

Doktori értekezés tézisei

DARNAY LÍVIA

Budapest
2016



SZENT ISTVÁN EGYETEM

Hűtő- és Állattermék Technológiai Tanszék

MIKROBIÁLIS TRANSZGLUTAMINÁZ
ALKALMAZHATÓSÁGA TEJ- ÉS HÚSIPARI
TERMÉKEKNÉL

DARNAY LÍVIA

Budapest

2016

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Vatai Gyula
Egyetemi tanár, DSc
SZIE, Élelmiszertudományi Kar,
Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék

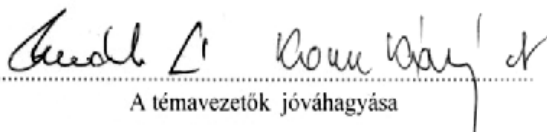
Témavezetők: Koncz Kálmánné, dr.
Nyugalmazott egyetemi docens, PhD
SZIE, Élelmiszertudományi Kar
Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék

Dr. Friedrich László
Tanszékvezető, egyetemi docens, PhD
SZIE, Élelmiszertudományi Kar
Hűtő- és Állatitermék Technológiai Tanszék

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.



Az iskolavezető jóváhagyása



A témavezetők jóváhagyása

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKÍTÜZÉS

Napjainkban az élelmiszeripar számára azok a kutatások fontosak, amelyek a leginkább kiszolgálják a fogyasztói igényeket, s így a legnagyobb bevételhez vezetnek. A korszerű táplálkozási elvárásoknak megfelelő termékek energiaszegények, lehetőleg tartósítószer- és adalékanyag-mentesek, de ezeken kívül rendelkezniük kell a hagyományos termékeknél megszokott íz- és állományjellemzőkkel is.

A fermentált, savas- és oltós alvasztású tejtermékek, valamint a vörösáruk minőségi jellemzői szoros összefüggésben állnak azok fizikai tulajdonságaival, így például a tejtermékek savóeresztésével, gélszilárdságával, keménységével és a húsipari termékek vízkötő képességével, keménységével, rugalmasságával. A megfelelő reológiai tulajdonságokhoz köthető kedvező érzékszervi jellemzők kialakításához napjainkban számos adalékanyag és segédanyag áll a gyártók rendelkezésére, melyek azonban a fogyasztókból egyre inkább bizalmatlanságot és elutasítást váltanak ki.

E termékek állományjellemzőinek javítására lehetőséget adhat a transzferázok csoportjába tartozó mikrobiális transzglutamináz enzim (mTG, EC 2.3.2.13) is, melynek segítségével molekulán belüli és molekulák közötti kovalens kötések hozhatók létre a két aminosav, a glutamin és a lizin között, ezáltal a tej- és húsfehérjék szerkezete stabilizálhatóvá válik. Mióta a Ca^{2+} független mTG enzim mikrobiális fermentációval ipari léptékben is előállítható, azóta ez az enzim az élelmiszeripar számára valódi

lehetőséget jelent az állománymódosító adalékanyagok részleges vagy teljes kiváltására. Az enzimkezelés szerepének megértése, az enzim működési mechanizmusának megismerése az 1990-es évek óta az élelmiszeripari-kutatások egyik fontos témája. Ennek folyamataként számos tejipari és húsipari termék gyártástechnológiájának módosítására tettek javaslatot és sok szabadalom született. A tudományos irodalom feltérképezése után azonban világosan látszik, hogy a publikált kutatásokban többnyire csak adott célnak (pl.: zsírmentes habart joghurt, foszfátmentes virsli) megfelelő termékek kialakításán dolgoztak. Továbbá felismerhető, hogy az mTG koncentrációját széles tartományban változtatták, mert annak hatása az évtizedes kutatások ellenére sem egyértelmű.

Ezt felismerve, doktori kutatásaim fő célkitűzése a mikrobiális transzglutamináz (mTG) enzim fehérje tartalmú élelmiszerekben kifejtett állománymódosító hatásának nyomon követése és a hatás tudományos alátámasztása.

Az mTG enzim aktivitásának közvetlen megállapítása érdekében vizsgáltam, hogy milyen klasszikus, ill. műszeres analitikai módszerek alkalmazhatóak az enzim aktivitásának modell oldatban valamint tejipari és húsipari élelmiszermátrixban történő meghatározására.

Az mTG enzim közvetett hatásának meghatározása érdekében vizsgáltam a kezelés körülményeinek (az enzim készítménynek, az mTG koncentrációjának, az mTG adagolás időzítésének) szerepét pohárban alvasztott joghurt, rögös állományú túró, trappista jellegű félkemény sajt és frankfurti jellegű virsli előállításánál.

figyelembe vettem az általánosan alkalmazott gyártástechnológiából adódó lehetőségeket. Az mTG enzim gélképződést befolyásoló hatásának tudományos alátámasztása érdekében részletesen vizsgáltam a joghurt modell oldat és a pohárban alvasztott joghurt fermentációja során lezajló szol-gél átalakulást. Kísérleteim során megfigyeltem az alkalmazott térfogatnövelő szer illetve a tejsavbaktérium hatását is. Az mTG enzim adalékanyagokat kiváltó szerepének feltárásához vizsgáltam, hogy mennyivel csökkenthető a pác-só illetve a foszfát mennyisége abban az esetben, ha a frankfurti jellegű virsli gyártástechnológiában mTG enzimet alkalmazunk.

A kitűzött tudományos feladat elvégzéséhez elsősorban laboratóriumi és félüzemi szinten végeztem kísérleteket. Eredményeim alapján konkrét javaslatot kívánok tenni csökkentett zsír- ill. adalékanyag tartalmú tejipari és húsipari termékek nagyüzemi gyártástechnológiájához.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. A vizsgált termékek előállítása

Kísérleteimben az enzim koncentrációt U/g fehérje mértékegységben adom meg, mint ahogy sok más kutató is.

2.1.1. Savanyú kazein modell oldat

Az osszcillációs méréseket savanyú kazein oldatok segítségével valósítottam meg. Ehhez 2,7 m/v%-os savanyú kazein oldatot készítettem foszfát pufferben. A pH 6,8 (+/- 0,05) foszfát puffer 0,2 M NaH_2PO_4 és 0,2 M Na_2HPO_4 felhasználásával készült. A savanyú kazein oldatot 0,3 g/l Na-aziddal tartósítottam. Az enzimkezelt oldatok elkészítése során 3 U/g fehérje Activa MP-nek (enzimaktivitás: 100 U/g) megfelelő por formájú enzimmérsítményt oldottam 10 ml desztillált vízben, majd ezt az enzimes oldatot adtam a 2,7 m/v% savanyú kazein oldathoz. Az enzimkezelés 40 °C-on meghatározott ideig (0; 1; 2; 3; 4; 5 óráig) tartott. A következő lépés az enzim inaktíválása volt (15 p., 85 °C), ezután a mintákat jéggel szobahőmérsékletre hűtöttem és a mérésig fagyasztva tároltam. A gélképződéshez minden kazein oldathoz különböző koncentrációban (3,5%; 4%; 4,5%) GDL-t (glükono-delta-laktont) adtam közvetlenül az állománymérés megkezdése előtt.

2.1.2. Joghurt modell oldat

A SANS mérést joghurt modelloldatokon végeztem annak megállapítására, hogy a gélképződés lefolyása, valamint az enzim ezt befolyásoló hatása kimutatható-e a neutronok szórása alapján. Az ehhez szükséges joghurt

modell oldat 10 m/v% sovány tejpor (0,14% zsír, 33% fehérje) oldattal készült. Oldószerként nehézvizet (99,5% D₂O) használtam, hogy növeljem a neutronszóródás vizsgálat során a kontrasztot. A modell oldatokat MLW RH3 mágneses keverővel (VEB MLW Prüfgeräte-Werk, Freital, Germany) homogenizáltam (500 rpm, 5 perc, 40 °C). A kontroll oldathoz 0,3 % DVS (Direct Vat Set – fagyasztva szárított tejsavbaktérium kultúra, mely közvetlen a tejhez adható beoltáskor) joghurt kultúrát (YF-L811) adtam. Az enzimekelt oldatok esetén ugyanilyen töménységben alkalmaztam a joghurt kultúrát, de azon kívül még 0,3% Activa YG enzimekészítményt oldottam fel a kultúrával együtt. Az így készült joghurt modell oldatokat 43 °C-on tartottam, amely a joghurt kultúra megfelelő működéséhez (tejsav termeléséhez), azaz a megfelelő fermentációhoz szükséges hőmérséklet. A szol-gél átalakulás nyomonkövetésére a tejsavas fermentáció 0, 15, 30, 60, 100, és 140. percében mintát vettem. A mintavétel után az oldatokat hőkezelttem (70 °C, 10 perc), az alvadási folyamat és az enzim tevékenység megállítása érdekében. A zsírgolyócskákat és a kazein micellákat Mikro 120 centrifugával (Mikro 120; Hettich Zentrifugen, Tuttingen, Germany) választottam el 1400 rpm fordulatszámom, szobahőmérsékleten (20 °C) 10 perc alatt. A felülúszóból vettem mintát, melyet kvarc küvettában kisszögű neutron szórás alapján vizsgáltam.

2.1.3. Sajt modell oldat

A fluorescens méréshez a 2,2% zsírtartalmú tejből készült zsírszegény félkemény sajtokból vettem mintát a

gyártás alatt és a 4 hetes érlelés során hetente. A mintavételezés lépései a következők voltak: 1,2 g sajtot vettem ki a sajtészta közepéből, majd T25 digitális ultraturrax berendezéssel (IKA, Staufen, Germany) homogenizáltam (1000 rpm, 2 perc) 5 ml Milli-Q vízben. A homogenizált sajtmintákat ezután centrifugáltam (10 perc, 5 °C, 5000 rpm) és a felülúszót a mérésig lefagyaszttva tároltam.

2.1.4. A joghurt gyártás folyamata

Az alapanyagtej 1,5 % zsírtartalmú UHT tej (zsír: 1,40%±0,08, zsírimentes szárazanyag: 8,48%±0,05, fehérje: 3,10%±0,02) volt, melyet a székesfehérvári Alföldi Tej Kft. gyártott. A gyártástechnológia műveleti lépései a tanszéki általános gyakorlatot követték.

2.1.5. A rögös állományú túró gyártásának folyamata

Az alapanyagtej 1,2 % zsírtartalmú pasztörözött tej (zsír: 1,28%±0,08, zsírimentes szárazanyag: 9,07%±0,05, fehérje: 3,42%±0,04) volt, melyet a Sole-Mizo Zrt. szegedi üzemében gyártottak. Mivel a kísérleteket ipari megkeresésre kezdtem el, ezért a gyártástechnológia műveleti lépései a nagyüzemi körülményeket modellezték.

2.1.6. A trappista sajt gyártási folyamata

Az alapanyagtej 1,5% zsírtartalmú pasztörözött tej (zsír: 1,42%±0,11, zsírimentes szárazanyag: 9,13%±0,01, fehérje: 3,34%±0,01) volt, melyet a Fuchs Tej Kft. (Valkó, Magyarország) gyártott. A 2,2%; 2,8%, 3,2%, 3,5%, 5%

zsírtartalmú sajttejek zsírtartalmát 30% zsírtartalmú habtejszínnel (zsír: $30,89\% \pm 0,34$, zsírmentes szárazanyag: $4,65\% \pm 0,25$, fehérje: $1,76\% \pm 0,11$) állítottam be, ez utóbbit szintén a Fuchs Tej Kft. gyártotta. A gyártástechnológia műveleti lépései a tanszéki általános gyakorlatot követték.

2.1.7. A frankfurti virsli gyártásának folyamata

A húspépet (fehérje: $18,11\% \pm 0,23$) 5,5 literes Robot-Coupe R502 kutterben készítettem el. A gyártástechnológia műveleti lépései a tanszéki általános gyakorlatnak megfelelően állítottam össze. Az Activa TG-H-NF (névleges aktivitás: 32-52 U/g, tényleges aktivitás: 42 U/g) készítmény az enzimen kívül csak maltodextrint tartalmazott. A töltéshez 21 mm-es kaliberű cellulóz bélt használtam. A füstölést, a hőkezelést, a zuhanyoztatást, a szárítást CS350 EL típusú főző-füstölő berendezésben végeztem.

2.2. A vizsgált termékek enzimaktivitásának meghatározása

2.2.1. Hidroxamát módszer

Az enzimaktivitás közvetlen mérésére a szakirodalomban általánosan elfogadott és alkalmazott kolorimetrikus hidroxamát módszert (GROSSOVITZ et al. 1950; FOLK és COLE 1966) használtam. A mérés a hidroxil-amin szintetikus CBZ-glutamin-glicinbe (karbobenzoxi-L-glutamin-glicin) való enzimés beépülésén alapul. Ennek

során egy kétértékű ligand, a glutamil-hidroxiámsav keletkezik, amely az Fe^{3+} ionokat megkötve vörös színű komplexet képez. Az enzim aktivitását a színreakció alapján 525 nm hullámhosszon mért abszorbancia érték mutatja. Az enzimaktivitás: 1 U (unit) az, az enzim-mennyiség, amely CBZ-glutamin-glicin és hidroxil-amin reakciója során percenként 1,0 μmol hidroxamát képződését katalizálja pH = 6,0 kémhatás mellett 37 °C-on.

2.2.2. Fluorescens módszer

A mérés elve, hogy a fluorescens festékanyagként használt danzilált dipeptid ZQG-DNS az aktív mTG enzimmel specifikusan kötődik és ennek következtében az enzimaktivitás mértékével arányosan emelkedik a fluorescens jelintenzitás (PASTERNAK et al. 1997). A relatív fluorescens intenzitást (rfu, relative fluorescence unit) 5 percen folyamatosan mértem egy Enspire Multimode Reader (PerkinElmer, Massachusetts, USA) fluoriméteren. A mérés során a gerjesztési hullámhossz 340 nm, az elnyelési hullámhossz 532 nm volt. A sajtok maradék enzimaktivitás változásának méréséhez a gyártás alatt és a 4 hetes érlelés során hetente vettem mintát.

2.3. A vizsgált termékek fizikai és kémiai vizsgálatai

2.3.1. Összes szárazanyag tartalom meghatározása

2.3.2. Összes zsírtartalom meghatározása

2.3.3. Összes fehérjetartalom meghatározása

2.3.4. A TBA-szám meghatározása frankfurti virsliből

2.3.5. Savóeresztés meghatározása

2.3.6. Léeresztőképesség (WHC) meghatározása

2.3.7. A savfok (SH°) meghatározása

2.4. A vizsgált termékek műszeres analitikai vizsgálatai

2.4.1. A pH érték meghatározása

2.4.2. Színmérés

**2.4.3. Szol – gél képződés nyomonkövetése
neutronspektroszkópiával**

A berendezés fő része a 10 MW teljesítménnyel működő kutatóreaktor, amely a neutron nyalábot biztosítja. A kisszögű neutronsórás (SANS: Small Angle Neutron Scattering) méréshez szükség van egy úgynevezett sebességszelektorra, amely meghatározza a mintára eső neutronnyaláb hullámhosszát, neutronvezető rendszerre, kollimációs rendszerre, mintatartóra és végül egy neutrontektorra. A SANS mérés során nagy hullámhosszú, kis energiájú neutronokat állítanak elő, amelyek roncsolásmentesen haladnak át a vizsgált mintán és

az anyagminőségtől függően kismértékben elnyelődnek vagy szóródnak. A szóródás 5 foknál kisebb szögekben történik, amely az 5 nm – 500 nm tartományban szolgáltat információt a vizsgált mintáról. A minta szerkezetétől függő szórás matematikai kiértékelés segítségével elemezhető. A joghurt mintákat 5 mm vékony kvarc küvettába tettem. Ezeket a mintatartókat kifejezetten neutronmérésekre alakították ki, mert alacsony a neutron elnyelésük és szórásuk. A szórási vektor tartományt 0.06 1/nm - 0.3 1/nm között határoztam meg.

2.4.4. Állományvizsgálati módszerek

2.4.4.1. Osszcillációs viszkoziméter

A savanyú kazein modell oldat állománymérését ARES RFS3 típusú reométerrel végeztem. A mérés során a mérő test tengelyét adott frekvenciával és amplitúdóval, sinusfüggvény szerint oszcillálva mozgatják (JUHÁSZ et al. 2011). A mérés körülményei a Drezdai Műszaki Egyetem által kidolgozott módszer szerint a következők voltak: frekvencia: 1,0, rad/s, γ : 0,003, hőmérséklet: 20 °C, 30 °C, 40 °C, és az adatokat percenként rögzítette a készülékhez tartozó TA Orchestra szoftver. A lefagyasztott mintákat az állománymérés előtt szobahőmérsékleten felengedtettem és 10 percig az adott mérési hőmérsékleten temperáltam. Az oldatokhoz mérés előtt közvetlenül 3,5%; 4% vagy 4,5% GDL-t adtam, így a gélképződés legkésőbb 50 perc alatt lezajlott, ami a mérés végét is jelentette.

2.4.4.2. Látszólagos viszkozitás meghatározása

A látszólagos viszkozitás mérését Rheomat 115 típusú rotációs viszkoziméterrel végeztem. A mérés elve, hogy a külső hengerben lévő meghatározott mennyiségű mintába egy belső henger merül, amely a forgatónyomaték emelésével gyorsuló forgó mozgást végez. A henger forgatásához szükséges erő közvetlenül megadja a „folyadékrétegek” egymás melletti elmozdításához szükséges nyíróerőt, amelyből az anyag viszkozitása meghatározható (FRIEDRICH et al. 2011). A joghurtok szol-gél átalakulásának nyomon követésekor a 20 percnként vett minták viszkozitását 57,2 1/s sebesség-gradiensben (KONCZ 1992) mértem. A látszólagos viszkozitás (η , Pas) a nyírófeszültség (τ) és sebesség-gradiens (D , 1/s) hányadosából számítható.

2.4.4.3. Állománymérések SMS állománymérő berendezéssel

Az állománymérésekhez az SMS TA. XT Plus (Stable Micro Systems, Godalming, Egyesült Királyság) állománymérő berendezést használtam, 500N erőmérő cellával. Az adatok kiértékeléséhez a berendezéshez tartozó Texture Exponent 32 szoftvert használtam.

2.4.4.3.1. Gélszilárdság meghatározása

A gélszilárdságon a kész joghurt állománymérésekor mért maximális erő (F , N) nagyságát értem. Az állományvizsgálathoz 35 mm átmérőjű alumínium hengeres feltétet használtam. A pohárban alvasztott kész joghurtokat

mérés előtt az alvasztó tégelyben 10 °C-on temperáltam, majd a mérőfejet 10 mm mélyen, 0,50 mm/sec sebességgel engedtem a mintába.

2.4.4.3.2. Keménység és tapadás meghatározása húspépnél

A keménység és a tapadás meghatározásához 90 °-os nyílásszögű kúpos mérőfejet használtam. A virslihez készült húspép mintát előzetesen 30 percig 10 °C-on temperáltam a készülékhez tartozó mintatartó edényben. A mérés során 2 mm/s sebességgel nyomódott a mérőfej a mintába, a mérés végén a mérőfej és a mintatartó edény között 2 mm hézag maradt.

2.4.4.3.3. TPA módszer

A állományprofil analízis (TPA, Texture Profile Analysis) után a kapott erő-deformáció görbékből a keménység (F, N), tapadás (F₂, N), közvetlenül leolvasható. A minta rugalmassága, kohezivitása, rághatósága a következő számítási módon határozható meg. (KONCZ et al. 2005). A TPA módszerhez az állománymérő 35 mm átmérőjű hengeres feltétjét használtam. A sajt és virsli mintákból szabályos hengereket készítettem (magasság és átmérő 12 mm) és a mérés előtt 12 °C-on temperáltam. A mérés során a mintákat 2 mm/s sebességgel kétszer összenyomtam. Az összenyomás mértéke 70% volt.

2.4.4.3.4. Mérés a Kramer-féle nyírócellával

A rögzös étkezési túró állományjellemzőinek meghatározásához Kramer-féle nyírócellát használtam. A

Kramer-féle nyírócellával több igénybevétel (nyírás, nyomás, rágás) hatása egyszerre vizsgálható a mintán. Az állományvizsgálat megkezdéséig a kísérleti tőrómintákat 10 °C-on tároltam. Méréskor 80 g-t mértem a nyíró cellába és a mérés 0,049N ellenállás esetén kezdődött.

2.5. Érzékszervi minősítési módszerek

2.5.1. MSZ pontozásos bíráló

A rögös túró és a trappista sajt érzékszervi bírálata 100 pontos súlyzófaktoros módszerrel történt. A bírálati szempontrendszert az MSZ 12280-87 és a Magyar Élelmiszerkönyv trappista sajtra is vonatkozó 2-104 számú irányelve alapján Koncz Kálmánné dr. dolgozta ki. Ezt a pontozásos bírálatot a szakemberek kézműves sajtok érzékszervi megítélésére már évek óta alkalmazzák pl. a Sajtmustrán és az Újbor- és Sajt fesztiválon. Esetemben legalább 10 képzett bíráló bevonásával folytak a bírálatok. A sajtok érzékszervi jellemzőit súlyozottan pontozták: külső (15 pont), belső szín (15 pont), illat (15 pont), íz (25 pont), állomány (15 pont), lyukazottság (15 pont). Értékeléskor a kapott pontszámokat a maximálisan adható érték százalékában adtam meg.

2.5.2. Állományprofil analízis

A pohárban olvasztott joghurtok esetén kezdetben állományprofil analízist végeztem annak érdekében, hogy az enzim koncentráció és a joghurt minőségét meghatározó májas állomány, kanalazhatóság, keverés utáni simaság,

savó kiválás (mértéke és színe) között közvetlen összefüggést találhassak.

2.5.3. Különbségvizsgálat

A joghurt és virsli mintákat a gyártást követő napon 10 tagú képzett bíráló panel értékelte különbségvizsgálati módszerrel.

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Módszertani tézisek

1. Kiszögű neutronszerzés módszerrel kimutattam, hogy az enzimkezelés hatása a gélképződés 40. percétől kezdve meghatározható az alvadékból távozó fehérje aggregátumok számának csökkenése alapján.
2. Az mTG enzim aktivitása közvetlenül meghatározható a gyártás közben (az alvadék felvágásakor és kimelegítéskor) a 2,2% zsírtartalmú tejből készült sajt esetén a danzilált ZQG-DNS fluorescens festék enzimszelektív beépülése alapján mérhető fluorescens intenzitás emelkedés révén.

Technológiai tézisek

1. Bizonyítottam, hogy 1,5% zsírtartalmú pasztörözött tejből készült pohárban alvasztott joghurt esetén a gélszilárdság az enzim koncentráció emelkedésével lineárisan emelkedik és ez a tendencia 1 U/g fehérje enzim koncentrációnál két szakaszra bontható.

2. Megállapítottam, hogy amennyiben az alapanyag 1,2% zsírtartalmú pasztörözött tej, amelyhez 30 °C hőmérsékleten 0,04 U/g fehérje koncentrációban adagolnak mTG-t, a kultúrázással egy időben, akkor a hagyományos rögzös állományú túró kihozatala 25% szárazanyag tartalomra számolva 11%-kal növelhető laboratóriumi körülmények között.
3. Megállapítottam, hogy amennyiben az alapanyag 2,8% zsírtartalmú pasztörözött tej, amelyhez 30 °C hőmérsékleten 0,12 U/g fehérje koncentrációban adagolnak mTG-t, akkor amennyiben az enzimet a kultúrával egy időben adagolják, akkor 58% szárazanyag tartalomra számolva 11%-kal magasabb sajtkihozatal várható laboratóriumi körülmények között.
4. Megállapítottam, hogy minél magasabb a kiinduló sajttej zsírtartalma, annál kevésbé csökken az enzimkezelt sajtok keménysége, amennyiben az alkalmazott enzimkoncentráció 0,12 U/g fehérje és az mTG adagolása a kultúrával egyszerre történik.
5. A technofunkciós tulajdonságok és a termékjellemzők alapján megállapítottam, hogy a pác-só és a foszfát mennyisége csökkenthető frankfurti virsli esetén az mTG alkalmazásával.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Doktori disszertációmban a mikrobiális transzglutamináz (mTG) enzim állománymódosító hatásának vizsgálatát tejfehérje alapú modell oldatokon, pohárban alvasztott joghurton, rögös állományú túrón, trappista sajton és frankfurti virslin végeztem el.

A modell oldatos kísérletekben az mTG állománymódosító hatásának vizsgálatát egy szubsztrátos rendszerben (savanyú kazein, sovány tejpor) végeztem. Az osszcillációs állománymérés eredményei alapján megállapítottam, hogy a savanyú kazein modell oldat gélzilárdsága 4 óra enzimkezelést követően éri el a legmagasabb értéket, ezután már nem változik szignifikánsan. A kisszögű neutronszerzés vizsgálat megmutatta, hogy az mTG hatására már a gélképződés 40. percétől több savófehérje aggregátumot tart vissza az enzimkezelés által kialakult polimerizált fehérjeháló a kontrollhoz képest, amely az mTG kihozatal növelő hatását bizonyítja.

A pohárban alvasztott joghurt esetén azt vizsgáltam, hogy az alacsony zsírtartalom mellett milyen enzimkezeléssel és joghurt kultúrával biztosítható a megfelelő állomány. Megerősítem, hogy az enzim koncentrációnak nincs hatása a fermentáció folyamatára. A késztermék gélzilárdsága az enzim koncentráció emelésével exponenciális összefüggést mutatott, de a szignifikáns változáshoz legalább 1,0 U/g fehérje adagolásra volt szükség, mind az objektív, mind a szubjektív állományvizsgálat eredményei alapján. A további

kísérletekben kiderült, hogy az alkalmazott joghurt kultúrának is van szerepe az enzimkezelés hatékonyságában, hiszen eredményeim szerint a hagyományos 1:1 arányú *Streptococcus thermophilus* és *Lactobacillus bulgaricus* joghurt kultúrához képest a *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* probiotikus tejsavbaktériummal rosszabb, a *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* törzssel jobb gélszilárdságot, kanalizhatóságot és alacsonyabb savóeresztést lehet elérni.

A rögös állományú túró esetén megállapítottam, hogy az enzimkészítménynek, az alkalmazott enzim koncentrációnak, az enzimadagolás időzítésének egyaránt hatása van a termék szárazanyag-tartalmára, kihozatalára, állományára és érzékszervi megítélésére. Eredményeim alapján az mTG mellett csak maltodextrint tartalmazó enzimkészítmény 0,04 U/g fehérje enzim koncentrációban és a kultúrával egy időben adagolva biztosította a legnagyobb, (11%-kos) kihozatal-javulást, úgy hogy a termék szárazanyag-tartalma az Élelmiszerkönyv előírásainak megfelelően elérte a 25%-kot.

A trappista sajt esetén megállapítottam, hogy az alkalmazott enzim koncentrációnak, az enzimadagolás időzítésének és a kiinduló sajttej zsírtartalmának egyaránt fontos szerepe van a termék kihozatalában, állományában és érzékszervi megítélésében. A legnagyobb, 11%-kos kihozatal-javulást 2,8% zsírtartalmú tejből készült sajt esetén értem el, amikor az mTG-t (0,12 U/g fehérje) a kultúrával egy időben adtam a sajttejhez. Megállapítottam továbbá, hogy a 2,2% zsírtartalmú tejből készült sajt esetén a kontrollhoz képest jobban csökkent a rugalmasság.

Megállapítottam, hogy a sajtgyártás során a kifejlesztett fluorescens módszerrel az enzim aktivitás meghatározása lehetséges. Eredményeim alapján az enzimaktivitás közvetlen megállapítására lehetőség van a gyártás közbeni mintavétel esetén fluorescens festék beépülése alapján. A módszer az enzimek készítmény gyártó által javasolt enzimaktivitásának kimutatására, jellemzésére alkalmas.

A húsipari termékek közül, hazai elterjedtsége és népszerűsége miatt, a frankfurti virslit választottam, melynek állományát nyers és hőkezelt állapotban is vizsgáltam. Az optimális enzim koncentráció megválasztásakor 0-4 U/g fehérje koncentráció tartományban végeztem kísérleteket. Arra jutottam, hogy az enzim koncentráció növelése már a húspép állományára kihatással van. A massa keményebbé, tömörebbé válik és az enzim túladagolása esetén, töltéskor nehezen tömöríthető. Az enzimkezelés hatására, az alkalmazott enzim koncentráció függvényében, a húspép tovább keményedett, ezért a főzésig eltelő időnek legfeljebb 60 percet javaslok. A hőkezelést követően a frankfurti virsli keménységében a húspéphez hasonlóan továbbra is az enzim koncentráció növelésének volt elsődleges szerepe. A kísérleteim során megfigyeltem, hogy az mTG koncentráció növelésével csökkent a TBA-szám a késztermékben. Az érzékszervi bírálat bebizonyította, hogy az mTG túladagolása esetén a rosszul tömörödő húspép miatt a metszslapon légzárványok keletkeznek, amelyekbe a mechanikailag kötött víz könnyen összegyűlhet, és onnan távozhat. A fentiek alapján megállapítottam, hogy frankfurti virsli esetén az enzim koncentrációja legfeljebb 0,6 U/g fehérje.

További kísérleteimben a frankfurti virslinél általánosan alkalmazott két adalékanyag a pác-só és a foszfát csökkentésének lehetőségét vizsgáltam az mTG állományjavító és jó vízkötő képességét feltételezve. A vizsgált 1,2-1,8% pác-só koncentráció tartományban az enzimkezelés a pác-só koncentrációtól függetlenül szignifikáns keményedést okozott a húspép és a belőle készült frankfurti virsli esetén egyaránt. Megállapítottam, hogy a nyers húspép és a hőkezelt termék keménysége között a pác-só koncentráció függvényében lineáris összefüggés van, amit az enzimkezelés szorosabbá tett. Az mTG oxidációra kifejtett hatását a TBA-szám is mutatta, hiszen értéke alacsonyabb volt a kontrollhoz képest a pác-só koncentrációtól függetlenül. Az érzékszervi bírálat alapján bebizonyosodott, hogy az enzimkezelés javított a frankfurti virsli megítélésen a teljes vizsgált pác-só koncentráció tartományban. Továbbá, 1,4% pác-só adagolás felett a bírálók szignifikánsan nagyobb pontszámot adtak a termék színére, illatára és ízére a kontrollhoz képest.

Az enzim állománymódosító hatása a teljes vizsgált foszfát koncentráció tartományban (0-0,7%) szignifikáns volt, amely 11-20%-os keményedést eredményezett a késztermékben. Az enzimkezelés hatására az alacsonyabb (0-0,3%) foszfát adagolás mellett szembetűnően javult a frankfurti virsli vízkötő képessége. Megállapítottam, hogy legalább 0,3% foszfát koncentrációra volt ahhoz szükség, hogy a metszésalap homogenitása, rugalmassága és roppanósága alapján az enzimkezelt termékek a kontroll mintáknál jobb értékelést kapjanak.

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

IF-es folyóiratcikk

Darnay Livia (2017): Determination of mTG activity in low-fat semi-hard cheese using fluorescent labelling. In: *Journal of Fluorescence*, Elfogadva, várható publikálás: 2017 január-február

IF₂₀₁₆ : 1,601

Darnay Livia, Tóth Adrienn, Salamon Bertold, Papik Kármén, Oros Gergely, Jónás Gábor, Horti Krisztina, Koncz Kálmánné, Friedrich László (2017): Texture-modifying properties of microbial transglutaminase on 2 popular Hungarian products: Trappist cheese and frankfurter. *Acta Alimentaria*, Elfogadva, várható publikálás: 2017 március

IF₂₀₁₆ : 0,333

Darnay Livia, Králik Flóra, Oros Gergely, Koncz Ágota, Firtha Ferenc (2017): Monitoring the effect of transglutaminase in semi-hard cheese during ripening by hyperspectral imaging. *Journal of Food Engineering*, 196, page 123-129.

IF₂₀₁₆ : 3,199

Darnay Lívía, Koncz Ágota, Gelencsér Éva, Pásztor-Huszár Klára, Friedrich László (2016): Textural properties of low-fat set-type yoghurt depending on mTG addition. *Mljekarstvo*, 66 (3) page 225-230.

IF₂₀₁₆ : 0,596

Darnay Lívía, Len Adél, Koncz Ágota, Friedrich László, Rosta László (2015): Small angle neutron scattering study of nanostructural changes in microbial transglutaminase-treated low-fat yogurt during fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 6, page 2125-2128.

IF₂₀₁₅ : 0,699

Darnay Lívía, Dankovics Adrienn, Molnár Brigitta, Friedrich László, Kenesei György, Balla Csaba (2014): Production of low-salt frankfurters with microbial transglutaminase. *Acta Alimentaria, Supplement 1*, 43, page 45-50.

IF₂₀₁₃: 0,274

Konferencia kiadványok

Magyar nyelvű (összefoglaló)

Darnay Lívía, Koncz Kálmánné, Friedrich László (2012): Transzglutamináz enzim állománymódosító hatásának vizsgálata különböző zsírtartalmú joghurtok esetén. *Táplálkozástudományi Kutatások II. összefoglalók, világhálón publikálva**, 12. old.

*http://taplalkozasmarketing.hu/kiadvanyaink/tanszeki-anyagok_6

Nemzetközi konferencia (összefoglaló)

Len Adél, **Darnay Lívía**, Koncz Kálmánné: Structure changes of casein micelle by microbial transglutaminase studied by SANS. ICNS 2013 conference issue, P.044, világhálón publikálva*, 276. old. * <http://www.icns2013.org/195216>

Magyar nyelvű (teljes)

Darnay Lívía, Koncz Kálmánné, Friedrich László (2013): Alacsony zsírtartalmú joghurt előállítása transzglutamináz enzimmel. „Fiatal kutatók az egészséges élelmiszerért” konferenciakiadvány, ISBN: 978-963-473-6011, 242-247. old.

Nemzetközi konferencia (teljes)

Raak Norbert, **Darnay Lívía**, Brandt Josef, Boye Susanne, Lederer Alben, Rohm Harald, Doris Jaros (2014): Cross-linking affects rearrangement in acid casein gels: Evaluation of acidification conditions, Annual transactions of Nordic Rheology Society. 22.kötet

Kenesei György, Dalmadi István, **Darnay Lívía**, Friedrich László, Polyák-Fehér Katalin., Balla Csaba Vozáry Eszter (2013): Impedance measurement of sous-vide and high hydrostatic pressure treated Longissimus dorsi of pork. Food Science Conference 2013 - With research for the success of Darányi Program, 2013 november 7-8., Budapest, Book of Proceedings, ISBN 978-963-503-550-2, 291-294. old.

Darnay Lívía, Dankovics Adrienn, Friedrich László, Kenesei György, Balla Csaba (2013): Frankfurter made with reduced salt content using microbial transglutaminase. Food Science Conference 2013 - With research for the success of Darányi Program, 2013 november 7-8., Budapest, Book of Proceedings, ISBN 978-963-503-550-2, 321-324. old.

Darnay Lívía, Vona Zsolt, Koncz Ágota, Friedrich László (2013): Selection of the most suitable starter culture for low-fat set-type yoghurt with microbial transglutaminase. Food Science Conference 2013 - With research for the success of Darányi Program, 2013 november 7-8., Budapest, Book of Proceedings, ISBN 978-963-503-550-2, 19-22. old.

Szabadalom

Eljárás savófehérje visszatartásával történő sajt előállítására a fehérje tartalom növelése céljából, Ügyszám: P1300706
Szolgálati találmány szabadalmi bejelentése: 2013. dec. 6.