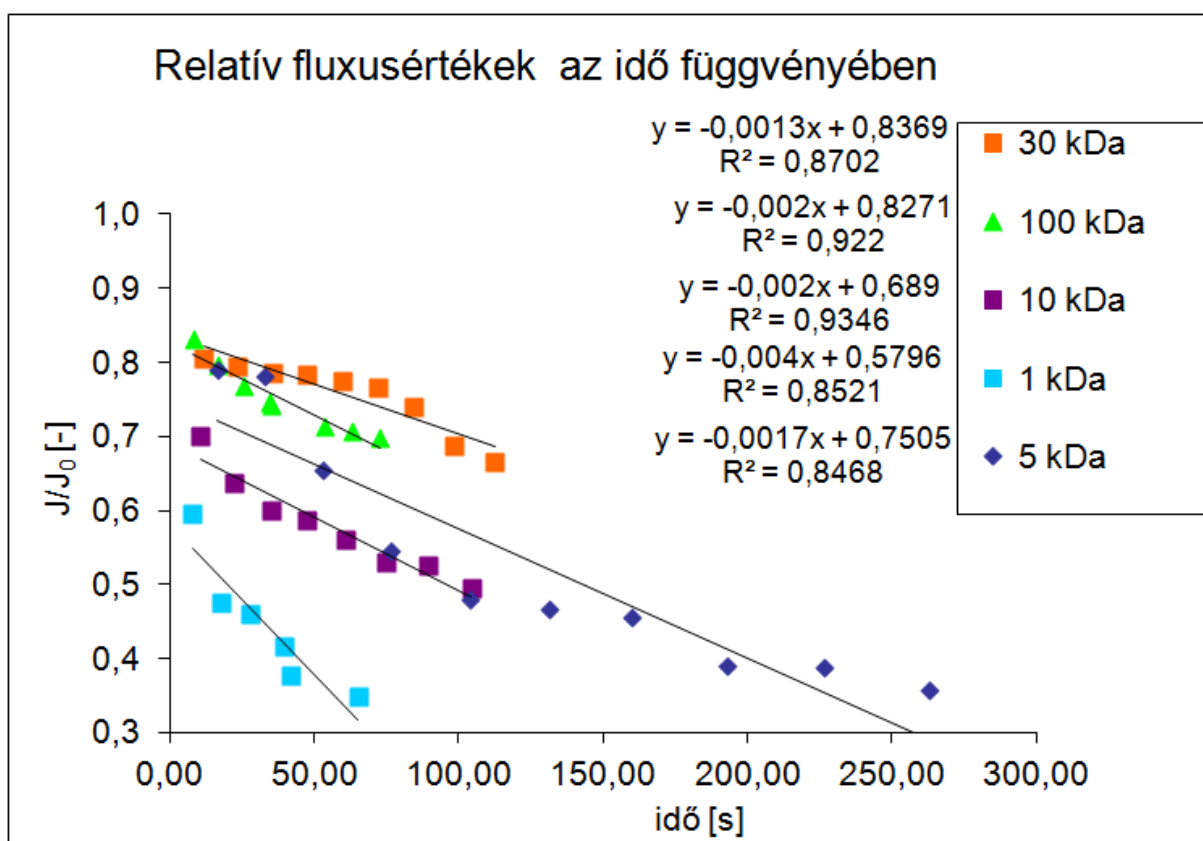


6. ábra. A relatív fluxus értékek változása a besűrítési arány függvényében

A fenti ábráról jól látszik, hogy kezdeti fluxus érték csökkenés szempontjából két csoportra osztható az 5 minta. Az egyik csoportot a 100 és a 30 kDa membránnal szűrt minták adják, a másik csoportba pedig az 10,5 és 1 kDa membránon szűrt minták kerültek. Ezen népesebb csoportnál erőteljesebb a folyamat indulásánál tapasztalható áteresztőképesség csökkenés, i.e. eltömődés is. Ez a csökkenés azonban hangsúlyosabban folytatódik a mérés előre haladtával. Az első csoportba sorolt mintáknál a csökkenés mértéke alig jelentős, szinte állandó arányú a relatív fluxus változás.

A 2,0 besűrítési arány elérésekor már három csoportot tudunk elkülöníteni, a 100 és 30 kDa valamint a 1 és 5 kDa által képzett csoportok közé, szinte arányosan közéjük illeszkedik a 10 kDa vágási értékű membránnal szűrt minták relatív fluxus értéke.

A 7. ábrán szintén a relatív fluxus értékeket ábrázoltam, de ezúttal az idő függvényében.



7. ábra. A relatív fluxus értékek változása az idő függvényében

Az idő előre haladtával a mintáknál mért relatív fluxus értékek csökkenése közel lineárisnak adódtak és megközelítőleg azonos meredekségűek, lsd. 7. táblázat. Jelentősen eltérő meredekséget az 1 kDa vágási értékű membránnal végzett mérések adatai mutatnak, tehát itt a legjelentősebb a relatív fluxusértékek csökkenése, a kezdeti fluxusértékhez képest itt változik, azaz csökken a legnagyobb mértékben a mért fluxus az idő függvényében.

7. táblázat: $J/J_0 = f(\text{idő})$ függvények értékei

vágási érték kDa	meredekség	tengelymetszet
100	0,002	0,827
30	0,0013	0,8369
10	0,002	0,6890
5	0,0017	0,7505
1	0,004	0,5796

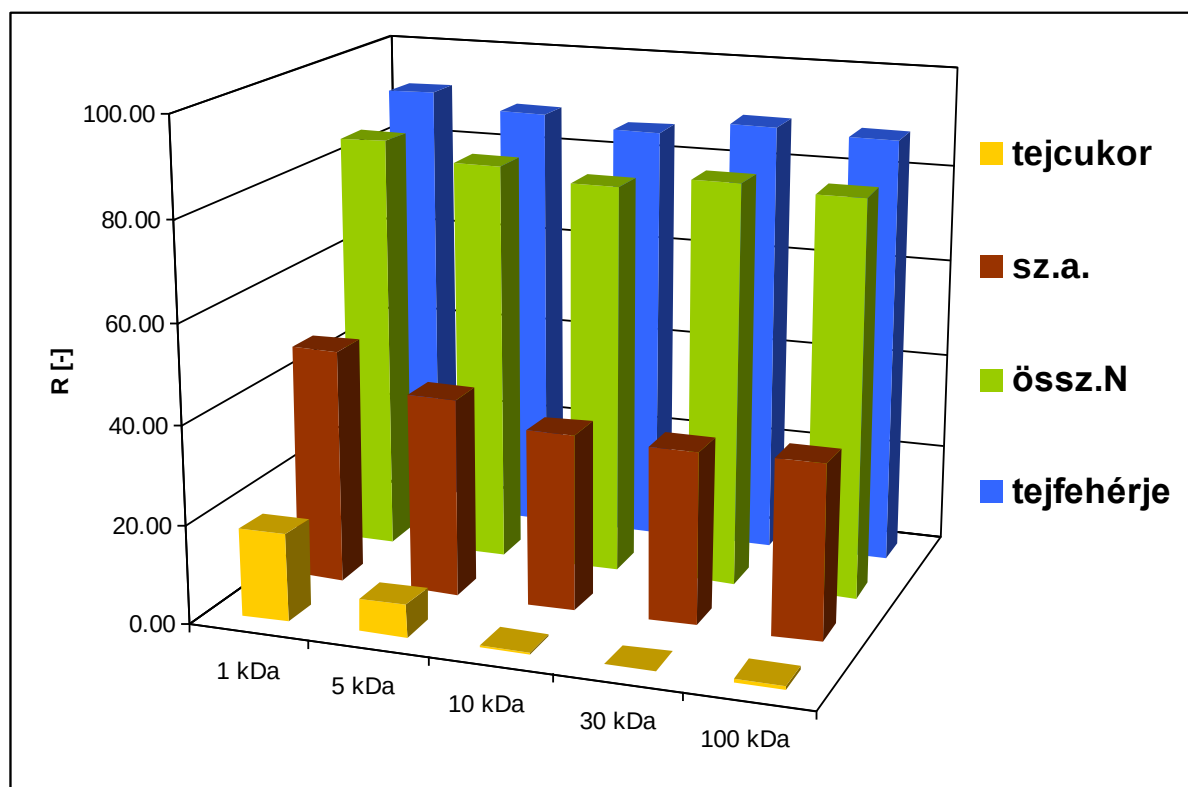
A tengelymetszetek is közel azonos értékűek, ill. a 100 és a 30 kDa, a 10 és 5 kDa membránok tengelymetszet értékei közel azonosak. Az 1 kDa membránnal végzett szeparáció eredményei pedig itt is eltérőnek mutatkoznak a többi vágási értékű membránon mért eredményhez viszonyítva.

Amíg tehát a besűrítési arány függvényében vizsgálva a műveletet leíró függvényeket az 1 és 5 kDa vágási értékű membránok azonos értékeket mutatnak, és még amennyiben egy kismértékű eltérést megengedünk az analízisnél, akkor a 10 kDa membrán eredményei is ide sorolhatók, addig az idő függvényében ábrázolt adatsoroknál az 1 kDa membránnal végzett szeparáció eredményei minden más függvényhez képest jelentős eltérést mutatnak.

3.3 Visszatartási értékek vizsgálata

Vizsgáltuk az ultraszűrések során kapott szűrletek tejfehérje, tejcukor, szárazanyag és összes fehérje (és tejsír) tartalmát az 'Anyagok és módszerek' fejezetben részletesen leírt eszközök segítségével. Az alapanyagként szolgáló főlözött tej adataiból (4. táblázat) a szűrletekkel végzett analízis eredményeit felhasználva a 3. egyenlet segítségével membrán visszatartási értékeket határoztunk meg.

A főlözött tej mintában a tejsír nagyon kis mennyiségben volt jelen (0,05 g/100g), amit az összes alkalmazott ultraszűrő membrán teljes mennyiségben (100 %-ban) visszatartott.



8. ábra: Fölözött tejminták ultraszűrésének visszatartási értékei

Fehérje –(össz Nitrogén) visszatartás

A mérések során azt tapasztaltuk, hogy a tejfehérjére vonatkozó visszatartási értékek igen magas 85-92 % közötti értékeket mutattak, melyek közül az 1 kDa-os membránnak volt a legmagasabb visszatartási értéke (91,25 %), ugyanakkor még a 100 kDa membránnal végzett

szeparációnál is 87,6 % értéket kaptunk. Az összes nitrogéntartalomból számított „fehérje tartalom egyenérték” esetében természetesen hasonló a tendencia, de a legkisebb vágási értéknél 85 %, a legnagyobb vágási értéknél pedig 81 % visszatartást mértünk. Tehát erre nézve alacsonyabb visszatartási értékeket kaptunk, ami természetes, hiszen ebbe a „frakcióba” az összes N tartalmú molekula mennyisége, még az olyan kis molekulák is, melyek egy 1000 Da membránon át tudnak jutni (aminósavak, peptidek), beleszámítanak.

Tejcukor visszatartás

A tejcukor vizsgálatnál látható, hogy a 10, 30 és 100 kDa vágási értékű membránok gyakorlatilag nem tartották vissza tejcukrot (molekula tömege: 342 Da), hiszen a 0,20 % és 0,80 % közötti visszatartási értékek nem nevezhetők igazi visszatartásnak. Az 1 kDa vágási értékű membránnál érhető el csupán a tejcukor visszatartási érték, ami 18 %.

Szárazanyag visszatartás

A szárazanyag visszatartási értékek 47 és 35 % között változnak. Ez a viszonylag kis visszatartási érték jól mutatja, hogy jelentős részarányban található a tejben a tejcukor molekuláknál kisebb méretű molekulatömeggel rendelkező anyagok.

3.4 Az enzimkezelések hatása az ultraszűrésre

Munkánk során a főlözött tejmintát pepszin enzimmel kezeltük, hogy eredményeket kapjunk arra, hogy az ultraszűrés paraméterei hogyan változnak, és ezeknek a változásoknak a mértékéből lehet-e következtetni a keletkezett kisebb mól-tömegű fehérje frakció, mint potenciális bioaktív komponens mennyiségére.

A pepszines kezeléseket követően a homogenizált mintákat 10 kDa ultraszűrővel szeparáltuk. A membrán kiválasztását, az 1. táblázatban összefoglalt, a tej fehérjéinek általános jellemzését összefoglaló adatok alapján végeztük. Az ennél nagyobb méretű fehérjék

a tej természetes fehérje frakcióinak is részei, tehát a kisebb frakció az, ahol meghatározhatjuk a fehérjebontó enzim hatását.

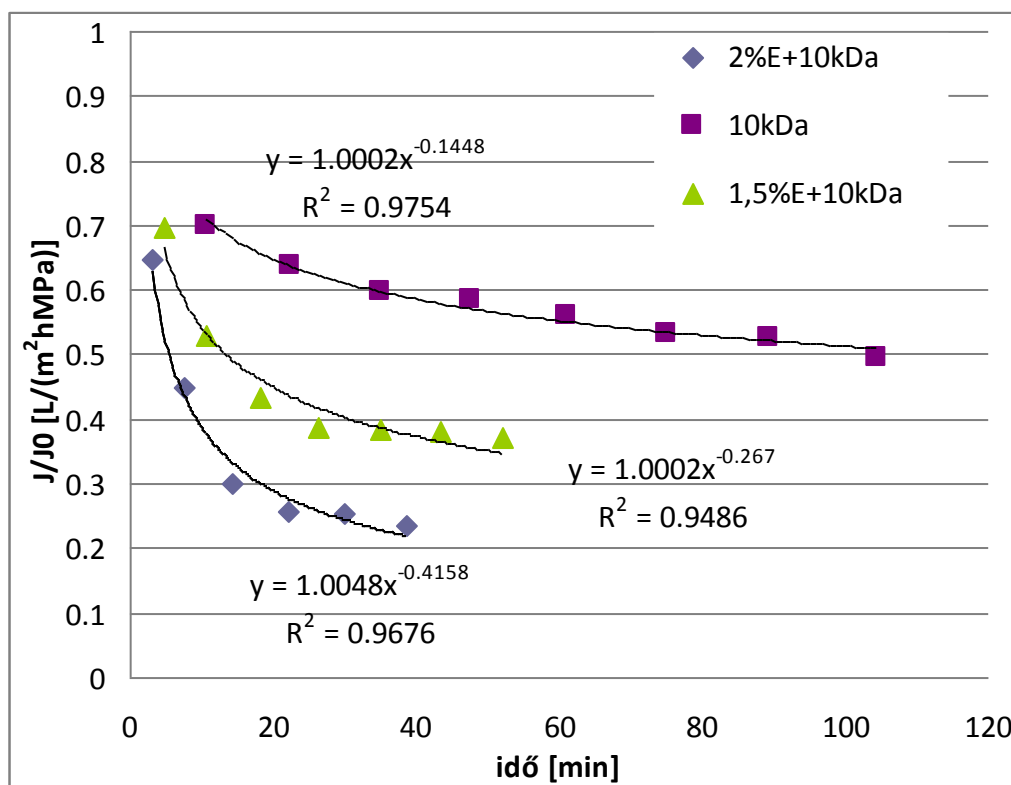
A következő ábra a pepszinnel kezelt és kezeletlen minták 10 kDa ultraszűrésének relatív fluxus értékeinek eredményét mutatja az idő függvényében.

A függvény analíziséből származó adatokat a 8. táblázatban mutatjuk be.

8. táblázat: A nyomásra normalizált fluxus értékek az idő függvényében

Enzim koncentráció	Együttható	Kitevő
kezeletlen	1,002	0,145
1,5%	1,002	0,276
2%	1,0048	0,416

Ahogy az a függvények lefutásánál és a kitevő értékek nagyságánál is jól látszik, hogy a kezelt minták, esetében lényegesen nagyobb a relatív-fluxus csökkenés, és azon belül is a 2,0 % pepszinnel kezelt minták esetében nagyobb a csökkenés.

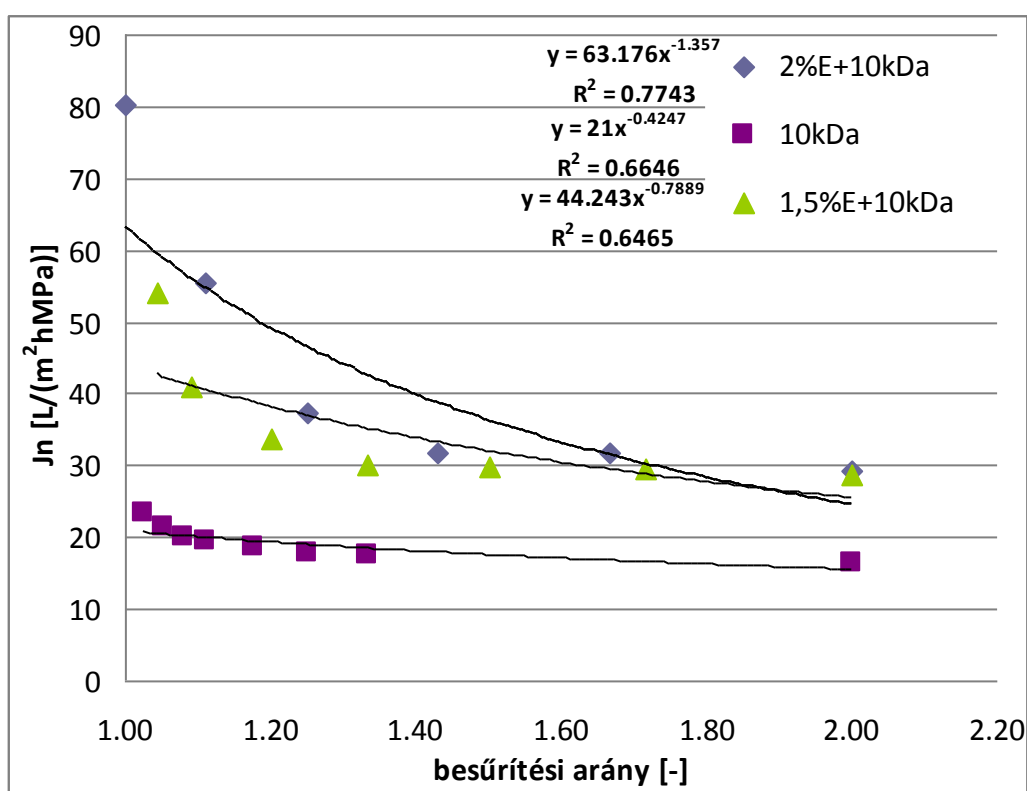


9. ábra: Az enzimkezelt minták ultraszűrés relatív fluxusának időbeni függése

Ezek az adatok azt mutatják, hogy az enzimkezelés valóban sikeres volt és számottevő mértékben megnövekedett a 10 kDa-nál kisebb mértékű fehérjék/fehérje frakciók/molekulák mennyisége, e miatt növekedett meg a pórusok eltömődésének mértéke, amit a hatványkitevő arányosan kifejez.

Továbbá jelentős különbséget mutat az enzimmel kezelt és kezeletlen minták között, hogy a kezelt minták permeációja rövidebb ideig tartott. Ezért a 10. ábrán a nyomásra normalizált fluxus értékeket ábrázoltuk a besűrítési arány függvényében.

A két ábrát összevetve jól látható, hogy a kezeletlen minták, tehát a nem lebontott fehérjéket nagyobb mennyiségben tartalmazó minták esetében azonos térfogati csökkenést, azaz azonos besűrítési arányt lényegesen alacsonyabb fluxus értékek mellett értünk el. Ez a tény is azt mutatja, hogy a kezelt tejmintákban nagyobb a kisebb móltömegű molekulák aránya, melyek átáramlanak az ultraszűrő pórusain.

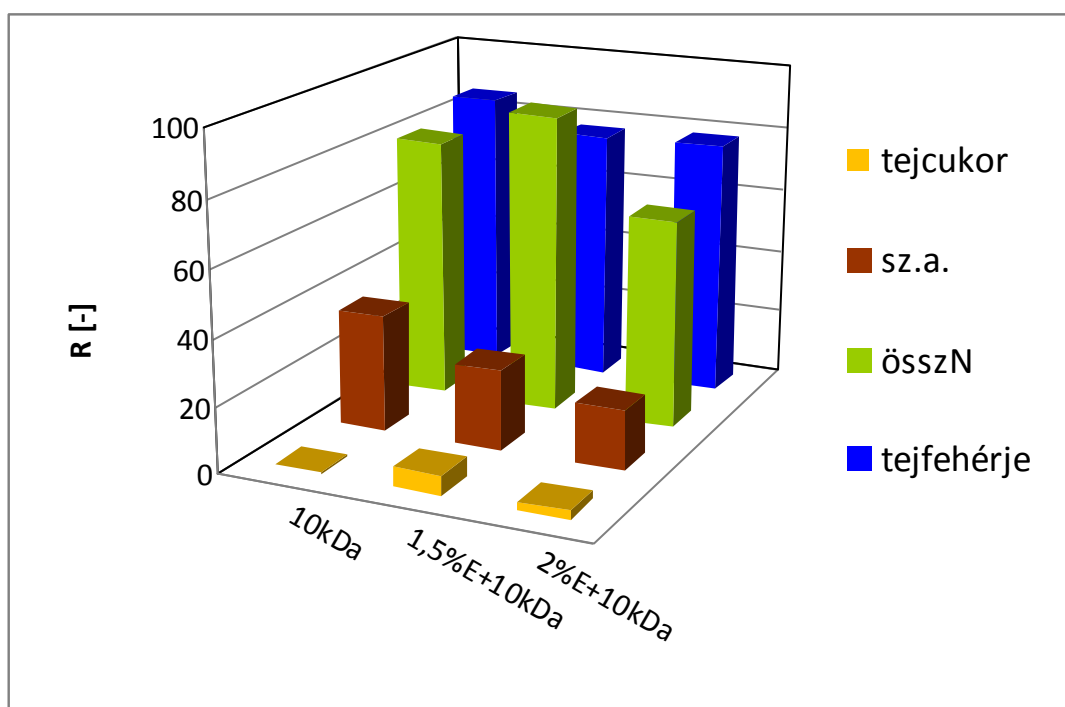


10. ábra: Nyomásra normalizált fluxusértékek a besűrítési arány függvényében a kezelt és kezeletlen tejminták ultraszűrése esetében.

A kezeletlen, valamint az 1,5 %-os és a 2%-os pepszinnel kezelt tejminták beltartalmi értékeiből számított visszatartási értékeket a 11. ábrán foglaltuk össze.

A tejcukorra vonatkozó visszatartási értékek nagyon kismértékű növekedése a kezelt minták esetében azt mutatják, hogy a membrán pórusaiban és a membrán felszínén a kisebb molttömeg frakciókkal jellemezhető molekulák, megnövelve az eltömődési és a koncentrációs polarizációs ellenállás értéket, megnehezítették a kisméretű cukormolekulák membránon történő átáramlását.

A szárazanyag tartalomra számított visszatartási értékek csökkentése, valamint a tejfehérje tartalom értékekre számított visszatartási értékek csökkenése is egyértelműen azt bizonyítják, hogy az enzimkezelés hatásosan működött.



11. ábra: Enzimkezelt minták visszatartás értékei

Összefoglalás

A Tudományos Diákköri Dolgozatunkban megvizsgáltuk a főlőzött tej, mint alapanyag különböző vágási értékű membránokkal történő szétválasztási műveletét, valamint a különböző koncentrációjú enzimmal lebontott tejminták ultraszűrési kísérleteit.

A kezdeti méréseinknél különböző hőmérsékleten mért desztillált vízfluxusok megmutatták, hogy az 1 kDa-os membrán használata során a legkisebb mértékű fluxussal lehet számolni. A mérések igazolták azt is, hogy a magasabb hőmérsékleten elvégzett szeparálási műveletek magasabb fluxus értékeket eredményeztek azonos nyomásértékeknél. Ez egyértelműen utal arra, hogy a membránok átteresztőképessége a folyadékáram hőmérsékletének a növelésével együtt, arányosan, lineáris ütemben növekszik. Ezek az értékek referenciaként szolgáltak a tej szűréséhez.

A további méréseink során bizonyítást nyert, hogy a tej ultraszűrése során a membránok vágási értékének a csökkenésével arányosan csökkentek a normalizált fluxus értékek is. Ez ugyanakkor rámutatott arra is, hogy a membránok vágási értéke és az eltömődési index értékei között fordított arányosság van.

A méréseinket tovább gondolva, két különböző koncentrációjú pepszin enzimes kezelésnek vetettük alá a tejmintákat és ezt követően 10 kDa-os membránt alkalmazva megvizsgáltuk a szűrés után kapott értékeket. Ezek az értékek azt mutatták, hogy az enzimes bontással a membránok eltömődési indexe megnövekedett, azaz a membránok fluxusa erős csökkenést mutatott, mert az enzimes lebontás eredményeként kisebb molekulatömegű frakciók részaránya megnövekedett.

Ezeknek az adatoknak a birtokában megállapítást nyert, hogy:

- a főlőzött tej ultraszűrése hatékony szétválasztási művelet
- pepszinnal végzett fehérjebontás az alkalmazott körülmények között sikeresen lejátsszódik
- az enzimlebontás mértéke az ultraszűrés fluxus-idő függvénykapcsolatának analiziséből adódó kitevő – eltömődési index segítségével nyomon követhető,
- nemcsak a fehérje típusú bioaktív anyagok visszatartása növekedett a membránon, hanem a tejcukoré is.

A keletkezett frakcióknak a mennyiségét és további beazonosítását, szeparálását további kísérletek, pl. többlépcsős ultraszűrési művelettel tervezzük elvégezni, igazolni.

Irodalomjegyzék

1. **Atra R., Vatai Gy., Bekassy-Molnar E., Balint A.** (2005) Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose, *Journal of Food Engineering*, Vol. 67. pp. 325-332.
2. **Bélafiné B.K.** (2002) Membrános műveletek, Veszprémi egyetemi kiadó, Veszprém
3. **Bouزيد H., Rabiller-Baudry M., Paugam L., Rousseau F., Derriche Z., Bettahar N. E.** (2008) Impact of zeta potential and size of caseins as precursors of fouling deposit on limiting and critical fluxes in spiral ultrafiltration of modified skim milks, *Journal of Membrane Science*, Vol. 314. pp. 67–75.
4. **Butylina S., Luque S., Nystrom M.** (2006) Fractionation of whey-derived peptides using a combination of ultrafiltration and nanofiltration, *Journal of Membrane Science*, Vol. 280. pp. 418-426.
5. **Cheang B., Zydney A. L.** (2004) A two-stage ultrafiltration process for fractionation of whey protein isolate, *Journal of Membrane Science*, Vol. 231. pp. 159-167.
6. **Csapó J., Csapóné Kiss Zs.** (2002) *Tej és tejtermékek a táplálkozásban*, Mezőgazda Kiadó, Budapest
7. **Dike Teng, Yuan Fang, Xiaoyan Song, Yanxiang Goa** (2011) Optimalization of enzymatic hydrolysis parameters for antioxidant capacity of peptide from goat placenta
8. **Fachin L., Viotto W. H.** (2005) Effect of pH and heat treatment of cheese whey on solubility and emulsifying properties of whey protein concentrate produced by ultrafiltration, *International Dairy Journal*, Vol. 15. pp. 325-332.
9. **Fábry Gy.** (1995) Élelmiszer-ipari eljárások és berendezések. Mezőgazda Kiadó

10. **Galambos, I.; Mora, M.J.; Jaray, P.; Vatai, Gy.; Bekassy-Molnar, E.** (2004): High organiccontent industrial wastewater treatment by membrane filtration, *Desalination*, Vol. 162. pp. 117-120.
11. **Hodúr, C., Kertész, Sz., Csanádi, J., Szabó, G.** (2009a) Comparison of 3DTA and VSEP systems during the ultrafiltration of sweet whey, *Desalination and Water Treatment*, Vol. 10. pp. 265-271.
12. **Hodúr C., Kertész Sz., Csanádi J., Szabó G., László Zs.** (2009b) Investigation of Vibratory Shear-enhanced Processing System, *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, Vol. 5. pp. 97–110. DOI: 10.1556/Progress.5.2009.5 1786-335X @ 2009 Akadémiai Kiadó, Budapest
13. **Hodúr Cecilia, László Zsuzsanna, Szabó Gábor** (2007) *Élelmiszeripari műveletek*, JATEpress Kiadó, Szeged
14. **Karlsson A. O., Ipsen R., Ardo Y.** (2007) Rheological properties and microstructure during rennet induced coagulation of UF concentrated skim milk, *International Dairy Journal*, Vol. 17. pp. 674–682.
15. **Kertész Sz., Szép A., Csanádi J., Szabó G., Hodúr C.,** (2010) Comparison between stirred and vibrated UF modules, *Desalination and Water Treatment*, Vol. 14. pp. 239-245.
16. **Konrad G., Kleinschmidt T., Faber W.** (2012) Ultrafiltration flux of acid whey obtained by lactic acid fermentation, *International Dairy Journal*, Vol. 22. pp. 73-77.
17. **Kovács Kornél** (2009) Biotechnológia 1. jegyzet, Élelmiszeripari biotechnológia http://biotech.szbk.u-szeged.hu/KK_Jegyzet/indexbsc.html
18. **László Zs., Kertész Sz., Beszédes S., Hovorka-Horváth Zs., Szabó G., Hodúr C.** (2009) Effect of preozonation on the filterability of model dairy waste water in nanofiltration, *Desalination* Vol. 240. pp. 170-177.

19. **László Zs., Kertész Sz., Mlinkovics E., Hodúr C.** (2007) Dairy Waste Water Treatment by Combining Ozonation and Nanofiltration, *Separation Science and Technology*, Vol. 42. pp. 1627–1637
20. **Metsämuuronen S., Mänttäri M., Nyström M.** (2011) Comparison of analysis methods for protein concentration and its use in UF fractionation of whey, *Desalination*, Vol. 283. pp. 156–164.
21. **Popovic S. and N. Tekic M. N.** (2011) Twisted tapes as turbulence promoters in the microfiltration of milk, *Journal of Membrane Science*, Vol. 384. pp. 97– 106.
22. **Paugam L., Delaunay D., Rabiller-Baudry M.** (2010) Cleaning efficiency and impact on production fluxes of oxidising disinfectants on a pes ultrafiltration membrane fouled with proteins, *Food and Bioproducts Processing*, Vol. 88. pp. 425–429.
23. **Paugam L., Rabiller-Baudry M., Delaunay D.** (2006) Physico-chemical effect of simple alkaline and acid solutions in cleaning sequences of spiral ultrafiltration membranes fouled by skim milk, *Desalination*, Vol. 200. pp. 192–194.
24. **Pouliot Y.** (2008) Membrane processes in dairy technology—From a simple idea to worldwide panacea, *International Dairy Journal*, Vol. 18. pp. 735-740.
25. **Rektor Attila** (2009) Tejsavó és szőlőmust feldolgozása komplex membrántechnikai eljárásokkal. Budapest Doktori (PhD) értekezés.
26. **Rektor A., Vatai Gy.,** (2004) Membrane filtration of Mozzarella whey, *Desalination*, Vol. 162. pp. 279-286.
27. **Rinaldoni A. N., Tarazaga C. C., Campderrós M. E., Padilla A. P.** (2009) Assessing performance of skim milk ultrafiltration by using technical parameters, *Journal of Food Engineering*, Vol. 92. pp. 226-232.

28. **Salvatore E., Pirisi A., Corredig M.** (2011) Gelation properties of casein micelles during combined renneting and bacterial fermentation: Effect of concentration by ultrafiltration, *International Dairy Journal*, Vol. 21. pp. 848-856.

29. **Saxena A., Tripathi B.P., Kumar M., Shahi V.K.** (2009) Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins. *An overview, Advances in Colloid and Interface Science*, Vol. 145. pp. 1–22.

30. **Szakály S. (szerk.)** (2001) *Tejgazdaságtan*, Dinasztiaház Rt., Budapest

31. **Szakály S., Schäffer B., Horn P., Sarudi Cs., Szakály Z., Dohy J.** (2001) A tej táplálkozásbiológiai értéke a közelmúlt új kutatási eredményeinek a tükrében. *Tejgazdaság*, Vol. 6 1 1-10p

32. **Szakály S.** (1991) *Tejgazdaságtan*. Egyetemi jegyzet, PATE Állattenyésztési Kar, Kaposvár

33. **Sz. Kertész, Zs. László, Zs.H. Horváth, C. Hodúr** (2008) Analysis of nanofiltration parameters of removal of an anionic detergent

34. **Yee K. W.K., Wiley D. E., Bao J.** (2007) Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions, *Journal of Membrane Science*, Vol. 290. pp. 125-137.

35. **Yorgun M.S., Balcioglu I. A., Saygin O.** (2008) Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment, *Desalination*, Vol. 229. pp. 204-216.

36. <http://www.inaqua.hu/Content/Membrantechnika/A%20szuresi%20technologiak%20o sszehasonlitasa.pdf>; (2012. 09. 21)

37. <http://fogyasztovedelem.info/node/145> (2012. 09. 21)

38. http://www.dinero.hu/dnlovetej/index_01.htm (2012. 10. 10)
39. <http://hu.wikipedia.org/wiki/Homeoszt%C3%A1zis> (2012.10.18)



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni konzulensemnek Prof. Dr. Hodúr Cecilia egyetemi tanárnak, hogy a munkám során szakmai útmutatást adott, továbbá a kísérletek tervezésében, kivitelezésében és értékelésében a segítségemre volt.

Továbbá köszönetemet fejezem ki a *TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KONV-2010-0005* azonosító számú, „Kutatóegyetemi Kiválósági Központ létrehozása a Szegedi Tudományegyetemen” című és a *TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0012* „Az SZTE Kutatóegyetemi Kiválósági Központ tudásbázisának kiszélesítése és hosszú távú szakmai fenntarthatóságának megalapozása a kiváló tudományos utánpótlás biztosításával” című projektek támogatását, amelyek az **Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával**

valósulnak meg, és amelyek lehetővé tették, hogy kísérleti munkámat elvégezhessem.

