

01. ANYAG ÉS MÓDSZER

1.1. Homogén mikrohullámú tér kialakítása

A kezelőtérbe önmagában behelyezett minták egyenlőtlen felmelegedése miatt (mivel nem tudtunk homogén hőmérsékleteloszlást kialakítani az anyagban) vízcsapdák alkalmazásával kívántuk a teret homogenizálni. A mérések során egy edényt a kezelő térben lévő forgó tányér középpontjára helyeztük, amiben a kezelni kívánt anyagot helyeztük el. A fennmaradó négy edény pozícióját aszerint változtattuk, hogy homogén térerő eloszlás alakuljon ki. A kísérletek során vizsgáltuk, hogy a különböző geometriájú mintatartó edényekben, illetve ugyanazon edényben, de eltérő fizikai tulajdonságokkal rendelkező anyagok melegítése során hová kell helyezni a négy magas teflon edényt, annak érdekében, hogy a közepső edényben lévő anyag egyenletes felmelegedését tudjuk elérni.

1.2. Fogyasztói-, UHT-, illetve nyers tej minták zsírtartalmának meghatározása

Különböző zsírtartalmú nyers, illetve fogyasztói tejek zsírtartalmát kombinált mikrohullámú kezelés és konvektív szárítási eljárás során határoztuk meg. A mikrohullámú kezelést 100 W teljesítmény mellett 25 percig végeztük. A mikrohullámú kezeléseket után a tejminták közvetlenül a szárítócsatornába kerültek, ahol a mintákat UHT és fogyasztói tej esetében 30 °C-os, 2 m/s sebességű levegővel; nyers tej esetében 40 °C-os, 1,5 m/s sebességű levegővel; UHT minták esetében 80 percig, fogyasztói minták esetében 90 percig; nyers tej minták esetében 120 percig szárítottuk. A szárítás alatt a minták hőmérsékletváltozását, valamint tömegváltozását Labview program segítségével rögzítettük. A kapott nyers adatokat Matlab 7.0 programmal értékeltük ki, amely során meghatároztuk a különböző zsírtartalmú tejminták tömegváltozási görbéit, valamint a görbék meghatározott szakaszára illesztett egyenesek egyenleteit.

1.3. Mikroszkópos vizsgálatok

A szárítócsatornából kikerült minták tetején tejbőr alakult ki. A tejbőr vastagsága, illetve területe a minta zsírtartalmának függvényében változott. Feltételeztük, hogy a tejbőr szerkezete, illetve a tej alkotórészeinek (elsősorban a zsírgolyók) felépítése a melegítés után megváltozik. Ezt a változást mikroszkópos vizsgálatok során kívántuk detektálni. A főzőlapon, illetve a mikrohullámmal melegített tejminták felszínén kialakult tejbőr szerkezeti struktúráját letapogató (scanning) elektronmikroszkóppal (Philips XL30 ESEM), a mintákban lévő zsírgolyók átmérőjének változását fénymikroszkóppal vizsgáltuk.

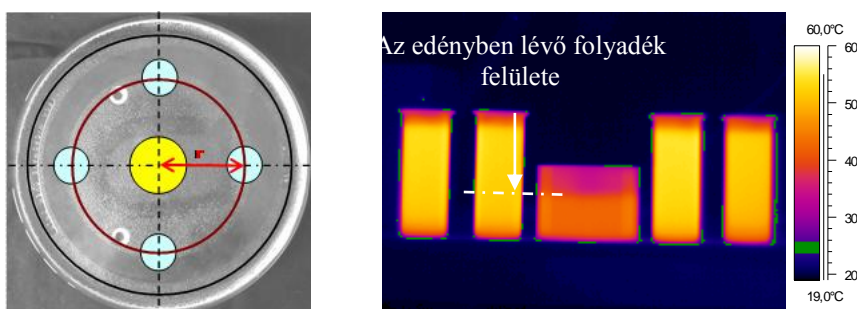
1.4. A tejben lévő lipáz és xantin oxidáz enzimek aktivitásának vizsgálata

A zsírgolyók méretváltozását a mikrohullámú besugárzás után 30 perccel tapasztaltuk nagyobb mértékben. Ebből következtettünk arra, hogy a tejben lévő zsírgolyócskák megváltozásában a tej különböző enzimjeinek aktiválása is szerepet játszik. Mikrohullámú, illetve hagyományos úton, főzőlapon melegített 3,6% zsírtartalmú fogyasztói tejmintákban, valamint kontroll (nem melegített fogyasztói tejmintákban) lévő lipáz és xantin oxidáz (XO) enzimek aktivitásának megváltozást vizsgáltuk, HPLC és spektrofotométer felhasználásával. Annak érdekében, hogy pusztán az enzimre, illetve annak aktivitására gyakorolt hatásokat tudjuk vizsgálni, (a tej egyéb alkotórészeinek zavaró hatását kiküszöbölve) mértük a tiszta enzimszuszpenzióban bekövetkezett enzimaktivitások változását a kontroll, a főzőlapon történő és a mikrohullámú melegítés során.

2. EREDMÉNYEK

2.1. Homogén mikrohullámú tér kialakítása

A mikrohullámú kezelőtérbe helyezett mintatartó edény körül a térerő homogén eloszlását kell kialakítani. A kezelőtérbe helyezett vízcsapdák alkalmazásával a mintatartó edény körül homogén tér alakul ki, ami a minták egyenletes felmelegedésében nyilvánul meg. A vízcsapdák pozícióját (1. ábra) a mintatartó edény alakja, illetve a kezelt anyag minősége és mennyisége határozza meg. Optimális esetben a minták besugárzása után az anyagon belül maximum 2,6 °C-os hőmérsékletkülönbséget tapasztalhatunk.

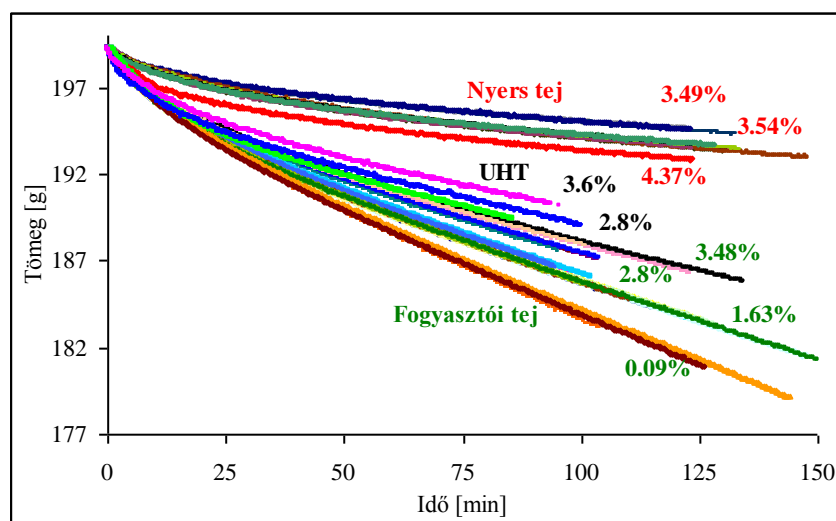


1. ábra A vízcsapdát alkotó edények elhelyezkedése a forgótányéron.

Abban az esetben, ha a központi edényben lévő kezelt anyag homogénezett tej, a vízcsapdákat a középponttól számítva 4,7 cm-re kell elhelyezni. Ebben az esetben a kezelőedény és a vízcsapda edényeinek középpontja között a távolság 10,85 cm.

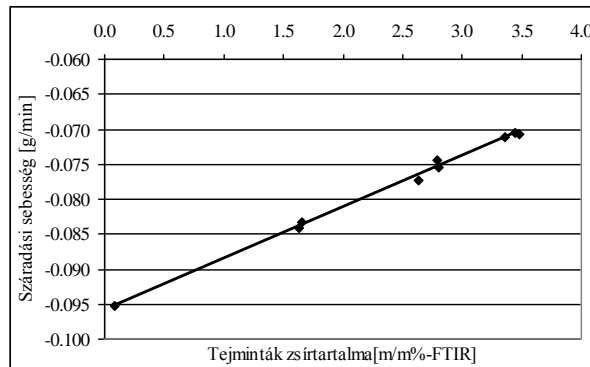
2.2. Fogyasztói-, UHT-, illetve nyers tej minták zsírtartalmának meghatározása

A mikrohullám és a konvektív szárítócsatorna együttes alkalmazása képezi az általunk kidogozott tejszír meghatározási módszer (MOTEM) alapjait. A mikrohullámmal történő melegítés után a szárítócsatornába helyezett fogyasztói, UHT és nyers tej minták tömegcsökkenését reprezentáló dehidratációs görbéket a 2. ábrán mutatjuk be.

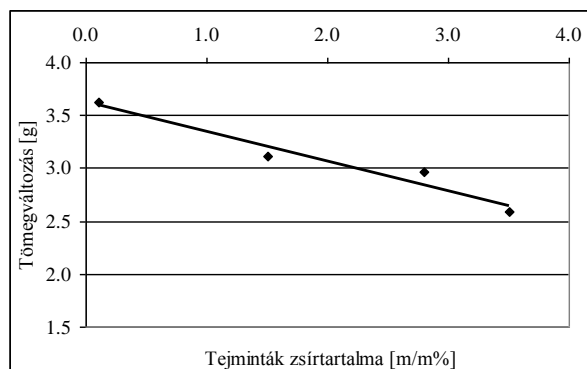


2. ábra Fogyasztói, UHT és nyers tej minták jellemző dehidratációs görbéi.

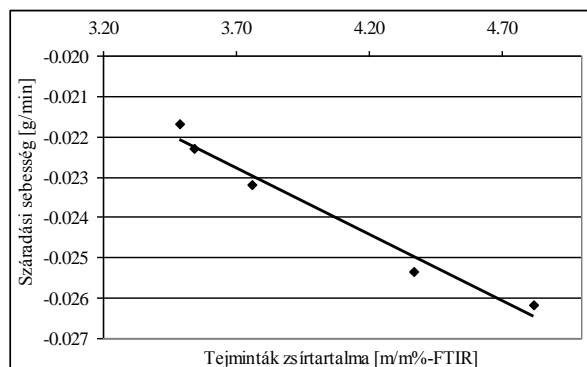
Fogyasztói tejminták esetén a száradási görbék 40 perc, valamint 90 perc közötti szakaszára, nyers tej minták esetén száradási görbék 75 perc, valamint 120 perc közötti szakaszára vonatkoztatva számítottuk ki a száradási sebességet. Az UHT minták esetén a száradási görbék 40 perc, valamint 80 perc közötti szakaszára határoztuk meg a minták tömegváltozását. A görbék adott szakaszára illesztett száradási egyenesek meredeksége, illetve a tömegváltozás alapján határoztuk meg a kalibrációs egyeneseket (3.-6. ábra), amelyek fenti paramétereknek a zsírtartalom (FC) függvényében történő ábrázolását jelenti.



3. ábra A dehidratáció 40 – 90 perc közötti szakaszára illesztett egyenesek meredeksége a fogyasztói tej minták zsírtartalmának függvényében.



4. ábra A dehidratáció 40 – 80 perc közötti szakaszára illesztett tömegváltozási egyenesek az UHT minták zsírtartalmának függvényében.



5. ábra A dehidratáció 75 – 120 perc közötti szakaszára illesztett egyenesek meredeksége a nyers tej minták zsírtartalmának függvényében.

A 3. – 5. ábrán feltüntetett egyenesek egyenletét zsírtartalomra rendezve a végső kalibrációs egyeneseket kapjuk meg:

Fogyasztói tej esetén ($R^2=0,996$):

$$FC = 135,77 \cdot \alpha + 13,026 \quad (1)$$

UHT minták esetén ($R^2=0,9503$):

$$FC = 3,5906y - 13,0078 \quad (2)$$

Nyers tej esetén ($R^2=0,97$):

$$FC = -293,75 \cdot \alpha - 2,9796 \quad (3)$$

Ahol:

FC : a tejminta zsírtartalma [m/m%];

α : a dehidrációs egyenes meredeksége;

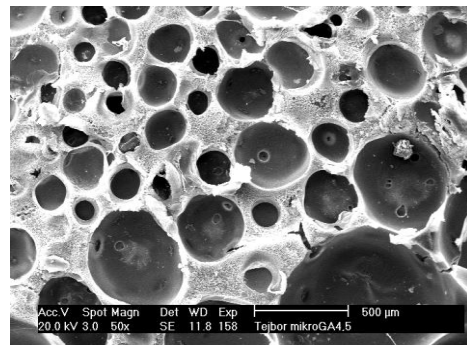
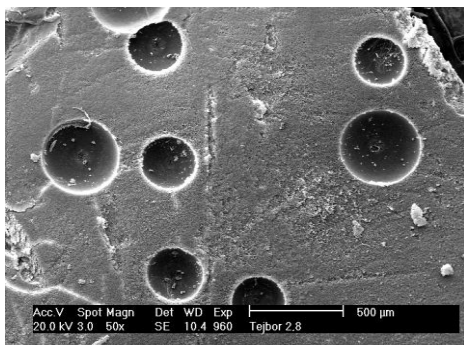
y : a minták tömegváltozása

A kalibrációs egyenesek (1), (2) és (3) egyenleteinek alkalmazásával, továbbá meghatározva az ismeretlen tejminta dehidratációs egyenesének meredekségét ($\text{tg}\alpha$), valamint a minta tömegváltozását, annak zsírtartalma kellő pontossággal kiszámítható.

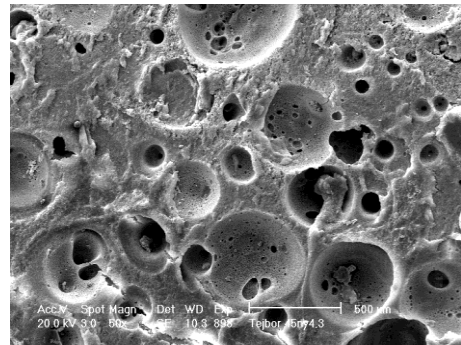
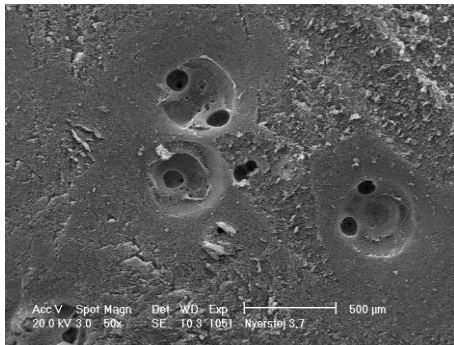
2.3. Mikroszkópos vizsgálatok

Amint az a 3. és az 5. ábrán is látható a különböző zsírtartalmú tejmintákhoz tartozó meredekségek értékei által meghatározott egyenesek tendenciája a fogyasztói tej, illetve a nyers tej esetében különbözőek. Ennek magyarázata a tejek szerkezeti különbségében rejlik.

A tejminták elektronmikroszkópos vizsgálata során kiderült, hogy a minták zsírtartalma és a dehidratáció során a minták felszínén megjelenő tejbőr szerkezete között összefüggés áll fent. A fogyasztói tej (6. ábra) és a nyers tej (7. ábra) esetében egyaránt a növekvő zsírtartalommal párhuzamosan megnövekedik a tejbőrben lévő levegő, illetve vízgőz buborékok lenyomatainak száma.



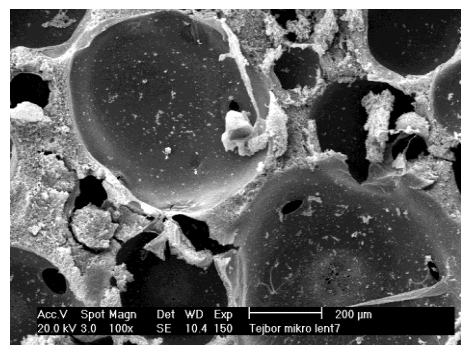
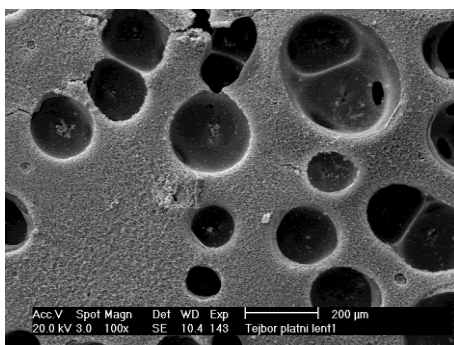
6. ábra A 2,8% valamint a 3,6% zsírtartalmú fogyasztói tej minták 50× nagyítású elektronmikroszkópos képe.



7. ábra A 3,7% valamint a 4,3% zsírtartalmú nyers tej minták 50× nagyítású elektronmikroszkópos képe.

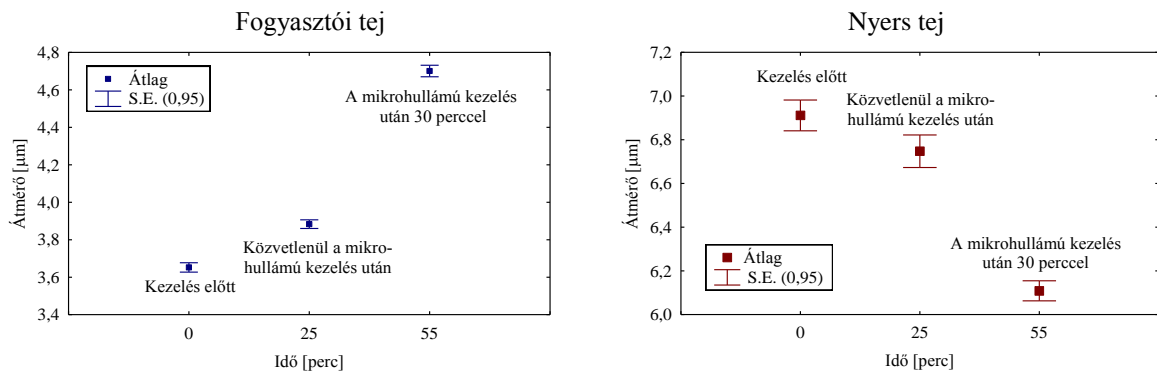
A tejben a melegítés során lokálisan keletkező vízgőzbuborékok a felszín felé törekednek. Eközben érintkeznek a tejben lévő zsírgolyókkal. A zsírgolyók bevonják a buborékok hártáját, így stabilabbá teszik azt. Minél több és minél nagyobb zsírgolyóval (trigliceriddel, szabad zsírsavval) találkozik egy buborék, annál több zsír juthat a hártya felszínére, annál stabilabb lesz a buborék, így annál nagyobb az esélye, hogy elérje a felszínt. Ez a jelenség mind a fogyasztói, mind a nyers tej mintákban egyaránt lejátszódik. Ez az oka annak, hogy a nagyobb zsírtartalmú nyers tej minták nedvességleadásának intenzitása nagyobb, mint a kisebb zsírtartalmú mintáké. Fogyasztói tej esetében a nedvesség leadást a tejbőr szerkezete kevésbé befolyásolja, a párolgást a tejbőr felülete (nagysága) határozza meg.

A mikrohullám hatására megnőtt a tejbőrben lévő vízgőzbuborékok mérete, megváltozott a tejbőr szerkezete. A főzőlapon melegített minták esetén ez a tendencia nem figyelhető meg, aminek feltételezhető oka, hogy a mikrohullám nem termikus hatása is befolyást gyakorol az előbbieken vázolt folyamatokra (8. ábra).



8. ábra A 3,6% zsírtartalmú tejbőr főzőlapon, valamint mikrohullámmal történő melegítés után. Az alkalmazott nagyítás 100×.

A fénymikroszkópos vizsgálatok során tapasztaltuk, hogy a fogyasztói tejmintákban lévő zsírgolyók átmérője a mikrohullámú kezelés után megnövekedett, míg nyers tej esetében golyók átmérője a mikrohullámú kezelés után csökkent (9. ábra).

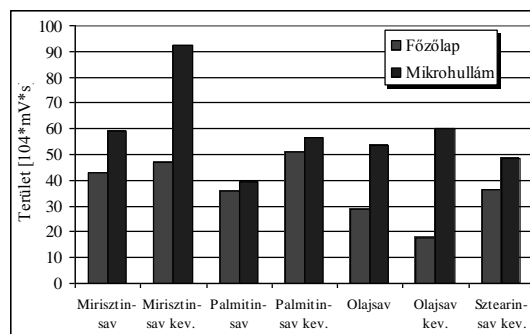


9. ábra A fogyasztói, illetve nyers tejben lévő zsírgolyók átlagos átmérőjének változása a mikrohullámú kezelés előtt, közvetlen a kezelés után, valamint a 25 percig tartó kezelést követően 30 perc múlva.

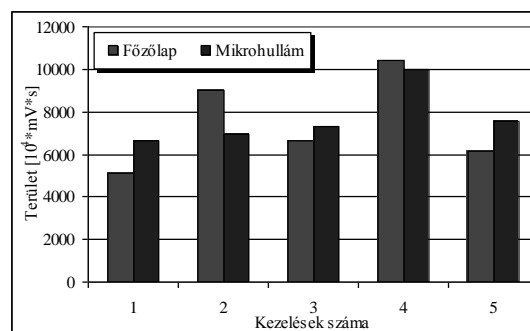
Mind a fogyasztói, mind nyers tej mintákban a zsírgolyók méretének jelentős megváltozását, a mikrohullámú kezelést követően 30 perc múlva tapasztaltuk. Ebből arra következtettünk, hogy ezt a jelenséget nem kizárólag a mikrohullámú besugárzás okozza, hanem enzimatisus folyamatok is lejátszódnak.

2.4. A tejben lévő lipáz és xantin oxidáz enzimek aktivitásának vizsgálata

A tejben lévő enzimek közül elsőként a lipázok (lipoprotein lipáz) aktivitásának megváltozását vizsgáltuk. Magas nyomású folyadékkromatográfiával (HPLC) detektálni a tej, valamint az enzimsuszpenzió szabad zsírsav szintjének megváltozását (10.–11. ábra).



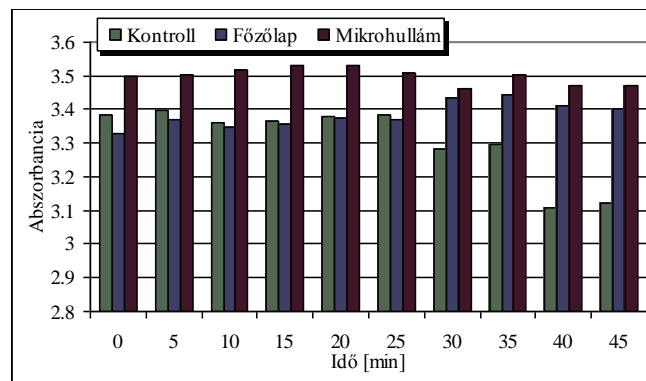
10. ábra A főzőlapon, valamint a mikrohullámmal melegített tejmintákban lévő zsírsavak mennyiségi változása zsírsavanként, illetve a zsírsavkeverékben.



11. ábra: A főzőlapon, valamint a mikrohullámmal melegített enzimsuszpenzióban lévő zsírsavak mennyiségi változása.

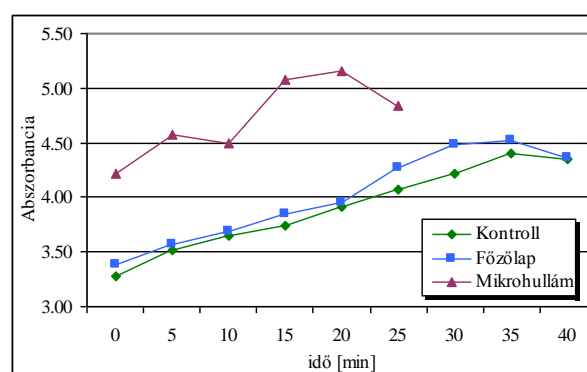
A tejben igen, de a tiszta enzimszuszpenzióban nem mutatható ki szignifikáns különbség a mikrohullámmal és a főzőlapon melegített tejminták szabad zsírtartalmának megváltozása között. A szakirodalommal ellentétben az eredmények alapján nem lehet egyértelműen kijelenteni, hogy a mikrohullám hatására megnövekedik a lipáz enzim aktivitása. A mérési eredményekből kiindulva feltételeztük, hogy a mikrohullám egy másik, szintén a zsírgolyókkal szoros kapcsolatban lévő enzim aktivitását befolyásolhatja, ami majd közvetve hozzájárul a lipáz aktivitásának megnövekedéséhez.

A xantin oxidáz enzim által katalizált reakciók sebességének megváltozását mértük a korábban alkalmazott melegítési paraméterek alkalmazása mellett. Az XO aktivitás megváltozás mérése során a tej hidrogén peroxid szintjének megváltozását detektáltuk spektrofotométer felhasználásával 290 nm-en (12. ábra).



12. ábra A tejminták átlagos hidrogén peroxid tartalmának változása a kezelés óta eltelt idő függvényében a kontroll, a főzőlapon történő, valamint a mikrohullámú melegítés során.

A xantin oxidáz esetében is megvizsgáltuk a tiszta enzimszuszpenzióban bekövetkező aktivitásváltozásokat, a kontroll mintákhoz viszonyítva, a kétféle melegítési mód alkalmazása esetén. Ezeknél a méréseknél 240 nm-en detektáltuk a mintában jelenlévő hidrogén peroxid (13. ábra) mennyiségének megváltozását.



13. ábra Az enzimszuszpenziók átlagos hidrogén peroxid tartalmának változása a kezelés óta eltelt idő függvényében a főzőlapon történő, valamint a mikrohullámú melegítés során.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a mikrohullámú besugárzás megnöveli a xantin oxidáz enzim aktivitását, ami szignifikánsan igazolható.

A xanthin oxidáz aktivitásának megváltozása révén a zsírgolyó membrán felszakadhat, a benne lévő trigliceridek kikerülnek a zsírgolyón kívülre, ahol kapcsolatba kerülhetnek a tejben lévő lipázokkal. Részben a trigliceridek, részben a lipázok enzimreakciója nyomán felszabaduló szabad zsírsavak kapcsolatba kerülhetnek a melegítés során a tejben keletkezett buborékokkal és stabilizálhatják azok felületét. Ennek eredményeképpen a mikrohullámmal melegített tejminták felszínén kialakult tejbőrben több, és nagyobb méretű buborékok lenyomata látható. Minél magasabb a tej zsírtartalma, annál stabilabbá válnak a buborékok, amelyek így több vizgőzt szállítanak, ezáltal növelik a párolgás intenzitását, így a nagyobb zsírtartalmú nyers tej minták nedvességleadásának gyorsabb, mint a kisebb zsírtartalmú mintáké. Fogyasztói tej esetében a párolgást a tejbőr felülete (nagysága) határozza meg, a tejbőr szerkezete ezt a jelenséget kevésbé befolyásolja.