

Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Hűtő- és Állattermék Technológiai Tanszék

TOJÁSFEHÉRJE LÉBEN KÍMÉLETES HŐNTARTÁS SORÁN
BEKÖVETKEZŐ VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA NIR ÉS DSC
MÓDSZERREL

Készítette: Pataki Ádám Gábor

Élelmiszermérnök Msc szak

Állattermék technológia

2010

Témavezető: Dr. Friedrich László

Németh Csaba

Tartalom

1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. Tojás feldolgozása, szeparálása	5
2.2. Tojás természetes védelmi mechanizmusai	7
2.3. Tojásfehérje hőérzékeny alkotói	8
2.2.1. Ovalbumin	8
2.3.2. Konalbumin (Ovotranszferrin)	9
2.3.3. Ovomukoid	9
2.3.4. Ovomucin	9
2.3.5. Lizozim	10
2.3.6. Ovoglobulinok	10
2.3.7. Ovoinhibitor	10
2.3.8. Ovoglikoprotein	10
2.3.9. Ovoflavoprotein	11
2.3.10. Ovomakroglobulin	11
2.3.11. Cisztetin	11
2.3.12. Avidin	11
2.4 Újszerű tartósítási módszerek	12
2.5. A NIR technika kialakulása, működési elve	15
2.5.1. A közeli infravörös spektroszkópia áttekintése	15
2.4.2. A közeli infravörös spektroszkópia kialakulása	16
2.5.3. A közeli infravörös spektroszkópia alapjai	17
2.5.4. A közeli infravörös technika előnyei és hátrányai az élelmiszervizsgálatoknál	18
2.6. A DSC technika	20

2.7. Az alkalmazott statisztikai módszerek	21
2.7.1. Diszkriminancia analízis (Canonical Discriminant Analysis, CDA)	21
2.7.2. Polár minősítő rendszer (PQS)	22
2.7.3. Részleges Legkisebb Négyzetek módszere (PLS).....	23
3. Célkitűzés	24
4. Anyag és módszerek	25
4.1. A mérések során felhasznált minták.....	25
4.2. A NIR mérések során felhasznált módszerek.....	26
4.3. DSC mérés során felhasznált módszerek.....	26
4.4 A minták és a légtér hőmérséklet változásának mérésére felhasznált eszköz és módszer	27
5. Eredmények és kiértelzésük	28
5.1 A minták és a légtér hőmérséklet változása.....	28
5.1 Kalorimetrikus mérési eredmények.....	29
5.2. Közei infravörös technika eredményei, összehasonlítások	31
6. Összefoglalás.....	40

1. Bevezetés

Az élelmiszeriparban a nagyüzemi tészta-és kekszgyártók támasztottak először igényt a tojás, mint nyersanyag „technológiához kész” formában történő előállítására. Majd ezt követően a gyakorlat sikerességét felismerő gazdasági ágazatok, igényeit kielégítve, egyre nagyobb volumenűvé vált az egész tojás e fajta feldolgozása. Különböző tartósítási eljárásokat fejlesztettek ki, hogy ezeket a termékeket minél hosszabb ideig tudják felhasználni. A tartósító eljárást a tojás állati eredete indokolja mivel, a szárnyas bélcsatornájával és környezetével való kapcsolat révén külső felülete erősen szennyeződik. A feltört tojásba mikrobák kerülhetnek a héjről, amelyek ott gyorsan elszaporodhatnak, mivel a tojáslé kiváló tápoldat a baktériumok számára.

A mikrobaszám csökkentésére legelterjedtebb eljárás a pasztörözés. Pasztörözés után hűtve tárolás vagy a tojáslé porlasztva szárítása a következő technológiai lépés, melyeket követően a tojáslé-termékek élelmiszerbiztonsági szempontból megfelelő minőségben jutnak el a fogyasztókhoz. A fogyasztók jobban kedvelik ezeket a termékeket, mert ezek technológiailag kész formában vannak.

A piaci verseny megkívánja a hűtve forgalmazott tojáslé-termékek eltarthatósági idejének növelését. Ennek értelmében viszont az eddigi pasztörözési eljárásoknál hatékonyabb csíraszám csökkentésre van szükség. Az eljárás ilyen irányú fejlesztésére a Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar Hűtő és Állatitermék Technológiai Tanszék kidolgozta a hosszú ideig tartó hőkezeléses (hőntartásos) technológiát. Ezen hőkezelés során a tojásleveket a hagyományos pasztörözési hőmérsékletnél alacsonyabb hőmérsékleten, 50-55°C-on hosszabb hőntartással 12-24 órán át hőkezelik. Így a fehérjék komolyabb károsodása nélkül megfelelő értékre csökkenthető a baktériumok száma.

Céлом volt megvizsgálni, hogy bekövetkeznek-e változások az általam vizsgált hőmérsékleteken (50-55-60°C) kezelt tojásfehérje-lé mintákban. Valamint, igazolni, hogy a közeli infravörös spektroszkópia (NIR) hatékony eszköz lehet a tojásfehérje-lé hőntartásos hőkezelésének ellenőrzésére. Továbbá megvizsgálni azt hogy milyen összefüggések vannak a minták NIR spektrumai és kalorimetrikus tulajdonságai között a hőntartás után.

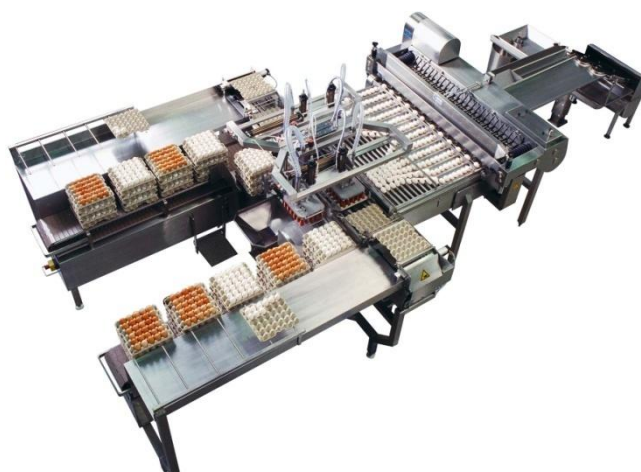
2. Irodalmi áttekintés

2.1. Tojás feldolgozása, szeparálása

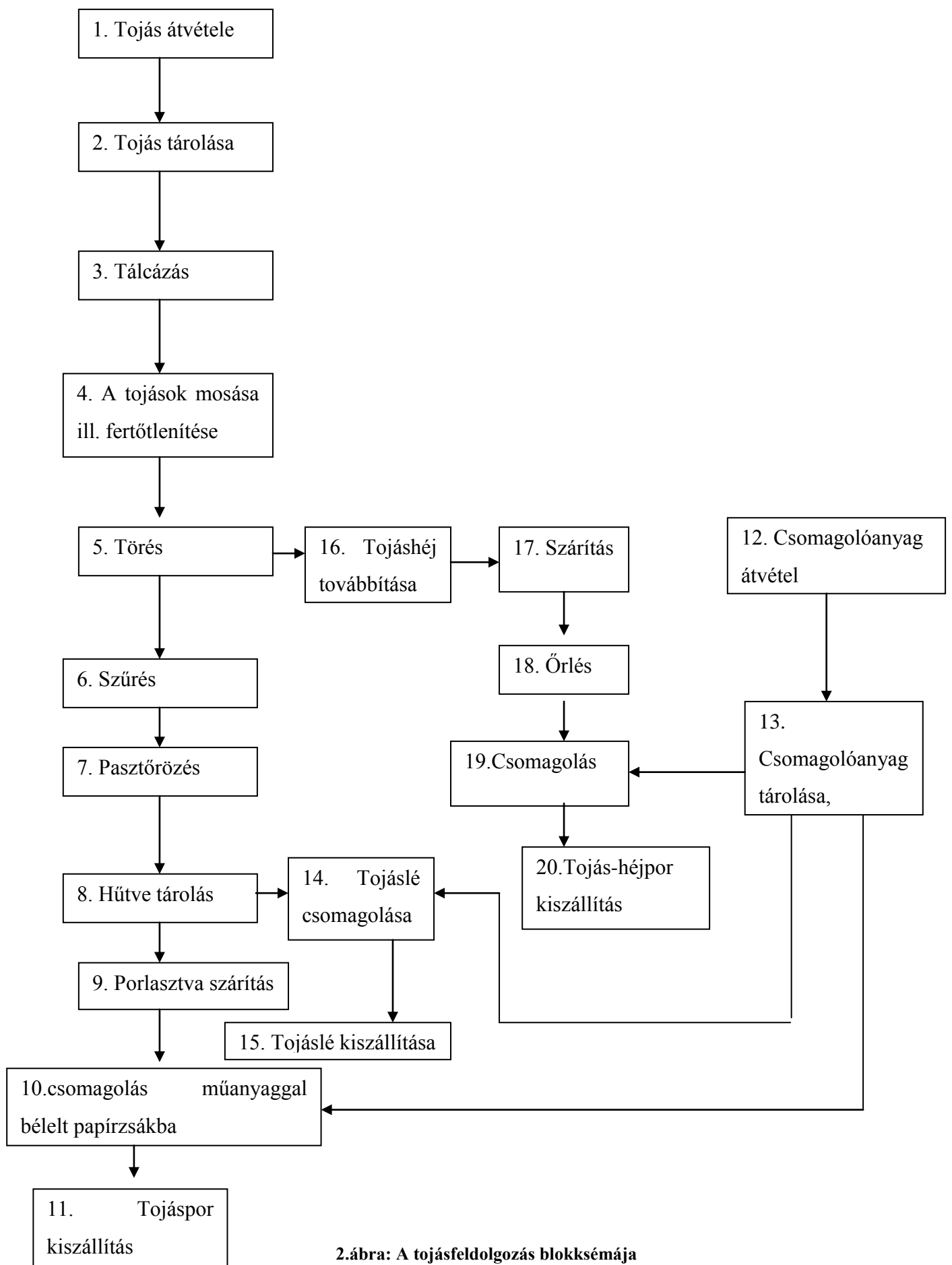
A tojás feldolgozása a tojás szállításával majd az átvételével kezdődik meg. Csak hatóság által vizsgált baromfitelepekről történhet a beszállítás. Az átvétel történhet darabszámba illetve tömegre is. Az előbbi átvételi forma belföldi telepekről érkező szállítmányokra jellemző még az utóbbi az import tojás szállítmányok átvételére vonatkozik. Az átvétel után a tojásokat a könnyebb mozgathatóság és hozzáférhetőség érdekében tálcákra helyezik valamint néhány feldolgozó telepen előfordulhat a méret szerinti szétválogatás is. A tojásokat átvételtől a törőgépre való felhelyezésig maximum 16 °C-on tárolják.

A baromfitelepen lévő tojó állomány tartási körülményei jelentősen befolyásolják a feldolgozó üzembe érkező tojás felületén lévő mikroba számot, ami 10^2 - 10^8 mikrobacejt/tojás értékek között mozoghat. Ezért a felületi mikrobaszám csökkentése céljából fontos valamilyen fertőtlenítési eljárást alkalmazni. (Bíró, 1993)

Törés közben a folyamat rövid időtartama miatt nem kell hűtést alkalmazni. A tojástörő berendezések képesek a héj szeparálására és általában a tojásalkotók szétválasztására is, ez változtatható attól függően, hogy teljes tojást vagy külön tojásfehérjét és sárgáját kívánják-e feldolgozni.



1. ábra: Tojástörő, szeparáló berendezés (www.ovobel.com)



2.ábra: A tojásfeldolgozás blokk-sémája

A feltört tojás héját szállítócsiga segítségével egy külön helyiségbe szállítják, hogy ezzel is csökkentsék a mikrobás szennyeződés esélyét. A törést szűrés követi, amelynek a lébe került héjrészek eltávolítása a célja. Kombinálható homogenizátorral. Innen általában puffer tartályoknak nevezett tároló tartályokba kerül a tojáslé, ahol a további feldolgozásig 4 °C-on tartják. A friss tojáslé ezen a hőmérsékleten kb. 24 óráig megőrzi eredeti minőségét, ennek ellenére a feldolgozásnál a technológiai lépések folyamatosságára kell törekedni (Stadelman, 1995).

A friss tojás belseje a héjat belülről bélelő keratin hártya és a fehérjében található védelmi anyagoknak (konalbumin, lizozim, avidin, pH≈9) köszönhetően általában steril (Duguid és North, 1991).

2.2. Tojás természetes védelmi mechanizmusai

A friss tojás belseje a héjat belülről bélelő keratin hártya és a fehérjében található védelmi anyagoknak (konalbumin, lizozim, avidin, pH≈9) köszönhetően általában steril (Duguid és North, 1991).

A héjas tojás védelmi funkciói:

- Glikoprotein réteg: meggátolja a mikrobák bejutását (a tojáshéj pórusain képesek lennének behatolni)
- Keratin hártya (kutikula): a mikrobák fehérjébe történő behatolását akadályozza
- Tojásfehérje pH-ja ≈ 8-9
- Mikrobaszaporodást gátló fehérjék

A feltört tojásból nyert tojáslében (tojás-melanzsban) a sárgájából nagy mennyiségben szabaddá váló biosz anyagok miatt megszűnik a fenti védelem. A létojás (tojáslé) ezért kiváló táptalaj a mikrobák számára. Ezért a tojásfeldolgozás egyik leglényegesebb lépése a hőkezelés. Ennek megtervezése és kivitelezése során figyelembe kell venni, hogy a tojásban található fehérjék hőre érzékenyek, magas hőmérsékleten kicsapódnak, a mikrobaszám minél nagyobb mértékű csökkentése viszont a hőmérséklet növelését indokolná (Froning et al., 2002).

2.3. Tojásfehérje hőérzékeny alkotói

A tojásfehérje egy ovomucin rostokból álló fehérjerendszer, amely számos globuláris fehérjét tartalmazó vizes oldatban helyezkedik el. A tojásfehérje fehérjéit és azok jellemzőit az 1. táblázat mutatja be. Ezek közül részarányuk miatt legfontosabbaknak az ovalbumint, a konalbumint (ovotranszferrin), az ovomukoidot, az ovomucint a lizozimet, a globulinokat, tekintjük.

1. táblázat: A tojásfehérje proteinei (LiChan et al., 1995):

Fehérje	Tojásfehérjét %-ban alkotja	Denaturálódása vízben [°C]	Izoelektro-nikus pont (pI)
ovalbumin	54	84,0	4,5
ovotranszferrin	12	61,0	6,1
ovomukoid	11	79,0	4,1
ovomucin	3,5	–	4,5-5,0
lizozim	3,4	75,0	10,7
G2 globulin	4,0	92,5	5,5
G3 globulin	4,0	–	4,8
ovoinhibitor	1,5	–	5,1
ovoglikoprotein	1,0	–	3,9
ovoflavoprotein	0,8	–	4,0
ovomakroglobulin	0,5	–	4,5
cisztein	0,05	–	5,1
avidin	0,05	85,0	10

A tojássárgája összetétele bonyolultabb, leginkább úgy írható le, mint egy olyan komplex rendszer, amelyben változatos részecskék egy fehérje oldatban (livetin) vannak szuszpendálva (Chang et al., 1977).

A tojásfehérjét alkotó különböző proteinek eltérő hőtüró képességgel rendelkeznek, valamint némelyik fontos technológiai, ill. táplálkozásélettani tulajdonsággal rendelkezik.

2.2.1. Ovalbumin

Az ovalbumin, a tojásfehérjében lévő meghatározó fehérje, a foszfortartalmú glikoprotein csoportba tartozik, mivel a polipeptidhez egy szénhidrát és több foszfát rész kapcsolódik. Az

egyetlen szénhidrát rész a 292. számú aszparagin származékon keresztül kapcsolódik a polipeptid lánchoz (Nisbet et al., 1981). Az ovalbumin az egyetlen a tojásfehérje fehérjéi közül, amelyben szabad szulfhidril-csoport fordul elő.

2.3.2. Konalbumin (Ovotranszferrin)

A konalbumin és az ovotranszferrin szinonim fogalmak. A tojásban megtalálható konalbumin, egy glikoprotein, mely fehérje része azonos a csirke vérszérumban lévő konalbumin és transferrin fehérjéjével, de a szénhidrát kiegészítő részek különbözők (Williams et al., 1962). A konalbumin hőérzékenyebb, mint az ovalbumin (Cunningham & Lineweaver, 1965) Ha 10 percig 57 °C-on tartjuk, kb. 40%-a denaturálódik, így pasztörözési technológiák méretezésénél az ovotranszferrin hőérzékenységét veszik leginkább figyelembe. Ugyanakkor a kicsapódás mértéke mérsékelhető. Amennyiben a konalbumin oldatot pH 9-re állítják be, és ugyanilyen körülmények között hőkezelik, a fehérje csak csekély mértékben denaturálódik. A konalbumin hőstabilitása abban az esetben is megnövekszik, ha a fehérjét a sárgájával összekeveredik (Woodward & Cotterill, 1983).

2.3.3. Ovomukoid

Az ovomukoid egy hőálló glikoprotein, amely főként savas oldatokban rendkívül ellenáll a hődenaturálódásnak, de lúgos tartományban (pH 9) 80 °C-on ez a fehérje gyorsan átalakul (Lineweaver & Murray, 1947). Az ovomukoid hődenaturálódásának ismerve a tripszin gátló tevékenység elvesztése és a kimotripsinnel történő hidrolízis sebességének növekedése. Feltehetőleg a helikális szerkezet változik meg a hőkezelés alatt.

2.3.4. Ovomucin

Az ovomucin, egy szulfáttartalmú glikoprotein, amely rugalmas rostokat képez, így hozzájárul a sűrű fehérje gélszerű szerkezetéhez. A tyúk tojásfehérjében két eltérő fajta ovomucin komplexről számoltak be (Hayakawa & Sato, 1977). Az egyik egy oldhatatlan ovomucin, amelyik a gél frakcióban vagy az egészen sűrű fehérjében, a másik, az oldható

ovomucin, a sűrű fehérje folyékony frakciójában vagy a híg fehérjében található.

Az ovomucin oldatban ellenáll a hő hatására bekövetkező módosulásoknak, a 7,1-9,4 pH közötti ovomucin oldatoknak 2 óráig tartó, kb. 90 °C-ra történő melegítése során nem változik meg viszkozitásuk és optikai áteresztő képességük (Cunningham & Lineweaver, 1965).

2.3.5. Lizozim

Tojásfehérje enzim, amelynek bontó hatása van a baktériumok sejtfalára (Johnson, 1966). A lizozim, mint enzim hő hatására történő inaktiválódása a pH-tól és a hőmérséklettől függ (Cunningham & Lineweaver, 1965). Amikor a lizozimet foszfát pufferben 7-es pH-n oldották, nem történt inaktiválódás 63 °C-on 10 perces hőntartás során, azonban amikor a pH-t 9-re emelték. 65 °C-on a 10 perces időtartam alatt az aktivitás 70%-ra lecsökkent. A lizozim körülbelül 50-szer érzékenyebb a hőre a tojásfehérjében, mint a foszfát pufferben.

2.3.6. Ovoglobulinok

Longsworth, Cannan, és MacInnes (1940) elektroforézis mozgó határfelületi módszerével bebizonyította, hogy a globulin frakció három G₁, G₂ és G₃ fehérjéből áll, amelyek hőtűrők és kitűnő habosító szerek (MacDonnell et al., 1955).

2.3.7. Ovoinhibitor

Ovomukoidtól eltérő fehérjebontó enzim inhibitor. Az ovoinhibitor képes gátolni a tripszint, a kimotripszint továbbá különféle gombákból és baktériumokból származó proteázokat (Tomimatsu et al., 1966).

2.3.8. Ovoglikoprotein

Ketterer izolálta és jellemezte a tojásfehérjéből származó glikoproteint, amelyet ovoglikoproteinnek nevezett el. Stabil glikoprotein, oldható marad még 100 °C-on történő

hőkezelés vagy triklór-ecetsavas kezelés után is. Keveset tudunk a tojásban betöltött funkcionális és biológiai szerepéről.

2.3.9. Ovoflavoprotein

Ez a fehérje a tojásfehérjében az összes riboflavin a flavoproteinhez kötődik 1:1 arányban. Az ovoflavoproteint néha riboflavin-kötő fehérjének vagy RBP-nek is nevezik. A riboflavin-kötő fehérje fő funkciója valószínűleg a riboflavin átszállítása a vérszérumból a tojásfehérjébe. Az apoprotein akkor sem veszít kötő képességéből, ha a fehérjeoldatot (pH 7) 15 percig 100°C-on melegítették (Rhodes et al., 1959).

2.3.10. Ovomakroglobulin

Az ovomakroglobulin gátló hatást fejt ki a tripszinre, a papainra és a termolizinre, azaz a különféle fehérjebontó enzimekre, amelyek rendre a szerin, a tiol és a fémproteázokat képviselik (Kitamoto et al., 1982).

2.3.11. Cisztetin

A cisztetin a tojásfehérjében körülbelül 60-80 µg/ml mennyiségben található (Barrett, 1981). A denaturálódással szembeni nagy stabilitását mutat mind magas hőmérsékleteken, mind szélsőséges pH-értékeken.

2.3.12. Avidin

Az avidin egy glikoprotein, amely a biotinnal kapcsolódva stabil komplexet képez (Wilchek & Bayer, 1990), melyet így hozzáférhetelenné tesz a Gram negatív mikrobák számára. Ezáltal gátolja azok szaporodását. Ez a glikoprotein négy azonos polipeptid alegységből épül fel, és alegységenként négy biotin molekulához kötődik. Kimutatták, hogy az avidin önmagában 70 °C-nál irreverzibilisen denaturálódik, de a komplex 100°C is stabil (Pritchard et al., 1966). Maradék avidin aktivitást bizonyítottak főtt tojásfehérjében is (Durance, 1991).

2.4 Újszerű tartósítási módszerek

A tojásfehérje-lé hőkezeléses tartósításának meghatározó problémája, hogy csak rövid ideig tudunk olyan hőmérsékleten a tartósítást elvégezni, ami magasabb a tojáslében lévő tojásfehérjék kicsapódási hőmérsékleténél. A leghőérzékenyebb tojás-fehérje a konalbumin mely denaturációja 57°C-on megkezdődik.

Az esetleges érzékszervi és funkcionális tulajdonságok romlása mellett további probléma a koagulációval, hogy a hőre érzékeny fehérjék kicsapódása komoly üzemeltetési problémákat okozhat az ipari hőcserélőkben is. Mivel a megfelelő mikrobapusztításhoz a minél magasabb hőmérsékletű és hosszabb idejű hőntartás lenne a alkalmas, elmondhatjuk, hogy a hőkezelés paramétereinek megválasztása a tojáslé-termékek esetében komoly optimalizálást igényel.

Ezen okok miatt új, nem hőkezelés jellegű élőcsíraszám csökkentő módszereket dolgoztak ki főleg *Salmonella*-fajok inaktiválására, melyek a lehető legkisebb hatással vannak a tojás tulajdonságaira. Ezeket az eljárásokat legtöbb esetben csökkentett hőmérsékletű hőkezeléssel kombinálják.

Az ionizáló sugárzás biztonságos és hatékony technológia, mely jól használható élelmiszerpatogének, közöttük különböző *Salmonella*-fajok inaktiválásához. Ezáltal csökkenthető alkalmazásával az ételmérgezések és ételfertőzések kockázata anélkül, hogy a besugárzott közeg hőmérséklete emelkedne. Azonban ez a fajta kezelés a teljes-tojáslé esetében nem terjedt el széles körben, mivel a tojás érzékszervi és funkcionális tulajdonságai relatív sugár érzékenyek. A teljes-tojáslé minőségére már 1,5 kGy sugárdózis is hatással van. Ez a sugárdózis csökkenthető, ha az ionizáló sugárzást más tartósítási technológiákkal kombinálva alkalmazzuk, ami által a termék minősége előnyösen változik.

Néhány ilyen kombinációs technika:

- ionizáló sugárzás és hőkezelés
- ionizáló sugárzás, alacsony hőmérséklet és módosított atmoszféra
- ionizáló sugárzás és magas hidrosztatikai nyomás
- ionizáló sugárzás és kémiai tartósítószer

A tojáslé pasztörözést javító eljárások sorába tartozik a pulzáló elektromos mező (pulsing electric field, PEF) alkalmazása is. A kezelés egyike az új, nem-termikus technikáknak, mely egyrészt tartósít, másrészt megőrzi a termék minőségi paramétereit. A módszer elpusztítja a mikroorganizmusokat, és eközben (ellentétben a hagyományos hőkezeléssel) elkerülhető a fehérjék denaturálódása, valamint az aromaanyagok eltávoztása. Hermawan és munkatársai (2004) teljes-tojáslé vizsgálatát végezték el pulzáló elektromos mező, valamint PEF és alacsony hőmérsékletű hőkezelés (55 °C, 3,5 perc) kombinációjának alkalmazásával.

Hermawan kutatócsoportjának eredményeiből kiderül, hogy a PEF hőkezeléssel megfelelően kombinálva alkalmas lehet a kívánt mikrobiológiai tisztaság kialakítására, valamint a termék tulajdonságait nem változtatja meg oly mértékben, mint a hagyományos hőkezelés.

Az US 5019408 szabadalmi irat (Swartzel et al., 1991a) teljes tojáslé folyamatos áramban való pasztörözéséről számol be. Az alkalmazandó hőmérséklet és tartózkodási idő megállapításához az egyenértékponthoz meghatározás módszerét alkalmazták. Megfigyelésük szerint a pasztörözés hőmérsékletét és idejét az oldható fehérjék vesztesége határozza meg, ugyanis a funkcionális tulajdonságokat akkor tartják elfogadhatónak, ha ez a veszteség 5%-nál kevesebb. Az 5%-os SPL határhoz tartozó hőmérséklet és idő értéke grafikusán kiszámítható. A fehérjekicsapódás problémája 80°C-nál nem enged meg nagyobb egyenérték hőmérsékletet. Ilyen körülmények között a *Salmonella* spp. száma 9 nagyságrenddel mérséklődik, míg a *Streptococcus faecalis* esetében 7 nagyságrend csökkenés valósul meg.

Az eljárás során a 4°C-os tojáslevet először homogenizálják, fűtött felület segítségével előmelegítik, majd az egyenértékponthoz tartozó ideig egyenérték hőmérsékleten tartják, végül hűtik. Aszeptikus technológiával csomagolva 8-36 hétig felhasználható.

Az US 5019407 számú szabadalmi iratban (Swartzel et al., 1997) szintén teljes tojáslé pasztörözését írják le, azonban szeparált fehérje és sárgája áramokkal. A módszer teljes tojáslé folyamatos áramú pasztörözése, melyben külön fehérje áramot hoznak létre. A sárgája áramot felmelegítik egy olyan hőmérsékletre (78°C), mely a fehérje áram legmagasabb hőmérsékleténél (kb. 62°C, de létezik olyan módszer is, melynél a fehérjét külön nem hőkezelik) nagyobb, majd újra egész tojáslé árammá egyesítik a két áramot, ami egy újabb meghatározott hőmérsékletet (67°C) vesz fel, amellyen kb. 2,5 percig tartják. Az újraegyesítés előtti hűntartás idejét olyan rövidnek választják meg, amely még elegendő mindkét áramban a

Salmonella spp. 9 nagyságrenddel történő csökkentésére. A második hőntartás után a részecskéket homogenizálják, majd aszeptikusan csomagolják. Az így kapott termék 4°C-on eltartható akár 4-6 hétig.

Egy amerikai szabadalom (Bryson et al., 1995) koleszterin- és zsírcsökkentett tojás pasztörözését írja le. A termék nagyrészt tojásfehérjéből áll, minimum 95%-ban vagy teljes egészében. A pasztörözés folyamán az egyik célkitűzés, hogy a konalbumin maximum 50%-a koagulálódjon (60°C-on kezd denaturálódni), és az ovalbumin se csapódjon ki szignifikáns mennyiségben, ugyanis a tojásfehérjében ez a két fehérje található meg legnagyobb mennyiségben. Lehetőség van a pasztörözés hőmérsékletének emelésére anélkül, hogy ez a tojás fizikai tulajdonságaira negatív hatással lenne (US 3251697). Ennek érdekében a még kezeletlen tojásléhez többértékű fémsókat (alumínium, vas, réz, nikkel, kobalt, cink, kadmium) adagolnak, amelyek hőstabil komplexet képeznek a konalbuminnal. Egyes kutatások (US 3840983 és US 3251697) szerint a hőkezelés ilyen hőmérsékleten 58°C-on 5 percig végezhető. Szintén hőmérséklet-emelés érhető el szerves kén 0,005-0,5 (m/m) %-os alkalmazásával.

Egy másik tojáslé pasztörözési módszerről számol be az US 6024999 számú szabadalom (Hamid-Samimi, 2000). Itt a termék pasztörözését már fogyasztói csomagolásban végzik el. A későbbi felhasználáshoz, fogyasztáshoz megfelelő térfogatú nyers tojáslevet legalább 57°C-ra, de a pasztörözés megkezdéséhez megfelelő hőmérsékletre előmelegítik. Az előmelegítés előtt adott esetben baktériumölő anyagot vagy tartósítószer (H₂O₂) adagolnak a termékbe. A terméket homogenizálják, majd ezen a hőmérsékleten a töltőgép segítségével a csomagolóanyagba pumpálják és légmentesen zárják. A csomagolóanyag lehet műanyag palack, fóliazacskó, fémdoboz, üvegedény vagy bármilyen más nem légáteresztő csomagolóanyag. A becsomagolt, előmelegített tojáslevet meleg tároló kamrába (tulajdonképpen pasztöröző melegítő egység) továbbítják, ahol a megfelelő ideig, de legfeljebb 60 percig pasztörözik ill. „hőntartják” az előmelegített terméket. A tojáslevet ezután megfelelő sebességgel (-2)-5°C tárolási értékre hűtik (itt is agitálással segítik a folyamatot), hogy az esetleg benne lévő baktériumspórák csírázását megakadályozzák. Lehűtési időnek kb. 17 percet ajánlanak. A módszer nagy előnye, hogy a csomagolási műveletnél nem kell aszeptikus körülményeket biztosítani, ugyanakkor kizárja a pasztörözés

utáni fertőződés lehetőségét.

Az előző bekezdésben ismertetett hőkezelési eljárásnak egy másik változata az FR 2788406 számú szabadalmi iratban (Liot, 2000) leírt módszer, amelyben hosszú eltarthatósági idejű tojáslé előállításáról számolnak be. A pasztörözés kivitelezhető tojásfehérje-lé, tojássárgája-lé, és teljes tojáslé esetében egyaránt, a különbség csak az alkalmazott hőmérsékletben van. A fehérje frakciót általában 40-55°C közé melegítik fel, míg a sárgáját vagy a teljes tojáslevet 50-70°C-ra (az alkalmazott hőmérséklet általában 45°C illetve 55°C). A felmelegített tojáslevet melegen csomagolóanyagba töltik és azután meleg tárolóban, pl. a teljes tojáslé esetében 55°C-on 30 perctől 4 napig terjedő időtartamig tartják ezen a hőmérsékleten, majd a termékeket 20°C-ra hűtik vissza. A késztermék ez esetben nem igényel hűtőtárolást.

2.5. A NIR technika kialakulása, működési elve

Ebben a fejezetben a NIR technológia kialakulásának legfontosabb lépéseit, valamint a technológia működésének elméleti alapjait mutatom be.

2.5.1. A közeli infravörös spektroszkópia áttekintése

Az élelmiszerbiztonságot garantáló minőségirányítási rendszer (HACCP) működésének egyik előfeltétele az, hogy gyors és megbízható vizsgálati módszerekkel információt kapjunk a termék minőségéről a gyártás különböző fázisaiban. A minőség meghatározás ily módon egyre növekvő fontosságot kap nemcsak a minőség értékelésének területén, hanem az önműködő folyamat- és gyártás területén is. Szükség van gyors, pontos mérőműszerekre, amelyek minimális mennyiségű anyagvesztéssel okoznak, roncsolás mentesen adnak információt a technológiai folyamatok megfelelőségéről. A termék minőségét számos különböző paraméterrel határozhatjuk meg, amelyek közül az összetételi paraméterek a legfontosabbak. A termék minőségi jellemzésére az összetételi paramétereket választjuk ki elsődleges jellemzőként, míg valamennyi többi paramétert másodlagosként értékeljük. Az olyan összetétel paraméterek meghatározása, mint a zsír-, fehérje-, víz-, szénhidrát-, rost-, karotin-, klorofil-, alkoholtartalom-, stb. tradicionális módszerekkel lassú, időigényes eljárás, amelyhez speciális eszközökre és vegyszerekre van szükség. Az elemzések végrehajtásához

szükséges idő lehetlenné teszi alkalmazásukat az automatikus termelésirányításban és az időigényes elemzés végrehajtása gazdaságtalan.

Két fő irányzatot ismerünk a műszeres összetétel vizsgálók fejlődésében. Egyrészt a klasszikus módszereket automatizálják, illetve megfelelő mérőműszereket alakítanak ki, amelyekkel biztosítható a reprodukálhatóság, pontosság és a gyors információ. Másrészt az indirekt módszereket használhatjuk, amelyek a fizikai, másodlagos paramétereket mérik az összetétel meghatározása céljából. Bár az 1990-es évek második felében a közeli infravörös spektroszkópia elérte azt az analitikai érettségi szintet, hogy a legtöbb kutatót, felhasználó számára inkább vizsgálatinak eszközeként, mint tárgyaként szolgál (McClure 2003), ettől függetlenül érdemes kialakulásáról, elméleti alapjairól, több tulajdonságáról rövid áttekintést nyújtani, mielőtt a tojásfehérje vizsgálatával kapcsolatban tárgyalnám.

2.4.2. A közeli infravörös spektroszkópia kialakulása

A kezdetek a XIX. századra tehetőek. Sir Frederic William Herschel, angol csillagász 1800-ban kelt tanulmányában számolt be kísérletéről, mely során azt a színt kereste a látható spektrumban, amely a napfény melegéért felelős. Egy üvegprizmával szétválasztotta a napfény „fehér” sugarát szivárvány színeire, majd befeketített tartályú hőmérőkkel megmérte hőmérsékletüket. Herschel feljegyezte, hogy az így leolvasott hőmérséklet a kék színtől a zöldön át a vörösre emelkedett, de ami meglepőbb volt, hogy a vörösön túli meg nem világított területen a tendencia folytatódott. Tekintve azt, hogy ez a tartomány az emberi szem számára láthatatlan, vörös alatti, azaz infravörös (infrared, IR) néven került feljegyzésre. Mivel a látható tartományban sokkal könnyebb volt dolgozni, ezért az IR technika csak a fénykép lemezek feltalálása után került ismét előtérbe: 1881-ben Abney és Festing a 700-1200 nm-ig terjedő közeli IR tartományt vizsgálták fényképezéssel. (Osborne, 1986)

A XX. század legelején Coblentz munkásságát kell kiemelni, aki maga építette IR spektrométerrel gyűjtött adatok mintázata alapján megállapította, hogy nincs két vegyület, amelynek egyforma lenne az IR spektruma, ha még ugyanazokból az atomokból állnak is (pl. etil-alkohol és dimetil-éter). Szintén hozzá kapcsolódik az a megfigyelés, mely szerint a hasonló kémiai csoportokkal rendelkező vegyületek hasonló IR elnyelési sávokat adnak (pl. hidroxilcsoport elnyelése az alkoholok, fenolok, karbonsavak esetén).

Ellis az 1920-as évek végén -még mindig tiszta, folyékony, szerves vegyületeket vizsgálva- a C-H csoportok elnyelésének segítségével alátámasztotta Coblenz sejtését a harmonikus rezgésekről. Ebben az időszakban Brackett szénhidrogének vizsgálata során lejegyezte, hogy a szénatomokhoz kapcsolódó primer, szekunder és terciér hidrogénatomok azonosítható savokat hoznak létre 1200 nm körül. Az 1940-50-es években tovább folytatódtak a folyadékok transzmissziós vizsgálata, illetve ekkor került a közeli IR erős elméleti alapokra: megszületett a magyarázat a két- és háromatomos molekulák spektrumára a csoport elmélet és a kiválasztási szabályok által. Az 1950-es évek közepétől megjelent műszerek, az elektromágneses spektrum ibolyántúli (ultraviolet, UV), látható (visible, VIS) és közeli IR tartományait egyszerre vizsgálták. Bár Kubelka és Munk már 1930-as években felvetette a diffúz reflexión alapuló mérés lehetőségét, de ez a mérési módzat gyakorlatilag csak Karl Norris 1960-as évek közepén publikált eredményei után kapott nagyobb figyelmet. Egyébiránt Norrist méltán nevezik a „modern közeli IR atyjának”, (Workman, 1992) hisz főként neki köszönhető, hogy a közeli IR technikát bevezették az analitika világában.

Az 1970-es évek elején már kereskedelmi forgalomban is kaphatóak voltak szűrős készülékek, elsősorban gabonaiipari célokra. A kezdeti időkben a technika alkalmazásának elterjedését jelentősen gátolta a számítástechnika kis teljesítménye, illetve hiánya. Az 1980-as évek elején a szűrős készülékek mellett már egyre szélesebb körben jelentek meg a billegő holografikus ráccsal felszerelt mérőműszerek, és erre az évtizedre tehető a kemometria nagyobb léptékű fejlődése a közeli IR területén. Ennek köszönhetően az 1990-es években a már bevált mezőgazdasági és az élelmiszeripari területeken kívül megnőtt az egyéb ipari (petrolkémiai, polimerkémiai, gyógyszerkémiai stb) alkalmazások száma. Az új évezred első évtizede a hordozható készülékek és a képalkotó eljárásokon alapuló „imaging” rendszereknek ad esélyt a térhódításra.

2.5.3. A közeli infravörös spektroszkópia alapjai

A közeli IR hullámhossztartománya 800-2500 nm között helyezkedik el, az irodalom is a nm skálát használja. Pontos optikai jelet két tartományban kaphatunk: transzmissziós méréseknél

rendszerint 800-1100 nm-es, míg a reflexiós méréseknél általában az 1100-2500 nm-ig terjedő régiót használják fel. A NIR/NIT technika a minta és az infravörös fotonok kölcsönhatását használja fel: a fénykvantum hatására a molekulák rezgési és forgási állapotai gerjesztődnek, eközben a fotonok egy része visszaverődhet (reflexió), elnyelődhet (abszorpció) vagy átalakulhat (transzmisszió), illetve bizonyos részük más utat járhat be.

A közeli infravörös spektroszkópia hazai fejlődése a hetvenes években megindult kutatásokban és műszerfejlesztésekben nyilvánult meg, ami főleg a reflexiós technikára terjedt ki. A mérés technika a korlátozott adatfeldolgozási lehetőségek miatt a gabonaiparban korlátozódott.

Bár a NIR alkalmazása leginkább a mezőgazdaság és az élelmiszeripar területén terjedt el, máshol is (szerves kémia, polimerkémia, gyógyszeripar, stb.) vizsgálták alkalmazhatóságát. A hardver- és szoftverfejlődés következtében a NIR és NIT mérés technika a biológiai objektumok tulajdonságai, illetve fiziológiás folyamatok, változások követésére is alkalmassá vált, ami roncsolás mentes jellege miatt egy sor előnyt eredményezett.

2.5.4. A közeli infravörös technika előnyei és hátrányai az élelmiszervizsgálatoknál

A közeli infravörös technika előnyös tulajdonságai miatt az utóbb évtizedekben széles körben terjedt el analitikai feladatkörök elvégzésére. Viszonylag egyszerű, gyors mérésekkel lehetőség nyílik nagy fontosságú és gazdasági jelentőségű mennyiségi és minőségi vizsgálatok elvégzésére. Számos előnye mellett azonban hátrányai is vannak a vizsgálati módszernek.

A közeli infravörös technika előnyei:

- A minta előkészítése olyan mértékben egyszerűsödik (pl. tej zsírtartalom mérésének vizsgálata), hogy a mérés a mintavétel helyszínén is elvégezhető. Azáltal, hogy a vizsgálatroncsolás mentes, nagyon kis mértékben avatkozunk be a mintában lejátszódó folyamatokba, így alkalom nyílik arra, hogy fiziológiai folyamatokat kövessünk nyomon, illetve élő rendszereket

vizsgálhassunk.

- A spektrumok komplex információ hordozói, és így több összetevő egyidejű meghatározására adnak lehetőséget.
- A minták fő kémiai alkotóelemin túl lehetőség nyílik azok minor komponenseinek (pl. klorofil, pigment), valamint fizikai jellemzőinek (pl. részecske mérete, keménység) mérésére is.
- A mérés időigénye jelentősen lecsökken a klasszikus, „nedves kémiai” módszerekhez képest. A minta állapotáról szinte azonnal kaphatunk információt, mely jelentősége egyes esetekben számottevő (pl. csomagolás előtti gyors betárolási feltételek optimalásánál).

A közeli infravörös technika hátrányai:

A mennyiségi meghatározás minden esetben kalibrációt igényel. A mérés pontossága jelentős mértékben a kalibrációs adatok - azaz a hagyományos analízis - mérési pontosságtól függ, ugyanis a közeli infravörös spektroszkópia összehasonlító (korrelatív) vagy másodlagos mérési technika, mely statisztikai alapokon nyugszik, és egy előzetesen validált laboratóriumi eredményeire épül. Míg a gyógyszerkémia területén találunk példákat mesterségesen előállított standardok használatára, addig az élelmiszeriparban való alkalmazások során a legtöbb kalibrációs minta természeti eredetű. A sokkomponensű természeti eredetű minták NIR/NIT spektrumai bonyolultak, „zsúfoltak”, ezért gyakran előfordul az, hogy ez egyik alkotóelem csoportrezgéseinek (lokális) abszorbancia-maximuma egybeesik a másikéval, és az intenzitások arányától függően többé-kevésbé elfedik egymást. (Az egybeesés egyik legegyszerűbb oka az lehet, hogy mind két alkotóelem ugyanazt az atomcsoportot tartalmazza. Ilyen például a hidroxilcsoport a víz és a szénhidrátok esetén.). A karakterisztikus vibrációs frekvenciák felhangjai olyan közel esnek egymáshoz, hogy a spektrum általában burkológörbe jellegű, a csatolt széles sávok miatt. Ez nehezíti az egyes csoportok azonosítását a spektrumban jelentkező elnyelési sávok értékelésénél. A hiteles mérések kivitelezése és kiértékelése ezért elképzelhetetlen statisztikai módszerek és számítógépek nélkül. Reflexiós mérés esetén a mintatartóban lévő minta felülete szolgáltatja az adatokat az adott mintáról, így az inhomogenitás, mintaszerkezet, felületi nedvesség, általában a minta változékonysága jelentős mértékben befolyásolhatja a mért adatokat.

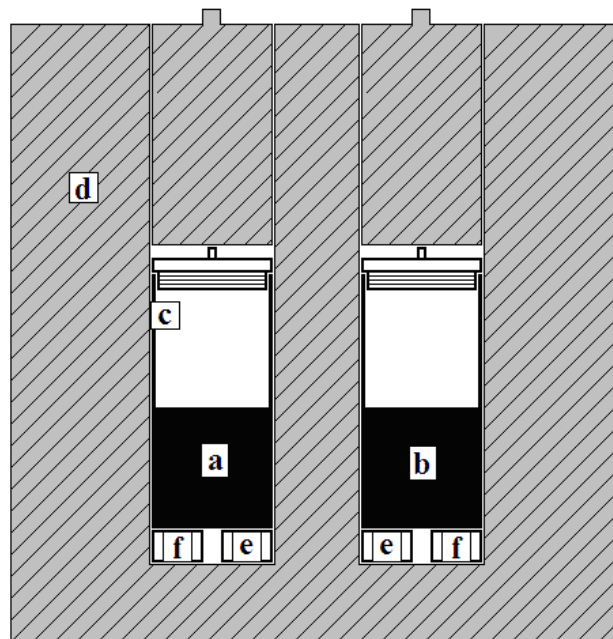
2.6. A DSC technika

A dinamikus kaloriméterek ideális eszközök különböző anyagokban lejátszódó hőeffektussal járó folyamatok gyors vizsgálatára. A mérés során a két mintatartóban elhelyezett mérendő, ill. referenciaminta hőmérséklete lineárisan növekszik az idő függvényében. A kapott jel arányos a két minta lineáris hőmérsékletnövekedéséhez szükséges teljesítmények különbségével. Ily módon, ha a mérendő mintában hőelnyeléssel vagy hőleadással járó folyamat játszódik le, a kimenőjelen egy pozitív vagy negatív csúcsot kapunk.

A csúcsok helyzetéből és alakjából következtetni lehet a lejátszott átalakulások jellegére és egy sor, az átalakulásra jellemző paraméter meghatározható. Ilyenek például az átalakulási hőmérsékletek, az átalakuláshoz szükséges hő, az átalakulás aktiválási energiája, stb. Ezeket a berendezéseket igen elterjedten használják folyadékokban és szilárd anyagokban lejátszódó kémiai reakciók, valamint fázisátalakulások vizsgálatára.

A hagyományos kaloriméterekhez képest nagy előnyük, hogy sokkal kisebb anyagmennyiséget (10-100 mg) igényelnek, továbbá, hogy gyorsan, széles hőmérséklettartományban adnak információt a lejátszódó folyamatokról. A berendezések érzékenysége függ a vizsgálandó átalakulás jellegétől, de általában 0,1-1 mW tartományban mozog. Két típusú dinamikus kalorimétert különböztetnek meg, az egyik az ún. *Differential Temperature Analiser* (a továbbiakban *DTA*), a másik az ún. *Differential Scanning Calorimeter* (a továbbiakban *DSC*). A kettő a hőmérsékletvezérlő rendszer visszacsatolásának módjában különbözik egymástól. A *DTA* esetében a kimenőjel a két minta eltérő melegedéséből adódó hőmérsékletkülönbséggel arányos (3. ábra). Ebből kell a berendezés és a minta tulajdonságainak felhasználásával a fűtéshez szükséges teljesítmény különbséget meghatározni. Ezzel szemben a *DSC* esetében a kapott jel közvetlenül arányos a fűtéshez szükséges teljesítmények különbségével, habár fontos megjegyezni, hogy a kapott jel itt is arányos a két minta hőmérséklet különbségével.

A *DSC*-n és a *DTA*-n kívül léteznek még egyéb, az anyagok termikus tulajdonságait vizsgáló pásztázó típusú berendezések, mint pl. a minta súlyváltozását detektáló ún. termograviméter (*TGA*), ill. a minta méretváltozását mérő ún. *TMA* (*Thermal Mechanical Analiser*).



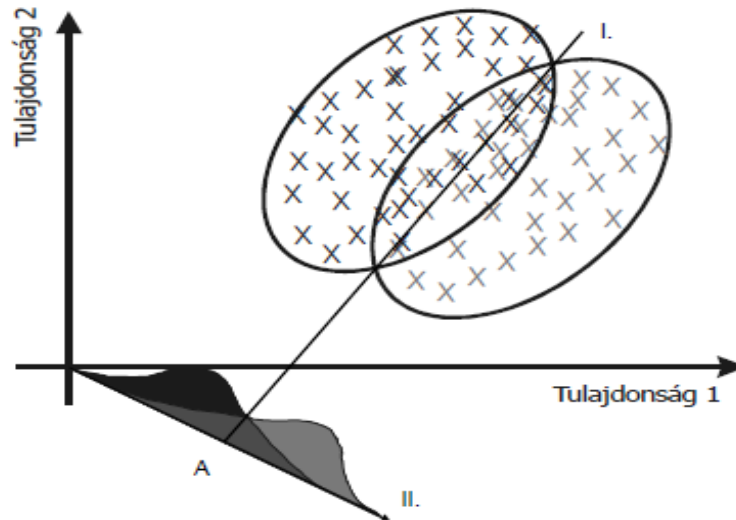
a - vizsgált minta, b - referencia minta, c - mintatartó tégely
d - szigetelés, e - fűtőellenállások, f - hőmérők

3.ábra: A DSC sematikus rajza

2.7. Az alkalmazott statisztikai módszerek

2.7.1. Diszkriminancia analízis (Canonical Discriminant Analysis, CDA)

Kanonikus diszkriminancia-analízis (*Canonical Discriminant Analysis, CDA*) a főkomponens elemzéssel szemben, hogy a teljes varianciát, hanem a csoportok közötti varianciát maximáljuk, miközben a csoporton belülit minimalizáljuk. Az algoritmus a megfigyeléseket a mintatérből egy olyan diszkrimináló térbe viszi át, ahol a csoportok a lehető legjobban elkülönülnek, és kiválasztja azokat a változókat, amelyek a csoportok különbözőségét határozottan magyarázzák. A szeparáló eljárás azokat a hiperfelületeket keresi, amelyek elválasztják egymástól a minta osztályait feltételezve, hogy az azonos osztályokban szereplő elemek “közel”, a különböző osztályokban szereplők pedig távol helyezkednek el egymástól. A módszer lényegében a következőképpen jár el (4. ábra): a két halmazt körülvevő szórás-ellipszis metszéspontjain át egyenest (I.) fektet, majd erre az origón átmenő merőleges egyenest illeszt.

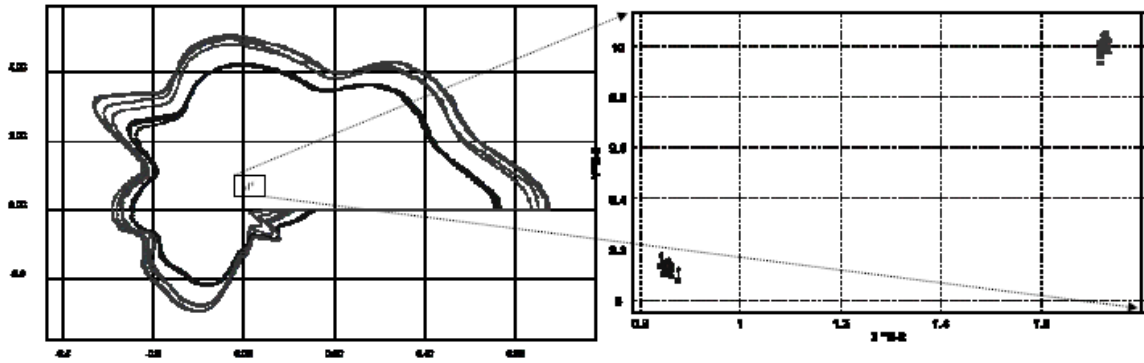


4.ábra : Adiszkriminancia-analízis elve

Amennyiben a pontokat a II. egyenesre vetítjük, akkor a két csoport egyváltozós eloszlása közötti átfedés kisebb lesz, mint bármilyen más egyenes esetén. Az I. egyenes segítségével osztható a minta két csoportba. Ha a szórás-ellipszisek átfednek az alkotott modell nem adja vissza az összes minta eredeti csoportba tartozását. A szétválasztás jósága annak alapján vizsgálható, hogy az elemek hányad részét sikerült helyesen besorolni. (Dalmadi *et.al.* 2007)

2.7.2. Polár minősítő rendszer (POS)

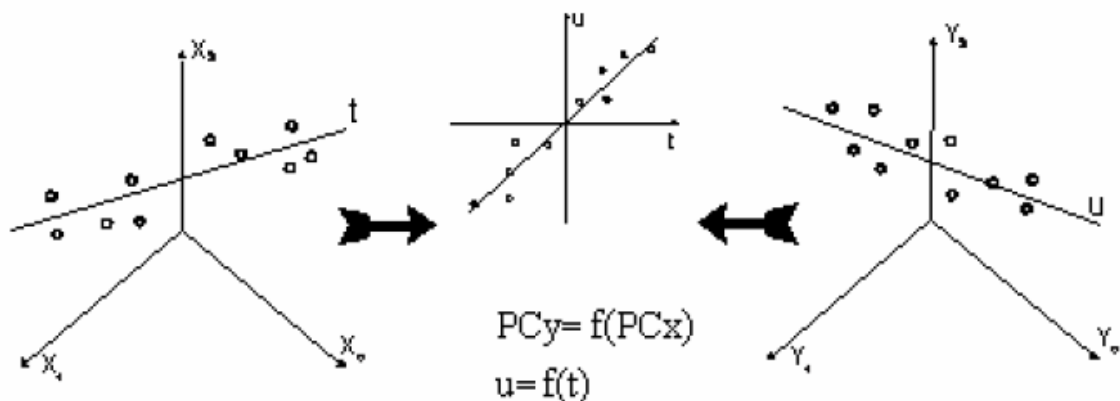
A polármiősítő rendszer (Polar Qualification System) egy geometriai elemzésen alapuló adatredukciós módszer, mellyel drasztikusan csökkenthető a változók száma (Kaffka, 2001). Ehhez a derékszögű koordinátarendszerben ábrázolt spektrumot a polár koordinátarendszerben ábrázoljuk úgy, hogy a sugár a spektrum érték, míg a szög a hullámhossz függvénye. Ezután meghatározzuk a polár spektrum középpontját. Néha előfordulhat, hogy a spektrumot a polár koordinátarendszerben ábrázolva a különbségeket hordozó csúcsok 180° -ra kerülnek egymástól, gyengítve a minőségpontokra gyakorolt hatását. Ez a probléma az úgynevezett „hullámhossztartomány optimalizálással” oldható meg. Ekkor az a hullámhossztartomány kerül meghatározásra, amely a két minta közötti legjobb elkülönülést biztosítja a minták elkülönülése alapján. (Dalmadi *et.al.* 2007)



5.ábra : Polár minősítő rendszer

2.7.3. Részleges Legkisebb Négyzetek módszere (PLS)

Részleges legkisebb négyzetek módszerével (*Partial Least Squares Regression, PLS*) módszerével. Általában a PLS jobb eredményeket ad (kisebb hibát és jobb értelmezhetőséget is), de ez nem szükségszerű. A jobb eredmények oka, hogy a függő változóban (y) meglévő információt is fölhasználjuk a becslés során, egyidejűleg modellezi a független és függő változót. A modell a számított rejtett változók számának növelésével egyre nagyobb mértékben írja le az adathalmazok összefüggéseit. A PLS ezekre a változókra részleges kalibrációkat alkalmaz a variancia összegének modellezésére, amelyeket a művelet végén egy átfogó kalibrációs egyenletbe gyűjt (6.ábra). Az optimális tagszám meghatározása a PLS kalibráció része: túl kevés változó esetén a kalibráció kevés információt hordoz és nagy predikciós hibával dolgozik, míg túl sok változó alkalmazáskor a modell túlilleszti a kalibrációs adatokat, és az így elveszti a robusztusságát, stabilitását. Az optimális tagszámot rendszerint keresztvalidálással határozzuk meg. (Dalmadi *et.al.* 2007)



6.ábra : A PLS regresszió elve

3. Célkitűzés

A felgyorsult gazdasági folyamatok egyre nagyobb igényt támasztanak a gyors, megbízható minőség meghatározó módszerek alkalmazása iránt az élelmiszeripar területén. Erre a kihívásra lehet válasz a gyors rutinanalízis céljára már mind az élelmiszeriparban és más iparágakban régóta használt közeli infravörös spektroszkópiai eljárás.

Számos kutatás bizonyította, hogy közeli infravörös spektroszkópia alkalmas fehérjékben és egyéb élelmiszer összetevőben (Lin et al., 2004; Ellis et al., 2002; Kaffka&Martin 1985), így a tojásfehérje fehérjéiben bekövetkezett változások vizsgálatára (Dalmadi et al., 2007; Andrassy et al. 2006; Wehling et al., 2006). Így alkalmas a hőkezelés során bekövetkező koagulációs folyamatok vizsgálatára is (Zardetto, 2005).

A DSC módszerrel már több esetben tanulmányozták a tojás fehérjéjének és annak frakcióinak hődenaturációját (Ferreira et al., 1997). Elsősorban a denaturáció entalpiájának (ΔH_d) meghatározását teszi lehetővé a tojásfehérje és annak egyes komponensei esetében, így alkalmas arra, hogy mennyiségi információkat szolgáltatson (Spink, 2008).

Mérések során céloim megvizsgálni, hogy a tojásfehérje-levek alacsony hőmérsékletű (50-55 valamint 60°C) hőntartása során közeli infravörös tartományban milyen változások figyelhetők meg. Továbbá a kapott eredményekkel összehasonlítást végezni a DSC mérésekből származó eredményekkel.

Dolgozatom alapvető célja annak igazolása, hogy a közeli infravörös spektroszkópiai technika hatékony eszköz lehet az állati termékek a tojás-fehérjéjé hőntartásának ellenőrzésére a tartósító kezelés közben, után vagy az árukiadásnál, illetve az áruátvételnél.

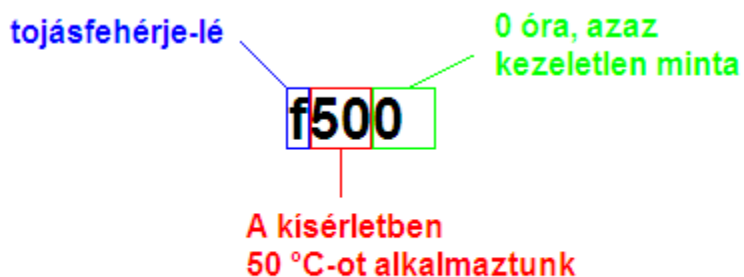
Továbbá ez a technológiai eljárás milyen változásokat idéz elő a tojás fehérjében, és ez a változás milyen módon befolyásolja a további technológiai folyamatokat. A kapott információknak irányító szerepet kell játszaniuk és ezért egy gyors, pontos meghatározási módra, betekintésre van szükség. Ezeket a feltételeket teljesíti a NIR technológia és a hozzá kapcsolódó fejlett szoftver.

4. Anyag és módszerek

4.1. A mérések során felhasznált minták

A tojásfehérje-lé mintákat egy magyarországi tojásfeldolgozó vállalattól szereztem be. A mintákat törés és homogenizálás (100 bar nyomáson réshomogenizátorral) után a pasztörözést megelőzően vettük a gyártóvonalról a méréseimet megelőzően 8 órával, és a vizsgálatok megkezdéséig 4 °C-on, hűtőszekrényben tároltuk azokat. A mérések során felhasznált tojáslevet egy tételben szereztem be, így azokat homogénnek tekintettem. A minták pH-értéke $8,9 \pm 0,2$ volt, és az összes élőcsíraszámuk $7,4 \cdot 10^3$ TKE·g⁻¹ és $3,4 \cdot 10^4$ TKE·g⁻¹ közötti volt.

A tojásfehérje-lé mintákat 50, 55 és 60°C-on 24 órán át hőntartottuk, és a bennük bekövetkező változásokat 3, 6, 9, 12 ill. 24 óra után vizsgáltuk. Méréseink során a mintákat az egyszerűség kedvéért rövidített kóddal jelöltük (a kiértékelésben többször előfordul). Ebben a kódban az első „f” betű jelöli, hogy tojásfehérje mintával dolgoztunk. A második 2 számjegy a kísérleti hőmérséklete adja meg, azaz 50, 55 és 60 lehet. Az utolsó 1 ill. 2 számjegy a kezelési időre vonatkozik, azaz 0 (kezeletlen, kontroll minta), 3, 6, 9, 12, 24 lehet. A többi minta jelölése az alábbi példa jelölések alapján történt(7.ábra).



7. ábra A minták jelölése

4.2. A NIR mérések során felhasznált módszerek

Méréseimet a MetriNIR 10-17 ST (8. ábra) típusú reflexiós készülékkel végeztem, 700-1700nm között 2 nm kaputávolsággal. A réshomogenizátorral és keveréssel egyneműsített tojásfehérje-lé mintákat 3 független betöltéssel, 90°-os elforgatással mértem. A spektrumok kiértékelését diszkriminancia analízissel (DA, alkalmazott software: SPSS 15.0) és polár minősítő rendszerrel végeztem (PQS, alkalmazott software: PQS 1,56). (Kaffka & Seregély, 2002).



8.ábra: METRINIR 10-17 ST

4.3. DSC mérés során felhasznált módszerek

A kalorimetrikus méréseket MicroDSC III. típusú készülékkel végeztem. A tojáslé minták lemért tömege 500 mg \pm 0,1 mg volt, referencia oldatként desztillált vizet használtam. Néhány esetben elvégeztem második felfűtést is, de semmilyen reverzibilis jelenséget nem figyeltem meg. A kiértékelést a készülékhez tartozó Seftsoft2000-s program segítségével végeztem.

4.4 A minták és a légtér hőmérséklet változásának mérésére felhasznált eszköz és módszer

A termosztát légtérének és a tojáslé-termékek hőmérsékletének mérésére Testo 454 típusú mérőműszert (9.ábra) és hozzá tartozó szoftvert használtam. A tojáslé-minták maghőmérsékletét, valamint a levegővel érintkező felületéhez közel eső „kérgeben” (üvegfaltól számított 5 mm távolságban) mért hőmérsékletét vizsgáltam.



9.ábra: Testo 454 típusú mérőműszert

5. Eredmények és kiértelésük

A NIR és DSC méréseknél 50-55-60 °C-os hőkezelések után végeztem a méréseimet. A NIR méréseknél jól látható volt az, hogy az 50-55°C-os hőkezeléseknél a mérési eredményekből származó csoportok nagyon közel helyezkednek el egymáshoz. A 60 °C-os kezelésnél a csoportok teljesen jól elkülönülnek a hőkezelési idő függvényében. A DSC-vel végzett mérések ugyanezeket az eredményeket támasztották alá, ezért a NIR-DSC értékek összehasonlításnál a két „szélső” hőkezelési hőmérséklethez (50-60°C) tartozó mérési eredményeit használtam fel.

5.1 A minták és a légtér hőmérséklet változása

A minták hőmérséklete a mérés első szakaszában folyamatosan növekedett, mivel időt vett igénybe, míg a különböző tojáslé minták felvették a termosztát légtérének hőmérsékletét (1. táblázat). A táblázatból jól kivehető, hogy a vizsgálataink elején nem érté el a minták a letális hőmérsékletet.

Az eredményeim azt is jól szemléltetik, hogy bár a termosztát légtérében a szabályozórendszer hibájából előfordulhattak $\pm 0,5$ °C-os hőmérsékletingadozás, a tojáslé-termékek hőmérséklete a hődinamikai tehetetlenségük miatt csak nagyon kis mértékben ingadozott ($\pm 0,1$ °C).

Leggyorsabban a tojásfehérje-lében indult meg az élőcsíraszám csökkenés. Ennek egyik oka a tojásfehérje lúgos kémhatása mellett a lizozim, a konalbumin és az avidin szaporodás gátló, ill. sejtpusztító hatása (IBRAHIM et al., 2000; CASTELLANO et al., 2001; PARK et al., 2006; BOARD & FULLER, 2008).

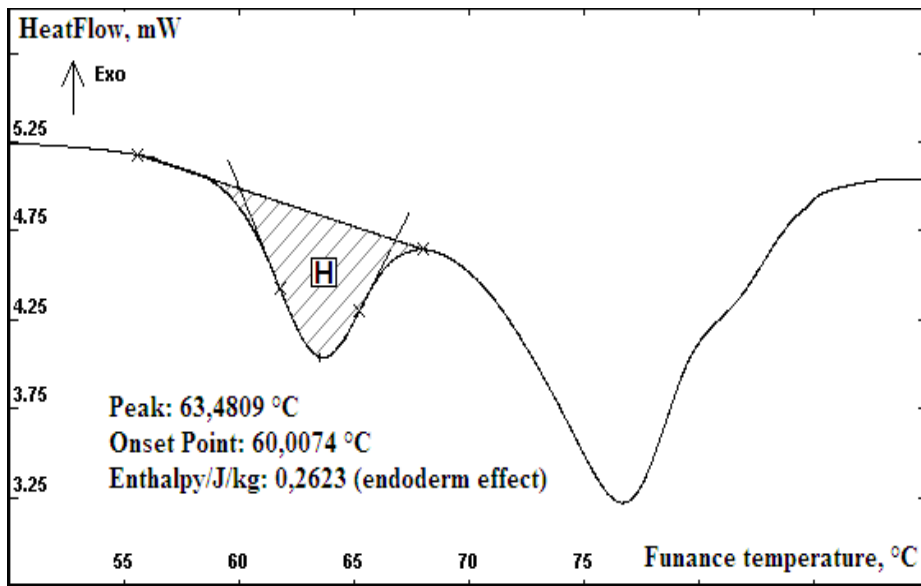
2. táblázat. A minták és a légtér hőmérsékletének változása

Idő (min)	Minták hőmérséklete (°C)						
	fehérje-lé		teljes-tojáslé		sárgája-lé		légtér
	T(mag)	T(kéreg)	T(mag)	T(kéreg)	T(mag)	T(kéreg)	
0	4,0	4,4	4,0	4,3	4	4,2	45,3
10	22,3	25,2	21,4	23,8	19,6	22,6	53,6
20	36,2	39,8	34,6	37,7	33,8	36,5	54,8
30	43,3	46,2	41,4	44,7	39,7	42,5	55,1
40	46,9	49,3	44,8	47,3	43,8	46,7	55,0
50	49,9	51,7	48,2	50,3	47,0	49,8	55,1
60	51,8	53,9	50,0	51,7	48,6	51,5	54,8
70	54,2	55,0	52,2	53,0	49,8	52,4	55,0
80	54,5	54,8	53,3	53,9	51,7	52,9	54,6
90	54,8	55,0	53,6	54,1	52,4	53,1	55,2
120	55,0	55,2	54,2	54,7	53,9	54,3	55,1
150	55,1	55,0	54,9	55,1	54,9	54,9	54,9
180	54,9	54,9	55,0	55,0	55,0	54,9	54,8
240	55,1	55,0	55,0	55,0	55,0	55,0	54,9
300	55,1	55,0	55,1	55,1	55,1	55,1	55,2
360	54,8	54,8	54,9	54,9	55,0	54,9	54,7

Azért az 55 °C-os hőmérsékletváltozás táblázatot mutatom be, mert a technológiának a szélső értékei 50-60 °C. Így egy átlagos hőmérsékletváltozást látunk, amely magasabb hőmérsékleten az idő függvényében valamennyivel gyorsabban; alacsonyabb hőmérsékleten lassabban a technológia számára a megfelelő hőmérsékletet. A hőmérsékletváltozás vizsgálatát irodalmi és publikációs eredmények alapján terveztem és végeztem el.

5.1 Kalorimetrikus mérési eredmények

A tojásfehérje-lében az észlelt endoterm jelenségek jellemzően összhangban vannak a protein denaturációval. A tojásfehérje 4 fő komponens közül (konalbumin, lizozim, ovalbumin, lobulinok) azonban a homogenizálás miatt a lizozim és a konalbumin csúcsainak egybeolvadása volt megfigyelhető (tojásfehérje első kalorimetrikus csúcsa). Mivel az általam vizsgált legmagasabb hőmérsékleten, 60 °C-on is csak a konalbumin-lizozim frakciónak változott meg a kalorimetrikus állapota, így a DSC eredmények közül, DSC-NIR eredmények összefüggésének vizsgálatánál e frakció entalpiáját vizsgáltam. Denaturációjuk 60 °C-on kezdődött meg, míg a denaturálódási csúcshőmérséklet 63 °C környékén volt (10. ábra).



10.ábra : Natív tojásfehérje-lé termogramja szerinti értékelése

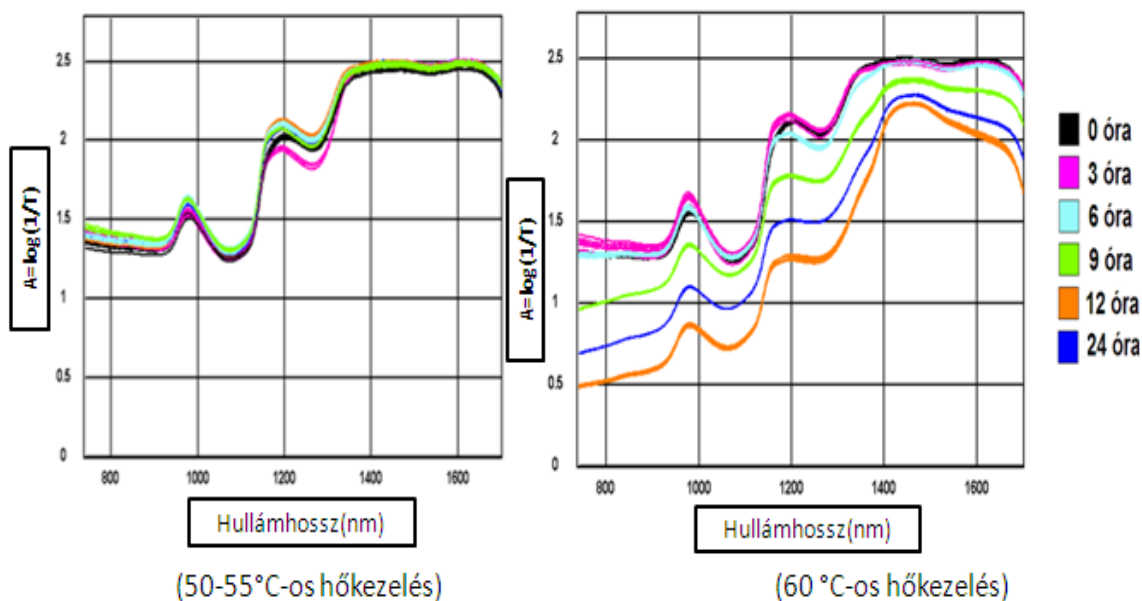
Mérési eredményeim alapján az 50 ill. 55 °C-on kezelt tojásfehérje minták első kalorimetrikus csúcsában mért denaturációs entalpia értékek nem változtak szignifikánsan, azonban a 60 °C-on inkubált minták denaturációs entalpiája csökkent a kezelési idő növekedésével (3. táblázat). A 60 °C-on kezelt minta konalbumin frakciójának denaturációs entalpiája már három órás hőntartás után szignifikánsan ($P < 0,05$) eltért a kezeletlen mintáéhoz képest.

3. táblázat. A konalbumin frakció denaturációs entalpiájának változása különböző hőntartási hőmérsékleteken:

<u>Kezelési idő</u>	<u>Konalbumin denaturációs entalpiája ($J \cdot kg^{-1}$)</u>		
	50 °C-os kezelés során	55 °C-os kezelés során	60 °C-os kezelés során
0 h	0,29586±0,002711	0,29597±0,002045	0,29560±0,002225
3 h	0,29648±0,002834	0,29591±0,002617	0,28984±0,002504
6 h	0,29524±0,002974	0,29619±0,002294	0,26688±0,002620
9 h	0,29546±0,002554	0,29571±0,003112	0,21928±0,002899
12 h	0,29526±0,002348	0,29534±0,002588	0,16250±0,001914
24 h	0,29528±0,002012	0,29665±0,002671	0,09874±0,004045

5.2. Közeli infravörös technika eredményei, összehasonlítások

A homogénezett tojásfehérje lé minták jellegzetes NIR alapspektrumait a matematikai-statisztikai értékeléseket megelőzően „simítottam”. A 60°C-on tárolt tojásfehérje-lé mintákon szemmel is jól látható módon elkülönültek a különböző mérési időponthoz tartozó spektrumok (11. ábra). A hőkezelési idő növekedésével az alapspektrumok intenzitása csökken.

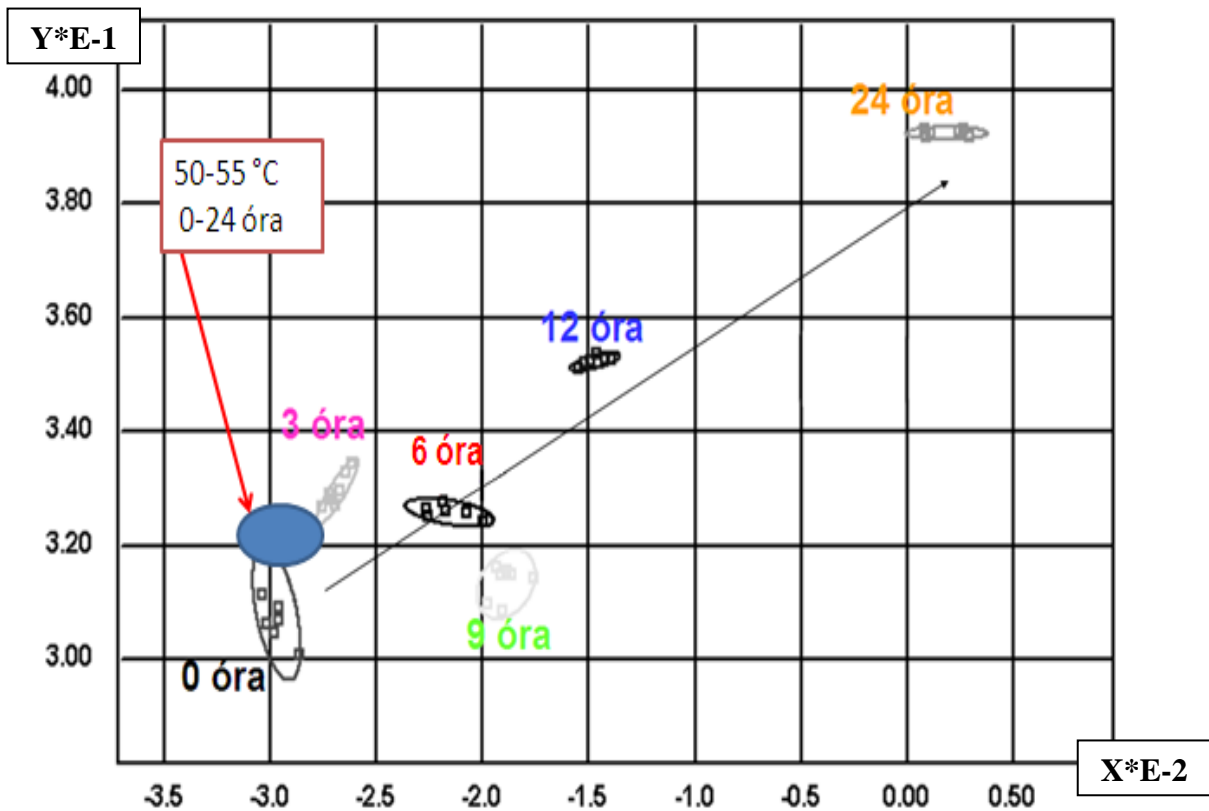


11. ábra. 50-55 és 60°C-on hűn tartott tojás fehérje-lé minták közeli infravörös log I/R spektruma 700-1700nm-es hullámhossz tartományban

Az 50-55°C-on történő hűntartás során mért minták spektrumai már sokkal homogénebb képet mutattak (11. ábra). A 24 órán át 60°C-on hő kezelt tojásfehérje lé minták minőségpontjainak elhelyezkedése figyelhető meg a 11. ábrán. Az eltolódást már a minták alapspektrumai is előrevetíttek.

Megfigyelhető továbbá, hogy a csoportokon belüli szórás igen kicsi, a csoportok közötti viszont nagy így a 24 óra alatti vizsgálati időpontok minőségpontjai között nincs átfedés.

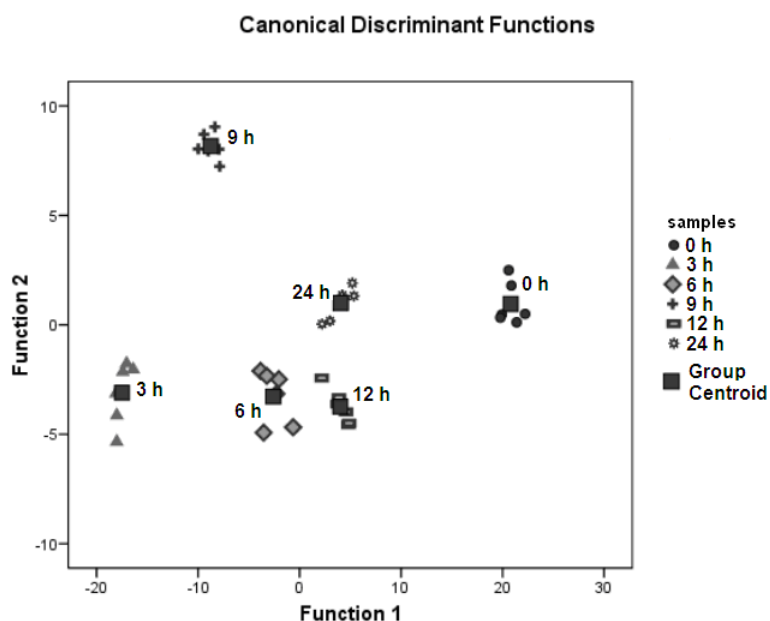
Az 50-55°C-on 0-tól 24 óráig tartó hőkezelések minőségpontjait együtt ábrázoltam a 60°C-os hőkezelés minőségpontjaival és így az 50-55 °C-on 0-tól 24 órás hőkezelések minőségpontjai egy nagy pontfelhőben helyezkednek, el jól elkülönülve a 60 °C-os hőkezelés minőségpontjaitól (12. ábra).



12. ábra. 50-55 és 60°C-on hőntartott tojásfehérje-lé minták PQS minőségpontjai elhelyezkedése 0- 24 órás kezelés alatt

A diszkriminancia analízissel meghatároztam, hogy a különböző hőmérsékletű hőntartás során, az egyes időpontokhoz tartozó spektrumok csoportjai között milyen az átfedés. A 13. ábrán látható, hogy 50°C-on hőntartott tojásfehérje-lé minták külön csoportokba jól elkülönültek, amit alátámaszt a tévesztési mátrixa is (4. táblázat). A keresztvalidált minták helyesen besorolása 100%.

Az 55°C-os hőntartás során az 50°C-os hőntartás eredményeihez hasonló eredményeket kaptam. A diszkriminancia analízis az összes mintát vizsgálva itt is 100%-os eredményt adott.



13.ábra: 50-55 °C-on hőtartott tojásfehérje-lé minták diszkriminancia analízis score plotja az első két diszkrimináló függvény alapján 900-1300nm közötti tartományra

4. táblázat. 50 °C-on hõn tartott tojásfehérje-lé minták diszkriminancia analízis teljes kereszt validációjának tévesztési mátrixa

Classification Results^{b,c}

samples		Predicted Group Membership						Total		
		0h	3h	6h	9h	12h	24h			
Original	Count	0h	6	0	0	0	0	0	6	
		3h	0	6	0	0	0	0	6	
		6h	0	0	6	0	0	0	6	
		9h	0	0	0	6	0	0	6	
		12h	0	0	0	0	6	0	6	
		24h	0	0	0	0	0	6	6	
		%	0h	100.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
			3h	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	100.0
			6h	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	100.0
			9h	.0	.0	.0	100.0	.0	.0	100.0
Cross-validated ^a	Count	0h	6	0	0	0	0	0	6	
		3h	0	6	0	0	0	0	6	
		6h	0	0	6	0	0	0	6	
		9h	0	0	0	6	0	0	6	
		12h	0	0	0	0	6	0	6	
		24h	0	0	0	0	0	6	6	
		%	0h	100.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
			3h	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	100.0
			6h	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	100.0
			9h	.0	.0	.0	100.0	.0	.0	100.0
		12h	.0	.0	.0	.0	100.0	.0	100.0	
		24h	.0	.0	.0	.0	.0	100.0	100.0	

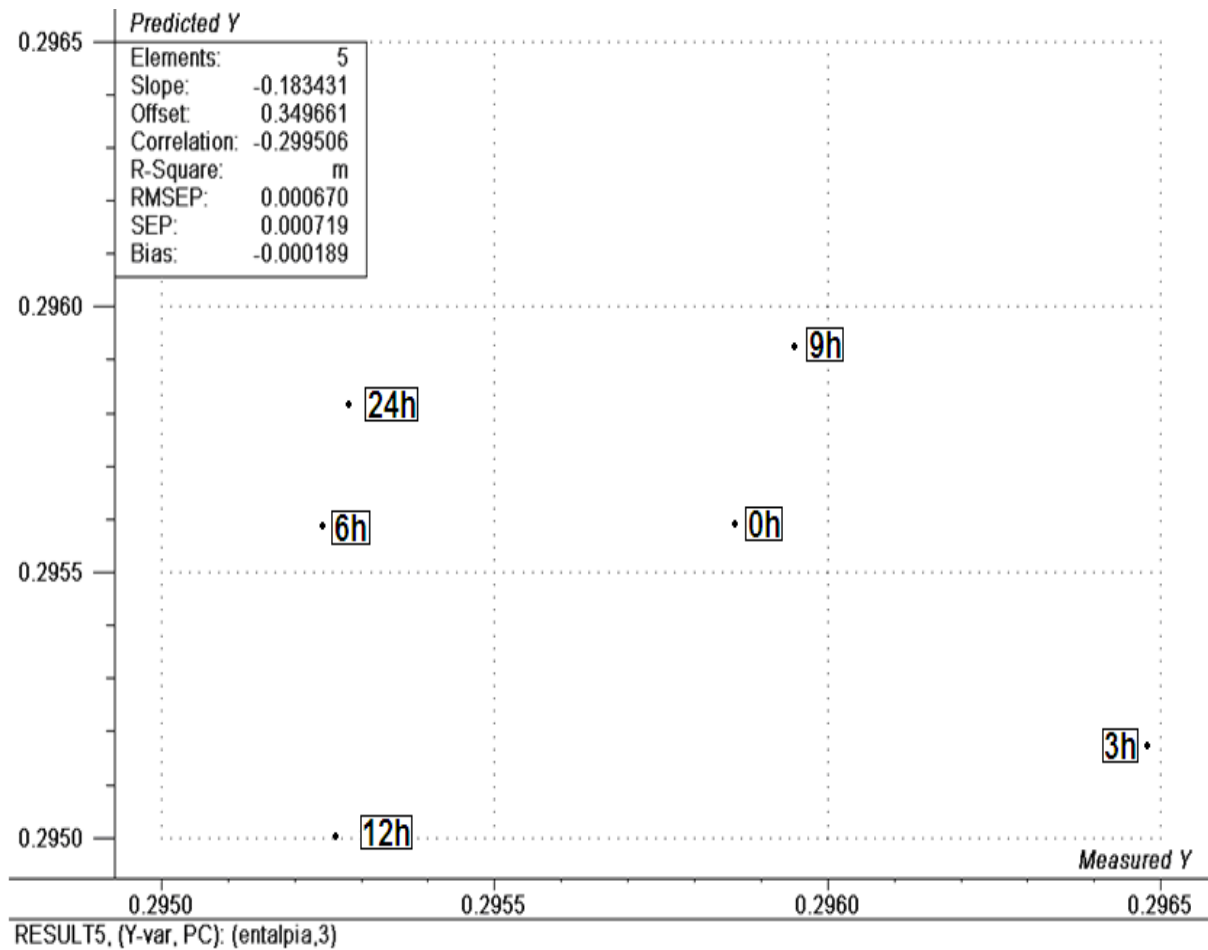
a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 100.0% of original grouped cases correctly classified.

c. 100.0% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Az 50 °C-on vizsgált tojás fehérje minták spektrumait és a hődenaturációs vizsgálatokból nyert entalpia értékek kapcsolatának vizsgálatánál a korrelációs koefficiens értékét a program nem tudta meghatározni, így le lehet vonni azt a következtetést, hogy az entalpia értékek és a

NIR-spektrumok között 50 °C-os hőn tartás mellett nem figyelhető meg kapcsolat (14. ábra). Mivel a NIR-spektrumok 50 °C-on csak kis mértékben változtak, és ezek a változások nem függtek össze a kalorimetrikus tulajdonságokkal, valószínűsíthető, hogy egyéb állapotváltozás ill. állapotváltozások (dielektromos állandó, viszkozitás, stb.) együttes hatásai okozzák az eltolódást (Ragni et al., 2007).



14.ábra: Kalibrációs egyenes NIR prediktív és mért entalpia érték között 50 °C-on hőn tartott tojás fehérje lé minta esetében

A 60°C-os hőntartás során (15. ábra) a csoportok jól elkülöníthetőek voltak, bár a keresztvalidáció során helyesen besorolt minták aránya 97,4%-ra romlott (7. táblázat).

5. táblázat: 60 °C-on hõn tartott tojásfehérje-lé minták diszkriminancia analízis teljes kereszt validációjának tévesztési mátrixa

Classification Results^{b,c}

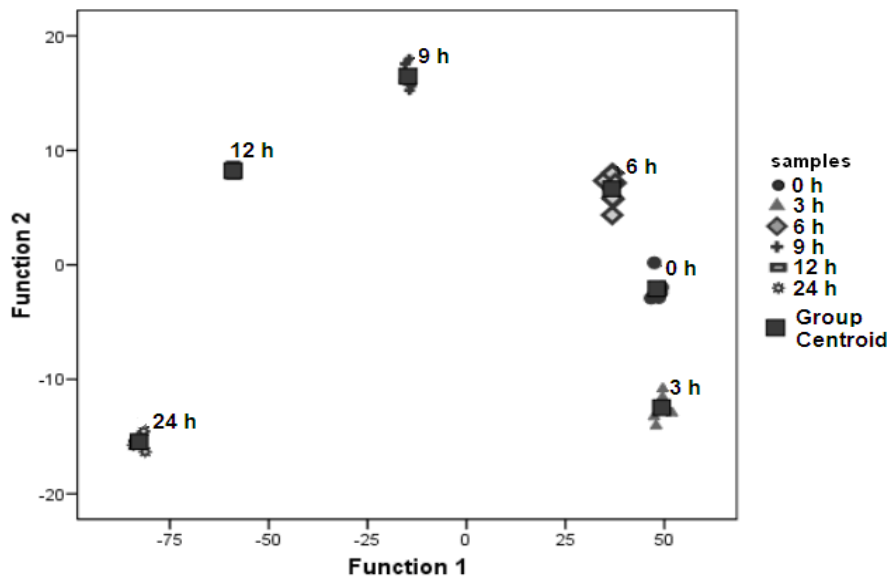
samples		Predicted Group Membership						Total	
		0h	3h	6h	9h	12h	24h		
Original	Count	0h	7	0	0	0	0	0	7
		3h	0	6	0	0	0	0	6
		6h	0	0	6	0	0	0	6
		9h	0	0	0	7	0	0	7
		12h	0	0	0	0	7	0	7
		24h	0	0	0	0	0	6	6
	%	0h	100.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
	3h	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	100.0	
	6h	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	100.0	
	9h	.0	.0	.0	100.0	.0	.0	100.0	
	12h	.0	.0	.0	.0	100.0	.0	100.0	
	24h	.0	.0	.0	.0	.0	100.0	100.0	
Cross-validated ^a	Count	0h	7	0	0	0	0	0	7
		3h	0	6	0	0	0	0	6
		6h	0	0	6	0	0	0	6
		9h	1	0	0	6	0	0	7
		12h	0	0	0	0	7	0	7
		24h	0	0	0	0	0	6	6
	%	0h	100.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
	3h	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	100.0	
	6h	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	100.0	
	9h	14.3	.0	.0	85.7	.0	.0	100.0	
	12h	.0	.0	.0	.0	100.0	.0	100.0	
	24h	.0	.0	.0	.0	.0	100.0	100.0	

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 100.0% of original grouped cases correctly classified.

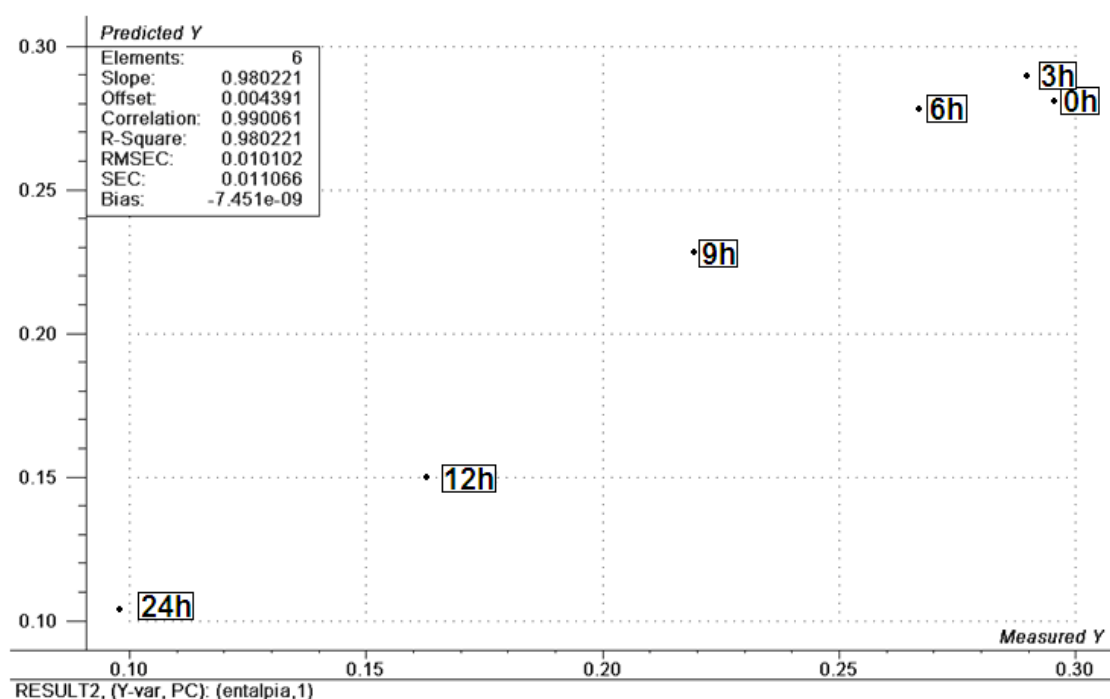
c. 97.4% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Canonical Discriminant Functions



15.ábra: 60 °C-on hõntartott tojásfehérje-lé minták diszkriminancia analízis score plotja az első két diszkrimináló függvény alapján 900-1300nm közötti tartományra

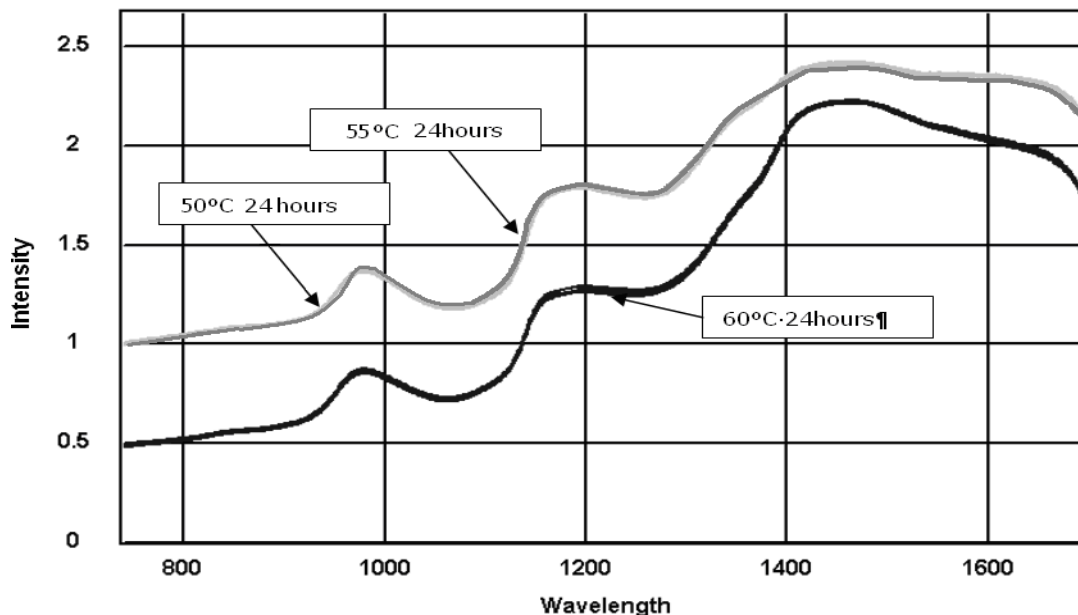
A 60 °C-on hőtartott tojás fehérje minták spektrumait és a hődenaturációs vizsgálatokból nyert entalpia értékek kapcsolatának vizsgálatánál a korrelációs koefficiens értékére 0,99 kaptunk és a szabadsági fokkal korrigált predikciós hiba (RMSEP) 0,01 mW volt (15. ábra). Így ebből az ábrából arra a következtetésre jutottam, hogy ebben az esetben a NIR spektrumok és a konalbumin entalpia értékei között jóval szorosabb a kapcsolat, mint az 50 °C-on hőtartott tojás fehérje lé esetében.



15.ábra Kalibrációs egyenes NIR prediktív és mért entalpia érték között 60 °C-on hön tartott tojás fehérje lé minta esetében

Megvizsgáltam, hogy a különböző hőmérsékleteken 24 órán át hőtartott minták mennyire jól különíthetők el egymástól a NIR módszerrel. A 16. ábrán az 50, 55, ill. 60 °C-on hőtartott tojásfehérje-lé termékek közeli infravörös log 1/R spektrumait mutatjuk be 700-1700nm-es hullámhossz tartományban. Jól láthatóan elkülönülnek a minták. Az elkülöníthetőséget bizonyítja a minták diszkriminancia analízis tévesztési mátrixa 900-1300nm közötti tartományra vonatkoztatva (6. táblázat), melyben a minták 95,9% biztonsággal sorolta be megfelelően. A 24 órán át 50 és 60 °C-on hön tartott minták minőségpontjai is az előzőben

leírt teljes elkülöníthetőséget mutatják.



16.ábra 50-55 és 60 °C-on hőn tartott tojásfehérje-lé minták közeli infravörös log 1/R spektruma 700-1700nm-es hullámhossz tartományba

6. táblázat: 50 és 60 °C-on hőn tartott tojásfehérje-lé minták diszkriminancia analízis teljes kereszt validációjának tévesztéi mátrixa 900-1300nm közötti tartományra

Classification Results^{b,c}

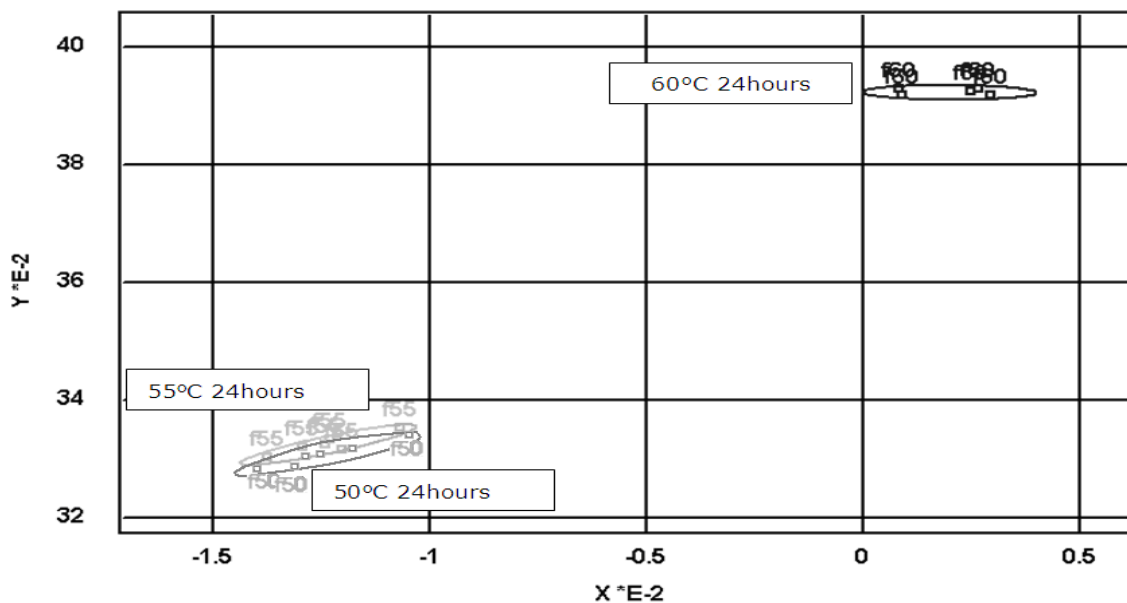
			Predicted Group Membership		Total
			50°C	60°C	
Original	Count	50°C	35	1	36
		60°C	0	38	38
	%	50°C	97.2	2.8	100.0
		60°C	.0	100.0	100.0
Cross-validated ^a	Count	50°C	33	3	36
		60°C	0	38	38
	%	50°C	91.7	8.3	100.0
		60°C	.0	100.0	100.0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 98.6% of original grouped cases correctly classified.

c. 95.9% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Az 50, 55 és 60 °C-on 24 órán át hőn tartott tojás fehérje-lé minták minőségpontjainak elhelyezkedését mutatom be a 17. ábrán.



17.ábra 50- 55 °C és 60 °C-on 24 órán át hõn tartott tojás fehérje-lé minták minõségpontjainak elhelyezkedése

Az 50, 55 °C-on hõntartott mintákhoz tartozó csoportok jól láthatóan elkülönültek. A 24 órán át tartó, különbözõ hõkezelési hõmérsékletekhez tartozó minõségpontok közül az 50-55°C-os hõkezelés minõség pontjai jól elkülönülnek a 60°C-os hõkezelés minõségpontjaitól viszont egymás között két csoport esetében (50-55°C-os) nagymértékû átfedés figyelhetõ meg.

7. táblázat: 50 és 60 °C-on hõn tartott tojásfehérje-lé minták diszkriminancia analízis teljes kereszt validációjának tévesztési mátrixa 900-1300nm közötti

Classification Results^{a,c}

			Predicted Group Membership		Total
			55°C	60°C	
Original	Count	55°C	35	1	36
		60°C	0	39	39
	%	55°C	97.2	2.8	100.0
		60°C	.0	100.0	100.0
Cross-validated ^a	Count	55°C	33	3	36
		60°C	0	39	39
	%	55°C	91.7	8.3	100.0
		60°C	.0	100.0	100.0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 97.4% of original grouped cases correctly classified.

c. 94.3% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Amiket vagy további mérésekkel lenne lehetőség szétválasztani, pontosítani illetve különböző statisztikai programokkal lehetne a jövőben szelektívebbé tenni a ezt a fajta mérést. A diszkriminancia analízis ebben az esetben (1100-1500nm közötti tartományban) az 55 és 60 °C-on hőntartott minták vizsgálatánál, csak 94,3% biztonsággal tudta helyesen besorolni a mintákat (7. táblázat). Az 50, ill. 55 °C-on 24 órán át tartott minták csupán 13,8%-os biztonsággal voltak elkülöníthetőek.

6. Összefoglalás

Egyre nagyobb az igény a hosszan eltartható ugyanakkor a natív tojás előnyös tulajdonságait megőrző tojáslé termékek iránt. Ennek előállítására az egyik lehetőség a pasztöröztetlen tojásleveket csomagolóanyagban hosszan, 12-24 órán át, a napjainkban használatos pasztörözési hőmérsékletnél alacsonyabb hőmérsékleten történő kezelése. Dolgozatom célja volt megvizsgálni, hogy közeli infravörös spektroszkópiás (NIR) műszerrel lehet-e fehérje vagy szerkezeti változást érzékelni a 24 órán 50, 55, 60°C hőntartott tojásfehérje-levek esetében.

A NIR mérések a MetriNIR 10-17 ST készülékkel 700-1700nm között 2 nm kaputávolsággal történtek. A spektrumokat matematikai statisztika segítségével kerültek kiértékelésre, valamint Polár minősítő rendszert (PQS) és diszkriminancia analízis alkalmazásával. Az 50 °C-os tárolás esetén a helyesen visszahelyezett minták százaléka 100%, az 55°C-os tárolásnál ez 100%, 60°C-nál pedig 97,4% volt.

A kalorimetrikus méréseket MicroDSC III. típusú készülékkel végeztem. A tojáslé minták lemért tömege 500 mg \pm 0,1 mg volt, referencia oldatként desztillált vizet használtam. A kiértékelést a készülékhez tartozó Seftsoft2000-s program segítségével végeztem.

55°C-os hőkezelésnél nem tapasztaltunk összefüggést hőkezelés és a szerkezeti változás között így arra a következtetésre jutottunk a NIR valamint a DSC mérések alapján, hogy az 50-55°C-os hőkezelés hatására nem történik fehérje vagy szerkezeti változás, így ezeken a hőmérsékleteken olyan technológia kidolgozása lehetséges, ahol az élőcsíraszám TKE/g-ra ill. kimutathatósági szint alatti értékre csökkentése mellett a termék megőrzi előnyös a nyers tojásra jellemző tulajdonságait.

60°C-on találtam korrelációt a tojásfehérje-lé PQS minőségponjai és a hőkezelési idő között. Továbbá a különböző időpontokig 60°-on hőkezelt tojásfehérje-lé termékekhez tartozó NIR alapspektrum és DSC eredmények összehasonlítása is alátámasztotta azt a megállapítást hogy az 50 illetve 55 °C-on való hőntartás esetében a tojásfehérje lében történő változások elenyészőek a 60 °C-hoz képest.

Bár 50-55°C-os hőntartás során a különböző csoportok szintén jól elkülönültek, azonban az elkülönülés okaira nem találtam meg az egyértelmű választ. Az infravörös tartományban érzékelt változások okai ezeken a hőmérsékleteken (50-55-60°C) valószínűleg a fehérjedenaturációtól függetlenek voltak (pl.: lizozim-ovomucin komplex képződés).

További kutatásokkal a NIR mérésekkel lehetőség lenne egy gyors, megbízható módszernek a ki fejlesztésére, amely a hőkezelés közbeni valamit a minőség ellenőrzését szolgálná a tojásfehérje-lé hőntartásos tartósító technológia alkalmazói illetve az eljárásból származó termékek felhasználói számára.

Felhasznált irodalom

1. **Andrassy E., Farkas J., Seregels Zs., Dalmadi I., Tuboly E., Lebovics V.,** (2006): Changes of hen eggs and their components caused by non-thermal pasteurization treatments *Acta Alimentaria*, 35 (3), 305-318.p.
2. **Barett, A.J.,** 1981. Cystatin, the egg white inhibitor of cysteine proteinases, *Methods Enzymol*, 80, 771-778
3. **Bíró, G.,** 1993. *Élelmiszerhigiénia*, Agroinform Kiadó Budapest
4. **BOARD, R.G. & FULLER. R. (2008):** Non-specific antimicrobial defences of the avian egg, embryo and neonate, *Biol. Rev.*, 49, 15-49.
5. **Bryson, J. L., Chedid, L., Michaels, J. M., Rapp H., Cascione A. S.,** 1995. Egg pasteurization, US 5455054
6. **CASTELLANO, P. , FARÍAS, M. E. , HOLZAPFEL, W. , VIGNOLO, G. (2001):** Sensitivity variations of *Listeria* strains to the bacteriocins, lactocin 705, enterocin CRL35 and nisin, *Biotechnol. Lett.*, 23, 605-608.
7. **Chang, C.M., Powrie, W.D., Fennema, O.,** 1977. Microstructure of egg yolk, *J. Food Sci.* 42, 1193-1200
8. **Cutler, J., Hollander, A. G. D., Ros, A. J.,** 2000. Method for treating a liquid egg product, US 6149963
9. **Cunningham, F.E., Lineweaver, H.,** 1965. Stabilization of egg white proteins to pasteurisation temperatures above 60°C, *Food Technol.* 19, 136-141
10. **Davidson, L. J.,** 2004. Pasteurized eggs, US 6692784
11. **Dalmadi István, Seregély Zsolt, Kaffka Károly, Farkas József.,** (2007) Néhány többváltozós kemometriai módszer alkalmazása műszeres analitikai vizsgálatok értékelésére. *Élelmiszervizsgálati Közlemények (Élelmiszerminőség – Élelmiszerbiztonság) LIII. kötet, 4. füzet*
12. **Dalmadi I., Seregély Zs., Farkas J., Tuboly E.,** 2007. Evaluating the near infrared spectra of egg white pasteurised by ultra-high hydrostatic pressure and gamma irradiation using different methods of qualitative analysis, *NIR news*, 18, 7-9

13. **Duguid, J. P., North, R. A. E.**, 1991. Eggs and *Salmonella* foodpoisoning: an evaluation, *J. of Medical Microbiology*, 34, 65-72
14. **Durance, T.D.**, 1991. Residual avidin activity in cooked egg white assayed with improved sensitivity, *J. Food Sci.* 56, 707-709, 729
15. **Ellos, D. I., Broadhurst, D., Kell, D. B., Rowland, J. J., Goodacre, R.** (2002): Rapid and quantative detection of the microbial spoilage of meat by Fourier transform infraredspectroscopy and machine learning. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 2822 – 2828. p.
16. **Froning, G. W., Peters, D., Muriana, P., Eskridge, K., Travnicek, D., Sumner, S. S.** 2002. International Egg Pasteurization Manual
17. **Hamid-Samimi, M. H.**, 2000. Process for producing pasteurized liquid egg products, US 6024999
18. **Hayakawa, S., Sato, Y.**, 1977. Physicochemical identity of α -ovomucins obtained from the sonicated insoluble and soluble ovomucins, *Agric. Biol. Chem.* 41, 1185-1191
19. **IBRAHIM, H.R, SUGIMOTO, Y. & AOKI. T.** (2000): Ovotransferrin antimicrobial peptide (OTAP-92) kills bacteria through a membrane damage mechanism, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1523, 196-205.
20. **Kaffka, K., Martin, A.P.** (1985): Attempts to determine protein, fat and moisture in „animal protein meal” by the NIR technique, *Acta Alimentaria*, 14 (4), 309-318.p.
21. **Kaffka, K., Seregély, Zs.** (2002): PQS (polar qualification system) the new data reduction and product qualification method., *Acta Alimentaria*, 31, 3-20
22. **LiChan, E. C. Y., Powrie, W. D., Nakai, S.**, 1995. In *Egg Science and Technology*. Edit by Stadelman W. J., Cotterill, O. J., Fourth Edition, 105-175, The Haworth Press Inc, Binghamton
23. **Lin, M., Mousavi, M., Al-Holy, M., Cavinato, A.G., Rasco, B.A.** (2006): Rapid nearinfrared spectroscopic method for the detection of spoilage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet, *J. Food Sci.*,71 (1), 18-23. p.

24. **Linewear, H., Murry, C.W.** 1947. Indefication of the trypsin inhibitor of egg white with ocomucoid. *J. Biol. Chem.* 171, 565-581
25. **Longsworth, L.G., Cannan, R.K., MacInnes, D.A.** 1940. An electrophoretic study of the proteins of egg white, *J. Am. Chem. Soc.* 62, 2580-2590
26. **MacDonall, L.R., Feeney, R.E., Ganson, H.L., Cambell, A., Sugihara, T.F.,** 1955. The functional properties of the egg white proteins, *Food Technol*, 9, 49-5
27. **McCLURE W.F.; (2003):** 204 years of near infrared technology: 1800-2003 *J. Near Infrared Spectrosc.* **11.** (6) 487-518.
28. **Nisbet, A.D., Saudry, R.H., Moir, A.J.G., Forthergill, L.A., Forthergill, J.E.,** 1981. The complete amino acid sequence of hen ovalbumin. *Eru. J. Biochem*, 115, 335-345
29. **OSBORNE B. G., FEARN T.;** (1986): Introduction In Near Infrared Spectoscopy in Food Analysis Longman Scientific& Technical Harlow pp. 1-9.
30. **PARK, S.-I., DAESCHEL, M.A. & ZHAO, Y.** (2006): Functional properties of antimicrobial lysozyme-chitosan composite films, *J. Fd. Sci.*, **69, 215-221.**
31. **Pritchard, A.B., McCornick, D.B., Wright, L.D.,** 1966. Optical rotatory dispersion studies of the heat denaturation of avidin and the avidin-biotin complex, *Biochem. Biophysc, Res. Commun*, 25, 524-528
32. **Rhodes, M.B., Bannett, N., Feeney, R.E.,** 1959. The flavoprotein-apoprotein system of egg white. *J. Biol. Chem.* 234, 2054-2060
33. **Stadelman, W. J., Cotterill, O. J.,** 1995. Egg science and technology, Food Product Press
34. **Swartzel, K. R., Ball H. R., Hamid-Samimi, M. H.,** 1991a. Method for the ultrapasteurization of liquid whole egg products, US 5019408
35. **Swartzel, K. R., Palaniappan, S.,** 1997. Method for pasteurizing liquid whole egg products, US 5670199
36. **Tomimatsu, Y., Clary, J.J., Bartulovitch, J.J.,** 1966. Phisical characterization of ovoidinhibitor, a trypsin and chymotrypsin inhibitor from chicken egg white, *Arch. Biochem. Biophys*, 115, 536-544

37. **Wehling R.L., Pierce M.M., Froning, G.W.**, 2006. Determination of moisture, Fat and Protein in spray dried whole egg by near infrared reflectance spectroscopy, *Journal of food science*, 53, 1355-1359
38. **Wilchek, M., Bayer, E.A.**, 1990. Avidin-Biotin Technology, *Method sin Enzim*
39. **Woodward, S.A., Cotterill, O.J.**, 1983. Electrophoresis and chromatography of heat-treated plain, sugared and salted whole egg, *J. Food Sci.* 48, 501-506
40. **WORKMAN J. J. JR., BURNS D.A.; (1992):** Commercial NIR Instrumentation *In Handbook of Near Infrared Analysis*, Ed by Burns D.A., Ciurczak E.W., Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 37-51.
41. **Zardetto, S.**, 2005 Potential applications of near infrared spectroscopy for evaluating thermal treatments of fresh egg pasta, *Food Control*, 18, 249-256
42. www.ovobel.com
43. www.capriovus.hu
44. www.pasteur.hu
45. www.sanovo.com