



Élelmiszertudományi Kar

Doktori értekezés

**NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁSÚ TECHNOLOGIA
ALKALMAZÁSÁNAK HATÁSAI NÉHÁNY ÉLELMISZER
MIKROBIOLÓGIAI ÁLLAPOTÁRA ÉS MÁS
MINŐSÉGJELLEMZŐIRE**

**Készítette:
Kálmánné Tuboly Eszter**

**Konzulens:
Prof. Farkas József
MTAT**

**Készült a Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Karának
Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszékén**

Budapest, 2009

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Fodor Péter
egyetemi tanár, D.Sc.
Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Alkalmazott Kémia Tanszék

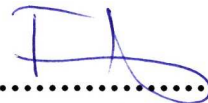
Témavezető: Dr. Farkas József
emeritusz professzor, MHAS
Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Hűtő- és Állatitermék Technológia Tanszék

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatban előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.



.....
Az iskolavezető jóváhagyása



.....
A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanácsának 2009. 02. 10-ki határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke:

Fekete András DSc

Tagjai:

**Deák Tibor DSc
Monspartné Sényi Judit PhD
Salgó András DSc
Ince Kálmán CSc**

Titkár:

Monspartné Sényi Judit PhD

Opponensek:

**Cserhalmi Zsuzsanna PhD
Beczner Judit CSc**

1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	2
2.1. NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁSKEZELÉS TECHNOLÓGIAI ALAPJAI	2
2.2. MIKROORGANIZMUSOK NYOMÁSTÚRÉSE	5
2.3. A NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁSKEZELÉS HATÁSA AZ ÉLELMISZER ÖSSZETEVŐKRE	15
2.3.1. <i>Víz</i>	15
2.3.2. <i>Fehérjék</i>	17
2.3.3. <i>Enzimek</i>	19
2.3.4. <i>Poliszacharidok</i>	22
2.3.5. <i>Lipidek</i>	23
2.4. NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁSKEZELÉS HATÁSA AZ ÉLELMISZEREK TÁPÉRTÉKÉRE, ÉRZÉKSZERVI ÉS FIZIKAI JELLEMZŐIRE	25
2.4.1. <i>Gyümölcs- és zöldségtermékek</i>	25
2.4.2. <i>Tej és tejtermékek</i>	30
2.4.3. <i>Hús és húspari termékek</i>	31
2.5. KOMBINÁLT KEZELÉSI LEHETŐSÉGEK	34
2.6. A NAGY HIDROSZTATIKUS NYOMÁSÚ TECHNOLÓGIA NÉHÁNY MEGVALÓSÍTOTT FELHASZNÁLÁSI FORMÁJA AZ ÉLELMISZERIPARBAN	35
3. CÉLKITŰZÉS	40
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	42
4.1. A KÍSÉRLETEK HELYE	42
4.2. FELHASZNÁLT ANYAGOK	42
4.3. FELHASZNÁLT MÓDSZEREK.....	43
4.3.1 <i>Nyomáskezelés</i>	43
4.3.2 <i>Mikrobiológiai vizsgálatok</i>	45
4.3.2.1 <i>Az összesírászám meghatározása</i>	45
4.3.2.2 <i>Az enterobaktériumok számának meghatározása</i>	46
4.3.2.3 <i>A kóliformok számának meghatározása</i>	46
4.3.2.4 <i>Escherichia coli számának meghatározása</i>	47
4.3.2.5 <i>Élesztő- és penésztelepek számának meghatározása</i>	48
4.3.2.6 <i>Enterococcus faecalis kultúra készítése, a túlélő és sérült mikrobaszám meghatározása</i>	48
4.3.2.7 <i>Szamóca beoltása</i>	49
4.3.3 <i>Lipioxidációs vizsgálatok</i>	50
4.3.3.1 <i>TBA-szám meghatározás</i>	50
4.3.3.2 <i>Koleszterinoxidációs származékok meghatározása</i>	50
4.3.4 <i>Színmérés</i>	52
4.3.5 <i>Fehérjedenaturációs vizsgálatok</i>	53
4.3.5.1 <i>D.S.C.</i>	53
4.3.5.2 <i>Elektroforézis</i>	55
4.3.6 <i>Elektronikus orr vizsgálatok</i>	56
5. EREDMÉNYEK	57
5.1. SZEPARÁLT PULYKAHÚS	57
5.1.1. <i>TBA szám meghatározás</i>	57
5.1.2. <i>Koleszterin oxidációs származékok meghatározása</i>	58
5.1.3. <i>Mikrobiológiai vizsgálatok</i>	61
5.2. CSIRKEMÁJ.....	62
5.2.1. <i>TBA szám meghatározás</i>	62
5.2.2. <i>Koleszterin oxidációs származékok meghatározása</i>	63
5.2.3. <i>Mikrobiológiai vizsgálatok</i>	65
5.2.4. <i>Színmérés eredmények</i>	66
5.3. DARÁLT MARHAHÚS	67
5.3.1. <i>Mikrobiológiai vizsgálatok</i>	67
5.3.2. <i>Színmérés eredmények</i>	68
5.3.3. <i>DSC mérés eredménye</i>	70
5.4. NYERS TEJ.....	72
5.4.1. <i>Mikrobiológiai vizsgálatok</i>	72
5.4.2. <i>Színmérés eredmények</i>	73

5.4.3. Elektroforézises vizsgálat eredménye.....	74
5.4.4. Elektronikus orr vizsgálatok.....	75
5.5. TYÚKTOJÁS.....	77
5.5.1. DSC mérés eredménye.....	77
5.5.2. Színérés eredmények.....	78
5.6. SZAMÓCA, ÉS AZ EZZEL KAPCSOLATOS, <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i> -SZAL, MINT SZENNYEZŐ MIKROORGANIZMUSSEL VÉGZETT VIZSGÁLATOK.....	79
5.7. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA.....	88
5.7.1. Mikrobiológiai eredmények.....	88
5.7.2. Lipidoxidációs eredmények.....	92
5.7.3. Fehérjedenaturációs vizsgálatok eredményei.....	94
5.7.4. Színvizsgálati eredmények.....	96
5.8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	98
6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	99
7. ÖSSZEFOGLALÁS.....	102
8. SUMMARY.....	106

1. Bevezetés

Az elmúlt évtizedekben világszerte egyre fokozódó fogyasztói igény mutatkozott a minimálisan feldolgozott, kiváló minőségű és mikrobiológiailag biztonságos élelmiszerek iránt. Ez az igény új technológiák alkalmazására sarkalja az élelmiszeripart, a hagyományos eljárásokat új módszerekkel kombinálják, vagy váltják fel. Az új technológiák közül leginkább a nem hőkezeléses eljárásokon alapuló élelmiszer feldolgozási módszerek felé fordul a figyelem, mivel ezektől a hőkezelés káros hatásainak kiküszöbölését várják. A nagy hidrosztatikus nyomású technológiát tekintik az egyik legígéretesebb nem-termikus élelmiszertartósítási eljárásnak (Knorr, 1993; Hoover, 1997). A nagy hidrosztatikus nyomásos kezelés egyik legjelentősebb előnye a hagyományos, hőkezeléses módszerekkel szemben, hogy amíg az élelmiszerekben található mikroorganizmusokat inaktiválja, addig az érzékszervi tulajdonságokat és a beltartalmi értékeket nagyban nem befolyásolja. Bár a technológia első alkalmazására mintegy 100 évvel ezelőtt sor került (Hite, 1899; Hite et al., 1914), a módszer alkalmazásában nem történt előrelépés egészen 1990-ig, amikor is az első nagynyomásos kezeléssel tartósított termékek piacra kerültek Japánban. Az utóbbi 20 évben számos jelentős technológiai fejlesztés történt a nagynyomásos berendezések területén, valamint a kezelések mikroorganizmusokra gyakorolt hatásainak felderítésében (Knorr, 1993; Patterson et al., 1995). A mikroorganizmusok nyomástűrése meglehetősen változatosnak mutatkozik. Az inaktiváció mértéke számos tényezőtől függ, úgymint a mikroorganizmus fajtája, az alkalmazott nyomás nagysága, a kezelés időtartama, a kezelési hőmérséklet valamint az élelmiszer összetétele. Az alacsony pH, az alacsony vízaktivitás és más összetevők, mint pl. a só vagy cukortartalom protektív hatást fejthetnek ki. Számos különböző élelmiszert kezeltek már a nagynyomásos technológia segítségével. A gyümölcs alapú termékek az elsők között voltak, amik piaci bevezetésre kerültek Japánban (Selman, 1992). Napjainkban számos nyomáskezelt termék található világszerte a kereskedelmi forgalomban, úgymint gyümölcslevek, pürék, lekvárok, joghurtok, stb. (Hoover, 1997; Thakur és Nelson, 1998). Ezek a termékek a nyomáskezelés mellett más olyan paraméterekkel is rendelkeznek (alacsony pH, alacsony a_w , hűtve tárolás) melyekkel együtt a mikrobiológiai biztonság és a stabilitás elérhető. Az egyes élelmiszer-összetevők vizsgálatából nyert részletes információk ellenére lehetetlen előre jelezni az összes komplex kölcsönhatást az élelmiszerek különböző összetevői között. Ezért a vizsgálatokat magukon az élelmiszereken kell elvégezni, hogy a nagynyomásos kezelés egyes hatására létrejött változások természete és ezek hatása az egyes élelmiszerek tulajdonságaira megállapíthatóak legyenek.

2. Irodalmi áttekintés

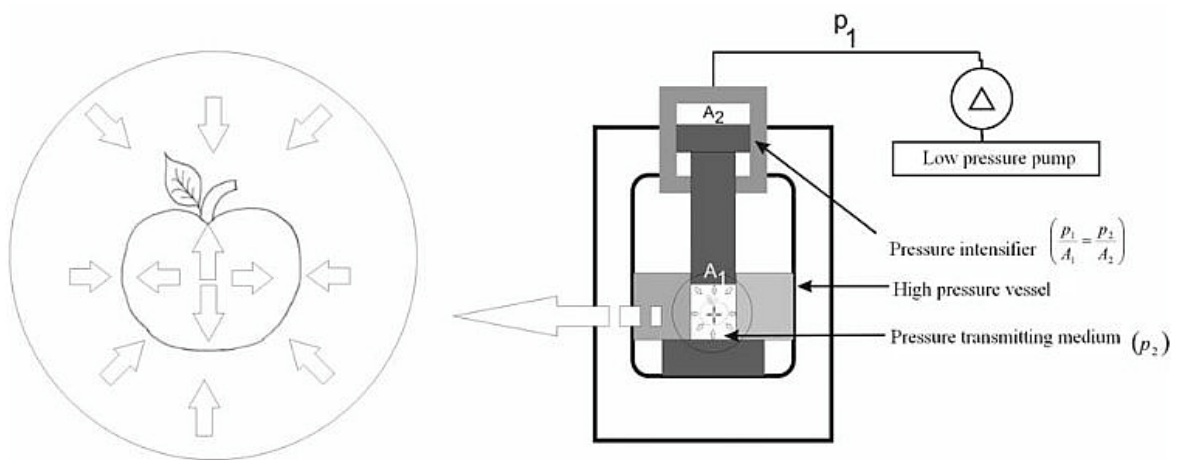
2.1. Nagy hidrosztatikus nyomáskezelés technológiai alapjai

A nagy hidrosztatikus nyomású technológia olyan, nem hőkezelésen alapuló tartósítási eljárás, ahol az élelmiszereket 100-900 MPa közötti hidrosztatikus nyomásnak teszik ki. A kezelés előnye, hogy a közvetítő folyadékba merített, flexibilis és légmentes csomagolásban levő élelmiszerben a hidrosztatikus nyomás azonnal és egész tömegében egyenletesen érvényesül (1. ábra). A nyomáskezelés hatása így nem függ az élelmiszer méretétől és alakjától (Knorr, 1993). Az alkalmazott nyomáskezelés hatékonysága az alkalmazott nyomás szintjén túl függ a kezelési időtől, a nyomás-növelés és a nyomás-csökkentés sebességétől, a berendezésben kialakuló hőmérséklet eloszlástól és a kezelési hőmérséklettől. További befolyásoló tényezők a kezelni kívánt élelmiszer összetétele, pH-ja, vízkaktivitása, kiindulási hőmérséklete. Az élelmiszerek komplexitásának, valamint a nyomás hatására történő lehetséges változásoknak és a reakciók nagy számának köszönhetően a nagynyomásos kezelés hatásainak pontos előrejelzése nehéz, az általánosítás nem lehetséges. A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés tervezésekor figyelembe kell venni a mikroorganizmusokra, minőségromlást okozó enzimaktivitásra és az érzékszervi minőségre kifejtett hatását, így az optimalizálással biztosíthatjuk, hogy az adott termék biztonságos és jó minőségű legyen. Általánosságban elmondható, hogy a nagynyomásos kezelés inaktíválja a mikroorganizmusokat (Smelt, 1998; Patterson et al., 1995), módosítja a biopolimereket, ideértve az enziminaktivációt, fehérje denaturációt (Hendrickx et al., 1998) és a gél képződést (Dumoulin és Hayashi, 1998), módosítja a víz fizikokémiai tulajdonságait (Kalichevsky et al., 1995) de kevésbé érinti a vitamintartalmat, a szín-, íz-, és illatanyagokat (Ogawa et al., 1990; Takahashi et al., 1993; Yen és Lin, 1996; Van den Broeck et al., 1998; Van Loey et al., 1998).

Az izosztikus nyomás a legtöbb élelmiszer struktúrájában nem tesz kárt. A folyadékok csekély összenyomhatósága miatt mechanikailag kevésbé sérülnek nyomáskezelés hatására.

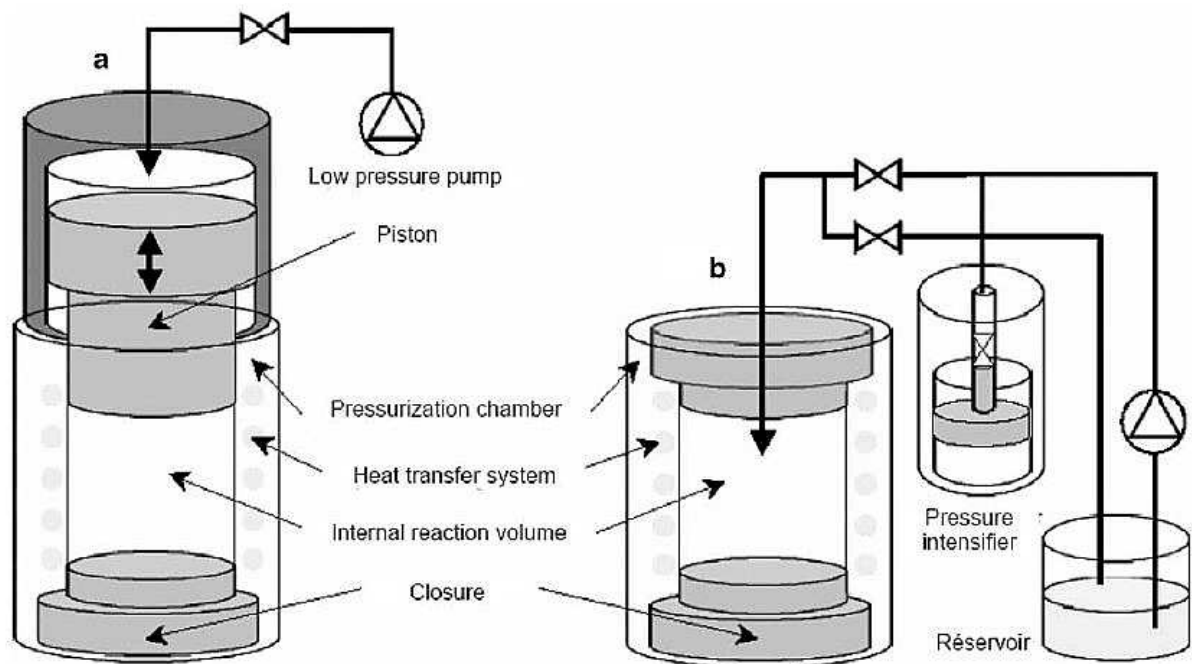
A tipikus nagynyomásos rendszer fő elemei a nyomástartó edény, a nyomást létrehozó rendszer, egy a hőmérsékletet szabályozó eszköz és az anyagmozgató rendszer (Mertens és Deplace, 1993; Mertens, 1995). A nagy nyomás a berendezésben létrehozható közvetett vagy közvetlen módon, melynek sematikus vázlatát a 2. ábra szemlélteti. A nyomástartó edény betöltése és lezárása valamint a levegő eltávolítása után egy tartályból nyomásátvivő közeg töltődik a nyomástartó edénybe, itt a kívánt érték eléréséig nyomás alá helyezik. A

berendezésben nyomás közvetítő folyadékként rendszerint korrózió-gátló adalékkal (olaj) kiegészített vizet használnak. A víz csekély összenyomhatósága révén a nyomás-növekedés gyorsan elérhető, az adiabatikus hő fejlődés 100 MPa-onként kb. 2-3 °C hőmérsékletemelkedést okoz (Deplace, 1995). A hőmérsékletszabályozás hűtő-fűtő folyadék keringetésével érhető el a nyomástartó edény körül. A nyomás lecsökkentése során az élelmiszer a kiindulási hőmérsékletre hűl vissza, feltéve, hogy a kamra falán keresztül nem alkalmaztunk hő közlést vagy hőelvonást. Amennyiben a kezelést szobahőmérséklet alatt vagy felett kívánjuk elvégezni, a kamra hőmérsékletét az elérni kívánt hőmérséklet közelében kell tartani. Ennek a mikroba inaktiválásban vagy a szerkezetkialakításban lehet fontos szerepe.



1. ábra: Élelmiszerek nagynyomásos kezelésére tervezett berendezés sematikus ábrája (Barta, 2007).

Az élelmiszerek nagynyomásos kezelésére kétféle módszer létezik, a csomagolt állapotban illetve az ömlesztett állapotban történő kezelés. Mivel az élelmiszer térfogata a nyomáskezelés alatt csökken, majd a nyomás elengedtetésekor kitágul, így a kezeléshez választott csomagolóanyagoknak és a hegesztésnek képesnek kell lennie a kb. 15%-os térfogatváltozást kibírni anélkül, hogy megsérülne. A folyadékok ömlesztett állapotban való kezelése lényegesen egyszerűbb, mivel csak szivattyúkat, csöveket és szelepeket igényel. Ezt a módszert a tisztasága és flexibilitása miatt az ipar jobban kedveli (Moreau, 1995). A nagynyomásos technológiának az élelmiszeripari felhasználhatóságában kihívást jelent az olyan nyomástartó edény létrehozása, amely képes nagy mennyiségű élelmiszer kezelésére a technológiailag megkívánt magas nyomáson, rövid ciklusidővel, mindezek mellett könnyen tisztítható, biztonságos és könnyen kezelhető.



2. ábra: Közvetlen (a) és közvetett (b) nyomáskezelő berendezések sematikus ábrája (Urrutia-Benet, 2005).

Az élelmiszeripar számára ma elérhető nyomáskezelési paraméterek a 900 MPa nyomásnagyság, az 5-90 °C közötti kezelési hőmérséklet és a 30 perces vagy annál hosszabb kezelési idő. A megfelelő nyomás-idő-hőmérséklet kombinációjának alkalmazása nemcsak technológiai oldalról, hanem gazdaságossági szempontból is fontos. Ha a kamra teljesen töltve van termékkel, az egy ciklusra eső kapacitás lényegesen megnő, mivel ezzel a ciklusidő csökkenthető. A műveleti időt befolyásolják még a kamrák száma és térfogata, valamint a berendezés töltése és a késztermék elszállítása. Megtörtént a félfolyamatos rendszer kifejlesztése is, ahol több nyomástartó edény van sorban kapcsolva, amíg az egyik edény töltés alatt áll, addig a többi a működés különböző fázisainál tart, így egy majdnem folyamatos rendszer hozható létre.

2.2. Mikroorganizmusok nyomástűrése

Az élelmiszerekben található mikroorganizmusok nyomástűrő képessége az alkalmazott nyomás nagyságának, a kezelési hőmérsékletnek, a kezelési idő hosszának és a ciklusok számának függvényében igen változó lehet. Ezenkívül az élelmiszerek összetétele, a jelen levő mikroorganizmusok fajtája, ezek szaporodási fázisa is befolyásolhatja a nyomáskezelés hatását (Smelt, 1998; Patterson et al., 1995).

A prokarióta vegetatív sejteket vizsgálva az élesztők és a penészek a legnyomásérzékenyebbek, 200-300 MPa nyomás hatására inaktiválódnak. Általánosságban az is elmondható, hogy a Gram pozitív baktériumok jobban ellenállnak a nyomásnak, mint a Gram negatív sejtek. Míg a Gram pozitív mikroorganizmusok inaktiválását 500-600 MPa, 10 perces kezeléssel el lehet érni szobahőmérsékleten, addig a Gram negatív mikroorganizmusok esetén 300-400 MPa, 10 perces kezelés is elegendő lehet ugyanezen a hőmérsékleten (Smelt, 1998). A kokkusok ellenállóbbnak bizonyultak a nyomáskezeléssel szemben, mint a pálcák, a nyomás alatt kevesebb morfológiai sérülést szenvednek el. A mikrobapopulációk a növekedés exponenciális szakaszában érzékenyebbek a nyomáskezelésre, mint stationer fázisban (Hoover et al., 1989). A nyugvó baktérium spórák nagy hidrosztatikus nyomással szemben is nagyon rezisztensek, közvetlen inaktiválásuk még 1000 MPa nyomásértéknél sem teljes. Az alacsonyabb nyomáskezelés (250 MPa) és enyhe hőkezelés (40 °C) kombinációja elősegíti a csírázást, a kicsírázott spórák pedig már nyomás- és hőérzékenyek, így két lépésben inaktiválhatóak. Ez a megfigyelés a nagynyomásos technológia és az enyhe hőkezelés kombinációját teszi ígéretessé.

Általánosságban kijelenthető, hogy minél alacsonyabb nyomást alkalmazunk, annál magasabb hőmérsékletre van szükség az inaktiváláshoz, élelmiszerek esetén a sterilitás 500 MPa alatt nem lehetséges (Meyer et al., 2000).

A mikrobák reakciója egy adott nyomáskezelésre lehet az inaktiváció vagy a túlélés. A mikroba sejtkárosodása határozza meg a túlélést vagy a pusztulást. A károsodás mértéke egyértelműen a nagynyomásos kezelés paramétereitől, így az alkalmazott nyomás nagyságától, a kezelési időtől és hőmérséklettől, valamint a szuszpenziós közeg összetételétől függ. Ebből a szempontból két nyomás tartomány különböztethető meg, az alacsonyabb nyomások a mikrobák sérülését, és a szaporodás késleltetését, míg a magasabb nyomások a vegetatív mikrobák inaktivációját okozzák. A sérült sejtek sorsa a nyomáskezelést követő körülményektől függ, az inaktiváláshoz kombinált kezelések lehetnek szükségesek (Patterson et al., 1995).

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés számos változást idézhet elő a biokémiai reakciókban, genetikai mechanizmusokban, a sejt morfológiában valamint a sejtmembrán tulajdonságaiban, ami a mikrobapusztulás kiváltásában szerepet játszik (Hoover et al., 1989). A nagynyomásos kezelés mikroba inaktivációs hatását valószínűleg számos, a mikroba sejten belül egyidejűleg lejátszódó változás eredményezi (Patterson et al., 1995). A nagy hidrosztatikus nyomás megváltoztatja a sejt morfológiáját. Osumi és munkatársai (1992) megállapították, hogy élesztők 200 MPa-nál nagyobb nyomáskezelése esetén a sejtfa károsodik és módosul a szubcelluláris szerkezet. Shimada és munkatársai (1993) szerint a nagynyomás hatása élesztők esetén közvetlenül a membránban jelentkezik. A *Saccharomyces cerevisiae* külső sejtformája 300 MPa nyomásig gyakorlatilag változatlan marad, míg 500 MPa-nál magasabb nyomás esetén a sejtfa károsodása és szétszakadozása volt megfigyelhető. Mackey és munkatársai (1994) *Listeria monocytogenes* és *Salmonella* Thompson esetén figyelték meg 250 MPa és 500 MPa 10 percig tartó nyomáskezelések hatásait. A sejtfaokban szignifikáns különbségek mutatkoztak, megváltoztatva a membrán funkcionalitását, úgymint az aktív transzportot és a passzív áteresztőképességet, ezzel megbontva a sejt fizikokémiai egyensúlyát.

A biológiailag előforduló nyomásértékeken a DNS szerkezetében nem történik változás. *Escherichia coli* esetén a DNS szintézis körülbelül 50 MPa nyomáson áll le, a 25-43 MPa nyomástartományban a másolódás és sejtosztódás egyidejűleg figyelhető meg. Ezek a folyamatok valószínűleg összefüggenek és a membrán lipidjei ebben kulcsszerepet játszhatnak (Bartlett, 1992). A 40-55 %-os szacharóz oldatban szuszpendált *Rhodotorula rubra* sejtjei 30 °C-os kezelési hőmérsékletig nyomástűrőnek bizonyultak, ennél magasabb hőmérsékleten inaktiválódtak, amely hatás a membrán fluiditásban bekövetkezett változásoknak köszönhető (Oxen és Knorr, 1993).

A membrán fluiditás fontos szerepet tölt be a mikroba inaktiválásban. Baktériumsejtek esetén a külső membránra szükség van a homeosztázis fenntartásához. A membrán egy olyan foszfolipid molekulákból álló kettős réteg, amelyben fehérjék ágyazódnak be. A nagynyomásos kezelés a fehérjék aktivitásának és a lipidszerkezet megváltoztatásán keresztül fejt ki hatását a membrán szerkezetére és funkciójára. A membránban a lipidek fizikai állapota a gél és a folyékony állapot között változhat a rendszer fizikai paramétereitől függően. Mivel a nyomáskezelés növelése a térfogatcsökkenéssel járó reakcióknak kedvez, ezért a gélből folyékony állapotba való átalakulás ilyenkor gátolva van. Casadei (2000) tanulmányozta a stacioner és exponenciális fázisban levő *Escherichia coli* sejtek nyomástűrését és ennek hatását a membrán fluiditásra. A magasabb hőmérsékleten (37° C)

szaporított stacioner fázisban levő sejtek nyomástűrése nagyobbak bizonyult a 10° C hőmérsékleten szaporított sejtekénél, ami azt feltételezi, hogy a membrán megvédte a stacioner fázisban levő sejteket a nyomás okozta károsodástól. Ezzel ellentétben a 37° C-on szaporított exponenciális növekedési fázisban levő sejtek érzékenyebben reagáltak a nyomásra, mint a 10° C-on szaporodó sejtek. A mikrobák szaporodási fázisától függő különböző nyomástűrési tulajdonságok összefüggésbe hozhatóak azzal, hogy a sejtmembrán különböző funkciókat tölt be a különböző szaporodási fázisban levő mikrobasejtek esetén. Az exponenciális szaporodási fázisban levő sejteknél egy folyékonyabb állapotú membrán jobban elősegíti a membránhoz kötött enzimek működőképességét, amelyek az aktívan metabolizáló sejt esetén nélkülözhetetlenek, míg a stacioner fázisban levő sejtekben egy szilárdabb membrán által kínált szerkezeti védelem nagyobb fontossággal bír.

Az alkalmazott nyomáskezelés nagyságától függően a sejtekben reverzibilis vagy irreverzibilis fehérjedenaturáció lép fel. Némely fehérje denaturációja a mikrobainaktivációhoz szükséges nyomásértéknél alacsonyabb nyomáson is végbemehet. Általánosságban elmondható, hogy az összetett fehérjék a monomer fehérjéknél érzékenyebbek a nyomásra, így a fiziológiailag releváns alacsony nyomásértékeknél (< 100MPa) az összetett fehérjék nagyobb valószínűséggel denaturálódnak. A nagy nyomás egyik legfontosabb, fehérjeszintézisre gyakorolt hatása a riboszóma funkciójának gátlása. A nyomáskezelés hatásainak vizsgálatában a riboszóma disszociáció bizonyult a fehérjeszintézis gátlás elsődleges okozójának (Bartlett, 1992).

Az intracelluláris enzimek vizsgálata felfedte, hogy a különböző enzimek különféleképpen reagálnak a nyomásra, más-más mikrobából származó ugyanazon enzim esetében is különbségek mutatkozhatnak. A nyomás gyengíti a kapcsolatot a membránfelszín és a hozzá kapcsolódó enzimek között (Hoover et al., 1989).

A membránhoz kötött ATP-áz aktivitásának gátlásával foglalkozó kutatások kimutatták a kapcsolatot az enzimaktivitás és a körülötte levő membrán molekularendje között. Gibbs és Somero (1990) megállapították, hogy a nyomás hatására bekövetkezett ATP-áz aktivitás csökkenése és a körülötte levő membrán fluiditása között direkt összefüggés van. Knorr (1993) szintén publikálta az ATP-áz aktivitáscsökkenés és a membrán fluiditás csökkenése közötti kapcsolatot. Magas nyomásértékek esetén az ATP-áz inaktiváció és ennek a sejt homeosztázisára gyakorolt hatása tehető felelőssé a sejtpusztulásért (Parkson et al. 1985).

Élelmiszerek esetén a nyomáskezelés sikeres kivitelezése érdekében szükséges megállapítani az alkalmazandó nyomásnagyság és kezelési idő azon kombinációját, amely az előforduló

romlást okozó, illetve patogén mikrobák számát biztonságos érték alá tudja csökkenteni. A kezelés nagyságának, idejének, és hőmérsékletének növelése növekvő mikrobapusztulást fog eredményezni. Minden esetben létezik olyan kritikus minimális nyomásérték, amely alatt nem következik be mikrobainaktiváció, tekintet nélkül az alkalmazott kezelési idő hosszára.

Élelmiszerekben előforduló patogén fajoknak lehetnek olyan törzsei, amelyek viszonylag rezisztensek a nyomásra, ugyanazon faj más-más törzseihez képest (Patterson et al. 1995).

A vegetatív mikroorganizmusok inaktiválása nagynyomásos kezeléssel gyümölcsök illetve gyümölcstermékek esetén az alacsony pH miatt igen hatékonynak bizonyult. Linton és munkatársai (1999) kimutatták, hogy a pH észlelhető hatással van az *Escherichia coli* O157:H7 nagynyomásos inaktivációs mértékére. A pH csökkentésével a legtöbb mikroba érzékenyebbé válik a nagynyomásos kezelésre. Jordan és munkatársai (2001) nyomás rezisztens *Escherichia coli* O157 sejteket tanulmányoztak 0,1-500 MPa 5 perces nyomáskezeléseket követően narancslében (pH 3.8), almalében (pH 3.5), és paradicsomlében (pH 4.1). Az 500 MPa nyomáskezelés azonnali 5 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenést okozott az almalében és a paradicsomlében, míg narancslé esetén csak 1-2 nagyságrendnyi csökkenés volt megfigyelhető. Paradicsomlé 200 MPa 10 percig tartó kezelése három nappal, míg 400 MPa-on történő kezelése két héttel hosszabbította meg az eltarthatósági időt (Mohácsi- Farkas et al., 2002). Garcia-Graells és munkatársai (1998) 300 MPa 15 perces 20 °C-os nyomáskezelést követően 5 nagyságrendnyi csökkenést tapasztaltak nyomás rezisztens *Escherichia coli* esetén almalében (pH 3.3). Az 550 MPa-os 5 perces 20°C-os kezelés *Escherichia coli* O157:H7 esetén 6 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenést eredményezett narancslében (pH 3.9) (Linton et al., 1999). Teo és munkatársai (2001) az *Escherichia coli* O157:H7 és különböző *Salmonella* törzsek reakcióját tanulmányozták grapefruitlében (pH3.0), narancslében (pH3.7), almalében (pH 3.7) és répalében (pH 6.2). Az *Escherichia coli* O157:H7 a grapefruitlében bizonyult a legnyomásérzékenyebbnek, míg almalében mutatkozott legkevésbé érzékenynek a 612 MPa-os 2 perces 15° C-os nyomáskezelésre. *Salmonella* spp. nem volt kimutatható a 2 percig 615 MPa-on és 15° C-on kezelt grapefruit és narancslében.

Az élelmiszerek hőmérsékletének szobahőmérséklet fölé emelése a nagynyomásos kezelések során a mikrobaszám fokozott csökkenését vonja maga után. A baktériumsejtek legkevésbé 20-25 °C között érzékenyek a nyomásra, ám 30 °C fölött az érzékenység növekszik (Ludwig et al., 1992). A 40-45 °C közötti hőmérséklet alkalmazása növeli a

romlást okozó és patogén mikrobák inaktivációjának mértékét. Szobahőmérsékleten a kezelési idő hossza nincs komoly befolyással a mikrobusztulásra (Alpas et al., 2000).

Oxen és Knorr (1993) kimutatták, hogy a nyomáskezelés során a vízaktivitás csökkentése 0.98-1.0-ról 0.94-0.96-ra jelentősen csökkenti az élelmiszerekben található mikrobák aktivitását. Ez valószínűleg a mikrobák szubletális sérülésével magyarázható, ezeknek a sejteknek a felépülése az alacsony vízaktivitás érték mellett gátolva van.

Nyers tej mikrobiológiai minősége szintén javítható nagynyomásos kezelés alkalmazásával. Tehéntej 600 és 700 MPa nyomáskezelése hatékonyan csökkentette az összcsíraszámot és a foszfatáz enzim aktivitását, érzékszervi elváltozásokat nem okozott (Koncz et al., 2007). Az induló csíraszámától függően 400-600 MPa-on kezelt tej minősége megfelel a hőkezeléssel pasztörözött tej (72 °C, 15 s) minőségének (Buffa et al., 2001). Ezáltal a nagynyomásos technológia alkalmazható sajtok előállítására is. A nagynyomással kezelt tejből (500 MPa, 15 perc 20 °C) előállított sajt és a hőkezeléssel pasztörözött (72 °C, 15 s) tejből készített sajt mikrobiológiai minősége azonosnak mondható (Buffa et al., 2001). Capellas és munkatársai (1996) 7 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenést, valamint a hűtve tárolhatósági idő meghosszabbodását tapasztalták *Escherichia coli*-val beoltott kecskesajt esetén 400-500 MPa-os, 5-15 perces nyomáskezelést követően. O'Reilly és munkatársai (2000) nagynyomásos kezelés (50-800 MPa, 20 perc, 10-30 °C) hatásait vizsgálták táplevesbe, valamint Cheddar sajtba beoltott *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, és *Penicillium roqueforti* esetén. A különböző mikrobafajok érzékenysége mindkét esetben a következőképpen alakult: *Penicillium roqueforti* > *Escherichia coli* > *Staphylococcus aureus*. A *Staphylococcus aureus*-nak és a *Penicillium roqueforti*-nak a nyomás hatására történő inaktivációja a táplevesben magasabb volt, míg az *Escherichia coli* a legnagyobb érzékenységet a Cheddar sajtban mutatta < 200 MPa nyomásértékek esetén, ami valószínűleg a sajtérlelés során bekövetkező, savak okozta sérüléseknek köszönhető. Ezek az eredmények is megerősítik, hogy a nagynyomásos kezelés alkalmazásának tervezésekor figyelembe kell venni a termék tulajdonságait és a feldolgozás körülményeit.

Húsok esetén a nagynyomásos kezelés alkalmazhatóságát az ennek hatására bekövetkező érzékszervi elváltozások részlegesen korlátozzák. A húsok mikrobiológiai minőségváltozására vonatkozó kutatások azt mutatják, hogy a nyomáskezelés itt is hatékonyan alkalmazható. Crawford és munkatársai (1996) *Clostridium sporogenes*-t oltottak nyers csirkemellbe majd 689 MPa-on, 1, illetve 20 percig kezelték 80°C-on. Ezzel az eljárással 1 perces kezelés során 3, 20 perces kezelés során pedig 5-6 nagyságrendnyi pusztulást sikerült elérni. Carballo és

munkatársai (1997) az eredetileg jelen levő mikroflórát csekély (9.2%) és nagy (20.3%) zsírtartalmú marhahús pástétomban próbálták eliminálni 100-300 MPa-on 5-20 perces 5 °C-os nagynyomásos kezeléssel. A 300 MPa 20 percig tartó kezelés során 2-2.5 nagyságrendnyi összes aerob mikrobaszám csökkenést, 2.5-3 nagyságrendnyi összes pszihrotrop mikrobaszám csökkenést, valamint 100% enterobacteriaceae eliminációt sikerült elérniük. Azt is megállapították, hogy az alacsonyabb zsírtartalmú mintában magasabb volt a mikrobainaktiváció aránya. Yuste és munkatársai (1998) csirkehús szeparátum esetén 450 MPa, 15 perces 2 °C-os kezelést kombináltak nizin és glükonodeltalakton adagolásával, aminek eredményeképpen 3,5-4 nagyságrendnyi mezofil mikrobaszám csökkenést, valamint 5-5.2 pszihrotrof mikrobaszám csökkenést tapasztaltak. Castillo és munkatársai (2004) darált csirkehús nagynyomásos kezelését nizin adagolásával kombinálták. A 300 MPa-os kezelés az összcsíraszámban 3 nagyságrendnyi csökkenést okozott, nizin adagolásával (670 IUg-1) kombinálva a kezelést követően 5 nagyságrendnyi összcsíraszám csökkenést figyeltek meg. Spanyol véreshurkában (morcilla) az enterobaktériumok és a pseudomonas populációk száma a nagynyomásos kezelések (300-600 MPa, 10 perc 15 °C) hatására a kimutathatósági határérték alá volt csökkenthető, és a termék eltarthatóságát 600 MPa 10 perces kezelés 15 nappal megnövelte (Diez et al., 2008).

Az 1. táblázatban található további, a szakirodalomból kigyűjtött példák - a teljesség igénye nélkül - illusztrálják, hogy a különböző baktériumok különböző közegekben milyen eltérő módon viselkednek nagynyomásos kezelés hatására.

1. táblázat: Nagynyomásos kezelés hatása különböző mikrobákra, különböző közegekben

Mikroorganizmus	Közeg	Nyomás (MPa)	Idő (perc)	Hőmérséklet (°C)	Inaktiváció mértéke (log vagy %)	Referencia
Összes aerob mezofil	Banánpüré	517-689	10	szobahőmérséklet	3	Palou et al. (1999)
Összes aerob mezofil	Marinált marhahús	600	6	31	>4.5	Garriga et al. (2004)
Összes aerob mezofil	Szeletelt ananász	200	5	4	0.6	Alemán et al. (1994)
		270	5		1.8	
		340	15		1.6	
			5		1.9	
			15		3.0	
40	2.9					
Élesztők és penészek	Banánpüré	517-689	10	szobahőmérséklet	2	Palou et al.(1999)
Élesztők és penészek	Szeletelt ananász	200	60		0.8	Alemán et al. (1994)
		340	15		3.3	
<i>Aspergillus niger</i>	Satuma mandarin lé	400 MPa	10		4	Takahashi et al. (1993)
<i>Candida albicans</i>	Satuma mandarin lé	250	10		4	Takahashi et al. (1993)
<i>Penicillium citrinum</i>	Satuma mandarin lé	250	10		4	Takahashi et al. (1993)
<i>Zygosaccharomyces bailii</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Saburaud glükóz 2%, a _w 0.98, pH 3.5	50-689	n.a	21	0% (<200 MPa) 100% (>517 MPa) <i>S. cerevisiae</i> rezisztensebb	Palou et al. (1998a)
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Saburaud glükóz 2%, a _w 0.98, pH3.5	345	5-10	21	6	Palou et al. (1998b)
		517			6	
		689			6	
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Spagetti szósz (pH 4.0)	305	10		7	Pandya et al. ((1995)
<i>Zygosaccharomyces. bailii.</i>	Pasztörözött gyümölcslevek: alma, narancs, ananász, áfonya, szőlő	300	0.5-6 (v.s)	25	5 (vegetatív sejtek) 1-3 (spórák)	Raso et al. (1998b)
			0.5-25(s.)			

Mikroorganizmus	Közeg	Nyomás (MPa)	Idő (perc)	Hőmérséklet (°C)	Inaktiváció mértéke (log vagy %)	Referencia
<i>Escherichia coli</i>	Nyers csirkehús, tej	100-700	15	40-60	Tejben rezisztensebbnek bizonyult, mint csirkehúsban	Patterson és Kilpatrick (1998)
<i>Escherichia coli</i>	Pasztörözött juhtej	50-300	5,10,15	2,10,25,50	Magasabb hőmérsékleten nagyobb inaktivációs érték. 10 °C-nál a legnagyobb rezisztencia	Gervilla et al. (1999)
<i>Escherichia coli</i>	Pasztörözött tojás plusz nizin	300 450	10	20	0.5 3.5	Ponce et al. (1998)
<i>Pseudomonas spp.</i>	Szeletelt, pácolt marha sonka	500	5	18	2	Rubio et al. (2007a)
<i>Salmonella</i> Thompson	Tápleves	250 500	10	23-27	5 8	Mackey et al. (1994)
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.1% pepton oldat plusz pediocin és nizin	138-483 207	5	25 25,35,45	10 (483 MPa) 3 (45°C)	Kalchayanand et al. (1998)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Osztriga	250 350 450	2 2 2	1 20 35 1 20 35 1 20 35	3.1 2.1 3.5 5.4 5.3 >6.5 >6.5 >6.5 >6.5	Kural et al. (2008)
<i>Vibrio spp.</i>	ASW	200	10	25	1.5	Berlin et al. (1999)

Mikroorganizmus	Közeg	Nyomás (MPa)	Idő (perc)	Hőmérséklet (°C)	Inaktiváció mértéke (log vagy %)	Referencia
<i>Vibrio vulnificus</i>	Osztriga	200 250 300	15 6 3	1	5.5 6.3 6.0	Kural és Chen (2008)
<i>Salmonella</i> spp. <i>Listeria monocytogenes</i>	Főtt sonka	400	10	17	1.9 2.4	Aymerich et al. (2005)
<i>Bacillus cereus</i>	McIlvane citrát-foszfát tápleves pH 7	700	15	60	6-8	Raso et al. (1998a)
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	0.067 M foszfát tápleves pH 7	200	60	70 75 85 95	3 5 6 6	Hayakawa et al. (1998)
<i>Bacillus subtilis</i>	50 Mm kálium-foszfát tápleves pH 7	100 200 300 400 500 600	30	40	44% 99% 95% 44% 68% 68%	Wuytack et al. (1998)
<i>Clostridium sporogenes</i>	Desztillált víz	200, 400, 600	30	20, 40 60	1.5-2 400 MPa-on	Mills et al. (1998)
<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Pediococcus cerevisiae</i> ,	Desztillált víz, steril kimichi lé(koreai zöldségétel), kimichi	100-600	10	25	100% (300-500 MPa) 5 log (400-600 MPa)	Kyung-Hyun és Hyong-Joo (1998)
<i>Listeria innocua</i>	Pasztörözött tojás plusz nizin	300 450	10	20	0 1.5	Ponce et al. (1998)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ibériai sonka	450	10	12	3.6	Morales et al. (2006)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Pácolt sonka	600	6	31	100%	Hugas et al. (2002)

Mikroorganizmus	Közeg	Nyomás (MPa)	Idő (perc)	Hőmérséklet (°C)	Inaktiváció mértéke (log vagy %)	Referencia
<i>Listeria monocytogenes</i>	Pulykamell	400	1	1	0.5	Chen (2007)
				20	0.1	
				50	4.1	
		500	1	1	1.4	
				20	0,9	
				50	3.8	
<i>Listeria monocytogenes</i>	TSB (pH7) Alma (pH3) és szilva (pH4) püré bébiétel	100-400	5,10,15,	20	100% (400 MPa, 15 perc TSB-ben)	Prestamo et al. (1999)
			30	5	100% (350 MPa, 30 perc)	
<i>Listeria nonocytogenes</i>	0.1%-os pepton oldat plusz pediocin és nizin	138-483 207	5	25 25,35,45	8 (414 MPa) >6 (45°C)	Kalchayanand et al. (1998)
<i>Listeria nonocytogenes</i>	Tápleves	250 500	10	23-27	0 8	Mackey et al. (1994)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.1% pepton oldat plusz pediocin és nizin	138-483	5	25	>10 (483 MPa)	Kalchayanand et al. (1998)
		207		25,35,45	3 (45°C)	

2.3. A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatása az élelmiszer összetevőkre

2.3.1. Víz

A nagy nyomás vízre gyakorolt hatását a szilárd-folyékony fázis diagram mutatja (Kalichevsky et al., 1995). Légköri nyomásnál közönséges jég képződik (I-es típus), ami térfogat növekedéssel jár. Ez a növekedés 0 °C esetén 9 %-os, -20 °C-on 13 %-os. Nagyobb nyomás esetén az I-es típusú jég képződése gátolt, csak kisebb hőmérsékleten képződik, mint atmoszférikus nyomás mellett. 200 MPa nyomáson I-es típusú jég -22 °C-on képződik. Más jégfajták, amelyek a víznél sűrűbbek, képződhetnek alacsonyabb hőmérsékleten és magasabb nyomáson, kevesebb kárt okozva a szövetekben, csökkentve ezzel a fagyasztott élelmiszerek minőségromlását (3.ábra).

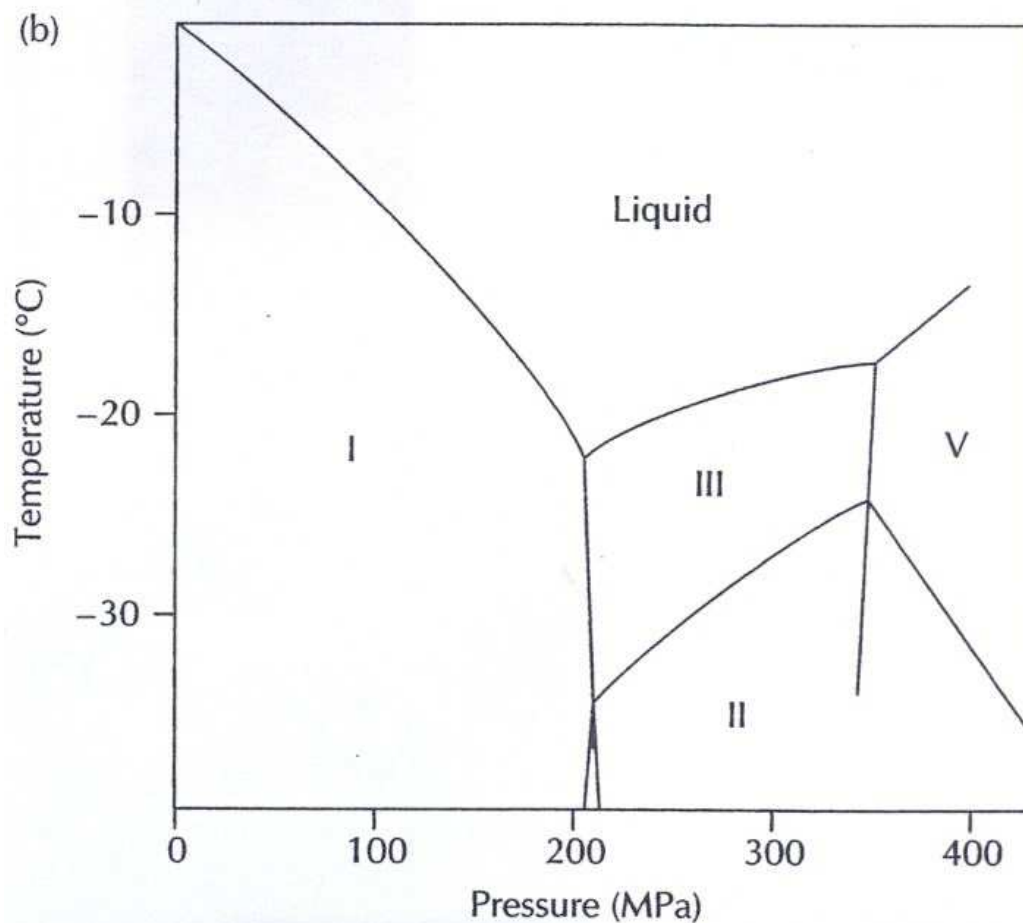
Magas nyomás melletti fagyasztás esetén az élelmiszerek -20 °C alá is túlhűthetőek, a nyomás elengedése után, gyors jégkristályképződés történik, ezáltal homogén szerkezet alakul ki. Ez a rendszer a kriogén fagyasztásnál is előnyösebb, mivel kevesebb kárt okoz az élelmiszerek szerkezetében. Kriogén fagyasztás esetén a nagyobb méretű élelmiszerek sérülhetnek a hűtés során fellépő térfogatcsökkenés miatt, a nagynyomásos fagyasztás általában jobb eredménnyel jár élelmiszerek esetén. Nagynyomásos technológiával lefagyasztott gyümölcsök puhábbnak bizonyultak, és fogyaszthatóak voltak akár felengedtetés nélkül is (Kalichevsky et al., 1995).

Nyers és blansírozott zöldségekre vonatkozó eredmények nagyban eltérhetnek a zöldség típusától és az alkalmazott nyomás nagyságától függően. A 200, 340 és 400 MPa nyomáson fagyasztott répa elfogadható állományú maradt, míg 100 MPa-on való fagyasztás károkat okozott a szövetekben. A 200 és 340 MPa-on, -20 °C-on fagyasztott répák állománya jobbnak bizonyult a -30 °C-on, légköri nyomáson fagyasztott répáénál (Fuchigami et al., 1997). Azonos körülmények között fagyasztott kínai kel esetén az eredmények hasonlóak, a 200, 340 és 400 MPa-on történő fagyasztás jobb minőségű terméket eredményezett, mint az alacsony nyomású fagyasztás, bár felengedtetés után a nagynyomásos fagyasztással készült termékek állománya különbözött a nyers termékekétől (Fuchigami et al., 1998).

A felengedtetés szintén fontos lépés a fagyasztott élelmiszerek minőségének megőrzése szempontjából, a gyors felengedtetés a kívánatos, mivel kevesebb a csöpögési veszteség, a szín-, és illatanyagok jobban megőrződnek. A nagynyomásos technológia alkalmas az élelmiszerek gyors felengedtetésére alacsony hőfokon. A fagyasztott élelmiszer 100-200 MPa

közötti nyomáson - a kiindulási hőmérséklettől függően - 5° C alatti hőmérsékleten felengedtethető. A technika alkalmazásának egyik korlátja a húsfehérjék denaturálódása lehet (Kalichevsky et al., 1995).

Egy másik lehetséges kiaknázása a víz nagy nyomás alatti termodinamikusan viselkedésének a 0° C alatti, nem fagyasztott tárolás területe. Előnye lehet a megnövelhető eltarthatósági idő számos élelmiszer esetén a tradicionális fagyasztási-felengedtetési technika hátrányai nélkül. A hagyományos fagyasztási technológiához hasonlóan az enzimaktivitás itt sem küszöbölhető ki teljes mértékben, nagyon fontos pontosan meghatározni azt a hőmérséklet-nyomás kombinációt, ahol az enzimműködés gátolva van.



3.ábra: Víz-jég fázisdiagram alakulása atmoszférikus nyomás fölött, Kalichevsky nyomán (Kalichevsky et al., 1995).

2.3.2. Fehérjék

A nagynyomásos kezelés számos hatással lehet a fehérjékre, okozhat reverzibilis vagy irreverzibilis szerkezeti változásokat, ami denaturációhoz, aggregációhoz, vagy gélképződéshez vezethet. Mindezen hatások függenek a fehérje típusától és koncentrációjától éppúgy, mint az alkalmazott nyomás nagyságától, a kezelési időtől, a hőmérséklettől és a környezeti tényezőktől (pH, a_w).

A fehérjék negyedleges szerkezetét nem-kovalens kötések tartják össze, amelyek nagyon érzékenyek a nyomásra. Már 150 MPa nyomás is felbontja az összetett fehérjéket, a monomer formák létrejöttének kedvez. Ez magyarázza, hogy az összetett enzimek általában érzékenyebbek a nyomásra, mint az egyetlen molekulából állóak. A nyomás hatására bekövetkezett fehérjeszerkezet bomlása eredeztethető az aminosavláncok közötti nem-kovalens kötések (hidrofóbikus és ionos) megváltozásából. Ezek a kötések adják a fehérjék harmadlagos szerkezetét és általában 300 MPa feletti nyomás már hatással van rájuk, bár némelyik 200 MPa hatására is módosul. A másodlagos fehérjeszerkezetet (α -hélix vagy β -lemez) a peptidek közötti hidrogénkötések biztosítják. Ez a szerkezet alacsonyabb nyomásértékeknél stabil, irreverzibilis károsodás csak nagyon magas nyomáson figyelhető meg. A kovalens kötésekre a nagy hidrosztatikus nyomás nincs hatással, így a fehérjék elsődleges szerkezete megmarad (Hendrickx et al., 1998).

A makromolekulák magasabb rendű szerkezetében beállt változások nagyban befolyásolják azok biológiai funkcióit. Élelmiszerek esetén a makromolekulák szerkezetének felépítése gyakran összefügg valamilyen technológiailag fontos tulajdonsággal. A nagy hidrosztatikus nyomás ilyen irányú hatásai mint állománymódosítási lehetőség kerültek az érdeklődés középpontjába (Dumoulin és Hayashi, 1998). A leggyakrabban tanulmányozott minták a hemoglobin és a vérben található fehérjék, valamint a tojás- és tejfehérjék. Minden egyes fehérjére külön gélesedési mintázat jellemző, amely függ a fehérjekoncentrációtól és az alkalmazott nyomástól. A gélképződéshez szükséges minimális fehérjekoncentráció nyomáskezelés során nagyobb, mint a hőkezelésre létrejövő gélképződés esetén. A nagyobb fehérjekoncentráció együtt jár a nagyobb vízmegkötéssel, a képződött gél erősebb, szilárdabb lesz, bár nagy nyomás hatására létrejött gélek kevesebb vizet kötnek meg, és lágyabbak is a hőkezelés hatására létrejött géleknél (Jimenez-Colmenero, 2002). Míg a hőkezelés okozta gélek szerkezete kompakt, több molekulán belüli kötéssel a polipeptid láncok között, addig a nagy nyomás által létrehozott gélek szerkezete inkább porózus tulajdonságot mutat. Az alkalmazott nyomás növelésével a gél szerkezet erőssége növelhető, valószínűleg a

polipeptidek nagyobb mértékű aggregációjának köszönhetően. Tejsavó és hemoglobin esetén a kezelési idő hossza is befolyásolja a gélstruktúrát, hasonló hatás egyéb fehérje/víz rendszerek esetén nem volt megfigyelhető (Dumoulin és Hayashi, 1998).

A nagy hidrosztatikus nyomás különböző élelmiszerek fehérjéire gyakorolt hatása lehetővé teszi új termékek kifejlesztését is. A tyúktojás fehérjéje - leginkább funkcionális tulajdonságai miatt - elterjedten használt élelmiszer komponens. A gél-, emulzió-, és habképző tulajdonságai meghatározzák számos termék megjelenését (állomány, íz, illat). Azonban akár a legenyhébb hőkezelés hatására is megszűnnek vagy módosulnak a tojásfehérje funkcionális tulajdonságai. Mivel a nagynyomásos kezelés lehetővé teszi, hogy megőrizze kedvező tulajdonságait, ez a technológia alkalmas lehet tojás tartósítására (Hayashi, 1989). Thakur és Nelson (1998) tojás nyomáskezelése során azt találták, hogy a tojássárgájából 400 MPa-on képződött gél megőrizte az eredeti színét. Magasabb nyomáson keményebb gél alakult ki, amely még mindig lényegesen lágyabbnak bizonyult a hőkezelés során képződött gélnél. Nyomáskezelés hatására tojásfehérjénél is gélképződést tapasztaltak, ami jelezte a nyomás alatti főzés lehetőségét, anélkül, hogy kénes íz vagy vitaminvesztés jelentkezett volna. Dumoulin és munkatársai (1998) is vizsgálták a nyomáskezelés (210-500 MPa) hatását a tojásfehérjének és sárgájának gélképződési tulajdonságaira különböző hőmérsékleteken (-20 - +50 °C). A szobahőmérsékletnél alacsonyabb vagy magasabb hőmérsékletek előnyös hatással voltak a tojásfehérje gélképződésére, míg tojássárga esetén a hőmérséklet csökkentése csökkenő gélképződéssel járt.

Hwang és munkatársai (2007) halhús gélesedését vizsgálták 200 MPa, 60 perces nyomáskezelés, valamint 50 °C hőmérsékleten 60 percig tartó hőkezelés, illetve ezen kezelések kombinálásának hatására. A nyomáskezelés hatására létrejött gél lágynak bizonyult, hidrogénkötések és hidrofób kölcsönhatások határozták meg a kialakult szerkezetet. A nyomáskezelés majd az ezt követő hőkezelés kombinálásával kovalens és nem kovalens kötések jöttek létre, amelyek megerősítették a gél struktúráját. A hőkezelés és az azt követő nyomáskezelés nem változtatott a gél tulajdonságain, amely merev, leginkább kovalens kötések tartalmazó szerkezetű. Az 50 °C hőmérsékleten történt nyomáskezelés hatására nem kovalens kötések tartalmazó viszkózus gél jött létre, mivel a nyomáskezelés megóvta a fehérjéket a hő hatására történő denaturációtól.

A sajtgyártásban a nagynyomással kezelt tej kiválthatja a pasztörizált vagy nyers tejet, bár a nagynyomásos technológiával kezelt tejből készült érett Cheddar sajt érzékszervi bírálata az állomány minőségében visszaesést tapasztalt. Az íze ellenben megfelelt a pasztörözött tejből

készült sajt ízének, és jobbnak bizonyult a nyers tejből készült sajténál. A nagynyomásos kezelés befolyásolhatja a tej enzimes koagulációjának mértékét. Ebben az esetben a koaguláció a kazein micella méret csökkenésének köszönhető (Lopez-Fandino et al., 1996).

Felipe és munkatársai (1997) tej 500 MPa 25 °C-os nyomáskezelését végezték, aminek során a β -laktalbumin bizonyult a legkönnyebben denaturálódó szérumfehérjének, míg az immunoglobulinok és az α -laktalbumin denaturációja magasabb nyomásértékeken 50 °C hőmérsékleten következett be.

A nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazható nyers- és főtt húsok puhítására. Jimenez-Colmenero és munkatársai (1998) nyomáskezelés hatását (200, 400 MPa, 60, 70, 80 °C) tanulmányozták sertés és csirkehús emulziókon, amelyek különböző koncentrációban sót tartalmaztak. Az eredmények azt mutatták, hogy a 70 és 80 °C-on nyomáskezelte emulzióknál jobb zsír- és vízmegkötő tulajdonságokat értek el, mint az azonos hőmérsékleten, de atmoszférikus nyomáson kezelt emulziók esetében. Fernandez és munkatársai (1998) hasonló eredményeket publikáltak tojásfehérje és keményítőtartalmú panírozott csirkeszeletek vizsgálata után. Dumoulin és Hayashi (1998) megfigyelték, hogy a húsok hidrosztatikus nyomáskezelése 350 MPa-ig javított a húsok színén, azonban magasabb nyomású kezelések esetén a szín szürkés-barnára változott, valószínűleg a miooglobin denaturáció miatt. A nyomáskezelés nemkívánatos eredményeként a hús elszíneződése számos esetben megfigyelhető, bár a kezelt húst ebben az esetben lédúsabbnak, lágyabbnak és elasztikusabbnak találták, mint a hőkezelt mintákat.

A tapasztalatok alapján elmondható, hogy valószínűleg a hús és a húsfehéjék reagálnak legérzékenyebben a nyomásra. Ez a glikolitikus folyamatoknak és a miofibrilláris fehérjék közötti kölcsönhatások viszonylag nagy nyomásérzékenységének köszönhető. Az izomszövet fehérjei közül az aktin és a miozin irreverzibilisen denaturálódik a nyomás hatására. Az aktomiozin komplex szintén nyomásfüggő, nyomás hatására aktinra és miozinra válik szét. Ezt mutatja a nyomáskezelte aktomiozin oldat zavarosságának csökkenése, viszkozitásának csökkenése és az optikai forgatóképesség megváltozása (Macfarlane, 1989).

2.3.3. Enzimek

Az enzimek aktív centrummal rendelkező fehérjék, aktivitásukat a fehérje konfiguráció legapróbb változása is befolyásolhatja. Alacsony nyomáskezelés hatására (kb. 100 MPa) egyes esetekben a monomer enzimek aktiválódása tapasztalható, valamint indirekt

enzimaktivitás növekedés is megfigyelhető a szöveti károsodás miatt megnövekedett mennyiségű szubsztrát jelenlétének következtében. Leggyakrabban azonban a nagyobb nyomáson történő kezelések hatására az enzimek inaktiválódnak (Hendrickx et al., 1998). A nagynyomásos kezelés által okozott inaktiváció lehet reverzibilis vagy irreverzibilis, az alkalmazott nyomás nagyságától függően. Az enziminaktiválódás erősen függ az enzim típusától, az enzim alegységek szerkezetétől, a pH-tól, a szubsztrát koncentrációtól és a hőmérséklettől. Az inaktiválódás történhet az enzim-szubsztrát kapcsolatban beállt változás miatt, az intramolekuláris szerkezet módosulásával vagy az enzim aktív centrumában bekövetkezett konformáció változás révén (Hendrickx et al., 1998).

Az enzimek denaturálódása és inaktiválása csak nagyon magas nyomás alkalmazása esetén történik meg. A nagy hidrosztatikus nyomás által kiváltott enziminaktiváláshoz szükséges egy minimális nyomásérték. Ez alatt a nyomásérték alatt nem, vagy csak minimális mértékű enziminaktiválódás történik.

Seyderhelm és munkatársai (1996) vizsgálták a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatását kataláz, foszfatáz, lipáz, pektinészteráz, lipoxigenáz, peroxidáz, polifenoloxidáz és laktoperoxidáz enzimeken. A vizsgálatok során a peroxidáz enzim bizonyult a legnyomástűrőbb enzimnek, mely megőrizte aktivitásának 90%-át a 30 percig tartó 60°C-on végzett 600 MPa-os nyomáskezelés után is. Ezen eredmények alapján a peroxidáz indikátorenzimként használható a nagynyomásos kezelések során.

Az élelmiszerek esetén a minőségmegőrzés szempontjából a pektinmetilészteráz, a peroxidáz, a lipáz, a lipoxigenáz és a polifenoloxidáz a legfontosabb és leggyakrabban vizsgált enzimek. A pektinmetilészteráz (PME) a pektin hidrolizálását végzi, a gyümölcslevelek zavarosodását, a gyümölcskészítmények állományváltozását okozza. Általában hőkezeléssel inaktiválják. A nyomáskezeléses inaktiválás esetén, enzimeforrástól függően, a szükséges nyomás mértéke széles skálán (150-1200 MPa) változhat. Az inaktivációt a savas közeg felgyorsítja. Ogawa és munkatársai (1990) 600 MPa-os nyomáskezeléssel érték el a narancsban található pektinmetilészteráz 90%-os irreverzibilis inaktiválását. A paradicsom állományváltozásáért szintén a pektinmetilészteráz a felelős enzim. Paradicsom eredetű PME enzim, ellenállóbbnak bizonyult a nyomásra, a Ca^{2+} ion jelenléte valamint a pH csökkentése ebben az esetben is segíthetik az inaktivációt. A nyomás és a kezelési hőmérséklet közötti antagonistikus hatás megfigyelhető, ami a magas nyomás-magas hőmérséklet tartományban jelentkezik (Van den Broeck et al., 2000). Alacsony nyomásértékek esetén, 60 °C hőmérsékleten a pektinmetilészteráz aktivitása még megfigyelhető volt. Ca^{2+} ion hiányában az enzim már 100

MPa-os nyomáskezelés során inaktíválódott, míg Ca^{2+} ion jelenlétében ehhez 400 MPa nyomáskezelésre volt szükség (Hendrickx et al., 1998).

A peroxidáz enzimet (POD) az egyik leghőrezisztensebb enzimeként tartják számon, gyakran indikátorként használják a hőkezelés hatékonyságának meghatározására. A tárolás során fellépő nemkívánatos aromaváltozásokért felelős. A nagy nyomással való inaktíválhatósága függ az enzim típusától, az élelmiszer összetételétől és a hőmérséklettől. A magas hőrezisztencia a peroxidáz enzimmél számos esetben jelentős nyomástűrővel társul. Anese és munkatársai (1995) megállapították, hogy répából származó peroxidáz teljes inaktíválása csak 900 MPa nyomáskezeléssel volt elérhető, ám az enzimaktivitás már a 300-500 MPa tartományban csökkenni kezdett. Narancs esetében a legmagasabb enziminaktivációs ráta 50% volt 32°C-on, 400 MPa-os és 15 perces nyomáskezelés mellett (Cano et al., 1997). Szobahőmérsékleten a szamócában levő peroxidáz enzim aktivitása 300 MPa-ig csökkent, ezután növekedés volt megfigyelhető. Magasabb hőmérsékleten (45°C) minden nyomásértéken csökkent az enzimaktivitás (Cano et al., 1997). Seyderhelm és munkatársai (1996) megállapították, hogy a tejben levő laktoperoxidáz enzim TRIS tápoldatban könnyebben inaktíválódott, mint magában a tejben.

A lipázok a zsírok hidrolíziséért felelős enzimek, inaktíválásuk 600 és 1100 MPa közötti nyomáskezeléssel lehetséges (Hendrickx et al., 1998).

A lipoxigenáz (LOX) enzim a növényi szövetekben található, leginkább a zöldségfélékben. Nemkívánatos íz kialakulását, az illat romlását és a táplálkozásbiológiailag hasznos komponensek csökkenését okozza. Alacsony és magas hőmérsékleteken nagy hidrosztatikus nyomással egyaránt elérhető a teljes enziminaktiválás. Az inaktíváláshoz szükséges nyomás és hőmérséklet nagysága az élelmiszer összetételétől függ (Indrawati et al., 1998, Ludikhuyze et al., 1998). A legmagasabb nyomásstabilitás zöldbab, zöldborsó és szójabab esetében is szobahőmérsékleten volt tapasztalható. Nyomáskezelés hatására szójabab esetén alacsony enzimkoncentrációnál és alacsony pH-nál nagyobb arányú a lipoxigenáz inaktíváció. A kezelési hőmérséklet tekintetében szobahőmérsékleten nagyobb enzimstabilitás volt tapasztalható, az alacsonyabb és magasabb hőmérsékletek mellett egyaránt csökkent a lipoxigenáz enzim stabilitása (Hendrickx et al., 1998).

A polifenoloxidáz (PPO) hőérzékeny enzim, a tárolás során nemkívánatos színromlás okozója zöldségekben és gyümölcsökben. Ezt az enzimet tekintik a nagy hidrosztatikus kezelés fő célpontjának. A különböző forrásból származó polifenoloxidáz enzimek különböző molekulamérettel és szerkezettel rendelkezhetnek, ezért a nagynyomásos kezelésre is eltérően reagálhatnak, a szükséges nyomás nagysága 200 -1000 MPa között változhat (Lopez-Malo et

al., 1998). A gombákban és a burgonyában jelen levő polifenoloxidáz enzimek jobban ellenállnak a nyomásnak, mint azok, amelyek szamócában, szőlőben, sárgabarackban és almában találhatóak (Thakur és Nelson, 1998). Weemaes és munkatársai (1998) által almából, szőlőből, avokádóból és körtéből izolált enzimek inaktiválásához szobahőmérsékleten pH 6-7 tartományban egyenként 600,700, 800 és 900 MPa nagyságú nyomáskezelésre volt szükség. A szilvából származó polifenoloxidáz még 900 MPa-os nyomáskezelésnél sem inaktiválódott. A kezelési hőmérséklet növelésével javítható a nyomáskezelés hatékonysága. Az alacsony pH, vagy a CaCl_2 jelenléte elősegítik egyes polifenoloxidáz enzimek nyomáskezeléses inaktiválhatóságát (Knorr, 1993). Hoover (1997) tapasztalata szerint a nyomáskezelés előtti blansírozás elősegíti a zöldség- és gyümölcsfélékben található polifenoloxidáz enzimek inaktiválását. Palou és munkatársai (1999) tanulmányozták a különböző ideig tartó gőzzel történő blansírozás, valamint az 517 és 689 MPa-on történő nyomáskezelés együttes hatását a banánpüré (pH 3.4, a_w 0.97) mikrobiológiai stabilitására, színére és PPO aktivitására. Szobahőmérsékleten az enzim rezisztensnek bizonyult a nyomásra, csak a 7 perces blansírozást követő 10 perces 689 MPa-on történő nyomáskezeléssel sikerült az enzimaktivitást 5 % alá csökkenteni. Alma kivonatból nyert polifenoloxidáz enzim esetén pH 7.0, 5.4, 4.5 értékeknél szignifikáns enzimaktivitás csökkenés volt megfigyelhető 900 MPa-os 1 perces tartó nyomáskezelés után (Anese et al., 1995). Gomes és Ledward (1996) publikálták a polifenoloxidáz aktivitásának csökkenését paradicsomkivonatban a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására (400-800 MPa, 10 perc). Gombakivonatból nyert PPO enzim esetén ennek ellenkezője volt tapasztalható, 400 MPa 10 perces tartó kezelés után az enzimaktivitás fokozódását tapasztalták (Yen és Lin, 1996). A guava püré 400 és 600 MPa-on történt nyomáskezelése (15 perc 25°C) után 86% illetve 63% maradék enzimaktivitás volt tapasztalható (Yen és Lin, 1996). Palou és munkatársai (2000) a folyamatos és oszcilláló nagynyomású kezelés hatásait tanulmányozták guacamol esetén. A kezelési idő növelésével és a nyomásnövekedés-nyomáscsökkentési ciklusok számának növelésével szignifikáns PPO enzim aktivitás csökkenés volt elérhető. A legalacsonyabb maradék enzimaktivitás (15%) négy nagynyomásos ciklus (689 MPa, 5 perc) után mutatkozott, ezzel 20 napos eltarthatósági időt értek el 15 °C alatt történő tárolás esetén.

2.3.4. Poliszacharidok

A poliszacharidok szintén olyan élelmiszer-alkotó makromolekulák, amelyekre hatással van a nagy hidrosztatikus nyomás. A keményítők, pektinek és alginátok struktúrája változik meg a

nagynyomású kezelések során, a víz és a makromolekulák kapcsolatának módosulásából új struktúrák jönnek létre. A nagy hidrosztatikus nyomás keményítő gélesedését indukálhatja (Thakur és Nelson, 1998; Dumoulin és Hayashi, 1998). A keményítőszemcsék nyomás alatt megduzzadnak és megkötik a vizet. A nagy nyomásra adott reakcióik alapján két típusuk különíthető el, a „gyorsan duzzadó” és a „korlátozottan duzzadó” keményítőké. A „gyorsan duzzadó” keményítők közé tartozik a kukoricakeményítő, ahol a nagy nyomás alatt kialakuló gél tulajdonságai hasonlóak a hőkezelés során kialakuló gélek tulajdonságaihoz. A keményítők legnagyobb része azonban a „korlátozottan duzzadó” csoportba tartozik, ahol a nagy nyomás hatására kialakuló gélek szerkezete gyengébb a hőkezeléssel létrejött gélek szerkezeténél. A búzakeményítő esetén a gélesedés 300 és 500 MPa között történik. A szuszpenzióban jelen levő szabad víz mennyiségének növelése csökkenti a gél kialakulásához szükséges nyomás nagyságát és a kezelési idő hosszát, míg a cukor és az etanol jelenléte a szuszpenzióban ezzel ellentétes hatású (Dumoulin és Hayashi, 1998). A 400-500 MPa-os 45-50 °C-on történt nyomáskezelés hatására a kukorica, búza és burgonyakeményítők az α -amiláz bontására sokkal érzékenyebben reagáltak, ezt a tulajdonságot a fermentációs ipar területén lehet hasznosítani (Thakur és Nelson, 1998).

A nyomáskezelés a pektinek gélesedését is befolyásolja. A folyamat a cukor koncentráció függvénye, minél nagyobb a cukortartalom, annál nagyobb mennyiségű pektin szükséges a gélképződéshez. Gow-Chin és Hsin-Tang (1998) megfigyelték, hogy a guava lé 600 MPa-on, 25°C-on 10 percig történő nyomáskezelése során a lé viszkozitása megnőtt anélkül, hogy „felhősödés” lépett volna fel.

2.3.5. Lipidek

A lipioxidáció az okozója számos élelmiszer minőségromlásának, különösen az illatanyagokat és a tápértéket illetően. Nemkívánatos íz-, szín-, és szagelváltozásokhoz vezet, csökkenti az élvezeti értéket, megnöveli a toxikus komponensek mennyiségét. Minél több kettős kötést tartalmaz a zsírsav, és minél több prooxidáns tényező hat rá, kémiaiilag annál instabilabb, annál könnyebben oxidálódik. Első szakasznak a láncreakció iniciációját nevezzük, melynek során olyan gyök képződik, amely a láncreakció kiindulási alapjául szolgál. A gyökképződés szempontjából különleges helyet foglalnak el a többszörösen telítetlen és a konjugált kettős kötéssel rendelkező molekulák. Az oxidáció elsődleges termékei a peroxidok, amelyek azonban átalakulnak másodlagos anyagcseretermékekké. A keletkező termékek három fő csoportba sorolhatóak: másodlagosan keletkező monomerek,

dimerek és polimerek, valamint illó és nem illó egyéb bomlástermékek. Az egyéb bomlástermékek közül az illó vegyületek a jelentősebbek. Ezek tekinthetők a kellemetlen mellékízek és- illatok fő okozóinak. Ezen felül a peroxidált lipidek mennyiségének növekedése egészségügyi kockázattal is járhat, mivel ezek jelenléte növeli a szívkoszorúér bántalmak, valamint a daganatos megbetegedések előfordulásának kockázatát. Ezért különösen fontos átgondolni, milyen hatást gyakorolhat a nagy nyomásos kezelés alkalmazása az élelmiszerek lipid összetevőire.

Severini és munkatársai (1997) tanulmányozták a nagy nyomás által indukált lipidoxidációt különböző magvak olajában és olívaolajban. Míg az olívaolaj peroxidszámában nem történt lényeges változás a kezelés hatására, addig a napraforgó és szőlőmag olajok peroxidszám növekedése egyértelmű volt. A két utóbbi mintában volt a legmagasabb a telítetlen zsírsavak aránya, amely a lipid oxidációt erősen befolyásolja. Ez okból kifolyólag ezek álltak ellen legkevésbé az oxidációnak. A másodlagos oxidációs termékek megjelenése azonos arányban növekedett minden vizsgált minta esetén. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az olívaolaj minták általánosságban jobban ellenálltak a nagy nyomás okozta lipidoxidációnak. Ezért a lipid összetevővel is rendelkező komplex élelmiszerek esetén érdemesebb olívaolajat használni, ha a tárolhatóság meghosszabbítására a nagy nyomású kezelést választjuk.

A nagy hidrosztatikus nyomás lipid peroxidációra gyakorolt hatásait Cheah és Ledward (1996) vizsgálták. Darált sertéshúst 800 MPa-os nyomásnak vetettek alá, majd 4 °C-on, levegő jelenlétében egy hétig tárolták. Megállapították, hogy a tárolás során a nyomáskezelt minta TBA értéke a kezeletlen mintáéhoz képest sokszorosára nőtt. Azt is megfigyelték, hogy négy napos tárolás után 400 MPa kezelésig még nem gyorsult fel a lipid peroxidáció, míg 400 MPa felett már jelentős volt a TBA érték növekedése. A szerzők ezt az eredményt összefüggésbe hozták a nyomás által indukált fehérje denaturációval, ami szintén ebben a nyomástartományban következik be.

Cheah és Ledward (1997) egy másik kísérlet során olvasztott sertésszírt és darált sertéshús használtak a lipid peroxidáció tanulmányozására. A sertésszírt 19 °C-on, 20 percig 650 – 800 MPa nyomáskezelésnek vetették alá, majd 45 °C-on levegő kizárásával tárolták. Eredményeik szerint a kezelt minta peroxid száma már a tárolás második napján jóval meghaladta a kezeletlen mintáét. A tárolás során ez a különbség tovább nőtt. Darált sertéshús esetén 400 - 800 MPa kezelést alkalmaztak, 19 °C-on, 20 percig; ezt követően 4 °C-on levegő jelenlétében tárolták. Ebben az esetben a hús TBA értékét mérték, ami közvetlenül a kezelés után a kontroll mintában mért érték sokszorosára emelkedett. Ez a különbség a tárolás során tovább nőtt. Megállapításuk szerint a vízben oldódó komponensek fontos szerepet játszanak a lipid

peroxidációban. Feltételezik, hogy a ferrinből nyomás hatására felszabaduló vas katalizálja legjobban ezt a folyamatot.

Oshima és munkatársai (1993) tőkehal húst nyomáskezelték 200-600 MPa nyomásérték között 15-30 perces kezelési idővel. A kivont zsiradék peroxidszáma a nyomás nagyságával és az alkalmazott kezelési idő hosszával egyenes arányban nőtt. A nagy nyomás hatása makrelából származó lipidek esetében még kifejezettebb volt. Szardínia olaj és -hús keveréke szintén növekvő oxidációt mutatott 100 MPa-os 30-60 perc nyomáskezelést követően. A szerzők arra következtettek, hogy a tengeri halakból származó izolált, tiszta lipidek általánosságban stabilnak mondhatóak egészen 600 MPa-os nyomáskezelésig, ellenben a halak húzában jelen levő lipidek oxidációja felgyorsul a húzában jelen levő fémionok katalizátor szerepe miatt.

Gervilla és munkatársai (2001) juhtej szabad zsírsav tartalmának vizsgálata során kimutatták, hogy a 100-500 MPa-os, 4, 25, 50 °C-os nyomáskezelés nem növelte a szabad zsírsavak mennyiségét. Az 50 °C-on véghezvitt kezelések után a kezelt tej alacsonyabb szabad zsírsav tartalmat mutatott, mint a friss, nyers tej. Ez a jelenség a tej lipolitikus avasodásából eredő nemkívánatos íz elváltozások kiküszöbölésére kínálhat megoldást.

2.4. Nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatása az élelmiszerek tápértékére, érzékszervi és fizikai jellemzőire

2.4.1. Gyümölcs- és zöldségtermékek

A legtöbb gyümölcs- és zöldségtermék esetén a nagynyomásos kezelés megőrzi az eredeti, friss színt. Paradicsomlé színe a hagyományos hőkezeléses eljárással összehasonlítva javulást mutatott, a legmagasabb a^*/b^* arány pH 4.5-nél mutatkozott, az alkalmazott nyomás nagyságától függetlenül. Ez a hatás tisztán fizikai természetűnek bizonyult (tömörítő és homogenizáló hatás) és nem eredményezett különbséget a hőkezelt és nyomáskezelt minták likopin tartalmában (Poretta et al., 1995). A 600 MPa-os, 25 °C-os, 15 perces nyomáskezelés megőrizte a frissen előállított guava püré eredeti színét. A 60 napig tartó 4 °C-os hűtvetárolás során az L^* és az a^* érték a kezeletlen mintában csökkent legnagyobb mértékben, a nyomáskezelt püré színe stabilabbnak bizonyult (Yen és Lin, 1996). A nyomáskezelés közvetlen hatásaként a kezelt avokádó püré (345-689 MPa, 10-30 perc) színe megegyezett a frissen készített püré színével (Mermelstein, 1997). Tárolás során azonban számos változás következett be. A 689 MPa 20 perc pH 4.1 paramétereken nyomáskezelt avokádó püré L^*

értéke kevesebb, mint 1% eltérést mutatott 5 °C-os tárolás esetén. A világossági tényező (L^*) nagyobb mértékű csökkenése azon esetekben volt tapasztalható, ahol alacsonyabb nyomáskezelést, alacsonyabb pH-t vagy magasabb tárolási hőmérsékletet alkalmaztak. A tárolás során megfigyelhető volt még az a^* érték fokozatos csökkenése, amit a maradék polifenoloxidáz aktivitás miatti barnulás okozott. A leghosszabb tárolási idő így az alacsony kiindulási pH-val, magas nyomáskezeléssel és alacsony tárolási hőmérséklettel volt elérhető. Banánpüré esetében is hasonló eredmények mutatkoztak. A 689 MPa-os 10 perces nagynyomásos kezelés megőrizte a banánpüré eredeti színét, de a tárolás során ez esetben is komoly színváltozások léptek fel, ami a maradék polifenoloxidáz aktivitás által beindított enzimatis barnulási folyamatnak volt köszönhető (Palou et al., 1999). Szamócadzsem piros színe a gyümölcsben található antocianinoknak köszönhető. A nyomáskezelés során a maradék enzimaktivitás tehető felelőssé az antocianinok bomlásáért (Cano et al., 1997). Szamócapüré nagynyomásos kezelése után az érzékszervi bírálatok és a színmérési eredmények nem mutattak szignifikáns különbséget a nyomáskezelt és hőkezelt minták között (Dalmadi et al., 2007a).

Brokkoli lé esetén részletes tanulmányok állnak rendelkezésre a nagynyomásos kezelés és a hőkezelés kombinációjának a zöld színre és a klorofiltartalomra gyakorolt hatásáról (Van Loey et al., 1998; Weemaes et al., 1999). A feldolgozott zöldségek esetén tipikus változás a klorofil bomlása, amely folyamat szorosan összefügg a minőségromlással és nemkívánatos a fogyasztók számára. Ezért a zöld szín megőrzése és a klorofilbomlás megakadályozása nagy fontossággal bír az ipar számára. Zöld színű zöldségek alacsony hőmérsékleten történő nyomáskezelése esetén a klorofil stabilitása kiugrónak bizonyult. Szignifikáns klorofilbomlás csak 50 °C feletti kezelési hőmérsékletnél volt tapasztalható. A klorofil-a molekula érzékenyebb a nagy nyomásra és a hőkezelésre, mint a klorofil-b molekula. Mindkét klorofil forma esetén a nyomáskezelés és a hőkezelés szinergista hatása volt megfigyelhető. Míg 10°C hőmérséklet növekedés már számottevően növelte a klorofilbomlás mértékét, addig 100 MPa nyomásnövekedés csak jelentéktelen változással járt (Van Loey et al., 1998). A zöld szín változását a nyomáskezelés hatására spektrofotometriásan mérték a brokkolilében. Alacsony hőmérsékleten (<40 °C) a zöld szín szignifikáns csökkenése nem volt tapasztalható még 800 MPa-os 180 perces kezelés után sem. A nyomáskezelést enyhe hőkezeléssel kombinálva (50-60 °C) csekély zöld szín csökkenés volt észlelhető. A 70-80 °C közötti kezelési hőmérsékleteken a nyomásérték nagyságától függetlenül egyértelmű zöld szín csökkenés lépett fel. A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés alkalmazása gomba és hagyma esetén elszíneződést váltott ki. Mikroszkópos vizsgálatok felfedték, hogy már 300 MPa-on és 25 °C-

on kezelt hagyma epidermisz sejtjei komolyan károsodtak. Ezen a nyomásértéken a polifenoloxidáz, amely nyomással szemben igen rezisztens enzim, nem inaktiválódik és enzimes barnulást okoz (Butz et al., 1994). Spárga és paradicsom esetén 400 MPa nyomáskezelés nem okozott színváltozást (Arroyo et al., 1999). Saláta és spenót színe 300 MPa-nál megváltozott, barnulni kezdett. Karfiol külső részei 350 MPa hatására enyhén megbarnultak. Sárgarépanál és burgonyánál már 125 MPa nyomás felett sötét elszíneződés tapasztalható (Crelrier et al., 1998).

A nyomáskezelésben rejlő lehetőség, mint új feldolgozási technológia a gyümölcslevelek gyártásánál részben abból ered, hogy a friss íz megőrizhető a kezelések során. A Satuma mandarinlé megőrizte frissességét és eredeti ízét a nagynyomásos kezeléseket követően (Ogawa et al., 1990; Takahashi et al., 1993). Narancslé, almálé és grapefruitlé érzékszervi vizsgálatai során a bírálók nem tudtak különbséget tenni az azonos alapanyagból készült kezeletlen és nyomáskezelt minták íze között (Mermelstein, 1999). Parish (1998) az 500-700 MPa-os nyomáskezelés hatását tanulmányozta Valencia narancslé esetében. Az érzékszervi bírálók a nyomáskezelt narancslé ízét a friss léhez hasonlatosabbnak találták, mint a hagyományosan hőkezelt mintákét. Bár a bírálók szignifikáns különbséget találtak a nyomáskezelt narancslé és a friss lé íze között, de a nyomáskezelt narancslé a hagyományosan hőkezelt narancslé ízénél jobbnak bizonyult. A nyomáskezelt minta tárolás során szintén megőrizte jobb ízét a hőkezelt mintáéval szemben. A nyomáskezelés enyhe hőkezeléssel (50-60°C) való kombinálása káros hatással volt az érzékszervi minőség egészére. A narancslével ellentétben a paradicsomlé és a hagyma ízét a nagynyomásos kezelés erősen befolyásolja. Érzékszervi bírálók a nyomáskezelt hagyma illatát kevésbé találták intenzívnek, mint a friss hagymáét, és a főtt vagy sütött hagymát preferálták a nyomáskezelttel szemben (Butz et al., 1994). Paradicsomlé esetén a különböző nyomásérték-hőmérséklet-kezelési idő kombinációjában kezelt minták fogyaszthatatlannak bizonyultak az erős avas íz miatt (Poretta et al., 1995).

Gyümölcs dzsemek esetén a nagynyomásos kezelés a friss ízt jobban megőrizte, mint a hagyományos hőkezelés (Watanabe et al., 1991). Érzékszervi bírálatok alapján a nyomáskezeléssel tartósított alma-desszert íze jobb minőségűnek bizonyult a hőkezeléssel tartósított mintákénál (Fornberg-Brotzek et al., 1998).

Lambert és munkatársai (1998) analizálták a szamóca nyomáskezelés utáni (200 és 500 MPa) aroma összetételét. Az illékony aroma komponensek mennyiségében és minőségében nem találtak különbséget a kezeletlen és a nyomáskezelésnek kitett minták között. Dalmadi és

munkatársai (2007b) elektronikus orral végzett vizsgálataik során megállapították, hogy bogyós gyümölcsök (málna, szamóca, fekete ribizke) illóanyag tartalma a nyomáskezelés során jobban megőrződik, mint a hőkezelt mintákban.

Yen és Lin (1999) gázkromatográfia és tömegspektroszkópia segítségével tanulmányozta a guava lé illó komponenseit nagynyomásos kezelés (600 MPa, 25 °C, 15 perc) és az azt követő tárolás (4 °C és 25 °C) során. A friss lével összehasonlítva az illóanyagokban nem mutatkozott szignifikáns változás a nyomáskezelés során, de a tárolás alatt 4 °C-on és 25 °C-on egyaránt csökkenés volt megfigyelhető. A nyomáskezelt guava lé 4 °C hőmérsékleten jobban megőrizte ízét mint a kezeletlen lé, valószínűleg az enzimek gátlása miatt. A 25 °C-on 30 napig történő tárolás után már szignifikáns változások voltak megfigyelhetőek. Metanol, etanol, etilacetát, metil-1-propionát és 2-furfurán mennyisége növekedett, míg más összetevők mennyisége csökkent. Cserhalmi és munkatársai (2004) hasonló módszerekkel végzett vizsgálataik során kimutatták, hogy a 600 MPa 10 perces nyomáskezelés következtében almalé aroma komponensei szignifikánsan csökkentek. A málnalé fő aromakomponensei közül a β -jonon koncentrációjában következett be szignifikáns változás. Szederlé esetében az octanol, nonanoll és decanol mennyisége csökkent jelentősen. Szamóca-, meggy-, és szilvalé mintáknál a kezelt és kezeletlen minták aroma anyagai között szignifikáns különbséget nem tapasztaltak.

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés 350 MPa-ig alkalmazható zöldségekre és gyümölcsökre anélkül, hogy az állományban komoly elváltozást okozna (Knorr, 1995b). Burgonyakockák esetén a szövetek puhulásának mértéke hasonló volt a forró vizes blansírozást követően fellépő változással (Eshtiagi et al., 1994). Basak és Ramaswamy (1998) megfigyelték, hogy zöldségek és gyümölcsök esetén a szövetek szilárdságának változása egyaránt függ az alkalmazott kezelés nagyságától és a kezelési idő hosszától. A nagy nyomás hatására bekövetkezett állományváltozás két fázisát figyelték meg, egy azonnali bomlást a nyomásnövekedés hatásának köszönhetően, amit vagy további bomlás, vagy fokozatos helyreállítás követ a nyomástartás fázisában. A kezelés időtartama egyértelműen befolyással volt a kezelt termékek állományára. Némely gyümölcs és zöldség állományvesztését visszanyerte 30-60 perces 100-200 MPa-os nyomáskezelés során, mások még szilárdabbá váltak, mint a friss minták. Sárgarépa és zöldpaprika esetén 200 MPa-nál további állományromlás volt tapasztalható. Poretta és munkatársai (1995) megállapították, hogy a nagynyomásos kezelés egyértelműen befolyásolja a paradicsomlé viszkozitását. A 700 MPa feletti nyomásértékeknél a pH növekedésével a viszkozitás növekedett, jelezve, hogy

bizonyos pH értékek fokozzák az enzimaktivitást, ami a viszkozitás megváltozásában jelentkezik. Guava püré esetén a 400-600 MPa-os nyomáskezelés közvetlenül nem okozott szignifikáns változást a viszkozításban, a turbiditásban, és nem okozott zavarosodást, de 20 napos tárolás során kis mértékű változás volt megfigyelhető a fenti tulajdonságokban (Yen és Lin, 1996). Crelier és munkatársai (1998) megfigyelték, hogy 125 MPa-os 15 perces kezelés után a sárgarépa lággyá és vizenyőssé vált. A gyökerek folyadékot veszítettek és közvetlenül a kezelés után megbarnultak, amit a szövetek sérülése és a maradék polifenoloxidáz enzim aktivitása eredményez. Brokkolirózsák esetén hasonlóan drasztikus puhulást tapasztaltak 125 MPa nyomásérték felett. Saláta és spenót 300 MPa-os 30 perces nyomáskezelése után az állomány változatlan maradt, ugyanez volt elmondható spárgáról, paradicsomról, karfiolról és hagymáról 350 MPa-os 30 perces nyomáskezelés után. Paradicsom esetén a héj levált, de a paradicsom húsa kellően kemény maradt (Arroyo et al., 1999).

Általánosságban elmondható, hogy a nagynyomással előállított levekben és pürékben a táplálkozásbiológiai szempontból fontos komponensek jobban megőrződnek, mint a hőkezelt termékekben. A zöldségek és gyümölcsök vitamin tartalmában nem mutatkozik szignifikáns változás nagynyomásos kezelés hatására. Szamóca nektárban a C-vitamin tartalom megőrződött a 400 MPa-os 30 perces kezelés során 20 °C-on (Sancho et al., 1999). Cserhalmi és munkatársai (2004) 600 MPa 10 perces nyomáskezelés után málnalé C-vitamin tartalmában jelentős változást nem tapasztaltak. Yen és Lin (1996) guava püré kezdeti C-vitamin tartalmában nem tapasztaltak változást sem nyomáskezelés (400-600 MPa, 15 perc) sem hőkezelés (88-90 °C, 24 mp) hatására. A kontroll és a 400 MPa-on nyomáskezelt minták C-vitamin tartalma 10 illetve 20 napos tárolást követően kezdett csökkenést mutatni, míg a hőkezelt és a 600 MPa-os mintákban 30 illetve 40 napig nem volt tapasztalható a C-vitamin tartalom változása. Frissen facsart narancs- és mandarinlé esetén a nagynyomásos kezelés (600 MPa-ig) nem befolyásolta a kezdeti C-vitamin tartalmat (Ogawa et al., 1990, 1992; Takahashi et al., 1993). Fornberg-Brozek és munkatársai (1998) narancs- és paradicsomlében vizsgálták a C-vitamin tartalomban a nyomás és a hőmérséklet hatására bekövetkező változásokat. A C-vitamin bomlása 65-80 °C közötti hőkezelést és 850 MPa nyomáskezelést követően lineáris csökkenést mutatott, a nagy nyomás és a hőkezelés szinergista hatásának eredményeként. A narancslé C-vitamin tartalma a paradicsoménál érzékenyebbnek bizonyult a nyomáskezelésre. A C-vitamin hőérzékenysége nem függött a nyomáskezelés nagyságától. A C-vitamin csak a nyomáskezelés erőteljes hőkezeléssel való kombinációjában bizonyult instabillnak.

2.4.2. Tej és tejtermékek

A tehéntej színét a nagynyomásos kezelés nem befolyásolja nagymértékben. Mussa és Ramaswamy (1997) az L^* érték növekedését tapasztalták, ami fakuló tendenciát mutat, míg az a^* , b^* értékek változatlanok maradtak. A színváltozás lineárisnak bizonyult, magasabb nyomásértékeken hosszabb ideig tartó kezelés hatására nagyobb mértékű volt a tej színének változása. A mikrobiológiailag szükséges mértékű nyomásértékeknél csak kisebb színváltozás volt tapasztalható. Az L^* érték változásai arra engednek következtetni, hogy a tej micellák szerkezete megváltozik, kisebb fragmentumokra bomlik a nyomáskezelés hatására (Johnston, 1995). Needs és munkatársai (2000) vizsgálataik során hasonló eredményre jutottak, főlözött tej 600 MPa-on 15 percig tartó nyomáskezelése után az L^* , a^* , b^* értékei szignifikáns eltérést mutattak, a színváltozás szabad szemmel is észlelhető volt. Juhtej esetén az L^* érték csökkenése és az a^* , b^* értékek növekedése tapasztalható (Gervilla et al., 2001). Adapta és munkatársai (1997) a sűrített és a normál főlözött tejmintákon végeztek nyomáskezelést. Mindkét esetben az L^* értékek csökkenését tapasztalták. Míg a főlözött tej esetében mind az a^* , mind a b^* érték csökkenést mutatott, addig a sűrített tejnél a csökkenés csak az a^* értékben mutatkozott.

A nyomáskezelésnek a tej ízére gyakorolt hatásáról nagyon kevés információ áll rendelkezésre. Drake és munkatársai (1997) gyakorlott érzékszervi bírálók segítségével megállapították, hogy a pasztörözött és nyomáskezelt tejből készült sajtok esetén az ízre adható pontok száma hasonlóan alakult, mindkét sajt esetén a kesernyés, savas jelleget érte a kritika, ami az alacsony sókoncentrációval hozható összefüggésbe. A nyers tejből készült sajt ízét találták a legkedvezőtlenebbnek, a nyers tejben jelen levő nemkívánatos baktériumok hatására kialakult fermentált jelleg miatt. Trujillo és munkatársai (1999) nyomáskezelt kecsketejből készült félkemény sajt esetén szintén nem tapasztaltak káros elváltozást a sajt ízében a nyers vagy hőkezelt tejből készült sajtokkal való összehasonlításban.

A nagynyomásos kezelés enyhén növeli a tej viszkozitását, ami a kazein micellák szétesésével magyarázható. Mivel a viszkozitás növekedés magasabb nyomáson jön létre, mint ahol a tejben jelen levő mikrobák inaktiválódnak, ezért ez a jelenség nem jelent hátrányt a tej nyomáskezeléses technológiában való alkalmazhatóságában (Mussa és Ramaswamy, 1997). A nagynyomással kezelt tejből készült sajtok állománya az érzékszervi bírálatok során alacsonyabb pontszámot ért el a nyers vagy pasztörözött tejből készült sajtoknál. Az állomány

nyúlósnak és gyengének bizonyult, ami a nagynyomásos sajtok magasabb nedvességtartalmából és nagyobb súlykihozatalából következhet (Drake et al., 1997). Buffa és munkatársai (2001) ellenben azt tapasztalták, hogy a nyers, vagy nyomáskezelt tejből készült sajtok állománya tömörebb és kevésbé törekeny, mint a hőkezelt tejből készült sajtoké, bár az érlelés végére a különbségek kevésbé szembeötlőnek bizonyultak. Garcia Risco és munkatársai (2000) úgy találták, hogy a 400 MPa, 15 perces 40-60 °C-on történő nyomáskezelés csökkentette a proteolitikus aktivitást, és 25-60 °C között pedig megmaradtak, vagy javultak a tej érzékszervi tulajdonságai. A hőkezelés és a nyomáskezelés kombinálásával megnövekedett eltarthatósági idejű, jó érzékszervi tulajdonságokkal rendelkező termék állítható elő.

A tejben jelenlevő β -laktoglobulin élelmiszerallergiát válthat ki, leginkább kisgyermek, csecsemők esetében. A csecsemőknek adott módosított tejhez felhasznált tejkészítmények esetén a cél a β -laktoglobulin kivonása anélkül, hogy az α -laktalbumin szint csökkenése bekövetkezne. A β -laktoglobulin szelektív eltávolítása tejsavó koncentrátumból lehetséges a nagynyomásos termolizin hidrolizációval. Az α -laktalbumin a négy diszulfid kötésének köszönhetően rezisztens a hidrolízisre. A nagy hidrosztatikus nyomásos kezelés alatt történő termolizin bontás során a β -laktoglobulin hidrolízise gyorsabb és teljesebb, mint atmoszférikus nyomáson, miközben az α -laktalbumin nem módosul (Hayashi et al., 1987).

2.4.3. Hús és húsipari termékek

A nagy hidrosztatikus nyomás a hús és hústermékekre gyakorolt hatása új távlatokat nyithat az élelmiszeripar számára, feltéve, hogy a vörös színét sikerül a kezelések során fenntartani. A hús színének intenzitása a mioglobinnel tartalomtól függ, melynek stabilitását a mioglobin oxidált formáinak jelenléte határozza meg. A nyers húsnál megfigyelhető különböző színek a jelen levő oximioglobin (világos piros), mioglobin (sötétpiros) és metmioglobin (szürkésbarna) arányaival hozhatóak összefüggésbe. A mioglobin oxidációját növelő, és így a hús elszíneződését elősegítő tényezők közé tartozik a parciális oxigénnyomás, a szövetek oxigénfogyasztása, a több vegyértékű ionok jelenléte, hőmérséklet, pH, mikroflóra és a nyomás. Nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazása még alacsony hőmérsékleteken is (5-10 °C) drasztikus változásokat okoz a vörös hús színében (Cheftel és Culioli, 1997). Shigeshia és munkatársai (1991) sertéshúsból készült szuszpenzió vizsgálatánál azt tapasztalták, hogy 100 és 200 MPa közötti nyomáskezelés után az L^* érték növekedni kezdett, 300 és 400 MPa

között érte el a maximumát, majd a magasabb kezelési értékeknél (400-600 MPa) már nem mutatott további növekedést. Másfelől az a^* érték csökkenése 100-200 MPa között kis mértékű volt, majd 600 MPa-ig növekedő tendenciát mutatott. A hús színvesztése a nyomáskezelés során így két okra is visszavezethető, egyrészt egy fakuló hatásra (L^* érték növekedés) a 200-350 MPa közötti tartományban, amely valószínűleg a hemoglobin denaturációjának köszönhető, másrészt a vörös szín elvesztésére (a^* érték csökkenés), amelyet a miooglobin oxidációja eredményez 400 MPa és annál nagyobb nyomásértékeken. Mindkét elváltozás inkább az alkalmazott nyomás nagyságától, mint a kezelési időtől függ (Cheftel és Culioli, 1997). Fakulás, és a vörös szín elvesztése volt tapasztalható az alacsony- és magas zsírtartalmú húsból készült emulziók vizsgálatokor is. A nyomáskezelés mindkét esetben fakulást (az L^* érték csökkenését) eredményezett, amely a magasabb nyomáson történő, hosszabb ideig tartó kezelésekre hatására fokozódott. Az alacsony zsírtartalmú emulzió esetében 10 ill. 20 percig tartó 300 MPa-os nyomáskezelés csökkentette az a^* és b^* értékeket. A magas zsírtartalmú emulzió 10 perces 100-300 MPa közötti nyomáskezelése során az eredmények hasonlóan bizonyultak, a két emulzió között különbség akkor mutatkozott, ha a kezelési időt 20 percre növelték. Darálthús mintákban a nyomáskezelés 150 MPa értékig nem befolyásolta az L^* , a^* , b^* értékeket, míg magasabb nyomáskezelések kifakulást és a vörös szín elvesztését okozták (Colmenero et al., 1997). Joung és munkatársai (2003) marhahús különböző paraméterek mellett történő nyomáskezelése (50-600 MPa, 20-300 s, 10°C) során megállapították, hogy a hús színének és metmiooglobin tartalmának alakulása szempontjából a nyomáskezelés nagyságának hatása a kezelési idő hatásával szemben szignifikánsabbnak bizonyult. Alacsony értékű nyomáskezelés (130 MPa) esetén a hús vörös színezete javulást mutatott, amely a kezelést követő néhány napos tárolás során is fennmaradt, a kedvezőtlen változások 300 MPa és az ennél magasabb nyomáson történt kezeléseket után mutatkoztak. Míg vörös húsoknál a fentiek ismeretében a nagy hidrosztatikus nyomás csak hőkezeléssel kombinálva jelenthet új alternatívát, addig a füstölt húsok és fehér húsok esetén a színváltozással nem szükséges számolni. Főtt és pácolt sonkák esetén nem tapasztalható különbség a kezeletlen és nyomáskezelt minták között (Garriga et al., 2004; Morales et al., 2006). Fermentált spanyol szárazkolbász 500 MPa 5 perces nyomáskezelése és 210 napos tárolása (6° C) nem eredményezett változást az L^* , a^* , b^* értékekben (Rubio et al., 2007b). A marinált marhahús szelet, főtt sonka és száraz pácolt sonka általános fiziko-kémiai összetételében sem mutatkozott változás 600 MPa 10 perces 30 °C hőmérsékleten történő nyomáskezelés után (Hugas et al., 2002).

A nyomáskezelésnek a hús ízére gyakorolt hatásairól kevés információ áll rendelkezésre. Cheftel és Culioli (1997) megállapították, hogy a nyomáskezelt marhahús édesebbnek bizonyult a kontroll mintánál. Suzuki és munkatársai (1994) tanulmányozták a nagy hidrosztatikus nyomásnak a hús ízéért felelős vízoldható összetevőkre gyakorolt hatását. Megállapították, hogy a peptidek és az aminosavak aránya növekedett a nyomásérték növelésével 300 MPa-ig (5 perc 2 °C). Izomszövetek 2 °C-on 27 napig történő tárolása esetén mind a kezeletlen, mind a kezelt szövetekből kinyerhető peptidek és aminosavak mennyisége növekedett. Az oldható peptidek HPLC analízise 200 MPa-ig nem mutatott ki szignifikáns változást egyik frakció esetében sem, míg a 300 és 400 MPa értékeken kezelt minták esetén a peptid frakció csökkenése volt kimutatható. A nyomáskezelés 300 MPa-ig hasonló hatással van az ízzel összefüggésbe hozható aminosavakra és peptidekre, mint a húsérlelés. A nyomás által okozott fehérje denaturáció és a proteolitikus enzimek felszabadulásának együttes hatása lehet a magyarázat a megfigyelt változásokra (Cheftel és Culioli, 1997). Fermentált spanyol szárazkolbász esetén közvetlenül az 500 MPa 5 perces kezelés után az érzékszervi bírálók nem találtak szignifikáns eltérést a kezelt és a kezeletlen minták között, ám a 210 napos tárolás (6 °C) során a nyomáskezelt mintáknál az érzékszervi paraméterek bírálati értékeiben lineáris csökkenés volt megfigyelhető, a fűszeres íz és illat szignifikáns csökkenést mutatott (Rubio et al., 2007b). Érzékszervi vizsgálatok során az 500 és 600 MPa-on nyomáskezelt spanyol véreshurka (morcilla) íze szignifikánsan jobb bírálati eredményeket ért el, mint a kezeletlen illetve 300 MPa-on kezelt termék. A kezelést követő tárolás (4 °C) 14. napjától ez utóbbi két mintát, a fellépő savanyú íz miatt, amely a romlást jelzi, elfogadhatatlannak találták. Az 500 és 600 MPa-on nyomáskezelt mintáknál a fenti elváltozás a tárolás 21. napjától volt érzékelhető (Diez et al., 2008).

Nagy hidrosztatikus nyomás hatására a hús állománya is megváltozik, a nyers hús kemény, összehúzódtott állapotú lesz. Hőkezelés után alkalmazott nyomáskezelés eredményeként azonban a hús puhább lesz, nagyobb a nedvességtartalma mint a kezeletlen mintáknak. Pre-rigor állapotú hús rövid nyomáskezelése a 100-200 MPa tartományban elegendőnek bizonyult a hús megpuhítására (Ohmori et al., 1991). A nyomás post-rigor alkalmazása, ami az ipar szempontjából sokkal lényegesebb, -30 °C alatti kezelési hőmérsékleten nem fejtett ki húspuhító hatást, ráadásul az utólagos hőkezelés sem javította a puhaság, a lédúság vagy a vágáserő értékeit. Másrészt a 150 MPa nyomás enyhe hőkezeléssel (55-60 °C) kombinálva hatékony eszköznek bizonyult a hidegrövidülés okozta rágósság megelőzésére (Ohmori et al., 1991). Magasabb nyomás alkalmazása (500 MPa) lehetővé tette a hús puhítását hőkezelés nélkül is, de a magas nyomás már befolyásolta a színt (Suzuki et al., 1990). Nagy

hidrosztatikus nyomással kezelt (500 MPa, 5 perc, 10 °C) szeletelt, pácolt sonka műszeres állományvizsgálata során a kontrol mintához képest nem tapasztalható változás (Rubio et al., 2007a). Ezért a nagynyomásos húspuhítás ott jöhet szóba, elsősorban fehér húsok és füstölt húsok esetén, ahol a színváltozás hatásaival nem kell számolni.

A nyomáskezelésnek a hús egészségmegőrzésben fontos összetevőire gyakorolt hatásáról kevés információ áll rendelkezésre. Sancho és munkatársai (1999) megállapították, hogy a 125-600 MPa-os 20 °C-on történt 10 perctől 18 óráig tartó nyomáskezelés nem volt hatással a sertéshús thiamin tartalmára. További kutatást igényel a hús fehérjéinek emészthetőségére, valamint a vitaminok és a vas felszívódására kifejtett esetleges hatása.

2.5. Kombinált kezelési lehetőségek

A minimális kezelésnek alávetett élelmiszerek iránt megmutatkozó piaci igény arra sarkallja az ipart, hogy olyan élelmiszertartósítási eljárásokat alkalmazzon, melyek a tradicionális hőkezelést más mikrobapusztító eljárásokkal kombinálják. A nagy hidrosztatikus nyomáskezelésnek alávetett termékek számos tulajdonságukban felülmúlhatják a hagyományos hőkezeléssel készült termékeket, azonban az alacsony savtartalmú élelmiszerek esetén a nagynyomásos kezelés önmagában nem biztosítja a pasztöröző vagy sterilizáló hatást. Ilyen esetekben a megfelelő mikrobapusztulási arány eléréséhez a nyomáskezelés kombinálható hőkezeléssel, ultrahangos kezeléssel, sugárkezeléssel, vagy antimikrobiális anyagok adagolásával. Ezek az eljárások nemcsak az inaktivációs arányt javítják, növelve ezzel az eltarthatósági időt, de lehetővé teszik a szükséges nyomáskezelés nagyságának csökkentését is. Crawford és munkatársai (1996) a nagynyomásos kezelést hőkezeléssel és ionizáló sugárkezeléssel kombinálták, és csirkemellben figyelték a *Clostridium sporogenes* spórák pusztulását a kezelések hatására. Az először besugárzott majd nyomáskezelt, illetve ennek fordított sorrendjében történő kezelések esetén a túlélő spórák számában nem mutatkozott szignifikáns különbség. Ellenben a kombinált kezelésen átesett minták szignifikánsan különböztek a csak ionizáló sugárkezelésen átesett mintáktól. A kezdetben beoltott spóraszám teljes inaktivációja 6 kGy dózisu besugárzást követő 690 MPa 80°C, 20 perc paraméterekkel rendelkező nyomáskezelés után következett be.

Kutatások bizonyították, hogy a nagy nyomás mikrobapusztító hatása növelhető a hőmérséklet növelésével, alacsony pH biztosításával, széndioxid, organikus savak és bakteriocinek, mint pl. nizin jelenlétében (Papineau et al., 1991; Palou et al., 1997; Farkas et

al., 2003). Nyomáskezelés mikrobapusztító hatása növelhető olyan adalékanyagokkal kombinálva, mint pl. az ecet-, benzoe-, vagy szorbinsav, szulfitek, egyes polifenolok, vagy a kitozán (Knorr, 1995a; Papineau et al., 1991; Popper és Knorr, 1990). A kombinált kezelések lehetővé teszik az alacsonyabb hőmérsékleten, alacsonyabb nyomáson, rövidebb ideig tartó feldolgozást. Palou és munkatársai (1997) a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés antimikrobás hatását növelni tudták kálium szorbát adagolása mellett, így sikerült *Zygosaccharomyces bailii*-t inaktíválni alacsony a_w és pH értékekkel rendelkező laboratóriumi mintában. Azonos nyomásértékeknél a *Z. bailii* inaktíválásához szükséges kezelési idő rövidebb volt kálium szorbát jelenlétében. A nagy nyomás okozta károsodás a sejteket kevésbé ellenállóvá tette egyéb antimikrobás hatásokra, úgymint az alacsony pH, vagy a kálium szorbát.

A nagy hidrosztatikus hőkezelés kombinálva enyhe hőkezeléssel (30-50°C) és/vagy baktériumszaporodást gátló anyagokkal hatékonyan bizonyult az élelmiszerekben előforduló baktériumok szaporodásának gátlására, bizonyítva, hogy egyes kombinációk lényegileg növelik a nyomáskezelés alkalmazhatóságát. Némely esetekben szinergista kölcsönhatás is mutatkozott a nyomáskezelés és a természetes antimikrobás anyagok használata között (Garcia-Graelles et al., 1999; Morgan et al., 2000).

2.6. A nagy hidrosztatikus nyomású technológia néhány megvalósított felhasználási formája az élelmiszeriparban

A kereskedelmi forgalomban ma már számos nagy nyomással előállított termék található Japánban, Európában és az Egyesült Államokban. A Meidi-Ya nevű japán cég 1990-ben a világon elsőként hozott forgalomba nagy hidrosztatikus nyomáskezeléssel előállított dzsemet, amelyet később számos más termék- gyümölcsjoghurtok, zselék, gyümölcsszósok, desszertek, salátaöntetek- követett (Mertens és Deplace, 1993). Európában a narancslé volt az első kereskedelemben kapható nagy nyomásos technológiával készült élelmiszer, amelyet 1996-ban, Franciaországban az akkor Ulti néven ismert cég kezdett gyártani. Ez a cég később Pampryl néven több citrusféle levét is forgalomba hozta. Ezt követően az angol Orchard House is nagy nyomásos narancslé előállításába fogott. Egy spanyol gyártó, az Espuna 1999-ben főtt sonka gyártása során alkalmazott először nagy nyomásos technológiát, melynek segítségével sikerült csökkenteni a szeletelés során bekövetkező újraszennyeződést, az eltarthatósági idő meghosszabbodott. Az Egyesült Államokban az Avomex volt az első cég, amelyik a nagy nyomásos technológiát alkalmazva 1996-ban különböző avokádó termékekkel jelent meg a piacon. Néhány éven belül az avokádópüré (guacamol) lett a legjobb példája

annak, hogy a nagynyomásos technológiával előállított termékek minősége felülmúlhatja a hagyományos hőkezelési eljárással készült termékekét. A guacamol hűtve tárolás során 45 napig őrzi meg a minőségét. A siker titka az avokádó püré hőérzékenységében és az avokádó polifenoloxidáz enzimjének nyomásérzékenységében rejlett. Az Egyesült Államokban egyéb különleges élelmiszerek - mint az osztriga és a humusz - is megtalálták piaci szegmensüket. Az elmúlt években piacra került nagynyomásos termékek listáját a 2. Táblázat tartalmazza.

2.Táblázat: Kereskedelmi forgalomba került nagy nyomásos technológiával készült termékek.2

Termék	Ország	Nyomás/hőmérséklet/idő paraméterek	Nyomáskezelés szerepe a technológiában
gyümölcs alapú dzsemek, pürék joghurtok, öntetek	Japán	400 MPa, 10-30 perc 20 °C	pasztörözés, gélesedés javítása, cukorbehatalás felgyorsítása, pektinmetilészteráz inaktiválása.
grapefruit lé	Japán (gyártást leállították)	200 MPa, 10-15 perc, 5 °C	késérű íz csökkentése
mandarinlé (a késztermékben kb. 20% a nyomáskezelt lé aránya)	Japán	300-400 MPa 2-3 perc, 20 °C	dimetil-szulfid szag tompítása, metil-metionin szulfoxid hőre bekövetkező bomlásának csökkentése, a lé extrakciót követő és a csomagolást megelőző hőkezelés csökkentése
cukorral bevont trópusi gyümölcsök sörbethez, jégkrémhez (-18°C-on tárolva fagyasztás nélkül)	Japán	50-200 MPa	cukorbehatalás felgyorsítása és a víz eltávolítása
jégkristályképző baktériumok (gyümölcslevekhez)	Japán	n. a.	Xantomonas baktériumok inaktiválása
nyers szaké	Japán	n. a.	élesztő inaktiválás, erjedés leállítása hőhatás nélkül
japán mandarinlé	Japán	n. a.	hidegpasztörözés
Moci rizs sütemény, Yomogi friss, illatos fűszernövények, hipoallergén előfőzött rizs, főtt rizs	Japán	400-600 MPa 10 perc 45 vagy 70°C	mikrobaszám csökkentés, friss íz és illat megőrzése, rizsporozitás javítása, allergén fehérjék sókkal történő kivonásának javítása.
gyümölcslé	Japán	n.a.	hidegpasztörözés
narancslé	Japán (próbaforgalmazás)	n.a	n.a

Termék	Ország	Nyomás/hőmérséklet/idő paraméterek	Nyomáskezelés szerepe a technológiában
narancslé	Nagy-Britannia	500 MPa, szobahőmérséklet	mikrobióta és enzimek inaktiválása, természetes íz megőrzése
citruslevek (narancs, grapefruit, kevert citrus)	Franciaország	400 MPa, szobahőmérséklet	mikrobióta inaktiválás, pektinmetilészteráz részleges inaktiválása
avokádó krém (guacamol, salsa) és avokádó darabkák	USA	700 MPa, 10-15 perc, 20 °C	mikroorganizmusok és polifenoloxidáz enzim inaktiválása
almalé, alma- és citruslé keverék	Portugália	450 MPa, 20-90 s, 12 °C	pasztörözés, a friss lé érzékszervi tulajdonságainak megőrzése
alma-, körte-, szamóca- és répalé gyümölcsös desszertek	Olaszország	600 MPa, 3-5 perc, 17 °C	pasztörözés, az érzékszervi tulajdonságok megőrzése, eltarthatósági idő növelése, enzim inaktiváció
brokkoli-almalé keverék	Csehország	n.a.	a brokkolinak egészségre kedvező hatásának megőrzése, első HHP funkcionális élelmiszer
zöldséges készételek	Spanyolország	500 MPa	eltarthatósági idő növelése, kedvező érzékszervi tulajdonságok megőrzése
humusz	USA	n.a.	n.a.
nyers sertés sonka	Japán	250 MPa, 3 óra, 20 °C	érés és puhulás gyorsítása, vízmegtartó képesség javítása, hosszabb minőség megőrzési idő elérése
delikát feldolgozott húsok (sonka)	Spanyolország	400-500 MPa, néhány perc, 20°C	n.a.
füstölt sonka	Németország	600 MPa, 2 perc, 5 °C	<i>Listeria</i> számának csökkentése

Termék	Ország	Nyomás/hőmérséklet/idő paraméterek	Nyomáskezelés szerepe a technológiában
pármái sonka, szalámi	Olaszország	600 MPa, 10 perc, 7 °C	pasztörözés szín és ízváltozás nélkül, eltarthatósági idő növelése, <i>Listeria</i> számának csökkentése
szeletelt sonka, szárnyashús termékek	Spanyolország	500 MPa, 4-10 perc, 8 °C	eltarthatósági idő növelése szín és illatváltozás elkerülése
szárnyashúsból készült készételek	USA	n.a.	<i>Listeria</i> számának csökkentése, adalékanyagok mennyiségének csökkentése
„Shiokara” és nyers fésűkagyló	Japán (leálltak a gyártással)	n.a.	mikroorganizmusok inaktiválása, puhítás
halból készült kolbászok, vagdaltak	Japán (tesztforgalmazás)	n.a.	mikrobaszám csökkentés, gélesítés, állomány kialakítás
tőkehal	Olaszország	600 MPa	eltarthatósági idő növelése
lazacból készült készételek	Spanyolország	500 MPa	<i>Listeria</i> számának csökkentése, eltarthatósági idő növelése, adalékanyagok mennyiségének csökkentése
osztriga	USA	240 MPa, 90 s	a kagylóhéj felnyitása, <i>Vibrio</i> számának csökkentése
osztriga	USA	300-400 MPa, szobahőmérséklet, 10 perc	mikroorganizmusok inaktiválása, nyers íz megőrzése, alak és méret megőrzése

n.a.= nincs adat

3. Célkitűzés

A nagy hidrosztatikus kezelés élelmiszeriparba való bevezetése széles kutatási területet kínál. Az élelmiszerek komplexitásának, valamint a nyomás hatására történő lehetséges változások és reakciók nagy számának köszönhetően a nagynyomásos kezelés hatásainak pontos előrejelzése nehéz, az általánosítás nem lehetséges. Ezért a kezelni kívánt élelmiszereken minden egyes esetben külön-külön kell vizsgálni a nagy hidrosztatikus nyomás hatását. Dolgozatomban néhány olyan élelmiszer vizsgálatát végeztem, melyeknél a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés potenciálisan szóba jöhet. Minden esetben az adott élelmiszer vagy élelmiszeripari alapanyag minőségére legnagyobb befolyással levő paraméterekben bekövetkezett változásokat igyekeztem nyomon követni. Vizsgáltam, hogy a kezelések a választott paraméterek mellett javítják-e az adott termék mikrobiális állapotát, valamint történik-e más olyan változás, ami az eltarthatóságot vagy a fogyasztói preferenciát befolyásolhatja.

A kiválasztott alapanyagok, illetve az ezeken végzett vizsgálatok a következők szerint alakultak:

- A húsipari félkész és késztermékek alapjául szolgáló szeparált pulykahúspép 200 MPa, 20 perces, szobahőmérsékleten való nyomáskezelése, majd 4 °C hőmérsékleten történő 15 napos tárolása után mikrobiológiai vizsgálatokat végeztem, melynek során megállapítottam az összcsíraszámot, az enterobaktériumok számát, a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb számát. Mivel a szeparált húspép a feldolgozás során több prooxidáns hatásnak van kitéve, ezért lipidoxidációs, valamint koleszterin oxidációs vizsgálatokat is végeztem.

- Az erősen romlandó csirkemájat, mely önálló termékként, vagy húsipari termékek alapanyagaként is forgalomba kerül, 200 MPa, 300 MPa és 400 MPa-on, 20 percig szobahőmérsékleten kezeltem, majd mikrobiológiai (összcsíraszám, enterobaktériumok, kóliformok, *E. coli*), lipid oxidációs és koleszterin oxidációs vizsgálatokat végeztem. Ez utóbbiak a csirkemáj magas koleszterin tartalma miatt is fontosnak bizonyultak. A vizsgálatok a színparaméterekben bekövetkezett változások vizsgálatával egészültek ki.

- A magas fogyasztói preferenciával rendelkező darált marhahús 200 MPa illetve 300 MPa, 20 perces, szobahőmérsékleten történő nyomáskezelése, majd 4 °C hőmérsékleten történő 15 napos tárolása után mikrobiológiai vizsgálatokat (összcsíra, kóliformok, *E. coli*), fehérje

denaturációs vizsgálatokat (DSC) , valamint a vörös húsok esetén az elszíneződés jelensége miatt színmerést is végeztem.

- Nyers tehéntejen a 200, 400, 600, 800 MPa, 5 perces időtartamú szobahőmérsékleten végzett nagynyomásos kezeléseket a pasztörözés hatásával hasonlítottam össze közvetlenül a kezelés után, valamint az 1 hétig tartó hűtve tárolás (4 °C) alatt. Ennek során vizsgáltam az összcsíraszám alakulását, a fehérje denaturációt (PAGE), színmerést végeztem, valamint elektronikus orral az illóanyag komponensekben a kezelések hatására bekövetkező változásokat követtem nyomon.

- A tyúktojás, funkcionális tulajdonságai miatt igen elterjedten használt élelmiszer komponens, melynek 300, 400, és 500 MPa 5 perces szobahőmérsékleten történt nyomáskezelése után egy kiterjedtebb vizsgálat sorozat részeként fehérje denaturációs vizsgálatokat (DSC), valamint színmerést végeztem.

- A szamócát, amely az élelmiszeripar értékes alapanyaga, számos termék összetevője, és amelynek eltarthatósága igen korlátozott, 400 MPa és 600 MPa 5 perces szobahőmérsékleten történt nyomáskezelésnek vetettem alá, majd 2 napig 4°C-on tároltam. A minimálisan feldolgozott gyümölcsöknek a friss tulajdonságok megtartása mellett a megfelelő mikrobiológiai biztonságot és megfelelő eltarthatósági időt kell biztosítaniuk. Bár az élelmiszerekkel terjedő betegségek ritkán hozhatóak összefüggésbe friss bogyós gyümölcsökkel, a fertőzés lehetőségét a kezelés természete miatt nem lehet kizárni (FDA Survey of imported fresh produce. U.S. Food and Drug Administration, 2001). Jelen vizsgálatok során *Enterococcus faecalis*-t, mint gram pozitív patogén mikrobát helyettesítő mikroorganizmust alkalmaztam, mely egy széles körűen elterjedt mikroba, megtalálható a talajban és a természetes vizekben, a nagy hidrosztatikus nyomással szemben igen nagy rezisztenciát mutat (Shigehisa et al., 1991). Munkám során vizsgáltam, hogy a teljes szamócaszemét a nyomáskezelés hogyan befolyásolja, és a szamóca felületére oltott *Enterococcus faecalis* a nyomáskezelés sikeresen inaktiválja-e. Különböző nyomás nagyság, kezelési hőmérséklet és pH együttes hatását vizsgáltam *Enterococcus faecalis* kultúrán, meghatároztam az inaktiváció mértékét és a sérült sejtek arányát.

4. Anyagok és módszerek

4.1. A kísérletek helye

A vizsgálati minták nyomáskezelése, a műszeres vizsgálatok, ú.m. színmérés, DSC és elektronikus orr vizsgálatok, valamint az oxidációs változásokat mérő, általános vizsgálatnak számító TBA érték meghatározások a Budapesti Corvinus Egyetem Hűtő és Állatitermék Technológiai Tanszék laboratóriumaiban történtek. A mikrobiológiai vizsgálatokat az egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszékének kutató laboratóriumában végeztem. A koleszterin oxidációs termékeinek meghatározására az OÉTI Élelmiszerkémiai Főosztályán, míg a tejfehérjék elektroforézisos vizsgálatára a Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézetben került sor.

A szamóca és az ezzel kapcsolatban az *Enterococcus faecalis*-szal, mint szennyező mikroorganizmussal végzett vizsgálatokat Marie Curie ösztöndíj keretében a Unilever Colworth House (Bedford, U.K.) kutatóközpontjának mikrobiológiai laboratóriumában végeztem.

4.2. Felhasznált anyagok

A kísérleteim során felhasznált élelmiszerminták eredete a következő volt:

- szeparált pulykahús vizsgálatokhoz a Sága Foods Rt. által előállított, kereskedelmi forgalomba kerülő termékek alapjául szolgáló szeparátum állt rendelkezésre
- csirkemáj vizsgálatokhoz a májat frissen, helyi piacról szereztük be a vizsgálat napján
- csontozott, friss marhahúst szintén a helyi piacon, a vizsgálat napján vásároltuk, a laboratóriumban elektromos darálón (Robot Coupe R502) ledaráltuk
- friss, nyers tejhez termelőtől, az Országos Nyerstej Minősítő Intézetten keresztül jutottunk hozzá
- a friss tyúktojás pomázi termelőtől származott, a laboratóriumban szétválasztottuk fehérje és sárgája részekre, a továbbiakban a két részt külön kezeltük és külön vizsgáltuk
- friss, érett, szamócát a helyi szupermarketből a vizsgálat előtti napon szereztem be (eredet: Hereford, fajta: Everet), a vizsgálatokhoz használt *Enterococcus faecalis* fajta a Colworth Microbiology Culture Collection törzsgyűjteményből származott

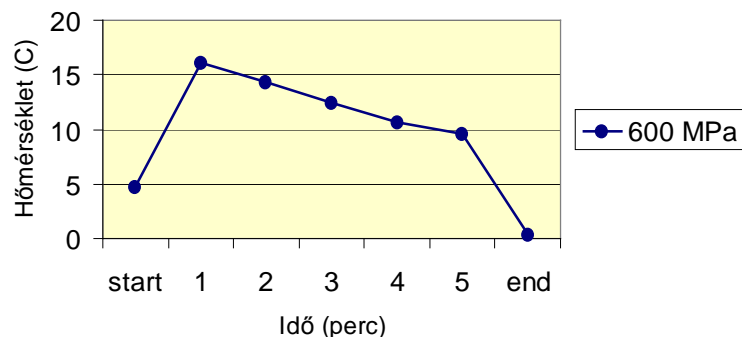
4.3. Felhasznált módszerek

4.3.1 Nyomáskezelés

Az állati eredetű élelmiszerek nyomáskezelését a Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszéken lévő „FoodLab 900” (Stansted Fluid Power Ltd, Stansted, U.K.) típusú berendezéssel végeztem (5. ábra), amelyben a nyomás átvivő folyadék 15% ricinusolaj tartalmú etanol. A berendezéshez kapcsolt Haake C40-F6 típusú termosztát gondoskodik a hűtésről, így a minták hőmérséklete kezelés közben sem emelkedik szobahőmérséklet fölé (~20 °C). A mintákat a nyomáskezelésig, majd a kezelésektől a vizsgálatok megkezdéséig 4 °C hőmérsékleten tartottam.

A Colworth House laboratóriumában végzett nyomáskezeléseket FPG5620Y (Stansted Fluid Power Ltd, U.K.) típusú berendezésen végeztem, ahol a nyomásátvivő közeg tiszta etanol volt. Ennél a típusnál lehetőség nyílt a kezelési hőmérséklet pontos beállítására. Hűtőfolyadék (etanol) keringetésével a nyomástartó teret már a kezeléseket előtt a kívánt hőmérsékletre állítottam. A nyomáskezelés alatt a nyomásátvivő folyadék hőmérsékletét HAAKE-F3 termosztát segítségével ellenőriztem. Az adiabatikus melegezés miatti hőmérsékletemelkedés megközelítőleg 2 °C/100 MPa volt (4. ábra). Egy megelőző vizsgálat során megállapítást nyert az alkalmazandó hűtőfolyadék (etanol) azon hőmérséklete, amelyenél a fagyasztott minták hőmérséklete adott kezelési paraméterek mellett nem emelkedett –4 °C fölé.

A nyomáskezelt anyagokat és ezek legfontosabb kezelési paramétereit a 3. táblázat tartalmazza.



4. ábra: Hőmérsékletváltozás a nagynyomásos edényben 600 MPa nyomás alkalmazása közben.

3.Táblázat: Nyomáskezelt anyagok, kezelési paraméterek

Minta	Nyomáskezelés MPa	Kezelési idő perc	Kezelési hőm. °C	Csomagolási egység/ csomagolóanyag	Tárolási idő és hőmérséklet
Szeparált pulykahús	200	20	Szobahőm.<20)	100g Multibarrier4 fólia, vákuumhegesztéssel	15 nap 4°C
Friss csirkemáj	200,300,400	20	Szobahőm.<20)	100g Multibarrier4 fólia, vákuumhegesztéssel	-
Darált marhahús	200,300	20	Szobahőm.<20)	20g Multibarrier4 fólia, vákuumhegesztéssel	15 nap 4°C
Nyers tehéntej	200,400,600,800	5	Szobahőm.<20)	30 ml, Nalgene LDPE, műanyag edény	1 hét (4°C)
Friss tyúktojás	300,400,500	5	Szobahőm.<20)	30 ml, Nalgene LDPE, műanyag edény	-
Szamóca	400,600	5	Szobahőm. ~20	vákuumhegesztett műanyag fólia	24 óra, 4°C 48 óra, 4°C
<i>Enterococcus faecalis</i> HIB pH 7.2 MRS pH 4.5	100,200,300,400, 500,600	5	szobahőm. ~20 4°C -20°C*	4ml Nalgene, LDPE+ 30 ml Nalgene LDPE; dupla csomagolás**	24, 48 óra 4°C 24, 48 óra 4°C 24,48 óra, 1 hét -20°C

*A szobahőmérsékleten kezelt minták a vizsgálatokig, amelyek a kezelést követő 1 órán belül megkezdődtek, szobahőmérsékleten maradtak, ezt követően 4°C-on tároltam őket további 48 óráig.

A 4 °C-on és –20 °C-on kezelt mintákat a kezelések előtt 12 órával a kívánt hőmérsékletűre hűtöttem, majd a kezeléseket követően a vizsgálatok megkezdéséig a megfelelő hőmérsékleteken tartottam.

** A két különböző pH értéken tenyésztett *Enterococcus faecalis* mintát 4 ml-es edényekbe (Lab-Pack Dropper Bottler, LDPE, Nalgene, USA) csomagoltam, és biztonsági okokból ezeket 30 ml-es nagyobb edényekben (Wide-Mouth Bottle, LDPE, Nalgene, USA) helyeztem el, amelyet vízzel töltöttem fel.



5. ábra: „FoodLab 900” nagynyomásos berendezés

4.3.2 Mikrobiológiai vizsgálatok

4.3.2.1 Az összcsíraszám meghatározása

Összcsíraszám: a vizsgált anyag tömeg vagy térfogat egységében előforduló összes élő és fejlődő képes mezofil aerob és fakultatívan anaerob mikroorganizmusok száma.

A vizsgálat során a vizsgálati anyagból aseptikus körülmények között mintát vettem, ehhez meghatározott mennyiségű steril hígító oldatot adtam, majd homogéneztem. Az így előkészített vizsgálati mintából a tíz egész számú hatványai szerint növekvő hígításokat készítettem és ezek mindegyikével lemezöntést végeztem TGE (Merck) agarral. A beoltásokat 48 órán át 30°C hőmérsékleten aerob viszonyok között inkubáltam, majd értékeltem. A különböző hígítások pozitív tenyészei számának megállapítása után kiszámítottam a vizsgálati minta 1g-ban az aerob összcsíraszámot (MSZ 3640/4-86). Az összcsíraszám meghatározását minden esetben 3-3 párhuzamos minta vizsgálata alapján végeztem.

4.3.2.2 Az enterobaktériumok számának meghatározása

Enterobaktériumok: az Enterobacteriaceae-családba tartozó Gram-negatív, spórát nem képző, rövid pálcika alakú baktériumok. Leggyakrabban az emberi és állati bélcsatornában, a felszíni vizekben és a talaj baktérium flórájában fordulnak elő. Mesterséges táptalajon jól fejlődnek, a nitrátot nitritté redukálják, a glükózt sav- vagy sav- és gáztermelés mellett bontják, az indofenoxidáz próbában negatívak. Az enterobaktériumok családja a következő fontosabb nemzetségeket foglalja magában: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Arizona*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Yersinia*.

Enterobaktériumok számának meghatározása: a vizsgálati anyag tömeg vagy térfogategységében található enterobaktériumok számának megállapítása telepszámlálással.

A vizsgálat során az egyneműsített vizsgálati anyagot adott mennyiségű hígító oldattal homogéneztem. Az így elkészített vizsgálati mintából két külön bemérésből származó, 1,0; 0,1; 0,01 g vizsgálati anyagnak megfelelő mennyiségeket vittem fedett lemezöntéses technikával VRBD (Merck) táptalajba. Az elkészített lemezeket 37°C hőmérsékleten 24 órán át inkubáltam és Petri-csészénként megszámloltam a kifejlődött jellegzetes telepeket (MSZ 3640/21-83). Az enterobaktériumok számának meghatározását minden esetben 3-3 párhuzamos minta vizsgálata alapján végeztem.

4.3.2.3 A kóliformok számának meghatározása

Kóliform baktériumok: olyan baktériumok, amelyek epét vagy epesót tartalmazó folyékony tápoldatban 30°C hőmérsékleten gázképződés mellett bontják a laktózt.

A vizsgálat során a vizsgálati anyagból mintát vettem, majd kilencszeres mennyiségű hígítófolyadék hozzáadásával Stomacher készülékben steril körülmények között homogéneztem. Az így elkészített homogenizátumból a tíz egész számú hatványai szerint növekvő hígításokat készítettem. A hígítási sor mindegyikéből 1-1 ml-t vittem 9-9 ml szelektív tápoldatot tartalmazó (Fluorocult, Merck 1.12588), Durham-féle gázcsővel ellátott-három-három normál kémcsőbe. A beoltott tenyészeteket 30 °C hőmérsékleten 48 órán keresztül inkubáltam. Az alapbeoltások közül azokat oltottam tovább 10 ml tápoldatot tartalmazó és Durham-féle gázcsővel ellátott normál kémcsőbe, amelyek esetén a tenyészet egészében megzavarosodott, de gázképződés nem mutatkozott, így fennállt a kóliform gyanú. Koliform-negatívként bíráltam el az alapbeoltások közül azokat a tenyészeteket, amelyekben

a 48 órás inkubációs idő elteltével sem gázképződés, sem a tenyészet zavarosodása nem volt megfigyelhető. Kóliform pozitívnak akkor tekintettem egy tenyészetet, ha az inkubációs idő leteltével zavarosodás mellett a Durham-féle gázcsőben térfogatának legalább egytizedét kitevő gázképződés volt megfigyelhető. A szubkultúrában gázképződést mutató tenyészetek számából az MSZ 3640/17-79 szabványban leírtak szerint kiszámítottam a vizsgálati anyag 1 g-ban levő kóliform baktériumok legvalószínűbb számát. Az kóliformok számának meghatározását minden esetben 3-3 párhuzamos minta vizsgálata alapján végeztem.

4.3.2.4 *Escherichia coli* számának meghatározása

E. coli baktériumok: olyan kóliform baktériumok, amelyek az epét vagy epesót tartalmazó folyékony szelektív táptalajban a laktózt 30°C és 44,5°C hőmérsékleteken bontják, és amelyeknek 44,5°C hőmérsékleten a folyékony, szelektív táptalajban kifejlődött tenyészei az ún. IMViC próbákban *E. coli*-ra jellemző reakciókat mutatnak.

A vizsgálati minták *E. coli* számának meghatározását a koliformok számának meghatározásával egyidőben végeztem, a mintavétel, a hígítási sor készítése, és a szelektív táptalajba való beoltás a fent leírt módon történt. Az *E. coli* szám meghatározásánál elvégeztem az Eijkman-féle próbát, ahol a szelektív tápoldatot (Fluorocult, Merck, 1.12588) tartalmazó Durham csővel ellátott kémcsöveket 24-48 óráig inkubáltam 30 és 44,5°C hőmérsékleten, majd a tenyészeteket gázképződés melletti mikrobafejlődés szempontjából vizsgáltam. *E. coli* gyanúsak bizonyultak azok a tenyészetek, amelyekben a 30 és 44,5°C hőmérsékleteken végzett párhuzamos tenyésztés során mindkét tenyészetben baktériumfejlődés és a Durham-csőben a cső térfogatának legalább egytized részét kitevő gázképződés mutatkozott. *E. coli* negatívnak tekintettem azokat a tenyészeteket, amelyekben a fenti jelenségek 48 óra elteltével nem voltak észlelhetők, vagy csak 30°C hőmérsékleten volt gázképződés.

Az *E. coli* gyanús minták valamennyi hígításának 44,5°C hőmérsékleten inkubált tenyészetéből szélesztő kioltást végeztem kristályibolya-neutrálvörös-epe-laktóz agarlemezen (VRBL lemez). A felületi szélesztést 37°C hőmérsékleten, 24 órán át inkubáltam. Feltételeztem *E. coli*-nak bizonyultak azok a tenyészetek, amelynek telepei kerek formájúak, a tejcukrot savképződés mellett bontják, így a VRBL lemezen élénkpiros színűek. A feltételeztem *E. coli*-nak bizonyult felületi szélesztések esetén indolpróbát végeztem, melynek során triptonvizet tartalmazó kémcsöveket beoltottam a VRBL lemezen kifejlődött

másodlagos tenyészet kacsnyi mennyiségével, a szuszpenziót 24 órán át 44,5°C-on inkubáltam. Ennek elteltével a tenyészethez 0,5 ml Kovács reagenst adtam, összeráztam, majd 1 perc elteltével értékeltem: pozitívnak tekintetem azt a mintát, ahol 1 perc elteltével a tápoldat felszínén gyűrűszerű meggyipiros elszíneződés jelentkezett. Negatív reakció esetén, a felszínen sárga színű gyűrű jelentkezett. A MSZ 3640/19-79 szabványban leírtak szerint kiszámítottam a vizsgálati anyag 1 g-ban levő *E. coli* baktériumok számát. Az *E. coli* számának meghatározását minden esetben 3-3 párhuzamos minta vizsgálata alapján végeztem.

4.3.2.5 Élesztő- és penésztelepek számának meghatározása

Élesztő- és penészgombák: azok a mikroorganizmusok, amelyek a nemzetközi szabványban rögzített szelektív táptalajon, 25°C-on való tenyésztéssel telepeket képeznek.

A vizsgálatot megelőzően az élesztő- és penészgombák számának meghatározására az MSZ ISO 7954 szabvány által előírt módon élesztőkivonat- glükóz- chloramphenicol-agar táptalajt készítettem.

A vizsgálat során a vizsgálati anyagból aseptikus körülmények között mintát vettem, ehhez meghatározott mennyiségű hígító folyadékot adtam, majd homogéneztem. Az így elkészített alapsuszpenzióból a tíz egész számú hatványai szerint növekvő hígításokat készítettem, és ezek mindegyikéből lemezöntést végeztem élesztőkivonat- glükóz-chloramphenicol-agar táptalajjal. Ezek után a Petri csészéket megfordítva 25°C hőmérsékleten inkubáltam 5 napig, majd a kifejlődött telepek számlálása után meghatároztam a vizsgálati minta 1 g-ban az élesztő-és penészsámot, melyhez minden esetben 3-3 párhuzamos minta eredményét használtam fel.

4.3.2.6 *Enterococcus faecalis* kultúra készítése, a túlélő és sérült mikrobaszám meghatározása

A vizsgálatokhoz használt *Enterococcus faecalis* a Colworth Microbiology Culture Collection törzsgyűjteményéből származott (CMCC 206). Az *Enterococcus faecalis* tenyésztéséhez két különböző táptalajt használtam: MRS táplevest (CM359 Oxoid, U.K.) valamint HIB táplevest (238400 Difco, USA), amelyek pH 4.5 illetve pH 7.2 környezetet biztosítottak a tenyésztés és a vizsgálatok során.

A kultúrák elkészítése során MRS agarról (CM 361, Oxoid, U.K.) egy oltókacsnyi telepet 10-10 ml MRS és HIB táplevesbe oltottam, és 24 órán keresztül 37 °C hőmérsékleten statikusan inkubáltam, hogy stacioner szaporodási fázisban levő mikrobacejteket nyerjek. Ezután a kultúrákat átoltottam 100-100 ml friss MRS/HIB táplevesbe és ismét azonos körülmények között inkubáltam.

A túlélő sejtek meghatározásának céljából a nyomáskezelt *Enterococcus faecalis* mintákból steril MRD (42076, bioMérieux, Franciaország) folyadékban a tíz egész számú hatványai szerint növekvő hígításokat készítettem, majd ezek mindegyikéből 0,1 ml-t szélesztettem MRS agar (CM 361, Oxoid, U.K.) felületén. A nyomáskezelés okozta szubletálisan sérült sejtek számának meghatározásához szelektív táptalajként 5 % NaCl-al kiegészített MRS agart használtam (Patterson et al., 1995), ennek felületén a minták mindegyikéből 0,1 ml-t szélesztettem. A lemezeket mindkét esetben 37 °C hőmérsékleten 48 órán át inkubáltam. A szubletálisan sérült sejtek száma az MRS táptalajon kimutatott összes sejtszám, valamint az 5 % NaCl-al dúsított MRS táptalajon kimutatott ép sejtek számának különbségéből adódott.

Az anaerob körülmények közötti felépülési képesség vizsgálatához az MRS agarhoz oxyrase enzimet (OXYRASE, USA) adagoltam. A minták mindegyik hígításából 1-1ml-t steril Petri csészékbe pipettáztam, majd hozzáöntöttem az MRS+oxyrase elegyből ~15 ml-t, és óvatosan összeráztam. Miután az elegy megszilárdult, újabb réteg agart öntöttem a mintákra. Ezután 37 °C hőmérsékleten 24 órán át inkubáltam. Az eredményeket 3-3 párhuzamos minta eredményeinek átlagából számoltam.

4.3.2.7 Szamóca beoltása

A vizsgálatokhoz friss, érett, a helyi szupermarketből előző nap beszerzett szamócákat (eredet: Hereford, fajta: Everet) használtam. A szamócákat a vizsgálatokig 4 °C hőmérsékleten tároltam és a beoltások előtt kb. 1 órával helyeztem át szobahőmérsékletű térbe, ahol a leveleket aszeptikusan eltávolítottam. Ezután 0,1 ml előre elkészített 10^8 cfu/ml inokulumot pipettáztam a gyümölcsök sértetlen felületére. A beoltáshoz stacioner növekedési fázisban levő *Enterococcus faecalis* sejteket használtam, amelyeket HIB táplevesben (238400, Difco, USA) 37 °C-on tenyésztettem. A nyomáskezelést követően a szamócákhoz megfelelő mennyiségű hígítófolyadék adása és a homogénezés után elkészítettem a tízes alapú hígítási sort, amelyek mindegyikéből 0,1-0,1 ml-t szélesztettem MRS (CM 361 Oxoid, USA) és MRS + 5 % NaCl táptalajok felületén, majd ezeket 37 °C hőmérsékleten, 48 órán át inkubáltam, ezáltal megállapítva a túlélő és sérült mikrobacejtek számát. Az anaerob felépülési képesség

megállapításához a minták hígításaiból 1-1 ml-t kevertem oxyrase tartalmú MRS táptalajhoz, majd az elegy megszilárdulása után ismét felülöntöttem egy réteg táptalajjal. A 37 °C hőmérsékleten, 24 órán át tartó inkubálás után a 3-3 párhuzamos mintából megállapítottam a sejt számokat és értékeltem az eredményeket.

4.3.3 Lipidoxidációs vizsgálatok

4.3.3.1 TBA-szám meghatározás

A másodlagos reakciótermékek mérésére jól alkalmazható módszer. A vizsgálat közvetlenül húsból történik, így az extrakció esetleges hibái kiküszöbölhetőek.

A malonaldehid és az azzal ekvivalens anyagok a tiobarbitur-savval reagálva színyanyagot képeznek, mely spektrofotometriásan mérhető (TBARS érték). A minta mg-ban kifejezett malonaldehid tartalmát tetra-etoxipropánnal (TEP) készült kalibrációs egyenesből számoltuk (2. melléklet).

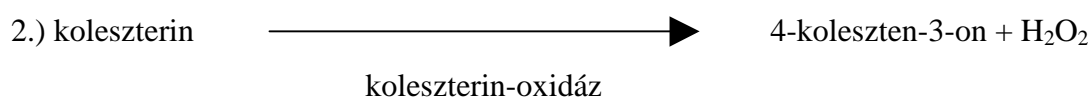
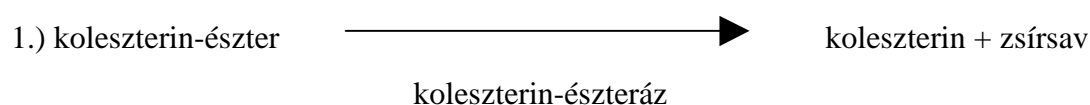
A vizsgálat Newburg és Concon (1980) módszere alapján történt az alábbiak szerint: 1 gramm homogén húsmintához 10 cm³, 0,9 %-os (m/m) NaCl oldatot, majd 10 cm³ 10 %-os triklórecetsav oldatot adtunk, és kémcsórázóval homogenizáltuk. Tíz perc állás után az elegyet leszűrtük. A szűrlet 5 cm³-hez 1 cm³ 1 %-os TBA reagenst adtunk, majd 80 °C-on 1 órán át hőkezeltük, hogy a reakció lejátszódjon, és a szín kialakuljon. Lehűlés után a fényelnyelés mértékét szobahőmérsékleten, spektrofotométeren, 532 nm-en mértük vakpróbával szemben. A vizsgálatokhoz minden esetben 2-2 független mintát használtunk.

4.3.3.2 Koleszterinoxidációs származékok meghatározása

A koleszterin oxidációs termékeinek egymáshoz hasonló kémiai szerkezete és csekély mennyisége miatt érzékeny módszerek alkalmazása szükséges. Az összlipid kivonására a kloroform-metanol 2:1 arányú elegyével végzett Folch-extrakciót alkalmaztuk. Ennek segítségével az élelmiszer minta összlipid tartalmának 95-99%-a kivonható. A teljes zsírkivonat túlnyomó részben a triglicerideket és a foszfolipideket tartalmazza, valamint ezek mellett kis részben jelenlevő szterineket. Az analízis következő lépésében a trigliceridek és foszfolipidek észterkötéseinek felszakítására lúgos hidrolízis alkalmaztunk (100°C, 1 óra). Az elszappanosítás után a nem elszappanosítható lipideket diizopropiles kirázással extraháltuk. A koleszterin oxidációs termékeinek szétválasztására vékonyréteg kromatográfias módszert

használtunk. Az oxiszterinek azonosítására standard vegyületek álltak rendelkezésre. A termékek azonosítását a retenciós faktor valamint a kialakuló, jellemző szín segítségével végeztük.

A kvantitatív meghatározásra a klinikai gyakorlatban is széleskörűen elterjedt enzimikus eljárás alkalmaztuk (Lebovics et al. 1995). Ennek alapelve, hogy a koleszterin-észterek lúgos elszappanosítását a koleszterin-észteráz helyettesíti, majd az észter kötésből felszabadult koleszterint a koleszterin-oxidáz 4-koleszten-3-on-ná oxidálja és mellette hidrogén-peroxid is keletkezik. A hidrogén-peroxid peroxidáz jelenlétében a fenollal és 4-amino-antipirinnel reagálva színes vegyületet képez, amely spektrofotometriásan mérhető.



Ez az enzimikus módszer lehetővé teszi a vékonyréteg kromatográfiával elválasztott oxidációs termékek mennyiségi mérését.

A koleszterin-oxidok *kvalitatív* meghatározására a Merck cég gyárilag előállított vékonyréteglapjait használtuk. A Sil G 60 F₂₅₄ és Sil G HF₂₅₄ szilikagél szorbenssel készült 0,25 mm rétegvastagságú 5-17 µm szemcsenagyságú, fluoreszcens indikátorral impregnált lemezen történt a futtatás. A futtatás heptán-etilacetát (1:1 v/v) elegyben történt, kétszer egymásután 60 mm magasságig. Az oldószer elpárologtatása után a lapokat 8,5%-os foszforsavban oldott 10%-os CuSO₄ • 5H₂O előhívó reagenssel bepermeteztük. A szín kialakulás 110°C-on 8-10 perc alatt ment végbe, s egyes komponensekre jellemző színreakciókat kaptunk. A 7-ketokoleszterin nem ad színreakciót, de UV fényben 254 nm-en fluoreszcenciát mutat. Ennek azonosítását az előhívó reagens rápermetezése előtt tettük meg, mivel a reagens a fluoreszcenciát kioltja.

A koleszterin-oxidok *kvantitatív* meghatározását a továbbiakban enzimikus módon végeztük. Ehhez a Bio Mérieux SA „Cholesterol enzymatique PAP 250” 61225 referencia számú tesztet

használtuk. Ezután Perkin-Elmer típusú spektrofotométeren, 500 nm-en lemértük a reakció elegy abszorbanciáját.

Az 500 nm-en mért enzimreakciót követő színekialakulás után az oxiszterinek mennyisége és az optikai sűrűség (abszorbancia) között lineáris összefüggés mutatkozott, mely leírható az $y=a+b*x$ regressziós egyenessel. Az oxiszterinek mennyisége a kalibrációs egyenesek alapján meghatározható (3-4. Melléklet). A méréseket minden esetben 2-2 független mintából végeztük.

4.3.4 Színmérés

A színmérést Minolta CR-200 típusú tristimulusos színmérő készülékkel (6. ábra) végeztem, amely reflexiós színmérésre alkalmas.

A mérés az additív színkeverés elvén alapul, amely szerint bármely szín előállítható három, adott hullámhosszú fény keverékeként. A CIE (Nemzetközi Világítástechnikai Bizottság) által 1931-ben elfogadott alapszín-összetevők: vörös (700 nm), zöld (546.1 nm) és kék (435.8 nm).

A mérőfejben természetes fényhez hasonló megvilágítást adó xenon lámpa található (C típusú fényforrás). A lámpa fénye az ún. keverőkamra faláról többszörösen visszaverődve opál üveglemezen keresztül jut a tárgyra, amely így diffúz megvilágítást kap. A mérőfej rekesznyílása (a mért terület) 8 mm átmérőjű.

A mérőfejben található optikai kábelek egy része a minta mérésére, a másik része pedig a megvilágítás ellenőrzésére szolgál. A kétutas feed-back rendszernek köszönhetően a mérés pontos és jól reprodukálható. A mérőfejet úgy alakították ki, hogy csak a merőlegesen visszaverődő fényt gyűjti össze. A megvilágító és a visszavert fény három - három optikai úton, az alapszín-összetevők megfelelő színszűrőkön halad tovább. Az adott hullámhosszú fényt szilícium fotocellák előbb analóg, majd digitális elektromos jellé alakítják. A jel a beépített mikroszámítógépbe jut, amely meghatározza a mért terület X, Y, Z színösszetevőit, majd ezekből kiszámítja a kiválasztott színingertér-rendszer koordinátáit. A készülék ötféle színingertér-rendszerben képes megadni az adatokat és a színkülönbséget. Az adatok kinyomtathatók, vagy a készülék memóriájából személyi számítógépre átvihetők (Minolta kézikönyv, 1992).

Az eredményeket a CIELAB színingertér-rendszerben adtam meg, amely a következő egyenletekkel értelmezett, megközelítően egyenletes színingertér:

$$L^* = 116 ((Y/Y_0)^{1/3}) - 16$$

$$a^* = 500 ((X/X_0)^{1/3}) - (Y/Y_0)^{1/3})$$

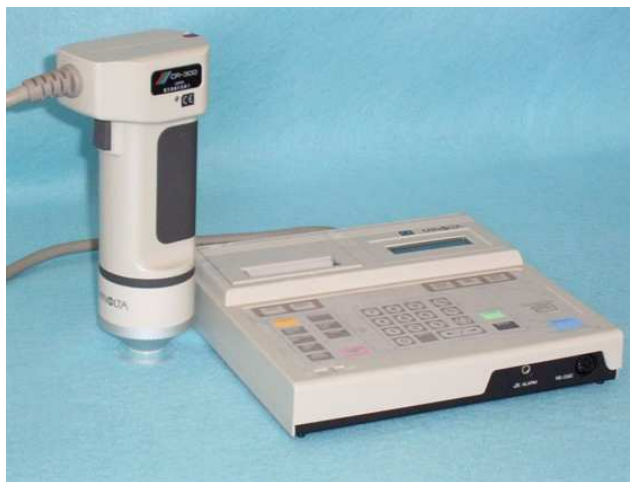
$$b^* = 200 ((Y/Y_0)^{1/3}) - (Z/Z_0)^{1/3})$$

Az előbbi összefüggések akkor állnak fenn, ha : (X/X_0) , (Y/Y_0) és $(Z/Z_0) > 0.008856$.

(L^* = világossági tényező, $+a^*$ vörös színezet, $-a^*$ zöld színezet, $+b^*$ sárga színezet, $-b^*$ kék színezet.)

Az X_0 , Y_0 és Z_0 az abszolút fehér színingerösszetevői (az értékek a használt sugárzáseloszlástól és a látómező nagyságától függően változnak). (Lukács, 1982)

A minták közül csirkemáj esetében 8-8, míg a darált marhahús, a tej és tojásminták esetében pedig 6-6 párhuzamos mérést végeztem. A méréseket minden mintánál a csomagolóanyag eltávolítása után végeztem. Marhahús esetében a fólia eltávolítása előtt, a csomagolóanyagon keresztül is történt színmérés.



6. ábra: Minolta CR-200

4.3.5 Fehérjedenaturációs vizsgálatok

4.3.5.1 D.S.C.

A differenciális pásztázó kaloriméter olyan készülék, amely a hőáram regisztrálására alkalmas. A minta és a referenciaanyag térben el van különítve, és egyszerre, teljesen azonos hőmérsékletprogram szerint kerül felfűtésre. A berendezés a fűtéshez illetve hűtéshez

szükséges teljesítményt közvetlenül méri. Endoterm hőeffektus esetén a minta hőmérséklete elmarad a referenciaanyagéhoz képest. Ekkor a berendezés a folyamatban elhasznált hőmennyiséggel azonos mennyiségű hőenergiát bocsát a mintába. Ily módon a minta és az inert anyag között nem alakul ki hőmérséklet különbség. Exoterm reakció esetében a referenciaanyag fűtésével biztosítható a hőmérsékletek azonossága. A DSC berendezés által mért értékek adatrögzítését személyi számítógép végzi. A mérőprogram két funkciót végez: egyrészt elvégzi a mérés során az adatrögzítést, majd a következő fázisban az adatok értékelését. A DSC görbék kiértékelésekor az endo- és exoterm csúcshőmérsékletek, valamint a csúcsok alakja az anyag azonosítására, míg a görbe alatti területek nagysága mennyiségi értékelésre használható fel, amelyből az átalakulási hő számolható.

A kezeletlen és nyomáskezelt minták (darált marhahús, tojásfehérje) DSC analízisét egy „MicroDSC III” típusú mikrokaloriméteren (SETARAM, Franciaország) végeztük (7. ábra).



7. ábra: MicroDSC III.

A vizsgálati mintákból közelítőleg 750, ill. 900 mg mennyiségeket juttattunk a hermetikusan zárt rozsdamentes acél mintatartóba. A méréseket az 5-95 °C hőmérséklettartományban 1 °C / min fűtési sebességgel futtattuk. Referenciamintaként azonos mennyiségű desztillált vizet használtunk. A változások reverzibilitásának vizsgálata céljából az első felfűtés/visszahűtés ciklus után egy második felfűtést is alkalmaztunk, azonos paraméterek mellett

4.3.5.2 Elektroforézis

Izoelektromos fókuszálás poliakrilamid gélben

Az izoelektromos fókuszálás olyan elválasztási módszer, ahol elektromos erőtér hatására pH-gradiens alakul ki az elválasztási térben és ebben a pH-gradiensben választhatók el a minta komponensei izoelektromos pontjaik különbözősége alapján. Megfelelő töltet (pl. Ampholine) alkalmazásával a kapillárisban időben stabil, a negatív pólustól a pozitív pólus felé csökkenő pH gradiens alakul ki. A minta komponensei a pozitív, vagy a negatív pólus felé indulnak el és mindaddig vándorolnak a pH-gradiens mentén, míg a saját izoelektromos pontjuknak megfelelő pH értékű részt el nem érik és ott koncentrálnak (pontosított sávok) – mivel az izoelektromos pontban töltésük nincs – a vándorlást befejezik (Idei és Hajós, 2001).

A gél oldatot (485 mg akrilamid, 15 mg N,N-bisz-akrilamid, 4.4 g karbamid, 1.2 g 87%-os glicerol 10 ml-re feltöltve desztillált vízzel + 26 mg β -alanin, 550 μ l amfolit (Bio-Rad) pH 3-10, 550 μ l amfolit pH 5-7, 11 μ l 40%-os ammónium-perszulfát oldat, 11 μ l N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin) két egymástól 0,5 mm távolságra lévő üveglap közé öntöttük, és egy éjszakán át hűtőszekrényben tároltuk. A fehérjéket mintaoldó pufferben (5,7 g 87%-os glicerol, 24 g karbamid, 250 mg ditioeritritol 50 ml desztillált vízben) vettük fel, és 10 x 5 mm-es szűrőpapír csíkok segítségével 10-10 μ l-t vittünk fel a gélre. A gél két szélére, anód-oldattal (5%-os foszforsav oldat), illetve katód-oldattal (2%-os NaOH oldat) átitatott szűrőpapírcsíkot helyeztünk. Az elválasztást Pharmacia FBE-3000 típusú készüléken végeztük a 4. táblázatban leírt kondíciók mellett.

4. táblázat: A poliakrilamidgél izoelektromos fókuszálás kondíciói

lépés	idő (perc)	feszültség (V)	áramerősség (mA)	teljesítmény (W)	hőmérséklet (°C)
1	60	max. 2500	max. 15	konst. 4	10
2	60	max. 2500	konst. 5	max. 20	10

Kék festés: a fehérjéket 15 percig fixáltuk 15%-os triklórecetsav oldatban rázatva, majd színező oldatban (0,3 g Coomassie Brilliant Blue, 0,5g réz-szulfát pentahidrát 90 ml metanol, 20 ml jégcet, 90 ml desztillált víz) 15 percig festettük, majd színtelenítő oldattal (250 ml metanol + 100 ml jégcet + 650 ml desztillált víz) többször átöblítettük, amíg a háttér színtelenné vált.

4.3.6 Elektronikus orr vizsgálatok

A komplex illóanyag összetevők változásának nyomon követésére a vizsgálati anyagok fölötti térben AS-3320 „elektronikus orrot” használtunk (AppliedSensor, Svédország, 8. ábra).



8. ábra: AS-3320 elektronikus orr

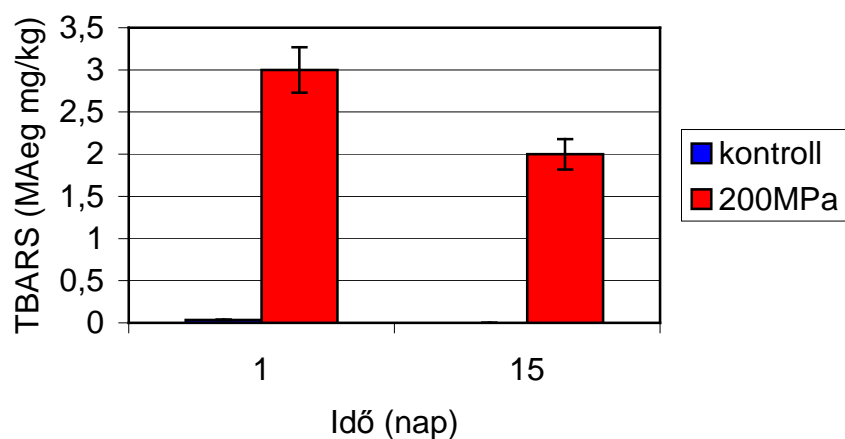
A berendezés referenciaként szűrt, nedvességtől mentesített levegővel dolgozik. A vizsgálandó mintákat üveg mintatartókba tettük, majd a berendezésbe helyeztük. Az elektronikus orr túli a lezárt minták feletti térbe hatolva a minták feletti levegőt az elektronikus orr szenzoraihoz pumpálják. A szenzorsor 23 egyedi szenzor elemet tartalmaz, melyeknek jeleit számítógép rögzíti, a feldolgozott jeleket pedig a statisztikai analízis készítéséhez használja fel. Az eredmények statisztikai értékelése SPSS9.0 verzióval történt. Az elektronikus orr működése és az alkalmazott statisztikai módszerek Seregély és munkatársai (2007) által részletesen publikáltak.

5. Eredmények

5.1. Szeparált pulykahús

5.1.1. TBA szám meghatározás

A másodlagos anyagcsere termékek meghatározása 2-tiobarbitursav teszttel történt. A kezeletlen és 200 MPa-on nyomáskezelt szeparált pulykahús minták eredményeit az 9. ábra mutatja. A feltüntetett értékek két-két párhuzamos meghatározás átlagából származnak.



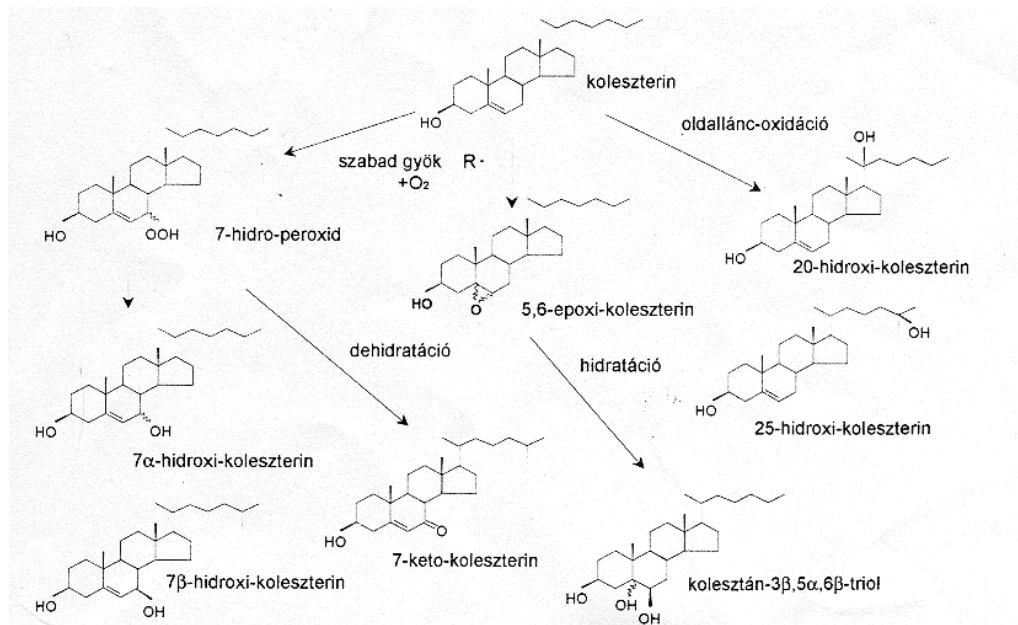
9. ábra: Kezeletlen és nyomáskezelt szeparált pulykahús minták TBA értékei kezelés után, valamint a 15 napos tárolási idő (4 °C) elteltével.

A vizsgált szeparált pulykahús az üzemből frissen érkezve, a várakozásoknak megfelelően alacsony TBA értéket (0,035 mg/kg) mutatott, amely a 15 napos 4°C hőmérsékleten való tárolás során sem változott. Ezzel ellentétben a nyomáskezelés jelentősen megnövelte a vizsgált minták TBA értékét. Ez az érték a 15 napos tárolás során mintegy 30 %-al csökkent, azt mutatva, hogy az oxidációs folyamatok továbbhaladtak, a másodlagos anyagcsere-termékekből további oxidációs vegyületek alakultak.

5.1.2. Koleszterin oxidációs származékok meghatározása

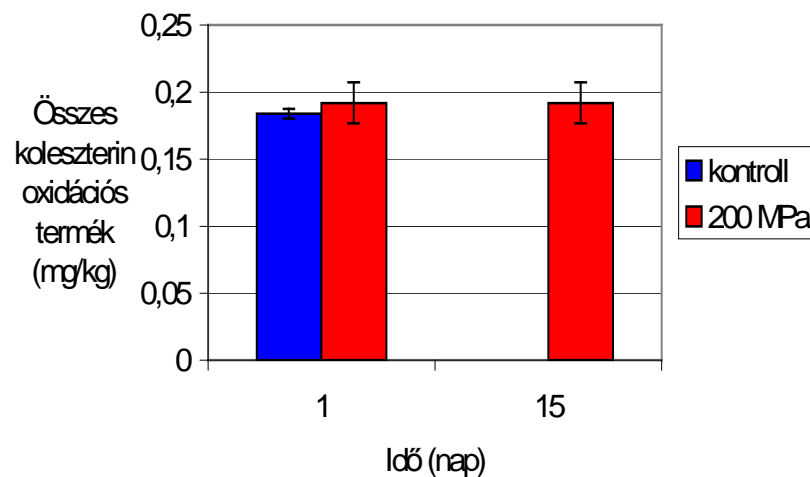
A koleszterin szteránvázas egyértékű alkohol, amely szabad formában vagy zsírsavakkal kötődve észter formában lehet jelen. Minden állati sejtnek alkotórésze. Az agyvelő és a többi idegszövet 10%-ban koleszterinből áll, ezen kívül alapanyaga a D-vitaminnak és a szteroid hormonoknak is. Az izomsejtekben a membránhoz kötődve, a zsírsejtekben a sejtállományban található. A koleszterin oxidációját számos tényező indíthatja el, így az azo- vegyületek, peroxidok, hidroperoxidok, átmeneti fémek ionjai és a gerjesztett állapotú molekuláris oxigénszármazékok jelenléte. A látható és ultraibolya fény hatására bekövetkező fotolízis, valamint az ionizáló sugárzás is szabadgyökök képződéséhez vezet. Az enzimátikus oxidációban az endogén metabolizmus során sokféle oxiszterin keletkezik (10. ábra). Ezek nyomnyi mennyiségben fordulnak elő a szövetekben. A kezdeti koleszterin-hidroperoxid képződését számos bomlástermék megjelenése követi, így egy sok összetevős oxiszterin elegy alakul ki. Eddig kb. 80 oxidatív terméket azonosítottak. A leggyakrabban előforduló oxidációs termékek a következők:

<u>Kémiai név</u>	<u>Triviális név</u>
5-koleszten-3 β ,7 α -diol	7 α -hidroxikoleszterin
5-koleszten-3 β ,7 β -diol	7 β -hidroxikoleszterin
5-koleszten-3 β -ol-7-on	7-ketokoleszterin
kolesztan-3 β ,5 α ,6 β -triol	kolesztan-triol
5-koleszten-3 β ,25 α -diol	25 α -hidroxikoleszterin
5-koleszten-3 β ,20 α -diol	20 α -hidroxikoleszterin
5,6 α -epoxi-5 α -kolesztan-3 β -ol	koleszterin-5 α ,6 α -epoxid
5,6 β -epoxi-5 β -kolesztan-3 β -ol	koleszterin-5 β ,6 β -epoxid
4-koleszten-3-on	3-ketokoleszterin



10.ábra: A leggyakoribb koleszterin oxidációs utak (Csapó, 1999)

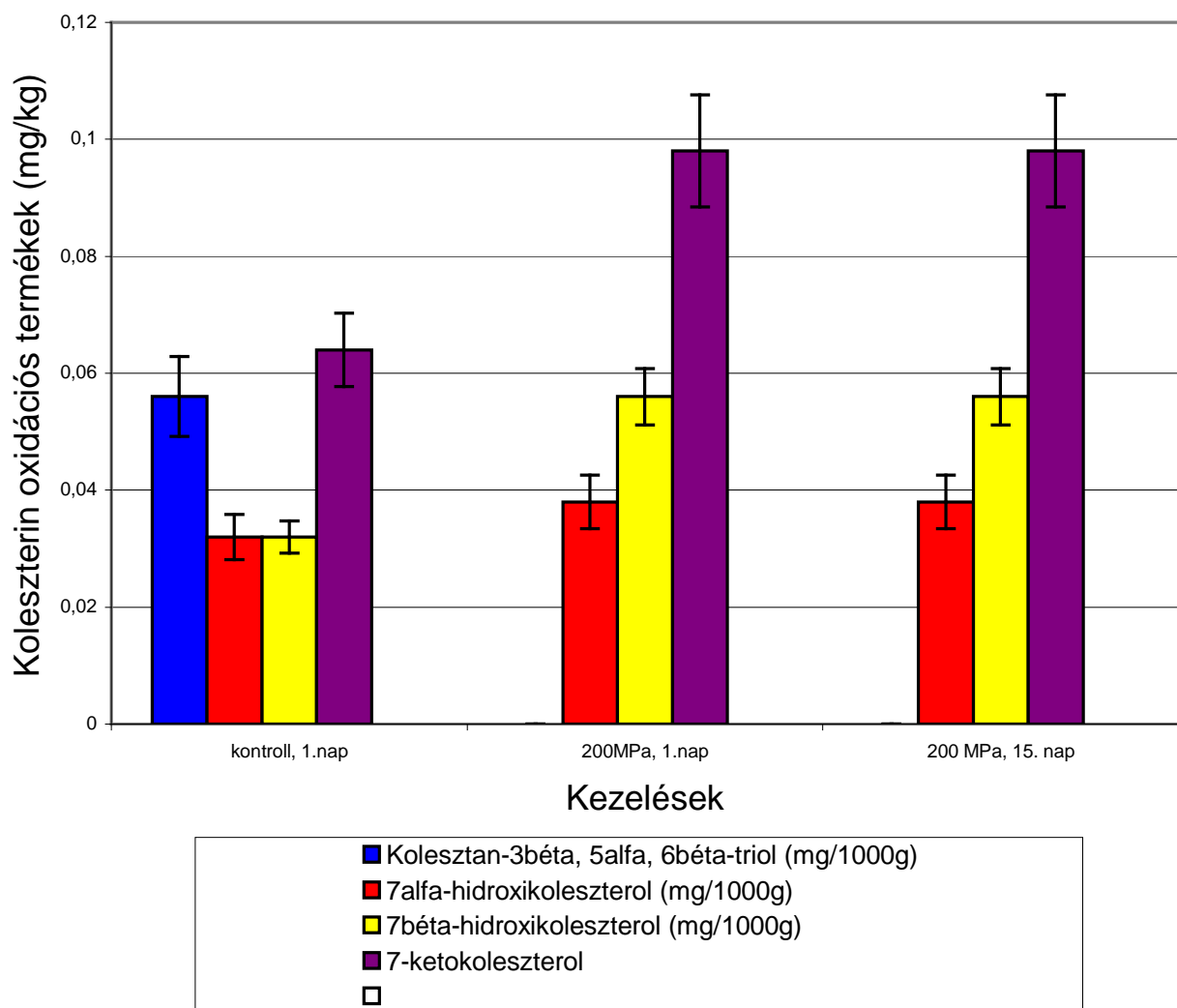
A vizsgált mintákban mért összes koleszterin oxidációs termék mennyiségét a 11. ábra mutatja. A kezeletlen minta esetén mért érték azt jelzi, hogy a pulykahús szeparátumba került alapanyagok és feltehetően a feldolgozás módja miatt a vizsgált anyagban viszonylag magas a kiindulási koleszterin oxidációs származékok mennyisége. A nyomáskezelés hatására a mintákban az összes oxiszterinek mennyisége kis mértékben növekedett, a 15 napos tárolás alatt további változás nem volt észlelhető.



11. ábra: Kezeletlen és nyomáskezelt szeparált pulykahús mintákban keletkezett összes koleszterin oxidációs termékek mennyisége kezelés után, valamint a 15 napos tárolási idő (4 °C) elteltével.

A kezeletlen minták esetén a 15 napos hűtve tárolás után az előrehaladott romlás miatt a vizsgálatot nem ismételtük meg. A feltüntetett értékek két-két párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

Az egyes keletkezett koleszterin oxidációs származékokat és azok mennyiségét a 12. ábra mutatja. A kezeletlen mintában a kiinduláskor 4 oxidációs termék volt meghatározható. A kolesztán-3 β ,5 α ,6 β -triol és a 7 α -hidroxikoleszterol közel azonos, míg a 7 α -hidroxikoleszterin és a 7 β -hidroxikoleszterin azonos mennyiségben volt kimutatható a szeparált pulykahús pépben.

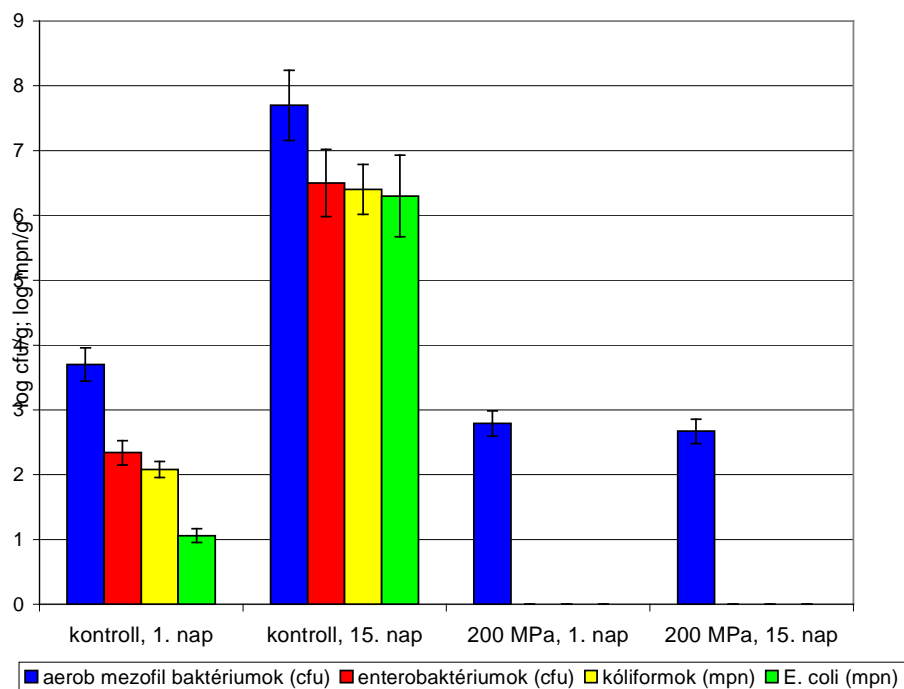


12.ábra: Koleszterin oxidációs származékok mennyiségi megoszlása kezeletlen és nyomáskezelt szeparált pulykahúsban.

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelést követően a kolesztán-3 β ,5 α ,6 β -triol nem volt kimutatható a mintában, míg a 7 β -hidroxikoleszterin és a 7-ketokoleszterol mennyisége megnövekedett. A 7-ketokoleszterin mennyisége nőtt a legnagyobb mértékben. A 15 napos tárolás után további változás nem volt tapasztalható. A feltüntetett értékek két-két párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

5.1.3. Mikrobiológiai vizsgálatok

A szeparált pulykahús esetén elvégzett mikrobiológiai vizsgálatok között helyt kapott az aerob mezofil baktériumok számának, az enterobaktériumok számának, a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb számának meghatározása. Az eredményeket a 13. ábra szemlélteti. A friss, kezeletlen szeparátum esetén $7 \cdot 10^3$ cfu/g aerob összcsíraszámot, $2 \cdot 10^2$ cfu/g enterobaktériumszámot számláltam, míg a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb száma 10^2 valamint 10^1 nagyságrendűnek bizonyult. A szeparátum mikrobiológiai állapota jónak volt mondható. A 15 napos 4 °C hőmérsékleten történő tárolást követően a vizsgált értékek a fenti sorrendben a következően alakultak: $7 \cdot 10^7$, $5 \cdot 10^6$, $4 \cdot 10^6$ és $3 \cdot 10^6$ cfu/g.



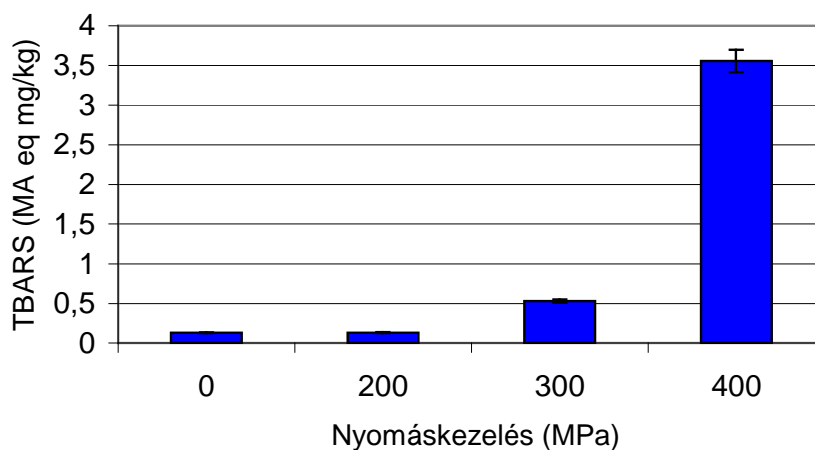
13. ábra: Kezeletlen és nyomáskezelt pulykahús pép mikrobiológiai állapotának változása.

A vizsgált mikrobacsoportok elszaporodtak, a minta megromlott. A 200 MPa nyomáskezelés hatására a szeparátum mikrobiológiai állapota jelentősen javult, az aerob mezofil mikrobaszám 1 nagyságrendnyi csökkenést mutatott, míg az enterobaktériumok, a kóliformok és az *E. coli* nem volt kimutatható a mintában. A nyomáskezelt pulykahús 15 napos hűtve tárolása után a mikrobiális állapotban nem tapasztaltam változást, az alacsony aerob összcsíraszám mellett az enterobaktériumok, a kóliformok és az *E. coli* száma továbbra is a kimutathatósági határérték alatt maradt. A feltüntetett értékek három-három párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

5.2. Csirkemáj

5.2.1. TBA szám meghatározás

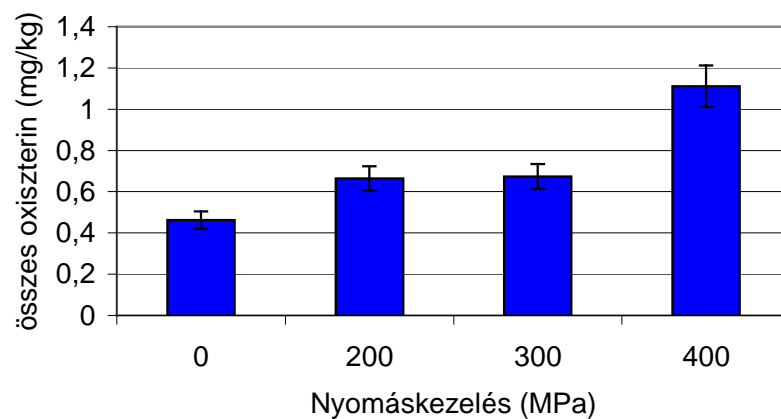
A friss csirkemájban 200 MPa, 300 MPa és 400 MPa nyomáskezelések hatására keletkező másodlagos lipidoxidációs termékek mérése TBA szám meghatározásával történt. Ennek eredményeit a 14. ábra mutatja. A kezeletlen friss csirkemáj TBA értéke 0,132 mg/1000 g. A 200 MPa nyomáskezelés a mért TBA érték alapján nem indukál másodlagos lipidoxidációs változásokat a májban. A nagy hidrosztatikus nyomás további növelésével azonban a TBA értékekben is növekedés mutatkozott. Míg a 300 MPa-os kezelés után mintegy 25%-os, addig a 400 MPa kezelés után közel 300 %-os TBA érték növekedés volt tapasztalható. A feltüntetett értékek két-két párhuzamos meghatározás átlagából származnak.



14. ábra: Csirkemáj TBA értékében bekövetkezett változások nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására.

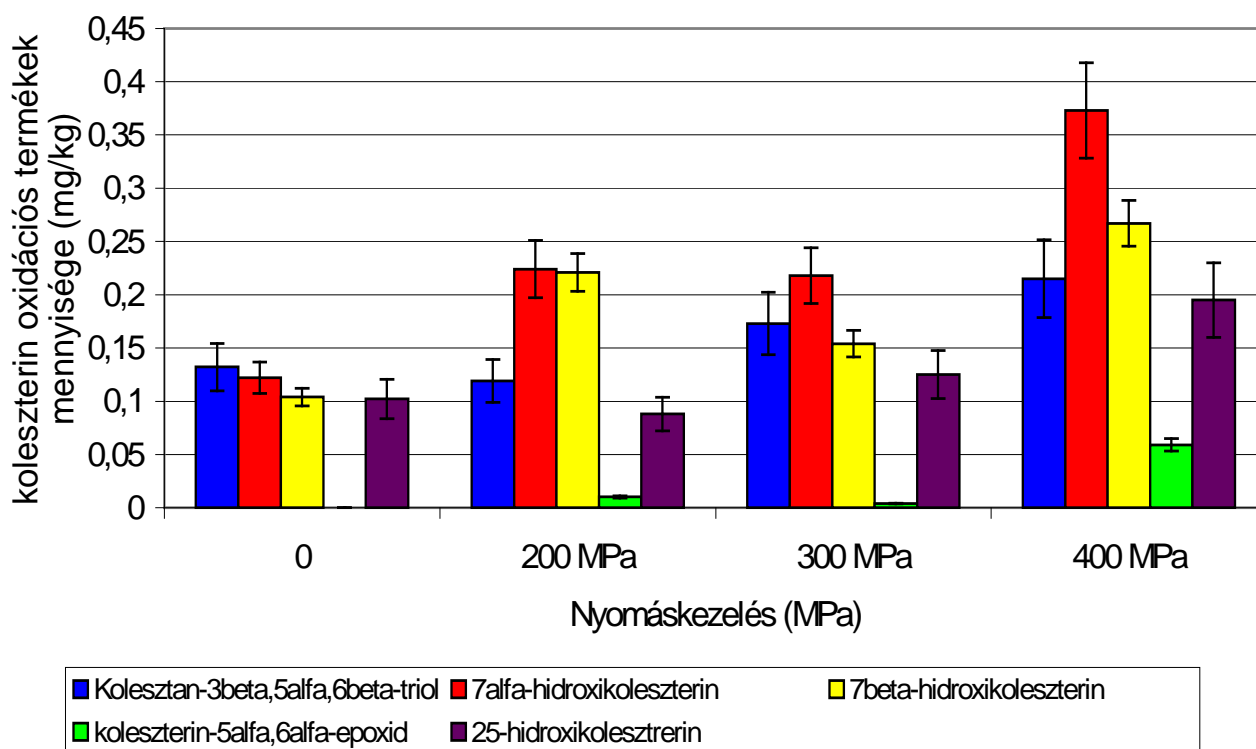
5.2.2. Koleszterin oxidációs származékok meghatározása

A csirkemájban a nagy hidrosztatikus kezelések hatására létrejött összes koleszterin oxidációs termékek mennyiségének alakulását a 15. ábra mutatja. A máj magas koleszterintartalmával magyarázhatóan, már a friss májban is jelentősebb mennyiségű (0,462 mg/kg) oxidációs terméket sikerült kimutatni, ami a nyomáskezelések hatására az ábrán jól látható módon növekedést mutatott. Míg a 200 MPa és 300 MPa kezelések hatására kisebb mértékben nőtt az oxiszterinek mennyisége, addig a 400 MPa kezelés hatására már két és félszeresére nőtt a koleszterin oxidációs termékek mennyisége a kezeletlen mintához képest. A feltüntetett értékek két-két párhuzamos meghatározás átlagából származnak.



15. ábra: Összes oxiszterin mennyiségének alakulása csirkemájban a nagy hidrosztatikus nyomáskezelések hatására.

Az egyes keletkezett koleszterin oxidációs származékokat és azok mennyiségét a 16. ábra mutatja. A feltüntetett értékek két-két párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

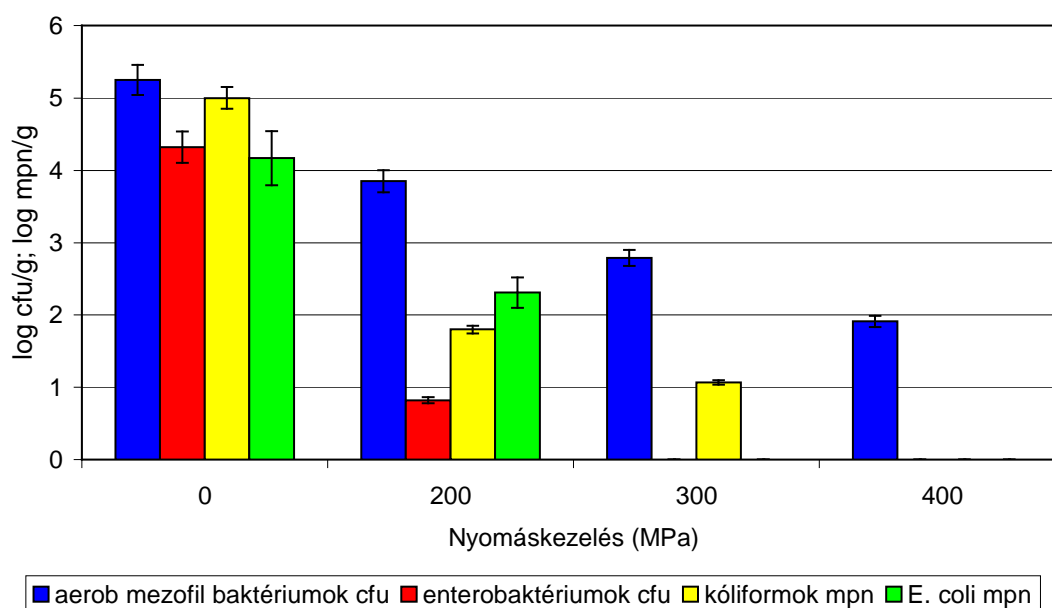


16.ábra: Koleszterin oxidációs származékok mennyiségi megoszlása kezeletlen és nyomáskezelt csirkemájban.

A friss csirkemájban 4 különböző oxiszterin volt kimutatható, közel azonos mennyiségben: a koleszتان-3β,5α,6β-triol, a 7α-hidroxiholeszterin, a 7β-hidroxiholeszterin, valamint a 25-hidroxiholeszterin. A 200 MPa nyomáskezelés hatására a koleszتان-3β,5α,6β-triol és a 25-hidroxiholeszterin mennyisége nem változott, míg a 7α-hidroxiholeszterin valamint a 7β-hidroxiholeszterin mennyisége a duplájára növekedett. További változást jelentett, hogy a 200 MPa-on kezelt mintákban megjelent egy további oxidációs termék, a koleszterin-5α, 6α-epoxid is. A 300 MPa-on kezelt mintákban további oxiszterin mennyiség növekedést nem tapasztaltam. A 400 MPa-on kezelt mintákban a kezeletlen mintákhoz képest minden detektálható oxiszterin mennyisége a többszörösére növekedett. A koleszتان-3β,5α,6β-triol és a 25-hidroxiholeszterin mennyisége a duplájára, míg a 7α-hidroxiholeszterin és a 7β-hidroxiholeszterin mennyisége közel háromszorosára növekedett a 400 MPa-os nyomáskezelés hatására. Itt is megjelent a koleszterin-5α, 6α-epoxid, melynek mennyisége az alacsonyabb nyomásokon kezelt mintákban mért mennyiségekéhez képest növekedést mutatott.

5.2.3. Mikrobiológiai vizsgálatok

A csirkemáj esetén elvégzett mikrobiológiai vizsgálatok között az aerob mezofil baktériumok számának, az enterobaktériumok számának, a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb számának meghatározását végeztem el. Az eredményeket a 17. ábra szemlélteti, melyről leolvasható, hogy a helyi piacról beszerzett friss csirkemáj mikrobiológiailag igen szennyezettnek bizonyult. A kezeletlen csirkemáj esetén $1,8 \cdot 10^5$ cfu/g aerob összcsíraszámot, $2 \cdot 10^4$ cfu/g enterobaktériumszámot számláltam, míg a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb száma $>3,5 \cdot 10^4$ cfu/g valamint $2 \cdot 10^4$ cfu/g nagyságrendűnek mutatkozott. A magas kiindulási mikrobaszámok a vizsgálatok során a hasznunkra váltak, hiszen a kezelések hatása ezekben az esetekben jól megmutatkozott. A 200 MPa-os nyomáskezelés hatása az enterobaktériumok számának csökkenésében látszott legszembeszökőbben. Ez esetben 3 nagyságrendnyi csökkenést tapasztaltam, míg a többi vizsgált mikrobacsoport esetén 2 nagyságrend körül alakult a mikrobaszám csökkenés. A 300 MPa-os nyomáskezelés az enterobaktériumok számát, valamint az *E. coli* legvalószínűbb számát a kimutathatósági határérték alá csökkentette, míg az aerob mezofil baktériumok, valamint a kóliformok számát 3-3 nagyságrenddel csökkentette. A 400 MPa-on kezelt csirkemájban számlált aerob mezofil baktériumok száma $8,3 \cdot 10^1$ cfu/g volt, ami a kezeletlen mintához képest közel 4 nagyságrendnyi csökkenést jelent. A 400 MPa kezelést követően a csirkemájban enterobaktériumok, kóliformok, és *E. coli* nem voltak detektálhatóak. A feltüntetett értékek három-három párhuzamos meghatározás átlagából származnak



17. ábra: Csirkemáj mikrobiológiai állapotának változása nyomáskezelés hatására.

5.2.4. Színmérés eredmények

A csirkemáj mintákban a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés szemmel látható színváltozást okozott, a pirosas-barnás máj kivilágosodott, kifakult. Ezen megfigyelés alátámasztására tristimulusos színmérést végeztünk, melynek eredményeit az 5. táblázat foglalja össze. A táblázat adataiból jól leolvasható, hogy a nyomáskezelt minták L* értéke minden esetben jelentős mértékben nőtt, vagyis a minták világosabbak lettek, kifakultak. Ugyanakkor az a* és b* értékek is kisebb mértékű növekedést mutattak, ami szerint a vizsgált minták színe a vöröses-sárgás tartományba tolódott, valószínűleg a pigmentek oxidációjának eredményeként. A nyomáskezelés nagysága az eredményt szignifikánsan nem befolyásolta, a mért adatok alapján elmondható, hogy mindhárom nagynyomásos kezelés (200MPa, 300 MPa, 400 MPa) azonos változásokat eredményezett a csirkemáj színében. A feltüntetett értékek nyolc- nyolc párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

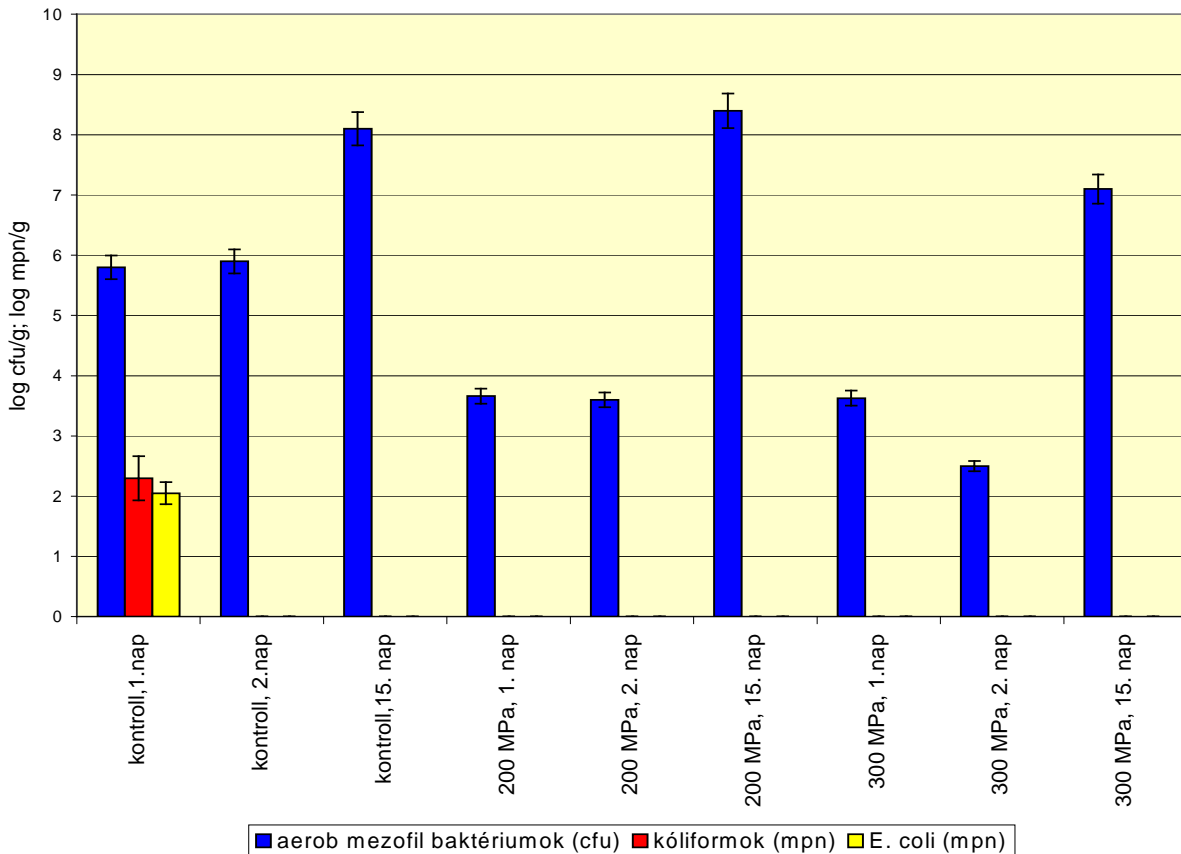
5. táblázat: Nyomáskezelt friss csirkemáj tristimulusos színmérés vizsgálati eredményei. L*: világossági tényező, a*: vörös színezet, b*: sárga színezet

	L*		a*		b*	
	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
Kontroll minta	32,94	2,46	15,92	1,98	3,79	1,44
200 MPa	41,17	3,36	21,46	1,63	7,11	1,63
300 MPa	41,24	3,35	21,38	1,05	5,76	1,37
400 MPa	45,28	1,75	21,83	1,02	7,9	1,00

5.3. Darált marhahús

5.3.1. Mikrobiológiai vizsgálatok

A piacról beszerzett friss marhahúst laboratóriumi darálón ledaráltuk, vákuumcsomagoltuk, majd 200 MPa és 300 MPa nyomáskezelésnek vetettük alá. A mintákat a kezelések után 15 napig 4 °C hőmérsékleten tároltuk, mikrobiológiai vizsgálatokat a kezeléseket követő első, második és tizenötödik napon végeztünk. A mikrobiológiai vizsgálatok az aerob mezofil baktériumok számának, valamint a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb számának meghatározását ölelték fel. Az eredményeket a 18. ábra szemlélteti, melyről leolvasható, hogy a darált marhahús esetén igen magas kiinduló mikrobaszámot találtunk. Az aerob mezofil baktériumok száma $8 \cdot 10^5$ cfu/g volt, míg a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb száma 10^2 cfu/g nagyságrendűnek bizonyult. A hűtvetárolás során a második napon az aerob mezofil baktériumok száma nem változott, míg a kóliformok és az *E. coli* nem voltak kimutathatóak a mintában. A tárolás végére az aerob mezofilok száma 2 nagyságrendnyi növekedést mutatott, a kóliformok és az *E. coli* száma továbbra is a kimutathatósági határérték alatt maradt. Közvetlenül a 200 MPa és 300 MPa nyomáskezelések után a mintákban az aerob mezofil baktériumok száma mindkét esetben 2-2 nagyságrenddel csökkent. A hűtve tárolás végére a nyomáskezelt minták mindegyikében ismét megnövekedett az aerob mezofil baktériumok száma. A 200 MPa-on kezelt minta esetében $4 \cdot 10^8$ cfu/g, míg a 300 MPa-on kezelt minta esetén $1 \cdot 10^7$ cfu/g volt az összcsíraszám a tárolás végén. Kóliformok illetve *E. coli* a nyomáskezelt minták egyikében sem voltak kimutathatóak, még a 15 napos tárolás végén sem. Mivel a tárolt minták felbontás után jellegzetes savas szaggal rendelkeztek, valamint annak ismeretében, hogy a vákuumcsomagolás elősegíti a tejsavbaktériumok elszaporodását, feltehető, hogy az összcsíraszám döntő többsége tejsavbaktérium. Mivel a kezeletlen mintákban 10^2 nagyságrendben jelen levő kóliform baktériumok sem a tárolt kezeletlen mintákban, sem a nyomáskezelt mintákban nem kimutathatóak, feltehető, hogy a tejsavbaktériumok által metabolizált antibakteriális anyagcseretermékekre mutatnak érzékenységet, hiányuk nem elsősorban a nyomáskezelés következménye. A feltüntetett értékek három-három párhuzamos meghatározás átlagából származnak.



18 ábra: Darált marhahús mikrobiológiai állapotának változása nyomáskezelés és hűtve tárolás (4 °C) hatására.

5.3.2. Színmérés eredmények

A nyomáskezelést követően a kezelt minták színe szemmel láthatólag megváltozott, a vörös színezet elhalványult, megfakult. A megfigyelés alátámasztására tristimulusos színmérést végeztünk, először a csomagolóanyagon keresztül, majd a csomagolóanyag eltávolítása után 30 perccel megismételtük a méréseket. A színmérési vizsgálatok eredményeit a 6. és 7. táblázat foglalja össze. A 15 napos tárolás után a csomagolóanyag eltávolítását követő színmérést az előrehaladott romlási folyamatok miatt nem végeztük el. A feltüntetett értékek hat-hat párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

6. táblázat: Nyomáskezelt darált marhahús tristimulusos színmérés vizsgálati eredményei, a csomagolóanyagokon keresztül mérve. L*: világossági tényező, a*: vörös színezet, b*: sárga színezet

Kezelések	L*		a*		b*	
	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
Kontroll minta	46,16	1,28	15,51	0,70	4,38	1,41
200 MPa	52,27	0,78	17,16	0,90	8,73	0,44
300 MPa	57,47	1,24	16,06	1,10	8,03	0,77
Kontroll minta 2 nap tárolás után (4 °C)	45,39	1,55	16,01	1,08	1,89	0,37
200 MPa 2 nap tárolás után (4 °C)	49,74	0,86	14,45	2,81	5,53	2,11
300 MPa 2 nap tárolás után (4 °C)	55,45	0,74	11,04	1,58	9,13	1,76
Kontroll minta 15 nap tárolás után (4 °C)	48,16	2,66	16,83	0,79	2,54	0,61
200 MPa 15 nap tárolás után (4 °C)	50,43	0,99	17,05	0,70	3,03	0,42
300 MPa 2 nap tárolás után (4 °C)	56,07	1,60	16,30	1,26	4,78	0,51

7. táblázat: Nyomáskezelt darált marhahús tristimulusos színmérés vizsgálati eredményei, a csomagolóanyag eltávolítása után 30 perccel mérve. L*: világossági tényező, a*: vörös színezet, b*: sárga színezet

Kezelések	L*		a*		b*	
	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
Kontroll minta	47,70	1,33	19,8	1,45	8,7	0,44
200 MPa	52,64	0,54	18,81	1,06	9,67	0,37
300 MPa	56,95	1,03	18,47	0,89	9,98	0,41
Kontrol minta 2 nap tárolás után (4 °C)	46,53	1,35	20,24	1,24	8,10	0,77
200 MPa 2 nap tárolás után (4 °C)	51,72	0,52	17,48	3,05	9,46	0,55
300 MPa 2 nap tárolás után (4 °C)	56,89	0,52	13,30	2,18	9,81	0,46

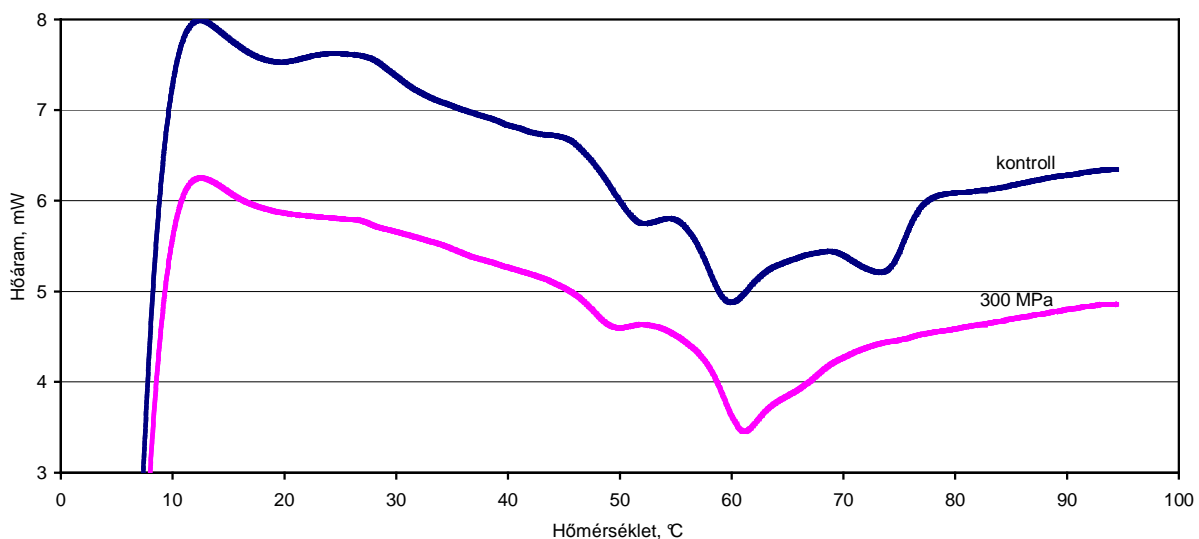
A nyomáskezelt minták világossági tényezői (L*) és a sárga színezete (b*) szignifikánsan nagyobbak bizonyultak a kezeletlen minta L* és b* értékeinél a tárolás egész ideje alatt. Ez alátámasztja a minták szabad szemmel is látható elhalványodását. A csomagolóanyag eltávolítása után az összes minta vörös és sárga színezete (a*, b*) szignifikáns növekedést mutatott, ami a pigmentek oxigénnel való találkozásának következményeként lépett fel.

5.3.3. DSC mérés eredménye

A kezeletlen és a 300 MPa nyomáson kezelt darált marhahús minták DSC termogramjai endoterm átalakulásokat mutatnak, amely egyrészt a lipid frakció felolvadásával (10-40 °C), másrészt a fő fehérje frakció denaturációjával (40-85 °C) hozható összefüggésbe.

A kezeletlen minta termogramján az első csúcs 45-55 °C között mutatkozik, amely a miozin hődenaturációját jelzi. A következő csúcs 55-68 °C között figyelhető meg, ezen a hőmérsékleten denaturálódnak a kötőszöveti fehérjék (pl. kollagén), a szarkoplazmikus fehérjék, valamint a mioglobin. A 68-78 °C között jelentkező csúcs az aktin denaturációját jelenti. A nagynyomásos kezelés lényeges változásokat okozott a marhahús DSC termogramján. A miozin denaturációját jelző csúcs lényegesen kisebb, valamint néhány fokkal alacsonyabb hőmérsékleten jelentkezik, mint a kezeletlen minta esetén. Az aktin denaturációjához a kezeletlen mintánál a 68-78 °C tartományba eső csúcs szinte teljesen eltűnik a nyomáskezelt minta termogramján. A mioglobin, kötőszöveti fehérjék és szarkoplazma fehérjék denaturációja által jelzett csúcs a kezeletlen mintáéhoz képest megnövekszik és néhány fokkal magasabb hőmérséklet tartományba tolódik, ami azt jelzi, hogy a fehérjék e csoportjába tartozó komponensek állnak ellen leginkább a nagy hidrosztatikus nyomás hatásának (19. ábra).

A visszahűtött mintákkal végzett második felfűtés során egy csúcs sem mutatkozott a fehérje denaturációs tartományban, tehát a megfigyelt endoterm átalakulások irreverzibilis folyamatoknak bizonyultak.

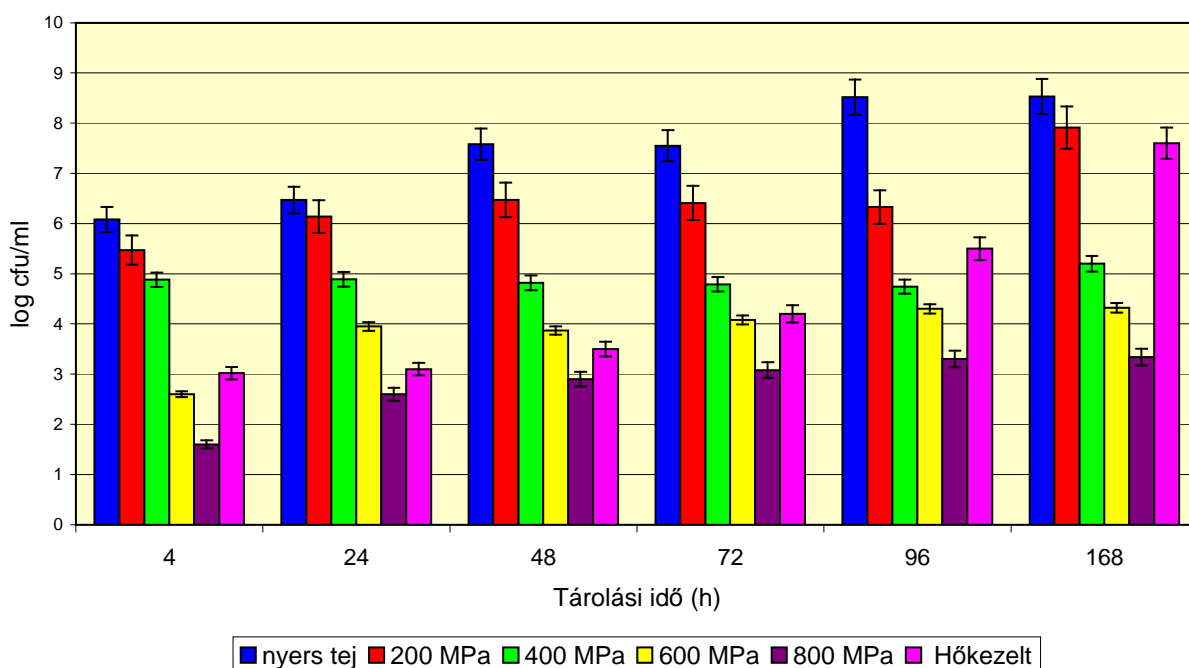


19. ábra: Kezeletlen és nyomáskezelt darált marhahús DSC termogramja.

5.4. Nyers tej

5.4.1. Mikrobiológiai vizsgálatok

A termelőtől beszerzett friss, nyers tejet 200 MPa, 400 MPa, 600 MPa és 800 MPa 5 percig tartó nyomáskezeléseknek vetettük alá. A hagyományos hőkezeléssel való jobb összehasonlíthatóság érdekében hőkezelt mintát is készítettünk, amelyet 76 °C hőmérsékleten 5 percig pasztőröztünk. A kezeléseket követően a mintákat 1 hétig hűtve tároltuk 4 °C hőmérsékleten. A mikrobiológiai vizsgálat során a mintákban az összes aerob mezofil baktériumok számát határoztuk meg. A vizsgálatok eredményeit a 20. ábra mutatja. A nyers tej kiinduló csíraszama közel 10^6 nagyságrendű volt, a kezelések hatása jól megmutatkozott. A nyomáskezelés közvetlen hatásaként 200 MPa esetén nem mutatkozott szignifikáns mikrobaszám csökkenés, 400 MPa, 600 MPa, 800 MPa esetén már 1.2, 3.4, illetve 4.4 nagyságrendnyi csökkenést tapasztaltunk. A hőkezelt mintában az összcsíraszám 3 nagyságrendet csökkent, aminél a kiinduláskor a 600 MPa és a 800 MPa nyomáskezelés jobbnak bizonyult. A tárolás során az aerob mezofilok számának növekedése minden minta esetén megfigyelhető volt, ám a 400 MPa, 600 MPa, és 800 MPa nyomáson kezelt minták eltarthatósága a hőkezelt mintánál jobbnak bizonyult. A feltüntetett értékek három-három párhuzamos meghatározás átlagából származnak.



20. ábra: Aerob mezofil baktériumok számának alakulása kezeletlen, hőkezelt és nyomáskezelt tej mintákban, 1 hét hűtve tárolás során.

5.4.2. Színmérés eredmények

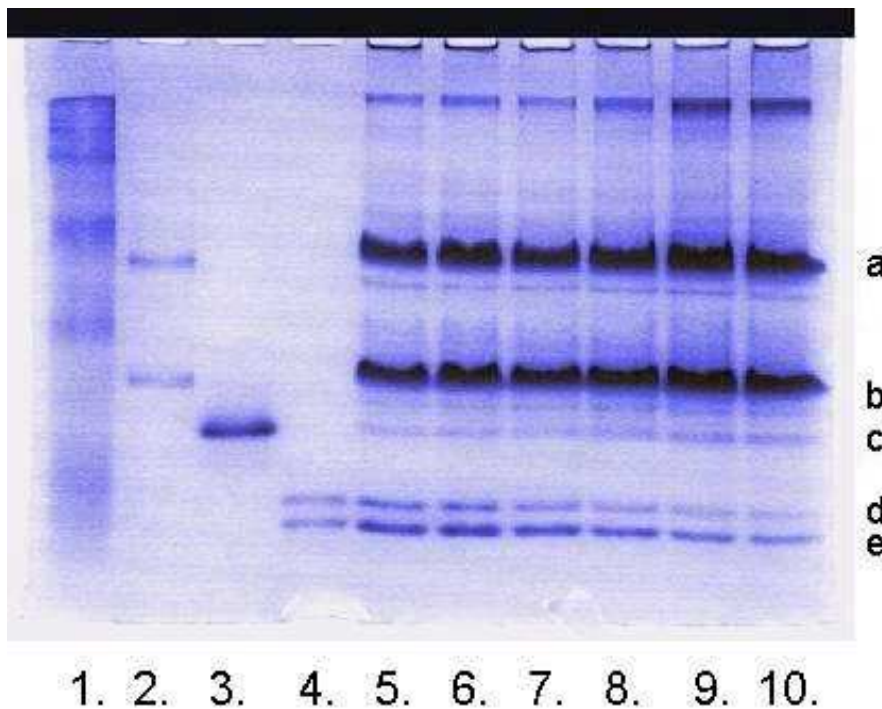
A tej minták színmérési eredményeit a 8. táblázat tartalmazza. A nyomás növelésével az L* és b* értékek esetén kis mértékű csökkenés, míg az a* érték esetén enyhe növekedés volt megfigyelhető. Statisztikailag kimutatható szignifikáns különbség a nyerstej és a nyomáskezelt minták, a nyerstej és a hőkezelt minta, valamint a nyomáskezelt minták és a hőkezelt minta szín paramétereit között mutatkozott. A nyomás növelésével csak a két szélső nyomásértékkel (200 MPa, 800 MPa) kezelt minta színparamétereit között lehetett szignifikáns eltérést kimutatni. A feltüntetett értékek hat-hat párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

8. táblázat: Nyomáskezelt, kezeletlen és pasztörözött tehéntej tristimulusos színmérés vizsgálati eredményei. L*: világossági tényező, a*: vörös-zöld színezet, b*: sárga színezet

Kezelések	L*		a*		b*	
	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
Nyers tej	86,08	2,67	-1,17	0,18	7,7	0,14
200 MPa	79,05	1,20	-0,57	0,18	6,49	0,04
400 MPa	78,67	1,58	-0,27	0,09	6,41	0,15
600 MPa	74,39	1,34	-0,18	0,14	6,33	0,33
800 MPa	70,2	1,91	-0,19	0,04	6,17	0,19
76 °C	80,4	1,42	-0,76	0,102	7,38	0,59

5.4.3. Elektroforézises vizsgálat eredménye

Mivel a nyomáskezelt tejminták fehérje denaturációs vizsgálataihoz elsődlegesen felvett DSC termogram nem mutatott kiértékelhető eredményt, ezért ebben az esetben poliakrilamid gél elektroforézises eljárást alkalmaztunk. Ennél az eljárásnál a tej fehérje frakciói a molekulatömegük szerint válnak szét (21. ábra). Jelen vizsgálat során a pasztőrözött tejminta elektroforetikus mintázata közel azonosnak mutatkozott a 200 MPa és 400 MPa nyomásértékeken kezelt mintákéval. A kazein és az α -laktalbumin tartalom a nyomás növelésével is változatlan maradt. A gél tetején a nagy hidrosztatikus nyomás növelésével egyre vastagabb sáv jelent meg, jelezvén, hogy olyan fehérje aggregátumok keletkeztek, amelyek méretüknél fogva, nem voltak képesek belépni a gélbe. A nyomásra legérzékenyebb frakciónak a β -laktoglobulin két izomerje bizonyult. A β -laktoglobulin sávjának intenzitása a nyomás növelésével egyre csökkent, a β -laktoglobulin A denaturálódott először.



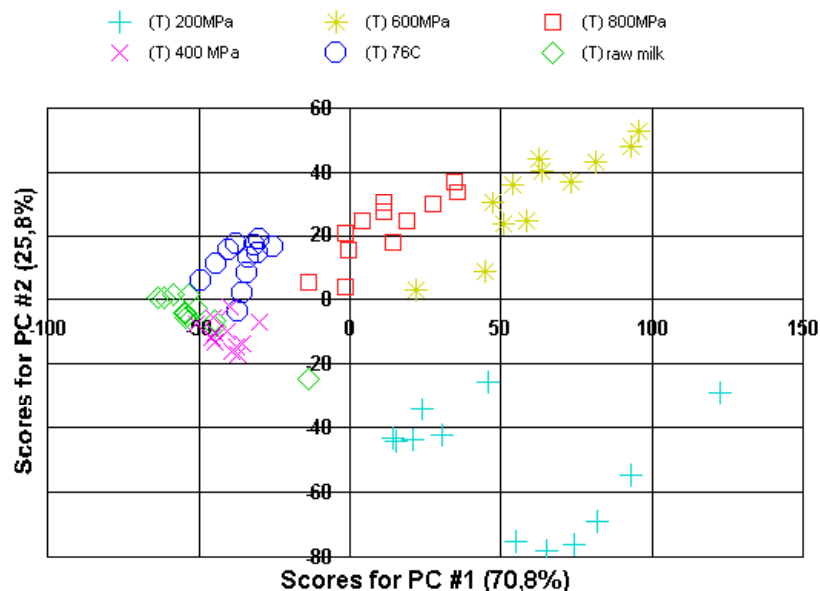
21. ábra: Nyomáskezelt tejminták fehérje frakciói

1. LMW standard, 2. kazein, 3. α -laktalbumin, 4. β -laktoglobulin, 5. nyers tej, 6. pasztőrözött tej, 7. 200 MPa, 8. 400 MPa, 9. 600 MPa, 10. 800 MPa;

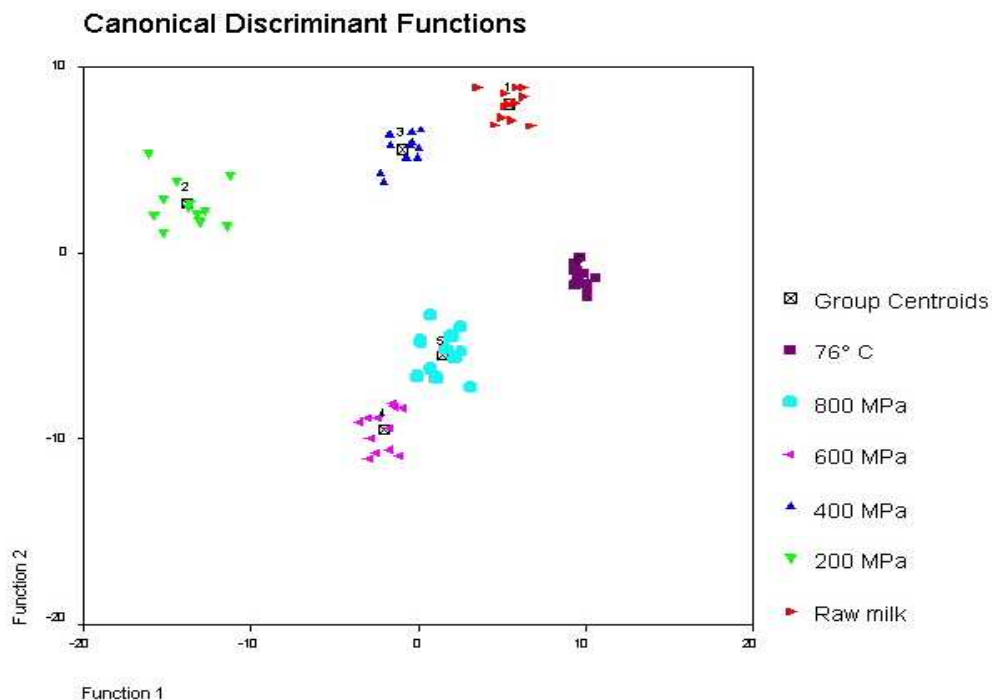
a, b – kazein, c - α -laktalbumin, d, e - β -laktoglobulin A és B

5.4.4. Elektronikus orr vizsgálatok

A tejmintákban a különböző nyomáskezelések valamint a hőkezelés által okozott komplex illóanyag összetevők változásának nyomon követésére elektronikus orrot használtunk. A szenzorsor által érzékelt, majd feldolgozott jelekből a statisztikai analízis során főkomponens analízist végeztünk. A tejminták minőségpontjai az első és második fő illóanyag komponensek vetületében ábrázolva a 22. ábrán láthatóak. Jól megfigyelhető, hogy amíg a nyerstej, hőkezelt tej és a 400 MPa nyomáson kezelt tej minőségpontjai között átfedés van, addig a 200 MPa, 600 MPa, és 800 MPa nyomáson kezelt minták minőségpontjai igen szétszóródottan mutatkoznak. A jobb kiértékelhetőség kedvéért diszkriminancia analízist is végeztünk az adatsorokon, melynek eredményét a 23. ábra szemlélteti. A diszkriminancia analízis segítségével láthatóan jól elkülöníthetőnek és megkülönböztethetőnek bizonyultak az egyes minták az illóanyag komponenseik alapján. A kereszt-validációs táblázatból (9. táblázat) leolvasható, hogy a vizsgált mintákból mindössze egy esetben történt hibás besorolás, egy 600 MPa nyomáskezeléshez tartozó értéket sorolt a 800 MPa nyomáskezeléshez tartozó értékek közé. Összességében az elektronikus orr által mért értékeket a megfelelő statisztikai módszerrel értékelve a nyomáskezelés hatásai jól elkülöníthetőnek bizonyultak az illóanyag komponensekben bekövetkezett változások alapján.



22. ábra: A vizsgált tejminták minőségpontjainak elhelyezkedése főkomponens analízis által meghatározva, az első két komponens vetületében ábrázolva



23. ábra: A vizsgált minták minőségpontjainak diszkriminancia analízis alkalmazásával meghatározott helyzete.

Classification Results^{b,c}

		Predicted Group Membership						Total	
		raw milk	200 MPa	400 MPa	600 MPa	800 MPa	76°C		
Original	Count	raw milk	12	0	0	0	0	0	12
		200 MPa	0	12	0	0	0	0	12
		400 MPa	0	0	12	0	0	0	12
		600MPa	0	0	0	12	0	0	12
		800 MPa	0	0	0	0	12	0	12
		76°C	0	0	0	0	0	12	12
	%	raw milk	100.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
		200 MPa	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	100.0
		400 MPa	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	100.0
		600MPa	.0	.0	.0	100.0	.0	.0	100.0
		800 MPa	.0	.0	.0	.0	100.0	.0	100.0
		76°C	.0	.0	.0	.0	.0	100.0	100.0
Cross-validated ^a	Count	raw milk	12	0	0	0	0	0	12
		200 MPa	0	12	0	0	0	0	12
		400 MPa	0	0	12	0	0	0	12
		600MPa	0	0	0	11	1	0	12
		800 MPa	0	0	0	0	12	0	12
		76°C	0	0	0	0	0	12	12
	%	raw milk	100.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
		200 MPa	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	100.0
		400 MPa	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	100.0
		600MPa	.0	.0	.0	91.7	8.3	.0	100.0
		800 MPa	.0	.0	.0	.0	100.0	.0	100.0
		76°C	.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. 98.6% of cross-validated grouped cases correctly classified.

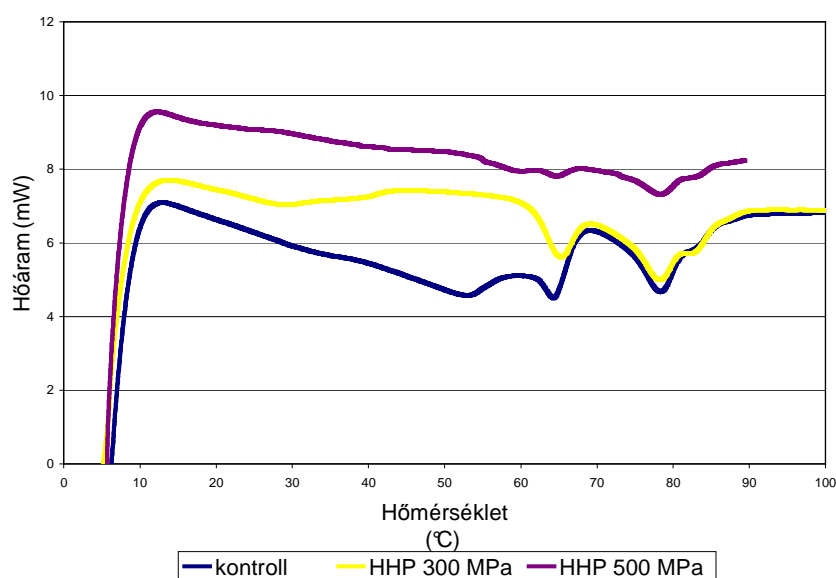
9. táblázat: A tejminták megkülönböztetésének eredményei, a kereszt-validálási táblázat.

5.5. Tyúktojás

A nagy hidrosztatikus nyomás tyúktojás fiziko-kémiai tulajdonságaira tett hatásának vizsgálatai nagyobb témakört öleltek fel. A témában számos kutató dolgozott, több publikáció is született (Farkas et al., 2005; Andrassy et al., 2006; Seregély et al., 2006; Dalmadi et al., 2007c). A sokrétű vizsgálatok közül ezen a helyen két vizsgálat eredményét tenném közzé, a tyúktojás nagynyomásos kezelésével kapcsolatos többi releváns információ megtalálható a fenti publikációkban.

5.5.1. DSC mérés eredménye

Tojásfehérje esetén a kezeletlen, valamint a 300 MPa és 500 MPa nyomásértékeken kezelt minták DSC termogramját vettük fel, amely a 24. ábrán látható. A kezeletlen tojásfehérje esetén két jellegzetes csúcs figyelhető meg, 65 °C-nál a konalbumin, 78 °C-nál az ovalbumin denaturációja játszódik le. A 300 MPa nyomáskezelést követően a 65 °C-nál látható csúcs mértéke jelentősen csökken, ami azt jelzi, hogy a nagy hidrosztatikus nyomás hatására nem termikus fehérje denaturáció zajlott le a tojásfehérjében. Ez a hatás a DSC termogram tanúsága szerint az ovalbumint nem érintette, hiszen a kezeletlen és a 300 MPa-on kezelt mintáknál jelentkező csúcs gyakorlatilag egybe esik. Az 500 MPa-os nyomáskezelés drasztikus változásokat okozott a tojásfehérjében.



24. ábra: Kezeletlen és nyomáskezelt tojásfehérje DSC termogramja

Szemmel látható fehérje denaturáció ment végbe, a nyomáskezelt tojásfehérje a főtt tojással vált hasonlatossá. A DSC vizsgálatok megerősítették a tapasztaltakat, az 500 MPa-on kezelt minta termogramja szinte teljesen ellaposodott, a konalbumin csúcsa gyakorlatilag nem észlelhető, 78 °C-on az ovalbumin még minimális denaturációt mutat.

5.5.2. Színmérés eredmények

A 300 MPa, 400 MPa és 500 MPa nyomásértékeken kezelt tojásfehérjék esetén elvégzett tristimulusos színmérés eredményeit a 10. táblázat, a tojássárgák esetén mért adatokat a 11. táblázat tartalmazza. A DSC vizsgálat során kimutatott fehérje denaturáció a színmérési adatokban is megmutatkozott. A nyomáskezelt tojásfehérjék vizsgálata során az L* érték 300 MPa esetén szignifikánsan nem változott, ám a 400 MPa és 500 MPa-os kezelések után nagymértékű növekedést mutatott. A 300 MPa-on kezelt minta a* értéke a kezeletlenhez képest kis mértékben növekedett, magasabb nyomásoknál a kontrollhoz képest alacsonyabb értéket mutatott, a zöldes színezet tartományába mozdult el. A tojásfehérje minták sárga színezete (b*) nyomáskezelésre minden esetben jelentős csökkenést mutatott, de tendencia nem volt kimutatható. A 300 MPa és 400 MPa-on nyomáskezelt tojássárga minták mindhárom színparamétere szignifikáns csökkenést mutatott a kezeletlen mintához képest. A feltüntetett értékek hat-hat párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

10. táblázat: Nyomáskezelt tojásfehérje tristimulusos színmérés vizsgálati eredményei.

L*: világossági tényező, a*: vörös-zöld színezet, b*: sárga színezet

Kezelések	L*		a*		b*	
	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
Kontroll minta	37,7	0,33	-2,55	0,09	17,41	0,26
300 MPa	35,24	0,28	-1,48	0,18	3,25	0,74
400 MPa	49,53	0,47	-4,43	0,06	0,50	0,09
500 MPa	72,16	1,18	-4,06	0,34	7,12	1,32

11. táblázat: Nyomáskezelt tojássárga tristimulusos színmérés vizsgálati eredményei.

L*: világossági tényező, a*: vörös színezet, b*: sárga színezet

Kezelések	L*		a*		b*	
	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
Kontroll minta	52,54	0,10	5,42	0,05	53,7	0,37
300 MPa	43,2	0,54	2,47	0,35	38,48	0,46
400 MPa	46,3	0,52	2,81	0,39	42,17	0,50
500 MPa	53,16	0,44	4,15	0,26	43,24	0,79

5.6. Szamóca, és az ezzel kapcsolatos, *Enterococcus faecalis*-szal, mint szennyező mikroorganizmussal végzett vizsgálatok

Korábbi kísérleti eredményeim azt mutatták, hogy a beoltáshoz választott szamócában található mezofil aerob mikrobák száma 10^2 cfu/g nagyságrendű, a beoltott *Enterococcus faecalis* kultúrát (10^8 cfu/g) nem befolyásolta. További megelőző vizsgálatok azt mutatták, hogy a friss szamócába oltott *Enterococcus faecalis* a savas közeg ellenére (pH 3.6) kevesebb, mint 1 nagyságrendnyi csökkenést mutatott 2 napos 4 °C hőmérsékleten történt tárolás után.

A szamócát a vizsgálatok megkezdése előtt számos, különböző paraméterű nyomásesztnek vettem alá, melyek során megmutatkozott, hogy a rövid ideig tartó (5 perc) nyomáskezelésre a friss, egész szamócaszem jól reagált, még 600 MPa-os kezelés után is megtartotta a kellemes érzékszervi tulajdonságait (szín, illat, íz), bár az állományban a magas levegőtartalom miatt változás mutatkozott.

A friss, egész szamócaszemek *Enterococcus faecalis*-szal való beoltása után a mintákat 400 és 600 MPa értékeken 5 percig kezeltem szobahőmérsékleten. Mindkét kezelés sikeresnek bizonyult, 5-6 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenés mutatkozott mindhárom alkalmazott táptalajon. A nyomáskezelés után a mintákat további 24 illetve 48 órán át 4 °C hőmérsékleten tároltam, a vizsgálatokat megismételtem, de egyik esetben sem tapasztaltam újbóli

mikrobanövekedést (12. táblázat). A feltüntetett értékek két-két párhuzamos meghatározás átlagából származnak.

12.táblázat: Nyomáskezelés hatása *Enterococcus faecalis* cfu számának alakulására beoltott számócában, különböző táptalajokon tenyésztve a kezelést követő 1, 24 és 48 órával.

	kontroll (cfu/g számóca)	400 MPa (cfu/g számóca)	600 MPa (cfu/g számóca)
Nyomáskezelés után 1 órával			
MRS	1.8×10^7	$<10^1$	$<10^1$
MRS +5% NaCl	1.2×10^7	$<10^1$	$<10^1$
Nyomáskezelés után 24 órával			
MRS	3.9×10^6	$<10^1$	$<10^1$
MRS +5% NaCl	2.7×10^6	$<10^1$	$<10^1$
Nyomáskezelés után 48 órával			
MRS	2.4×10^6	$<10^1$	$<10^1$
MRS +5% NaCl	1.4×10^6	$<10^1$	$<10^1$

Az *Enterococcus faecalis* kultúrát három különböző hőmérsékleten nyomáskezelttem.

Szobahőmérsékleten a mintákat 100-600 MPa, 5 perces nyomáskezeléseknek vetettem alá. Eredményeim azt mutatták, hogy közvetlenül a kezelés után semleges körülmények között, pH 7.2 értéknél (25. ábra) 500 MPa nyomásértékig nem történt szignifikáns mikrobaszám csökkenés. A 600 MPa-on kezelt minta esetében 4 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenést tapasztaltam, ami a tárolás során kisebb mértékű volt. (25.A. ábra) Az oxyrase enzimmel kevert, anaerob körülményeket biztosító táptalajon 500 MPa-ig szintén nem mutatkozott szignifikáns változás. A 600 MPa-on nyomáskezelt minta esetén az aerob körülményekhez képest némileg magasabb mikrobaszaporodást tapasztaltam minden vizsgált időpontban (25.B. ábra). Az 5 % NaCl tartalmú táptalajon a mikrobaszaporodás arról tanúskodott, hogy 300 MPa nagyságú nyomáskezelés felett az *Enterococcus faecalis* sejtek szubletálisan sérültek. Közvetlenül a kezelés után a 400 és 500 MPa-on kezelt mintákban 2 illetve 3 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenés mutatkozott, míg a 600 MPa-on kezelt mintákban minden túlélő sejt sérült volt. A tárolás során a sérült sejtek aránya csökkent. A 600 MPa-on kezelt minta esetén ez a csökkenés 4-5 nagyságrendnyi volt a 48 órás tárolás során (25.C. ábra). Ez az eredmény azt sugallja, hogy a nyomáskezelés után a mikrobasejtekben valamilyen javító mechanizmus lép működésbe, csökkentvén a sérült sejtek számát.

A savas környezetben (pH 4.5) nyomáskezelt minták (26. ábra) esetén 100-300 MPa között mikrobaszám csökkenés nem volt tapasztalható a kísérlet teljes időtartama alatt. Közvetlenül a kezelés után a 400 MPa nyomáskezeléssel 3 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenést

sikerült elérni. Ezekben a mintákban a tárolás során további csökkenés mutatkozott, és a 48 óra elteltével elérte a 7 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenést. Az 500 és 600 MPa-os kezelések 6 illetve 7 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenést eredményeztek, a tárolási idő végén e mintákban nem volt kimutatható élő mikrobacejt (26.A. ábra). Szubletálisan sérült sejtek 300 MPa-os értékig csak kis mértékben mutatkoztak ($<10^1$), 300 MPa fölött azonban minden túlélő sejt sérültnek bizonyult, és a tárolási idő végéig ebben az állapotban is maradt (26.C. ábra). A feltételezett javító mechanizmus, amely semleges pH esetén működött, az alacsony pH érték mellett valószínűleg gátolva lehetett.

A következőekben a mintákat 4 °C hőmérsékleten kezeltem, a többi kezelési paraméter változatlan maradt.

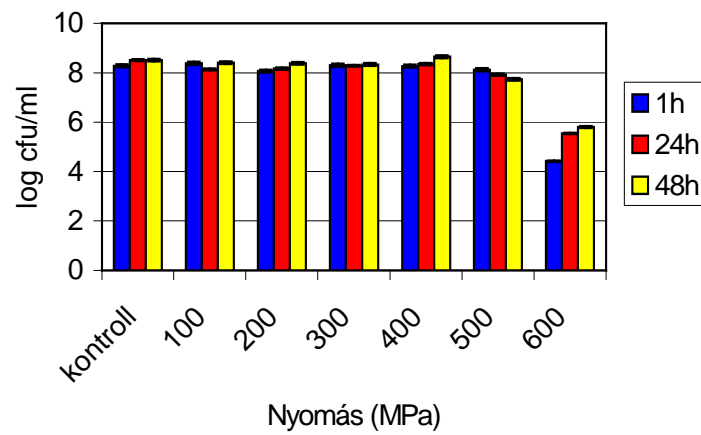
Semleges pH értéknél (pH 7.2) (27. ábra) az eredmények nem sokban különböztek a szobahőmérsékleten kezelt minták esetében mutatkozó eredményektől, 500 MPa-ig nem történt szignifikáns mikrobaszám csökkenés. A 600 MPa-os minta esetén még egy kicsivel jobb mikroba felépülés is mutatkozott, így a tárolási idő végére csupán 2 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenés volt tapasztalható. A tárolási idő alatt majdnem minden sérült sejt képes volt felépülni.

Savas környezetben (pH 4.5) az eredmények (28. ábra) lényegesen eltérnek a szobahőmérsékleten kezelt minták eredményeitől. A 400 MPa-on kezelt minta esetén közvetlenül a kezelés után nem tapasztalható mikrobaszám csökkenés, a tárolási idő végén 3 nagyságrendnyi csökkenés volt megfigyelhető, ami jelentősen kevesebb a szobahőmérsékleten kezelt minták esetében mutatkozó értéknél (28.A. ábra). A szubletálisan sérült sejtek számában is különbségek mutatkoztak. A 48 órás tárolás elteltével a 300 MPa-on kezelt mintákban levő mikrobacejtek is szubletálisan sérültek voltak, ami a szobahőmérsékletű mintáknál tapasztaltakhoz képest pozitív változás. Ellenben a rövidebb idejű tárolás során még 600 MPa-on kezelt mintákban is kimutathatóak életképes sejtek (28.C. ábra). Az anaerob táptalajt vizsgálva is mutatkozott 1-2 nagyságrendnyi felépülés a tárolás teljes ideje alatt (28.B. ábra).

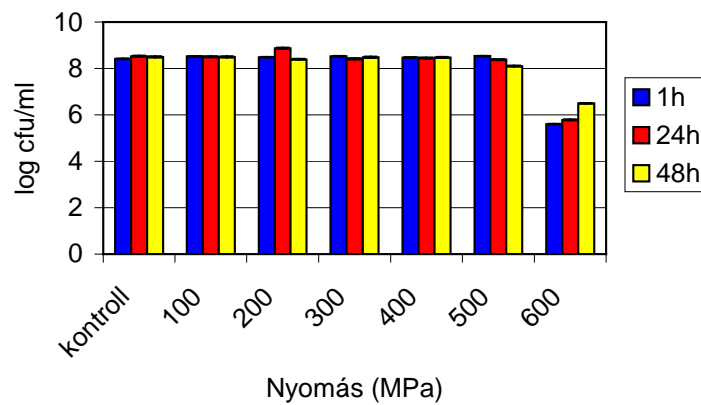
A -20 °C-on kezelt mintákat szintén 100-600 MPa, 5 perces nyomáskezelésnek vettem alá, felolvasztva közvetlenül a mikrobiológiai vizsgálatok előtt lettek. Ezt a vizsgálatot csak savas körülmények között végeztem el (pH 4.5), a mikrobatenyésztéshez csak sima MRS táptalajt használtam. A fagyasztott minták nem mutattak szignifikáns mikrobaszám csökkenést, a 600 MPa kezelés után is csak 1 nagyságrendnyi csökkenés volt kimutatható (29. ábra).

A kimutathatósági határérték minden vizsgált esetben $1 \cdot 10^1$ volt.

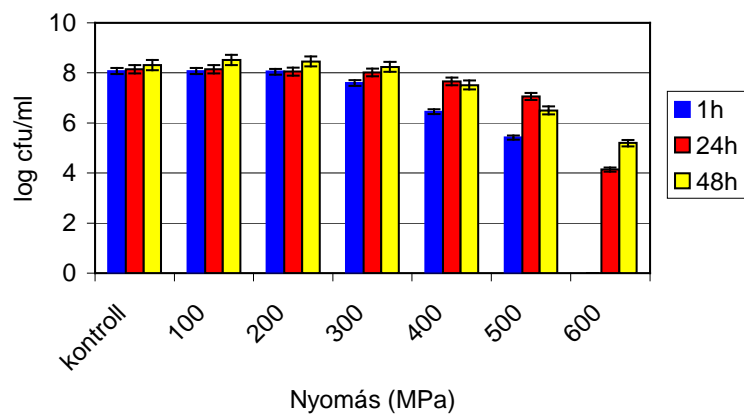
A,



B,

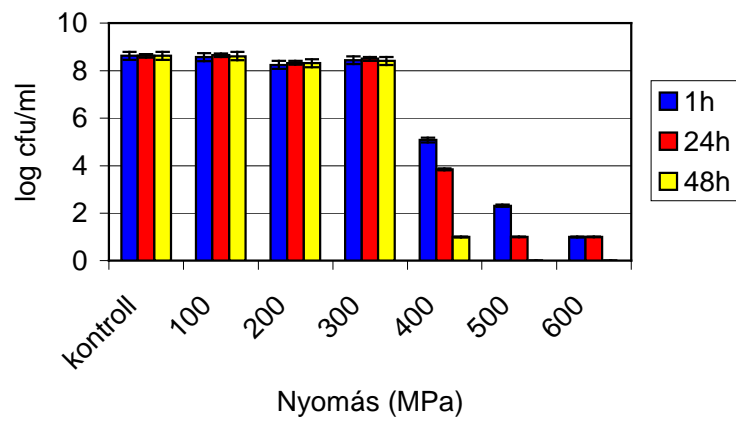


C,

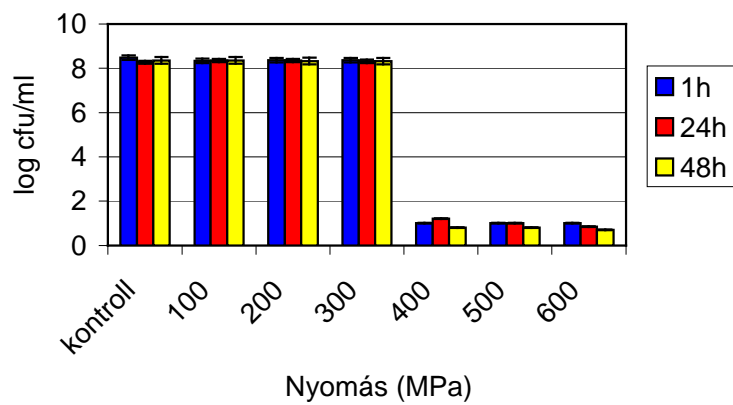


25. ábra: Nyomáskezelés hatása *Enterococcus faecalis* kultúrára pH 7.2-n, szobahőmérsékleten, MRS(A), MRS+ oxyrase (B), valamint MRS+5%NaCl (C) táptalajokon tenyésztve.

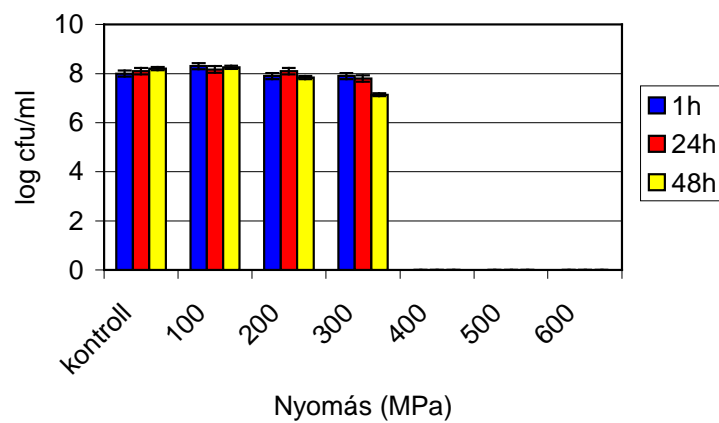
A,



B,

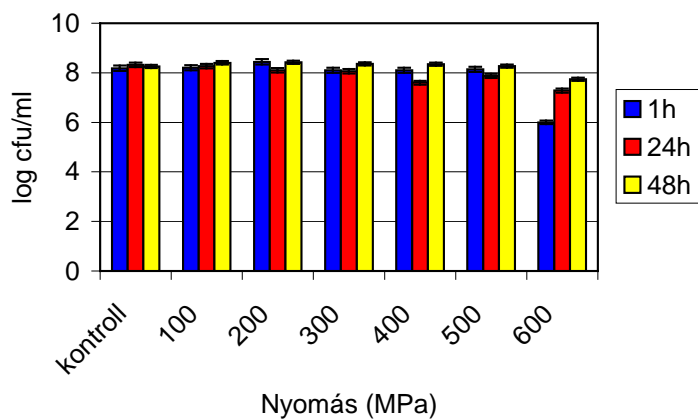


C,

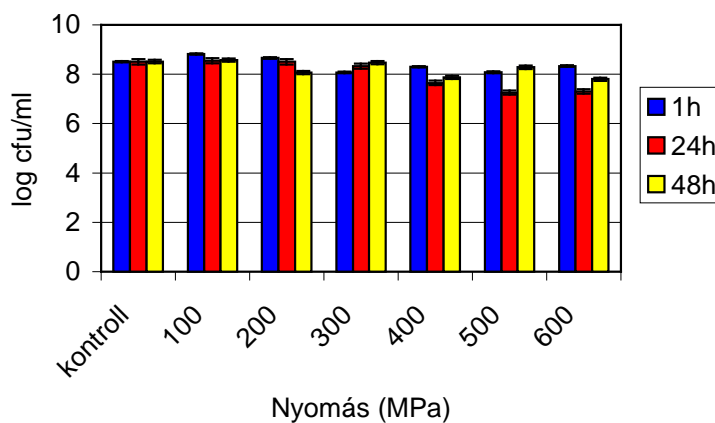


26. ábra: Nyomáskezelés hatása *Enterococcus faecalis* kultúrára pH 4.5-n, szobahőmérsékleten, MRS(A), MRS+ oxyrase (B), valamint MRS+5%NaCl (C) táptalajokon tenyésztve.

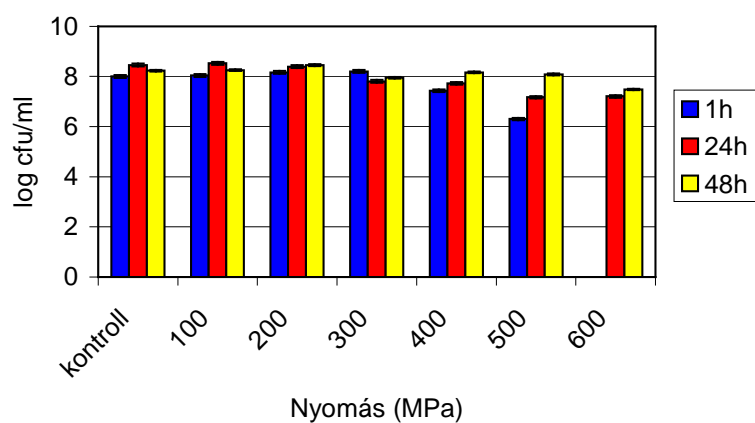
A,



B,

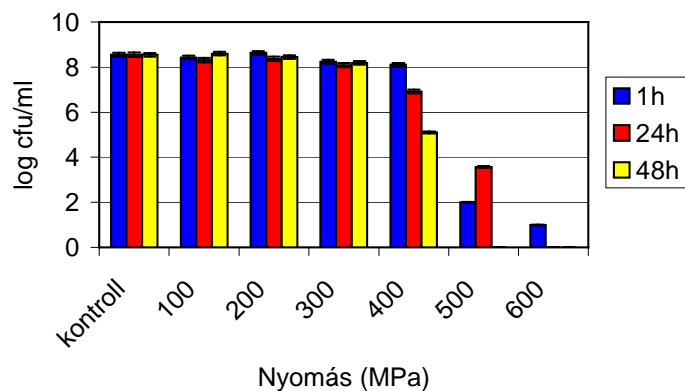


C,

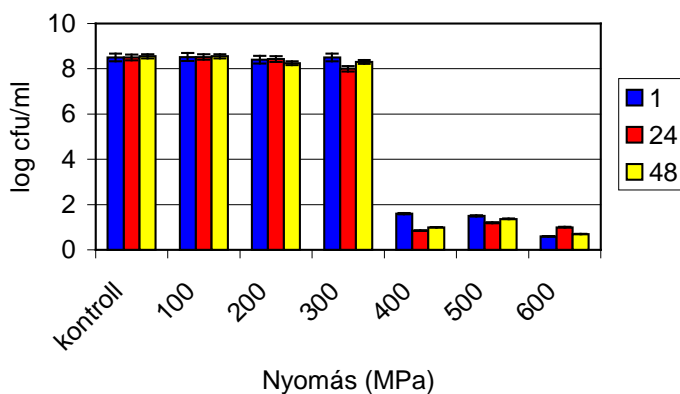


27. ábra: Nyomáskezelés hatása *Enterococcus faecalis* kultúrára pH 7.2-n, 4°C-on MRS(A), MRS+ oxyrase (B), valamint MRS+5%NaCl (C) táptalajokon tenyésztve.

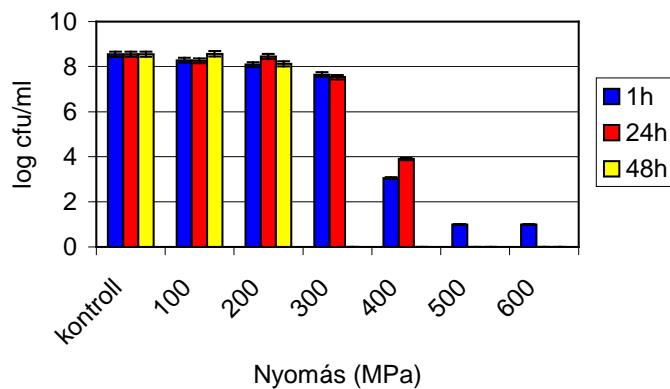
A,



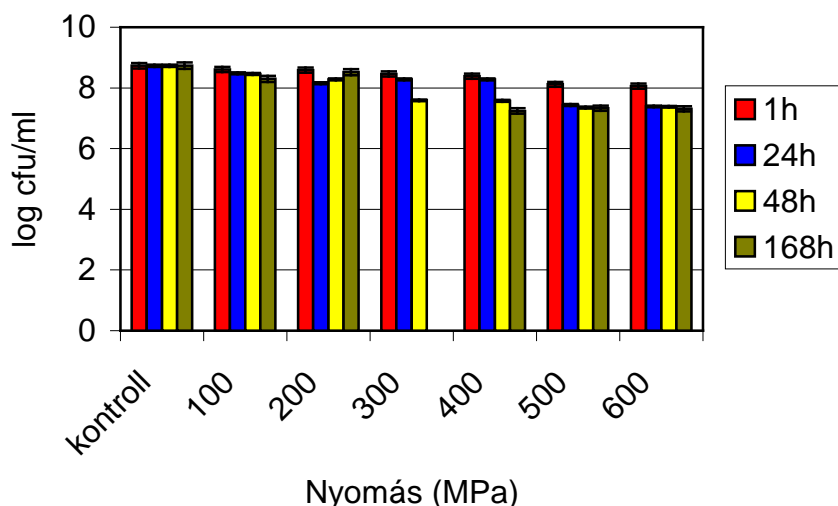
B,



C,



28. ábra: Nyomáskezelés hatása *Enterococcus faecalis* kultúrára pH 4.5-n, 4°C-on MRS(A), MRS+ oxyrase (B), valamint MRS+5%NaCl (C) táptalajokon tenyésztve.

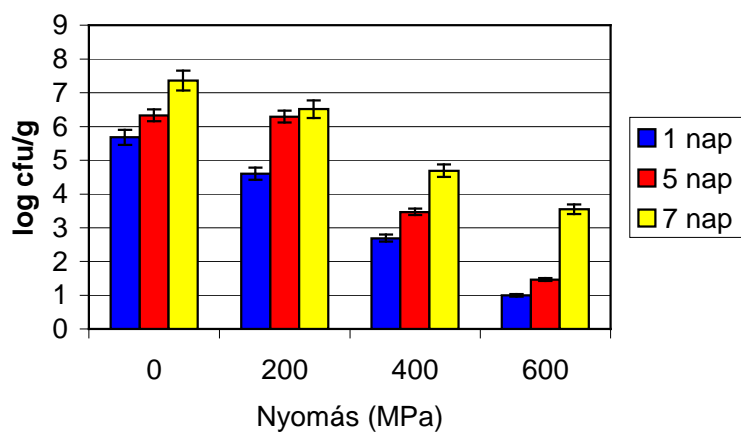


29. ábra: Nyomáskezelés hatása *Enterococcus faecalis* kultúrára pH 4.5-n, -20 °C-on MRS táptalajon tenyésztve.

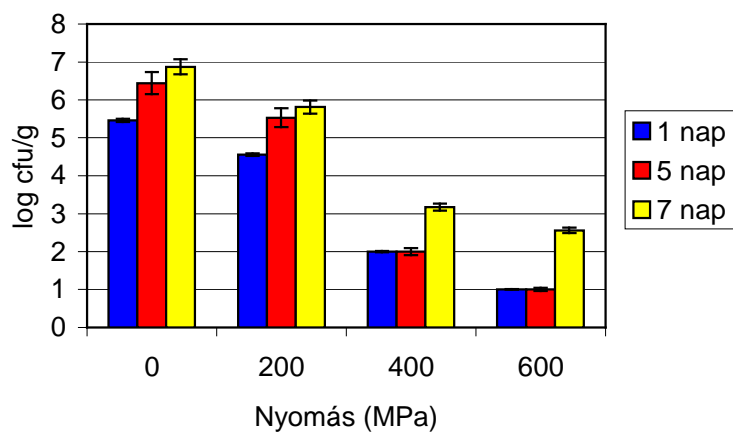
A számóca vizsgálatok a későbbiekben kiegészültek összes aerob mezofil mikrobaszám, valamint élesztő- és penészszám meghatározással is. E célból a helyi piacon jó érett, szabadföldi természetéből származó, erősen szennyezett számócaszemeket szereztünk be, majd ezeket 200 MPa, 400 MPa, és 600 MPa-on nyomáskezeltük, ezt követően 7 napig hűtve (4 °C) tároltuk. Az aerob mezofil mikrobaszám alakulása a 30. ábrán, az élesztők és penészek számának alakulása a 31. ábrán látható. Mindkét esetben azonos tendenciát figyelhetünk meg. A nagynyomásos kezelés növelésével a kiinduló csíraszám egyre nagyobb mértékben csökkent. Az aerob mezofilok esetén a 200 MPa, 400 MPa illetve 600 MPa kezelés közvetlen hatása 1, 3 illetve 4.6 nagyságrendű mikrobaszám csökkenést okoz, míg az élesztők és penészek esetén 1, 3.4 és 4.4 nagyságrendű csökkenés tapasztalható.

A hűtve tárolás során minden esetben megfigyelhető a mikrobaszám növekedés. A tárolási idő végére a kezeletlen mintákhoz képest az aerob mezofilok esetén a 200 MPa, 400 MPa, és 600 MPa-on kezelt mintákban 0.8, 2.7, illetve 3.8 nagyságrenddel kevesebb összcsíraszámot detektáltunk, míg az élesztők és penészek esetén a kezeletlen mintákhoz képest 1, 3.7, ill. 4.3 nagyságrenddel kevesebb mikroba volt kimutatható.

A feltüntetett értékek két-két párhuzamos meghatározás átlagából származnak.



30.ábra: Összes aerob mikrobaszám alakulása szamócában nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására, 1 hetes hűtve tárolás (4 °C) során.



31.ábra: Élesztők és penészek számának alakulása szamócában nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására, 1 hetes hűtve tárolás (4 °C) során

5.7. Eredmények megvitatása

5.7.1. Mikrobiológiai eredmények

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés élelmiszerek mikrobiális állapotára gyakorolt hatását szeparált pulykahús, csirkemáj, darált marhahús és nyers tej esetén vizsgáltam. A mikrobiológiai vizsgálatok közül az aerob mezofil baktériumok számát minden esetben, az enterobaktériumok számát szeparált pulykahús és csirkemáj esetén, míg a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb számát szeparált pulykahús, csirkemáj és darált marhahús eseteiben állapítottam meg. Általánosságban elmondható, hogy a nyomástűrését számos belső és környezeti tényező befolyásolja, ami közül az egyik legfontosabb az élelmiszer összetétele, mivel a közeg tartalmazhat a javító mechanizmusok működéséhez szükséges anyagokat, illetve olyan összetevőket, amelyek védelmet nyújtanak a nyomás okozta károsodással szemben. Egyes szerzők szerint bizonyos élelmiszer összetevők, úgymint a fehérjék, szénhidrátok és lipidek tehát baroprotektív hatásúak lehetnek (Patterson, 2005; Hugas et al., 2002). Mor-Mur és Yuste (2005) azonban rámutattak, hogy a magas zsírtartalom mellett mutatott magas nyomás rezisztencia nem minden esetben figyelhető meg, a zsírtartalom protektív hatása nem tisztázott.

Szeparált pulykahús esetén a 200 MPa nyomáskezelés közvetlen hatásaként az összcsíraszámban 1 nagyságrendnyi csökkenést tapasztaltam, míg az enterobaktériumokat, kóliformokat és az *E. coli*-t már ez az alacsony nyomásértéken végzett kezelés is a kimutathatósági határérték alá csökkentette. A 15 napos tárolás során a kontrol mintában minden vizsgált mikrobacsoport elszaporodott, míg a kezelt mintákban a tárolás kezdetén megállapított értékekhez képest nem tapasztaltam változást.

A nyomáskezelt csirkemáj mikrobiológiai vizsgálataiban során az alkalmazott nyomás növelésével növekedett a mikroflóra inaktivációjának mértéke. Míg szeparált pulykahús esetén már 200 MPa nyomáskezelés segítségével eliminálhatónak bizonyultak az enterobaktériumok és a kóliformok, addig máj esetén ez 300-400 MPa nyomásértékeknél következett be. A megfigyelt különbség eredhet a kezdeti mikrobaszámokban jelentkező különbségből (a máj szennyezettebb volt), vagy visszavezethető a két különböző minta különböző összetételére. Jelen eredmények megfelelnek annak az általánosan elfogadott jelenségnek, hogy a mikroba inaktiváció aránya közvetlen kapcsolatot mutat az alkalmazott nyomáskezelés nagyságával, valamint azzal az általánosan elfogadott megállapítással,

miszerint a nagynyomásos kezelés hatékonyan képes csökkenteni a Gram negatív baktériumok számát (Linton et al., 2004).

Vizsgálataim során a darált marhahús mikroflóráját a 200 MPa illetve 300 MPa nyomáskezelés egyaránt két-két nagyságrenddel csökkentette. A Mészáros és munkatársai (1999) által publikált, nagy hidrosztatikus nyomással kezelt darált marhahús esetén a *Listeria monocytogenes* számában megállapított csökkenést alapul véve a jelen vizsgálatok során ez a 2-3 nagyságrendnyi összcsíraszám csökkenés volt várható. A 15 napos hűtve tárolás során a nyomáskezelést túlélő mikrobacejtek ismét elszaporodtak, a darált marhahús minták eltarthatósága nem érte el a két hetet. A kezeletlen mintákban $6 \cdot 10^2$ cfu/g számban jelen levő kóliformok száma a kezeléseket követően a kimutathatósági határérték alá esett, és a 15 napos tárolás során sem mutatott növekedést. Mivel a tárolás során a kezeletlen mintában sem voltak kimutathatók a kóliformok, ezért feltételezhető, hogy hiányuk nem elsősorban a nyomáskezelés hatásának eredménye, hanem feltehetően a vákuumsomagolt minták tárolása során elszaporodott tejsavbaktériumok által metabolizált antibakteriális anyagcsere termékekre mutattak érzékenységet. A szakirodalomban találhatóak adatok arra vonatkozóan, hogy nyomáskezelt, vákuumsomagolt spanyol véreshurka esetén a tejsavbaktériumok heterofermentatív szaporodás során a mikroflóra domináns összetevőjévé váltak a tárolás során, és ez okozta a termék romlását (Diez et al., 2008). Carlez és munkatársai (1994) darált marhahús 450 MPa nyomáskezelése után tejsavbaktériumok szaporodását nem tapasztalták, az összcsíraszám növekedésének 13-15 napos késleltetését figyelték meg. Ez ellentmond a dolgozatban leírt vizsgálatok megfigyeléseivel, ami adódhat az eltérő kiindulási csíraszámából, valamint az eltérő csomagolási módból. Carballo és munkatársainak (1997) darált marhahús 300 MPa-os 20 perces nyomáskezelés segítségével 2-2,5 nagyságrendnyi összes aerob mikrobaszám csökkenést sikerült elérniük, ami alátámasztja jelen vizsgálat eredményeit. Garriga és munkatársai (2004) marinált marhahús 600 MPa-on történt nyomáskezelése után nagy arányú aerob mezofil mikroba inaktivációt ($>4 \log_{10}$) mutattak ki. Joung és munkatársai (2003) marhahús nyomáskezelés vizsgálati során arra a megállapításra jutottak, hogy az alacsony (130 MPa) nyomáskezelés nem javítja a hús mikrobiológiai minőségét, míg a magas nyomáskezelés (520 MPa) után az összcsíraszámában 2,5 nagyságrendű csökkenést értek el. Vizsgálataim során ilyen mértékű összcsíraszám csökkenések csirkemáj esetén már 300 MPa (Joung et al., 2003) illetve 400 MPa (Garriga et al., 2004) kezeléseket után megfigyelhetőek voltak.

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés nyerstej mikrobiológiai állapotára gyakorolt hatásáról megállapítottam, hogy a nyomáskezelés nagyságának növelésével növekedett az aerob

mezofil baktériumok inaktivációjának mértéke. Míg a 200 MPa nyomáskezelés még nem mutatott szignifikáns csökkenést az összcsíraszámokban, addig a 400 MPa, 600 MPa, 800 MPa nyomáskezelések több nagyságrenddel növelték a mikroba inaktivációt. A minták hűtve tárolása során a kezelések hatására a baktériumok szaporodása késleltetődött, a 400 MPa, 600 MPa, és 800 MPa-on kezelt minták eltarthatósága a hőkezelt mintánál hosszabbnak bizonyult. O' Brien és Marshall (1996) megállapították, hogy egyes esetekben a nagynyomásos kezelés alkalmazása a hűtve tárolás során is a baktériumok növekedésének késleltetését okozza. Ez a jelenség a tejminták mellett a szeparált pulykahús esetén is megfigyelhető volt. Nyomáskezelt tejminták vizsgálatakor Buffa és munkatársai (2001) azt tapasztalták, hogy az induló csíraszámától függően 400-600 MPa-on kezelt tej minősége megfelelt a hőkezeléssel pasztörözött tej minőségének. Rademacher és Kessler (1997) nyers tej esetében 10 napos eltarthatósági időt 400 MPa 15 perces, illetve 500 MPa 3 perces kezeléssel tudott elérni. Jelen vizsgálati eredmények tehát beleillenek a szakirodalomban leírt megfigyelések közé.

A szamóccával kapcsolatos nagy hidrosztatikus kezeléssel vizsgálatok során tanulmányoztam a nagynyomásos kezelés alkalmazhatóságát szamóca esetén, és megvizsgáltam az *Enterococcus faecalis* nyomástűrését különböző pH és hőmérséklet értékek esetén. A jelen kísérletben alkalmazott *Enterococcus faecalis* különösen nyomástűrő (Wuytack et al., 2002; Shigehisa et al., 1991), a megelőző kísérletek során szamóccába oltva hűtőszekrény hőmérsékleten (4 °C) a savas közeg (pH 3.6) ellenére szaporodásra képesnek bizonyult. A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés eredményei szamóca esetén azt mutatták, hogy már 400 MPa, 5 perces kezeléssel is 6 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenés érhető el. Ennél a kísérletnél a rövid idő kiemelt jelentőséget kapott, mivel korábbi kísérletek bizonyították, hogy a rövid kezelési idő mellett a szamóca kedvező fizikai tulajdonságai megőrizhetőek. A kedvező eredmények a szamóca magas (mg/g) citromsav, almasav és aszkorbinsav tartalmának köszönhetőek, amelyek biztosítják az alacsony pH-t. A szerves savak bizonyítottan érzékenyebbé teszik a baktériumsejteket a nagy nyomással szemben (Ogawa et al., 1990; Hong és Kim, 2001). A nagy hidrosztatikus nyomás és a szerves savak együttesen hatékony eszköznél bizonyultak az *Enterococcus faecalis* eliminálására a szamóccaszemekből.

Az *Enterococcus faecalis* nyomástűrésének tisztázására irányuló vizsgálataim fő vonalaiban egybevág más szerzők hasonló területen publikált adataival. Wuytack és munkatársai (2002) 400 MPa 15 perces 25 °C hőmérsékleten nyomáskezelt *Enterococcus faecalis* esetén nem tapasztaltak mikrobaszám csökkenést. Shigehisa és munkatársai (1991) sertéshúsból készült szuszpenzióban a 300 MPa és az ennél alacsonyabb értékeken végzett nyomáskezelések esetén nem tapasztalták az *Enterococcus faecalis* számának csökkenését, a 6 nagyságrendnyi

(cfu/g) mikrobaszám csökkenéshez 600 MPa, 10 perces 25°C hőmérsékleten végzett nyomáskezelést tartottak szükségesnek.

Kísérleteim során a 300 MPa és ennél alacsonyabb nyomásértékek esetén nem, vagy nagyon kis mértékben tapasztaltam mikrobaszám csökkenést. A 400 MPa fölötti tartományban pH 4.5 értéknél növekedő mértékű mikrobapusztulás volt megfigyelhető. Semleges pH esetén a tárolás során a szubletálisan sérült sejtek számának csökkenése arra enged következtetni, hogy egy javító mechanizmus lép működésbe a nyomáskezelés után. Számos olyan mikroorganizmus ismert, amely nyomáskezelés után nem kimutatható, de bizonyos tárolási idő elteltével a mikrobaszaporodás ismét detektálható (Carlez et al., 1993). A nagynyomásos kezelések hatására a sejtek megsérülnek, de később képesek felépülni és szaporodni még hűtve tárolt mintákban is (Garcia-Graelles et al., 1998). A nyomás hatására sérült *E. coli* O157:H7 tárolás során képes volt felépülni és szaporodni, jelezve, hogy az alkalmazott nyomás nem képes teljesen inaktiválni (Teo et al., 2001).

A semleges és alacsony pH mellett végzett kísérletek eredményeit összehasonlítva megállapítható, hogy a nagynyomásos kezelés során szubletálisan sérült sejtek alacsony pH mellett nem képesek a sérülések javítására. A nyomáskezelést követő savas közegben történő tárolás hatását a baktériumsejtekre más szerzők eredményei is megerősítik. Jordan és munkatársai (2001) alacsony pH-val rendelkező narancslé nagynyomásos kezelése során megállapították, hogy a kezelést követő 24 órás 4° C hőmérsékleten történő tárolás növelte a beoltott *E. coli* O157 inaktivációs arányát.

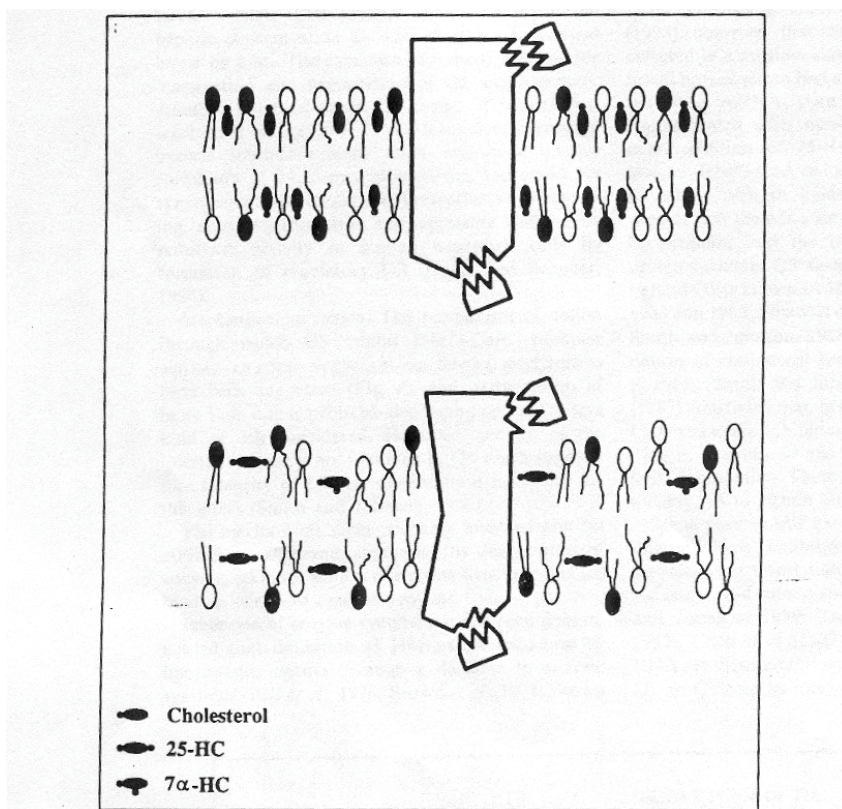
Számos szerző (Smelt és Rijke, 1992; Carlez et al., 1994; Cheftel, 1995; Arroyo et al., 1999) megfigyelte, hogy a mikroorganizmusok nyomástűrése szobahőmérsékleten a legnagyobb, alacsonyabb hőmérsékleteken szignifikánsan csökken. Takahasi és munkatársai (1993) megállapították, hogy 100-400 MPa nagyságú, 20 percig tartó nyomáskezelés esetében a fagyasztási hőmérséklet (-20 °C) a szobahőmérséklettel összehasonlítva (20 °C) fokozza a mikroba inaktivációt. Jelen kutatási eredményeim nem erősítik meg fenti szerzők állításait. Az eltérés adódhat az általam alkalmazott rövidebb kezelési időből, vagy az eltérő mikroba fajtától. Egyes szerzők vizsgálatai szerint fagyasztott minták nyomáskezelésekor a baktériumsejtek sérülését nem kizárólag a nagynyomásos kezelés okozza, hanem hozzájárul az a mechanikai hatás is, ami az I-es és III.- as típusú jég közötti fázisátalakulással hozható összefüggésbe (Fernandez et al., 2007; Luscher et al., 2004). A mikroba inaktiváció mechanizmusa még nem teljesen tisztázott. A sejtmembrán sérülését tekintik a kritikus pontnak, ami a nyomáskezelt baktérium sérüléséhez és pusztulásához vezet (Smelt, 1998).

5.7.2. Lipidoxidációs eredmények

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés lipid oxidációra vonatkozó hatásait szeparált pulykahús pép valamint csirkemáj esetében vizsgáltam. Szeparált húsoknál a lipid oxidáció mérése nagy jelentőségű, hiszen ezen feldolgozási mód során a hús több prooxidáns hatásnak van kitéve. Csirkemáj esetén a magas koleszterin tartalom miatt fontos a lipid oxidáció nyomon követése. Mindkét alapanyag esetén TBA érték, valamint a képződött koleszterin oxidációs termékek meghatározására került sor. Mindkét vizsgálati anyag esetén megállapítottam, hogy a nagy hidrosztatikus nyomás a lipid oxidációt felgyorsította. Míg a csirkemáj TBA értéke a vizsgált nyomáskezelések közül 400 MPa-on mutatott drasztikus növekedést, addig a szeparált pulykahús esetén már az egyedül alkalmazott 200 MPa nyomáskezelés is jelentősen megnövelte a TBA értéket. Ezt indokolhatja a szeparált húsok feldolgozási módja, valamint a magas zsírtartalom (9,16%). A vizsgálataim során a megfigyelt változásokat alátámasztják a Cheah és Ledward (1996, 1997) által publikált, nagy hidrosztatikus nyomással kezelt darált marhahús lipid oxidációs vizsgálatai során mért adatok. A szerzők megállapították, hogy 400 MPa nyomáskezelésig a lipid oxidáció nem gyorsul fel, 400 MPa fölött közvetlenül a kezelés után már jelentős TBA szám növekedés figyelhető meg, ami összecseng a csirkemáj esetében megfigyelt változásokkal. Mivel a nyomáskezelés által indukált fehérje denaturáció is ebben a tartományban zajlik le, feltételezhető a két folyamat közötti összefüggés. A fentiekkel ellentétben Rubio és munkatársai (2007b) nyomáskezelt (500 MPa, 5 perc) szárazkolbász esetén nem tapasztaltak változást a TBA értékekben a kezeletlen mintákhoz képest sem közvetlenül a kezeléseket után, sem a 210 napos tárolás során, ami a termékhez a gyártás során hozzáadott antioxidánsoknak köszönhető.

A koleszterin oxidációs termékek mennyiségének változása a vizsgált anyagokban, tendenciájában megfelelt a TBA értékek esetén megfigyelt változásoknak. A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés a koleszterin oxidációs termékek növekedését okozta. Szeparált pulykahús esetén a 200 MPa nyomáskezelés is nagy arányú növekedést okozott az összes oxiszterinek mennyiségében. Az egyes keletkezett oxidációs származékok között volt a 7 α - hidroxikoleszterin, a 7 β - hidroxikoleszterin és a 7- ketokoleszterin. Csirkemáj esetén a 400 MPa nyomáskezelés okozott nagymértékű növekedést az összes oxiszterin mennyiségében. Ebben az esetben a fenti oxidációs termékeken kívül megjelent a kolesztán-3 β , 5 α , 6 β -triol valamint a koleszterin- 5 α , 6 α -epoxid is. Mivel a szakirodalomban a nagy hidrosztatikus nyomású kezelésnek a koleszterin oxidációjára gyakorolt hatásáról összehasonlító adatokat nem találtam, ezért ezen a helyen térnék ki néhány mondatban a

koleszterin oxidációs termékek élelmiszerekben való előfordulására, és ezek élettani hatásaira. A koleszterin tartalmú élelmiszerekben a feldolgozás vagy a tárolás során oxidációt elősegítő tényezők hatására koleszterin oxidációs termékek képződnek. Az olyan tényezők, mint a hőmérséklet, idő, koncentráció, pH, vagy más rendszerkomponensek jelenléte befolyásolják az oxidációs termékek keletkezését (Smith, 1996; Lebovics et al, 1996). A táplálékban levő koleszterin oxidok gyakran elérik az összes koleszterin tartalom 1%-át, néha a 10%-át is (Csapó, 1999). Higley és munkatársai (1986) kereskedelmi forgalomba került számos húsipari terméket vizsgáltak, amelyekben kimutatható mennyiségű koleszterin oxidokat találtak. Engeseth és Gray (1994) nyers és főtt marhahús oxidációs termékeit vizsgálták, eredményeik szerint mind a hőkezelés, mind a tárolás növelte a koleszterin oxidációs termékek mennyiségét. A mérés során koleszterin- β -epoxidokat, 7β -hidroxikoleszterint és 7-ketokoleszterint detektáltak. Zubillaga és Maerker (1991) kiskereskedelembe vásárolt csirkehúsban szintén kimutattak koleszterin oxidokat. Vizsgálataik szerint az oxidációs termékek több mint a felét a 7-ketokoleszterin képezte. A koleszterin oxidok az emberi szervezetben a koleszterinszabályozó mechanizmust felboríthatják (Csapó, 1999). Az étrendi koleszterin oxidok gyorsan felszívódnak az emberi bélrendszerből. Feltételezik, hogy citotoxikus, angiotoxikus, mutagén és karcinogén tulajdonságúak, de nagy hatással vannak a sejtmembrán funkcióira is (Sofos et al., 1996). A koleszterin és az oxidációs termékek egymáshoz nagyon hasonló szerkezete miatt az oxiszterinek beépülhetnek a sejtmembránokba a koleszterin helyére (32.ábra). Ez változást okoz a membrán fluiditásában, áteresztőképességében és stabilitásában éppúgy, mint a sejtnövekedésben és a morfológiában. Guardiola és munkatársai (1996) szerint a koleszterin- $5\alpha,6\alpha$ -epoxid, a koleszterin- $5\beta,6\beta$ -epoxid, a 7-hidroxikoleszterin izomerek, a 7-ketokoleszterin és a 26-hidroxikoleszterin rendelkeznek az LDL (low density lipoprotein) funkcióját megváltoztató aktivitással. Hughes és munkatársai (1994) kimutatták, hogy a 7-ketokoleszterin, a kolesztán-triol és a 25-hidroxikoleszterin kóros atheroszklerotikus elváltozásokat okoznak *in vivo*. Mindezen tapasztalatok azt mutatják, hogy a koleszterin tartalmú ételek feldolgozása és tárolása során olyan oxidációs termékek képződnek, melyek atherogénebbek, mint maga a koleszterin. Az emberi szervezetben található antioxidánsok ugyan védenek a káros termékek ellen, azonban ha a gyökképződés mértéke meghaladja a szervezet méregtelenítő képességét, az a sejtek roncsolódásához vezet.



32. ábra A sejtmembrán oxiszterinek által indukált strukturális változása (Guardiola et al., 1996)

5.7.3. Fehérjedenaturációs vizsgálatok eredményei

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelés fehérje denaturációra kifejtett hatását darált marhahús, tojásfehérje és nyers tej minták esetén vizsgáltam. A darált marhahús fehérje frakcióiban a nagy hidrosztatikus nyomás hatására bekövetkező változásokat DSC termogram felvételével analizáltam. A fő fehérjefrakcióknak megfelelő endotermikus csúcsok jól azonosíthatónak bizonyultak, megegyeztek a tanszékünkön végzett korábbi vizsgálatok (marha, sertés, pulyka) eredményeivel (Mészáros és Farkas, 2000), valamint egybeestek más szerzők által közölt adatokkal. Amako és Xiong (2001) megállapították, hogy a miozin denaturációs hőmérséklete 43 °C és 67 °C, míg az aktin denaturációs hőmérséklete 71 °C és 81 °C közé esik. A Ma és Ledward (2004) által közölt értékek marhahús miozin esetén 54,6 °C, aktin esetén pedig 77.3 °C. Megjegyzendő, hogy a tanszékünkön használt micro- DSC készülék alacsony felfűtési sebessége az endotermák hőmérsékleteit alacsonyabbnak mutatja a gyors felfűtésű DSC készülékekhez képest (Arntfield et al., 1990). Supavititpatana és Apichartsrangkoon (2007) strucchúsból készült húskészítmény nyomáskezelése során megfigyelték, hogy 300 MPa

illetve 500 MPa kezelések után az aktin és a miozin által mutatott csúcs csökkenő mértékben, de még megfigyelhető, 700 MPa kezelés után mindkét fehérjefrakció teljes mértékben denaturálódik. Megfigyelték ezen felül, hogy a nagynyomásos kezelés növelésével a denaturációs csúcs egyre magasabb hőmérséklet felé tolódik, ami megerősíti a darált marhahús esetében megfigyelt jelenségeket.

A DSC készülékkel végzett fehérje denaturációs vizsgálatok eredményei tojásfehérje esetén más szerzők hasonló területen publikált eredményeitől lényegi eltérést nem mutatnak. Raymond és munkatársai (1992) az ovalbumin és konalbumin denaturációs hőmérsékleteként 83 °C-t, illetve 68 °C-t állapítottak meg, 10 °C/perc felfűtési sebesség mellett. Hayakawa és munkatársai (1992) megfigyelése szerint az ovalbumin endotermikus csúcса 1 °C/perc felfűtési sebesség mellett 77 °C-ra tehető. Ugyanezen szerzők 600 MPa nyomáskezelést követően 61%-os entalpiacsökkenést állapítottak meg az ovalbuminnál. A kísérleti körülmények, úgymint a készülék felfűtési sebessége és a pH befolyásolják a megállapított endotermikus csúcsok hőmérsékletét. Ezek az eltérések magyarázhatják a csúcs hőmérsékletek megállapításában mutatkozó különbségeket. Az alacsonyabb felfűtési sebességek esetén lehet a tényleges denaturációs hőmérséklethez közelebb álló termogrammokhoz jutni. A nyomáskezelések hatásainak vizsgálatokor megállapítottam, hogy az 500 MPa-os nyomáskezelés drasztikus változásokat okozott a tojásfehérjében. Szemmel látható fehérje denaturáció ment végbe, a nyomáskezelt tojásfehérje a főtt tojáshoz volt hasonlatos, de annál lágyabbnak bizonyult. Ezek a megfigyelések egybeesnek a Hayakawa és munkatársai (1996) által publikált vizsgálatokkal, melyek során kimutatták, hogy a 400 MPa-nál magasabb nyomáskezelések után az ovalbumin denaturációja eltért a 80 °C hőmérsékleten megfigyelhető denaturációtól. Van der Plancken és munkatársai (2005) 700 MPa 20 perces nyomáskezelés után már nem tudtak maradék denaturációs entalpiát kimutatni ovalbumin esetén, a nagynyomásos kezelés fehérje denaturációs hatása megegyezett a hőkezelés fehérje denaturációs hatásával.

Mivel a nyomáskezelt tejminták esetén a DSC vizsgálatok nem hoztak értékelhető eredményt, ezért ebben az esetben poliakrilamid gél elektroforézises eljárást alkalmaztunk. A tejminták elektroforetikus mintázatának értékelése után elmondható, hogy a nagynyomásos kezelés hatására a nyomáskezelés mértékének növelésével növekvő mértékben denaturálódtak a tejminták egyes fehérje frakciói. Míg a kazein és az α -laktalbumin tartalom a nyomás növelésével változatlan maradt, addig a β -laktoglobulin két izomerje a nagynyomásos kezelésre érzékenynek bizonyult, 600 MPa-nál a β -laktoglobulin A denaturálódott. Felipe és munkatársai (1997) 500 MPa nyomásértéknél figyelték meg a β -laktoglobulin denaturációját.

Mivel a jelen vizsgálatokban 400 MPa illetve 600 MPa nyomásértékeken kezelt tejmintákat vizsgáltunk, az általunk 600 MPa-on megállapított denaturáció nem mond ellent fenti szerzők eredményeinek. Tanszékünkön további, tehéntej mintákkal kapcsolatos kísérletek során is igazolódott, hogy a nyomás növelésével a β -laktoglobulin frakció fokozatosan denaturálódik. Ezen felül a nagy hidrosztatikus nyomással történő kezelés időtartama is hatással van a fehérjékre. Minél hosszabb a tartási idő, annál jobban csökken a β -laktoglobulin sávok intenzitása (Pásztor-Huszár, 2008). A β -laktoglobulin denaturációja allergológiai szempontból látszik fontosnak, hiszen ez a fehérje frakció élelmiszerallergiát válthat ki, leginkább kisgyermek és csecsemők esetén. Bizonyos nyomásérték és hőmérséklet kombinációja mellett a β -laktoglobulin átmeneti konformációt vesz fel, a hidrofób rész felbomlik, az enzimatisz hidrolízis gyorsabban végbemegy (Bonomi et al., 2003). A β -laktoglobulin nagy hidrosztatikus nyomással való kezelése az enzimes kezelés előtt és/vagy alatt lényegesen felgyorsítja a hidrolízist (Olsen et al., 2003; Chicón et al., 2008).

5.7.4. Színvizsgálati eredmények

A nagynyomásos kezelések hatására bekövetkező színváltozásokat csirkemáj, darált marhahús, tojásfehérje és tojássárga, valamint nyers tej esetében végeztem.

A nyomáskezelt csirkemáj minták L^* értéke minden esetben jelentős mértékben nőtt, a máj kifakulása szemmel látható volt. Az a^* és b^* értékek is kisebb mértékű növekedést mutattak.

A nyomáskezelt marhahús mintában drasztikus színváltozások történtek, az L^* és b^* értékek nagymértékben megnövekedtek, főtt húshoz hasonlatos szín alakult ki, ami az oximioglobinnal metmioglobinnal átalakulásra vezethető vissza (Cheftel és Culioli, 1997). A 300-400 MPa felett lejátszódó fehérje denaturáció változásokat okoz a miofibrilláris és szarkoplazma fehérjék szerkezetében, amely a hús felszínének változásához, ezáltal színváltozáshoz vezet (Cheah és Ledward, 1996). Carlez és munkatársai (1995) darált marhahús 200-350 MPa nyomáskezelése után a világossági tényező (L^*) növekedését figyelték meg. Joung és munkatársai (2003) a nyomáskezelt marhahúsnál (520 MPa) szintén megfigyelték az L^* érték növekedését. Fernandez és munkatársai (2007) hasonló tapasztalatokról számoltak be marhahús 650 MPa-os nyomáskezelése után. A megfigyelt változásokat az oximioglobinnal metmioglobinnal átalakulással, a vasion felszabadulásával, a csepegési veszteség miatti víztartalom változásával, valamint a miozin denaturációjával (Mor-Mur és Yuste, 2003) magyarázták. Darált marhahús 400-500 MPa 10 perces kezelése után Carlez és munkatársai (1995) az a^* érték jelentős csökkenését figyelték meg. Fernandez és

munkatársai (2007) szintén szignifikáns a^* érték csökkenését állapítottak meg nyomáskezelt marhahús vizsgálata során. Joung és munkatársai (2003) 350 MPa nyomáskezelésig az a^* értékek szignifikáns növekedését tapasztalták, míg 350 MPa-600 MPa között az a^* értékben szignifikáns csökkenést figyeltek meg. Az a^* érték csökkenése 350 MPa felett a mioglobinná alakulásával hozható összefüggésbe, ez eredményezi a hús barna elszíneződését. A b^* értékek növekedése szintén a mioglobin oxidációval hozható összefüggésbe (Fernandez et al., 2007). A hús elszíneződését olyan alacsony nyomásértékeknél is megfigyelték (Carlez et al., 1995), ahol a mioglobin még nem oxidálódik. Ezeken a nyomásértékeken létrejöhetnek a nyomás által indukált mioglobin-aggregátumok, amelyek felelősek lehetnek a színváltozásokért (Molina-Garcia, 2002). Az a^* értékben megfigyelt csökkenés a fényvisszaverődés növekedéséből is adódhat, amit egyéb fehérje frakciókban létrejött aggregáció okozhat, a mioglobin szerkezetének megváltozása nélkül (Fernandez et al., 2007). A fentiek magyarázatul szolgálhatnak jelen vizsgálatok eredményeire, ahol a mioglobin oxidációt önmagában még nem indukáló alacsony nyomásértékeknél is drasztikus színváltozás volt tapasztalható a csirkemáj és darált marhahús minták esetén.

Nomáskezelt tojásfehérje vizsgálataim során azt tapasztaltam, hogy a világossági tényező (L^*) 400 MPa és 500 MPa kezelések után nagymértékben növekedett, a b^* értékekben pedig jelentős csökkenés volt kimutatható. Ezeken a nyomásértékeken a tojásfehérje fő fehérje frakciói, az ovalbumin és a konalbumin részlegesen vagy teljes egészében denaturálódtak, ezek a változások követhetők nyomon a színparaméterek alakulásában. A nyomáskezelt tojássárga minták mindhárom szín jellemzője szignifikáns csökkenést mutatott a kezeletlen mintákéhoz képest. A tojássárga színét a karotinoidok határozzák meg, amelyek a lipid oxidációhoz hasonló módon oxidálódhatnak. Andrassy és munkatársai (2006) vizsgálataik során nem tapasztaltak változást a nyomáskezelt tojássárga (500 MPa, 5 perc) karotin tartalmában, ám beszámoltak a lipidoxidációs folyamatok felgyorsulásáról, mely magyarázatul szolgálhat a megfigyelt színváltozásokra.

A színmérés eredmények alapján megállapítottam, hogy a tehéntej színét a nagynyomásos kezelés nagymértékben nem befolyásolta. A nyomás növekedésével az L^* értékek esetén kis mértékű csökkenés, míg az a^* értékek esetén enyhe növekedés volt tapasztalható. A megfigyelt változások a kazein micellák fragmentációjára vezethetők vissza (Gervilla et al., 2001). Mussa és Ramaswamy (1997) vizsgálataik során szintén arra a következtetésre jutottak, hogy a tehéntej színét a nagynyomásos kezelés nem befolyásolja nagymértékben. Needs és munkatársai (2000) azonban arról számoltak be, hogy nyers tej 600 MPa 15 percig

tartó nyomáskezelése után a színparaméterekben szignifikáns eltéréseket mutattak ki, melyek szabad szemmel is észlelhetőek voltak. A megfigyelések közötti különbségeket az eltérő kezelési paraméterek magyarázhatják.

5.8. Új tudományos eredmények

1. Kimutattam, hogy a nagynyomásos kezelés során szubletálisan sérült *Enterococcus faecalis* sejtek alacsony pH mellett nem képesek a sérülések javítására.
2. Megállapítottam, hogy a nagynyomásos kezelés már alacsony nyomásértékeken is felgyorsította a lipioxidációt, koleszterin oxidációs termékek keletkezését is kiváltotta a szeparált pulykahús és csirkemáj mintákban.
3. Kimutattam, hogy a nyomáskezelés az általam alkalmazott paraméterek mellett kedvezőtlenül befolyásolta a csirkemáj és a darált marhahús minták színének alakulását.
4. Megállapítottam, hogy a nyomáskezelt tejminták az illóanyag komponensekben bekövetkezett változások alapján elektronikus orral jól elkülöníthetőnek és megkülönböztethetőnek bizonyultak.

6. Következtetések és javaslatok

Nagy hidrosztatikus nyomásos kezelés biztató jövő elé néz az élelmiszertartósítás területén. A nagynyomásos technológia által feldolgozott élelmiszerek egyedülálló fizikai és érzékszervi tulajdonságai új kihívást jelentenek az élelmiszeripari termékfejlesztésben. Az új technológia számára kereskedelmileg forgalomba hozható új alternatívák feltárása jelenti a legnagyobb kihívást. Nagy hidrosztatikus nyomás mikrobiális és enzimikus inaktivációs hatásairól részletes adatok állnak rendelkezésre a szakirodalomban, de az egyes élelmiszerek minőségének egyedi aspektusaira gyakorolt hatása kevésbé dokumentált. Ezek az adatok a nagy hidrosztatikus nyomás ipari alkalmazásának bevezetéséhez szükségesek. Mivel az élelmiszer összetevőknek protektív hatása lehet a nyomáskezelés során, illetve a különböző összetétel hatására különböző termékeknél eltérő eredményeket tapasztalhatunk, ezért fontos az egyes élelmiszerek vizsgálata, és a kezelési paraméterek megállapítása. Munkám során a nagy hidrosztatikus nyomás hatásait néhány kiválasztott élelmiszerjellemező, minőséget meghatározó tulajdonságaik esetén vizsgáltam.

Szeperált pulykahús esetében a viszonylag alacsony, 200 MPa nyomáskezelés hatékony módszernek bizonyult a romlást okozó mikroorganizmusok szaporodásának késleltetésére, ugyanakkor felgyorsította a lipioxidációs folyamatokat, és olyan, az emberi egészségre káros koleszterinoxidációs termékek jelentek meg a mintában, melyek keletkezését célszerű az élelmiszer-feldolgozás során elkerülni. Ezért a nyomáskezelés által kiváltott lipioxidáció limitálhatja a technológia alkalmazhatóságát pulykahús szeperátum esetén. Feltételezhető, hogy antioxidánsok hozzáadásával ezek a folyamatok megakadályozhatóak, de megfelelő antioxidáns kiválasztására, valamint a helyes adagolásra vonatkozó további kutatások lennének szükségesek. Ennek tisztázása után a technológia elméletben alkalmasnak bizonyulhat a félkész és késztermékek alapjául szolgáló, de igen romlékony pulykahús szeperátum eltarthatóságának növelésére.

Csirkemáj esetén a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés a mikroorganizmusok számát hatékonyan csökkentette. Azonban a kedvezőtlen lipioxidációs és koleszterinoxidációs folyamatok felgyorsulása ebben az esetben is tetten érhető volt. A fenti hatásokat egy elszíneződés is kísérte, a jellegzetes pirosas-barnás szín kifakulása szemmel látható volt. A színváltozás a nyomáskezelt termék kereskedelmi bevezetését megakadályozó tényező lehet. Mindezen hatások ismeretében elmondható, hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés önmagában nem tűnik a csirkemáj eltarthatóságának növelésére alkalmas eszköznek. A

lipioxidációs és koleszterinoxidációs folyamatok megakadályozása antioxidáns adagolásával lehet elérhető, melynek kiválasztása és az adagolás aránya további gondos kutató munkát igényel. A kifakulás miatt a nagy hidrosztatikus nyomással kezelt csirkemáj csak olyan húsipari készítmények alapanyagaként jöhetne szóba, ahol a színváltozás a késztermékben nem jelentkezne.

Darált marhahús esetén az alkalmazott nyomáskezelést követően mikrobaszám csökkenés egyértelmű, a kezelés gátolja a mikroorganizmusok egyes csoportjainak szaporodását, ám a tárolás során az összcsíraszám újbóli növekedése figyelhető meg. Az alkalmazott alacsony nyomásértékek ellenére a hús nagy mértékű elszíneződése tapasztalható. Nyershúsok esetén a szín az egyik legfontosabb tulajdonság, ami a fogyasztó választását befolyásolja. Ezért ebben az esetben a nyomáskezelés és enyhe hőkezelés kombinációja jelenthet alternatívát a hőkezelt termékek kiváltására, különösképpen mivel a nyershús fehérjefrakcióiban a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés hatására nem termikus denaturáció megy végbe, ami az állomány kialakulását és az emészthetőséget segítheti a feldolgozott termékek esetében. Egy másik alkalmazást jelenthetne nyers húsok eltarthatósági idejének nyomáskezeléses növelésére, ha a kedvezőtlen színváltozásokat nitrit adagolásával előznék meg, mely terület további komoly kutatásokat igényelne.

Tojásfehérje esetén a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés az alkalmazott nyomás nagyságától függően fehérjefrakciók részleges vagy teljes nem-termikus denaturációját okozza, így funkcionális tulajdonságaiban változik, ami egyes technológiák számára új termékek fejlesztését teszi lehetővé.

A nyers tehéntej nagy nyomásos kezelése 400 MPa fölött csökkentette az aerob összcsíraszámot és megnövelte az eltarthatósági időt. A kezelés nem volt hatással a kazeinre, a tejfehérjék közül csak a β -laktoglobulin bizonyult érzékenynek a nagy hidrosztatikus nyomásra. 400 MPa fölött a micella fragmentáció okozhatott növekedést a világossági tényezőben. Az elektronikus orr mérések arra engednek következtetni, hogy a tej illóanyag komponenseiben a nagy nyomás hatására változások történtek, az egyes kezelések hatásai jól elkülöníthetőnek bizonyultak. Nagy hidrosztatikus nyomás alkalmazása tej és tejtermékek esetén limitált, de eljárás hatásainak minél nagyobb feltérképezése hozzájárulhat a nagy nyomásos kezelés alkalmazására a tejipari termékek előállításában.

A nagy nyomással kezelt szárocákkal végzett kísérletek azt mutatták, hogy a kezelés javította a szároca, mint minimálisan feldolgozott élelmiszer élelmiszerbiztonságát és minőségét. A nyomáskezelt szárocaszemek prémium jégkrémekben való felhasználhatósága megerősítést

nyert, a hagyományosan alkalmazott hőkezelt termékkel szemben érzékszervileg lényegesen jobbnak bizonyult.

Az a megfigyelés, miszerint a mikrobák már alacsonyabb nyomásértékeken is sérülést szenvednek, kombinált kezelések lehetőségéhez vezet. A nyomáskezelést megelőzően savas közeg (pH 4.5) hatásának kitett *Enterococcus faecalis* sejtek alacsonyabb nyomásértékeken inaktiválhatóaknak bizonyultak, mint a semleges közegben (pH 7.2) tartott sejtek. A fentiek alapján elmondható, hogy az ipari körülmények között alkalmazható rövid idejű, magas nyomáskezelés alkalmas a nyomásnak igen ellenálló *Enterococcus faecalis* inaktiválására alacsony pH-val rendelkező élelmiszerek esetén. A kielégítő eredmény eléréséhez minden esetben meg kell határozni a megfelelő tárolási körülményeket is.

Összefoglaló, általános következtetésként megállapítható, hogy a nagy hidrosztatikus nyomású kezelési élelmiszer technológiák gyakorlatilag megvalósítandó megoldásai terméktípusonkénti optimalást igényelnek. A módszer mikrobiológiailag hatékony és minőségkímélő, de további kutatások szükségesek a nyomáskezelt készítmények tárolás közbeni, főként oxidációs folyamatokkal és a szubletálisan sérült, túlélő mikrobák regenerációjával kapcsolatos változások megelőzésének megállapításához.

7. Összefoglalás

A nem hőkezeléses eljárásokon alapuló technológiák élelmiszerekre tett hatásainak vizsgálata napjainkban kiemelkedő jelentőségű. Az új technológiák bevezetése előtt tisztázni kell azok felhasználásának optimális módját. Az utóbbi években az egyik legígéretesebb nem- termikus élelmiszertartósítási eljárásnak a nagy hidrosztatikus nyomáskezelést tekintik, mely számos előnnyel rendelkezik a hagyományos, hőkezeléses módszerekkel szemben. Általánosságban elmondható, hogy a nyomáskezelés inaktiválja a mikroorganizmusokat, módosítja a biopolimereket, ideértve az enziminaktivációt, fehérje denaturációt és a géllépződést, módosítja a víz fizikokémiai tulajdonságait, de kevésbé érinti a vitamin tartalmat, a szín-, íz-, és illatanyagokat. Mivel az élelmiszerekben a hidrosztatikus nyomás azonnal és egész tömegében egyenletesen érvényesül, ezért a kezelés hatása nem függ az élelmiszer méretétől és alakjától. A nyomáskezelés hatékonyságát befolyásolja az alkalmazott nyomás nagysága, a kezelési idő hossza, a nyomás-növelés és a nyomás-csökkentés sebessége, a berendezésben kialakuló hőmérséklet eloszlás és a kezelési hőmérséklet. További befolyásoló tényezők a kezelni kívánt élelmiszer összetétele, pH-ja, vízáktivitása és kiindulási hőmérséklete. Az élelmiszerek komplexitásának, valamint a nyomás hatására történő lehetséges változások nagy számának köszönhetően a nagynyomásos kezelés pontos előrejelzése nehéz, az általánosítás nem lehetséges. Ezért a vizsgálatokat az egyes élelmiszereken kell elvégezni, hogy a nagynyomásos kezelés hatására létrejött változások megállapíthatóak legyenek. Munkám során célul tűztem ki néhány olyan élelmiszer vizsgálatát, melyeknél a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés potenciálisan szóba jöhet. Minden esetben az adott élelmiszer vagy élelmiszeripari alapanyag minőségére legnagyobb befolyással levő tulajdonságokban bekövetkezett változásokat igyekeztem nyomon követni. Vizsgáltam, hogy a nyomáskezelés a választott kezelési paraméterek mellett javítja-e az adott termék mikrobiológiai állapotát, illetve jelentkezik-e az eltarthatóságot és a fogyasztók preferenciáját befolyásoló egyéb változások.

A vizsgálati anyagok közé tartozott a szeparált pulykahús pép (200 MPa, 20 perc), a friss csirkemáj (200, 300, 400 MPa, 20 perc), a darált marhahús (200, 300 MPa, 20 perc), a nyers tehéntej (200, 400, 600, 800 MPa, 5 perc), tyúktojás (300, 400, 500 MPa) és szamóca (400, 600 MPa, 5 perc). Szeparált pulykahús és darált marhahús mintáknál 15 napos, tehéntej minták esetén 7 napos, szamóca esetén 2 napos hűtve tárolást (4 °C) is végeztem a kezeléseket után. A nyomáskezelés hatását a tejmintákon a pasztörözés hatásával hasonlítottam össze.

A nagy hidrosztatikus nyomáskezelésnek az alapanyagok mikrobiológiai állapotára gyakorolt hatását szeparált pulykahús, csirkemáj, darált marhahús és nyers tej esetén vizsgáltam. A mikrobiológiai vizsgálatok közül az aerob mezofil baktériumok számát minden esetben, az enterobaktériumok számát szeparált pulykahús és csirkemáj esetén, míg a kóliformok és az *E. coli* legvalószínűbb számát szeparált pulykahús, csirkemáj és darált marhahús esetén állapítottam meg. Az aerob mezofilok és az enterobaktériumok számának meghatározására lemezöntéses eljárást alkalmaztam, míg a kóliformok és az *E. coli* számát MPN módszerrel, tápvelésben határoztam meg.

A kezelés lipid oxidációra vonatkozó hatásait szeparált pulykahúspép, valamint csirkemáj esetében vizsgáltam. Mindkét alapanyag esetén TBA érték, valamint a képződött koleszterin oxidációs termékek vékonyréteg kromatográfiás meghatározására került sor. Az egyes oxiszterinek mennyiségét enzimátikus eljárással állapítottam meg.

A nagy hidrosztatikus kezelés fehérje denaturációra kifejtett hatását darált marhahús, tojásfehérje és nyers tej minták esetén vizsgáltam. A darált marhahús és a tojásfehérje fehérje frakcióiban a kezelésekre hatására bekövetkezett változásokat DSC termogram felvételével analizáltam. Mivel a nyomáskezelt tejminták esetén a DSC vizsgálatok nem hoztak értékelhető eredményt, ezért ebben az esetben poliakrilamid gél elektroforézisos eljárást alkalmaztam.

A nagy nyomásos kezelésekre hatására bekövetkező színváltozásokat darált marhahús, tojásfehérje és tojássárgája, valamint nyers tej esetében Minolta CR-200 típusú tristimulusos színmérő készülékkel végeztem, ahol az értékek CIE Lab L* (világossági tényező), a* (vöröses színezet), b* (sárgás színezet) lettek kifejezve. A tejmintákban a különböző nyomáskezelések, valamint a hőkezelés által okozott komplex illóanyag összetevők változásának nyomon követésére elektronikus orrot használtam.

A friss szárocaszemek esetén vizsgáltam a szárocá felületére oltott *Enterococcus faecalis* számának alakulását nyomáskezelés hatására. A tesztmikroba nyomástűrésének felderítésére különböző nyomásnagyság (100-600 MPa), kezelési hőmérséklet (20 °C, 4 °C, -20 °C), és pH (7.2, 4.5) együttes hatását vizsgáltam *Enterococcus faecalis* kultúrán, meghatároztam az inaktiváció mértékét és a sérült sejtek arányát.

Vizsgálataim eredményei alapján elmondható, hogy a pulykahús szeparátum 200 MPa 20 perces nyomáskezelése elegendőnek bizonyult a mikrobiológiai állapot jelentős javítására, és az eltarthatósági idő meghosszabbítására. Azonban már ezen az alacsony nyomásértéken is felgyorsultak a lipidoxidációs folyamatok, az emberi egészségre ártalmas koleszterinoxidációs

termékek keletkeztek. Csirkemáj esetén 300 MPa, 20 perces kezelés mikrobapusztító hatása bizonyult megfelelőnek, azonban ez esetben is a kezelés fokozott lipidoxidációt, valamint koleszterin oxidációs termékek létrejöttét indukálta. Ezenkívül az alkalmazott nyomások mindegyikénél kedvezőtlen színváltozást tapasztaltam.

Darált marhahúsnál a várakozásokkal ellentétben már 200 MPa, ill. 300 MPa kezelések után is jelentős színváltozást észleltem, bár a fehérje denaturációs vizsgálatok a mioglobinnal denaturációját nem mutatták. Ezekben a nyomásértékekben a kezelések közvetlen hatása a minták mikrobiológiai állapotában megmutatkozott ugyan, de a tárolás során a mikroflóra elszaporodását nem tudta meggátolni, az eltarthatósági időt lényegesen nem javította.

Nyers tej esetén az 5 percig tartó 400 MPa, vagy ennél magasabb nyomásértékek mellett végzett kezelések mikrobiológiai hatása a hőkezelés hatásával összemérhetőnek bizonyult, az eltarthatósági idő meghosszabbodott. A tejfehérjék közül 600 MPa nyomáskezelés után a β -laktoglobulin denaturálódott. A nyomáskezelte tejminták az illóanyag komponenseik alapján elkülöníthetőnek és megkülönböztethetőnek bizonyultak.

A nyomáskezelte tojásfehérje és tojássárgája esetén nagy mértékű színváltozást tapasztaltam, ami a szintén nagymértékű fehérje denaturációval hozható összefüggésbe.

A számcaszemek felületére oltott *Enterococcus faecalis* számában 400 MPa és 600 MPa 5 perces nyomáskezelést követően 5-6 nagyságrendnyi csökkenés mutatkozott. A 48 órás tárolás során (4 °C) újbóli mikrobanövekedés nem volt tapasztalható. Az *Enterococcus faecalis* sejtek semleges körülmények között (pH 7.2) nyomástűrőnek bizonyultak, 600 MPa kezelés után mutatkozott 4 nagyságrendnyi mikrobaszám csökkenés, ami a tárolási idő során enyhe növekedést mutatott, a szubletálisan sérült sejtek száma csökkent. Savas körülmények között (pH 4.5) az *Enterococcus faecalis* sejtek a nyomásra érzékenyebbé váltak, alacsonyabb nyomáson (400 MPa) inaktiválódtak, a sérült sejtek a tárolás során nem tudtak felépülni.

Megállapítható tehát, hogy a nagy hidrosztatikus nyomáskezelés a mikroorganizmusok számát a vizsgálati anyagokban hatékonyan csökkentette. A szeparált pulykahús és csirkemáj esetében a nyomáskezelés által kiváltott lipidoxidáció limitálhatja a technológia alkalmazhatóságát. Feltételezhető, hogy antioxidánsok hozzáadásával ezek a folyamatok megakadályozhatóak, de a megfelelő antioxidáns kiválasztására és helyes adagolására vonatkozó további kutatások lennének szükségesek. Csirkemáj és darált marhahús esetén tapasztalt kedvezőtlen színváltozások a nyomáskezelte termék bevezetését megakadályozó tényező lehet, ezekben az esetekben a tartósító eljárások kombinálása (nizin adagolás, hőkezelés) jelenthetnek megoldást, melyek szintén további kutatásokat igényelnének. A

tojásfehérje és a darált marhahús fehérjefrakcióiban bekövetkezett részleges vagy teljes nem-termikus denaturáció a funkcionális tulajdonságok változásához vezethet, ami új termékek fejlesztését teheti lehetővé. A tejfehérje frakciók közül csak a β -laktoglobulin bizonyult érzékenynek a nagy hidrosztatikus nyomásra, ami az allergénmentes tejtermékek előállításában juthat fontos szerephez. A nagy nyomással kezelt szárocákkal végzett kísérletek azt mutatták, hogy a kezelés javította a száocsa, mint minimálisan feldolgozott élelmiszer élelmiszerbiztonságát és minőségét.

Tekintettel a további kutatások szükségességére, a nyomáskezeléses technológia jelenlegi költségeire és kapacitásának korlátaira, elmondható, hogy belátható időn belül nem fogja nagy méretekben felváltani a hagyományos tartósítási eljárásokat, de új változatokat kínálhat, és megtalálhatja a helyét a jó minőségű és drága élelmiszerek egyre bővülő piacán.

8. Summary

The investigation of the effects of non-thermal food preserving technologies is of high importance on the field of food research. Before implementation of new technologies the most optimal way of applications have to be cleared. In the recent years, high hydrostatic pressure is viewed as one of the more promising non-thermal method for food preservation, as it offers advantages over traditional heat treatment technologies. In general, high pressure inactivates microorganisms, modifies biopolymers, including enzyme inactivation, protein denaturation and gelation, modifies the physico-chemical properties of water, while leaving nutritional values, colour and flavour components largely unaffected. Since the pressure changes in foods are instantaneous and uniform, the process is independent of the volume and the shape of food. The efficiency of pressure treatment is influenced by pressure level, treatment time and temperature, pressurization/decompression rate and heat distribution inside the vessel. Moreover, parameters as pH, water activity, starting temperature and the composition of food also have an effect on the result of high pressure processing. Due to the complexity of foods and the possibility of changes and reactions that can occur under pressure, predictions of the effects of high pressure treatments are difficult, as are generalization for any particular type of food. In order to identify the nature of the treatment induced modifications, experiments should be conducted on real foods.

In the present study, the possible use of high hydrostatic pressure treatment was investigated in case of some selected foodstuffs. Microbiological state and other parameters, influencing the shelf life and consumer preference were investigated at the chosen treatment parameters. Research materials included mechanically deboned turkey meat (200 MPa, 20 min), fresh chicken liver (200, 300, 400 MPa, 20 min), minced beef (200, 300 MPa, 20 min), raw bovine milk (200, 400, 600, 800 MPa, 5 min), hen egg (300, 400, 500 MPa, 5 min), and whole fresh strawberry (400, 600 MPa, 5 min). High pressure treatments were followed by refrigerated storage for 15 days in case of deboned turkey and minced beef, 7 days in case of milk samples, and 2 days in case of strawberry. The effects of high pressure on milk samples were compared to heat treatment (72 °C, 5 min).

Following pressure treatments microbiological experiments were performed, which included the enumeration of the total viable cell counts (in case of deboned turkey, chicken liver, minced beef, milk and strawberry), the enterobacteriaceae cell counts (deboned turkey and chicken liver), and the most probable number of coliforms and *E. coli* (deboned turkey, chicken liver, minced beef). Pour plating was used to enumerate the aerobic mesophiles and

the enterobacteriaceae cells count. Coliforms and *E. coli* were counted by MPN technique in liquid medium.

The effects of high pressure treatment on lipid oxidation were examined on deboned turkey and chicken liver. In both case TBA values were measured and changes in the formation of cholesterol oxidation products were followed. Cholesterol oxidation products were separated by thin layer chromatography, the measurement of the individual products was carried out by enzymatic method.

DSC analyses were performed to follow the changes in protein fractions of pressure treated minced beef and egg white samples. Since DSC did not bring clear results in case of milk samples, the changes in protein structure was studied by gel electrophoresis, where protein fractions were separated by nativ PAGE.

The colour of the pressurized minced meat, milk, egg white and egg yolk samples was measured by using a Minolta CR-200, and expressed as CIE Lab L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness).

The changes in odour parameters of milk samples caused by various pressure and heat treatment were analysed by electronic nose, which profiles the headspace volatiles over and around the sample, producing fingerprints for each sample.

In case of pressure treated strawberry the changes in the number of inoculated *Enterococcus faecalis* were investigated. The combined effects of various pressure (100-600 MPa), temperature (20 °C, 4 °C, -20 °C), and pH (7.2, 4.5) on *Enterococcus faecalis* culture were also studied, the degree of injury and inactivation were determined.

The results showed that in case of deboned turkey meat, the 200 MPa, 20 min treatment resulted in a significant reduction of viable cell counts and an increase of the shelf life of the product. On the other hand, an increase in TBARs values and formation of cholesterol oxidation products could be observed. In case of chicken liver, 300 MPa, 20 min treatment proved to be microbiologically sufficient, but induced a remarkable rise in TBARs values and cholesterol oxidation products. Unfavorable changes in the colour of chicken liver were experienced at each pressure level applied. In contrast with the expectations, even after 200 and 300 MPa pressure treatments considerable colour change was observed in minced beef samples. On these pressure levels the immediate microbiological results were satisfactory, but could not prevent microbial growth during refrigerated storage, did not have a considerable impact on the shelf life. High pressure treatment of milk samples at 400 MPa for 5 min reduced the total aerobic cell counts and increased the shelf life, the effect of the treatment

was comparable with heat treatment. Amongst proteins only β -lactoglobulin seemed to be pressure sensitive and denatured above 600 MPa. The pressure treated milk samples were well separated and distinguishable according to their odour components. Pressure treated egg white and egg yolk showed remarkable colour change which could be related with the extensive non-thermal protein denaturation. In strawberries, pressurized at 400 and 600 MPa for 5 min, the number of inoculated *Enterococcus faecalis* showed 5-6 log reduction, no recovery was detected during storage. At neutral conditions (pH 7.2) *Enterococcus faecalis* cells proved to be pressure resistant, only 600 MPa pressure treatment could achieve 4 log reduction of viable cell counts, which showed an increase during storage, the proportion of injured cells decreased. Under acidic condition (pH 4.5), *Enterococcus faecalis* cells become more sensitive to pressure, inactivation could be achieved at lower pressure (400 MPa), the sublethally injured cells could not recover during storage.

It can be ascertained that high hydrostatic pressure treatment efficiently decreased the number of microorganisms in each food sample used in this research. In case of deboned turkey and chicken liver the pressure-induced lipid oxidation may limit the usefulness of high pressure technology. Studies shall be continued to investigate the possible control of pressure-induced lipid oxidation by antioxidants. The modification of the colour of chicken liver and minced beef could be a break of the commercialization of pressurized products, combined treatments (mild heat, nisin addition) could be a solution to these modifications, further research is also needed on this particular area. In case of egg white and minced beef, the partially or complete non-thermal denaturation of protein fractions could lead to the change of functional properties, which would make possible to develop new products. Amongst the protein fraction of milk, only β -lactoglobulin seemed to be pressure sensitive, which could get a role in the making of allergenic free dairy products. The result of the work carried out with strawberries showed that high pressure treatment can improve the safety and the quality of strawberry, as a minimally processed product.

Regarding the further researches required, and the current cost and capacity limit of the high hydrostatic pressure technology, it is unlikely to replace conventional thermal processing, but it could offer commercially feasible alternatives in the case of novel food products with improved functional properties, that cannot be attained by conventional heating.

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Köszönöm Prof. Farkas Józsefnek témavezetői munkáját, kitartó támogatását és iránymutatását, mellyel doktori értekezésem elkészítéséhez segítséget nyújtott.

Szeretném kifejezni köszönetemet Kertészné dr Lebovics Vera részére a koleszterin oxidációs vizsgálatokban nyújtott segítségéért, hasznos tanácsaiért, útmutatásáért.

Mohácsiné dr Farkas Csillának a mikrobiológiai vizsgálatok, dr Hajós Gyöngyinek az elektroforézises vizsgálatok elkészítésében nyújtott pótolhatatlan segítségéért szeretném köszönetemet kinyilvánítani.

Köszönet illeti a Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék munkatársait, köztük dr Balla Csaba, Dalmadi István, Horti Krisztina, Magyariné Horváth Kinga, Mészáros László, Pásztorné dr Huszár Klára, dr Seregély Zsolt és dr Zsom Tamás kollegáimat, akik nagyban hozzájárultak kísérleteim elvégzéséhez.

Köszönettel tartozom dr Peter McClure és dr Gerhard Nebe-von-Caron, a Unilever Colworth House munkatársainak, hogy az ott eltöltött egy év alatt utamat egyengették, kutatómunkámban ösztönöztek.

Végül, de nem utolsósorban köszönetet mondok családtagjaimnak, a dolgozatom elkészítése során tanúsított türelmükért és kitartásukért.

1. melléklet:

IRODALOMJEGYZÉK

ADAPTA, S., SCHMIDT, K.A., TOLEDO, R. (1997): Functional properties of skim milk processed with continuous high pressure throttling. *J. Dairy Sci.*, 80, 1941-1948 p.

ALEMÁN, G.D., FARKAS, D.F., TORRES, J.A., WILHELMSSEN, E., MCINTYRE, S. (1994): Ultra-high pressure pasteurization of fresh cut pineapple. *J. Food Prot.*, 57, 931-934 p.

ALPAS, H., LALSHAYANAND, N., BOZOGLU, H., RAY, B. (2000): Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature, and pH on death and injury of pressure resistant and pressure sensitive strains of foodborne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.*, 60, 33-42 p.

AMAKO, D.E.N., XIONG, Y.L. (2001): Effects of carrageenan on thermal stability of proteins from chicken thigh and breast muscles. *Food Res. Int.*, 34, 247-253 p.

ANDRÁSSY, É., FARKAS, J., SEREGÉLY, ZS., DALMADI, I., TUBOLY, E., LEBOVICS, V. (2006): Changes of hen eggs and their components caused by non-thermal pasteurizing treatments II. Some non-microbiological effects of gamma irradiation or hydrostatic pressure processing on liquid egg white and egg yolk. *Acta Alimentaria*. 35 (3), 305-318 p.

ANESE, M., NICOLI, M.C., DALL' AGLIO, G., LERICI, C.R. (1995): Effect of high pressure treatments on peroxidase and polyphenoloxidase activities. *J. Food Biochem.*, 18, 285-293 p.

ARNTFIELD, S.D., ISMOND, M.A.H., MURRAY, E.D. (1990): Thermal analysis of food proteins in relation to processing effects. In Harwalkar, V.R. és Ma, C.Y. (szerk.) *Thermal analysis of foods*. Elsevier Applied Science, London, New York, 51-91 p.

ARROYO, G., SANZ, P.D., PRESTAMO, G. (1999): Response to high pressure, low temperature treatment in vegetables: determination of survival rates of microbial populations using flow cytometry and detection of peroxidase activity using confocal microscopy. *J. Appl. Microbiol.*, 86, 544-556.

AYMERICH, M.T., JOFRÉ, A., GARRIGA, M., HUGAS, M. (2005): Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* by natural antimicrobials and high hydrostatic pressure in sliced cooked ham. *J. Food Prot.*, 68, 173-177 p.

BARTA, J. (Ed.) (2007): A gyümölcsfeldolgozás technológiái. Budapest, Mezőgazda Kiadó, 396 p.

BARTLETT, D. (1992): Microbial life at high pressure. *Sci Prog Oxford*, 76, 479-496 p.

BASAK, S., RAMASWAMY, H.S. (1998): Effect of high pressure processing on texture of selected fruits and vegetables. *J. Text. Stud.* 29, 587-601 p.

BERLIN, D.L., HERSON, D.S., HICKS, D.T., HOOVER, D.G. (1999): Response of pathogenic *Vibrio* species to high hydrostatic pressure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 2776-2780 p.

BONOMI, F., FIOCCHI, A., FROKIAER, H., GAIASCHI, A., IAMETTI, S., POIESI, C., RASMUSSEN, P., RESTAIN, P., ROVERE P. (2003): Reduction of immunoreactivity of bovine β -lactoglobulin upon combined physical and proteolytic treatment. *J. Dairy Res.*, 70, 51-59 p.

BUFFA, M., GUAMIS, B., ROYO, C., TRUJILLO, A.J. (2001): Microbial changes throughout ripening of goat cheese made from raw, pasteurized and high pressure treated milk. *Food Microbiol.*, 18 (1) 45-51 p.

BUTZ, P., KOLLER, D., TAUSCHER, B. (1994): Ultra high pressure processing of onions: chemical and sensory changes. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 27, 463-467 p.

CANO, M.P., HERNANDEZ, A., DE ANCOS, B. (1997): High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. *J. Food Sci.*, 62 (1), 85-88 p.

CAPELLAS, M., MOR-MUR, M., SENDRA, E., PLA, R., GUAMIS, B. (1996): Populations of aerobic mesophils and inoculated *E. coli* during storage of fresh goat's milk cheese treated with high pressure. *J. Food Prot.*, 59 (6), 582-587 p.

CARBALLO, J., FERNANDEZ, P.S., CARRASCOSA, A.V., SOLS, M.T., JIMENEZ-COLMENERO, F. (1997). Characteristics of low and high fat beef patties: effect of high hydrostatic pressure. *J. Food Prot.*, 60, 48-53 p.

CARLEZ, A., ROSEC, J.P., RICHARD, N., CHEFTEL, J.C. (1993): High pressure inactivation of *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* in inoculated minced beef muscle. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 26, 357-363 p.

CARLEZ, A., ROSEC, J.P., RICHARD, N., CHEFTEL, J.C. (1994): Bacterial growth during chilled storage of pressure treated minced meat. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 27, 48-54 p.

CARLEZ, A., VECIANA-NOUGES, T., CHEFTEL, J.C. (1995): Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 28 (5), 528-538 p.

CASADEI, M.A. (2000): The use of high hydrostatic pressure in food microbiology- A review. *Campden and Chorleywood Food Research Association*.

CASTILLO, L., MÉSZÁROS, L., KISS, I.F. (2004): Effect of high hydrostatic pressure and nisin on microorganisms in minced meat. *Acta Alim.*, 33 (2), 183-190 p.

CHEAH, P.B., LEDWARD, D.A. (1996): High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. *Meat Sci.*, 43(6), 123-134 p.

CHEAH, P.B., LEDWARD, D.A. (1997): Catalytic mechanism of lipid oxidation following high pressure treatment in pork fat and meat. *J. Food Sci.*, 62(6), 1135-1141p.

CHEFTEL, J.C. (1995): Review: High pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci. Technol. Int.* 1, 75-90 p.

CHEFTEL, J.C. (1997): Commercial pressurized foods in Japan. In: Isaacs, N.S. (szerk.) *High pressure food science, bioscience and chemistry*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 506-507p.

CHEFTEL, J.C., CULIOLI, J. (1997): Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Sci.*, 46 (3), 211-236 p.

CHEN, H. (2007): Temperature assisted pressure inactivation of *Listeria monocytogenes* in turkey breast meat. *Int. J. Food Microbiol.*, 117, 55-60 p

CHICÓN, R., BELLOQUE, J., ALONSO, E., MARTÍN-ALVAREZ, P.J., LÓPEZ-FANDINO, R. (2008): Hydrolysis under Hydrostatic Pressure as a means to reduce the binding of β -lactoglobulin to immunoglobulin E from human sera. *J. Food Prot.*, 71 (7), 1453-1459 p.

COLMENERO, F.J., CARBALLO, J., FERNANDEZ, P., BARETTO, G., SOLAS, M.T. (1997): High pressure induced changes in the characteristics of low-fat and high-fat sausages. *J. Sci. Food Agric.*, 75, 61-66 p.

CRAWFORD, Y.J., MURANO, E.A., OLSON, D.G., SHENOY, K. (1996): Use of high hydrostatic pressure and irradiation to eliminate *Clostridium sporogenes* in chicken breast. *J. Food Prot.*, 59, 711-715 p.

CRELIER S., ROBERT, M.C., JULLIERAT, M.A. (1998): Effect of high pressure treatment on the texture and enzyme activities of selected vegetables. In : Ludvig H. (szerk.): *Advances in high pressure bioscience and biotechnology*. Springer 413-416 p

CSAPÓ, I. (1999): Koleszterin I. *A hús.* 1. 32-34 p.

CSAPÓ, I. (1999): Koleszterin II. *A hús.* 2. 86-89 p.

CSEHALMI, ZS., MÉSZÁROS, L., SASS, Á., TÓTH, M. (2004): Nagy hidrosztatikus nyomással kezelt gyümölcslevek vizsgálata. *Élelmezési Ipar*, 58(9), 265-270 p.

DALMADI, I., KÁNTOR, D.B., WOLZ, K., POLYÁK-FEHÉR, K., PÁSZTOR-HUSZÁR, K., FARKAS, J., FEKETE, A. (2007a): Instrumental analysis of strawberry puree processed by high hydrostatic pressure or thermal treatment. *Prog. Agric. Engin. Sci.*, 3(1), 47-66 p.

DALMADI, I., POLYÁK-FEHÉR, K., FARKAS, J. (2007b): Effects of pressure- and thermal-pasteurization on volatiles of some berry fruits. *High Pressure Research*, 27 (1), 169-172 p.

DALMADI, I., SEREGÉLY, ZS., FARKAS, J., TUBOLY E. (2007C): 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* Volume 18 (2), 7-9 p.

DEPLACE, G. (1995): Design of high pressure isostatic units for treatment of food products. In: Ledward, D.A., Johnston, D.E., Earnshaw, R.G., Hasting, A.P.M. (szerk.): *High Pressure Processing of Foods*, Loughborough, Nottingham University Press, 137-154 p.

DIEZ, A.M., SANTOS, E.M., JAIME, I., ROVIRA, J. (2008): Application of organic acid salts and high-pressure treatments to improve the preservation of blood sausage. *Food Microbiol.*, 25, 154-161 p.

DRAKE, M.A., HARRISON, S.L., ASPLUND, M., BARBOSA-CANOVAS, G., SWANSON, B.G. (1997): High pressure treatment of milk and effects on microbiological and sensory quality of cheddar cheese. *J. Food Sci.*, 62 (4), 843-845 p.

DUMOULIN, M., HAYASHI, R. (1998): High pressure, a unique tool for food texturization. *Food Sci Technol. Int.*, 4, 99-113 p.

DUMOULIN, M., OZAWA, S., HAYASHI, R. (1998): Textural properties of pressure induced gels of food proteins obtained under different temperatures including subzero. *J. Food Sci.*, 63, 63-65 p.

ENGESETH, N.J., GRAY, J.I. (1994): Cholesterol oxidation in muscle tissue. *Meat Sci.*, 36, 309-320 p.

ESTHIAGI, M.N., STUTE, R., KNORR, D. (1994): High pressure and freezing pretreatment effects on drying, rehydration, texture and color of green beans, carrots and potatoes. *J. Food Sci.*, 59 1168-1170 p.

FARKAS J., ANDRÁSSY É., LEBOVICS V., MÉSZÁROS L., HORTI K., TUBOLY E., DALMADI I., SEREGÉLY ZS. (2005): Tyúktojás és komponensei változásai nem-termikus pasztöröző kezelésekre hatására. Összefoglaló „Lippay János-Ormos Imre-Vas Károly” Tudományos Ülésszak 2005 október 19-20, Budapest

FARKAS, J., ANDRÁSSY, É., MÉSZÁROS, L. (2003): Increased salt- and nisin sensitivity of pressure –injured bioluminescent *Listeria monocytogenes*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 50(4), 331-337 p.

FDA Survey of imported fresh produce, FY 1999 Field Assignment, U.S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Plant and Dairy Foods and Beverages, January 30, 2001

FELIPE, X., CAPELLAS, M., LAW, A.R. (1997) Comparison of the effects of high pressure treatments and heat pasteurisation on the whey proteins in goat's milk. *J. Agric. Food Chem.*, 45 (3), 627-631 p.

FERNANDEZ, P.S., COFRADES, S., SOLAS, M.T., CARBALLO, J., JIMENEZ-COLMENERO, F. (1998): High pressure cooking of chicken batters with starch, egg white and iota carrageenan. *J. Food Sci.* 63, 267-271 p.

FERNANDEZ, P.P., SANZ, P.D., MOLÍNA-GARCÍA, A.D., OTERO, L., GUIGNON, B., VAUDAGNA, S.R. (2007): Conventional freezing plus high pressure- low temperature

treatment: Physical properties, microbial quality and storage stability of beef meat. *Meat Sci.*, 77, 616-625 p.

FORNBERG-BROZEK, M., ARABAS, J., GROECZKA, K., GROCHOWSKA, A., KARLOWSKI, K., KOSTRZEWA, E., SZCZEPEK, J., SCIEZYNSKA, H., WINDYGA, B., ZDZIENNICKA, D., ZURKOWSKA-BETA, J., POROWSKI, S. (1998): High pressure processed apple and strawberry dessert. In: Isaacs, N.S.(szerk.): *High pressure food science, bioscience and chemistry*. Bookcraft, Bath, 193-199 p.

FUCHIGAMI, M., KATO, N., TERAMOTA, A. (1998): High pressure freezing effects on textural quality of Chinesees caggage. *J. Food Sci.*, 63, 122-125 p.

FUCHIGAMI, M., MIYAZAKI, K., KATO, N., TERAMOTO, A. (1997): Histological change in high-pressure frozen carrots. *J. Food Sci.*, 62, 804-812 p.

GARCIA GRAELLS, C., HAUBEN, K.J.A., MICHELIS, C.W. (1998): High pressure inactivation and sublethal injury of pressure resistant *Escherichia coli* mutants in fruit juices. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 1566-1568 p.

GARCIA GRAELLS, C., MASSCHALCK, B., MICHELIS, C.W. (1999): Inactivaton of *Escherichia coli* in milk by high hydrostatic pressure treatment in combination with antimicrobial peptides. *J. Food Prot.*, 62(11) 1248-1254 p.

GARCIA-RISCO, M.R., OLANO, A., RAMOS, M., LOPEZ-FANDINO, R. (2000): Micellar changes induced by high pressure. Influence in the proteolytic activity and organoleptic properties of milk. *J. Dairy Sci.*, 83 (10), 2184-2198 p.

GARRIGA, M., GRÉBOL, N., AYMERICH, M.T., MONFORT, J.M., HUGAS, M. (2004): Microbial inactivation after high-pressure proessing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. In. *Food Sci. Technol.*, 5, 451-457 p.

GERVILLA, R., MOR-MUR, M., FERRAGUT, V., GUAMIS, B. (1999): Kinetics of destruction of *Escherichia coli* and *Pseudomonas fluorescens* inoculated in ewe's milk by high hydrostatic pressure. *Food Microbiol.*, 16, 173-184 p.

GERVILLA, R., FERRAGUT, V., GUAMIS, B. (2001): High hydrostatic pressure effects on colour and milk-fat globule of ewe's milk. *J. Food Sci.*, 66 (6), 880-885 p.

GIBBS, A., SOMERO, G.N. (1990): Pressure adaptation of teleost gill Na⁺/K⁺ -ATP-ase: role of lipid and protein moieties. *J. Comp. Physiol.* 160, 431-439 p.

GOMES, M.R.A., LEDWARD, D.A. (1996): Effects of high pressure treatment on the activity of some polyphenoloxidases. *Food Chem.*, 56, 1-5 p.

GOW-CHIN, Y., HSIN-TANG, L. (1998): Effects of high pressure and heat treatment on pectic substances and related characteristics in guava juice. *J. Food Sci.* 63, 684-687 p.

GUARDIOLA, F., CODONY, R., ADDIS, P.B., RAFECAS, M., BOATELLA, J. (1996): Biological effects of oxysterols: current status. *Food Chem. Toxic.*, 34 (2), 193-211 p.

HAYAKAWA, I., FURUKAWA, S., MIDZUNAGA, A., HORIUCHI, H., NAKASHIMA, T., FUJIO, Y., YANO, Y., ISHIKURA, T., SASAKI, K. (1998): Mechanism of inactivation of heat –tolerant spores of *Bacillus stearotherophilus* IFO 12550 by rapid decompression. *J. Food Sci.*, 63, 371-374 p.

HAYAKAWA, I., KAJIMARA, J., MORIKAWA, K., ODA, M., FUYITO, Y. (1992): Denaturation of bovine serum albumin and ovalbumin by high pressure, heat and chemicals. *J. Food Sci.*, 57, 288-292 p.

HAYAKAWA, I., LINKO, Y.Y., LINKO, P. (1996): Mechanism of high pressure denaturation of proteins. *Food Sci. Technol.* 29(8), 756-762 p.

HAYASHI, R., KAWAMURA, Y., KUNUGI, S. (1987): Introduction of high pressure to food processing: preferential proteolysis of β -lactoglobulin in milk. *J. Food Sci.*, 52, 1107-1108 p.

HAYASHI, R. (1989): Application of high pressure to food processing: Pressurization of egg white and yolk, and properties of gels formed. *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2935-2939 p.

HENDRICKX, M., LUDIKHUYZE, L., VAN DEN BROECK, I., WEEMAES, C. (1998): Effect of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends Food Sci Technol.*, 9, 197-203 p.

HIGLEY, N.A., TAYLOR, S.L., HERIAN, A.M., LEE, K. (1986): Cholesterol oxides in processed meat. *Meat Sci.* 16, 175 p.

HITE, B.H. (1899): The effects of pressure in the preservation of milk. *West Virginia Agric Exp. Sta. Bull.*, 58, 15-35 p.

HITE, B.H., GIDDINGS, N.J., WEAKLEY, C.E. (1914): The effect of pressure on certain microorganisms encountered in the preservation of fruits and vegetables. *West Virginia Agric Exp. Sta. Bull.*, 146, 2-46 p.

HONG, S.I., KIM, D.M. (2001): Storage quality of chopped garlic as influenced by organic acids and high pressure treatment. *J. Sci. Food Agric.*, 81, 397-403 p.

HOOVER, D.G. (1997): Minimally processed fruits and vegetables: reducing microbial load by non- thermal physical treatments. *Food Technol.*, 51, 66-71 p.

HOOVER, D.G., METRICK, C., PAPINEAU, A.M., FARKAS, D.F., KNORR, D. (1989): Biological effects of high hydrostatic pressure in food microorganisms. *Food Technol.*, 43(3), 99-107 p.

HUGAS, M., GARRIGA, M., MONFORT, J.M. (2002): New mild technologies in meat processing: High pressure as a model technology. *Meat Sci.*, 62, 359-371 p.

HUGHES, H., MATHEWS, B., LENZ, M.L., GUYTON, J.R. (1994): Cytotoxicity of oxidized LDL to porcine aortic smooth muscle cells is associated with the oxysterols. *Arteriosclerosis and Thrombosis.* 14, 1177-1185 p.

HWANG, J.S., LAI, K.M., HSU, K.C. (2007): Changes in textural and rheological properties of gels from tilapia muscle proteins induced by high pressure and setting. *Food Chem.*, 104, 746-753 p.

IDEI, M., HAJÓS, GY. (2001): Elektroforetikus és elektrokromatográfias módszerek fejlődése és alkalmazási lehetőségei. *Magyar Kémikusok Lapja* 56 (II), 365-401 p.

INDRAWATI, VAN LOEY, A., DENYS, S., HENDRICKX, M. (1998): Enzyme sensitivity towards high pressure at low temperature. *Food Biotechnol.*, 12 (3), 263-277 p.

JIMENEZ-COLMENERO, F., FERNANDEZ, P.S., CABALLO, J., FERNANDEZ-MARTIN, F. (1998): High pressure cooked low fat pork and chicken batters as affected by salt levels and cooking temperatures. *J. Food Sci.*, 63, 656-659 p.

JIMENEZ-COLMENERO, F. (2002): Muscle protein gelation by combined use of high pressure/temperature. *Trends in Food Sci. Technol.*, 13(1), 22-30 p.

JOHNSTON, D.E. (1995): High pressure effects on milk and meat. In: Ledward, D.A., Johnston, D.E., Earnshaw, R.G., Hasting, A.P.M. (szerk.): *High Pressure Processing of Foods*, Loughborough, Nottingham University Press, 99-121 p.

JORDAN, S.L., PASCUAL, C., BRACEY, E., MACKEY, B.M. (2001): Inactivation and injury of pressure resistant strains of *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes* in fruit juices. *J. Appl. Microb.*, 91, 463-469 p.

JOUNG, S., GHOUL, M., DE LAMBALLERIE-ANTON, M. (2003): Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 36, 625-631 p.

KALCHAYANAND, N., SIKES, A., DUNNE, C.P., RAY, B. (1998): Factors influencing death and injury of foodborne pathogens by hydrostatic pressure-pasteurization. *Food Microbiol.*, 15, 207-214 p.

KALICHEVSKY, M. T., KNORR, D., LILLFORD, P. J. (1995): Potential food applications of high-pressure effects on ice-water transitions. *Trends Food Sci. Technol.*, 6, 253-259 p.

KNORR, D. (1993): Effects of high hydrostatic pressure processes on food safety and quality. *Food Technol.*, 47, 156-161p.

KNORR, D. (1995a): Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology. In: Gould, G.W. (szerk.): *New Methods for Food Preservation*. New York, Blackie Academic and Professional 159-175 p.

KNORR, D. (1995b): High pressure effects on plant derived foods. In: Ledward, D.A., Johnston, D.E., Earnshaw, R.G., Hasting, A.P.M. (szerk.): *High Pressure Processing of Foods*. Loughborough, Nottingham University Press, 123-135 p.

- KONCZ, Á., MÉSZÁROS, L., FARKAS, J., PÁSZTOR-HUSZÁR, K., HELT, R., LECHNER, N. (2007): Pasteurization of raw milk by high hydrostatic pressure. *Acta Alimentaria*, 36 (4), 471-481 p.
- KURAL, A.G., CHEN, H. (2008): Conditions for a 5-log reduction of *Vibrio vulnificus* in oysters through high hydrostatic pressure treatment. *Int. J. Food Microbiol.*, 122, 180-187 p.
- KURAL, A.G., SHEARER, A.E.H., KINGSLEY, D.H., CHEN, H. (2008): Conditions for high pressure inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters. *Int. J. Food Microbiol.*, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.003
- KYUNG-HYUN, S., HYONG-JOO, L. (1998): Effect of high pressure treatment on the quality and storage of kimchi. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 33, 359-365 p.
- LAMBERT, Y., DEMAIZEAU, G., LARGETEAU, A., BOUVIER, J-M. (1998): Effects of high hydrostatic pressure on the aromatic compounds of strawberry coulis. In: Ludwig, H. (szerk): *Advances in high pressure bioscience and biotechnology*. Springer, 439-442 p.
- LANCIOTTI, R., GARDINI, F., SINIGAGLIA, M., GUERZONI, M.E. (1996): Effects of growth conditions on the resistance of some pathogenic and spoilage species to high pressure homogenization. *Lett. Appl. Microbiol.*, 22, 165-168 p.
- LEBOVICS, V., ANTAL, M., GAÁL, Ö. (1995): Enzymatic determination of cholesterol oxides. *J. Sci Food Agric.*, 71, 22-26 p.
- LEBOVICS, V., GAAL, O., ANTAL, M., FARKAS, J., SOMOGYI, L. (1996): Study of oxidized cholesterol derivatives in foodstuffs. *Radiation Physics and Chemistry*, 48(3), 385 p.
- LINTON, M., MCCLEMENTS, J.M.J., PATTERSON, M.F. (1999): Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in orange juice using a combination of high pressure and mild heat. *J. Food Prot.*, 62, 277-279 p.
- LINTON, M., MCCLEMENTS, J.M.J., PATTERSON, M.F. (2004): Changes in the microbiological quality of vacuum-packaged minced chicken treated with high hydrostatic pressure. *Innovat. Food Sci. Emerg Technol.*, 5, 151-159 p.
- LOPEZ-FANDINO, R., CARRASCOSA, A.V., OLANO, A. (1996): The effects of high pressure on whey protein denaturation and cheese-making properties of raw milk. *J. Dairy Sci.* 79, 929-936 p.
- LOPEZ-MALO, A., PALOU, E., BARBOSA-CANOVAS, G.V., WELTI-CHANES, J., SWANSON, B.G. (1998): Polyphenoloxidase activity and color changes during storage of high hydrostatic pressure treated avocado purée. *Food Res. Int.*, 31(8), 549-556 p.
- LUDI KHUYZE, L., INDRAWATI, VAN DEN BROECK, I., WEEMAES, C., HENDRICKX, M. (1998): Effect of combined pressure and temperature on soyabean lipoxygenase: I. Influence of extrinsic and intrinsic factors on isobaric isothermal inactivation kinetics. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 4074-4080 p.

LUDWIG, H.C., BIELER, C., HALLBAUER, K., SCIGALLA, W. (1992): Inactivation of microorganisms by hydrostatic pressure. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K., Mason, P. (szerk): *High Pressure and Biotechnology*. John Libbey Eurotext, Montroque, 25-32 p.

LUKÁCS, GY. (1982): *Színmérés*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest

LUSCHER, C., BALASA, A., FROHLING, A., ANANTA, E., KNORR, D. (2004): Effect of high pressure induced ice-I to ice-III phase transitions on inactivation of *Listeria innocua* in frozen suspension. *App. Environ. Microbiol.*, 70 (7), 4021-4029 p.

MACFARLANE, J.J. (1989): High pressure technology and meat quality. *Developments in meat Science*, 6, 155-184 p.

MA, H., LEDWARD D.A. (2004): High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Sci.*, 68, 347-355 p.

MACKEY, B.M., FORESTIERE, K., ISAACS, N., STENNING, R., BROOKER, B. (1994): The effect of high hydrostatic pressure on *Salmonella thompson* and *Listeria monocytogenes* examined by electron microscopy. *Lett. Appl. Microbiol.*, 19, 429-432 p.

MERMELSTEIN, W.H. (1997): High pressure processing reaches the U.S. market. *Food Technol.*, 51, 95-96 p.

MERMELSTEIN, W.H. (1999): High pressure pasteurization of juice. *Food Technol.*, 53, 86-90 p.

MERTENS, B. (1995): Hydrostatic pressure treatment of food: equipment and processing. In: Gould, G.W. (szerk): *New Methods of Food Preservation*. London, Blakie Academic and Professional. 135-158 p.

MERTENS, B., DEPLACE, G. (1993): Engineering aspects of high pressure technology in the food industry. *Food Technol.*, 6, 164-169 p.

MÉSZÁROS, L., CASTILLO, L., KISS, I. (1999): Effect of high hydrostatic pressure and nisin on *Listeria monocytogenes* in minced beef. Poszter prezentáció: *European Conference on Emerging Food Science and Technology*. Tampere, Finnország.

MÉSZÁROS, L. FARKAS, J.(2000): Investigation of the effect of high hydrostatic pressure on meat by differential scanning calorimetry. In: *Workbook of HIP-2000: Hungarian-Israeli-Polish Symposium on Thermal Analysis and Calorimetry*. Hungarian Chemical Society/Budapest University of Technology and Economics, Magyarország, 31 p.

MEYER, R.S., COOPER, K.L., KNORR, D., LELIEVELD, H.L.M. (2000): High pressure sterilization of foods. *Food Technol.*, 54 (11) 67-72 p.

MILLS, G., EARNSHAW, R.G., PATTERSON, M.F. (1998): Effects of high hydrostatic pressure on *Clostridium sporogenes* spores. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26, 227-230 p.

MINOLTA KÉZIKÖNYV (1992)

MOHÁCSI-FARKAS, CS., KISKÓ, G., MÉSZÁROS, L., FARKAS, J. (2002): Pasteurisation of tomato juice by high hydrostatic pressure treatment or by its combination with essential oils. *Acta Alimentaria*, 31(3), 243-252 p.

MOLINA-GARCIA, A.D (2002): The effect of hydrostatic pressure on biological systems. *Biotechnol. Gen. Engin. Rev.*, 19, 3-54 p.

MOR-MUR, M., YUSTE, J. (2003): High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: Physical properties and sensory analysis. *Meat Sci.*, 65, 1187-1191 p.

MOR-MUR, M., YUSTE, J. (2005): Microbiological aspects of high pressure processing. In Sun, D.W. (ed): *Emerging technologies for food processing*. Dublin, Ireland. 47-65 p.

MORALES, P., CALZADA, J., NUNEZ, M. (2006): Effect of high pressure treatment on the survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in sliced vacuum-packaged iberian and serrano cured hams. *J. Food Prot.*, 69, 2539-2543 p.

MOREAU, C. (1995): Semi-continuous high pressure cell for liquid processing. In: Ledward, D.A., Johnston, D.E., Earnshaw, R.G., Hasting, A.P.M. (szerk.): *High Pressure Processing of Foods*, Loughborough, Nottingham University Press, 181-189 p.

MORGAN, S.M., BERESFORD, T.P., HILL, C. (2000): Combination of hydrostatic pressure and lacticin 3147 causes increased killing of *Staphylococcus* and *Listeria*. *J. Appl. Microbiol.*, 88 (3), 414-420 p.

MUSSA, D.M., RAMASWAMY, H.S. (1997): Ultra high pressure pasterurization of milk: kinetics of microbial destruction and changes in physico-chemical characteristics. *Lebensm. Wiss Technol.*, 30, 551-557 p.

NEEDS, E.C., CAPELLAS, M., BLAND, P., MANOJ, P., MACDOUGAL, D.B., GOPAL, P. (2000): Comparison of heat and pressure treatments of skimmed milk, fortified with whey protein concentrate, for set yoghurt preparation: effects on milk protein and gel structure. *J. Dairy Res.*, 67, 329-348 p.

NEWBURG, D.S., CONCON, J.M. (1980): Malonaldehyde concentration in foods are affected by cooking conditions. *J. Food Sci.*, 45, 1681 p.

O'BRIEN, J.K., MARSHALL, R.T. (1996): Microbiological quality of raw ground chicken processed at high isostatic pressure. *J. Food Prot.*, 59, 146-150.p.

OGAWA, H., FUKUHISA, K., FUKUMOTO, H. (1992): Effect of hydrostatic pressure on sterilization and preservation of citrus juice. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K., Mason, P. (szerk): *High Pressure and Biotechnology*. John Libbey Eurotext, Montroque, 9 p.

OGAWA, H., FUKUHISA, K., KUBO, Y., FUKUMOTO, H. (1990): Pressure inactivation of yeasts, molds and pectinesterase in satuma mandarin juice: effects of juice concentration, pH and organic acids, and comparison with heat sanitation. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1219-1225 p.

OHMORI, T., SHIGEHISA, T., TAJI, S., HAYASHI, R. (1991): Effect of high pressure on the protease activities in meat. *Biol. Chem.*, 55, 357-361 p.

OLSEN, K., KRISTIANSEN, K.R., SKIBSTED, L.H. (2003): Effect of high hydrostatic pressure on the steady-state kinetics of tryptic hydrolysis of β -lactoglobulin. *Food Chem.*, 80, 255-260 p.

O'REILLY, C., O'CONNOR, P.M., KELLY, A.L., BERESFORD, T.P., MURPHY, P.M. (2000): Use of hydrostatic pressure for inactivation of microbial contaminants in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66 (11), 4890-4896 p.

OSHIMA, T., USHIO, H., KOIZUMI, C. (1993): High pressure processing of fish and fish products. *Trends Food Sci. Technol.*, 4, 370-375 p.

OSUMI, H., YAMADA, N., SATO, M., KOBORI, H., SHIMADA, S., HAYASHI, R. (1992): Pressure effects yeast cell ultrastructure: changes in the ultrastructure and cytoskeleton of the dimorphic yeast, *Candida tropicalis*. In: Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K., Mason, P. (szerk): *High Pressure and Biotechnology*. John Libbey Eurotext, Montroque. 9p.

OXEN, P., KNORR, D. (1993): Baroprotective effects of high solute concentrations against inactivation of *Rhodotorula rubra*. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 26, 220-223 p.

PALOU, E., HERNANDEZ-SALGADO, C., LOPEZ-MALO, A., BARBOSA-CANOVAS, G.V., SWANSON, B.G., WELTI-CHANES, J. (2000): High pressure processed guacamole. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 1, 69-75 p.

PALOU, E., LOPEZ-MALO, A., BARBOSA-CANOVAS, G.V., WELTI-CHANES, J., SWANSON, B.G. (1997): Effect of water-activity on high hydrostatic pressure inhibition of *Zygosaccharomyces bailii*. *Appl. Microbiol.*, 24, 417-420 p.

PALOU, E., LOPEZ-MALO, A., BARBOSA-CANOVAS, G.V., WELTI-CHANES, J., DAVIDSON, P.M., SWANSON, B.G. (1998a): High hydrostatic pressure come upo time and yeast viability. *J. Food Prot.*, 61, 1657-1660 p.

PALOU, E., LOPEZ-MALO, A., BARBOSA-CANOVAS, G.V., WELTI-CHANES, J., SWANSON, B.G. (1998 b): Oscillatory high hydrostatic pressure inactivation of *Zygosaccharomyces bailii*. *J. Food Prot.*, 61, 1213-1215 p.

PALOU, E., LOPEZ-MALO, A., BARBOSA-CANOVAS, G.V., WELTI-CHANES, J., SWANSON, B.G. (1999): Polyphenoloxidase activity and colour of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *J. Food Sci.*, 64, 42-45 p.

PANDYA, Y., JEWETT, F.F., HOOVER, D.G., (1995): Concurrent effect of high hydrostatic pressure, acidity and heat on the destruction and injury of yeast. *J. Food Prot.*, 58, 301-304 p.

PAPINEAU, A.M., HOOVER, H.G., KNORR, D., FARKAS, D.F. (1991): Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydrostatic pressure. *Food Biotechnol.*, 5, 45-57 p.

PARKSON, L.C., FORTES, P.A.G., JAMESON, D.M. (1985): Mechanisms of inhibition of Na/K-ATP-ase by hydrostatic pressure studied with fluorescent probes. *J. Biol. Chem.*, 260, 14484-14490 p.

PARISH, M.E. (1998): Orange juice quality, after treatment by thermal pasteurization and isostatic high pressure. *Lebensm. Wiss. Technol.* 31, 439-442 p.

PÁSZTOR-HUSZÁR, K. (2008): Protein changes of various types of milk as affected by high hydrostatic pressure processing. PhD Thesis, Budapest, 2008

PATTERSON, M.F. (2005): Microbiology of pressure treated foods. *J. Appl. Microbiol.*, 98 (6): 1400-1409 p.

PATTERSON, M.F., KILPATRICK, D.J. (1998): The combined effect of high hydrostatic pressure and mild heat on inactivation of pathogens in milk and poultry. *J. Food Prot.*, 61, 432-436 p.

PATTERSON, M.F., QUINN, M., SIMPSON, R., GILMOUR, A. (1995): Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphatic-buffered saline and foods. *J. Food Prot.*, 58 (5), 524-529 p.

PONCE, E., PLA, R., SENDRA, E., GUAMIS, B., MOR-MUR M. (1998): Combined effect of nisin and high hydrostatic pressure on destruction of *Listeria innocua* and *Escherichia coli* in liquid whole egg. *Int. J. Food Microbiol.*, 43, 15-19 p.

POPPER, L., KNORR, D. (1990): Application of high pressure homogenization for food preservation. *Food Technol.*, 44, 84-89 p.

PORETTA, S., BIRZI, A., GHIZZONI, C., VICINE, E. (1995): Effects of ultra-high hydrostatic pressure treatments on the quality of tomato juice. *Food Chem.*, 52, 35-41 p.

PRESTAMO, G., SANZ, P.D., FONBERG-BROCZEK, M., ARROYO, G. (1999): High pressure response of fruit jams contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 28, 313-316 p.

RADEMACHER, B., KESSLER, H.G. (1997): High pressure inactivation of microorganisms and enzymes in milk and milk products. In Heremans, K (ed) *High Pressure Research in the Bio- Science and Biotechnology*, Leuven University Press, Leuven, Belgium, 291-293 p.

RASO, J., BARBOSA-CANOVAS, G.V., SWANSON, B.G. (1998a): Sporulation temperature affects initiation of germination and inactivation by high hydrostatic pressure of *Bacillus cereus*. *J. Appl. Microbiol.*, 85, 17-24 p.

RASO, J., CALDERON, M-L., GONGORA, M., BARBOSA-CANOVAS, G.V., SWANSON, B.G. (1998b): Inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in fruit juices by heat, hydrostatic pressure and pulse electric fields. *J. Food Sci.*, 63, 1042-1044 p.

RAYMOND, D.E., HARWALKAR, V.R., MA, C.Y. (1992): Detection of incubator rejected eggs by differential scanning calorimetry. *Food Res. Int.*, 25, 31-35 p.

RUBIO, B., MARTÍNEZ, B., GARCÍA-GACHÁN, M.D., ROVIRA, J., JAIME, I. (2007a): Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef „Cecina de Leon”. *Innovative. Food Sci Emerg Technol.*, 8, 102-110 p.

RUBIO, B., MARTÍNEZ, B., GARCÍA-GACHÁN, M.D., ROVIRA, J., JAIME, I. (2007b): The effects of high pressure treatment and of storage periods on the quality of vacuum-packed salchichón made of raw material enriched in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 8, 180-187 p.

SANCHO, F., LAMBERT, Y., DEMAZEAU, G., LARGETEAU, A., BOUVIER, J.-M., NARBONNE, J-F. (1999): Effects of ultra high hydrostatic pressure on hydrosoluble enzymes. *J. Food Eng.*, 39, 247-253 p.

SELMAN, J. (1992): New technologies for the food industry. *Food Sci. Technol. Today*, 6, 205-209 p.

SEREGÉLY, ZS., FARKAS, J., TUBOLY, E., DALMADI, I. (2006): Investigating the properties of egg white pasteurized by ultra-high hydrostatic pressure and gamma irradiation by evaluating their NIR spectra and chemosensor array sensor signal responses using different methods of qualitative analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. Volume 82, pp.115-121.

SEVERINI, C., ROMANI, S., DALL'AGLIO, G., ROVERE, P., CONTE, L., LERICI, C.R. (1997): High pressure effects on oxidation of extra virgin oils. *Int. J. Food Sci.*, 3 (9) 183-191p.

SEYDERHELM, I., BOGUSLAWSKY, S., MICHAELIS, G., KNORR, D. (1996): Pressure induced inactivation of selected food enzymes. *J. Food Sci.*, 61, 308-310 p.

SHIGEHISA, T., OHMORI, T., SAITO, A., TAJI, S., HAYASHI, R. (1991): Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 12, 207-216 p.

SHIMADA, S., ANDAI, M., NAITO, N., YAMADA, N., OSUMI, M., HAYASHI, R. (1993): Effects of hydrostatic pressure on the ultrastructure and leakage of internal substances in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 40, 123-131 p.

SMELT, J.P. (1998): Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends Food Sci. Technol.*, 9, 152-158 p.

SMELT, J.P., RIJKE, G. (1992): High pressure treatment as a tool for pasteurization of foods. In Balny et al. (eds) *High Pressure and Biotechnology*. John Libbey Eurotext, 361-363 p.

SMITH, L.L. (1996): Review of progress in sterol oxidation. *Lipids* 31 (5), 453-487 p.

SOFOS, J.N., HAMAYANI, E., SMITH, G.C. (1996): Cholesterol: health effects and potential for reduction. *Meat Focus Int.*, 20

SUPAVITIPATANA, T., APICHARTSRANGKOON, A. (2007): Combination effects of ultra high pressure and temperature on the physical and thermal properties of ostrich meat sausage (yor). *Meat Sci.*, 76, 555-560 p.

- SUZUKI, A., HOMMA, N., FUKUDA, A., HIRAO, K., URYU, T. (1994): Effects of high pressure treatment on the flavor-related components in meat. *Meat Sci.*, 37, 369-379 p.
- SUZUKI, A., WATANABE, M., IWAMURA, K., IKEUCHI, Y., SAITO, M. (1990): Effect of high pressure on the ultrastructure and myofibrillar protein of beef skeletal muscle. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 3085-3091 p.
- TAKAHASHI, Y., OHTA, H., YONEI, H., IFUKU, Y. (1993): Microbicidal effect of hydrostatic pressure on Satuma mandarin juice. *Int. J. Food Sci Technol.* 28, 95-102 p.
- THAKUR, B. R., NELSON, P.E. (1998): High pressure processing and preservation of food. *Food Rev. Int.*, 14, 427-447 p.
- TEO, A.Y.M., RAVISHANKAR, R., SIZER, C.E. (2001): Effect of low temperature, high pressure treatment on the survival of *Escherichia coli* O 157:H7 and *Salmonella* in unpasteurized fruit juices. *J. Food Prot.*, 64 (8), 1122-1127 p.
- TRUJILLO, A.J., ROYO, C., FERRAGUT, V., GUAMIS, B. (1999): Ripening profiles of goat cheese produced from milk treated with high pressure. *J. Food Sci.*, 64 (5), 833-837 p.
- URRUTIA-BENET, G. (2005): High pressure-low temperature processing of foods: Impact of metastable phases of process and quality parameters. PhD thesis, Berlin University of Technology.
- VAN DEN BROECK, I., LUDI KHUYZE, L., VAN LOEY, A., HENDRICKX, M. (2000): Effect of temperature and/or pressure in tomato pectinesterase activity. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 551-558 p.
- VAN DEN BROECK, I., LUDI KHUYZE, L., WEEMAES, C., VAN LOEY, A., HENDRICKX, M. (1998): Kinetics for isobaric-isothermal degradation of l-ascorbic acid. *J. Agric. Food Chem.* 46 (5) 2001-2006 p.
- VAN DER PLANCKEN, I., VAN LOEY, A., HENDRICKX, M.E. (2005): Combined effect of high pressure and temperature on selected properties of egg white proteins. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 6 (1), 11-20 p.
- VAN LOEY, A., OOMS, V., WEEMAES, C., VAN DEN BROECK, I., LUDI KHUYZE, L., INDRAWATI, DENYS, S., HENDRICKX, M. (1998): Thermal and pressure-temperature degradation of chlorophyll in broccoli (*Brassica oleracea* L. italica) juice.: A kinetic study. *J. Agric. Food Chem.* 46, 2001-2006 p.
- WATANABE, M., ARAI, E., KUMENO, K., HOMMA, K. (1991): A new method for producing non-heated jam sample: The use of freeze concentration and high pressure sterilization. *Biol. Chem.*, 55, 2175-2176 .
- WEEMAES, C., LUDI KHUYZE, L., VAN DEN BROECK, I., HENDRICKX, M. (1998): High pressure inactivation of polyphenoloxidases. *J. Food Sci.*, 63, 873-877 p.

WEEMAES, C., OOMS, V., LUDI KHUYZE, L., VAN DEN BROECK, I., VAN LOEY, A., HENDRICKX, M. (1999): Pressure-temperature degradation of green color in broccoli juice. *J. Food Sci.*, 64, 504-508 p.

WUYTACK, E.Y., BOVEN, S., MICHIELS, C.V. (1998): Comparativ study of pressure induced germination of *Bacillus subtilis* spores at low and high pressures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 3220-3224 p.

WUYTACK, E.Y., DIELS, A.M.J., MICHIELS, C.W. (2002): Bacterial inactivation by high pressure homogenisation and high hydrostatic pressure. *Int. J. Food Microb.*, 77, 205-212 p.

YEN, G.C., LIN, H.T. (1996): Comparison of high pressure treatment and thermal pasteurization effects on the quality and shelf life of guava purée. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 31, 205-213 p.

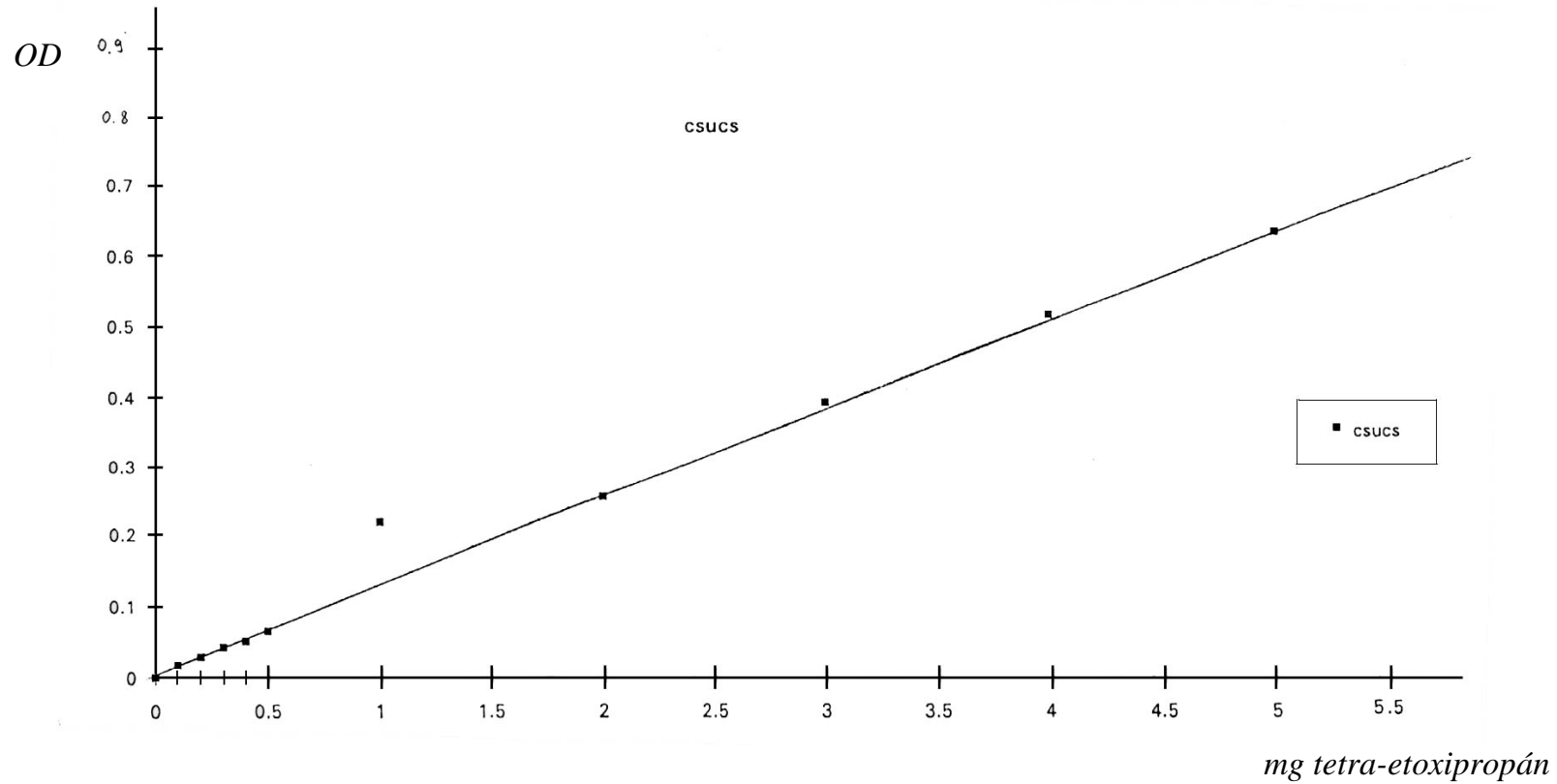
YEN, G.C., LIN, H.T. (1999): Changes in volatile flavor components of guava juice with high pressure treatment and heat processing and during storage. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 2082-2087 p.

YUSTE, J., MOR-MUR, M., CAPELLAS, M., GUAMIS, B., PLA, R. (1998): Microbiological quality of mechanically recovered poultry meat treated with high hydrostatic pressure and nisin. *Food Microbiol.*, 15, 407-414 p.

ZUBILLAGA, M.P., MAERKER, G. (1991): Quantification of three cholesterol oxidation products in raw meat and chicken. *J. Food Sci.*, 56 (5), 1194-1196 p.

MELLÉKLETEK

TEP kalibráció



$r = 0,992883$

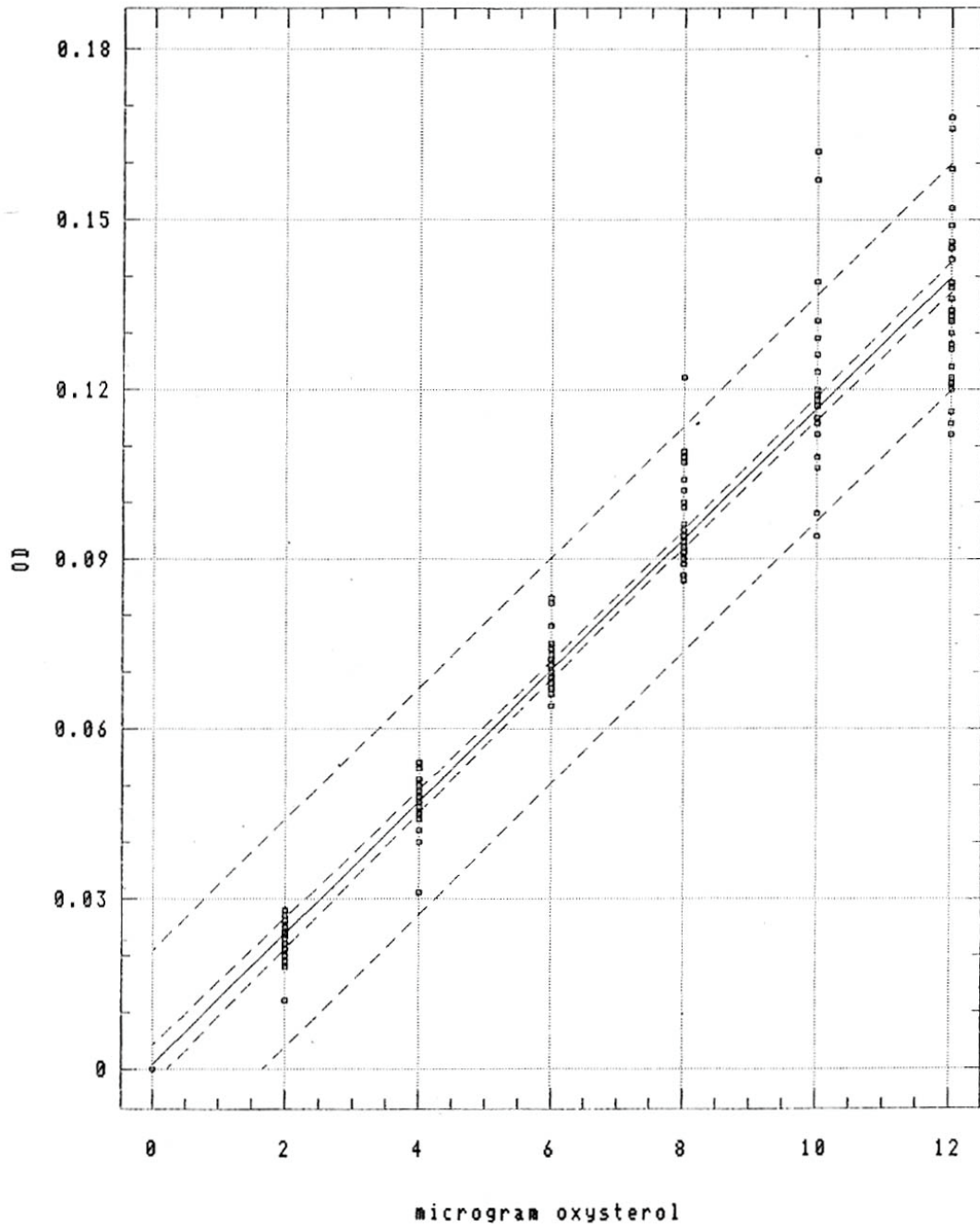
$$y = ax + b$$

$$a = 0,125637 * 5 = 0.628$$

$$b = 0.0126627$$

2. melléklet: TEP koncentráció és optikai denzitás közötti összefüggés

Regression of ALL.OD on microgram

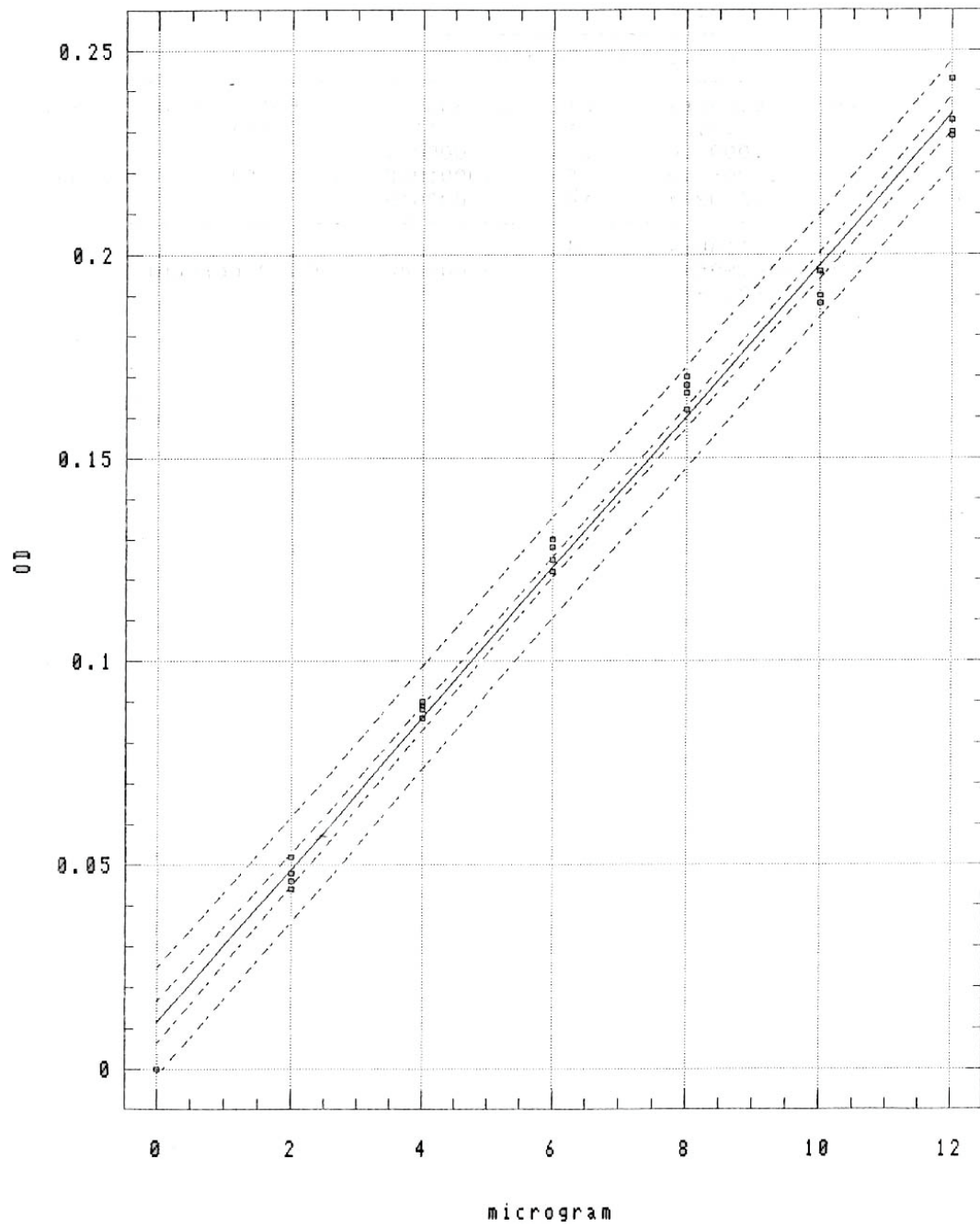


$$y = a + bx$$
$$a = 0,0032$$
$$b = 0,0109$$

$$r = 0,96996$$

3. melléklet: az oxiszterinek (7α -, 7β hidroxikoleszterin, 7 ketokoleszterin, kolesztan- 3β , 5α , 6β - triol) koncentrációja és optikai denzitása közötti összefüggés (Lebovics et al., 1995)

RELATIONSHIP BETWEEN THE AMOUNT OF
CHOLESTEROL 5 alpha,6 alpha EPOXIDE



$$y = a + bx$$
$$a = 0,01169$$
$$b = 0,01857$$

$$r = 0,99647$$

4. melléklet: a koleszterin- 5 α ,6 α -epoxid koncentrációja és optikai denzitása közötti összefüggés (Lebovics et al., 1995)