

SZAKDOLGOZAT

UJFALUSI_KINGA_SZAKDOLGOZAT

Ujfalusi Kinga

2024



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Élelmiszermérnöki alapképzési szak**

**TEJFEHÉRJÉK SZEPARÁCIÓJA MIKROSZŰRÉSEL (MF),
VALAMINT A KELETKEZŐ TERMÉKEK PROTEÁZ
ENZIMEKKEL TÖRTÉNŐ KEZELÉSE ÉS VIZSGÁLATA**

Belső konzulensek:

Dr. Csighy Attila

Egyetemi tanársegéd

Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet
Budai Campus

Élelmiszeripari
Műveletek és
Folyamattervezés
Tanszék

Dr. Koris András

Tanszékvezető,
egyetemi tanár

Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet
Budai Campus

Élelmiszeripari
Műveletek és
Folyamattervezés
Tanszék

Dr. Arijit Nath

Tudományos
főmunkatárs

Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet
Budai Campus

Élelmiszeripari
Műveletek és
Folyamattervezés
Tanszék

Készítette:

Ujfalusi Kinga

**Budapest
2024.**

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések	3
2. Szakirodalmi áttekintés	5
2.1 A tej definíciója	5
2.2 A tej összetétele	5
2.2.1 Víztartalom.....	6
2.2.2 A tej fehérjetartalma: savó- és kazeinfehérjék, enzimek.....	7
2.2.3 Szénhidrátok a tejben	11
2.2.4 A tejsír összetétele	12
2.2.5 Vitaminok és ásványi anyagok a tejben	13
2.3 A tejfogyasztás táplálkozás-élettani hatása.....	15
2.4 Az élelmiszerallergia fogalma	16
2.4.1 Allergizáló tejfehérjék.....	17
2.4.2 A kazein-allergia és a kazein-intolerancia között fennálló különbség.....	17
2.5 A membránszűrés	18
2.5.1 Történeti áttekintés.....	18
2.5.2 A membránszűrés műveletének bemutatása	19
2.5.3 A műveletre jellemző mutatószámok	21
2.5.4 A mikroszűrés művelete.....	22
2.5.5 A statikus keverés jelentősége a membránszűrés műveleténél	22
2.5.6 A mikroszűrés alkalmazása a tejiparban	23
2.6 Az enzimes hidrolízis elméleti háttere.....	23
2.7 Az összehasonlító statisztikai elemzés elméleti háttere.....	25
2.8 A Lowry mérés elméleti háttere.....	26
2.9 Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis működési elve	27

3. Alkalmazott módszerek	28
3.1 Felhasznált anyagok.....	28
3.1.1 Az Ultra High Temperature (UHT) tej tulajdonságai	28
3.1.2 A membránszűrő berendezés tisztításához alkalmazott vegyszerek	28
3.1.3 Az enzimes hidrolízishez alkalmazott papain enzim	29
3.1.4 A Lowry méréshez alkalmazott vegyületek	29
3.1.5 Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézishez alkalmazott vegyületek	30
3.2 Alkalmazott módszerek	31
3.2.1 A tej permeátum frakciójának előállítása mikroszűrés (MF) műveletével	31
3.2.2 Az elméleti fluxus statisztikai vizsgálata	34
3.2.3 Az enzimes hidrolízis leírása.....	35
3.2.4 Lowry mérés – a fehérjetartalom vizsgálata	36
3.2.5 Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis	37
4. Eredmények és értékelésük	38
4.1 A tejfehérje-tartalom részleges csökkentése mikroszűrés alkalmazásával.....	38
4.2 A kiindulási fluxus statisztikai vizsgálata.....	45
4.3 A Lowry mérés eredményei.....	47
4.4 Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis mérés eredményei	49
5. Következtetések és javaslatok	53
6. Összefoglalás	54
7. Irodalomjegyzék.....	56
8. Táblázatok és ábrák jegyzéke	62
8.1 Táblázatok jegyzéke	62
8.2 Ábrák jegyzéke	62
9. Köszönetnyilvánítás	64

1. Bevezetés és célkitűzések

Manapság a köztudatban széleskörűen elterjedt, úgynevezett fogyasztói társadalom által megnevezett- és látens igények merőben befolyásolják az élelmiszeripar alakulását. Az ipari gyártástechnológia alkalmazkodott a változó fogyasztói igényekhez, melynek következtében az élelmiszeripar is hatalmas változáson ment keresztül. A jelen társadalmának fogyasztói szokásai messzemenően túlmutatnak a fiziológiai szükségletkielégítésen, ugyanis az egyre közkedveltebb tudatosan felépített táplálkozás az egészséget előtérbe helyezve törekszik a szervezet működéséhez szükséges energiabevitel biztosítására.

Az egészséges, kiegyensúlyozott életmód fenntartásához kiemelten fontos az egyes mikro-és makro tápanyagok megfelelő mennyiségű és minőségű bevitel. A rohamléptékű ipari fejlődés és az ennek köszönhetően létrejött túlzóan dinamikus, a környezeti hatásokhoz alkalmazkodó életmodell okán számos negatív hatás elszenvedője az emberiség napjainkban. Az ultrafeldolgozott élelmiszerek fogyasztási tendenciájának robbanásszerű növekedése az imént említett rendellenességgel szinergiában indukálta az allergiás megbetegedések számának rohamos emelkedését.

A tej esetében az intolerancia jelensége jóval ismertebb az allergia jelenségénél, hiszen a társadalom jóval nagyobb hányada érintett benne. A tudomány az érzékenység kapcsán jóval több kutatással szolgál a jelenség leírására és annak kezelésére egyaránt az allergia témaköréhez hasonlítva. Ez valószínűleg annak is köszönhető, hogy az allergiás immunválasz reakciómechanizmusa feltehetően bonyolultabb.

Az ismeretségi körömben több olyan személy is van, akik sajnos valamilyen élelmiszer indukált intoleranciával- vagy allergiával küzdenek, legtöbbjüknel a tej indukálja a felszívódási zavart vagy az immunválaszt. Ennek tudatában kifejezetten fontosnak tartom a kutatási téma teljeskörű feltárását. Az élelmiszerallergia tulajdonképpen a szervezet téves immunválasza bármely olyan élelmiszeralkotó esetében, amelyet elfogyasztáskor a szervezet idegen anyagnak érzékel, azonban egy egészséges szervezetben ezen alkotók nem váltanak ki semmilyen reakciót. A tej esetében az allergiás reakciót a tejfehérjék váltják ki, súlyosságuk terjedhet a hasmenéstől egészen az anafilaxiás sokkig.

Kutatómunkám során tudományos alapokra helyezve kívánom alátámasztani azt, hogy a mikroszűrés műveletének segítségével gazdaságilag- és technológiailag egyaránt lehetséges a későbbi enzimes hidrolízis alapjául szolgáló csökkentett fehérjetartalmú tej előállítása.

A kutatási munkám során célomként tűztem ki a kereskedelmi forgalomban kapható, Ultra High Temperature (UHT) technológiával előállított, zsírszegény tej kiindulási fehérjetartalmának részleges csökkentését. A tej fehérjetartalmának csökkentését a membránszűrés műveletének segítségével kiviteleztem. Mivel a membránszűrés egy összefoglaló megnevezése a különböző membránműveleteknek, így fontos kijelentenem, hogy a kutatásom során mikroszűrést (MF) végeztem, mely műveletet előszeretettel alkalmazza a tejipar is, ezzel megnövelve a termék eltarthatósági idejét.

A membránszűrés műveletének alkalmazásával a permeátum fehérjetartalmát-, és összetételét kívántam beállítani kétszeres besűrítési arány ($VCF = 2$) alkalmazásával, ugyanis a csökkentett allergenitású permeátum frakció tekintetében a későbbiekben akár lehetőség nyílik az immunválaszt kiváltó komponensek enzimes hidrolízisére, mely egy teljesen innovatív piaci szegmens megnyitását generálhatja. A kutatómunkám során célom volt az enzimes hidrolízis műveletét is megvalósítani különböző enzimkoncentrációk alkalmazásával.

A tanulmány megírásával továbbá szerettem volna egy, a nagyüzemi viszonylatokban is alkalmazható technológia kidolgozását megvalósítani, melyhez elengedhetetlen a mikroszűrés folyamatának megfigyelése és elemzése, amit a kerámia csőmembrán pórusméretének vizsgálatával- és az elméleti- és a gyakorlatban megvalósított kiindulási fluxus (J) statisztikai összehasonlító elemzésével kiviteleztem.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1 A tej definíciója

A tej egy igen bonyolult összetételű mátrixnak tekinthető az élelmiszerek közt, mely tulajdonságának köszönhetően többféle aspektusban definiálhatjuk.

Biológiai vonatkozásban a tej mintegy 4500 emlős faj nőtény egyedei által, a vérből kiválasztott komplex folyadék, amely tartalmazza az újszülött számára a fejlődéshez szükséges valamennyi tápanyagot. A táplálkozási szükségletkielégítésért főként a lipidek, a szénhidrátok (laktóz) és a fehérjék felelősek, ugyanis ezen építőkövek elengedhetetlenek a nem esszenciális anyagok bioszintéziséhez. Ezen meghatározás szerint az újszülött energiaigényének kielégítése a leghangsúlyosabb, mely erősen fajspecifikus sajátosság, így a tej bruttó összetétele is jelentős különbségeket mutathat bizonyos fajok közt. (Fox, 2008)

Kémiaailag definiálva a tej egy háromfázisú, azaz polidiszperz rendszernek tekinthető, melyben a laktóz és a vízoldható szerves- és szervetlen ásványisók valódi oldatban vannak jelen a vízfázisban (ez alkotja az amikroszkópos fázist, azaz a tejszérumot). A tejszérumban három diszperzitásfokkal, két mérettartományban találhatók meg a tej egyéb alkotói: a savófehérjék molekuláris mérettartományban (5-10 nm), míg a kazeinfehérjék micella formájában, 50-500 nm tartományban kolloidálisan oldottak; a tejszír pedig 1-20 µm méretű zsírgolyócskák formájában, emulgeált állapotban van jelen (durva fázis). (Fox, 2008)

2.2 A tej összetétele

A tej összetétele a számos emlősfajnak köszönhetően igen diverz, melynek eredményeképpen a tápérték is eltérő lehet különböző fajokat vizsgálva. Az eltérést a biomolekulák eltérő megjelenési formája idézheti elő. (Ling et al., 1961)

A tej alapvető alkotói közé tartozik a víz, mely legnagyobb százalékát alkotja a rendszernek. A víz mellett a többi alkotó két nagy csoportba sorolható, ezek a zsír és a zsírmentes-szárazanyagtartalom. A tejben megtalálható víz természetes úton tartalmazhat oldott szén-dioxidot-, oxigént-, illetve nitrogént is. A zsír frakció legnagyobb részben trigliceridekből tevődik össze, azonban egyéb zsírolékony komponensek egészítik ki, ilyenek például a foszfolipidek, a szterolok, illetve a zsírolékony vitaminok és színanyagok (karotinoidok). (Ling et al., 1961)

A zsírimentes-szárazanyag vegyületcsoport a leginkább szerteágazó, ugyanis ide tartoznak a nitrogéntartalmú vegyületek, a szénhidrátok (a tej esetében főként a laktóz diszacharid), a vízzoldékony vitaminok- és ásványianyagok. A tejben megtalálható nitrogéntartalmú vegyületek lehetnek fehérjetermészetűek és nem-fehérjetermészetűek. A tejfehérjék tovább csoportosíthatók, megkülönböztetünk kazeinfehérjéket és savófehérjéket, melyek közé sorolható az albumin, a globulin, a proteáz-pepton frakció. Ezeken felül a tejben megtalálható enzimek is a fehérjékhez sorolandók természetükből adódóan. (Ling et al., 1961)

A kutatómunkám során tehéntejjel dolgoztam, mely a legáltalánosabban fogyasztott tejek közé tartozik. A különféle tejtípusok összetételüket tekintve nagyfokú diverzitást mutatnak, melyet az 1. táblázat mutat be a gyakran fogyasztott tejfajták esetében.

1. táblázat: Különféle tejtípusok összetétele (Forrás: saját szerkesztés (Fenyvessy et al., 2014) alapján)

TEJTÍPUS	ZSÍRMENTES-SZÁRAZANYAG	ZSÍR	FEHÉRJE	ÁSVÁNYI ANYAGOK	LAKTÓZ
	[g/100g]	[g/100g]	[g/100g]	[g/100g]	[g/100g]
Tehéntej	8,80	3,80	3,30	0,80	4,60
Juhtej	11,40	8,20	5,50	0,90	5,00
Kecsquetej	9,20	4,00	3,90	0,80	4,50
Kancatej	9,25	0,60	2,15	0,35	6,75
Anyatej	7,50-8,50	2,00-6,00	1,00-1,50	0,20-0,25	7,10-7,30

2.2.1 Víztartalom

A víz az élet kialakulásának elengedhetetlen feltétele, hiszen a szöveti transzportfolyamatokért- és a reakcióközegek kialakításáért egyaránt felelős, a szervezet hőháztartásának koordinációjában kiemelkedő szerepe van nagy fajhője és párolgáshője révén, mindemellett az elengedhetetlen környezeti feltételek meglétét biztosítja az élő szervezet számára. (Fenyvessy et al., 2014)

A tej víztartalmát a tejmirigy által szintetizált laktóz mennyisége szabályozza, általánosságban azonban 70-90% közé tehető. (Csighy, 2022)

A tehéntej vízartalma 87,3%, így a legnagyobb részarányt képviseli a rendszerben. A víz legnagyobb mennyiségben szabad víz formájában van jelen, azonban 3-4%-a kémiaiilag kötött állapotban (a fehérjék hidrátburkában) van jelen. (Fenyvessy et al., 2014)

A kémiaiilag kötött víz nem hozzáférhető, az egyik legerősebb kötési forma, ugyanis a víz-anyag kapcsolat fő- vagy mellékvegyértéken keresztül valósul meg. (Csighy, 2022)

A víz szerepe sokrétű, ugyanis oldószere a vízdékony ásványisóknak és a laktóznak, illetve diszperziós közegként van jelen a zsír-a-vízben típusú emulzióban. A víztartalom az állatra jellemző sajátság következtében, illetve az évszak függvényében változhat, utóbbi esetben a téli hozam alacsonyabb nedvességtartalmú a zöldtakarmány hiányából fakadóan. (Fenyvessy et al., 2014)

A vízáktívitas az élelmiszeriparban egy igen jelentős fogalom, ugyanis ez a mérőszám tájékoztatást nyújt az élelmiszer mikrobiológiai stabilitásáról a szaprofita- és patogén mikroorganizmusok számára hozzáférhető (azaz szabad) víz mennyiségén keresztül. A szabad víz tulajdonképpen azért tekinthető hozzáférhetőnek, mert az oldóképességében és mozgékonyágában nem korlátozott. Ezzel szemben a kötött víz kevesebb oldandó anyag befogadására képes. A vízáktívítást tehát nem a víztartalom abszolút nagysága, hanem a víz kötési módja határozza meg. A vízáktívitas definíció szerint adott hőmérsékleten a hozzáférhető víz mennyiségét fejezi ki az egyensúlyi relatív páratartalom részeként. (Fenyvessy et al., 2014)

2.2.2 A tej fehérjetartalma: savó- és kazeinfehérjék, enzimek

A tejfehérjék táplálkozás élettani szerepe kiemelkedő, melyet számos kutatás is bizonyít. A tejfehérjék elnevezés összetételükben- és tulajdonságaikban szerteágazó vegyületek heterogén csoportjának gyűjtőneve. A rendszer két fő frakcióját a kazeinfehérjék és a savófehérjék alkotják. Utóbbi aránya a kazeinfehérjékhez képest meglehetősen alacsony, tehéntej esetében általában negyede. (Barłowska et al., 2011)

A tejfehérjék jelentős táplálkozás-élettani szerepet töltenek be, hiszen amellet, hogy közel teljes mértékben képesek hasznosulni a szervezetben, számos esszenciális aminosavat (például lizin, leucin és metionin) tartalmaznak, melyek a nem esszenciális fehérjék felépítéséhez dependens vegyületek. (Fenyvessy et al., 2014)

Az esszenciális aminosavakat tekintve elsőként a lizin, másodikként a leucin vannak jelen a legnagyobb mennyiségben, melyek közül az utóbbi a tehéntejben található meg a legjelentősebb mértékben ($108 \pm 2,30$ mg/g). (Rafiq et al., 2015)

Táplálkozás-élettanilag a leucin külön szerepkört tölt be a fehérje metabolizmusban, továbbá az izomfehérje szintézis transzlációs lépése során. A valin koncentrációja a tejben szintén magas ($54 \pm 1,42$ mg/g). (Rafiq et al., 2015)

Az 1. táblázat szerint a tehéntej átlagos valódi fehérjetartalma 3,3%, azonban a tej fehérjetartalmát a valódi fehérjetartalom és a nem-fehérjealapú-nitrogén (NPN) vegyületek összmenyisége teszi ki, melyek összesen 3,4-3,5% arányban vannak jelen. Az NPN vegyületekhez sorolható a karbamid, a kreatinin, továbbá a szabad aminosavak is. (Fenyvessy et al., 2014)

A 2. táblázat összefoglaló jelleggel szemlélteti a két fő csoport, azaz a kazeinfehérje és a savófehérje frakcióinak megoszlását a tejben.

2. táblázat: A kazeinfehérje és a savófehérje frakciói (Forrás: saját szerkesztés (Fenyvessy et al., 2014) munkája alapján)

FEHÉRJEFRAKCIÓ	VARIÁNSOK	TARTALOM A TEJFEHÉRJÉBEN		TARTALOM A SAVÓ- ÉS KAZEINFEHÉRJÉBEN	
		ÁTLAG [%]	SZÓRÁS [%]	ÁTLAG [%]	SZÓRÁS [%]
Kazeinfehérje	-	80,3	-	76,0-86,0	100
α s-kazein	A, B, C, D	43,5	35,0-63,0	54,2	48,0-60,0
κ -kazein	A, B	10,7	8,0-15,0	13,3	7,0-21,0
β -kazein	A1, A2, A3 B, Bz, (B1 ₂) C, D, E	24,2	19,0-35,0	30,1	26,0-40,0
γ -kazein	A1, A2, A3, B	2,0	1,0-3,0	2,5	2,0-4,0
Savófehérje	-	19,7	14,0-24,0	100	-
Szérumalbumin	-	0,9	0,5-1,3	4,6	2,0-8,0
β -laktoglobulin	A, B, C, D, D _r	9,6	7,0-14,0	48,7	44,0-59,0
α -laktalbumin	A, B, C	3,7	2,0-5,0	18,8	17,0-22,0
Globulinok	IgG, IgM, IgA	2,2	1,0-4,0	11,2	8,0-17,0
Proteáz-pepton	4 frakció	3,3	2,0-6,0	16,8	10,0-19,0

A 2. táblázat is azt mutatja, hogy a kazeinfehérjék csoportja négyszeres mennyiségben van jelen a savófehérjék csoportjához képest. A kazeinfehérjék csoportját négy frakció alkotja, ezek az α -, β -, γ - és κ -kazein frakciók, melyen belül az α -kazein tovább bontható α s₀-, α s₁- és α s₂-kazein alfrakciókra. A kazeinmolekulák nagy számban kazeinmicellákká aggregálódnak, melyek képesek magukba zárni a kalciumot és a foszfátot is. (Fenyvessy et al., 2014)

A micellák kalciumtartalma mindig meghaladja a foszfortartalmat, azonban a foszfortartalom, amely a micella stabilitását segíti elő, alfrakciónként jelentősen eltérő, az α -kazeinek esetében a legmagasabb, 1,0%. (Fenyvessy et al., 2014)

A kazeinmicellák szerkezete tulajdonképpen egy kazeinkomplex, mely egy (külső) hidrofil- és egy hidrofób (belső) terminálisra osztható, melynek a proteáz enzimekkel történő hidrolízise csökkenti a kazein allergizáló hatását (Csighy, 2022).

A kazein kevésbé hidrofil jellegéből adódóan kevésbé stabilis, a komplex belsejét egy mag alkotja, mely főleg β -kazeint tartalmaz, ezt egy belső zóna veszi körül, mely főleg α -kazein tartalmú, végül a komplex legkülső rétege egy vékonyabb zóna, melynek fele α_1 -kazein tartalmú. A kazeinkomplexet kazein-szubmicellák építik fel, melyek 15-20 nm átmérőjű gömbszerű képletek. A szubmicellák kalcium-foszfát segítségével képesek létrehozni a komplex szerkezetet. A tej kazeinkomplex tartalma reverzibilisen alakítható a tej kalciumtartalmának változtatásával, ugyanis a kalcium elvonásával a komplex szubmicellákra esik szét. A komplexbe trikálcium-citrát- és trikálcium-foszfát (hidrofób) sók ágyazódnak be, mely szerkezet egészét veszik körbe hidrátburokkal a savófehérjék védőkolloidális szerepet betöltve ezzel, melynek hatására kialakul a kettős komplex kazeinmicella. (Törley és Lásztity, 1993)

A kazein instabilitását a 3. táblázat magyarázza, mely a kazeinfrakciók izoelektromos- és izoionos (a tiszta proteint tartalmazó oldat pH értékért jelöli) pontjait, egészen pontosan azok lehetséges pH intervallumait listázza.

3. táblázat: A kazeinfehérje frakcióinak izoionos- és izoelektromos pontjai (Forrás: saját szerkesztés (Farrell et al., 2004) munkája alapján)

FEHÉRJEFRAKCIÓ	FRAKCIÓRA JELLEMZŐ PH	
	IZOIONOS PONT	IZOELEKTROMOS PONT
Kazeinfehérje	-	4,60
α_1 -kazein (B, C)	4,92-5,35	4,44-4,76
β -kazein (A, B)	5,30-5,41	4,83-5,07
κ -kazein (A, B)	5,77-6,07	5,30-5,80

A tejfehérjék másik nagy csoportját a savófehérjék alkotják, mely megnevezés egy gyűjtőnév az albumin- és globulin típusú fehérjék összességére kiterjedően. A gyűjtőnév szerint alvadás során nem koagulálnak a kazeinfehérjékkel ellentétben, így a kazein térhálóba zárt- és azt körülvevő savóban találhatók meg kolloidálisan oldott formában. (Törley és Lásztity, 1993)

Szerepük úgyszintén meghatározó, hiszen védőkolloidként funkcionálnak az érzékeny kazeinmicellák- és a zsírgolyócskák stabilizációja során. (Törley és Lásztity, 1993)

A tejsavó a tej alvadása során keletkező, folyadék halmazállapotú rendszer, melyet a kazein térháló magába zár, majd a térhálóban kialakult kötések feszülése végett, azaz a szinerézis hatására kiszorul a hálóból, elválaszthatóvá válik a szilárd alvadéktól. A tejsavó alapvetően egy enyhén zöldes árnyalatú, semleges illatú, értékes frakció, melynek sajtgártás szempontjából két fajtáját különböztetjük meg, ezek az édes savó és a savanyú savó. A savó fajtáját az elválasztáskor alkalmazott pH határozza meg. (Szakály, 2001)

A globulin- és albuminfehérjék is micellák, a felületükön stabil hidrátburok létrehozására képesek, hiszen vízoldékony karakterű kolloidok, ennek köszönhetően az izoelektromos pontjukon nem koagulálnak. (Törley és Lásztity, 1993)

A tejsavófehérjék mindössze 20%-át alkotják a tejfehérjéknek, legnagyobb mennyiségben a β -laktoglobulin és az α -laktalbumin van jelen a tejben. Hőérzékenységüknek köszönhetően könnyebben denaturálódnak a hőkezelés során, mely növeli a víztartó képességüket, ezzel kiküszöbölve a savóeresztés termékhiba megjelenését. A natív állapotú savófehérjék kifejezetten jó technofunkciós tulajdonságokkal (gél- és habképzés) bírnak, így az élelmiszeripar egyéb ágazataiban is gyakran felhasználásra kerülnek. A savófehérjékből izolátum és koncentrátum egyaránt készíthető ultraszűrés (UF) és porlasztva szárítás műveletének alkalmazásával. (Huffman és James Harper, 1999)

A tehéntejben természetes úton megtalálhatók enzimek, melyek hidrolázok és oxido-reduktázok lehetnek. A hidrolázok közül fontos kiemelni az alkalikus-foszfátáz enzimet, mely egy hőérzékeny észteráz, a gyors foszfátáz-próba során az aktivitása vizsgált, mely a tej pasztörözöttségének ellenőrzését teszi lehetővé. Az enzim működése során a mintához adott 3,3-dimetil-fenolftalein-hidrogén-foszfátból 3,3-dimetil-fenolftaleint szabadít fel, mely lúgos környezetben indikátorként színreakcióval jelez. A másik nagy jelentőséggel bíró indikátor enzim egy vastartalmú oxido-reduktáz, pontosan a laktoperoxidáz, amely szintén hőérzékeny, így a pillanat pasztörözés ellenőrzését teszi lehetővé. A hatásmechanizmus során a hidrogén-peroxid bontásával felszabaduló oxigén az indikátorvegyületet (N,N-dietil-1,4-fenilén-diamin-hidroklorid) oxidálja, mely szürke színreakcióval jelzi az enzimaktivitást. A tejben megtalálhatók továbbá karbohidrázok, proteázok és flavinenzimek is. (Balatoni és Ketting, 1981)

2.2.3 Szénhidrátok a tejben

A tej legjellegzetesebb szénhidrátja a tejcukor, azaz a laktóz, mely egy D-galaktóz és egy D-glükóz molekula 1-4-es kapcsolódásával létrejövő diszacharid vegyület (β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glcp). A laktóz az emlőmirigyben termelődik, két sztereoizomer formájában van jelen, ezek az α - és a β -laktóz. A tejben a molekulárisan oldott anyagok közé tartozik, a módosulatai vizes oldatban egyensúlyban vannak (azonban a β módosulat nagyobb részarányban található meg). (Ling et al., 1961)

A tejben és ebből következően a vérben is fennálló ozmotikus egyensúlyt a laktóz-, illetve a vízdékony ásványi sók (klorid) koncentrációja szabályozza, így a laktóztartalom változása fordított arányossággal befolyásolja a klorid-mozgást. A nátrium-klorid kis molekulatömege mellett teljes disszociációja révén enyhe koncentrációnövekedés esetén is jelentősen csökkenti a laktóztartalmat. Ezt igazolja az is, hogy a laktációs periódus vége felé haladva egyre kevésbé jellegzetesen édeskés a tej íze, sokkal inkább megy el a sós tartomány irányába. (Ling et al., 1961)

A tejre jellemző nagy vízaktivitás mellett a potenciálisan kórokozó- és patogén hatású mikroorganizmusok számára kiváló táptalajt biztosít a laktóztartalom. A tejsavbaktériumok fermentáció során negatívan befolyásolják a tej érzékszervi tulajdonságait – a savfok növekedésével egyidejűleg jellegzetes savanykás íz- és illat jelentkezik a képződő melléktermékeknek köszönhetően. 100°C hőmérséklet alatti hőkezelés hatására a laktóz aldehidsoportja képes a tejfehérjék szabad aminocsoportjaival reakcióba lépni, melynek hatására melanoidin vegyületek keletkeznek (Maillard-reakció). Hőkezelés során jellemző reakciója lehet még a karamellizáció (szénhidrát jellegéből adódóan). (Ling et al., 1961)

Annak ellenére, hogy a laktóz csupán egy diszacharid molekula, a szervezet enzimes hidrolízis formájában képes lebontani, mely folyamat β -D-galaktozidáz enzimhez kötött. Abban az esetben, ha az enzimmal nem rendelkezik a szervezet, a molekula bontása nem képes végbemenni a gasztrointesztinális traktusban. (Messia et al., 2007)

Az emésztés során a vékonybél nyálkahártyasejtjeiben megtalálható enzim a diszacharid szubsztrátot glükózzá és galaktózzá hidrolizálja. Abban az esetben, ha nincs rendelkezésre álló enzim, a vékonybélből az emésztetlen laktóz a vastagbélbe távozva hasmenést és puffadást okoz. (Ahn et al., 2020)

A laktózon kívül a tejben előfordulhatnak monoszacharidok, továbbá kis mennyiségű oligoszacharid és hexózaminok is, melyek kromatográfiás vizsgálat segítségével azonosíthatók (Ling et al., 1961).

2.2.4 A tejsír összetétele

A tejsír a tej fő energiaforrása, a rendszer durva diszperz fázisát adja emulgeált formában (Mourad et al., 2014). A zsírfrakciót egymagában vizsgálva kolloidikai szempontból és kémiai aspektusban egyaránt összetett anyagnak tekinthető. (Törley és Lásztity, 1993)

A zsírgolyócskákat legnagyobb arányban trigliceridek építik fel, melyek a glicerín (egy molekula) zsírsavakkal (három molekula) képzett észterei. A zsírsavösszetétel igen változatosan alakul akár az évszak, akár a takarmányozás tekintetében, azonban fontos megemlítenünk, hogy a diverzitás ellenére mindig jelen van egy állandósult zsírsav-összetétel (változékony komponens-arányokkal). (Törley és Lásztity, 1993)

A 4. táblázat a tehéntej átlagos major zsírsav-összetételét mutatja be.

4. táblázat: A tehéntej átlagos major zsírsav-összetétele (Forrás: saját szerkesztés (Mourad et al., 2014) munkája alapján)

ZSÍRSÁV		NOMENKLATÚRA	RÉSZARÁNY [%]	
TELÍTETT	Vajsav	C4:0	3,6	
	Kaprónsav	C6:0	2,3	
	Kaprilsav	C8:0	1,3	
	Kaprinsav	C10:0	2,7	
	Laurinsav	C12:0	3,3	
	Mirisztinsav	C14:0	10,7	
	Pentadekánsav	C15:0	1,2	
	Palmitinsav	C16:0	27,6	
	Sztearinsav	C18:0	10,1	
	Arachidsav	C20:0	0,2	
TELÍTETLEN	Mirisztolajsav	C14:1	1,4	
	Palmitolajsav	C16:1	2,6	
	Olajsav	C18:1	26,0	
TÖBBSZÖRÖSEN TELÍTETLEN	Nem konjugált	Linolénsav	C18:2	3,9
		Arachidonsav	C20:4	0,3
	Konjugált	Diének	C18:2	0,8

A zsírsavösszetétel meghatározza a tejszír sűrűségét, olvadáspontját- és dermedéspontját is, a sűrűsége 15°C hőmérsékleten 0,926-0,946 g/cm³ tartományba sorolható, olvadáspontja 28-35°C hőmérsékleti tartományban, dermedéspontja 19-26°C hőmérsékleti tartományban mozog. (Balatoni és Ketting, 1981)

A trigliceridek mellett foszfatid vegyületek, azaz lecitinek, kefalinok és szfingomielinek, valamint szterinek (koleszterin), mono- és digliceridek, zsírdékony és szabad zsírsavak is megtalálhatók. Ezen alkotók összességével alakul meg egy elhatárolható rétegekből álló szerkezet, azaz a zsírgolyócska, mely a felületaktív külső rétegének köszönhetően képes emulzióban maradni a tejszérumban. (Törley és Lásztity, 1993)

A zsírgolyócska magjának belsejét a folyékony zsírmag adja, ezt veszi körül egy kristályos triglicerid réteg. A zsírmagot egy körülbelül 2,5 nm vastagságú lipoid réteg veszi körbe, mely foszfolipideket, azaz lecitint és kevés szfingomielint, kefalint, cerebrozidokat és koleszterint tartalmaz. A belső lipoid réteg emulgeáló hatású, ugyanis a benne található vegyületek hidrofób terminálisukkal a zsírmag felé, míg hidrofíl részletükkel a tejszérum irányába fordulva, kapcsolódással hozzák létre a stabil emulziót. A kapcsolódás a hidrofíl karakterű fragmentumok bázikus és savas csoportjaik között történik. A lipoid réteget egy külső fehérje réteg veszi körül, mely az euglobulin fehérjéből épül fel. Az euglobulin egy ragasztó tulajdonságú frakció, ami a zsírcseppek aggregálódását segíti elő 61°C hőmérsékletig. A legkülső réteg a hidrát víz, azaz a hidrát burok, a fehérjeréteg C terminálisának disszociációjából fakadóan képes kötödni a zsírgolyócska felületére. (Törley és Lásztity, 1993)

2.2.5 Vitaminok és ásványi anyagok a tejben

A tejben megtalálható ásványianyagok rendkívül fontosak a szervezet zavartalan működésének fenntartásához annak ellenére, hogy a többi alkotóhoz mérten csekély mennyiségben vannak jelen és önmagukban nem jelentenek energiaforrást. A jellemző makroelemek közül kiemelt fontossággal bír a kalcium, illetve a foszfor az egészséges csontozat fejlődésének tekintetében, emellett megtalálható még nátrium, kálium és klorid is. A tej nyomelemeket is tartalmaz, ilyen például a vas és a réz, melyek többnyire a zsírgolyócska külső fehérje- és hidrát burka közt találhatók. (Gaucheron, 2011)

A kalcium háromféle formában található meg a tejben: szabadon kalciumion formájában; kapcsolt formában, például kazein molekulához, szabad zsírsavhoz; hidrofób formában, például kalcium-karbonát, kalcium-foszfát. A foszfor a kalciummal és a magnéziummal együtt többnyire a kazein micellához kötődik, míg a többi makroelem (kálium, nátrium és klorid) a tejszérumban található, hidratált formában. (Gaucheron, 2011)

Az 5. táblázat a tehéntejre jellemző vitaminokat ismerteti a jellemző megoszlási részarány ismeretében.

5. táblázat: A tehéntej átlagos vitamin-összetétele (*Forrás: saját szerkesztés (Claeys et al., 2014) munkája alapján*)

VITAMIN		RÉSZARÁNY [$\mu\text{g/mL}$]
VÍZOLDÉKONY	Tiamin (B1)	28-90
	Riboflavin (B2)	116-202
	Niacin (B3)	50-120
	Pantoténsav (B5)	260-490
	Piridoxin (B6)	30-70
	Biotin (B7)	2-4
	Folsav (B9)	1-18
	Kobalamin (B12)	0,27-0,70
	Aszkorbinsav (C)	300-2300
ZSÍROLDÉKONY	A vitamin	17-50
	Kolekalciferol (D3)	0,30
	Tokoferol (E)	20-184
	Fillokinon (K)	1,10-3,20

Az 5. táblázat szerint az aszkorbinsav kiemelkedő mennyiségben van jelen mind a víz, mind a zsíroldékony vitaminok tekintetében, emellett kiemelhető még a B5 és a B2 vitamin. A táblázatban felsorolt vitaminok legnagyobb része, köztük az aszkorbinsav is hőérzékeny, így tulajdonképpen a hőkezelt fogyasztói tej igen csekély mértékben tartalmazza őket. A hőérzékenység mellett fokozott fényérzékenység és oxidáció jellemző a vitaminokra, melyek együttesen előnytelen íz kialakulását eredményezhetik a termékben. A felsorolt vegyületek mennyisége tájékoztató jelleggel értelmezendő, hiszen egy adott tejtételben eltérés lehet a mennyiségek közt, amit az évszak és a takarmányozási protokoll egyaránt befolyásolhat. (Schröder, 1982)

2.3 A tejfogyasztás táplálkozás-élettani hatása

A tej kiemelt szerepet kap az élelmiszerek között, hiszen az emlős fajok számára ez a legelső táplálék, melyben valamennyi, a zavartalan fejlődéshez- és csonttömeg-növekedéshez szükséges tápanyag fellelhető. Ennek ellenére számos kérdés merül fel a felnőttkori tejfogyasztás kapcsán abból kifolyólag, hogy egyéb fajok teje kerül fogyasztásra. Az ellentmondások ellenére epidemiológiai tanulmányok is erősítik a tejfogyasztás szervezetre gyakorolt jótékony hatását és annak jelentőségét, viszont a kontradikcióval egyhangúan jelenti ki a tej lehetséges szerepvállalását a szív- és érrendszeri, valamint a daganatos megbetegedések kialakulásában. (Pereira, 2014)

A leggyakrabban említett kedvező élettani tulajdonság a tej magas kalcium-tartalma, mely ásványianyag a csontba épülve alakítja ki a megfelelő csontállományt. Az alacsony csonttömeg a csonttritkulás kialakulásának leghangsúlyosabb kockázati tényezője. Egyéb tanulmányok arról számoltak be, hogy a kalciumon túl valójában az összetevők sokrétűsége végett (peptidek, konjugált linolsav stb.) játszhat számottevő szerepet a csonttritkulás megelőzésében és a megfelelő csonttömeg kialakításában. (Pereira, 2014) Mindemellett megállapították, hogy a kalcium felszívódását elősegítő arányban van jelen a tejben számos fehérjefrakció, a laktóz, illetve a foszfor-kalcium arány is közelítőleg optimális (Liu et al., 2000).

Az emberi tápanyagszükséglet kielégítéséhez feltétlenül szükség van az állati eredetű élelmiszerekre is, mivel a növényi táplálékok sokkal kevesebb esszenciális aminosavat- és zsírsavat, valamint mikro- és makroelemeket tartalmaznak. A tejfehérjék kiemelkedő fontossággal bírnak a lisztérzékenyek és a gyomorbetegek speciális étrendjében, ugyanis felértékelő szerepet töltenek be. A tejzsír a diszperzitásfoka végett előnyös zsiradékforma táplálkozás-élettani tekintetben. Annak ellenére, hogy az egészségre káros telített zsírsavakban gazdag, nem elhanyagolható a konjugált linolsav tartalma, amely az egészség megőrzéséhez egy rendkívül fontos komponens. (Fenyvessy et al., 2014)

Kifejezetten előnyös az ásványianyagtartalma, különös tekintettel a kálium-nátrium arányra, ugyanis a tejben az ajánlott érték harmada, mely segít kompenzálni a társadalomra jellemző túlzott sófogyasztást, ezzel csökkentve az érrendszeri megbetegedések kockázatának mértékét. Az ásványianyagokon túl a vitamintartalom is a tej pozitívan megítélendő komponenseihez tartozik, csekély mennyiségük ellenére a napi szükséglet egy jelentősebb részét képesek fedezni. (Fenyvessy et al., 2014)

2.4 Az élelmiszerallergia fogalma

Az allergia a szervezet kóros, téves immunválasza olyan összetevő, komponens ellen, mely alapvetően a szervezetre nézve nem ártalmas, valamint egészséges szervezetben nem okoz tünetet. A szervezetet védő immunrendszer minden idegen anyagot (tulajdonképpen egy egyedi fragmentumát – epitóp, antigéndetermináns) antigénként azonosít, mely hatására immunválasz alakul ki, ugyanis ilyen formában próbálja meg eltávolítani a termelődő, fehérjetermészetű antitest (ellenanyag, B- vagy T-sejt) a reakciót kiváltó molekulákat. (Archila et al., 2017)

Az élelmiszerallergia az imént tárgyalt mechanizmus megléte egy szervezetben azzal a specifitással, hogy az ellenanyag termelését valamely élelmiszeralkotó váltja ki. Az állati eredetű termékek körét vizsgálva a fehérjék jelentik a legnagyobb allergénitási faktort az élelmiszercsoport komponensei közül. (Allen és Koplin, 2012)

Az élelmiszerallergia egyre nő a fejlett országokban, azonban pontosabb megállapítás alkotásához nem áll rendelkezésre elegendő reprezentatív adat (Allen és Koplin, 2012). Leung et al. (2018)-as kutatásai szerint Kínában (3,5%) és Afrikában (7,7%) a leginkább jellemző az élelmiszerallergia jelensége bármely élelmiszerre vonatkoztatva.

Valószínűsíthetően a modern életstílussal összefüggésben lehet a megbetegedések számának növekvő trendje, a leggyakoribb formája az IgE által közvetített forma. A megbetegedés növekvő tendenciájával analóg módon növekszik az anafilaxia előfordulási valószínűsége a négy év alatti korosztályban. (Allen és Koplin, 2012)

Az élelmiszerallergia az élelmiszerekben megtalálható egyes fehérjékre adott abnormális immunológiai válasz, mely fehérjék egészséges szervezetben nem okoznak tünetet, a beteg szervezetében azonban a kiváltott immunválasz nemkívánatos klinikai reakció kialakulását eredményezi. Az élelmiszerallergiákat általában két nagy gyűjtőcsoportba rendszerezik, ezek közül az egyik osztály az, amelyekben az immunválaszt élelmiszer-specifikus immunglobulinok (IgE antitestek) váltják ki, a másik osztály ezzel szemben nem IgE dependens. Az esetek 90%-a IgE-dependens immunválasz, mely leggyakrabban a következő allergizáló faktorok miatt jelentkezik („Big 8”): tehéntej, szója, tojás, földimogyoró, dió, búza, hal és kagyló (tenger gyümölcsei). (Allen és Koplin, 2012)

2.4.1 Allergizáló tejfehérjék

A tejfehérje allergia a gyermekek mindössze 4%-át érinti, azonban ennek ellenére a gyerekek körében mégis a leggyakoribb allergiatípus. A kicsiny érintettség ellenére igen komoly, akár halálközeli tünetekkel járhat, amelyek közé tartozik például az anafilaxiás sokk is. A betegek közel fele kinövi a kórt nyolc éves korára. A fő allergizáló fehérjék a β -laktoglobulin és a kazeinfehérjék, különös tekintettel az α s1-kazeinre, mely különös IgE szenzitivitást jelez. Ebből következően a betegségben szenvedők abnormalis T-sejt válaszokat adhatnak a kazein jelenlétére. (Archila et al., 2017)

Nate et al. (2004)-es kutatása során tejfehérje allergiában szenvedő betegek mintái kerültek analízisra, melyből megállapították, hogy a vizsgált személyek mindegyike érzékeny volt valamelyik kazeinfrakcióra – ezek közül legnagyobb mennyiségben az α s2-kazein (90%) és az α s1-kazein (55%) voltak kimutathatók, a κ -kazein a vizsgált személyek felénél, míg a β -kazein a vizsgált minták kevesebb, mint negyedénél volt kimutatható.

Ezen felül megállapították, hogy abban az esetben, ha κ - vagy β frakciót azonosítottak a mintákban, az mindig magában foglalta valamely α frakció jelenlétét. A savófehérjék közül a vizsgált minták 45%-ában volt kimutatható érzékenység a β -laktoglobulinra. (Natale et al., 2004)

2.4.2 A kazein-allergia és a kazein-intolerancia között fennálló különbség

A tejfehérje allergia jellemzően három kiváltó ok miatt alakulhat ki. Az első a malabszorpció, melynek során a komponens tökéletlen abszorpción esik át, melynek eredményeképpen a vékonybél szakaszában elbomlanak ezzel szekunder, nemkívánatos hatásokat kiváltva. Legismertebb formája a fenilketonúria, mely örökletes rendellenesség végett a fenilalanin hidroxiláz enzim nem képes tirozinná hidrolizálni a fenilalanint, így az patológiás bomlástermékeivel együtt akkumulálódik a szervezetben. Végérvényben idegrendszeri károsodást okozhat, emellett csökkenti az esszenciális aminosavak hasznosulásának lehetőségét. (Fenyvessy et al., 2014)

Másodsorban enzimhatás következményeként alakulhat ki a fehérjeérzékenység, ekkor a szervezet enzimeit számára emészthetetlen anyagok felhalmozódásával kerülnek közvetetten blokkolásra más enzimek. (Fenyvessy et al., 2014)

A harmadik eshetőség egy immunválasz kialakulása a részlegesen hidrolizált fehérjefrakcióval szemben. A tejfehérje-allergia igen ritka, a betegségben szenvedők arányát maximálisan 1%-ra teszik, a csekély létszámból is inkább a csecsemők, illetve a kiskorú gyermekek érintettek. (Fenyvessy et al., 2014)

Alapvetően az összes tejfehérje kiválthat allergiás reakciót, azonban tehéntej esetében a fő faktor a β -laktoglobulin. Az előfordulás diverzitását tekintve számos olyan esetről számoltak be, ahol családon belül igen magas volt a megbetegedett egyénszám, így nem kizárható, hogy a tejfehérje-allergia öröklődés nyomán terjed. (Fenyvessy et al., 2014)

Az allergiás tünetek súlyosságtól függően jelentkezhetnek, azonban nagyságrendileg átlagos tünetegyüttesek alkotják: hányás, hasmenés, anafilaxiás sokk. Technikailag ez az allergiatípus sem kezelhető gyógyszeresen, a legjobb mód az allergizáló élelmiszer-csoportok, azaz a tej- és tejtermékek csoportjának kerülése. Az allergenitás hőkezeléssel valamelyest csökkenthető, azonban fontos kiemelni, hogy a folyamat során további allergizáló komponensek képződhetnek. Szokványosan a fehérjeallergia 1-2 éves korra megszűnik, így ezzel fokozatosan növelhető a tejtermékek fogyasztása. (Fenyvessy et al., 2014)

2.5 A membránszűrés

A membránszeparáció művelete egy szétválasztó művelet, melynek segítségével molekuláris szintű elválasztás valósítható meg.

A membrán definíciója szerint egy olyan réteg, mely egy permszelektív gátat képez két fázis között. A permszelektív mivoltából adódóan vannak komponensek, melyekre szelektív, tehát átjárhatatlan azok számára, emellett viszont néhány komponens számára permeábilis, azaz átjárható. Az iparban technológiai fogalomként jelenik meg, hiszen az elválasztás szempontjából egy fizikális gát, mely kémiai átalakulások nélkül teszi lehetővé a szeparációt.

2.5.1 Történeti áttekintés

A membránszűrés történelmének kezdete a XVIII. század közepére prediktálható, az első felfedezés a víz elválaszthatóóságának megvalósítása volt, melyet egy állati eredetű hólyag-membránnal fedett, bor tartalmú edény vízbe merítése során tapasztalt a kísérlet elvégzője. A felfedezés tulajdonképpen a szemipermeábilis fogalom megjelenését eredményezte, hiszen a víz képes volt beáramolni az edényzetbe a membránon áthatolva. (Fane et al., 2011)

A XIX. század elején a gázok diffúziójának vizsgálata megalapozta a Graham-féle diffúziós törvény létrejöttét, mely a membránok diffúziós transzportfolyamatának alapját képezi. A század végén megalkották az első szemipermeábilis membránt, mely az ozmotikus nyomás mérésére lett fejlesztve, tíz évvel ezt követően az ozmotikus nyomás elmélete is megszületett (Van't Hoff törvény). (Fane et al., 2011)

A mikroszűrés alapjául szolgáló apró pórusméretű mesterséges membránok készítése egy magyar származású tudós nevéhez fűződik, mely alapul szolgált a XX. század harmadában zajló, a fordított ozmózis műveletére vonatkozó kutatásoknak, végül ezen időintervallumban elkészült a modern membrán is. (Fane et al., 2011)

2.5.2 A membránszűrés műveletének bemutatása

A membránműveletek élelmiszeriparban való alkalmazása igen elterjedt, mert könnyen kapcsolhatók egyéb műveletekhez (könnyű automatizálási lehetőség), illetve kíméletesek a kezelt anyaggal szemben, fajlagos energiaigényük kedvező.

A membránművelet során elválasztani kívánt rendszer a betáplált elegy, melyből a membrán számára átjárható komponenseket gyűjtőnéven permeátumnak (szűrletnek), a visszatartott komponensek összességét pedig retentátumnak (sűrítmény) nevezzük. A művelet végtermékét a művelet céljához igazítva határozhatjuk meg, termékfejlesztés esetében a retentátum, azonban tisztítás céljából elvégzett szeparáció esetében a permeátum lesz a céltermék.

A membránszűrés hajtóereje maga a potenciálkülönbség, melynek hatására a betáplálási oldalon bevezetett szétválasztandó rendszer bizonyos komponensei ezen kényszer hatására haladnak át a membránon a permeátumba. A folyamatra jellemző hajtóerő megvalósulhat nyomás-, koncentráció-, elektrokémiai potenciál- és hőmérséklet-gradiens létrehozása révén.

A 6. táblázat a membránműveleteket és az azokra jellemző paramétereket foglalja magában tájékoztató jelleggel.

6. táblázat: A membránműveletek csoportosítása (Forrás: saját szerkesztés (Cséfalvay és Mika, 2008) munkája alapján)

MŰVELET	MEMBRÁN TÍPUSA ÉS PÓRUSMÉRETE	HAJTÓERŐ	ELVÁLASZTHATÓ RÉSZECSKÉK
Mikroszűrés (MF)	Mikropórusos 0,1-1 μm	Transzmembrán nyomáskülönbség 1-3 bar	Keményítő, pigmentek baktériumok, élesztőgombák (10^6 - 10^8 Da)
Ultraszűrés (UF)	Mikropórusos 0,01-0,1 μm	Transzmembrán nyomáskülönbség 3-8 bar	Makromolekulák, kolloidok, vírusok, proteinek (10^3 - 10^6 Da)
Nanoszűrés (NF)	Bőrtípusú 0,001-0,01 μm	Transzmembrán nyomáskülönbség 1-20 (30) bar	Nagyobb molekulák, cukrok, kétértékű ionok (10^3 - 10^6 Da)
Reverz ozmózis (RO)	Bőrtípusú 0,1-1 nm	Transzmembrán nyomáskülönbség 10- 80 (160) bar	Egyértékű ionok, (tengervízből ivóvíz) (10^3 - 10^6 Da)
Dialízis	Mikropórusos 0,01-0,1 μm	Koncentráció gradiens	Sók és kisméretű molekulák elválasztása makromolekuláktól
Elektrolízis (ED)	Kation- és anioncserélő membrán	Elektromos potenciál gradiens	Ionos oldatok sómentesítése
Gőzpermeáció (GP)	Homogén polimer membrán	Gőznyomás- és koncentráció gradiens	Gőz komponenseinek elválasztása
Gázszeparáció (GS)	Homogén polimer membrán	Nyomás- és koncentráció gradiens	Gázelegyek elválasztása
Pervaporáció (PV)	Homogén polimer membrán	Gőznyomás- és hőmérséklet gradiens	Azeotróp elegyek szétválasztása
Membrándeszilláció (MD)	Hidrofób pórusos membrán	Gőznyomás gradiens	Vizes oldatok sómentesítése
Folyadékmembránon alapuló eljárások	Folyadék membrán	Koncentráció gradiens	Fémionok szelektív eltávolítása, gázszeparáció

A 6. táblázat is mutatja, hogy a mikroszűrés, az ultraszűrés, a nanoszűrés és a reverz ozmózis a klasszikus membránszűrések közé sorolhatóak, a hajtóerő ezen műveletek esetében a nyomás-gradiens.

A membránok osztályozhatók anyaguk és halmazállapotuk szerint. A három csoport (gáz, folyadék és szilárd) közül a kutatási munkám során használt membrán a szilárd membránok közé sorolható, azon belül is mesterséges eredetű, kerámia anyagú. (Cséfalvay and Mika, 2008)

A membránszeparáció művelete többféleképpen megvalósítható, ismert a statikus (dead end) és a keresztáramú (cross flow). A dead end szűrés során a betáplált elegy a membránra merőlegesen érkezik, melynek hatására a pórusméretet meghaladó molekulák a membrán felszínén dúsulnak, a permeábilis vegyületek pedig áthaladnak a membránon. Ennek hatására egy koncentráció-polarizációs réteg kialakulása következik be, mely közvetetten beavatkozik a membránművelet hatásfokának alakulásába. (Cséfalvay and Mika, 2008)

A cross flow kivitelezés során a betáplált elegy a membrán felületével párhuzamosan halad, azonban a permeábilis vegyületek a hajtóerő hatására merőlegesen lépnek át a permeátum frakcióba a membránon keresztül. Az áramlás elsodorja a retentátum részecskéit a membránról, ennek következtében kiküszöböli a koncentráció-polarizációs jelenséget. (Cséfalvay és Mika, 2008)

2.5.3 A műveletre jellemző mutatószámok

A fluxus az egyik legfontosabb jellemzője a membránszeparáció műveletének, azt mutatja meg a membrán felületére vonatkoztatva, hogy egységnyi idő alatt mekkora mennyiségű permeátum képes áthaladni a membránon.

$$J = \frac{1}{A} \cdot \frac{dV}{dt} = \frac{V_p}{A \cdot t} \quad [1]$$

Ahol J a fluxus $\left[\frac{L}{m^2 \cdot h}\right]$; „ A ” a membrán felülete $[m^2]$; $\frac{dV}{dt}$ a permeátum térfogatárama; V_p a permeátum térfogata $[L]$, t a membránszűrés ideje $[h]$.

A visszatartás (retenció) azt mutatja meg, hogy a betáplált elegy hány százaléka marad vissza a sűrítményben.

$$R = \frac{c_B - c_P}{c_B} \cdot 100 = 1 - \frac{c_R}{c_B} \cdot 100 \quad [2]$$

Ahol R a retenció $[\%]$; c_B a betáplált elegy koncentrációja; c_P a permeátum koncentrációja; c_R a retentátum koncentrációja (a koncentrációk mindig azonos dimenzióban értelmezendők, például $[g/L]$).

A betáplálás és a permeátum oldala között fellépő nyomáskülönbséget transzmembrán nyomáskülönbségnek nevezzük.

$$TMP = \frac{p_{be} - p_{ki}}{2} - p_0 \quad [3]$$

Ahol TMP a transzmembrán nyomáskülönbség; p_{be} a retentátum nyomása a modulba történő belépéskor; p_{ki} a retentátum nyomása a modulból történő kilépéskor; p_0 a permeátum nyomása (a nyomások mindig azonos dimenzióban értelmezendők, például $[bar]$).

Az utolsó paraméter a koncentrációs faktor (VCF), másnéven besűrítési arány, mely azt mutatja meg, hogy a betáplált elegy mennyisége hányszorosa a retentátum mennyiségének.

$$VCF = \frac{V_B}{V_B - V_P} = \frac{V_B}{V_R} \quad [4]$$

Ahol a VCF a besűrítési arány [%]; V_B a betáplált elegy térfogata [L]; V_P a permeátum térfogata [L]; V_R a retentátum térfogata [L].

(Cséfalvay and Mika, 2008)

2.5.4 A mikroszűrés művelete

A mikroszűrés áll a legközelebb a köznyelvbe is beívódott szűrés műveletéhez. A műveletnél alkalmazott membránok mikropórusosak, pórusméretük jellemzően 0,05-10 μm között mozog, átlagosan 0,1-2,0 μm tartományba esik. (Bélafiné Bakó and Nemestóthy, 2020)

A mikroszűrés során számolni kell egy kedvezőtlen folyamattal, a fluxuscsökkenéssel, ami az eltömődés (fouling) és a koncentráció-polarizáció okán megy végbe. A mikroszűrés dead end és cross flow műveletnél (szakaszos és folyamatos üzemben) egyaránt alkalmazható, azonban a retentátum fragmentumai akumulálódva, egy úgynevezett gélréteggént jelennek meg a membrán felületén, mely szintén egy nemkívánatos jelenség a művelet hatásfokát tekintve. A fehérjék elválasztása során a membrán anyagának kiválasztása kiemelten fontos, ugyanis az képes befolyásolni az adszorpciós jelenséget (a hidrofób membránokra nagyobb fehérje-adszorpció jellemző). (Bélafiné Bakó and Nemestóthy, 2020)

A fouling egy elkerülhetetlen jelenség, melyből következik, hogy a membrán folyamatos karbantartást és tisztítást igényel, mindemellett pedig ügyelni kell a sterilitás fenntartására is. (Bélafiné Bakó és Nemestóthy, 2020)

2.5.5 A statikus keverés jelentősége a membránszűrés műveleténél

A statikus keverés jelentősége a membránműveletek során gyakorta felmerülő problémák, azaz a fouling és a koncentráció-polarizáció csökkentésében, esetleg kiküszöbölésében rejlik. A fouling a szuszpendált anyagok és a makromolekulák végett alakul ki, mely a fluxus csökkenés jelenségét eredményezi, az eltömődés egy idő után irreverzibilissé válik. (Gimmelshtein és Semiat, 2005)

A koncentráció-polarizáció során kialakult gélréteg másodlagos szűrőréteggént viselkedik. A szűrési folyamat intenzifikálása- és a kevertetés megvalósítása érdekében a rendszerekbe statikus keverők integrálását valósítják meg. (Gimmelshtein és Semiat, 2005)

A statikus keverők a cső membrán modulban valamilyen módon rögzített, nem aktívan mozgó betétek, melyek az áramlás jelenségét kihasználva hoznak létre harántirányú kevertetést (Németh, 1995). Ezen keverők beépítése a folyamat energetikai szükségletét és karbantartási költségeit is jelentősen csökkentheti a kevertetés kivitelezése mellett (Varga et al., 2018).

A statikus keverők használata a membrán modul szelektivitását is képes megnövelni, továbbá a hulladéktermelés jelenségét csökkenti. Utóbbi jelentősége az ipari szennyvíz minőségére van kihatással, ugyanis a szennyvíz mennyiségének csökkenése mellett az akár minőségi javuláson is áteshet. (Ghanem et al., 2014)

2.5.6 A mikroszűrés alkalmazása a tejiparban

Emellett az elképzelés mellett az élelmiszeriparban a tej kezelését már-már rutin szerűen mikroszűrés segítségével valósítják meg, csíraszámcsökkentő hatásának köszönhetően előszeretettel alkalmazzák a műveletet (Bactocatch eljárás). A folyamat során a főlözött nyerstejet mikroszűrő membrán modulon engedik át, mely a betáplált elegy potenciális kórokozó mikroorganizmusait visszatartva egy megnövelt eltarthatósági idejű permeátum frakciót eredményez (hideg-sterilizés). (Bélafiné Bakó and Nemestóthy, 2020)

A mikroszűréssel elválasztott mikroorganizmusok és spórák végett a savófehérjékből előállított különféle termékek, például izolátumok és koncentrátumok minősége- és technofunkciós tulajdonsága (például emulzifikáló hatás növelése a késztermékben) is jelentősen javul úgy, hogy közben denaturációra nem válnak hajlamossá. (Kumar et al., 2013)

2.6 Az enzimes hidrolízis elméleti háttere

A hidrolízis a szerves kémiában a kicserélődési reakciótípusok csoportjába sorolható. Egy szerves molekula hidrolízis során vízmolekulával reakcióba lépve bomlik kisebb összetettségi fokú (azaz a vegyületet felépítő) molekulákra. (Veszprémi, 2011)

A hidrolízis különböző típusú vegyületek esetében más hatásfokkal játszódik le. Savak és bázisok esetében a folyamat a vegyületre jellemző sav-bázis egyensúly szerint alakul, azonban a sók általában teljes mértékben disszociálnak. (Veszprémi, 2011)

Azért mehet végbe a teljes disszociáció a sók esetében, mert szilárd állapotukban is ionos vegyületek. A kristályrácsaik rácspontjain egymástól szeparált ionok találhatók, sav-bázis egyensúlyt tekintve indifferensek, mert a különböző polaritású ionok nem befolyásolják a pH értéket alakító ioneqyensúlyt. (Veszprémi, 2011)

A szerveskémiai reakciók során a molekulák között létrejövő kölcsönhatások lejátszódásához szükség van egy úgynevezett aktiválási energia meglétére, mely a közeledő vegyületek elektronfelhőinek taszítása és a kedvezőtlen térelrendeződés következtében fellépő energiaszükségletet fedezi. Abban az esetben, ha a kémiai rendszerben az aktiválási energián túlmutató energiatöbblet van, szükség van katalizátor vegyület alkalmazására. A katalízis során egy új, kisebb energetikai igényű út nyílik a reakció megvalósulásához egy katalizátor komplexen keresztül. Az enzimműködési mechanizmus tulajdonképpen egy katalitikus folyamatnak tekinthető, melyben a katalizátor maga az enzim. (Dixon és Webb, 1964)

Az enzimek általában globuláris fehérjék, melyek a biokémiai folyamatok katalizálásáért felelősek. Az enzimreakcióban az enzim aktív helye vesz részt, a molekula további részletei az aktív hely konfigurálásáért felelősek (konformáció megváltoztatása). Az aktív hely két fő részletből tevődik össze, ezek a szubsztrátkötő hely és a katalitikus hely. A szubsztrátkötő helyhez a szubsztrát pontosan illeszkedik, ehhez másodrendű kémiai kötással kapcsolódik. A katalitikus hely az enzim-szubsztrát (ES) komplex tovább alakításáért felelős, ez felelős az enzimek reakció-specifikus voltaért. (Dixon és Webb, 1964)

Az enzimreakció kinetikájának matematikai modellezését Leonor Michaelis és Maud Menten fogalmazták meg a XX. század elején (Michaelis-Menten egyenlet). Az enzimreakció maximum sebessége a kezdeti sebesség, melynek további alakulása meghatározható a szubsztrát koncentráció $[S]$ ismeretében. (Csighy, 2022)

A szubsztrát $[S]$ által képzett enzim-szubsztrát komplex $[ES]$ további reakciók útján alakul terméké $[P]$. A folyamat az $[ES]$ pontig irreverzibilis. (Csighy, 2022)

A proteáz enzimek a fehérjebontó enzimek kategóriájába sorolhatók, hatásmechanizmusuk szerint a fehérjemolekulákban megtalálható peptidkötésekre, szűkebb perspektívában szekvencia specifikusak, a hidrolízisük során aminosavak keletkeznek. A peptidkötés hasításának lokációja szerint további csoportokba oszthatók, ezen csoportok az endo- és az exopeptidázok. Az endopeptidázok a peptidlánc belső részén, míg az exopeptidázok a peptidlánc végén bontanak. (Csighy, 2022)

A papain enzim a C1 családba tartozó cisztein proteáz, mely egyetlen hosszú polipeptid láncból áll. A polipeptid láncban megtalálható három diszulfidhíd és egy szulfhidril csoport, amelyek az enzim működését biztosítják. Az aktiválási pH optimuma 6,0-7,0 értékre tehető, az aktiválási hőmérséklete 50-60°C között mozoghat. Specifitását tekintve a papain a legtöbb protein szubsztrát bontását nagyobb hatásfokkal végzi, mint a hasnyálmirigy-proteázok, széles specifitást mutat. Bázikus aminosavak, a leucin vagy a glicin peptidkötéseinek hasítására képes, ezen felül hidrolizálja az észtereket és az amidokat is. (Kamphuis et al., 1985)

2.7 Az összehasonlító statisztikai elemzés elméleti háttere

A kutatás elvégzése során szempont volt az, hogy a kifejlesztett technológia üzemi léptékben is effektíven megvalósulhasson. A kiválasztott paraméterek monitorozására tökéletes módszer a varianciaelemzés Az ANOVA, azaz Analysis of Variance, első sorban több, normális eloszlású csoport várható értékének összehasonlítására alkalmas statisztikai módszer. (Kovács et al., 2018).

A vizsgálat választ ad arra, hogy a kiindulási fluxus szignifikánsan eltér-e az elméleti fluxus értékétől, mely egy igen jelentős energetikai optimalást tesz lehetővé. A módszer alkalmazhatóságának feltétele, hogy a csoportok normális eloszlásúak legyenek, a minták függetlenek legyenek, továbbá az is, hogy a varianciák egyezősége fennálljon. (Kovács et al., 2018)

Az ANOVA jobb módszernek bizonyul a páros összehasonlításnál, ugyanis lehetővé teszi a kölcsönhatások vizsgálatát több szempontos vizsgálat esetén, továbbá a véletlen szórás pontosabban becsülhető vele. (Makara, 2023)

A hipotézis megfogalmazásával kezdjük a vizsgálatot (nullhipotézis), miszerint a csoportok várható értékei megegyeznek. Az ellenhipotézis ennek a tagadása, tehát azt mondja ki, hogy a csoportok várható értékei nem egyeznek meg (nem tekinthető mindegyik azonosnak). A vizsgálat eredménye az alább szemléltetett ANOVA táblából megállapítható. (Kovács et al., 2018)

7. táblázat: ANOVA tábla (Forrás: saját szerkesztés (Kovács et al., 2018) munkája alapján)

TÉNYEZŐK	ELTÉRÉS- NÉGYZETÖSSZEG	SZABADSÁGI FOK	BECSÜLT SZÓRÁSNÉGYZET	F	P-ÉRTÉK
KÜLSŐ	SSK	k-1	$SSK/(k-1)$	$[SSK/(k-1)]/[SSB/(n-k)]$	-
BELSŐ	SSB	n-k	$SSB/(n-k)$	-	-
Σ	SST	n-1	-	-	-

A 7. táblázatban az n a mintaelemszámot, a k a csoport-számot, az SSK-, az SSB- és az SST pedig a külső-, a belső- és a teljes eltérés-négyzetösszegeket jelölik. (Kovács et al., 2018)

Abban az esetben, ha adott szignifikanciaszint mellett a mintákból a populáció varianciájára készített független becslések hányadosa az F eloszlást követi, és annak várható értéke 1, akkor megállapítható, hogy a minták azonos csoportból származnak, tehát a nullhipotézis igaz (Makara, 2023).

2.8 A Lowry mérés elméleti háttere

Az összes fehérjetartalom analitikai meghatározására alkalmas Lowry módszer az egyik leggyakrabban alkalmazott eljárás, mert könnyen reprodukálható, illetve igen érzékeny. (Rodríguez-Vico et al., 1989)

A mérés során a mérni kívánt fehérjetartalom függvényében a reagenseknek köszönhetően a minták különböző mennyiségű fényt képesek elnyelni adott spektrumon. Az abszorbancia és a minták fehérjetartalma között összefüggés állítható fel, így egy kalibrációs görbe elkészítésével a mintákhoz tartozó abszorbancia értékekből számíthatóvá válik az összes fehérjetartalom. (Shakir et al., 1994)

A kolorimetriás módszer során a réz(II)-ionok (Cu^{2+}) kelátképző reagensként lúgos közegben a peptidkötések nitrogénatomjaival heterociklust generálnak, melynek következtében a réz(II)-ionok réz(I)-ionná alakulnak. (Tantray et al., 2023)

A Folin-Ciocalteu reagens foszfomolibdinsav vagy foszotungsztinsav tartalmát a fehérjék tirozin, illetve triptofán aminosavai redukálják, mely kék színű termékképződéssel járul hozzá a módszer érzékenységéhez. (Tantray et al., 2023)

A fehérjék polipeptidláncában megtalálható peptidkötés ($-\text{CO}-\text{NH}-$) reakcióba lépve a réz-szulfáttal lúgos közegben kék színreakciót eredményez. A mérés során a keletkezett lúgos réz-tartarát mennyisége kerül meghatározásra spektrofotometriás módszer segítségével. (Tantray et al., 2023)

2.9 Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis működési elve

A gélelektroforézis elektromos töltés- és méret alapján képes elválasztani molekulákat. A molekulák felvitele a futtatógél-lapon megtalálható úgynevezett zsebekbe történik, majd a lapot az elektroforézis kamrába helyezik, amely elektromos áramot vezető pufferrel van megtöltve. A fehérjék molekulatömeg szerinti elválasztása az alkalmazott pufferek és oldatok segítségével a kamrában valósul meg. A dipólusos vegyületek különböző elektroforetikus mozgékonyssággal rendelkeznek, így az elektromos erőterben különböző sebességgel mozognak, melynek hatására egymástól elválasztódnak, így lehetőség adódik a bevizsgálni kívánt vegyületek megfestésére. A festés eredményeként sávok jönnek létre, melyekben a vizsgált vegyületen belül azonos mérettartományú- és lokációjú molekulacsoportok találhatók. (Kratz és Siegfried, 2010)

A fehérjék pozitív- vagy negatív töltéssel rendelkezhetnek neutrális pH értéken. Abban az esetben, ha a fehérjék oldatban találhatók, elektromos erőter hatására méret- és alak specifikusan elmozdulnak. Az SDS-PAGE módszer esetében ez a vándorlás egy szabályozható, hidratált poliakrilamid gélben megy végbe. (Bio-Rad, 2024)

3. Alkalmazott módszerek

3.1 Felhasznált anyagok

Ezen alfejezetben a kutatómunkám során felhasznált anyagok paramétereinek ismertetését vettem sorra.

3.1.1 Az Ultra High Temperature (UHT) tej tulajdonságai

A membránszűrés alapanyagául UHT tejet választottam azért, mert véleményem szerint a fogyasztók legnagyobb része ezt a tejtípust részesíti előnyben a többivel szemben a megnövelt eltarthatósági ideje végett.

Az alapanyagként felhasználásra kerülő tejet az Élelmiszeripari Műveletek és Folyamattervezés Tanszék biztosította számomra.

A mérések során alkalmazott tehéntej az Alföldi Tej Kft. által gyártott, Riska márkájú, 1 L kiszerelésű, Zero UHT sovány tej (0,1%) volt, mely egy Ultramagas hőmérsékleten hőkezelt, azaz UHT, homogénezett sovány tej. Az UHT tulajdonságából adódóan felbontás előtt a tej hűtést nem igényel, azonban felbontás után hűtve tárolandó, így még 3-4 napig fogyasztható a termék.

Tápérték információk tekintetében 100 mL termékre vonatkoztatva az energiatartalom 136 kJ/32 kcal, a zsírtartalom 0,1%, a szénhidráttartalom 4,7%, a fehérjetartalom 3,1%, a sótartalom pedig a nátrium természetes jelenlétéből adódóan 0,13%.

Az alapanyag előkészítést tulajdonképpen nem igényelt, a tejet szobahőmérsékleten tároltam felbontást megelőzően.

3.1.2 A membránszűrő berendezés tisztításához alkalmazott vegyszerek

A membránszűrő berendezés tisztítása egy kardinális kérdés a műszer élettartamának tekintetében, ugyanis a gépben lerakódott szennyeződések jelentősen megrövidíthetik azt. A kerámia csőmembrán tisztítását minden sűrítési folyamat után szükséges elvégezni.

A megfelelő tisztítást mindig a szétválasztandó anyag tulajdonságainak ismeretében kell megválasztani. A mérés következtében a csőmembrán pórusaiban esetlegesen beragadt fehérje- és zsíraggregátumok, illetve a csőmembrán felületén gélréteg formájában keletkezett lerakódás eltávolítása két lépcsőben történt meg: a membrános mosások egy lúgos és egy savas fázissal való mosást jelentenek.

A tisztítási folyamat első felében alkalmazott vegyszer az ECOLAB® által gyártott, P3-11 kódú Ultrasil™ 110 (A) volt, amely 2 L térfogatú, 2 m/m% koncentrációjú oldat formájában került alkalmazásra. A klór- és foszformentes lúgos tisztítószer kifejezetten tej membránszűréséhez lett kifejlesztve, ugyanis olyan enzimeket is tartalmaz, melyek bontják a tejben lévő szerves komponenseket (Luján-Facundo et al., 2016).

A tisztítás második felében a műszer átmosását 2 L térfogatú, szintén 2 m/m% koncentrációjú citromsav oldattal végeztem.

3.1.3 Az enzimes hidrolízishez alkalmazott papain enzim

Az enzimes hidrolízis során alkalmazott papain enzim a HIMEDIA® gyártó által előállított RM6518 számú készítmény volt, enzimkatalógus (EC) szám szerint 232-627-2. A papain enzimet a papaya (*Carica papaya*) fajból kivonatolják. Ajánlott tárolási hőmérséklete 2-8°C, eltarthatósági ideje 3 év a csomagoláson feltüntetett tárolási hőmérsékleten.

Megjelenését tekintve egy finom szemcsézetű, fehér szilárd por, oldhatósága 10 mg/mL víz. 25°C hőmérsékleten, 2% nedvességtartalommal a pH értéke 4,80-6,20 tartományban mozog. Aktivitása megközelítőleg 30000 USP/mg. Az USP egység jelen esetben azt a papain aktivitást fejezi ki, amely 1 µg tömegű tirozinnak megfelelő mennyiséget szabadít fel kazeinből 6,0 pH értéken, 40°C hőmérsékleten.

Az aktiválási hőmérsékleti tartományból a vizsgálat során 50°C hőmérséklettel dolgoztam biztosítva azt, hogy a tej hőérzékeny fehérjekomponensei ne csapódhassanak ki a szélsőséges hőhatás következtében. Az enzim inaktiválását 70°C hőmérsékleten végeztem el a hidrolízis lezajlását követően.

3.1.4 A Lowry méréshez alkalmazott vegyületek

Az összes fehérjetartalom méréséhez a Thermo Scientific™ Pierce™ Modified Lowry Protein Assay Kit (23240) készletét használtam.

A készlet tartalmazott egy módosított Lowry Protein Assay reagenst (Folin reagens), mely 480 mL térfogatú, réz-szulfátot, kálium-jodidot és nátrium-tartarátot tartalmaz lúgos nátrium-karbonát pufferben. A csomag részét képezte továbbá a 2 N koncentrációjú, 50 mL térfogatú Folin-Ciocalteu reagens, valamint 10 db, ampullánként 1 mL űrtartalmú, 2 mg/mL koncentrációjú marha szérumalbumin (BSA) standard is (0,9% sóoldatban és 0,05% nátrium-azidban).

A vegyszerek fény- és hőérzékenyek, így tárolásuk fénytől elzárva, 4°C hőmérsékleten történt.

3.1.5 Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézishez alkalmazott vegyületek

A mérés során alkalmazott molekula standardok a Bio-Rad, Precision Plus Protein™ Dual Color Standards, 1610374, USA, illetve kazein (20-30 kDa) és savófehérjék (α -laktalbumin: 14,4 kDa és β -laktoglobulin: 18 kDa) voltak.

A különböző géleket A- (Bio-Rad 1610156, Acrylamide/Bis-Solution, 29:1, 500 mL); B- (pH = 8,8; 2 M koncentrációjú Trisz-HCl); C- (0,347 M koncentrációjú SDS) és E- (pH = 6,8; 0,5 M koncentrációjú Trisz-HCl) oldatokból készítettem el.

A 16 $\text{m}/\text{m}\%$ koncentrációjú akrilamid-biszakrilamid tartalmú futtatógél összetétele szerint 4 mL A-oldatból; 1,8 mL B-oldatból; 50 μL C-oldatból; 2,06 mL desztillált vízből; 6 μL TEMED-ből és 50 μL ammónium-perszulfát-oldatból állt.

A 15 $\text{m}/\text{m}\%$ koncentrációjú elválasztó gél-oldatot 4 mL A-oldatból; 1,8 mL B-oldatból; 50 μL C-oldatból; 2,06 mL desztillált vízből; 6 μL TEMED-ből és 50 μL ammónium-perszulfát-oldatból készítettem el.

A 6 $\text{m}/\text{m}\%$ koncentrációjú gyűjtőgél 0,5 mL A-oldatot; 27,5 μL C-oldatot; 0,33 mL E-oldatot; 1,6 mL desztillált vizet; 3 μL TEMED-et; 25 μL ammónium-perszulfát-oldatot tartalmazott.

A futtató-puffer összetétele szerint 0,025 M koncentrációjú Trisz, 0,0035 M koncentrációjú SDS és 0,193 M koncentrációjú glicin volt.

A minták hígításához 2-merkaptoetanolt tartalmazó Laemmli-féle mintaoldó puffert használtam (Bio-Rad, 1610737: 2x + 10% β -merkapto-etanol).

A fehérjék fixálásához 20 m/m% koncentrációjú triklór-ecetsav (TCA) oldatot használtam, mely 10 m/m% etil-alkoholt (96 m/m%-os), 5 m/m% ecetsav-oldatot (96 m/m%-os) tartalmazott.

A TCA eltávolítását PAGE-mosó oldattal; a festést pedig Coomassie Brilliant Blue R-250 festékoldattal végeztem el. A maradék festék eltávolításához 10 m/m% ecetsav-oldatot alkalmaztam.

3.2 Alkalmazott módszerek

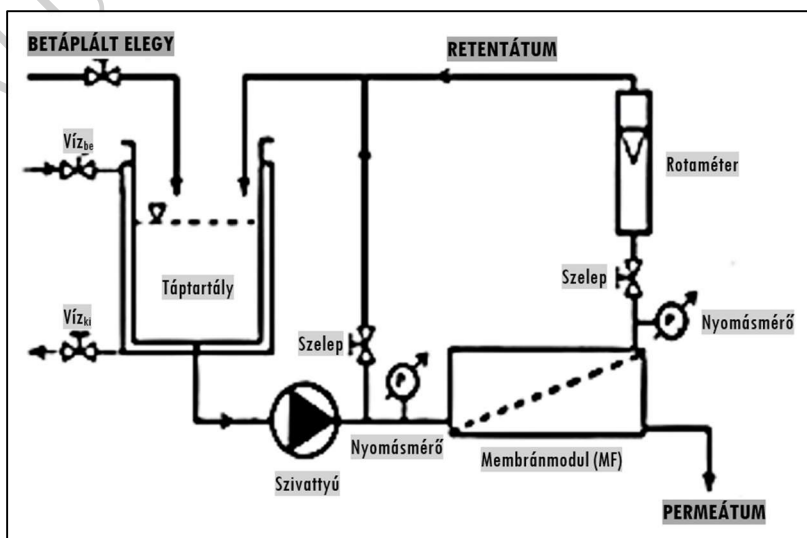
Ezen alfejezetben a kutatómunkám során alkalmazott módszerek ismertetését vettem sorra.

3.2.1 A tej permeátum frakciójának előállítása mikroszűrés (MF) műveletével

A tej mikroszűrését (MF) a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élelmiszer tudományi és Technológiai Intézet, Élelmiszeripari Műveletek és Folyamattervezés Tanszékén megtalálható, laboratóriumi kivitelű membránszűrő berendezésén végeztem el.

A membránszűrő berendezés fő elemei közé tartozik a táptartály, a membránmodul (MF), a rotaméter, a szivattyú, a nyomásmérők, illetve a szelepek. Ezek elrendezését az 1. ábra mutatja be.

1. ábra: A membránszűrő berendezés sematikus ábrája (Forrás: saját szerkesztés (Csighy, 2022) munkája alapján)



A táptartály egy duplafalú üvegtartály volt, melynek köpenyterében opcionálisan vízfűtés alkalmazható. A táptartályból a szétválasztandó elegy a berendezésben kétféleképpen képes haladni a cross flow művelet miatt. A tej egyik útvonala a szivattyútól indulva a membránmodulon, majd a rotaméteren, végül a táptartályba vezet, míg a másik útvonal egy elkerülő, úgynevezett Bypass ágon keresztül valósul meg. A tej áramoltatásáért a szivattyú volt felelős, a nyomásszabályzást a permeátum- és a retentátum oldalán pedig a bemeneti- és a kimeneti szakaszhoz tartozó nyomásmérő segítségével kiviteleztem.

A tej besűrítését kerámia csőmembrán alkalmazásával végeztem, melyet egy rozsdamentes acél anyagú, egycsatornás, cross flow membránmodulba építve használtam.

A kerámia csőmembrán belsejébe a modulba való beépítést megelőzően egy rozsdamentes acélból készült statikus keverőt integráltam a fluxus értékének növelése, valamint a koncentráció-polarizáció jelenségének csökkentése érdekében.

A nyomást szelepek-, míg a térfogatáramot rotaméter segítségével szabályoztam a besűrítési folyamat során.

A 8. táblázat a membránszűrő berendezéshez tartozó szerelvények típusait sorolja fel.

8. táblázat: A membránszűrő berendezés szerelvényei (*Forrás: saját szerkesztés*)

MIKROSZŰRŐ MEMBRÁNOK	Membralox® ET 1-070-LAB-250mm-5.0µm-A---
	Pall Corporation, Franciaország
	Membralox® ET 1-070-LAB-250mm-1.4µm-A---
	Pall Corporation, Franciaország
SZIVATTYÚ	Modell – E2-203-H1FN4S, 2,2 kW 3HP
ROTAMÉTER	P típusú saválló 1/2" 252215 kódú; mérési tartomány: 60 – 600 L/h
NYOMÁSMÉRŐ	EN837-316SS WIKA; mérési tartomány: 0-6 bar; felbontás: 0,2 bar
SZELEPES CSAP	1/2" (RB-RS12)
STATIKUS KEVERŐ	Spirális kialakítású (Inox, Backi Petrovac, Vojvodina, Szerbia, SS316)

A felhasznált mikroszűrő membránok a Pall Corporation által gyártott, Membralox® típusú membránjai, melyek pórusméretei 1,4 µm (ET1025014CA-A---), illetve 5,0 µm (ET1025005MA-A---) voltak, hosszúságuk 250 mm, belső átmérőjük 7 mm, külső átmérőjük 10 mm, aktív felületük $5 \times 10^{-3} \text{ m}^2$, aktív rétegük titánium-oxid, míg támasztó rétegük alumínium-oxid volt.

A statikus keverő paramétereit tekintve a menetemelkedés-átmérő aránya 2, átmérője 6,5 mm, teljes hossza 241 mm, menetemelkedése 13,2 mm, keverőelemeinek száma 36, vastagsága 1,2 mm, anyaga pedig rozsdamentes acél (SS316).

A mérést a kiválasztott pórusméretű kerámia csőmembrán modulba szerelésével kezdtem meg. A modulba történő helyezését követően ioncserélt vízzel kondicionáltam a membránt 3 órán keresztül azért, hogy a hidrofil típusú membrán pórusai vízzel átmosva átnedvesedjenek. Abban az esetben, ha ez a lépés kimarad, a száraz membrán nem lesz képes a szűrési folyamat elvégzésére. Ezt követően elvégeztem a tiszta vízfluxus mérését a besűrítést megelőzően.

A vízfluxus méréséhez három párhuzamos mérést alkalmaztam nyomásértékenként, összesen három nyomásértéken (1,4 μm pórusméret esetében 1 bar, 2 bar és 3 bar; 5,0 μm pórusméret esetében 0,5 bar, 1 bar és 1,5 bar) mértem fluxusértékeket. A fluxusértékek nyomásonkénti átlagával lineáris regressziót végeztem a mérés pontosságának ellenőrzésére.

A kondicionálás ideje alatt továbbá előkészítettem az alapanyagot: kimértem a betáplált elegy térfogatát, mely mindkét pórusméretű membrán esetében 1,2 L volt. A membránszűrés során mindkét alkalommal kétszeres besűrítési aránnyal dolgoztam, ami azt jelenti, hogy a betáplált tej mennyiségét a felére sűrítettem.

A szűrést szakaszos üzemben kiviteleztem 200 L/h térfogatáramon, 1,4 μm pórusméretű membrán esetén 3 bar-, 5,0 μm pórusméretű membrán esetén 1 bar transzmembrán nyomáskülönbség mellett, 20,0°C hőmérsékleten. A transzmembrán nyomáskülönbség értékének változtatását a változó pórusméret idézte elő. A változó pórusméret az egységnyi idő alatt átáramló szűrlet mennyiségét is befolyásolta, 1,4 μm pórusméret esetében 25 mL, míg 5,0 μm pórusméret esetében 100 mL volt az egységnyi térfogat.

A besűrítés végeztével a sűrítmenyt összegyűjtöttem, majd ioncserélt vízzel, a besűrítést megelőző tiszta vízfluxus mérésével analóg módon megmértem a membrán eltömődöttségének mértékét, azaz az eltömődési fluxust. A betáplált elegyből, a retentátumból és a permeátumból egyaránt három-három mintát vettem 2 mL térfogatú Eppendorf csövekbe a későbbi analitikai vizsgálatokhoz.

A mintavételt követően a berendezés tisztítása következett, melynek első lépéseként kiöblítettem a gépben maradt tej nagy részét előmosás szerűen. Elkészítettem a 2 L térfogatú, 2 $\text{m}/\text{m}\%$ koncentrációjú Ultrasil™ oldatot, majd ezt körülbelül 70-75°C hőmérsékletre melegítettem, a műszert 45 percen keresztül mostam vele alacsony transzmembrán nyomáson

(maximum 1 bar) és nagy térfogatáramon (200 L/h). A mosást egy öblítéssel folytattam, amit nagy transzmembrán nyomáson (2-3 bar) és nagy térfogatáramon (150-200 L/h) 5 percen keresztül, ioncserélt vízzel végeztem., végül elkészítettem a 2 L térfogatú, 2 m/m% koncentrációjú citromsav oldatot is, mellyel szintén 45 percen keresztül tisztítottam a membránt az ismertett nyomás- és térfogatáram paraméterek mellett.

A tiszta vízfluxus mérését a mosást követően is elvégeztem annak érdekében, hogy ellenőrizzem azt, hogy a membrán kezdeti áteresztőképességét sikerült-e az eltömődést követően a kiindulási állapotra visszaállítani.

A permeátum fluxusát az [1] képlet segítségével, a transzmembrán nyomáskülönbséget a [3] képlet segítségével, a besűrítési arányt pedig a [4] képlet segítségével számítottam ki. A mérés során nyert adatokból fluxus-idő, valamint fluxus-besűrítési arány görbéket vettem fel a további statisztikai vizsgálatok végett.

3.2.2 Az elméleti fluxus statisztikai vizsgálata

Az elméleti fluxus statisztikai vizsgálatához szükség volt a permeátum fluxusának alakulását az adott pillanatban leíró matematikai modell ismeretére, melynek alapját képezi a fluxus kiszámításának matematikai összefüggése, azaz az [1] képlet.

$$J = J_0 + (J_{ss} - J_0) \cdot (1 - e^{-K \cdot t}) \quad [5]$$

Ahol J a permeátum fluxusa az adott időpillanatban $\left[\frac{L}{m^2 \cdot h}\right]$; J_0 a mérésre vonatkozó kezdeti/kiindulási fluxus $\left[\frac{L}{m^2 \cdot h}\right]$; J_{ss} a mérés során állandósult fluxus $\left[\frac{L}{m^2 \cdot h}\right]$; K az úgynevezett fluxus-csökkenési ráta $\left[\frac{1}{h}\right]$; illetve t az adott fluxusértékhez tartozó idő [h]. (Varga et al., 2018)

A statisztikai analízist az IBM SPSS Statistics 29.0.1.0 (171) verziószámú programjával és a Microsoft Excel 2403 (build: 17425.20176) verziószámú programjával végeztem el. A vizsgálat során a nem lineáris regresszióanalízis módszerét használva, az [5] képlet szerint került meghatározásra az elméleti fluxus.

A nem lineáris modelleket alapvetően becslésre használják. A nem lineáris regresszióanalízis során a változók között nem áll fent lineáris függvénykapcsolat, így függő- és független változókról beszélhetünk. A több paraméteres függvény esetében az algoritmus a végső paraméterek meghatározása során gradiens módszerrel minimalizálja a közelítő értékek és a függő változó értékei között fennálló gradiens négyzetösszegét.

A lefuttatott algoritmus által kapott eredményekből varianciaanalízist végeztem (ANOVA), melynek segítségével megállapítottam, hogy van-e különbség a vizsgált csoportok között az adott változóban.

3.2.3 Az enzimes hidrolízis leírása

Az enzimes hidrolízis alkalmával az 1,4 μm pórusméretű kerámia csőmembránnal kezelt retentátum és permeátum frakciókat, valamint a betáplált elegyet vizsgáltam. A besűrítés során $\text{VCF} = 2$ besűrítési aránnyal dolgoztam, így a kiindulási 1,2 L betáplálási térfogatból 0,6-0,6 L permeátum és retentátum keletkezett.

A hidrolízist két enzimkoncentrációval végeztem el, melyeket korábbi tudományos kutatások eredményei alapján választottam meg. Az egyik koncentráció 0,008 g/L (E1), míg a másik koncentráció 0,012 g/L (E2) volt. Ezen koncentrációk alkalmazásával biztosíthatóvá vált, hogy a hidrolizált fehérjék hő hatására bekövetkező denaturációját elkerüljem.

A mérés során a betáplált elegyből, a retentátumból és a permeátumból egyaránt kétszer 200 mL térfogatot mértem ki mérőlombik segítségével, a lombikokat a frakció megnevezésének és az alkalmazandó enzimkoncentrációnak megfelelően láttam el jelölésekkel.

A megjelölt lombikokat 1 órán keresztül inkubáltam az aktiválási hőmérsékletre (50°C) LRT típusú laboratóriumi kivitelű hűtő-fűtő termosztát alkalmazásával. Az inkubálási idő alatt kiszámítottam a frakciók térfogatának megfelelő enzimtömegeket a megadott koncentrációk szerint ($E1 = 0,0016 \text{ g}/200 \text{ mL}$; $E2 = 0,0024 \text{ g}/200 \text{ mL}$), majd analitikai pontossággal kimértem őket parafilmre.

Az inkubálási idő leteltével a parafilmeket a lombikokba juttattam, ezt követően a lombikokat 10 percig rázattam az aktiválási hőmérsékletre temperált termosztát vizében. A hidrolízist követően egy 70°C hőmérsékletre előmelegített termosztátban inaktiváltam az enzimet 30 percen keresztül.

A hidrolizált frakciókból három-három, 2 mL térfogatú mintát pipettáztam Eppendorf csövekbe a későbbi analitikai vizsgálatokhoz.

3.2.4 Lowry mérés – a fehérjetartalom vizsgálata

Az összes fehérjetartalom meghatározásához Lowry mérést végeztem, melynek kezdeti lépéseként elkészítettem a várható mérési tartományra igazított kalibrációs sort. A 9. táblázat a kalibrációhoz szükséges tagok összetételét mutatja be.

9. táblázat: A kalibrációs sor tagjainak összetétele (*Forrás: saját szerkesztés*)

KONCENTRÁCIÓ, c [$\mu\text{g/mL}$]	BSA [mL]	DV [mL]	HÍGÍTÁSI TÉRFOGAT [mL]	FOLIN REAGENS [mL]	FOLIN- CIOALTEU REAGENS [mL]
0	0,000	0,500	0,500	5,000	0,500
100	0,050	0,950	0,500	5,000	0,500
200	0,100	0,800	0,500	5,000	0,500
400	0,200	0,700	0,500	5,000	0,500
600	0,300	0,600	0,500	5,000	0,500
800	0,400	0,500	0,500	5,000	0,500
1000	0,500	0,500	0,500	5,000	0,500

A kalibrációs tagok elkészítéséhez pipetta segítségével összemértem a marha szérumalbumin standard és az ioncserélt víz mennyiségeket a koncentrációknak megfelelően, majd ezek homogénezését követően a hígítási térfogatnak megfelelő részleteket különítettem el belőlük. Ezekhez hozzáadtam a Folin reagenst, majd fénytől védett helyen, szobahőmérsékleten homogénezés után 10 percig inkubáltam a mintákat. Az inkubálás után hozzáadtam a mintákhoz a Folin-Ciocalteu reagenst, homogenizáltam azokat, majd 30 percig inkubáltam őket szintén fénytől elzárt helységben, szobahőmérsékleten.

Ezt követően az elkészített mintákat egy JENWAY M6850 típusú kétsugaras spektrofotométerrel (73.6850) vizsgáltam, a mintákhoz tartozó, 750 nm hullámhosszon mért abszorbancia-értékeket jegyeztem fel. A vizsgálat megkezdése előtt a vakmintára (azaz a 0 $\mu\text{g/mL}$ koncentrációjú tagra) táráztam a műszert. A kapott abszorbancia-értékeket ábrázoltam a mintatagok koncentrációjának függvényében, majd lineáris regresszióanalízissel megállapítottam a változók között fennálló függvénykapcsolatot. A minták esetében az eljárás menete megegyezik a kalibrációs sor készítésénél alkalmazottakkal, azonban a BSA hozzáadása helyett a minta fehérjetartalma kerül vizsgálatra. A három frakcióból három-három párhuzamos mérést készítettem, így a vakmintával együtt egy tíz tagú mintasorozat került vizsgálatra. A minták a várható fehérjetartalmukból adódóan a vizsgálatot megelőzően 100-szoros hígításra kerültek (100 μL mintát 9,9 mL vízzel hígítottam).

A kapott abszorbancia-értékekből a hígítást figyelembe véve a kalibrációs összefüggés segítségével kiszámíthatóvá vált azok fehérjetartalma.

3.2.5 Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis

A molekulatömeg szerinti fehérje-eloszlás meghatározására a Bio-Rad Mini Protean 3 Cell, Bio-Rad Hungary Ltd. vertikális gélelektroforézis rendszerét használtam. A vizsgálatot a kizárólag membránszűrőssel kezelt frakciók, valamint a membránszűrőssel és az enzimes hidrolízissel együtt kezelt minták esetében is elvégeztem.

Elkészítettem a különféle géleket (futtatógél, gyűjtőgél, elválasztó gél-oldat) az A-, B-, C- és E-oldatokból, majd a gél zsebeibe a minták felvitelét megelőzően futtató-puffert töltöttem. A minták hígítását a Laemmli-féle mintaoldó pufferrel végeztem el, majd felvitel előtt 5 percig forraltam a hígított mintákat. A gél zsebeibe 10 μ L mintát vittem fel. A felhasznált molekula standardokat a gél kontroll sávjára vittem fel.

A méréshez a Bio-Rad Power PAC1000 feszültségadó készüléket alkalmaztam az alábbi paraméterekkel: $U = 200$ V (konstans); $I = 54$ mA; $P = 11$ W, $t_{\text{futtatás}} = 60$ perc.

Az elektroforézis befejezése után a szeparált fehérjéket 20 percig fixáltam TCA oldatban, majd a maradék TCA eltávolításához háromszor 10 percig rázattam a géleket PAGE-mosó oldatban. Ezt követően a minta megfestését 10 percig, 25,0°C hőmérsékleten végeztem a Coomassie Brilliant Blue R-250 festékoldattal. A felesleges festékoldat eltávolítását ecetsav-oldattal kiviteleztem.

Az elkészült gélek kiértékelését a Bio-Rad Gel Doc 2000 rendszerrel végeztem el.

4. Eredmények és értékelésük

4.1 A tejfehérje-tartalom részleges csökkentése mikroszűrés alkalmazásával

Ahogy az a 4.2.1 alfejezetben is részleteztem, a mikroszűrés műveletének segítségével végeztem a tejfehérje-tartalom csökkentését. A műveletet két, különböző pórusméretű (1,4 μm és 5,0 μm) kerámia csőmembránnal is megvalósítottam, a mért adatokat, valamint a számítással meghatározott eredményeket pedig ezen fejezet során hasonlítom össze.

Az első mérést az 1,4 μm pórusméretű kerámia csőmembránnal végeztem, melynek eredményeit a 10. táblázat tartalmazza.

10. táblázat: Az 1,4 μm pórusméretű kerámia csőmembránnal végzett besűrítés adatai

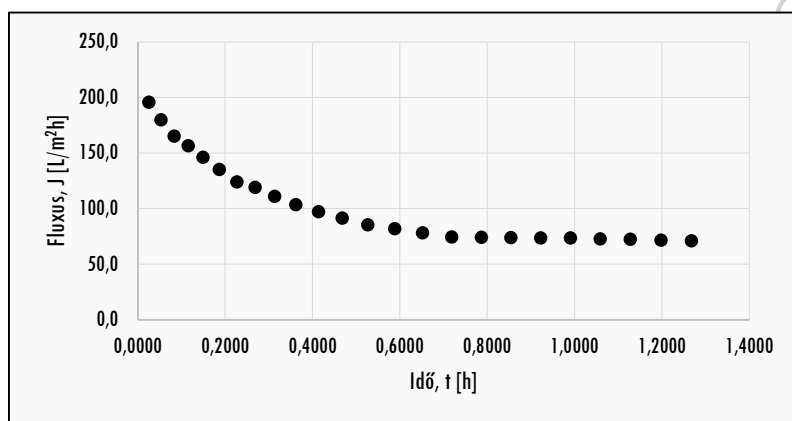
(Forrás: saját szerkesztés)

FRAKCIÓ SORSZÁMA	ΔV_p [mL]	ΔV_p [L]	Δt [s]	Δt [h]	V_p [mL]	V_p [L]	t [s]	t [h]	VCF [-]	J [L/m ² h]
1.	25	0,025	92	0,0256	25	0,03	92	0,0256	1,0213	195,7
2.	25	0,025	100	0,0278	50	0,05	192	0,0533	1,0435	180,0
3.	25	0,025	109	0,0303	75	0,08	301	0,0836	1,0667	165,1
4.	25	0,025	115	0,0319	100	0,10	416	0,1156	1,0909	156,5
5.	25	0,025	123	0,0342	125	0,13	539	0,1497	1,1163	146,3
6.	25	0,025	133	0,0369	150	0,15	672	0,1867	1,1429	135,3
7.	25	0,025	145	0,0403	175	0,18	817	0,2269	1,1707	124,1
8.	25	0,025	151	0,0419	200	0,20	968	0,2689	1,2000	119,2
9.	25	0,025	162	0,0450	225	0,23	1130	0,3139	1,2308	111,1
10.	25	0,025	174	0,0483	250	0,25	1304	0,3622	1,2632	103,4
11.	25	0,025	185	0,0514	275	0,28	1489	0,4136	1,2973	97,3
12.	25	0,025	197	0,0547	300	0,30	1686	0,4683	1,3333	91,4
13.	25	0,025	211	0,0586	325	0,33	1897	0,5269	1,3714	85,3
14.	25	0,025	220	0,0611	350	0,35	2117	0,5881	1,4118	81,8
15.	25	0,025	230	0,0639	375	0,38	2347	0,6519	1,4545	78,3
16.	25	0,025	242	0,0672	400	0,40	2589	0,7192	1,5000	74,4
17.	25	0,025	243	0,0675	425	0,43	2832	0,7867	1,5484	74,1
18.	25	0,025	244	0,0678	450	0,45	3076	0,8544	1,6000	73,8
19.	25	0,025	245	0,0681	475	0,48	3321	0,9225	1,6552	73,5
20.	25	0,025	245	0,0681	500	0,50	3566	0,9906	1,7143	73,5
21.	25	0,025	247	0,0686	525	0,53	3813	1,0592	1,7778	72,9
22.	25	0,025	248	0,0689	550	0,55	4061	1,1281	1,8462	72,6
23.	25	0,025	251	0,0697	575	0,58	4312	1,1978	1,9200	71,7
24.	25	0,025	253	0,0703	600	0,60	4565	1,2681	2,0000	71,1

A 10. táblázatban is látható, hogy az egységnyi szűrlet térfogat (ΔV_p) 25 mL-nek lett választva. A besűrítési arány kétszeres volt ($VCF = 2$), így az 1,20 L térfogatú betáplált elegyet 0,60 L végtérfogatra sűrítettem, mely összesen 1 óra 16 percet vett igénybe (t). A 0,60 L térfogatú permeátumot 25 mL egységenként vizsgálva összesen 24 mérési pontot vettem fel. A 10. táblázatban feltüntetett permeátum fluxusának számítását az [1] képlet szerint végeztem el.

A 2. ábra a 10. táblázat adataiból nyert fluxus-idő (J-t) görbét mutatja be.

2. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán fluxus-idő (J-t) görbéje (*Forrás: saját szerkesztés*)



A görbe jellegét tekintve egy lecsengő, exponenciális jellegű trendet figyelhetünk meg, melynek egy jól meghatározható időpillanatában a permeátum fluxusa egy közel konstans értékre (körülbelül 72 L/m²h) áll be. Ez a jelenség annak köszönhető, hogy a kazein micellák (100 nm átmérő) és a savófehérjék (1,8-6 nm átmérő) aggregálódásával a kazein micellakomplexek átlagos részecskemérete jelentősen megnő, így a fehérjék egyre nagyobb része kerül visszatartásra a művelet során (Dewit, 1998). Ennek köszönhetően a micellakomplex felületén abszorbeált savófehérjék a retentátumban maradnak, melynek hatására jelentősen csökkenthető a permeátum allergenitása további enzimes hidrolízis alkalmazásával.

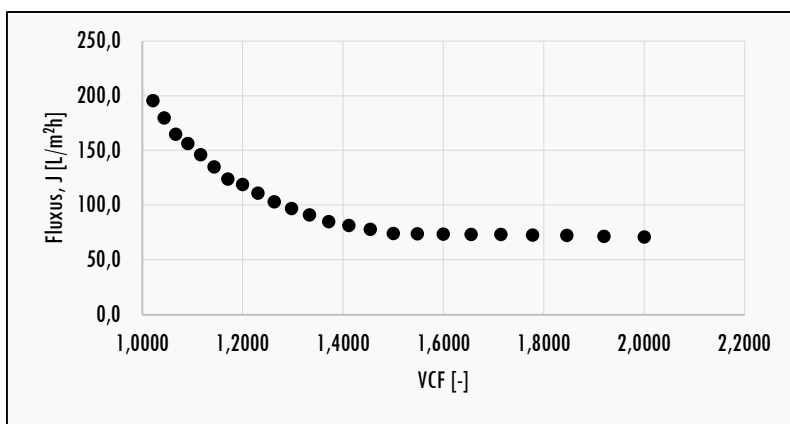
A 2. ábra látványosan szemlélteti azt, hogy a kiindulási fluxusértékhez (195,7 L/m²h) képest az utolsó permeátum frakcióhoz tartozó fluxusérték (71,1 L/m²h) egy nagyságrenddel lecsökkent.

A fluxuscsökkenés okozója a már korábban említett fouling, illetve a koncentráció-polarizáció jelensége (lásd 3.5.4, 3.5.5 alfejezetek), mely még a markáns csökkenés ellenére is jelentősen csökkentve lett a statikus keverő beiktatásával.

A 3. ábra a 10. táblázat adataiból készített fluxus-besűrítési arány (J-VCF) görbét szemlélteti.

3. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán fluxus-besűrítési arány (J-VCF) görbéje

(Forrás: saját szerkesztés)

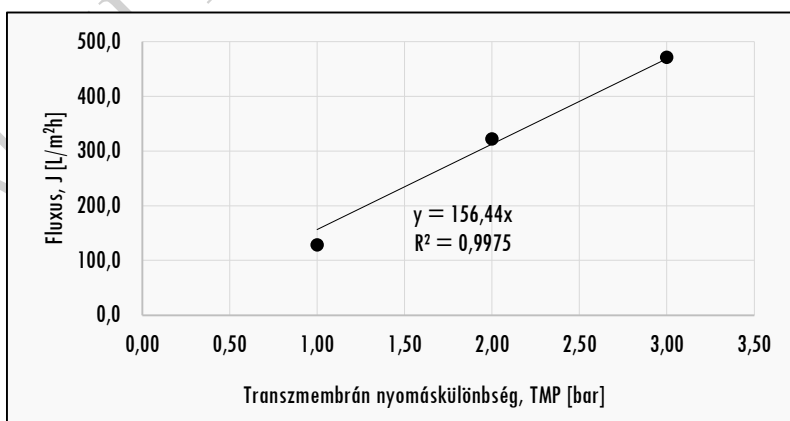


A 3. ábra szinte tökéletesen analóg trendet mutat a 2. ábrával összehasonlítva, így a homológ görbék szerint megállapítható továbbá, hogy az idő és a besűrítési arány egymással párhuzamban változó paraméterek.

A 4. ábra az 1,4 μm pórusméretű csőmembránra vonatkozó, besűrítés előtt meghatározott tiszta vízfluxusának alakulását mutatja be.

4. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán tiszta vízfluxusa besűrítés előtt (Forrás:

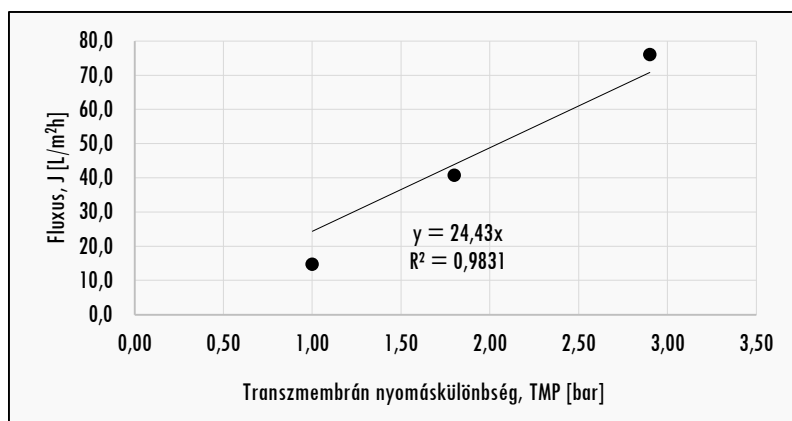
saját szerkesztés)



A nyomásonként elvégzett három-három párhuzamos mérés a 4. ábrán látható lineáris regresszióanalízis reprezentativitását biztosította ($R^2 = 0,9975$).

Az 5. ábra az 1,4 μm pórusméretű csőmembránra vonatkozó, besűrítés után meghatározott eltömődési fluxusának alakulását mutatja be.

5. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán eltömődési fluxusa besűrítés után (*Forrás: saját szerkesztés*)



A csőmembrán eltömődését mutató vízfluxus mérések (tisztá- és eltömődési fluxus) összehasonlító elemzése a 4. és az 5. ábra szerint igazolta a permeátum fluxusának változását, ugyanis a két mérés szintén egy egész nagyságrendben eltér egymástól.

A második mérést az 5,0 μm pórusméretű kerámia csőmembránnal végeztem. Azért tartottam fontosnak kétféle pórusméretű csőmembrán eredményeinek összehasonlítását annak ellenére, hogy az első mérésem esetén is kaptam megfelelő eredményeket, mert így pontos képet kaphattam arról, hogy az adott típusú membrán milyen mértékben képes az adott fehérje frakciónak az elválasztására. A megfelelő membrán kiválasztását követően pedig a kutatásomat az enzim hidrolízis irányába vihetem tovább. A második mérés eredményeit a 11. táblázat tartalmazza.

11. táblázat: Az 5,0 μm pórusméretű kerámia csőmembrán adatai (*Forrás: saját szerkesztés*)

FRAKCIÓ SORSZÁMA	ΔV_p [mL]	ΔV_p [L]	Δt [s]	Δt [h]	V_p [mL]	V_p [L]	t [s]	t [h]	VCF [-]	J [L/m²h]
1.	100	0,1	1,83	0,0005	100	0,10	1,83	0,0005	1,0909	39344,3
2.	100	0,1	2,23	0,0006	200	0,20	4,06	0,0011	1,2000	32287,0
3.	100	0,1	3,45	0,0010	300	0,30	7,51	0,0021	1,3333	20869,6
4.	100	0,1	4,62	0,0013	400	0,40	12,13	0,0034	1,5000	15584,4
5.	100	0,1	5,15	0,0014	500	0,50	17,28	0,0048	1,7143	13980,6
6.	100	0,1	5,16	0,0014	600	0,60	22,44	0,0062	2,0000	13953,5

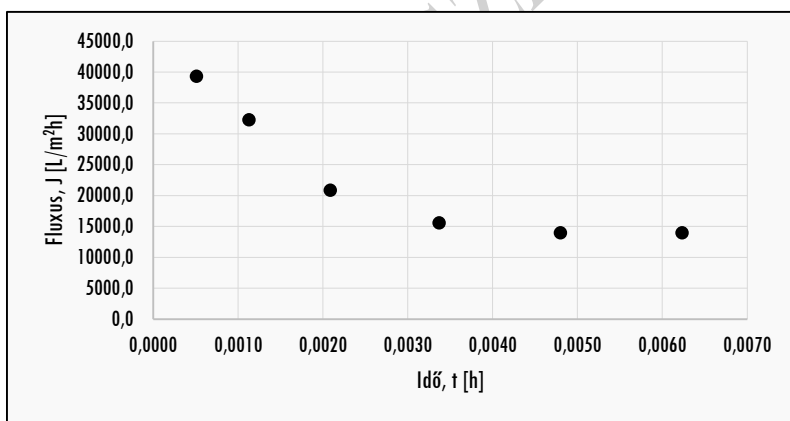
A 11. táblázatban összesen 6 mérési pontunk volt szemben a 10. táblázattal, melynek oka a megnövekedett pórusméret által kiváltott permeátum átengedése volt. A rendelkezésre álló adatok mennyisége mindössze a negyede az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán adataihoz viszonyítva ($\Delta V_p = 100 \text{ mL}$), ami a mérés reprezentativitásának megkérdőjelezésére adhat okot.

A mérés során további problémát képezett a betáplált elegy térfogata, ugyanis a kiindulási mennyiség nem egészen 4 perc alatt került besűrítésre. Ez az egységnyi szűrlet térfogatokhoz tartozó időértékek pontatlan feljegyzését vonta maga után. A besűrítési arány szintén kétszeres volt ($VCF = 2$), ennek megvalósítása során nem ütköztem akadályba.

A permeátum vizsgálata a nagy egységnyi szűrlet térfogat végett mindössze hat mérési pont felvételének lehetőségét eredményezte, mely szintén nem előnyös a mérés szempontjából. A 11. táblázatban szereplő fluxusértékek kiszámítását szintén az [1] képlet szerint végeztem el.

A 6. ábra a 11. táblázat adataiból nyert fluxus-idő (J-t) görbét mutatja be.

6. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembrán fluxus-idő (J-t) görbéje (*Forrás: saját szerkesztés*)



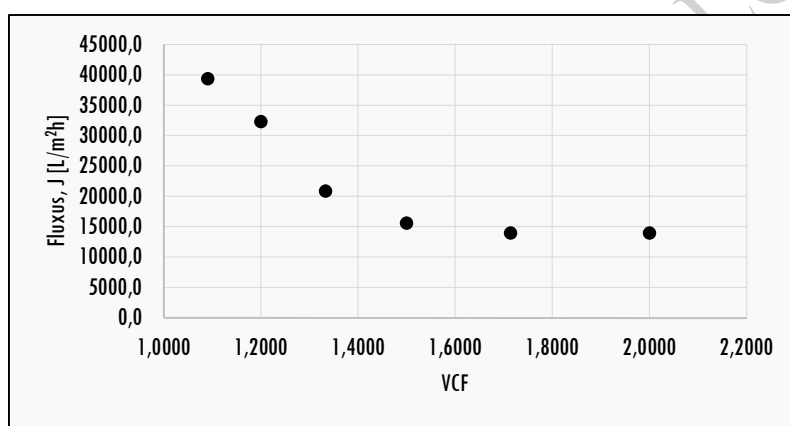
Az első mérés során készített fluxus-idő (J-t) görbéhez képest a 6. ábrán látható görbe sokkal kevésbé informatív. A kevés mérési pontnak köszönhetően csupán az exponenciális jelleg maradt érzékelhető, a fluxusérték beállása egy konstans számértékre azonban nagyon nehezen meghatározható.

A membrán jellegéből adódóan a kiindulási fluxus ($39344,3 \text{ L/m}^2\text{h}$) két nagyságrenddel haladta meg az első mérésben használt membrán kiindulási fluxusát, illetve az utolsó permeátum-egységhez tartozó fluxusérték ($13953,3 \text{ L/m}^2\text{h}$) a kiindulási fluxus nagyságrendjében maradt, eltérve az 1,4 μm pórusmembránnál tapasztaltaktól.

Ez valószínűsíthetően annak köszönhető, hogy a micellakomplex-savófehérje agglomerátumok a nagyobb pórusméretű membránt az azonos paraméterek ellenére kevésbé voltak képesek eltömíteni. Annak ellenére, hogy a vizsgált fluxusértékek nagyságrendileg megegyeznek, attól jelentős mértékű, több tízezres csökkenést figyelhattunk meg, ugyanis a megfigyelt jellemző alakulását negatívan befolyásoló tényezőket nem tudtam kiküszöbölni ezen mérés esetében sem.

A 7. ábra a 11. táblázat adataiból nyert fluxus-besűrítési arány (J-VCF) görbét szemlélteti.

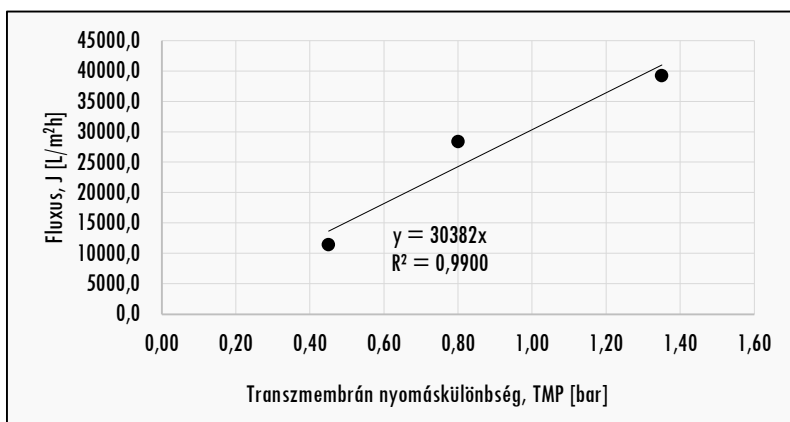
7. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembrán fluxus-besűrítési arány (J-VCF) görbéje
(Forrás: saját szerkesztés)



Az ehhez a méréshez tartozó görbék az 1,4 μm pórusméretű csőmembránnal végzett mérések görbéihez hasonlóan homológiának tekinthetők, ugyanazon megállapítások vonatkoznak az analógiájukra. Természetesen nem szabad megjegyezni, hogy az említett azonosság a mérés természetéből adódó.

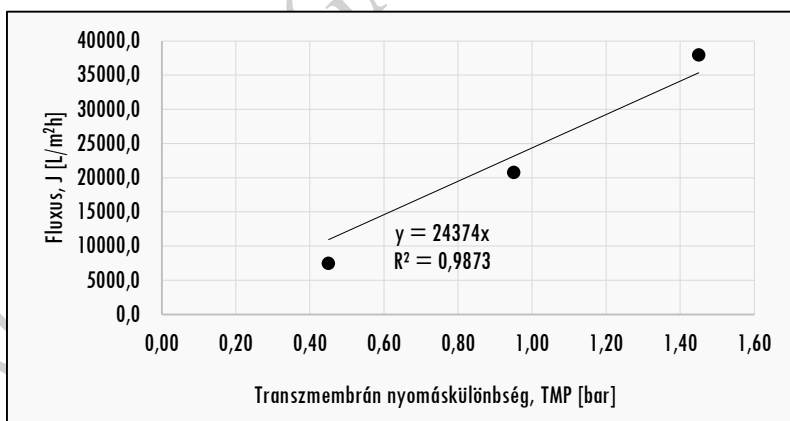
Az eltömődés értékeinek vizsgálatához ezen mérés esetében is a vízfluxusok eredményének kiértékelését végeztem el. A 8. ábra az 5,0 μm pórusméretű csőmembránra vonatkozó, besűrítés előtt meghatározott tiszta vízfluxusának alakulását mutatja be.

8. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembrán tiszta vízfluxusa besűrítés előtt (*Forrás: saját szerkesztés*)



A 8. ábra szerint a kiindulási fluxus értéke és a tiszta vízfluxus értéke közelítőleg megegyeznek egymással, ami az ellenőrzőmérés reprezentativitását bizonyítja (mindemellett $R^2 = 0,9900$ is ezt mutatja). A 9. ábra az 5,0 μm pórusméretű csőmembránra vonatkozó, besűrítés után meghatározott eltömődési fluxusának alakulását mutatja be.

9. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembrán eltömődési fluxusa besűrítés után (*Forrás: saját szerkesztés*)



A 9. ábrát vizsgálva megállapítható az eltömődés ténye, azonban fontos kiemelni, hogy a besűrítés során mért, az utolsó frakcióhoz tartozó fluxusérték mindössze a fele a vízfluxus mérésének során deklarált értéknek. Ezt okozhatja az is, hogy a vízmolekulák számára a fouling jelenségének ellenére sokkal jobban átjárható volt a csőmembrán az első méréshez viszonyítva. Továbbá az is okozhatta a nagyobb mértékű eltérést, hogy a regresszióanalízis során megállapított kapcsolat a vizsgáltak közül itt volt a leggyengébb, így ez bizonyult a legkevésbé megbízhatónak.

A fluxus csökkenésének mértéke szám adatokkal is meghatározható mindkét csőmembrán esetében az alábbi képlet szerint.

$$\Delta J[\%] = \frac{(J_{\text{kezdeti}} - J_{\text{végső}})}{J_{\text{kezdeti}}} \cdot 100 \quad [6]$$

Ahol ΔJ a permeátum fluxusának csökkenése a besűrítés műveletének során [%]; J_{kezdeti} a kiindulási fluxus $\left[\frac{\text{L}}{\text{m}^2 \cdot \text{h}}\right]$; illetve $J_{\text{végső}}$ az utolsó permeátum egységhez tartozó fluxus $\left[\frac{\text{L}}{\text{m}^2 \cdot \text{h}}\right]$. (Nath et al., 2017)

A [6] képlet szerint elvégzett számítások alapján megállapítható, hogy a mérések között drasztikus eltérés a vizsgált paraméterek tekintetében nem volt megállapítható, ugyanis a permeátum fluxusának csökkenése az 1,4 μm pórusméretű membrán esetében 63,6%, míg az 5,0 μm pórusméretű membrán esetében 64,5% volt.

4.2 A kiindulási fluxus statisztikai vizsgálata

Az elméleti fluxus statisztikai vizsgálatát az IBM SPSS Statistics 29.0.1.0 (171) verziószámú programjával és a Microsoft Excel 2403 (build: 17425.20176) verziószámú programjával végeztem el. Az SPSS Statistics által, nem lineáris regresszióanalízis futtatásával állapítottam meg az algoritmus által megbecsült kiindulási fluxusértékeket az általam mért fluxusértékek ismeretében. A 12. táblázat az 1,4 μm pórusméretű csőmembránra-, míg a 13. táblázat az 5,0 μm pórusméretű csőmembránra becsült paramétereket tartalmazza.

12. táblázat: Az 1,4 μm pórusméretű kerámia csőmembrán becsült paraméterei (*Forrás: saját szerkesztés*)

PARAMÉTER	BECSÜLT ÉRTÉK	STD. HIBA	ALSÓ HATÁR	FELSŐ HATÁR
J_0	207,0640	1,3600	204,2360	209,8930
J_{ss}	69,6830	0,6700	68,2900	71,0770
K	3,9710	0,0880	3,7890	4,1540

13. táblázat: Az 5,0 μm pórusméretű kerámia csőmembrán becsült paraméterei (*Forrás: saját szerkesztés*)

PARAMÉTER	BECSÜLT ÉRTÉK	STD. HIBA	ALSÓ HATÁR	FELSŐ HATÁR
J_0	51500,7750	2960,6650	42078,6160	60922,9330
J_{SS}	12728,2850	1180,7160	8970,7210	16485,8490
K	699,7350	107,6230	357,2300	1042,2400

A 12. és a 13. táblázat fluxus adatai mindkét membrán esetében a mérés során feljegyzett fluxusértékekkel egyforma nagyságrendben kerültek megbecsülésre az algoritmus által, ami azt jelenti, hogy a paraméterbecslést feltehetően megfelelő modellel végeztem el. A modell megfelelősége mellett fontos megjegyezni, hogy a becsült paraméterek az idő függvényében kerültek megalkotásra a szoftver által, így az is kijelenthető, hogy a mérés során alkalmazott paraméterek a méréshez alkalmasan kerültek meghatározásra.

A nagyságrendi összehasonlításon túl megvizsgáltam azt, hogy a mérés során feljegyzett- és az algoritmus által prediktált számértékpárok között van-e szignifikáns különbség. A vizsgálat során egytényezős varianciaanalízissel dolgoztam ($\alpha = 0,05$ szignifikancia szint mellett), majd a vizsgálat eredményként kapott ANOVA táblából olvastam ki a megtartandó hipotézist. A 14. táblázat az 1,4 μm pórusméretű csőmembránra-, míg a 15. táblázat az 5,0 μm pórusméretű csőmembránra vonatkozó ANOVA táblát mutatja be.

14. táblázat: Az 1,4 μm pórusméretű kerámia csőmembrán ANOVA táblája (*Forrás: saját szerkesztés*)

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Csoportok között	8,3333E-06	1,0000	8,3333E-06	5,5738E-09	0,9999	4,0517
Csoporton belül	6,8774E+04	46,0000	1,4951E+03	-	-	-
Összesen	6,8774E+04	47,0000	-	-	-	-

15. táblázat: Az 5,0 μm pórusméretű kerámia csőmembrán ANOVA táblája (*Forrás: saját szerkesztés*)

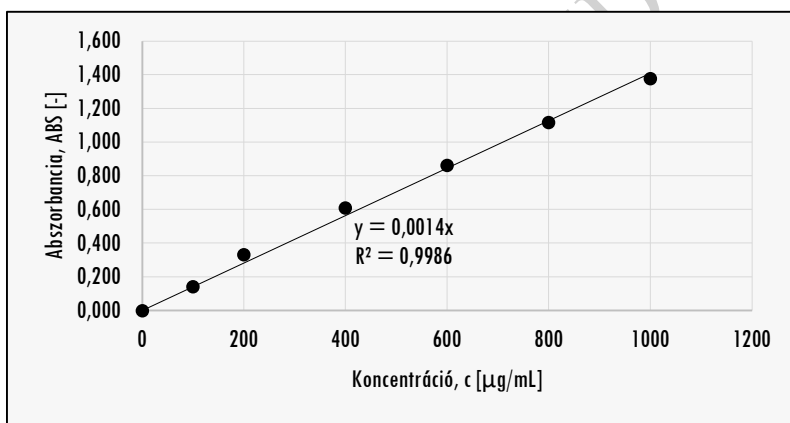
Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Csoportok között	8,1062E-06	1,0000	8,1062E-06	7,0725E-14	1,0000	4,9646
Csoporton belül	1,1462E+09	10,0000	1,1462E+08	-	-	-
Összesen	11461E+09	11,0000	-	-	-	-

A 14. és a 15. táblázat szerint mindkét csőmembránra vonatkozó p-érték meghaladja a vizsgált szignifikancia szintet ($\alpha = 0,05$), így kijelenthető, hogy a nullhipotézist elvetjük, miszerint a vizsgált csoportok közt szignifikáns különbség áll fenn. Ennek tudatában kijelenthető a művelet szempontjából, hogy az alkalmazott módszerek mellett a permeátum fluxusának valós- és becsült alakulása között nem áll fenn érdemi különbség.

4.3 A Lowry mérés eredményei

A Lowry mérés során a kétféle kerámia csőmembrán segítségével kezelt frakciók analitikai vizsgálatát végeztem. A frakciók összes fehérjetartalmának, azaz koncentrációjának meghatározásához szükséges kalibrációs görbét a 10. ábra mutatja be.

10. ábra: A Lowry mérés kalibrációs görbéje (*Forrás: saját szerkesztés*)



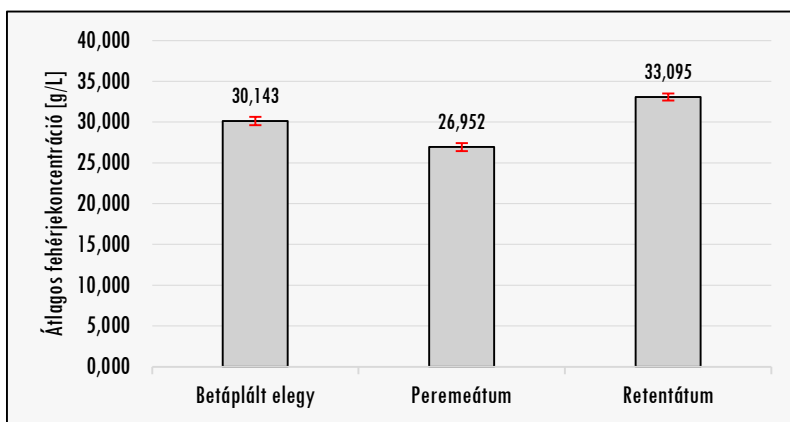
A 10. ábrán feltüntetett R^2 értéke közelítőleg 1, melynek értelmében az abszorbancia és a koncentráció között egyenes arányosságot feltételezhetünk. Ezen helyzet fennállásából kiindulva a vizsgált minták fehérjetartalma a kalibrációs egyenes egyenletének segítségével meghatározhatóvá vált.

Az egyenes egyenletén túl a kiindulási minta hígítottságát figyelembe véve határoztam meg a minták átlagos összes fehérjetartalmát.

A 11. ábra az 1,4 µm pórusméretű csőmembránnal kezelt minta három frakciójához tartozó, három-három párhuzamos mérés eredményeinek átlagát mutatja be oszlopdiagram formájában, a szórás ismeretében.

11. ábra: Az 1,4 µm pórusméretű csőmembránnal kezelt minták összes fehérjetartalma

(Forrás: saját szerkesztés)



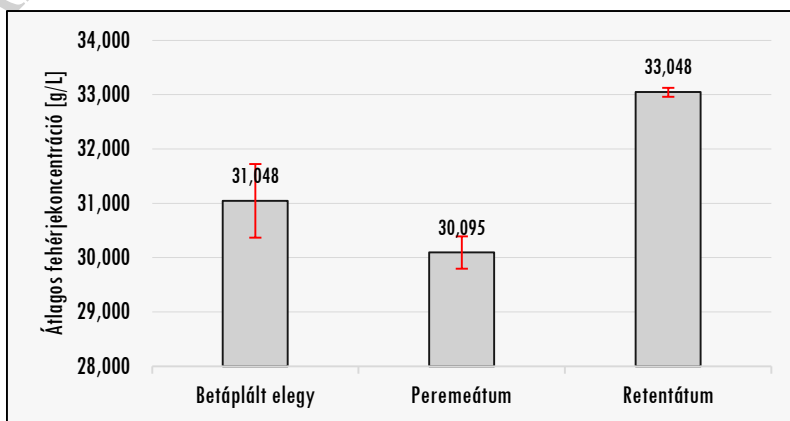
Ahogy a 11. ábra is mutatja, a betáplált elegy, azaz a dobozos UHT tej kiindulási összes fehérjetartalma átlagosan 30,143 g/L. Ez az adat a termék csomagolásán feltüntetett fehérjetartalomnak (3,1%) teljes mértékben megfeleltethető, hiszen a mérés szórása csekély mértékű, továbbá a feltüntetett érték is magában foglalhat bizonyos intervallumú szórást.

A permeátumot tekintve a fehérjetartalom 89,4%-ra csökkent a kiindulási elegyhez képest, így megállapítható, hogy a kiválasztott pórusméret részlegesen csökkentette a szűrlet összes fehérjetartalmát. A sűrítmény, azaz retentátum fehérjetartalma 9,8%-kal emelkedett a betáplált elegy fehérjetartalmához képest, amely közelítőleg azonos mértékű változást jelent a permeátumhoz hasonlítva.

A 12. ábra az 5,0 µm pórusméretű csőmembránnal kezelt minta eredményeit szemlélteti.

12. ábra: Az 5,0 µm pórusméretű csőmembránnal kezelt minták összes fehérjetartalma

(Forrás: saját szerkesztés)



A betáplált elegy analitikai méréssel meghatározott összes fehérjetartalma az 1,4 μm pórusméretű csőmembránnal kezelt mintához képest közel azonos (31,048 g/L), de mégis közelebb esik a termék csomagolásán megtalálható értékhez, illetve a két mért értéket összehasonlítva a hozzájuk tartozó szórásértékek is közel egyenlők.

A permeátum frakciót tekintve az összes fehérjetartalom csökkenést mutatott, azonban mindössze 3,1%-át sikerült eltávolítani a kiindulási fehérjetartalomnak, ami az első mérésben alkalmazott membrán eredményének közelítőleg egyharmada. Ennek oka valószínűleg a megnövekedett pórusméret lehetett.

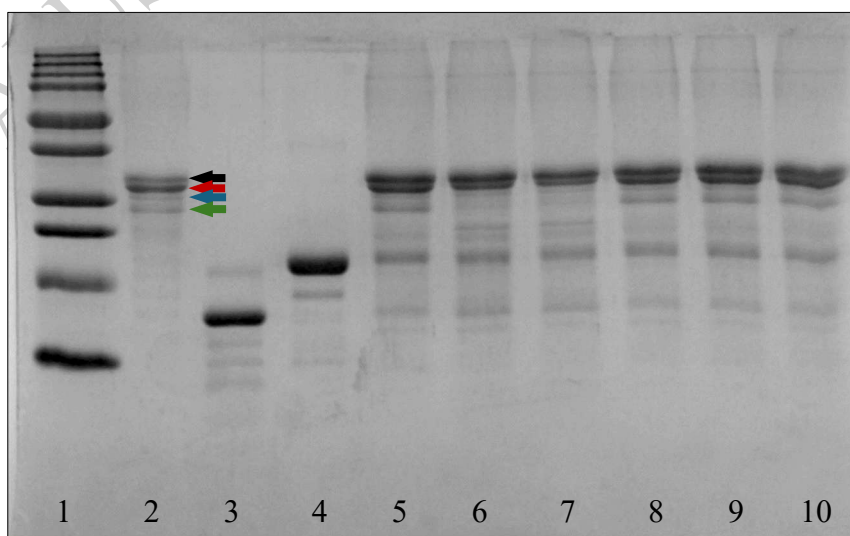
A retentátum frakció fehérjetartalma jóval nagyobb volumennel, pontosan 24,8%-kal növekedett a kiindulási fehérjetartalomhoz viszonyítva. A permeátum frakció eredményét figyelembe véve kijelenthető, hogy a sűrítmény esetében egy szisztematikus mérési hiba torzította el az eredményt. Ez a szisztematikus hiba adódhatott a párhuzamosok elkészítése során, illetve a műszerhasználat közben, továbbá a mintavételezés folyamatában is.

A két mérés eredményét összehasonlítva megállapítható, hogy a kisebb pórusméretű csőmembrán alkalmazásával jobb eredmény érhető el a fehérjetartalom csökkentése tekintetében.

4.4 Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis mérés eredményei

A 13. ábra a membránszűrési frakciók SDS-PAGE mérési eredményeit tartalmazza.

13. ábra: A frakciók SDS-PAGE mérési eredményei (*Forrás: saját szerkesztés*)



A 13. ábrán látható jelölések az alábbiak szerint értelmezendők.

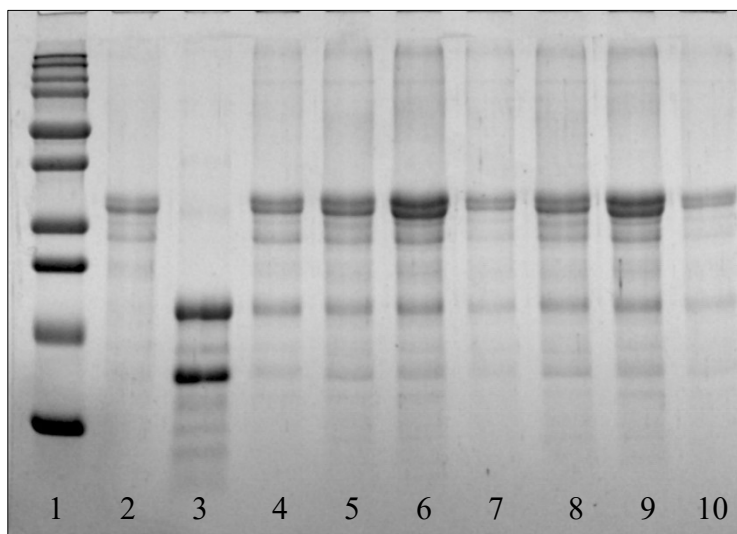
1. Móltömeg standard (204., 150., 100., 75., 50., 37., 25., 20., 15 kDa)
 2. Kazein (20–30 kDa) (σ)
 3. α -laktalbumin (14,4 kDa) (σ)
 4. β -laktoglobulin (18 kDa) (σ)
 5. 1,4 μ m-es MF membránnal kezelt betáplálás oldali minta
 6. 1,4 μ m-es MF membránnal kezelt retentátum oldali minta
 7. 1,4 μ m-es MF membránnal kezelt permeátum oldali minta
 8. 5 μ m-es MF membránnal kezelt betáplálás oldali minta
 9. 5 μ m-es MF membránnal kezelt retentátum oldali minta
 10. 5 μ m-es MF membránnal kezelt permeátum oldali minta
-
- ← α_{s2} kazein
← α_{s1} kazein
← β kazein
← κ kazein

A 13. ábrán jól látható, hogy az 1,4 μ m- és 5 μ m-es mikroszűrő membránnal végzett besűrítés hatására a fehérjemintázaton minimális változás volt mérhető. Az 1,4 μ m-en mért minták esetében a retentátum (6-os sáv) és a permeátum (7-es sáv) fehérjemintázata kissé elhalványult a betáplálás oldali mintához képest (5-ös sáv), különösen a β - és a κ -kazeinfrakcióknál figyelhető meg intenzitáscsökkenés. Az 1,4 μ m-en mért 5-6-7-es sávok esetében látható továbbá, hogy 6-os sáv a 7-es sávhoz képest kis mértékben ugyan, de erősebb színintenzitást mutat, mely alapján elmondható, hogy a membrán a kazeinek egy részét visszatartotta.

Az 5 μ m-en mért 8-9-10-es sávok esetében nem tapasztalható változás a fehérjék mintázatában, ami alapján elmondható, hogy a nagyobb pórusátmérőjű membrán a fehérjéket csak minimális mértékben képes visszatartani. Az SDS-PAGE gélelektroforézis eredményei a Lowry fehérjetartalom mérés eredményeivel is összhangban vannak.

A 14. ábra a membránszűrési frakciók enzimes hidrolizátumainak SDS-PAGE mérési eredményeit tartalmazza.

14. ábra: A hidrolizátumok SDS-PAGE mérési eredményei (*Forrás: saját szerkesztés*)



A 14. ábrán látható jelölések az alábbiak szerint értelmezendők.

1. Móltömeg standard (204., 150., 100., 75., 50., 37., 25., 20., 15kDa)
2. Kazein (20–30 kDa) (σ)
3. α -laktalbumin (14,4 kDa) (σ) + β -laktoglobulin (18 kDa) (σ)
4. Betáplált elegy (Riska UHT tej 0,1%)
5. E1 enzimkoncentrációval hidrolizált betáplálás oldali minta (E1-B)
6. E1 enzimkoncentrációval hidrolizált retentátum oldali minta (E1-R)
7. E1 enzimkoncentrációval hidrolizált permeátum oldali minta (E1-P)
8. E2 enzimkoncentrációval hidrolizált betáplálás oldali minta (E2-B)
9. E2 enzimkoncentrációval hidrolizált retentátum oldali minta (E2-R)
10. E2 enzimkoncentrációval hidrolizált permeátum oldali minta (E2-P)

Az 1., a 2., valamint a 3. sávok a molekulatömeg standard, a kazein, és a savófehérje kontroll fehérjemintázatát mutatják. A mikroszűrés (MF) műveletével előállított szűrletet (permeátum) és sűrítményt (retentátum) enzimes hidrolízisnek vetettük alá.

A 4. sávban látható Riska UHT 0,1% zsírtartalmú tejet láthatjuk, mely nem esett át enzimes kezelésen a folyamat során.

Az enzimes hidrolízist a betáplálási oldaton is elvégeztük, melyek eredményeit az 5. és 8. sávon láthatjuk (E1-B, E2-B).

Jól látható továbbá, hogy a betáplálási oldat mintáin elvégzett enzimes hidrolízis egyik esetben sem mutatott változást a fehérje mintázaton, az 5. és 8. sáv intenzitása hasonlóan bizonyult a 0,0016 g/200 mL és 0,0024 g/200 mL enzimkoncentráció esetében is.

A retentátumok (E1-R, E2-R) hidrolízise azonban már más képet mutat. A 6. és 9. fehérjesávok intenzitása a betáplálási mintákéhoz képest erőteljesebb, mivel a sűrítmény mintákban magasabb a fehérje koncentráció, amit a Lowry mérés eredményei is igazolnak. A 9. sáv fehérjemintázatának intenzitása minimálisan ugyan, de halványabb a 6. sávhoz képest, mely a magasabb ($E2 = 0,0024$ g/200 mL) enzimkoncentrációnak köszönhető.

A 7. és 10. sávon a hidrolizált permeátum minták láthatóak, melyek alapján elmondható hogy a fehérjemintázat elhalványulása figyelhető meg a betáplálás oldali mintákhoz képest. A 7. és 10. sávban csökkent a kazein frakciók mennyisége, ami arra utal, hogy a magasabb ($E2$) enzimkoncentráció esetében a fehérjék hidrolizáltságának a mértéke is javult. A permeátum mintákban a növelt enzimkoncentrációnak erősebb volt a hidrolizáló hatása, a betáplálás oldali- és a retentátum mintákhoz képest, ami az alacsonyabb fehérje tartalommal magyarázható. A betáplálás oldali- és sűrítmény minták esetében célszerű magasabb enzimkoncentráció alkalmazása a jövőre tekintve.

5. Következtetések és javaslatok

A szakdolgozatom elkészítése során az alkalmazott műveletekhez kapcsolódóan felvetődtek javaslatok, melyek a további vizsgálatok eredményességét szolgálják.

A mikroszűréshez (MF) megválasztott kerámia csőmembránok pórusméretei 1,4 μm , valamint 5 μm voltak. A kazeinkomplexet felépítő kazein-szubmicellák 15-20 nm átmérőjűek, melyekből megközelítőleg 20-25 darab található a komplex molekulában, így feltételezhető, hogy az alkalmazott kerámia csőmembrán pórusméretének csökkentésével javíthatóvá válna a fehérjék elválasztása a membránszűrés során.

A mikroszűrés (MF) kapcsán javaslatom továbbá különböző geometriájú statikus keverőelemek alkalmazása a fajlagos szűrletteljesítmény javításának érdekében.

Az elméleti fluxus statisztikai vizsgálata során megállapíthatóvá vált, hogy az általam alkalmazott csőmembránok közül az 1,4 μm pórusméretű modul használatával hatékonyabb elválasztás végezhető el a kazein fehérjék tekintetében. A statisztikai vizsgálatokat kiterjeszteném a jövőben alkalmazni kívánt kerámia csőmembránok eredményeire is. Összevetésük során így reprezentatív következtetést vonhatnék le a pórusméret által gyakorolt hatásra.

Az enzimes hidrolízis sikeresnek bizonyult, mivel a hidrolizátumokban a molekulatömeg szerinti fehérjetartalom (SDS-PAGE) meghatározásakor csökkent a kazein frakciók mérete. A permeátum frakcióban volt a leghatékonyabb az enzimes hidrolízis, mert az alkalmazott enzimkoncentrációk (E1 és E2) a legkisebb fehérjetartalmú mintákban tudták kifejteni hatásukat összetételükből adódóan. Ennek tudatában javasolnám az alkalmazott enzimkoncentrációk növelését azért, hogy a nagyobb fehérjetartalmú frakciókban is magasabb hidrolizáltsági fok váljon elérhetővé.

Az összes fehérjetartalom meghatározásakor a Lowry mérést alkalmaztam, mely egy könnyen modellezhető vizsgálat. Ennek tudatában javasolnám a jövőben megerősítő mérések végzését, amelyek szintén az összes fehérjetartalom meghatározására vonatkoznak, azonban a Lowry mérés protokolljától eltérő a kivitelezésük, ilyen például a Kjeldahl-módszer.

A membránszűrés egyik végtermékeként keletkező retentátum egy magas fehérjetartalmú frakció, melyből funkcionális élelmiszerek fejlesztésére nyílik lehetőség. A permeátum további enzimes kezelésével egy hipoallergén termékcsalád lenne kialakítható.

6. Összefoglalás

Napjainkban a fogyasztói társadalom vásárlási magatartásának köszönhetően a fogyasztási volumen- és kereslet robbanásszerűen megnövekedett az ultrafeldolgozott élelmiszerek iránt, melyek közvetetten kifejtett hatására a társadalmunk egyre nagyobb része érintett az élelmiszerallergia területén.

Az élelmiszerallergia a szervezet által kiváltott kóros immunválasz valamely élelmiszeralkotó hatására, amely alapvetően egészséges szervezetben nem allergizál. Az élelmiszerallergiát jellemzően a „Big 8”, azaz a „8 Nagy” élelmiszercsoport váltja ki, mely élelmiszerek közé tartozik a tehéntej is. A tehéntej allergizáló komponensei a tejfehérjék, amelyek között megkülönböztetünk kazeinfehérjéket és savófehérjéket.

A kutatási munkám célja az alacsony zsírtartalmú (0,1%) Ultra High Temperature (UHT) tej kiindulási fehérjetartalmának részleges csökkentése volt a mikroszűrés (MF) műveletének alkalmazásával. A permeátum fehérjetartalmának beállításához kétszeres besűrítési arányt ($VCF = 2$) alkalmaztam, így a későbbiekben lehetőség nyílt egy új piaci szegmens megnyitására a permeátum további enzimes kezelésével.

A kutatás módszertanát tekintve a membránszűrés műveletét kétféle pórusméretű (1,4 μm és 5,0 μm) mikroszűrő kerámia csőmembránnal végeztem el. A membránszűrés során alkalmazott paraméterek által létrejött fluxus statisztikai vizsgálatát is elvégeztem, majd a kapott elméleti eredmények segítségével egytényezős varianciaanalízis alkalmazásával megvizsgáltam a csoportok közötti különbség fennállásának lehetőségét. A betáplált elegyből, a permeátumból és a retentátumból egyaránt mintavételezést végeztem, majd ezeket a mintákat analitikai vizsgálatnak vetettem alá, hogy meghatározzam összes fehérjetartalmukat. A frakciók fehérjetartalmának további elemzésére az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis módszerét használtam, melynek segítségével molekulatömeg szerinti fehérje-eloszlást vizsgáltam.

Az enzimes hidrolízis során kétféle enzimkoncentrációval ($E1 = 0,0016 \text{ g}/200 \text{ mL}$; $E2 = 0,0024 \text{ g}/200 \text{ mL}$) dolgoztam, a betáplált elegyet, valamint a membránszűréssel előállított frakciókat egyaránt kezeltem mindkét enzimkoncentrációval.

A membránszűrés eredményeit tekintve a nagyobb pórusméretű csőmembrán használatával a mérés jóval kevésbé bizonyult hatásosnak a fehérjetartalom részleges csökkentésének fényében. A statisztikai elemzés eredményével megállapíthatóvá vált, hogy a laboratóriumi körülmények között mért fluxus adatok és az elméleti fluxus adatok között nem volt kimutatható szignifikáns különbség.

A vizsgálatok elvégzésével megállapíthatóvá vált, hogy a kisebb, azaz 1,4 μm pórusméretű csőmembránnal kezelt minták fehérjetartalmának megoszlása arányosan változott a szűrést követően. A gélelektroforézis vizsgálat szerint az 1,4 μm pórusméretű csőmembránnal kezelt permeátum és a betáplált elegy fehérjetartalma eltért egymástól, különösen a kazein fehérjék tekintetében, így ezen mérés- és az analitikai vizsgálat eredményei analógiát mutatnak.

A hidrolizátumok esetében kivitelezett SDS-PAGE mérés eredményei szerint a betáplálási oldali minták, valamint a retentátum minták esetében az enzimkoncentráció nem befolyásolta jelentősen a hidrolizáltság mértékét, mely valószínűsíthetően az eredendően magas, illetve a megnövekedett fehérjetartalomnak köszönhető. A permeátum minták esetében az eltérő enzimkoncentrációk között halvány különbség mutatkozott: a magasabb enzimkoncentrációval nagyobb hidrolizáltsági fok vált elérhetővé a kazein frakciók tekintetében.

A technológia további fejlesztéséhez javasolt a mikroszűrési művelet (MF) ismételt elvégzése 1,4 μm -nél kisebb pórusméretű kerámia csőmembránnal, továbbá az enzimes hidrolízis során alkalmazott enzimkoncentrációk növelésével folytatott vizsgálatok kivitelezése.

7. Irodalomjegyzék

1. Ahn, S.-I. – Cho, S. – Choi, N.-J. (2020): Effect of dietary probiotics on colon length in an inflammatory bowel disease-induced murine model: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 103(2), pp. 1807–1819. DOI: 10.3168/jds.2019-17356.
2. Allen, K.J., Koplin, J.J. (2012): Chapter 3 - The Epidemiology of Food Allergy. In: James, J.M. – Burks, W. – Eigenmann, P. (eds). *Food Allergy*. Edinburgh : W.B. Saunders, pp. 33–48. DOI: 10.1016/B978-1-4377-1992-5.00003-X.
3. Archila, L.D. – Khan, F.S. – Bhatnagar, N. – Robinson, D. – Farrington, M.L. – Kwok, W.W. (2017): α S1-Casein elucidate major T-cell responses in cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 140(3), pp. 854–857. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.02.028.
4. Balatoni M., Ketting F. (1981): *Tejipari kézikönyv*. Budapest: Mezőgazdasági Könyvkiadó.
5. Barłowska, J. – Sz wajkowska, M. – Litwińczuk, Z. – Król, J. (2011): Nutritional Value and Technological Suitability of Milk from Various Animal Species Used for Dairy Production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(6), pp. 291–302. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00163.x.
6. Béla finé Bakó K., Nemestóthy N. (2020): 4.2 Mikroszűrés. *Membrános Műveletek*. Veszprém: Pannon Egyetem, pp. 60–65. Hozzáférés linkje: https://moodle2.mk.uni-pannon.hu/pluginfile.php/35982/mod_resource/content/0/Membr%C3%A1nos%20m%C5%B1veletek.pdf.
7. Bio-Rad honlapja. Letöltés dátuma: 2024. 04. 16. Forrás: <https://www.bio-rad.com/>.
8. Claeys, W.L. – Verraes, C. – Cardoen, S. – De Block, J. – Huyghebaert, A. – Raes, K. – Dewettinck, K. – Herman, L. (2014): Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*, 42, pp. 188–201. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.01.045.

9. Cséfalvay E., Mika T., (2008): MEMBRÁNSZEPARÁCIÓ. *VEGYIPARI MŰVELETTAN*. Budapest: ELTE KÉMIAI INTÉZET, pp. 116–124. Hozzáférés linkje: https://technologia.chem.elte.hu/hu/muvelettan/Vegyipari_Muvelettan_teljes.pdf.
10. Csighy A. (2022): Bioaktív peptidek előállítása tejfehérje-koncentrátumból membránszűrés, enzimes hidrolízis és mikrobiális fermentáció kombinált alkalmazásával. [PhD-értékezés]. Budapest: Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élelmiszertudományi Doktori Iskola. Hozzáférés linkje: https://uni-mate.hu/documents/20123/336900/Csighy_Attila-ertekezes.pdf/c917577d-1786-e0e5-eb98-f5f69558be59?t=1656327300247.
11. de Wit, J.N. (1998): Nutritional and Functional Characteristics of Whey Proteins in Food Products. *Journal of Dairy Science*, 81(3), pp. 597–608. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75613-9.
12. Dixon, M., Webb, E. C. (1964): *Enzymes 2nd edition*. New York: Academic Press.
13. Fane, A.G. (Tony), Wang, R., Jia, Y. (2011): Membrane Technology: Past, Present and Future. In: Wang, L.K. – Chen, J.P. – Hung, Y.-T. – Shamma, N.K. (eds)., *Membrane and Desalination Technologies*. Totowa, NJ : Humana Press, pp. 1–45. DOI: 10.1007/978-1-59745-278-6_1.
14. Farrell, H.M. – Jimenez-Flores, R. – Bleck, G.T. – Brown, E.M. – Butler, J.E. – Creamer, L.K. – Hicks, C.L. – Hollar, C.M. – Ng-Kwai-Hang, K.F. – Swaisgood, H.E. (2004): Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*, 87(6), pp. 1641–1674. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73319-6.
15. Fenyvessy J., Csanádi J., Csapó J., Csapó-Kiss Z., (2014): *Tejipari technológia : Tej és tejtermékek a táplálkozásban*. Kolozsvár: Scientia Kiadó. Hozzáférés linkje: https://real.mtak.hu/116702/1/Csapo_Tejipari%20technologia%20REAL.pdf.
16. Fox, P.F. (2008): Chapter 1 - Milk: an overview. In: Thompson, A. – Boland, M. – Singh, H. (eds). *Milk Proteins: Food Science and Technology*. San Diego: Academic Press, pp. 1–54. DOI: 10.1016/B978-0-12-374039-7.00001-5.

17. Gaucheron, F. (2011): Milk and Dairy Products: A Unique Micronutrient Combination. *Journal of the American College of Nutrition*, 30(5), pp. 400–409. DOI: 10.1080/07315724.2011.10719983.
18. Ghanem, A. – Lemenand, T. – Della Valle, D. – Peerhossaini, H. (2014): Static mixers: Mechanisms, applications, and characterization methods – A review. *Chemical Engineering Research and Design*, 92(2), pp. 205–228. DOI: 10.1016/j.cherd.2013.07.013.
19. Gimmelshtein, M. – Semiat, R. (2005): Investigation of flow next to membrane walls. *Journal of Membrane Science*, 264(1), pp. 137–150. DOI: 10.1016/j.memsci.2005.04.033.
20. Guetouache, M. – Guessas, B. – Medjekal, S. (2014): Composition and nutritional value of raw milk. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(10), pp. 115–122. DOI: 10.15739/ibspr.005.
21. Huffman, L.M. – James Harper, W. (1999): Maximizing the Value of Milk Through Separation Technologies. *Journal of Dairy Science*, 82(10), pp. 2238–2244. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75471-8.
22. Kamphuis, I. G. – Drenth, J. – Baker, E. N. (1985): Thiol proteases. Comparative studies based on the high-resolution structures of papain and actinidin, and on amino acid sequence information for cathepsins B and H, and stem bromelain. *Journal of Molecular Biology*, 182(2), pp. 317–329. DOI: 10.1016/0022-2836(85)90348-1.
23. Kovács, P., Kazár, K., Kuruczleki, É. (2018): 5. Lecke - Varianciaanalízis. *Általános statisztika II.*, Szeged: SZTE GTK, pp. 1–6. Hozzáférés linkje: <https://eta.bibl.u-szeged.hu/id/eprint/1406>.
24. Kratz, R.F., Siegfried, D.R. (2010): Using gel electrophoresis to separate molecules. *Biology for Dummies: For Dummies*. Hoboken, N.J: John Wiley & Sons, pp. 132–133. Hozzáférés linkje : <https://kamsc.github.io/assets/links/Biology%20for%20Dummies.pdf>.

25. Kumar, P. – Sharma, N. – Ranjan, R. – Kumar, S. – Bhat, Z.F. – Jeong, D.K. (2013): Perspective of Membrane Technology in Dairy Industry: A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(9), pp. 1347–1358. DOI: 10.5713/ajas.2013.13082.
26. Leung, Agnes S.Y. – Wong, Gary W.K. – Tang, Mimi L.K. (2018): Food allergy in the developing world. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 141(1), pp. 76–79. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.11.008.
27. Ling, E.R., Kon, S.K., Porter, J.W.G. (1961): CHAPTER 17 - The Composition of Milk and the Nutritive Value of its Components. In: Kon, S.K. – Cowie, A.T. (eds). *Milk: The Mammary Gland and Its Secretion*. Academic Press, pp. 195–263. DOI: 10.1016/B978-1-4832-3225-6.50009-0.
28. Liu, J. – Bollinger, D.W. – Ledoux, D.R. – Venum, T.L. (2000): Effects of dietary calcium:phosphorus ratios on apparent absorption of calcium and phosphorus in the small intestine, cecum, and colon of pigs. *Journal of Animal Science*, 78(1), pp. 106–109. DOI: 10.2527/2000.781106x.
29. Luján-Facundo, M.J. – Mendoza-Roca, J.A. – Cuartas-Urbe, B. – Álvarez-Blanco, S. (2016): Study of membrane cleaning with and without ultrasounds application after fouling with three model dairy solutions. *Food and Bioproducts Processing*, 100, pp. 36–46. DOI: 10.1016/j.fbp.2016.06.011.
30. Makara G., 2023. *A sokoldalú ANOVA*. Budapest: Semmelweis Egyetem. Hozzáférés linkje: <https://semmelweis.hu/kutlab/files/2023/05/Tobb-szemponτος-ANOVA-2-szemponτος-pelda.pdf>.
31. Messina, M.C. – Candigliota, T. – Marconi, E. (2007): Assessment of quality and technological characterization of lactose-hydrolyzed milk. *Food Chemistry*, 104(3), pp. 910–917. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.12.045.
32. Mourad, G. – Bettache, G. – Samir, M. (2014): Composition and nutritional value of raw milk. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2, pp. 115–122. DOI: 10.15739/ibspr.005.

33. Natale, M. – Bisson, C. – Monti, G. – Peltran, A. – Perono Garoffo, L. – Valentini, S. – Fabris, C. – Bertino, E. – Coscia, A. – Conti, A. (2004): Cow's milk allergens identification by two-dimensional immunoblotting and mass spectrometry. *Molecular Nutrition & Food Research*, 48(5), pp. 363–369. DOI: 10.1002/mnfr.200400011.
34. Nath, A. – Szécsi, G. – Csehi, B. – Mednyánszky, Zs. – Kiskó, G. – Bányai, É. – Dernovics, M. – Koris, A. (2017): Production of Hypoallergenic Antibacterial Peptides from Defatted Soybean Meal in Membrane Bioreactor: A Bioprocess Engineering Study with Comprehensive Product Characterization. *Food Technology and Biotechnology*, 55(3), pp. 308–324. DOI: 10.17113/ftb.55.03.17.5040.
35. Németh J., (1995): Statikus keverés I. *Magyar Kémikusok Lapja*, 50(11), pp. 473–480. Hozzáférés linkje: <http://real-j.mtak.hu/id/eprint/8487>.
36. Pereira, P.C. (2014): Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30(6), pp. 619–627. DOI: 10.1016/j.nut.2013.10.011.
37. Rafiq, S. – Huma, N. – Pasha, I. – Sameen, A. – Mukhtar, O. – Khan, M.I. (2015): Chemical Composition, Nitrogen Fractions and Amino Acids Profile of Milk from Different Animal Species. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(7), pp. 1022–1028. DOI: 10.5713/ajas.15.0452.
38. Rodríguez-Vico, F. – Martínez-Cayuela, M. – García-Peregrín, E. – Ramírez, H. (1989): A procedure for eliminating interferences in the lowry method of protein determination. *Analytical Biochemistry*, 183(2), pp. 275–278. DOI: 10.1016/0003-2697(89)90479-X.
39. Schröder, M.J.A. (1982): Effect of oxygen on the keeping quality of milk: I. Oxidized flavour development and oxygen uptake in milk in relation to oxygen availability. *Journal of Dairy Research*, 49(3), pp. 407–424. DOI: 10.1017/S002202990002255X.
40. Shakir, F.K. – Audilet, D. – Drake, A.J. – Shakir, K.M.M. (1994): A Rapid Protein Determination by Modification of the Lowry Procedure. *Analytical Biochemistry*, pp. 216, 232–233. DOI: 10.1006/abio.1994.1031.
41. Szakály S. (szerk.) (2001): *Tejgazdaságtan*. Budapest: Dinasztia Kiadó. Hozzáférés linkje: <https://www.szaktars.hu/szaktudas/view/tejgazdasagtan/?pg=4&layout=s>.

42. Tantray, J.A., Mansoor, S., Wani, R.F.C., Nissa, N.U. (2023): Chapter 16 - Protein estimation by Lowry's method. In: Tantray, J.A. – Mansoor, S., – Wani, R.F.C. – Nissa, N.U. (eds). *Basic Life Science Methods*. Academic Press, pp. 65–67. DOI: 10.1016/B978-0-443-19174-9.00016-7.
43. Törley, D., Lásztity, R. (1993): *Élelmiszer-kémia 2*. In: Gasztonyi, K. – Aranyossy, Á. (szerk). Budapest: Mezőgazdasági Kiadó.
44. Varga, Á. – Gáspár, I. – Juhász, R. – Ladányi, M. – Hegyes-Vecseri, B. – Kókai, Z. – Márki, E. (2018): Beer microfiltration with static turbulence promoter: Sum of ranking differences comparison. *Journal of Food Process Engineering*, 42(1), pp. 1–9. DOI: 10.1111/jfpe.12941.
45. Veszprémi, T. (2017): 7.5.2. Hidrolízis. *Általános kémia*. Akadémiai Kiadó Zrt., pp. 260-262. DOI: 10.1556/9789634540519.

8. Táblázatok és ábrák jegyzéke

8.1 Táblázatok jegyzéke

1. táblázat: Különféle tejtípusok összetétele.....	6
2. táblázat: A kazeinfehérje és a savófehérje frakciói	8
3. táblázat: A kazeinfehérje frakcióinak izoionos- és izoelektromos pontjai	9
4. táblázat: A tehéntej átlagos major zsírsav-összetétele.....	12
5. táblázat: A tehéntej átlagos vitamin-összetétele	14
6. táblázat: A membránműveletek csoportosítása	20
7. táblázat: ANOVA tábla.....	26
8. táblázat: A membránszűrő berendezés szerelvényei	32
9. táblázat: A kalibrációs sor tagjainak összetétele.....	36
10. táblázat: Az 1,4 μm pórusméretű kerámia csőmembránnal végzett besűrítés adatai	38
11. táblázat: Az 5,0 μm pórusméretű kerámia csőmembrán adatai	41
12. táblázat: Az 1,4 μm pórusméretű kerámia csőmembrán becsült paraméterei	45
13. táblázat: Az 5,0 μm pórusméretű kerámia csőmembrán becsült paraméterei	46
14. táblázat: Az 1,4 μm pórusméretű kerámia csőmembrán ANOVA táblája	46
15. táblázat: Az 5,0 μm pórusméretű kerámia csőmembrán ANOVA táblája	46

8.2 Ábrák jegyzéke

1. ábra: A membránszűrő berendezés sematikus ábrája	31
2. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán fluxus-idő (J-t) görbéje	39
3. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán fluxus-besűrítési arány (J-VCF) görbéje	40
4. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán tiszta vízfluxusa besűrítés előtt.....	40
5. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembrán eltömődési fluxusa besűrítés után.....	41

6. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembrán fluxus-idő (J-t) görbéje	42
7. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembrán fluxus-besűrítési arány (J-VCF) görbéje	43
8. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembrán tiszta vízfluxusa besűrítés előtt.....	44
9. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembrán eltömődési fluxusa besűrítés után.....	44
10. ábra: A Lowry mérés kalibrációs görbéje	47
11. ábra: Az 1,4 μm pórusméretű csőmembránnal kezelt minták összes fehérjetartalma	48
12. ábra: Az 5,0 μm pórusméretű csőmembránnal kezelt minták összes fehérjetartalma	48
13. ábra: A frakciók SDS-PAGE mérési eredményei.....	49
14. ábra: A hidrolizátumok SDS-PAGE mérési eredményei.....	51

9. Köszönetnyilvánítás

Ezen fejezet keretein belül szeretném hálámat, illetve köszönetemet kifejezni a témavezetőim felé, ugyanis **Dr. Csighy Attila**, **Dr. Koris András**, illetve **Dr. Arijit Nath** átfogó szakmai ismeretükkel és önzetlen odaadásukkal segítették a szakdolgozatom megvalósulását.

Külön köszönettel tartozom az **Élelmiszeripari Műveletek és Folyamattervezés Tanszék dolgozóinak** különösképpen azért, mert a szakdolgozatom elkészülése során minden részlépésben számíthattam segítségükre.

Nem utolsó sorban a **családomnak és a barátaimnak** is szeretném kimutatni a hálámat és a köszönetemet, hiszen ezen embert próbáló időszakban is rendületlenül támogattak, leírhatatlan türelemmel és megértéssel segítettek.

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Ujfalusi Kinga
A Hallgató Neptun kódja: P6DW91
A dolgozat címe: Tejfehérjék szeparációja mikroszűréssel (MF), valamint a keletkező termékek proteáz enzimekkel történő kezelése és vizsgálata
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszeripari Műveletek és Folyamattervezés Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

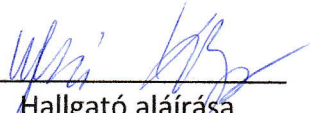
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumába. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumában.

Kelt: Budapest, 2024. 10. 30.


Hallgató aláírása

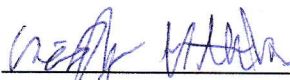
NYILATKOZAT

Ujfalusi Kinga (név) (hallgató Neptun azonosítója: **P6DW91**) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A **szakdolgozatot** a záróvizsgán történő védelemre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: **Budapest, 2024.10.30**


belső konzulens




belső konzulens


belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendő.

² A megfelelő aláhúzendő.