

Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Hűtő- és Állattermék Technológiai Tanszék

**TOJÁSFEHÉRJE-LÉ HŐKEZELÉSE FEHÉRJEBONTÓ ENZIMES
KEZELÉS UTÁN**

Készítette: Elek Odett
IV. Élelmiszermérnök Bsc
Állattermék-technológiák és minőségügy
Témavezetők: Dr. Friedrich László, egyetemi docens
Dr. Németh Csaba, kutatás-fejlesztési igazgató

2013.

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	2
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. A tojás jellemzői	5
2.1.1. A tojás fizikai felépítése	5
2.1.2. A tojás összetétele	6
2.1.3. A tojás osztályozása	9
2.2. Tojástermékekben előforduló mikrobák	11
2.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
2.2.2. <i>Proteus mirabilis</i>	12
2.2.3. <i>Salmonella enteritidis</i>	12
2.2.4. <i>Escherichia coli</i>	13
2.3. A tojás védelmi mechanizmusa a mikrobák ellen	13
2.4. Legfontosabb tojáslé-termékek	15
2.4.1. Pasztörözött teljes tojáslé	15
2.4.2. Pasztörözött tojásfehérje-lé	15
2.4.3. Pasztörözött tojássárgája-lé	15
2.5. Technológiai fejlesztések tojáslé-termékek gyártására	15
2.5.1. Ionizáló sugárzás	15
2.5.2. Befolyásolt pH és vegyszerek hatása	16
2.5.3. Pulzáló elektromos mező	17
2.5.4. Nagy hidrosztatikai nyomás	17
2.5.5. A tojás fehérjéinek enzimes bontása	18
3. A munka célja	20
4. Anyag és módszer	21
4.1. Felhasznált anyagok	21
4.1.1. Tojásfehérje-lé	21
4.1.2. Proteáz enzim	21
4.1.3. Citromsav monohidrát	22

4.2. Anyagok előkészítése.....	22
4.2.1. Eszközök sterilizése.....	22
4.2.2. Szuszpenziók elkészítése, inkubálás	22
4.2.3. Hőkezelés	23
4.3. Elvégzett vizsgálatok	23
4.3.1. Érzékszervi vizsgálat.....	25
4.3.2. Mikrobiológiai vizsgálat	26
4.3.3. pH-mérés	27
4.3.4. Rotációs viszkoziméter	27
4.3.5. Kalorimetrikus vizsgálat	28
5. Kísérleti eredmények és értékelésük	29
5.1. Érzékszervi vizsgálat eredményei.....	29
5.2. Mikrobiológiai vizsgálat eredményei	30
5.3. pH-változás	31
5.4. Viskozitás vizsgálati eredményei.....	32
5.5. Kalorimetrikus vizsgálat eredményei	34
6. Összefoglalás	37
Irodalomjegyzék	39
Melléklet.....	43

1. Bevezetés

A tojáslevek (tojásfehérje-lé, tojássárgája-lé, teljes-tojáslé) hőkezelési módjának meghatározása kettős feladat elé állítja az optimális hőkezelési paramétereket kiválasztani szándékozó szakembert. Egyfelől figyelembe kell venni, hogy a tojásleveknek magas a már alacsony hőmérsékleten denaturálódó fehérjetartalma, így a kezelési hőmérséklet túl nagyra, a hőntartási idő túl hosszúra nem választható. Másfelől figyelembe kell venni, hogy a tojáslevek kitűnő táptalajok a mikrobák számára, melyek számának csökkentése éppen a kezelési hőmérséklet növelését és a hőntartási idő meghosszabbítását indokolná.

Ezen ellentétek feloldására számos újszerű eljárást igyekszik bevezetni a tojásfeldolgozó ipar, illetve számos más élelmiszertartósítási technológiát próbálnak a tojástartósítás területére átültetni. Ilyen technológiák a tojáslevek UHT és a „sous vide” kezelése.

A hőkezelési technológia és paramétereinek megválasztásánál egyik fő kiindulási pont, hogy a kezelés eredményképpen kapott tojástermék minden felhasználónak megfelelő legyen. Ugyanakkor érdemes átgondolni a tojástermékek differenciálásának lehetőségét oly módon, hogy olyan tartósítási technológiák, ill. tartósító eljárás kombinációk kidolgozását tűzzük ki célul, melyekkel egy adott fogyasztói rétegnek szánt termék állítható elő. Ilyen réteg lehet a testépítők tábor, akik számára a tojástermékek közül a tojásfehérje-lé az elsődlegesen szóba jövő termék. Számukra nem elsődlegesen fontos az alapanyag techno-funkciós tulajdonságainak megőrzése, hanem a most piacon lévő termékeknél egy könnyebben emészthető és utókezelés nélkül is biztonságos termék lenne kívánatos. Kutatásomban egy ilyen termék kifejlesztésének egy lehetséges változatát vizsgáltam meg.

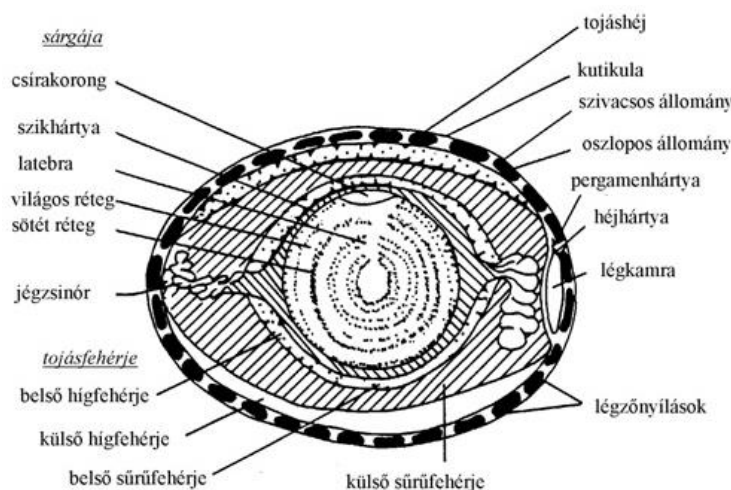
2. Irodalmi áttekintés

2.1. A tojás jellemzői

2.1.1. A tojás fizikai felépítése

A tojás egyetlen bonyolult felépítésű, természetes védőburokkal rendelkező nagy sejt, amely a legkedvezőbb arányban tartalmazza az embrió fejlődéséhez szükséges feltételeket és tápanyagokat. (Orel, 1960; Zoltán, 1997)

A tojás szerkezeti felépítését az 1. ábra, a százalékos összetételét pedig az 1. táblázat szemlélteti.



1. ábra: A tojás szerkezeti felépítése hosszmetsetben (Zoltán, 1997)

1. táblázat: Tömeg százalékos megoszlása (TNAU Agritech Portal, 2013 nyomán)

	Tömeg [%]
Héj	8 - 11
Fehérje	56 - 61
Sárgája	27 - 32

A sárgája közepén helyezkedik el a tojásfehérjében, azonban a sárgáját egy szintelen vitelin membrán választja el a fehérjétől, amely a csírafoltot is körülveszi. A sárgája két végén található a fehéres színű, csavart, kábelyszerű jégzsinór, amely biztosítja, hogy a sárgája a fehérje közepén maradjon (University of Illinois Extension, 2013).

A tojásfehérje négy különböző rétegből épül fel, amelyek együttevén a tojás tömegének körülbelül 58%-át alkotják. A belső sűrű fehérje egy nagyon vékony, de erős réteg, amely közvetlenül veszi körbe a sárgáját és a jégzsinórban folytatódik, amelyet a belső hig fehérje

zár körül. A külső sűrű fehérje a tojás minkét végén hozzátapad a belső héjhártyához, így tartja a belső fehérjerétegeket és a sárgáját. A belső héjhártya és a külső sűrű fehérje között pedig a külső híg fehérje található. (USDA, 2000)

A meszes héj feladata a tojásbelső mechanikai védelme, emellett biztosítja az embrió fejlődéséhez szükséges ásványi anyagokat, valamint a héjon található pórusok lehetővé teszik az oxigén bejutását és a széndioxid, illetve a víz távozását. A pórusok eloszlása nem egyenletes, a tojás tompa végétől haladva a hegyes vég felé csökken a négyzetcentiméterenkénti száma (Zoltán, 1997).

A fehérjét egy kettős hártva választja el a meszes héjtól, amelyek egymáshoz tapadnak, csak a tojás tompa végén, a légkamránál válnak szét (Orel, 1960). A frissen tojt tojásban még nem található légkamra, mivel a pórusok zártak (Zoltán, 1997). Kialakulását a hűtés alatt bekövetkező beltartalom-zsugorodás és a nedvességtartalom csökkenése okozza, mivel a tárolás során növekszik a nyitott pórusok száma (University of Illinois Extension; Zoltán, 1997).

A meszes héjat kutikula réteg veszi körül, amely vastagsága változó (0,5-12,8 μm), effektív élettartama a tojásrakást követő 96 óra, azonban a kutikula-nélküli tojás sem szokatlan jelenség (Solomon et. al., 1994). Feladata a pórusok eltömése, ezáltal a mikrobák bejutásának, a nedvesség távozásának és a légcserének a megakadályozása (Zoltán, 1997).

2.1.2. A tojás összetétele

A friss tyúktojás tápanyag-összetételét a 2. táblázat ismerteti.

2. táblázat: Friss tyúktojás tápanyag-összetétele (/100g) (Academic Dictionaries and Encyclopedias, 2010 (U.S. Department of Agriculture) nyomán))

Friss tyúktojás tápanyag-összetétele (/100g)			
	Egész tojás	Sárgája	Fehérje
Energia [kcal]	149	358	50
Víz [g]	75,33	48,81	87,81
Fehérje [g]	12,49	16,76	10,52
Zsír [g]	10,02	30,87	0
Koleszterin [mg]	425	1,281	-
Szénhidrát [g]	1,22	1,78	1,03
A-vitamin [IE*]	635	1,945	-
Riboflavin [mg]	0,508	0,639	0,452
Kalcium [mg]	49	137	6
Foszfor [mg]	178	488	13

*IE = Immunizáló Egység

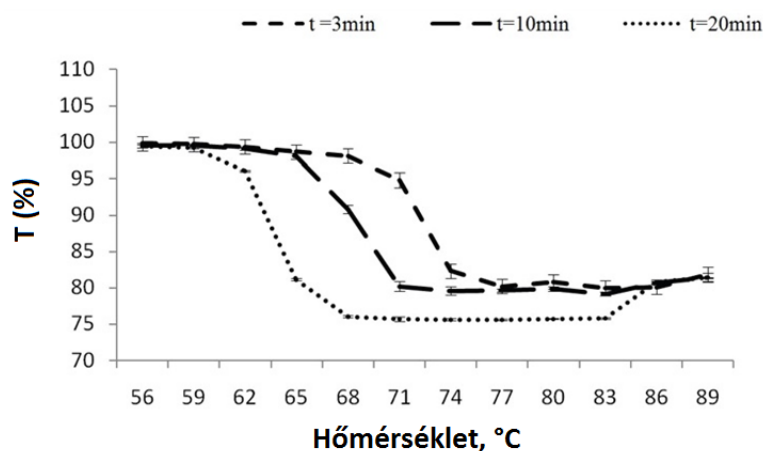
A tojásfehérje jellegzetes fehérjeanyagok kolloid oldata. Savanyú közegben savként, semleges környezetben pedig bázisként viselkednek. Friss tojásfehérje átlagos sűrűsége $1,035 \text{ g/cm}^3$. Az egyes fehérjerétegek sűrűsége a sárgája felé haladva egyre nő. Viskozitása körülbelül négyszerese a vízének. A sűrűfehérje kocsonyás állagú, emiatt a viszkozitása mintegy ötvenszerese a hígfehérjének (Orel, 1960). 100 g tojásfehérje energiatartalma 203 kJ (48 kcal), víztartalma 87,3 g, fehérjetartalma 11,1 g, zsírtartalma 0,2 g, szénhidrát-tartalma 0,4 g, ásványianyag-tartalma pedig 0,7 g. Az ásványi anyagok közül a nátrium (170 mg), a kálium (155 mg), a magnézium (12 mg) és a kalcium (11 mg) van jelen a legnagyobb mennyiségben. Vitaminokat tekintve a B2 (320 μg) és a pantoténsav (140 μg) tartalma jelentős. Megtalálható benne az összes esszenciális aminosav, amelyek nélkülözhetetlenek az emberi szervezet számára: hisztidin (280 mg), izoleucin (740 mg), leucin (1080 mg), lizin (740 mg), metionin (470 mg), fenil-alanin (760 mg), treonin (580 mg), triptofán (200 mg), valin (980 mg) (Internet Symposium on Food Allergens, 1999). A 3. táblázat a tojásfehérjében lévő fehérjefrakciók százalékos megoszlását mutatja be.

3. táblázat: A tojásfehérjét alkotó proteinek típusa és százalékos megoszlása (Zoltán, 1997 (Feeney és Allison, 1969) nyomán)

A protein típusa	Aránya [%]
Ovalbumin	54
Ovotransferrin	12
Ovomucoid	11
G2 Ovoglobulin	4
G3 Ovoglobulin	4
Lizozim	3,4
Ovomucin	2,9
Ovoinhibitor	1,5
Flavoprotein	0,8
Ovoglicoprotein	0,5 - 1
Ovomacro globulin	0,5
Papain inhibitor	0,1
Avidin	0,05

A legnagyobb mennyiségben az ovalbumin, az ovotransferrin és az ovomucoid van jelen a tojásfehérjében. Az ovalbumin proteáz-gátló aktivitásban hiányt szenved és a biológiai funkciója is ismeretlen (Huntington és Stein, 2001). Az ovotrans-ferrin feladata, hogy megköti a vasat, a rezet, a mangánt és a cinket (Zoltán, 1997). Az ovomucoid egy tripszin-inhibitor, viszont az egy nagyságrenddel kisebb mennyiségben előforduló ovoinhibitor ezen

kívül megakadályozza a kimotripszin és a baktérium, illetve a gomba eredetű proteázok működését is (Feeney et. al., 1963).



2. ábra: Hőkezelési idő hatása a tojásfehérje zavarosságára, közvetlenül a hőkezelés után
(Akkouche et. al., 2012)

A 2. ábrán látható a fehérje zavarosságának változása, amely negatív S-görbét ír le, 3°C-onkénti hőmérsékletnövekedés hatására, 56 és 89°C között. Ezt a mérést 3 különböző időintervallum alatt végezték (3, 10, illetve 20 perc), közvetlenül egy 650 nm hullámhosszúságú hőkezelést követően. Az S-alak négy eltérő részre osztható fel:

- Állandó fázis 1: Az átlátszóság állandó, ez a fázis tekinthető a fehérjék denaturációjának.
- Leszálló fázis: Negatív növekedés, amely átmenetet képez a denaturáció és az aggregáció állapota között, amelyből kikövetkeztethető az átmenet sebessége is.
- Állandó fázis 2: A fehérjék aggregációjának szakasza.
- Növekvő fázis: Mindhárom időintervallum esetében 86°C-tól növekedés figyelhető meg. Ennek oka lehet az aggregátumok ülepedése vagy S-Ovalbumin képződése, amely kisebb méretű aggregátumokat hoz létre.

Megfigyelhető, hogy a 20 perces kezelés esetében már 59°C-on megkezdődik a denaturáció, a 3, illetve 10 perces kezelés során azonban csak 68 és 65°C elérésénél. Az 55-65°C közötti zavarosodás oka a hőérzékeny fehérjék, mint az ovotransferrin, a még magasabb hőmérsékleten, 74°C felett bekövetkező zavarosodásé azonban a hőrezisztens fehérjék, mint például az ovalbumin denaturációja és aggregációja lehet (Akkouche et. al., 2012).

A tojássárgája zsír-a-vízben típusú emulzió, amelyet a sárgája fehérjei stabilizálnak. Friss tojássárgája átlagos sűrűsége 1,029 g/cm³. A viszkozitást tekintve a sárgájáé egy

nagyságrenddel nagyobb, mint a fehérjéé. Tárolás során a víz viszont átkerül a fehérjéből a sárgájába, ezért a sárgája viszkozitása csökken (Orel, 1960). A 4. táblázat a sárgája összetételét szemlélteti százalékos formában. Szárazanyagtartalmának nagy részét lipidek és fehérjék alkotják, amelyek aránya 2:1 (Anton, 2007).

4. táblázat: Tojássárgája összetétele (Anton, 2007 (Powrie, Nakai, 1986) nyomán)

	Friss sárgája [%]	Száritott sárgája [%]
Víz	51,1	-
Lipidek	3,6	62,5
Fehérjék	16	33
Szénhidrátok	0,6	1,2
Ásványi anyagok	1,7	3,5

A sárgájában található lipidek kizárólag a lipoproteinek csoportjába tartoznak, 62%-uk triglicerid, 33%-uk foszfolipid és a maradék 5%-uk koleszterin. A lipidek kevesebb, mint 1%-a karotionidok, amik a sárgája színét adják. A fehérjék szabad fehérjék és apoproteinek formájában vannak jelen, amelyek a lipidekkel együtt a lipoproteineket alkotják (alacsony és nagy sűrűségű). A sárgája öt fő alkotórésze a következő: 68% LDL, 16 % HDL, 10% globuláris fehérjék (livetin), 4% foszoprotein (foszvitin) és 2% egyéb fehérjék. A lipidek zsírsav-összetétele a szabványosított takarmány alapján: 30-35%-a telített zsírsavak, 40-45%-a egyszeresen telítetlen zsírsavak és 20-25%-a többszörösen telítetlen zsírsavak. Legnagyobb arányban olajsav (40-45%), palmitinsav (20-25%) és linolsav (15-20%) van jelen a tojássárgájában (Anton, 2007).

2.1.3. A tojás osztályozása

A tojások kétféleképpen kerülnek osztályozásra, tömeg és minőség szerint.

„Az A osztályú tojásokat tömegük szerint a következőképpen kell osztályozni:

Az „XL”-es nagyon nagy, 73 g és e feletti; az „L”-es nagy, 63 g-tól 73 g alatti; az „M”-es közepes, 53 g-tól 63 g alatti; míg az „S”-es jelölés kicsi, 53 g alatti tojásokat jelent” (Magyar Élelmiszerkönyv, 2002).

A tojások méretét a tojó tömege, csontszerkezete, takarmányának fehérjetartalma, táplálék-felvétele, valamint tartási körülményei (pl.: fényviszonyok) befolyásolják (Manitoba Agriculture, 2013).

A Magyar Élelmiszerkönyv 1-3-1907/90 számú előírása szerint a tojásokat minőség szerint a következőképpen kell osztályozni:

- „A osztály vagy friss tojás
- B osztály vagy másodosztályú, illetve tartósított tojás
- C osztály vagy gyenge minőségű, élelmiszer-ipari hasznosításra szánt” (Magyar Élelmiszerkönyv, 2002).

„Az A osztályú tojások minőségi követelményei:

- Héj és kutikula: szabályos alakú, tiszta és sértetlen;
- Légkamra: magassága legfeljebb 6 mm, mozdulatlan, a friss tojás jelölésű tojások esetén legfeljebb 4 mm;
- Fehérje: tiszta, áttetsző, kocsonyás felépítésű, mindenféle idegen anyagtól mentes;
- Sárgája: lámpázáskor csak árnyék formájában látható, világosan megkülönböztethető határok nélkül, forgatáskor nem távolodik el értékelhetően a tojás középpontjából, mindenféle idegen anyagtól mentes;
- Csírákorong: nem észlelhető fejlettségű;
- Szag: mentes minden idegen szagtól” (Magyar Élelmiszerkönyv, 2002).

„A B osztályú tojások minőségi követelményei:

- Héj: szabályos alakú és sértetlen;
- Légkamra: magassága legfeljebb 9 mm;
- Fehérje: tiszta, áttetsző, mentes minden idegen anyagtól;
- Sárgája: átvilágításkor csak árnyék formájában látható, ez nem vonatkozik a mésszel tartósított tojásokra, mindenféle idegen anyagtól mentes;
- Csírákorong: alig észlelhető fejlettségű;
- Szag: minden idegen szagtól mentes” (Magyar Élelmiszerkönyv, 2002).

„A B osztályú tojások a következő három tojásfajtát foglalják magukban:

a) a nem hűtött és a nem tartósított tojásokat

B osztályú tojások, amelyeket nem tartósítottak és nem hűtöttek olyan telepen ahol a hőmérsékletet mesterségesen $+5^{\circ}\text{C}$ alatt tartották. Azok a tojások, amelyeket legfeljebb 24 órán keresztül $+5^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten szállítottak, illetve a kiskereskedelemben tartottak, nem tekintendők hűtöttnek akkor, ha a tárolt tojásmennyiség az adott kiskereskedőnél nem haladja meg a háromnapnyi helyi forgalomnak megfelelő mennyiséget.

b) a hűtött tojásokat

B osztályú tojások, amelyeket mesterségesen +5°C alatt tartott hőmérsékletű helyen hűtöttek.

c) a tartósított tojásokat

B osztályú tojások, amelyeket olyan gázkeverékben tartósítottak (hűtéssel vagy anélkül), amelynek összetétele különbözik a levegőétől, illetve amelyeket más módszerrel tartósítottak” (Magyar Élelmiszerkönyv, 2002).

„A C osztályú tojások azok, amelyek nem felelnek meg az A és a B osztályú tojásokkal szemben támasztott követelményeknek. Az élelmezés-egészségügyi követelmények kielégítése esetén élelmiszer-ipari továbbfeldolgozásra vagy nem élelmiszeripari célra hasznosíthatók” (Magyar Élelmiszerkönyv, 2002).

2.2. Tojástermékekben előforduló mikrobák

2.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonadaceae-család, *Pseudomonas*-nemzettségébe tartozó anyagcseréjét tekintve sokoldalú, Gram-negatív baktérium (Bíró, 1993; Galán-Vásquez et. al., 2011). Virulencia faktorok széles variációját képes előállítani, amely lehetővé teszi, hogy talajban és tengeri élőhelyeken, tehát növényi és állati szövetekben egyaránt képes növekedni (Galán-Vásquez et. al., 2011). A *Pseudomonas*-szal fertőzött tojás előfordulását 184db tojásból álló mintában az 5. táblázat szemlélteti.

5. táblázat: Bélbaktériumok gyakorisága üledéktől mentes tálcás tojásokban (184 db tojás) (Adesiyun, Offiah et al., 2005 nyomán)

Mikroorganizmusok	Db [%] pozitív minta	
	Csak tojáshéjon	Csak beltartalomban
<i>Enterobacter</i> spp.	15 (8,2)	6 (3,3)
<i>Klebsiella</i> spp.	14 (7,6)	3 (1,6)
<i>Citrobacter</i> spp.	3 (1,6)	1 (0,5)
<i>Serratia</i> spp.	3 (1,6)	3 (1,6)
<i>Proteus</i> spp.	2 (1,1)	4 (2,2)
<i>Plesiomonas</i> spp.	1 (0,5)	7 (3,8)
<i>Pseudomonas</i> spp.	2 (1,1)	2 (1,1)
<i>Acinetobacter</i> spp.	1 (0,5)	1 (0,5)
<i>Hafnia</i> spp.	0 (0,0)	2 (1,1)
<i>Alcaligenes</i> spp.	0 (0,0)	1 (0,5)
<i>Chromobacter</i> spp.	0 (0,0)	1 (0,5)
<i>Enterobacteria</i> groupg	18 (9,8)	11 (6,0)

2.2.2. *Proteus mirabilis*

Enterobacteriaceae-családba tartozó, Gram-negatív baktérium, amely általában megtalálható az emberi béltraktusban, a bélflóra természetes tagjaként (Medscape, 2013).

6. táblázat: Különböző származási helyről érkező és különböző körülmények között tárolt tojásokban *Proteus mirabilis* előfordulásának gyakorisága (Stepien-Pysniak, 2010 nyomán)

		Tojássárgája [db/32 db]	Tojánhéj [db/400 db]
Friss tojások	Nagyméretű farm	-	-
	Szupermarket	-	-
	Kisméretű farm	-	-
14 napig 4°C-on tárolt tojások	Nagyméretű farm	-	1
	Szupermarket	-	-
	Kisméretű farm	-	-
14 napig 21°C-on tárolt tojások	Nagyméretű farm	-	-
	Szupermarket	-	-
	Kisméretű farm	-	-
28 napig 4°C-on tárolt tojások	Nagyméretű farm	-	-
	Szupermarket	-	-
	Kisméretű farm	-	1
28 napig 21°C-on tárolt tojások	Nagyméretű farm	-	-
	Szupermarket	1	2
	Kisméretű farm	-	2

A *Proteus mirabilis* előfordulását a tojás különböző részeiben a 6. táblázat ismerteti. A mérések során 3 különböző helyről származó tojásokat vizsgáltak: ketreces tartású nagyméretű farm, mélyalmos tartású kisebb méretű farm és egy szupermarket, amely ketreces tartásból származó tojásokat árul. Ezek alapján egyértelműen látszik, hogy a tárolási feltételek mellett a származási hely is befolyásolja a *Proteus mirabilis* (és más baktériumok) jelenlétének gyakoriságát (Stepien-Pysniak, 2010).

2.2.3. *Salmonella enteritidis*

Enterobacteriaceae-családba tartozó, Gram-negatív, nem spórás baktérium (Bíró, 1993). A 7. táblázatban látható, hogy a természetesen szennyezett tojásokból izolált *Salmonella enteritidis* gyakoriságát hogyan befolyásolja a szobahőmérsékleten történő tárolás. Az eredmények alapján látható, hogy a tárolási idő nincs hatással a *Salmonella* pozitív minták számára, viszont a szennyezettség mértékét befolyásolja (Humphrey et. al., 1991).

7. táblázat: Természetesen szennyezett tojásokból izolált *Salmonella enteritidis* gyakoriságának változása szobahőmérsékleten történő tárolás hatására (Humphrey et. al., 1991 nyomán)

Tárolási idő [nap]	Vizsgált tojások [db]	Pozitív minták [db]	%
0 – 7	1085	5	0,46
8 – 14	1353	7	0,52
15 – 21	1221	1	0,08
> 21	1603	12	0,75

2.2.4. *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae-család, *Escherichia*-nemzettségbe tartozó, Gram-negatív baktérium, amely a legismertebb baktériumok közé tartozik (Laczay, 2008).

A *Proteus mirabilis*-nál említett méréseket az *Escherichia coli* esetében is elvégezték és a 8. táblázatban összefoglalt eredmények születtek (Stepien-Pysniak, 2010).

8. táblázat: Különböző származási helyről érkező és különböző körülmények között tárolt tojásokban *Escherichia coli* előfordulásának gyakorisága (Stepien-Pysniak, 2010 nyomán)

		Tojásfehérje [db/ 21db]	Tojássárgája [db/32 db]	Tojáshéj [db/400 db]
Friss tojások	Nagyméretű farm	3	2	12
	Szupermarket	-	-	16
	Kisméretű farm	-	1	6
14 napig 4°C-on tárolt tojások	Nagyméretű farm	-	1	8
	Szupermarket	-	-	15
	Kisméretű farm	-	1	2
14 napig 21°C-on tárolt tojások	Nagyméretű farm	-	-	7
	Szupermarket	1	-	7
	Kisméretű farm		1	4
28 napig 4°C-on tárolt tojások	Nagyméretű farm	2	-	2
	Szupermarket	-	-	10
	Kisméretű farm	-	1	4
28 napig 21°C-on tárolt tojások	Nagyméretű farm	-	1	8
	Szupermarket	1	1	6
	Kisméretű farm	-	1	4

2.3. A tojás védelmi mechanizmusa a mikrobák ellen

Az étkezési tojás biztonságát a következő főbb tényezők veszélyeztetik:

A tojóállomány egészségi állapotával, tartásával, takarmányozásával kapcsolatos tényezők:

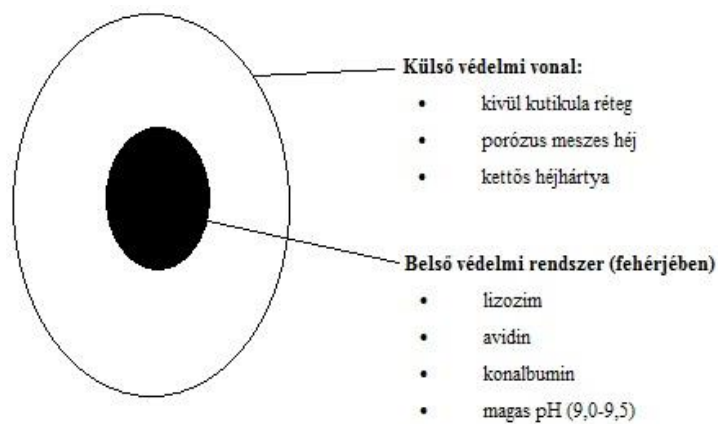
- az állomány *Salmonella*-fertőzöttsége, vakcinázási programok, gyógykezelések
- tartási körülmények, a tojófészek tisztasága, állatjóléti szempontok
- takarmányozás, íz- és szaghibák keletkezése

- telepi takarítás, fertőtlenítés.

A tojások kezelésével, szállításával, felhasználásával kapcsolatos tényezők:

- a tojáshéj védelme
- a tojások összegyűjtése, telepi tárolása, lámpázása, fertőtlenítése, szállítása
- nyomon követhetőség, jelölés.

A tojássárgája 6,0-6,5 közötti pH-ja és tápanyagtartalma tökéletes a különböző mikroorganizmusok szaporodása számára. A tojás kettős védelmi rendszere azonban nagymértékben megnehezíti a mikrobák bejutását, amelyet a 3. ábra ismertet (Laczay, 2008).



3. ábra: A tojás mikrobák elleni védelmi rendszere (Laczay, 2008)

A tojáshéj kalcium-karbonátból álló ásványi részből, lipidekből és fehérjékből álló szerves részből tevődik össze. A legkülső rétege a változó vastagságú kutikula, ami poliszacharidokból, hidroxipatit kristályokból, lipidekből és glikoproteinekből épül fel. Szabályozza a gázcserét és antimikrobiális elemeket is tartalmazhat. A kutikulában és a külső héjrétegben lévő aktív antimikrobiális fehérjék játszanak szerepet a mikrobák elleni védelemben (Wellman-Labadie et. al., 2008).

A belső védelmi rendszer legfontosabb elemei a fehérjében találhatóak. A lizozim hidrolizálja a béta-glikozidos kapcsolatot a N-acetil-muraminsav és az N-acetil-glükózamin között a baktériumok sejtfalának peptidoglikánjában (Worthington Biochemical Corporation, 2013). Az avidin komplexet képez a biotinnal, ezáltal a mikrobák nem képesek hasznosítani ezt a vitamint (Jávör és Szigeti, 2011). A konalbumin vassal alkotott komplexe is gátló hatású a mikroorganizmusokkal szemben (Feeney és Nagy 1952). A levegőn a friss tojás fehérjéjének

enyhén lúgos pH-ja a szén-dioxid-tartalom csökkenésével jelentősen megemelkedik, ezzel ugyancsak gátolja a legtöbb baktérium szaporodását (Jávor és Szigeti, 2011).

2.4. Legfontosabb tojáslé-termékek

2.4.1. Pasztörözött teljes tojáslé

1 kg termék előállításához 22 db átlagos tömegű tojás beltartalma szükséges, amely természetes arányban tartalmazza a sárgája és a fehérje homogenizált keverékét. Tartósítószerrel kezelt és tartósítószer nélküli változatban is megtalálható a piacon, általában polietilén fóliával bélelt kannás vagy kisebb méretű dobozos kiszerelésben, természetesen különböző fogyaszthatósági idővel. Mivel a termék hűtést igényel 0-4°C hőmérsékleten tárolandó (Capriovus Kft., 2013).

2.4.2. Pasztörözött tojásfehérje-lé

1 kg termék előállításához 33 db átlagos tömegű tojás fehérjéje szükséges. A teljes tojásléhez hasonlóan tartósítószerrel kezelt és tartósítószer nélküli változatban is készül, szintén polietilén fóliával bélelt kannás vagy kisebb méretű dobozos kiszerelésben, eltérő fogyaszthatósággal és mindkét esetben ugyancsak 0-4°C-on hűtve tárolandó (Capriovus Kft., 2013).

2.4.3. Pasztörözött tojássárgája-lé

1 kg termék előállításához 63 db átlagos tömegű tojás sárgája szükséges. Mint minden tojáslé-termék tartósítószerrel kezelt és tartósítószer nélküli változatban is forgalmazzák polietilén fóliával bélelt kannás vagy kisebb méretű dobozos kiszerelésben különféle fogyaszthatósággal 0-4°C-on tárolva (Capriovus Kft., 2013).

2.5. Technológiai fejlesztések tojáslé-termékek gyártására

2.5.1. Ionizáló sugárzás

A higiénia és megelőzés szempontjából is szükség van az alternatív technológiák alkalmazására és fejlesztésére a tojástermékek esetében. Az élelmiszer-besugárzás is egy lehetőség arra, hogy megszabadítsuk a tojásokat a *Salmonella*- és a *Campylobacter*-fajoktól, egy biztonságos, alacsony dózis alkalmazásával. A besugárzás hőkezeléssel történő

alkalmazása bizonyult a legmegfelelőbb párosításnak (Pinto et. al., 2004). Az 55-57°C-os hőkezelést követő besugárzás javította a pasztörözési folyamat hatékonyságát. A megelőzőleg hőkezelt, 0,1 kGy dózissal kezelt teljes tojáslé esetében a *Salmonella senftenberg* D₅₅ és D₅₇ értéke 3,6-, illetve 2,5-szeresére csökkent. Ugyanennek az eljárásnak a hatására a *Salmonella typhimurium* D₅₅ és D₅₇ értéke 2,0- és 1,4-szeresére, a *Salmonella enteritidis* D₅₅ és D₅₇ értéke pedig 2,0- és 1,6-szeresére csökkent (Alvarez et. al., 2006).

2.5.2. Befolyásolt pH és vegyszerek hatása

A pH befolyásolásával és vegyszerek adagolásával (hidrogén-peroxid) lehetővé válik a pasztörözés hatékonyságának növelése. „Az USDA (United States Department of Agriculture) Tojáspasztörözési kézikönyve (Egg Pasteurization Manual, 1969) alapján az alábbi lehetőségeket ismerteti: pH=7, Al₂(SO₄)₃, tejsav; pH=9, H₂O₂. Ezeknél az eljárásoknál elegendő az utólagos 56,6°C-os 3 percen át tartó hőkezelés is a megfelelő élőcsíraszám eléréséhez.” A tojáslé-termékek fizikai és funkcionális tulajdonságait ez a módszer is bizonyos mértékben befolyásolja. Többek között csökken a tojásfehérje-lé viszkozitása (H₂O₂-os kezelés), ami feltehetőleg annak a következménye, hogy a tojásban lévő fehérjék oxidálódnak. A pasztörözés hatékonyságának növelésében jelentős szerepet tölt be a hidrogén-peroxidos kezelés, viszont ennek használatát hazánkban a törvény nem engedélyezi (Friedrich et al., 2011).

A 9. táblázatban a Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-95/2 számú előírásában lévő tojáslé-termékekre vonatkozó adalékanyag-határértékek találhatók.

9. táblázat: Adalékanyag-határértékek tojáslé-termékekben (Magyar Élelmiszerkönyv, 2009 nyomán)

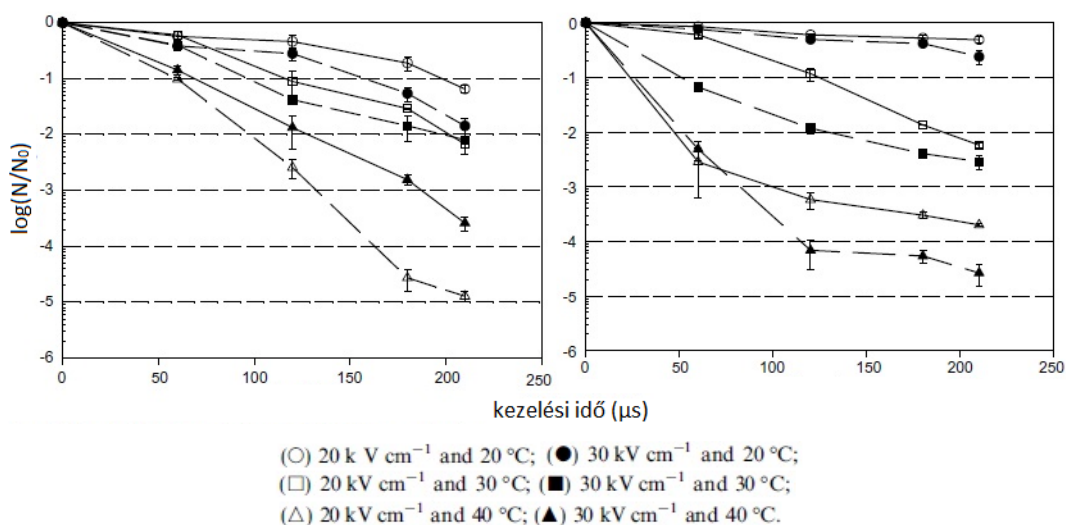
Adalék	Megengedett mennyiség
SA + BA ⁽¹⁾	5000 mg/kg vagy mg/l
nizin	6,25 mg/l
rozmarinkivonatok	200 mg/kg ⁽²⁾
dimagnézium-foszfát	10 g/kg
karayagumi	10 g/l
zsírsavak poliglicerín-észterei	1 g/kg
alumínium-szulfát	30 mg/kg
szója-hemicellulóz	10 g/kg

(1) SA + BA: SA és BA egyedileg és keverten használva (SA: szorbinsav, kálium-szorbát, kalcium-szorbát; BA: benzoésav, nátrium-benzoát, kálium-benzoát, kalcium-benzoát)

(2) karnoszol és karnoszolsav együttes mennyiségben kifejezve

2.5.3. Pulzáló elektromos mező

A pulzáló elektromos mező és a hőkezelés kombinációja jelentős változást okoz a tojássárgája-lé *Escherichia coli* és *Salmonella enteritidis* számában. A vizsgálat során a hőkezelés hőmérsékletét valamint a mező nagyságát változtatták és ezek függvényében tanulmányozták a mikrobaszám-csökkenést. A maximum mikrobaszám-csökkenés eléréséhez (5-ödre csökkenés) mindkét patogén esetében a 40°C-on történő 30 kV/cm-es kezelés volt elegendő, amit a 4. és 5. ábra szemléltet (Amiali et. al., 2007).



4. ábra: *Escherichia coli* O157:H7 túlélési görbéi különböző kezelési hőmérséklet és PEF-erősség függvényében (Amiali et al., 2007 nyomán)

5. ábra: *Salmonella enteritidis* túlélési görbéi különböző kezelési hőmérséklet és PEF-erősség függvényében (Amiali et. al., 2007 nyomán)

2.5.4. Nagy hidrosztatikai nyomás

A HHP technológia kiválóan alkalmazható tartósítási módszer a nyers élelmiszerek esetében, amelynek azonos antimikrobiális hatása van, mint a hőkezelésnek. Előnye, hogy a csomagolásban történő kezelés lehetővé teszi az utófertőzés és a „hősokk” kiküszöbölését. (Németh et. al., 2012)

A 10. táblázatban a HHP kezelés hatására létrejövő sejtszám-csökkenés figyelhető meg.

10. táblázat: HHP kezelés hatására bekövetkező sejtszám-csökkenés *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* és *Staphylococcus aureus* esetében (Németh et. al., 2012 nyomán)

Minta	Kezelési nyomás [Mpa]	Kezelési idő [min]	lg(N/N0) [CFU/ml]			Összes csíraszám [CFU/ml]
			<i>S. enteritidis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	
1	300	10	5,28 (±0,23)	1,51 (±0,12)	2,01 (±0,19)	2,37 (±0,21)
2	200	10	4,89 (±0,17)	0,90 (±0,18)	1,84 (±0,17)	2,41 (±0,15)
3	300	17	5,75 (±0,18)	1,67 (±0,19)	2,28 (±0,23)	2,21 (±0,16)
4	230	5	4,91 (±0,22)	0,94 (±0,15)	1,83 (±0,18)	2,40 (±0,20)
5	370	5	5,96 (±0,30)	1,95 (±0,17)	2,34 (±0,32)	1,99 (±0,17)
6	230	15	5,00 (±0,13)	0,97 (±0,18)	2,00 (±0,16)	2,35 (±0,21)
7	300	10	5,31 (±0,23)	1,65 (±0,12)	1,93 (±0,18)	2,32 (±0,21)
8	400	10	5,31 (±0,25)	1,98 (±0,20)	2,63 (±0,26)	1,36 (±0,12)
9	300	3	6,41 (±0,31)	1,41 (±0,13)	0,92 (±0,09)	2,34 (±0,17)
10	300	10	4,99 (±0,19)	1,59 (±0,14)	1,95 (±0,17)	2,25 (±0,19)
11	370	15	6,11 (±0,20)	1,96 (±0,19)	2,47 (±0,18)	1,65 (±0,11)

2.5.5. A tojás fehérjéinek enzimes bontása

A Biocatalists nevű cég létrehozott olyan enzimeket, amelyek módosítják és hidrolizálják a fehérjéket. A tojásfehérje hidrolizálására kitűnően alkalmazható a Flavorpro 786P (F786P), amellyel semleges ízű termék állítható elő. Az egylépcsős enzimatis kezelési eredményeképp a tojásfehérjében lévő fehérje molekulák mérete csökken, ami hozzájárul azok könnyebb emésztéséhez, hatékonyabb felszívódásához. Magas tápértéke következtében jól alkalmazható sportolóknak szánt szeletes termékekben és italporokban, a semleges íz pedig lehetővé teszi a magas koncentrációban történő adagolást a késztermékben jelentkező kesernyős íz elkerülésével.

„A fehérje hidrolizálásához használható F786P alkalmazásának előnyei: javítja a fehérje emésztését, felhasználását; javítja a hőstabilitást (90°C felett is hőstabil); a tojásfehérje habosodási tulajdonságai is javulnak; ovalbumin hatékony hidrolízise; tiszta, semleges íz; a sportolóknak szánt porított keverékekben használt savófehérje hidrolizátumnál jobb az

emészthetőségi és felszívódási tulajdonságai. Ezekben a termékekben a savófehérje hidrolizátumot ki lehet váltani a tojásfehérje hidrolizátummal” (Biocatalists, 2011).

A fehérjemolekulák méretcsökkenése lehetővé teszi, hogy magasabb hőmérsékleten történő hőkezelést alkalmazzunk, mivel nincsenek hosszú fehérjeláncok, amelyek denaturlódnának.

A 11. táblázatban összefoglalva látható, hogy egyes mikrobák tizedére csökkenéséhez mennyi időre van szükség adott hőmérsékleteken (D-érték).

11. táblázat: D-értékek változása különböző hőmérsékletű hőkezelések hatására (Sörqvist, 2003 nyomán)

Baktérium/ Baktérium csoport	Hőmérséklet [°C]	D-érték átlag [s]	Baktérium/ Baktérium csoport	Hőmérséklet [°C]	D-érték átlag [s]
<i>Enterococcus faecium</i>	60	1150	<i>Escherichia coli</i>	60	39
	65	347		65	5,6
	72	65		72	0,4
<i>Enterococcus faecalis</i>	60	415	<i>Yersina enterocolitica</i>	60	30
	65	123		65	5,4
	72	23		72	0,5
<i>Listeria innocua</i>	60	162	<i>Salmonella ssp.</i>	60	24
	65	16		65	2,6
	72	0,6		72	0,1
<i>Listeria monocytogenes</i>	60	87	<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	60	8,2
	65	12		65	1,3
	72	0,7		72	0,1

3. A munka célja

A tojásleveket felhasználó fogyasztók többségének fontosak a megvásárolt termékek mikrobiológiai és techno-funkciós tulajdonságai. Azonban esetenként előfordulhat, hogy a vásárlót kizárólag a termék biztonsága és megfelelő beltartalmi értéke érdekli. Erre példa az a testépítő réteg, amely szívesen venné a tojásfehérje-levet annak magas protein tartalma miatt. Fontos számukra a tojásfehérje-lé folyékony állománya is az egyszerűbb felhasználhatóság miatt - a por rehidratálása időigényes és körülményes - ugyanakkor a tojásfehérje habképző és habtartó tulajdonságai érdektelenek számukra. A hosszú eltarthatósági idő, a mikrobiológiai biztonság, viszont kiemelten érdekli őket.

Megfelelő lehet számukra egy olyan tojásfehérje-lé termék, melyben a fehérjeláncok hosszát előzetes enzimes kezeléssel csökkentjük, így magasabb kezelési hőmérsékletet alkalmazhatunk. Ezáltal a denaturáció érzékelhetőségének mértéke olyannyira lecsökken, hogy a kicsapódás szemmel alig észrevehetővé válik. Természetesen meg kell említeni a fehérjeláncok rövidülésével járó könnyebb emészthetőséget is, amely a célcsoportnak, a testépítőknek, a tojásle további értéknövekedését jelenti.

TDK-dolgozatom céljaiként így a következőket tűztem ki:

- Megvizsgálni a fehérjebontó enzim működésének optimális pH és hőmérséklet értékeit.
- Megállapítani, hogy a tojásfehérje-lé pasztörözési, illetve denaturációs hőmérsékleténél nagyobb hőmérsékletű hőkezelés az enzimesen kezelt tojáslevek esetében milyen fizikai és mikrobiológiai hatást fejt ki.

4. Anyag és módszer

4.1. Felhasznált anyagok

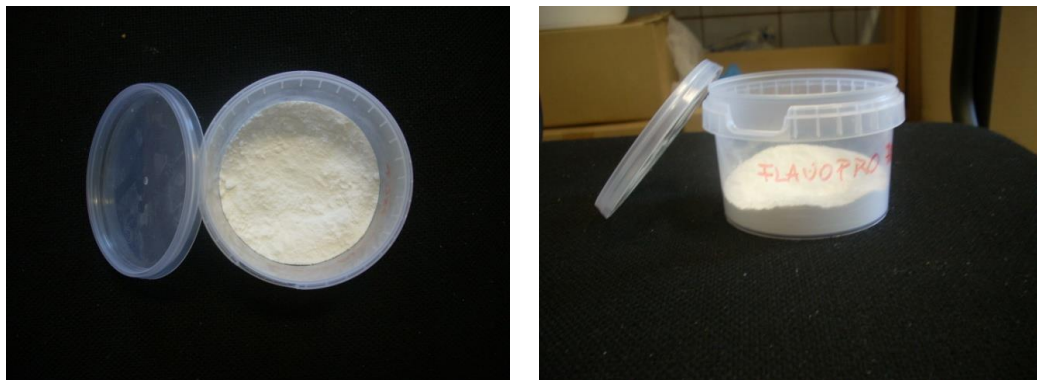
A szakdolgozatom témájához kapcsolódó vizsgálatok elvégzéséhez szükséges anyagok a következők: homogenizált nyers tojásfehérje-lé mint alapanyag, F786P típusú enzim és a pH beállításához citromsav. A következőkben részletesebb jellemzést adok a felhasznált anyagokról.

4.1.1. Tojásfehérje-lé

Vizsgálataim során a Capriovus Kft. által biztosított homogenizált nyers tojásfehérje-levet használtam. Az üzemben lévő körtörő helyiségben gépesített eljárással, steril körülmények között szétválasztásra került a tojássárgája és -fehérje. A művelet során a jégzsinór eltávolításra került, majd megtörtént a homogenizálás. A tojáslevet mindvégig 0-4°C hőmérsékleten hűtve tárolták.

4.1.2. Proteáz enzim

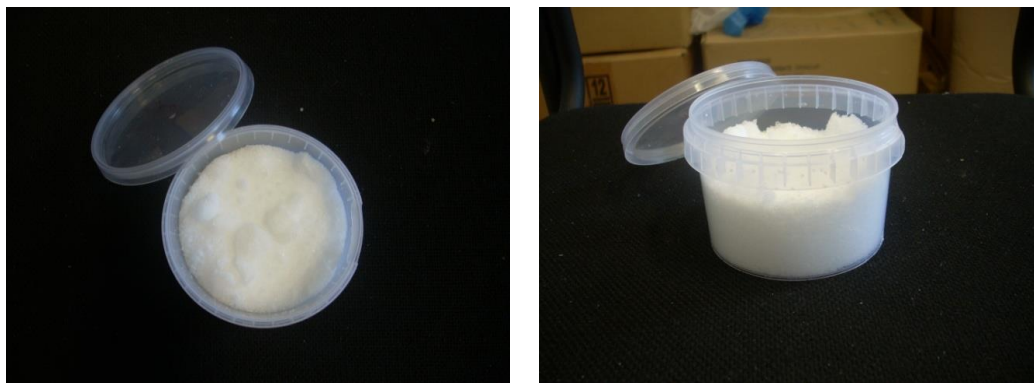
A tojásfehérje hidrolizálására alkalmazható a Flavorpro 786P (F786P) proteáz enzim, amellyel a gyártó ígérete szerint semleges ízű termék állítható elő. Az egylépcsős enzimátikus kezelés eredményeképp a tojásfehérjében lévő fehérje molekulák mérete csökken, ami hozzájárul azok könnyebb emésztéséhez, hatékonyabb felszívódásához. Az enzim a Biocatalists nevű cégtől származik, amit a Capriovus Kft. biztosított számomra. Az enzim szobahőmérsékleten (22°C – szabályozott hőmérsékletű laboratórium) került tárolásra a felhasználásig.



6. ábra: Flavorpro 786P enzim

4.1.3. Citromsav monohidrát

Hárombázisú szerves sav, amely képlete a következő: $C_3H_4(OH)(COOH)_3$. A felhasznált citromsav biztonsági adatlapján fellelhető fontosabb ismertető: citromsav monohidrát (25 kg-os kiszerelésű), beszállító: Brenntag Hungária Kft. (Budapest), CAS-szám: 5949-29-1, EU-szám: 201-069-1. Az anyag felhasználása: élelmiszer adalék, amelynek célja savas kémhatás kialakítása a mikrobaszám csökkentésére.



7. ábra: Citromsav monohidrát

4.2. Anyagok előkészítése

4.2.1. Eszközök sterilizése

A mikrobiológiai vizsgálatok elvégzésekor jelentős figyelmet kell fordítani a steril körülmények fenntartására, különben befertőződhet a minta és az eredményeink nem lesznek hitelesek.

Az üvegeszközök csírátlánítása 122°C-on mobil, elektromos autoklávban történt 20 percig.

A fémeszközök sterilizése Bunsen-égő használatával történt.

A műanyag eszközöket pedig az A.L. Trade Zrt. által gyártott Surfal felületfertőtlenítő szerrel kezeltem. Antimikrobiális spektruma: baktericid, fungicid és virucid. Behatolási ideje 3 perc. Összetétel: didecil-dimetil-ammónium-klorid, N, N-bis-(3-aminopropil)-dodecilamin, 2-propanol, nemionos tenzidek, víz. 5-35°C közötti hőmérsékleten tárolandó.

4.2.2. Szuszpenziók elkészítése, inkubálás

A minták számának megfelelően 34 db 250 ml-es, steril Erlenmeyer-lombikba 100 ml homogenizált, nyers tojásfehérje-levet öntöttem, majd digitális mérleg segítségével megtörtént a megfelelő mennyiségű enzim, illetve citromsav hozzáadása.

Ahhoz, hogy az enzim megfelelően ki tudja fejteni hatását inkubálásra van szükség, ami alatt a hosszú fehérjeláncok feldarabolódnak. Az inkubálás a mintáktól függően 2, 8 illetve 24 órán keresztül tartott Incucell (Medcenter Einrichtungen GmbH (MMM-Group)), termosztátban 50°C-os hőmérsékleten.

4.2.3. Hőkezelés

A mikrobiológiailag biztonságos termék előállításához hőkezelésre van szükség. Az inkubálást követően 10 percen belül a mintákból 10-10 ml-t kémcsőbe öntöttem, hogy elvégezhessem az 5 percig tartó $70 \pm 2^\circ\text{C}$ -on történő hőkezelés (ellenőrzése digitális hőmérővel történt). Ezt a műveletet 10 l űrtartalmú edényben, 1 l víz melegítésével végeztem.



8. ábra: Sufal felületfertőtlenítő szer



9. ábra: Tojásfehérje-lé a sterilizett lombikban

4.3. Elvégzett vizsgálatok

A cél olyan biztonságos termék létrehozása volt, amelynek a lehető legalacsonyabb az összes csíraszám, a fehérje-denaturációja pedig a legkisebb mértékben megy végbe. Emellett a pH-változás sem okoz érzékszervileg tapasztalható eltérést. Ehhez érzékszervi és mikrobiológiai vizsgálatokra volt szükséges. Majd kiválasztásra került a legjobb fizikai és mikrobiológiai értékekkel rendelkező minta.

A kiválasztott termékkel pedig további vizsgálatokat végeztem annak céljából, hogy kiderítsem milyen fizikai és kémiai tulajdonságok változtak az enzimes kezelés hatására.

Az enzim adatlapján 5000 ppm volt a megengedett maximum hozzáadott mennyiség. Az esetleges fogyasztó ellenzések (nem közismert enzim), mellékiz esetleges jelenléte és

gazdasági szempontokból (enzim alapanyaghoz viszonyított magas ára) adódóan a méréseimet kisebb koncentrációkkal is elvégeztem.

A Capriovus Kft. rendszeresen használ citromsavat. A cég mérési adatai szerint a 7,00 körüli pH értéket 1000 ppm-es citromsav-koncentrációval érhetünk el. A magas citromsav-tartalom kellemetlen mellékízt eredményezhet, így a kísérleteim során egyes mintáknál kisebb citromsav-koncentrációkkal (0, 300 ppm) is végeztem méréseket.

Az enzim specifikáció szerinti hőmérsékletének és a fehérjék denaturációs hőmérsékletének optimalítása alapján az inkubálás során 50°C-ot alkalmaztam.

Ehhez az inkubálási időket 2, 8 és 24 órára választottam, megcélózva az optimális inkubálási idő meghatározását.

A hőkezelés időtartamául a patogén mikroorganizmusok elpusztításához szükséges, az iparban alkalmazott 5 perc hőkezelési időt alkalmaztam. Az ipari gyakorlatban alkalmazott hőmérséklet 56-57°C, amely hőmérsékleten nem történik fehérje-denaturáció. Ehhez képes nagyobb, 70°C hőkezelési hőmérsékleten történt a hőkezelés, annak érdekében, hogy ha az enzim elvégzi feladatát, akkor a nagyobb, 70°C-on nem látható a denaturáció általi pelyhesedés.

Ezek alapján a kísérletterv mátrixa a következők szerint alakult.

12. táblázat: Kísérletterv mátrix

Minta	Enzim [ppm]	Citromsav [ppm]	Inkubálási idő [h]	Inkubálási hőmérséklet [°C]	Hőkezelési idő [min]
K	0	0	0	4	5
1	300	0	2	50	5
2	300	0	8	50	5
3	300	0	24	50	5
4	300	300	2	50	5
5	300	300	8	50	5
6	300	300	24	50	5
7	300	1000	2	50	5
8	300	1000	8	50	5
9	300	1000	24	50	5
10	500	0	2	50	5
11	500	0	8	50	5
12	500	0	24	50	5
13	500	300	2	50	5
14	500	300	8	50	5
15	500	300	24	50	5
16	500	1000	2	50	5

Minta	Enzim [ppm]	Citromsav [ppm]	Inkubálási idő [h]	Inkubálási hőmérséklet [°C]	Hőkezelési idő [min]
17	500	1000	8	50	5
18	500	1000	24	50	5
19	1000	0	2	50	5
20	1000	0	8	50	5
21	1000	0	24	50	5
22	1000	300	2	50	5
23	1000	300	8	50	5
24	1000	300	24	50	5
25	1000	1000	2	50	5
26	1000	1000	8	50	5
27	1000	1000	24	50	5
28	2500	0	2	50	5
29	2500	0	8	50	5
30	2500	0	24	50	5
31	5000	0	2	50	5
32	5000	0	8	50	5
33	5000	0	24	50	5

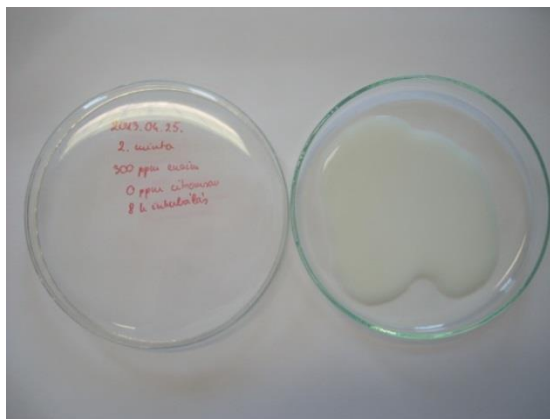
4.3.1. Érzékszervi vizsgálat

A pelyhesedés mértékének vizsgálata vizuálisan történt ennek megfelelően a következő három paramétert használtam, az alábbiak szerint:

- 1 – pelyhesedés vizuálisan nem tapasztalható
- 2 – pelyhesedés csak kismértékben tapasztalható
- 3 – pelyhesedés jelentős.

A vizsgálat alapján a termékfejlesztésre alkalmas minták száma leszűkült azokra, amelyekben a pelyhesedés vizuálisan nem volt tapasztalható.

A hőkezelés követően a csapvízzel (~12°C) szobahőmérsékletűre visszahűtött kémcsövekből steril Petri-csészébe öntöttem ~5 ml-t, hogy elvégezhessem a leíró jellegű érzékszervi minősítést a fehérje-kicsapódás jelenléte alapján. A vizsgálat célja, hogy segítse a termékfejlesztéshez használni kívánt minta kiválasztását.



10. ábra: Steril Petri-csészében érzékszervi vizsgálatra szánt minta

4.3.2. Mikrobiológiai vizsgálat

A mikrobiológiai vizsgálat által lehetővé vált tovább csökkenteni a minták számát azokra, amelyeknél a legnagyobb mértékű volt a mikrobaszám-csökkenés.

A kémcsövekben maradt mintákból egyszeres tizedelő hígítást készítettem, peptonvíz használatával 1 ml-es automata pipettával. Majd az egyszeres hígításból lemezöntést végeztem.

A táptalaj elkészítéséhez Nutrient Agar LAB008-as típusú 500 g-os kiszerelésű táptalajt használtam, amely peptonból, marhahús-kivonatból és agarból áll. A viszonylag egyszerű összetétel biztosítja a megfelelő tápanyagokat azon mikroorganizmusok replikációjához, amelyek kevésbé érzékenyek. A húskivonat vízben oldódó anyagokat tartalmaz, mint például szénhidrátok, vitaminok, szerves nitrogénvegyületek és sók. A pepton jelenti az alapvető szerves nitrogén-forrást különösen az aminosavak és a hosszú láncú peptidek. Az agar pedig a megszilárdulást biztosítja. 1 l desztillált vízben 28 g-ot kell feloldani Biosan MSH-300-as mágneses keverőn (és főzőlap is egyben), majd 15 percig 121°C-os hőmérsékleten sterilizálni elektromos autoklávban és 47°C-ig lehűteni. A táptalaj 10-25°C között, fénytől elzárva került tárolásra. A táptalaj, pH-ját tekintve lúgos $7,3 \pm 0,2$.

Automata pipettával 1 ml mintát helyeztem steril Petri-csészébe, majd lemezöntést végeztem. Az elkészített, még folyékony (kb. 41°C-os) táptalajból ~20-25 ml-t ráöntöttem a mintára és óvatosan, körkörös, fel-le kézmozdulatokkal eloszlattam a mintát a „táptalajban” (ekkor még tápoldat). A táptalaj megszilárdulását követően a Petri-csészéket termosztátba helyeztem 48 órás, 30°C-os inkubálásra. A 48 óra leteltével sor került a telepszámlálásra, azaz a kialakult telepek számának meghatározására.



11. ábra: Táptalaj melegítése, keverése



12. ábra: A minták élőcsíraszámának meghatározása Nutrient agar lemezeken

4.3.3. pH-mérés

A pH-mérés célja a citromsav adagolásának nyomon követése, amely azért fontos, hogy egyrészt a pH csökkentés a tojáslé mikrobiológiai állapotát javítja, ugyanakkor az enzim működését befolyásolja. Ezért tehát az enzimkoncentráció, inkubálási idő és pH kombinációk hogyan hatnak a mikrobaszám változásra és a denaturáció, pelyhesedés mértékére.

Az citromsav adagolást, illetve elkeverést követően 15 percenkénti gyakorisággal 4 órán át mértem a minták pH értékét.

A termék kiválasztásánál figyelembe kellett venni, hogy mekkora citromsav-koncentráció idéz elő olyan pH-t, amely az enzim számára optimális (6,0-7,5).

4.3.4. Rotációs viszkoziméter

A rotációs viszkoziméterrel vizsgáltam az enzim, illetve a hőkezelés hatását a tojáslé minták reológiai jellemzőjére, az enzim okozta fehérje-fragmentálódás okozta viszkozitás változására és denaturáció általi pelyhesedésre.

A rotációs viszkoziméterek alapgondolata az, hogy két koncentrikus henger közé zárjuk a mérendő folyadékot. A hengerek közötti rés olyan kicsi, hogy nem haladja meg a lamináris határréteg méretét. Ezáltal a résben az álló henger palástjától a forgó henger palástjáig a sebesség-gradiens lineárisan változónak tekinthető, és a nyírófeszültség állandó.

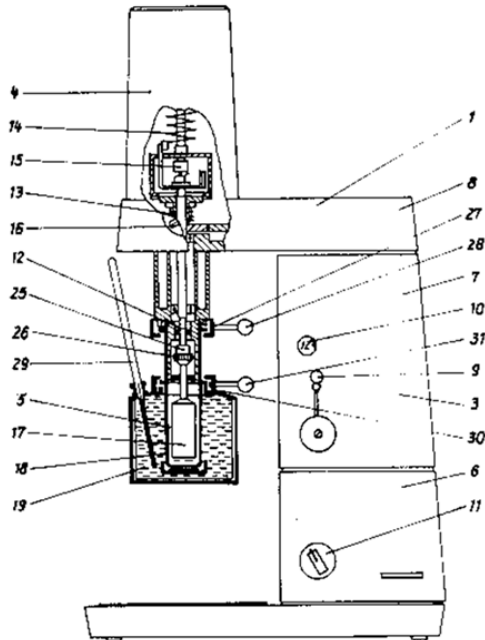
A berendezés felépítése a 13. ábrán látható. A fordulatszámot a jobboldalon található a-b váltókarral (az ábrán 11), valamint az ugyanott elhelyezett sebességváltóval (9) állítjuk be. A műszert ki- és bekapcsolni mindig az 1-es sebességfokozatban kell (12 sebességfokozat van; a 10 jelű ablakban látható, amit beállítottunk). A mérést valójában a 14 jelű műszerrugó és a hozzá kapcsolódó (15) potenciométeres ellenállás távadó végzi.

A műszer bekapcsolása után néhány másodpercet várni kell, amíg a mutató megnyugszik. Ekkor leolvassuk a mutatott értéket, majd nagyobb sebességfokozatba kapcsolunk. A mért értékeket nem az elméleti képletekkel számítjuk, hanem a műszer hitelesítési bizonylata szerint táblázatból olvassuk ki az adatait.

4.3.5. Kalorimetrikus vizsgálat

A fehérje-denaturáció mértékének meghatározása céljából alkalmaztam a kalorimetrikus vizsgálatot, amely alapján meghatározhatók az egyes tojásfehérjék denaturációjának mértéke. A tojásfehérje-lé minták kalorimetrikus analízisét „MicroDSC III” típusú mikrokaloriméteren (SETARAM, Franciaország) végeztem, amely a 14. ábrán található. A tojáslé minták lemért tömege $500 \pm 0,1$ mg volt, referencia oldatként desztillált vizet használtam. A méréseket az 20-95°C hőmérséklet-tartományban 1°C/perc fűtési sebességgel futtattam. A kiértékelést a készülékhez tartozó Seftsoft2000-s program segítségével végeztem. A mérőprogram két funkciót végez: egyrészt elvégzi a mérés során az adatrögzítést, majd a következő fázisban az adatok értékelését.

Rheotest 2 koncentrikus hengerekkel



13. ábra: Reootherm viszkoziméter



14. ábra: MicroDisc III.

5. Kísérleti eredmények és értékelésük

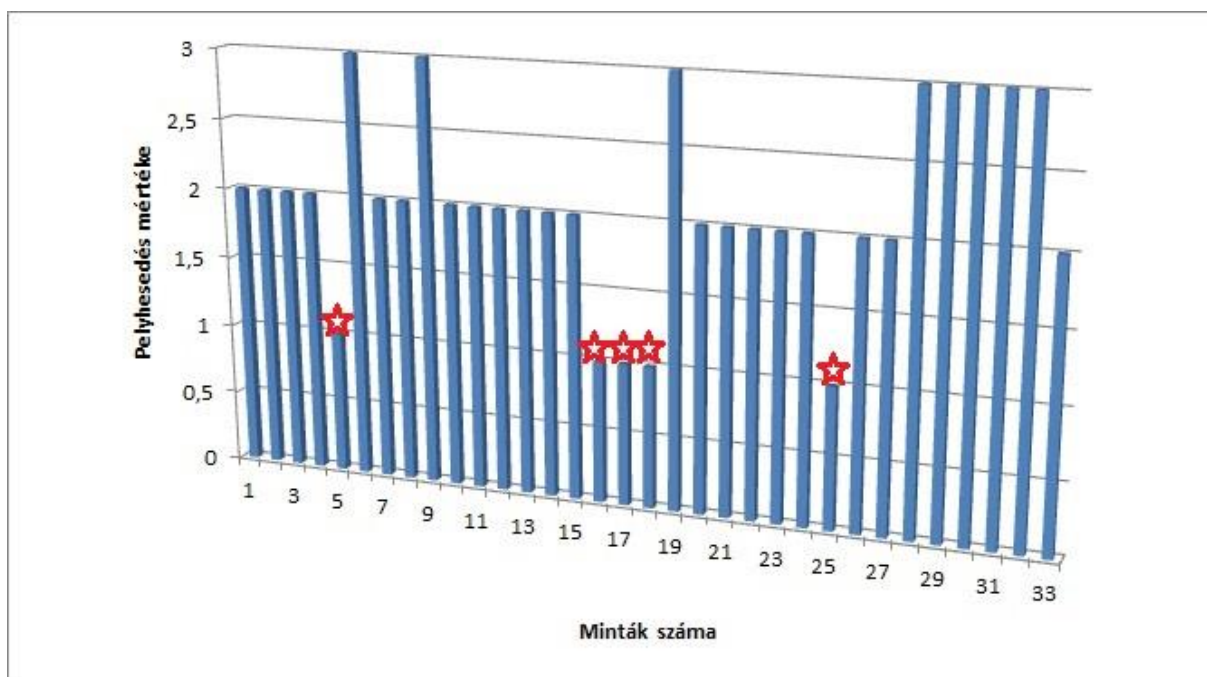
Méréseim során a Kontroll mintát is beleszámítva 34 mintát vizsgáltam. Első feladatomban az volt, hogy kiválasszam azokat a paramétereket, amelyek mellett a legígéretesebb termék-alapanyagot lehet előállítani. A kiválasztás érzékszervi és mikrobiológiai vizsgálatok, valamint pH-mérés alapján történt. Ezen vizsgálatok eredményeit mutatom be a következő fejezetekben.

Ezt követően a kiválasztott mintát hasonlítom össze a nyers tojáslével.

A Mellékletben található 13. táblázat tartalmazza a részletes kísérleti eredményeket.

5.1. Érzékszervi vizsgálat eredményei

A vizsgálat vizuálisan történt, amely célja azon minták kiválasztása volt, amelyek a denaturáció mértéke alapján alkalmasak lehetnek a termékfejlesztésre. A 15. ábrán látható, hogy az egyes mintáknál mekkora volt a fehérjekicsapódás mértéke.



15. ábra: Denaturáció mértéke mintánként ábrázolva

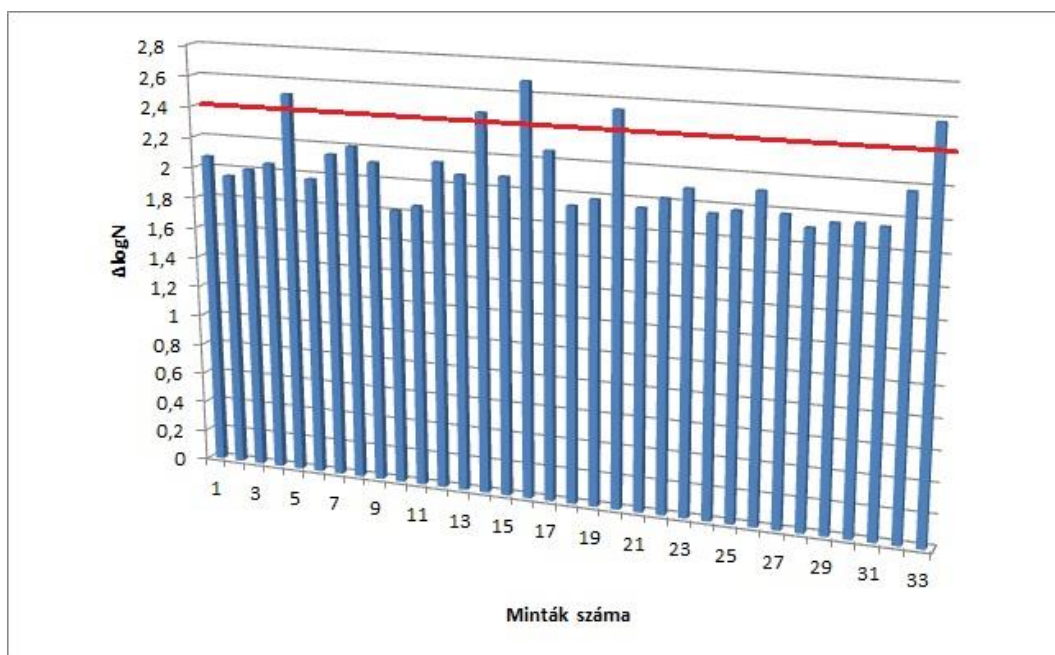
A szemrevételezés után kiválasztásra kerültek azok a minták, amelyeknél nem tapasztaltam szemmel látható pelyhesedést, tehát 1-es számú jelöléssel rendelkeztek, így tehát a következők bizonyultak alkalmasnak termékfejlesztésre:

- 5. minta: 300 ppm enzim, 300 ppm citromsav, 8 óra inkubálás
- 16. minta: 500 ppm enzim, 1000 ppm citromsav, 2 óra inkubálás
- 17. minta: 500 ppm enzim, 1000 ppm citromsav, 8 óra inkubálás
- 18. minta: 500 ppm enzim, 1000 ppm citromsav, 24 óra inkubálás
- 25. minta: 1000 ppm enzim, 1000 ppm citromsav, 2 óra inkubálás.

Ezek alapján arra következtethetünk, hogy az elképzeléseinknek megfelelő eredményt leginkább 500 ppm enzimkoncentrációval és 1000 ppm citromsav-koncentrációval tudjuk elérni és természetesen a minél rövidebb kezelési időt preferáljuk.

5.2. Mikrobiológiai vizsgálat eredményei

Az összes csíraszám meghatározása során kiderült, hogy az enzimes kezelés és a különböző citromsav-koncentráció milyen mértékben befolyásolta a csíraszám-csökkenést. Viszonyítási alapként a nyers tojásfehérje-lé mikrobaszámát használtam. A 16. ábrán látható, hogy mely minták esetében tapasztaltam a kiemelkedően nagymértékű csökkenést.



16. ábra: Élőcsíraszám ábrázolása a hozzáadott enzim, citromsav és inkubálási idő függvényében

A 33 mintából a csíraszám-csökkenés figyelembe vételével a következő számú mintáknál tapasztaltam 2,4-nél nagyobb mértékű csökkenés:

- 5. minta: 300 ppm enzim, 300 ppm citromsav, 8 óra inkubálás

- 14. minta: 500 ppm enzim, 300 ppm citromsav, 8 óra inkubálás
- 16. minta: 500 ppm enzim, 1000 ppm citromsav, 2 óra inkubálás
- 20. minta: 1000 ppm enzim, 0 ppm citromsav, 8 óra inkubálás
- 33. minta: 5000 ppm enzim, 0 ppm citromsav, 24 óra inkubálás.

A Mellékletben található 17. ábrán láthatóak az összes csíraszám-csökkenés paraméterenkénti átlagos értékei. Egyértelműen látszik, hogy nincs számottevő eltérés az egyes jellemzőkhöz tartozó átlagos értékek között, tehát az enzim-, illetve citromsav-koncentráció és az inkubálási idő nem befolyásolják a csíraszám-csökkenést. A 70°C-os hőkezelés átlagosan két nagyságrenddel csökkentette a tojásfehérje-lé mikrobaszámát.

5.3. pH-változás

A pH mérése során kiderült, hogy mekkora citromsav-koncentráció milyen pH-változást eredményez, amely a 18. ábrán látható. Ezután kiválasztásra került, amelyik az optimális enzimműködéshez szükséges pH-t leginkább elő tudta idézni.



18. ábra: Különböző citromsav-tartalmú minták pH-változás ábrázolása az eltelt idő függvényében

A diagramról egyértelműen látszik, hogy 240 perc elteltével a 300 ppm mennyiségben adagolt citromsav számottevően nem befolyásolja a termék pH-ját, hasonló tendenciát mutat, mint a citromsav nélküli minta pH-változása. Ezzel ellentétben az 1000 ppm hozzáadott citromsav jelentősen megváltoztatta a pH-t. Kb. 45 perc alatt eléri a közel 7,0-s pH-t, amely az enzim

optimuma, viszont a kb. 2 óra elteltével jelentősen emelkedni kezd a pH, amiből arra következtethetünk, hogy érvényesül a fehérje puffer hatása.

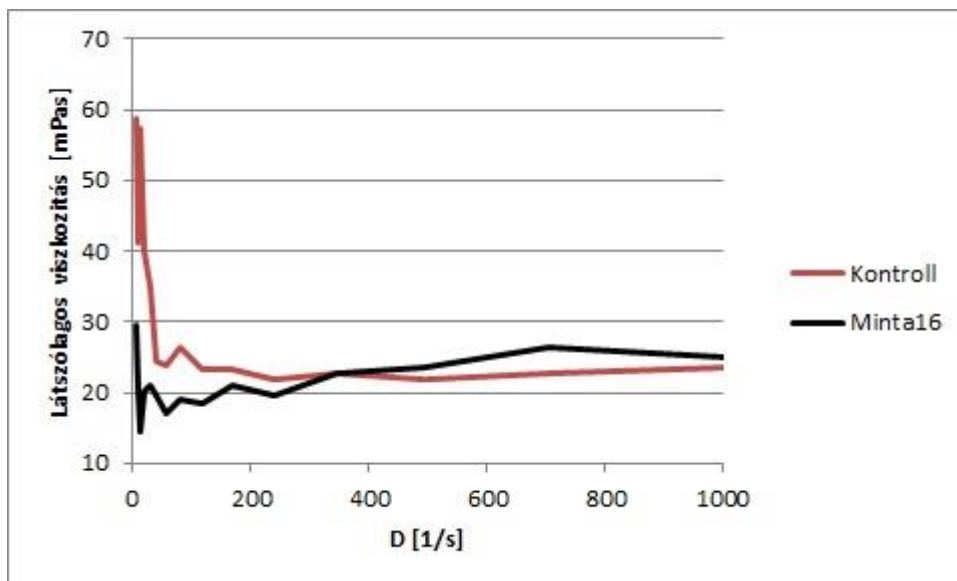
A pH vizsgálatánál egyértelműen kiderült, hogy a 0 és 300 ppm mennyiségben hozzáadott citromsav nem befolyásolja a pH-t, ezért olyan mintát választottam ki a termékfejlesztéshez, amelyben 1000 ppm citromsav található. Így a következő minták jöhetnek számításba:

- 16. minta: 500 ppm enzim, 1000 ppm citromsav, 2 óra inkubálás
- 17. minta: 500 ppm enzim, 1000 ppm citromsav, 8 óra inkubálás
- 25. minta: 1000 ppm enzim, 1000 ppm citromsav, 2 óra inkubálás.

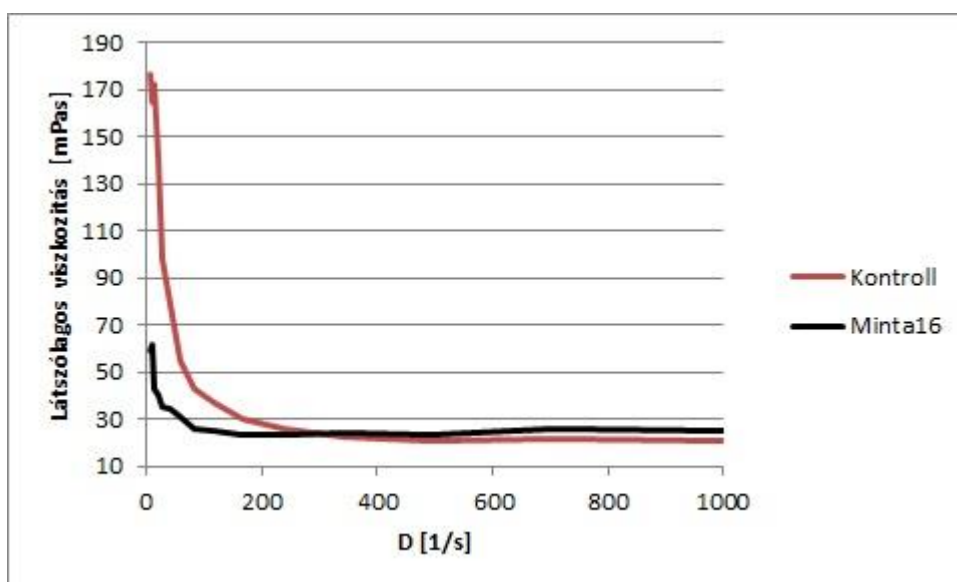
A pH-mérés során keletkező eredményekből egyértelműen kiderül, hogy a termékfejlesztésre csak olyan minták alkalmasak, amelyek 1000 ppm citromsavat tartalmaznak. Az is látható, hogy ennél a koncentrációnál a bekeverést követően kb. 2 órán keresztül a pH 7,0-8,0 között ingadozik, amely megközelíti az enzim optimumát (6,0-7,5), majd a 135. perctől jelentősen növekszik. Ez alapján tovább csökkenthető az alkalmas minták száma azokra, amelyek 2 órás inkubáláson estek át, mivel a citromsav ez idő alatt fejti ki a hatását, biztosítja az enzim számára optimális pH-t. 4 óra elteltével a tojásfehérje-lé puffer hatása teljes mértékben érvényesül, így a 8, illetve 24 órás inkubálásban részesült minták citromsav-tartalma elhanyagolható. Emellett a 2 órás inkubálás minimalizálja a termék elkészítési idejét, ami gazdasági szempontból előnyösebb, mint a másik két inkubálási idő esetében. Végül a 16. mintát választottam termékfejlesztésre, mivel teljesülnek az előbbi (1000 ppm citromsav, 2 óra inkubálás) és az érzékszervi vizsgálat során (500 ppm enzim) támasztott feltételek.

5.4. Viskozitás vizsgálati eredményei

A viszkozitás vizsgálata alátámasztotta, hogy az enzim kisebb részekre darabolja a hosszú fehérjeláncokat, ezáltal csökkenti a viszkozitást, ami a 19. és 20. ábrán is egyértelműen látszik. A diagramokon a párhuzamos mérések eredményeinek átlagát ábrázoltam, mivel a mérések között nem volt jelentős eltérés.



19. ábra: Hőkezelés nélküli Kontrol és Minta16 (enzimmel kezelt) látszólagos viszkozitásának összehasonlítása



20. ábra: Hőkezelt Kontrol és Minta16 (enzimmel kezelt) látszólagos viszkozitásának összehasonlítása

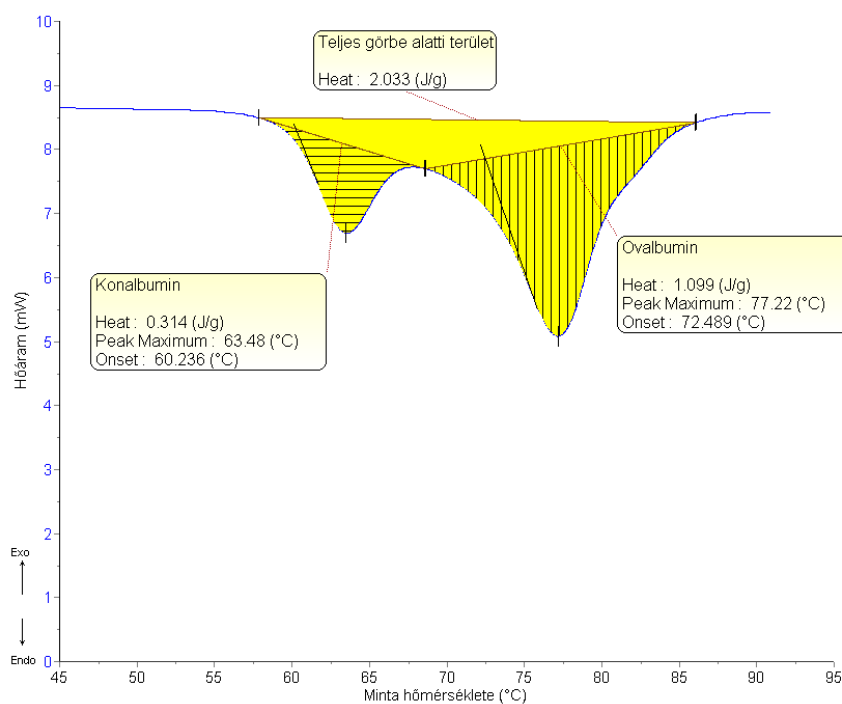
Ahogy a diagramokon is látható az enzim hatására a kezdeti látszólagos viszkozitás lecsökkent, ami alátámasztja, hogy az enzim feldarabolta a fehérjeláncokat. Ezáltal a tojásfehérje-lé hígabbá vált, mint az enzim nélküli nyers minta.

A hőkezelés hatására azonban az enzimmel kezelt és Kontrol minta kezdeti látszólagos viszkozitása is megnövekedett. A Kontrol esetében a fehérjeláncok a magas, 70°C-os hőkezelés hatására denaturálódtak és aggregáció is végbement, ezáltal erősen viszkózus állag alakult ki. Ez alátámasztja, hogy a tojásfehérje-lé esetében az iparban használt pasztörözési

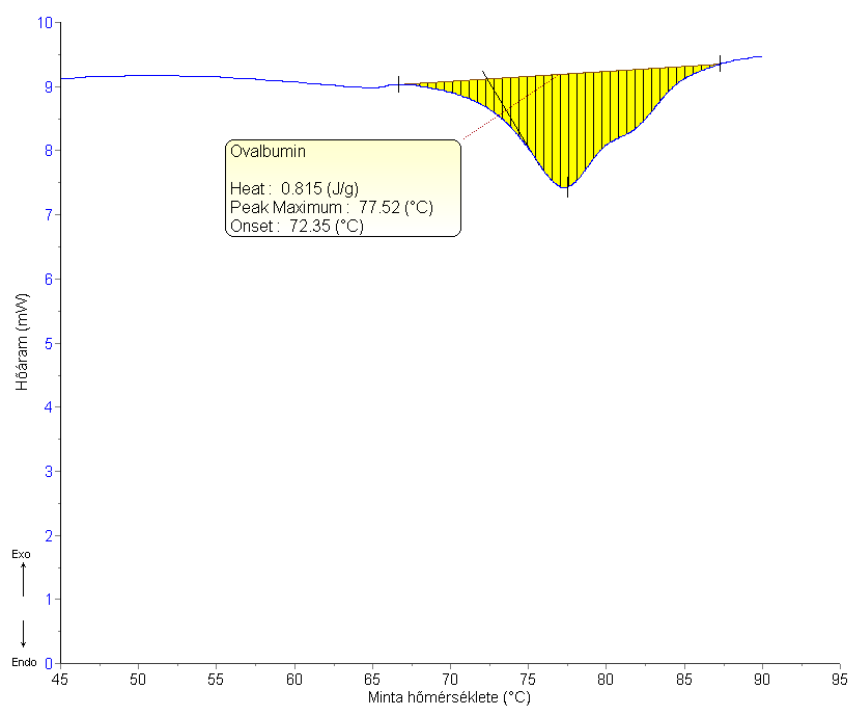
hőmérséklet nem haladja meg az 56-57°C-ot. Az enzimmel kezelt mintánál a denaturáció szintén végbement, azonban a pelyhek mérete a darabolás miatt kisebb volt, mint a Kontroll esetében, így kisebb mértékben növelte meg a kezdeti látszólagos viszkozitást. Az enzimes kezelés és a magas hőkezelési hőmérséklet által egy biztonságos, tejhez hasonló állagú tojásfehérje-levet kaptunk, amelyet a sportolók valószínűleg szívesebben fogyasztának, mint a nyers tojásfehérjét.

5.5. Kalorimetrikus vizsgálat eredményei

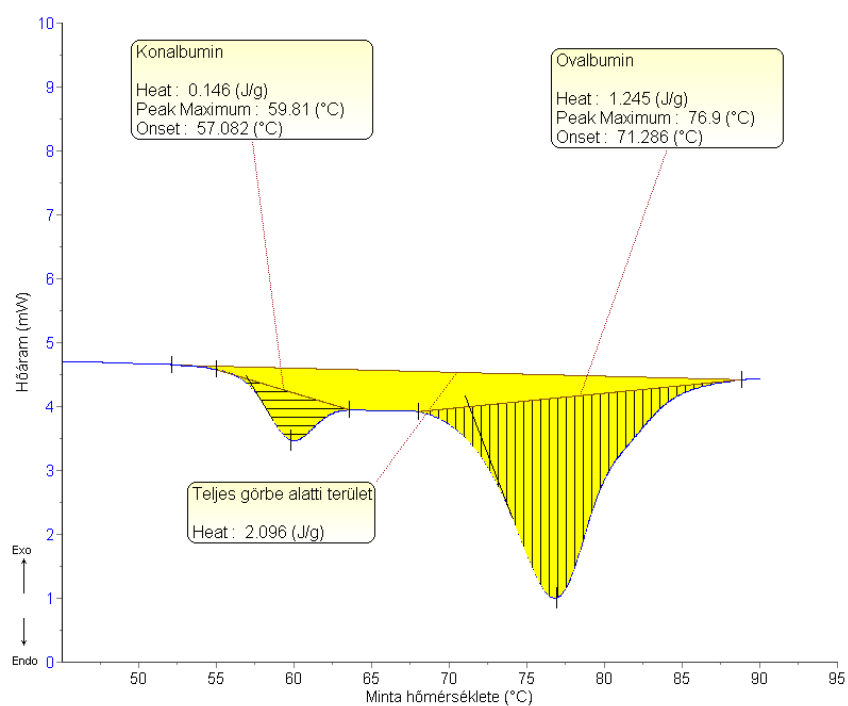
A 21-24. ábrákon található kalorimetrikus görbék kiértékelésekor az endo- és exoterm csúcshőmérsékletek, valamint a csúcsok alakja az anyag azonosítására, míg a görbe alatti területek nagysága mennyiségi értékelésre használható fel.



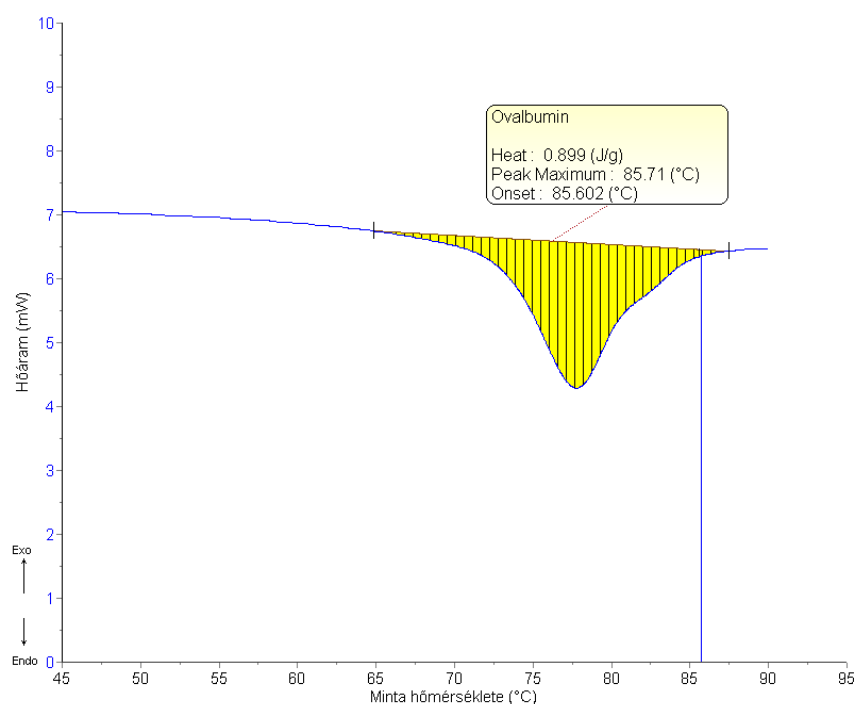
21. ábra: Hőkezelés nélküli Kontroll kalorimetrikus görbéje



22. ábra: Hőkezelt Kontroll kalorimetrikus görbéje



23. ábra: Hőkezelés nélküli Minta16 (enzimmel kezelt) kalorimetrikus görbéje



24. ábra: Hőkezelt Minta16 (enzimmel kezelt) kalorimetrikus görbéje

A csúcsok hőmérsékleteiből és alakjából megállapíthatóvá váltak a tojásfehérje fehérjéi közül a konalbumin és az ovalbumin. A hőkezelt minták görbéjén nem szerepel a konalbumin, mivel ez a hőérzékeny fehérje a hőkezelés során denaturálódott. A Kontroll minta esetében hőkezelés hatására az ovalbumin koagulációjához kisebb energia szükséges (Heat), a kicsapódás kezdeti hőmérséklete alacsonyabb, a legnagyobb mértékű pelyhesedés (Peak Maximum) pedig ugyanolyan hőmérsékleten játszódott le, mint a hőkezelés nélküli mintáknál. Az enzimmel kezelt mintánál is ugyanezek tapasztalhatók egy jellemzőt kivéve, a Peak Maximumot, ugyanis ez az érték a 16. mintánál hőkezelés hatására megnövekedett. A kisebb energia-szükségletet és a denaturáció alacsonyabb kezdeti hőmérsékletét az okozza, hogy hőkezelés során az ovalbumin részlegesen denaturálódott. Az enzimes kezelés hatására a fehérjeláncok kisméretű fragmentumokra darabolódnak, ami szerkezeti változásokat okoz. Valószínűleg ezeknek a változásoknak köszönhető, hogy a teljes kicsapódáshoz magasabb hőmérsékletre van szükség az enzimmel kezelt mintánál.

6. Összefoglalás

Tojástermékek előállításánál, azon belül a tojásleveknél a megfelelő hőkezelési mód kiválasztása nehéz feladat. A tojáslevelekben előforduló mikroorganizmusok, leginkább a patogén fajok végett, minél magasabb hőkezelési idő indokolt, a tojásfehérjében található, alacsony hőmérsékleten denaturálódó fehérjék azonban korlátokat szabnak. Ezek feloldására már megjelentek új élelmiszer tartósítási technológiák, dolgozatomban azonban egy új lehetséges módszert vizsgáltam.

A Biocatalists termékei között szereplő Flavorpro 786P enzim módosítja és hidrolizálja a fehérjéket, ezáltal a fehérje molekulák mérete csökken. Az enzim hatására a tojásfehérje könnyen emészthetővé válik, valamint a magasabb hőkezelési hőmérséklet sem okoz szemmel látható mértékű fehérje-denaturációt.

A célom egy olyan tojástermék előállítása volt, amelyet sportolók, főleg testépítők, szívesebben fogyasztanak, mint a por állagú termékeket, egyszerűbb felhasználhatósága és folyékony állaga miatt. Emellett az sem utolsó szempont, hogy a termék magas hőmérsékleten történő hőkezelése miatt mikrobiológiai szempontból teljesen biztonságos és nem igényel utókezelést.

Méréseim során először is meg kellett vizsgálnom, hogy a különböző paraméterek hogyan befolyásolják a tojásfehérje-lé mikrobiológiai és fizikai jellemzőit. Az enzim optimális működési körülményeinek biztosítása érdekében citromsavat is adtam a tojásfehérje-léhez, amely hozzájárult a megfelelő pH beállításához, ezt pH-méréssel ellenőriztem. Az enzimspecifikáció alapján 50°C-os inkubálást is végeztem, majd 5 percre tartó 70°C-os hőkezelést alkalmaztam. Ezután a mintákat vizuális érzékszervi vizsgálatnak vettem alá, amely során a fehérje-kicsapódás szemmel látható mértékét vizsgáltam. Ezt követően elvégeztem az összes csíraszám meghatározását. Ezen vizsgálatok alapján eldönthetővé vált, hogy mely enzim- és citromsav-koncentráció, valamint inkubálási idő a legalkalmasabb a termék elkészítéséhez. Az érzékszervi vizsgálat eredményei alapján lecsökkentettem a minták számát azokra, amelyeknél a fehérje-denaturáció nem volt szemmel látható. A mikrobiológiai vizsgálat során kiderült, hogy egyik tényező sem befolyásolja az összes csíraszám csökkenését. A pH vizsgálata során egyértelművé vált, hogy az 1000 ppm citromsav-koncentrációjú, 2 órás inkubálási idejű minták a legalkalmasabbak, a denaturáció vizsgálata

pedig tovább szűkítette a lehetséges minták körét az 500 ppm enzimkoncentrációjú mintákra. Így tehát a 16. minta került kiválasztásra.

A termékkel további vizsgálatokat végeztem annak bizonyítására, hogy sportolók számára mindenképp kedvezőbb, mint a nyers tojásfehérje. Megvizsgáltam, hogy az enzimes kezelés, valamint a hőkezelés hogyan befolyásolja a viszkozitást és kalorimetrikus vizsgálatot is végeztem. A mérésekből kiderült, hogy az enzim fehérje-daraboló hatása csökkenti a kezdeti látszólagos viszkozitást a nyers tojásfehérje-léhez képest. A hőkezelés növeli a viszkozitást, mivel fehérje-kicsapódás történik, de ennek mértéke az enzimmel kezelt minta esetében kisebb, így a magas hőmérsékleten történő hőkezelést követően is tejhez hasonló, folyékony állagú terméket kapunk. Az enzim szerkezeti változásokat okoz a fehérjékben, így a kalorimetriás vizsgálat szerint az enzimmel kezelt, hőkezelt tojásfehérje-lében lévő fehérjék teljes kicsapódásához magasabb hőmérséklet (kb. 85°C) szükséges.

Összességében kijelenthetem, hogy az enzimnek köszönhetően megnövelt hőkezelési idővel sikerült egy mikrobiológiailag és érzékszervileg is megfelelő tojásle-terméket előállítani, amely a későbbiekben közkedveltté válhat a testépítők körében. Ennek elősegítésére további kísérleteket végeztem a termék ízesítésével kapcsolatban, amit a szakdolgozatomban fejtek ki részletesen.

Irodalomjegyzék

1. Academic Dictionaries and Encyclopedias (2010) Nutrient composition of fresh chicken egg. (2013.09.23.)
http://universalium.academic.ru/294971/Nutrient_composition_of_fresh_chicken_egg
2. A. Adesiyun, N. Offiah et. al. 2006. Frequency and Antimicrobial Resistance if Enteric Bacteria with Spoilage Potential Isolated from Table Eggs. Food Research International. 39: 212-219.
3. Z. Akkouche, L. Aissat et. al. 2012. Effect of Heat on Egg White Proteins. Internetal Conference on Applied Life Science. 407-413.
4. Alvarez I., Niemira B. A. et. al. 2006. Inactivation of *Salmonella* serovars in Liquid Whole Egg by Heat Following Irradiation Treatments. Journal of Food Protection. 69(9): 2066-74.
5. M. Amiali, M. O. Ngadi, J. P. Smith et. al. 2007. Synergistic Effect of Temperature nad Pulsed Electric Field on Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* in liquid egg yolk. Journal of Food Engineering. 79(2): 689-694.
6. M. Anton. 2007. Composition and Structure of Hen Egg Yolk. Bioactive Egg Compounds. 1-6.
7. Biocatalysts. (2013.10.04.) Products.
<http://www.biocatalysts.com/products/datasheets-a-technical-bulletins/en-gb/items>
8. Biró G. (szerk.); 1993; Élelmiszer-higiénia; 1993; Budapest; AGROINFORM Kiadó és Nyomda Kft; 53,58
9. Capriovus Kft. (2013) Termékek (2013.09.30.)
<http://capriovus.eu/>
10. Robert E. Feeney, D. A. Nagy. 1952. The Antibacterial Activity of the Egg White Protein Conalbumin. Journal of Bacteriology. 64(5): 629-643.
11. Robert E. Feeney, Frits C. Stevens et.al. 1963. The Specificities of Chicken Ovomucoid and Ovoinhibitor. The Journal of Biological Chemistry. 238: 1415-1418.
12. Friedrich L., Németh Cs. et al.; 2011; Baromfifeldolgozás; 2011; Budapest; VM Vidékfejlesztési, Képzési és Szaktanácsadási Intézet; 246-274., 257-258.
13. E. Galán-Vásquez, B. Luna, et. al. 2011. The Regulatory Network of *Pseudomonas aeruginosa*. Microbial Informatics and Experimentation. 1(3): 1.

14. T. J. Humphrey, A. Whitehead et. al. 1991. Numbers of *Salmonella enteritidis* in the Contents of Naturally Contaminated Hens' Eggs. *Epidemiology and Infection*. 106: 489-496.
15. Huntington J. A., Stein P. E.. 2001. Structure and properties of ovalbumin. *Journal of chromatography. B, Biomedical sciences and applications*. 756(1-2): 189-98.
16. Internet Symposium on Food Allergens (1999) Composition of Hen's Egg White. (2013.09.23.)
[http://www.food-allergens.de/symposium-vol1\(1\)/data/egg-white/egg-composition.htm](http://www.food-allergens.de/symposium-vol1(1)/data/egg-white/egg-composition.htm)
17. Jávorski A., Szigei J. 2011. Terméminősítés és termékhiéenia. Debreceni Egyetem. 51.
18. Laczay P.; 2008; Élelmiszer-higiéenia Élelmiszerlánc-biztonság; 2008; Budapest; Mezőgazda Kiadó; 43, 507, 511-513.
19. Magyar Élelmiszerkönyv. 2002. 1-3-1907/90 számú rendelet. Tojás
<http://www.omgk.hu/Mekv/1/13190790.html>
20. Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-95/2 számú előírása (152/2009. rendelet) az édesítőszereken és a színezékeken kívüli egyéb élelmiszer-adalékanyagokról. (2013.10.04.)
http://www.omgk.hu/Mekv/1/12952_2011.pdf
21. Manitoba Agriculture. Egg Size and Your Small Flock of Laying Hens. (2013.09.23.)
<http://www.gov.mb.ca/agriculture/livestock/poultry/pdf/bba14s00.pdf>
22. Medscape (2013) Proteus Infections (2013.09.30.)
<http://emedicine.medscape.com/article/226434-overview>
23. Cs. Németh, I. Dalmadi et. al. 2012. Pasteurization of Liquid Egg by High Hydrostatic Pressure (HHP) Treatment. *African Journal of Microbiology Research*. 6(3): 660-664.
24. Orel, V.; 1959; A tojás és feldolgozása; 1960; Budapest; Műszaki Kiadó; 18-57.
25. P. Pinto, R. Ribeiro et. al.. 2004. Sanitation of Chicken Eggs by Ionizing Radiation: Functional and nutritional assessment. *Radiation Physics and Chemistry*. 71: 33-36.
26. S. E. Solonom, M. M. Bain et. al. 1994. *Microbiology of the Avian Egg*. Springer US. 1-24.
27. S. Sörqvist. 2003. Heat Resistance in Liquids of *Enterococcus* ssp., *Listeria* ssp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* ssp. and *Campylobacter* ssp. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 4:1-19.

28. D. Stepień-Pysniak. 2010. Occurrence of Gram-negative Bacteria in Hens' Eggs Depending on Their Source and Storage Conditions. Polish Journal of Veterinary Science. 13(3): 507-513.
29. TNAU Agritech Portal (2013) Post Harvest Technology: Livestock. (2013.09.23.)
http://www.agritech.tnau.ac.in/postharvest/pht_anifoods_poul_egg.html
30. University of Illinois Extension. Incubation and Embryology. Structure of the Egg (2013.09.23.)
<http://urbanext.illinois.edu/eggs/res16-egg.html>
31. USDA. 2000. Egg-Grading Manual. Agricultural Handbook. 75:11.
32. Zoltán P. (szerk.); 1997; Baromfihús- és tojástermelők kézikönyve; 1997; Budapest; Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó Kft.; 116-117.
33. Wellman-Labadie O., Picman J et. al. 2008. Antimicrobial Activity of the Anseriform Outer Eggshell and Cuticle. Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology. 149(4): 640-9.
34. Worthington Biochemical Corporation (2013) Lysozyme. (2013.09.25.)
<http://www.worthington-biochem.com/ly/default.html>

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megragadni az alkalmat, hogy köszönetemet fejezzem ki mindenkinek, aki a TDK-dolgozatom elkészítéséhez nagyban hozzájárult.

Először is szeretném kifejezni köszönetemet a Capriovus Kft-nek, hogy biztosította a helyet, az eszközöket és az alapanyagokat, a méréseimhez, és egyik dolgozójának, egyben külső konzulensemnek Dr. Németh Csabának, hogy tapasztalataival és tanácsaival segítette a munkámat.

Szeretném megköszönni a témavezetőmnek Dr. Friedrich László, egyetemi docensnek, hogy türelmével, segítőkészségével és nem utolsó sorban tudásával hozzájárult nem csak a TDK-dolgozatom elkészítéséhez, de a tanulmányaimhoz is.

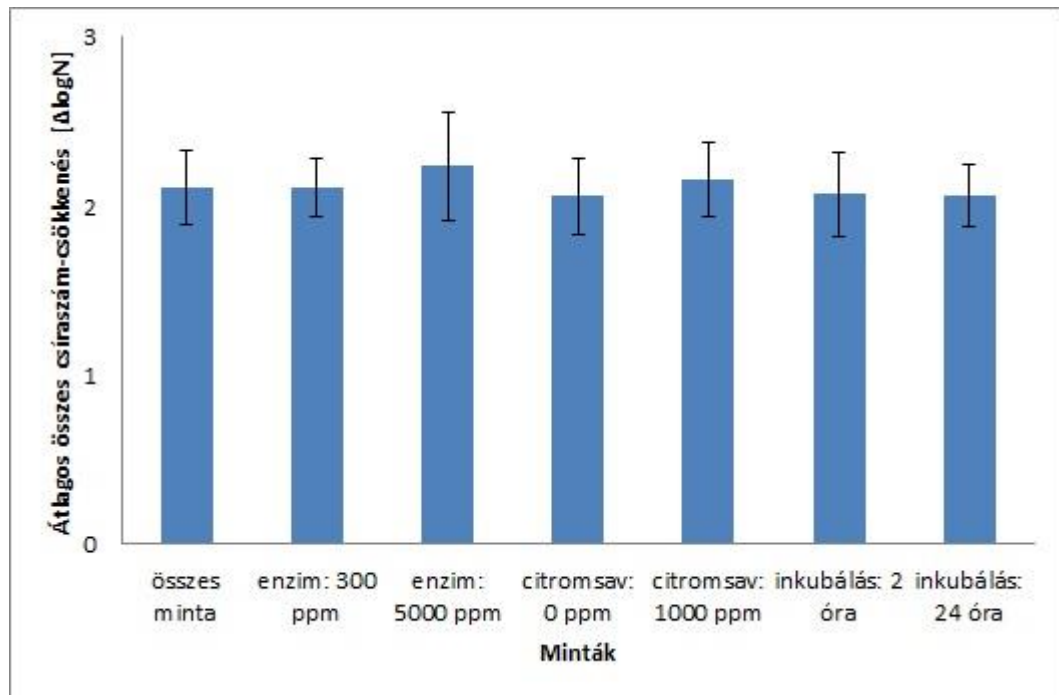
A Hűtő- és Állatiternék Tanszéken dolgozó Horti Krisztina és Zeke Ildikó Csilla szintén nagy segítségemre voltak a mérésim lebonyolításában és azok értékelésében. Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet!

Végül, de nem utolsó sorban szeretném kifejezni hálámat a szüleimnek, akik szeretetükkel és anyagi támogatásukkal támaszt nyújtottak egyetemi tanulmányaim során, valamint TDK-dolgozatom elkészítésének teljes ideje alatt türelmet, megértést tanúsítottak irántam. Köszönöm!

Melléklet

13. táblázat: Kísérleti eredmények

Minta	Tojáslé hőkezelési hőmérséklet [°C]		Összes csíraszám logN	Összes csíraszám- változás $\Delta \log N$	Pelyhesedés mértéke
	Kezdeti hőmérséklet*	Vég- hőmérséklet			
K	71	68	3,58	0,00	2
1	70,3	71,5	1,52	2,07	2
2	70,2	69,9	1,63	1,95	2
3	70,5	68,8	1,58	2,00	2
4	69,8	70	1,53	2,05	1
5	70,2	69,9	1,08	2,51	3
6	70,5	68,8	1,61	1,97	2
7	69,6	70,4	1,45	2,14	2
8	70,2	69,9	1,38	2,20	3
9	70,5	68,8	1,48	2,11	2
10	70,2	70,9	1,77	1,81	2
11	70,2	69,9	1,73	1,85	2
12	70,5	68,8	1,45	2,14	2
13	70,6	71,9	1,52	2,07	2
14	70,2	69,9	1,11	2,47	2
15	70,5	68,8	1,51	2,08	1
16	71	69,8	0,90	2,68	1
17	70,2	69,9	1,32	2,26	2
18	70,5	68,8	1,65	1,93	3
19	71	69,8	1,60	1,98	2
20	70,4	70,2	1,04	2,54	2
21	70,1	68,8	1,63	1,95	2
22	71	69,8	1,57	2,02	2
23	70,4	70,2	1,49	2,09	2
24	70,1	68,8	1,63	1,95	1
25	71	69,8	1,60	1,98	2
26	70,4	70,2	1,48	2,11	2
27	70,1	68,8	1,60	1,98	3
28	71	69,8	1,67	1,91	3
29	70,4	70,2	1,63	1,95	3
30	70,1	68,8	1,62	1,96	3
31	71	69,8	1,63	1,95	3
32	70,4	70,2	1,41	2,17	2
33	70,1	68,8	1,00	2,58	2



17. ábra: Átlagos összes csíraszám-csökkenés és szórás a különböző paraméterek függvényében

Szerzői nyilatkozat

Alulírott - ELEK ODETT – a Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Élelmiszermérnök Bsc. Állattermék-technológiák és minőségügy szakos nappali tagozatos hallgatója kijelentem, hogy a

„TOJÁSFEHÉRJE-LÉ HŐKEZELÉSE FEHÉRJEBONTÓ ENZIMES KEZELÉS UTÁN”

című TDK-dolgozat a saját munkám eredménye.

Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Budapest, 2013. október 20.

a hallgató aláírása