

# MEGHÍVÓ

A BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM

ÉLELMISZERTUDOMÁNYI

DOKTORI ISKOLÁJA

meghívja Önt

**Pásztorné Huszár Klára**

## PROTEIN CHANGES OF VARIOUS TYPES OF MILK AS AFFECTED BY HIGH HYDROSTATIC PRESSURE PROCESSING

című PhD értekezésének

**2008. szeptember 11-én de. 10.00 órakor**

tartandó nyilvános vitájára.

**Témavezető: Farkas József, MHAS**

**Helyszín: Budapesti Corvinus Egyetem,  
1118 Bp. Villányi út 35-43. TUDÁSKÖZPONT- ELŐADÓTEREM  
G épület, alagsor 2. ajtó**

A Bíráló Bizottság összetétele:

**Elnöke: Fekete András, DSc**

**Tagjai:**

**Deák Tibor, DSc**

**Cserhalmi Zsuzsanna, PhD**

**Némethné Szerdahelyi Emőke, PhD**

**Fenyvessy József, CSc**

**Opponensek:**

**Lugasi Andrea, CSc**

**Szabó S. András, DSc**

**Titkár: Cserhalmi Zsuzsanna, PhD**

**Az értekezés megtekinthető**

a Budapesti Corvinus Egyetem Budai Entz Ferenc Könyvtárában és Levéltárban  
(Budapest, XI., Villányi út 35-43. K. ép. I. em.),  
elektronikus változata a <http://phd.lib.uni-corvinus.hu/303/> címen

*A nyilvános vitában minden jelenlévő részt vehet  
és írásban előzetesen is észrevételt tehet.*

**Dr. Fodor Péter sk**  
**egyetemi tanár**  
**Doktori Iskola Vezetője**

## **PROTEIN CHANGES OF VARIOUS TYPES OF MILK AS AFFECTED BY HIGH HYDROSTATIC PRESSURE PROCESSING**

### **Summary**

Introduction of minimal processing concept was made possible by the development and application of novel non-thermal and thermal food processing technologies which are often less invasive than the conventional methods used in the food industry. One of these novel non-thermal techniques is preserving food by high hydrostatic pressure.

The goal of my work was to learn more about the effect of high hydrostatic pressure (HHP) on different types of milk, especially on milk proteins. I used both modern methods of proteomics and spectrofluorometry in the investigations to find out whether the more rapid fluorescence spectroscopy can provide sufficient information about the changes in milk components compared to the information obtained using the methods of proteomics. A further objective of my research was to detect the effect of HHP on the immunoreactivity of milk proteins in different milk types.

Following materials were included in the research project: human milk, whole and skimmed bovine milk, whole ewe's milk, whole goat milk, whole mare's milk, and bovine whey.

Samples were treated at different pressure levels and for different holding times. The pressure progressed from 100 MPa to 800 MPa increased by 100 MPa increments, and holding times were 5, 10, 20, 30 and 40 mins. The methods applied in the investigations: polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), immunoblotting and spectrofluorometry. In the spectrofluorometric measurements, half of the samples were pressurized and the rest of them underwent heat treatment (from 70°C to 100 °C in 10 °C increments, and from 5 to 30 mins in 5 mins increments). The effect of the two preservation methods were compared. Tryptophan emission and retinol emission and excitation intensities were measured.

Intensities of protein fractions in the electrophoretic pattern of HHP treated milk samples decreased with increasing pressure and holding time. The extent of the decrease varied depending on the milk types, and the milk protein fractions reacted to pressure in different ways, too. In each case, however,  $\beta$ -Lg proved to be the most barosensitive protein fraction. The two isoforms of  $\beta$ -Lg reacted in different ways to pressure,  $\beta$ -Lg B denatured first.

In the higher pressure ranges, decrease in the intensity of the protein fractions, first of all of  $\beta$ -Lg, was smaller in the whole milk samples (4.37% fat content), than in skim milk (0.21% fat content). This indicated a baroprotective effect of fat on milk proteins.

HHP seemed to decrease the immunoreactivity of certain protein fractions in the different milk types. According to the separation and immunoblotting methods used, the extent of the decrease was not significant, except for mare's milk. Thus HHP treatment alone did not prove to be useful to produce hypoallergenic milk or milk products, but in combination with other methods, HHP treatment could be effective in decreasing or even cancelling the immunochemical reactivity of milk proteins.

Irrespective of the material investigated (tryptophan or retinol) and the type of spectra (emission or excitation), the overall tendency was in each case that the fluorescence intensity increased with higher temperature of the treatment and decreased with increasing pressure. Differences in intensities caused by heat and pressure, respectively, were significant (99% probability level) in each case except bovine whey.

Based on the results we can state that the differences in the degree of intensity changes, and in the measure of red shift, indicate that applying high pressure affected milk, primarily milk proteins and milk fat, to a lesser extent than applying heat. Thus HHP treatment of milk, considering its effect on the main components, seems to be a milder processing method, than heat treatment. The results obtained by the two different techniques, gel electrophoresis and spectrofluorometry, were in good agreement with each other.

# NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁS HATÁSA KÜLÖNBÖZŐ TÍPUSÚ TEJEK FEHÉRJÉIRE

## Összefoglalás

A kémélet tartósítási módok bevezetését új, nem-termikus valamint termikus (hőkezelésen alapuló) élelmiszer feldolgozási technológiák kifejlesztése és alkalmazása tette lehetővé. Ezek a technológiák általában kevésbé invazívak, mint az élelmiszeriparban használt hagyományos módszerek. Az új, nem-termikus eljárások egyike az élelmiszerek nagy hidrosztatikus nyomással való tartósítása.

Munkám célja az volt, hogy minél jobban megismerjem a nagy nyomás különböző állatfajok tejére gyakorolt hatását, különös tekintettel a tejfehérjékre. A vizsgálatok során mind modern proteomikai módszereket alkalmaztam, mind pedig spektrofluorometriás vizsgálatokat végeztem annak érdekében, hogy megállapítsam, a spektrofluorometria, megfelelő információt nyújt-e a fehérje összetevők változásáról a proteomikai módszerekkel összehasonlítva. Továbbá célom volt, hogy megvizsgáljam, hogy a nagy hidrosztatikus nyomás hatással van-e a tejfehérjék immunreaktivására a különböző típusú tejekben.

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

A mintákat különböző nyomásokon különböző nyomáson tartási idővel kezeltük. A nyomás értékek 100 és 800 MPa között változtak, 100 MPa-onként növelve a nyomást, a tartási idő 5, 10, 20, 30 és 40 perc volt. A következő vizsgálati módszereket alkalmaztam: poliakrilamid gél elektroforézis (PAGE), immunblottolás, spektrofluorometria. A spektrofluorometriás méréseknél a minták felét nyomáskezeltük, a másik részét hőkezelésnek vetettük alá (70°C-tól 100 °C-ig 10 °C-onként növelve a hőmérsékletet, a hőtartási idő 5 és 30 perc között változott 5 perccel növelve a tartási időt). A két tartósítási mód hatását hasonlítottuk össze. A triptofán emissziót, retinol emissziót valamint a retinol gerjesztési intenzitását mértük.

Az elektroforetikus fehérjemintázat alapján a nagy hidrosztatikus nyomással kezelt fehérje frakciók intenzitása csökkent a nyomás és a tartási idő növelésével. A csökkenés mértéke a tej típusától függően változott és a különböző fehérje frakciók is különbözőképpen reagáltak a nyomásra. Azonban minden esetben a  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -Lg) bizonyult legérzékenyebbnek a nyomással szemben. A  $\beta$ -Lg két izoformja közül a  $\beta$ -Lg B denaturálódott hamarabb.

A nagyobb nyomás tartományban a fehérje frakciók, elsősorban a  $\beta$ -Lg intenzitása kevésbé csökkent teljes tejben (4.37% zsírtartalom), mint soványtejben (0.21% zsírtartalom). Ez a zsír nyomással szembeni védő hatására utalt.

A vizsgálatba vont tej típusok bizonyos fehérje frakcióinak immunreaktivitása csökkent a nagy nyomás hatására, más frakcióké nem változott. Az alkalmazott elválasztási és immunblottolási módszer alapján a csökkenés mértéke nem volt szignifikáns, a kancatejet kivéve. Ezek szerint a nagy hidrosztatikus nyomás önmagában nem elegendő hipoallergén tej vagy tejtermékek előállításához, de más módszerekkel kombinálva hatékony lehet a tejfehérjék immunreaktivitásának csökkentésében vagy megszüntetésében.

Függetlenül a vizsgált anyagtól (triptofán vagy retinol) és a spektrum jellegétől (emissziós vagy gerjesztési), az az általános tendencia volt megfigyelhető, hogy a fluoreszcencia intenzitása a kezelési hőmérséklet növelésével nőtt, a nyomás növelésével pedig csökkent. A nyomás ill. a hő által okozott intenzitás változás egymáshoz képest szignifikáns volt (99% valószínűségi szinten) minden esetben, kivéve a tehéntej savót.

A fent említett eredmények alapján azt állapíthatjuk meg, hogy a különbségek az intenzitás változás mértékében, valamint az, hogy a nyomáskezelt minták spektrumainak csúcsának helye kevésbé tolódott el a hosszabb hullámhossz irányába, azt mutatja, hogy a nagy nyomás kevésbé hatott a tejre, elsősorban a tejfehérjékre és a tejszírra, mint a hőkezelés. Azaz a tej nagy hidrosztatikus nyomással való kezelése a fő összetevőkre gyakorolt hatásának tekintetében kéméletesebb feldolgozási technikának bizonyult, mint a hőkezelés. A két különböző technikával, azaz a gél elektroforézissel és spektrofluorometriával kapott eredmények alátámasztották egymást.