



MAGYAR AGRÁR- ÉS
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

**Ultrahangos kezelés hatása tojástermékek fizikai és biológiai
tulajdonságaira**

DOI: 10.54598/005980

Nagy Dávid

Budapest

2024

A doktori iskola megnevezése:

Élelmiszertudományi Doktori Iskola

Tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Simonné Dr. Sarkadi Livia

Egyetemi tanár, DSc

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Táplálkozástudományi Tanszék

Témavezető(k): Dr. Zsorné Dr. Muha Viktória

Egyetemi docens, PhD

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Élelmiszeripari Méréstechnika és Automatizálás Tanszék

Dr. Felföldi József

Professor emeritus, PhD

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Élelmiszeripari Méréstechnika és Automatizálás Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető(k) jóváhagyása

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	7
2. Célkitűzések	9
3. Irodalmi áttekintés	10
3.1 A tojás felépítése	10
3.2 Mikrobiológiai kockázatok	11
3.3 A tojás feldolgozása	13
3.3.1 Minőségi besorolás	13
3.3.2 Tárolás és előkészítés	14
3.3.3 Tojáslé előállítás	15
3.3.4 Pasztörözés	15
3.4 Kíméletes hőkezelések és az <i>E. coli</i>	16
3.4.1 Hősookk hatása <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) esetében	16
3.5 Kíméletes feldolgozási technológiák	17
3.5.1 Nem-termikus technológiák	17
3.5.2 Ultrahang	18
3.5.3 Akusztikus kavitáció	18
3.5.4 Aktív ultrahang alkalmazása az élelmiszeriparban	19
3.5.5 Az ultrahang hatása a tojásfehérje habképző tulajdonságaira	22
3.6 Roncsolásmentes mérési módszerek	23
3.6.1 Közei-infravörös spektroszkópia (NIR)	24
4. Anyagok és módszerek	26
4.1 Tojás minták	26
4.2 Alkalmazott módszerek	26
4.2.1 Ultrahangos berendezés	26
4.2.2 Tojáslé ultrahangos kezelése	27
4.2.3 Tojásminták előkészítése, kezelése	28
4.2.4 A minták mesterséges beoltása	29
4.2.5 Közei-infravörös spektrális mérések	30
4.2.6 Adatelemzési módszerek	31
4.2.7 Tojásfehérje habképzési, habtartóssági vizsgálatok	32
5. Eredmények	34
5.1 Ultrahang, mint önálló kezelés	34

5.1.1 Mikrobiológiai vizsgálatok	34
5.1.2 Közeli-infravörös spektrumanalízis eredményei	44
5.1.2.1 NIR adatok vizsgálata az Aquaphotomics módszerével	47
5.1.2.2 Lineáris diszkriminancia analízis	57
5.2 Ultrahang és kíméletes hőkezelés alkalmazása	60
5.2.1 Mikrobiológiai vizsgálatok	61
5.2.2 Közeli-infravörös spektrumanalízis eredményei	70
5.2.2.1 NIR spektrumok elemzése az Aquaphotomics módszerével	72
5.2.2.2 NIR spektrumok elemzése lineáris diszkriminancia analízissel	77
5.3 Az önálló ultrahangos és kombinált kezelések összehasonlítása	80
5.3.1 Mikrobiológiai vizsgálatok	80
5.3.2 Közeli-infravörös spektrumok összehasonlítása	87
5.3.3 A NIR spektrumok Lineáris diszkriminancia analízise (összehasonlítása)	93
5.4 Habképződés vizsgálata	99
5.5 Habstabilitás vizsgálata	104
6. Következtetések és javaslatok	110
7. Új tudományos eredmények, tézisek	111
8. Összefoglaló	113
9. Summary	116
Mellékletek	118
M1 Irodalomjegyzék	118
M2 Egyéb mellékletek	127
M3 Publikációk	133
Köszönetnyilvánítás	135

1. Bevezetés

A növekvő fogyasztói igények egyre nagyobb kihívást jelentenek az élelmiszeripar számára. A jelenleg használt feldolgozási technológiák sokszor kompromisszumok elé állítják a gyártókat, mivel az élelmiszerek feldolgozása során fellépő hátrányos mellékhatások nagyban befolyásolhatják a fogyasztók hozzáállását termékeikhez. Ezen, nem kívánt változások kiküszöbölése érdekében sok időt és pénzt fektetnek új, kíméletesebb eljárások fejlesztésébe. Ennek köszönhetően az elmúlt években egyre nagyobb figyelmet fordítanak a kíméletes eljárásokra („minimal process”), melyek alternatívaként szolgálhatnak a jelenlegi technológiák mellett.

Számos kutatás beszámolója szerint (Ohlsson & Bengtsson, 2002; Perera, 2020; Velderrain-Rodríguez et al., 2019) a kíméletes feldolgozási technológiák, mint például a nem termikus technológiák (magas nyomású kezelés (high hydrostatic pressure), besugárzás, pulzáló elektromos térerő (pulsed electric field), hideg plazma technológia (cold plasma technology), ultrahangos-, illetve az ultraibolya kezelés), a termikus kezelések (sous-vide), valamint a különböző csomagolási technológiák (módosított atmoszférájú csomagolás, aktív – és/vagy ehető csomagolóanyagok használata) megoldást nyújthatnak például az élelmiszerek eltarthatóságának növelésére.

A fent említett kezelések közül az ultrahang, sokrétű felhasználhatósága miatt kiváló alternatívaként szolgálhat számos élelmiszeripari eljárás kiváltására. Az ultrahang elektromos energiából átalakuló mechanikus, ciklikus nyomáshullám, mely frekvenciája az emberi hallástartomány felett van (>20 kHz). Az ultrahang okozta nyomás következtében úgynevezett akusztikus kavitáció jelensége lép fel (Hardcastle et al., 2000). Az akusztikus kavitáció összetett folyamat, inkompresszibilis közegekben általában hirtelen nyomásesés hatására pontokban létrejövő jelenség, melynek során a közegben annak lokális "szétszakadása" miatt többnyire mikroszkopikus, pár mikrométertől néhány száz mikrométernyi átmérővel rendelkező üregek (buborékok) képződnek. Az átmeneti buborékok gyors implóziójának (összeomlásának) eredménye a hőhatás, melynek során az összeomlás kis környezetében, néhány milliszekundum ideig akár 5500°C hőmérséklet is előállhat, a kialakuló nyomás pedig az $50\,000$ kPa-t is elérheti. Az ultrahangos kezelés lehet közvetlen, mely esetben a termék közvetlen kapcsolatban van a kezelő berendezéssel, valamint úgynevezett fürdős eljárás, ahol a közvetítő közeg valamilyen folyadék. A legtöbb kutatás során úgynevezett direkt kezeléseket alkalmaznak, mely során egy ultrahangos fejet merítenek a kezelendő közegbe. Ez az eljárás jellegéből kifolyólag, csak folyékony élelmiszerek esetében alkalmazható.

A szakirodalomban számos kutatás (Luque de Castro & Priego-Capote, 2007; Muthupandian Ashokkumar & Franz Grieser, 1999) számol be az ultrahangról, mint kiegészítő eljárás, melyet sikeresen alkalmaztak például szilárd élelmiszerek szárítási folyamatának felgyorsításához vagy folyékony élelmiszerek (pl.: gyümölcslevek) viszkozitásának, szárazanyagtartalmának megváltoztatására, illetve mikrobiológiai veszélyek csökkentésére.

Dolgozatom során ezekre a kutatásokra alapozva szeretném megvizsgálni az ultrahang hatását különböző, folyékony halmazállapotú tojástermékek jellemzőire, valamint a kapott eredményeken keresztül bemutatni a technológia alkalmasságát a jövőbeni fejlesztésekre az iparban.

2. Célkitűzések

Célkitűzéseim alapja az ultrahangos kezelés kiterjedt alkalmazhatósága, mely lehetőséget nyújt a különböző tojástermék kíméletes kezelésére, valamint jellemzőinek előnyös változtatásához. Erre a technológiára a szakirodalomban legtöbbször csak kiegészítő módszerként tekintenek egy másik, fő kezelési eljárás elősegítésére. Céлом az, hogy az ultrahangot, mint fő eljárást alkalmazzam sikeresen a tojástermékek esetében.

Kutatásaim során az alábbi kérdésekre kerestem válaszokat:

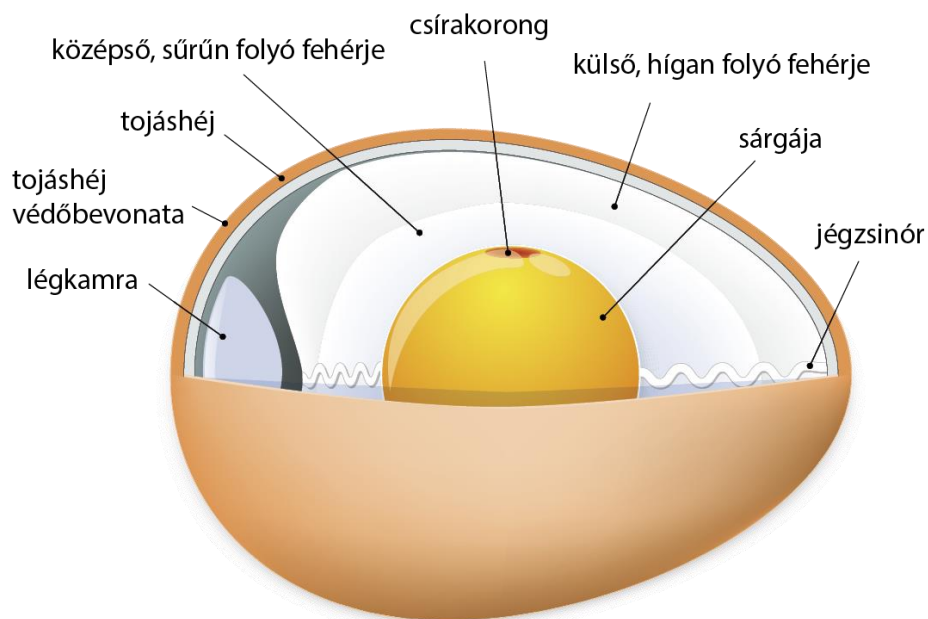
1. Képes-e az ultrahang önmagában szignifikáns mértékben csökkenteni a mesterségesen *E. coli*-val fertőzött tojáslevek mikrobiológiai szennyezettségét?
2. Kimutatható-e az ultrahang hatása a tojáslevek közeli-infravörös technológia (NIR) segítségével?
3. Képes-e az ultrahang, mint fő kezelési módszer kiegészítve egy enyhe hőkezeléssel a mérési határ alá csökkenteni a tojáslevek *E. coli* számát?
4. Milyen mértékű változást okoz az önálló ultrahang kezelés és a kombinált kezelés a tojástermékek közeli infravörös spektrumának jellemzőiben?
5. Milyen hatással van az ultrahangos eljárás a tojásfehérje habképző képességére, illetve habtartósságára?

3. Irodalmi áttekintés

3.1 A tojás felépítése

A madártojás, mint értékes táplálékforrás már az emberiség hajnalán is jelen volt. A gyűjtögető életmódot folytató ősember számára akkoriban valószínűleg a könnyebb megszerezhetőség miatt volt kiemelkedő, az emberiség fejlődése során viszont már tudatosan házasították a csirkét a tojása miatt, már ie. 7500 előtt (McGee, 2014).

Összetevőinek sokfélesége és egyensúlya, mely biztosítja az állati embrió fejlődéséhez szükséges tápanyagokat, magyarázza kivételes táplálkozási minőségét és fontosságát az emberek számára. A tojás amellet, hogy az állatvilág legnagyobb petesejtje, rendelkezik fizikai (héj), illetve kémiai védekezési rendszerrel is, mely biztosítja az embrió védelmét (1. ábra). A tojás három fő részre bontható: a fehérjére, mely a tojás tömegének 57-65%-át alkotja; a sárgájára, mely 25 és 33% között mozog, illetve a héjra, ami 8,5-10,5% (Roberts 2004; Nys, Bain, and Van Immerseel, 2011).



1. ábra: A tojás felépítése

(Earthlife.net, 2024)

A tojás külső védelmét egy főként kalcium-karbonátból álló meszes héj biztosítja. A héjat egy védőbevonat, az úgynevezett kutikula réteg borítja, mely a meszes héj pólusait zárja el, meggátolva ezzel a mikroorganizmusok bejutását a belső rétegekbe. A kutikula feladata továbbá a belső nedvesség elpárolgásának mérséklése (Mann et al. 2006; Wang et al. 2002). Az iparban előfordul, hogy a külső szennyeződések mosással távolítják el a tojás felületéről, s bár a mosás eltávolítja

a felületi szennyező anyagok java részét, ezzel csökkentve a tojás mikroba terhelését, viszont ezzel egyidőben a külső védőréteg is elvékonyodik, esetleg el is tűnik, utat engedve a fennmaradó mikrobáknak a tojás belseje felé (O'Bryan et al. 2017).

Következő védelmi pont a tojáshéj és a tojásfehérje között elhelyezkedő kétrétegű (külső és belső) héjhártya (*membrana testacea*). Ezek a hárták egyfajta szűrőként funkcionálnak a mikroorganizmusok elleni védekezésben. A két réteg a tojás alsó, tompa felénél szétválak és kialakul a légkamra (Roberts 2004, Szilárd 2013). A légkamra méretéből következtethetünk a tojás minőségére, frissességére, mivel az idő múlásával mérete megnövekszik, ahogy a két hártá egyre jobban eltávolodik egymástól (Sharaf Eddin et al. 2019).

Ezen védelmi rétegeken belül található a tojásfehérje, mely egy heterogén közeg, ami viszkozitása alapján három rétegre bontható: egy hígabb és egy sűrűbb külső rétegre, valamint a sárgájával közvetlenül érintkező belső rétegre. A külső részen egy híg folyadékréteg található, melyet egy sűrűbb, vastagabb fehérjeréteg követ. Ezek aránya a tárolás során megváltozik (Nys et al., 2011). A külső két réteg lényegi különbségét az ovomucin tartalma adja (Brooks & Hale, 1961). A két külső réteg fehérjetartalmuk szempontjából legnagyobb részt albumint tartalmaznak (54%). Mikrobiológiai védelem szempontjából fontos szerep jut ennek a rétegnek, hiszen az ovotransferin, ovoglobulin, illetve a lyzozim tartalmuk mikrobagátló hatással rendelkeznek. Továbbá a sűrű fehérje része a jégzsinór, aminek feladata, hogy stabilitást biztosítson a tojás sárgájának és megvédje azt a rázkódástól. Végül a harmadik, sárgájával érintkező belső réteg, mely a fehérje össztömegének 17%-át teszi ki.

A tojássárgája összetett szerkezetű anyag, mely két fő frakcióra bontható: plazmára és gránumra. A plazma legnagyobb része kis sűrűségű fehérje-zsír komplex (LDL), mely 80-90%-a lipid vegyületekből áll. A tojás foszfortartalmának jelentős részét a nagy sűrűségű fehérje-zsír komplex (HDL) tartalmazza, mely a gránum nagy hányadát adja. A tojás zsírtartalmának 99%-a tojássárgájában található, emellett számos fehérjét és egyéb tápanyagokat tartalmaz, vitaminokat, ásványi anyagokat, esszenciális zsírsavakat, foszfolipideket és egyéb lipideket (Anton, 2007; Szilárd, 2013).

3.2 Mikrobiológiai kockázatok

Egészséges tenyésztési körülmények között a tojás belső része a tojásrakás után steril. A tojások a héjon keresztül szennyeződhetnek a fészkek, illetve a szárnyas ürülékkel érintkezve, melyek olyan baktériumok hordozói amik az emberi szervezetbe jutva megbetegségekhez vezethetnek (Baron & Jan, 2011).

1. táblázat: Baktériumfajták előfordulása a tojáshéj felületén (Stepien-Pysniak, 2010)

Mikroba	Előfordulás
Achromobacter spp.	±
Acinetobacter spp.	++
Aeromonas spp. ^a	±
Alcaligenes spp.	±
Chryseomonas luteola	±
Citrobacter freundii	++
Escherichia coli	++
Enterobacter spp. ^b	++
Erwinia nigrifluens	±
Enterobacteriaceae spp.	+
Flavimonas oryzae	±
Klebsiella spp. ^d	+
Kluyvera spp.	±
Leclercia adcarboxylata	±
Proteus mirabilis	±
Providencia stuartii	±
Vibrio metschnikovii	±
Salmonella Arizonae	±
Salmonella Enteritidis	±
Salmonella spp.	±
Pseudomonas spp. ^e	+
Rahnella aquatilis	±
Serratia liquefaciens	±
Tatumella ptyseos	±
± - Esetenként fellelhető	
+ - Kisebb mennyiségben, gyakran előfordul	
++ - Nagy mennyiségben, gyakran előfordul	

a - Aeromonas spp. (*A. hydrophila*, *A. salm. salmonicida*)

b - Enterobacter spp. (*Ent. agglomerans*, *Ent. amnigenus*, *Ent. cloacae*, *Ent. sakazakii*)

c - Escherichia spp. (*E. herm annii*, *E. vulneris*)

d - Klebsiella spp. (*K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*)

e - Pseudomonas spp. (*Ps. alcaligenes*, *Ps. fluorescens*, *Ps. mendocida*, *Ps. stutzeri*)

A tojáshéjon található baktériumok (1. táblázat) közül kiemelkedő a Gram-negatív csoportba tartozó *Enterobacteriaceae* család, melyek közül a legismertebb az *Escherichia* nemzetségbe tartozó kólibaktérium (*Escherichia coli*). Az *E. coli* baktérium megtalálható a melegvérű állatok bélrendszerében és a bél mikrobiológiai ökoszisztémájának szerves része. Részük van vitaminok termelésében, valamint jelenlétükkel gátolják más kórokozó mikroorganizmusok elszaporodását (Tenailon et al., 2010). A legtöbb *E. coli* törzs ártalmatlan, de egyes típusok (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC) súlyos megbetegedést okozhatnak (Vogt & Dippold, 2005). Az *E. coli* pálcá alakú, fakultatív anaerob, spórátlan baktérium, mely flagellák segítségével képes a helyváltoztatásra (Darnton et al., 2007). A belek mikrobolyhaihoz az intimin néven ismert adhéziós molekulán keresztül tapad, majd a széklettel kiürül. Az élelmiszeriparban „fekális indikátor” szerepet is betölt, ugyanis jelenléte utal fekális eredetű szennyezésre, mely más kórokozók jelenlétét is valószínűsíti. Hőhatással szemben ellenállóak, optimális szaporodási hőmérsékletük 37°C, de képesek 49°C-on is szaporodni, egyes esetben magasabb hőmérsékleten (53°C) való növekedését is megfigyelték (Fotadar et al., 2005).

Alapvetően a héjon található baktériumok ritkán jutnak be a tojás belső részébe, illetve bekerülve kevés esetben szaporodnak el. A külső meszes héjat borító kutikula megakadályozza a baktériumok bejutását a pórusokon keresztül, azonban ez a réteg idővel eltűnik, idősebb tojók esetében alig vagy egyáltalán nem alakul ki (Roberts, 2004).

A tojás belsejében a baktériumok szaporodását gátló fehérjéken kívül a tojásfehérje alkalikus pH-ja is segít a védekezésben (Gennadios et al., 1996).

A tojásfehérjére és a tojássárgája összekeveredése esetén a védőmechanizmusok jelentős része megszűnik és kiváló táptalajt biztosít a mikroorganizmusok számára, így ipari feldolgozás során hamar romlásnak indul. Mivel a tojáshéj törése alkalmat nyújt a baktériumok bejutására, számolni kell azzal is, hogy a tojásfeldolgozó üzemekben, ahol rengeteg a törésre kerülő tojás könnyen befertőződhet a tojáslé. Továbbá a folyamat során bekerülő esetlegesen romlott tojások is tovább fertőzhetik a teljes tojáslé-tömeget (Németh, 2012).

3.3 A tojás feldolgozása

3.3.1 Minőségi besorolás

A tojás minőségi meghatározása során Magyarországon az Európai Unió 589/2008/EK rendeletet kell figyelembe venni. Osztályozásnál megkülönböztetünk A, B (illetve C) kategóriákat, melyekbe a tojások az alábbi minőségi előírások szerint kerülnek csoportosításra:

- A héj, kutikula szabályossága, tisztasága
- A légkamra magassága
- Tojásfehérje tisztasága, áttetszősége, kocsányos konzisztenciája
- A tojássárgája átvilágításakor csak árnyék formájában látható
- A csírasejt nem észlelhető fejlettségű
- Idegen anyagtól, illetve szagtól mentes

„A” osztályú tojás esetében a tojás mosása nem engedélyezett, ugyanis ebben az esetben a tojás minősége nem felel meg a legmagasabb besorolású osztály kritériumainak, mivel a külső védőréteg sérül és mikrobiológiai veszélynek van kitéve. „B” osztályú tojások kereskedelmi forgalomba nem hozhatók, azonban élelmiszeripari felhasználásra alkalmasak (Bizottság 589/2008/EK rendelete, 2008).

3.3.2 Tárolás és előkészítés

A feldolgozandó tojások csak hatósági állatorvos által bevizsgált baromfitelepről származhatnak. Átvételt és minőségi osztályozást követően a tojásokat maximum 16°C-on tárolják a feldolgozás kezdetéig. A tapasztalat az, hogy a tojás héja rendszerint baromfi ürülékkel, vérrel, sárral, illetve e felületekre telepedett mikroorganizmusokkal szennyezett (Pesavento et al., 2017). Hosszú tárolási időszak esetén a tojást védő kutikula réteg elvékonyodik, illetve eltűnik, így a mikroorganizmusok a héj pórusain keresztül bejutnak a tojás belsejébe. Ezt megelőzendő célszerű a hosszú tárolást megelőzően valamilyen mechanikus fertőtlenítési eljárást alkalmazni (Y.-C. Liu et al., 2016). A legegyszerűbb módszer a keféssé, nedves tisztítás, azonban a tojáshéjat alapvetően száraz állapotban kell tisztítani. Száraz tisztítási eljárás például az UV fénnel való fertőtlenítés, melynek nagy hátránya, hogy körülményesen lehet a tojás teljes felületét egyenletesen kezelni. Másik ilyen lehetőség az ózonos fertőtlenítés, mely kiküszöböli az UV kezelés hiányosságát, viszont ezek a berendezések beruházási költsége nagyon magas.

A fent említett eljárások igen körülményesek lehetnek, ezért elterjedtebb a nedves tisztítási eljárások. Fontos ismét megemlíteni, hogy mosás során a külső védőréteg sérül, így célszerű a mosott tojásokat minél hamarabb feldolgozni. Ipari keretek között a tojásokat először valamilyen zsíroló szerrel, majd klórral fertőtlenítik. Gyakori jelenség, hogy a tojásokat saját hőmérsékletüknél hidegebb oldattal mossák le. Ekkor a tojás beltartalma összehúzódik, mely a tojás romlásához is vezethet. A hosszabb eltarthatóság érdekében öblítés után a tojások esetenként olajos bevonatot kapnak (Szilárd 2013; Németh, 2012).

3.3.3 Tojáslé előállítás

A tojást mosása, illetve egyes esetekben tárolás után kézzel, vagy nagyobb mennyiség esetében törőgéppel feltörik. A tojások a törőgépben egy anyaggyűjtő csészében helyezkednek el, majd alulról egy penge megüti a tojáshéjat és annak tartalma az alatta levő kanálba kerül. Attól függően, hogy teljes tojáslevet, tojásfehérje levet, illetve tojássárgája levet készítenek, a két frakciót szétválaszthatják (Németh, 2012).

Törés után a tojásleveket szűrik, hogy eltávolítsák a benne maradt héjat, illetve idegen anyagokat. A minőségi tojáslé készítés egyik alapvető lépése a homogenizálás. Lapátos keverők esetében figyelni kell arra, hogy esetlegesen nem megfelelően homogenizálja az anyagot, illetve keverés közben a levegőből különböző mikroorganizmusok juthatnak a tojáslébe. A homogenizáló hatás túlnyomással fokozható (Hu et al., 2022).

Az így feldolgozott tojáslevek további kezelés nélkül minimális ideig eltarthatók (4°C-on minőségromlás nélkül körülbelül 24 órán keresztül) (Németh, 2012).

3.3.4 Pasztörözés

A tojás belseje alapvetően steril a fentebb említett védelemnek, úgymint a kutikulának, a belső hártvának, a pH-nak, illetve a tojásban található különböző baktériumok szaporodását gátló fehérjéknek köszönhetően. A törés során ezek a védelmi mechanizmusok meggyengülnek, illetve eltűnnek és így a tojáslé kiváló tápközeget nyújt a mikroorganizmusok szaporodásához. Ennek elkerülése végett különböző tartósítási eljárásokon esnek keresztül. Ilyen tartósítási módszerek közül a legismertebb a pasztörözés.

A pasztörözés során a tojáslevek hőkezelésen esnek át, mely során körültekintően kell megválasztani az alkalmazott hőmérsékletet, ugyanis a hőre érzékeny fehérjék denaturálódhatnak. Ezek a hőértékek tojássárgája esetében 65-66°C, tojásfehérje esetében 57-59°C, míg teljes tojáslé esetében 67°C (Froning et al., 2002).

Fontos megemlíteni, hogy a tojáslé feldolgozás során alapvetően termikus technológiákat alkalmaznak és számos kutatás foglalkozott azzal, hogy melyek azok a legkisebb hőmérséklet tartományok, melyek esetében érvényesül a technológia baktériumölő hatása, viszont kevésbé vagy egyáltalán nem befolyásolja a tojástermék tulajdonságait.

Termikus technológiák esetében elsősorban a tojásban lévő fehérjék határozzák meg a tojástermékek hőkezelésének paramétereit, mivel a cél a fehérjék denaturálódásának elkerülése. Egyes fehérjék a termék funkcionális tulajdonságai szempontjából is fontosak (például a globulinok, amelyek a tojásfehérje egyetlen olyan fehérjefrakciója, amely jó habzási

tulajdonságokkal rendelkezik (Csurka et al., 2021), valamint számos tojásfehérje antimikrobiális tulajdonságokkal rendelkezik (Németh, 2012).

3.4 Kíméletes hőkezelések és az *E. coli*

A pasztörizálás már évtizedek óta használt módszer az élelmiszerekben levő kártékony mikroorganizmusok elpusztítására. Azonban a korábbi fejezetben említett nem kívánt hatások elkerülése érdekében alternatív/kíméletes kezelések alkalmazása lenne célszerű.

Számos kutatás foglalkozik például az *E. coli* alacsony hőmérsékleten való kezelésének hatásaival. Fotodar és munkatársai (2005) megfigyelték, hogy az *E. coli* (DH5alpha) 49°C-ig képes szaporodni és 49°C felett (53°C-ig) növekedni, de ez szórványos és nem reprodukálható ebben a hőmérséklettartományban. Az *E. coli* baktériumok hőtűrése és hőérzékenysége több tényezőtől függ, pl. törzstől, mátrixtól, időtől. Peng és munkatársai (2013) kilenc *E. coli* törzs hőállóságát vizsgálták 60 és 69°C között, a D-értékük 3 és 132 másodperc között változott. Itelima és munkatársa (2011) *E. coli* O157:H7 törzsű nyers tejmintákat hőkezelték 69 és 73°C közötti hőmérsékleten 15 s-ig. Azt találták, hogy a 73°C-on 15 s-ig tartó hőkezelés elpusztította a törzs sejtjeit minden kiindulási sejtkoncentráció esetén. Sörqvist (2003) megállapította, hogy az *E. coli* (O157:H7) esetében 55°C-on a baktériumsejtek 90%-ának elpusztításához szükséges hőkezelési idő 239-297 s volt.

Az Amerikai Egyesült Államok Mezőgazdasági Minisztériuma (USDA, 2020) ajánlása szerint a tojásfehérje, illetve teljes tojásle esetében 60 °C, sárgája esetében pedig 61,1 °C 3,5 percen át tartó hőkezelési eljárás ajánlott. Alacsonyabb hőmérsékleten való kezelés esetén a mikrobák hősokk hatására ellenállóbbá válhatnak a további hőkezelésekkel szemben.

3.4.1 Hősokk hatása *Escherichia coli* (ATCC 25922) esetében

A környezeti behatások, mint például a hő, pH érték, nyomás vagy az antibiotikumok jelentősen befolyásolják a baktérium szaporodó képességét, szélsőséges esetben pusztulásukhoz is vezethet. (McDowell et al., 2004; Ye et al. 2012) Számos kutatás kimutatta (Arsène et al. 2000; Ezemaduka et al. 2014; Guisbert et al. 2008; Markova et al. 2010; Nonaka et al. 2006), hogy *Escherichia coli* esetében is érvényes az a megállapítás, hogy az optimális növekedési hőmérséklet felett, bizonyos idő elteltével a baktériumok nem szaporodnak tovább, majd tovább tartva ezen a hőmérsékleten a mikrobákat, ez a körülmény akár a pusztulásukhoz vezethet. Azonban a lassú hőmérséklet emelkedés vagy kis ideig tartó magas hőmérsékletű hatások következtében magasabb hőtűrési tulajdonság alakul ki.

Ez azzal magyarázható, hogy a környezeti hatásokat speciális válaszreakciókkal (stresszválaszokkal) igyekszik kiküszöbölni. A membrán és a stresszfolyamatok megfigyelése során arra a felismerésre jutottak, hogy az úgynevezett hősokkfehérjék (HSF) lipidekhez kötődve megőrizhetik annak integritását és funkcionalitását (Németh, 2012).

Ez a jelenség kockázatot jelent egyes kíméletes feldolgozási technológiák (minimal processing) esetében, így ezek a módszerek nagyfokú körültekintéssel alkalmazhatók.

3.5 Kíméletes feldolgozási technológiák

A „minimal processing” (avagy kíméletes feldolgozási folyamat) számos technológiát és módszert foglal magában, melyek az élelmiszerek eltarthatóságát, ízének és minőségének megőrzését hivatott elősegíteni. Ezek a feldolgozási technológiák mind olyan eljárásokat foglalnak magukba, melyek a lehető legalacsonyabb mértékben befolyásolják az élelmiszer eredeti, friss minőségi tulajdonságait, ugyanakkor olyan eltarthatósági idővel ruházzák fel, melyeket a klasszikusan vett élelmiszeripari feldolgozás során kapnak (Ohlsson, 1994).

A legelterjedtebb eltarthatóságot növelő technológiák, például a pasztörözés, nagyban befolyásolhatják az élelmiszerek fizikai tulajdonságait, illetve megváltoztathatják a beltartalmi értékeket. Ezt elkerülendő, egyre nagyobb figyelmet fordítanak olyan technológiák fejlesztésére, amelyekkel kíméletes módszerek alkalmazásával elérhetik ugyanazt a hatást, mint a „tradicionális” technológiákkal, ugyanakkor elkerülik az élelmiszerekben bekövetkező egyéb változásokat (Gil, Allende, et al. 2012).

3.5.1 Nem-termikus technológiák

Az élelmiszerek eltarthatóságának meghosszabbítását hagyományosan a termikus feldolgozással hozzák összefüggésbe, melyek önmagukban vagy kémiai, biokémiai tartósítási módszerekkel kombinálva hivatott biztosítani az eltarthatóságot. Számos kutatás foglalkozik egyéb kíméletes hőhatásokat alkalmazó technológiák kifejlesztésével (sou-vide, infravörös-, elektromágneses melegítés). Ezek a módszerek esetében is előfordulhat, hogy a kezelés bizonyos minőségi jellemzőkben változásokat okoz (Ohlsson & Bengtsson, 2002).

A kíméletes feldolgozási módszerek másik ága azon módszereket foglalja magába, melyek mellőzve a hőhatásokat (fagyasztás vagy melegítés), valamilyen más fizikai hatással kívánja elérni az élelmiszerek biztonságos feldolgozását és fogyaszthatóságát. Ilyen technológia például a inonizáló sugárzás, ultraviola sugárzás, magasnyomású eljárások (High Hydrostatic Pressure),

pulzáló elektromos tér (PEF), illetve az ultrahangos kezelések (Allende et al., 2006). Kutatásom ezen módszerek közül az ultrahang hatását vizsgálja a tojáslevek tekintetében.

3.5.2 Ultrahang

Ultrahangnak nevezzük az emberi hallástartomány felső határánál, a $\sim 20\text{kHz}$ -nél nagyobb frekvenciájú mechanikai hullámokat. Az ultrahang frekvenciatartománya és intenzitása alapján az ultrahangos eljárások két nagy csoportba sorolhatók. Az első csoportban az alkalmazott ultrahang frekvenciája nagyobb, mint 100 kHz , ugyanakkor intenzitása kisebb, mint 1 W/cm^2 ($10\,000\text{ W/m}^2$) (Leighton 2007; Mason et al. 2005). Az alacsony intenzitás miatt az ilyen ultrahang nem okoz az anyagban szerkezeti elváltozásokat, ezért passzív ultrahangnak is nevezik. Alkalmazhatóságának alapja, hogy homogén közegben állandó sebességgel és exponenciálisan csökkenő intenzitással terjed. Transzmissziós módszerek esetében az áthaladási idő mérésével meghatározható a például az élelmiszerek sűrűsége és vastagsága (Leighton, 2007; Newman & Rozycki, 1998). Az élelmiszeriparban a minőségbiztosítás és a feldolgozási folyamatok során roncsolásmentes anyagvizsgálatokra használják pl. kemény sajtokban lévő törések, repedések kimutatása, vágóállatok minősítése, vagy a folyamatirányítás területén az ultrahangos áramlásmérők és tartálybeli folyadékszintmérők alkalmazása (Gallo et al., 2018).

A második csoportban az alkalmazott ultrahang $20\text{--}500\text{ kHz}$ közötti frekvenciájú és 1 W/cm^2 -nél nagyobb intenzitású. Használata a kezelt anyagban különböző változásokat idéz elő, ezért aktív ultrahangnak nevezik. Az aktív ultrahang módosíthatja az élelmiszerek fizikai, mechanikai vagy kémiai, illetve biokémiai tulajdonságait, így ipari felhasználása egyre nagyobb figyelmet kap. Sikeresen alkalmazzák a hagyományos technológiák helyettesítéseként vagy kiegészítéseként pl. zsírok kristályosításánál a megfelelő állományjellemzők és mikrostruktúra kialakítására (szonokristályosítás), emulziókészítésre, fermentorokban habtörésre, élelmiszerekben a fehérjék funkcionális tulajdonságainak módosítására, enzimaktivitás megszüntetésére vagy felgyorsítására (eltarthatóság meghosszabbítása), sejtek inaktiválására, fagyasztásra és felolvasztásra, fagyasztva szárításra és sűrítésre, szárításra és az élelmiszerekből a bioaktív komponensek kinyerésének megkönnyítésére is (T J Mason et al., 1996).

3.5.3 Akusztikus kavitáció

Az aktív ultrahang alkalmazása során a kavitáció majdnem mindig jelentős szerepet játszik. Az akusztikus kavitáció egy összetett jelenség, amely inkompresszibilis közegekben általában hirtelen nyomáscsökkenés hatására alakul ki. Ennek során a közeg lokális „szétszakadása” révén többnyire

mikroszkopikus, 1-2 mikrométertől néhány száz mikrométerig terjedő méretű buborékok keletkeznek. (Ashokkumar, 2011). A buborékok az oldat belsejében elmozdulva elindítanak egy folyamatot, melynek során sűrűsödési és ritkulási zónák alakulnak ki. A ritkulási zónában kialakuló negatív nyomás hatására a folyadékmolekulák eltávolodnak egymástól. Ha az eltávolodás mértéke meghaladja azt a távolságot, amelyen belül a folyadékmolekulák még összekapcsolódnak, akkor a folyadék ott összeomlik (szétszakad), és üregek képződnek benne. Az ismétlődő akusztikus ciklusok hatására ezek az üregek folyamatosan képződnek, belsejüket kis mennyiségű gőz tölti ki (Yasui, 2018). Aktív ultrahang alkalmazása esetén több ezer ilyen buborék alakul ki a folyadékban. Kavitáció alatt értjük tehát az ultrahangos erőternek kitett közegen belül gázzal, vagy gőzzel töltött buborékok keletkezését és aktivitását. Általában két típusú buborék aktivitást különböztetünk meg, a stabil kavitációt és az átmeneti (vagy összeeső, inerciális) kavitációt. A stabil kavitáció során a buborékok oszcillálnak (a buborék sugarához képest kis amplitudójú oszcilláció) az ultrahangos erőterben. A buborékok sugara az egyensúlyi érték körül mozog, a buborékok számos (akár több ezer) akusztikus cikluson keresztül jelen vannak. Átmeneti kavitáció során a buborékok nem stabilak, méretük nagyon különböző. Néhány akusztikus cikluson keresztül léteznek csak, gyorsan összeomlanak és apró buborékok tömegévé esnek szét (Neppiras, 1980). A kis buborékok aztán egyszerűen feloldódnak, a buborék tágulási szakaszában az anyagátadási határréteg vékonyabb és a fázisok közötti érintkezési felület nagyobb, mint a buborékok összeomlása során, ami azt eredményezi, hogy a kitágulás során több gőz vagy gáz kerül a buborék belsejébe, mint amennyi az összehúzódás során kijut onnan (Kentish & Ashokkumar, 2011; Lauterborn & Ohl, 1997; Tiwari & Mason, 2012). Az átmeneti kavitáció általában alacsonyabb frekvenciatartomány (20-100 kHz) alkalmazása mellett alakul ki. A pillanatnyi élettartamú buborék hirtelen összeomlása jelentős hőhatást eredményez, mely közvetlen környezetében elérheti akár az 5500 °C-ot is, bár ez csak néhány ezredmásodpercig tart. Emellett az összeomlás során keletkező nyomás rendkívül intenzív lehet, akár az 50 000 kPa-t is meghaladhatja. Az így kialakuló lökéshullám elég nyíróerőt fejt ki ahhoz, hogy a sejtfalat és a membránszerkezeteket roncsolja. Elmondható tehát, hogy az ultrahang hatására létrejövő mikromechanikai sokkhatás képes a sejtek egyes alkotórészeit felbontani, így a sejt működését megzavarni, a sejtet elpusztítani (Butz & Tauscher, 2002; Fellows, 2000).

3.5.4 Aktív ultrahang alkalmazása az élelmiszeriparban

A különféle fehérjeforrások széles skálája közül a tojásfehérjét, tojássárgáját, illetve teljes tojáslevet előszeretettel használják funkcionális összetevőként az élelmiszeriparban, magas tápértéke és egyedülálló funkcionális tulajdonságai (habképzés, gélesedés, emulgeálás) miatt (Mine, 1995). Emiatt nélkülözhetetlen összetevője számos élelmiszernek, mint például szószoknak,

cukrászati termékeknek és pékáruknak. Ezen termékek minőségi és stabilitási tulajdonságait nagyban befolyásolja a tojás funkcionális és struktúrális tulajdonságai, melynek megőrzése és feljavítása kihívást jelent az ipar számára (Tan et al., 2016).

A tojásban levő fehérjék (pl.: az ovalbumin, a lizozim, a ovotransferrin, stb.) hő hatására denaturálódhatnak és elvesztik funkcionális tulajdonságaikat. Ennek fényében egyre több kutatás született a tojás "kíméletes" feldolgozási módszereinek kifejlesztésére, illetve funkcionális tulajdonságainak javítására.

Stefanovic munkatársaival 2017-es kutatásukban tojásfehérjét kezeltek magas intenzitású ultrahanggal, mely során a tojásfehérje struktúrális és funkcionális tulajdonságainak változását vizsgálták. 10 tömeg %-os víz-tojásfehérje oldatokat kezeltek kétféle ultrahangos berendezéssel. Az első egy merülő ultrahangos készülék, melyet 20 kHz-es, 34,11 W teljesítményű és 40% amplitúdójú (50 μ m) ultrahang generálására használtak. A második egy ultrahangos fürdő, melyet 40 kHz-es és 21,3 W-os beállításokkal alkalmazták. A kísérletek során a tojásleveket 5-20 percig kezelték a merülő ultrahangos készülékkel, míg fürdő esetén 30 perces kezeléseket alkalmaztak. Mivel a hőmérséklet nagyban befolyásolja a tojásfehérjék szerkezetét a merülő ultrahangos készülék esetében egy köpenyhűtő mintatartót használtak, mellyek képesek voltak 25°C-on tartani a mintákat. Az ultrahangos fürdő esetében a mintákat 25 és 30°C között kezelték. Kísérleteik során kitértek a tojásfehérje részecskéinek méretbeli, konformációbeli változásaikra, molekulatömegbeni eloszlására, illetve a fehérjék zéta-potenciáljában bekövetkező változásokra. Ezeket a struktúrális változásokat követve lineáris összefüggést találtak a tojásfehérjében levő részecskék mérete, zéta-potenciálja (vagyis a szilárd anyagok és folyadékok fázishatárán átívelő potenciálkülönbség) és több funkcionális tulajdonság között, úgymint a habképző képesség, habtartósság, emulgeáló képesség és oldhatóság.

Megállapításuk szerint még a viszonylag kis időtartamú ultrahangos kezelés során is javult a tojásfehérje emulgeáló képessége, oldhatósága és a habképző tulajdonságai is. A kutatásomat a további irodalomkutatásom ihlette, mely során olyan eredményeket közöltek, ami szerint épp ellenkezőleg, csökken a habképző és habtartóssági tulajdonság ultrahangos kezelés hatására (Arzeni et al., 2012). Erről a következő fejezetben bővebben lesz szó.

Hasonló kísérleteket végeztek Sheng és mtársai (2018), akik szintén arról számoltak be, hogy a magas intenzitású ultrahangos kezelés hatására javul a tojásfehérje habképző tulajdonsága. Ezt azzal magyarázzák, hogy a kezelés hatására a kisebb viszkozitásúvá és alacsonyabb felületi feszültségűvé vált tojásfehérjében található fehérjéket könnyebben lehet egy gáz-folyadék

határfelülethez kötni, valamint a molekula átrendeződés is hatásosabban és könnyebben megy végbe.

Dong-Un Lee 2009-ben az ultrahangos kezelés és nagy hidrosztatikai nyomású kezelés együttes hatását vizsgálta teljes tojásleveken. Kísérlete során azt tapasztalta, hogy a két módszer egymás utáni alkalmazása növeli a habképzés mértékét, emulzióképzési tulajdonságait. Az ultrahang, mint kiegészítő technológia hatékonyságát az mutatja, hogy ezekre a tulajdonságokra szinte semmilyen hatással nem volt a nagy hidrosztatikai nyomású kezelés önmagában. A kutatás nem tért ki az ultrahang, mint önálló kezelési módszer hatásának vizsgálatára.

Megemlítendő még a tojásban lévő fehérjék enzimatis hidrolízise, mely egy fontos biotechnológiai folyamat, ami felhasználható a fehérjék fizikai, kémiai és funkcionális tulajdonságainak javítására anélkül, hogy megváltoztatná a tojás tápértékét. Ennek a folyamatnak a támogatásra szintén születtek kísérletek, melyben ultrahangos előkezelést alkalmaztak. Jovanovics munkatársaival (2016) megállapították, hogy az ultrahangos előkezelés hatására növekedett a hidrolízis hatékonysága, emellett kevesebb aktiválási energiára volt szükség a folyamat beindításához.

Ezen kívül az ultrahangos kezelést más technikákkal kombinálva is alkalmazták. Lee társaival (2013). *Escherichia coli* oltottak be triptikus szójalevesbe (tryptic soy agar - TSA), és az ultrahangos kezelés hatását 40-61°C és 100-500 kPa kombinációiban vizsgálták. Megállapították, hogy ezeknek a letális környezeti hatásoknak a kombinációja szignifikánsan lerövidítette a szükséges kezelési időt, mely során elérték a 5 log CFU/ml mikrobaszám csökkenést.

Kang 2017-ben ultrahangos kezelés hatását vizsgálta 2,39 és 20,96 W/cm² teljesítményen, valamint 30 és 120 perces kezelési idővel, marhahúsban található *E. coli* és *Bacillus cereus* baktériumokkal szemben. A vizsgálat kimutatta, hogy a kezelés a marhahús pácolása során a sejtmembrán integritásának megbontását és a célzott mikroorganizmusok inaktiválását eredményezheti. Hasonló eredményekről számoltak be szárított füge esetében, ahol ultrahangos, valamint vegyszeres kezeléssel az *E. coli*, *Bacillus cereus* és *Penicillium expansum* mikrobaszámának csökkenését tapasztalták (Görgüç et al., 2021). Sesal és munkatársai (2014) kutatása során szintén szignifikáns telepképző mikrobaszám csökkenést ért el 30 perces kezeléssel táptalajba oltott *E. coli* esetében. A kezelés során egy 30 kHz frekvenciájú és 100 W teljesítményű ultrahangos fejet használt.

3.5.5 Az ultrahang hatása a tojásfehérje habképző tulajdonságaira

A tojásfehérje számos funkcionális tulajdonsággal rendelkezik, mint például habzás, zselésedés és emulgeálás, melyek miatt széles körben használják az élelmiszeriparban (Hidas et al., 2021; Singh & Ramaswamy, 2015). Kiváló habképző tulajdonságai miatt gyakran alkalmazzák sütemények és desszertek összetevőjeként. Az élelmiszeripar számára kulcsfontosságú, hogy javítsa a tojásfehérje hab tulajdonságait, hogy kívánatos textúrát és minőséget nyújtson felhasználás szempontjából (Duan et al., 2017).

A tojásfehérje habképző tulajdonságai nagyrészt a benne lévő fehérjék szerkezetétől függnének. Az ipari hőkezelések során ezen fehérjék tulajdonságai megváltozhatnak, ami nem kívánatos funkcionális veszteséghez vezethet (Chen & Ma, 2020). Az ultrahangos kezelés alkalmazása lehetőséget nyújt az élelmiszeriparnak az élelmiszerfehérjék funkcionális tulajdonságainak kedvezőbb irányú módosítására.

Számos tanulmány foglalkozik az ultrahangos kezelés hatásával a tojásfehérje habképző és habstabilitási tulajdonságaira, habár egyes kutatási eredmények más, olykor teljesen ellentmondó megfigyelésekről számolnak be.

Arzeni és munkatársai (2012) kutatásuk során azt vizsgálták, hogyan befolyásolja az ultrahangos kezelés a tojásfehérje habképzését és habtartósságát. A kísérlet során a tojásfehérjét 20 kHz frekvencián, egy 750W teljesítményű berendezés segítségével 20 percen keresztül kezelték. Méréseik alapján megállapították, hogy az ultrahangos kezelés nagymértékben hatással volt a tojásfehérje ezen tulajdonságaira. A tanulmányban kifejtették, hogy az eljárás hatására a kezeletlen mintákhoz képest kisebb térfogatú hab képződött ugyanakkora mennyiségű tojásfehérjéből, valamint a keletkezett hab stabilitása is csökkent.

Egy másik kutatás (Stefanovic et al., 2017) szerint azonban, Arzeni et. al (2015) kutatásához hasonlóan, 20 percen keresztül tartó ultrahangos kezelés 20 kHz frekvencián és 34 W hatásos teljesítmény mellett növelte a habképző tulajdonságokat, valamint a keletkezett hab stabilitása is jobb volt.

Gelvez-Ordóñez és munkatársai (2009) tanulmánya szerint az 5-10 percen át tartó ultrahangos kezelés 40 kHz-en és 80 W teljesítményen növelte a habképződést, de ugyanazon paraméterek mellett 15 percen át tartó kezelés negatív hatással volt erre a tulajdonságra. Emellett a tanulmány kimutatta, hogy a habstabilitás csökkent az ultrahangos kezelés során, függetlenül a kezelés időtartamától.

Gelvez-Ordonez (2009) kutatása összhangban van Sheng tanulmányával (Sheng et al., 2018), melyben a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az ultrahangos kezelés (20 kHz, 90, 120, 240, 360 és 480 W teljesítmény 10 percig) jelentősen javította a habképeességet, miközben enyhe csökkenést tapasztaltak a habstabilitás terén.

Ezekben a tanulmányokban különböző ultrahangos kezelési paramétereket alkalmaznak, ami ellentmondó megfigyeléseket eredményezhet. Azonban egyetértenek abban, hogy az ultrahangos kezelés jelentős hatással van a tojásfehérje habképző- és a keletkezett hab tulajdonságaira, és úgy tűnik, hogy a kezelés paramétereitől függően a habzó tulajdonságok növekvő vagy csökkenő tendenciát mutathatnak.

3.6 Roncsolásmentes mérési módszerek

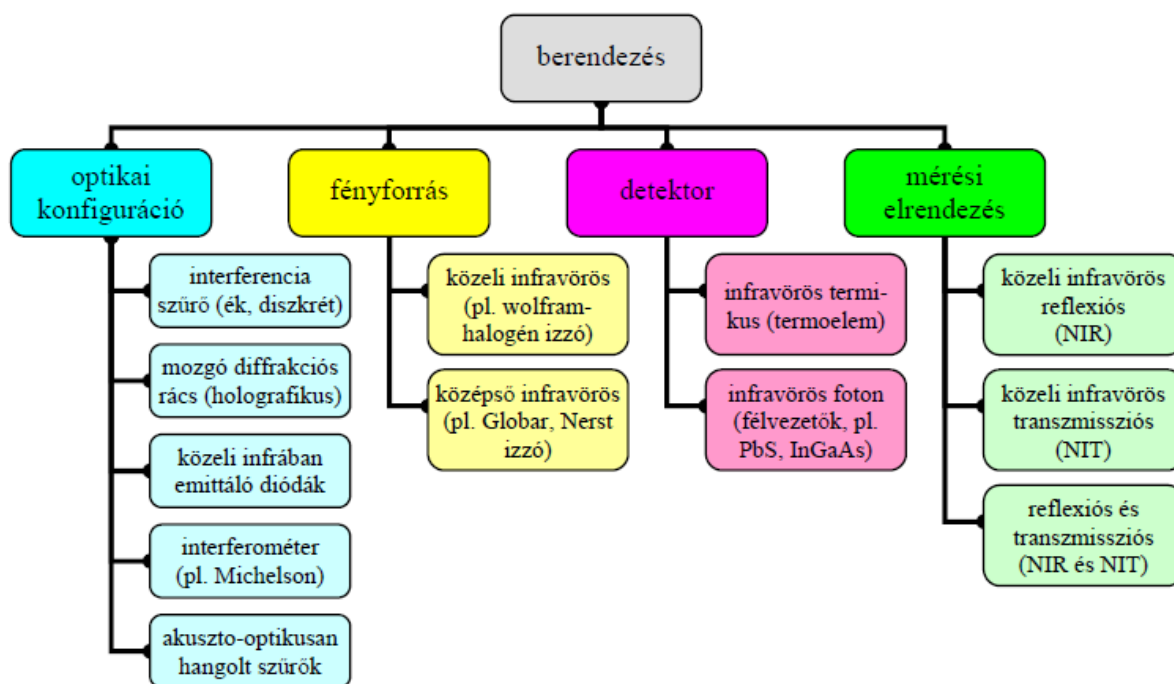
Az előző fejezetekben leírt kíméletes feldolgozási módszerek törekednek az élelmiszerek gyártása során bekövetkező nem kívánt hatások elkerülésére. A termékek minőségi paramétereinek vizsgálata a feldolgozás során elősegíti, hogy mindig minőségi élelmiszer kerüljön a boltok polcaira. Ezek a minőségellenőrzési módszerek sokszor a minták oly mértékű roncsolásával érhetők el, melyek után a vizsgált minta nem kerülhet fogyasztásra (El-Mesery et al., 2019; Martinez et al., 2003). Ezért az iparban egyre nagyobb az igény a roncsolásmentes minőség ellenőrzési eljárásokra (Abasi et al., 2018).

A roncsolásmentes mérések közé tartozik a közeli infravörös spektroszkópia, amely könnyen kezelhető, gyors, olcsó, és kevés minta is elegendő a mérésekhez. Különösen hatékony a folyamatkövetés és a minőség ellenőrzés során (Li et al., 2020; Porep et al., 2015). Nem meglepő tehát, hogy ezt a módszert számos termény esetében alkalmazták a termés tulajdonságainak változásainak nyomon követésére. Például használták a cseresznye keménységének és cukortartalmának előrejelzésére (Lü, 2001), illetve csonthéjas gyümölcsök osztályozására is, az oldható szárazanyag-tartalom alapján (Golic & Walsh, 2006). Másrésről a közeli infravörös spektroszkópia nemcsak kertészeti növények esetében hasznos, hanem a tojásfrissesség elemzésére (Lin et al., 2011), az olívaolaj minőségének értékelésére (Abu-Khalaf & Hmidat, 2020), illetve az élelmiszerhamisítás felderítésére, például joghurtokban a maniókaliszt tartalom magas hatékonyságú kimutatására (Bimpong et al., 2023). Ez a módszer lehetőséget ad egyes anyagok összetételének elemzésére is. Diaz-Olivares és munkatársai (2020) a közeli infravörös spektroszkópiát alkalmazták a tej elemzésére, hogy kiderítsék a nyers tej összetételét. Alkalmas még méz kémiai összetételének elemzésében, amely hasznos lehet a különböző virág- és földrajzi eredetű mézek azonosításában (Bodor et al., 2018). A közeli infravörös spektroszkópia alkalmas

továbbá a tojássárgája minőségének meghatározására, különösen a többszörösen telítetlen zsírsavak tartalmának elemzésére, amely fontos az omega-3-ban gazdag tojások vizsgálata során, és megfelelő módszer a különböző takarmányozási területekről származó tojássárgája minták gyors szűrésére is (Dalle Zotte et al., 2006).

3.6.1 Közeli-infravörös spektroszkópia (NIR)

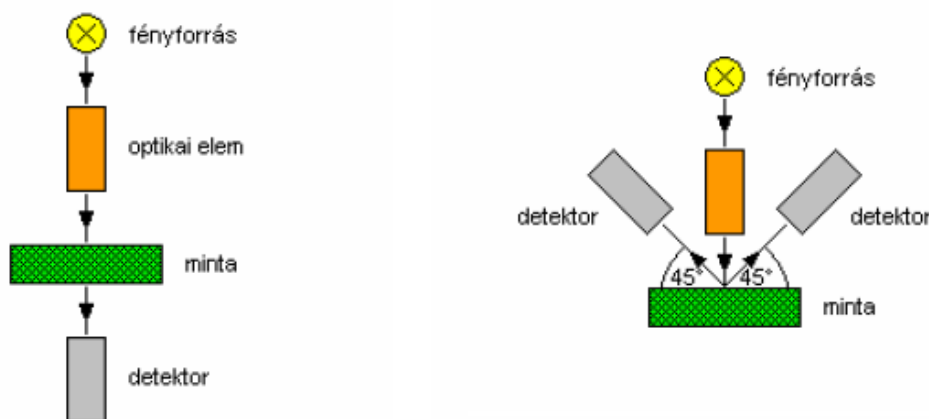
Kísérleteimben a közeli-infravörös spektroszkópiát alkalmaztam, mint roncsolásmentes mérési módszert, hogy vizsgáljam az ultrahang hatását a tojáslevek tulajdonságaira. A közeli infravörös hullámhossz tartomány 800-2500 nm közötti intervallumban helyezkedik el (Balázs és Bugyi, 2011). Ez a módszer azon alapul, hogy a minta kölcsönhatásba lép az infravörös fotonokkal. A fotonok hatására a molekulák vibrációs és rotációs energiái növekednek, miközben a fotonok egy része elnyelődik, a többi pedig áthalad a mintán vagy más úton halad tovább, például szóródik vagy elhajlik. A közeli infravörös tartományban működő eszközöket több különböző kritérium alapján lehet csoportosítani (2. ábra) (Blanco & Villarroya, 2002; Shenk et al., 2007).



2. ábra: A közeli infravörös tartományban működő berendezések csoportosítása (Balázs G. et al., 2011)

A transzmissziós mérési módszernél a fény áthalad a mintán, és jellemzően 800-1100 nm-es hullámhossztartományban alkalmazzák. Mivel az alacsonyabb hullámhosszú fény nagyobb energiával rendelkezik, képes áthatolni a mintán. Azonban, ha a minta átlátszatlan, zavaros vagy túlzottan nagy abszorpciós képességű, így a tojáslevek esetében, célszerűbb a transzmissziós

módszer helyett a reflexiós mérési elrendezést választani. Ilyen esetben a fény a minta felületére merőlegesen érkezik, majd onnan minden irányba visszaverődik (3. ábra). A reflexiós méréseket többnyire a 1100-2500 nm-es hullámhossztartományban végzik (Chang & Laird, 2002; Joffre et al., 1992).



3. ábra: Transzmissziós (bal) és a reflexiós (jobb) vizsgálat elrendezés (Balázs G. et al., 2011)

A mintákról visszaverődő fény spektruma a minta anyagának és molekuláris szerkezetének függvényében változik, mivel a különböző molekuláris kötések eltérő mértékben nyelik el a fényt. Az abszorpciós és visszaverődési spektrumok elemzése segítségével következtethetünk a különböző molekuláris csoportok, mint például a C-H, N-H és O-H kötések változására. Ezen információk alapján képet kaphatunk a minta kémiai összetételére, így a reflexiós mérések nemcsak a felületi tulajdonságokról adnak információt, hanem a molekuláris szintű összetevőkről is képet adhatnak (Mayo, D. W., Miller, F. A., Hannah, 2003).

4. Anyagok és módszerek

4.1 Tojás minták

A vizsgálatok során háromféle tojásterméket (teljes tojáslevet, tojás fehérjét és sárgáját) használtam (4. ábra), melyet a Capriovus Kft. (Szigetcsép, Dunasor, 073/72. hrsz., 2317) bocsátott rendelkezésemre.

A tojástermékek „A” osztályú, homogenizált, friss tyúktojásokból készültek. A homogenizáció tojásfehérje esetében 33db, tojássárgája esetében 63 db, teljes tojáslé esetében pedig 22 db tojás összekeverését jelenti dobozonként (Capriovus Kft., 2024), mely biztosítja, hogy a tojástermék bármely részéből vett minta tulajdonságai azonos a termék összességével.



4. ábra: A kísérlethez használt tojáslevek

A mintákat a felhasználás idejéig, előírás szerint hűtőszekrényben, 0-4°C-on tároltam a gyártói 1 literes italkartonokban. A mérések előtt a méréshez szükséges mennyiségű, azonos gyártási tételű kartonok tartalmát összeráztam és egy nagy tárolóedényben összekevertem a homogenitás biztosítása érdekében.

4.2 Alkalmazott módszerek

4.2.1 Ultrahangos berendezés

Az ultrahangos kezelések során a HBM Machines (MJ Mooedrecht, Netherlands) által gyártott 16 literes berendezést használtam (5. ábra). Az eszköz 20 kHz, illetve 40 kHz frekvenciájú, valamint 180 W és 300 W névleges teljesítményű ultrahang előállítására képes.

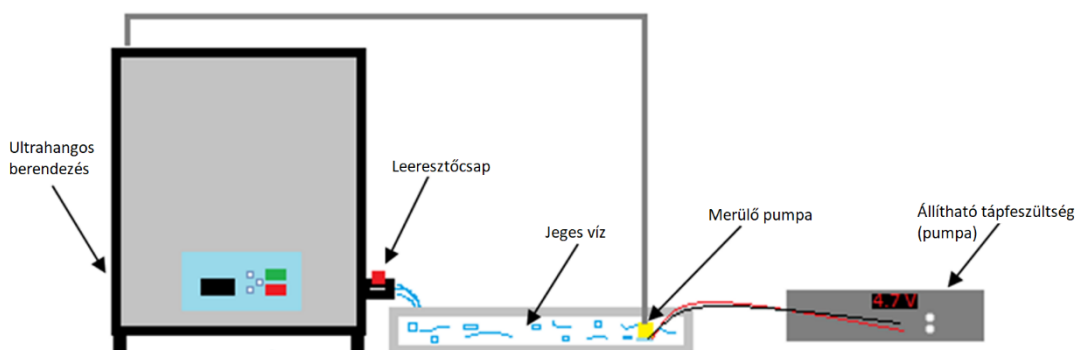
A közvetítő közeg hőmérséklete 30 perc folyamatos működés során kezdett el emelkedni, így a 30 perces, illetve az ennél hosszabb idejű kezelések esetében szükséges a hőmérséklet szabályozására kialakított rendszer alkalmazása.



5. ábra: Ultrahangos berendezés

4.2.2 Tojáslé ultrahangos kezelése

Az ultrahangos berendezést a maximum jelzésig töltöttem fel desztillált vízzel, megfelelő közeget biztosítva az ultrahang terjedéséhez. Egy külső pufferrel ellátott keringési rendszert építettem ki (6. ábra), mely a hőmérséklet szabályozást hivatott biztosítani: egy jeges vízzel töltött tartályt helyeztem az ultrahangos berendezés mellé, melyet egy merülő szivattyú segítségével keringtettem a rendszeren keresztül, ami ellensúlyozta a berendezés által generált hőmennyiséget. Ez a hűtőrendszer képes volt az egész kezelés alatt $18 \pm 2^\circ\text{C}$ hőmérsékleten tartani a közvetítő közeget és a mintatartókban levő mintákat. Az összehasonlítás érdekében a kezeletlen mintákat is ugyanolyan hőmérsékleti viszonyoknak vettem alá, mint az ultrahanggal kezelt mintákat az önálló ultrahangos mérések során.



6. ábra: Ultrahangos kezelésekhez kialakított hűtőrendszer

Mivel a berendezés névleges teljesítményének egy része hővé alakul a minták ultrahangos kezelése során, ezért a minták által elnyelt (hatásos) teljesítmény kiszámításához előzetes kísérletekre volt szükség, melyeknél desztillált vizet használtam. A mintaként szolgáló desztillált vizet 180 ml-es üvegtartályokba öntöttem, melyek közül az egyik tartály fedelén keresztül Pt100 hőmérséklet-érzékelőt helyeztem a mintába. Az elnyelt teljesítményt a minták hőmérséklet változásával követtem nyomon, így az előkísérletek során nem használtam hűtő rendszert. A hőmérséklet változásokat 180 W és 300 W névleges teljesítményen mértem, 20 kHz és 40 kHz frekvencián, 60 percig. A különböző paramétereken történő vizsgálatot 4 párhuzamos méréssel végeztem. Az érzékelővel ellátott mintatartót minden egyes alkalommal a berendezés különböző pontján helyeztem el. Az elnyelt teljesítményt (W) ezután kalorimetriásan határoztam meg az $P = m \cdot C_p \cdot \left(\frac{dT}{dt}\right)$ (1. egyenlet szerint:

$$P = m * C_p * \left(\frac{dT}{dt}\right) \quad (1)$$

ahol m a tömeg (kg), C_p (kJ kg⁻¹ K⁻¹) a desztillált víz fajhője és dT/dt a hőmérséklet változásának sebesség rátája, mely esetünkben a mintavételezési idő (30 másodperc) alatt bekövetkező hőmérséklet változást jelenti. A folyadékban elnyelt tényleges teljesítmény kiszámítása alapján 180 W névleges teljesítmény esetén $3,7 \pm 0,1$ W, valamint 300 W névleges teljesítmény esetén és $6,9 \pm 0,1$ W a hatásos (vagy elnyelt) teljesítmény értéke a frekvenciától függetlenül.

A vizsgálat további szempontja a kezelés idő és a teljesítmény együttes hatása, a dózis. A kezelés energiadózisát (J) a kezelés időtartama (s) és az elnyelt teljesítmény (W) szorzatával számoltam ki.

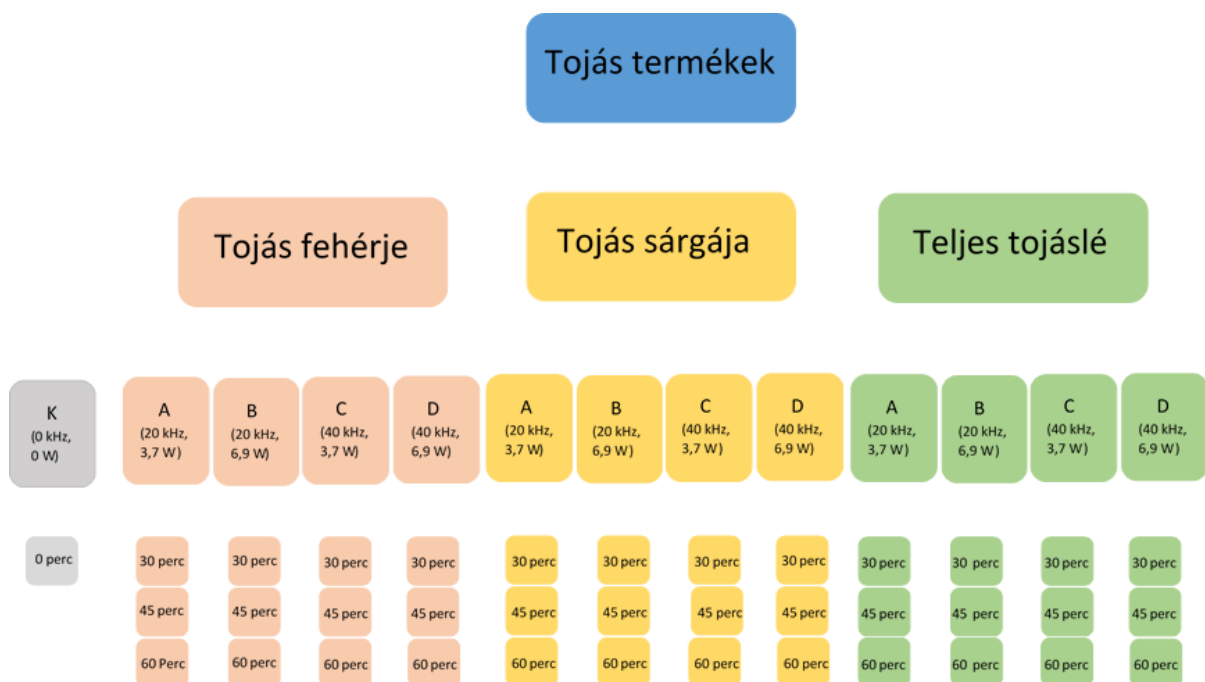
4.2.3 Tojásminták előkészítése, kezelése

A berendezés segítségével az aktív ultrahang (különböző frekvencián, teljesítményen és időtartamon) hatását vizsgáltam a tojáslé fizikai és mikrobiológiai tulajdonságaira. Az ultrahangos kezeléshez (UH), mikrobiológiai mérések esetén 180 ml mintát, homogenizálás után 200 ml-es üvegekbe öntöttem. A kezelések során ezekben a mintatartókban voltak a tojáslevek. A NIR mérésekhez 18 ml mintát hígítottam 162 ml desztillált vízzel, ezzel 10 v/v %-os emulziókat előállítva. A 10%-os hígított minták NIR spektrumait aquaphotomics szempontból is értékelhetjük, mivel az aquaphotomics esetében elterjedt módszer a víz és a minták oldatainak használata.

Az önálló ultrahangos kezelések esetében négy csoportra (A-D) osztottam fel a tojáslé mintákat az alkalmazott ultrahangos kezelési paraméterektől függően (7. ábra). Ezeket a csoportokat további három alcsoportra osztottam a kezelés időtartamától függően (30 perc, 45 perc és 60 perc). Minden kezelési csoport 3 párhuzamos mérést tartalmazott.

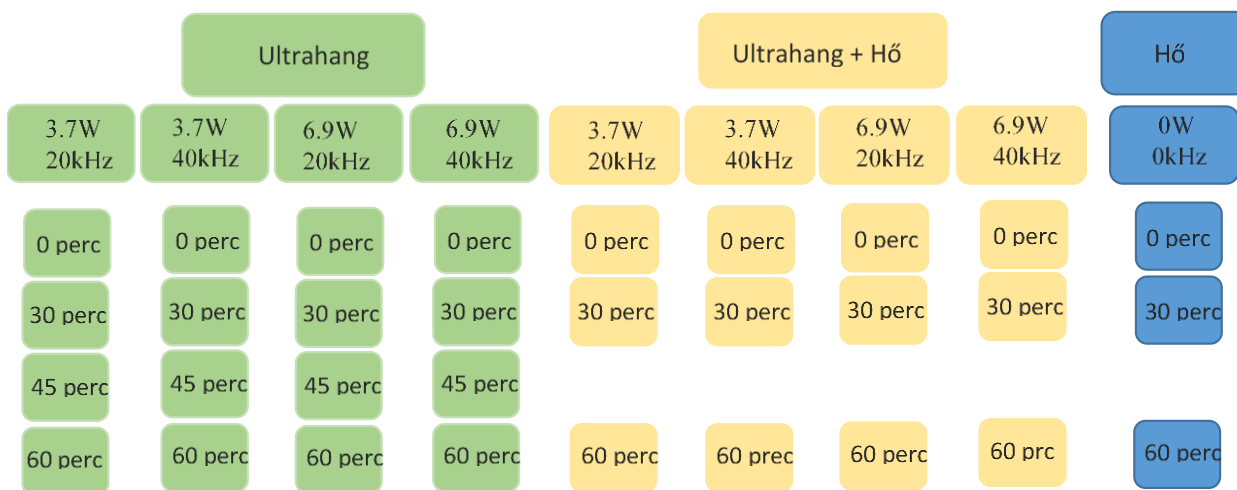
A kombinált kezelések ultrahangos paramétereit az önálló kezelések alapján állítottam be.

A kezeléseket a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem – Élelmiszeripari Méréstechnika és Automatizálás Tanszéken (1118 Bp., Villányi út 29-43) végeztem el.



7. ábra: Kezelési csoportok az önálló ultrahangos kezelések esetében

Annak érdekében, hogy elkerüljem a tojásminták mérése között eltelt idő (napok) hatását, csak a legrövidebb és a leghosszabb idejű kezeléseket végeztem el az ultrahang és a kíméletes hőkezelés során (8. ábra).

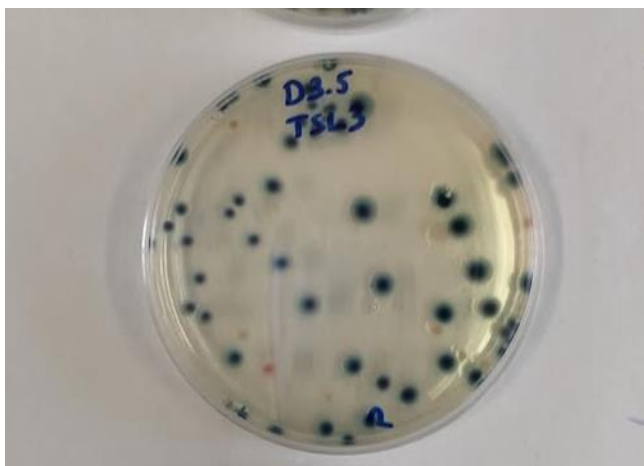


8. ábra: Kezelési csoportok a kombinált kezelések esetében

4.2.4 A minták mesterséges beoltása

A mikrobiológiai vizsgálatok elvégzéséhez 180-180 ml mintát oltottam be *Escherichia coli* baktériummal (ATCC 25922). 180 μ l $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (optikai sűrűség alapján) *E. coli*

szuszpenziót használtam az előkészített minták beoltására. Szelektív és differenciáló táptalajt (ChromoBio COLIFORM, BioLab) készítettem lemezöntéssel az *E. coli* kolóniaképző egységeinek (CFU) meghatározásához, illetve a telepek megkülönböztetéséhez más mikroorganizmusoktól. Ez az agar *E. coli* jelenlétét kék elszíneződéssel jelzi (9. ábra).



9. ábra: Szelektív agar, *E. coli* jelenlétét kék színnel jelzi

Az agart a gyártó utasításainak megfelelően készítettem el. Az ultrahangos kezelések után minden mintából hígítási sort hoztam létre, majd ezek 0,1 ml-ét szélesztettem a ChromoBio Coliform agar (BioLab, Zemun, Milana Uzelca 6/3) felületén. Az így elkészített lemezeket 37°C-on 24-48 órán keresztül inkubáltam. Mindegyik mintát három ismétlésben készítettem el és a különböző kezelési csoportokat figyelembe véve összesen 468 mintát vizsgáltam. Az elemzés során a CFU logaritmus értékét vettem figyelembe.

4.2.5 Közeli-infravörös spektrális mérések

A közeli infravörös spektrális analízist egy asztali (MetriNIR Research, Development and Service Co., Budapest, Hungary) spektrométer használatával végeztem. A transzflexiós spektrumokat 740-1700 nm hullámhossz-tartományban mértem 2 nm-es felbontással. A spektrum felvétel a METRINIR mérőszoftver v0.9.0.394 (Metrika Inc., Budapest, Magyarország) segítségével történt. Mivel a hőmérséklet nagyban befolyásolhatja a megfigyelt minták adatait, ezért döntő fontosságú volt az állandó hőmérséklet fenntartása. Ennek biztosítására vízűtéses küvetát használtam, amelynél a minta rétegvastagsága 0,4 mm. A NIR méréseknél a 10 V/V%-os minták kerültek vizsgálatra. A mintákból három párhuzamost készítettem és véletlenszerű sorrendben mértem meg négy, egymást követő spektrum készítésével, 18 ° C-on az önálló ultrahangos kezelések során,

illetve 55°C a kombinált kezeléseknél. Összesen 540 minta mérését végeztem el, melyekből egyenként négy spektrumot rögzítettem (2160 spektrum), az önálló ultrahangos kezelések esetében, míg a kombinált kezeléseknél összesen több, mint 700 mintát, azaz több, mint 2500 spektrumot vizsgáltam meg.

4.2.6 Adatelemzési módszerek

Annak megállapítására, hogy az ultrahangos és kombinált kezelés időtartama és beállításai jelentősen befolyásolják-e a mikrobiológiai tulajdonságokat, kéttényezős varianciaanalízist (ANOVA) alkalmaztam Tukey-HSD és Games-Howell post hoc eljárásokkal, $p < 0,05$ szignifikancia szinten. A szórások homogenitását Levene teszttel vizsgáltam meg. Lineáris regressziós módszert alkalmaztam az összefüggések elemzésére a kezelés energiadózisa és az *E. coli* log CFU/ml változásai között.

A NIR adatelemzés során az első lépés a nyers spektrális adatok vizualizálása, a kiugró értékek meghatározása érdekében, valamint annak eldöntése, hogy melyik előkezelési módszer szükséges a kutatás szempontjából releváns információk kinyeréséhez. Az adatok simításához Savitzky-Golay szűrőt (másodrendű polinommal, 21 adatponttal) alkalmaztam, majd az alapvonal korrekciójához az ún. Multiplicative Scatter Correction (MSC) módszert használtam. A minták NIR spektrumának eredményeit főkomponens analízissel (PCA) értékeltem. A PCA segítségével nagy mennyiségű adatot lehet néhány új változóra vetíteni, amelyek tartalmazzák az adatokban rejlő változékonyság nagy részét. A spektrumok zajának csökkentése érdekében a 950-1650 nm hullámhossztartományt vettem figyelembe. A folyékony tojástermékekre külön modelleket építettem minden kezelési beállításhoz, így a vizsgálatok 12 modellben összegezhetők, melyeknél a független változóként a kezelési időt, a frekvenciát, a teljesítményt és a dózist vettem alapul, függő változó pedig a telepkepző mikrobaszám logaritmikusan vett értéke volt.

A PCA értékek felhasználásával lineáris diszkriminancia analízist (LDA) végeztem, hogy megtaláljam a tojások paramétereinek lineáris kombinációját, amelyek jellemezhetik a minták szerkezeti változásait ultrahangos kezelés során. Az osztályváltozók az egyes folyékony tojástermékek különböző kezelési beállításainak időtartamát jelentették (hasonlóan a PCA-hoz), így 12 modellt kaptam. A modell felépítéséhez a teljes adatkészlet kétharmadát használtam fel, valamint a predikciós modell pontosságát háromszoros kereszt-validációval végeztem.

Tsenkova (2009) kutatásai alapján az 1300 és 1600 nm közötti spektrumtartomány tartalmazza a fő 12 vízmátrix abszorpciós koordinátát (WAMACs - Water Matrix Coordinates), melyeket adatok

elemzéséhez fel tudunk használni. Adatkészletünk spektrális mintájának vizualizálására ún. aquagram-okat alkalmaztam. A klasszikus aquagram egy sugárdiagram, amely a kiválasztott vízsávok normalizált abszorbanciáját mutatja.

A sugár tengely az „aktivizált” hullámhosszok abszorbanciájának normalizált értéke (2. egyenlet):

$$A'_\lambda = (A_\lambda - \mu_\lambda) / \sigma_\lambda \quad (2)$$

Ahol A'_λ – normalizált abszorbancia, A_λ – a többszörös szóródási korrekció (MSC) utáni abszorbancia, μ_λ - az összes spektrum átlaga a vizsgált mintacsoportból a transzformáció után, σ_λ - az összes spektrum szórása a vizsgált mintacsoportban a transzformáció után.

A mikrobiológiai adatok elemzését SPSS Statistics 25 (IBM, Armonk, New York, Amerikai Egyesült Államok) és a Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, Washington, Amerikai Egyesült Államok) segítségével, a NIR spektrumelemzést pedig az RStudio 1.1.463 (RStudio Inc, Boston, Massachusetts, Amerikai Egyesült Államok) „aquap2” csomag alkalmazásával végeztem.

4.2.7 Tojásfehérje habképzési, habtartóssági vizsgálatok

A tojás hab tulajdonságainak értékeléséhez a habképző képességet és a habstabilitást mértem. A tojásfehérje-mintákat 150 ml-es főzőpoharakba öntöttem, automata pipettával (30 ml). Ezután a mintákat a főzőpohárban kézi mixerrel (Bosh MFQ36400, 450 W) a legmagasabb fordulatszámon (~1300 rpm), szobahőmérsékleten (24°C) 5 percig felvertem. A habosítás után a propellert azonnal eltávolítottam a főzőpohárból, és megmértem a hab magasságát. A hab térfogatát a 3. egyenlet alapján számoltam ki:

$$V = \pi * r^2 * h \quad (3)$$

, ahol V [ml] a hab térfogata, r [cm] a főzőpohár sugara és h [cm] a hab magassága.

A hab stabilitásának meghatározásához a főzőpohárhoz egy üvegtölcsért erősítettem, majd fejjel lefelé fordítottam (10. ábra), hogy a statikus nedvességet (vagyis az esetlegesen át nem alakult tojásfehérje lé) leválasszam. 1 óra elteltével megmértem a visszalakult tojásfehérje tömegét. A minták tömegét 0,01 g-os pontosságú digitális mérleggel (Radwag, WLC 2/2a) mértem. A méréseket csoportonként 3 mintán keresztül végeztem el.



10. ábra.: Habtartósság meghatározása

Az egyes kezelési paraméterek habképző képességre és habstabilitásra gyakorolt hatásának értékelésére az ANOVA teszt az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer. A megfigyelt adatok nem normális eloszlása esetén, nem paraméteres teszt elvégzése szükséges a vizsgálathoz. Alternatívaként a Kruskal-Wallis-teszt egy nem parametrikus teszt, amely akkor használható, ha az adatok nem normális eloszlásúak. E teszt nullhipotézise az, hogy a vizsgált csoportok mediánja megegyezik. Más szóval, azt lehet vizsgálni, hogy van-e különbség az egyes összehasonlított csoportokba tartozó populációk mediánjai között. Amennyiben a Kruskal-Wallis-teszt szignifikáns hatást eredményez az egyes utlahangos paraméterek szempontjából, az egyes szintek közötti összehasonlítást Dunn tesztel (Bonferroni korrekcióval) vizsgálom tovább.

A statisztikai elemzést az SPSS statistics 25 (IBM, Armonk, New York, Amerikai Egyesült Államok) segítségével végeztem.

5. Eredmények

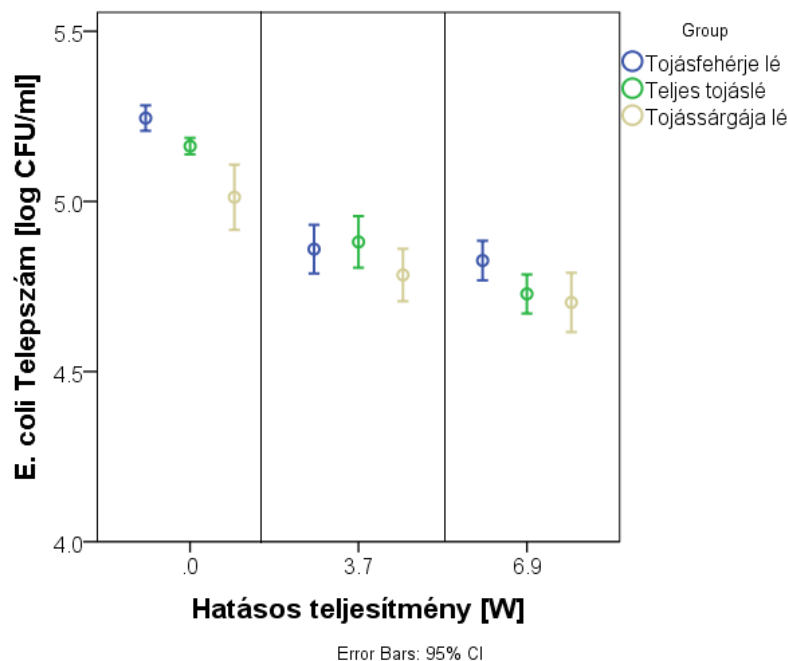
5.1 Ultrahang, mint önálló kezelés

Első kísérlet sorozatomban az ultrahangos kezelés, mint önálló módszer, hatását vizsgáltam *E. coli* (ATCC 25922) baktériumokkal fertőzött tojásleveken. Célom az volt, hogy megállapítsam az ultrahangos kezelés hatékonyságát a baktériumok elleni harcban, valamint annak potenciális alkalmazhatóságát a tojáslevek fertőtlenítésében és biztonságossá tételében. Az eredmények bemutatását a mikrobiológiai vizsgálatok kiértékelésével kezdem.

5.1.1 Mikrobiológiai vizsgálatok

Az eredmények kiértékelésekor az ultrahang több paraméterének függvényében vizsgáltam meg a mikrobaszám változást.

A hatásos teljesítmény vizsgálata (11. ábra) során két kezelési szintet (3,7 W és 6,9 W) különböztethetünk meg a kontroll mellett. A kezelés hatására a mikrobaszám csökkenése figyelehető meg.



11. ábra: Telepképző baktériumszám logaritmus értékek (log CFU/ml) változása az ultrahangos kezelés hatásos teljesítményének függvényében

Az adatok Shapiro-Wilk vizsgálata normál eloszlású adathalmazt mutatnak, valamint a Bartlett teszt alapján a homogenitás feltétele is teljesül minden vizsgált csoportban, így a csoportok közötti különbségek szignifikanciáját ($p < 0.05$) Tukey teszt segítségével végeztem. A Tukey teszt alapján több esetben is szignifikáns különbség mutatkozott a mikrobaszámokat tekintve (2. táblázat).

A teljes tojáslé és a tojásfehérje esetében szignifikáns különbség volt a kontroll és (mindkét hatásos teljesítmény esetében) a kezelt minták között, míg a tojássárgája esetében csak a 6,9 W-on kezelt minták különülnek el szignifikánsan a kezeletlen mintáktól. A kezelési szintek között is kimutatható szignifikáns különbség a teljes tojáslé esetében. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az ultrahang a hatásos teljesítmény jelentős hatással van a mikrobaszámra, minden tojástermék esetében.

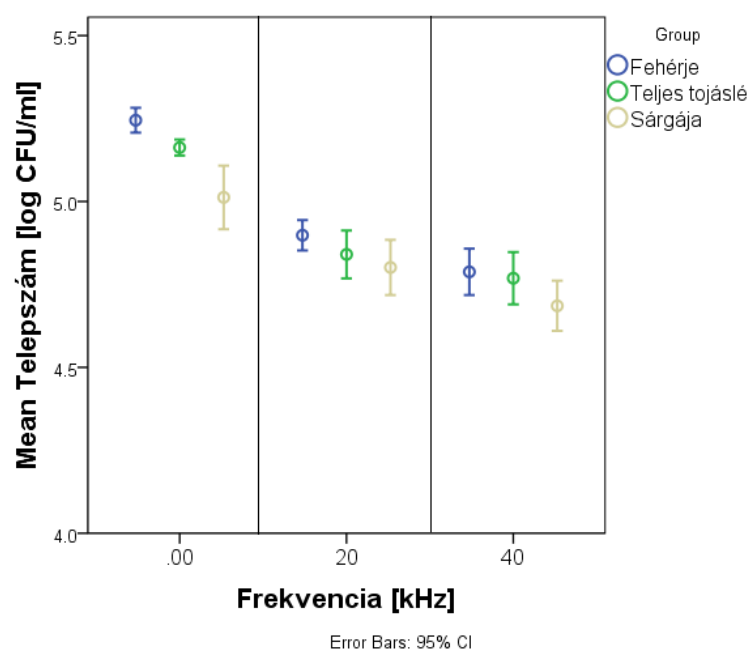
2. táblázat: Hatásos teljesítmény (Tukey teszt) szignifikancia szintje a mikrobaszám függvényében

Teljes tojáslé			
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	3,7 W	6,9 W
Kontroll	-		
3,7 W	0,004*	-	
6,9 W	3,78e-05*	0,0138*	-
Tojásfehérje lé			
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	3,7 W	6,9 W
Kontroll	-		
3,7 W	5,434e-05*	-	
6,9 W	1,534e-05*	0,72	-
Tojássárgája lé			
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	3,7 W	6,9 W
Kontroll	-		
3,7 W	0,0599	-	
6,9 W	0,0205*	0,667	-

*Szignifikáns különbség ($p < 0.05$)

Az ultrahang frekvenciájának hatását az *E. coli*-ra a 12. ábra

mutatja. A frekvencia esetében is 2 kezelési szintet különböztetünk meg; 20 kHz és 40 kHz.



12. ábra: :: Telepképző baktériumszám logaritmus értéke (log CFU/ml) változása az ultrahangos kezelés frekvenciájának függvényében

Teljes tojásle és tojásfehérje esetében szignifikáns különbséget tapasztaltam mindkét frekvencia esetében a kezelt és a kezeletlen minták között (3. táblázat), míg a tojássárgája kezelése csak 40 kHz-en mutatott szignifikáns különbséget a kontrollhoz képest.

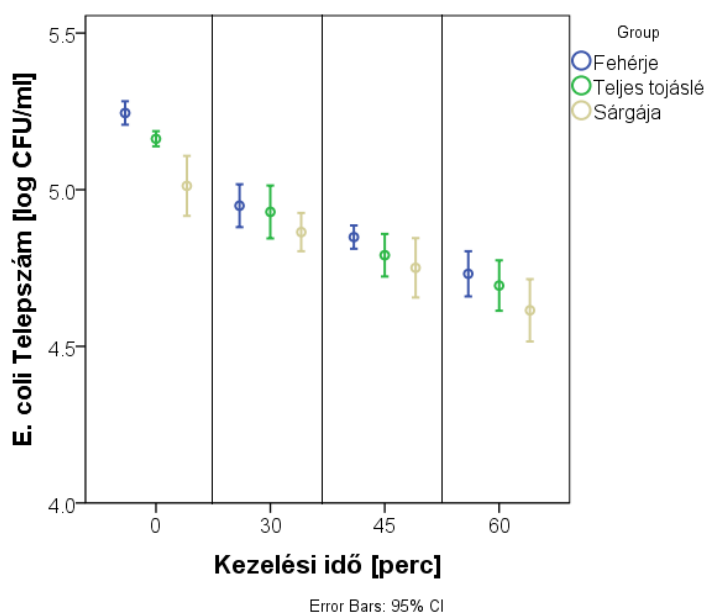
3. táblázat: Frekvencia (Tukey teszt) szignifikancia szintje a mikrobaszám függvényében

Teljes tojásle			
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	20 kHz	40 kHz
Kontroll	-		
20 kHz	0,0038*	-	
40 kHz	0,0001*	0,1149	-
Tojásfehérje le			
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	20 kHz	40 kHz
Kontroll	-		
20 kHz	6,009e-05*	-	
40 kHz	4,295e-07*	0,0125*	-
Tojássárgája le			
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	20 kHz	40 kHz
Kontroll	-		
20 kHz	0,1056	-	
40 kHz	0,0032*	0,0271*	-

*Szignifikáns különbség (p<0.05)

A két frekvencia szintet összehasonlítva az látható, hogy tojássfehérje és tojássárgája lé esetében a 40 kHz frekvenciaszinten kezelt mintáknál szignifikánsan kisebb a mért mikrobaszám, mint a 20 kHz-en kezelt minták esetében.

A kezelési idő hatását összesen négy szinten vizsgáltam: 0 perc, 30 perc, 45 perc és 60 perc. (13. ábra). Az ábrán, a kezelési idő növekedésével monoton csökkenés figyelhető meg az *E. coli* számban minden tojáslé esetében.



13. ábra: Telepképző baktériumszám logaritmus értéke (log CFU/ml) változása az ultrahangos kezelés kezelési idejének függvényében

A Tukey teszt teljes tojáslé és tojásfehérje lé esetében már 30 perces kezelést követően szignifikáns különbséget mutat a kezeletlen mintákhoz képest (4. táblázat). A tojássárgája esetében csak a 45 perc időtartamú kezelése után volt mérhető szignifikáns különbség a kontroll mintákhoz képest. A 30 perces kezelések 95 %-os szignifikancia szinten különböznek a 45 és 60 perces kezelésektől a tojásfehérje lé és teljes tojáslé esetében. A tojássárgája esetében viszont csak a 30 és 60 perces kezelések között mutatkozik szignifikáns különbség. A 45 és a 60 perces kezelések esetében csak a tojásfehérjénél tapasztaltam szignifikáns különbséget.

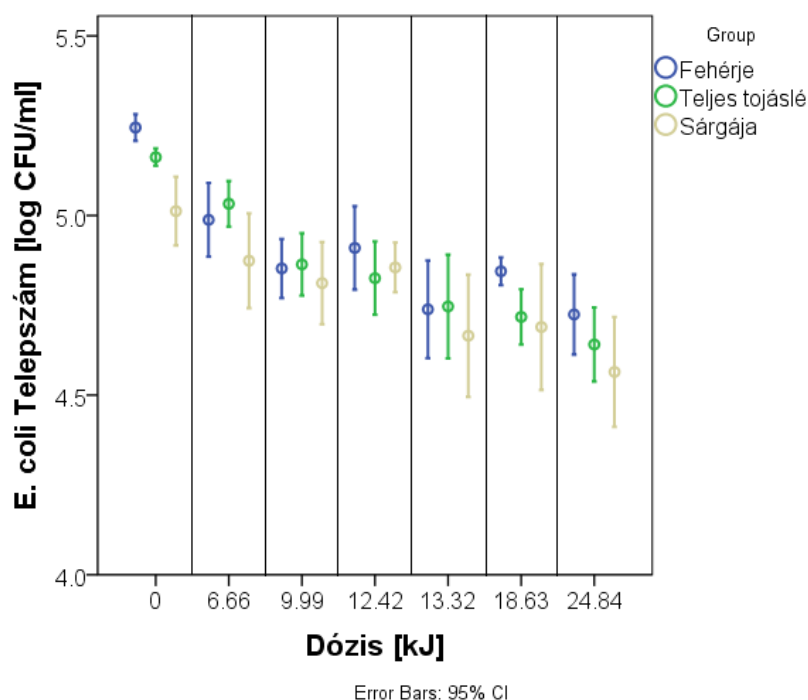
4. táblázat: Kezelési idő (Tukey teszt) szignifikancia szintje a mikrobaszám függvényében

Teljes tojáslé				
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	30 perc	45 perc	60 perc
Kontroll	-			
30 perc	0,027*	-		
45 perc	3,847e-05*	4,121e-03*	-	
60 perc	5,477e-06*	2,209e-04*	0,7382	-
Tojásfehérje lé				
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	30 perc	45 perc	60 perc
Kontroll	-			
30 perc	9,928e-05*	-		
45 perc	4,653e-07*	0,038*	-	
60 perc	2,062e-09*	8,750e-06*	0,027*	-
Tojássárgája lé				
Szignifikancia (p – érték)	Kontroll	30 perc	45 perc	60 perc
Kontroll	-			
30 perc	0,4124	-		
45 perc	0,0129*	0,0532	-	
60 perc	9,314e-04*	9,973e-04*	0,438	-

*Szignifikáns különbség (p<0.05)

Az egyes paramétereket vizsgálva elmondható, hogy szignifikáns hatással van a tojáslevek *E. coli* telepképző mikrobaszám változására mind az ultrahang hatásos teljesítménye, mind a frekvenciája és kezelési ideje.

A kezelés dózisait vizsgálva már a hatásos teljesítmény és a kezelési idő együttes hatását vizsgáljuk meg. A 14. ábra látható, hogy a kezelés dózisének növekedésével, ha nem is monoton, de csökkenő mikrobaszám változás következik be mindhárom tojáslé esetében.



14. ábra: Telepképző baktériumszám logaritmusos értékének (log CFU/ml) változása az ultrahangos kezelés dózisének függvényében

A dózisok esetében 6 szintet vizsgáltam meg a kontrollon kívül (6,66 kJ; 9,99 kJ; 12,42 kJ; 13,32 kJ; 18,63 kJ; 24,84 kJ), melyeknek szignifikancia szintjeit a 5. táblázat tartalmazza. Szignifikáns különbségeket tapasztaltam a dózis növelésével a kezelt és kezeletlen minták között mindhárom tojáslé esetében. A tojásfehérje esetében már 6,66 kJ dózisú kezeléstől szignifikáns különbséget tapasztaltam. Teljes tojáslé esetében szignifikáns különbség a kontrollhoz képest a 9,99 kJ dózistól volt mérhető, míg a tojássárgája minták esetében szignifikáns különbség eléréséhez minimum 18,63 kJ dózisú kezelésre volt szükség.

A tojássárgája minták csak 18,63 kJ és 24,84 kJ dózisú kezelés esetében mutatott szignifikáns különbséget a kezeletlen mintákhoz képest.

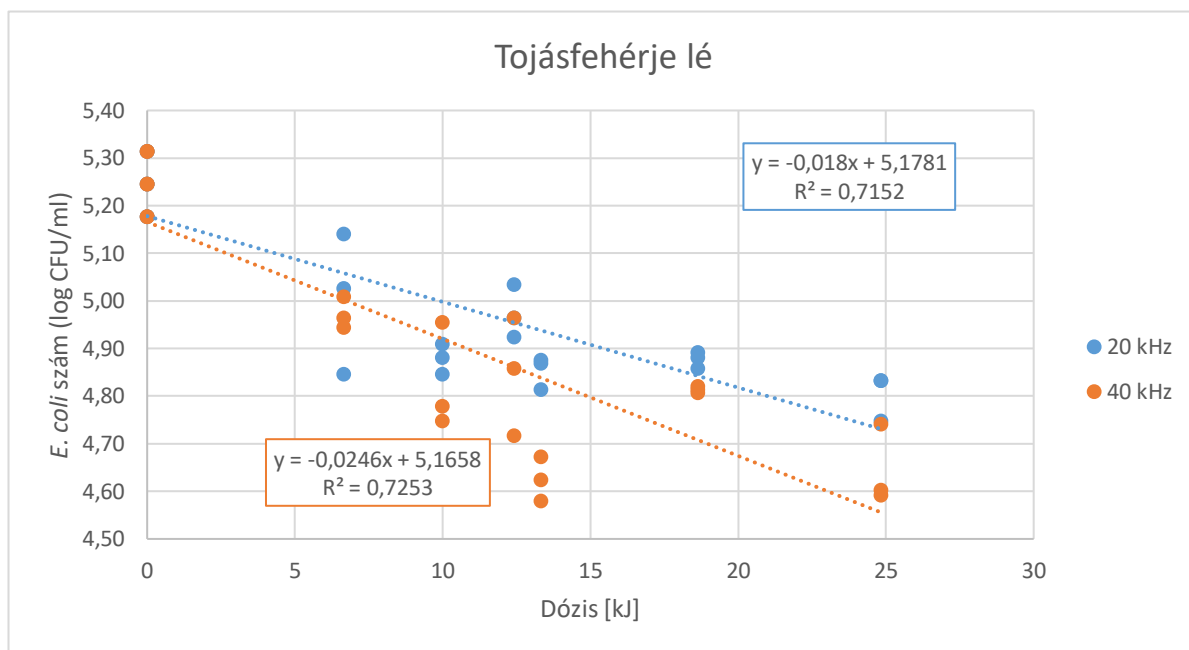
5. táblázat: Dózis (Tukey teszt) szignifikancia szintje a mikrobaszám függvényében

Teljes tojáslé							
p érték	0 kJ	6,66 kJ	9,99 kJ	12,42 kJ	13,32 kJ	18,63 kJ	24,84 kJ
0 kJ	-						
6,66 kJ	0,5443	-					
9,99 kJ	2,85e-04*	5,82e-03*	-				
12,42 kJ	8,14e-04*	0,019*	0,992	-			
13,32 kJ	3,53e-05*	4,93e-05*	0,971	0,824	-		
18,63 kJ	3,85e-06*	3,25e-05*	0,529	0,275	0,961	-	
24,84 kJ	5,47e-07*	2,86e-06*	0,131	0,049*	0,554	0,977	-
Tojásfehérje lé							
p érték	0 kJ	6,66 kJ	9,99 kJ	12,42 kJ	13,32 kJ	18,63 kJ	24,84 kJ
0 kJ	-						
6,66 kJ	7,73e-03*	-					
9,99 kJ	1,79e-05*	0,146	-				
12,42 kJ	2,92e-04*	0,769	0,891	-			
13,32 kJ	1,90e-07*	0,119	0,443	0,85	-		
18,63 kJ	1,42e-05*	1,03e-03*	4,59e-02*	0,999	0,503	-	
24,84 kJ	1,06e-07*	4,89e-04*	2,42e-02*	0,299	0,999	0,348	-
Tojássárgája lé							
p érték	0 kJ	6,66 kJ	9,99 kJ	12,42 kJ	13,32 kJ	18,63 kJ	24,84 kJ
0 kJ	-						
6,66 kJ	0,843	-					
9,99 kJ	0,117	0,575	-				
12,42 kJ	0,751	0,999	0,710	-			
13,32 kJ	0,061	0,354	0,994	0,321	-		
18,63 kJ	0,036*	0,222	0,479	0,999	0,999	-	
24,84 kJ	0,003*	0,017*	0,029*	0,544	0,900	0,770	-

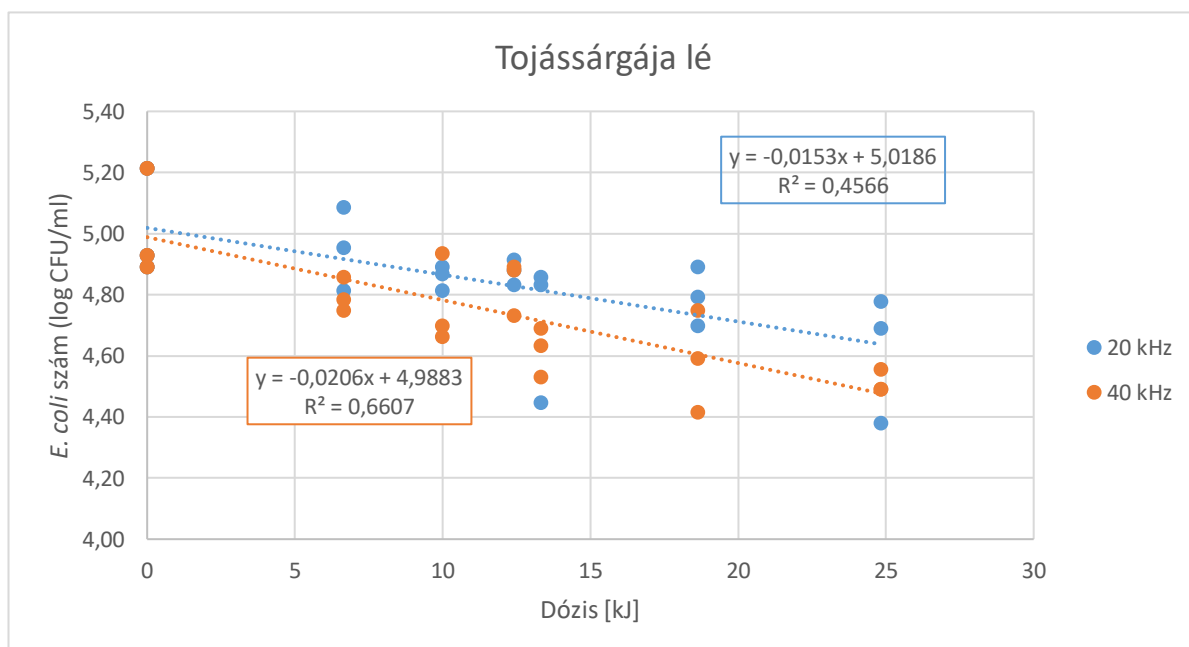
*Szignifikáns különbség (p<0.05)

A 14. ábra látható változásokat tovább vizsgáltam a dózis függvényében, mely során *E. coli* mikrobaszám csökkenést tapasztaltam mindhárom tojástermék esetében. A telepszám csökkenést 20 és 40 kHz frekvencián külön-külön vizsgáltam (15. ábra).

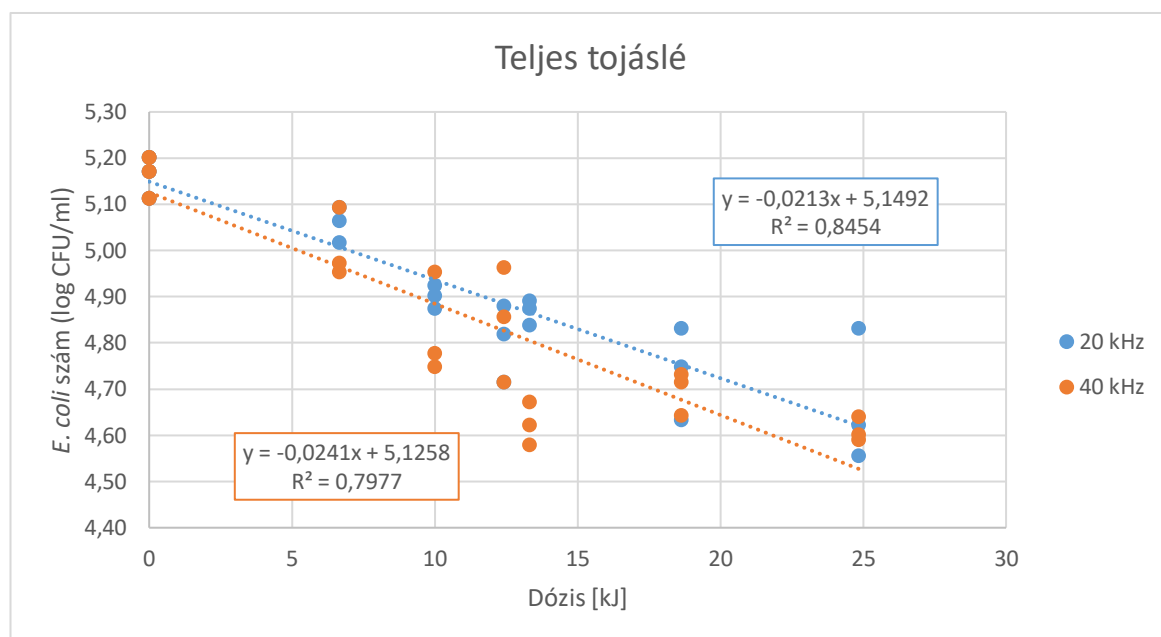
a.) Tojsáfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé



15. ábra: A log CFU/mL (y) lineáris regressziója a kezelés dózisének függvényében (x) külön-külön 20 kHz és 40 kHz esetén; a - tojásfehérje lé, b - tojássárgája lé, c - teljes tojáslé

Negatív (Tukey teszt alapján szignifikáns) korrelációt figyelhetünk meg az ultrahangos kezelések energia dózisa és az *E. coli* log CFU/ml értékei között. A modellek paramétereit a 6. táblázatban foglaltam össze:

6. táblázat: *E. coli* csökkenését (dózis függvényében) leíró lineáris egyenlet paramétereit

Csoport	Frekvencia	Merekség	F érték	R ² érték
Tojásfehérje	20 kHz	-0.018	55,23	0,7152
Tojásfehérje	40 kHz	-0.0246	58,09	0,7253
Tojássárgája	20 kHz	-0.0153	18,49	0,4566
Tojássárgája	40 kHz	-0.0206	42,84	0,6607
Teljes tojáslé	20 kHz	-0.0213	120,33	0,8454
Teljes tojáslé	40 kHz	-0.0241	86,76	0,7977

A 6. táblázatban szereplő paraméterek csak közepesen erős korrelációt mutatnak az egyes esetekben -köszönhetően a mikrobiológiai mérési eredmények jelentős szórásának- azonban minden vizsgálat esetben lineáris kapcsolat található a kezelések dózisa és az *E. coli* pusztulása között. A legmagasabb energia dózison (24,84 kJ) történő kezelések hatására a tojásfehérje

esetében 0,5 log CFU/ml, a tojássárgája esetében 0,7 log CFU/ml és a teljes tojáslé esetében 0,5 log CFU/ml csökkenést értem el az ultrahangos kezeléssel. Ebben az esetben, bár nem találtam szignifikáns különbséget az alkalmazott frekvenciák között, azt tapasztaltam, hogy a 20 kHz-en végzett kezelések szisztematikusan kevésbé voltak hatékonyak a sejtszám csökkentésére, mint a 40 kHz-es kezelések, ami a modellek meredekségéből mutatkozik meg.

Az ultrahangos kezelés paramétereinek hatásvizsgálata alapján kijelenthetjük, hogy mind a kezelési frekvencia, a hatásos teljesítmény és a kezelési idő szignifikáns hatással van a tojástermékek mikrobaszámának változására. A kezelt csoportok esetében az *E. coli* telepképző sejtjeinek csökkenése volt kimutatható a tojáslémintákban. A legnagyobb csökkenést 60 perces kezelésnél értem el, melynél 6,9 W teljesítményű és 40 kHz frekvenciájú ultrahanggal kezeltem a mintákat. Teljes tojáslé és tojásfehérje esetében 0,5 log CFU/ml, tojássárgája esetében pedig 0,7 log CFU/ml értékű volt az *E. coli* telepképző sejtjeinek csökkenése a kezelés hatására. A kapott adatok azt mutatták, hogy a kontroll csoport minden esetben szignifikánsan eltért a kezelt mintáktól. Ez azt jelenti, hogy az ultrahangos kezelés (az alkalmazott beállításokkal) önmagában ugyan enyhe, de szignifikáns hatással volt a tojáslé termékekbe oltott *E. coli* túlélésére.

Továbbá arra következtethetünk, hogy az ennyi ideig, ilyen beállítások mellett végzett ultrahangos kezelés önmagában nem elegendő a baktériumok számának elfogadható mennyiségének csökkentésére, különösen azért, mert az alkalmazott teljesítmény szintje alacsony volt.

A vizsgálatok eredményei alátámasztják a korábban Sesal és munkatársai (2014) által publikált eredményeket, ahol szintén szignifikáns (közel 2 log CFU/ml) változást értek el ultrahangos kezelés hatására, esetükben sokszoros teljesítményű ultrahangos kezelés hatására, mely viszont nagymértékben befolyásolhatja a tojáslevelekben található fehérjék szerkezetét (Corzo-Martínez et al., 2017).

Az európai szabályzat szerint (EUR-Lex, 2020) a tojástermékekben található *E. coli* baktérium elfogadható mennyisége 1-2 log CFU/ml között lehet. Ezt a szintet ezekkel a kísérleti beállításokkal ugyan nem tudtuk elérni, viszont a lineáris modelleket kiterjesztve (feltételezve a linearitás megmaradását), egy hétszer nagyobb dózisú ultrahangos kezelés már képes lehetne az 5 log CFU/ml kezdeti értéket megfelelő mértékben csökkenteni, bár az eredmények szórása is növekedne.

A kutatás során a kísérleti felépítésben alkalmazott szakaszos üzemű technológia helyett folytonos technológiát alkalmazva az iparban sokkal hatékonyabb eredményeket lehetne elérni, csökkentve a kezelés időtartamát és feltehetőleg a szükséges energia befektetést.

Korábbi publikációk (Benedito et al. 2015; Costello et al. 2021; Piyasena et al., 2003) arról számolnak be, hogy az ultrahang, mint kiegészítő kezelés óriási potenciállal rendelkezik a mikroorganizmusok inaktiválására, melyeket a jelen kutatás is alátámaszt.

5.1.2 Közeli-infravörös spektrumanalízis eredményei

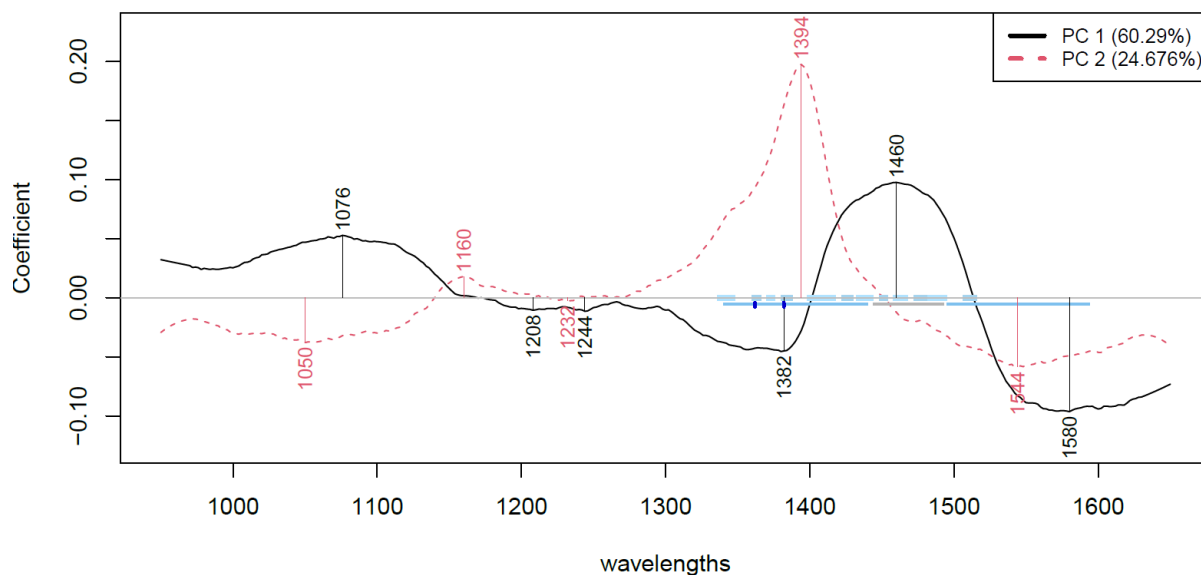
A különböző tojáslevelekben az ultrahangos kezelésének hatására bekövetkező változásokat közeli infravörös (NIR) spektroszkópiai méréssel vizsgáltam. A spektroszkópiai mérések gyakran tartalmaznak zajt, amely torzíthatja az adatokat és nehezítheti az értelmezésüket. Savitzky-Golay szűrőt alkalmaztam a spektroszkópiai adatokon a zaj csökkentése és simítás érdekében, mely anélkül csökkentette a zajt, hogy elveszítettük volna az adatokban rejlő valódi jellemzőket (Schafer, 2011). Gyakran előfordul az is, hogy a mérési jel összetéveszthető a nem kívánt szóródással (scatter), melyet a mintában levő olyan részecskék vagy struktúrák okozhatnak, amelyek a bejövő sugárzást különböző irányokba szórják. Továbbá okozhatja a mérési környezetben jelen lévő optikai vagy mechanikai rezonanciák, vibrációk. A Multiplicative Scatter Correction (MSC) módszer ezeket a nem kívánt hatásokat korrigálja anélkül, hogy elveszítené a minták valódi spektrális jellemzőit (Mou et al., 2014; Naes et al., 1990).

A mintánként 700 dimenziószámú (hullámhossz) spektrális adatok kezelése általában bonyolulttá és időigényessé teszi az analízist, valamint megnehezíti az adatok közötti mintázatok vagy kapcsolatok felismerését. Főkomponens analízis (PCA) segítségével csökkenthető az adatok dimenziószáma, miközben megőrződnek az adatokban rejlő fontos információk és struktúrák. Ezáltal egyszerűsödik az adatok kezelése és értelmezése, valamint könnyebben feltárhatók az adatok közötti mintázatok és kapcsolatok, ideértve a kezelés hatásait is (Kurita, 2019; Toscano et al., 2017).

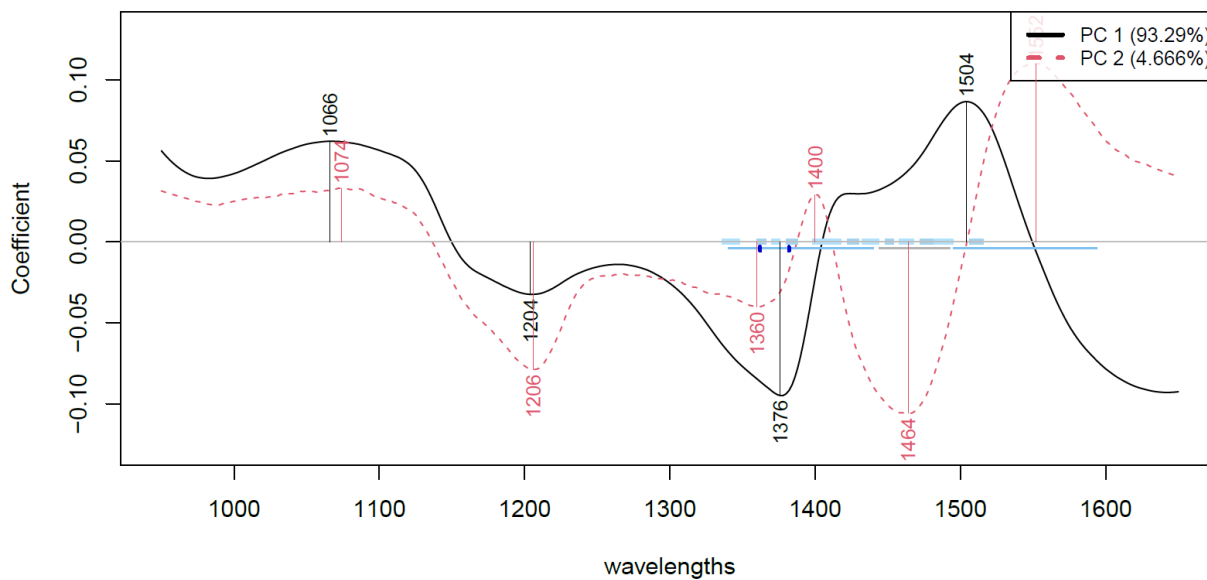
Ezért a tojásminták kapott NIR-spektrumát első lépésként főkomponens analízissel vizsgáltam. A mért spektrumok felhasználásával épített PCA-modellek azt mutatják, hogy az első két főkomponens a szórásokat tojásfehérje esetében 85%-ban, tojássárgája, illetve teljes tojáslé esetében 98%-ban (16. ábra) magyarázza. A 16. ábra az egyes hullámhosszok (x-tengely) koefficiens értékei (y-tengely) láthatók. A koefficiensok vagy terhelések (loadings) azt mutatják meg, hogy az eredeti változók milyen mértékben járulnak hozzá az új komponensekhez. Ezek a koefficiensok a sajátvektorok (eigenvektor) elemei, és tükrözik az eredeti változók és az új komponensek közötti korrelációt, mely lehet negatív vagy pozitív. A közel nulla abszolút értékek azt jelzik, hogy egy változó kevésbé járul hozzá a komponenshez, míg nagyobb abszolút értékek

azt jelzik, hogy a változók nagyobb mértékben járulnak hozzá a komponenshez (Dien et al., 2005; Wold et al., 1987).

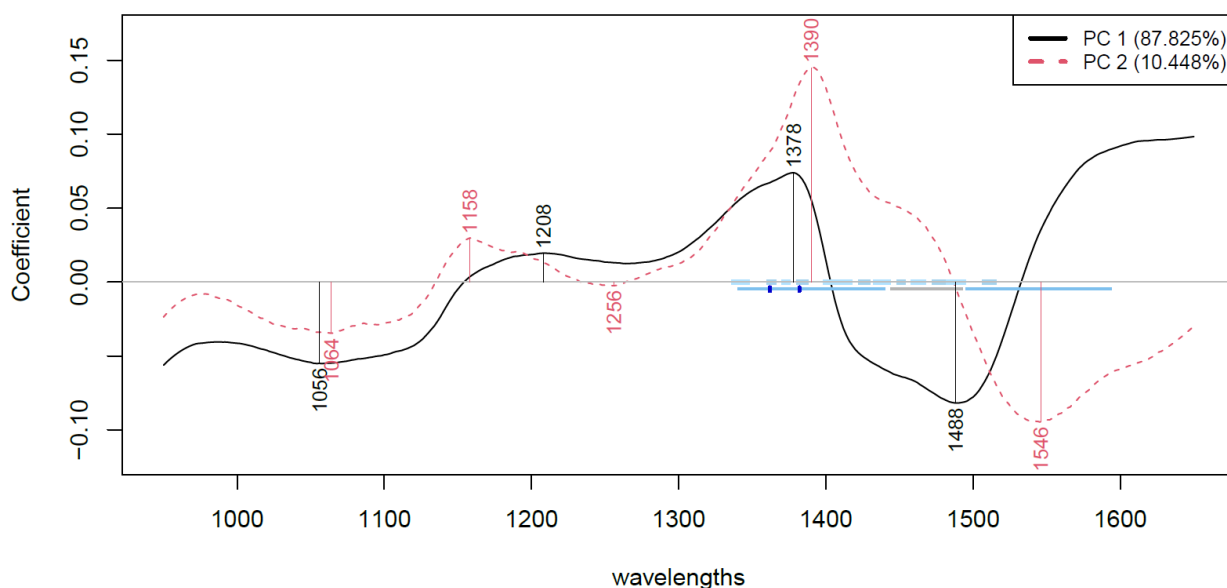
a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé



16. ábra: A PC1 és PC2 főkomponens kialakulásához hozzájáruló hullámhosszok, tojástermekként (a. – tojásfehérje lé, b. – tojássárgája lé, c. – teljes tojáslé)

Az 7. táblázat foglaltam össze a csoportonkénti hullámhosszokat mindhárom tojáslé esetében az alkalmazott kezelések függvényében. Mayo (2003), Muncan (2019), Szigedi (2014), Tsenkova (2009) kutatásai alapján a hullámhosszok különböző molekula csoportokhoz köthetők.

A C-N vegyértékrezgésekhez tartozó sávok primer aminoknál közepesen erősek és 1040 - 1080 nm hullámhossznál találhatóak, míg a szekunder aminok abszorpciós sávjai 1140 és 1180 nm körül vannak. Az N-H deformációs rezgésekhez tartozó sávok primer aminoknál ($-NH_2$) erősek és 1590 - 1650 nm tartományban találhatóak, valamint a szekunder aminok ($-NH$) közepesen erősek és abszorpciós sávjai 1550 – 1650 nm hullámhosszon vannak (Mayo, 2003; Tsenkova 2009).

A szénláncban található kötéstípusok hatását vizsgálva megállapítható, minél nagyobb a kötésenergia, annál nagyobb energia szükséges a vegyértékrezgés gerjesztéséhez, tehát a kötésekhez tartozó sávok annál kisebb hullámhossznál/nagyobb hullámszámnál jelennek meg. A C-C kötések vegyérték és deformációs rezgései jellemzően 1100 és 1300 nm tartományban figyelhetők meg (Szigedi, 2014).

Az 1300 és 1550 nm hullámhossz tartományban az -OH primer harmónikus vegyértékrezgések elnyelési sávjai találhatóak (Bazar et al., 2015; Kovacs et al., 2020). Ez a tartomány a későbbiekben az aquaphotomics témakörében kerül majd megvizsgálásra.

Tehát a koefficiensek segítettek meghatározni, hogy feltehetően mely hullámhosszok, ezáltal mely molekula csoportok változtak az ultrahangos kezelés hatására.

7. táblázat: Főkomponens analízis során az első két fő komponens (PC1 és PC2) kialakulásához hozzájáruló hullámhosszok csoportonként

Tojás minta	Kezelési beállítások	Hullámhossz			
		C-N	C-C	-OH	N-H
Tojásfehérje	20 kHz, 3,7 W	1074	1194	1407, 1482, 1512	1620
	20 kHz, 6,9 W	1052, 1100	-	1412, 1508	1554
	40 kHz, 3,7 W	1078	1184	1384, 1462, 1512, 1548	-
	40 kHz, 6,9 W	1066	-	1342, 1412, 1440, 1513	1560
Tojássárgája	20 kHz, 3,7 W	-	1214	1504	1660
	20 kHz, 6,9 W	1026, 1070	-	1374, 1502	-
	40 kHz, 3,7 W	1066	1206	1462, 1504	-
	40 kHz, 6,9 W	1060	1206	1384, 1452, 1534	-
Teljes tojáslé	20 kHz, 3,7 W	1058, 1158	-	1374, 1426, 1488, 1546	-
	20 kHz, 6,9 W	1051, 1156	1208	1398, 1476, 1548	-
	40 kHz, 3,7 W	1060	-	1412, 1520	1616
	40 kHz, 6,9 W	1056	1210	1406, 1492, 1544	-

5.1.2.1 NIR adatok vizsgálata az Aquaphotomics módszerével

A NIR méréssel kapott spektrumok 1300 és 1550 nm közötti hullámhossz tartományát egy viszonylag új tudományág az aquaphotomics is vizsgálja. Az aquaphotomics a víz abszorpciós spektrumának elemzésével tanulmányozza a vízmolekulák kölcsönhatásait és hidrogénkötés-hálózatait különböző rendszerekben, mint például biológiai szövetekben, élelmiszerekben vagy ipari anyagokban (van de Kraats et al., 2019).

Az alapja, hogy a vízmolekulák infravörös abszorpciós spektrumának jellegzetességei nagymértékben függenek a vízmolekulák környezetétől, kötéserősségeitől és a hidrogénkötések elrendeződésétől. Az abszorpciós csúcsok frekvenciájának és alakjának elemzésével következtetni lehet a vizsgált rendszer vízmolekuláinak állapotára (Tsenkova et al., 2018). Ez a módszer, ellentétben a „hagyományos” spektroszkópiai megközelítéssel, amely az oldott anyagok

abszorpciós sávjaikat vizsgálja, a víz molekuláris mátrixának változásait követi nyomon, egyfajta „tükröt” mutatva az oldott anyagok változásaival kapcsolatban (Bazar et al., 2015).

Az 1300-1550 nm-es hullámhossztartományban 12 specifikus vízmolekulafajtának megfelelő abszorpciós sávot tártak fel, melyet Vízmátrix koordinátáknak (Water Matrix Coordinates - WAMACS) neveztek el (8. táblázat).

8. táblázat: Vízmátrix koordináták– 12 WAMACS (dos Santos et al., 2013; Muncan & Tsenkova, 2019)

WAMACS	Hullámhossz	Jellemző szerkezet
C1	1336-1348	H ₂ O aszimmetrikus nyúlási rezgés
C2	1360-1366	OH –(H ₂ O) _{1,2,4} : Hidratációs héj (water solvation shell)
C3	1370-1376	H ₂ O szimmetrikus nyúlási és aszimmetrikus hajlási rezgés
		OH-(H ₂ O) _{1,4} : Hidratációs héj
C4	1380-1388	O ₂ -(H ₂ O) ₄ : Hidratált szuperoxid csoportok
		H ₂ O szimmetrikus nyúlási rezgés
		Ionos mezőbe zárt víz (csapdába esett víz)
C5	1398-1418	S ₀ : Szabad víz
		Szabad OH- csoporttal rendelkező víz
C6	1421-1430	Hidratációs sáv
C7	1432-1444	S ₁ : Egy hidrogén kötéssel rendelkező vízmolekulák
C8	1448-1454	OH-(H ₂ O) _{4,5} : Hidratációs héj
C9	1458-1468	S ₂ : Két hidrogén kötéssel rendelkező vízmolekulák
		Aszimmetrikus hajlási és nyúlási rezgés
C10	1472-1482	S ₃ : Három hidrogén kötéssel rendelkező vízmolekulák
C11	1482-1495	S ₄ : Négy hidrogén kötéssel rendelkező vízmolekulák
C12	1506-1516	H ₂ O szimmetrikus nyúlási rezgés
		Erősen kötött víz

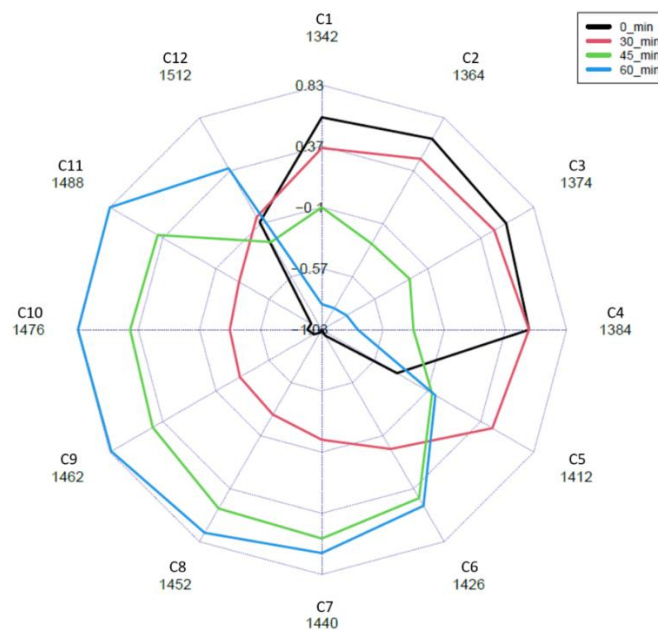
Ezen tartományok egyszerűbb vizsgálata érdekében sugárdiagramok, úgynevezett aquagramok használatosak. Az aquagramok rendkívül látványosan szemléltetik az eredményeket és lehetővé

teszik a különböző rendszerek vagy ugyanazon rendszer különböző állapotainak gyors és átfogó összehasonlítását, azok víz abszorpciós spektrális mintázatának (WASP) összehasonlításával. (Tsenkova, 2018).

A sugár tengely az „aktivizált” hullámhosszok abszorbanciájának normalizált értéke, melynek számítását a 2. egyenlet tartalmazza.

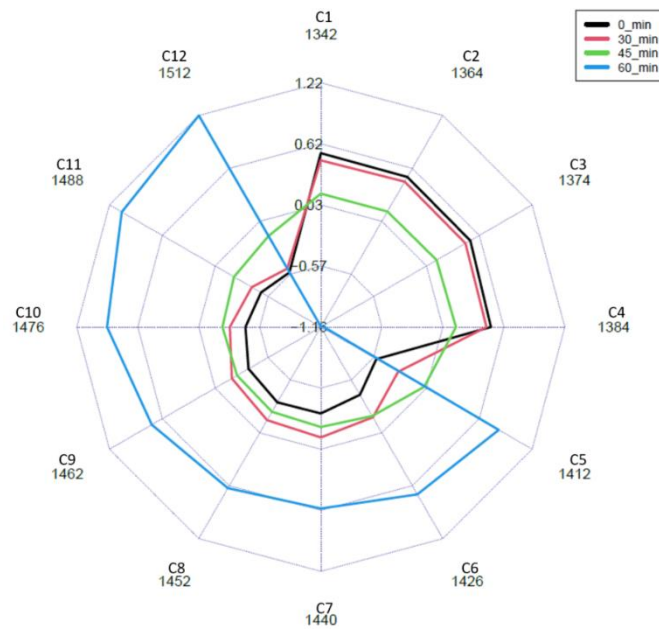
Továbbiakban aquaphotomics segítségével vizsgáltam az ultrahanggal kezelt és kezeletlen tojásleveket. A rendszerben található vízmolekulák szerkezetének vizsgálatához az 1300 és 1550 nm közötti spektrális adatokból aquagramokat készítettem mindhárom tojásle esetében, melyek az kezelési idők (17. ábra, 18. ábra, 19. ábra), frekvencia (20. ábra, 21. ábra, 22. ábra), hatásos teljesítmény (23. ábra 24. ábra, 25. ábra) és dózis (26. ábra) mintázatát (Water Absorbance Pattern – WASP) ábrázolják.

A tojásfehérje kezelési idejeinek abszorpciós spektrális mintázatát vizsgálva (17. ábra) látható, hogy a C1-C4-es (1336-1388 nm) mátrix koordinátaig a kezelési idő növelésével csökkenő tendencia mutatkozik az abszorpcióban. Ezen a spektrális sávok csökkenésének jellemzője, hogy kevesebb a lazán, gyengén kötött vízmolekula, illetve a hidroxidionok és egyéb ionos részecskék hidratburka, mely a vízmolekulák szorosabb asszociációjába, klaszterekbe rendeződésére utal (Tsenkova, 2009). A C6-C11-es sáv (1421-1495 nm) esetében a kezelési idő növelésével, növekedés mutatkozik az abszorbancia tengelyeken, melyből arra következtethetünk, hogy növekedett az 1-4 hidrogénkötést tartalmazó vízmolekulák aránya, valamint utal a közepes és erős hidrogénkötések növekedésére a rendszerben, illetve a vízmolekulák fokozottabb asszociációba rendeződésére, alátámasztva a C1-C4 sáv abszorpciójának csökkenését (Czarnecki et al., 2015).



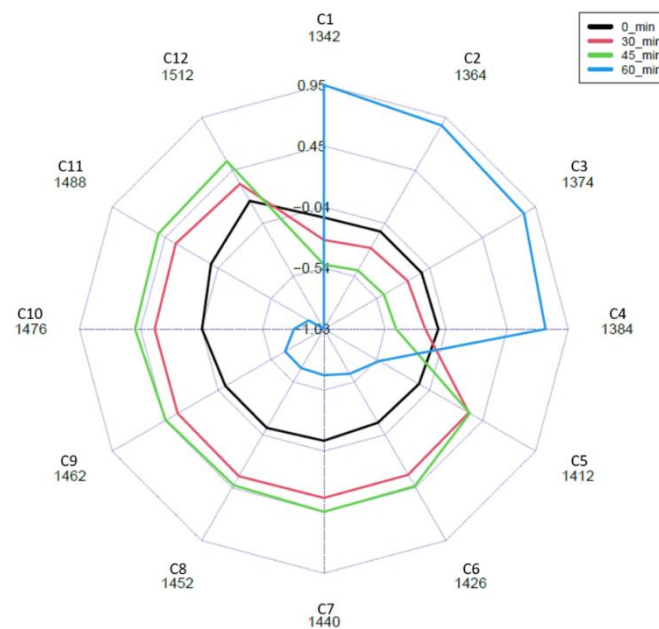
17. ábra: Kezelési idők Aquagramja – WASP (tojásfehérje lé)

A tojássárgája esetében (18. ábra) ugyanezek a minták mutatkoznak meg azzal a különbséggel, hogy a C5-ös (1398-1418 nm) és a C12-es (1506-1516 nm) abszorpciós sáv mentén is az idő növelésével, növekvő abszorbancia értékeket mutat. Az 1412 nm-es hullámhossz a szabad vízmolekulák abszorpciós sávjába tartozik (Malegori et al., 2018), így ennek növekedése beleillik a C1-C4-es sáv által mutatott mintázatába. A C12 WAMACS az erősen kötött vízzel korrelál, így ennek növekedése szintén alátámasztja, hogy a gyengébben kötött vízmolekulák a kezelési idő emelkedésével csökkentek, míg a közepesen erős és erős kötésű vízmolekulák aránya növekedett a rendszerben.



18. ábra:: Kezelési idők Aquagramja – WASP (tojássárgája lé)

A teljes tojáslé esetében (19. ábra) a tojássárgája által mutatott tendenciák fedezhetők fel egyetlen nagy különbséggel. A 60 percen keresztül kezelt minta a várthoz képest ellentétes eredményt mutat, mely olyan, mintha a fehérje és a sárgája keverékében egy bizonyos kezelési idő után felborulna a belső rendszer és arányában több szabad és lazán kötött vízmolekula keletkezne.

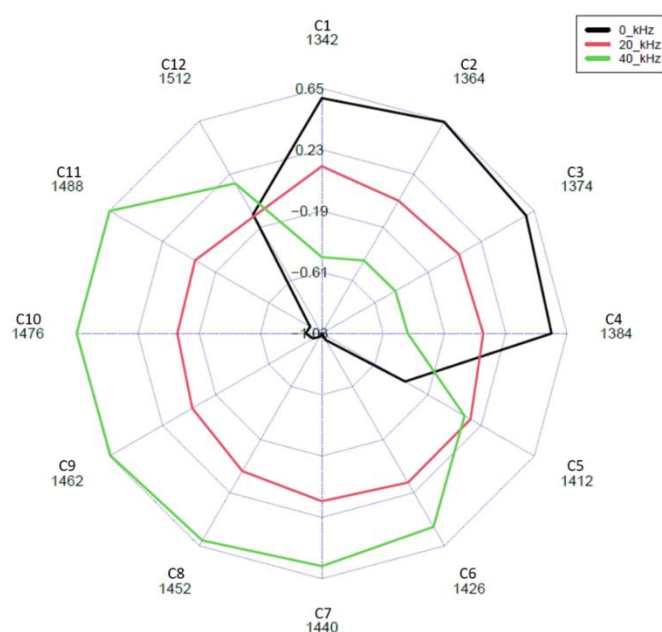


19. ábra: Kezelési idők Aquagramja – WASP (teljes tojáslé)

Összességében elmondható, hogy az ultrahangos kezelés időtartamának előrehaladtával (a teljes tojáslé kivételével) a vízmolekulák egyre inkább eltávolodtak a szabad, lazán kötött állapottól, és

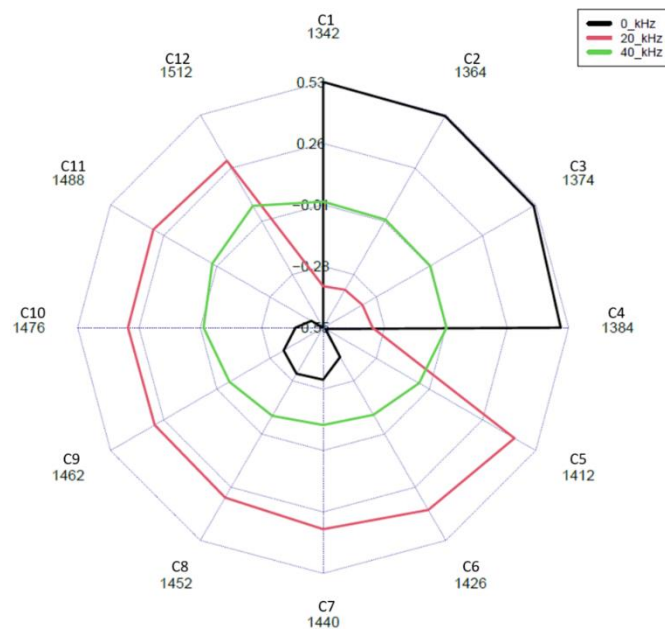
egyre jobban asszociálódtak, szorosabb hidrogénkötéses hálózatokba rendeződtek a tojástermékekben. Ez feltehetően a fehérjék roncsolódásának, aggregációjának és az oldat fokozódó inhomogenitásának a következménye. Az erősebb hidrogénkötések kialakulása a felbomlott (ionjaira) fehérje hidrofíl részei és a vízmolekulák között stabilizálhatja ezt az aggregált állapotot (L. Liu et al., 2021; O’Sullivan et al., 2016; Su et al., 2021; Zhang et al., 2017).

A frekvencia alapján kialakult mintázatot vizsgálva a tojásfehérje esetében (20. ábra) megállapítható, hogy a C1-C4 tartományban levő abszorbancia érték csökken a frekvencia növelésével és az abszorbancia változás kisebb mértékű a kezelési idővel kapott aquagramon levő értékekhez képest. A C6-C11-ben a frekvencia növekedésével az abszorbancia érték növekedése látható.

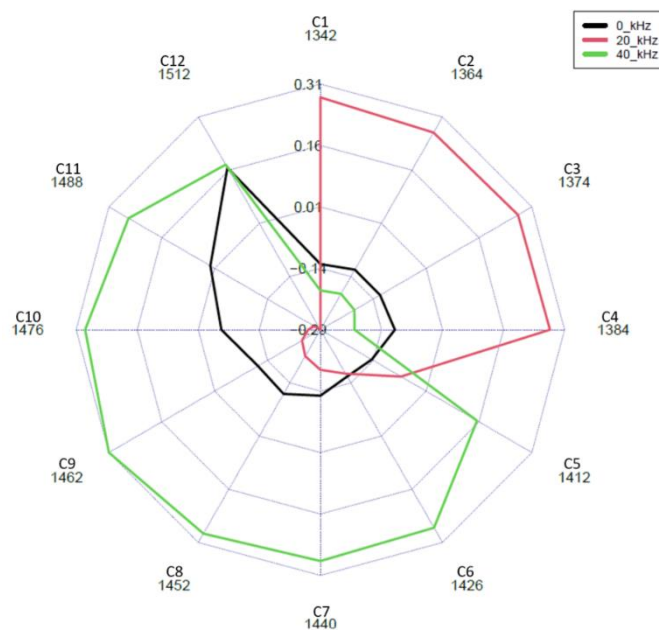


20. ábra: A kezelés frekvenciájának Aquagramja – WASP (tojásfehérje lé)

A tojássárgája lé (21. ábra), illetve teljes tojáslé (22. ábra) esetében bekövetkezett abszorbancia érték változás egyik tartományban sem követi a frekvencia változását. Így következetes mintázat nem fedezhető fel. Elmondható, hogy a bekövetkező abszorbancia érték változások ebben az esetben nem magyarázhatók a frekvencia változásával.

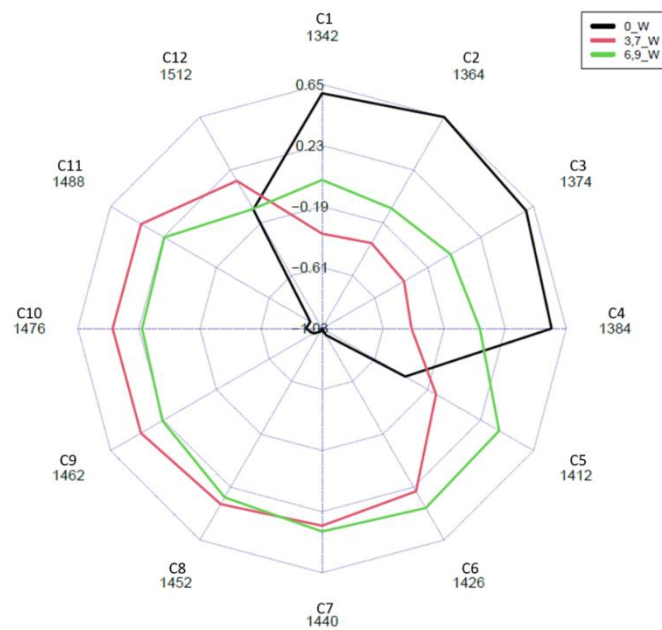


21. ábra: A kezelés frekvenciájának Aquagramja – WASP (tojássárgája lé)



22. ábra: A kezelés frekvenciájának Aquagramja – WASP (teljes tojáslé)

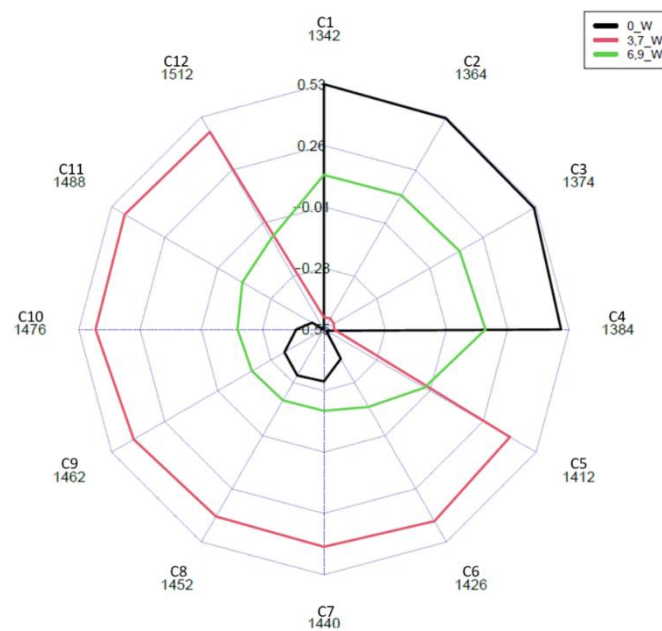
A hatásos teljesítmény szemszögéből vizsgálva a tojásfehérje abszorbania értéke (23. ábra) a C5-C7 WAMACS esetében mutat monoton növekvő tendenciát. Ezen hullámhossz sávok abszorpciójának növekedést arra utal, hogy növekedett az egy hidrogénkötéssel rendelkező vízmolekulák, illetve a szabad víz aránya a teljesítmény növelésének következtében (Muncan & Tsenkova, 2019).



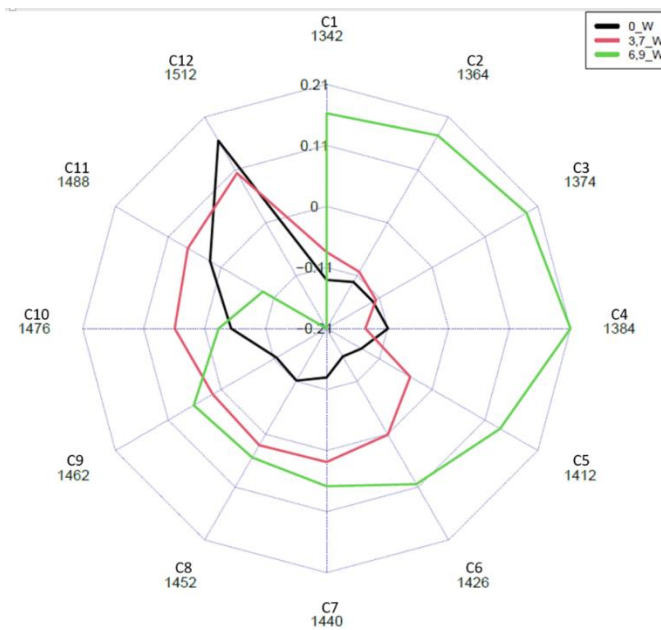
23. ábra: A kezelés hatásos teljesítményének Aquagramja – WASP (tojásfehérje lé)

A hatásos teljesítmény a tojássárgája lé esetében nem eredményezett konzekvens tendenciájú trendeket (24. ábra).

Teljes tojáslé esetében (25. ábra) a C1, C2, C3, C5, C6, C7, C8 és C9 hullámhossz sávok abszorpciós értékei növekedést mutatnak a teljesítmény növekedésével, míg a C12 sávon csökkenés tapasztalható, viszont ez a korábbiakhoz képest jóval kisebb mértékben.



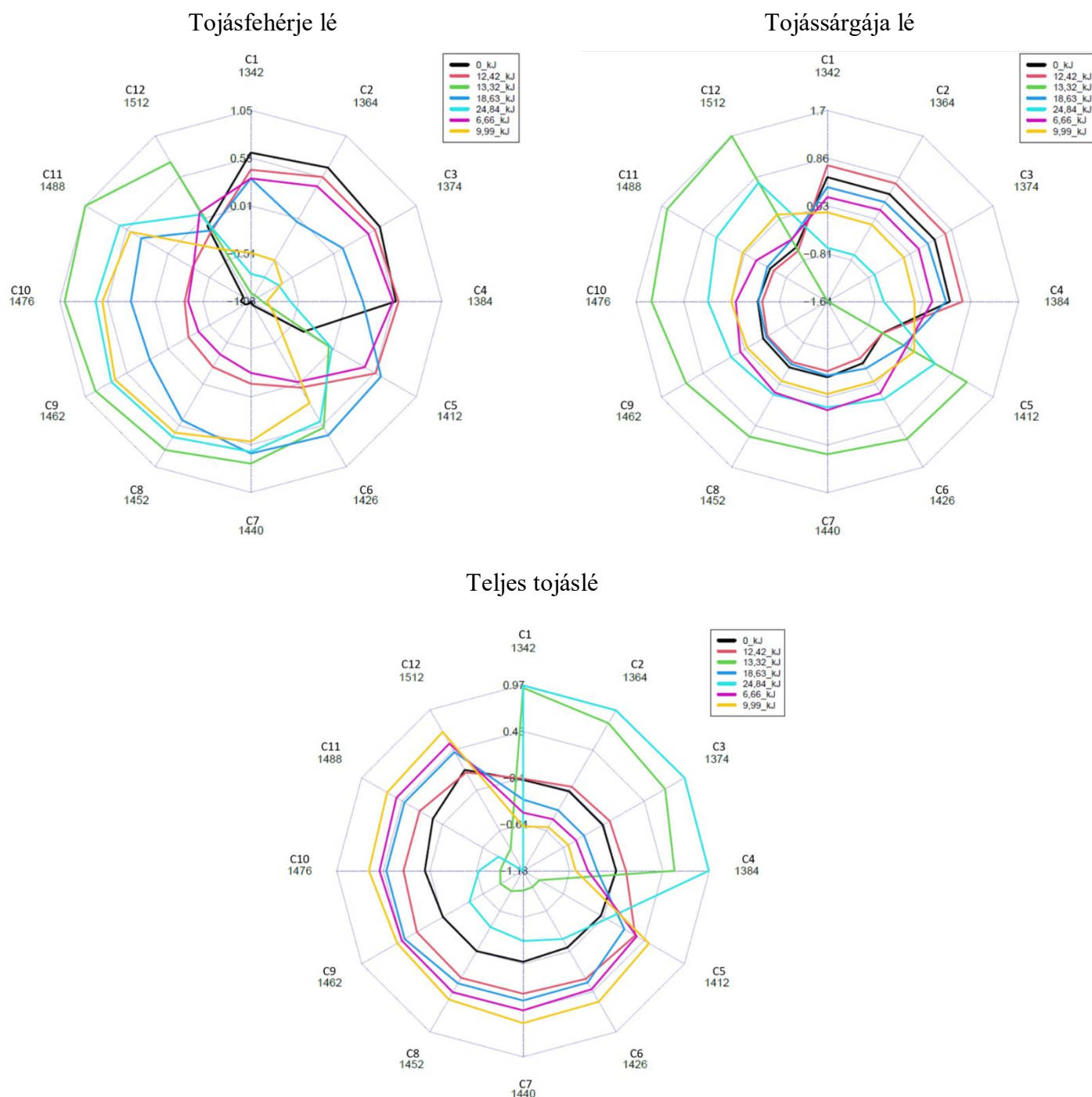
24. ábra: A kezelés hatásos teljesítményének Aquagramja – WASP (tojássárgája lé)



25. ábra: A kezelés hatásos teljesítményének Aquagramja – WASP (teljes tojáslé)

A vizsgált rendszerekben alkalmazott ultrahangos kezelés dózisának, (26. ábra) amely a teljesítmény és az idő szorzatából adódik, nem sikerült egyértelmű, konzisztens trendet kimutatni a WAMACS régiók viselkedésében. Más szavakkal, az egyes WAMACS sávok abszorpciós intenzitásának változása nem követett határozott, előrejelezhető mintázatot a dózisérték növekedésével vagy csökkenésével.

Noha egyes WAMACS tartományokban megfigyelhetők voltak bizonyos fokú intenzitásnövekedések vagy -csökkenések az ultrahangos dózis megváltoztatása hatására, ezek a változások nem mutattak robusztus, szisztematikus összefüggést a dózissal.



26. ábra: A kezelés dózisának Aquagramjai - WASP (Tojásfehérje lé; Tojássárgája lé; Teljes tojáslé)

Összességében a WAMACS által meghatározott régiók vizsgálata alapján elmondható, hogy az ultrahangos kezelés nyomon követhető az aquaphotomics módszereivel is. A tojástermékekben levő víz abszorpciós mintázatának (WASP) szisztematikus változása legjobban a kezelési idő vizsgálatával követhető, valamint az ultrahang frekvenciája, hatásos teljesítmény vizsgálata során is felfedezhető (egyes tojástermékeknel) valamilyen szisztéma az egyes vízmátrix koordináták mentén (WAMACS). Jelen kutatásban nem törekedtem az ultrahangos kezelések által átalakult

molekulák pontos meghatározására, valamint fizikai és techno-funkcionális tulajdonságaira gyakorolt hatásának vizsgálatára. Így további vizsgálatok szükségesek arra vonatkozólag, hogy az ultrahangos kezelés milyen hatással van a tojáslevek molekuláris szerkezetére.

5.1.2.2 Lineáris diszkriminancia analízis

Az előző fejezetekben megvizsgáltam, hogy az ultrahangos kezelés hatására mely hullámhosszok esetében tapasztaltam változást. A továbbiakban szeretném kideríteni, hogy a különböző kezelési beállítások (csoportok) elkülöníthetőek-e egymástól. Erre a célra lineáris diszkriminancia analízist (LDA) alkalmazok. Az LDA és a PCA közös jellemzője, hogy alapvetően az adathalmazok varianciájának magyarázatát keresi, viszont a lineáris diszkriminancia analízis kimondottan a függő változók által kialakított csoportok közötti különbség kiemelésével teszi ezt. Mivel az LDA módszer hajlamos a túlilleszkedésre, így ezt kivédendő a korábban alkalmazott főkomponens analízis során kapott eredményeket használom fel (Sachin & others, 2015; Skrobot et al., 2007; J. Ye & Li, 2005).

A különböző tojástermékek LDA modelljeinek (9. táblázat) validációs és predikciós pontosságát az alábbi táblázatban foglaltam össze:

9. táblázat: LDA modellek validációs és predikciós pontossága tojástermékenként

Csoport	Paraméter	Validáció	Predikció
Tojásfehérje	Frekvencia	63,61 %	62,77 %
	Teljesítmény	59,5 %	57,56 %
	Idő	64,84 %	65,08 %
	Dózis	57,13 %	55,33 %
Tojássárgája	Frekvencia	50,27 %	49,45 %
	Teljesítmény	47,16 %	48,11 %
	Idő	59,66 %	57,52 %
	Dózis	46,99 %	44,14 %
Teljes tojásle	Frekvencia	62,01 %	59,36 %
	Teljesítmény	48,56 %	50,08 %
	Idő	67,82 %	69,11 %
	Dózis	58,88 %	59,84 %

Az egyes kezelési csoportok alapján készített LDA modelljei (10. táblázat) pontosabb validációt és predikciót eredményezett a termékenkénti modellhez képest, így ezeket a modelleket használom a továbbiakban.

10. táblázat: Lineáris diszkriminancia modellek pontossága csoportonként (Felismerés, előrejelzés)

Csoport	Kezelés	Validáció	Predikció
Tojásfehérje	A – 20 kHz, 3,7 W	93.97 %	83.33 %
Tojássárgája	A - 20 kHz, 3,7 W	87.29 %	79.61 %
Teljes tojásle	A - 20 kHz, 3,7 W	75.57 %	64.04 %
Tojásfehérje	B - 40 kHz, 3,7 W	100.0 %	92.13 %
Tojássárgája	B - 40 kHz, 3,7 W	68.61 %	66.35 %
Teljes tojásle	B - 40 kHz, 3,7 W	90.80 %	55.67 %
Tojásfehérje	C - 20 kHz, 6,9 W	96.86 %	86.07 %
Tojássárgája	C - 20 kHz, 6,9 W	90.09 %	92.77 %
Teljes tojásle	C - 20 kHz, 6,9 W	100.0 %	88.38 %
Tojásfehérje	D - 40 kHz, 6,9 W	89.03 %	86.67 %
Tojássárgája	D - 40 kHz, 6,9 W	91.39 %	61.46 %
Teljes tojásle	D - 40 kHz, 6,9 W	91.40 %	61.47 %

A tojásfehérje esetében (11. táblázat) a kontroll minták nem mutatnak átfedést sem a predikció, sem a validáció során a 3,7 W (mind 20, mind 40 kHz esetében) és 6,7 W-on 20 kHz esetében. A 30 perces kezelések teljes mértékben csak a 40 kHz és 3,7 W-os kezelés esetében különül el 100%-ban mind a validáció, mind a predikció esetében. A 45 perces kezelések a predikciós modellek esetében nem mutat átfedést sem a 30 perces kezeléssel átesett mintákkal, sem a kontroll mintákkal. Ez a validáció során a B csoport (40 kHz – 3,7 W) esetében nem teljesül.

11. táblázat: A lineáris diszkriminancia predikciós és validációs modelljei kezelésenként (tojásfehérje lé)

Tojásfehérje									
	Predikció(%)				Validáció(%)				
	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc	
A - 20 kHz, 3,7 W									
0 perc	100	0	0	0	100	16,75	0	0	
30 perc	0	100	0	0	0	58,25	0	0	
45 perc	0	0	97,75	21,86	0	8,25	100	24,95	
60 perc	0	0	2,25	78,14	0	16,75	0	75,05	
B - 40 kHz, 3,7 W									
0 perc	100	0	0	0	100	0	21,04	0	
30 perc	0	100	0	0	0	100	5,22	0	
45 perc	0	0	100	0	0	0	68,51	0	
60 perc	0	0	0	100	0	0	5,22	100	
C - 20 kHz, 6,9 W									
0 perc	100	12,55	0	0	100	16,75	0	0	
30 perc	0	87,45	0	0	0	58,25	0	0	
45 perc	0	0	100	0	0	8,25	100	24,95	
60 perc	0	0	0	100	0	16,75	0	75,05	
D – 40 kHz, 6,9 W									
0 perc	83,38	9,14	0	0	83,25	8,99	0	0	
30 perc	16,62	72,71	0	0	16,75	72,75	0	0	
45 perc	0	0	100	0	0	0	94,79	4,12	
60 perc	0	18,14	0	100	0	18,26	5,21	95,88	

A 60 perces kezelést kapott tojásminták esetében azonban sem a validációs, sem a predikciós modelleknel nem fedezhető fel átfedés a kontroll mintákkal, illetve a 30 perces kezelésen átesett csoportokkal.

A tojássárgája lé (mintáknál tér el validáció során (90%).) modelljei esetében a kontroll és a 30 percen kezelt minták minden esetben átfedést mutatnak egymással, egyes esetekben a 45 perces kezelésekkkel is. A 60 perces kezeléseket esetében a predikciós és validációs modellek 100%-ban elkülönítik a többi csoporttól, egyedül a 40 kHz-en és 6,9 W-on kezelt mintáknál tér el validáció során (90%).

12. táblázat: A lineáris diszkriminancia predikciós és validációs modelljei kezelésenként (tojássárgájae lé)

Tojássárgája								
	Predikció(%)				Validáció(%)			
	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc
A - 20 kHz, 3,7 W								
0 perc	79,12	19,94	0	0	75,00	30,03	0	0
30 perc	20,88	70,01	0	0	25,00	60,06	16,62	0
45 perc	0	10,04	100	0	0	9,91	83,38	0
60 perc	0	0	0	100	0	0	0	100
B - 40 kHz, 3,7 W								
0 perc	50	25	28,57	0	58,25	41,75	28,57	0
30 perc	33,38	62,5	9,5	0	25	50,00	14,29	0
45 perc	16,62	12,5	61,93	0	16,75	8,25	57,14	0
60 perc	0	0	0	100	0	0	0	100
C - 20 kHz, 6,9 W								
0 perc	91,62	31,27	0	0	91,75	12,41	8,25	0
30 perc	8,38	68,73	0	0	8,25	87,59	0	0
45 perc	0	0	100	0	0	0	91,75	0
60 perc	0	0	0	100	0	0	0	100
D – 40 kHz, 6,9 W								
0 perc	81,86	9,13	7,14	0	63,66	27,32	33,29	0
30 perc	13,64	90,87	0	0	9,02	63,66	28,57	10,04
45 perc	4,5	0	92,86	0	27,32	9,02	28,57	0
60 perc	0	0	0	100	0	0	9,57	89,96

A teljes tojáslé esetében a kontroll minták átfedéseket mutatnak mind a 30 perces, mind a 45 perces kezelésekkkel, több kezelés esetén is. Szembetűnő azonban, hogy a 60 perces kezeléseket minden esetben 100 %-ban helyesen sorolta be a kapott modell ezeket a mintákat, mind a predikció, mind a validáció esetében.

Teljes tojáslé validációs és predikciós modellek eredményei (13. táblázat):

13. táblázat: A lineáris diszkriminancia predikciós és validációs modelljei kezelésenként (teljes tojáslé)

Teljes tojáslé								
	Predikció (%)				Validáció (%)			
A - 20 kHz, 3,7 W	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc
0 perc	75	54,57	18,14	0	83,25	72,75	9,02	0
30 perc	25	45,43	0	0	16,75	18,26	36,34	0
45 perc	0	0	81,86	0	0	8,99	54,64	0
60 perc	0	0	0	100	0	0	0	100
B - 40 kHz, 3,7 W	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc
0 perc	77,83	4,12	0	0	55,67	16,75	30,38	0
30 perc	5,5	87,5	2,15	0	0	58,25	39,11	0
45 perc	16,67	8,38	97,85	0	44,33	25	8,74	0
60 perc	0	0	0	100	0	0	21,77	100
C - 20 kHz, 6,9 W	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc
0 perc	100	0	0	0	90,98	37,45	0	0
30 perc	0	100	0	0	9,02	62,55	0	0
45 perc	0	0	100	0	0	0	100	0
60 perc	0	0	0	100	0	0	0	100
D - 40 kHz, 6,9 W	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc
0 perc	37,52	18,14	5,02	0	37,59	18,26	25,04	0
30 perc	0	31,79	7,5	0	12,41	36,24	14,99	0
45 perc	62,48	50,07	87,48	0	50	45,5	59,97	0
60 perc	0	0	0	100	0	0	0	100

A tojáslevek ultrahangos kezelése szignifikáns változásokat okozott a mintákban levő *E. coli* mikrobaszámra, azonban az alkalmazott beállításokkal nem sikerült a mikrobaszámot az Egészségügy Minisztérium által meghatározott (4/1998 (XI.11.) EÜM), illetve európai jogszabálynak (EC No 2073/2005) megfelelő mértékűre csökkenteni. A tojástermékek NIR spektrumának elemzése kimutatta, hogy a kezelések változásokat okoznak a tojáslevek spektrális, fizikai tulajdonságaiban, így fontos a megfelelő paraméterek megválasztása a kezelések során. A spektrális adatok elemzése során következtethetünk a tojástermékekben bekövetkező molekuláris változásokra a pontos folyamatok és érintett molekulák meghatározására nem terjedt ki a kutatásom.

5.2 Ultrahang és kéméletes hőkezelés alkalmazása

Az előzőekben bemutatott ultrahangos kísérletek megmutatták, hogy a kezelésnek szignifikáns hatás van a tojástermékekben található *Escherichia coli* mennyiségére, viszont az eljárás önmagában nem elegendő ahhoz, hogy az előírásoknak megfelelő szintre csökkentse számukat. az

alkalmazott kezelések mellett. Az gát elmélet szerint, ha több tartósítási eljárást együtt, egymással kombinálva használunk mikroba gátláshoz, akkor azok szinergens módon viselkednek (Leistner & Gould, 2002). Ennek fényében a következőkben egy kombinált kezelési módszert vizsgállok, amely az ultrahangot enyhe hőkezeléssel (55°C) párosítja.

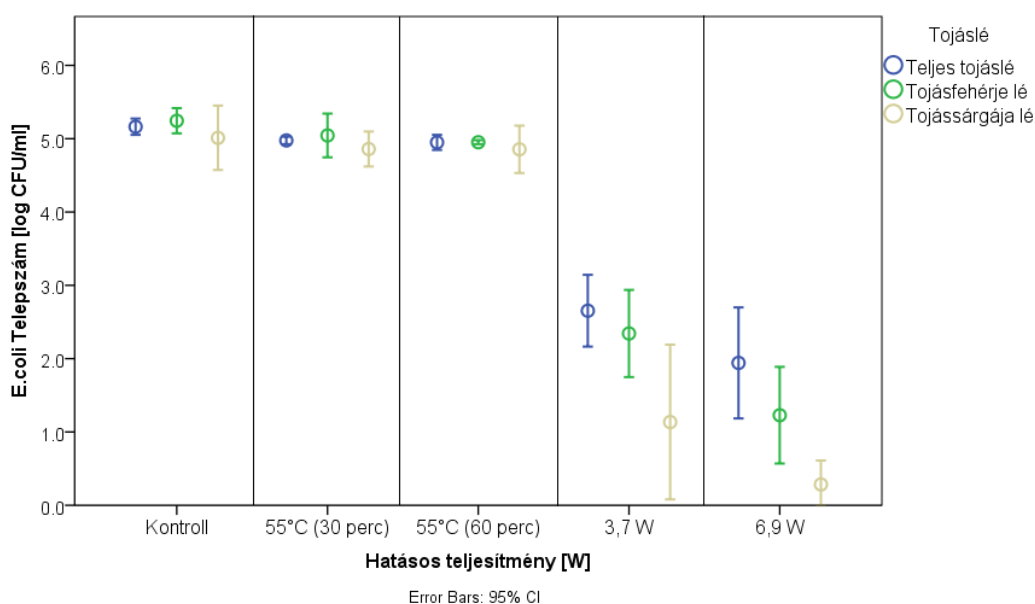
A hőmérséklet megválasztását egy korábbi kutatás alapozza meg (Németh, 2012), melyben megállapításra került, hogy az 55°C-on tartott tojáslé minták fehérjei nem mutattak denaturációt 24 órás kezelés esetében sem a közeli infravörös spektroszkópiai mérések alapján, azonban 60°C-on már igen.

5.2.1 Mikrobiológiai vizsgálatok

A kombinált ultrahangos kezelés mikrobiológiai hatásának vizsgálatakor, az önálló ultrahangos kezelések értékeléséhez hasonlóan a kombinált ultrahangos kezelés hatását vizsgáltam meg a tojáslevek mikrobaszámára különböző beállítások mellett.

Az adatok normál eloszlást mutatnak a Saphiro-Wilk vizsgálat alapján, illetve a homogenitás feltétele is teljesül (Bartlett-teszt), így a kísérletek szignifikancia szintjét Tukey teszttel végeztem.

Az ultrahang hatásos teljesítményének mikrobaszámra gyakorolt hatását (27. ábra) a kombinált kezelés esetében is két szinten (3,7 W és 6,9 W) vizsgálom. Az önálló ultrahangos kezeléstől eltérően, a kontroll (kezelés nélküli) csoporton kívül két, csak hőkezelésen átesett csoport is megjelenik: az 55°C-on 30 percig, illetve az 55°C-on 60 perc kezelt csoport.



27. ábra: Telepképző baktériumszám logaritmikus értékének (log CFU/ml) változása az kombinált ultrahangos kezelés hatásos teljesítmény függvényében

Az ultrahangos kezelés hatásának vizsgálatakor a hatásos teljesítmény alapján történő elemzésnél a Tukey teszt alapján több csoport között is szignifikáns különbség mutatkozott a tojástermékek mikrobaszámát tekintve (14. táblázat). A tojásfehérje lé, a tojássárgája lé és a teljes tojáslé esetében is szignifikáns különbséget tapasztaltam a kombinált kezelés (ultrahang+hő) és a kezeletlen minták között a hatásos teljesítménytől függetlenül. Szignifikáns különbség van továbbá a csak 55°C-on kezelt minták és a kombinált kezeléssel átesett minták között mindkét teljesítményszint esetében. A kombinált kezelések teljesítmény szintjei között csak a tojásfehérje esetében tapasztaltam szignifikáns különbséget, a tojássárgája és a teljes tojáslé esetében nem. Az eredmények alapján elmondható, hogy a kombinált kezelés függetlenül az ultrahang hatásos teljesítményétől szignifikáns hatással van a tojástermékekben található *E. coli* számra. Továbbá az eredmények azt mutatják, hogy a 6.9 W-os kezelésnek szignifikánsan nagyobb baktericid hatása volt a tojásfehérje lé esetében, mint a 3,7 W-os kezelésnek.

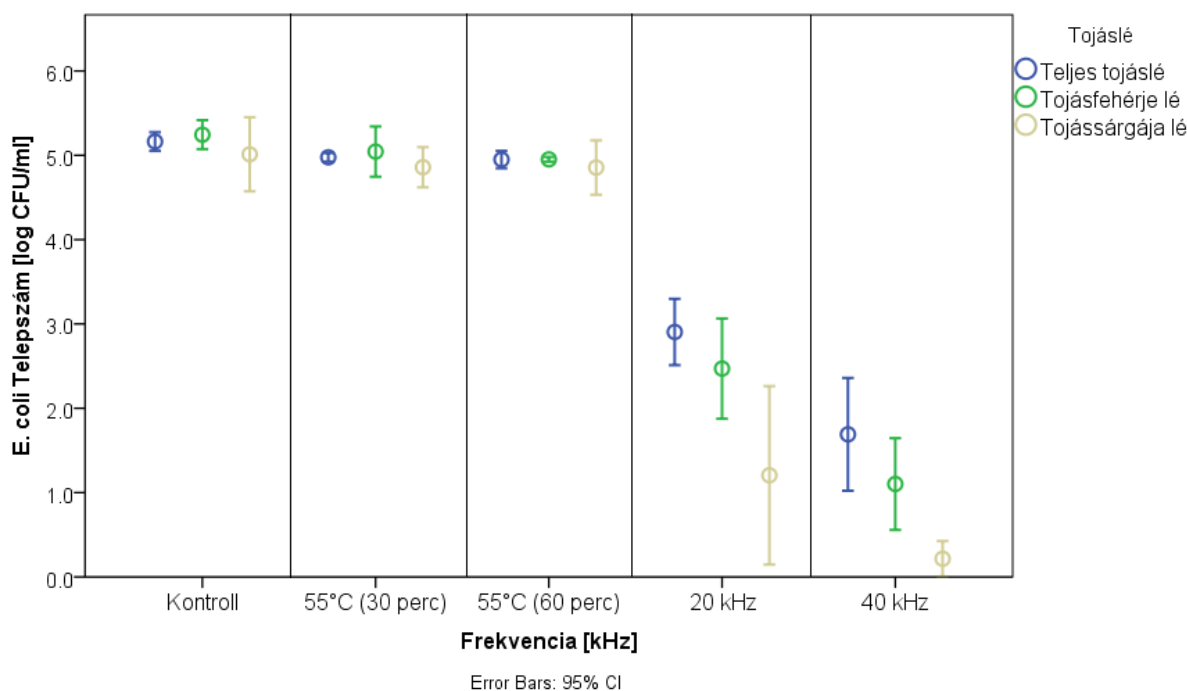
A csak hőkezeléssel átesett minták esetében nem tapasztaltam szignifikáns különbséget a kezeletlen mintákhoz képest, így kijelenthető, hogy a 30 és 60 percig alkalmazott 55°C-os kezelés nincs hatással a tojástermékekben levő *E. coli* számra.

14. táblázat: Kombinált kezelések hatásos teljesítményeinek (Tukey teszt) szignifikancia szintje a mikrobaszám függvényében

Tojásfehérje lé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	3,7 W+Hő	6,9 W+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
3,7 W+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	-	
6,9 W+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,034*	-
Tojássárgája lé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	3,7 W+Hő	6,9 W+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
3,7 W+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	-	
6,9 W+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,34	-
Teljes tojáslé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	3,7 W+Hő	6,9 W+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
3,7 W+Hő	0,001*	0,003*	0,004*	-	
6,9 W+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,31	-

*szignifikáns különbség $p < 0.05$

A tojástermékek mikrobaszám alakulását az ultrahangos kezelés frekvenciájának függvényében a 28. ábra tartalmazza. A kombinált kezelések során is két frekvenciaszinten (20 kHz és 40 kHz) vizsgálom az *E. coli* számának alakulását.



28. ábra: Telepképző baktériumszám logaritmikus értékének (log CFU/ml) változása az kombinált ultrahangos kezelés frekvencia függvényében

Szignifikáns különbséget tapasztaltam mindhárom tojástermék esetében a kontroll mintákhoz képest a kezelés frekvenciájától függetlenül (15. táblázat). A Tukey teszt szignifikáns különbséget mutatott továbbá az 55°C-on kezelt minták és a kombinált kezelésen átesett minták között, mind a 20 kHz-es, mind a 40 kHz-es kezelések esetében.

A tojásfehérje, illetve a teljes tojáslé esetében a 40 kHz-es kezelések szignifikánsan nagyobb baktericid hatással rendelkeznek a 20 kHz-es kezelésekhez képest. A tojássárgája lé esetében a két frekvenciaszint közötti különbség nem volt szignifikáns.

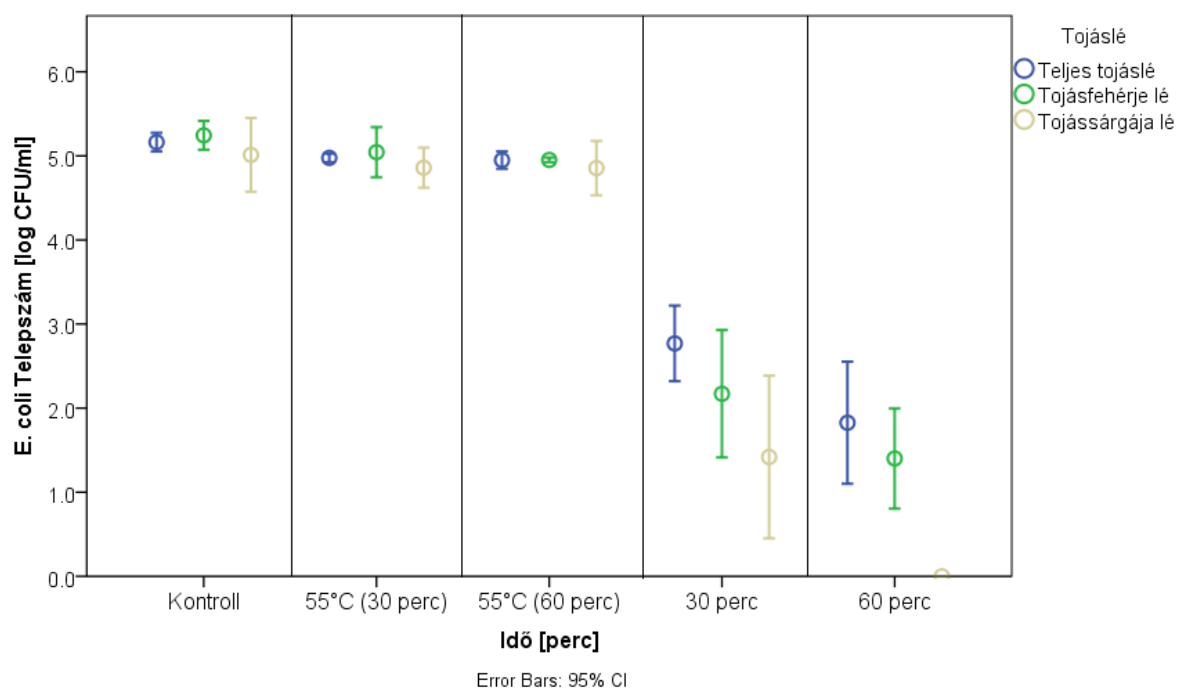
15. táblázat: Kombinált kezelések frekvenciájának (Tukey teszt) szignifikancia szintje a mikrobaszám függvényében

Tojásfehérje lé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	20 kHz+Hő	40 kHz+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
20 kHz +Hő	0,00*	0,00*	0,00*	-	
40 kHz +Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,002*	-
Tojássárgája lé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	20 kHz+Hő	40 kHz+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
20 kHz +Hő	0,00*	0,00*	0,00*	-	
40 kHz +Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,18	-
Teljes tojáslé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	20 kHz+Hő	40 kHz+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
20 kHz +Hő	0,00*	0,002*	0,002*	-	
40 kHz +Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,0048*	-

*szignifikáns különbség $p < 0.05$

A kombinált kezelések esetén az ultrahangos kezelési idő hatása a 29. ábrán látható. A kezelési idő hatását három szinten vizsgáltam: 0 perc (kontroll), 30 perc (kombinált és csak hőkezelés), illetve 60 perc (kombinált és csak hőkezelés).

A 30, illetve a 60 perces kombinált kezelések szignifikáns különbséget eredményeztek a kezeletlen, illetve a csak hővel kezelt csoportokhoz képest mindhárom tojástermék esetében (16. táblázat). A 30 perces, illetve a 60 perces kombinált kezelések eredményei között csak a tojássárgája esetében tapasztaltam szignifikáns különbséget.



29. ábra: Telepképző baktériumszám logaritmikus értékének (log CFU/ml) változása az kombinált ultrahangos kezelési idő függvényében

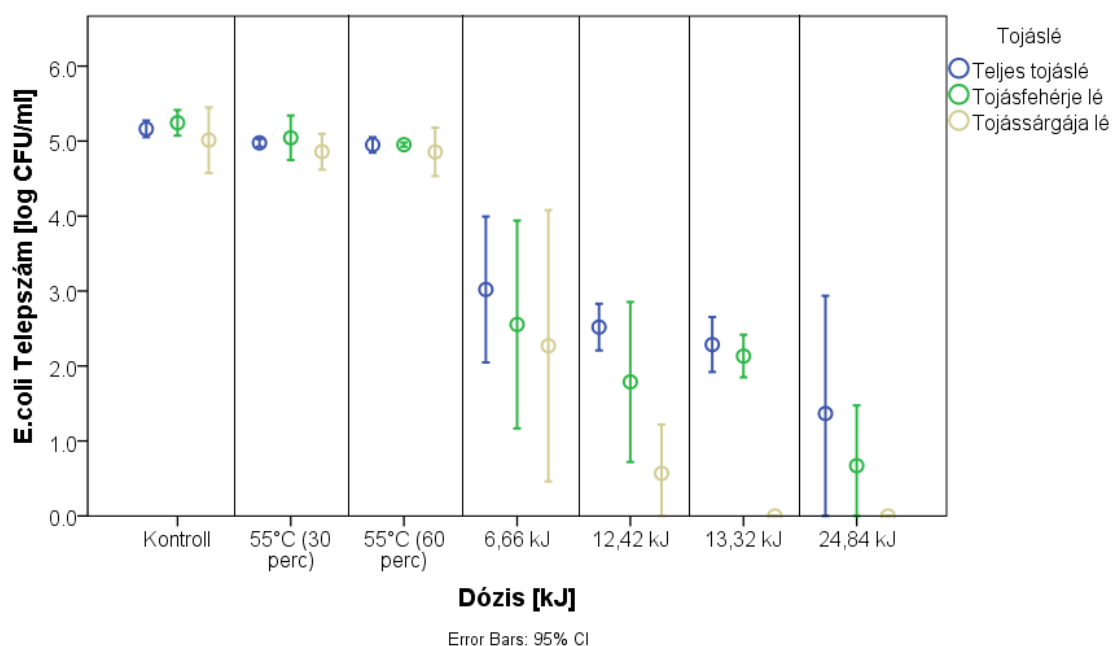
16. táblázat: Kombinált kezelések idejének (Tukey teszt) szignifikancia szintje a mikrobaszám függvényében

Tojásfehérje lé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	30 perc+Hő	60 perc+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
30 perc+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	-	
60 perc+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,31	-
Tojássárgája lé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	30 perc+Hő	60 perc+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
30 perc+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	-	
60 perc+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,009*	-
Teljes tojáslé					
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	30 perc+Hő	60 perc+Hő
Kontroll	-				
55°C (30perc)	0,99	-			
55°C (60perc)	0,99	0,99	-		
30 perc+Hő	0,001*	0,00*	0,00*	-	
60 perc+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,07	-

*szignifikáns különbség $p < 0.05$

Az alacsony hőmérséklettel kombinált ultrahangos kezelés, függetlenül a kezelés hatásos teljesítményétől, frekvenciájától és az általam vizsgált kezelési időtől, szignifikáns hatással volt mindhárom tojástermékben levő mikrobaszámra a kontroll és a csak hőkezelésen átesett csoportokhoz képest. A kezelések különböző szintjei (3,7 W – 6,9 W; 20 kHz – 40 kHz; 30 perc – 60 perc) között is tapasztaltam szignifikáns különbségeket, de nem minden tojástermék esetében.

A kombinált kezelés hatását a továbbiakban a kezelések dózisával folytatom, mely a kezelési idő, illetve a hatásos teljesítmény együttes hatását mutatja meg (30. ábra), esetemben 5 szinten (0 kJ [kontroll és csak hőkezelés], 6,66 kJ, 12,42 kJ, 13,32 kJ és 24,84 kJ).



30. ábra: Telepképző baktériumszám logaritmus értékének (log CFU/ml) változása az kombinált ultrahangos kezelési dózis függvényében

Hasonlóan a korábbi eredményekhez, a kombinált kezelés dózistól függetlenül is szignifikáns hatással volt a tojáslevekben levő *E. coli* mikrobaszámra (17. táblázat), a kezeletlen és a csak hőkezelt mintákkal szemben. A Tukey teszt alapján a kombinált kezelések egyes dózis szintjei között is mutatkozik szignifikáns különbség. A 6,66 kJ dózisú szignifikánsan kisebb baktericid hatással rendelkezik, mint a 24,84 kJ-os kezelés mindhárom tojásle esetében. A tojássárgája esetében a 6,66 kJ-12,42kJ, a 6,66 kJ-13,32 kJ között is szignifikáns különbség tapasztalható. A többi dózisszint között nincs szignifikáns eltérés egyik tojástermék esetében sem.

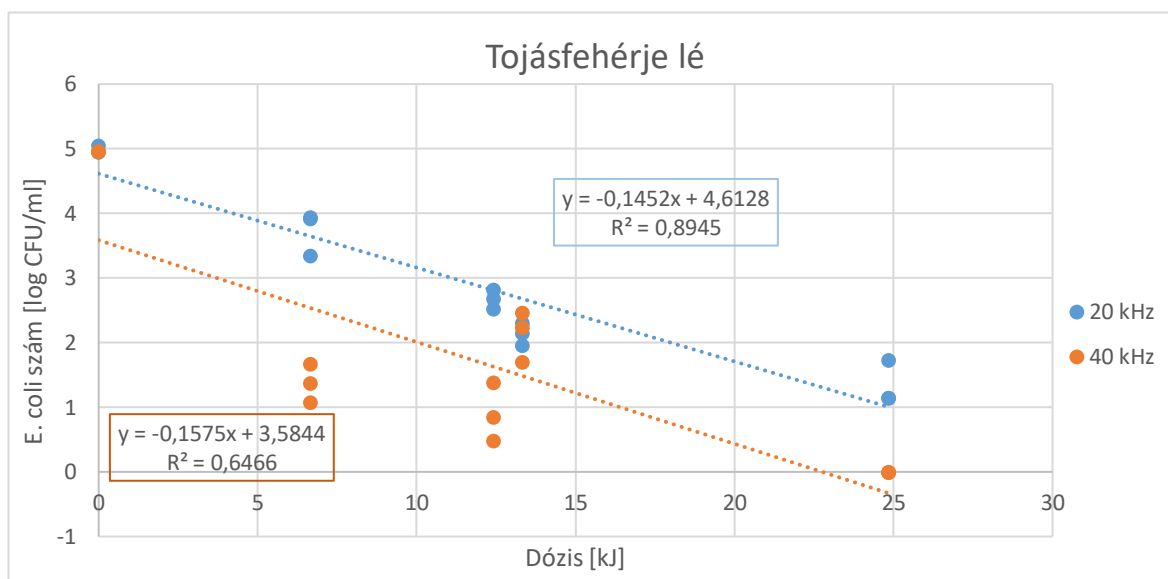
17. táblázat: Kombinált kezelések idejének (Tukey teszt) szignifikancia szintje a mikrobaszám függvényében

Tojásfehérje lé							
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C (60perc)	6.66 kJ+Hő	12.42 kJ+Hő	13.32 kJ+Hő	24.84 kJ+Hő
Kontroll	-						
55°C (30perc)	0,99	-					
55°C (60perc)	0,99	0,99	-				
6.66 kJ+Hő	0,002*	0,004*	0,006*	-			
12.42 kJ+Hő	0,00*	0,001*	0,002*	0,676	-		
13.32 kJ+Hő	0,00*	0,00*	0,001*	0,971	0,99	-	
24.84 kJ+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,008*	0,26	0,064	-
Tojássárgája lé							
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C(60perc)	6.66 kJ+Hő	12.42 kJ+Hő	13.32 kJ+Hő	24.84 kJ+Hő
Kontroll	-						
55°C (30perc)	0,99	-					
55°C (60perc)	0,99	0,99	-				
6.66 kJ+Hő	0,001*	0,002*	0,02*	-			
12.42 kJ+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,02*	-		
13.32 kJ+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,001*	0,88	-	
24.84 kJ+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,87	1	-
Teljes tojáslé							
Szignifikancia (p-érték)	Kontroll	55°C (30perc)	55°C(60perc)	6.66 kJ+Hő	12.42 kJ+Hő	13.32 kJ+Hő	24.84 kJ+Hő
Kontroll	-						
55°C (30perc)	0,99	-					
55°C (60perc)	0,99	0,99	-				
6.66 kJ+Hő	0,012*	0,027*	0,03*	-			
12.42 kJ+Hő	0,001*	0,0031*	0,0035*	0,926	-		
13.32 kJ+Hő	0,00*	0,0012*	0,0012*	0,689	0,999	-	
24.84 kJ+Hő	0,00*	0,00*	0,00*	0,02*	0,2	0,44	-

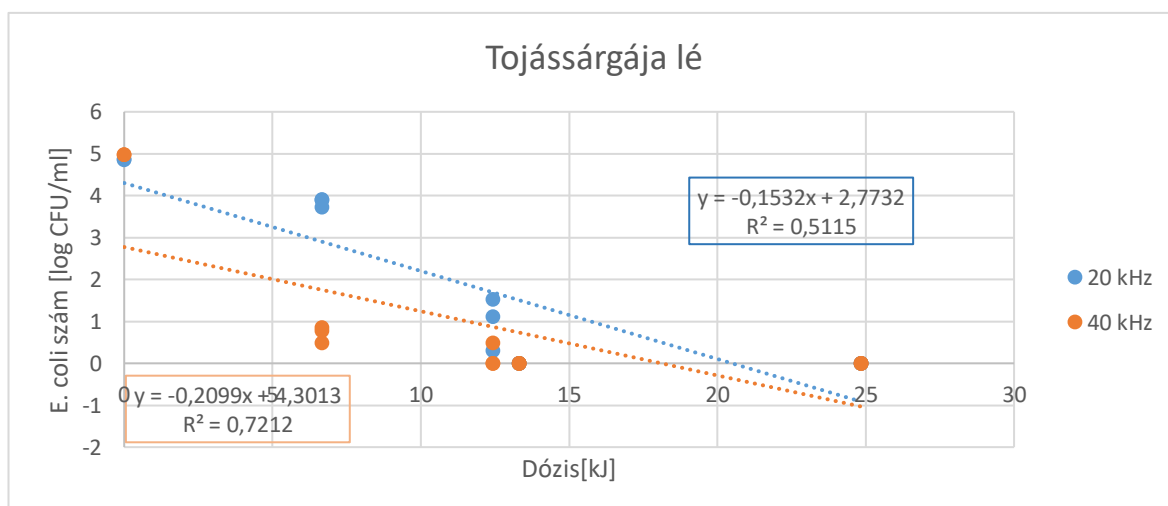
*szignifikáns különbség $p < 0.05$

A kezelési dózist és a tojáslevekben található baktériumszám kapcsolatát tovább vizsgálva, külön 20 kHz és 40 kHz-en, szintén egyértelmű csökkenés tapasztalható, melyet az illesztett lineáris modell támaszt alá (31. ábra).

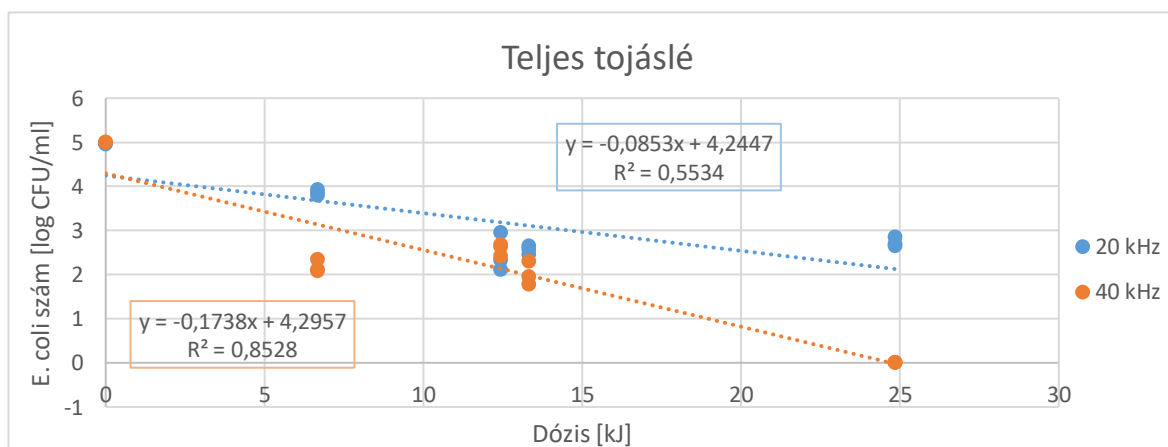
a.)



b.)



c.)



31. ábra: A koncentráció (y) regressziója a kezelés energiadóziséval (x) 20 kHz és 40 kHz esetén (a. - tojásfehérje, b. - tojássárgája, c. - teljes tojásle).

A kezelési dózis és a baktérium számának változását leíró lineáris modellek paramétereit (18. táblázat) az alábbi táblázat tartalmazza:

18. táblázat: *E. coli* csökkenését (dózis függvényében) leíró lineáris egyenletek paraméterei (kombinált kezelés)

Csoport	Frekvencia	Meredekség	F érték	R ² érték
Tojásfehérje	20 kHz	-0,1452	101,7897	0,8945
Tojásfehérje	40 kHz	-0,1575	21,96	0,6466
Tojássárgája	20 kHz	-0,1532	12,5643	0,5115
Tojássárgája	40 kHz	-0,2099	31,0402	0,7212
Teljes tojáslé	20 kHz	-0,0853	14,8721	0,5534
Teljes tojáslé	40 kHz	-0,1738	69,5456	0,8528

A modellek közepesen erős korrelációt mutatnak a mikrobiológiai mérések jellegéből adódó nagy szórásnak köszönhetően, azonban lineáris kapcsolattal közelíthető mindhárom tojástermék esetében a dózis és *E. coli* tartalom közötti összefüggés. A dózis növekedésével ellentétesen (negatív korrelációban) csökken a kapott mikrobaszám értéke. A megfigyelt adatok azt mutatják, hogy az ultrahangos kezelés legnagyobb dózisa (28,84 kJ) 40 kHz-es kezelést használva képes volt az *E. coli* számot 5 nagyságrenddel csökkenteni minden tojástermék esetében, azaz vizsgálatainkban a mikrobaszám a kimutathatósági határ alá csökkent (0 log CFU/ml). A 20 kHz-es kezelések csak a tojássárgája esetében érték el az ilyen mértékű baktericid hatást.

Az enyhe hőkezelés és az ultrahangos kezelés kombinációja hatékonyságát az *E. coli*-koncentráció csökkentésére több kutató is tapasztalta. Például D'amico et al. (2006) tej és almabor, valamint Ugarte-Romero et al. (2006) almabor esetén.

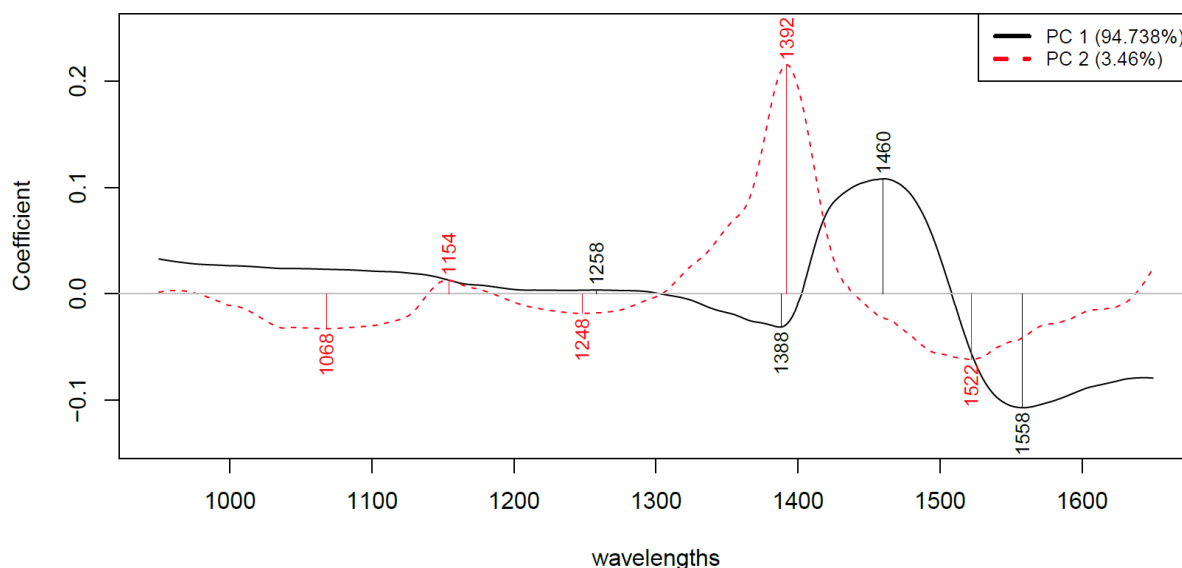
Fontos megjegyezni, hogy a kombinált kezelések függetlenül az ultrahang paramétereitől szignifikáns hatással voltak a tojástermékek *E. coli* számára, viszont az egyes szintek között is tapasztaltam szignifikáns különbségeket. Így kellő odafigyeléssel kell megválasztani az ultrahang paramétereit a kezeléseknél. Az, hogy milyen egyéb változásokat idéz elő a kombinált kezelés a tojástermékekre továbbiakban kerül áttekintésre.

5.2.2 Közeli-infravörös spektrumanalízis eredményei

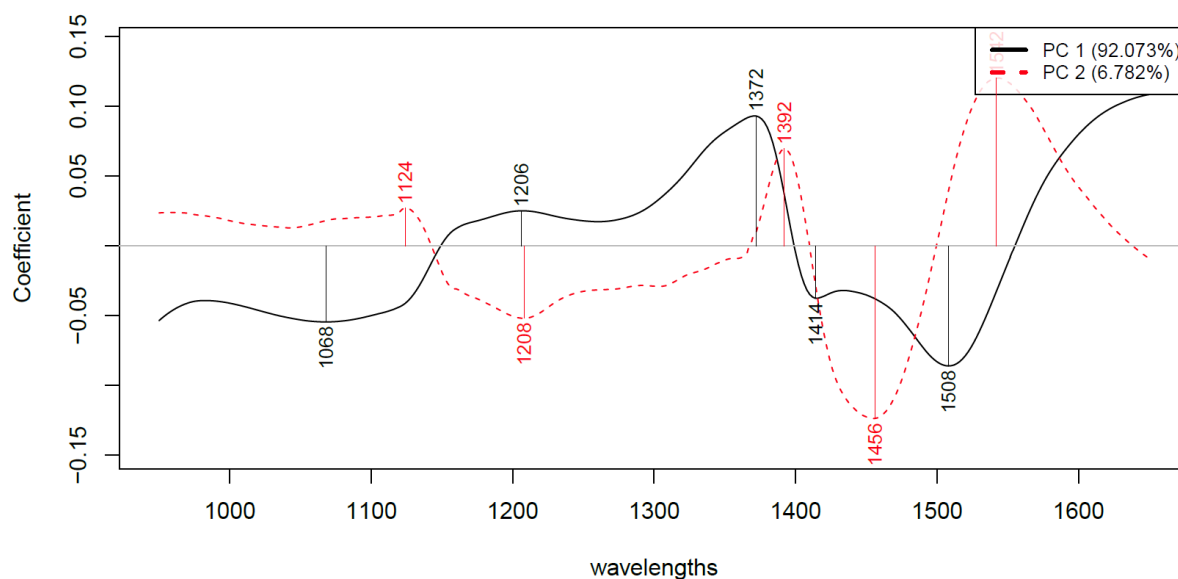
Az önálló ultrahangos mérésekhez hasonlóan, a kombinált kezelések hatását is megvizsgáltam NIR spektroszkópia segítségével. A nyers spektroszkópai adatokat zajszűrését Savitzky-Golay módszerrel, illetve a nem kívánt szóródást (scatter) MSC módszer alkalmazásával korrigáltam. Ebben az esetben is a mintánként 700 dimenziószámú (hullámhossz) spektrális adatot PCA segítségével csökkentettem, hogy értelmezhetőbb és kezelhetőbb legyen az adathalmaz.

A folyékony tojástermékek NIR-spektrumából készített PCA-modellek azt mutatják, hogy az első két főkomponens a variancia legalább 97,8%-át leírja mindhárom tojástermék esetében.

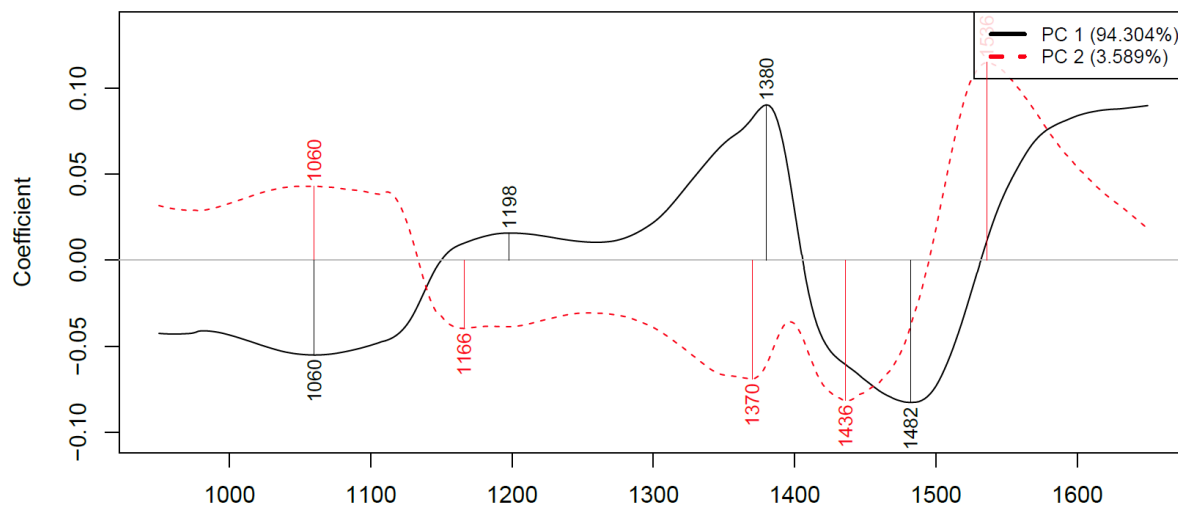
a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé



32. ábra: A kombinált kezelés PC1 és PC2 főkomponens kialakulásához hozzájáruló hullámhosszok, tojástermékenként (a. – tojásfehérje lé, b. – tojássárgája lé, c. – teljes tojáslé)

Az egyes hullámhosszok koefficiensei (32. ábra) alapján a 19. táblázatban gyűjtöttem össze azokat a hullámhosszokat, melyek a legnagyobb mértékben járultak hozzá a főkomponensek kialakulásához, kezelésenként. A korábbi, ultrahangos vizsgálatához hasonlóan ebben az esetben is a jellemző hullámhosszok segítségével következtethetünk azokra a kémiai csoportokra, melyekre hatással volt a kezelés. A kémiai csoportok hullámhossz összefüggéséről korábban már esett szó az önálló ultrahangos kezelés kiértékelésénél, az 5.1.2. fejezetben.

19. táblázat: PC1 és PC2 kialakulásához hozzájáruló hullámhosszok (kombinált kezelés)

Tojás termék	Kezelés	Hullámhossz			
		C-N	C-C	-OH	N-H
Tojásfehérje	20 kHz, 3.7 W	1068, 1086	1156, 1266	1366, 1466, 1530	-
	20 kHz, 6.9 W	1038	1146, 1288	1324, 1370, 1434, 1550	-
	40 kHz, 3.7 W	1082	1148, 1166, 1266	1344, 1388, 1462, 1550	-
	40 kHz, 6.9 W	1052	1158	1338, 1454	1562

Tojássárgája	20 kHz, 3.7 W	1064	1152, 1206, 1248	1376, 1400, 1504, 1512	-
	20 kHz, 6.9 W	1046, 1068	1156, 1206	1372, 1384, 1410, 1514	-
	40 kHz, 3.7 W	1066	1154, 1206, 1224	1370, 1396, 1416, 1510	-
	40 kHz, 6.9 W	1064	1206	1374, 1398, 1416, 1506	1624
Teljes tojáslé	20 kHz, 3.7 W	1062	1188, 1206	1308, 1380, 1494, 1556	-
	20 kHz, 6.9 W	976, 1060	1112, 1190, 1210	1382, 1496	-
	40 kHz, 3.7 W	1060	1154, 1188	1382, 1498, 1544	1626
	40 kHz, 6.9 W	1056, 1060	1192	1376,1398,1494	1554, 1608, 1624

5.2.2.1 NIR spektrumok elemzése az Aquaphotomics módszerével

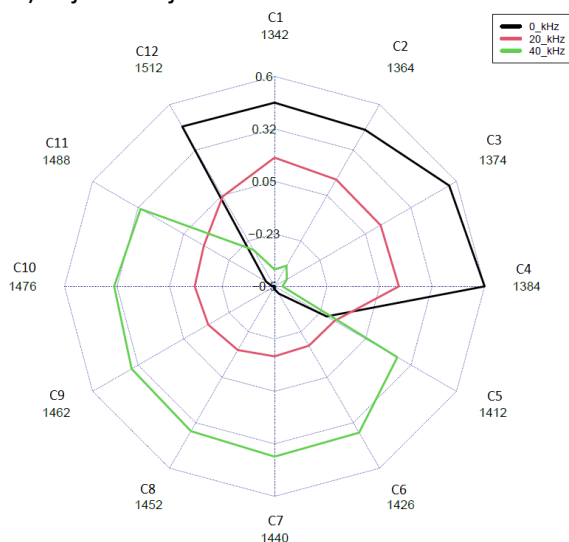
Az önálló ultrahangos kezelések vizsgálatához hasonlóan a kombinált kezeléseknél is érdemes megvizsgálni az 1300-1600 nm hullámhossz tartományt aquaphotomics segítségével.

A 33. ábra a három tojástermék aquagramjai található a frekvencia függvényében. A tojásfehérje esetében (33/a ábra) a C1, C2, C3, C4 (1336-1388 nm) és C12 (1506-1516 nm) Vízmatrix koordinátákon a frekvencia növekedésével fordított abszorpciós tendencia mutatkozik meg. Ez jellemzően arra utal, hogy a víz aszimmetrikus - és szimmetrikus rezgései csökkennek (Tsenkova, 2009) a kezelések frekvenciájának növekedésével. Ezzel ellentétesen a C5-C11 (1398-1495 nm) tartomány növekvő tendenciája a sok hidrogénkötéssel rendelkező vízmolekulák, valamint a mintákban levő szabad víz növekedésére utal. Ez egybevág a C12 tartomány abszorbancia csökkenésével, mivel ez a kevesebb erősen kötött víztartalomra utal (Muncan, 2019).

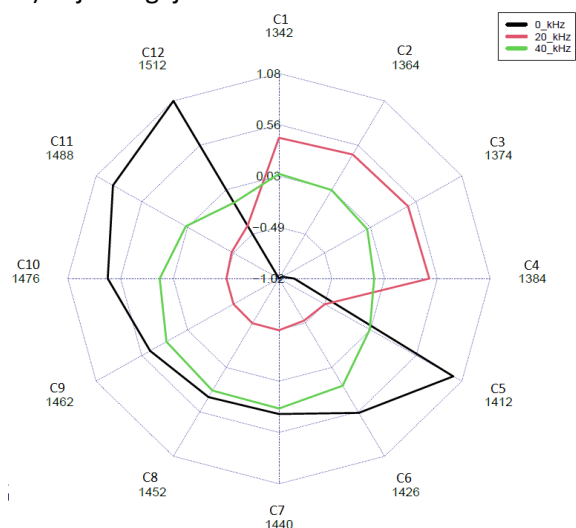
A tojássárgája esetében, a 33/b ábrán látható aquagramon látszik, hogy nincs olyan hullámhossz, ahol az abszorbancia a frekvencia növekedésének megfelelően szisztematikusan csökken vagy növekszik.

A teljes tojáslé esetében (33/c ábra) sem beszélhetünk szoros kapcsolatról a frekvencia tekintetében, azonban a kezelt minták nagyon hasonló abszorbancia szintekkel rendelkeznek, rendkívül hasonló mintázatot kialakítva, mely arra utalhat, hogy inkább csak a hőhatás érvényesült a frekvenciától függetlenül.

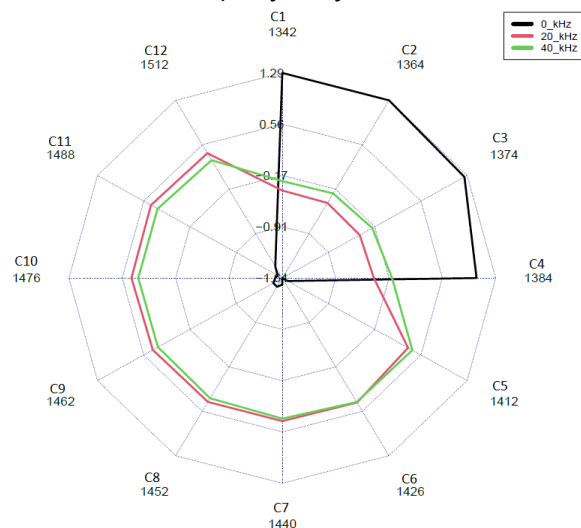
a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé



33. ábra: Kombinált kezelések aquagramjai a frekvencia tekintetében (a – Tojásfehérje lé; b – Tojássárgája lé; c – Teljes tojáslé)

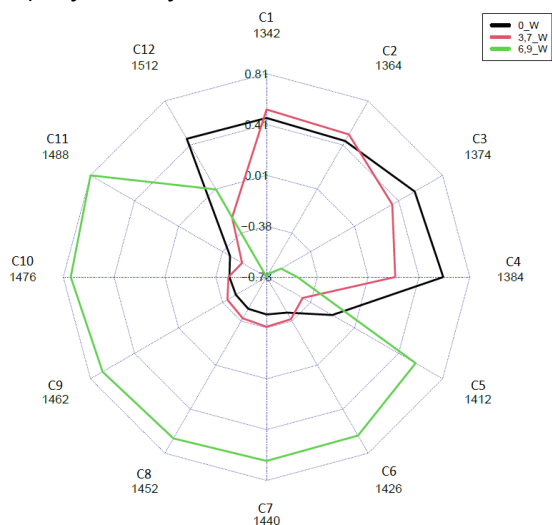
A kezelések hatásos teljesítménye alapján készült aquagramok a 34. ábra láthatók. A tojásfehérje esetében (34/a ábra) hatásos teljesítmény növekedése a C3, C4 esetében csökkenő -, valamint a C6-C9 növekvő tendenciát eredményezett. Ez alapján a kezelések teljesítmény-növelés hatására a molekulák szimmetrikus – és aszimmetrikus rezgésekben következett be változás.

A tojássárgája esetében (34/b ábra) nincs olyan tendencia egyik hullámhosszon sem, ahol a hatásos teljesítmény növekedése monoton növekedést vagy csökkenést okoz az abszorbanca értékekben.

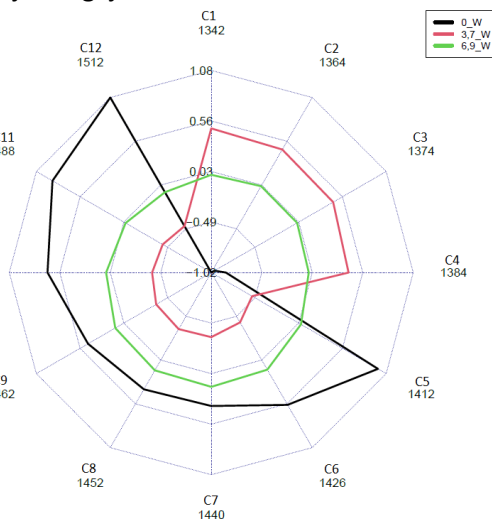
A teljes tojáslé (34/c ábra) minden vízmátrix koordinátáján megfigyelhetünk valamilyen tendenciát. A C1-C4-ig tartó tartományban a teljesítmény növekedésével elletétesen, míg a C5-C12-ig annak megfelelően növekszik a minták abszorbanciája. Ezek a változások arra utalnak, hogy a teljes tojáslé szerkezetében levő gyengébb hidrogénkötések száma, illetve a lazán kötő víz

menyisége csökken, míg az erősen kötő vízmolekulák száma növekszik, mely egy rendezettebb struktúra kialakulására utal.

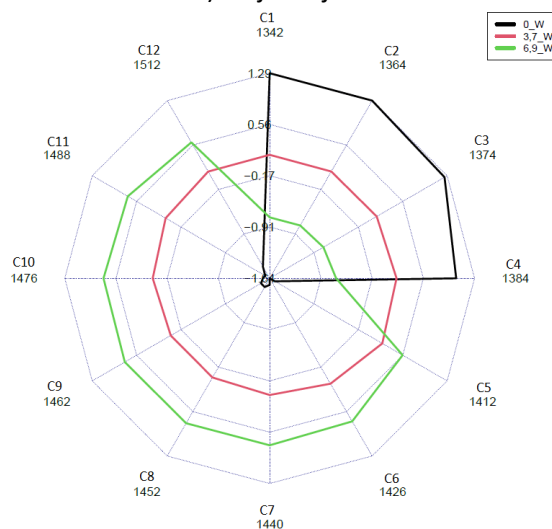
a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé



34. ábra: Kombinált kezelések aquagramjai a teljesítmény tekintetében (a – Tojásfehérje lé; b – Tojássárgája lé; c – Teljes tojáslé)

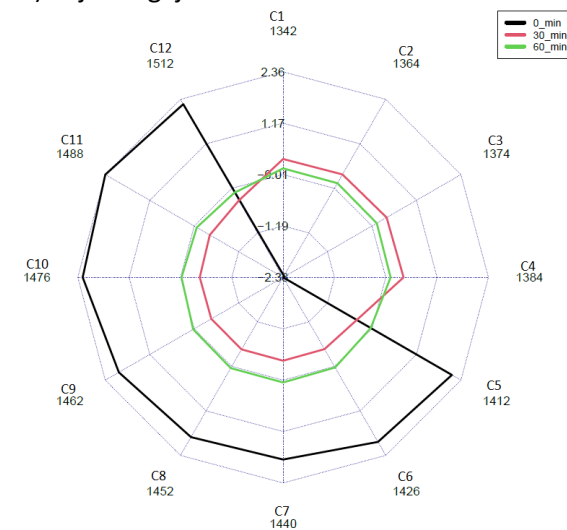
A kezelési időket vizsgálva (35. ábra) a tojásfehérje lé esetében (35/a ábra) a C1-C4 tartományban a kezelési idő növekedésével csökken a minták abszorbanciája, mely a hidroxidionok és egyéb ionos részecskék hidratburkának, illetve a lazán kötött víz csökkenésére utal (Muncan & Tsenkova, 2019). A C5-C11-ig növekvő tendenciájú, ami az 1-4 hidrogénkötést tartalmazó vízmolekulák arányának, valamint a közepesen erős és erős hidrogénkötések, illetve a szabad víz növekedésére utal a rendszerben. Érdeklőség, hogy nem csak a lazán kötött, hanem az erősen kötött víz mennyisége is csökken a rendszerben, a C12-es tartomány abszorbancia értékei alapján.

A tojássárgája (35/b ábra) és a teljes tojáslé (35/c ábra) esetében nem beszélhetünk egyértelmű tendenciákról, azonban a 30 és 60 percg kezelt minták nagyon hasonló mintázatot mutatnak, mely arra utal, hogy a kezelési időtől függetlenül következett be változás a WAMACS tartományokban.

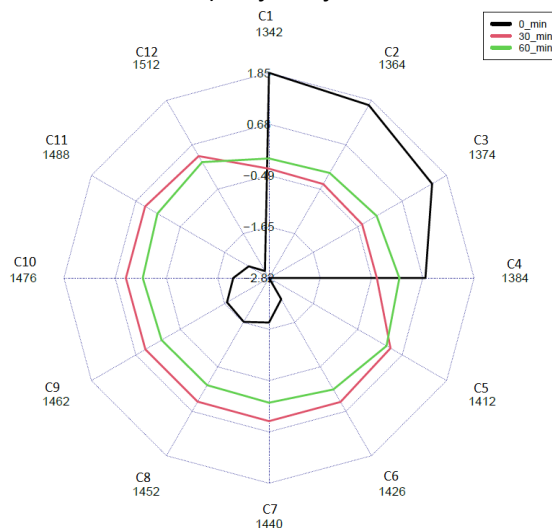
a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé

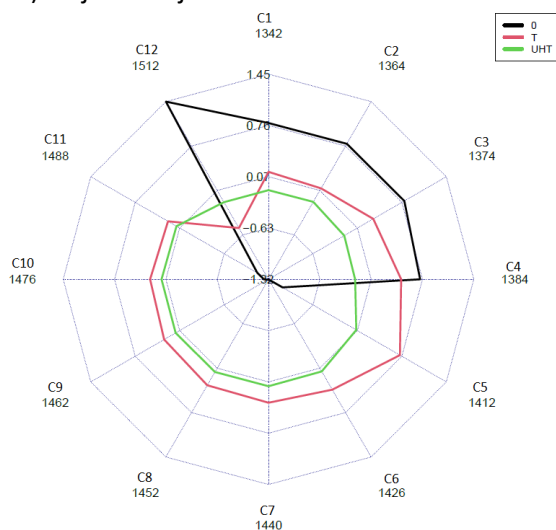


35. ábra: Kombinált kezelések aquagramjai a kezelési idő tekintetében (a – Tojásfehérje lé; b – Tojássárgája lé; c – Teljes tojáslé)

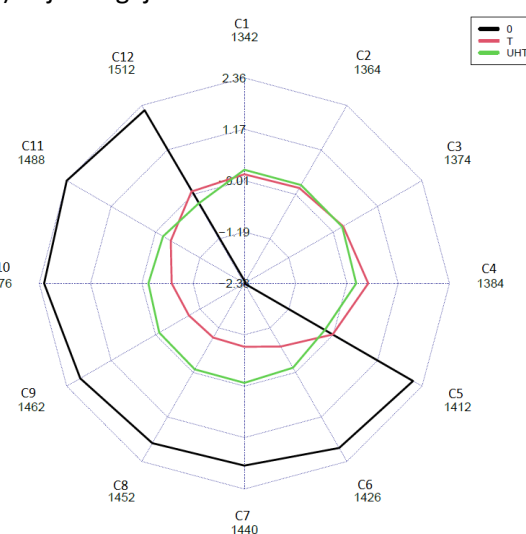
A kezeletlen (0), csak hővel kezelt (T) és kombinált kezelésen (UHT) átesett tojáslevek abszorbanciája (36. ábra) között nehéz tendenciákról beszélni, mivel nem számszerűsíthető, hogy mennyivel több vagy kevesebb a kombinált kezelés a hőkezeléshez képest, viszont a mintázatok alapján elmondható, hogy a kezelések változást okoztak a teljes spektrum abszorbanciájában, minden tojástermék esetében. Továbbá látható, hogy az abszorbancia változások a kezeléstől függetlenül ugyanolyan (csökkenő/növekvő) tendenciát vesznek fel a kontroll mintákhoz képest.

(Például a tojásfehérce C1-C4 (+C12) tartományában a kezelés hatására csökken, míg a C5-C11 tartományban növekszik a minták abszorbanciája a kezeléstől függetlenül.)

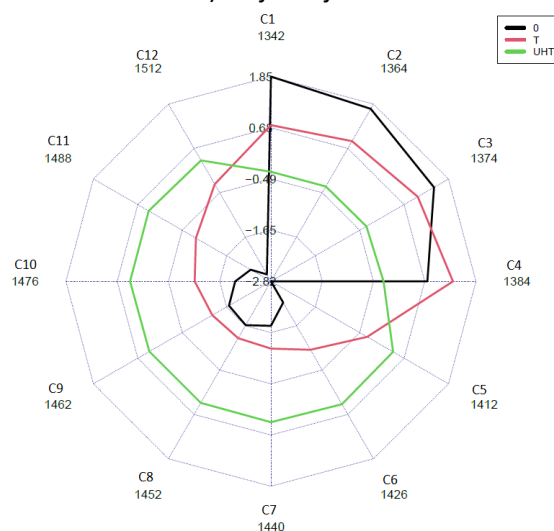
a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojásle



36. ábra: Kombinált kezelések aquagramjai a kezelések tekintetében (a – Tojásfehérje lé; b – Tojássárgája lé; c – Teljes tojásle)

Az aquagramokon jól látszik, hogy a kombinált kezelések és emellett az enyhe hőkezelések önmagukban is, változásokat okoznak a tojástermékek abszorbancia értékeiben a vízmátrix koordinátákon. Tsenkova (2008) és Muncan (2019) kutatásai alapján kijelenthetjük, hogy ezek az eredmények összekapcsolhatók a tojáslevelekben bekövetkező molekuláris változásokkal, így bár a kombinált kezelés sikeresen csökkentette a mintákban levő *E. coli* mennyiségét, a tojáslevek molekuláris szerkezetében is változásokat okozott. Kiemelendő, hogy a kíméletes, 55°C-os hőkezelés önmagában semmilyen hatással nem volt a tojástermékekben levő baktérium számra, azonban a minták közeli infravörös spektrumában változásokat okozott.

5.2.2.2 NIR spektrumok elemzése lineáris diszkriminancia analízissel

A kombinált kezelések hatását tovább vizsgálom Lineáris diszkriminancia analízis (LDA) segítségével, hogy kiderítsem a különböző paramétereken kezelt csoportok elkülöníthetők-e egymástól. A túlilleszkedés elkerülése érdekében, ebben az esetben is a PCA által kapott értékeket használom fel.

A különböző tojástermékek, a kombinált kezelés egyes paraméterei alapján kapott LDA modelljeinek validációs és predikciós pontosságát (20. táblázat) az alábbi táblázatban foglaltam össze:

20. táblázat: LDA predikciós és validációs modelljeinek pontossága a kezelés egyes paraméterei alapján

Csoport	Paraméter	Validáció	Predikció
Tojásfehérje	Frekvencia	87,96 %	86,08 %
	Teljesítmény	100 %	100 %
	Idő	71,30 %	71,30 %
	Dózis	100 %	100 %
	Hőkezelés		
	(UH+hő/Hő/kontroll)*	61,78 %	65,28 %
Tojássárgája	Frekvencia	99,07 %	99,08 %
	Teljesítmény	95,83 %	94,45 %
	Idő	90,28 %	87,97 %
	Dózis	94,47 %	94,46 %
	Hőkezelés		
	(UH+hő/Hő/kontroll)*	99,77 %	100 %
Teljes tojáslé	Frekvencia	75,44 %	75,91 %
	Teljesítmény	85,19 %	82,37 %
	Idő	72,88 %	75,23 %
	Dózis	85,26 %	82,38 %
	Hőkezelés		
	(UH+hő/Hő/kontroll)*	94,89 %	94,94 %

*UH+hő – kombinált kezelés; Hő – 55°C hőkezelés; kontroll - kontroll

A tojásfehérje esetében az osztályozási modellek csoportonként (21. táblázat) kalibrációs pontossága 64,72 %-os, illetve validációs pontossága 63,1 %-os. A kontrollcsoport és a hőkezelt csoport jelentős átfedésben van a 20/40 kHz-en és 3,7 W-on 30 percig kezelt mintákkal (I és J csoport). Bár az I (3,7 W; 20 kHz; 30 perc) csoportban a legnagyobb az átfedés a 40 kHz-en és 3,7 W-on 30 percig kezelt mintákkal (J), ami azt jelzi, hogy az ultrahangos kezelés erőssége befolyásolta a mintákat. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy a 30 percig 6,9 W-on kezelt minták (K és L) az LDA szerint nem mutattak hasonlóságot ezekkel a csoportokkal.

Másrészt a 60 percig kezelt minták egyértelműen megkülönböztethetők voltak a 30 percig kezelt mintáktól (I, J, K, L vs. M, N, O, P). Ez a megfigyelés arra utalt, hogy az ultrahang teljesítménye

és a kezelési idő nagyobb hatással volt a mintákra, mint a kezelési frekvencia a tojásfehérje esetében.

21. táblázat: A tojásfehérje minták lineáris diszkriminancia-elemzésének osztályozási pontossága csoportonként, %

Tojás fehérje	K1 Kontroll	Hő (0 W; 0 kHz; 60 perc)	I (3.7 W; 20 kHz; 30 perc)	J (3.7 W; 40 kHz; 30 perc)	K (6.9 W; 20 kHz; 30 perc)	L (6.9 W; 40 kHz; 30 perc)	M (3.7 W; 20 kHz; 60perc)	N (3.7 W; 40 kHz; 60 perc)	O (6.9 W; 20 kHz; 60 perc)	P (6.9 W; 40 kHz; 60perc)
K1	49,44	2,31	3,01	2,75	0	0	0	0	0	0
K2	2,42	50	5,58	16,67	0	0	0	0	0	0
I	44,62	42,07	50	11,08	0	0	0	0	0	0
J	3,52	5,62	41,41	63,92	0	0	0	0	0	0
K	0	0	0	0	88,92	45,26	2,75	0	0	8,33
L	0	0	0	0	0	50	0	38,92	0	0
M	0	0	0	0	0	4,74	97,25	0	0	0
N	0	0	0	0	8,33	0	0	50	0	0
O	0	0	0	0	0	0	0	0	100	41,67
P	0	0	0	5,58	2,75	0	0	11,08	0	50

A tojássárgája lineáris diszkriminancia analízise során kapott modellek (22. táblázat) kalibrációs pontossága 70,53%, míg validációs pontosságuk 71,38%-os.

Ebben az esetben a kontrollcsoport nem mutatott átfedést egyetlen más csoporttal sem. Az LDA eredmények azt mutatják, hogy a tojásfehérjéhez hasonlóan a 30 percig kezelt minták különböznek a 60 percig kezelt csoportoktól. Bár a 60 perces csoportokban van némi átfedés, a modell nagy pontosságot mutatott a kezelési idő szempontjából. A 30 perces csoportokat azonban nem lehetett egyértelműen megkülönböztetni egymástól és a hőkezelt csoporttól (K2 mint 0 kW, 0 kHz, 60 perc).

A különböző frekvenciaszintek a sárgájára (M, N, O, P csoportok) jelentősebb hatást gyakorolt, mely abból látszik, hogy a 60 perces kezelések között a 20 kHz-en kezelt csoportok 100%-ban elkülönülnek a többi csoporttól, míg a 40 kHz-en kezelt csoportok átfedést mutatnak.

22. táblázat: A tojássárgája minták lineáris diszkriminancia-elemzésének osztályozási pontossága csoportonként, %

Tojás Sárgája	K1 Kontroll	Hő (0 W; 0 kHz; 60 perc)	I (3.7 W; 20 kHz; 30 perc)	J (3.7 W; 40 kHz; 30 perc)	K (6.9 W; 20 kHz; 30 perc)	L (6.9 W; 40 kHz; 30 perc)	M (3.7 W; 20 kHz; 60perc)	N (3.7 W; 40 kHz; 60 perc)	O (6.9 W; 20 kHz; 60 perc)	P (6.9 W; 40 kHz; 60perc)
K1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K2	0	72,25	33,33	44,46	0	38,92	0	0	0	5,58
I	0	27,75	50	0	16,67	0	0	0	0	0
J	0	0	0	52,79	0	11,08	0	0	0	5,58
K	0	0	16,67	0	50	0	0	0	0	0
L	0	0	0	0	33,33	50	0	0	0	0
M	0	0	0	2,75	0	0	100	50	0	0
N	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0
O	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88,84

A teljes tojáslé minták kalibrációs és validációs modelljében 77,2 3%-os osztályozási pontosságot tapasztaltam (23. táblázat). A modell legszembetűnőbb eredménye, hogy az ultrahanggal és enyhe hővel 60 percig kezelt minták (M, N, O és P) egyáltalán nem mutatnak átfedést. Bár néhány 30 percig kezelt csoport (I és K) átfedést mutat a 60 percig kezelt csoportokkal, a 30 perces csoportok esetében a pontosság csökkenése figyelhető meg. Az I (3,7 W; 20 kHz; 30 perc) és J (3,7 W; 40 kHz; 30 perc) még a kontroll csoportokkal is átfedést mutatnak, de a kezeletlen csoport (K1) egyértelműen megkülönböztethető a többi csoporttól. Az LDA-modell szerint a csak 55 °C-on hővel kezelt minták mutatnak hasonlóságot a 30 percig kezelt tojáslevekkel (J, K és L). Ezek a megfigyelések alátámasztják a korábbi hipotézist, miszerint a 30 perces kombinált kezelés során csak a hő volt a legbefolyásosabb tényező a minták jellemzőjének megváltoztatásában, de a 60 perces kezelés során mind a teljesítmény, mind a frekvencia észrevehető hatással volt a tojáslevek minőségére.

23. táblázat: A teljes tojáslé minták lineáris diszkriminancia-elemzésének osztályozási pontossága csoportonként, %

Teljes tojáslé	K1 Kontroll	Hő (0 W; 0 kHz; 60 perc)	I (3.7 W; 20 kHz; 30 perc)	J (3.7 W; 40 kHz; 30 perc)	K (6.9 W; 20 kHz; 30 perc)	L (6.9 W; 40 kHz; 30 perc)	M (3.7 W; 20 kHz; 60perc)	N (3.7 W; 40 kHz; 60 perc)	O (6.9 W; 20 kHz; 60 perc)	P (6.9 W; 40 kHz; 60perc)
K1	91,67	0	27,75	44,42	0	0	0	0	0	0
K2	0	38,92	0	0	8,33	22,25	0	0	0	0
I	2,75	0	47,25	0	0	0	0	0	0	0
J	5,58	47,25	0	55,58	0	0	0	0	0	0
K	0	11,08	0	0	61,08	0	0	0	0	0
L	0	2,75	19,42	0	13,92	77,75	0	0	0	0
M	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0
N	0	0	5,58	0	0	0	0	100	0	0
O	0	0	0	0	16,67	0	0	0	100	0
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

Összességében az LDA-modellek azt mutatták, hogy az ultrahangos kezelés időtartama a legbefolyásolóbb paraméter a tojástermékek spektrális jellemzőinek változása szempontjából. A kísérletek során megfigyeltem, hogy a kombinált kezelés képes csökkenteni a mesterségesen befertőzött tojásmintákban az *E. coli* számát olyan mértékben, ami megfelel az Egészségügyi Minisztérium által meghatározott (4/1998 (XI.11.) EÜM), illetve az európai jogszabályban leírtaknak ((EC) No 2073/2005, $m < 10$ CFU/ml). A NIR-mérések azonban azt mutatták, hogy a kezelés változásokat eredményez a különböző tojástermékek spektrális tulajdonságaiban, így döntő fontosságú az optimális kezelési paraméterek megválasztása.

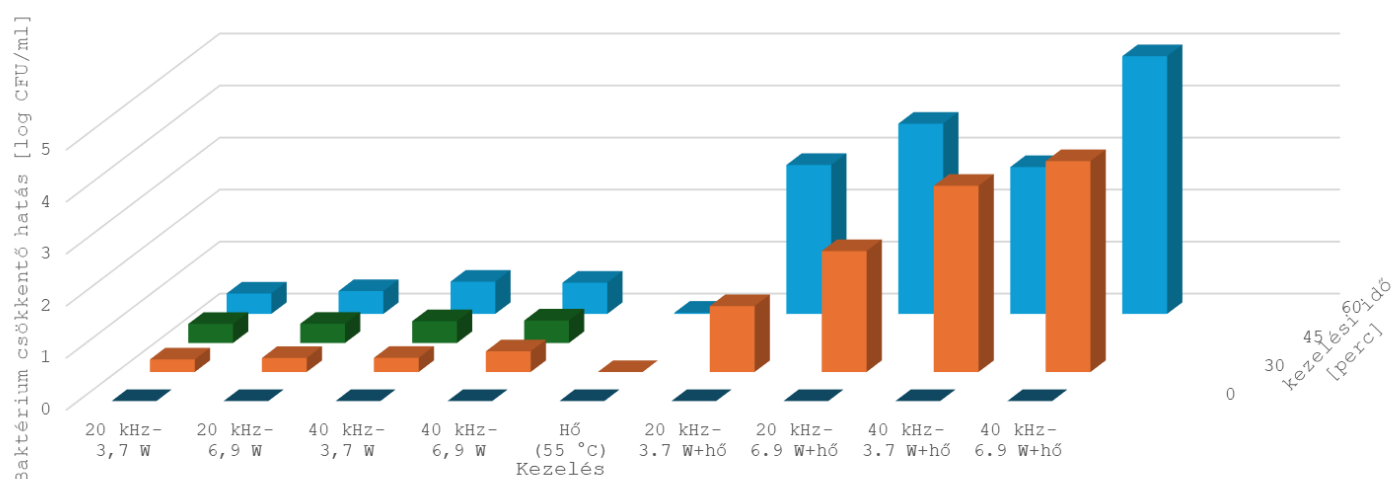
5.3 Az önálló ultrahangos és kombinált kezelések összehasonlítása

5.3.1 Mikrobiológiai vizsgálatok

Az előző fejezetekben láhattuk, hogy mind az önálló ultrahangos, mind a kombinált kezelés szignifikáns hatással van a tojáslevekben található *E. coli* számra. A továbbiakban két fajta kezelés hatását hasonlítom össze.

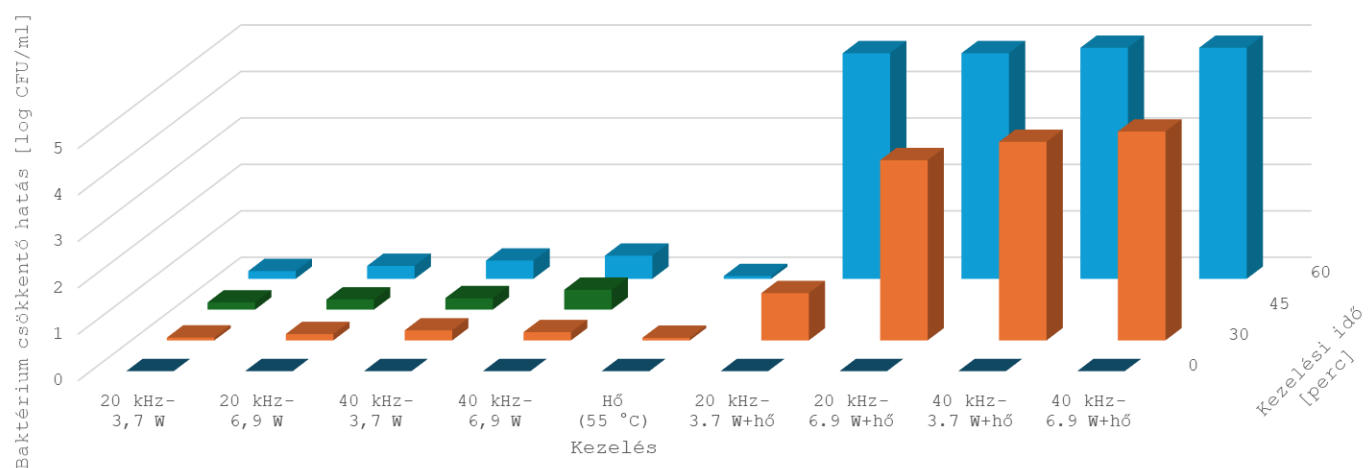
A 37. ábra, 38. ábra és 39. ábra. ábrákon a tojásfehérje -, tojássárgája- és teljes tojáslé esetében a különböző kezelések baktériumcsökkentő hatása láthatók, melyen egyértelműen látszik a két kezelés hatása közötti különbség. Az önálló kezelések mutattak ugyan baktériumölő hatást, viszont a kombinált kezelések hatásának mértéke ennek sokszorosa mindhárom tojástermék esetében. Érdekes megfigyelni, hogy a csak 55 °C-on hőkezelt csoportok esetében, kezelési időtől függetlenül semmilyen hatással nem voltak a tojáslevek *E. coli* tartalmára egyik tojástermék esetében sem.

Tojásfehérje lé

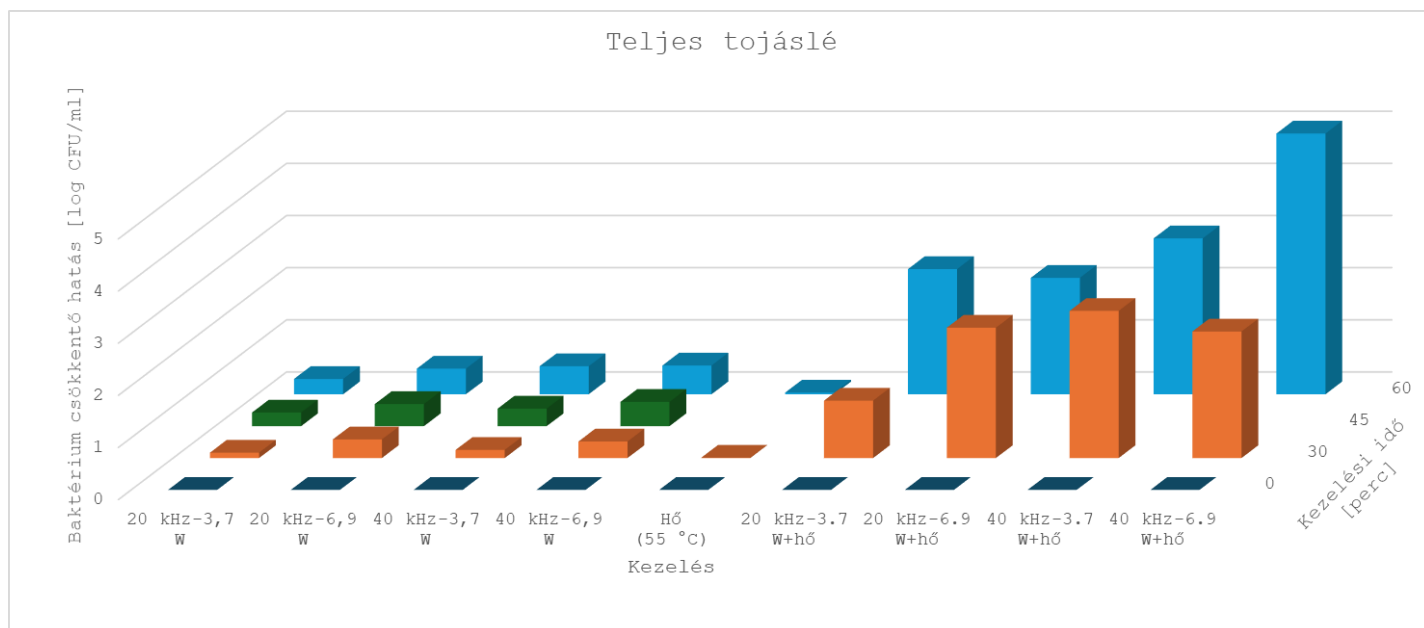


37. ábra: A különböző kezelések baktericid hatása tojásfehérje lé esetében

Tojássárgája lé



38. ábra: A különböző kezelések baktericid hatása tojássárgája lé esetében

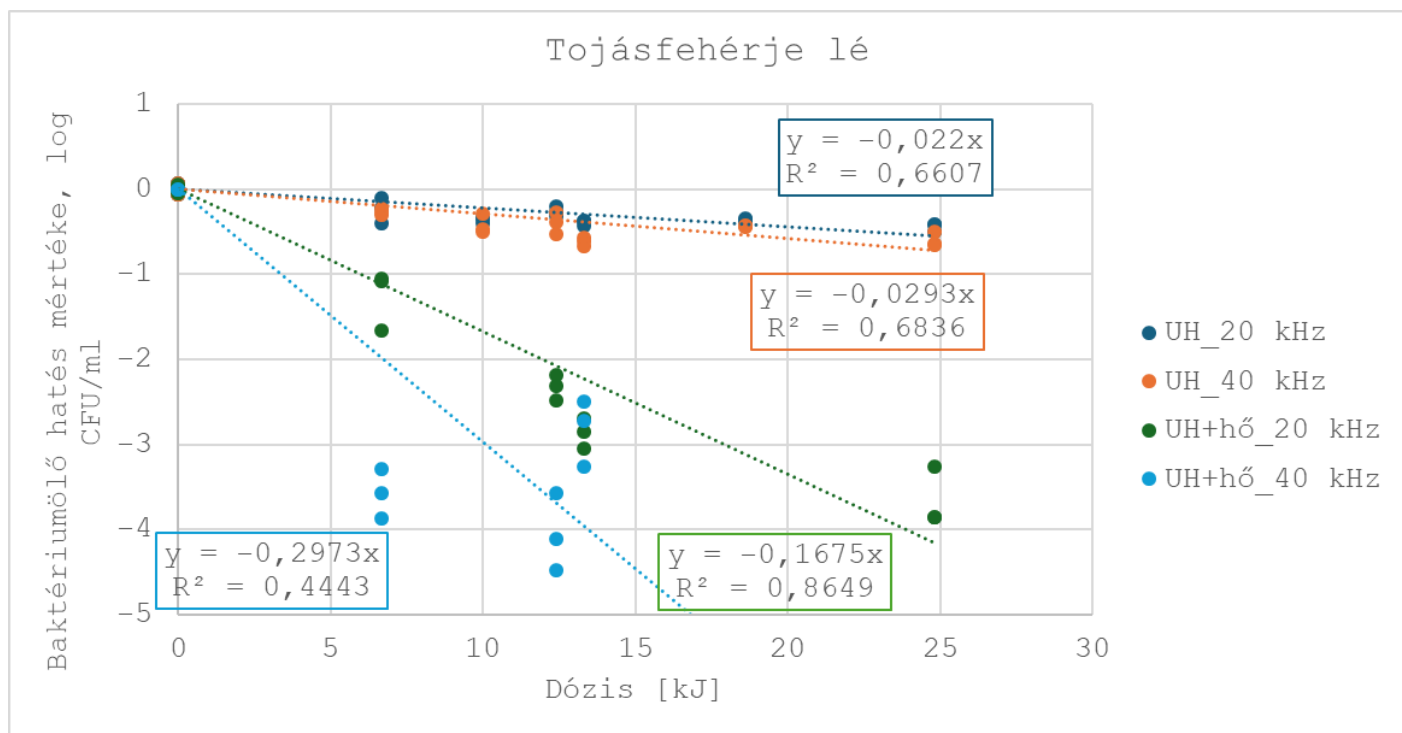


39. ábra: A különböző kezelések baktericid hatása teljes tojászlé esetében

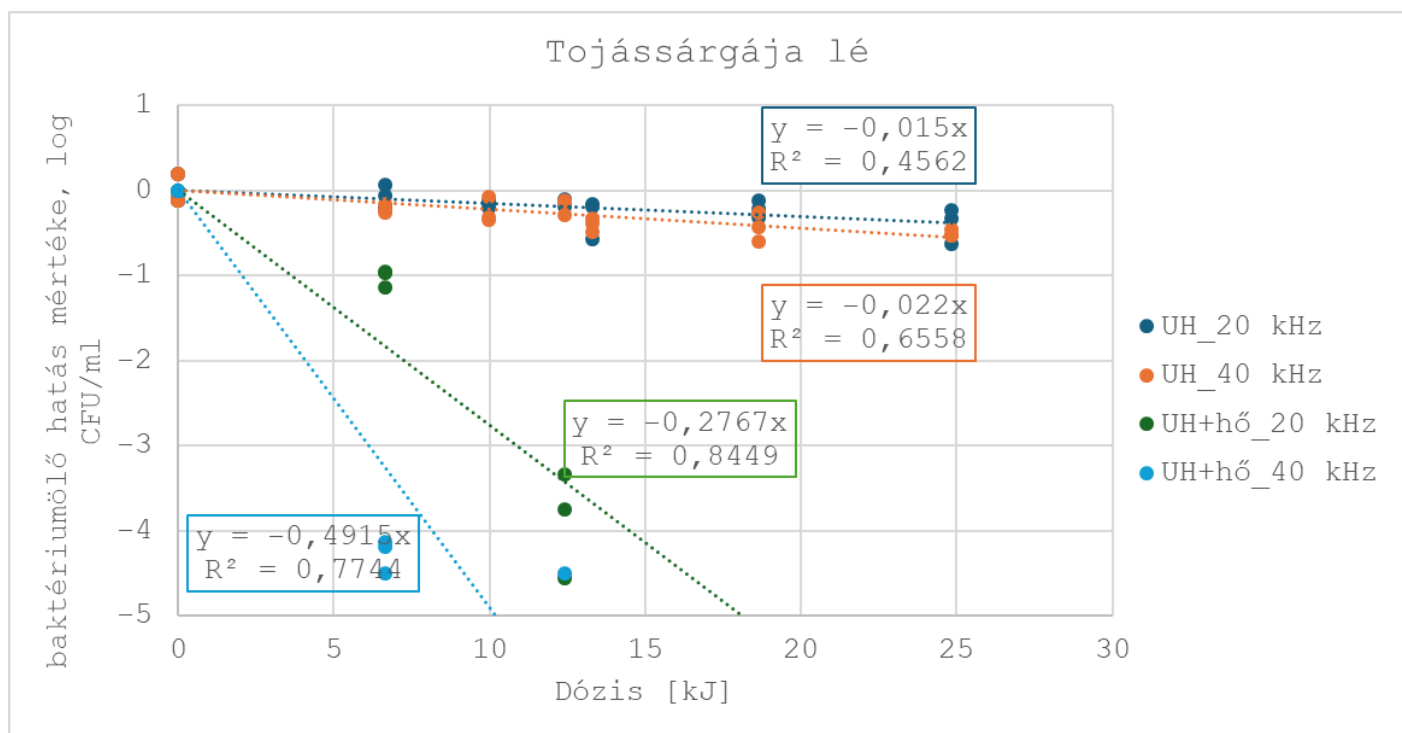
A kombinált kezelés képes volt a baktériumszámot 5 log CFU/ml-el csökkenteni mindhárom tojászlé esetében. A tojássárgája *E. coli* tartalma már 20 kHz, 3,7 W teljesítményű 60 perces kombinált kezelés esetében is a kimutathatósági határ alá csökkent, mely az önálló kezelés esetében nem mondható el.

Modellt illesztve a kezelés dózisára és a baktérium számának csökkenésre (40. ábra, 41. ábra, 42. ábra) minden esetben negatív korrelációt tapasztaltam.

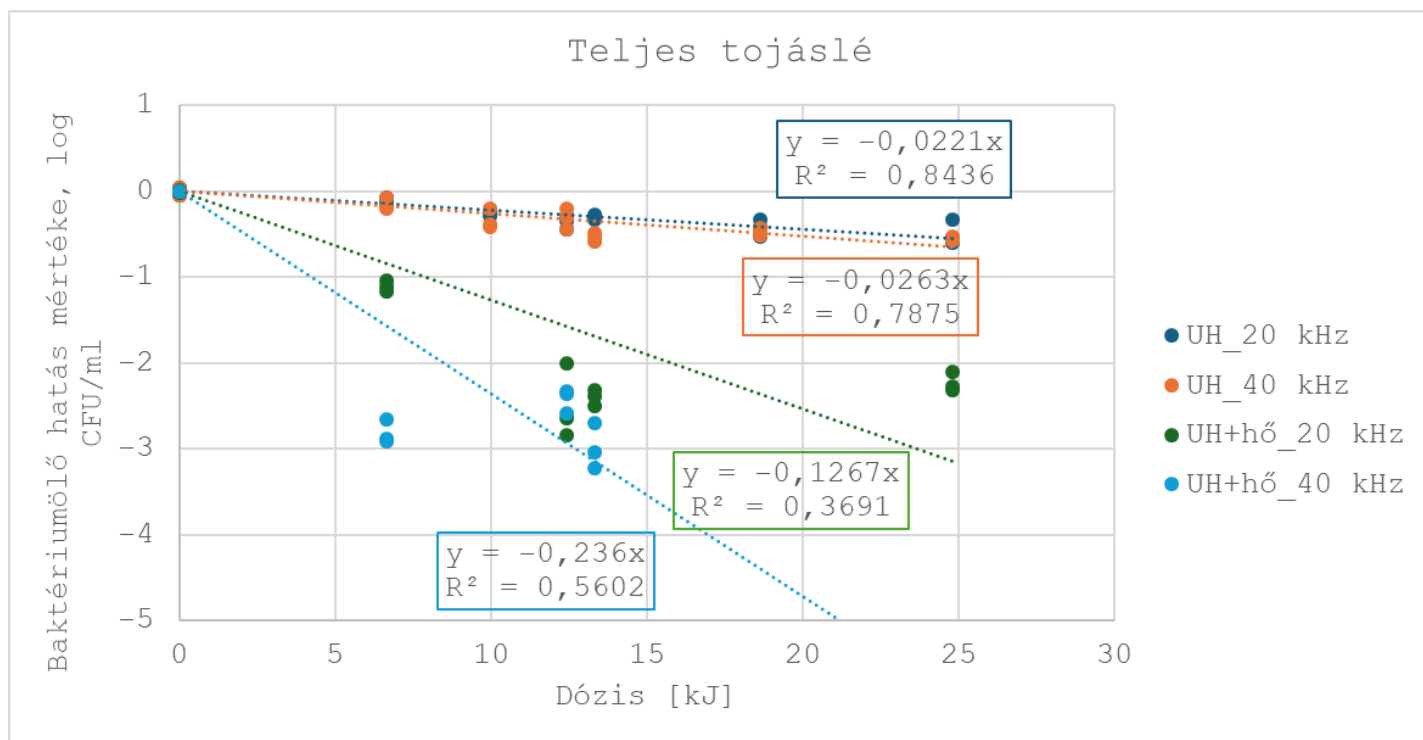
$$\log \text{CFU/ml} = m * \text{Dózis [kJ]} \quad (4)$$



40. ábra: Baktériumölő hatás és dózis kapcsolatának modelljei az önálló ultrahangos kezelés és a kombinált kezelés esetében 20 kHz és 40 kHz vonatkozásában tojásfehérje lé esetében



41. ábra: Baktériumölő hatás és dózis kapcsolatának modelljei az önálló ultrahangos kezelés és a kombinált kezelés esetében 20 kHz és 40 kHz vonatkozásában tojássárgája lé esetében



42. ábra: Baktériumölő hatás és dózis kapcsolatának modelljei az önálló ultrahangos kezelés és a kombinált kezelés esetében 20 kHz és 40 kHz vonatkozásában teljes tojásle esetében

A kombinált kezelések modelljei minden esetben nagyobb meredekséget mutatnak, mint a csak ultrahanggal kezelt minták modelljei. A meredekségeket (24. táblázat) vizsgálva szignifikáns különbségeket tapasztaltam mind a 20 kHz, mind a 40 kHz esetében. A szignifikáns különbség nem csak a két kezelési módszer (azonos frekvencián) között mutatkozik meg. Jelentős a különbség a kombinált kezelés 20 és 40 kHz-es kezelése között is. Ugyanez tapasztalható az önálló ultrahangos kezeléseket esetében is, mely alól egyedül a teljes tojásle a kivétel.

24. táblázat: Lineáris modellek meredekségei

Kezelés	Tojás fehérje le	Tojássárgája le	Teljes tojásle
UH, 20kHz	-0,0219a	-0,0149a	-0,0220a
UH, 40kHz	-0,0292b	-0,0220b	-0,0262a
UH+hő, 20kHz	-0,1674c	-0,2766c	-0,1266b
UH+hő, 40kHz	-0,2972d	-0,4914d	-0,2359c

A modellek alapján megbecsülhető az egyes kezelésekre szükséges ideje a tojástermékekben található *E. coli* számának kimutathatósági határ alá csökkentéséhez (25. táblázat).

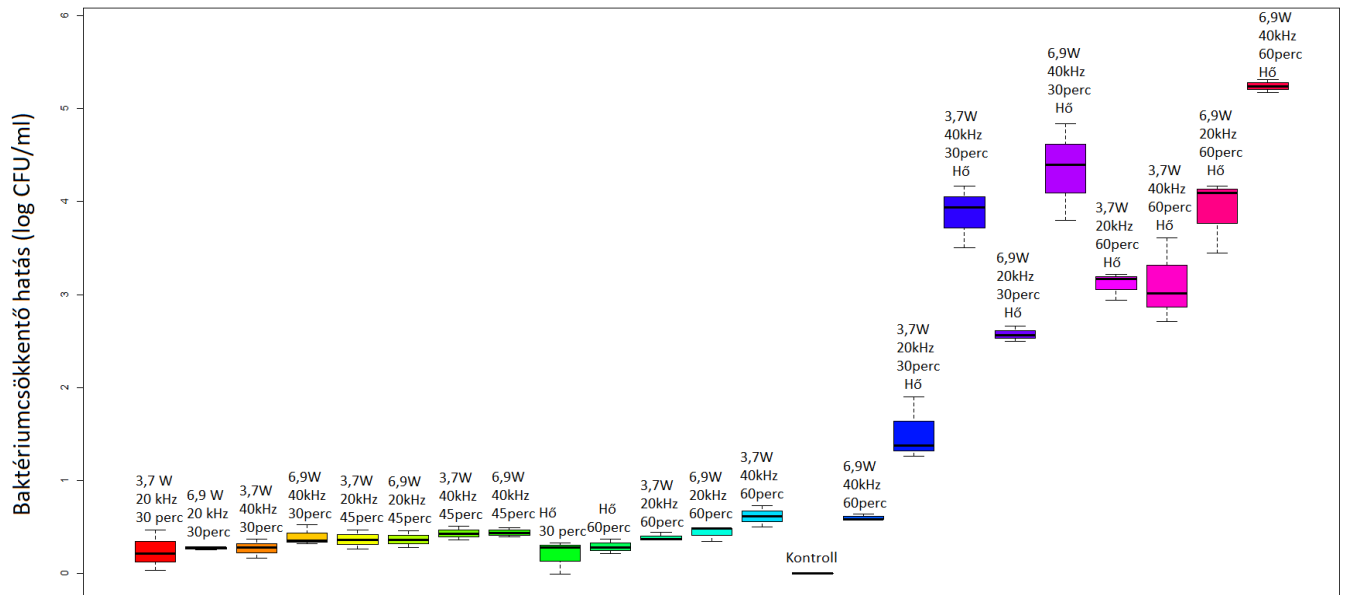
25. táblázat: *E. coli* kimutathatósági határ alá csökkentéséhez szükséges becsült idő

Típus	Frekvencia	3,7 W	6,9 W
		Becsült idő, perc	
Tojásfehérje lé	UH 20 kHz	1023,8	549,0
	UH 40 kHz	768,7	412,2
	UH+hő 20 kHz	134,5	72,1
	UH+hő 40 kHz	75,8	40,6
Tojássárgája lé	UH 20 kHz	1501,5	805,2
	UH 40 kHz	1023,8	549,0
	UH+hő 20 kHz	81,4	43,6
	UH+hő 40 kHz	45,8	24,6
Teljes tojáslé	UH 20 kHz	1019,1	546,5
	UH 40 kHz	856,4	459,2
	UH+hő 20 kHz	177,8	95,3
	UH+hő 40 kHz	95,4	51,2

A becsült időkből is látszik, hogy minden esetben a 6,9 W-on és 40 kHz-es kezelésekhez szükséges a legkevesebb kezelési idő ahhoz, hogy elérjük az 5 log CFU/ml mennyiségű baktérium csökkenést. Az önálló ultrahangos kezelések esetében a szükséges kezelési idő nagyon magas (412-805 perc), mely ipari környezetben nem ésszerű. Bár a kezelés intenzitásának (dózis) fokozásával ez az idő csökkenthető, ez potenciálisan nem kívánt változásokat idézhet elő a tojáslevekben. A hő és az ultrahang kombinált kezelése azonban töredékére csökkenti a tojástermékek kezelési időszükségét a baktériumszám kimutathatósági határ alá csökkentéséhez.

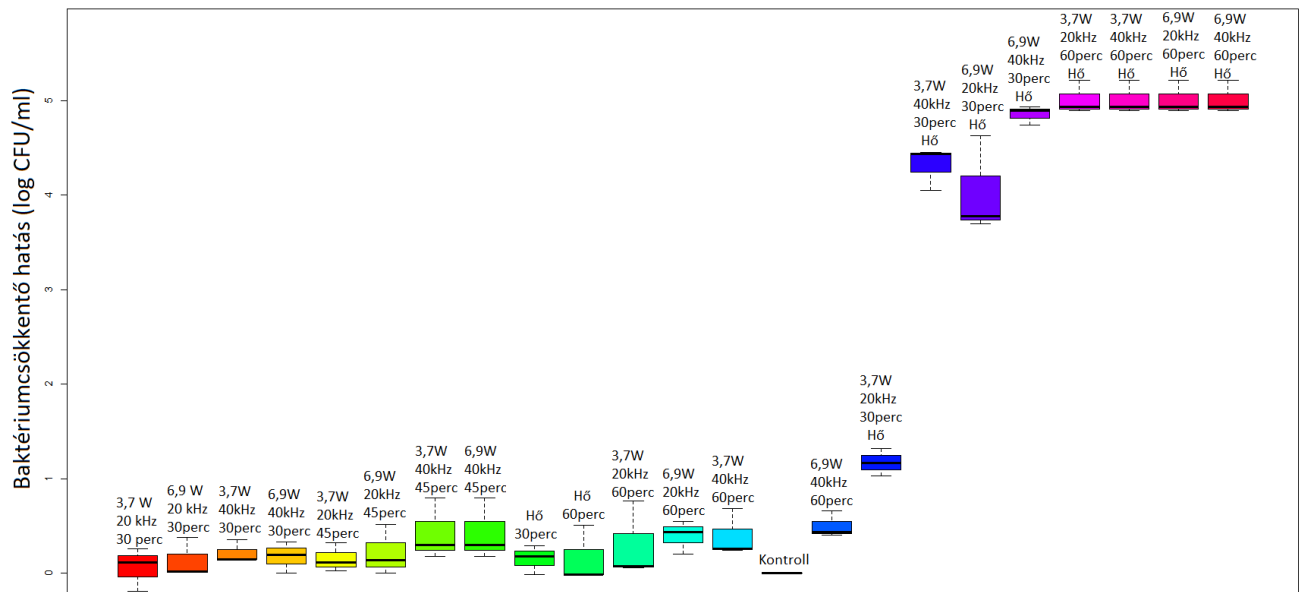
Összevetve a két kezelési módszert egymással, illetve a csak hőkezeléssel és kontroll csoporttal a Tukey teszt statisztikailag szignifikáns különbségeket mutatott ki ($p < 0,05$) baktericid hatékonyságban a tojástermékek – a tojássárgája, tojásfehérje és teljes tojáslé – között (43. ábra 44. ábra 45. ábra). Ezzel szemben a hőkezelés nem mutatott szignifikáns baktericid hatást a kontroll mintákhoz képest, egyik tojásterméknél sem.

Tojásfehérje lé

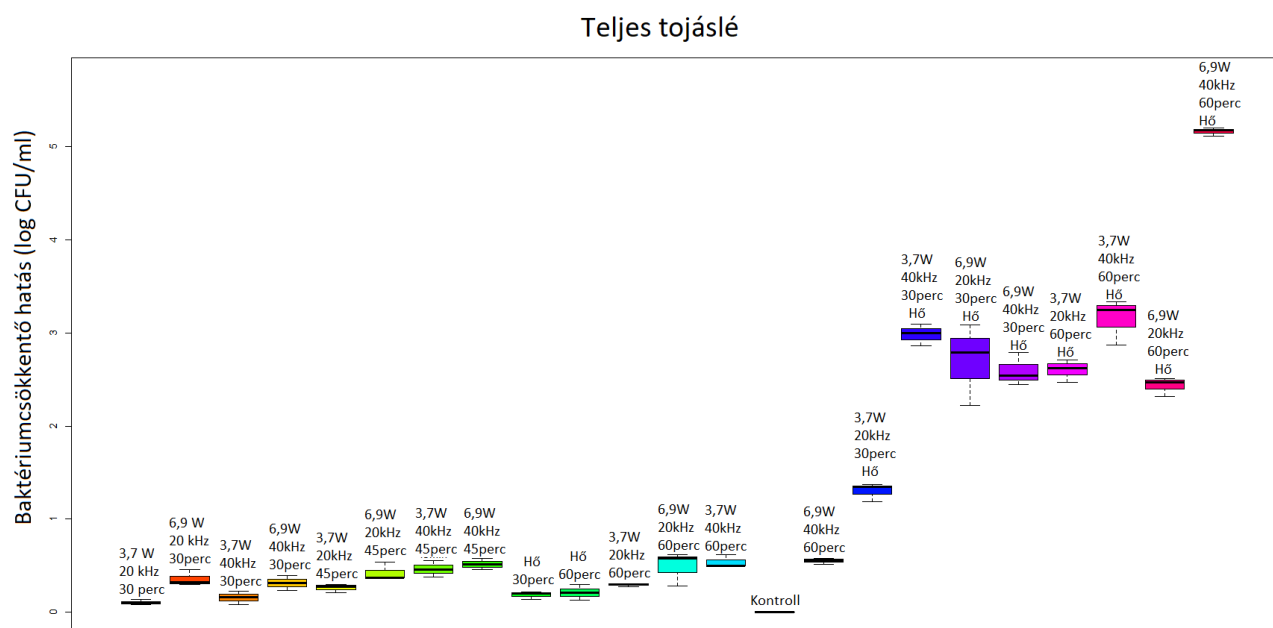


43. ábra: A kezelések baktericid hatásának boxplot eredményei tojásfehérje lében

Tojássárgája lé



44. ábra: A kezelések baktericid hatásának boxplot eredményei tojássárgája lében



45. ábra: A kezelések baktericid hatásának boxplot eredményei teljes tojászlében

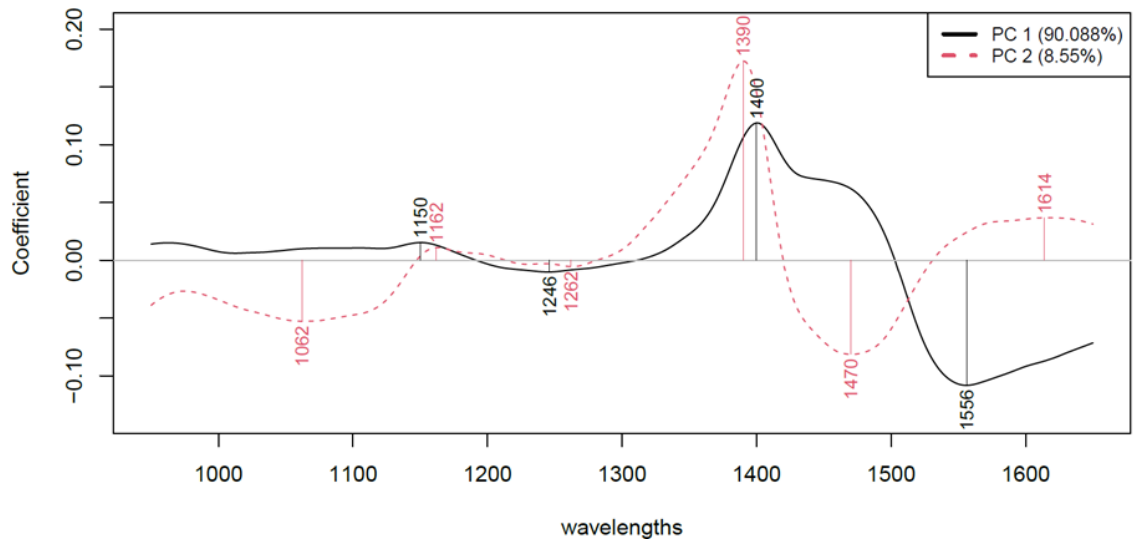
Összességében elmondható, hogy bár az önálló ultrahangos kezelések is szignifikáns baktériumölő hatással rendelkeznek, a megfelelő baktériumszint eléréséhez szükséges idő nagyon magas. Ezzel szemben az enyhe hő és az ultrahang kombinált alkalmazása töredékére csökkenti a kezelési időt.

5.3.2 Közeli-infravörös spektrumok összehasonlítása

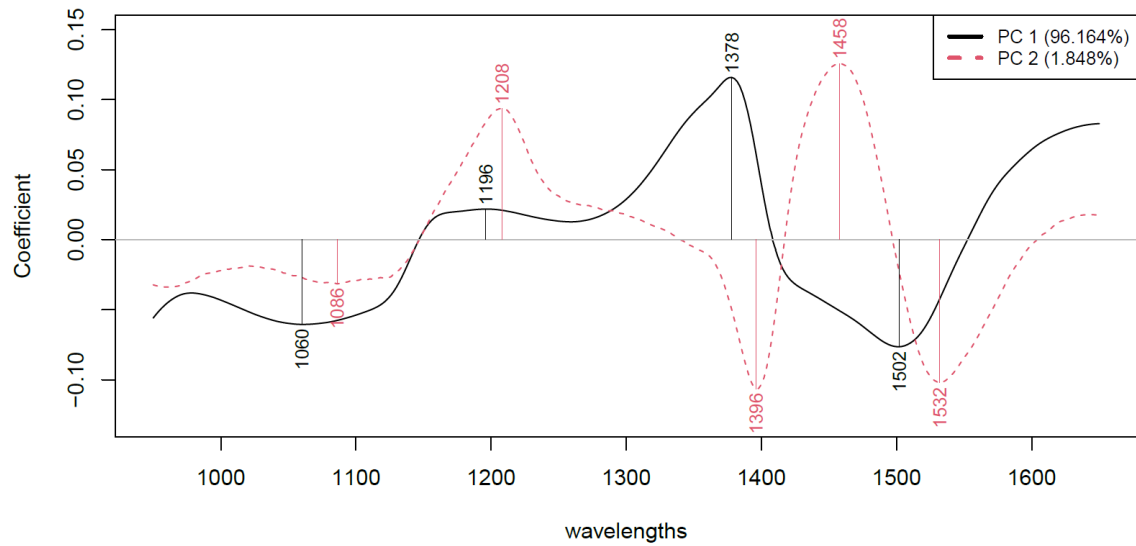
Az előző fejezetekben fény derült arra, hogy a kombinált kezelés hatása sokszorososa a csak ultrahangos kezelés baktériumölő hatásának. A következőkben pedig azt vizsgálom, hogy a két kezelési módszer hatása különbözik-e a tojástermékek spektrális változásai tekintetében.

A minták spektrális adatai kezelésének, értelmezésének egyszerűsítése érdekében ebben az esetben is főkomponens analízist alkalmaztam a két kezelési módszer összehasonlításához. A PC1 és PC2 főkomponensek kialakulásához legnagyobb mértékben hozzájáruló hullámhosszok a 46. ábrán láthatók. A különböző hullámhossz tartományok és a rendszerben levő egyes molekulakötések közötti összefüggésről, melyről az előző fejezetekben tárgyaltunk, következtethetünk a rendszerben bekövetkezett molekuláris változásokra.

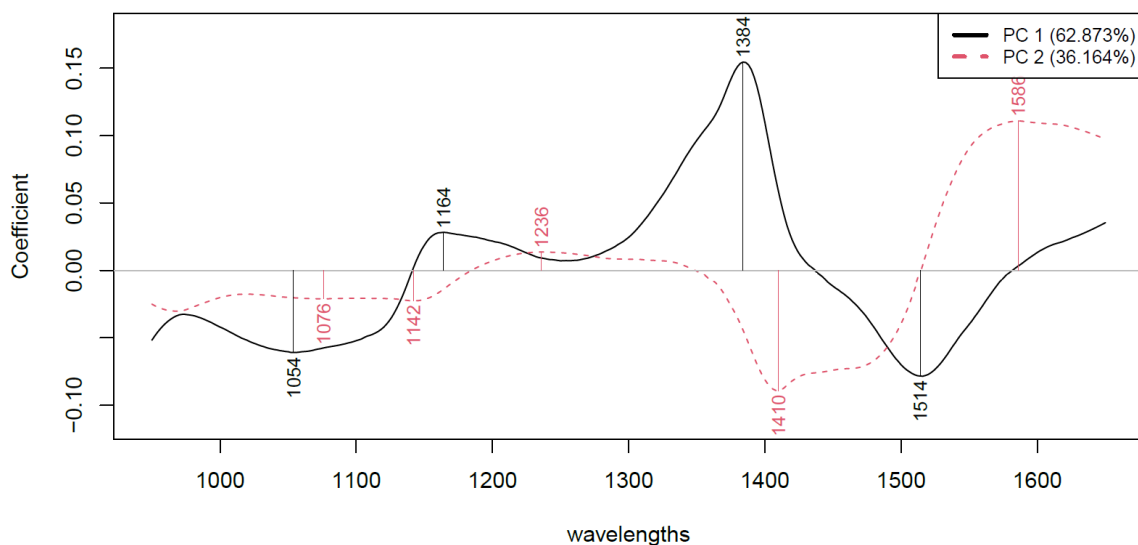
a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé

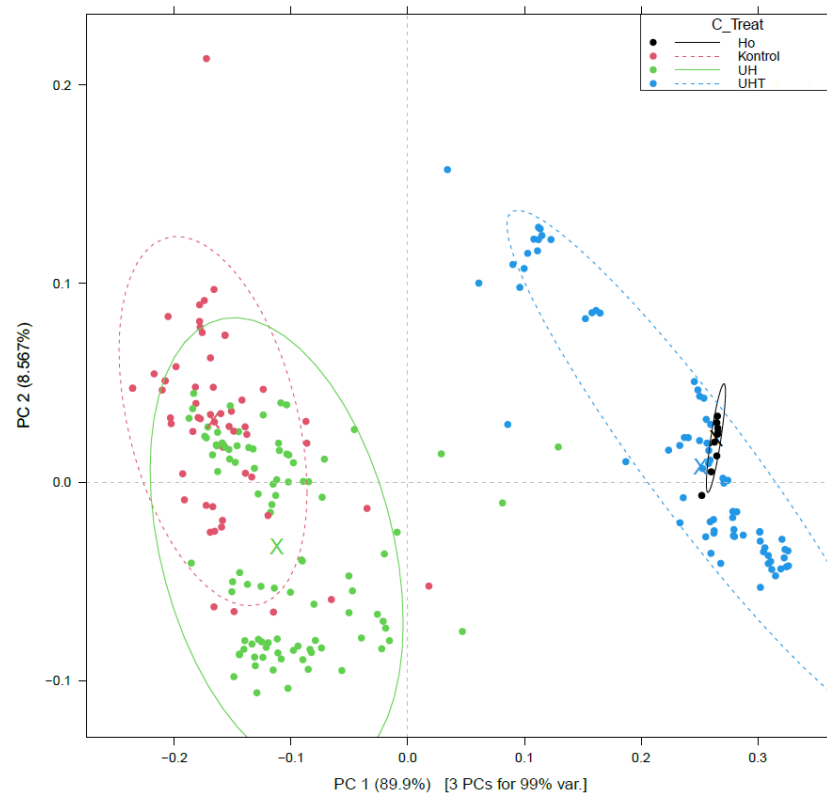


46. ábra: Főkomponensek kialakulásához hozzájáruló hullámhosszok koefficiensei (a – tojásfehérje lé; b – tojássárgája lé; c – teljes tojáslé)

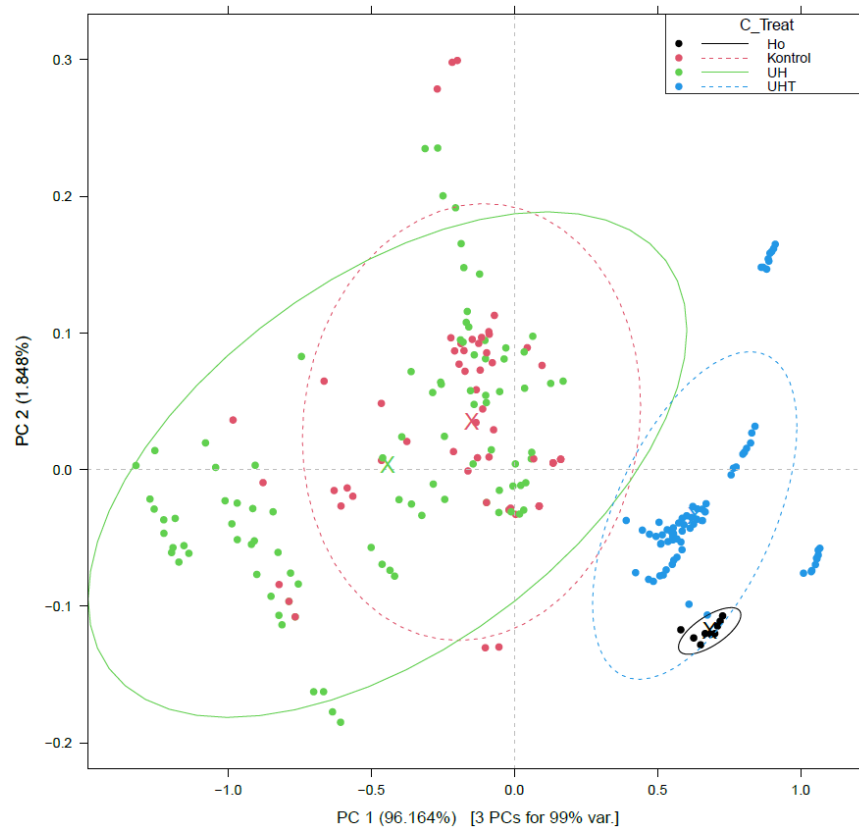
A fent látható hullámhosszok koefficienseinek nagysága azt mutatja, hogy a különböző kezelések eltérő mértékben változtatják meg a mintákban levő víz, fehérje és fehérje-lipid molekulák kapcsolatait.

Tovább vizsgálva a PCA által kapott modellek (47. ábra) figyelemre méltó mintázatot mutatnak minden tojáslé esetében. Az első két főkomponens, PC1 és PC2, együtt legalább a teljes spektrális variancia 98%-át magyarázzák. Továbbá jól látható, hogy az enyhe hőhatásnak is kitett minták (Hő, kombinált kezelés) elkülönülnek, míg a csak ultrahangos kezelésen átesett minták átfedést mutatnak a kontroll mintákkal. Ez azt mutatja, hogy a kombinált kezelések esetében a spektrális változások nagyrészt csak az enyhe hőhatásnak köszönhető minden tojástermék esetében. Valószínű, hogy ezek a különbségek a hő által kiváltott fehérje denaturáció, koaguláció és a vízszerkezet módosulása következtében alakulnak ki. Uysal, Boyaci, Soykut és Ertas (2017) megfigyelték, hogy a kezelés hőmérsékletének emelkedésével a denaturáció miatt a tojásfehérje oldhatósága csökken, ami nagyobb mértékű kicsapódást eredményez. Korábbi kutatásom jelentős különbségeket mutatott ki az ultrahanggal kezelt és a kontroll tojásminták NIR spektrumai között. Következésképpen az ultrahanggal kezelt és a kontroll minták között ebben az esetben megfigyelt átfedések azt jelzik, hogy az ultrahangkezelés viszonylag kisebb hatást gyakorol a megfigyelt változásra, míg az alacsony hőkezelés hatása erőteljesebb.

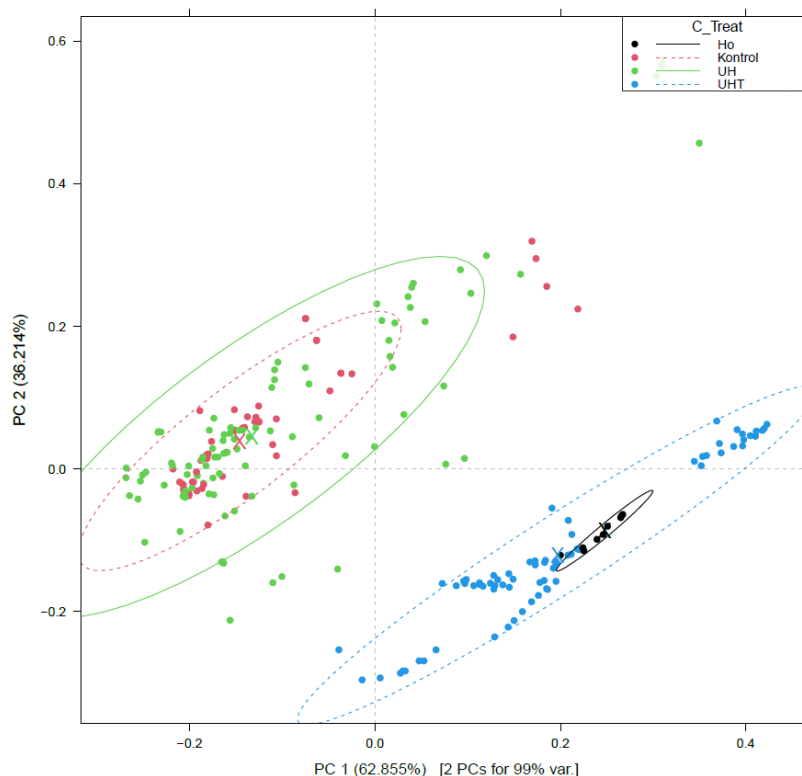
a.) Tojsáfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé



47. ábra: PCA modelljei a tojástermékek 950-1650 nm közötti spektrális adatai alapján (a – tojásfehérje; b – tojássárgája; c – teljes tojáslé)

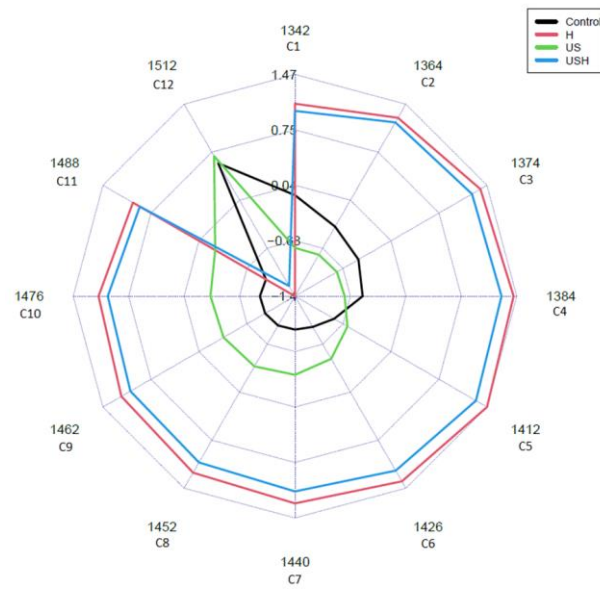
Tovább vizsgálva a spektrális adatokat az 1300 és az 1600 nm hullámhossz tartományban szintén egyértelmű különbségek figyelhetők meg a hőkezelt és a nem hőkezelt csoportok között minden tojástermék esetében (48. ábra).

A tojásfehérje esetében (48. ábra) a kombinált- és az önálló enyhe hőkezelések a C1-C11 tartományban magasabb normalizált abszorbancia értékeket mutatott, egyedül a C12 tartományban volt magasabb a hőkezelést nem kapott csoportok értéke, mely utal az erősen kötött víz mennyiségének nagyságára.

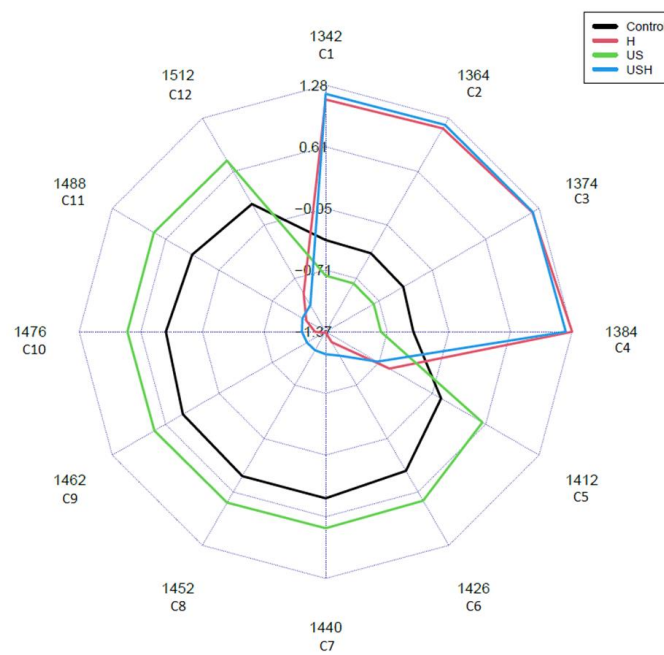
A tojássárgája aquagramját (48. ábra) nézve is látható, hogy a hőkezelésen átesett csoportok elkülönülnek a kontroll, illetve a csak ultrahangos kezelésen átesett csoportoktól. Ebben az esetben a kombinált, illetve a csak hőkezelést kapott minták abszorbancia értékei a C1-C4 tartományban magasabbak, míg a C5-C12 koordinátákon alacsonyabb értéket vesznek fel.

Az előző megállapításokhoz hasonlóan a teljes tojáslé esetében (48. ábra) is a hőhatás mentén szemmel láthatóan különülnek el a csoportok. Ez esetben a hőhatásnak kitett minták normalizált abszorbancia értékei a C1-C9 tartományban magasabbak, míg a C10-C12 tartományban alacsonyabbak, mint a kontroll és a csak ultrahangos kezelésen átesett mintákéi.

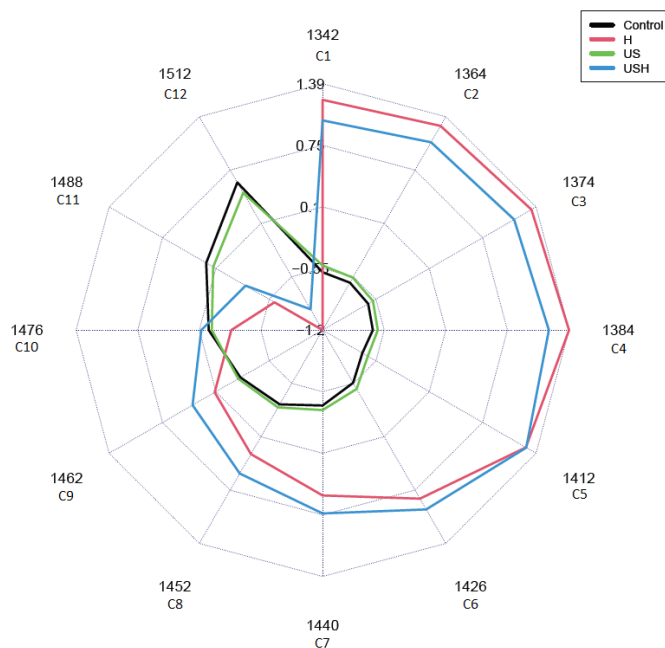
a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé



c.) Teljes tojáslé



48. ábra: A különböző kezelések aquagramjai (a – Tojásfehérje lé; b – Tojássárgája lé; c – Teljes tojáslé)

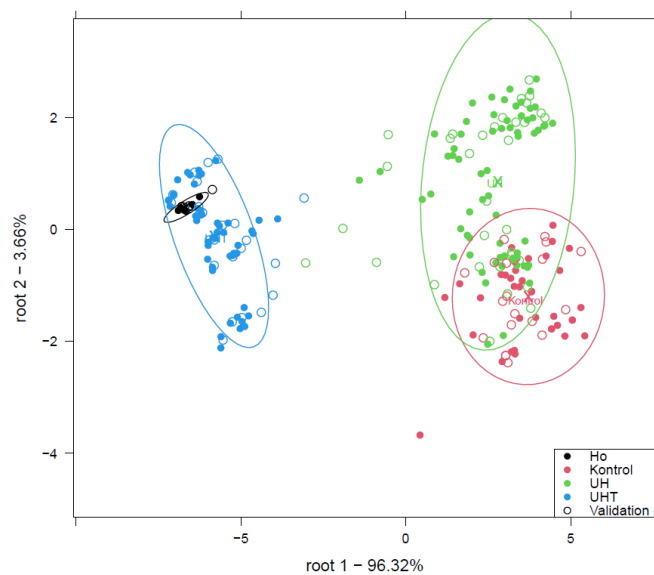
Összességében a kombinált, ultrahang+hő kezelésen, illetve a csak hőkezelésen átesett csoportok nagyon hasonló mintázatot mutatnak minden tojáslé esetében, ugyanúgy, ahogy a kontroll és a csak ultrahangos kezelésnek alávetett minták. Ez alapján kijelenthető, hogy az ultrahangos kezelés kisebb hatást gyakorolt a tojásminták vízkötéseire, mint az enyhe hőkezelés, illetve a kombinált kezelés. Természetesen ez, mint ahogyan a korábbi fejezetekből kiderül, nem jelenti azt, hogy az ultrahang semmilyen hatással nincs a tojástermékekben levő vízmolekulákra.

5.3.3 A NIR spektrumok Lineáris diszkriminancia analízise (összehasonlítása)

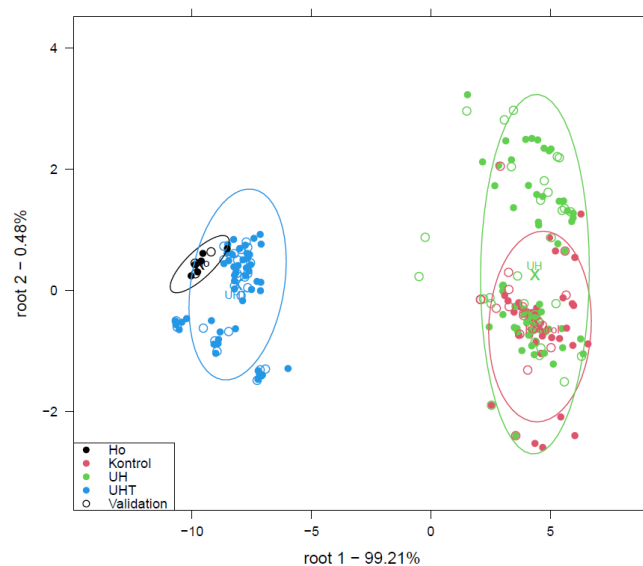
A PCA modellek által kapott főkomponensek segítségével lineáris diszkriminancia analízist végeztem.

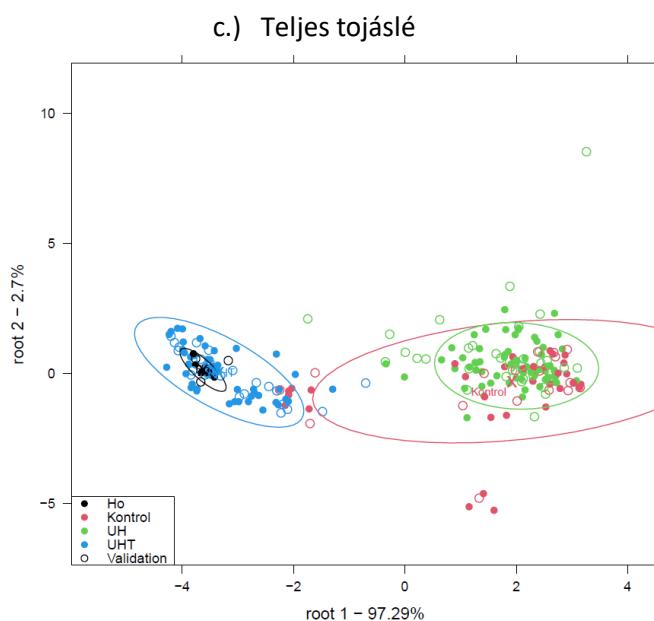
Ha a különböző kezelések mentén (kombinált, hő, ultrahang, kontroll) végezzük a diszkriminancia analízist a teljes modellre (49. ábra) nézve a validációs és a predikciós modellek nem mutatnak nagy pontosságot (26. táblázat), azonban ha a hőkezelést tartalmazó, illetve a hőkezelést nem kapott csoportokat vesszük alapul a modellek 98-100%-os megkülönböztethetőséget mutatnak. Ez statisztikailag is alátámasztja a korábbi megállapításokat.

a.) Tojásfehérje lé



b.) Tojássárgája lé





49. ábra: LDA modellek a különböző kezelések alapján (a – Tojásfehérje lé; b – Tojássárgája lé; c – Teljes tojáslé)

26. táblázat: Az LDA modellek pontossága kezelések alapján

Csoport	Validáció	Predikció
Tojásfehérje	67,15 %	66,63 %
Tojássárgája	77,56 %	73,57 %
Teljes tojáslé	53,51 %	52,78 %

Az egyes csoportokat (27. táblázat) tekintve a validációs és predikciós modellek 75-80%-os pontosságúak.

A legnagyobb átfedéseket a csak ultrahanggal kezelt csoportok között, illetve a kontroll csoportok, tehát a hőkezelést nem kapott minták között tapasztaltam, minden tojástermék esetében. A hőkezelést is kapott csoportok viszont a közeli infravörös spektrumok alapján legalább 88.83%-ban elkülöníthetők egymástól (28. táblázat, 29. táblázat, 30. táblázat).

Ezek az eredmények jól mutatják, hogy a közeli infravörös spektrum analízissel vizsgálva különbségek tapasztalhatók a különböző kezelések, különösen a hőkezelést kapott (kombinált, csak hőkezelés), illetve nem kapott (önálló ultrahang, kontroll) között. Azonban itt is megemlítendő, hogy a hőkezelés következtében kialakult spektrális változások nagysága miatt az önálló ultrahang hatása ezekben a modellekben kevésbé érzékletesek, de mint korábban kiderült ez is jelentős hatással rendelkezik.

A bemutatott eredmények azt mutatják, hogy a különböző kezelések okozta változások nyomon követhetők és közvetve következtethetünk a tojástermékekben bekövetkező molekuláris változásokra. Azonban annak pontos meghatározásához, hogy mely molekulák változtak további

kutatások szükségesek, melyek a spektrumok analízise mellett kémiai vizsgálatokat is magába foglal.

27. táblázat: Csoportbeosztások az önálló ultrahangos és kombinált kezelésekhez

Csoport	Hatásos teljesítmény[W]	Frekvencia [kHz]	Idő [perc]	Hőmérséklet [°C]
A	3,7	20	30	18
B	3,7	40	30	18
C	6,9	20	30	18
D	6,9	40	30	18
E	3,7	20	60	18
F	3,7	40	60	18
G	6,9	20	60	18
H	6,9	40	60	18
I	3,7	20	30	55
J	3,7	40	30	55
K	6,9	20	30	55
L	6,9	40	30	55
M	3,7	20	60	55
N	3,7	40	60	55
O	6,9	20	60	55
P	6,9	40	60	55
Hő	0	0	60	55
Kontroll	-	-	-	-

28. táblázat: Lináris diszkrimnancia modellek értékei az egyes csoportok alapján (Tojásfehérje lé)

Tojásfehérje lé																		
	Kontroll	A_UH	B_UH	C_UH	D_UH	E_UH	F_UH	G_UH	H_UH	I_UH+H	J_UH+H	K_UH+H	L_UH+H	M_UH+H	N_UH+H	O_UH+H	P_UH+H	Hő
Kontroll	33,38	29,12	16,62	0,87	8,36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A_UH	16,62	45,88	0	7,03	16,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B_UH	25	0	45,88	5,26	12,48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C_UH	25	25	33,38	86,84	20,85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D_UH	0	0	4,12	0	20,85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E_UH	0	0	0	0	0	70,88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F_UH	0	0	0	0	4,12	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G_UH	0	0	0	0	0	29,12	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H_UH	0	0	0	0	8,36	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	5,5	0
K_UH+H	0	0	0	0	8,36	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
L_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
M_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
N_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0
O_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	94,5	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

29. táblázat: Lináris diszkrimnancia modellek értékei az egyes csoportok alapján (Tojássárgája lé)

Tojássárgája lé																		
	Kontroll	A_UH	B_UH	C_UH	D_UH	E_UH	F_UH	G_UH	H_UH	I_UH+H	J_UH+H	K_UH+H	L_UH+H	M_UH+H	N_UH+H	O_UH+H	P_UH+H	Hő
Kontroll	58,3	0	0	18,42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A_UH	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B_UH	0	0	58,38	5,26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C_UH	24,97	50	41,62	69,29	66,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D_UH	8,36	0	0	1,76	25	4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E_UH	0	0	0	0	0	45,43	33,33	0	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F_UH	0	0	0	0	0	40,93	33,33	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G_UH	0	0	0	1,76	0	9,14	33,33	95,88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H_UH	8,36	0	0	3,5	8,38	0	0	0	95,88	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
K_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
L_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
M_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
N_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	94,5	0	5,5	0
O_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5,5	0	94,5	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

30. táblázat: Lináris diszkrimnancia modellek értékei az egyes csoportok alapján (Teljes tojáslé)

Teljes tojáslé																		
	Kontroll	A_UH	B_UH	C_UH	D_UH	E_UH	F_UH	G_UH	H_UH	I_UH+H	J_UH+H	K_UH+H	L_UH+H	M_UH+H	N_UH+H	O_UH+H	P_UH+H	Hő
Kontroll	25	0	0	0,87	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A_UH	16,62	29,12	12,5	0,87	8,38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B_UH	0	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C_UH	58,38	58,38	75	94,76	66,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D_UH	0	0	0	0	8,38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E_UH	0	0	0	0	0	79,12	0	0	8,38	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F_UH	0	0	0	0	0	0	66,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G_UH	0	8,38	12,5	0	16,62	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H_UH	0	0	0	0	0	20,88	33,38	0	91,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	11,17	0	0	0	0	0
K_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
L_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88,83	0	0	0	0	0
M_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
N_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0
O_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH+H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

Összegezve a tapasztalatokat az önálló ultrahangos kezelés és a kombinált, hő és ultrahang kezelés szignifikánsan csökkentette a tojáslevekben található *E. coli* baktérium számát. A kombinált kezeléssel elértem, hogy a baktériumok kimutathatósági szintje alá csökkenjen, míg az önálló ultrahangos kezeléssel 0,5-0,7 log CFU/ml csökkenést értem el.

A tojástermékek spektrális változásait vizsgálva hasonlóan a mikrobiológiai vizsgálatokhoz a kombinált kezelés hatása jóval nagyobb mértékű volt, mint az önálló ultrahangos kezelése.

Fontos leszögezni, hogy az enyhe hőhatás semmilyen hatással nem volt az *E. coli* számra, míg a spektrális változások esetében kulcsszerepet játszott.

5.4 Habképződés vizsgálata

Az előző témakörök tárgyalása során betekintést kaptunk az ultrahangos kezelés hatásáról a tojáslevek mikrobiológiai és spektrális tulajdonságaira. A következő fejezetekben a kezelés hatását vizsgálom egy kicsit a mindennapi élethez közelebb álló, megfoghatóbb tulajdonságok, a tojásfehérje habképződése és hatartóssága szempontjából. Először a tojásfehérje habképződésére gyakorolt hatását vizsgáltam, melyet a keletkezett hab térfogatával jellemeztem, az ultrahangos kezelés különböző paramétereinek függvényében.

Csoportonként vizsgálva a keletkezett tojáshabok térfogatát, szignifikáns hatást eredményezett a Kruskal-Wallis teszt ($p < 0,05$). A csoportonkénti p értékeket a 31. táblázat tartalmazza:

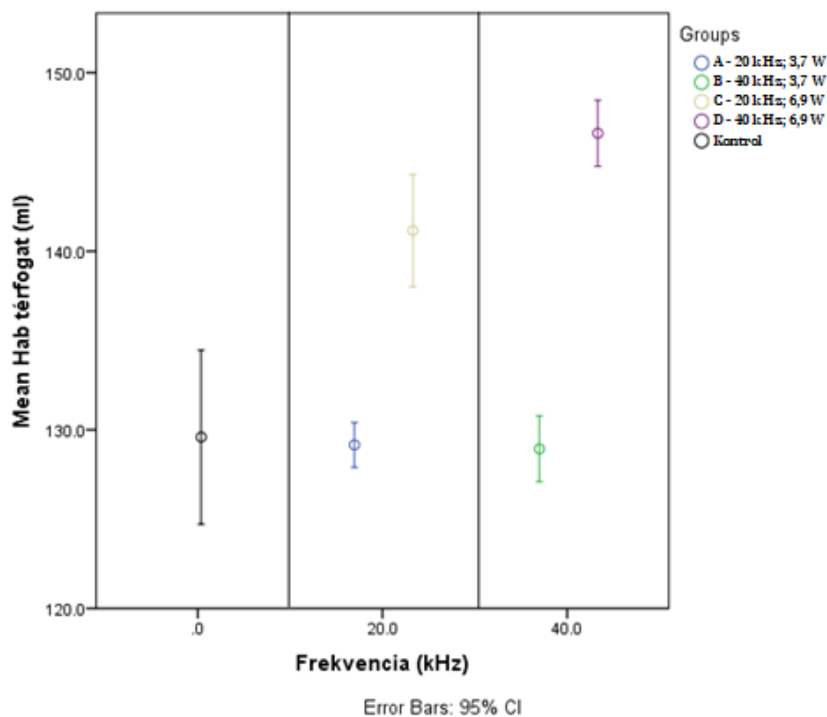
31. táblázat: A habtérfogat Dunn's teszt p értékei csoportonként

p érték	A - 20 kHz; 3,7 W	B - 40 kHz; 3,7 W	C - 20 kHz; 6,9 W	D - 40 kHz; 6,9 W
B - 40 kHz; 3,7 W	1.00000	-	-	-
C - 20 kHz; 6,9 W	0,02317*	0.01689*	-	-
D - 40 kHz; 6,9 W	0.00019*	0.00012*	1.00000	-
K - 0 kHz; 0 W	1.00000	1.00000	0.05060	0.04724*

*Szignifikáns különbség $p < 0.05$

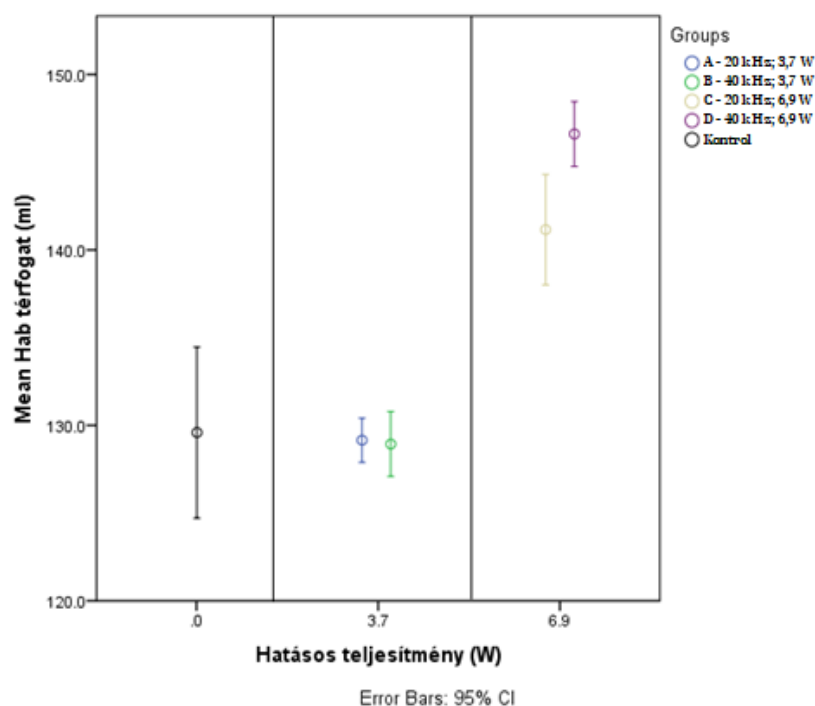
A csoportonkénti összehasonlítás kimutatta, hogy a frekvencia és a hatásos teljesítmény együttes hatása szignifikánsan befolyásolja a tojásfehérje habképző tulajdonságát. A Dunn's teszt eredményei alapján a D csoport (kis engedménnyel a C csoport is) szignifikánsan elkülönül a kontroll mintáktól. Szignifikáns különbség van továbbá az A – C, A – D, B – C, illetve a B – D csoportok között is.

Az ultrahang frekvenciájának (50. ábra) a Kruskal-Wallis teszt szerint nincs szignifikáns hatása a tojásfehérje habképződésére ($p > 0,05$), így erre a paraméterre nem végeztem Dunn's tesztet.



50. ábra: A hab térfogat (ml) változása a frekvencia függvényében

Szignifikáns hatást eredményezett viszont a kezelés hatásos teljesítménye (51. ábra), melynek szignifikancia szintje $p < 0,05$.



51. ábra: A hab térfogat (ml) változása a hatásos teljesítmény függvényében

A Dunn's teszt eredményeit a 32. táblázat tartalmazza.

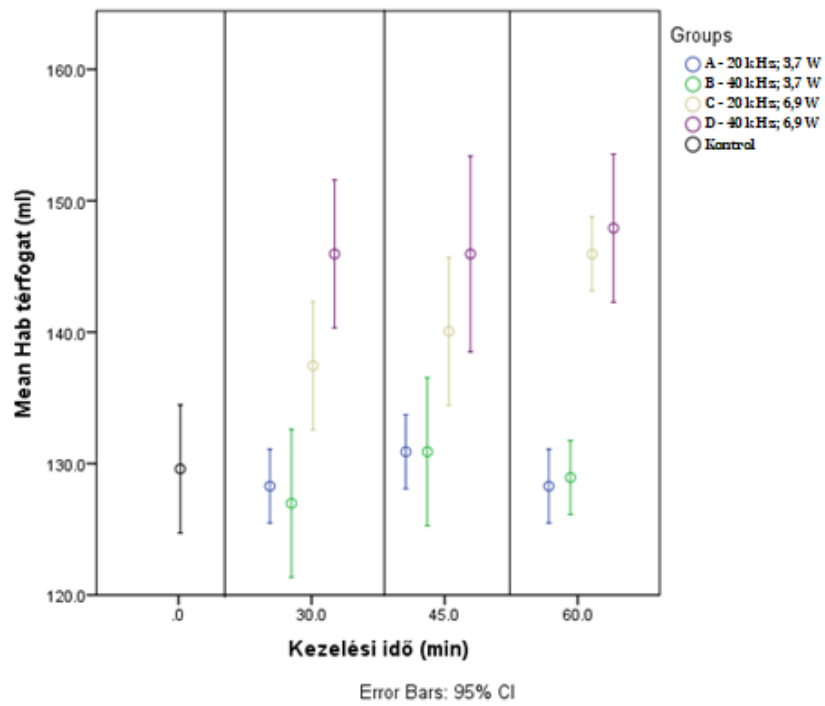
32. táblázat: A hab térfogat Dunn's teszt p értékei a hatásos teljesítmény függvényében

p érték	0 W	3,7 W	6,9 W
0 W	-	-	-
3,7 W	1,000000	-	-
6,9 W	0,003185*	4,693*10 ⁻⁰⁷ *	-

*Szignifikáns különbség $p < 0.05$

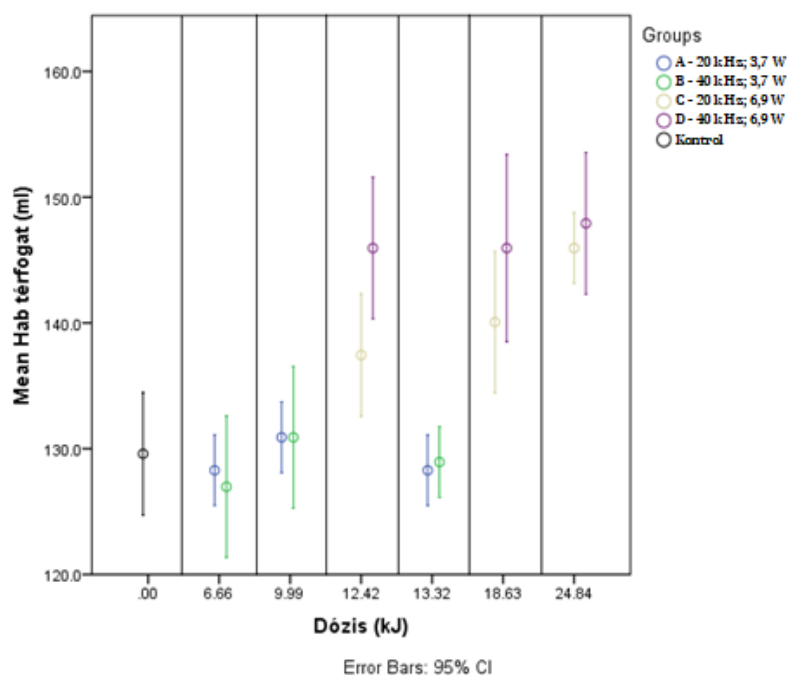
Az alacsonyabb 3,7 W teljesítményen kezelt minták nem mutattak szignifikáns különbséget a kontroll csoporthoz képest, viszont a 6,9 W hatásos teljesítményen kezelt minták különbsége szignifikáns a kontroll, illetve a 3,7 W-on kezelt mintákhoz képest is

A kezelések időtartama (52. ábra) nem gyakorolt szignifikáns hatást a habképződésre ($p > 0,05$).



52. ábra: A hab térfogat (ml) változása a kezelési idő függvényében

A kezelés hatásos teljesítményének és időtartamának együttes hatását, vagyis a dózist (53. ábra) vizsgálva szignifikáns hatást ($p < 0,05$) fedeztem fel a tojásfehérje habképződésének változásában.



53. ábra: A hab térfogat (ml) változása a kezelés dózisának függvényében

A kezelés dózis-szintjeinek Dunn teszt eredményeit a 33. táblázat tartalmazza.

33. táblázat: A habtérfogat Dunn teszt p értékei a kezelés dózisának függvényében

p érték	0 kJ	6,66 kJ	9,99 kJ	12,42 kJ	13,32 kJ	18,63 kJ	24,84 kJ
0 kJ	-	-	-	-	-	-	-
6,66 kJ	1	-	-	-	-	-	-
9,99 kJ	1	1	-	-	-	-	-
12,42 kJ	1	1	1	-	-	-	-
13,32 kJ	1	0,02056*	1	0,07828	-	-	-
18,63 kJ	0,79575	0,01235*	1	1	0,04954*	-	-
24,84 kJ	0,03593*	0,00049*	0,12629	1	0,00266*	1	-

*Szigifikáns különbség $p < 0,05$

A Dunn teszt alapján fedezhető fel ugyan szignifikáns hatás az egyes dózis szintek között, az azonban nem mondható el, hogy a dózis növelésével monoton változás következik be a tojásfehérje habképződésének szempontjából.

A legnagyobb megfigyelt térfogat 149,23 ml volt, amely a 40 kHz-en és 6,9 W-on 60 percig kezelt tojásfehérjéből származott, viszont már a 30 perces kezelés következtében közel azonos nagyságú változást értem el. A kontroll csoporthoz képest ez azt jelenti, hogy akár a 30 perces ultrahangos kezelés átlagban 15%-kal növelheti a habképző képességet.

Ezek az eredmények összhangban vannak azokkal a tanulmányokkal, amelyek arról számolnak be, hogy az ultrahang fokozhatja a habképződést (Jambrak et al., 2008; Stefanovic et al., 2017).

Ez a jelenség az ultrahang homogenizáló hatásának köszönhető, valamint a kezelés a hidrofób csoportok fehérje expozíciójához is vezet, amelyek javítják a fehérje adszorpcióját a levegő/víz határfelületi molekulákra (Mirmoghtadaie et al., 2016).

5.5 Habstabilitás vizsgálata

A habstabilitás meghatározására a visszaalakult tojáslé tömegét vizsgáltam. A habképződéshez hasonlóan a stabilitás vizsgálatánál is először a csoportonkénti szignifikanciát vizsgáltam meg. A Kruskal-Wallis teszt alapján a kezelés csoportjai (A, B, C, D), vagyis a frekvencia és a hatásos teljesítmény együttes hatása szignifikáns ($p < 0,05$) változást okozott a tojásfehérje habstabilitásában. A csoportok közti szignifikanciát a 34. táblázat tartalmazza.

34. táblázat: A visszaalakult tojásfehérje lé Dunn teszt p értékei a kezelési csoportok függvényében

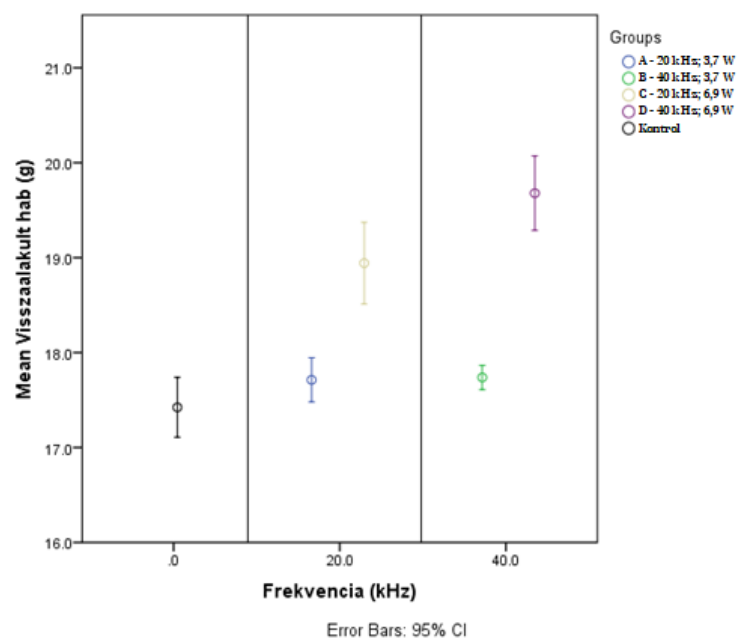
p érték	A-20 kHz; 3,7 W	B-40 kHz; 3,7 W	C-20 kHz; 6,9 W	D-40 kHz; 6,9 W	K -0 kHz; 0 W
A-20 kHz; 3,7 W	-	-	-	-	-
B-40 kHz; 3,7 W	1	-	-	-	-
C-20 kHz; 6,9 W	0,04771*	0,10358	-	-	-
D-40 kHz; 6,9 W	0,00023*	0,00069*	1	-	-
K -0 kHz; 0 W	1	1	0,03886*	0,001*	-

*Szignifikáns különbség $p < 0,05$

A Dunn teszt alapján a C és a D csoport esetében szignifikánsan több tojásfehérje lé alakult vissza a kontroll csoporthoz képest. Az A és a B csoport esetében viszont nincs szignifikáns különbség a habtartósság tekintetében a kontroll csoporthoz viszonyítva.

A kezelés frekvenciája (54. ábra) szignifikáns ($p < 0,05$) hatással volt a visszaalakult tojásfehérje lé mennyiségére.

Az egyes frekvencia szintek közötti eltérések szignifikanciáját a 35. táblázat tartalmazza. Ez a 40 kHz-en kezelt minták esetében beszélhetünk szignifikáns habstabilitás csökkenésről a kontroll mintákhoz képest.



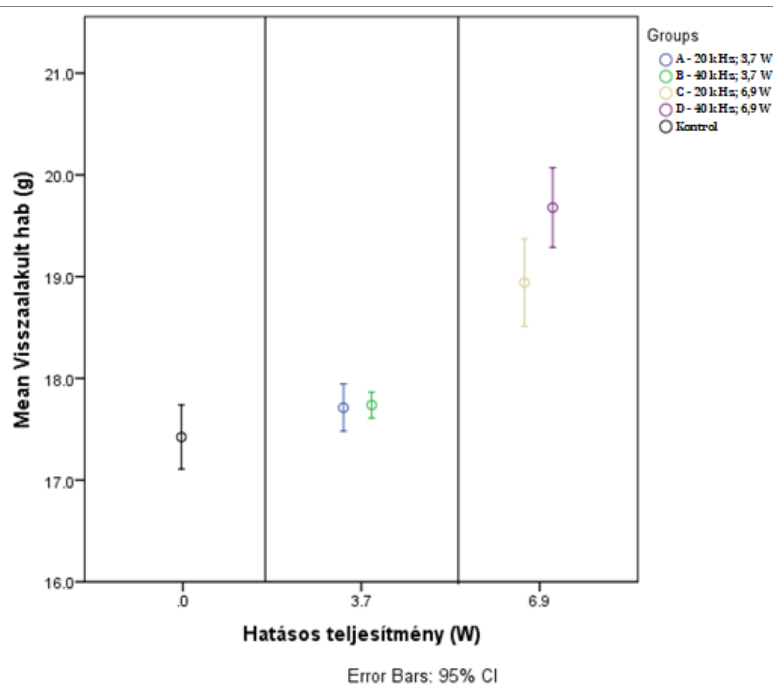
54. ábra: Visszalakult tojásfehérje mennyiségének (g) változása a kezelés frekvenciájának függvényében

35. táblázat: A visszalakult tojásfehérje lé Dunn teszt p értékei a kezelés frekvenciájának függvényében

p érték	0 kHz	20 kHz	40 kHz
0 kHz	-	-	-
20 kHz	0,13016	-	-
40 kHz	0,02398*	0,70906	-

*Szigifikáns különbség $p < 0,05$

A Kruskal-Wallis teszt szignifikáns ($p < 0,05$) hatást mutatott az ultrahang hatásos teljesítményének (55. ábra) szempontjából is.



55. ábra: Visszalakult tojásfehérje mennyiségének (g) változása a kezelés hatásos teljesítményének függvényében

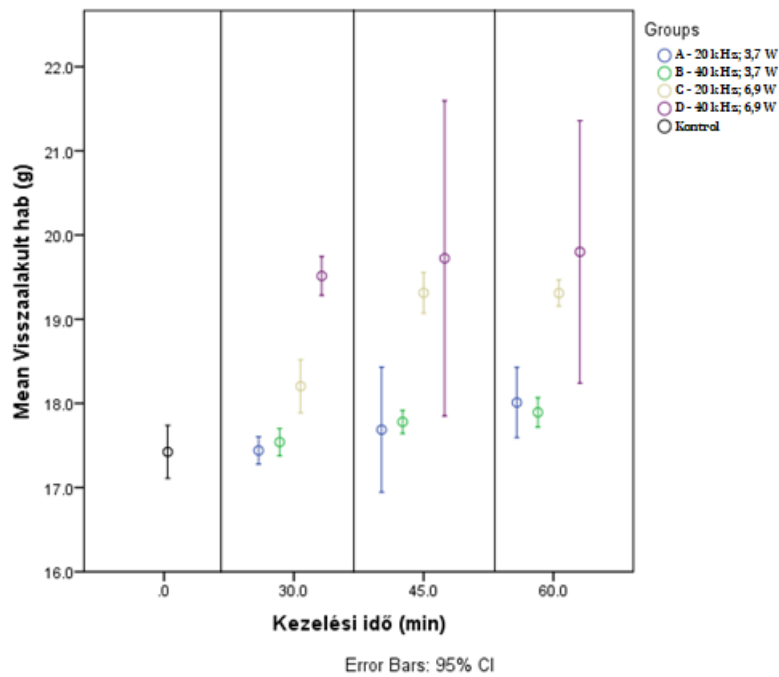
A Dunn teszt szignifikáns habstabilitás csökkenést mutat a kontroll és a 6,9 W-on kezelt minták között. A 3,7 W-os kezelések nem voltak szignifikáns hatással a visszaalakult tojásfehérje lé mennyiségére, azonban szignifikánsan kevesebb alakult vissza, mint a 6,9 W-on kezelt minták esetében (36. táblázat).

36. táblázat: A visszaalakult tojásfehérje lé Dunn teszt p értékei a kezelések hatásos teljesítményének függvényében

p érték	0 W	3,7 W	6,9 W
0 W	-	-	-
3,7 W	0,87975	-	-
6,9 W	0,00088*	4,5349*10 ⁻⁰⁶ *	-

*Szignifikáns különbség

Az ultrahangos kezelések időtartama (56. ábra) szintén szignifikáns ($p < 0,05$) hatással volt a tojásfehérje habstabilitására. Az egyes időtartam-szintek közötti különbség szignifikancia szintjét a 37. táblázat tartalmazza.



56. ábra: Visszalakult tojásfehérje mennyiségének (g) változása a kezelés időtartamának függvényében

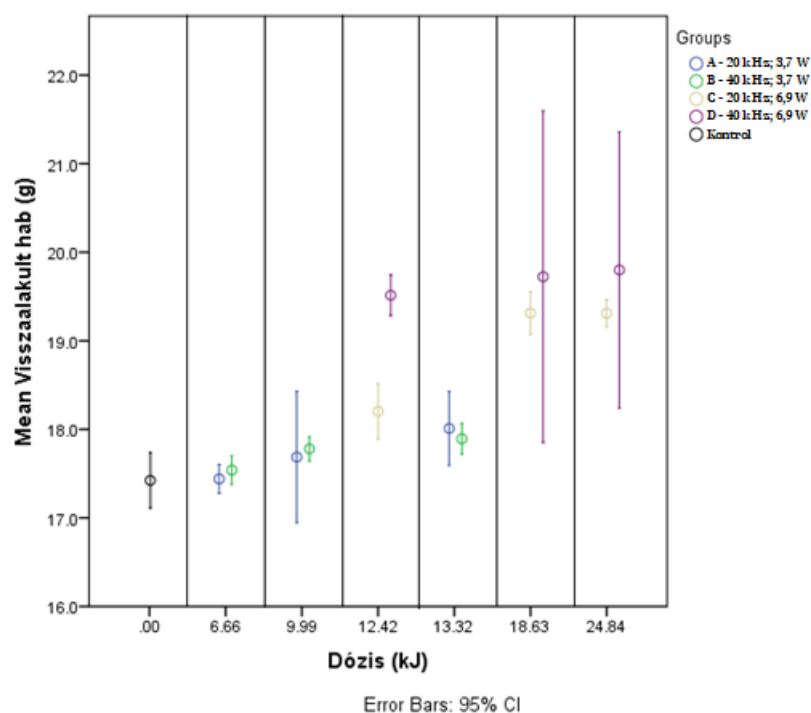
37. táblázat: A visszalakult tojásfehérje lé Dunn teszt p értékei a kezelési időtartamának függvényében

p érték	0 perc	30 perc	45 perc	60 perc
0 perc	-	-	-	-
30 perc	0,50512	-	-	-
45 perc	0,1253	1	-	-
60 perc	0,03746*	0,66627	1	-

*Szignifikáns különbség

A Dunn teszt a kezelés időtartam-szintjei között csak a kontroll és a 60 perces kezelések között mutatott szignifikáns különbséget.

A kezelések időtartamának és hatásos teljesítményének együttes hatása szintén szignifikáns ($p < 0,05$) hatást mutatott a tojásfehérje habstabilitásának változására (57. ábra).



57. ábra: Visszalakult tojásfehérje mennyiségének (g) változása a kezelés dózisének függvényében

A dózisszintek közötti különbségek szignifikancia szintjét a 38. táblázat tartalmazza.

38. táblázat: A visszalakult tojásfehérje lé Dunn teszt p értékei a kezelési dózisének függvényében

p érték	0 kJ	6,66 kJ	9,99 kJ	12,42 kJ	13,32 kJ	18,63 kJ	24,84 kJ
0 kJ	-	-	-	-	-	-	-
6,66 kJ	1	-	-	-	-	-	-
9,99 kJ	1	1	-	-	-	-	-
12,42 kJ	0,06757	0,01667*	0,3055	-	-	-	-
13,32 kJ	1	1	1	1	-	-	-
18,63 kJ	0,02286*	0,00375*	0,09595	1	0,92636	-	-
24,84 kJ	0,01579*	0,00225*	0,06407	1	0,68008	1	-

*Szignifikáns különbség

Bár a kezelés dózisa a Kruskal-Wallis teszt alapján szignifikáns hatást mutatott, a kezelések dózis-szintjeinek vizsgálata alapján nem következtethetünk arra, hogy a dózis növekedése monoton változást okoz a tojásfehérje habstabilitásában.

Ezek az eredmények alátámasztják a korábban közölt vizsgálatok (Chen et al., 2019; Sheng et al., 2018) megfigyelését is, melyek szerint az ultrahangos kezelés csökkenti a keletkezett hab stabilitását.

Stefanovic (2017) szerint a habstabilitás lineáris kapcsolatban áll a tojásfehérje zéta-potenciáljával. Feltételezi, hogy az ultrahangos kezelés csökkenti a diszpergált részecskék (levegő) és a

diszperziós közeg (tojásfehérje) közötti potenciálkülönbséget, mely oka lehet az ultrahangos kezelés hatására bekövetkező habstabilitásbeli változásnak.

A kísérletsorozat rámutatott, hogy az ultrahangos kezelés szignifikáns hatással van mind a tojásfehérje habképző tulajdonságára, valamint a keletkezett hab stabilitására egyaránt. A habképződésre a kezelés hatásos teljesítménye és dózisa volt szignifikáns hatással. Az ultrahang dózisének növekedésével nem tapasztaltam monoton változást a habképzésben, azonban a hatásos teljesítmény esetében a szignifikancia küszöb 3,7 W és a 6,9 W között van.

6. Következtetések és javaslatok

A kutatásom során az önálló ultrahangos kezelést sikerrel alkalmaztam a tojáslevekben található *E. coli* mikrobaszám szignifikáns mértékű csökkentésére. A kezelések hatására a mikrobaszám csökkenés nem érte el a kívánt határértéket, azonban egy nagyobb dózisú kezelés használatával ez a hatás fokozható, így érdemes megvizsgálni a módszer hatásosságát más kezelési paraméterek mellett is.

Az ultrahang mikrobiológiai változásain túl vizsgáltam a tojástermékek közeli infravörös spektrumára gyakorolt hatását is, mely során egy viszonylag új tudományágat, az Aquaphotomics-et is segítségül hívtam.

A közeli-infravörös spektrumok analízise alkalmas volt a kezelések okozta változások kimutatására, valamint közvetve következtethetünk azokra a molekulacsoportokra, melyekre hatással volt a kezelés. További kutatások javasoltak a molekulacsoportok kemometrikus meghatározására, illetve a spektrális adatok és molekulacsoportok összefüggéseinek meghatározásához a tojáslevek tekintetében. A hullámhossz abszorbancia és molekulacsoportok összefüggéseinek megismerésével a módszer alkalmazható lehet a tojáslevek gyors-, roncsolásmentes mérési módszereként az iparban.

Az ultrahang és az enyhe hőkezelés kombinációjával 5 log CFU/ml *E. coli* mikrobaszám csökkenést értem el. Az 5 nagyságrendű csökkenés elegendő volt a mikrobaszámot 0 log CFU/ml eléréséhez, azonban további kutatások javasoltak, hogy a magasabb kezdeti koncentráció esetében mekkora a kombinált kezelés hatása a mikrobaszámra.

Az közeli-infravörös spektrumanalízis során kapott eredmények kimutatták, hogy a hőkezelésen is átesett minták (kombinált kezelés, önálló hőkezelés) spektrális értékei nagyobb mértékben változott. Érdemes további kutatások során megvizsgálni, hogy egy kisebb hőmérsékletű kombinált kezelés esetén mekkora mértékű változás következik be a spektrális tulajdonságokban, illetve ezzel a kezeléssel elérhető-e ilyen nagyságrendű mikrobaszám változás.

Az önálló ultrahangos kezelések hatása kimutatható volt a tojásfehérje lé habképző, illetve habstabilitási tulajdonságaira. A habképződés esetében egy bizonyos hatásos teljesítmény felett mutatkozott meg a kezelés szignifikáns hatása. További kutatások szükségesek ahhoz, hogy ezt a küszöbértéket pontosan meghatározhassuk.

7. Új tudományos eredmények, tézisek

1. Kimutattam, hogy az ultrahang, mint önálló kezelési módszer szignifikáns mértékben képes csökkenteni *E. coli* baktérium mennyiségét tojásfehérje lében, már 6,66 kJ (30 perc; 3,7 W), tojássárgája lében 13,32 kJ (60 perc; 3,7 W), illetve teljes tojáslében 9,99 kJ (45 perc; 3,7 W) dózistól, frekvenciától függetlenül.
2. Kimutattam, hogy az ultrahang (3,7/6,9 W, 20/40 Hz, 30/60 perc) és az enyhe hőkezelés (55°C 30/60 perc) kombinált alkalmazása képes mindhárom vizsgált tojástermékben (tojásfehérje lé, tojássárgája lé és teljes tojáslé) található *E. coli* mikrobaszámát 5 log CFU/ml mértékben csökkenteni, míg a hőkezelésnek önmagában nem volt kimutatható hatása a tojáslevekben található mikrobaszám mennyiségre. 5 log CFU/ml mértékű *E. coli* szám csökkenés tojásfehérje és teljes tojáslé esetében 60 perces 6,9 W hatásos teljesítményű (24,84 kJ) és 40 kHz ultrahang mellett, míg tojássárgája esetében már 30 perces 6,9 W hatásos teljesítményű (12,42 kJ) és 40 kHz-es ultrahanggal értem el.
3. A kezeletlen és kezelt (ultrahangos (3,7/6,9 W, 20/40 Hz, 30/60 perc), hőkezelés (55 °C 30/60 perc) és ezek kombinációja) tojástermékek (tojásfehérje lé, tojássárgája lé és teljes tojáslé) közeli-infravörös (NIR) vizsgálatával megállapítottam, hogy a kezelések változásokat okoztak a spektrumokban, azonban a hatások jellege és mértéke alapvetően különböző. A többváltozós statisztikai módszerek (diszkriminancia analízis) elemzése megerősítette, hogy míg az ultrahangos kezelések hatása minimális, addig a hőkezelés minden tojástermék spektrumában szignifikáns változást okozott (100% DA elkülönülés), ami a molekula- és kötésszerkezet megváltozására utal.
4. Az Aquaphotomics elemzéseivel kimutattam, a tojástermékekben levő vízszerkezet változását a kezelések hatására. A vízmátrix koordinátákon (WAMACS) bekövetkező változások elemzése alátámasztotta, hogy az UH kezelések hatása kevésbé jelentős hatással van a kialakult víz abszorpciós spektrális mintázatára (WASP), mint a hőkezelés minden tojástermék esetében, mely a rendszerben levő vízmolekula- és kötésszerkezet megváltozására utal.
5. Az ultrahangos kezelés habterfogatra gyakorolt hatásának vizsgálata alapján megállapítottam, hogy a hatás egy küszöbérték feletti hatásos teljesítmény esetén

jelentkezik (mely 3,7 W és 6,9 W között van esetemben), függetlenül a kezelés időtartamától és frekvenciájától. Ez indokolhatja a szakirodalomban közölt vizsgálatok (ahol nem ismert a hatásos teljesítmény értéke) ellentmondásos eredményeit, egyben rámutat arra, hogy a gyakorlati alkalmazás méretezése kizárólag a hatásos teljesítmény alapján történhet.

6. A kezelés (40 kHz, 6,9 W hatásos teljesítmény) hatására a habkapacitás átlagban 15%-os növekedést mutat a kezeletlen mintákhoz képest már 30 perces kezelés után és ez a hatás időben nem nő tovább, telítődést mutat.
7. A habtartósság vizsgálata során megállapítottam, hogy az ultrahangos kezelés (6,9 W, 20/40 Hz, 30/60 perc) növelte a tojásfehérje habból visszaalakult tojáslé mennyiségét. A statisztikai vizsgálatok rámutattak, hogy a kezelés frekvenciája és időtartama egyaránt szignifikánsan befolyásolta a habtartósságot.

8. Összefoglaló

Az ultrahang irodalmának áttekintése során sokszor találkoztam olyan élelmiszer feldolgozási módszerrel, mely az ultrahangot, mint kiegészítő kezelést alkalmazza a termények minőségi jellemzőinek (például eltarthatóság) javítása érdekében. Az utóbbi időszakban születtek olyan kutatások, melyek valamilyen feldolgozott élelmiszer (például zöldség pürék, szeletelt zöldségek, gyümölcsök vagy zöldség- és gyümölcslevek) minőségi vagy biológiai tulajdonságainak javítását célozzák meg ultrahang segítségével, különböző sikerrel.

Az élelmiszeriparban a tojásra, mint azonnal felhasználható nyersanyagra először a tészta-kekszgyártók tartottak igényt. A jelenlegi technológia alapja, hogy a héj eltávolításával, illetve a sárgája és fehérje elkülönítésével (amennyiben szükséges), homogenizálásával tojásleveket gyártanak, melyeket tojásléként értékesítenek és használnak fel. A biológiai veszélyek csökkentése érdekében leggyakrabban a termékek pasztörözési eljárásokon esnek át, mely során a gyártók célja mellett, hogy a romlást okozó mikrobák számát csökkentsék egy meghatározott szint alá, illetve patogén baktériumokat teljes egészében elpusztítsák, a tojáslé értékes anyagai, tulajdonságai ne károsodjanak. Azonban a gyakorlatban ezek az eljárások hátrányosan befolyásolhatják a tojáslevek meghatározó tulajdonságait, mint például a tojásfehérje esetében a habképződés, habtartósság. Ezt elkerülendő, célom volt, hogy ultrahangos eljárás segítségével egy alternatív lehetőséget vizsgáljak a tojáslevek megfelelő kezelésére, mely képes a mikrobaszámot lecsökkenteni anélkül, hogy a termék tulajdonságai károsodnának.

A kísérleteim során háromféle tojáslevet (tojásfehérje lé, tojássárgája lé és teljes tojáslé) különböző frekvenciájú és teljesítményű ultrahanggal kezeltem 30, 45, illetve 60 percen keresztül. A kezelési idő, illetve a teljesítmény nagysága megkövetelte, hogy a nem szabályozott hőmérséklet emelkedés hatására bekövetkező változásokat kiszűrjem. Ennek érdekében egy külső hűtőrendszert alakítottam ki, mely képes volt a kezelés teljes időtartama alatt a hőmérséklet 18°C-on ($\pm 2^\circ\text{C}$) tartására.

A szakirodalomban fellelhető kutatások során a tojásleveket csak nagyon kis mennyiségben vizsgálták, illetve közvetlen ultrahangos technológiával (merülő fejes) kezelték, mely során a tojáslevek olyan nagy teljesítménynek lettek kitéve, ami káros hatással bírt a minták tulajdonságaira. Esetemben az ultrahangos eszköz kialakítása nem tette lehetővé a közvetlenül a mintával érintkező kezelési eljárást, ezért a mesterségesen *Escherichia coli* baktériummal fertőzött tojásleveket 250 ml-es üvegcsékbe helyeztem, így az ultrahang a mintatartók falán keresztül fejtette ki hatását.

Az ultrahang mikrobiológiai tulajdonságokra kifejtett hatásain túl vizsgáltam a tojástermékek közeli infravörös spektrumára gyakorolt hatását is, mely során egy viszonylag új tudományágat, az Aquaphotomics-et is segítségül hívtam.

A kísérletsorozat eredményei azt mutatták, hogy az ultrahang teljesítménye szignifikáns változást idéz elő a tojástermékekben levő *E. coli* mikrobaszámában. Az európai szabályzat (2073/2005/EK) szerint a tojástermékekben található *Enterobacteriaceae* elfogadható mennyisége 1 log CFU/ml lehet. Ezt a szintet ezekkel a kísérleti beállításokkal a mesterségesen befertőzött minták esetében ugyan nem tudtam elérni, viszont az adatokra illesztett lineáris modelleket kiterjesztve (feltételezve a linearitás megmaradását), egy hétszer nagyobb dózisu (idő*teljesítmény) ultrahangos kezelés már képes lenne az 5 log CFU/ml kezdeti értéket megfelelő mértékben csökkenteni.

A vizsgálatok kimutatták, hogy az ultrahang szignifikáns hatással van a tojáslevekben található baktériumszámba, azonban felmerül a kérdés, hogy a tojástermékek egyéb jellemzői változnak-e. Az önálló ultrahangos kezelések tojástermékek tulajdonságaira gyakorolt hatását közeli-infravörös technológia segítségével vizsgáltam meg a 740-1700 nm hullámhossz tartományban. A nyers spektrális adatokban levő zajokat Savitzky-Golay szűrő, illetve Multiplicative Scatter Correction módszer alkalmazásával szűrtem ki. A számos dimenziószámú (hullámhossz) spektrális adatok kezelése általában bonyolulttá és időigényessé teszi az analízist, valamint megnehezíti az adatok közötti mintázatok vagy kapcsolatok felismerését, így Főkomponens analízis (PCA) segítségével csökkentettem az adatok dimenziószámát, mely egyszerűsödött az adatok kezelése és értelmezése, valamint könnyebben feltárhatók az adatok közötti mintázatok és kapcsolatok, ideértve a kezelés hatásait is.

A spektrumok főkomponens analízise, illetve lineáris diszkriminancia segítségével szignifikáns különbségeket tapasztaltam egyes kezelési beállítások között, így elmondható, hogy az ultrahangos kezelés hatással van a tojástermékek esetében a minták spektrális jellemzőjére.

Annak érdekében, hogy a megfelelő mikrobaszám csökkenést elérjem az ultrahangos kezelés és enyhe hőkezelés (55°C) együttes hatását is megvizsgáltam. Ennek eredményeképp a mesterségesen befertőzött minták *E. coli* mikrobaszáma a kezelés hatására 5 log CFU/ml csökkenést mutatott, így elmondható, hogy ez a technológia új utat nyithat meg az ipar számára a tojáslevek biztonságossá tételéhez. Az közeli infravörös spektroszkópiai mérések kimutatták, hogy ezek a kezelések nem csak a mikrobaszámra vannak hatással, hanem a tojáslevek egyéb jellemzőire is.

Emellett a tojásfehérje habképző képessége átlag 15%-os javulást mutatott az ultrahangos kezelés hatására, mely előnyt jelenthet az élelmiszeripari felhasználás során.

9. Summary

In my research of the ultrasound literature, I have often come across application methods that use ultrasound as a complementary method to improve the quality characteristics of crops, such as shelf life. Recently, research has been carried out to improve the quality of some processed foods using ultrasound, but these foods (e.g. vegetable purees, sliced vegetables, fruits or vegetable and fruit juices) are already products that have undergone an industrial process and whose characteristics have changed greatly compared to the raw raw material.

In the food industry, eggs as a readily usable raw material were first in demand by the pasta and biscuit industry. The current technology is based on the production of egg liquid products by removing the shell and separating the yolk and protein and homogenising them. In order to reduce the biological hazards in egg liquids, the products are most often pasteurised. During this process the aim is not only to reduce the number of spoilage microbes below a certain level, but eliminating pathogenic bacteria completely, while the valuable substances and properties of the egg liquid are preserved. However, in practice, these processes can adversely affect the defining properties of egg liquids, such as foaming and foam retention in the case of albumen. In order to avoid this, my aim was to develop an alternative method for the proper treatment of egg liquid products using ultrasonic techniques, which can reduce the number of microbes in the egg liquid without damaging the properties of the product.

In my experiments, three types of egg liquids (egg white, egg yolk and whole egg liquid) were treated with ultrasound of different frequencies and power for 30, 45 and 60 minutes. The treatment time and power required to eliminate the changes caused by uncontrolled temperature increases. Therefore, I designed an external cooling system capable of maintaining the temperature at 18°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) throughout the treatment period.

Previous studies found in the literature only examined egg liquids in very small quantities and treated them with direct ultrasonic equipment (immersion sonicator), which exposed the egg liquids to such high power that it negatively affected the properties of the samples. In my case, the ultrasound device's design did not allow for direct treatment in contact with the sample. Therefore, I placed the artificially *Escherichia coli* inoculated egg liquids into 250 ml glass containers, so the ultrasound exerted its effect through the walls of the sample holders.

In addition to investigating microbiological changes, I also examined the effect of ultrasound on the near-infrared spectrum of the egg products, utilizing a relatively new scientific field, Aquaphotomics.

The results of the experiments showed that the ultrasound's power caused significant changes in the microbial count of *E. coli* present in the egg products. According to European regulations (2073/2005/EC), the acceptable level of *Enterobacteriaceae* in egg products is 1 log CFU/ml. While I was not able to achieve this level with these experimental settings, by extending the linear models fitted to the data (assuming linearity remains), a sevenfold higher dose of ultrasound (time*power) could reduce the initial 5 log CFU/ml count to an acceptable level.

The studies demonstrated that ultrasound has a significant effect on the bacterial count in egg liquids. However, the question arises whether other characteristics of the egg products change as well. I examined the impact of standalone ultrasound treatments on the properties of egg products using near-infrared technology in the wavelength range of 740-1700 nm. Noise in the raw spectral data was filtered using Savitzky-Golay filtering and the Multiplicative Scatter Correction method. Handling spectral data with numerous dimensions (wavelengths) typically makes analysis complicated and time-consuming, and it can obscure patterns or relationships within the data. Therefore, I used Principal Component Analysis (PCA) to reduce the data's dimensionality, which simplified data handling and interpretation, making it easier to uncover patterns and relationships, including the effects of the treatment.

The principal component analysis of the spectra and linear discriminant analysis revealed significant differences between certain treatment settings, indicating that this method may be suitable for tracking ultrasound treatments in egg products.

Additionally, the egg white's foaming ability showed a 15% improvement due to the ultrasound treatment, which could be advantageous in food industry applications.

In order to achieve the appropriate microbial count reduction, the combined effect of ultrasonic treatment and mild heat treatment (55°C) was also investigated. As a result, the treatment was able to reduce *E. coli* microbial count by 5 log CFU/ml, suggesting that this technology could open a new avenues for ensuring food safety in the industry. The near-infrared measurements have shown that these treatments not only affect the microbial count, but also other characteristics of the egg liquids. Although near-infrared measurements have shown that ultrasound has some effect on the nutritional values of the product, further research is needed to determine the extent and exact nature of this effect.

Additionally, the foaming capacity of egg white showed an average improvement of 15% as a result of ultrasound treatment, which could be advantageous for food industry applications.

Mellékletek

M1 Irodalomjegyzék

- Abasi, S., Minaei, S., Jamshidi, B., & Fathi, D. (2018). Dedicated non-destructive devices for food quality measurement: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 197–205.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.009>
- Abu-Khalaf, N., & Hmidat, M. (2020). Visible/Near Infrared (VIS/NIR) spectroscopy as an optical sensor for evaluating olive oil quality. *Computers and Electronics in Agriculture*, 173, 105445.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105445>
- Allende, A., Tomas-Barberan, F. A., & Gil, M. I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17(9), 513–519.
- Anton, M. (2007). Composition and Structure of Hen Egg Yolk. In R. Huopalahti, R. López-Fandiño, M. Anton, & R. Schade (Eds.), *Bioactive Egg Compounds* (pp. 1–6). Springer Berlin Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/978-3-540-37885-3_1
- Arsène, F., Tomoyasu, T., & Bukau, B. (2000). The heat shock response of *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology*, 55(1), 3–9. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00206-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00206-3)
- Arzeni, C., Perez, O. E., & Pilosof, A. M. R. (2012). Functionality of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound. *FOOD HYDROCOLLOIDS*, 29(2), 308–316.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.009>
- Arzeni, C., Perez, O. E., & Pilosof, A. M. R. (2015). Power Ultrasound Assisted Design of Egg Albumin Nanoparticles. *FOOD BIOPHYSICS*, 10(4), 439–446. <https://doi.org/10.1007/s11483-015-9407-2>
- Ashokkumar, M. (2011). The characterization of acoustic cavitation bubbles – An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 864–872. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.016>
- Baron, F., & Jan, S. (2011). 14 - Egg and egg product microbiology. In Y. Nys, M. Bain, & F. Van Immerseel (Eds.), *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products* (pp. 330–350). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1533/9780857093912.3.330>
- Bazar, G., Kovacs, Z., Tanaka, M., Furukawa, A., Nagai, A., Osawa, M., Itakura, Y., Sugiyama, H., & Tsenkova, R. (2015). Water revealed as molecular mirror when measuring low concentrations of sugar with near infrared light. *ANALYTICA CHIMICA ACTA*, 896, 52–62.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.09.014>
- Benedito, J., Ortuño, C., Castillo-Zamudio, R. I., & Mulet, A. (2015). Microbial Inactivation by Ultrasound Assisted Supercritical Fluids. *Physics Procedia*, 70, 824–827.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.phpro.2015.08.168>
- Bimpong, D., Adofowaa, L. A., Agyeman, A., Boakye, A., Oduro, I. N., Otoo, E. W., & Zaukuu, J.-L. Z. (2023). Authenticating peanut butter and yoghurt in the Kumasi Metropolis of Ghana using near infrared spectroscopy. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 19(1), 69–81.
<https://doi.org/10.1556/446.2023.00093>
- Bizottság 589/2008/EK rendelethe. (2008). EURLEX. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2008R0589:20100701:HU:PDF>
- Blanco, M., & Villarroya, I. (2002). NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. *TRAC-TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY*, 21(4), 240–250. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00404-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00404-1)

- Bodor, Z., Koncz, F. A., Rashed, M. S., Kaszab, T., Gillay, Z., Benedek, C., & Kovacs, Z. (2018). Application of near infrared spectroscopy and classical analytical methods for the evaluation of Hungarian honey. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 14(s1), 11–23. <https://doi.org/10.1556/446.14.2018.s1.2>
- Brooks, J., & Hale, H. P. (1961). The mechanical properties of the thick white of the hen's egg: II. The relation between rigidity and composition. *Biochimica et Biophysica Acta*, 46(2), 289–301. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-3002\(61\)90752-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-3002(61)90752-1)
- Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35(2), 279–284. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00197-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00197-1)
- Capriovus Kft. (2024). *No Title*.
- Chang, C.-W., & Laird, D. A. (2002). Near-infrared reflectance spectroscopic analysis of soil C and N. *Soil Science*, 167(2), 110–116.
- Chen, Y., & Ma, M. (2020). Foam and conformational changes of egg white as affected by ultrasonic pretreatment and phenolic binding at neutral pH. *FOOD HYDROCOLLOIDS*, 102. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105568>
- Chen, Y., Sheng, L., Gouda, M., & Ma, M. (2019). Impact of ultrasound treatment on the foaming and physicochemical properties of egg white during cold storage. *LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 113. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108303>
- Corzo-Martínez, M., Villamiel, M., & Moreno, F. J. (2017). Impact of High-intensity Ultrasound on Protein Structure and Functionality during Food Processing. In *Ultrasound in Food Processing* (pp. 417–436). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118964156.ch16>
- Costello, K. M., Velliou, E., Gutierrez-Merino, J., Smet, C., Kadri, H. El, Impe, J. F. Van, & Bussemaker, M. (2021). The effect of ultrasound treatment in combination with nisin on the inactivation of *Listeria innocua* and *Escherichia coli*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 79, 105776. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105776>
- Csurka, T., Szücs, F., Csehi, B., Friedrich, L. F., & Pásztor-Huszár, K. (2021). Analysis of several techno-functional and sensory attributes upon egg allergen ingredient substitution by blood plasma powder in sponge cake. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 17(S1), 87–98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1556/446.2021.30011>
- Czarnecki, M. A., Morisawa, Y., Futami, Y., & Ozaki, Y. (2015). Advances in Molecular Structure and Interaction Studies Using Near-Infrared Spectroscopy. *Chemical Reviews*, 115(18), 9707–9744. <https://doi.org/10.1021/cr500013u>
- D'AMICO, D. J., SILK, T. M., WU, J., & GUO, M. (2006). Inactivation of Microorganisms in Milk and Apple Cider Treated with Ultrasound. *Journal of Food Protection*, 69(3), 556–563. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.3.556>
- Dalle Zotte, A., Berzaghi, P., Jansson, L.-M., & Andrighetto, I. (2006). The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in the prediction of chemical composition of freeze-dried egg yolk and discrimination between different n-3 PUFA feeding sources. *Animal Feed Science and Technology*, 128(1), 108–121. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.09.009>
- Darnton, N. C., Turner, L., Rojevsky, S., & Berg, H. C. (2007). On Torque and Tumbling in Swimming *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 189(5), 1756–1764. <https://doi.org/10.1128/JB.01501-06>
- Díaz-Olivares, J. A., Adriaens, I., Stevens, E., Saeys, W., & Aernouts, B. (2020). Online milk composition analysis with an on-farm near-infrared sensor. *Computers and Electronics in Agriculture*, 178, 105734. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105734>

- Dien, J., Beal, D. J., & Berg, P. (2005). Optimizing principal components analysis of event-related potentials: Matrix type, factor loading weighting, extraction, and rotations. *Clinical Neurophysiology*, 116(8), 1808–1825. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.11.025>
- dos Santos, C. A., Lopo, M., Pascoa, R. N. M. J., & Lopes, J. A. (2013). A Review on the Applications of Portable Near-Infrared Spectrometers in the Agro-Food Industry. *APPLIED SPECTROSCOPY*, 67(11), 1215–1233. <https://doi.org/10.1366/13-07228>
- Duan, X., Li, J., Zhang, Q., Zhao, T., Li, M., Xu, X., & Liu, X. (2017). Effect of a multiple freeze-thaw process on structural and foaming properties of individual egg white proteins. *FOOD CHEMISTRY*, 228, 243–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.005>
- Earthlife.net. (n.d.). <https://earthlife.net/bird-eggs-engineering-miracle-of-shell-yolk/>.
- Egészségügyi Minisztérium - 4/1998 (XI.11.) EÜM -<https://njt.hu/jogszabaly/1998-4-20-0B> - Elérhető: 2024.11.14
- El-Mesery, H. S., Mao, H., & Abomohra, A. E.-F. (2019). Applications of Non-destructive Technologies for Agricultural and Food Products Quality Inspection. *SENSORS*, 19(4). <https://doi.org/10.3390/s19040846>
- EUR-Lex. (2020). *No Title*. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on Microbiological Criteria for Foodstuffs. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02005R2073-20200308>
- Ezemaduka, A. N., Yu, J., Shi, X., Zhang, K., Yin, C.-C., Fu, X., & Chang, Z. (2014). A Small Heat Shock Protein Enables Escherichia coli To Grow at a Lethal Temperature of 50°C Conceivably by Maintaining Cell Envelope Integrity. *Journal of Bacteriology*, 196(11), 2004–2011. <https://doi.org/10.1128/JB.01473-14>
- Fellows, P. (2000). Principles and practice. *Food Processing Technology, 2nd Ed., Ed. Ellis Horwood, Chichester, UK*, 369–380.
- Fotadar, U., Zaveloff, P., & Terracio, L. (2005). Growth of Escherichia coli at elevated temperatures. *Journal of Basic Microbiology*, 45(5), 403–404. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jobm.200410542>
- Froning, G. W., Peters, D., Muriana, P., Eskridge, K., Travnicsek, D., & Sumner, S. S. (2002). International egg pasteurization manual. *AEB, IL*.
- Gábor, B., & Zsuzsanna, B. (2011). *Élelmiszeranalitika gyors és automatizált módszerei*. Nemzeti Tankönyvkiadó.
- Gallo, M., Ferrara, L., & Naviglio, D. (2018). Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. *Foods*, 7(10). <https://doi.org/10.3390/foods7100164>
- Gennadios, A., Weller, C. L., Hanna, M. A., & Froning, G. W. (1996). Mechanical and Barrier Properties of Egg Albumen Films. *Journal of Food Science*, 61(3), 585–589. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb13164.x>
- Gil, M. I., Allende, A., & others. (2012). Minimal processing. *Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce*, 105.
- Golic, M., & Walsh, K. B. (2006). Robustness of calibration models based on near infrared spectroscopy for the in-line grading of stonefruit for total soluble solids content. *Analytica Chimica Acta*, 555(2), 286–291. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.09.014>
- Görgüç, A., Gençdağ, E., Okuroğlu, F., Yılmaz, F. M., Bıyık, H. H., Öztürk Köse, S., & Ersus, S. (2021). Single and combined decontamination effects of power-ultrasound, peroxyacetic acid and sodium chloride sanitizing treatments on Escherichia coli, Bacillus cereus and Penicillium expansum

- inoculated dried figs. *LWT*, *140*, 110844.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110844>
- Guisbert, E., Yura, T., Rhodius, V. A., & Gross, C. A. (2008). Convergence of Molecular, Modeling, and Systems Approaches for an Understanding of the *Escherichia coli* Heat Shock Response. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *72*(3), 545–554.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.00007-08>
- Hardcastle, J. L., Ball, J. C., Hong, Q., Marken, F., Compton, R. G., Bull, S. D., & Davies, S. G. (2000). Sono-electrochemical and sonochemical effects of cavitation: correlation with interfacial cavitation induced by 20 kHz ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, *7*(1), 7–14.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(99\)00026-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1350-4177(99)00026-7)
- Hidas, K. I., Németh, C., Visy, A., Tóth, A., Friedrich, L. F., & Nyulas-Zeke, I. C. (2021). Comparison of different thawing methods effect on the calorimetric and rheological properties of frozen liquid egg yolk. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, *16*(S2), 37–44.
- Hu, W., Wu, Y., Chen, H., Gao, J., & Tong, P. (2022). Effects of Glucose and Homogenization Treatment on the Quality of Liquid Whole Eggs. *Foods*, *11*(16). <https://doi.org/10.3390/foods11162521>
- Itelima, J. U., & Agina, S. E. (2011). Effect of heat treatment on the survival of *Escherichia coli* O157: H7 in raw milk. *Global Journal of Pure and Applied Sciences*, *17*(4), 355–461.
- Jambrak, A. R., Mason, T. J., Lelas, V., Herceg, Z., & Herceg, I. L. (2008). Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *JOURNAL OF FOOD ENGINEERING*, *86*(2), 281–287. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.10.004>
- Joffre, R., Gillon, D., Dardenne, P., Agneessens, R., & Biston, R. (1992). The use of near-infrared reflectance spectroscopy in litter decomposition studies. *Annales Des Sciences Forestières*, *49*(5), 481–488.
- Jovanovic, J. R., Stefanovic, A. B., Sekuljica, N. Z., Jakovetic Tanaskovic, S. M., Dojcinovic, M. B., Bugarski, B. M., & Knezevic-Jugovic, Z. D. (2016). Ultrasound Pretreatment as an Useful Tool to Enhance Egg White Protein Hydrolysis: Kinetics, Reaction Model, and Thermodynamics. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*, *81*(11), C2664–C2675. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13503>
- Kang, D., Jiang, Y., Xing, L., Zhou, G., & Zhang, W. (2017). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Bacillus cereus* by power ultrasound during the curing processing in brining liquid and beef. *FOOD RESEARCH INTERNATIONAL*, *102*, 717–727. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.062>
- Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2011). The Physical and Chemical Effects of Ultrasound. In H. Feng, G. Barbosa-Canovas, & J. Weiss (Eds.), *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing* (pp. 1–12). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7472-3_1
- Kovacs, Z., Pollner, B., Bazar, G., Muncan, J., & Tsenkova, R. (2020). A Novel Tool for Visualization of Water Molecular Structure and Its Changes, Expressed on the Scale of Temperature Influence. *MOLECULES*, *25*(9). <https://doi.org/10.3390/molecules25092234>
- Kurita, T. (2019). Principal Component Analysis (PCA). In *Computer Vision: A Reference Guide* (pp. 1–4). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03243-2_649-1
- Lauterborn, W., & Ohl, C.-D. (1997). Cavitation bubble dynamics. *Ultrasonics Sonochemistry*, *4*(2), 65–75. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(97\)00009-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1350-4177(97)00009-6)
- Lee, D.-U. (2009). Effects of Combination Treatments of Nisin and High-intensity Ultrasound with High Pressure on the Functional Properties of Liquid Whole Egg. *FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY*, *18*(6), 1511–1514.
- Lee, H., Kim, H., Cadwallader, K. R., Feng, H., & Martin, S. E. (2013). Sonication in combination with heat

- and low pressure as an alternative pasteurization treatment – Effect on *Escherichia coli* K12 inactivation and quality of apple cider. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1131–1138.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.003>
- Leighton, T. G. (2007). What is ultrasound? *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 93(1), 3–83.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2006.07.026>
- Leistner, L., & Gould, G. W. (2002). The Hurdle Concept. In *Hurdle Technologies: Combination Treatments for Food Stability, Safety and Quality* (pp. 17–28). Springer US.
https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0743-7_2
- Li, X., Zhang, L., Zhang, Y., Wang, D., Wang, X., Yu, L., Zhang, W., & Li, P. (2020). Review of NIR spectroscopy methods for nondestructive quality analysis of oilseeds and edible oils. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 172–181.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.002>
- Lin, H., Zhao, J., Sun, L., Chen, Q., & Zhou, F. (2011). Freshness measurement of eggs using near infrared (NIR) spectroscopy and multivariate data analysis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(2), 182–186. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.01.008>
- Liu, L., Zhang, K., Sun, Z., Dong, Q., Li, L., & Zang, H. (2021). A new perspective in understanding the dissolution behavior of nifedipine controlled release tablets by NIR spectroscopy with aquaphotomics. *Journal of Molecular Structure*, 1230, 129872.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.129872>
- Liu, Y.-C., Chen, T.-H., Wu, Y.-C., Lee, Y.-C., & Tan, F.-J. (2016). Effects of egg washing and storage temperature on the quality of eggshell cuticle and eggs. *Food Chemistry*, 211, 687–693.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.056>
- Lu, R. (2001). PREDICTING FIRMNESS AND SUGAR CONTENT OF SWEET CHERRIES USING NEAR-INFRARED DIFFUSE REFLECTANCE SPECTROSCOPY. *Transactions of the ASAE*, 44(5), 1265.
<https://doi.org/https://doi.org/10.13031/2013.6421>
- Luque de Castro, M. D., & Priego-Capote, F. (2007). Ultrasound-assisted preparation of liquid samples. *Talanta*, 72(2), 321–334. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.11.013>
- Malegori, C., Oliveri, P., Tsenkova, R., Cappa, C., Lucisano, M., & others. (2018). *How different water activities affect rice germ shelf-life: an aquaphotomics approach*.
- Mann, K., Maček, B., & Olsen, J. V. (2006). Proteomic analysis of the acid-soluble organic matrix of the chicken calcified eggshell layer. *PROTEOMICS*, 6(13), 3801–3810.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/pmic.200600120>
- Manuel Gelvez-Ordóñez, V., Mendoza-Galvis, F., & Orlando Delgado, J. (2009). THE EFFECT OF ULTRASONIC TREATMENT ON SOME FUNCTIONAL PROPERTIES OF EGG WHITE. *REVISTA CIENTIFICA-FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS*, 19(1), 71–76.
- Markova, N., Slavchev, G., Michailova, L., & Jourdanova, M. (2010). Survival of *Escherichia coli* under lethal heat stress by L-form conversion. *International Journal of Biological Sciences*, 6(4), 303.
- Martínez, I., Aursand, M., Erikson, U., Singstad, T. E., Veliyulin, E., & van der Zwaag, C. (2003). Destructive and non-destructive analytical techniques for authentication and composition analyses of foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology*, 14(12), 489–498.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.005>
- Mason, T J, Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(3), S253–S260. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(96\)00034-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1350-4177(96)00034-X)
- Mason, Timothy J, Riera, E., Vercet, A., & Lopez-Buesa, P. (2005). 13 - Application of Ultrasound. In D.-W.

- Sun (Ed.), *Emerging Technologies for Food Processing* (pp. 323–351). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012676757-5/50015-3>
- Mayo, D. W., Miller, F. A., Hannah, R. W. (2003). *Course notes on the interpretation of infrared and Raman spectra*. John Wiley and sons.
- McDowell, D. A., & others. (2004). Food processing stresses in the spread of antibiotic resistance. *Safety Assurance during Food Processing: Food Safety Assurance and Veterinary Public Health*, 2, 243–265.
- McGee, H. (2014). Food and cooking: Caramelisation: New science, new possibilities. *Chemistry in Australia*, 32–33.
<https://doi.org/https://search.informit.org/doi/10.3316/ielapa.415562341606242>
- Mine, Y. (1995). Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 6(7), 225–232. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89083-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89083-4)
- Mirmoghtadaie, L., Shojaee Aliabadi, S., & Hosseini, S. M. (2016). Recent approaches in physical modification of protein functionality. *Food Chemistry*, 199, 619–627.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.067>
- Mou, Y., You, X., Xu, D., Zhou, L., Zeng, W., & Yu, S. (2014). Regularized multivariate scatter correction. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 132, 168–174.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2013.12.004>
- Muncan, J., & Tsenkova, R. (2019). Aquaphotomics-From Innovative Knowledge to Integrative Platform in Science and Technology. *MOLECULES*, 24(15). <https://doi.org/10.3390/molecules24152742>
- Muthupandian Ashokkumar, & Franz Grieser. (1999). Ultrasound assisted chemical processes. *Reviews in Chemical Engineering*, 15(1), 41–83. <https://doi.org/doi:10.1515/REVCE.1999.15.1.41>
- Naes, T., Isaksson, T., & Kowalski, B. (1990). Locally weighted regression and scatter correction for near-infrared reflectance data. *Analytical Chemistry*, 62(7), 664–673.
<https://doi.org/10.1021/ac00206a003>
- Németh, C. (2012). *Tojáslevek kis hőmérsékletű hőkezelése*. Budapesti Corvinus Egyetem.
- Neppiras, E. A. (1980). Acoustic cavitation. *Physics Reports*, 61(3), 159–251.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0370-1573\(80\)90115-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0370-1573(80)90115-5)
- Newman, P. G., & Rozycki, G. S. (1998). THE HISTORY OF ULTRASOUND. *Surgical Clinics of North America*, 78(2), 179–195. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0039-6109\(05\)70308-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0039-6109(05)70308-X)
- Nonaka, G., Blankschien, M., Herman, C., Gross, C. A., & Rhodius, V. A. (2006). Regulon and promoter analysis of the E. coli heat-shock factor, σ^{32} , reveals a multifaceted cellular response to heat stress. *Genes & Development*, 20(13), 1776–1789.
- Nys, Y., Bain, M., & Van Immerseel, F. (2011). *Improving the safety and quality of eggs and egg products: volume 1: egg chemistry, production and consumption*. Elsevier.
- O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., & Crandall, P. G. (2017). Chapter 18 - Chemical and Physical Sanitation and Pasteurization Methods for Intact Shell Eggs. In S. C. Ricke & R. K. Gast (Eds.), *Producing Safe Eggs* (pp. 373–390). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802582-6.00018-5>
- O'Sullivan, J., Murray, B., Flynn, C., & Norton, I. (2016). The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins. *Food Hydrocolloids*, 53, 141–154. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.009>

- Ohlsson, T. (1994). Minimal processing-preservation methods of the future: an overview. *Trends in Food Science & Technology*, 5(11), 341–344.
- Ohlsson, T., & Bengtsson, N. (2002). *Minimal processing technologies in the food industries*. Elsevier.
- Peng, S., Hummerjohann, J., Stephan, R., & Hammer, P. (2013). Short communication: Heat resistance of *Escherichia coli* strains in raw milk at different subpasteurization conditions. *Journal of Dairy Science*, 96(6), 3543–3546. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2012-6174>
- Perera, C. O. (2020). Minimal processing of fruit and vegetables. In *Handbook of food preservation* (pp. 191–206). CRC Press.
- Pesavento, G., Calonico, C., Runfola, M., & Lo Nostro, A. (2017). Free-range and organic farming: Eggshell contamination by mesophilic bacteria and unusual pathogens. *Journal of Applied Poultry Research*, 26(4), 509–517. <https://doi.org/https://doi.org/10.3382/japr/pfx023>
- Piyasena, P., Mohareb, E., & McKellar, R. C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 207–216. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8)
- Porep, J. U., Kammerer, D. R., & Carle, R. (2015). On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production. *Trends in Food Science & Technology*, 46(2, Part A), 211–230. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.002>
- Roberts, J. R. (2004). Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality in Laying Hens. *The Journal of Poultry Science*, 41(3), 161–177. <https://doi.org/10.2141/jpsa.41.161>
- Sachin, D., & others. (2015). Dimensionality reduction and classification through PCA and LDA. *International Journal of Computer Applications*, 122(17).
- Schafer, R. W. (2011). What Is a Savitzky-Golay Filter? [Lecture Notes]. *IEEE Signal Processing Magazine*, 28(4), 111–117. <https://doi.org/10.1109/MSP.2011.941097>
- Sesal, N. C., & Kekeç, Ö. (2014). Inactivation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by Ultrasound. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 33(9), 1663–1668. <https://doi.org/https://doi.org/10.7863/ultra.33.9.1663>
- Sharaf Eddin, A., Ibrahim, S. A., & Tahergorabi, R. (2019). Egg quality and safety with an overview of edible coating application for egg preservation. *Food Chemistry*, 296, 29–39. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.182>
- Sheng, L., Wang, Y., Chen, J., Zou, J., Wang, Q., & Ma, M. (2018). Influence of high-intensity ultrasound on foaming and structural properties of egg white. *FOOD RESEARCH INTERNATIONAL*, 108, 604–610. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.007>
- Shenk, J. S., Workman Jr, J. J., & Westerhaus, M. O. (2007). Application of NIR spectroscopy to agricultural products. In *Handbook of near-infrared analysis* (pp. 365–404). CRC Press.
- Singh, A., & Ramaswamy, H. S. (2015). High pressure modification of egg components: Exploration of calorimetric, structural and functional characteristics. *INNOVATIVE FOOD SCIENCE & EMERGING TECHNOLOGIES*, 32, 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.010>
- Skrobot, V. L., Castro, E. V. R., Pereira, R. C. C., Pasa, V. M. D., & Fortes, I. C. P. (2007). Use of Principal Component Analysis (PCA) and Linear Discriminant Analysis (LDA) in Gas Chromatographic (GC) Data in the Investigation of Gasoline Adulteration. *Energy & Fuels*, 21(6), 3394–3400. <https://doi.org/10.1021/ef0701337>
- Sörqvist, S. (2003). Heat Resistance in Liquids of *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-1>

- Stefanovic, A. B., Jovanovic, J. R., Dojcinovic, M. B., Levic, S. M., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., & Knezevic-Jugovic, Z. D. (2017). Effect of the Controlled High-Intensity Ultrasound on Improving Functionality and Structural Changes of Egg White Proteins. *FOOD AND BIOPROCESS TECHNOLOGY*, 10(7), 1224–1239. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1884-5>
- Stepien-Pysniak, D. (2010). Occurrence of gram-negative bacteria in hens' eggs depending on their source and storage conditions. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 13(3), 507.
- Su, C., Ren, X., Nie, F., Li, T., Lv, W., Li, H., & Zhang, Y. (2021). Current advances in ultrasound-combined nanobubbles for cancer-targeted therapy: a review of the current status and future perspectives. *RSC Advances*, 11(21), 12915–12928.
- Szigedi, T. (2014). *Módszerfejlesztés Fourier-transzformációs közeli infravörös technika (FT-NIR) alkalmazási körének kibővítése élelmiszeripari mintákon* [Corvinus University Budapest, Hungary]. <https://doi.org/10.14267/phd.2014009>
- Szilárd, T. L. (2013). *MEZŐGAZDASÁGI TERMÉKEK FELDOLGOZÁSA 2. ÁLLATI EREDETŰ NYERSANYAGOK FELDOLGOZÁSA* könyv.
- Tan, M. C., Chin, N. L., Yusof, Y. A., & Abdullah, J. (2016). Effect of high power ultrasonic treatment on whey protein foaming quality. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(3), 617–624. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.13013>
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 8(3), 207–217. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2298>
- Tiwari, B. K., & Mason, T. J. (2012). Ultrasound Processing of Fluid Foods. In Cullen, PJ and Tiwari, BK and Valdramidis, VP (Ed.), *NOVEL THERMAL AND NON-THERMAL TECHNOLOGIES FOR FLUID FOODS* (pp. 135–165). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381470-8.00006-2>
- Toscano, G., Rinnan, Å., Pizzi, A., & Mancini, M. (2017). The Use of Near-Infrared (NIR) Spectroscopy and Principal Component Analysis (PCA) To Discriminate Bark and Wood of the Most Common Species of the Pellet Sector. *Energy & Fuels*, 31(3), 2814–2821. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b02421>
- Tsenkova, R. (2009). Introduction Aquaphotomics: dynamic spectroscopy of aqueous and biological systems describes peculiarities of water. *JOURNAL OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY*, 17(6, SI), 303–313. <https://doi.org/10.1255/jnirs.869>
- Tsenkova, R., Munćan, J., Pollner, B., & Kovacs, Z. (2018). Essentials of Aquaphotomics and Its Chemometrics Approaches. *Frontiers in Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00363>
- Ugarte-Romero, E., Feng, H., Martin, S. E., Cadwallader, K. R., & Robinson, S. J. (2006). Inactivation of *Escherichia coli* with Power Ultrasound in Apple Cider. *Journal of Food Science*, 71(2), E102–E108. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08890.x>
- USDA. (2020). *FSIS Food Safety Guideline for Egg Products*. https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2021-01/food-safety-guideline-egg-products.pdf
- Uysal, R. S., Boyacı, İ. H., Soykut, E. A., & Ertaş, N. (2017). Effects of heat treatment parameters on liquid whole egg proteins. *Food Chemistry*, 216, 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.050>
- van de Kraats, E. B., Munćan, J., & Tsenkova, R. N. (2019). Aquaphotomics—Origin, concept, applications and future perspectives. *Substantia*, 3(2), 13–28.
- Velderrain-Rodríguez, G. R., López-Gámez, G. M., Domínguez-Avila, J. A., González-Aguilar, G. A., Soliva-

- Fortuny, R., & Ayala-Zavala, J. F. (2019). Chapter 10 - Minimal Processing. In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest Technology of Perishable Horticultural Commodities* (pp. 353–374). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813276-0.00010-9>
- Vogt, R. L., & Dippold, L. (2005). Escherichia Coli O157:H7 Outbreak Associated with Consumption of Ground Beef, June–July 2002. *Public Health Reports*, 120(2), 174–178. <https://doi.org/10.1177/003335490512000211>
- Wang, X., Ford, B. C., Praul, C. A., & Leach, R. M. (2002). Collagen X expression in oviduct tissue during the different stages of the egg laying cycle. *Poultry Science*, 81(6), 805–808. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ps/81.6.805>
- Wold, S., Esbensen, K., & Geladi, P. (1987). Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2(1), 37–52. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0169-7439\(87\)80084-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0169-7439(87)80084-9)
- Yasui, K. (2018). Acoustic Cavitation. In *Acoustic Cavitation and Bubble Dynamics* (pp. 1–35). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-68237-2_1
- Ye, J., & Li, Q. (2005). A two-stage linear discriminant analysis via QR-decomposition. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 27(6), 929–941. <https://doi.org/10.1109/TPAMI.2005.110>
- Ye, Y., Zhang, L., Hao, F., Zhang, J., Wang, Y., & Tang, H. (2012). Global Metabolomic Responses of Escherichia coli to Heat Stress. *Journal of Proteome Research*, 11(4), 2559–2566. <https://doi.org/10.1021/pr3000128>
- Zhang, Z., Regenstein, J. M., Zhou, P., & Yang, Y. (2017). Effects of high intensity ultrasound modification on physicochemical property and water in myofibrillar protein gel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 960–967. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.08.008>

M2 Egyéb mellékletek

1. Melléklet: A tojásfehérje lineáris diszkriminancia validációs modelljének eredményei a csak ultrahangos és kombinált kezelések eredményei alapján

Validáció	I_UH	I_UHT	J_UH	J_UHT	K_UH	K_UHT	K1	Hő	L_UH	L_UHT	M_UH	M_UHT	N_UH	N_UHT	O_UH	O_UHT	P_UH	P_UHT
I_UH	95,88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UHT	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH	0	0	91,74	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UHT	0	0	0	66,67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UH	0	0	0	0	83,38	0	18,76	0	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UHT	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K1	0	0	4,13	0	4,12	0	75,05	0	8,38	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UH	0	0	4,13	0	8,38	0	6,19	0	87,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56,18	0	0	0	0	0	0	0
M_UHT	0	0	0	22,17	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
N_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12,55	0	79,12	0	4,12	0	0	0
N_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
O_UH	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31,27	0	20,88	0	95,88	0	0	0
O_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH	0	0	0	0	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0
P_UHT	0	0	0	11,17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

2. Melléklet: A tojásfehérje lineáris diszkriminancia predikciós modelljének eredményei a csak ultrahangos és kombinált kezelések eredményei alapján

Predikció	I_UH	I_UHT	J_UH	J_UHT	K_UH	K_UHT	K1	Hő	L_UH	L_UHT	M_UH	M_UHT	N_UH	N_UHT	O_UH	O_UHT	P_UH	P_UHT
I_UH	83,46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UHT	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH	0	0	41,75	0	0	0	25,09	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UHT	0	0	0	66,67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UH	0	0	8,25	0	50,13	0	37,45	0	8,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UHT	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K1	0	0	25	0	33,33	0	25,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UH	0	0	25	0	8,27	0	0	0	66,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0
M_UHT	0	0	0	22,33	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
N_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	75	0	8,25	0	0	0
N_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
O_UH	8,27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	25	0	91,75	0	0	0
O_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH	8,27	0	0	0	8,27	0	12,36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0
P_UHT	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

3. Melléklet: A tojássárgája lineáris diszkriminancia validációs modelljének eredményei a csak ultrahangos és kombinált kezelések eredményei alapján

Validáció	I_UH	I_UHT	J_UH	J_UHT	K_UH	K_UHT	K1	Hő	L_UH	L_UHT	M_UH	M_UHT	N_UH	N_UHT	O_UH	O_UHT	P_UH	P_UHT
I_UH	95,88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UHT	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH	0	0	91,74	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UHT	0	0	0	66,67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UH	0	0	0	0	83,38	0	18,76	0	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UHT	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K1	0	0	4,13	0	4,12	0	75,05	0	8,38	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UH	0	0	4,13	0	8,38	0	6,19	0	87,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56,18	0	0	0	0	0	0	0
M_UHT	0	0	0	22,17	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
N_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12,55	0	79,12	0	4,12	0	0	0
N_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
O_UH	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31,27	0	20,88	0	95,88	0	0	0
O_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH	0	0	0	0	4,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0
P_UHT	0	0	0	11,17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

4. Melléklet: A tojássárgája lineáris diszkriminancia predikciós modelljének eredményei a csak ultrahangos és kombinált kezelések eredményei alapján

Predikció	I_UH	I_UHT	J_UH	J_UHT	K_UH	K_UHT	K1	Hő	L_UH	L_UHT	M_UH	M_UHT	N_UH	N_UHT	O_UH	O_UHT	P_UH	P_UHT
I_UH	83,46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UHT	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH	0	0	41,75	0	0	0	25,09	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UHT	0	0	0	66,67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UH	0	0	8,25	0	50,13	0	37,45	0	8,25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UHT	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K1	0	0	25	0	33,33	0	25,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UH	0	0	25	0	8,27	0	0	0	66,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0
M_UHT	0	0	0	22,33	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
N_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	75	0	8,25	0	0	0
N_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
O_UH	8,27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	25	0	91,75	0	0	0
O_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH	8,27	0	0	0	8,27	0	12,36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0
P_UHT	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

5. Melléklet: A teljes tojáslé lineáris diszkriminancia validációs modelljének eredményei a csak ultrahangos és kombinált kezelések eredményei alapján

Validáció	I_UH	I_UHT	J_UH	J_UHT	K_UH	K_UHT	K1	Hő	L_UH	L_UHT	M_UH	M_UHT	N_UH	N_UHT	O_UH	O_UHT	P_UH	P_UHT
I_UH	79,12	0	0	0	4,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UHT	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH	0	0	58,38	0	12,52	0	0	0	45,88	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UHT	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UH	20,88	0	41,62	0	79,22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UHT	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K1	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	54,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	81,24	0	0	0	0	0	0	0
M_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
N_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
N_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
O_UH	0	0	0	0	4,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	87,5	0	16,62	0
O_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18,76	0	0	0	12,5	0	83,38	0
P_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

6. Melléklet: A teljes tojáslé lineáris diszkriminancia predikciós modelljének eredményei a csak ultrahangos és kombinált kezelések eredményei alapján

Predikció	I_UH	I_UHT	J_UH	J_UHT	K_UH	K_UHT	K1	Hő	L_UH	L_UHT	M_UH	M_UHT	N_UH	N_UHT	O_UH	O_UHT	P_UH	P_UHT
I_UH	33,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I_UHT	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UH	0	0	50	0	16,75	0	0	0	33,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0
J_UHT	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UH	58,4	0	41,75	0	75	0	0	0	8,27	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K_UHT	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K1	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hő	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L_UH	8,27	0	0	0	0	0	0	0	58,4	0	0	0	0	0	0	0	8,27	0
L_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
M_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	74,91	0	0	0	0	0	0	0
M_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
N_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
N_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
O_UH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83,25	0	8,27	0
O_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
P_UH	0	0	8,25	0	8,25	0	0	0	0	0	25,09	0	0	0	16,75	0	83,46	0
P_UHT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

M3 Publikációk

Idegennyelvű IF folyóiratok

- Nagy, D.; Felföldi, J.; Taczmanne Bruckner, A.; Mohacsi-Farkas, C.; Bodor, Z.; Kertesz, I.; Nemeth, C.; Zsom-Muha, V. Determining Sonication Effect on *E. coli* in Liquid Egg, Egg Yolk and Albumen and Inspecting Structural Property Changes by Near-Infrared Spectra. *Sensors* **2021**, 21, 398. DOI: 10.3390/s21020398
- Nagy, D.; Baranyai, L.; Nguyen, L.L.P.; Taczman Brückner, A.; Zsom, T.; Németh, C.; Felföldi, J.; Zsom-Muha, V. Combined Effect of Ultrasound and Low-Heat Treatments on *E. coli* in Liquid Egg Products and Analysis of the Inducted Structural Alterations by NIR Spectroscopy. *Sensors* **2022**, 22, 9941. DOI: 10.3390/s22249941
- Nagy, D.; Zsom, T.; Taczman-Brückner, A.; Somogyi, T.; Zsom-Muha, V.; Felföldi, J. Comparison of the Bactericidal Effect of Ultrasonic and Heat Combined with Ultrasonic Treatments on Egg Liquids and Additional Analysis of Their Effect by NIR Spectral Analysis. *Sensors* 2024, 24, 4547. <https://doi.org/10.3390/s24144547>

Idegennyelvű nem IF folyóiratok

- Nagy, D.; Zsom-Muha, V.; Németh, C.; Felföldi, J. Sonication effect on foam properties of egg white. *Prog. Agric. Eng. Sci.* **2021**, 17, 1–8.
- Nagy, D., Lambertné, M. A., Zsom, T., & Zsomné, M. V. (2018). Review on applications of ultrasonic treatments in meat industry. *Animal Welfare, Ethology and Housing Systems*, 14(1), 45-52.

Társszerző

- Lien Le Phuong Nguyen; László Baranyai; Dávid Nagy; Pramod V. Mahajan; Viktória Zsom-Muha; Tamás Zsom. Color analysis of horticultural produces using hue spectra fingerprinting. *MethodsX* **2021**, 8, 101594 .
- Kertész, I.; Nagy, D.; Baranyai, L.; Pásztor-Huszár, K.; Varsányi, K.; Le Phuong Nguyen, L.; Felföldi, J. Development of a Novel Ultrasonic Spectroscopy Method for Estimation of Viscosity Change during Milk Clotting. *Molecules* **2021**, 26, 5906. <https://doi.org/10.3390/molecules26195906>

- Felföldi, J., Kertész, I., Nagy, D., & Zsom-Muha, V. (2017). Non-destructive impact method for quality assessment of horticultural products. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 13(1), 69-93.

Konferenciák

- BiosysFoodEng2018: Shelf life extension with ultrasound
- BiosysFoodEng2019: Dávid Nagy, József Felföldi, Tamás Zsom, István Kertész, Viktória Zsomné Muha: Effect of ultrasound treatment on orange juice freezing
- Third International Conference on Food Science and Technology: Effect of ultrasound to electro-chemical properties of orange juice
- VI. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap: A húsiparban alkalmazott ultrahangos kezelések áttekintése
- BiosysFoodEng2019: Tamás Zsom, Lien Phoung Le Nguyen, Dávid Nagy, Géza Hitka, Petra Polgári, Viktória Zsom-Muha, László Baranyai: Nondestructive possible detection of low temperature induced stress on kápia type sweet pepper postharvest quality
- BiosysFoodEng2019: Tamás Zsom, Ildikó Gyivi, Lien Phuong Le Nguyen, Géza Hitka, Nagy Dávid, László Baranyai, Viktória Zsom-Muha: Nondestructive quality measurement of three different pear cultivars

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozok:

- Konzulenseimnek Dr. Zsorné Dr. Muha Viktóriának és Dr. Felföldi Józsefnek, hogy kitartottak melletttem és szakmai tudásukkal, éleslátásukkal segítették munkámat
- A Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élelmiszeripari Méréstechnika és Automatizálás Tanszék dolgozóinak
- Taczmanné Dr. Brückner Andreának a mikrobiológiai vizsgálatok során kapott szakmai támogatásáért és segítségéért
- Dr. Zsom Tamásnak a szakmai segítségéért
- A Capriovus Kft-től Dr. Németh Csabának, hogy tojástminták biztosításával támogatta kutatásaimat

Külön szeretném megköszönni feleségemnek, szüleimnek és barátaimnak, hogy támogattak és bátorítottak egész idő alatt.

Köszönöm!