

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

BUZÁS HENRIETTA

MOSONMAGYARÓVÁR

2024

**SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM
ALBERT KÁZMÉR MOSONMAGYARÓVÁRI KAR
BIOLÓGIAI RENDSZEREK ÉS PRECIZIÓS TECHNOLÓGIAI
TANSZÉK**

**WITTMANN ANTAL NÖVÉNY-, ÁLLAT- ÉS ÉLELMISZER-
TUDOMÁNYI MULTIDISZCIPLINÁRIS
DOKTORI ISKOLA
PULAY GÁBOR ÉLELMISZERTUDOMÁNYI DOKTORI
PROGRAM**

**DOKTORI ISKOLAVEZETŐ:
PROF. DR. VARGA LÁSZLÓ DSC
EGYETEMI TANÁR**

**PROGRAMVEZETŐ:
PROF. DR. VARGA LÁSZLÓ DSC
EGYETEMI TANÁR**

**TÉMAVEZETŐK:
DR. KOVÁCS ATILA JÓZSEF
EGYETEMI TANÁR**

**DR. SZAFNER GÁBOR, PhD
KUTATÁS-FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS OSZTÁLYVEZETŐ
MAGYAR TEJGAZDASÁGI KÍSÉRLETI INTÉZET KFT.**

**MEMBRÁNSZEPARÁCIÓS TECHNOLÓGIÁKKAL
TEJFEHÉRJE- ÉS SAVÓFEHÉRJE FRAKCIÓK ELŐÁLLÍTÁSA,
EZEN FRAKCIÓK RÉSZARÁNYÁNAK MEGHATÁROZÁSA
KORSZERŰ ANALITIKAI MÓDSZEREKKEL**

KÉSZÍTETTE:

**BUZÁS HENRIETTA
MOSONMAGYARÓVÁR
2024**

Membránszeparációs technológiákkal tejfehérje- és savófehérje frakciók előállítása, ezen frakciók részarányának meghatározása korszerű analitikai módszerekkel

Írta:
Buzás Henrietta

**Készült a Széchenyi István Egyetem Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Kar
Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi Multidiszciplináris
Doktori Iskola**

Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori Programja keretében

Témavezető: Név

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton.....%-ot ért el,

Mosonmagyaróvár,

.....
a Szigorlati Bizottság Elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen/nem)

Első bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Mosonmagyaróvár,

A Bírálóbizottság elnöke

Doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Az EDT elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	7
1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS	9
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	12
2.1 A tej komplex kolloidrendszerre és a tejalkotó részek rövid jellemzése	12
2.2 A tej nitrogén tartalmú vegyületeinek ismertetése	16
2.2.1 Kazeinfehérjék jellemzése	18
2.2.2 Savófehérjék jellemzése	21
2.3 A tej fő fehérjefrakcióinak részletes jellemzése.....	23
2.3.1 α s-kazein	23
2.3.2 β -kazein.....	24
2.3.3 κ -kazein.....	27
2.3.4 β -laktoglobulin.....	28
2.3.5 α -laktalbumin.....	30
2.4 A tej fő fehérjefrakcióinak kvalitatív és kvantitatív meghatározására szolgáló analitikai módszerek	31
2.5 Membránszeparációs technológiákkal a tejalkotó részek frakcionálása.....	41
2.6 Tejfehérjére frakcionáló mikroszűrés.....	48
2.7 A tejfehérje frakcionáló mikroszűrés hatékonyságát befolyásoló főbb tényezők	51
2.7.1 Tej kezdeti hőkezelése	51
2.7.2 Szűrési hőmérséklet	52
2.7.3 Membrán eltömődés	54
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	56
3.1 Kísérletek és vizsgálatok helyszíne.....	56
3.2 HPLC módszer fejlesztése a tejben lévő fő fehérje frakciók elválasztására és mennyiségi meghatározására	56
3.2.1 Felhasznált standardok.....	56

3.2.2 Felhasznált reagensek és vegyszerek.....	56
3.2.3 Tejminták.....	57
3.2.4 Alkalmazott készülékek.....	57
3.2.5 Standardok és pufferek készítése.....	58
3.2.6 Mintaelőkészítési protokoll.....	59
3.2.7 Kromatográfiai körülmények.....	60
3.3 RP-HPLC módszer teljesítményjellemzőinek meghatározása.....	60
3.3.1 Specificitás és szelektivitás.....	61
3.3.2 Linearitás, torzítatlanság.....	61
3.3.3 Precizitás (ismételhetőség, reprodukálhatóság).....	62
3.3.4 Kimutatási határ (LOD – Limit of Detection) és meghatározási határ (LOQ – Limit of Quantification).....	62
3.3.5 Oldatstabilitás.....	62
3.4 Mikroszűrési kísérletek.....	63
3.4.1 Felhasznált tej.....	64
3.4.2 Alkalmazott membrán modulok.....	66
3.4.1 Membránok tisztítása.....	67
3.5 Mikroszűrés (MF) és diafiltrációs (DF) folyamat leírása.....	68
3.6 Fázisminták fehérjeprofilijának meghatározása.....	72
3.7 Fehérjefrakciók aktuális permeáció értékének meghatározása.....	75
3.8 Alkalmazott statisztikai módszerek.....	75
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELESÜK.....	76
4.1 Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiai (HPLC) módszerfejlesztés.....	76
4.1.1 A fő tejfehérje frakciók folyadékkromatográfiai elválasztása.....	76
4.1.2 A módszer teljesítményjellemzői.....	82
4.2 Mikroszűrési kísérletek.....	88
4.2.1 MF permeátum és retentátum minták fehérjeprofilijának meghatározása RP-HPLC módszerrel.....	88

4.2.2 Mikroszűrési paraméterek hatása az α -laktalbumin fehérje frakció permeációjára	91
4.2.3 Mikroszűrési paraméterek hatása β -laktoglobulin B frakció permeációjára	93
4.2.4 Mikroszűrési paraméterek hatása az β -laktoglobulin A frakció permeációjára	95
4.2.5 Mikroszűrési paraméterek hatása a CN arány (CN/TPN%) alakulására (Kjeldahl módszerrel meghatározva)	100
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	104
6. ÖSSZEFOGLALÁS	108
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	110
8. PUBLIKÁCIÓK	112
8.1 Értekezés alapjául szolgáló közlemények	112
8.2 Értekezés témakörében megjelent közlemények	113
9. FELHASZNÁLT IRODALMAK JEGYZÉKE	114
10. MELLÉKLETEK	156

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

Rövidítés	Angol megnevezés	Magyar megnevezés
ACN	Acetonitrile	Acetonitril
BSA	Bovine Serum Albumin	Szarvasmarha szérum albumin
CCP	Colloidal Calcium Phosphate	Kolloidiális kalcium-foszfát
CN	Casein	Kazein
CZE	Capillary Zone Electrophoresis	Kapilláris Zóna
DAD	Diode array detector	Diódasoros detektor
DF	Diafiltration	Diafiltráció
DTT	Dithiothreitol	Ditiotreitol
EFSA	European Food Safety Authority	Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Nagyhatékonyságúfolyadék kromatográfia
LF	Lactoferrin	Laktoferrin
LOD	Limit of Detection	Kimutatási Határ
LOQ	Limit of Quantification	Meghatározási határ
2-ME	2-Mercaptoethanol	2-Merkaptoetanol
MF	Microfiltration	Mikroszűrés
MWCO	Molecular Weight Cut-Off	Vágási érték

NF	Nanofiltration	Nanoszűrés
NKN	Non Casein Nitrogen	Nem Kazein Nitrogén
NPN	Non-Protein Nitrogen	Nem-fehérje nitrogén
PAGE	Polyacrylamide Gel Electrophoresis	Poliakrilamid-gél elektroforézis
RO	Reverse Osmosis	Reverz Ozmózis
RP	Reversed Phase	Fordított fázisú
RSD	Relative Standard Deviation	Relatív szórás
SDS	Sodium-Dodecil-Sulfat	Nátrium-dodecil-szulfát
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	Egy pontos nukleotid polimorfizmus
TFA	Trifluoroacetic acid	Trifluorecetsav
TMP	Transmembrane Pressure	Transzmembrán nyomás
TPN	Total Protein Nitrogen	Összes Fehérje Nitrogén
UF	Ultrafiltration	Ultraszűrés
VR	Volume Reduction	Volumenredukció
WP	Whey Protein	Savófehérje
α -LA	α -Lactalbumin	α -laktalbumin
α s-CN	α s-Casein	α s-kazein
β -CM	β -Casomorphin-7	β -kazomorfin-7
β -CN	β -Casein	β -kazein
β -Lg	β -Lactoglobulin	β -laktoglobulin
κ -CN	κ -Casein	κ -kazein
Gdn-HCl	Guanidine-Hydrochloride	Guandin-hidroklorid
SW	Spiral Wound	Spiráltekercselt

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

Napjainkban mind a tejfehérje alapú funkcionális élelmiszerek, mind a csecsemőtápszerek iránti kereslet globálisan nő (Lagrange et al., 2015). Mindkét termékcsoporthoz fejlesztéséhez a gyártóknak tervezniük kell az alapanyagként szolgáló fehérjekoncentrátum- és izolátum porok fehérje profilját annak érdekében, hogy a fogyasztói célcsoport igényeinek megfelelő fehérjeprofiliú termékeket tudjanak előállítani.

A tejben található fehérje komponens egy heterogén komplex peptid csoport, amelyet 90-95%-ban négy kazein frakció, α S1-kazein, α S2-kazein, β -kazein, κ -kazein és két savófehérje frakció, az α -laktalbumin és β -laktoglobulin alkotja. A tejfehérjék sokféleségét tovább fokozza a genetikai polimorfizmus is, amely eltérő fehérjeváltozatokat eredményez. Számos tanulmány igazolta, hogy az egyes frakciók mennyisége és relatív aránya, bizonyos allélok előfordulása hatással lehetnek a tej fizikai-kémiai, táplálkozásélettani, valamint technológiai tulajdonságaira. Ezért az egyes tejfehérje frakciók pontos ismerete nem csak a tejipar, hanem a táplálkozástudomány számára is kulcsfontosságú.

A tejiparban alkalmazott fehérje frakcionáló mikroszűrés célja, hogy az eltérő fizikai-kémiai és techno-funkcionális tulajdonságokkal rendelkező kazein- és savófehérje frakciókat a termék céljától függően szeparálja. Ez napjainkban egyedi kazein- és savófehérjefrakciók szintjén nem ismert.

Ennek egyik oka, hogy az egyes tejfehérje frakciók extrakciójára, kvalitatív és kvantitatív meghatározására számos analitikai módszer terjedt el, azonban ezidáig egyik sem adott eddig optimális elválasztást, így jelenleg is számos kutatási téma alapja.

Napjainkban az üzemi gyakorlatban a fehérjefrakcionáló mikroszűrés esetében 0,1-0,5 μm pórusátmérőjű polimer membránok alkalmazásával meleg (50 °C) mikroszűrést alkalmaznak. Jelenleg ipari méretekben kevésbé alkalmazott hideg (<20 °C) mikroszűrés előnye, hogy gazdaságilag kedvezőbb, mivel hosszabb üzemidő érhető el, amely révén kevesebb mosás szükséges, ezáltal víz és vegyszer megtakarítás érhető el.

Szakirodalomból azonban az látható, hogy mind a tej hőkezelésének mértéke, mind a szűrés során alkalmazott technológiai paraméterek (hőmérséklet, nyomás, membrán pórusmérete, membrán típusa) befolyásolhatják az egyes fehérjefrakciók permeációját, ezáltal a végtermék fehérjeprofilióját.

Kutatómunkám főbb célkitűzései az alábbiak voltak:

1. Első lépésként egy olyan analitikai módszer fejlesztése, amely alkalmas a tejben lévő hat fő fehérjefrakció, nevezetesen az αS1 -kazein, αS2 -kazein, β -kazein, κ -kazein, α -laktalbumin és β -laktoglobulin megbízható, egyidejű, kvalitatív és kvantitatív meghatározására.
2. A kutatás második felében céloim különböző pórusméretű polimer membránokkal, hideg (15 °C) és hagyományos meleg (45 °C) üzemelési hőmérsékleten mikroszűrt retentátum- és permeátum minták előállítására, az ipari gyakorlatnak megfelelően 66%-os volumenredukció és a tejre vonatkoztatott 120%-os diafiltráció alkalmazásával.

3. Az előállított retentátum- és permeátum minták fehérjeprofíljának meghatározása, mely által meghatározható, hogy a mikroszűrés során alkalmazott membrán pórusméret és a szűrés hőmérséklet hogyan befolyásolja az egyes fehérjefrakciók permeációját a mikroszűrés során.

Az eredmények alapjául szolgálhatnak egyedi fehérjeprofíllal rendelkező fehérjekoncentrátum gyártástechnológiájának kidolgozásához, továbbá az ipar számára is hasznosítható tudást, valamint esetleges gazdasági előnyöket is jelent.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A dolgozat célkitűzésének megfelelően, a kutatás szempontjából releváns szakirodalmakat az irodalmi áttekintés hét alfejezetében, a következő fő témakörökbe szedve tárgyalom.

1. A tej komplex kolloidrendszere, és az alkotórészek jellemzése.
2. A tej nitrogéntartalmú vegyületeinek ismertetése.
3. A tej fő fehérjefrakcióinak részletes jellemzése.
4. A tej fő fehérjefrakcióinak kvalitatív és kvantitatív meghatározására szolgáló analitikai módszerek.
5. Membránszeparációs technológiákkal a tejalkotó részek frakcionálása.
6. Tejfehérje frakcionáló mikroszűrés.
7. A fehérje frakcionáló mikroszűrést szelektivitását befolyásoló tényezők.

2.1 A tej komplex kolloidrendszere és a tejalkotó részek rövid jellemzése

A tej a nőnemű emlősállatok tejmirigyei által időszakosan termelt biológiai folyadék, melynek funkciója a faj újszülötteinek kizárólagos táplálása, amelyhez a szükséges tápanyagokat optimális mennyiségben és formában tartalmazza (Gasztonyi & Lásztity, 1993; Szakály, 2001).

A mindennapi gyakorlatban, ételmezési szempontból a tej alatt csak a tehéntejet értjük, a többi tejfésleség esetében a megnevezésben az állatfaj nevét is fel kell tüntetni.

A tej kiváló tápanyagforrásként szolgál a szervezet számára nélkülözhetetlen fehérjéknek, zsíroknak, szénhidrátoknak, ásványi anyagoknak és vitaminoknak (Csapó & Csapóné 2002; Haug et al., 2007; Antunes, 2022).

A tejben található különböző tömegű/méretű tejalkotórészek kolloidkémiai szempontból egy összetett polidiszperz kolloid szuszpenziót alkotnak. A kolloid szuszpenzió részben egy valódi oldat, egy emulzió (zsír a vízben) és egy fehérje kolloid oldat (Szakály, 2001).

Az egyes tejalkotórészek átlagos koncentrációját és méretét/molekulatömegét az **1. táblázatban** ismertetem.

1. táblázat A tejalkotórészek átlagos koncentrációja és molekulatömege és mérete (Szakály, 2001; Brans et al., 2004)

Tejalkotórész	Koncentráció	Molekulatömeg (D)	Átmérő (nm)
Víz	87,5%	18	0,3
Zsíranyagok	3,8%	—	100-15.000
Szomatikus sejtek	—	—	8.000-10.000
Baktériumok	—	—	200-10.000
Kazeinmicellák	2,8%	10^6 - 10^9	25-130
Savófehérjék	0,6%	14.500-69.000	3-6
Ásványi sók, ionok	0,7%	35-120	0,4
Laktóz	4,8%	342	0,8
Szerves savak	0,2%	—	—

A tejben a legnagyobb arányban előforduló tejalkotórész a víz. A víz egyrészt diszperziós közege az ásványi anyagoknak, az emulzióban lévő zsírgolyócskáknak, fehérjerészecskéknak és a zsírban oldódó vitaminoknak, másrészt oldószereként szolgál a vízoldható

komponenseknek. Molekulárisan oldott formában, a szérumban valódi oldatként van jelen a laktóz, az ásványi anyagok, a vízoldható vitaminok és az enzimek, míg ionosan oldott formában vannak jelen a szerves ionok, szerves és szerves savak és sóik. A víz aránya a tejben télen némileg kevesebb, nyáron viszont magasabb a zöldtakarmányozás miatt. A tej 86-88% víztartalmának (Sík et al., 2023) megközelítőleg 96%-a szabad víz, a fennmaradó rész, pedig a tejfehérjék és zsírgolyócskák hidrátburkába beépült kötött víz (Balatoni & Ketting, 1981). Az oldott anyagok legfontosabb funkciója a polidiszperz rendszer egyensúlyi állapotának fenntartása (Szakály, 2001).

A víz után a laktóz (tejcukor) a tehéntej legnagyobb mennyiségben előforduló összetevője (Brans et al., 2004). A tehéntej szénhidrátként átlagosan 4,7% laktózt tartalmaz. A 342 Dalton tömegű, 0,8 nm átmérűjű laktóz molekula egy glükózból és egy galaktózból álló diszacharid amely D-glükóz és D-galaktóz egységekből épül fel. A két glükóz egység egymáshoz 1,4 glikozidos kötással kapcsolódik. A laktóz a tej jellegzetes, enyhén édeskés ízéért felelős, édesítő ereje azonban csak egyötöde a szacharóznak. A tejben, két módosulatban α -laktóz és β -laktóz formában található meg. Kémiai tulajdonságukat tekintve a két módosulat megegyezik, azonban az eltérő szénatomok konfiguráció miatt, a fizikai tulajdonságaikban, mint az oldhatóság és forgatóképesség eltérnek. A laktóz, redukáló diszacharid révén, lúgokkal szemben érzékeny, de savval szemben ellenálló. A tej melegítésekor a laktóz 100 °C feletti hőmérsékleten reakcióba lép a fehérjékkel (Maillard-reakció), és barna színű íz- és színanyagok, melanoidinek keletkeznek. A laktóz mellett kis mennyiségben (0,1%) kimutatható 2-10 monoszacharidot tartalmazó oligoszacharidok is (McSweeney et al., 2009).

A tejben található zsír koncentrációja átlagosan 3,8%. A tejszír a zsírgolyócskákat alkotó tejszírből, az abban oldott zsíroldható vitaminokból (A-, D-, E-, K- vitamin), színezékekből (β -karotin, klorofill származékok), a zsír a vízben emulziót stabilizáló membránanyagokból (lipoidok és membránfehérjék) és a membránburkot körülvevő hidrátvízből áll. A zsírgolyócskák mérete széles mérettartományt fed le, (100 nm - 20.000 nm), azonban az átlagos zsírgolyócska átmérő 3500 nm (Szakály, 2001; Smirnova et al., 2020).

A tejfehérje a tej egyik legértékesebb komponense, átlagos koncentrációja ~3,3%. A fehérjék nagyrészt C-, O-, H- és N atomokból felépülő vegyületek, aminosavakból létrejött polipeptidláncok. A fehérjelánc elején az aminosavak szabad aminos csoportja (N-terminális) a lánc végén pedig a szabad karboxil csoportja (C terminális) található (Ouellette & Rawn, 2018). A fehérje aminosavszekvenciája határozza meg az adott fehérje fizikai-kémiai és táplálkozásélettani tulajdonságait. Aminosavszekvencia és elektroforetikus futás alapján máig több, mint 200 különböző fehérjét azonosítottak a tejben, amelyek nagy része négy főcsoportba sorolható: kazeinek (CN 78-82%) és savófehérjék (WP 18-22%), nem-fehérje nitrogének (NPN 5%), és egyéb fehérjék (Dupont et al., 2018).

Míg a kazeinek és savófehérjék tejspecifikus fehérjék, amelyek a tejmirigy alveoláris sejtjeiben termelődnek addig a nem-fehérje nitrogének (NPN) és az egyéb fehérjék elsősorban a vérrendszerből származnak és az érfalon keresztül jutnak át a tejbe (Rafiq et al., 2015) Az utóbbi kettő csoportba tartozó összetevők szerepe elsősorban az újszülött egyed védekező rendszerének segítése. A tej nitrogén tartalmú vegyületeit részletesen a következő fejezetben ismertetem.

2.2 A tej nitrogén tartalmú vegyületeinek ismertetése

Mint azt már az előző alfejezetben is említettem a tej 3,3% összfehérjét/nyersfehérjét (TPN) tartalmaz. A tej összfehérje tartalma négy főcsoportra bontható: kazeinfehérjék (CN) és savófehérjék (WP) nem fehérje nitrogén tartalmú vegyületek (NPN) és kis mennyiségben egyéb fehérjék.

A tej nitrogéntartalmú vegyületeinek pontos ismerete, nem csak az eltérő táplálkozásélettani tulajdonságuk (biológiai érték), hanem az eltérő techno-funkcionális tulajdonságuk (hőstabilitás, vízkötőképesség stb.) szempontjából is elengedhetetlen.

Jelenleg a tej nitrogéntartalmú vegyületeinek meghatározása a Rowland módszerrel (Rowland, 1938) történő frakcionáláson, majd az egyes frakciók Kjeldahl-módszerrel (Kjeldahl, 1883) történő nitrogéntartalom mérésen alapulnak (Dupont et al., 2018). A négy frakció az alábbi módon határozható meg:

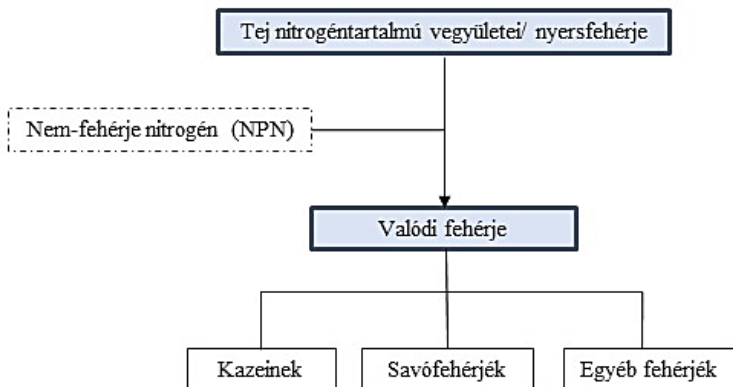
- Kazein nitrogén (CN): A tej azon N-frakciójának, amely 20 °C-on 4,6-os pH-érték mellett ecetsav/nátrium-acetát pufferben nem oldódik.
- Nem kazein nitrogén (NKN): A tej azon N-frakciója, amely 20 °C-on 4,6-os pH-érték mellett ecetsav/nátrium-acetát pufferben oldódik.
- Nem-fehérje nitrogén (NPN) megfelel a 12%-os triklór-ecetsavban (TCA) oldódó frakciónak.
- A savófehérje nitrogén (WP) meghatározása a nem-kazein N és az NPN vegyületek meghatározásából adódik (Subhir et al., 2022).

A Kjeldahl módszer – amely jelenleg referenciaeljárásként szolgál a nyers tej összfehérje-tartalmának meghatározására – a tej összes nitrogéntartalmának vizsgálatán alapszik. A módszer három fő lépésből, roncsolásból, desztillálásból és titrálásból áll. A módszer elve, hogy a mintát 400-420 °C-on, tömény kénsavban az oxidációs folyamatot gyorsító katalizátor jelenlétében (Cu, Hg, Se) elroncsolják. A folyamat során a fehérjék nitrogéntartalma ammónium-sókká, ammónium-hidrogén-szulfáttá és ammónium-szulfáttá alakul át. A savas oldat ammóniatartalmát, tömény lúg, nátrium-hidroxid (NaOH) adagolásával szabadítják fel. A nitrogén-koncentrációt az NaOH jelenlétében történő desztillációja során felszabaduló ammónia savas titrálásával becsülik meg (Kjeldahl, 1883; Sáez-Plaza et al., 2013). A tejfehérjék vizsgálatakor általános 6,25 nitrogén/fehérje átszámítási faktor helyett a kazeinek 15,67% nitrogén tartalmát feltételezve a 6,38 korrigált átszámítási értéket alkalmazzák (Sáez-Plaza et al., 2013).

A tej nem-fehérje nitrogén anyagainak jellemzése

Az NPN anyagok az összes nitrogéntartalmú vegyület 6%-át teszik ki. Koncentrációjuk megközelítőleg 0,2 g/100 g. Az NPN-frakció több mint felét a karbamid, kisebb hányadban a kreatin, a kreatinin a húgy- és orotsav, az ammónia, valamint egyes szabad aminosavak alkotják (Dupont et al., 2018). A karbamid, erősen korrelál a tej hőstabilitásával. A legelőn tartott tehenek tejének karbamidtartalma kétszer olyan magas, mint a száraz takarmányon tartott szarvasmarháké, ezért az előbbieket hőstabilitása lényegesen nagyobb (Fox et al., 2015). Az NPN a táplálkozásban betöltött szerepe nem ismert, de az NPN és valódi fehérje komponensek nem

tekinthetők azonosnak (Barbano, 1990). A nyersfehérjéből levonva az NPN-anyagokat jutunk el a valódi fehérjékhez (**1. ábra**).



1. ábra: A tej nitrogéntartalmú vegyületeinek csoportosítása (saját szerkesztés)

2.2.1 Kazeinfehérjék jellemzése

A kazeinfehérjék a foszfoproteinek egy heterogén csoportja, amelyek a nyers sovány tehéntejből (*Bos genus*) 20 °C-on 4,6 pH-értéken kicsapódnak (Jennes et al., 1956). A csapadék, vagyis a kazein frakció, a tej valódi fehérjéinek körülbelül 78-82%-át tartalmazza. A kazeinfehérjék a tejben fiziológiás körülmények között (pH 6,7) aggregátumokba tömörülnek és kisebb-nagyobb méretű 100 nm (50-600 nm) gömb alakú struktúrákat, micellákat képeznek (Walstra, 1999). A kazein micellák fényszóródása okozza a tej fehér színű megjelenését (Fox & Brodtkorb, 2008; Kaliappan & Lucey, 2011).

A kazeinmicellák átlagosan 92-94% fehérjét és 6-8% kis molekulatömegű szervetlen sót, elsősorban kalcium-foszfátot, valamint magnéziumot tartalmaznak, amely együttesen a kollodiális kalcium-foszfát (CCP)

(Horne, 2006; Fox & Brodkorb, 2008). A kazein micellák mérete erősen korrelál az ionos kalcium koncentrációval. Kalcium és foszfát hozzáadásával növekszik, citrát hozzáadásával csökken (Le Berre & Daufin, 1998).

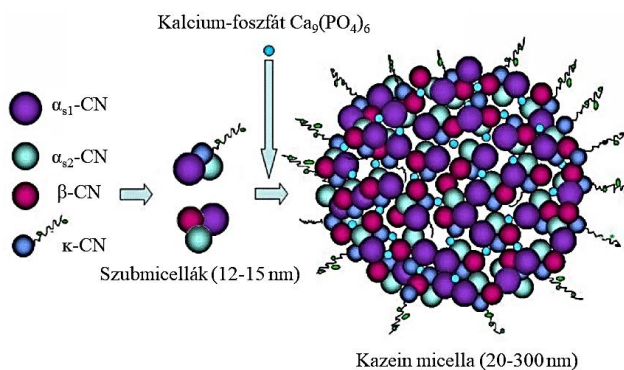
A kazein micellában fehérje rész, négy egyedi géntermék komponensből, az α 1-kazein (α 1-CN), α 2-kazein (α 2-CN), β -kazein (β CN) és κ -kazein (κ -CN) frakciókból áll. A kazein frakciók viszonylag kisméretű fehérjék, molekulatömegük 20-25 kDa. A fehérjetöltés egyenletesen oszlik el az α 1- és α 2-kazeinben, míg a β - és κ -kazein jól meghatározott poláris és apoláris régiókkal rendelkezik, és így a másodlagos szerkezetük kifejezetten amfipatikus jellegű (O'Connell et al., 2003). A kazein micellán belül elsősorban hidrofób kölcsönhatások érvényesülnek (De Kruif & Holt, 2003). A kazein micellák szerkezete, az és asszociációs- és disszociációs mechanizmusa még ma is vitattott téma, azonban általánosan elfogadott, hogy a kazein micellák megközelítőleg 50 - 600 nm átmérőjű gömb alakú struktúrák. (Walstra, 1999; Huppertz, 2013).

A múlt évszázadig több kazeinmicella modell is született, mint például a szubmicella vagy alegység modell (Schmidt, 1982; Walstra, 1999), vagy a Holt féle nanoklaszter modell (Holt, 1992; Holt, 2004; De Kruif & Holt, 2003).

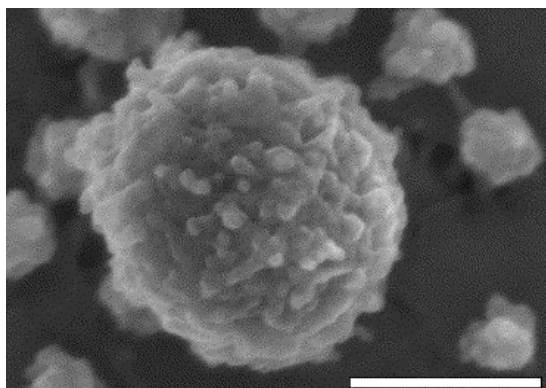
A szubmicella modell szerint a kazeinek először kis alegységeket, úgynevezett szubmicellákat alkotnak (15-20 nm); ezek az egységek ezután összekapcsolódnak egymással és így jönnek létre a micellák (Walstra, 1999).

Holt (1992) modelljében, a kalcium-foszfát nanoklaszterek véletlenszerűen oszlanak el, keresztkötést képezve, kazein molekulák háromdimenziós hálóját létrehozva. A modell a kalcium-foszfát

nanoklasztereket tekinti a micellák növekedésének magjainak. A képződött kalcium-foszfát nanoklaszterek kölcsönhatásba lépnek a foszfoszeril-maradékokkal a kazeinekben (De Kruif & Holt, 2003). A Holt által készített szerkezeti modell (Holt & Horne, 1996; De Kruif & Holt, 2003) (**2. ábra**) nagyfokú egyezést mutat McMahon & Mc Manus (1998) transzmissziós elektronmikroszkópos felvételeivel (**3. ábra**).



2. ábra: Holt modelljének sematikus ábrázolása. Forrás (Rebouillat & Ortega-Requena, 2015, saját szerkesztés)



3. ábra: Elektronmikroszkópos felvétel kazein-micelláról. Méretség 200 nm. (Forrás: Dalgleish et al., 2004)

A **3. ábrán** a micella körüli kisebb struktúrák gyűréje feltételezhetően egy disszociálódó micella egységei lehetnek (Dalglish et al., 2004).

A kazeinfehérjék technológiai szempontból fontos közös jellemzője, hogy korlátozott másodlagos és harmadlagos szerkezet és az alacsony szulfhidril tartalma miatt melegítés hatására nem denaturálódnak (McMahon & Oommen, 2013), azonban a 140 °C-ot meghaladó hőkezelés esetén az egyes frakciók fokozatosan oldhatatlanná válnak (Singh, 1995). A kazein frakciók további tulajdonsága, hogy pH-ra érzékenyek, ezáltal 20 °C hőmérsékleten az izoelektromos pontjukhoz közeledve kicsapódnak (Walstra, 1999).

2.2.2 Savófehérjék jellemzése

Savófehérjéknek nevezzük azokat a nem kazein fehérje szegmenseket, amelyek a kazeinek izoelektromos pontján, 4,6-os pH-értéken oldhatóak maradnak (Huppertz, 2013).

A savófehérjék az összes fehérje 18-22%-át teszik ki, és mint egy 80%-ban a β -laktoglobulin (β -LG), és az α -laktalbumin (α -LA) alkotja. Kisebb koncentrációban szarvasmarha szérum albumin, (BSA) (0,3-0,4%), immunglobulinok (Igs) IgG, IgA, és IgM (0,45-0,75%), laktoferrin (LF) (0,4%), proteáz-pepton (PP) frakció alkotja (Madureira et al., 2007).

A savófehérjék a kazeinektől eltérően, globuláris fehérjék, szervezettebb másodlagos és harmadlagos szerkezettel rendelkeznek, így hőérzékenyek és hidrofóbbak mint a kazeinek (Kinsella & Morr, 1984; Ng-Kwai-Hang & Grosclaude, 2003; Farrell et al., 2004).

A fehérjék denaturálódása a hőmérséklet másodlagos és harmadlagos szerkezet stabilizálásában résztvevő nemkovalens kötésekre gyakorolt

hatása miatt következik be; pl. hidrogén, hidrofób és elektrosztatikus kötések. A denaturáció hatására a fehérje másodlagos és harmadlagos szerkezete felbomlik, a hidrofób csoportok (azaz a szulfhidrilcsoportok SH-, kezdetben a fehérjemolekulák belsejében) kölcsönhatásba lépnek és csökkentik a vízmegkötést. A hidrofób kölcsönhatások aggregációhoz vezetnek, amelyet koaguláció és kicsapódás követ.

A denaturáció csökkenti a fehérjék oldhatóságát a natív állapothoz képest (Langendorff et al., 1999). A denaturált fehérjék elvesztik biológiai aktivitásukat (Gasztonyi & Lásztity, 1993).

A kazeinfehérjékkel ellentétben a savófehérjék 60 °C feletti hőmérsékleten elkezdnek denaturálódni. A savófehérje Ig frakciója denaturálódik először, ezt követi a BSA, a β -LG és végül az α -LA, amely a legellenállóbb a hőhatás okozta denaturációnak. A PP frakció hőstabil (Mutilang & Kilara, 1985).

A kazein- és savófehérjék genetikai polimorfizmusa és mikroheterogenitása

A fehérjék genetikai kódja meghatározza az adott fehérje aminosav szekvenciáját, azaz az elsődleges szerkezetét (Walstra et al., 2006). A kérődzők tejében található fehérjék több mint 95%-át hat szerkezeti gén kódolja (Martin et al., 2002). A kazein frakciókat (α 1-CN, β -CN, α 2-CN és κ -CN) négy polimorf gén (CSN1S1, CSN2, CSN1S2 és CSN3) kódolja (Ferretti et al., 1990; Threadgill & Womack, 1990). A négy gén adott sorrendben helyezkedik el a kazein-gén klaszter 6. kromoszóma 250 kilóbázis hosszúságú szakaszán (Rijnkels, 2002; Boettcher et al., 2004). Az α -Laktalbumin és a β -laktoglobulin az LAA és az LGB gének expressziójából származnak, amelyek az 5. és 11. kromoszómán helyezkednek el (Hayes & Petit, 1993). A genetikai mutációk egy vagy

több aminosav szubsztitúciót (cserét) vagy delécióit (kiesést) okoznak a kódoló szekvencián belül, amely eltérő aminosav szekvenciával rendelkező fehérje változatokat eredményezhet (Creamer & Macgibbon 1996, Bobe et al., 1999).

A kazeinek sokféleségét tovább fokozza a mikroheterogenitás, amely alatt a poszttranszlációs módosítás okozta foszforilációt, glikolizációt és a proteolízist értjük (Ng-Kwai-Hang & Grosclaude, 2003). A hat fő tejfehérje frakció koncentrációját és egymáshoz viszonyított arányát elsősorban genetikai tényezők határozzák meg (Ng-Kwai Hang et al., 1987; Groen et al., 1994; Bobe et al., 1999; Heck et al., 2009; Gustavsson et al., 2014), de befolyásolja még a laktációs stádium (Ostersen et al., 1997; Gellrich et al., 2014), a szarvasmarha egészségügyi állapota (Verdi et al., 1987), a fajta (Mackle et al., 1999; Auldist et al., 2004; Poulsen et al., 2016), és az évszak szerint is változatosságot mutat (O'Brien et al., 1999; Bernabucci et al., 2002; Bernabucci et al., 2014). Ez utóbbi azzal magyarázható, hogy az állatok a melegebb hónapokban általában kisebb fehérjetartalmú tejet termelnek, amelyek nagyobb esszenciális aminosav-tartalommal bírnak (Csapó és Csapóné, 2002).

2.3 A tej fő fehérjefrakcióinak részletes jellemzése

2.3.1 α S-kazein

A 199 aminosav hosszúságú α S1-CN, a kazein frakció 40% -át alkotja (Huppertz, 2013). Egy fő és egy mellékkomponensből áll. A két komponens egy egyláncú polipeptid, azonos aminosav-szekvenciával, de eltérő foszforilációs fokkal. A molekula elsődleges többszintű

foszforilációs helye a 100-110. aminosav körül található (Farrel et al., 2004).

Az α S2-CN a tehéntejben a kazein frakció legfeljebb 10%-át teszi ki. Két fő és több kisebb komponensből áll, különböző szintű foszforilációs szinttel (Swaisgood, 1989). Az α S2-CN a legkevésbé hidrofób a többi kazein frakcióhoz viszonyítva (De Kruif & Holt, 2003). A genetikai variánsok felfedezése óta a különböző genotípusokat megpróbálták összekapcsolni a tej technológiai tulajdonságaival és az egyed tejtermelési tulajdonságaival, azonban a kapott korrelációk nem voltak egyértelműek (Farrell et al., 2004).

2.3.2 β -kazein

A β -CN 209 aminosavból épül fel, a kazeinfehérje megközelítőleg 40%-át alkotja, egyik legnagyobb mennyiségben előforduló tejfehérje, koncentrációja 9-11 g/l. Napjainkig 13 változatát írták le, melyek közül az A1 és az A2 a leggyakoribb variánsok (Gallinat et al., 2013) (1. számú melléklet). Néhány irodalom a négy kazein frakció mellett a γ -kazeint (γ -CN) is fő kazein frakcióként említi (Clayden et al., 2001), azonban a γ -CN-ek a β -CN különböző C-terminális szegmensei, amelyek a tejben található natív plazmin enzim proteolitikus hasításából származnak (Groves, 1969; Ostersen et al., 1997; Kaminski et al., 2007).

A *Bos* nemzetségben az eredeti β -CN változat az A2 volt (Caroli et al., 2009), azonban egy mutáció hatására egyes európai szarvasmarha állományban megjelent az A1 forma is (Ng-Kwai-Hang, 2011). A tejelő szarvasmarhák esetében a leggyakoribb β -CN variánsok az A1, A2, B és C variánsok. A β -CN molekula szerkezetét tekintve erősen hidrofób kazein, amely öt foszforilezett csoportot tartalmazó polimerként van jelen

a tejben (De Kruif & Holt, 2003; Huppertz, 2013). A β -kazein egy belsőleg rendezetlen (Dunker et al., 2001) amfifil (amfipatikus) jellegű fehérje (Swaisgood, 1989), amely jelleget az N-terminális részén található hidrofil foszfoszferil-klaszternek és a C-terminális részen található poláris és hidrofób aminosav maradékok – mint például a prolin – felhalmozódásának tulajdonítanak (Post et al., 2012; Cragnell et al., 2017). A különálló poláris és hidrofób domének jelenléte miatt a β -CN asszociációja és disszociációja rendkívül koncentráció és hőmérsékletfüggő (Sadiq et al., 2021). Vizes oldatban, 0,5 mg/mL kritikus koncentrációnál asszociációra hajlamos (Livney et al., 2004). Hőmérséklet csökkenés hatására, 0-4 °C körüli hőmérséklettartományban a micellán belül olyannyira csökken a hidrofób kölcsönhatás erőssége, hogy β -kazein disszociációját eredményezi és a monomer állapotban lévő β -kazein a kazeinmicella belsejéből a tej szérumfázisába disszociál (O'Connell et al., 2003). Ebben az esetben elsősorban β -CN monomerek (7–8 nm) figyelhetők meg, de a polimer szerkezet is jelen marad (Farrell et al., 2001, Li et al., 2019), 15 °C-on körülbelül 20-40 nm méretű micellákba rendeződik (de Kruif & Grinberg, 2002). Egy micella körülbelül 20-70 β -kazein monomerből épül fel.

A β -CN amfifil jellege miatt kiváló felületaktív és stabilizáló összetevőként szolgál az élelmiszeriparban (Kilara & Panyam, 2003). A β -CN továbbá prekurzorként szolgálhat olyan bioaktív peptidek előállításához, amelyek vérnyomáscsökkentő, opioid vagy ásványi anyagokat megkötő tulajdonságokkal rendelkeznek (Phelan et al., 2009). A közelmúltban megnőtt az érdeklődés az egyedi fehérje frakciók előállítása iránt, különös tekintettel a β -kazein frakció tekintetében, például hideg (<4 °C) mikroszűrés alkalmazásával, kihasználva hogy a

molekula ezen a hőmérséklet monomerként van jelen, így a savófehérjékkel közel azonos átmérőjű (Atamer et al., 2017; Crowley et al., 2015). Az anyatejben ugyanis a kazeinfrakció 85%-a β -CN (Greenberg et al., 1984; Hambraeus & Lonnerdal, 2003), ezért a β -CN érdekes az anyatej-helyettesítő tápszerek dúsítása szempontjából.

A szarvasmarha β -kazein általában teljesen foszforilezett formában fordul elő, míg az anyatejben a β -kazein multifoszforilezett formában található, molekulánként 0–5 foszfátcsoporttal (Greenberg et al., 1984). A foszforilezettség foka jelentős tényező az emészthetőségnél, ezért a csecsemőtápszerek előállítása során javasolt a kazein defoszforilezése, ami által a tehéntejben megtalálható β -CN jobban hasonlít az anyatejben található kazeinre (Broyard & Gaucheron, 2015).

Napjainkban a β -CN fehérje és genetikai variánsainak eltérő emészthetősége miatt nagy érdeklődés övezi, számos táplálkozástudományi kutatás témája (Jianqin et al., 2016; Brooke-Taylor et al., 2017; Summer et al., 2020; Cattaneo et al., 2023). A β -CN 13 genetikai variánsa, két csoportba az „A1” és az „A2 szerű” β -kazeinek csoportjába sorolható, aszerint, hogy a 67. aminosavhelyen prolin vagy hisztidin található (1. számú melléklet). Azoknál a variánsoknál, amelyek 67. aminosavhelyén hisztidin található, az enzimes emésztés során egy 7 aminosavhosszú ópiát szakasz keletkezik, β -kazomorfin 7 (β -CM-7), melyet számos megbetegedéssel összefüggésbe hozták, mint pl. szív és érrendszeri betegségek kialakulása, I. típusú diabetes. Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) hivatalos állás foglalása alapján azonban nincs ok-okozati összefüggés a β -CM-7 és a megbetegedések kialakulása között (EFSA, 2009), így mai napig vitatott téma a β -CN A1

szerű genetikai variánsai és β -CM-7 egészségkárosító hatása közötti összefüggés.

2.3.3 κ -kazein

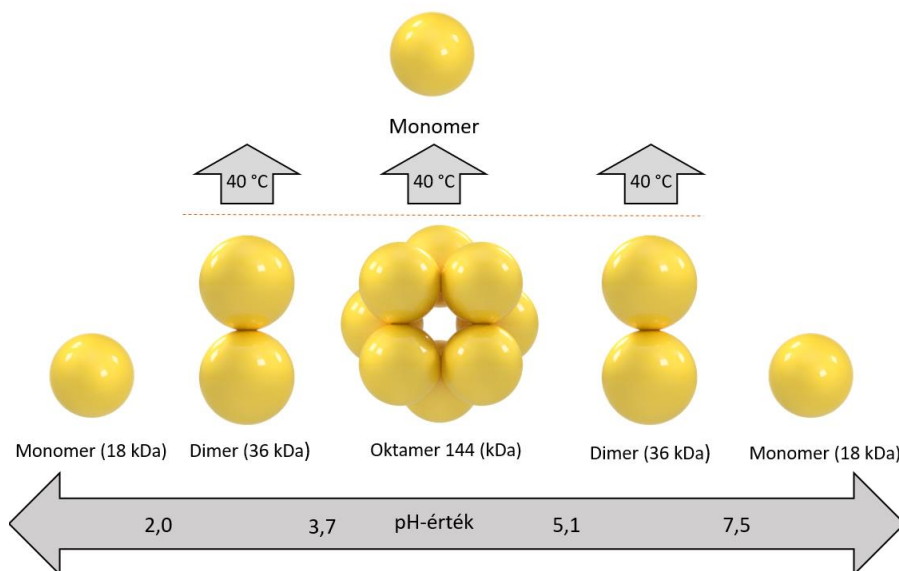
A kazein frakciók közül a legkisebb mennyiségben (2-4 g/L) a 169 aminosav hosszúságú κ -CN frakció található meg. Foszforilációjának mértéke nagyon kicsi, azonban az egyetlen kazein frakció, amely akár hat aminosav helyen is glikolizálható (Pisano et al., 1994). A szénhidrátok O-glikozilációs kötéseken keresztül a treoninon (Tr131, 133, 135, 135, 142) és szerinen (Ser141) kapcsolódnak a κ -CN-hez (Farrell et al., 2004). A többi kazeintől eltérően szénhidrátban gazdag glikopolipeptid részt tartalmaz (124-155. aminosav), amely galaktózból, galaktózaminból és szialinsavból épül fel. Elegytejekben a κ -CN molekulák 60%-a glikolizált formában található meg (Vreeman et al., 1986). Két leggyakoribb variánsa az A és a B (Farrell et al., 2004). A B variáns összehasonlítva az A variánssal nagyobb fokú glikozilációval társul (Coolbear et al., 1996). Napjainkig kevés ismeret áll rendelkezésre a κ -CN glikozilezés szerepéről, a tej technológiai tulajdonságainak determinizmusában (Bonfatti et al., 2014). A tejelő szarvasmarhákban az A variáns a domináns, kivétel ez alól a Jersey fajta (Ng-Kwai-Hang & Grosclaude, 2003). A tejfehérjék genetikai variánsainak a tej aladási tulajdonságokra gyakorolt hatását számos tanulmány vizsgálta. A κ -CN allélokra vonatkozó vizsgálatok azt mutatták, hogy a B allél szignifikánsan kedvezően hat a tejfehérje tartalomra (Ng-Kwai-Hang et al., 1984, Aleandri et al., 1990; Ikonen et al., 1997) és sajtgyártás során a B variáns kedvezőbb aladási tulajdonságokkal rendelkezik (Ikonen et al., 1999; Wedholm et al., 2006; Jensen et al., 2012/a). Ezzel szemben, a κ -CN A és E allélek gyenge

alvadási tulajdonságot eredményeznek (Marziali & Ng-Kwai-Hang, 1986; Ikonen et al., 1999; Hallén et al., 2007; Heck et al., 2009; Jensen et al., 2012/a).

2.3.4 β -laktoglobulin

A β -laktoglobulin a savófehérjék több mint felét, az összfehérjék hozzávetőlegesen 10-12%-át alkotja, koncentrációja 2-4 g/L (Farrell et al., 2004). A 162 aminosavból álló β -LG két leggyakoribb variánsa az A és B, amelyek két aminosavhelyen a 64. és 118 térnek el egymástól (2. számú melléklet). Az A változatban Asp64 és Val118, míg a B variánsban Gly64 és Ala118 található (Elofsson et al., 1997). Az aminosavcsere a fehérje negyedleges szerkezetében semleges pH-értéken (pH 6,7) nem okoz számottevő különbséget, mivel a két aminosavcsere egy rugalmas felületi hurokban és egy hidrofób magban történik (Sawyer & Kontopidis, 2000). Fiziológiás körülmények között a β -LG főként nem-kovalens kötésű dimerek formájában jelenik meg. (McKenzie, 1967; Patck et al., 2020). A β -LG A és B egyaránt két diszulfidkötést tartalmaz (Cys66-Cys160 és Cys106-Cys119) és egy szabad szulfhidrilcsoportot (Cys121).

A β -LG A és B önasszociációs tulajdonságai eltérőek (Cheison et al., 2011). A hőmérséklet és a kémhatás a β -LG konformációs változásait eredményezi (4. ábra). A β -LG A genetikai variánsai egyre savasabb körülmények között dimereket, majd oktamereket képez, míg a B és C változat nem képez oktamereket, de dimereket igen (Cheison et al., 2011). A Tanford-átmenet, amely pH 7,51 és 40 °C-on következik be (Tanford, et al., 1959), fokozott hidratációhoz és laza belső fehérjeszerkezethez vezet (Taulier & Chalikian, 2001).



4. ábra A β -laktoglobulin önasszociációs és disszociációs tulajdonságai (Cheison et al., 2011 alapján saját szerkesztés)

A β -LG lipokalin molekula család tagja, ezáltal képes megkötni hidrofób vegyületeket, így transzportereként szolgál kis molekulású hidrofób molekuláknak (Pérez & Calvo, 1995; Kontopidis, et al., 2004). Szállító molekulája a retinolnak, palmitátnak, zsírsavaknak, a D-vitaminnak és a koleszterinnek (Madureira et al., 2007).

Technofunkcionális tulajdonságait tekintve a β -LG nagyon jó termogélképző tulajdonságokkal rendelkezik, és meghatározza a tejfehérje koncentrátumok (MPC), savófehérje-koncentrátumok (WPC) gélesedését. A tejfehérjék közül az egyik legallergénebb fehérjefrakció (Bu et al., 2013) emiatt nagy érdeklődés mutatkozik a csökkentett β -LG tartalmú anyatej-helyettesítő tápszerek előállítására iránt. A β -LG nagymértékben oldhatatlan desztillált vízben, így dialízissel kicsapható, és kristályosítható (Kinekawa & Kitabatake, 1996). A dániai székhelyű Arla Foods

Ingredients Group élelmiszergyártó cég kristályosítással előállított 100% tisztaságú β -LG terméke, a Lacprodan® BLG-100, 2022. december 21-én megkapta az Európai Bizottságtól (EK) az engedélyt az élelmiszerekről szóló (EU) 2015/2283 rendelet alapján. Az engedély kimondja, hogy a Lacprodan® BLG-100 biztonságos és alkalmas az EU-ban, az élelmiszerekben való felhasználásra, valamint az összetevő alkalmas a sporttáplálkozásban és a speciális gyógyászati célú élelmiszerekben történő különféle alkalmazásra (URL1).

2.3.5 α -laktalbumin

Viszonylag kisméretű globuláris fehérje, 123 aminosavat tartalmaz, molekulatömege 14,2 kDa. Tehéntejben az összes fehérje körülbelül 3,5%-át, a savófehérjék hozzávetőlegesen 17%-át alkotja (O'Mahony et al., 2013). Az α -LA legfontosabb biológiai funkciója a laktózsintézis és termelés szabályozása glükóz és galaktóz laktózzá alakulásán keresztül (Brew & Hill, 1975). Ellentétben a β -LG frakcióval, amelynek koncentrációja a laktációs stádiumban növekszik, koncentrációja a laktáció végén csökken (Caffin et al., 1985). A koncentrációjának csökkenése pozitívan korrelál, a tej laktóz koncentrációjának csökkenésével a tejben a laktáció végére (Farrell et al., 2004). Az α -LA nagyon magas esszenciális aminosav tartalommal rendelkezik, az összes aminosav 63,2%-val. A kéntartalma 1,9%, gazdag triptofán forrás (O'Mahony & Fox, 2014). Az α -LA nem tartalmaz szabad szulfhidril csoportokat, de négy intramolekuláris diszulfidkötést tartalmaz (Brew, 2013). Az anyatejben - β -LG hiányában - az α -LA a legnagyobb mennyiségben előforduló savófehérje (Lønnerdal, 2003), így anyatej-helyettesítő tápszerekeben alkalmazzák. Tekintettel arra, hogy az anyatej

nem tartalmaz β -LG-t, a tejipar számára kihívás, hogy tejből α -LA frakcióval dúsított termékeket állítson elő, amelyek alkalmasak csecsemőtápszerekben való alkalmazásra (Edwards & Jameson, 2020).

2.4 A tej fő fehérjefrakcióinak kvalitatív és kvantitatív meghatározására szolgáló analitikai módszerek

A jelenleg referencia eljárásként szolgáló Kjeldhal-módszert az összes nitrogén, a nem-kazein nitrogén (NCN) és az NPN nyers frakciójának elemzésére használják, amellyel a nyersfehérje (CP), valamint a valódi fehérje (TP) mennyisége is meghatározható. Számos tanulmány igazolta, hogy a kazein és savófehérje frakciók mennyisége és relatív aránya (Dalgleish, 1993; Amalfitano et al., 2019), bizonyos allélok előfordulása (Bittante et al., 2012; Jensen et al., 2012/b), és a különböző a poszttranszlációs módosítások (Ng-Kwai-Hang & Grosclaude, 2003; Caroli et al., 2009) befolyásolják a tej fizikai-kémiai, táplálkozásélettani, valamint technológiai tulajdonságait (Amalfitano et al., 2019), így ezek ismerete kulcsfontosságú a tejipar számára.

Az előző fejezetből azonban az is kitűnik, hogy tejfehérjék sokfélesége miatt extrakciójuk és kvantitatív és kvalitatív meghatározásuk kihívást jelentő feladat és még napjainkban is számos kutatás alapját képezi.

Az elmúlt három évtizedben számos publikáció jelent meg az egyes tejfehérje frakciók meghatározásának lehetőségeiről, melyek közül a leggyakoribb a gélelektroforézis különböző formái, a kapilláris zónaelektroforézis (CZE), a fordított fázisú folyadékkromatográfia (RP-HPLC) és a legújabb mikrofluid „lab on a chip” technika. A következő fejezetekben az egyes tejfehérje frakciók minőségi és mennyiségi

meghatározásának lehetőségeit, a felsorolt eljárások előnyeit és hátrányait ismertetem.

Tejfehérje frakciók vizsgálata gélelektroforézissel

Az elektroforézis elvén alapuló elválasztási technikák esetén az oldat töltéssel rendelkező részecskéi elektromos erőter hatására különböző sebességgel mozdulnak el. A gélelektroforézist ezért széles körben alkalmazzák a tejben lévő fő fehérje frakciók és azok genetikai variánsainak elválasztására. A módszer elvégezhető keményítő, poliakrilamid vagy poliakrilamid-agaróz gélen. A módszer különböző festési eljárásokkal és denzitometriás szkennelést követően fehérjék szemikvantitatív meghatározására alkalmas (Dziuba & Mioduszevska, 1997; Lin et al., 2010).

A keményítő gélelektroforézist Melachouris & Tuckey (1966) alkalmazta először kazeinek és a kazeinek egyes bomlástermékeik vizsgálatára sajtban. A keményítő gélek ugyan jó elválasztást tettek lehetővé, azonban kiöntés után gyakran opálosak és törékenyek voltak (Smithies, 1955; Tremblay et al., 2003). Ezen hátrányok kiküszöbölésére a keményítő gélek használatát fokozatosan felváltották a poliakrilamid gélek használata. A poliakrilamid, az akrilamid és az N,N'-metilén-bisz-akrilamid (BIS) térhálós szerkezetű polimerizációs terméke. A monomerek koncentrációjával szabályozható a gél pórusnagysága, amely meghatározza az átszűrődő molekulák maximális tömegét. A poliakrilamid gélen végzett tejfehérje vizsgálatokra számos módszertani variáció terjedt el, mint a natív-PAGE, urea-PAGE, vagy nátrium-dodecilszulfát-poliakrilamid-gél (SDS-PAGE) alkalmazása.

Natív-PAGE

A natív-PAGE módszer esetében a fehérjéket natív állapotukban választják el nettó töltésük, méretük és alakjuk alapján (Smith, 1984). A „natív” elektroforézis kifejezés a fehérje elemzésére utal összehasonlítva az elektroforézis egyéb formáival, ahol denaturáló (SDS vagy urea) vagy redukáló szereket (merkaptotanol (ME)) vagy ditiotreitolt (DTT)) használnak (Pesic et al., 2011). Mivel a kazeinek különböző frakcióinak izoelektromos pontja között viszonylag kicsi az eltérés, a natív-PAGE nem alkalmas a kazein frakciók elválasztására, azonban lehetővé teszi a savófehérjék elválasztását (McSweeney és Fox, 1997; Lin et al., 2010), ezért elsősorban tejhamisítási vizsgálatoknál alkalmazzák (Pesic et al., 2011). A molekula tömeg „létra” nem alkalmazható ennél a módszernél, így a fehérjék azonosítása nehézkes, tisztított fehérjefrakció standardok egyidejű futtatásával érhető el (Sharma et al., 2021). A módszer felbontóképessége általában kisebb, mint az SDS-PAGE módszeré, azonban előnye, hogy a fehérje natív szerkezetét elektroforézist követően is lehet vizsgálni (Kurien & Scofield, 2005).

Urea-PAGE

Az urea (karbamid) nagy koncentrációban denaturálja a fehérjéket. A fehérje denaturálásához szükséges urea koncentráció körülbelül 6 M (Schagger, 2006). A mintapufferhez adott karbamid javítja a kazeinek elválasztását, azonban elmosódott, halvány α -LA és β -LG fehérje sávokat eredményez, amelyeket nehéz azonosítani (Patel et al., 2006; Yukalo et al., 2019).

SDS-PAGE

Az SDS-PAGE technika a fehérjéket denaturált állapotban, főként a molekulatömegük alapján választja el. Az SDS (nátrium-dodecil-szulfát) egy erős anionos detergens, amely denaturálja a fehérjéket a hidrogénkötések lehasításával, másodlagos és harmadlagos szerkezetük felbontásával (Westermeier, 2011), ezáltal 0,1 milimólnál nagyobb koncentráció konformációs változásokat okoz a fehérjékben (Reynolds & Tanford, 1970). Az SDS a fehérjékhez specifikusan kötődik, kitekeri a fehérjéket és ionos tulajdonsága miatt megközelítőleg azonos fajlagos (negatív) töltést biztosít a fehérjéknek. A tejfehérjék elválasztása esetében a leggyakrabban alkalmazott puffer a TRIS-glicin (Laemmli, 1970). Az SDS-PAGE során a fehérje által megkötött SDS mennyisége arányos a fehérje tömegével. Átlagosan 1,4 g SDS kötődik 1 g fehérjéhez (Reynolds és Tanford, 1970; Smith, 1984). Az SDS-PAGE alkalmas a savófehérje frakciók elválasztására, azonban kazein frakciók közel azonos molekulatömege miatt nem túl hatékony a kazeinek elválasztásában. További hátránya, hogy a β -CN, amely nagy hidrofóbitással rendelkezik aránytalanul nagy mennyiségű SDS-t köt meg, következésképpen nagyobb elektroforetikus mobilitással rendelkezik, mint az α_{S1} -kazein, amely egy nagyobb molekula (Creamer & Richardson, 1984). Számos kutatásban mégis alkalmazzák a fehérjék látszólagos molekulatömegének meghatározására (Shapiro et al., 1967, Sheehan 2009), annak ellenére, hogy a mért érték jellemzően sokkal nagyobb, mint az egyéb technikával (tömegspektroszkópia) mért tényleges molekulatömeg (Dziuba et al., 2002).

Kétdimenziós gélelektroforézis

A kétdimenziós gélelektroforézist (2-DGE) O'Farrell (1975) alkalmazta elsőként. Ez a technika a fehérjék két molekuláris tulajdonságát is felhasználja (molekulatömeg, izoelektromos pont), hogy megkönnyítse a hasonló molekulatömegű vagy izoelektromos ponttal rendelkező fehérjék elválasztását. A 2-DGE alkalmazásakor a fehérjék szétválasztása az első dimenzióban izoelektromos fókuszálással töltés szerint történik (IEF), majd a gélcsíkot SDS-PAGE módszerrel molekulatömeg szerinti szeparálják (Ong & Pandey, 2001). A módszer hátránya, hogy a kis koncentrációban lévő fehérjéket nehéz detektálni. Ennél a módszernél a fehérjék, festést követően nem sávokban, hanem foltokként jelennek meg a gél képén (Hinz et al., 2012).

Kapilláris zónaelektroforézis (CZE)

Kapilláris elektroforézisről beszélünk, ha az elektroforetikus elválasztás kis belső átmérőjű (50 μm) 0,5-1 cm hosszú kapillárisokban történik nagy feszültség hatására. A legegyszerűbb és leggyakrabban alkalmazott kapilláris elektroforetikus módszer, a kapilláris zónaelektroforézis (CZE), amely a részecskék eltérő elektroforetikus mozgékonyaságán alapul. A kapilláris elektroforézis nem egy vertikális vagy horizontális gélben, hanem egy kapilláris belsejében történik. A módszer sokkal pontosabb a fehérjék mennyiségi meghatározásában, mint a klasszikus PAGE módszerek (Strickland et al., 2001). Számos tanulmány beszámol a savófehérjék (Recio et al., 1995) és a kazeinek (Otte et al., 1997; Ortega et al., 2002), valamint azok genetikai variánsainak egyidejű elválasztásáról (Reico et al., 1996; Recio et al., 2001). A CZE lehetővé teszi nyolc és kilenc foszfátcsoportot tartalmazó $\alpha\text{s}1\text{-CN}$ elválasztását (Recio et al., 1997), az $\alpha\text{s}2\text{-CN}$ és $\alpha\text{s}2\text{-CN}$ genotípusainak mennyiségi meghatározását

(Gomez et al., 2004), valamint a kazeinek bomlás termékeinek vizsgálatát (Otte et al., 1997). A tejfehérjék vizsgálatára elsőként Chen & Zang (1992) alkalmazta a módszert. Kísérleteik során azt tapasztalták, hogy foszfátpuffer alkalmazásával, urea jelenléte nélkül a kazein frakciókat nem sikerül elválasztaniuk. Karbamid foszfát pufferrel (4 M urea foszfátpufferben, pH=7) 10 perc alatt sikeresen elválasztották a β -kazeint, az α -Laktalbumint és a β -laktoglobulint. Chen & Tusak (1994) a vizsgálataikban magas pH-értékű nagy ionerősségű puffert (borát puffer pH = 10,0) alkalmaztak, azonban a savófehérjéket nem sikerült elválasztaniuk. A β -laktoglobulin és az α -laktalbumin együtt eluálódott az α_s -kazeinnel. A fehérjék CZE-elemzésének egyik fő problémája a fehérjék adszorpciója a negatív töltésű fuzionált kvarc kapilláris felületre, ami torz csúcsformákhoz és rossz elválasztásokhoz vezet (Chen & Zang, 1992; Reico, 1997). Elsőként Nynke de Jong (1993) et al.-nak sikerült CZE módszerrel a savófehérjék és a kazein fehérjék egyidejű elválasztása. Kísérleteikhez kvarc kapilláris helyett hidrofil töltetű kapillárist használtak fel kis pH-értékű puffer oldattal (20 mM nátrium-citrát, pH=3). A CZE előnye a hagyományos elektroforetikus és kromatográfiai módszerekkel szemben a gyorsaság, a nagy felbontás, az egyszerűség és a kicsi üzemeltetési költségek (Gutierrez & Jakobovits, 2003; Kinghorn et al., 1995).

„Lab on a chip” mikrofluidikai módszer

A „Lab on a chip” módszer során a vizsgálat a mintaelőkészítéstől a detektálásig elvégezhető egy darab chip felületén. A berendezés egy 5 cm oldalú négyzet alakú chip. A chip felületén található mikroutakat a vizsgálandó mintával és reagenssel töltik meg (Nazzaro et al., 2012). A mérés technika eredetileg a DNS és az RNS szétválasztására és mennyiségi

meghatározására használták (Goetz et al., 2004). A mikrofluid technika előnye más elektroforézis módszerekkel szemben a rendkívül rövid elemzési ideje (1–3 perc), az elemzés kicsi költsége, a nagy érzékenysége, továbbá, hogy a mérésekhez kis mintamennyiség szükséges (Nazzaro et al., 2012; Dolnik & Liu, 2005; Tran et al., 2010). Bütikofer et al. (2006) nyers és hőkezelt tejek α -LA és β -LG tartalmát határozták meg mikrofluid, kapilláris elektroforézissel, amelyet hagyományos Kjeldahl módszerrel is vizsgáltak. A két fehérje frakció aránya az összes fehérjére vonatkoztatva százalékos arányban mikrofluid technikával $12,8 \pm 0,2\%$, míg a kapilláris elektroforézis módszerrel $13,3 \pm 0,6\%$ volt. Az eredmények jó egyezőséget mutattak a Kjeldahl módszerrel becsült értékkel, amelyben a két savófehérje frakció aránya az összes fehérjére vonatkoztatva $13,3\%$ volt. Anema (2009) a mikrofluid technikával fölözött tej mintákat vizsgált. Hatékony elválasztást ért el a fő kazein- és savófehérje frakciókra. Bár a mérőmódszer chipen belüli reprodukálhatósága jó volt, azonban a chippek között a csúcs alatti területek korrelációs koefficiens értékére 10-15% közötti értékeket figyeltek meg. Buffoni et al. (2011) mediterrán vízibivalytól származó (*Bubalus bubalis*) egyedtejekből nyert savó mintákban vizsgálta az α -LA, β -LG és SA koncentrációját. Mennyiségi meghatározáshoz a fehérje standardokat minden egyes chipre feltöltötték, így az átlagos korrelációs együttható $0,95$ (α -laktalbumin) $0,94$ (β -laktoglobulin) és $0,93$ (szérum albumin) volt (Buffoni et al., 2011). Costa et al. (2014) TPS puffer (karbamid koncentráció: 2 mol/L) és SEP puffer (karbamid koncentráció 6 mol/L) hatását vizsgálta az elválasztás javítása céljából. Mindkét puffer javította az elválasztást. A két puffer közül a SEP puffer a kazeinfrakciók hatékonyabb elválasztását és mennyiségi

meghatározását eredményezte. Ez azzal magyarázható, hogy a kazeinek karbamid jelenlétében disszociálnak (Hames & Rickwood, 1998).

Tejfehérjék vizsgálata RP-HPLC módszerrel

A folyadékkromatográfias rendszer a legegyszerűbb esetben egy fázisból, a mozgófázist az oszlopon átnyomó pumpából, valamint a molekulák retenció (visszatartási) idejét jelző detektorból áll. Jellemzően a tejfehérjék elemzéséhez állófázisként C18 (Bober et al., 1998/a), C8 (Bonfatti et al., 2008) és C4 oszlopokat (Ma et al., 2017) alkalmaznak. A mobil fázis gyakran tartalmaz ionpárosító szert, például trifluor-ecetsavat (TFA), amely elegendő hidrofób képességű ionpárt hoz létre, hogy az állófázis megtartsa (Sheehan, 2009). A mintaelőkészítés során a mintapuffer általában denaturálószerként ureát vagy guanidin-hidrokloridot, redukálószerként ditiotreitolt (DTT), vagy 2-merkaptóetanolt tartalmaz. A fehérjék detektálásához UV, UV-VIS vagy diódasoros detektálási (DAD) módot alkalmaznak, jellemzően 210-280 nm hullámhosszú tartományban. Kezdetben a kazeinokat és savófehérjéket savas kicsapással elválasztották (Carles, 1986, Visser et al., 1986, Strange et al., 1991; Parris & Baginski, 1991), mert a módszer a tejfehérjék egyidejű elemzése nem volt alkalmas.

A tejfehérjék egyidejű meghatározásáról elsőként számolt be Visser et al. (1991). Kísérleteik során a mintapuffer redukálószerként ureát, 2-merkaptóetanolt és nátrium-citrát dihidrátot tartalmaztak. A főlözött tej vizsgálata során az α -laktalbumint nem sikerült elválasztaniuk, mert az együtt eluálódott a β -kazein frakcióval. Groen et al. (1994), a Visser et al. (1991) által leírt protokoll szerint vizsgáltak tejmintákat azzal a különbséggel, hogy redukálószerként merkaptóetanol helyett DTT-t

használtak. Az általuk leírt módszerrel azonban az α -laktalbumint nem sikerült elválasztaniuk a β -laktoglobulin B frakciótól. Továbbá ellentétben Visser et al., (1991) által leírtakkal az α -laktalbumin nem az α_{s1} -kazein és β -kazein között eluálódott. Bobe et al. (1998/b) számos mintaelőkészítés protokollt és reagenst vizsgáltak a tejben lévő fehérjék elemzésére. A kapott eredmények összhangban voltak Visser et al., (1991) és Groen (1994) által leírt eredményekkel, miszerint a mintapufferben alkalmazott redukálószer típusa befolyásolja az α -laktalbumin és a β -laktoglobulin retenciós idejét. Wang et al. (2009) azt tapasztalták, hogy amennyiben a 6 mM nátrium-citrátot, 20 mM DTT-t és 5 M GdnHCl-t (pH 7) tartalmazó oldathoz 0,1 M Bis-Tris vegyületet adagoltak, majd az előállított oldatot 1:1 arányban (v/v) adagolták a tejhez, akkor a mintaoldat tiszta lett, ezáltal lehetővé vált a savófehérjék elválasztása. A Bis-Tris elhagyása opálos minta oldatot okozott, és a minta fehérje tartalma az előkészítést követően fél óra elteltével kicsapódott, ezáltal a savófehérjék elválasztását nem tette lehetővé (Bordin et al., 2001). Elsőként Bobe et al. (1998/b) fejlesztettek ki egy olyan mintaelőkészítési eljárást, amely alkalmas volt egyidejűleg elválasztani és mennyiségileg meghatározni a fő fehérje frakciókat. Kísérleteikhez a puffer oldatban urea helyett guanidin-hidrokloridot, nátrium-citrátot és DTT-t és Bis-Trist alkalmaztak. Detektálási hullámhosszt 220 nm-nek választották. Az általuk leírt mintaelőkészítési protokoll és mérési módszer lehetővé tette a fő kazein és savófehérje frakciók, valamint a κ -kazein, β -kazein és β -laktoglobulin genetikai variánsainak elválasztását 52 perc futási idő alatt. Bonfatti et al. (2008) a Bobe et al. (1998/a) által leírt mintaelőkészítési protokollal, C8-as oszlop alkalmazásával és a mozgófázis összetételének változtatásával az

optimalizált módszer már lehetővé tette a fő fehérje frakciók mellett a genetikai variánsok elválasztását és meghatározását is.

Az alfejezetben felsorolt mérés technikák midegyikének vannak előnyei és hátrányai, továbbá egyik módszer sem nyújt teljes körű információt a tej fehérjefrakcióiról.

Összefoglalva, az elektroforetikus módszerek közül a poliakrilamid gélen végzett vizsgálatok előnye, hogy a fő tejfehérje frakciók mellett kisebb fehérje komponensek, valamint egyes fehérjefrakciók bomlástermékei is vizsgálhatóak és nincs szükség drága berendezésekre. Hátránya, hogy a többi módszerhez képest időigényes és szemikvantitatív meghatározást tesz lehetővé. Sharma et al. (2021) szerint, a poliakrilamid gélen végzett elektroforetikus technikák közül az urea-PAGE a kazeinekre, míg natív-PAGE a savófehérjékre alkalmasabb. A kazeinek és savófehérjék egyidejű elválasztására, az SDS-PAGE a legjobb módszer, mivel az SDS gélek egyszerre képesek elválasztani mind a kazeineket, mind a savófehérjéket és a bruttó molekulatömegük egyidejűleg is meghatározható. Anema (2009) eredményei alapján a mikrofluidika chip technológia egy gyors alternatíva lehet a tejfehérje elválasztására és mennyiségi meghatározására azonban hátránya, hogy fő tejfehérje frakciókra korlátozódik és nem alkalmas az egyes genetikai variánsok elválasztására. A fordított fázisú kromatográfia és kapilláris zónaelektroforézis hatékony és megbízható és reprodukálható vizsgálati módszer a tej fő fehérjefrakcióinak és azok genetikai variánsainak meghatározására.

2.5 Membránszeparációs technológiákkal a tejalkotó részek frakcionálása

A nyomásvezérelt membránszeparációs technológiákat napjainkban széles körben alkalmazzák a tejiparban a különböző tejalkotórészek koncentrálására, frakcionálására, izolálására (Novák, 1996; Brans et al., 2004; Kumar et al., 2013; Chen et al., 2018; Chen et al., 2019; Saboyainsta & Maubois, 2000; Hammam et al., 2021; Carter et al., 2021).

A membránszeparáció szelektív permeabilitás elvén alapuló művelet, amelyben a folyadék egy vagy több komponensét egy félig áteresztő membránnal, jellemzően nyomás alkalmazásával szeparálják.

A tejiparban alkalmazott membránok jellemzően pórusos szerkezetűek. Szűrés során az átlagos pórusméretnél kisebb molekulákat a membránok átengedik a permeátum áramba, míg a membránon át nem jutó nagyobb molekulák a retentátumban koncentrálnak. A membránszeparáció feltételei, a megfelelő pórusméretű membrán, a szűréshez szükséges hajtóerő (nyomás) és az elválasztandó komponensek közötti méretkülönbség (Szakály, 2001; France et al., 2021/a).

Egy membrán áteresztőképességét a fluxussal (F) lehet jellemezni. A fluxus megadja a membrán egységnyi felületén (A), egységnyi idő (t) alatt áthaladó permeátum mennyiségét (V_p) (Glover, 1985).

$$F = \frac{V_p}{A \times t}, \left[\frac{l}{m^2 h} \right] \quad (1)$$

A betáp (V_b) mennyiség és a retentátum mennyiségének (V_r) aránya százalékban kifejezve a volumen redukció ($VR\%$).

$$VR\% = \frac{vB}{vr} \quad (2)$$

A koncentrációs faktor (CF) a betáp térfogata és retentátum a térfogatának hányadosa.

$$CF = \frac{V_b}{V_r} \quad (3)$$

A szűrés során gyakran adnak vizet a retentátumhoz, hogy javítsák a szűrés hatékonyságát (Gavazzi-April et al., 2018) csökkentve az oldható komponensek koncentrációját, ezáltal tovább növeljék a visszatartott komponensek mennyiségét a retentátumban (Kumar et al., 2013). Ezt a „mosási” eljárást, mely során a retentátumhoz jellemzően reverz ozmózissal előállított vizet vagy a tej nanoszűrésből származó permeátumot adnak diafiltrációnak (DF%) nevezik. A diafiltráció mértékét a betáp (V_b) mennyiség és a diafiltrációs víz mennyiségének (V_d) aránya százalékban kifejezve adja meg.

$$DF\% = \frac{V_b}{V_d} \quad (4)$$

Az elválasztás hatékonyságát a permeációval (P%) jellemezhetjük.

$$P\% = \frac{c_p}{c_b} \times 100 \quad (5)$$

Ahol, c_b – a betáplálási áramra vonatkozó oldott anyag koncentráció, c_p – a permeátumra vonatkozó oldott anyag koncentráció.

A membránszeparáció alkalmazásának előnye, hogy a komponensek szétválasztása csak fizikai úton, fázismódosulás, ill. kémiai átalakulás nélkül megy végbe, energiaigénye kisebb, mint a hagyományos szétválasztási műveleteké (Szakály, 2001). A szeparálásához nincs szükség hőközlésre, így a hőérzékeny alkotórészek károsodása is minimális, „*clean label*” technológiának tekinthető (France et al., 2021/a; Reig et al., 2021).

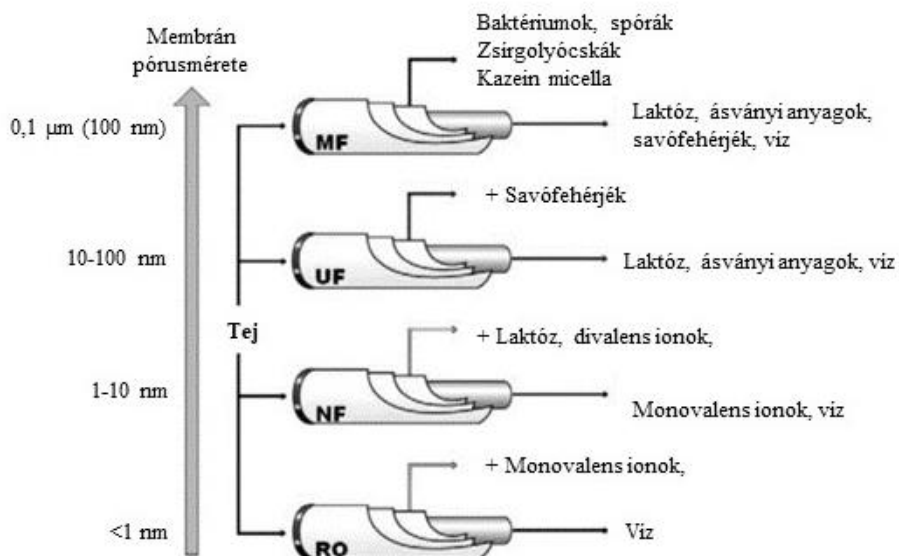
A szűrés kialakítása az ipari alkalmazásokban szinte kizárólag keresztáramú (cross flow) típus, ahol a folyadék áramlása a membránfelülethez képest párhuzamos (Chen et al., 2018).

A nyomásvezérelt membrán-eljárások általános elve, hogy szűrendő folyadékot a membrán egyik oldalára (betáplálási oldal) vezetjük és itt nyomás különbség hatására a szétválasztandó elegy egyes komponensei keresztülhaladnak a membránon. A szűrési folyamat eredményeként a szűrendő folyadék a különböző méretű alkotórészekből, a membránpórusméretétől függően két különböző összetételű és folyadékáram, permeátum és retentátum (koncentrátum) keletkezik.

A permeátum az oldószert, vagyis a vizet és a membrán pórusain áthaladó komponenseket, míg a retentátum a nagyobb méretű komponenseket tartalmazza, amelyek nem képesek áthaladni a membránon ezáltal a betáplálás oldali anyagáramban feldúsulnak.

A membránszeparációs technológiák tejipari alkalmazását azt teszi lehetővé, hogy a tejjalkotórészek méreteloszlási tartományai viszonylag jól elkülönülnek, a tejjalkotók között nagyságrendbeli méretkülönbség van és magas a diszpergált anyagok koncentrációja (Brans et al., 2004; Kumar et al., 2013) (2.1 alfejezet).

Az alkalmazott membrán pórusmérete és a vágásiérték (MWCO, molecular weight cut-off) alapján az elválasztási folyamatokat a mikroszűrés (MF), ultraszűrés (UF), nanoszűrés (NF) és reverz ozmózis (RO) kategóriákba sorolhatók (Lawrence et al, 2008; Saboyainsta & Maubois, 2000; Chen et al., 2019; Saboyainsta & Maubois, 2000; Carter et al., 2021).



5. ábra: Membránszeparációs technológia tejipari alkalmazási lehetőségei. (Forrás: Lipniczki, 2010, saját szerkesztés)

Az MF, UF, NF és RO membránokkal gyakorlatilag minden fontosabb különböző méretű tejalkotórész elválasztása lehetséges (**5. ábra**), lehetővé téve ezáltal új egyedi tulajdonságokkal és funkcionalitással rendelkező ingrediensek előállítását (Merin & Daufin, 1990; Brans et al., 2004; Chen et al., 2009; Lipniczki, 2010; France et al., 2021/a).

Az RO membránok az oldott anyagokat közel teljes mértékben visszatartják ezért jellemzésükre a pórusméret és a vágási érték nem használatos.

A mikroszűrő membránok rendelkeznek a legnagyobb pórusmérettel, jellemzésükre a névleges pórusméret mikrométerben van megadva, melyek jellemzően 0,1-10 μm pórusátmérőjű membránok.

Tejiparban a mikroszűrlés két legelterjedtebb alkalmazási köre a csíráatlanító mikroszűrés (Pouliot, 2008) és a fehérje frakcionáló mikroszűrés (Carter et al., 2021; Hammam et al., 2021).

Mikroszűrő membránok jellemzése

A mikroszűrő membránok az anyagok széles skálájából előállíthatók, amelyek lehetnek szerves polimerek, vagy szervetlen, kerámia anyagok.

Kerámia membrán

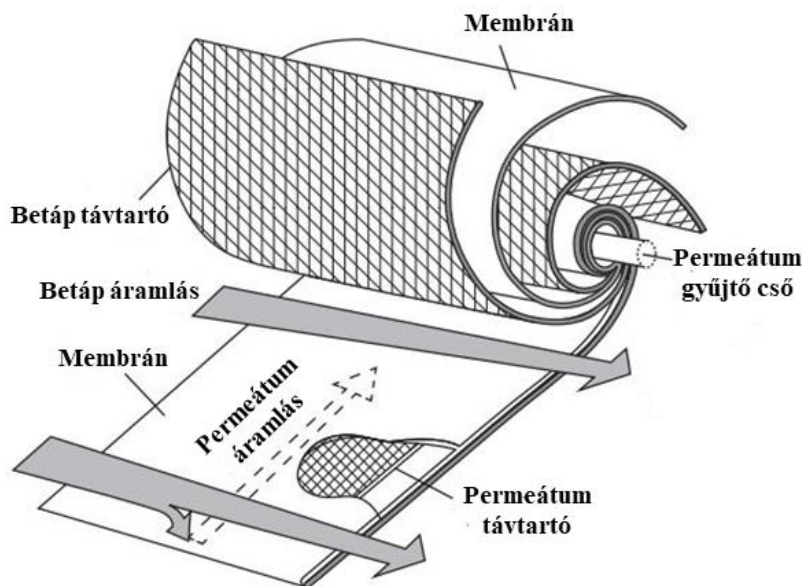
A kerámia membránok jellemzően alumínium-oxidból (Al_2O_3), cirkónium-dioxidból (ZrO_2) valamint titánium-dioxidból készülnek. A kerámia membránoknak számos előnye van a polimer membránokhoz képest. A kerámia membránok előállításához használt anyagok szervetlen jellege miatt ezek a membránok számos vegyszerrel szemben inertek, széles hőmérsékleti tőrésstartománnyal ($>100\text{ }^\circ\text{C}$) és pH-tűréssel (pH 0,5-13,5) rendelkeznek, ezáltal sterilizálhatókak, valamint az élettartamuk is hosszabb (Baruah et al., 2005). Hátrányuk, azonban, hogy a mechanikus hatásokra sérülékenyebbek, és költségesebbek, mint a polimer membránok. A polimer membránok tőkebefektetése a tizede a kerámia membránokénak és élettartama is rövidebb - 10 év, szemben a polimer membrán 6 hónappal szemben - Park et al., 2014; Gitis & Rothenberg, 2016).

Polimer membránok

A polimer anyagok fluorpolimerek, a hidrofób polimerek közé tartozik a politetrafluor-etilén (PTFE) a poli(vinilidén-fluorid) (PVDF) és a polipropilén (PP), míg hidrofil polimerek közé a cellulóz acetát, a polikarbonát (PC) és a poli(éterszulfon) (PES) (Mulder, 1996).

A polimer membránok közül a PS- és PES membránok széles pH-, hőmérséklet- és vegyszertűréssel rendelkeznek, valamint előnyük, hogy a pórusméretek széles skálájával, sokféle konfigurációban gyárthatók. Hátrányuk, hogy alacsony mechanikai szilárdság miatt azonban gyakran alacsony üzemi nyomásra korlátozódnak. A PVDF membránok a PES membránok számos előnyével bírnak, ugyanakkor a hőmérsékleti és pH-tűrés tartománya szűkebb határok közé korlátozódik. A polimer membránok a kerámia membránokhoz képest szélesebb pórusméret-eloszlással rendelkeznek, azonban hátrányuk, hogy viszonylag hidrofóbok, ami elősegíti a fehérje adszorpciót a membrán felületén (Baruah et al., 2005).

A kazeinek frakcionálására általában polimer membránokat, például PVDF-et vagy PES-t használnak. A polimer membránok legnépszerűbb konfigurációja a spiráltekerceselt membrán **(6.) ábra** (Spiral Wound, SW), mivel ez a konfiguráció a membrán hosszára vetítve nagy felülettel rendelkezik.



6. ábra: Spiráltekercselt membrán felépítése (Forrás: Baker, 2002)

Spiráltekercselt modul esetében több lapmembránt spirálszerűen tekernek fel egy perforált cső köré. A spiráltekercset egy hengeres palástba helyezik. A szűrendő anyagot a palásttérbe vezetik, ahol az a távtartók által biztosított résben áramlik hosszanti irányban. A nyomáskülönbség hatására folyadék egy része a membránon keresztül a membrán belsejébe jut, és a permeátum gyűjtő csövön keresztül távozik (Chen et al., 2020).

Fehérje frakcionáló mikroszűrés során, során a hidrofíl és negatív töltésű membrán a legelőnyösebb a hidrofób fehérjék a membránfelülethez való kötődésének minimalizálása tekintetében. Alternatív megoldásként a hidrofób polimer membránok felülete - mint például a PVDF is - kémiaiag közvetlenül módosíthatók hidrofíl polimerek hozzáadásával a membrán gyártási folyamata során (Liu, 2001). Crowley et al. (2015) különböző polimer membránok PES és PVDF hatékonyságát vizsgálták a fölözött tej

mikroszűrése során. A szerzők arról számoltak be, hogy az azonos pórusméretű PES és PVDF membránok lényegében azonos szelektivitással rendelkeztek, azonban a PES membrán esetében nagyobb fluxust és kisebb membránszennyeződést eredményezett.

2.6 Tejfehérje frakcionáló mikroszűrés

A 0,2 μm (0,02-0,40) μm átmérőjű kolloid szuszpenzióban lévő kazein micellák körülbelül százszor nagyobbak, mint a tejben oldatban lévő savófehérje frakciók 0,02 (0,003-0,010 μm) (Walstra et al., 2006). Ezáltal a 0,1 vagy 0,14 μm kerámia membránok, vagy a 0,1- 0,5 μm pórusméretű mikroszűrő membránok lehetővé teszik a kazeinmicellák és savófehérjék elválasztását sovány tejből (Hammam et al., 2021; Carter et al., 2021; Salunke et al., 2021; Marella et al., 2021; France et al., 2021/a).

A fehérje frakcionáló mikroszűrés során a kazein micellákat visszatartja a membrán, így a retentátumban dúsulnak, míg kisebb tejalkotórészek, a savófehérje és az oldott anyagok áthaladnak a membránon és a permeátumba jutnak át (Saboyainsta & Maubois, 2000; France et al., 2023). A mikroszűrés eredményeként keletkezett kazeinben dús retentátumot micelláris kazein koncentrátumnak (MCC), a savófehérjében gazdag permeátumot „ideális” (ideal whey, virgin whey) savónak nevezzük.

Micelláris kazein koncentrátum /Mikroszűrt retentátum jellemzése

A micelláris kazein koncentrátum (MCC) egy magas fehérjetartalmú koncentrált folyékony kolloid szuszpenzió, amelyet jellemzően fölözött tejből mikroszűréssel 3x-os koncentrációs faktorról és diafiltráció

alkalmazásával állítanak elő (Hammam et al., 2021). Az MCC főként micelláris formában lévő kazeinekből, laktózból, ásványi anyagokból az alapanyagként szolgáló tejhez képest csökkentett mennyiségű savófehérjéből áll. Hazánkban nincs előírás az MCC, vagy a porított micelláris kazein por (MCN) összetételére. Az American Dairy Products Institute (ADPI) megfogalmazásában az MCC egy koncentrált fehérje, amelyben a kazeinek és a savófehérjék aránya 82:18-95:5 (URL₂). Az MCC felhasználása sokrétű. Az Európai Unióban általában sajttej szabványosítására használják, javítva a sajthozamot (Neocleous et al., 2002; Hammam et al., 2022). A hőérzékeny savófehérjék hiányában, nagy fehérjetartalmú UHT italok gyártásához is használható, mert elkerülhető a termék nem kívánt gélesedése (Singh et al., 2019). Továbbá fehérjeszeletek és a görög típusú joghurtok előállításához is alkalmazzák (Bong & Moraru, 2014; Wilbanks et al., 2023).

Mikroszűrt permeátum/Ideális savó jellemzése

A fehérjefrakcionáló mikroszűrés során a sajtsavóhoz hasonló összetételű permeátum keletkezik, amely főként β -savófehérjéből (főként β -LG, α -LA), laktózból, ásványi anyagokból és NPN-ből áll (Saboyainsta & Maubois, 2000).

Az ideális savó előnye a sajt savóval szemben, hogy oltó, kultúra, színezék és tejsav maradványaitól mentes, amelyek mind nemkívánatos funkcionális- és érzékszervi tulajdonságokhoz vezethetnek további feldolgozás esetén. Az ideális savó további előnye, hogy nem tartalmaz glikomakropeptidet (GMP).

A GMP a sajtgyártás során az oltó hatására a κ -CN enzim hidrolízisekor keletkezik, a κ -CN 64 aminosav hosszúságú C-terminális fragmentuma

(Neelima et al., 2013), amely a sajt savó nitrogéntartalmának 20-25%-át teszi ki (Fariás et al., 2010).

A mikroszűrt permeátum a mikroszűrés technológiának köszönhetően alacsony csíraszámmal rendelkezik és nem tartalmaz zsírt. Éppen ezért kiváló alapanyagként szolgál savófehérje koncentrátumok előállításához, amelyet speciális élelmiszeripari alkalmazásokhoz, például csecsemőtápszerhez vagy sportolók, valamint idős vagy legyengült embereknek táplálására célzó termékhez használhatók fel. (Saboyainsta & Maubois, 2000).

A fehérjefrakcionáló mikroszűrés során a technológiai paraméterek tekintetében, az alkalmazott membrán típusa, pórusmérete, a szűrési hőmérséklet, a tej kezdeti hőkezelése, a transzmembránnnyomás, a volumenredukció- és a diafiltráció mértéke tekintetében nagy eltérések figyelhetők meg. A mikroszűrés során a hőmérséklet 4-50 °C, a membrán pórusmérete 0,01-0,5 µm, a koncentrációs faktor 1,25-3,2, között mozog. A TMP 0,5 -3 barig terjed, a diafiltráció mértéke pedig a 0% tól 250%-ig (Hartinger et al., 2019; Beckman et al., 2010; Beckman és Barbano, 2013; France et al., 2021/b; France et al., 2023; Manon Granger-Delacroix et al., 2020; Mercier-Bouchard et al., 2017; Jarto et al., 2018; Schiffer et al., 2021; Salunke et al., 2019).

2.7 A tejfehérje frakcionáló mikroszűrés hatékonyságát befolyásoló főbb tényezők

2.7.1 Tej kezdeti hőkezelése

A magas hőmérsékletű, rövid ideig tartó hőkezelés az első műveletek egyike a mikroszűrés során. A tej hőkezelési paraméterei azonban befolyásolhatja a kazeinek és savófehérjék elválasztását (Hurt & Barbano, 2010; Schiffer et al., 2021). A pasztörözés (72 °C, 15 s) során a fő savófehérjék denaturációja elindulhat, mely során savófehéré aggregátumokat (de Wit, 2009), vagy savófehérje - kazein komplexeket képeznek (Donato & Guyomarc'H, 2009). Az α -LA azonban alacsonyabb átmeneti hőmérséklete ellenére hőstabilabb, mint a β -LG (Dalglish, et al., 1997). Így az aggregált savófehérjék, főként a β -LG, diszulfidkötéseken keresztül komplexeket képezhetnek κ -CN frakcióval, amelyek így, 30-100 nm-es méretű részecskéket eredményeznek (Anema & Li, 2003). Abban az esetben, ha az alapanyagként szolgáló tej tartósan magas hőmérsékleten történő hőkezelésnek van kitéve, a mikroszűrés eredményeként a retentátum nem micelláris kazein lesz, hanem egy olyan termék, amely a kazein és a savófehérje arányát tekintve inkább a tejfehérje-koncentrátumhoz hasonló, ahol a kazeinek és savófehérjék aránya a tejjel megegyező, 80:20 (URL2).

Svanborg et al. (2014) pasztörözött és nyers tejet (73 °C, 15 s) mikroszűrt 0,2 μ m-es kerámia membránok alkalmazásával. A tejmintát, a permeátum- és retentátum minták fehérjeprofílját RP-HPLC módszerrel elemezték. A nyerstejben ($p < 0,05$) és a nyerstejből előállított MF permeátumában szignifikánsan ($p < 0,001$) magasabb β -LG koncentrációt mértek, mint a pasztörözött tejben és az abból származó MF permeátum mintában. A

pasztörözés azonban nem befolyásolta az α -LA koncentrációját a tejben sem a permeátum mintákban található kazein savófehérjék (α -LA és β -LG) relatív arányát.

2.7.2 Szűrési hőmérséklet

Jelenleg a tejiparban hagyományosan a fehérjefrakcionáló mikroszűrést melegen, 45-50 °C-on végzik. A mikroszűrés azonban ebben a hőmérséklettartományban, a termofil (melegkedvelő) baktériumok szaporodása miatt mikrobiológiai problémákat okozhat, leginkább a *Bacillus* spp. és a *Geobacillus* spp. fajok szaporodásának kedvez, amelyek hőstabil proteázokat, lipázokat és savakat termelhetnek, ezáltal negatívan befolyásolhatják a végtermék minőségét (Chamberland et al., 2019; Schiffer & Kulozik, 2020).

Ezen hátrányok kiküszöbölésének érdekében az utóbbi években egyre nagyobb tendenciát mutat a hideg mikroszűrés alkalmazása, amely 4-20 °C közötti hőmérsékleten végzett folyamatot foglalja magában (France, 2021/a). A szűrési hőmérséklet azonban nem csak a mikrobiológia szaporodás mértéke miatt jelentős, hanem hatással lehet membránok teljesítményére, a kazeinek és a savófehérjék elválasztásának hatékonyságára, az egyes fehérjefrakciók retenciójára/permeációjára a membrán szennyeződés mértékére és típusára és az üzem energiaigényére is.

1.7.2 Szűrési hőmérséklet hatása a β -CN permeációjára

A hagyományos, meleg mikroszűrés során (45-50 °C-on) a kazein micellán belüli hidrofób kölcsönhatások erősek. Hideg mikroszűrés során (4-20 °C), azonban a hidrofób kölcsönhatások gyengülnek, mely a kazein

micella disszociációját eredményezi. A β -CN frakció először a micella felszínére, majd onnan a tej szérum fázisba kerül. Hideg mikorszűrés során a monomer állatban lévő β -CN (7-8 nm) a membránon áthaladva a permeátumba kerül (Zulewska et al., 2018). Ezáltal a fölözött tej magas meleg szűrés hőmérsékleten való mikorszűrése ideális savót eredményez, amely lényegében nem tartalmaz β -kazeint; ezzel szemben a hideg mikorszűréssel olyan ideális savót eredményez, amely β -kazein frakcióban dús (France, 2021/b).

Szűrési hőmérséklet hatása a fluxusra

Kolloidrendszerek, mint például a tej viszkozitás szempontjából a nem Newtoni folyadékok közé tartoznak, ezért a relatív viszkozitás fogalmát vezették be, amely mindig a meghatározott körülmények (nyíróerő, nyírási sebesség) között végzett mérésekre vonatkoznak. A tej relatív viszkozitása a zsírtartalom és a szárazanyagtartalom növekedésével rohamosan növekszik, a hőmérséklet függvényében enyhén csökken. Ezzel szemben a valódi oldatok, mint az MF permeátum is, viszkozitása kizárólag a hőmérséklettől és az oldatkonzentrációtól függ. A szűrési hőmérséklet csökkenésével a permeátum viszkozitása nő, amely alacsonyabb permeátum fluxust eredményez. A Darcy-törvény értelmében a fluxus a következő képlettel írható le (France et al., 2021/a),

$$F = \frac{TMP}{\eta * R} \quad (6)$$

ahol F a fluxus, TMP a transzmembránnnyomás, η a membrán áteresztő folyadék viszkozitása az adott szűrési hőmérsékleten, R a hidraulikai ellenállás, amely a membrán (R_m), illetve a membránon található szennyeződések által (R_f) okozott ellenállások összege (France et al., 2021/a).

A fenti összefüggésből látható, hogy a permeátum fluxus egyenesen arányos a TMP-vel és fordítottan arányos a membránon áthaladó folyadék viszkozitásával az ellenállással (Marshall & Daufin, 1995; Le Berre és Daufin, 1996). Az összefüggés alapján a meleg mikroszűrés során, a permetum nagyobb viszkozitása miatt elméletileg magasabb fluxus érhető el, mely által nagyobb hatásfokkal lehet eltávolítani a savófehérjéket, míg hideg mikroszűrés során hosszabb üzemelési időre vagy nagyobb membránfelületre lehet szükség a kívánt kapacitás eléréséig.

2.7.3 Membrán eltömődés

A membráneltömődés a tej mikroszűrése során továbbra is az egyik legnagyobb kihívást jelentő probléma. A mikroszűrés során, a membrán felületén a tejalkotórészekből egy másodlagos szűrőréteg alakulhat ki. A szűrési teljesítményt befolyásolja a koncentrációs polarizáció is (Jarto et al., 2018).

A másodlagos szűrőréteg megváltozott összetételű pórusréteg kialakulásához vezet, ezáltal negatívan befolyásolja a membránok szelektivitását (Beckman & Barbano, 2013).

Koncentrációs polarizációnak nevezzük azt a jelenséget, amikor a szűrés folyamán a szűrendő folyadék egyik komponensnek a másik komponensnél nagyobb mértékű áteresztése a membrán felületén koncentrációgradiens kialakulását eredményezi, egy határréteg kialakulását okozza, amely befolyásolja a permeátumáramlást (Aimar et al., 1994).

Tanulmányok alapján a fő szennyező anyagok a fehérjék és az ásványi anyagok (Cheryan, 1998; Beckman & Barbano, 2013; Tan et al., 2014). A fehérje eredetű szennyeződést a kazein és a savófehérje adszorpciója

okozhatja a membrán felületén vagy a membrán pórusaiban (James et al., 2003; Koh et al., 2012), míg az ásványianyag eredetű szennyeződés nagyrészt a kalciumnak köszönhető, amely elősegíti a fehérje-fehérje és a fehérje-membrán kölcsönhatásokat.

A kalcium-foszfát oldhatósága fordítottan arányos a hőmérséklettel (Glover, 1985). A hőmérséklet emelkedésével csökken a kalcium-foszfát oldhatósága, ami növeli a kalcium és a foszfor koncentrációját a tej szérumfázisában (Pouliot et al., 1989; Fox et al., 2015; France et al., 2021a) felgyorsítva annak kicsapódását (Nieuwenhuijse & Huppertz, 2022). A kalcium-foszfát lerakódása a membrán felszínén vagy pórusaiban hideg mikroszűrés alatt feltehetőleg kevésbé jelentős, mint a hagyományos meleg MF során. (Nieuwenhuijse & Huppertz, 2022).

A fenti ismeretek fényében, még ha a hideg MF esetében a fluxus értékek bár alacsonyabbak az szennyeződés mértékének alacsony mértékének következtében, meglehet, hogy kevésbé jelentős a membráneltömődés, ezáltal kevesebb leállási időt igényel, valamint a víz- és tisztítószer-fogyasztás csökkenését eredményezhetik a CIP (Clean in Place) során.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Kísérletek és vizsgálatok helyszíne

Kutatásaimat a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft. (MTKI Kft.) mosonmagyaróvári székhelyén és a Széchenyi István Egyetem, Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Karán végeztem. A HPLC módszer fejlesztését a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kutató-Élelmiszervizsgáló és Nyerstejminősítő Laboratóriumában, míg a membránszeparációs kísérleteket az MTKI Kft. kísérleti üzemében hajtottam végre.

3.2 HPLC módszer fejlesztése a tejben lévő fő fehérje frakciók elválasztására és mennyiségi meghatározására

3.2.1 Felhasznált standardok

A HPLC elemzések során a fő tejfehérje frakciók azonosítását és mennyiségi meghatározását kereskedelmi forgalomban kapható, liofilizált kazein- és savófehérje frakció standard vegyületek alapján határoztam meg. A különböző tisztaságú standard vegyületek a következők voltak: κ -kazein ($\geq 70\%$), α_s -kazein ($\geq 70\%$), β -kazein ($\geq 90\%$), α -laktalbumin ($\geq 85\%$), β -laktoglobulin A ($\geq 90\%$), β -laktoglobulin B ($\geq 90\%$). A felsorolt standardok mindegyike a Sigma-Aldrich (Magyarország) termékei voltak.

3.2.2 Felhasznált reagensek és vegyszerek

A tejfehérjék kromatográfiás elválasztásához szükséges pufferoldatok készítéséhez analitikai tisztaságú guanidin-hidrokloridot ($\geq 99\%$),

trinátrium-citrát-dihidrátot ($\geq 99\%$), DL-Ditiotreitolt ($\geq 99\%$) (Sigma-Aldrich, Magyarország) és BIS-TRIS puffert (VWR International Ltd., Debrecen, Magyarország) használtam fel. Az eluenseket HPLC gradiens tisztaságú acetonitril (ACN) (Molar Chemicals Kft., Halásztelek), valamint nagytisztaságú víz (fajlagos ellenállása: $18\text{M}\Omega\text{ cm}$, $25\text{ }^\circ\text{C}$) 99%-os tisztaságú trifluoecetsav (Sigma-Aldrich, Magyarország) felhasználásával készítettem el. A tejmintákat NBF-tej konzerváló oldattal tartósítottam, 1,1 mL NBF/100 mL tej hozzáadásával.

3.2.3 Tejminták

A módszerfejlesztéshez nyers- és hőkezelt tejet is felhasználtam, amelyek egy része kereskedelmi forgalomban kapható különböző hőkezelésű (pasztörözött, ESL, UHT) fogyasztói tejek voltak, melyeket mosonmagyaróvári hiper- és szupermarketekből szereztem be. A nyers elegytej minták az Óvártej Zrt. (Mosonmagyaróvár) tejüzemből származtak. A HPLC módszer teljesítményjellemzőinek meghatározásához az egyedi tejmintákat, a Tebike Kft. (Győr-Ménfőcsanak) bocsátotta rendelkezésemre. A β -kazein fehérje esetében a genotípusok azonosításához igazolt β -kazein státuszú Holstein-fríz egyedektől származó egyedi tejminták a Makrom Kft. (Mágocs, Magyarország) szarvasmarhatelepéről származtak.

3.2.4 Alkalmazott készülékek

A HPLC méréseket légmentesítő egységgel, kétcsatornás pumpával, bináris nagynyomású szivattyúval (Flexar FX-15 UHPLC), automata mintaadagolóval, kolonna termosztáttal és diódasoros optikai egységgel ellátott detektorral (DAD), gázmentesítő egységgel felszerelt Perkin Elmer

(Waltham, Massachusetts, USA) típusú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás rendszeren hajtottam végre. A minták injektálása egy 100 μ L-es hurokkal felszerelt automata injektor szelepen keresztül történt. A HPLC berendezést egy szoftveren (Chromera CDS) keresztül működtettem, mely szabályozta az oldószer gradienst, adatgyűjtést és adatfeldolgozást. Az analitikai mérések során felhasznált nagy tisztaságú vizet Zeener Power (Human Corporation, Korea) víztisztító rendszerrel állítottam elő. A minták centrifugálásához Eppendorf 5804R típusú centrifugát használtam, a minták kevertetését DLAB-MX-S típusú kémcsórázóval végeztem. Az eluenseket VWR USC-TH típusú ultrahangos kádban gázmentesítettem.

3.2.5 Standardok és pufferek készítése

A HPLC elemzések során a következő törzsoldatokat, puffer oldatokat és mintaoldatokat készítettem el:

Törzsoldatok és standard mintaoldatok

A törzsoldatok készítését a vizsgált fehérjefrakciók pontos bemérését követően a nagy tisztaságú vízben oldottam. A standard mintaoldatok az egyes fehérjefrakciók törzsadatainak nagy tisztaságú vízzel történő megfelelő hígításával készültek. A törzsoldatok a következők voltak:

- κ -kazein (κ -CN): 0,06987 g/5 mL
- α_s -kazein (α_s -CN): 0,15645 g/5 mL
- α -Laktalbumin (α -LA): 0,02066 g/5 mL;
- β -kazein (β -CN): 0,07908 g/5 mL;
- β -laktoglobulin A (β -LGA): 0,04221 g/5 mL
- β -laktoglobulin B (β -LGB): 0,04269 g/5 mL

Az α 1- és α 2-CN esetében egyedi fehérje frakció standardok nem elérhetőek kereskedelmi forgalomban. Szakirodalmi adatok alapján Maurmayr et al., (2013) az α s-CN standard az α 1- és α 2-CN frakciót 1:4 arányban tartalmazza, így kalibrációs mérőgörbe elkészítéséhez az előbbi arányt alkalmaztam.

Puffer oldatok

Puffer A: 0,1 M BisTris puffert, 6,0 M Guanidin-hidrokloridot, 5,37 mM trinátrium-citrát-dihidrátot és 19,5 mM DL-ditiotreitolt mértem egy 10 mL-es mérőlombikba, majd a lombikot nagytisztaságú vízzel töltöttem jelre (pH=7).

Puffer B: 4,5 M Guanidin-hidrokloridot A-eluensben (nagytisztaságú víz, ACN és TFA 900:100:1) (v/v%) feloldva 10 mL-es mérőlombikban.

3.2.6 Mintaelőkészítési protokoll

Nyerstej, hőkezelt tej

A vizsgált minták előkészítése kisebb módosításokkal Bobe et al., (1998/a) módszer leírása alapján történt. A nyerstej és a hőkezelt (ESL, UHT, pasztörözött tej) esetében a homogén szobahőmérsékletű tejmintát egy 2 mL-es Eppendorf csőben 1:1 (v/v%) arányban (800-800 μ L) hígítottam az A-pufferrel. Lezártam, majd 10 másodpercig intenzíven kevertetem kémcsőrázóval, ezután 1 órán keresztül szobahőmérsékleten inkubáltam. Az inkubációs idő letelte után, 15 percig 4 °C-on, 14000 \times g fordulatszámom centrifugáltam mikrocentrifugában. A keletkezett szilárd zsírréteget steril spatulával eltávolítottam, majd a zsírintes felülúszót 1:3 (v/v%) arányban (300-900 μ L) hígítottam a B-pufferrel, amellyel ismét 10

másodpercig intenzíven kevertetem. A kapott oldatot szűrés nélkül közvetlenül injektáljam a HPLC kolonnára.

3.2.7 Kromatográfiai körülmények

Állófázisként egy Phenomenex gyártmányú (Torrance, CA, USA) C18-as Widedpore (250 mm × 4,6 mm × 5 µm, 200 Å) és egy Vydac 214MS (30 nm; 5 µm; 150 × 2,1 mm) C4 kolonnát teszteltem a tejfehérjék egyidejű elválasztásra. A C18 kolonna alkalmazásával optimált módszer gradiensprogramja során a következő gradiens elúciót alkalmaztam:

2. táblázat Optimált gradiens elúció

Idő (perc)	Áramlás (mL/perc)	%A	%B
0,5	1,1	70,9	29,1
20,0	1,1	54,0	46,0
0,1	1,1	70,9	29,1

Az automata mintaadagoló tér hőmérséklete 10 °C-ra volt beállítva, a minta injektálás térfogata pedig 20 µL volt, 40 °C-os kolonnatér hőmérséklet alkalmazása mellett.

3.3 RP-HPLC módszer teljesítményjellemzőinek meghatározása

Az optimált HPLC eljárás validálását két korábbi kutatás, Bobe et al., (1998) és Bonfatti et al., (2008) alapján végeztem el. Az optimált módszer validálása során a következő teljesítményjellemzőket határoztam meg: specificitás, linearitás, módszer precizitás (ismételhetőség, reprodukálhatóság), oldatstabilitás, meghatározási határ (limit of quantitation, LOQ), torzítatlanság. A módszer teljesítményjellemzőinek

meghatározása öt egymást követő napon történt. A módszer fejlesztése alatt a mérések során megállapítottam, hogy a minták fagyasztása – függetlenül a fagyasztva tárolás idejétől – befolyásolhatja egyes fehérje frakciók elválasztását és mennyiségi meghatározását, ezért a nyerstej mintákat előzetes kísérletek alapján 0,9% (V/V%) NBF-konzerváló oldat hozzáadásával tartósítottam, és a vizsgálatok előkészítéséig hűtve (2-5 °C) tároltam a mikrobiális növekedés és az enzimaktivitás minimalizálásának érdekében.

3.3.1 Specificitás és szelektivitás

A specificitást a vak oldat (mintapuffer), valamint a B-eluens és tej mintamátrix kromatogramjának összehasonlításával végeztem el. A módszer szelektivitását csúcstisztaság vizsgálattal igazoltam.

3.3.2 Linearitás, torzítatlanság

A standard oldatok koncentrációi és a kromatográfias csúcsterületek közötti korrelációt vizsgáltam 6 koncentráció pontban 3-3 injektálással. Az egyes fehérje frakciók törzsoldataiból különböző koncentráció-tartományban kalibrációs egyenest vettem fel, melynek lineáritását regresszió analízissel, a legkisebb négyzetek módszere alapján vizsgáltam. A módszer torzítatlanságának meghatározásához az egyes fehérjefrakciók visszanyerhetőségét vizsgáltam. Az egyes fehérje frakciók kalibrációs pontjaira meghatározott koncentrációjának a névleges koncentrációtól való eltérése alapján határoztam meg, a vizsgált fehérjefrakciók esetén hat koncentráció szinten. A kapott eredményekből átlagos visszanyerhetőségi százalékot határoztam meg minden fehérjefrakcióra.

3.3.3 Precizitás (ismételhetőség, reprodukálhatóság)

A precizitás meghatározásához fent említett két tanulmány alapján tíz egyedi nyerstejmintát használtam fel. Az ismételhetőség vizsgálata során egy egyedi homogén tejmintát egymást követően tízszer injektáltam az oszlopra, míg a reprodukálhatósághoz négy napon keresztül elemeztem a vizsgálat napján előkészített tíz különböző egyedi homogén tejmintát.

3.3.4 Kimutatási határ (LOD – Limit of Detection) és meghatározási határ (LOQ – Limit of Quantification)

Az egyes fehérjefrakciók kimutatási határát (LOD), valamint a meghatározási határát (LOQ) az egyes fehérjefrakciók kalibrációs mérőgörbéi alapján, a válaszjel-koncentráció kapcsolatra illesztett regresszió módszerrel becsültem meg a következő képlet szerint:

$$\text{LOD} = 3,3 \times \sigma/S, \quad (6)$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \sigma/S, \quad (7)$$

ahol σ a tengelymetszet standard hibája, az S pedig a tengelymetszet.

3.3.5 Oldatstabilitás

Bár az elemzési idő viszonylag rövid — mindössze 20 perc — az elemzendő mikroszűrt permeátum és retentátum minták nagy számának következtében, a minták egy része csak a mintaelőkészítést követően órák múlva kerül elemzésre, amely idő alatt az automata mintaadagolóban, a minták előkészített állapotban vannak az injektálásig. Az oldatstabilitás

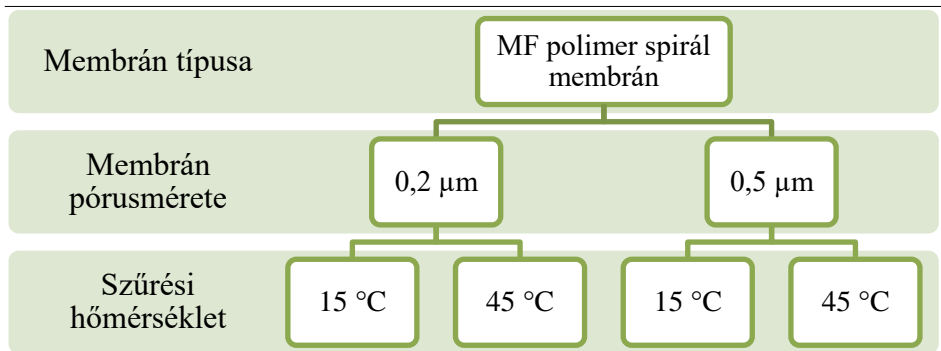
vizsgálata mellett a további érv az volt, hogy az oldatban felhasznált DTT reagens az oldatban nem stabil.

Az oldatstabilitás vizsgálata során, azonos injektálási körülmények mellett (10 °C) tanulmányoztam a mintaoldatban meghatározandó fehérjefrakciók stabilitását. Ehhez az előkészített mintaoldatot 16 órán keresztül injektáltam, majd egyes fehérje frakciókra kapott csúcsalatti területeket az eltelt idő függvényében értékeltem.

3.4 Mikroszűrési kísérletek

A doktori munkám második felében pasztörözött, főlözött tejet mikroszűrtem 0,2 μm és 0,5 μm névleges pórusméretű spiráltekerceselt PVDF membránnal hideg (15 °) C és meleg (45°C) szűrési hőmérsékleten. A mikroszűrési kísérletek során minden esetben a teje vonatkoztatott 66%-os volumenredukciót és 120%-os diafiltrációt alkalmaztam állandó, 0,8 bar TMP mellett. A mikroszűrés és a diafiltráció szakaszos (batch) üzemben történt.

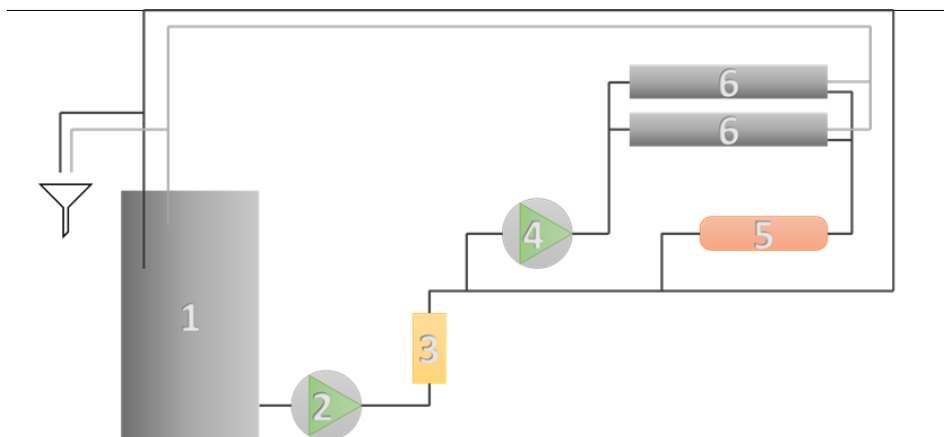
Minden kísérletet három független ismétléssel végeztem. A mikroszűrések során, permeátum és retentátum fázismintákat vettem a szűrés különböző volumenredukciós és diafiltrációs fázisaiban, hogy meghatározzam a minták fehérjeprofíljának vizsgálatán keresztül azt, hogy a szűrés során alkalmazott volumenredukció és a diafiltráció mértéke, valamint a szűrési hőmérséklet és membrán pórusmérete, hogyan befolyásolja az egyes fehérjefrakciók retencióját/permeációját, ezáltal a végtermék fehérjeprofílját. A mikroszűrések kísérleti elrendezése a **7. ábrán** látható.



7. ábra: Mikroszűrési kísérletek sematikus ábrája

3.4.1 Felhasznált tej

A tizenkét mikroszűrési kísérlet elvégzése – mind a tej szükséges mennyisége, mind a mikroszűrési- és a minták elemzési ideje miatt – kivitelezhetetlen volt egy tétel elegytej felhasználásával, ezért minden mikroszűrési kísérletet eltérő összetételű elegytejjel végeztem. Így a doktori munka keretein belül összesen 3600 liter tejet használtam fel. Egy mikroszűrési kísérlethez 300 liter pasztörözött (72 °C, 15 s), fölözött; (zsírtartalom <0,1 g/100 g) tejre volt szükség. A tejet két közeli tejüzemből, az Óvártej Zrt. (Mosonmagyaróvár) vagy a Sole-Mizo Zrt. csornai üzeméből vásároltuk meg. A tej hűtve szállítva érkezett a kísérleti üzembe, és a beérkezést követően továbbra is hűtve tároltam (5-8 °C). Az adott tétel tejet minden esetben a beérkezés napján beérkezéstől számítva legfeljebb egy órán belül mikroszűrtem. A mikroszűrési kísérleteket (**8. ábra**), az MTKI Kft. által tervezett kísérleti mikroszűrő berendezésen végeztem.



8. ábra: A kísérleti MF berendezés vázlatos rajza.

1. előtértartály; 2. betápláló szivattyú; 3. szűrő; 4. recirkulációs szivattyú; 5. multicsovés hőcserélő; 6. mikroszűrő membránházak

A mikroszűrő berendezésben a folyadékok betáplálását egy betáp szivattyú (SPXFLOW, Magyarország), az áramlását pedig egy frekvencia váltóval ellátott centrifugál szivattyú (SPXFLOW, Magyarország) biztosította. A folyadékok hőmérsékletének szabályozását gőz- illetve jegesvíz rendszerrel ellátott multicsovés hőcserélővel végeztem. A kísérleti berendezés beépített nyomásmérőkkel (Tempress, Dánia) három digitális elektromágnes áramlásmérővel (SIEMENS SITRANS FM MAG 5000, Franciaország) és digitális hőmérséklet mérő műszerrel volt felszerelve. A membránmodul bevezető része előtt és kimeneti része után a berendezésen található nyomásmérőkről leolvasható a retentátum- és permeátum oldali nyomás érték. A két érték különbsége adja meg az alkalmazott transzmembrán nyomást.

3.4.2 Alkalmazott membrán modulok

A szűrési kísérletekhez egy 0,2 μm (Alfa Laval MFP2 6338/48 P 174516) és egy 0,5 μm (Alfa Laval MFP5 6338/48 P 114046) névleges pórusátmérőjű, fluoropolimer spiráltekerceselt membránt alkalmaztam. A membránok hosszúsága 965 mm, átmérőjük 160,-162,0 mm, hosszuk 965 mm, míg a távtartó (spacer) vastagsága 48 mil (1,17 mm) volt. A spiráltekerceselt membránok mindegyike egyenként 15,4 m² aktív szűrőfelülettel rendelkezett. A kísérletek során egy membránnal mikroszűrtem. A megfelelő pórusméretű membránt a mikroszűrő berendezés egyik rozsdamentes acél membránházba, vízszintesen szereltem be. A kísérleteknél használt spiráltekerceselt mikroszűrő (MF) membrán modulok adatait a **3. táblázatban** ismertetem.

3. táblázat: Mikroszűrő membrán modulok jellemzői

Membrán modul	Alfa Laval MFP2	Alfa Laval MFP5
Névleges pórusméret	0,2 μm	0,5 μm
Membrán modul azonosító jele:	6338/48 P 174516	6338/48 P 114046
Névleges szűrőfelület:	15,4 m^2	
Spacer vastagság:	48 mil	
Membrán anyaga	Polipropilén, fluoropolimer	
Max betáp nyomás	0,3 – 2,5 bar	
Max hőmérséklet:	65 °C	
pH tartomány (termékkel):	1-11	
pH tartomány (tisztításnál):	1-11,5	
Hosszúság:	965 mm	
Átmérő:	160,0–162,0 mm	

A diafiltrációs víz előállításához FILMTEC 3840/30FF típusú membránnal előállított RO vizet alkalmaztam.

3.4.1 Membránok tisztítása

A kísérleteket követően a membránokat minden esetben egy három fázisú eljárás szerint tisztítottam:

Az első fázisban vezetékes ivóvízhez 11-12 pH-érték eléréséig 40%-os töménységű NaOH-t és 50 gramm etilén-diamin-tetraecetsavat (EDTA)

adagoltam. Az elkészített mosóvizet 30 percig cirkuláltattuk a berendezésben, majd a berendezést vezetékes ivóvízzel öblítettük 7 pH-érték eléréséig.

A második fázisban vezetékes ivóvízhez 2-3 pH-érték eléréséig 65%-os töménységű salétromsavat (HNO_3) adtam. Az elkészített mosóvizet – időszakos pH érték figyeléssel szükség szerint salétromsavval történő pH állítás mellett – 45 percig cirkuláltattam, majd vezetékes ivóvízzel öblítettem 7 pH-érték eléréséig.

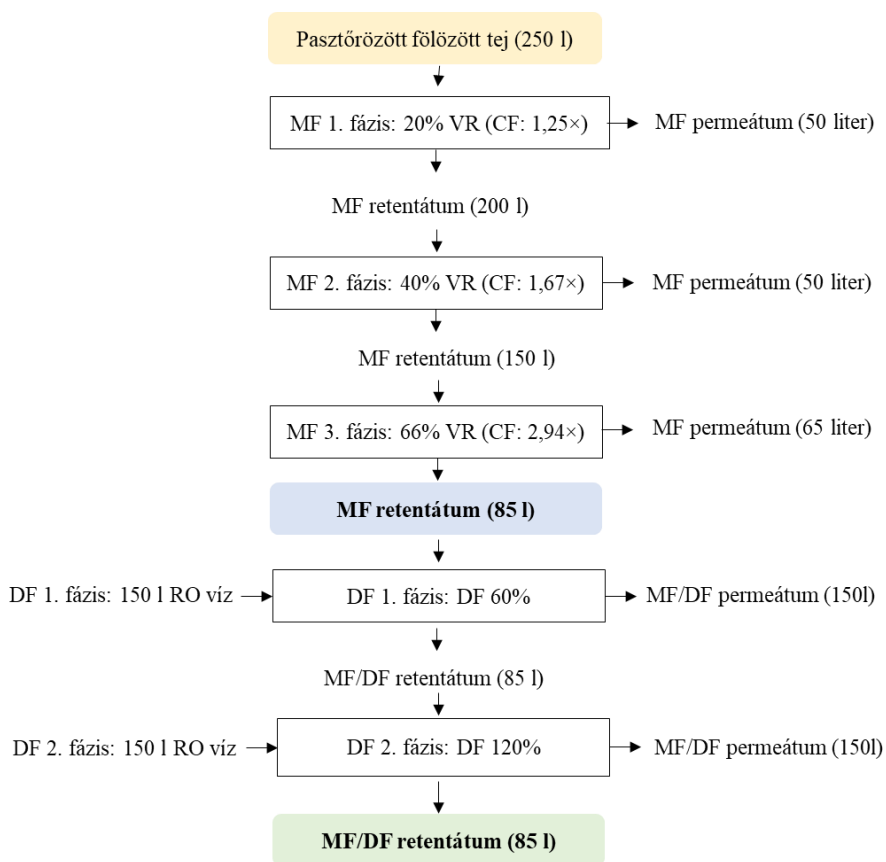
A harmadik fázisban vezetékes ivóvízhez 11-12 pH értékig 40%-os töménységű NaOH-t, valamint nátrium-hipokloritot (NaClO) adagoltunk. A nátrium-hipoklorit adagolás mértékének (aktív klórtartalom mérték) meghatározásához titrálós jodometriás mérést alkalmaztunk. A mosás során aktív klórtartalom célkoncentrációja 180-200 ppm. Az így elkészített mosóvizet 30 percig cirkuláltattam, majd a berendezést vezetékes ivóvízzel öblítettem a 7 pH-érték eléréséig.

3.5 Mikroszűrés (MF) és diafiltrációs (DF) folyamat leírása

A mikroszűrést és diaszűrést szakaszos (batch) üzemben végeztük. Első lépésben a tejet előzetesen egy 500 literes duplafalú sajtakádban az adott szűrési hőmérsékletre melegítettük fel. A mikroszűrés során 300 liter, az adott szűrési kísérletnek megfelelő hőmérsékletű tejet 25 literes kannákból több részletben az MF berendezés előtétartályába öntöttük. A tápszivattyút beindítottuk, majd a mikroszűrő berendezés holtterében lévő vizet (kb. 50 liter) tejjel nyomattam ki. A rendszerben lévő víz teljes kinyomatásáról minden esetben a koncentrátum és permeátum oldalon távozó folyadék refrakciós indexének mérésével bizonyosodtam meg. Amikor a permeátum oldalon a refrakciós index értéke 5 felett volt,

bekapcsoltuk a recirkulációs szivattyút, melynek segítségével a szűrések során a retentátumot mindvégig visszavezettük az előtétartályba a kívánt, 66% volumenredukció eléréséig. Eközben a permeátumot pedig egy permeátum kivezető csövön keresztül 25 literes kannákban gyűjtöttük a szűrés végezetéig.

A 66%-os volumenredukció elérése után (165 liter permeátum elvétel), a tejsre vonatkoztatott 120%-os diafiltrációt alkalmaztunk, amelyet két fázisban hajtottunk végre. A diafiltráció első fázisában 150 liter RO vizet öntöttünk a mikroszűrő berendezés előtétartályába, amely 60% diafiltrációnak felel meg. A felöntött diafiltrációs víznek megfelelő mennyiség (150 liter permeátum) elvétele után újra megismételtük ezt a folyamatot, a diafiltráció második fázisában újból felöntöttünk 150 liter RO vizet, majd elvettünk 150 liter permeátumot. A diafiltráció végére összesen 85 liter retentátum 165 liter MF permeátum és 300 liter MF/DF permeátum keletkezett. A kísérletek részletes folyamatábrája az **9. ábrán** látható:



9. ábra Mikroszűrés és diaszűrés folyamatábrája

A mikroszűrés és diafiltráció során összesen öt alkalommal vettem mintákat, 20%, 40% 66%-os volumenredukció érték elérésekor valamint a diafiltráció során a DF 60% és a DF 120% fázisban. Mintavételezéskor mind a permeátumból, mind a retentátumból, fázismintákat vettem 100 mL-es steril mintagyűjtő edényekbe. A levett mintákat azonnal hűtőkamrába raktam, és hűtve tároltam a további elemzésig. A mintavételi pontokon a szűrés aktuális paramétereit (szűrés hőmérséklet, a belépő- és kilépő nyomás), valamint a levett retentátum és permeátum fázisminták

Brix-fokát (kézi refraktométerrel mérve) a kísérletek során vezetett üzemnaplóba jegyeztem fel. A mintavételi pontok listáját és a minták megnevezését és zárójelben a minták rövidítéseit a 6. táblázatban ismertetem.

4. táblázat A mikroszűrés során levett fázisminták listája

Minta sorszáma	Minta megnevezése
1.	Fölözött tej
2.	MF retentátum (MFcc VR 20%)
3.	MF permeátum (MF perm VR 20%)
4.	MF retentátum (MFcc VR 40%)
5.	MF permeátum (MFperm VR 40%)
6.	MF retentátum (MFcc VR 66%)
7.	MF permeátum (MFperm VR 66%)
8.	MF átlag permeátum (VR 0-66%)
9.	MF/DF retentátum (MF/DFcc VR 66% DF 60%)
10.	MF permeátum (MF/DFperm VR 66% DF 60%)
11.	MF/DF retentátum MF/DFcc VR 66% DF 120%)
12.	MF permeátum (MF/DFperm VR 66% DF 120%)
13.	MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)

A **10. ábra** egy fölözött tej mikroszűrésvel előállított MF és MF/DF permeátum és retentátum fázismintáit szemlélteti.



10. ábra: MF retentátum (1, 2, 3) MF/DF retentátum (4, 5) és a permeátum fázisminták (6-10) 0,5 μm pórusméretű membránnal 15 °C-os szűrési hőmérsékleten mikroszűrve.

3.6 Fázisminták fehérjeprofilijának meghatározása

Az MF permeátumok esetében ugyanúgy jártam el, mint a tejminták esetében (2.2.6 alfejezet) Az MF retentátum minták, melyek fehérje tartalma magasabb, a koncentrációs faktor alapján becsült fehérje tartalom

függvényében nagy tisztaságú vízzel hígítottam, úgy, hogy az egyes fehérje frakcióknak megfelelő kalibrációs mérőgörbék lineáris tartományába essen.

5. táblázat: MF retentátum (MFcc) fázisminták hígítási sémája a HPLC elemzéshez

Minta	Becsült fehérjetartalom (g/100 g)	tej/MFcc	NT víz
Fölözött tej	3-4	800 µL	—
MFcc VR20%	4-5	400 µL	400 µL
MFcc VR40%	6-8	200 µL	600 µL
MFcc VR66%	8-11	200 µL	600 µL

Egyes fázisminták fizikai-kémiai paramétereit előzetes vizsgálati terv alapján az MTKI Kft. akkreditált (NAH-1-1013/2021) Élelmiszervizsgáló és Nyerstejminősítő Laboratóriumában határozták meg a **6. táblázatban** található szabványok, módszerek alapján. Az eredményeket a szűrési anyagmérleg felállításához használtam fel az egyes mikroszűrésekre vonatkozóan.

6. táblázat A fázisminták vizsgálata során alkalmazott szabványok/ módszerek

Vizsgált összetevő	Alkalmazott szabvány / módszer	Alsó mérési határ/tartomány
Száranyag-tartalom	MSZ 3744:1981 1. fejezet	0,1 g/100 g
Fehérje tartalom	MSZ EN ISO 8968-1:2014 9.2	0,038 g/100 g
Zsírtartalom	MSZ EN ISO 1211:2010	0,031 g/100 g
Hamutartalom	Methodenbuch Band VI. – 5. Erg. 2000 Milch und Milchprodukte C 10.2; VDLUFA-Verlag, Darmstadt, 2000	0,015 g/100 g
NPN-tartalom	MSZ EN ISO 8968-4:2016 10.2. eljárás	0,0025 g/100 g
Kazein fehérje tartalom	Methodenbuch Band VI	0,031g/100 g
Savófehérje tartalom		
Titrlható savasság	MSZ 3707:2017 3.2. fejezet	0,2 °SH
pH-érték	MSZ 3707:2017 4. fejezet	4,0 - 7,0

3.7 Fehérjefrakciók aktuális permeáció értékének meghatározása

Mint azt fentebb már említettem, a 12 mikroszűrési kísérletet 12 eltérő összetételű elegytejfel végeztem. Annak érdekében, hogy az eltérő fehérjeprofillal rendelkező tejek felhasználásával végzett mikroszűrések összehasonlíthatóak legyenek, a vizsgált pontokon aktuális permeáció értékeket határoztam meg a következő összefüggés alapján:

$$P(\%) = \frac{c_1}{c_2} \times 100 \quad (6)$$

Ahol,

P: permeáció (%)

c1: a vizsgált komponens koncentrációja (mg/100 g) a permeátumban.

c2: a vizsgált komponens koncentrációja (mg/100 g) a retentátumban

3.8 Alkalmazott statisztikai módszerek

HPLC módszer teljesítményjellemzőinek statisztikai értékeléséhez a Microsoft Office Excel program Analysis Toolpak bővítményét (Microsoft Corporation, USA) használtam. A mikroszűrési kísérleteket IBM® SPSS® v25 statisztikai szoftver alkalmazásával kéttényezős varianciaelemzést (ANOVA) és Tukey-féle HSD post-hoc tesztet, végeztem a minták átlagértékeinek összehasonlításának céljából $p \leq 0,05$ szignifikancia szinten.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A kutatásom során kapott eredményeket két külön alfejezetben ismertetem. A 4.1 fejezetben az optimált RP-HPLC módszert, valamint annak teljesítményjellemzőit tárgyalom, míg a 4.2 fejezetben a mikroszűrési kísérletek eredményeit ismertetem.

4.1 Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) módszerfejlesztés

4.1.1 A fő tejfehérje frakciók folyadékkromatográfiás elválasztása

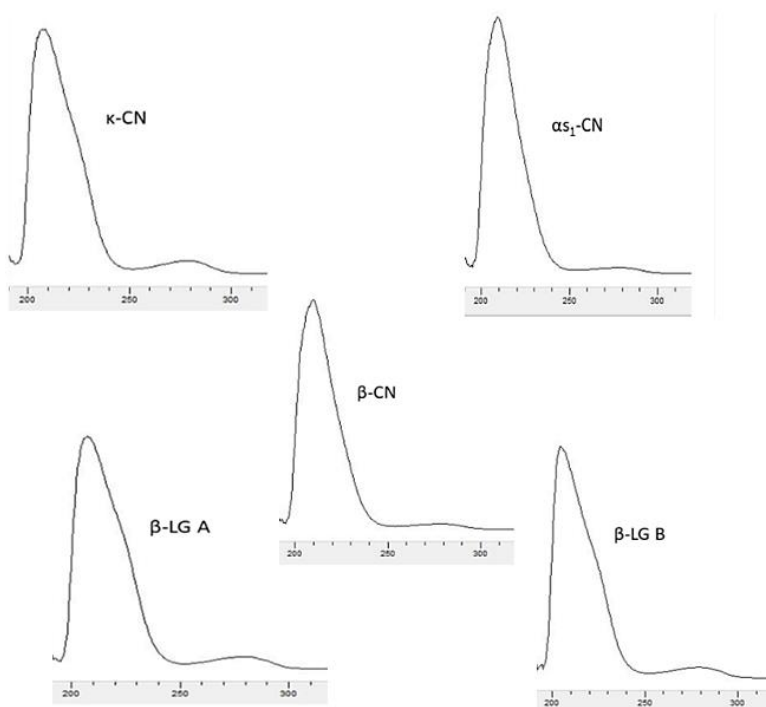
A tejfehérjék kvalitatív és kvantitatív meghatározására egy fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (RP-HPLC) eljárást dolgoztam ki. A kromatográfiás elválasztáshoz állófázisként egy C4-es és egy C18-as kolonnát is teszteltem, azonban kazein frakciók esetében a C4-es állófázis alkalmazásával csúcsalak torzulást tapasztaltam. A C18-as 250 mm hosszúságú, 4,6 mm átmérőjű és 3,6 μm átlagos átmérőjű héjszerkezetű szemcsékkel töltött Phenomenex Aeris WIDEPORÉ (Aeris Widedpore) oszlop alkalmazásával értem el megfelelő csúcsalakokat minden frakció esetében, ezért a továbbiakban részletesen ezeket az eredményeket ismertetem.

A HPLC módszer fejlesztése során figyelembe kellett vennem, hogy az egyes tejfehérje frakciók eltérő hidrofobicitással rendelkeznek, valamint savas és bázikus csoportot egyaránt tartalmazó vegyületek. Ebből adódóan egyediejük elválasztásuk izokratikus módban nem lehetséges, ezért a mérések elvégzésénél gradiens elúciót alkalmaztam. Továbbá szem előtt

kellett tartanom, hogy a tejfehérje frakciók elválasztása során a pH-érték kritikus, ezért pH-kontroll alkalmazása elengedhetetlen.

A tejfehérje vizsgálatok esetében a mozgófázis legtöbb esetben víz és acetónitril különböző arányú elegye, amely ionpárhépző ágenst, legtöbbször TFA-t, vagy hangyasavat tartalmaz kismennyiségben (0,1-1,5%) a megfelelő csúcsalak és retenció érdekében. A TFA egy részlegesen ionizálódó erős sav, így a pH-érték alacsonyan tartásával biztosítani tudja a savas-, és ionpárhépző tulajdonsága miatt a bázikus tulajdonságú komponensek megfelelő retencióját az oszlopon. A fenti ismeretek tudatában számos acetónitril, vizet és TFA különböző koncentráció arányú kombinációját, mint gardiens elúciós programot vizsgáltam. Végül mozgófázisként a nagy tisztaságú víz: trifluorecetsav 900:100:1 v/v% (A-eluens) és nagy tisztaságú víz: acetónitril: TFA 100:900:1 (B-eluens) arányú keveréke bizonyult optimálisnak. A legjobb elválasztást és csúcsalakokat a következő gradiensprogram során értem el. Az A-eluens rész arányát 70,9%-ról csökkentettem 54,0%-ra 20 perc alatt, majd a kezdeti gradiens szakaszt visszaállítottam és ekvilibráltam a kolonnát 0,5 percen keresztül. Az eluens áramlási sebességének hatását vizsgálva (0,5 mL - 1,2 mL/min) úgy találtam, hogy 0,5 - 0,9 mL/perc tartományban nem megfelelő csúcsalakokat eredményezett, azonban 0,9 - 1,1 mL/perc tartományban az eluens áramlási sebessége jelentősen nem befolyásolja az elválasztást. A mérések során az oszlopra injektált mintamennyiség hatását vizsgálva (10 μ L - 50 μ L) azonban megállapítottam, hogy a több csúcsban eluálódó fehérjefrakciók esetében a túl alacsony vagy a túl magas injektálási térfogat csúcsalak torzulást eredményezett. A mozgófázis lineáris áramlási sebességét a fentiek fényében 1,1 mL/percnek, a minta injektálás térfogatnak pedig 20 μ L-nek

választottam, 40 °C-os kolonnatér és 10 °C automata mintaadagoló tér hőmérséklet beállítás mellett. Az oszlopról eluálódó vegyületek detektálását az optimalizálás alatt több hullámhosszon is rögzítettem, (208 nm, 214 nm, 225 nm) azonban kompromisszumos megoldásként detektálásnak a 214 nm-es hullámhosszt választottam, mivel itt mind a kezein-, mind a savófehérje frakciók jelentős elnyeléssel bírnak. A vizsgált fehérje frakciók UV-spektrumát a **11. ábra** mutatja be.

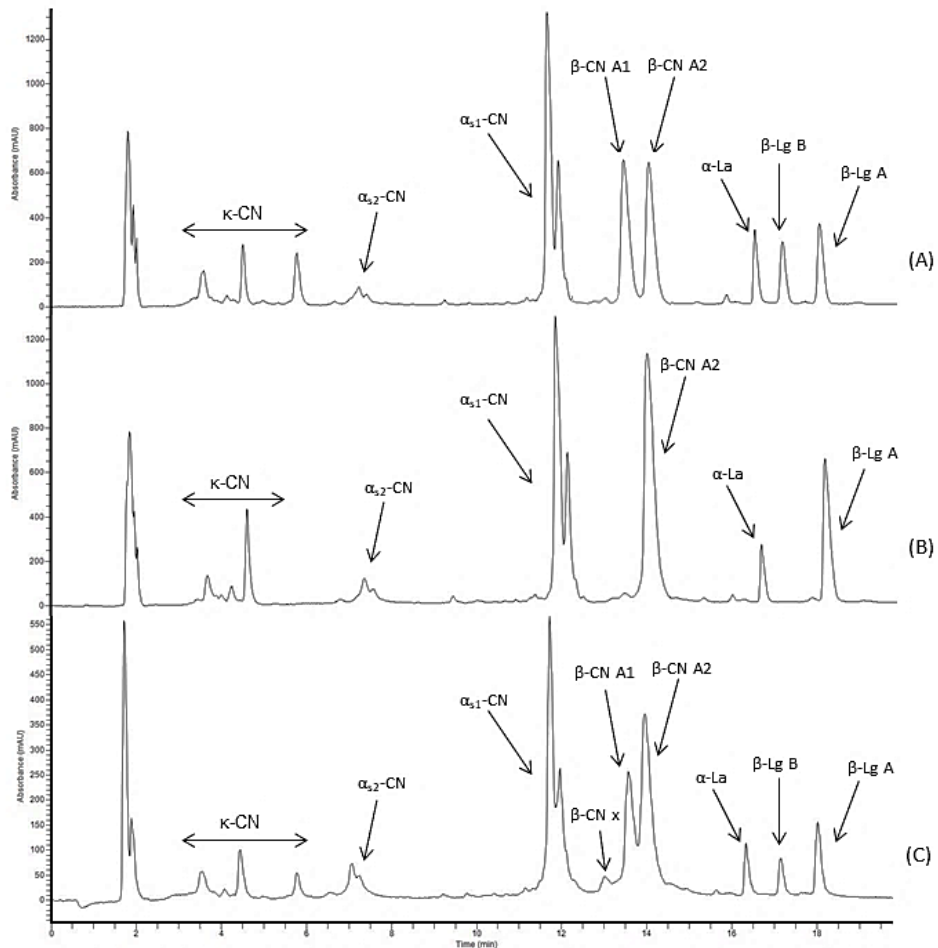


11. ábra: A vizsgált tejfehérje frakciók UV-spektruma, amelyet az egyes csúcsokból háttérkorrekcióval nyertem ki. A vizsgált fehérje frakciók UV-spektruma (diódasoros detektorral felszerelt Perkin Elmer HPLC készülékkel mérve)

Az oszlopról eluálódó fehérje frakciók azonosítását tisztított fehérjefrakció standardok lefuttatásával, a fő csúcsok retenciós idejének összehasonlításával végeztem el. Az elsőként eluálódott csúcsok 3,79 - 6,15 perc retenciós idővel detektálható κ -CN-t képviselik, amelyek több fő- és mellékcsúcsban is megjelennek. A főcsúcs $4,76 \pm 0,01$ perc retenciós idővel jelent meg. Az egyedi tejminták elemzésekor kétféle κ -CN típust figyeltem meg (**12. ábra** A és B jelű kromatogram). A κ -CN genetikai variánsainak azonosítása standard hiányában nem volt lehetséges. Korábbi tanulmányok alapján (Visser et al., 1991; Groen et al., 2004; Bordin et al., 2001) beazonosítható, hogy ezek a csúcsok a κ -CN A és κ -CN B genetikai variánsainak különböző mértékű glikozilált és glikozilálatlan formáinak felelnek meg. A κ -CN után az α 2-CN-t teljesen sikerült elválasztani $7,57 \pm 0,01$ perc retenciós idővel a κ -CN-től, amelyet az α 1-CN követett a $12,35 \pm 0,01$ perc retenciós idővel. Az α 1-CN minden esetben egy jellegzetes kettős csúcsban jelent meg. A csúcs jobb oldalán lévő kisebb csúcs (váll) az α 1-CN eltérő foszforiláltsági fokát jelzi (van Hekken et al., 1990; Bobe et al., 1998; Bordin et al., 2001). A kazeinek közül utolsóként a leghidrofóbabb β -CN eluálódott az oszlopról. Egyedi tejminták esetében β -CN egy vagy két csúcsban eluálódik, attól függően, hogy az adott egyed a β -CN-re homozigóta vagy β -CN heterozigóta. Homozigóta szarvasmarha egyedek esetében a β -CN egy csúcsban, míg heterozigóta egyedek esetén két egymás melletti csúcsban eluálódik. Elegytej mintákban retenciós idő alapján három fajta β -CN figyeltem meg, amely a β -CN három genetikai variánsát jelzi. A három megfigyelt β -CN allél retenciós ideje elúciós sorrendben a következő volt: β -CN ismeretlen variáns: $13,32 \pm 0,03$; β -CN A1: $13,79 \pm 0,04$; β -CN A2: $14,15 \pm 0,08$ perc. A β -CN A1 és A2 variánsok azonosítását genotipizált, igazolt β -CN A1 és β -

CN A2 státuszú Holstein-fríz szarvasmarhától származó egyedi tejminták retenciós ideje alapján azonosítottam.

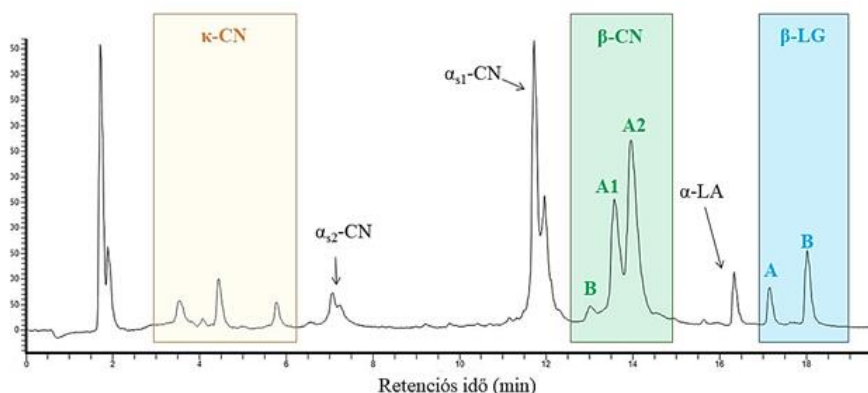
A kazeinek után a három fő savófehérjefrakció három egyedi csúcsban, egymástól teljesen elkülönülve eluálodott az oszlopról. Elsőként az α -LA, $16,96 \pm 0,01$ perc, ezt követve a β -LGA genetikai variánsa, $17,56 \pm 0,01$ perc majd a β -LGB variánsa $18,41 \pm 0,05$ perc retenciós idővel. A teljes elemzési idő 20 perc volt. A tejben található fő fehérje frakciók és az igazolt genetikai variánsokat ábrázoló kromatogram a **13. ábrán** látható.



12. ábra: Különböző tehéntől származó egyedi nyerstej (A, B) és

elegytej (C) fehérjeprofíljára Perkin Elmer RP-HPLC-DAD készüléssel, 214 nm hullámhosszon mérve.

A legkisebb arányban előforduló β -CN variánst (β -CN x) (12. ábra C jelű kromatogram) irodalmi adatok és (Givens et al., 2013; Dumpler, 2017) allélspecifikus polimeráz láncreakció (AS-PCR) módszerrel β -CN-B variánsként azonosítottam Mayer et al. (2021) módszere alapján.



13. ábra Elegytej fehérjeprofíljára és a fő fehérjefrakciók igazolt genetikai variánsai. Perkin Elmer RP-HPLC-DAD készüléssel, 214 nm hullámhosszon mérve.

Az optimált HPLC módszer alkalmas a fő fehérjefrakciók egyidejű, hatékony és gyors elválasztására, mindössze 20 perces elemzési idő alatt. Korábbi munkákhoz képest, amelyek a tejfehérje frakciók egyidejű elemzéséről számoltak be, jelentős elemzési idő csökkenést jelent. Bobe et al., (1998) 52 perc, Bordin et al. (2001) 56 perc, Bonfatti et al., (2008), 40 perc és Ma et al. (2017) 30 perc elemzési időről számoltak be.

4.1.2 A módszer teljesítményjellemzői

4.1.2.1 Szelektivitás, specifitás

A specifitás, szelektivitás vizsgálat során az egyes fehérjefrakciók elválásztásának hatékonyságát vizsgáltam. Az A eluenst injektálva, illetve vak minta (mintapuffer) injektálásakor a kromatogramon nem jelent meg az egyes fehérjék detektálását zavaró, idegen csúcs. A kromatogramokon (**12. ábra** és **13. ábra**) jól látható, hogy a megjelenő ACN oldószeres csúcs nem befolyásolta az elsőként eluálódó κ -CN elucióját, amely teljesen elvált az oldószeres csúcstól. A csúcs tisztaság vizsgálat eredményei az egyes fehérjefrakciókra a minden esetben 1,03 és 1,28 között volt. A HPLC készüléket vezérlő és adatok kiértékelésére alkalmazott Chromera szoftverben az 1,00 és 1,50 közötti értékű csúcs tiszta spektrumnak tekinthető. Az eredményekből kitűnik, hogy az optmiált módszer specifikus és szelektív.

4.1.2.2 Linearitás, torzítatlanság, pontosság

Az egyes fehérjefrakciókra hat pontban felvett kalibrációs görbék egyenleteit, a regresszió analízissel meghatározott determinációs együtthatóit (R^2), a módszer pontosságát a vizsgált tartományban a **7. táblázatban** ismertetem. A determinációs együtthatók értékeit (0,992-0,999) és a reziduumok véletlenszerű eloszlását tekintve és az egyes frakciókra becsült átlagos visszanyerés ($R\%$) értékek $99,93 \pm 2,00$ - $100,97 \pm 2,23\%$ közöttinek adódtak. Az értékek mind a módszer linearitását mind a pontosságát bizonyítják a vizsgált tartományon belül.

7. táblázat Az egyes fehérjefrakciók kalibrációs mérőgörbéinek egyenletei, determinációs együtthatói, és a vizsgált tartományon belül az átlagos visszanyerés (R%)

Fehérjefrakció	Merekség	Metszet	R ²	Pontosság Visszanyerés (R%)	Tartomány (mg/100 g)
κ-CN	10489,24	-691435,18	0,992	100,03±3,08	61,13-978,18
αS-CN	14587,54	74388,34	0,997	100,97±2,23	54,65-2190,3
β-CN	13210,43	-1760067,29	0,997	99,93±2,00	96,87-1549,97
α-LA	11683,82	-11375,64	0,998	100,56±2,79	10,98-351,22
β-LGB	1345,06	-221713,43	0,999	100,06±0,79	12,17-768,44
β-LGA	1246,60	-13664,10	0,999	99,68±1,45	11,53-737,78

4.1.2.3 Precizitás (ismételhetőség, reprodukálhatóság)

Az egyes frakciók retenciós idejének ismételtetősége 0,29% míg csúcsterületek ismételtetősége RSD értékei 3,16% alatt voltak. A reprodukálhatóság vizsgálat esetében ezek az értékek valamivel magasabbnak, 0,47% és 6,70 % közötti értékek voltak.

8. táblázat Az RP-HPLC módszer ismételtetősége és reprodukálhatósága

Protein	Ismételhetőség		Reprodukálhatóság		n
	t _r RSD%	Csúcsterület RSD%	t _r RSD%	Csúcsterület RSD%	
κ-CN	0,29	1,46	0,47	5,07	10
αS ₁ -CN	0,20	3,16	0,26	3,65	10
αS ₂ -CN	0,10	1,43	0,47	6,70	10
β-CN A1	0,11	2,23	0,22	5,03	9
β-CN A2	-	-	0,19	3,65	7
α-LA	0,08	2,10	0,22	5,52	10
β-LGB	0,08	1,80	0,16	3,31	7
B-Lg A	-	-	0,13	3,29	5

A kazeinfrakciók ismételtetősége, reprodukálhatóságára kapott értékek összhangban állnak a korábban publikált adatokkal, azonban a savófehérjék esetében alacsonyabb értékeket kaptam csúcsterületek ismételtetősége és reprodukálhatóságára. Bordin et al., (2001) a savófehérjék ismételtetősége és reprodukálhatóságára: 1,9-5,1%, valamint 4,7-9,8% közötti RSD értékeket kapott, míg Bonfatti et al., (2008) a savófehérjék reprodukálhatóságára 4,52-6,24 közötti értékekről számolt be.

4.1.2.4 Kimutatási határ (LOD), Meghatározási határ (LOQ)

Az LOD értékek a kazein frakciók esetében 14,68 – 23,59 mg/100 g közötti értéket vettek fel, míg a savófehérjék esetében ennél kisebb értékeket becsültem meg 4,27–16,33 mg/100 g. Az LOQ értékek a kazeinek esetében 44,79–71,49 mg/100 g, a savófehérjék esetében 4,27–16,33 mg/100 g közöttinek adódtak. Az egyes fehérje frakciók LOD és LOQ értékeit a **9. táblázatban** tüntetem fel.

9. táblázat Az egyes kazein- és savófehérje frakciók LOD és LOQ értékei

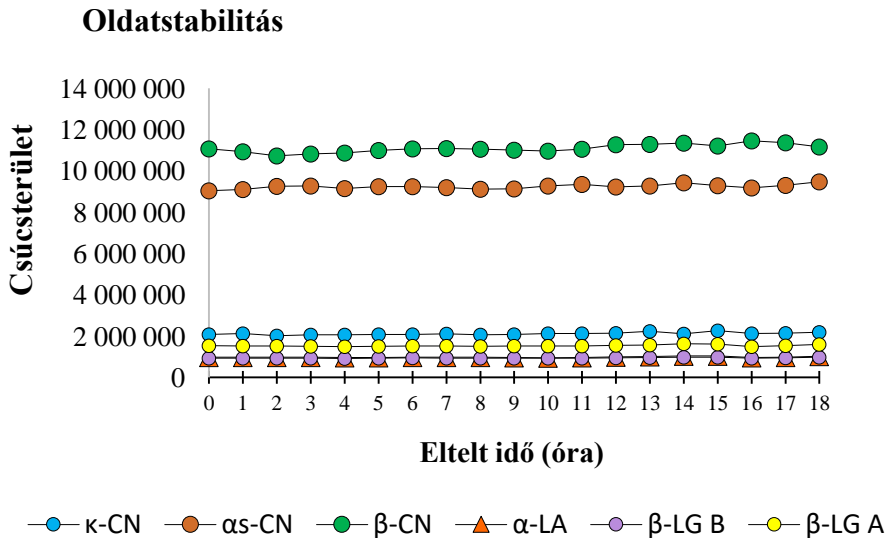
Fehérje	LOD (mg/100 g)	LOQ (mg/100 g)
κ -CN	14,68	44,48
α S-CN	20,21	61,26
β -CN	23,59	71,49
α -LA	3,58	5,57
β -LGB	5,07	15,37
β -LGA	5,39	16,33

4.1.2.5 Oldatstabilitás vizsgálat

A 18 órás oldatstabilitási vizsgálat során a területekből számolt RSD% értékek minden fehérjefrakció esetében 2,95 RSD% érték alatt voltak, az egyes frakciók esetében rendre 2,95%, 1,17%, 1,76%, 2,86%, 2,07%, 2,61% volt. Az eredmények alapján a vizsgálati oldatot stabilnak találtam 18 órás elemzés során.

Groen et al., (1994) arról számolt be, hogy a stabilitásvizsgálat során a savófehérjék területe csökkent, a β -CN területe pedig nőtt az injektálást követő első 8 órában. Ez részben az eltérő mintaelőkészítési protokollra

vezethető vissza, ugyanis a mintaelőkészítés során Guanidin-hidroklorid helyett 0,1 mól karbamidot alkalmazott a mintapufferben.



14. ábra A fehérjefrakciók csúcsterülete 18 órás stabilitás vizsgálat során

Annak érdekében, hogy bizonyítsam az kidolgozott módszer jóságát a teljesítményjellemzők vizsgálatát követően 45 darab nyers- és hőkezelt tejek fehérjeprofiliját is meghatároztam az optimált HPLC módszerrel. Az általam meghatározott átlagos koncentrációkat az egyes fehérjefrakciókra összevettem az adott fehérjefrakció irodalmi adataival (**10. táblázat**). Az egyes fehérjefrakciók koncentrációja, mind a nyerstej, mind a hőkezelt tejek esetén összhangban álltak Farrell et al. (2004) által publikált adatokkal.

10. táblázat Nyers- és hőkezelt tejek átlagos fehérjeprofíljaja

Fehérje	Nyerstej (n =20)	ESL tej (n =20)	Pasztörözött tej (n=5)	Irodalmi adat
g/L				
κ -CN	4,25±0,84	3,39±1,39	4,15±0,39	2-4
α S ₁ -CN	14,19±0,7	9,47±1,85	10,26±1,9	11-15
α S ₂ -CN	2,43±0,87	3,76±1,38	3,47±0,85	3-4
β -CN	10,88±1,5	8,40±2,55	10,39±1,2	9-11
α -LA	0,83±0,09	0,75±0,30	1,14±0,22	0,6-1,7
β -LG A	2,96±0,89	1,53±0,68	1,38±0,19	2-4
β -LG B	1,87±0,69	0,99±0,62	1,90±0,30	

A kidolgozott RP-HPLC módszer megfelelőségét a tejfehérjék elválasztására és mennyiségi meghatározására a vizsgált analitikai teljesítményjellemzők megfelelőségével igazoltam.

4.2 Mikroszűrési kísérletek

Doktori munkám második felében mikroszűrési kísérleteket végeztem.

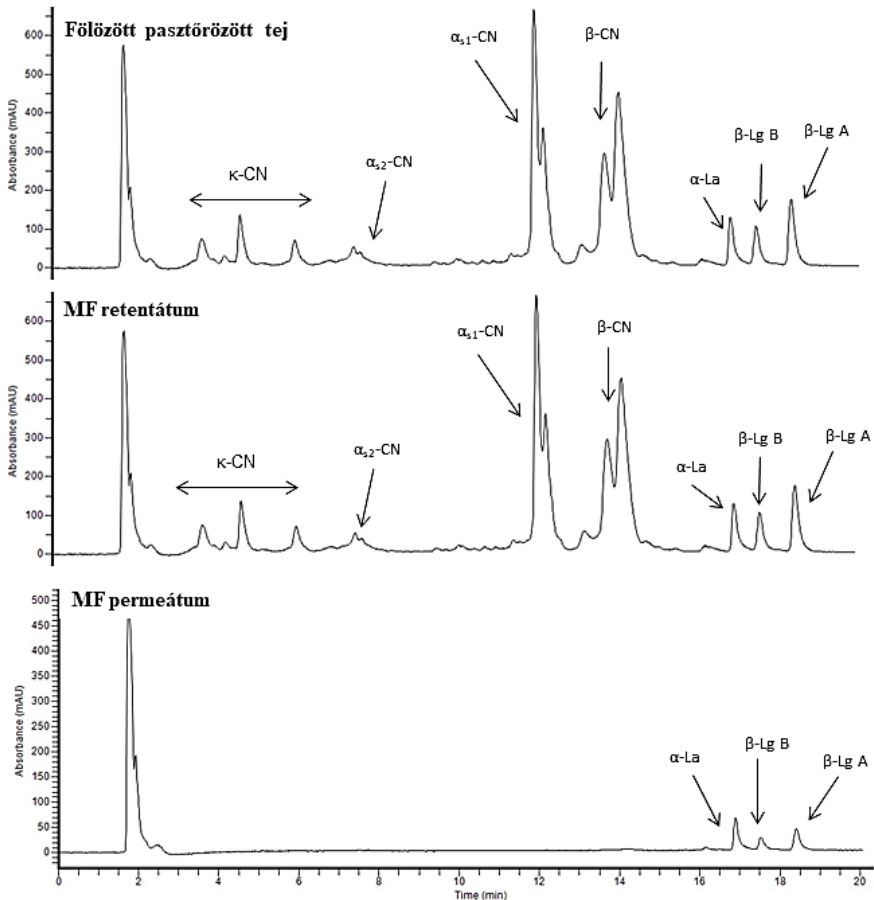
A mikroszűrés folyamán a szűrés különböző volumenredukciós és diafiltrációs fázisaiban retentátum- és permeátum fázismintákat vettem, hogy meghatározzam az általam optimált és validált RP-HPLC-DAD módszer segítségével, hogy a fenti két paraméter (hőmérséklet, pórusméret) miként befolyásolja az egyes fehérje frakciók retencióját/permeációját, ezáltal az előállított mikroszűrt permeátum- és retentátum minták fehérjeprofilióját.

A kísérleteket 0,2 μm és 0,5 μm pórusátmérőjű spiráltekercselt polimer membránok alkalmazásával, 15 °C és 45 °C szűrési hőmérsékleten végeztem. A szűrések során az ipari gyakorlatnak megfelelően tejszeleves vonatkoztatott 66% volumen redukciót, 120%-os diafiltrációt, továbbá 1,8 bar belépő nyomást és 1,0 bar kilépő nyomást (ΔTMP 0,8 bar) alkalmaztunk.

4.2.1 MF permeátum és retentátum minták fehérjeprofiliójának meghatározása RP-HPLC módszerrel

A mikroszűrések során vett fázisminták fehérjeprofilióját az optimált RP-HPLC határoztam meg. A **15. ábrán**, egy fölözött pasztörözött tej, egy négyszeresen hígított MF retentátum és egy MF permeátum jellegzetes kromatogramja látható. A **15. ábrán** jól látható, hogy a permeátumban az összes kazeinfrakció ($\kappa\text{-CN}$, $\alpha\text{S1-CN}$, $\alpha\text{S2-CN}$, $\beta\text{-CN}$) a kimutatási határ alatt volt. A 12 mikroszűrés során vett fázisminták fehérjeprofiliójának vizsgálata során a permeátum mintákban sem a hideg, sem a meleg szűrési

hőmérsékleten nem mutattam ki kazein frakciót, azok minden esetben az adott frakcióra meghatározott LOD érték alatt voltak (3-14 számú melléklet). Hagyományos kémiai módszerrel (Kjeldahl-módszer) mérve azonban a permeátum minták néhány esetben tartalmaztak CN-frakciót, átlagosan 4-18 mg/100 g koncentrációban (15-26 számú melléklet).



15 ábra: Tipikus főlözött tej, MF retentátum (4x hígítás), és MF permeátum RP-HPLC kromatogram

Más kutatók jelentős mennyiségű α_2 -CN frakciót jelentettek a mikroszűrt permeátum mintákban HPLC módszerrel mérve (Lawrence et al., 2008). Govindasamy-Lucey et al. (2008) β -CN frakció megjelenéséről számoltak

be hideg mikroszűréssel előállított permeátum minták SDS-PAGE módszerrel történő elemzése során.

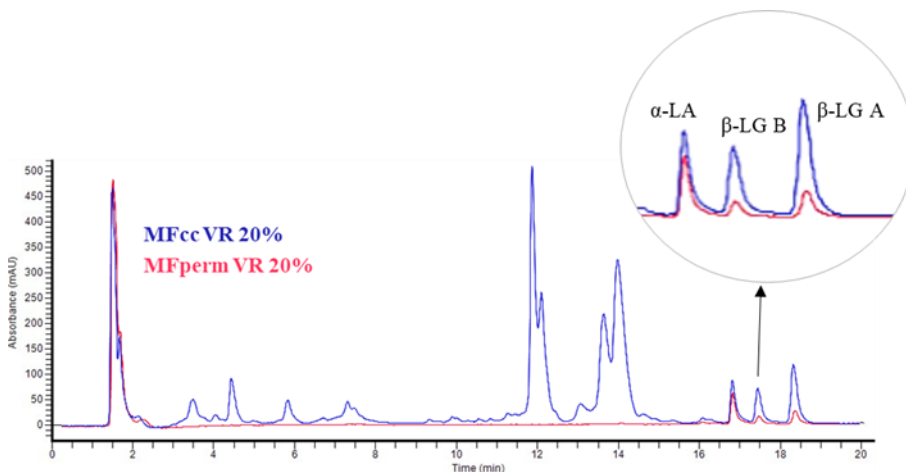
Salunke et al. (2021) 0,5 μm pórusméretű PVDF membránnal mikroszűrt pasztörözött (63 °C, 30 perc) fölözött tejet 23,3 °C-os szűrési hőmérsékleten. Az így előállított permeátumokban Kjeldhal-módszerrel 3 mg/100 g CN frakciót, a kapilláris gélelelektroforézissel - pedig 1,17 g/100 g β -CN-t mutattak ki. Továbbá arról számoltak be, kapilláris gélelelektroforézissel vizsgálva a retentátum mintákat az α -LA frakciót sikerült teljesen eltávolítani a retentátumból.

Hartinger et al. (2019) 0,1 μm PVDF membrán alkalmazásával mikroszűrt pasztörözött (74 °C, 28 s) sovány tejet 10 °C-os szűrési hőmérsékleten. A permeátum mintákat RP-HPLC módszerrel vizsgálva 5% kazein permeációról számoltak be, amely a permeátumban 14,5 mg/100 g koncentrációnak felelnek meg.

Subhir et al., (2022) eredményei összhangban állnak a saját kutatásom eredményeivel, ugyanis hasonló jelenségre lett figyelmes az MF és MF/DF permeátumok kazein tartalmát illetően a különböző fehérje-vizsgálati módszerek összehasonlításakor. A permeátum mintákban, optikai tisztasága alapján (részecskeméret-elemzés), SDS-PAGE módszerrel, valamint RP-HPLC módszerrel mérve nem detektált CN frakciót a permeátumokban. Ezzel szemben hagyományos kémiai módszerrel, Kjeldahl módszerrel történő CN-meghatározás során a permeátumokban csapadék képződött 4,6-os pH érték mellett, amely felhetőleg nem CN frakció, hanem denaturált savófehérje frakció volt, amely kicsapódott.

Saját kutatásomban a három vizsgált savófehérje frakció mindegyike (α -LA, β -LG A, β -LG B) RP-HPLC módszerrel kimutatható volt a szűrés első fázisától kezdve (VR 20%) minden permeátum fázismintában (**16. ábra**)

és az minden esetben az egyes fehérje frakciókra vonatkozó LOQ érték felett volt (3-14 számú melléklet).



16. ábra MFcc VR 20% fázisminta (2x hígítás) és a hozzá tartozó MF permeátum MFperm VR 20% RP-HPLC kromatogramja.

Mivel a permeátumokban minden esetben számszerűsíthető eredményt kaptam az egyes fehérjefrakciók koncentrációjára vonatkozóan, az anyag és módszer fejezetben ismertetett módon (6. egyenlet) az egyes mintavételi ponton meghatároztam a három savófehérje frakció permeációját a mikroszűrési alatt, amelyeket a következő fejezetben ismertetek.

4.2.2 Mikroszűrési paraméterek hatása az α -laktalbumin fehérje frakció permeációjára

Az α -LA leglacsonyabb visszatartását, vagyis a legnagyobb α -LA permeációt, a vizsgált mikroszűrési paraméterek közül a 0,5 μm pórusméretű membrán esetében a 45 °C szűrési hőmérséklet alkalmazásával figyeltem meg (**17. ábra**). A szűrés alatt az egyes volumen redukciós és diafiltrációs fázisokban az α -LA permeációja $29,2 \pm 6,1\%$ és

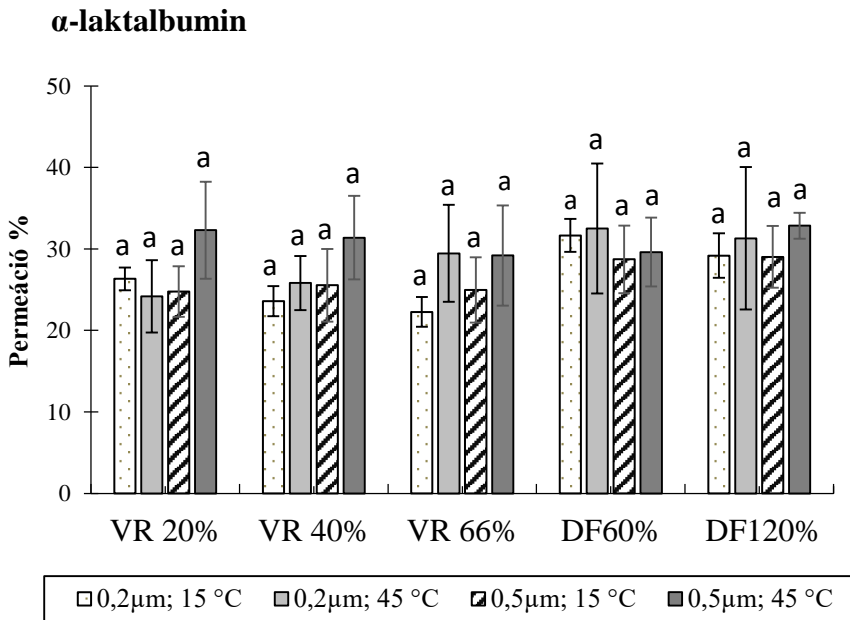
32,8±16% közötti érték volt, a szűrés alatti 31,1±1,9% átlagos permeációval **(11. táblázat)**.

A 0,2 µm pórusméretű membrán alkalmazásával 45 °C szűrési hőmérsékleten valamivel alacsonyabb permeáció értékeket figyeltem meg, az α-LA permeációja 24,2±4,4% és 32,5±8% közötti érték volt az egyes VR és DF fázisokban. Az átlagos α-LA permeáció a szűrés alatt 28,7±2,6% volt **(11. táblázat)**.

15 °C szűrési hőmérsékleten kisebb α-LA permeációs értékeket figyeltem meg, mint meleg szűrési hőmérsékleten.

A 0,5 µm pórusméretű membrán alkalmazásával a fenti értékek rendre 24,8±3,1% és 29,0±3,8%. míg a 0,2 µm pórusméretű membrán alkalmazásával 22,3±1,8% és 31,7±2,0 közöttinek adódtak az egyes VR és DF fázisokban. Meglepő módon a 15 °C-os szűrési hőmérsékleten a 0,2 µm pórusméretű és a 0,5 µm pórusméretű membrán alkalmazásával azonos átlagos α-LA permeációt figyeltem meg, 26,6±1,2% és 26,6±1,2%-ot **(11. táblázat)**.

A hideg és meleg szűrési hőmérsékleten megfigyelt α-LA permeáció értékek közötti különbségek, azonban nem szignifikánsak ($p \leq 0,05$). Az eredmények alapján elmondható, hogy az α-LA frakció permeációját, tehát sem a pórusméret, sem a szűrési hőmérséklet nem befolyásolta szignifikánsan ($p < 0,05$) a mikroszűrés során, sem a mikroszűrés VR sem a DF fázisa alatt.



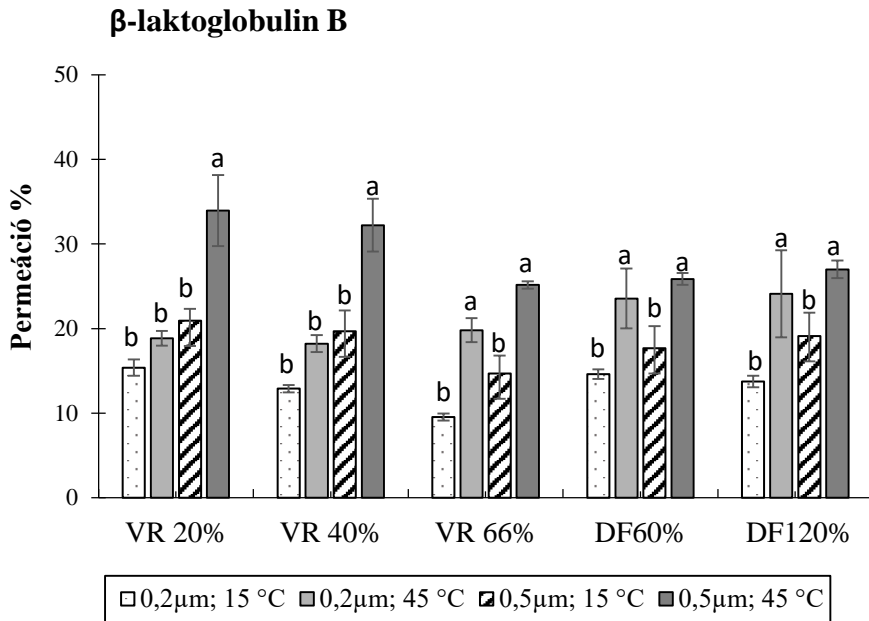
17 ábra: Az α -LA frakció permeáció értékek átlaga ($n=3$) az egyes mintavételi pontokon., a hibasávok standard hibáit jelölik. A különböző betűk szignifikáns különbségeket jelölnek ($p \leq 0,05$)

4.2.3 Mikroszűrési paraméterek hatása β -laktoglobulin B frakció permeációjára

A β -LG B frakció esetében a legmasabb permeációt, csak úgy, mint az α -LA frakció esetében a 0,5 μm pórusméretű membránnal 45 °C szűrési hőmérséklet alkalmazásával értem el $34,0 \pm 4,2\%$ - $25,9 \pm 0,7\%$ permeáció értékekkel, a szűrés alatti $28,8 \pm 1,3\%$ átlagos permeációval. A β -LG B frakció permeációjában hideg és meleg szűrési hőmérsékleten végzett mikroszűrések során a β -LG B permeációjára vonatkozó értékek között szignifikáns különbségeket figyeltem meg (**18. ábra**).

A legalacsonyabb β -LG B permeációt hideg szűrési hőmérsékleten tapasztaltam 0,2 μm pórusméretű membrán alkalmazásával. A szűrés alatti átlagos permeáció $13,2\pm 0,6\%$ volt. A 0,5 μm pórusméretű membrán hideg szűrési hőmérséklet alkalmazása esetében, az átlagos permeáció valamivel magasabb, $18,4\pm 1,0\%$ volt.

Kezdetben a β -LG B frakció permeációja a mikroszűrés során a VR 20% és VR 40% pontokon 0,5 μm pórusméretű membrán alkalmazásával, meleg szűrési hőmérsékleten szignifikánsan magasabb volt, $34,0\pm 4,2\%$ és $32,2\pm 3,1\%$, mint a másik három vizsgált mikroszűrési paraméter mellett (**11. táblázat**). A 0,5 μm pórusméretű membrán hideg szűrési hőmérséklet alkalmazása mellett a VR 20% és VR 40% pontokon a permeáció $20,9\pm 1,4\%$ és $19,7\pm 2,5\%$ volt. Ezek az értékek a 0,2 μm membrán alkalmazásával hideg szűrési hőmérsékleten $15,4\pm 1,0\%$ és $12,9\pm 0,4\%$, míg meleg szűrési hőmérsékleten $18,8\pm 0,9\%$ és $18,2\pm 1,0\%$ értéknek adódtak. A VR 66%, DF 60% és DF 120% pontokon ez a tendencia megváltozott, a 0,2 μm pórusméretű és a 0,5 μm pórusméretű membrán alkalmazásával azonos szűrési hőmérsékleten nem volt szignifikáns különbség a β -LG B permeációjában. Meleg szűrési hőmérsékleten a 0,2 μm pórusméretű membrán alkalmazásával a VR 66%, DF 60% és DF 120% pontokon a β -LG B permeáció értékek $19,8\pm 1,4\%$; $23,6\pm 3,5\%$; $24,1\pm 5,1\%$ voltak, míg a 0,5 μm pórusméretű membrán alkalmazásával ezek az értékek $25,2\pm 0,4\%$; $25,9\pm 0,7\%$; $27,0\pm 1,0\%$ értéknek adódtak. Hideg szűrési hőmérsékleten a fenti értékek, alacsonyabbak voltak. A 0,2 μm pórusméretű membrán alkalmazásával a $9,5\pm 0,4\%$; $14,6\pm 0,6\%$; $1,38\pm 0,7\%$, míg a 0,5 pórusméretű membrán alkalmazásával $14,7\pm 2,1\%$; $17,7\pm 2,6\%$ és $80,9\pm 2,7\%$ értékek voltak.



18. ábra: Az oszlopdiagramok a mikroszűrés során meghatározott aktuális permeáció átlag értékek átlagát ($n=3$) jelölik, míg a hibasávok az átlagok standard hibáját jelölik. A különböző betűk szignifikáns különbségeket jelölnek ($p \leq 0,05$)

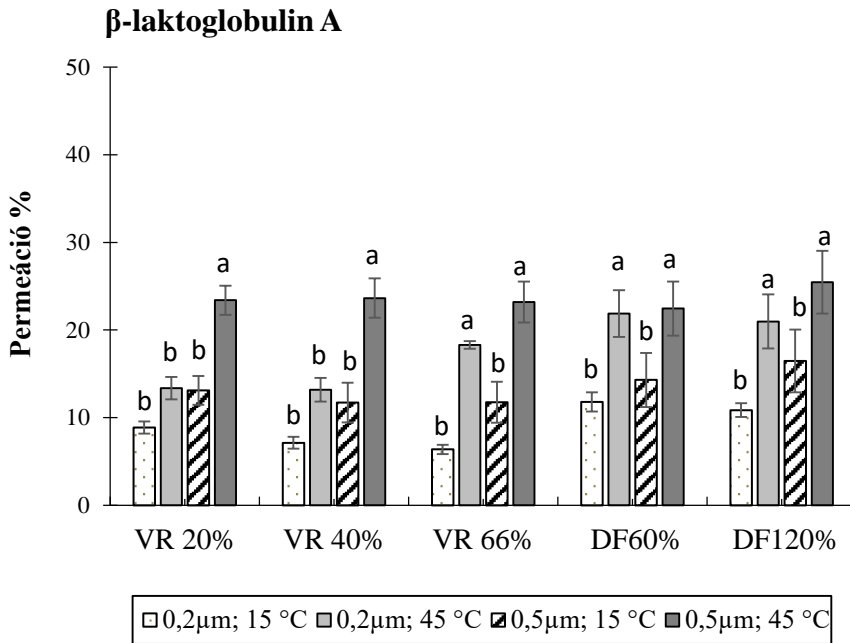
4.2.4 Mikroszűrés paraméterek hatása az β -laktoglobulin A frakció permeációjára

A legmagasabb átlagos β -LG A permeációt ($23,6 \pm 0,9\%$) ez esetben is a $0,5 \mu\text{m}$ pórusméretű membrán $45 \text{ }^\circ\text{C}$ szűrés hőmérsékleten figyeltem meg, míg a legalacsonyabb átlagos permeációt a ($9,0 \pm 0,6\%$) hideg szűrés hőmérsékleten $0,2 \mu\text{m}$ pórusméretű membrán alkalmazása mellett (**11. táblázat**).

A β -laktoglobulin A frakció permeációjában is hasonló tendenciát figyeltem meg, mint a β -laktoglobulin B frakció esetében.

A β -LG A frakció permeációja VR20% és VR40% pontokon meleg szűrési hőmérsékleten 0,5 μ m pórusmértű membrán alkalmazásával szignifikánsan nagyobb volt, $23,4\pm 3,4\%$ és $23,6\pm 2,3\%$, mint a 15 °C szűrési hőmérsékleten. és a 0,2 μ m pórusmértű membrán alkalmazásával hideg és meleg szűrési hőmérsékleten (**19. ábra**)

Hasonlóan a β -LG A frakcióhoz, a VR66%, DF60% és DF120% pontokon a permeáció megváltozott. A 0,2 μ m pórusmértű és a 0,5 μ m pórusmértű membrán alkalmazásával azonos szűrési hőmérsékleten nem volt szignifikáns különbség a β -LG A permeációjában. Meleg szűrési hőmérsékleten a 0,2 μ m membrán alkalmazásával a VR 66%, DF 60% és DF 120% pontokon a β -LG A permeáció értékek $18,3\pm 0,4\%$; $21,9\pm 2,5\%$; és $21,0\pm 3,1\%$ volt, míg a 0,5 μ m pórusmértű membrán alkalmazásával ezek az értékek rendre $23,2\pm 1,4\%$, $22,5\pm 1,5\%$, $25,4\pm 1,5\%$ értékek voltak (**11. táblázat**). Hideg szűrési hőmérsékleten a β -LG A permeációja szintén alacsonyabb volt. A 0,2 μ m pórusmértű membrán alkalmazásával VR 66%, DF 60% és DF 120% pontokon $6,4\pm 0,5\%$; $11,8\pm 1,1\%$; $10,9\pm 0,8\%$; míg a 0,5 pórusmértű membrán alkalmazásával $11,8\pm 2,3\%$; $14,3\pm 3,1\%$; $16,5\pm 3,6\%$ permeáció értékek voltak (**11. táblázat**).



19. ábra) Az oszlopdiagramok az aktuális permeáció értékek átlagát ($n=3$) jelölik, míg a hibasávok az átlagok standard hibáját jelölik. A különböző betűk szignifikáns különbségeket jelölnek ($p \leq 0,05$).

A szűrési eredményeket összesítő táblázatból látható (**11. táblázat**) hogy a meleg szűrési hőmérsékleten, mind a 0,5 μ m, mind a 0,2 μ m pórusméretű membrán alkalmazásával három savófehérje frakció permeációjában a mikroszűrés egyes volumenredukciós diafiltrációs fázisaiban nincs szignifikáns különbség ($p \leq 0,05$)

Hideg mikroszűrés során azonban a szűrés különböző volumenredukciós és diafiltrációs fázisaiban szignifikáns ($p \leq 0,05$) különbségek mutatkoznak az egyes frakciók permeációjában.

A 0,2 μm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérsékleten az α -LA permeációja a vizsgált VR és DF fázisában minden esetben szignifikánsan magasabb volt, mint a β -LG A és a β -LG B frakció permeációja. Továbbá a táblázatból az is megfigyelhető a 0,5 μm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet alkalmazásával viszont már csak az α -LA és β -LG A frakció permeációja tér el szignifikánsan ($p \leq 0,05$).

11. táblázat Az értékek az számított aktuális permeáció értékek átlagát±standard hibáját (n=3) jelölik. A felső indexben lévő különböző betűk azonos hőmérsékleten belül azonos mintavételi ponton szignifikáns különbségeket jelölnek a fehérje frakciók között ($p \leq 0,05$)

Membrán pórusméret	Szűrési hőmérséklet	Frakció	Permeáció (%) Átlag±SD					Átlagos permeáció
			VR 20%	VR 40%	VR 66%	DF 60%	DF 120%	
0,2 µm	15 °C	α -LA	26,3±1,4 ^a	23,6±1,9 ^a	22,3± 1,8 ^a	31,7± 2,0 ^a	29,2 ± 2,7 ^a	26,6±1,2 ^a
		β -LGB	15,4± 1,0 ^b	12,9± 0,4 ^b	9,5± 0,4 ^b	14,6± 0,6 ^b	13,8± 0,7 ^b	13,2±0,6 ^b
		β -LGA	8,9± 0,7 ^c	7,1± 0,7 ^c	6,4± 0,5 ^b	11,8± 1,1 ^b	10,9± 0,8 ^b	9,0±0,6 ^b
0,2 µm	45 °C	α -LA	24,2± 4,4 ^a	25,8± 3,3 ^a	29,5± 5,9 ^a	32,5±8,0 ^a	31,3±8,7 ^a	28,7±2,6 ^a
		β -LGB	18,8± 0,9 ^a	18,2±1,0 ^a	19,8± 1,4 ^a	23,6± 3,5 ^a	24,1±5,1 ^a	20,9±1,3 ^a
		β -LGA	13,4± 1,3 ^a	13,2± 1,3 ^a	18,3± 0,4 ^a	21,9± 2,5 ^a	21,0± 3,1 ^a	17,5±1,2 ^a
0,5 µm	15 °C	α -LA	24,8± 3,1 ^a	25,5± 4,5 ^a	25,0± 4,0 ^a	17,3± 4,1 ^a	29,0± 3,8 ^a	26,6±1,6 ^a
		β -LGB	20,9± 1,4 ^{ab}	19,7± 2,5 ^{ab}	14,7± 2,1 ^{ab}	17,7±2,6 ^{ab}	19,1± 2,7 ^{ab}	18,4±1,0 ^{ab}
		β -LGA	13,1± 1,6 ^b	11,7± 2,3 ^b	11,8± 2,3 ^b	14,3± 3,1 ^b	16,5±3,6 ^b	13,5±1,1 ^b
0,5 µm	45 °C	α -LA	32,3± 6,0 ^a	31,4± 5,1 ^a	29,2± 6,1 ^a	29,6± 4,2 ^a	32,8±1,6 ^a	31,1±1,9 ^a
		β -LGB	34,0± 4,2 ^a	32,2±3,1 ^a	25,2± 0,4 ^a	25,9± 0,7 ^a	27,0±1,0 ^a	28,8±1,3 ^a
		β -LGA	23,4± 3,4 ^a	23,6±2,3 ^a	23,2± 1,4 ^a	22,5± 1,5 ^a	25,4± 1,5 ^a	23,6±0,9 ^a

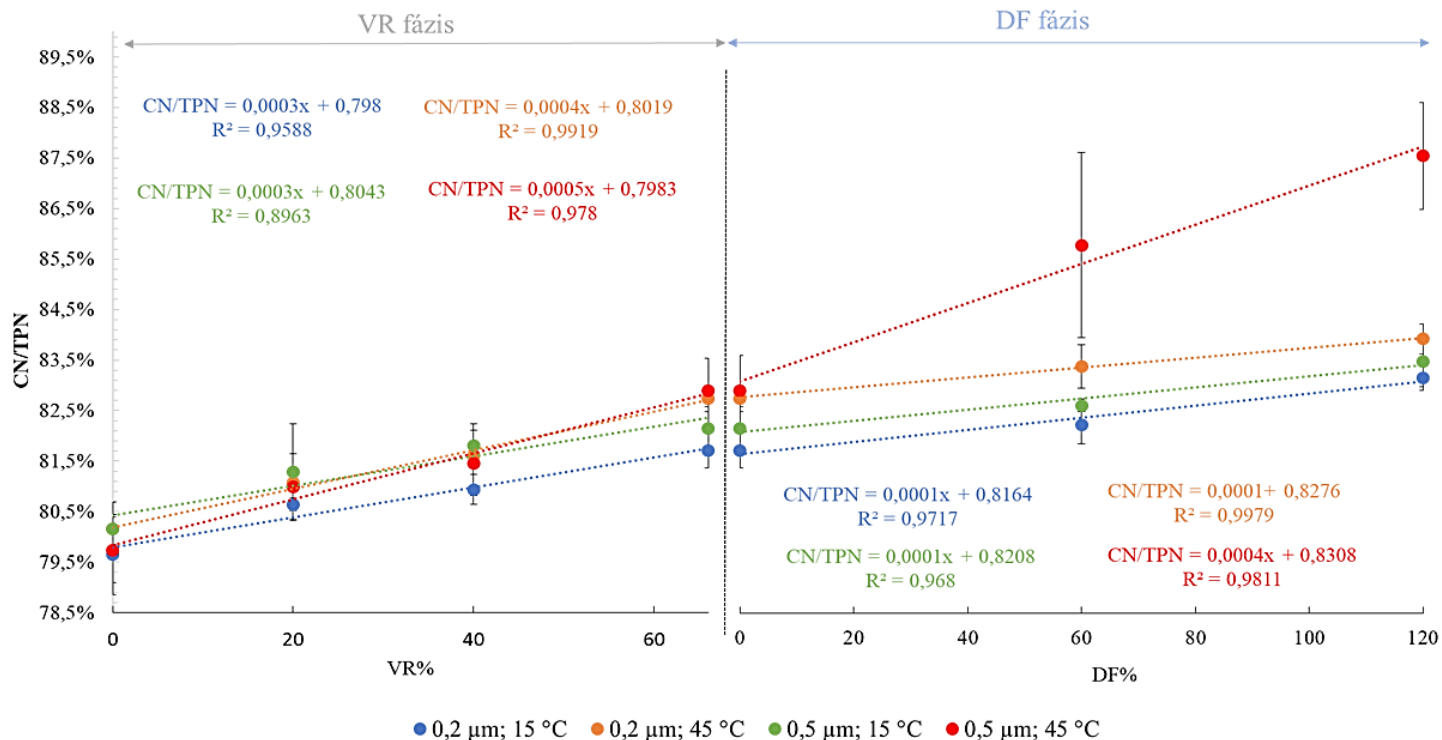
4.2.5 Mikroszűrési paraméterek hatása a CN arány (CN/TPN%) alakulására (Kjeldahl módszerrel meghatározva)

A CN arány alakulását (CN/TPN%) hagyományos Kjeldahl módszerrel meghatározva a mikroszűrés különböző VR és DF fázisaiban a **20. ábra** mutatja. A legnagyobb kazein arány növekedést meleg mikroszűréssel 0,5 μm pórusméretű membrán alkalmazásával értem el. Utóbbi esetben az átlagos CN arány a VR fázis végére a retentátumban $82,9 \pm 1,1\%$, a DF fázis végére $87,5 \pm 1,1\%$ volt. A tejben lévő CN/TPN% képest $79,4 \pm 0,4\%$ a végső retentátumban a CN fehérjék aránya 7,8%-kal nőtt (36-38. számú melléklet).

A második legnagyobb CN/TPN% növekedést szintén meleg szűrési hőmérsékleten figyeltem meg, a 0,2 μm pórusméretű membrán alkalmazásával. A CN/TPN% aránya a retentátumban a VR fázis végére a $82,7 \pm 0,3\%$ a DF fázis végére $83,9 \pm 0,3\%$ volt, amely így 3,8% CN/TPN% arány növekedést jelent a kiinduló tej CN/TPN arányhoz képest ($80,2 \pm 0,3\%$) (30-32. számú melléklet).

A hideg szűrési hőmérséklet alkalmazásával mind a 0,2 μm , mind a 0,5 μm membrán alkalmazásával közel azonos CN/TPN% növekedést figyeltem meg. A 0,2 μm membrán alkalmazásával a VR fázis végére a CN/TPN% arány a $81,7 \pm 0,3\%$ a DF fázis végére $83,1 \pm 0,3\%$, míg ugyanezen értékek a 0,5 membrán alkalmazásával $82,1 \pm 0,4\%$ és $83,5 \pm 0,5\%$ volt. A hideg szűrési hőmérséklet alkalmazásával mind a 0,2 μm , mind a 0,5 μm membrán alkalmazásával közel azonos CN arány növekedést figyeltem meg, a kiinduló tej CN/TPN% értékhez képest, 3,5% és 3,3% értékeket (33-35 és 27-29. számú melléklet).

Eredmények és értékelésük



20. ábra CN arány alakulása (CN/TPN%) az MF retentátumokban eltérő mikroszűrési paraméterek (hőmérséklet, membránpórusméret) a mikroszűrés különböző VR és DF fázisaiban. Az értékek a számított CN/TPN% arányt (n=3), a hibasávok a szórást jelölik.

A szakirodalomban ezirányú vizsgálatok, mind a hideg- mind a meleg hőmérsékleten történő mikroszűrés hatékonyságának összehasonlításáról fehérjefrakció szinten korlátozott számban állnak rendelkezésre. A fehérjefrakciók genetikai variánsainak viselkedéséről a fehérjefrakcionáló mikroszűrés során legjobb tudomásom szerint, nem áll rendelkezésre szakirodalom, éppen ezért eredményeim összevetése más szerzők kutatási eredményeivel jelenleg nehezen kivitelezhető.

Granger-Delacroix et al., (2023) termizált fölözött tejet mikroszűrt 800 kDa (0,1 μm) spiráltekercselt PVDF membránnal 0,7 bar és 0,9 bar TMP mellett 12 °C-os szűrési hőmérsékleten. Azt tapasztalták, hogy az α -LA frakció permeációja mindig nagyobb volt, mint a β -LG frakció permeációja, továbbá arra a következtetésre jutottak, hogy minél alacsonyabb az alkalmazott transzmembrán nyomás, annál nagyobb arányú a savófehérjék permeációja. A β -LG esetében 0,7 bar nyomáson $36\pm 2\%$, míg 0,9 bar nyomáson $30\pm 1\%$ volt. Az α -LA esetében ezek az értékek rendre $69\pm 9\%$ és $58\pm 3\%$ voltak.

A szerzők az egyes frakciók eltérő permeációját a méretbeli különbségnek tulajdonították. Összevetve a saját eredményeimmel (0,2 μm ; 15 °C) mind a β -LG B, a β -LG A és az α -LA esetében alacsonyabb permeáció értékeket figyeltem meg ($26,6\pm 1,2\%$; $13,2\pm 0,6\%$; $9,0\pm 0,6\%$)

Hartinger et al., 2019 pasztörözött sovány tejet (74 °C, 28 s) mikroszűrt 0,1 μm spiráltekercselt PVDF membránnal váltakozó TMP mellett (0,5-3 bar) 10 és 50 °C szűrési hőmérsékleten. Kísérleteik során megfigyelték, hogy a fehérje méretétől és a szűrési hőmérsékletétől függetlenül a fehérje permeációja az első percekben csökken a legintenzívebben, amit azzal magyaráztak, hogy a fehérjéket a szűrletáram konvektív módon szállítja át a membrán pórusain.

Továbbá azt is megfigyelték, hogy az α -LA és β -LG permeációja 10 °C-on alacsonyabb volt, mint 50 °C-on, amely jelenséget a meleg szűrési hőmérséklet által fokozott membránszennyeződésnek tulajdonítottak. Az α -LA, β -LG permeációja 0,5 bar TMP mellett 65%, 59% volt, amely értékek a permeátumban 78 mg/100 g és 236 mg/100 g értéknek felelnek meg. Hartinger et al. (2019a) által 10 °C-on és 50 °C-on kapott eredmények nem egyértelműek a hőmérséklet hatását illetően, mivel a TMP is változott a kísérleteik során, azt 30 percenként 0,5 bar nyomás emelkedéssel 3,0 bar nyomásértékig növelték.

Jarto et al. (2018) arról számoltak be, hogy a sovány tej mikroszűrése 13 °C-on nagyobb savófehérje-permeációt eredményezett az 5 °C-os szűrési hőmérséklethez képest. Hasonló eredményekről számoltak be France et al. (2021/b), akik megfigyelték, hogy a sovány tej 12 °C-on történő mikroszűrése magasabb β -LG és α -LA koncentrációt eredményezett a permeátumban, mint 4 °C és 8 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított permeátumokban, azonban a kapott különbségek statisztikailag nem voltak szignifikánsak.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A kidolgozott RP-HPLC módszer megfelelőségét a fő tejfehérje frakciók elválasztására és mennyiségi meghatározására a vizsgált analitikai teljesítményjellemzők (specifitás, szelektivitás, linearitás, torzítatlanság, precizitás, oldatstabilitás) megfelelőségével igazoltam.

Az elvégzett mikroszűrési kísérletek alapján és a mikroszűrt permeátum és retentátum minták elemzése után a következő következtetések vonhatók le:

A mikroszűrés során alkalmazott technológiai paraméterek befolyásolják a tejben lévő fő savófehérje frakciók permeációját.

A fehérjefrakcionáló mikroszűrés során a hideg szűrési hőmérsékleten megfigyelt permeáció értékekbeli különbségek, a β -LG A és β -LG B fehérjefrakciók eltérő viselkedése feltehetően strukturális különbségekre vezethető vissza.

Amint azt már az irodalmi áttekintés fejezetben ismertettem a, 162 aminosavból álló β -LG A és β -LG B genetikai variánsa a 64. és 118 aminosavhelyen térnek el egymástól. Az aminosavcsere a fehérje negyedleges szerkezetében semleges pH-értéken (pH 6,7) nem okoz számottevő különbséget, mivel a két aminosavcsere egy rugalmas felületi hurokban és egy hidrofób magban történik (Sawyer & Kontopidis, 2000). Fiziológiás körülmények között a β -LG A és B főként nem-kovalens kötésű dimerek formájában jelenik meg. (McKenzie, 1967; Patck et al., 2020), azonban a hőmérséklet és a kémhatás a β -LG konformációs változásait eredményezi.

A Tanford-átmenet, amely pH 7,51 vagy 40 °C feletti hőmérsékleten következik be (Tanford, et al., 1959), fokozott hidratációhoz és laza belső fehérjeszerkezethez vezet (Taulier & Chalikian, 2001). A β -LG ez esetben monomerként létezik. Ez utóbbi magyarázatként szolgálhat, hogy meleg meleg (45 °C) mikroszűrés során miért figyeltem meg a magasabb β -LG A és β -LG B permeációt, mint hideg szűrés hőmérsékleten.

A β -LG A és β -LG B fehérjefrakció eltérő viselkedése a két fehérje fizikai-kémiai tulajdonságaira vezethető vissza.

A mikroszűrés kísérletek során a β -LG B frakció esetében minden esetben magasabb permeációt figyeltem meg, mint a β -LG A esetében. Korábban már igazolták, hogy a β -LG A és B asszociációs és disszociációs tulajdonságai eltérőek (Cheison et al., 2011), valamint a β -LG A és β -LG B eltérő tulajdonságairól számoltak be (Dong et al., 1996; Oliveira et al., 2001; Dong et al., 2001) miszerint a β -LG A változat rugalmasabb fehérje, mint a β -LG B változata. Továbbá a β -LG B frakció ötször jobban oldódik, mint a β -LG A variánsa. Ez utóbbi azonban talán ellentmondásos eredmény, mivel az β -LG A variánsnak van egy plusz töltése a 64. aminosavhelyen lévő aminosav szubsztitúció miatt aszparaginsav (Asp) helyett egy glicin (Gly).

Az MF/DF retentátumokban hagyományos, Kjeldahl-módszerrel meghatározott CN/TPN% arány értékek összhangban állnak a HPLC-módszerrel mért eredményekkel, hiszen megállapítottam, hogy meleg szűrés hőmérsékleteken a tejben, legnagyobb arányban előforduló savófehérje frakció - β -LG - permeációja meleg szűrés hőmérsékleten szignifikánsan nagyobb ($p < 0,05$), ezáltal a CN/TPN% arány azonos technológiai paraméterekkel, de meleg szűrés hőmérsékleten előállított retentátumban magasabb lesz, mint a hideg mikroszűréssel előállított

retentátumokban. Amennyiben a mikroszűrés célja a legnagyobb CN/TPN% arány elérése, hideg üzemelési hőmérséklettel nagyobb membránfelületre van szükség a kívánt kapacitás eléréséhez.

A mikroszűrt retentátum minták CN/TPN% arányának meghatározásakor azonban nem támaszkodhatunk egyedüli mérési módszerként, sem a hagyományos Kjeldahl módszerre, sem az RP-HPLC módszerre.

A HPLC módszerrel mért kazeinfrakciók kazeinként és savófehérje frakciók savófehérjeként való értelmezése, ezáltal számszerű összevetése Kjeldahl-módszerrel meghatározott CN/TPN% arány eredményekkel ugyanis több szempontból is megkérdőjelezhető.

Ahogy azt már az első fejezetben ismertettem a tej hőkezelése 60 °C feletti hőmérsékleten a savófehérjék denaturációjához vezethet, mely a savófehérjék aggregációhoz és savófehérje-kazein komplexek eredményezi (Donato & Guyomarc'h, 2009; Wijayanti, Bansal, & Deeth, 2014). Ezáltal a Kjeldahl-analízis során – amely a nyers tej nitrogén frakciónak meghatározására szolgál – a retentátumban lévő kazein mennyiségének túlbecslését okozhatja (Lynch et al., 1998).

Az alapanyagként szolgáló tej szivattyúzása is részlegesen károsíthatja a savófehérjéket (Brodkorb et al., 2016), amely befolyásolja azok oldhatóságát 4,6-os pH-n a későbbi NCN-vizsgálat során, amely szintén CN/TPN% túlbecsléséhez vezet a Kjeldahl-módszerrel történő vizsgálat során (Subhir et al., 2022).

Az RP-HPLC módszerrel történő mérésnél pedig, az egyes fehérje frakciók mennyiségi meghatározásánál a kereskedelmi forgalomban lévő fehérje frakció standardok mindössze 70%-90% tisztaságúak, továbbá az RP-HPLC elemzés csak a natív állapotban lévő savófehérjék vizsgálatára szolgálhat megbízható mennyiségi meghatározást.

Vizsgálataim során a mikroszűrő berendezést Batch módon üzemeltettem. Korábbi üzemi tapasztalataim alapján kijelenthető, hogy a batch üzemelés mellett az összes savófehérjére vetítve kisebb permeáció érhető el mint folyamatos üzemelés mellett.

Javaslatok

A továbbiakban érdemes lenne kiterjeszteni a mikroszűrési kísérletet folyamatos üzemeléssel történő mikroszűrésre és a mért fehérje frakciók permeációját összehasonlítani a batch üzemelésen kapott eredményekkel. Az így nyert információval tovább lehetne optimalizálni a szűrés során alkalmazott diafiltrációs víz mennyiségét.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A kutatásom első felében egy RP-HPLC-DAD módszert fejlesztettem, a tejben lévő fő fehérjefrakciók elválasztására és mennyiségi meghatározására. Az általam javasolt szabadalmi oltalom alatt álló optimált fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfias (RP-HPLC-DAD) módszer alkalmas a fő tejfehérjefrakciók és azok genetikai variánsainak egyidejű, hatékony és gyors elválasztására, egyszerű mintaelőkészítési protokollal, mindössze 20 perces elemzési idővel.

Az RP-HPLC módszer megfelelőségét a tejfehérjék elválasztására és mennyiségi meghatározására a vizsgált analitikai teljesítményjellemzőkkel, linearitás, specifitás, szelektivitás, torzítatlanság, ismételhetőség, reprodukálhatóság megfelelőségével igazoltam. Az RP-HPLC módszer alacsony kimutatási határral rendelkezik az egyes fehérjefrakciókra vonatkozóan ezáltal lehetővé téve mikroszűrt permeátum és retentátum minták fehérjeprofilijának meghatározását is. Ezáltal lehetővé válik, hogy meghatározzuk illetve optimalizáljuk az egyes fehérje frakciók elválasztásához/koncentrálásához szükséges technológiai paramétereiket.

Kutatásom második felében fölözött, pasztörözött tejből mikroszűrt permeátum- és retentátum mintákat állítottam elő hideg szűrési hőmérsékleten (15 ± 1 °C) és hagyományos meleg szűrési hőmérsékleten (45 ± 1 °C) 0,2 μm és 0,5 μm névleges pórusátmérőjű membránokkal, majd vizsgáltam a minták fehérjeprofiliját az általam optimált RP-HPLC-DAD módszerrel. Annak érdekében, hogy részletesebb képet kapjak arról, hogy a volumenredukció és a diafiltráció mértéke hogyan befolyásolja a mikroszűrés során az egyes fehérje frakciók permeációját, a szűrés öt

pontjában permeátum- és retentátum fázismintákat vettem, majd vizsgáltam azok fehérje profilját és fizikai-kémiai paramétereit.

Kutatásommal rávilágítottam arra, hogy a fehérje frakcionáló mikroszűrés során a szűrési hőmérséklettel befolyásolható az egyes savófehérjerakciók permeációja, ezáltal a végtermék fehérjeprofíljára.

Megállapítottam, hogy a mikroszűrés során a szűrési hőmérséklet nagyobb mértékben befolyásolja a β -LG A és β -LG B frakciók permeációját, mint az alkalmazott membrán pórusmérete. Az α -LA frakció esetében azonban sem a pórusméret sem a szűrési hőmérséklet nem befolyásolja a frakció mikroszűrő membránon való áthaladását az általunk alkalmazott technológiai paraméterekkel.

A kapott eredmények alapját adhatják új gyártástechnológia kidolgozásához, új funkcionális élelmiszerek fejlesztéséhez és ezért az ipar számára is hasznosítható tudást jelent.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Kidolgoztam és validáltam egy fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (RP-HPLC-DAD) eljárást a tejben lévő fő fehérje frakciók (κ -CN, α s1-CN, α s2-CN, β -CN, β -LG, α -LA) egyidejű elválasztására és meghatározására.
2. Igazoltam, hogy a kidolgozott RP-HPLC-DAD módszer alkalmas a tejben lévő fehérjefrakciók genetikai variánsainak elválasztására (Szabadalmi oltalom alatt álló módszer: Eljárás tejben lévő fő fehérjefrakciók elválasztására HPLC segítségével P 21 00384.)
3. A mikroszűrési kísérletekkel és a mikroszűrt permeátum- és retentátum minták RP-HPLC elemzése alapján kapott fehérjeprofílok alapján megállapítottam, hogy 0,2 μ m és 0,5 μ m pórusméretű membrán mind 15 °C, mind 45 °C hőmérsékleten, a fő kazeinfrakciókra szelektív; lehetővé teszi α -LA, β -LG A és β -LG B frakcióban gazdag és α s-CN, κ -CN, β -CN frakcióban szegény permeátum előállítását, valamint α s-CN, κ -CN, β -CN frakcióban dús retentátum előállítását.
4. Megállapítottam, hogy mikroszűrés során az α -LA, β -LG A és β -LG B fehérjefrakciókat 15 °C-os szűrési hőmérsékleten eltérő viselkedésmechanizmus jellemezi, mivel az egyes frakciók permeáció értékei eltérnek $p \leq 0,05$ szignifikancia szinten. Ugyanakkor a 45 °C-os szűrési hőmérsékleten a különbségek nem szignifikánsak ($p \leq 0,05$).
5. A mikroszűrési kísérletek sorozatával és RP-HPLC mérésekkel igazoltam, hogy az általam alkalmazott technológiai paraméterek esetében a szűrési hőmérséklet megválasztásával nem lehet

szignifikánsan befolyásolni az α -LA fehérje frakciók permeációját fehérjefrakcionáló mikroszűrés során

6. Megállapítottam, hogy a az általam alkalmazott technológiai paraméterek mellett a szűrési hőmérséklettel befolyásolható a β -LG-A és β -LGB fehérje frakciók permeációja/retenciója.
7. Mikroszűrés során az α -LA frakcióra magasabb permeáció érték jellemző, mint a β -LG A és β -LG B fehérje frakcióra.
8. Mérésekkel (RP-HPLC-DAD, Kjeldahl módszer) igazoltam, hogy amennyiben a fehérje frakcionáló mikroszűrés célja a CN: WP arány legnagyobb arányú eltolása, abban az esetben a leghatékonyabb mikroszűrési paraméter a 0,5 μ m pórusméret membrán alkalmazása meleg (45 °C) szűrési hőmérséklet mellett.

8. PUBLIKÁCIÓK

8.1 Értekezés alapjául szolgáló közlemények

Szabadalom:

Buzás, H., & Szafner, G. (2022). Eljárás tejben lévő fő fehérjefrakciók elválasztására HPLC segítségével. P 21 00384, Benyújtás éve 2021, Benyújtás országa: Magyarország. Buzás, Henrietta 60%; Szafner, Gábor 40%

Tudományos közlemény, angol nyelvű, lektorált folyóiratban:

Buzás, H., Székelyhidi, R., Szafner, G., Szabó, K., Süle, J., Bukovics, S., & Kovács, A. J. (2022). Developed rapid and simple RP-HPLC method for simultaneous separation and quantification of bovine milk protein fractions and their genetic variants. *Analytical biochemistry*, 658,114939. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2022.114939>

Impakt faktor: 3,191 (Q3)

Hivatkozások száma: 5

Sík, B., **Buzás, H.** Kapcsándi V., Lakatos E., Daróczi F., Székelyhidi, R., (2023). Antioxidant and polyphenol content of different milk and dairy products. *Journal of King Saud University – Science*.

Impakt faktor: 3,8 (Q1)

Hivatkozások száma: 2

Tudományos közlemény, magyar nyelvű, lektorált folyóiratban:

Buzás, H., Szafner, G., & Kovács, A. J. (2021). A tehéntej fő kazein és savófehérje frakcióinak kvalitatív és kvantitatív meghatározásának

lehetőségei elektroforetikus módszerekkel és nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. *Acta agronomica óvariensis* 62(1).

8.2 Értekezés témakörében megjelent közlemények

Buzás, H., Szabó-Sárvári L. Cs., Szabó, K., Süle, J., Bukovics, S., & Szafner, G., Kovács, A. J. (2023). Aflatoxin M1 detection in raw milk and drinking milk in Hungary by ELISA – A one-year survey. *Journal of food composition and analysis*. 121, 105368. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105368>

Impakt faktor: 4,52 (Q1)

Hivatkozások száma: 5

Szabó-Sárvári, L. Cs, Tempfli K., **Buzás, H.**, Mészáros Zs., L, Gulyás (2023). Beta-Casein Genotyping in Dairy Cow Herds in Győr-Moson-Sopron County. *Chemical Engineering Transactions*. 107 pp. 451-456.

Impakt faktor: 0,254 (Q3)

Hivatkozások száma: -

Turbók, J., Tornyos, G., Kocsis, R., Süle, J., Tóth, T., **Buzás, H.**, Szafner, G; Ács, V., Zomborszky, Z., (2022). Cytological and microbiological examination of bovine milk in Prototheca-infected dairy herd. *Acta Agraria Kaposvariensis* 26, 87-104.

Süle, J.; Varga, L.; Varga, K.; Hatvan, Z.; Szafner, G.; **Buzás, H.**; Kerényi, Z. (2022). Probiotikus baktériumtörzsek szelektálására alkalmas kísérleti rendszer egyes elemeinek kidolgozása *Acta agronomica óvariensis* 63 (2)

9. FELHASZNÁLT IRODALMAK JEGYZÉKE

1. **Oliveira, K. M. G., Valente-Mesquita, V. L., Botelho, M. M., Sawyer, L., Ferreira, S. T., & Polikarpov, I. (2001).** Crystal structures of bovine β -lactoglobulin in the orthorhombic space group C2221: Structural differences between genetic variants A and B and features of the Tanford transition. *European Journal of Biochemistry*, 268(2), 477–484. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2001.01918.x>
2. **Lagrange, V., Whitsett, D., & Burris, C. (2015).** Global Market for Dairy Proteins. *Journal of Food Science*, 80(S1), A16–A22. doi:10.1111/1750-3841.12801
3. **de Wit, J. N. (2009).** Thermal behaviour of bovine β -lactoglobulin at temperatures up to 150°C. a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20(1), 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.09.012>
4. **Aimar, P., Meireles, M., Bacchin, P., & Sanchez, V. (1994).** Fouling and Concentration Polarisation in Ultrafiltration and Microfiltration. In *Membrane Processes in Separation and Purification* (pp. 27–57). Springer Netherlands.
5. **Mercier-Bouchard, D., Benoit, S., Doyen, A., Britten, M., & Pouliot, Y. (2017).** Process efficiency of casein separation from milk using polymeric spiral-wound microfiltration membranes. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8838–8848. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13015>

6. **Granger-Delacroix, M., Leconte, N., Grassin, C., Le Goff, F., Garnier-Lambrouin, F., Van Audenhaege, M., & Gésan-Guiziu, G. (2023).** Skimmed milk microfiltration in diafiltration mode: Impact of solvent nature and concentration factor on spiral-wound membrane performance operated at low temperature. *Separation and Purification Technology*, 304(122326), 122326. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.122326>
7. **Aleandri, R., Buttazzoni, L. G., Schneider, J. C., Caroli, A., & Davoli, R. (1990).** The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. *Journal of Dairy Science*, 73(2), 241–255. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(90\)78667-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(90)78667-5)
8. **Amalfitano, N., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Malacarne, M., Summer, A., & Bittante, G. (2019).** Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis. *Journal of Dairy Science*, 102(4), 2903–2917. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15524>
9. **Anema, S. G. (2009).** The use of “lab-on-a-chip” microfluidic SDS electrophoresis technology for the separation and quantification of milk proteins. *International Dairy Journal*, 19(4), 198–204.
10. **Anema, S. G., & Li, Y. M. (2003).** Effect of pH on the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1640–1646.
11. **Antunes, I. C., Bexiga, R., Pinto, C., Roseiro, L. C., & Quaresma, M. A. G. (2022).** Cow's Milk in Human Nutrition and

-
- the Emergence of Plant-Based Milk Alternatives. *Foods* (Basel, Switzerland), 12(1), 99. <https://doi.org/10.3390/foods12010099>
- 12. Atamer, Z., Post, A. E., Schubert, T., Holder, A., Boom, R. M., & Hinrichs, J. (2017).** Bovine β -casein: Isolation, properties and functionality. A review. *International Dairy Journal*, 66, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.11.010>
- 13. Auldish, M. J., Johnston, K. A., White, N. J., Fitzsimons, W. P., & Boland, M. J. (2004).** A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheesemaking capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows. *The journal of dairy research*, 71(1), 51–57. <https://doi.org/10.1017/s0022029903006575>
- 14. Baker, R.W. (2002).** Future directions of membrane gas separation technology. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 41, 1393-1411.
- 15. Balatoni M - Ketting F (1981).** A tej összetétele és tulajdonságai. Tejipari kézikönyv. Szerk.: Balatoni M - Ketting F, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 15-69 oldal.
- 16. Barbano, D. M., Clark, J. L., Dunham, C. E., & Flemin, R. J. (1990).** Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: Collaborative study. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 73(6), 849–859. <https://doi.org/10.1093/jaoac/73.6.849>.
- 17. Baruah, G. L., Nayak, A., & Belfort, G. (2006).** Scale-up from laboratory microfiltration to a ceramic pilot plant: Design and performance. *Journal of Membrane Science*, 274(1–2), 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2005.07.046>

-
18. **Beckman, S. L., & Barbano, D. M. (2013).** Effect of microfiltration concentration factor on serum protein removal from skim milk using spiral-wound polymeric membranes. *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6199–6212.
<https://doi.org/10.3168/jds.2013-6655>
19. **Beckman, S. L., Zulewska, J., Newbold, M., & Barbano, D. M. (2010).** Production efficiency of micellar casein concentrate using polymeric spiral-wound microfiltration membranes. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4506–4517.
<https://doi.org/10.3168/jds.2010-3261>
20. **Bernabucci, U., Biffani, S., Buggiotti, L., Vitali, A., Lacetera, N., & Nardone, A. (2014).** The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 471–486.
<https://doi.org/10.3168/jds.2013-6611>
21. **Bernabucci, U., Lacetera, N., Ronchi, B., & Nardone, A., (2002).** Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. *Animal Research*. 51(1) 25–33.
22. **Berre, L., & Daufin, G. (1996).** Skimmilk crossflow microfiltration performance versus permeation flux to wall shear stress ratio. *J. Membr. Sci*, 117, 261–270.
23. **Berre, L., & Daufin, G. (1998).** Microfiltration (0·1 µm) of milk: effect of protein size and charge. *Journal of Dairy Research*, 65(3), 443–455. doi:10.1017/s0022029998003008
24. **Bittante, G., Penasa, M., & Cecchinato, A. (2012).** Invited review: Genetics and modeling of milk coagulation properties. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 6843–6870.
<https://doi.org/10.3168/jds.2012-5507>
-

-
- 25. Blais, H. N., Schroën, K., & Tobin, J. T. (2022).** A review of multistage membrane filtration approaches for enhanced efficiency during concentration and fractionation of milk and whey. *International Journal of Dairy Technology*, 75(4), 749–760. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12884>
- 26. Bobe, G., Beitz, D. C., Freeman, A. E., & Lindberg, G. L. (1998/a).** Separation and Quantification of Bovine Milk Proteins by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(2), 458–463. <https://doi.org/10.1021/jf970499p>.
- 27. Bobe, G., Beitz, D. C., Freeman, A. E., & Lindberg, G. L. (1998b).** Sample preparation affects separation of whey proteins by reversed phase high performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(4) 1321–1325
- 28. Bobe, G., Beitz, D. C., Freeman, A. E., & Lindberg, G. L. (1999).** Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *Journal of Dairy Science*, 82(12), 2797–2804. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75537-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75537-2)
- 29. Boettcher, P. J., Caroli, A., Stella, A., Chessa, Budelli, E., & Canavesi, F. (1993).** Mapping of the β -lactoglobulin gene and of an immunoglobulin M heavy chain-like sequence in homologous cattle, sheep, and goat chromosomes. *Journal of Dairy Science*, 87(12), 207–210.
- 30. Bonfatti, V., Grigoletto, L., Cecchinato, A., Gallo, L., & Carnier, P. (2008).** Validation of a new reversed-phase high-performance liquid chromatography method for separation and

-
- quantification of bovine milk protein genetic variants. *Journal of Chromatography A*, 1195(1-2), 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.04.075>
- 31. Bonfatti, V., Tuzzato, M., Chiarot, G., & Carnier, P. (2014).** Variation in milk coagulation properties does not affect cheese yield and composition of model cheese. *International Dairy Journal*, 39(1), 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.06.004>
- 32. Bong, D. D., & Moraru, C. I. (2014).** Use of micellar casein concentrate for Greek-style yogurt manufacturing: Effects on processing and product properties. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1259–1269. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7488>
- 33. Bordin, G., Cordeiro Raposo, F., de la Calle, B., & Rodriguez, A. R. (2001).** Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 928(1), 63–76. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)01097-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)01097-4)
- 34. Brans, G., Schroën, C. G. P. H., van der Sman, R. G. M., & Boom, R. M. (2004).** Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *Journal of Membrane Science*, 243(1–2), 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.06.029>
- 35. Brew, K., & Hill, R. L. (1975).** Lactose biosynthesis. In *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (pp. 105–158). Springer Berlin Heidelberg.
- 36. Brooke-Taylor, S., Dwyer, K., Woodford, K., & Kost, N. (2017).** Systematic Review of the Gastrointestinal Effects of A1

-
- Compared with A2 β -Casein. *Advances in nutrition* (Bethesda, Md.), 8(5), 739–748. <https://doi.org/10.3945/an.116.013953>
- 37. Broyard, C., & Gaucheron, F. (2015).** Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge. *Dairy Science & Technology*, 95(6), 831–862. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0220-y>
- 38. Bu, G., Luo, Y., Chen, F., Liu, K., & Zhu, T. (2013).** Milk processing as a tool to reduce cow's milk allergenicity: a mini-review. *Dairy Science & Technology*, 93(3), 211–223. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0113-x>
- 39. Buffoni, J. N., Bonizzi, I., Pauciullo, A., Ramunno, L., & Feligini, M. (2011).** Characterization of the major whey proteins from milk of Mediterranean water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Food Chemistry*, 127(4), 1515–1520.
- 40. Butikofer, U., Meyer, J., & Rehberger, B. (2006).** Determination of the percentage of α -lactalbumin and β -lactoglobulin of total milk protein in raw and heat treated skim milk. *Milchwissenschaft*. 61(3), 263–266.
- 41. Caffin, J. P., Poutrel, B., & Rainard, P. (1985).** Physiological and pathological factors influencing bovine alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin concentrations in milk. *Journal of Dairy Science*, 68(5), 1087–1094. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80933-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80933-4)
- 42. Carles, C. (1986).** Fractionation of bovine caseins by reverse phase high performance liquid chromatography: identification of a genetic variant. *The Journal of Dairy Research*, 53(1), 35–41. <https://doi.org/10.1017/s0022029900024638>

-
- 43. Caroli, A. M., Chessa, S., & Erhardt, G. J. (2009).** Invited review: milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*, 92(11), 5335–5352. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2461>
- 44. Carter, B. G., Cheng, N., Kapoor, R., Meletharayil, G. H., & Drake, M. A. (2021).** Invited review: Microfiltration-derived casein and whey proteins from milk. *Journal of Dairy Science*, 104(3), 2465–2479. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18811>
- 45. Cattaneo, S., Masotti, F., Stuknytė, M., & De Noni, I. (2023).** Impact of in vitro static digestion method on the release of β -casomorphin-7 from bovine milk and cheeses with A1 or A2 β -casein phenotypes. *Food Chemistry*, 404(134617), 134617. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134617>
- 46. Chamberland, J.; Messier, T.; Dugat-Bony, E.; Lessard, M.-H.; Labrie, S.; Doyen, A.; & Pouliot, Y. (2019).** Influence of feed temperature to biofouling of ultrafiltration membrane during skim milk processing. *International Dairy Journal*, (93), 99–105
- 47. Cheison, S. C., Lai, M.-Y., Leeb, E., & Kulozik, U. (2011).** Hydrolysis of β -lactoglobulin by trypsin under acidic pH and analysis of the hydrolysates with MALDI-TOF-MS/MS. *Food Chemistry*, 125(4), 1241–1248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.042>
- 48. Chen, F. T. A., & Zang, J. H. (1992).** Determination of milk proteins by capillary electrophoresis. *Journal of AOAC International*, 75(1), 905–909.

-
49. **Chen, F.-T. A., & Tusak, A. (1994).** Characterization of food proteins by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 685(2), 331–337. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)00700-4](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)00700-4)
50. **Chen, G. Q., Leong, T. S. H., Kentish, S. E., Ashokkumar, M., & Martin, G. J. O. (2019).** Chapter 8 - Membrane separations in the dairy industry. In *Separation of Functional Molecules in Food by Membrane Technology*. C. M. Galanakis. Academic Press. 267-304
51. **Chen, K. K., Salim, W., Han, Y., Wu, D., & Ho, W. S. W. (2020).** Fabrication and scale-up of multi-leaf spiral-wound membrane modules for CO₂ capture from flue gas. *Journal of Membrane Science*, 595(117504), 117504. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.117504>
52. **Chen, Q., Zhao, L., Yao, L., Chen, Q., Ahmad, W., Li, Y., & Qin, Z. (2018).** The application of membrane separation technology in the dairy industry. In *Technological Approaches for Novel Applications in Dairy Processing*. InTech.
53. **Cheryan, M. (1998).** Ultrafiltration and Microfiltration Handbook. Technomic Publishing.
54. **Clayden, J., Greeves, N., & Warren, S. G. (2012).** Organic chemistry (2nd ed). Oxford University Press.
55. **Coolbear, K. P., Elgar, D. F., & Ayers, J. S. (1996).** Profiling of genetic variants of bovine κ -casein macropeptide by electrophoretic and chromatographic techniques. *International Dairy Journal*, 6(11–12), 1055–1068. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(96\)00034-9](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(96)00034-9)
-

-
- 56. Costa, F. F., Brito, M. A. V. P., Furtado, M. A. M., Martins, M. F., Olivera, M. A. L., Barra, P. M. C., & Santos, A. S. O. (2014).** Microfluidic chip electrophoresis Investigation of major milk proteins: study of buffers effects and quantitative approaching. *Analytical Methods*, 6(6), 1666–1673.
- 57. Cragnell, C., Choi, J., Segad, M. M., Lee, S., Nilsson, L., & Skepo, M., (2017).** Bovine β -casein has a polydisperse distribution of equilibrium micelles. *Food Hydrocolloids*, 70, 65–68. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.021>
- 58. Creamer, L. K., & MacGibbon, A. K. H. (1996).** Some recent advances in the basic chemistry of milk proteins and lipids. *International Dairy Journal*, 6(6), 539–568. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(96\)85309-x](https://doi.org/10.1016/0958-6946(96)85309-x).
- 59. Creamer, L. K., & Richardson, T. (1984).** Anomalous behaviour of bovine α 1- and β - caseins on gel electrophoresis in sodium dodecyl sulfate buffer. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 234(2), 476–486.
- 60. Crowley, S. V., Caldeo, V., McCarthy, N. A., Fenelon, M. A., Kelly, A. L., & O'Mahony, J. A. (2015).** Processing and protein-fractionation characteristics of different polymeric membranes during filtration of skim milk at refrigeration temperatures. *International Dairy Journal*, 48, 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.01.005>
- 61. Csapó, J. & Csapóné Kiss, Zs. (2002).** Tej és tejtermékek a táplálkozásban. Mezőgazda Kiadó, Budapest

- 62. Dalgleish, D. G. (1993).** The enzymatic coagulation of milk. In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology (pp. 69–100). Springer US.
- 63. Dalgleish, D. G., Senaratne, V., & Francois, S. (1997).** Interactions between α -lactalbumin and β -lactoglobulin in the early stages of heat denaturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3459–3464.
- 64. Dalgleish, D. G., Spagnuolo, P. A., & Douglas Goff, H. (2004).** A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *International Dairy Journal*, 14(12), 1025–1031.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.04.008>
- 65. de Jong, N., Visser, S., & Olieman, C. (1993).** Determination of milk proteins by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 652(1), 207–213.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80661-Q](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)80661-Q)
- 66. de Kruif, C. G., & Grinberg, V. Y. (2002).** Micellisation of β -casein. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 210(2–3), 183–190.
[https://doi.org/10.1016/s0927-7757\(02\)00371-0](https://doi.org/10.1016/s0927-7757(02)00371-0)
- 67. De Kruif, C. G., & Holt, C. (2003).** Casein Micelle Structure, Functions and Interactions. In *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins* (pp. 233–276). Springer US.
- 68. Di Stasio, L.-P. (2000).** The role of protein polymorphism in the genetic improvement of milk production. *Zootecnicæ Nutrizione Animale*, 26(3), 69–90.

-
- 69. Dolnik, V., & Liu, S. (2005).** Applications of capillary electrophoresis on microchip. *Journal of Separation Science*, 28(15), 1994–2009. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500243>
- 70. Donato, L., & Guyomarc'H, F. (2009).** Formation and properties of the whey protein/ kappa-casein complexes in heated skim milk e a review. *Dairy Science and Technology*, 89, 3–29.
- 71. Dong, A., Matsuura, J., Allison, S. D., Chrisman, E., Manning, M. C., & Carpenter, J. F. (1996).** Infrared and circular dichroism spectroscopic characterization of structural differences between beta-lactoglobulin A and B. *Biochemistry*, 35(5), 1450–1457. <https://doi.org/10.1021/bi9518104>
- 72. Dumpler, J., Wohlschläger, H., & Kulozik, U. (2016).** Dissociation and coagulation of caseins and whey proteins in concentrated skim milk heated by direct steam injection. *Dairy Science & Technology*, 96(6), 807–826. doi:10.1007/s13594-016-0304-3
- 73. Dunker, A. K., Lawson, J. D., Brown, C. J., Williams, R. M., Romero, P., Oh, J. S., Oldfield, C. J., Campen, A. M., Ratliff, C. M., Hipps, K. W., Ausio, J., Nissen, M. S., Reeves, R., Kang, C., Kissinger, C. R., Bailey, R. W., Griswold, M. D., Chiu, W., Garner, E. C., & Obradovic, Z. (2001).** Intrinsically disordered protein. *Journal of molecular graphics & modelling*, 19(1), 26–59. [https://doi.org/10.1016/s1093-3263\(00\)00138-8](https://doi.org/10.1016/s1093-3263(00)00138-8)
- 74. Dupont, D., Croguennec, T., & Pochet, S. (2018).** Milk Proteins - Analytical Methods. Reference Module in Food Science. Academic Press.

- 75. Dziuba, J., & Mioduszevska, H. (1997).** Quantitative analysis of milk proteins by SDS-PAGE method. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 6, 47(1), 91–98.
- 76. Dziuba, J., Darewicz, M., Minkiewicz, P., & Panfil, T. (2002).** Application of SDSpolyacrylamide gel electrophoresis and reversed-phase-high performance liquid chromatography on-line with the second and fourth derivatives UV spectroscopy in identification of β -casein and its peptide fractions. *Milchwissenschaft*. 57(9-10), 497–502.
- 77. Edwards, P. J. B., & Jameson, G. B. (2020).** Structure and stability of whey proteins. In *Milk Proteins* (pp. 251–291). Elsevier.
- 78. Elofsson, U. M., Paulsson, M. A., & Arnebrant, T. (1997).** Adsorption of β -lactoglobulin A and B: Effects of ionic strength and phosphate ions. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 8(3), 163–169. [https://doi.org/10.1016/s0927-7765\(96\)01319-7](https://doi.org/10.1016/s0927-7765(96)01319-7)
- 79. European Food Safety Authority (EFSA). (2009).** Review of the potential health impact of β -casomorphins and related peptides: Review of the potential health impact of β -casomorphins and related peptides. *EFSA Journal*, 7(2), 231r. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.231r>
- 80. Fariás, M. E., Martinez, M. J., & Pilosof, A. M. R. (2010).** Casein glycomacropptide pH-dependent self-assembly and cold gelation. *International Dairy Journal*, 20(2), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.09.002>
- 81. Farrell, J. H. M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E., Creamer, L. K., & Hicks, C. L. (2004).**

-
- Nomenclature of the proteins of cows' milk -sixth revision. *Journal of Dairy Science*, 87(6), 1641–1673.
- 82. Ferretti, L., Leone, P., & Sgaramella, V. (1990).** Long range restriction analysis of the bovine casein genes. *Nucleic Acids Research*, 18(23), 6829–6833.
<https://doi.org/10.1093/nar/18.23.6829>
- 83. Fox, P. F., & Brodtkorb, A. (2008).** The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, 18(7), 677–684.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.002>
- 84. Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015).** Milk Proteins. In *Dairy Chemistry and Biochemistry* (pp. 145–239). Springer International Publishing.
- 85. Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H., O'Mahony, J.A. (2015).** Salts of Milk. In: *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2_5
- 86. France, T. C., Bot, F., Kelly, A. L., Crowley, S. V., & O'Mahony, J. A. (2024).** Physicochemical properties of micellar casein retentates generated at different microfiltration temperatures. *Journal of Dairy Science*, 107(5), 2721–2732.
<https://doi.org/10.3168/jds.2023-23918>
- 87. France, T. C., Bot, F., Kelly, A. L., Crowley, S. V., & O'Mahony, J. A. (2021/b).** The influence of temperature on filtration performance and fouling during cold microfiltration of skim milk. *Separation and Purification Technology*, 262(118256), 118256. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.118256>

-
- 88. France, T. C., Kelly, A. L., Crowley, S. V., & O'Mahony, J. A. (2021/a).** Cold Microfiltration as an Enabler of Sustainable Dairy Protein Ingredient Innovation. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(9), 2091. <https://doi.org/10.3390/foods10092091>
- 89. Gallinat, J. L., Qanbari, S., Drögemüller, C., Pimentel, E. C., Thaller, G., & Tetens, J. (2013).** DNA-based identification of novel bovine casein gene variants. *Journal of Dairy Science*, 96(1), 699–709. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5908>
- 90. Gasztonyi, K., & Lásztity, R. (1993).** *Élelmiszerkémia 2.* (K. Gasztonyi & R. Lásztity, Eds.). Budapest: Mezőgazda Kiadó.
- 91. Gavazzi-April, C., Benoit, S., Doyen, A., Britten, M., & Pouliot, Y. (2018).** Preparation of milk protein concentrates by ultrafiltration and continuous diafiltration: Effect of process design on overall efficiency. *Journal of Dairy Science*, 101(11), 9670–9679. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14430>
- 92. Gellrich, K., Meyer, H. H. D., & Wiedemann, S. (2014).** Composition of major proteins in cow milk differing in mean protein concentration during the first 155 days of lactation and the influence of season as well as short-term restricted feeding in early and mid-lactation. In *Czech Journal of Animal Science (Vol. 59, Issue 3, pp. 97–106)*. Czech Academy of Agricultural Sciences. <https://doi.org/10.17221/7289-cjas>
- 93. Gellrich, K., Meyer, H. H. D., & Wiedemann, S. (2014).** Composition of major proteins in cow milk differing in mean protein concentration during the first 155 days of lactation and the influence of season as well as short-term restricted feeding in early and mid-lactation. In *Czech Journal of Animal Science (Vol. 59,*

Issue 3, pp. 97–106). Czech Academy of Agricultural Sciences.
<https://doi.org/10.17221/7289-cjas>

- 94. Gitis, V., & Rothenberg, G. (2016).** Ceramic Membranes: New Opportunities and Practical Applications. Wiley-VCH.
- 95. Givens, I., Aikman, P., Gibson, T., & Brown, R. (2013).** Proportions of A1, A2, B and C β -casein protein variants in retail milk in the UK. *Food Chemistry*, 139(1-4), 549–552. doi:10.1016/j.foodchem.2013.01.115
- 96. Goetz, H., Kuschel, M., Wulff, T., Sauber, C., Miller, C., Fisher, S., & Woodward, C. (2004).** Comparison of selected analytical techniques for protein sizing, quantitation and molecular weight determination. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 60(3), 281–293. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2004.01.007>
- 97. Gómez-Ruiz, J. A., Miralles, B., Agüera, P., & Amigo, L. (2004).** Quantitative determination of alpha(s2)- and alpha(s1)-casein in goat's milk with different genotypes by capillary electrophoresis. *Journal of chromatography. A*, 1054(1-2), 279–284. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.089>
- 98. Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J. J., Johnson, M. E., Wang, T., & Lucey, J. A. (2007).** Use of cold microfiltration retentates produced with polymeric membranes for standardization of milks for manufacture of pizza cheese. *Journal of Dairy Science*, 90(10), 4552–4568. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0128>
- 99. Granger-Delacroix, M., Leconte, N., Grassin, C., Le Goff, F., Garnier-Lambrouin, F., Van Audenhaege, M., & Gésan-Guizou, G. (2023).** Skimmed milk microfiltration in diafiltration

-
- mode: Impact of solvent nature and concentration factor on spiral-wound membrane performance operated at low temperature. *Separation and Purification Technology*, 304(122326), 122326. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.122326>
- 100. Greenberg, R., Groves, M. L., & Dower, H. J. (1984).** Human beta-casein. Amino acid sequence and identification of phosphorylation sites. *The Journal of biological chemistry*, 259(8), 5132–5138.
- 101. Groen, A. F., van der Vegt, R., van Boekel, M. A. J. S., de Rouw, O. L. A. M., & Vos, H. (1994).** Case study on individual animal variation in milk protein composition as estimated by high-pressure liquid chromatography. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 48, 201-212.
- 102. Groen, A. F., Van Der, R., Vegt, M. A. J. S., Van Boekel, O. L. A. M., & De Rouw, H. (1994).** Case study on individual animal variation in milk protein composition as estimated by high-pressure liquid chromatography, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 48, 201–2.
- 103. Groves, M. L. (1969).** Some minor components of casein and other phosphoproteins in milk. A review. *Journal of Dairy Science*, 52(8), 1155–1165. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(69\)86718-4](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(69)86718-4)
- 104. Gustavsson, F., Buitenhuis, A. J., Johansson, M., Bertelsen, H. P., Glantz, M., Poulsen, N. A., Lindmark Månsson, H., Stålhammar, H., Larsen, L. B., Bendixen, C., Paulsson, M., & Andrén, A. (2014).** Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red,

-
- Danish Holstein, and Danish Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3866–3877. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7312>
105. **Gutierrez, J. E. N., & Jakobovits, L. (2003).** Capillary electrophoresis of α -lactalbumin in milk powders. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3280–3286.
106. **Hallén, E., Allmere, T., Näslund, J., Andrén, A., & Lundén, A. (2007).** Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin-induced milk gels. *International Dairy Journal*, 17(7), 791–799. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.09.011>
107. **Hambraeus, L., & Lonnerdal, B. (2003).** Nutritional aspects of milk proteins. *Advanced Dairy Chemistry*. Springer.
108. **Hames, B. D. (1998).** Gel electrophoresis of proteins: A practical approach (3rd ed.). Oxford University Press.
109. **Hammam, A. R. A., Beckman, S. L., & Metzger, L. E. (2022).** Production and storage stability of concentrated micellar casein. *Journal of Dairy Science*, 105(2), 1084–1098. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21200>
110. **Hammam, A. R. A., Martínez-Monteagudo, S. I., & Metzger, L. E. (2021).** Progress in micellar casein concentrate: Production and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(5), 4426–4449. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12795>
111. **Hartinger, M., Heidebrecht, H. J., Schiffer, S., Dumpler, J., & Kulozik, U. (2019).** Milk Protein Fractionation by Means of Spiral-Wound Microfiltration Membranes: Effect of the Pressure Adjustment Mode and Temperature on Flux and Protein

-
- Permeation. *Foods* (Basel, Switzerland), 8(6), 180.
<https://doi.org/10.3390/foods8060180>
112. **Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007).** Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*, 6(1), 25. doi:10.1186/1476-511x-6-25
113. **Hayes, H., & Petit, E. (1993).** Mapping of the β -lactoglobulin gene and of an immunoglobulin M heavy chain-like sequence in homologous cattle, sheep, and goat chromosomes. *Mamm. Genome*, 4(4), 207–210.
114. **Heck, J. M., Schennink, A., van Valenberg, H. J., Bovenhuis, H., Visker, M. H., van Arendonk, J. A., & van Hooijdonk, A. C. (2009).** Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 1192–1202. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1208>
115. **Hinz, K., O'Connor, P. M., Huppertz, T., Ross, R. P., & Kelly, A. L. (2012).** Comparison of the principal proteins in bovine, caprine, buffalo, equine and camel milk. *The Journal of Dairy Research*, 79(2), 185–191.
<https://doi.org/10.1017/S0022029912000015>
116. **Holt, C. (1992).** Structure and stability of bovine casein micelles. *Adv Protein Chem*, 43, 63–151.
117. **Holt, C. (2004).** An equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk. *Eur Biophys J*, 33, 421–434.

-
118. **Holt, C., & Horne, D. S. (1996).** The hairy casein micelle: evolution of the concept and its implications for dairy technology. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 50, 85–111.
119. **Horne, D. S. (2006).** Casein micelle structure: Models and muddles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11(2–3), 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.11.004>
120. **Huppertz, T. (2013).** Chemistry of the Caseins. In: McSweeney, P., Fox, P. (eds) *Advanced Dairy Chemistry*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4714-6_4
121. **Hurt, E., & Barbano, D. M. (2010).** Processing factors that influence casein and serum protein separation by microfiltration. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4928–4941. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3121>
122. **Hurt, E., Zulewska, J., Newbold, M., & Barbano, D. M. (2010).** Micellar casein concentrate production with a 3, 3-stage, uniform transmembrane pressure ceramic membrane process at 50 C. *J. Dairy Sci*, 93, 5588–5600.
123. **Ikonen, T., Ahlfors, K., Kempe, R., Ojala, M., & Ruottinen, O. (1999).** Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of noncoagulating milk in Finnish dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82(1), 205–214. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75225-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75225-2)
124. **Ikonen, T., Ojala, M., & Syvaöja, E. L. (1997).** Effects of composite casein and β lactoglobulin genotypes on renneting properties and composition of bovine milk by assuming an animal model. *Agricultural and Food Science Finland*, 6(4), 283–294.

-
125. **James, B. J., Jing, Y., & Dong Chen, X. (2003).** Membrane fouling during filtration of milk—a microstructural study. *Journal of Food Engineering*, 60(4), 431–437. [https://doi.org/10.1016/s0260-8774\(03\)00066-9](https://doi.org/10.1016/s0260-8774(03)00066-9)
126. **Jarto, I., Lucey, J. A., & Smith, K. E. (2018).** Impact of processing temperature on production of milk protein permeate during microfiltration of skim or whole milk. *International Journal of Dairy Technology*, 71(4), 844–848. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12542>
127. **Jenness, R., Larson, B. L., McMeekin, T. L., Swanson, A. M., Whitnah, C. H., & Whitney, R. M. (1956).** Nomenclature of the proteins of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 39(5), 536–541. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(56\)94782-8](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(56)94782-8)
128. **Jensen, H. B., Holland, J. W., Poulsen, N. A., & Larsen, L. B. (2012a).** Milk protein genetic variants and isoforms identified in bovine milk representing extremes in coagulation properties. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 2891–2903. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5346>
129. **Jensen, H. B., Poulsen, N. A., Andersen, K. K., Hammershøj, M., Poulsen, H. D., & Larsen, L. B. (2012b).** Distinct composition of bovine milk from Jersey and Holstein-Friesian cows with good, poor, or noncoagulation properties as reflected in protein genetic variants and isoforms. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 6905–6917. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5675>
130. **Jianqin, S., Leiming, X., Lu, X., Yelland, G. W., Ni, J., & Clarke, A. J. (2015).** Effects of milk containing only A2 beta

- casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. *Nutrition Journal*, 15(1).
<https://doi.org/10.1186/s12937-016-0147-z>
- 131. Kaliappan, S., & Lucey, J. A. (2011).** Influence of mixtures of calcium-chelating salts on the physicochemical properties of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 94(9), 4255–4263. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3343>
- 132. Kamiński, S., Cieslińska, A., & Kostyra, E. (2007).** Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. *Journal of applied genetics*, 48(3), 189–198.
<https://doi.org/10.1007/BF03195213>
- 133. Kilara, A., & Panyam, D. (2003).** Peptides from milk proteins and their properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 43(6), 607–633.
<https://doi.org/10.1080/10408690390251138>
- 134. Kinekawa, Y., & Kitabatake, N. (1996).** Purification of beta-lactoglobulin from whey protein concentrate by pepsin treatment. *Journal of Dairy Science*, 79(3), 350–356.
[https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(96\)76371-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(96)76371-3)
- 135. Kinghorn, N. M., Norris, C. S., Paterson, G. R., & Otter, D. E. (1995).** Comparison of capillary electrophoresis with traditional methods to analyse bovine whey proteins. *Journal of Chromatography A*, 700(1–2), 111–123.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00117-6](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00117-6)

136. **Kinsella, J. E., & Morr, C. V. (1984).** Milk proteins: physicochemical and functional properties. *Food Science and Nutrition*, 21(3), 197–262.
137. **Kjeldahl, J. (1883).** Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, 22(1), 366–382. <https://doi.org/10.1007/bf01338151><https://doi.org/10.1007/BF01338151>.
138. **Koh, L. L. A., Ashokkumar, M., & Kentish, S. E. (2012).** Membrane fouling, cleaning and disinfection. *In Membrane Processing* (pp. 73–106). Blackwell Publishing Ltd.
139. **Kontopidis, G., Holt, C., & Sawyer, L. (2004).** Invited review: beta-lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *Journal of Dairy Science*, 87(4), 785–796. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73222-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73222-1)
140. **Kumar, P., Sharma, N., Ranjan, R., Kumar, S., Bhat, Z. F., & Jeong, D. K. (2013).** Perspective of membrane technology in dairy industry: A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(9), 1347–1358. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13082>
141. **Kurien, B. T., & Scofield, R., H. (2005).** Western blotting. *Methods*, 38, 283–293.
142. **Sawyer, L., & Kontopidis, G. (2000).** The core lipocalin, bovine beta-lactoglobulin. *Biochimica et biophysica acta*, 1482(1-2), 136–148. [https://doi.org/10.1016/s0167-4838\(00\)00160-6](https://doi.org/10.1016/s0167-4838(00)00160-6)

-
- 143. Laemmlı, U.K. (1970).** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 249, 680–685.
- 144. Langendorff, V., Cuvelier, G., Launay, B., Michon, C., Parker, A., & De Kruif, C. G. (1999).** Casein micelle/ıota carrageenan interactions in milk; influence of temperature. *Food Hydrocolloids*, 13, 211–218.
- 145. Lawrence, N. D., Kentish, S. E., O’Connor, A. J., Barber, A. R., & Stevens, G. W. (2008).** Microfiltration of skim milk using polymeric membranes for casein concentrate manufacture. *Separation and Purification Technology*, 60(3), 237–244. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.08.016>
- 146. Li, M., Auty, M. A. E., Crowley, S. V., Kelly, A. L., O’Mahony, J. A., & Brodkorb, A. (2019).** Self-association of bovine β -casein as influenced by calcium chloride, buffer type and temperature. *Food Hydrocolloids*, 88, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.09.035>
- 147. Lin, S., Sun, J., Cao, D., Cao, J., & Jiang, W. (2010).** Distinction of different heat-treated bovine milks by native-PAGE fingerprinting of their whey proteins. *Food Chemistry*, 121(3), 803–808. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.088>
- 148. Lipnizki, F. (2010).** Cross-flow membrane applications in the food industry. In *Membrane Technology* (pp. 1–24). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- 149. Liu, F., Hashim, N. A., Liu, Y., Abed, M. R. M., & Li, K. (2011).** Progress in the production and modification of PVDF

-
- membranes. *Journal of Membrane Science*, 375(1–2), 1–27.
<https://doi.org/10.1016/j.memsci.2011.03.014>
- 150. Livney, Y. D., Schwan, A. L., & Dalgleish, D. G. (2004).**
 A study of beta-casein tertiary structure by intramolecular crosslinking and mass spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 87(11), 3638–3647. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73502-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73502-X)
- 151. Lönnerdal, B. (2003).** Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(6), 1537S-1543S.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/77.6.1537s>
- 152. Lynch, J. M., Barbano, D. M., & Fleming, J. R. (1998).**
 Indirect and direct determination of the casein content of milk by Kjeldahl nitrogen analysis: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 81(4), 763–774.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/81.4.763>
- 153. Granger-Delacroix, M., Leconte, N., Grassin, C., Goff, F. L., Garnier-Lambrouin, F., Van Audenhaege, M., & Gésan-Guiziou, G. (2023).** Skimmed milk microfiltration in diafiltration mode: Impact of solvent nature and concentration factor on spiral-wound membrane performance operated at low temperature. *Separation and Purification Technology*, 304, 122326.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.122326>
- 154. Ma, L., Yang, Y., Chen, J., Wang, J., & Bu, D. (2017).** A rapid analytical method of major milk proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Animal Science Journal*

-
- Nihon chikusan Gakkaiho, 88(10), 1623–1628.
<https://doi.org/10.1111/asj.12804>
- 155. Mackle, T. R., Bryant, A. M., Petch, S. F., Hill, J. P., & Auldish, M. J. (1999).** Nutritional Influences on the Composition of Milk from Cows of Different Protein Phenotypes in New Zealand. *In Journal of Dairy Science*, 82(1) 172–180. American Dairy Science Association. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75221-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75221-5)
- 156. Madureira, A. R., Pereira, C. I., Gomes, A. M. P., Pintado, M. E., & Xavier Malcata, F. (2007).** Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Research International* (Ottawa, Ont.), 40(10), 1197–1211.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.005>
- 157. Marella, C., Sunkesula, V., Hammam, A. R. A., Kommineni, A., & Metzger, L. E. (2021).** Optimization of Spiral-Wound Microfiltration Process Parameters for the Production of Micellar Casein Concentrate. *Membranes*, 11(9), 656.
<https://doi.org/10.3390/membranes11090656>
- 158. Marshall, A. D. & Daufin, G. (1995).** Physico-chemical aspects of membrane fouling by dairy fluids. Fouling and Cleaning in Pressure Driven Membrane Processes. *International Dairy Federation Bulletin* 9504. Brussels, Belgium
- 159. Martin, P., Szymanowska, M., Zwierzchowski, L., & Leroux, C. (2002).** The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. *Reproduction, Nutrition, Development*, 42(5), 433–459.
<https://doi.org/10.1051/rnd:2002036>
-

-
- 160. Marziali, A. S., & Ng-Kwai-Hang, K. F. (1986).** Chemical methods for the characterization proteolysis in cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 69(5), 41–76.
- 161. Maurmayr, A., Cecchinato, L., & Grigoletto, G. (2013).** Detection and quantification of α S1-, α S2-, β -, κ -casein, α -Lactalbumin, β -lactoglobulin and lactoferrin in bovine milk by reverse-phase high-performance liquid chromatography, *Agric. Agric. Conspectus Sci*, 78(3), 201–205.
- 162. Mayer, H. K., Lenz, K., & Halbauer, E. M. (2021).** "A2 milk" authentication using isoelectric focusing and different PCR techniques. *Food research international* (Ottawa, Ont.), 147, 110523. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110523st>
- 163. McKenzie, H. A. (1967).** Milk proteins. *Advances in protein chemistry*, 22, 55–234. [https://doi.org/10.1016/s0065-3233\(08\)60041-8](https://doi.org/10.1016/s0065-3233(08)60041-8)
- 164. McMahan, D. J., & McManus, W. R. (1998).** Rethinking casein Micelle structure using electron microscopy. *Journal of Dairy Science*, 81(11), 2985–2993. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(98\)75862-x](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(98)75862-x)
- 165. McMahan, D. J., & Oommen, B. S. (2008).** Supramolecular structure of the casein micelle. *Journal of Dairy Science*, 91(5), 1709–1721. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0819>
- 166. McMahan, D. J., & Oommen, B. S. (2013).** Casein Micelle Structure, Functions, and Interactions. In *Advanced Dairy Chemistry* (pp. 185–209). Springer US.

-
167. **McSweeney, P. L. H., & Fox, P. F. (Eds.). (2009).** Advanced dairy chemistry: Volume 3: Lactose, water, salts and minor constituents (3rd ed.). Springer.
168. **McSweeney, P., L., H., & Fox, P. F. (1997).** Chemical methods for the characterization proteolysis in cheese during ripening. *Lait*. 77(1), 41–76.
169. **Melachouris, N. P., & Tuckey, S. L. (1966).** Changes of the proteins in cheddar cheese made from milk heated at different temperatures. *Journal of Dairy Science*, 49(7), 800–805. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(66\)87949-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(66)87949-3)
170. **Mercier-Bouchard, D., Benoit, S., Doyen, A., Britten, M., & Pouliot, Y. (2017).** Process efficiency of casein separation from milk using polymeric spiral-wound microfiltration membranes. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8838–8848. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13015>
171. **Merin, U., & Daufin, G. (1990).** Crossflow microfiltration in the dairy industry: state-of-the-art. *Dairy Science & Technology*, 70(4), 281–291. <https://doi.org/10.1051/lait:1990421>
172. **Mulder, M. (1996).** Basic principles of membrane technology (2 ed.). Kluwer Academic, Dordrecht, ISBN 0-7923-4248-8.
173. **Mutilangi, W. R. M., & Kilara, A. (1985).** Functional properties of heat-denatured whey protein. I Solubility. *Milchwissenschaft*, 40(6), 338–340
174. **Nazzaro, F., Orlando, P., Fratianni, F., Di Luccia, A., & Coppola, R. (2012).** Protein analysis-on-chip systems in

-
- foodomics. *Nutrients*, 4(10), 1475–1489.
<https://doi.org/10.3390/nu4101475>
- 175. Neelima, Sharma, R., Rajput, Y. S., & Mann, B. (2013).** Chemical and functional properties of glycomacropeptide (GMP) and its role in the detection of cheese whey adulteration in milk: a review. *Dairy Science & Technology*, 93(1), 21–43.
<https://doi.org/10.1007/s13594-012-0095-0>
- 176. Neocleous, M., & Barbano, D. M. (2002).** Rudan Impact of low concentration factor microfiltration on milk component recovery and cheddar cheese yield. *Journal of Dairy Science*, 85, 2415–2424.
- 177. Ng-Kwai-Hang, K. F. (2011).** Milk proteins | heterogeneity, fractionation, and isolation. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 751–764). Elsevier
- 178. Ng-Kwai-Hang, K. F., & Grosclaude, F. (2003).** Genetic polymorphism of milk proteins. In *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins* (pp. 739–816). Springer US.
- 179. Ng-Kwai-Hang, K. F., Hayes, J. F., Moxley, J. E., & Monardes, H. G. (1984).** Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat, and protein production by dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 67(4), 835–840.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81374-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81374-0)
- 180. Ng-Kwai-Hang, K. F., Hayes, J. F., Moxley, J. E., & Monardes, H. G. (1987).** Variation in milk protein concentrations associated with genetic polymorphism and environmental factors. *Journal of Dairy Science*, 70(3), 563–570.
[https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(87\)80042-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(87)80042-5)
-

-
181. **Nieuwenhuijse, H., & Huppertz, T. (2022).** Heat-induced changes in milk salts: A review. *International Dairy Journal*, 126(105220). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105220>
182. **Novak, A. (1996).** Application of membrane filtration in the production of milk protein concentrates. Bulletin 311. Int. Dairy Fed, 26–27.
183. **O'Brien, B., Mehra, R., Connolly, J. F., & Harrington, D. (1999).** Seasonal Variation in the Composition of Irish Manufacturing and Retail Milks: 1. Chemical Composition and Renneting Properties. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 38(1), 53–64. <http://www.jstor.org/stable/25562345>
184. **O'Connell, J. E., Grinberg, V. Y., & de Kruif, C. G. (2003).** Association behavior of β -casein. *Journal of Colloid and Interface Science*, 258(1), 33–39. [https://doi.org/10.1016/s0021-9797\(02\)00066-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9797(02)00066-8)
185. **O'Farrell, P. H. (1975).** High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *Journal of Biological Chemistry*. 250(10), 4007–4021.
186. **O'Mahony, J. A., & Fox, P. F. (2014).** Milk: An Overview. In *Milk Proteins* (pp. 19–73). Elsevier.
187. **O'mahony, J. A., Fox, P. F., & Kelly, A. L. (2013).** Analysis, Electrophoresis. In *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press.
188. **Ong, S. E., & Pandey, A. (2001).** An evaluation of the use of twodimensional gel electrophoresis in proteomics. *Biomolecular Engineering*, 18(5), 195–205.

-
- 189. Ortega, N., Albillos, S. M., & Busto, M. D. (2003).** Application of factorial design and response surface methodology to the analysis of bovine caseins by capillary zone electrophoresis. *Food Control*, 14(5), 307–315. [https://doi.org/10.1016/s0956-7135\(02\)00095-6](https://doi.org/10.1016/s0956-7135(02)00095-6)
- 190. Ostersen, S., Foldager, J., & Hermansen, J. E. (1997).** Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *The Journal of Dairy Research*, 64(2), 207–219. <https://doi.org/10.1017/s0022029996002099>
- 191. Otte, J., Zakora, M., Kristiansen, K., R., & Qvist, K., B. (1997).** Analysis of bovine caseins and primary hydrolysis products in cheese by capillary zone electrophoresis. *Lait*. 77(2), 241–257.
- 192. Ouellette, R. J., & Rawn, J. D. (2018).** Amino Acids, Peptides, and Proteins. In *Organic Chemistry* (pp. 929–971). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812838-1.50029-3>
- 193. Park, S. H., Park, Y. G., Lim, J.-L., & Kim, S. (2015).** Evaluation of ceramic membrane applications for water treatment plants with a life cycle cost analysis. *Desalination and Water Treatment*, 54(4–5), 973–979. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.912162>
- 194. Parris, N., & Baginski, M. A. (1991).** A rapid method for the determination of whey protein denaturation. *Journal of Dairy Science*, 74(1), 58–64. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(91\)78143-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(91)78143-5)

-
195. **Patel, H. A., Singh, H., Anema, S. G., & Creamer, L. K. (2006).** Effects of heat and high hydrostatic pressure treatments on disulfide bonding interchanges among the proteins in skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(9), 3409–3420. <https://doi.org/10.1021/jf052834c>
196. **Pérez, M. D., & Calvo, M. (1995).** Interaction of beta-lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review. *Journal of Dairy Science*, 78(5), 978–988. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76713-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76713-3)
197. **Pesic, M., Barac, M., Vrvic, M., Ristic, N., Macej, O., & Stanojevic, S. (2011).** Qualitative and quantitative analysis of bovine milk adulteration in caprine and ovine milks using native-PAGE. *Food Chemistry*, 125(4), 1443–1449. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.045>
198. **Phelan, M., Aherne, A., FitzGerald, R. J., & O'Brien, N. M. (2009).** Casein-derived bioactive peptides: Biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *International Dairy Journal*, 19(11), 643–654. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.06.001>
199. **Pisano, A., Packer, N. H., Redmond, J. W., Williams, K. L., & Gooley, A. A. (1994).** Characterization of O-linked glycosylation motifs in the glycopeptide domain of bovine kappa-casein. *Glycobiology*, 4(6), 837–844. <https://doi.org/10.1093/glycob/4.6.837>
200. **Post, A. E., Arnold, B., Weiss, J., & Hinrichs, J. (2012).** Effect of temperature and pH on the solubility of caseins:
-

-
- environmental influences on the dissociation of α (S)- and β -casein. *Journal of Dairy Science*, 95(4), 1603–1616. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4641>
- 201. Pouliot, Y. (2008).** Membrane processes in dairy technology—From a simple idea to worldwide panacea. *International Dairy Journal*, 18(7), 735–740. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.005>
- 202. Poulsen, N. A., Jensen, H. B., & Larsen, L. B. (2016).** Factors influencing degree of glycosylation and phosphorylation of caseins in individual cow milk samples. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3325–3333. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10226>
- 203. Rafiq, S., Huma, N., Pasha, I., Sameen, A., Mukhtar, O., & Khan, M. I. (2015).** Chemical composition, nitrogen fractions and amino acids profile of milk from different animal species. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(7), 1022–1028. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0452>
- 204. Rebouillat, S., & Ortega-Requena, S. (2015).** Potential applications of milk fractions and valorization of dairy by-products: A review of the state-of-the-art available data, outlining the innovation potential from a bigger data standpoint. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 06(03), 176–203. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2015.63018>
- 205. Recio, I., Pérez-Rodríguez, M.-L., Ramos, M., & Amigo, L. (1997).** Capillary electrophoretic analysis of genetic variants of milk proteins from different species. *Journal of Chromatography A*, 768(1), 47–56. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(96\)00889-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(96)00889-8)

-
206. **Recio, I., Ramos, M., & López-Fandino, R. (2001).** Capillary electrophoresis for the analysis of food proteins of animal origin. *Electrophoresis*. 22(1) 1489–1502.
207. **Recio, I., & Oileman, C. (1996).** Determination of denatured serum proteins in the casein fraction of heat-treated milk by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis*. 17(7) 1228–1233.
208. **Reico, I., Molina, E., Ramos, M., & de Frutos, M. (1995).** Quantitative analysis of major whey proteins by capillary electrophoresis using uncoated capillaries. *Electrophoresis*. 16 (4) 654–658.
209. **Reig, M., Vecino, X., & Cortina, J. L. (2021).** Use of membrane technologies in dairy industry: An overview. *Foods* (Basel, Switzerland), 10(11), 2768. <https://doi.org/10.3390/foods10112768>
210. **Reynolds, J. A., & Tanford, C. (1970).** The gross conformation of protein-sodium dodecyl sulfate complexes. *The Journal of Biological Chemistry*, 245(19), 5161–5165. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)62831-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)62831-5)
211. **Rijnkels, M. (2002).** Multispecies comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7(3), 327–345. <https://doi.org/10.1023/a:1022808918013>.
212. **Rowland, S. J. (1938).** 176. The Determination of the nitrogen distribution in milk. *In Journal of Dairy Research*, (Vol. 9,(1) Cambridge University Press (CUP). <https://doi.org/10.1017/s0022029900002296>.
-

-
213. **Saboyainsta, L. V., & Maubois, J. L. (2000).** Current developments of microfiltration technology in the dairy industry. *Dairy Science & Technology*, 80(6), 541–553. <https://doi.org/10.1051/lait:2000144>
214. **Sadiq, U., Gill, H., & Chandrapala, J. (2021).** Casein Micelles as an Emerging Delivery System for Bioactive Food Components. *Foods* (Basel, Switzerland), 10(8), 1965. <https://doi.org/10.3390/foods10081965>
215. **Sáez-Plaza, P., Michałowski, T., Navas, M. J., Asuero, A. G., & Wybraniec, S. (2013).** An overview of the kjeldahl method of nitrogen determination. Part I. early history, chemistry of the procedure, and titrimetric finish. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 178–223. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751786>
216. **Salunke, P., Marella, C., Metzger, & L. E. (2021).** Microfiltration and Ultrafiltration Process to Produce Micellar Casein and Milk Protein Concentrates with 80% Crude Protein Content: Partitioning of Various Protein Fractions and Constituents. *Dairy*. 2(3), 367–384. <https://doi.org/10.3390/dairy2030029>
217. **Schagger, H. (2006).** Tricine - SDS-PAGE. *Nature Protocols*, 1(1) 16–22.
218. **Schiffer, S., & Kulozik, U. (2020).** Effect of Temperature-Dependent Bacterial Growth during Milk Protein Fractionation by Means of 0.1 µm Microfiltration on the Length of Possible Production Cycle Times. *Membranes*, 10(11), 326. <https://doi.org/10.3390/membranes10110326>
-

-
219. **Schiffer, S., Adekunle, B. T., Matyssek, A., Hartinger, M., & Kulozik, U. (2021).** Effect of Pre-Heating Prior to Low Temperature 0.1 μm -Microfiltration of Milk on Casein-Whey Protein Fractionation. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(5), 1090. <https://doi.org/10.3390/foods10051090>
220. **Schmidt, D. G. (1982).** Association of caseins and casein micelles structure. In P. F. Fox (Ed.), *Developments in Dairy Chemistry-I. Proteins* (pp. 61–86). Elsevier Applied Science Publisher.
221. **Shapiro, A. L., Vinuela, E., & Maizel, J. V. (1967).** Molecular weight estimation of polypeptide chains by electrophoresis in SDS-polyacrylamide gels. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 28, 815–820.
222. **Sharma, N., Sharma, R., Rajput, Y. S., Mann, B., Singh, R., & Gandhi, K. (2021).** Separation methods for milk proteins on polyacrylamide gel electrophoresis: Critical analysis and options for better resolution. *International Dairy Journal*, 114(104920), 104920. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104920>
223. **Sheehan, D. (2009).** *Physical Biochemistry: Principles and Applications*. John Wiley & Sons.
224. **Sík, B., Buzás, H., Kapsándi V., Lakatos E., Daróczy F., Székelyhidi, R., (2023).** Antioxidant and polyphenol content of different milk and dairy products. *Journal of King Saud University – Science*.
225. **Singh, H. (1995).** Heat induced changes in casein including interactions with whey proteins. In *Heat-induced changes in milk. International Dairy Federation* (pp. 86–99).
-

-
226. **Singh, J., Prakash, S., Bhandari, B., & Bansal, N. (2019).** Ultra high temperature (UHT) stability of casein-whey protein mixtures at high protein content: Heat induced protein interactions. *Food Research International* (Ottawa, Ont.), 116, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.049>
227. **Smirnova, A., Konoplev, G., Mukhin, N., Stepanova, O., & Steinmann, U. (2020).** Milk as a complex multiphase polydisperse system: Approaches for the quantitative and qualitative analysis. *Journal of Composites Science*, 4(4), 151. <https://doi.org/10.3390/jcs4040151>
228. **Smith, B. J. (1984).** SDS polyacrylamide gel electrophoresis of proteins. Humana Press.
229. **Smithies, O. (1955).** Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. *The Biochemical Journal*, 61(4), 629–641. <https://doi.org/10.1042/bj0610629>
230. **Strange, E. D., - Van Hekken, D., & Thompson, M. P. (1991).** Qualitative and quantitative determination of caseins with reverse phase and anion exchange HPLC. *Journal of Food Science*, 56(1), 1415–1420.
231. **Strickland, M., Johnson, M. E., & Broadbent, J. R. (2001).** Qualitative and quantitative analysis of proteins and peptides in milk products by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*. 22(8), 1510–1517.
232. **Subhir, S., McSweeney, P. L. H., Fenelon, M. A., Magan, J. B., & Tobin, J. T. (2022).** Suitability of nitrogen fractions determination to assess serum protein separation efficiency from a

- mass balance perspective during microfiltration of skim milk. In *International Dairy Journal* 128(105319). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105319>
- 233. Summer, A., Di Frangia, F., Ajmone Marsan, P., De Noni, I., & Malacarne, M. (2020).** Occurrence, biological properties and potential effects on human health of β -casomorphin 7: Current knowledge and concerns. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(21), 3705–3723. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1707157>
- 234. Svanborg, S., Johansen, A.-G., Abrahamsen, R. K., & Skeie, S. B. (2014).** Initial pasteurisation effects on the protein fractionation of skimmed milk by microfiltration. *International Dairy Journal*, 37(1), 26–30. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.02.004>
- 235. Swaisgood, H.E. (1989).** Structural Changes in Milk Proteins. In: Barth, C.A., Schlimme, E. (eds) *Milk Proteins*. Steinkopff. https://doi.org/10.1007/978-3-642-85373-9_30
- 236. Szakály, S. (2001).** *Tejgazdaságtan*, Dinasztia Kiadó, Budapest
- 237. Tan, T. J., Wang, D., & Moraru, C. I. (2014).** A physicochemical investigation of membrane fouling in cold microfiltration of skim milk. *Journal of Dairy Science*, 97(8), 4759–4771. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7957>
- 238. Tanford, C., Bunville, L. G., & Nozaki, Y. (1959).** The reversible transformation of b-lactoglobulin at pH 7.51. *Journal of the American Chemical Society*, 81, 4032–4036.

-
239. **Taulier, N., & Chalikian, T. V. (2001).** Characterization of pH-induced transitions of b-lactoglobulin: Ultrasonic, densimetric, and spectroscopic studies. *Journal of Molecular Biology*, 314, 873–889.
240. **Threadgill, D. W., Womack, J. E. (1990).** Genomic analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Research*. 18, (23) 6935-6942.
241. **Tran, N. T., Ayed, I., Pallandre, A., & Taverna, M. (2010).** Recent innovations in protein separation on microchips by electrophoretic methods: an update. *Electrophoresis*, 31(1), 147–173. <https://doi.org/10.1002/elps.200900465>
242. **Tremblay, L., Laporte, M. F., Léonil, J., Dupont, D., & Paquin, P. (2003).** Quantitation of proteins in milk and milk products. In *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins* (pp. 49–138). Springer US.
243. **Tremblay-Marchand, D., Doyen, A., Britten, M., & Pouliot, Y. (2016).** A process efficiency assessment of serum protein removal from milk using ceramic graded permeability microfiltration membrane. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5230–5243. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10914>
244. **van Hekken, D. L., & Holsinger, V. H. (2000).** Use of cold microfiltration to produce unique β -casein enriched milk gels. *Dairy Science & Technology*, 80(1), 69–76. <https://doi.org/10.1051/lait:2000108>
245. **Verdi, R. J., Barbano, D. M., Dellavalle, M. E., & Senyk, G. F. (1987).** Variability in true protein, casein, nonprotein nitrogen, and proteolysis in high and low somatic cell milks.
-

-
- Journal of Dairy Science*, 70(2), 230–242.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80002-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80002-4)
- 246. Visser, S., Slangen, C. J., & Rollema, H. S. (1991).** Phenotyping of bovine milk proteins by reversed-phase highperformance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 548(1–2), 361–370.
- 247. Vreeman, H. J., Visser, S., Slangen, C. J., & Van Riel, J. A. (1986).** Characterization of bovine kappa-casein fractions and the kinetics of chymosin-induced macropeptide release from carbohydrate-free and carbohydrate-containing fractions determined by high-performance gel-permeation chromatography. *The Biochemical Journal*, 240(1), 87–97.
<https://doi.org/10.1042/bj2400087>
- 248. Walstra, P. (1999).** Casein sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal*, 9(3/6), 189–192.
- 249. Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006).** Dairy Science and Technology. Taylor and Francis Group.
- 250. Wang, J., Zhang, Q.-H., Wang, Z.-H., & Li, H.-M. (2009).** Determination of major bovine milk proteins by reversed phase high performance liquid chromatography. *Fenxi Huaxue*, 37(11), 1667–1670. [https://doi.org/10.1016/s1872-2040\(08\)60146-2](https://doi.org/10.1016/s1872-2040(08)60146-2)
- 251. Wedholm, A., Larsen, L. B., Lindmark-Mansson, H., Karlsson, A. H., & - Andrén, A. (2006).** Effect of protein composition on the cheesemaking properties of milk from individual dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89(9), 3296–3305.
-

-
252. **Westermeier, R. (2011).** Electrophoresis in Gels. In *Methods of Biochemical Analysis* (pp. 363–377). John Wiley & Sons, Inc.
253. **Wijayanti, H. B., Bansal, N., & Deeth, H. C. (2014).** Stability of whey proteins during thermal processing: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1235–1251. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12105>
254. **Wilbanks, D. J., Lee, M. R., Rahimi, Y. S., & Lucey, J. A. (2023).** Comparison of micellar casein isolate and nonfat dry milk for use in the production of high-protein cultured milk products. *Journal of Dairy Science*, 106(1), 61–74. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22400>
255. **Yukalo, V., Datsyshyn, K., & Storozh, L. (2019).** Electrophoretic system for express analysis of whey protein fractions. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 2(11 (98)), 37–44. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2019.160186>
256. **Zulewska, J., & Barbano, D. M. (2013).** Influence of casein on flux and passage of serum proteins during microfiltration using polymeric spiral-wound membranes at 50°C. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2048–2060. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6032>
257. **Zulewska, J., Kowalik, J., & Dec, B. (2018).** Flux and transmission of β -casein during cold microfiltration of skim milk subjected to different heat treatments. *Journal of Dairy Science*, 101(12), 10831–10843. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14496>

Internetes hivatkozások jegyzéke:

URL1: <https://www.arlafoodsingredients.com/medical-nutrition/explore-industry/ingredients--solutions/whey-more-potent/>

Letöltés dátuma: 2024.04.17.

URL2: https://www.adpi.org/wp-content/uploads/2023/10/Concentrated-Milk-Proteins-Standard-v2.1_2023.pdf

Letöltés dátuma: 2024.04.18

10. MELLÉKLETEK

1. sz. melléklet: β -CN fehérje genetikai variánsainak aminosav változásai az aminosavszekvenciában (209 AA)

β -CN variáns	Aminosavsorszám													
	18	25	35	36	37	67	72	88	93	106	117	122	137	138
A2	Ser-P	Arg	Ser-P	Glu	Glu	Pro	Glu	Leu	Gln	His	Gln	Ser	Leu	Pro
A1						His								
A3										Glu				
B						His						Arg		
C			Ser		Lys	His								
D	Lys													
E				Lys										
F						His								Leu
G						His						Leu		
H1		Cys						Ile						
H2							Glu		Leu					Glu
H3									Leu					
I	Ser-P	Arg	Ser-P	Glu	Pro	Pro	Glu	Leu	Gln	His	Gln	Ser	Leu	Pro

2. sz. melléklet: β -LG fehérje genetikai variánsainak aminosav változásai az aminosavszekvenciában (162 AA)

β -LG variáns	Aminosavsorszám										
	28	45	50	56	59	64	78	108	118	129/130	158
A						Asp			Val		
B	Aps	Glu	Pro	Ile	Gln	Gly	Ile	Glu	Ala	Asp	Glu
C					His						
D		Gln									
Dr	Asn					Asp			Val		
E											Gly
F			Ser							Tyr	Gly
G							Met				Gly
W				Leu							
I								Gly			

3. számú melléklet: A 0,2 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofíljája (1a kísérlet).

Minta megnevezése	κ-CN	αs-CN	β-CN	α-LA	β-LGB	β-LGA
	mg/100 g					
Fölözött tej	328,8±7,2	1518,9±9,6	962,4±5,2	89,1±0,3	105,9±0,5	184,5±0,7
MFcc VR 20%	705,8±11,2	3204,7±12,3	1801,2±6,4	150,6±0,7	206±0,3	376,9±1,3
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	39,6±0,2	29,5±1,3	32±0,6
MFcc VR 40%	642±10,5	3442,1±4,1	1880,8±11,3	162,2±1,1	227,6±0,2	402,3±0,4
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	43,8±0,2	29,8±0,1	32,8±0,4
MFcc VR 66%	2122,6±13,2	6573,3±22,7	5417±12,5	241,6±0,6	369,3±2,2	636,9±0,1
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	61,9±0,3	36,8±0,7	47,2±0,6
MFcc VR 66% DF 60%	1206,4±4,9	5741,9±17,5	3324±8,9	175,2±0,3	337,4±1,1	572,2±3,2
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	61,7±0,5	53,1±0,6	79,9±0,6
MFcc VR 66% DF 120%	1521,3±12	6814±14,6	3968±12,3	157±0,3	365,4±0,9	628±0,7
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	43,7±0,1	48,9±0,1	71,2±0,4

4. számú melléklet: A 0,2 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofílja (1b kísérlet).

Minta megnevezése	κ-CN	α _s -CN	β-CN	α-LA	β-LGB	β-LGA
	mg/100 g					
Fölözött tej	364,8±6,1	1487,5±16,7	857,6±10,9	75±0,6	98,5±1,3	161,7±2,9
MFcc VR 20%	625,2±22,8	2439,9±47,1	1503,6±14,9	111,5±1,7	153,3±1,3	245,6±5
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	26,7±0,3	22,3±0,2	19,4±0,2
MFcc VR 40%	730,2±10,5	2954,7±48	1784,9±16,7	127,1±1	179±1,4	292,8±2,4
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	26,2±0,3	21,6±0,1	17,2±0,5
MFcc VR 66%	1326,8±17,1	4840,1±103,2	2970±44,9	195,2±0,8	294,8±1,5	465,6±1,3
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	37,6±0,1	25,7±0,2	26,1±0,8
MFcc VR 66% DF 60%	1012,2±0,6	3958,7±25,9	2447,4±14,2	131±3,1	238,6±2,2	357,7±0,8
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	36,9±0,6	32,9±0,4	38,4±0,6
MFcc VR 66% DF 120%	1137,7±15	4566,4±77,2	2738,5±40,2	111,2±2,4	239,3±6,7	377,6±3,2
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	28,1±0,7	30,6±0,1	35,3±1,3

5. számú melléklet: A 0,2 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofíljája (1c kísérlet).

Minta megnevezése	κ-CN	α _s -CN	β-CN	α-LA	β-LGB	β-LGA
	mg/100 g					
Fölözött tej	329,2±9,5	1576,8±92,1	958,9±55,6	63,3±2,6	88,8±2	157,6±6
MFcc VR 20%	613,4±12,5	2630,7±30,1	1600,3±45,2	88,2±4,9	145,9±5,1	239,7±1,9
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	25,3±0,7	25,2±0,3	24,5±0,3
MFcc VR 40%	729,8±31,6	3411,1±46,2	2040,5±53,1	110,8±0,4	181,2±0,8	303,8±3,4
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	25,6±0,1	24,5±0,3	22,4±0,5
MFcc VR 66%	1140,6±60,2	4849,2±241,4	3009,1±131,8	148±7,6	272,5±10,4	446,8±2,2
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	32,4±0,7	27±0,6	27,4±1
MFcc VR 66% DF 60%	1174±35	5096,4±110,4	2984,9±128,7	115,5±2,8	249,5±14,7	410,9±14,6
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	36,5±1,1	35,8±1	43,9±0,7
MFcc VR 66% DF 120%	1122,2±34,3	4964,8±265,2	3077,3±123,3	89±3,5	235,1±9,7	362,8±19,8
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	30,6±1,5	35,4±1,2	43,4±0,5

6. számú melléklet: A 0,2 µm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofilja (2a kísérlet).

Minta megnevezése	κ-CN	α _s -CN	β-CN	α-LA	β-LGB	β-LGA
	mg/100 g					
Fölözött tej	321,8±20,7	1294,8±116,2	637,6±64,3	72,5±6,6	87,2±8,4	148,2±15,9
MFcc VR 20%	1015,6±28,2	4119,4±69,4	2508,7±47,6	129,5±1,3	184,5±3,6	311,8±3,6
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	40,4±3,2	35,3±2,7	46,8±2,5
MFcc VR 40%	953,2±35	4052,6±184,3	2497,7±91,2	128,6±8,3	186,2±8,6	312,3±9,6
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	40,4±0,7	35,7±1,3	47,8±0,6
MFcc VR 66%	1359,7±87,4	5321,9±296,6	3332,6±161,8	143,8±8,2	237,9±12,9	367,4±21,8
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	49,1±0,8	45,9±1,1	66,5±0,8
MFcc VR 66% DF 60%	1405,1±58,3	5598,6±154,3	3372±111,4	101±1,2	193,2±4,1	288,6±8,2
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	40,9±7,1	54,2±8,9	82,6±15,9
MFcc VR 66% DF 120%	1578,5±51,8	5798,7±268,2	3617,5±103,5	61,9±3,5	138,3±6,5	193,5±0,6
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	28,2±1,2	45,9±1,2	69,4±2,5

7. számú melléklet: A 0,2 µm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofíljája (2b kísérlet).

Minta megnevezése	κ-CN	α _s -CN	β-CN	α-LA	β-LGB	β-LGA
	mg/100 g					
Fölözött tej	272,9±6,7	1363,5±33	823,1±15,2	68,3±0,4	83,8±0,3	142,7±1,8
MFcc VR 20%	568,4±7,2	2738,3±189,4	1716,1±46,2	108,5±2,3	149,9±9,6	241,9±9,9
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	27,5±1,7	30,3±2,4	34,4±3,3
MFcc VR 40%	733,9±30,1	3393,9±131,8	2045,7±49,5	119,7±1,9	164,1±2,5	287,2±6,5
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	19,3±2,6	31,6±2,5	39±3,9
MFcc VR 66%	1116,4±46,8	4758,7±94,4	2960,4±77,9	143,6±6,6	220±10,1	367,8±15,9
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	52,5±1,5	49,5±1,5	70,4±3,4
MFcc VR 66% DF 60%	1155,5±41,9	5096,3±273	2926,4±169,3	97,8±12,5	188,1±8,1	288,2±4
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	39,5±2,2	48,9±1,4	72,2±2
MFcc VR 66% DF 120%	1037,9±35,7	4697,2±446,1	3004±71,7	70,8±1,3	153,2±2,6	220,5±3,4
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	23,4±0,8	36,4±1	47,6±0,9

8. számú melléklet: A 0,2 μm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofíljája (2c kísérlet).

Minta megnevezése	κ -CN	α s-CN	β -CN	α -LA	β -LGB	β -LGA
	mg/100 g					
Fölözött tej	336,5 \pm 13,6	1331,9 \pm 62,9	804 \pm 26,7	60,6 \pm 4,3	88,3 \pm 6,4	140,6 \pm 8,2
MFcc VR 20%	550,6 \pm 4,2	2024,4 \pm 165,6	1236,4 \pm 46,7	86,6 \pm 5,3	134 \pm 13,2	204,9 \pm 9,3
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	13,8 \pm 1,1	23,1 \pm 0,5	22,3 \pm 0,9
MFcc VR 40%	659,1 \pm 11	2416,6 \pm 226,7	1523,3 \pm 22,3	100,5 \pm 6,1	154,3 \pm 10,5	244 \pm 16,1
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	20 \pm 0,8	25 \pm 1,5	26,1 \pm 0,7
MFcc VR 66%	1207,4 \pm 10,6	4052 \pm 85,3	2498 \pm 24	151,4 \pm 7,8	260,1 \pm 7,6	388,2 \pm 6,6
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	26,7 \pm 1,8	29 \pm 0,8	35,2 \pm 0,1
MFcc VR 66% DF 60%	1235 \pm 41,8	3990,1 \pm 179,2	2435,8 \pm 64,3	134,1 \pm 13,5	241 \pm 26,8	361,8 \pm 27,1
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	22,2 \pm 2,5	29,3 \pm 1,7	32,9 \pm 1,6
MFcc VR 66% DF 120%	1222,6 \pm 19,4	4333 \pm 201,4	2512,2 \pm 71	112,2 \pm 9	229,8 \pm 17,7	358,4 \pm 19,1
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	17,3 \pm 1,1	25,5 \pm 0,9	24,5 \pm 0,6

9. számú melléklet: A 0,5 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofíljája (3a kísérlet).

Minta megnevezése	κ-CN	α _s -CN	β-CN	α-LA	β-LGB	β-LGA
	mg/100 g					
Fölözött tej	378,3±19,2	1573,6±37,5	940,6±17	59,8±4,4	91,2±6,1	169,5±7,3
MFcc VR 20%	541,8±49,4	2250,7±61	1372,1±40,2	82,3±4,9	135,2±5	232,2±7,6
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	17,1±1,4	27,1±2,6	31,5±1,1
MFcc VR 40%	667±15,4	2730,1±134,6	1691,2±47,9	92,1±3,5	154,2±11,2	284±11
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	22,9±0,7	29,9±2	36,8±2
MFcc VR 66%	1147,8±73	4794,4±190,1	2773,1±133	139±7,3	258,7±5,1	441,2±6,8
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	35±1,2	38,6±1,7	55,6±0,9
MFcc VR 66% DF 60%	1128,7±24,1	4557,7±28,9	2728,7±58,5	99,1±3,3	217,4±3,5	376,2±8,9
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	34,8±2	46,3±2,6	71,3±2,8
MFcc VR 66% DF 120%	1235,1±12,5	4921,1±312,1	2857,7±139,7	76,6±3,1	196,6±6,6	324,5±12,2
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	27,8±0,8	44,7±2,7	69,2±2,6

10. számú melléklet: A 0,5 μm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofíljaja (3b kísérlet).

Minta megnevezése	κ -CN	α S-CN	β -CN	α -LA	β -LG B	β -LG A
	mg/100 g					
Fölözött tej	334,8±20,7	1463,5±30	962,4±5,0	116,5±2,5	241,4±5,2	241,4±5,3
MFcc VR 20%	465,2±30,2	2221,7±61	1299,1±10,2	152,7±3,4	328,2±1,2	328,2±7,7
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	52,7±72,2	116,5±1,4	116,5±0,9
MFcc VR 40%	624,2±11,4	2830,1±100,6	1459,4±12	177,3±3,1	360,5±4,2	360,5±7,0
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	21,4±25,2	24±1,7	24±1,3
MFcc VR 66%	1217,8±47,3	4892,4±111,1	25237,1±10,3	252,1±3,3	531±6,4	531±8,2
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	23,9±27	26,3±1,4	26,3±0,8
MFcc VR 66% DF 60%	1247,11±9,9	4657±29,2	2822,1±44,0	235,2±2,9	480,7±6,9	480,7±7,9
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	31,6±31,8	37,6±1,8	37,6±2,9
MFcc VR 66% DF 120%	1219,65±13	4757±22,3	2812,3± 32,9	196,4±4,0	431,7±7,7	431,7±3,2
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	24,5±31,4	36,3±0,7	36,3±1,6

11. számú melléklet: A 0,5 μm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofíljaja (3c kísérlet).

Minta megnevezése	κ -CN	α -CN	β -CN	α -LA	β -LG B	β -LG A
	mg/100 g					
Fölözött tej	324,5±121	1318,8±114,2	942,4±5,2	52,7±1	72,2±2,2	116,5±0,8
MFcc VR 20%	524,6±2,1	4034,4±54,6	1801,2±6,4	69,2±1,1	106,3±1,6	152,7±0,6
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	52,7±72,2	116,5±2,2	116,5±0,8
MFcc VR 40%	701,1±8,1	4052,6±184,3	1880,8±11,3	71,2±2,6	112±1,5	177,3±1,1
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	21,4±25,2	24±1,6	24±0,6
MFcc VR 66%	1134,4±8,6	5429,1±192,6	5417,2±12,5	101,3±1,3	177,6±1,1	252,1±1,2
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	23,9±27	26,3±1,5	26,3±1,1
MFcc VR 66% DF 60%	1248,65±11,2	5621,5±123,3	3324,3±8,9	81,3±2,4	164,1±1,6	235,2±1,1
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	31,6±31,8	37,6±1,1	37,6±1,2
MFcc VR 66% DF 120%	1224,6±11,0	5589,3±99,3	3968±12,3	80,1±1	155,2±0	196,4±0
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	24,5±31,4	36,3±1,6	36,3±1,1

12.számú melléklet: A 0,5 μm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofilja (4a kísérlet).

Minta megnevezése	κ -CN	α s-CN	β -CN	α -LA	β -LG B	β -LG A
	mg/100 g					
Fölözött tej	248,8 \pm 22,2	1155,7 \pm 116,2	725,8 \pm 64,3	45,1 \pm 6,6	60,9 \pm 8,4	109,8 \pm 15,9
MFcc VR 20%	465 \pm 34,1	2048,2 \pm 69,4	1301,6 \pm 47,6	91,2 \pm 1,3	60,2 \pm 3,6	157,3 \pm 3,6
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	45,1 \pm 0,6	60,9 \pm 1,3	109,8 \pm 2,9
MFcc VR 40%	508,3 \pm 41,3	2542,3 \pm 184,3	1531,8 \pm 91,2	111 \pm 8,3	69,1 \pm 8,6	191,1 \pm 9,6
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	26,4 \pm 1,7	33,9 \pm 1,3	46,5 \pm 5
MFcc VR 66%	1098,5 \pm 52,3	3628,9 \pm 296,6	2289 \pm 161,8	161,6 \pm 8,2	84,6 \pm 12,9	251,5 \pm 21,8
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	28,6 \pm 1	36,3 \pm 1,4	52,7 \pm 2,4
MFcc VR 66% DF 60%	802,1 \pm 71,4	3751,4 \pm 154,3	2375 \pm 111,4	135,7 \pm 1,2	62,4 \pm 4,1	202,6 \pm 8,2
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	34,6 \pm 0,8	42,1 \pm 1,5	64,1 \pm 1,3
MFcc VR 66% DF 120%	897,6 \pm 69,3	3925,3 \pm 268	2429 \pm 103,5	119,3 \pm 3,5	51 \pm 6,5	170,4 \pm 0,6
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	23,7 \pm 3,1	35,7 \pm 2,2	50,5 \pm 0,8

13. számú melléklet: A 0,5 μm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofilja (4b kísérlet)

Minta megnevezése	κ -CN	α S-CN	β -CN	α -LA	β -LG B	β -LG A
	mg/100 g					
Fölözött tej	353,5±4,8	4,8±1190	1190±56,7	56,7±721,2	721,2±30,4	30,4±49,8
MFcc VR 20%	563,7±30	30±2064,5	2064,5±69,3	69,3±1350,3	1350,3±74,9	74,9±68,8
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	49,8±1,5	71,1±1,3	115,1±2,3
MFcc VR 40%	699,8±40,9	40,9±2680,6	2680,6±97,5	97,5±1648	1648±39,7	39,7±74,4
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	20,1±1	29,2±1,6	34±0,7
MFcc VR 66%	782,5±74,3	74,3±3609,8	3609,8±102	102±2339,9	2339,9±53,9	53,9±91,6
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	21,3±2,6	32±3,4	40,4±6,6
MFcc VR 66% DF 60%	921,1±17,8	17,8±3266,9	3266,9±85,3	85,3±1934,6	1934,6±124,3	124,3±68,9
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	24,3±1,9	41,7±2,6	58,9±4,2
MFcc VR 66% DF 120%	861,7±136,1	136,1±3600,7	3600,7±112,1	112,1±2282,6	2282,6±52,2	52,2±54,1
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	18,5±1,3	36,9±2,2	47,5±5

14. számú melléklet: A 0,5 µm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fehérjeprofilja (4c kísérlet).

Minta megnevezése	κ-CN	αs-CN	β-CN	α-LA	β-LGB	β-LGA
	mg/100 g					
Fölözött tej	332,9±1,7	1048±63,5	636,3±48,2	44,7±1,7	63,7±2	111,5±1,6
MFcc VR 20%	589±16,5	1658,2±55,2	1047±39,1	59,9±3,1	99±4,1	155,9±7,1
MFperm VR 20%	<LOD	<LOD	<LOD	14,3±0,1	38,7±1,6	35,6±2,1
MFcc VR 40%	641,5±26,7	1928,4±44,6	1181,8±51,1	68,8±5,8	108,2±7,8	177,2±15,2
MFperm VR 40%	<LOD	<LOD	<LOD	16,6±1,1	40,5±2,3	42±1,7
MFcc VR 66%	1139,5±50	3087,8±159,5	2068,3±114,6	94,8±6,5	174,7±8,3	259±19,5
MFperm VR 66%	<LOD	<LOD	<LOD	19,1±1,1	42,8±2,5	53,6±1,2
MFcc VR 66% DF 60%	1136,2±47	3067,7±101,7	1872,8±68,3	67,6±4,7	140,3±2,8	199,9±8,9
MFperm VR 66% DF 60%	<LOD	<LOD	<LOD	16,3±1,3	37,6±3,2	39,5±1,6
MFcc VR 66% DF 120%	1079,4±39,8	2765,2±103,6	1759,9±7,7	46±2,9	115,3±1,5	148,1±0,8
MFperm VR 66% DF 120%	<LOD	<LOD	<LOD	13,8±0,7	28,9±2,1	33,6±1,6

15. számú melléklet: A 0,2 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paraméterei (1a kísérlet)

Minta megnevezése:	Szárazanyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjetartalom (TN × 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	8,65	0,06	3,21	2,41	0,61	0,19	0,67	4,71	6,82	5,80
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	4,63	3,58	0,86	0,19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	7,35	5,80	1,30	0,20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,29	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	15,19	0,18	9,04	7,22	0,67	0,24	1,24	4,73	6,82	13,44
7. MFperm VR 66%	n.a.	n.a.	0,34	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
8. MF átlag permeátum	n.a.	n.a.	0,29	<0,038	0,07	0,19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	9,80	8,00	1,68	0,12	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,29	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	10,02	0,19	9,83	8,10	1,36	0,10	n.a.	n.a.	6,99	7,60
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,21	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	n.a.	n.a.	0,14	<0,038	0,08	0,05	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

16. számú melléklet: A 0,2 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paraméterei (1b kísérlet).

Minta megnevezése:	Száranyag-tartalom	Zsír tartalom	Fehérjeteralom (TN × 6,38)	Kazeinféherje	Savóféherje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	8,56	0,10	3,20	2,42	0,59	0,19	0,73	4,53	6,78	6,82
2. MFec VR 20%	n.a.	n.a.	4,93	3,68	0,88	0,37	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,27	n.a.	n.a.	0,08	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFec VR 40%	n.a.	n.a.	6,08	4,62	1,08	0,38	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,27	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFec VR 66%	13,82	0,30	8,67	6,88	1,40	0,21	1,15	3,70	6,78	12,08
7. MFperm VR 66%	n.a.	n.a.	0,30	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
8. MF átlag permeátum	n.a.	n.a.	0,28	<0,038	0,19	0,09	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
9. MF/DFec VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	8,72	7,05	1,55	0,12	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,22	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFec VR 66% DF 120%	9,93	0,31	8,79	7,25	1,45	0,09	0,73	0,10	6,97	7,20
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	n.a.	<0,031	0,13	<0,038	0,07	0,06	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

17. számú melléklet: A 0,2 µm porusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paramétereit (1c kísérlet).

Minta megnevezése:	Száranyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjetartalom (TN × 6,38)	Kazeinféherje	Savóféherje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	8,75	0,20	3,42	2,58	0,70	0,14	0,71	4,42	6,78	6,60
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	5,52	4,33	1,05	0,14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,27	<0,038	0,12	0,14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	6,74	5,32	1,28	0,14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,28	<0,038	0,13	0,14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	14,63	0,40	9,40	7,56	1,69	0,15	1,14	3,69	6,76	12,00
7. MFperm VR 66%	4,49	0,04	0,30	<0,038	0,14	0,14	0,46	3,69	6,86	3,40
8. MF átlag permeátum	5,29	<0,031	0,26	<0,038	0,11	0,14	0,47	4,53	0,89	3,20
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	12,25	0,45	9,41	7,67	1,68	0,06	0,94	1,45	6,94	9,00
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,27	<0,038	0,21	0,05	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	10,64	0,44	8,93	7,38	1,53	0,03	0,81	0,46	7,03	7,20
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,17	<0,038	0,16	0,02	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	1,68	<0,031	0,11	<0,038	0,07	0,04	0,14	1,40	7,09	0,92

18. számú melléklet: A 0,2 µm porusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paramétereit (2a kísérlet).

Minta megnevezése:	Száranyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjetartalom (TN × 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	9,36	0,04	3,14	n.a.	n.a.	0,18	0,73	4,82	6,89	6,52
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	7,87	n.a.	n.a.	0,19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,33	n.a.	n.a.	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	7,72	n.a.	n.a.	0,20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,34	n.a.	n.a.	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	16,40	0,29	9,53	n.a.	n.a.	0,21	1,26	4,17	6,85	12,60
7. MFperm VR 66%	n.a.	n.a.	0,40	n.a.	n.a.	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
8. MF átlag permeátum	n.a.	n.a.	0,36	n.a.	n.a.	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	10,09	n.a.	n.a.	0,10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,32	n.a.	n.a.	0,08	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	13,50	0,33	10,13	n.a.	n.a.	0,10	1,04	0,74	6,92	5,40
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,24	n.a.	n.a.	0,04	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	n.a.	n.a.	0,25	n.a.	n.a.	0,06	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

19. számú melléklet: A 0,2 µm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paramétereit (2b kísérlet).

Minta megnevezése:	Száranyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjetartalom (TN × 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	8,93	0,08	3,26	2,44	0,61	0,21	0,72	4,87	6,73	7,10
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	5,50	4,30	1,00	0,20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,32	n.a.	n.a.	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	6,51	5,14	n.a.	0,21	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,36	n.a.	n.a.	0,13	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	15,28	0,23	9,17	7,43	1,38	0,21	1,26	4,62	6,70	17,80
7. MFperm VR 66%	5,74	0,04	0,47	<0,038	0,31	0,13	0,37	4,86	6,66	3,16
8. MF átlag permeátum	5,56	0,08	0,37	<0,038	0,23	0,13	0,40	4,71	6,68	3,00
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	12,53	0,21	9,20	7,55	1,54	0,11	1,04	2,08	6,99	9,08
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,33	n.a.	n.a.	0,08	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	11,41	0,21	9,33	7,75	1,51	0,07	0,90	0,97	6,60	9,88
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,20	n.a.	n.a.	0,04	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	1,74	0,13	0,22	<0,038	0,16	0,06	0,16	1,23	6,89	1,00

20. számú melléklet: A 0,2 µm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paraméterei (2c kísérlet).

Minta megnevezése:	Szárazanyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjetartalom (TN × 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	8,68	0,08	3,28	2,50	0,61	0,17	0,72	4,60	6,69	6,40
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	4,70	3,68	0,87	0,16	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,26	n.a.	n.a.	0,16	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	5,98	4,73	1,06	0,19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,27	n.a.	n.a.	0,16	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	14,18	0,38	9,09	7,35	1,55	0,19	1,21	3,50	6,00	21,60
7. MFperm VR 66%	4,89	0,07	0,33	<0,038	0,14	0,16	0,40	4,09	6,50	3,40
8. MF átlag permeátum	4,85	0,04	0,28	<0,038	0,11	0,16	0,43	4,10	6,54	3,20
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	11,59	0,40	9,19	7,60	1,48	0,11	0,97	1,03	5,78	23,48
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,18	n.a.	n.a.	0,07	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	11,03	0,35	9,61	8,01	1,51	0,09	0,91	0,16	5,89	19,00
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,12	n.a.	n.a.	0,03	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	1,96	0,28	0,13	<0,038	0,06	0,05	0,12	1,43	6,52	1,44

21. számú melléklet: A 0,5 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paramétereit (3a kísérlet).

Minta megnevezése:	Száranyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjetartalom (TN × 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	9,19	0,20	3,39	2,58	0,61	0,18	0,71	4,89	6,80	6,52
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	4,70	3,70	0,82	0,19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,32	n.a.	0,15	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	5,92	4,71	1,02	0,19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,33	n.a.	0,13	0,20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	14,96	0,37	9,01	7,26	1,54	0,21	1,17	4,41	6,78	11,20
7. MFperm VR 66%	5,63	0,10	0,40	0,05	0,20	0,16	0,44	4,69	6,83	3,28
8. MF átlag permeátum	6,16	0,15	0,31	<0,038	0,13	0,16	0,45	5,25	6,83	3,25
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	12,29	0,40	9,09	7,38	1,54	0,17	0,95	1,85	6,91	8,64
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,33	n.a.	0,15	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	11,28	0,41	9,28	7,68	1,52	0,08	0,86	0,73	6,89	7,12
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,26	n.a.	0,17	0,09	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	2,15	0,04	0,19	<0,038	0,10	0,07	0,14	1,79	6,99	1,00

22. számú melléklet: A 0,5 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paraméterei (3b kísérlet).

Minta megnevezése:	Száranyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjeteralom (TN × 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	8,65	<0,031	3,41	2,56	0,66	0,19	0,71	4,50	6,69	6,56
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	4,69	3,59	0,89	0,21	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,35	n.a.	n.a.	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	5,63	4,42	1,01	0,20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,37	n.a.	n.a.	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	13,79	0,18	8,24	6,55	1,47	0,22	1,08	4,29	6,71	10,80
7. MFperm VR 66%	5,81	0,03	0,47	0,18	0,12	0,17	0,39	4,92	6,81	3,60
8. MF átlag permeátum	5,04	<0,031	0,35	0,09	0,09	0,17	0,34	4,34	6,79	3,20
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	11,15	0,24	8,23	6,68	1,42	0,13	0,84	1,84	6,86	8,08
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,24	n.a.	n.a.	0,08	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	10,10	0,22	8,31	6,83	1,42	0,08	0,73	0,84	6,97	6,40
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,22	n.a.	n.a.	0,04	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	1,85	0,04	0,25	0,11	0,08	0,06	0,12	1,44	6,95	1,12

23. számú melléklet: A 0,5 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paramétereit (3c kísérlet).

Minta megnevezése:	Száranyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjetartalom (TN × 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	8,66	0,05	3,22	2,43	0,59	0,20	0,64	4,75	6,84	6,20
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	4,48	3,51	0,79	0,19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,37	n.a.	n.a.	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	5,45	4,28	0,95	0,22	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,41	n.a.	n.a.	0,23	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	13,08	0,20	7,87	6,29	1,36	0,23	1,02	3,99	6,84	9,88
7. MFperm VR 66%	5,11	0,03	0,43	0,09	0,12	0,23	0,40	4,25	6,92	3,12
8. MF átlag permeátum	5,12	<0,031	0,37	0,08	0,08	0,21	0,42	4,31	6,91	3,08
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	10,78	0,26	8,08	6,52	1,38	0,18	1,03	1,41	6,96	7,60
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,40	n.a.	n.a.	0,10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	9,77	0,20	8,16	6,69	1,28	0,19	0,74	0,67	7,08	6,00
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,26	n.a.	n.a.	0,08	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	1,75	0,12	0,20	<0,038	0,12	0,05	0,14	1,29	7,06	1,00

24. számú melléklet: A 0,5 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paramétereit (4a kísérlet).

Minta megnevezése:	Száranyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjetartalom (TN × 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	8,54	0,06	3,30	2,48	0,65	0,17	0,71	4,47	6,68	6,60
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	5,19	4,03	1,00	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,43	n.a.	n.a.	0,16	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	6,24	4,88	1,20	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,47	n.a.	n.a.	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	14,45	0,30	8,52	6,90	1,46	0,17	1,18	4,45	6,71	11,28
7. MFperm VR 66%	5,90	<0,031	0,57	0,08	0,33	0,17	0,46	4,85	6,63	3,52
8. MF átlag permeátum	5,73	<0,031	0,46	0,04	0,24	0,18	0,47	4,79	6,65	3,28
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	14,03	0,31	8,02	6,70	1,23	0,09	0,88	4,82	6,86	7,80
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,35	n.a.	n.a.	0,07	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	10,53	0,31	8,64	7,40	1,17	0,07	0,86	0,72	6,92	6,56
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,26	n.a.	n.a.	0,03	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	1,63	0,06	0,20	<0,038	0,15	0,04	0,12	1,24	6,88	0,88

25. számú melléklet: A 0,5 μm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paramétereit (4b kísérlet).

Minta megnevezése:	Szárazanyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjeteralom (TN \times 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	9,03	0,07	3,30	2,49	0,63	0,18	0,75	4,91	6,72	6,40
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	5,68	4,43	1,06	0,19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,43	n.a.	n.a.	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	6,70	5,32	1,18	0,20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,46	n.a.	n.a.	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	14,65	0,22	9,01	7,25	1,55	0,21	1,22	4,20	6,71	13,00
7. MFperm VR 66%	5,81	<0,031	0,56	0,04	0,34	0,18	0,39	4,85	6,62	3,36
8. MF átlag permeátum	6,20	<0,031	0,46	0,04	0,24	0,18	0,45	5,29	6,64	3,28
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	11,82	0,11	8,84	7,41	1,31	0,12	0,94	1,93	6,72	13,64
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,36	n.a.	n.a.	0,08	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	10,58	0,23	8,81	7,66	1,05	0,10	0,82	0,72	6,81	11,60
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,26	n.a.	n.a.	0,04	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	1,83	<0,031	0,23	<0,038	0,15	0,06	0,16	1,41	6,84	1,20

26. számú melléklet: A 0,5 μm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrésű hőmérséklettel előállított fázisminták fizikiai-kémiai paramétereit (4c kísérlet).

Minta megnevezése:	Szárazanyag-tartalom	Zsirtartalom	Fehérjeteralom (TN \times 6,38)	Kazeinfehérje	Savófehérje	NPN	Hamutartalom	Laktóztartalom (számolt)	pH-érték	Titrálható savasság
	g/100g									
1. Fölözött tej	9,02	<0,031	3,36	2,55	0,64	0,18	0,78	4,86	6,66	6,44
2. MFcc VR 20%	n.a.	n.a.	5,55	4,41	0,96	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3. MFperm VR 20%	n.a.	n.a.	0,45	n.a.	n.a.	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4. MFcc VR 40%	n.a.	n.a.	6,40	5,12	1,11	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5. MFperm VR 40%	n.a.	n.a.	0,49	n.a.	n.a.	0,17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6. MFcc VR 66%	14,68	0,26	8,71	7,15	1,39	0,17	1,19	4,23	6,71	12,60
7. MFperm VR 66%	5,82	<0,031	0,56	0,06	0,33	0,17	0,41	5,33	6,61	3,32
8. MF átlag permeátum	5,71	<0,031	0,49	0,07	0,25	0,17	0,43	5,21	6,62	3,28
9. MF/DFcc VR 66% DF 60%	11,87	0,20	9,07	7,89	1,09	0,09	0,98	1,49	6,35	14,44
10. MF/DFperm VR 66% DF 60%	n.a.	n.a.	0,37	n.a.	n.a.	0,08	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11. MF/DFcc VR 66% DF 120%	10,69	0,23	8,86	7,77	1,03	0,06	0,87	0,73	6,44	11,76
12. MF/DFperm VR 66% DF 120%	n.a.	n.a.	0,26	n.a.	n.a.	0,04	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13. MF/DF átlag permeátum	1,78	0,06	0,25	0,04	0,16	0,05	0,13	1,34	6,76	1,08

27. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (1a kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlözött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,21	8,03	4,63	9,26	7,35	11,03	9,04	7,68	9,80	8,33	9,83	8,36
- TPN× 6,38	3,02	7,55	4,44	8,88	7,15	10,73	8,80	7,48	9,68	8,23	9,46	8,04
-NPN× 6,38	0,19	0,48	0,19	0,38	0,20	0,30	0,24	0,20	0,12	0,10	0,37	0,31
-CN	2,41	6,03	3,58	7,16	5,80	8,70	7,22	6,14	8,00	6,80	8,10	6,89
- WP	0,61	1,53	0,86	1,72	1,30	1,95	0,67	0,57	1,68	1,43	1,36	1,16
Laktóz	4,71	11,78	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,73	4,02	0,00	0,00	0,00	0,00
Hamu	0,67	1,68	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,24	1,05	0,00	0,00	0,00	0,00
Zsír	0,06	0,15	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,18	0,15	0,00	0,00	0,19	0,16
Szárazanyag (mért)	8,65	21,63	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	15,19	12,91	0,00	0,00	10,02	8,52
Szárazanyag számolt	8,65	21,63	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	15,19	12,91	9,80	8,33	10,02	8,52
(CN/TPN) × 100	79,8%		80,6%		81,1%		82,0%		82,6%		85,6%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,14	0,42
- TPN× 6,38	0,09	0,27
-NPN× 6,38	0,05	0,15
-CN	0,01	0,03
- WP	0,08	0,24
Laktóz	0,00	0,00
Hamu	0,00	0,00
Zsír	0,00	0,00
Szárazanyag (mért)	0,00	0,00
Szárazanyag számolt	0,14	0,42

MF permeátum												
Komponens	VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%			
	50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg			
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg		
Fehérje (TN× 6,38)	0,25	0,13	0,29	0,29	0,34	0,56	0,29	0,44	0,21	0,32		
- TPN× 6,38	0,25	0,13	0,29	0,29	0,34	0,56	0,29	0,44	0,21	0,32		
-NPN× 6,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
-CN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
- WP	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Laktóz	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Hamu	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Zsír	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Szárazanyag (mért)	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Szárazanyag számolt	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,29	0,48
- TPN× 6,38	0,10	0,17
-NPN× 6,38	0,19	0,31
-CN	0,00	0,00
- WP	0,07	0,12
Laktóz	0,00	0,00
Hamu	0,00	0,00
Zsír	0,00	0,00
Szárazanyag (mért)	0,00	0,00
Szárazanyag számolt	0,29	0,48

28. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (1b kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlézött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,20	8,00	4,93	9,86	6,08	9,12	8,67	7,37	8,72	7,41	8,79	7,47
- TPN× 6,38	3,01	7,53	4,56	9,11	5,70	8,55	8,46	7,19	8,60	7,31	8,70	7,40
-NPN× 6,38	0,19	0,47	0,37	0,75	0,38	0,57	0,21	0,18	0,12	0,10	0,09	0,08
-CN	2,42	6,05	3,68	7,36	4,62	6,93	6,88	5,85	7,05	5,99	7,25	6,16
- WP	0,59	1,48	0,88	1,75	1,08	1,62	1,40	1,19	1,55	1,32	1,45	1,23
Laktóz	4,53	11,33	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	3,70	3,15	0,00	0,00	0,10	0,09
Hamu	0,73	1,83	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,15	0,98	0,00	0,00	0,73	0,62
Zsír	0,10	0,25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,30	0,25	0,00	0,00	0,31	0,26
Szárazanyag (mért)	8,56	21,40	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	13,82	11,75	0,00	0,00	9,93	8,44
Szárazanyag számolt	8,56	21,40	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	13,82	11,74	8,72	7,41	9,93	8,44
(CN/TPN) × 100	80,3%		80,8%		81,1%		81,4%		82,0%		83,3%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,28	0,46
- TPN× 6,38	0,19	0,32
-NPN× 6,38	0,09	0,15
-CN	0,00	0,00
- WP	0,19	0,32
Laktóz	n.a.	n.a.
Hamu	n.a.	n.a.
Zsír	n.a.	n.a.
Szárazanyag (mért)	n.a.	n.a.
Szárazanyag számolt	n.a.	n.a.

MF permeátum												
Komponens			VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
			50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg	
			g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)			0,27	0,14	0,27	0,27	0,30	0,50	0,22	0,33	0,14	0,21
- TPN× 6,38			0,19	0,10	0,27	0,27	0,30	0,50	0,22	0,33	0,14	0,21
-NPN× 6,38			0,08	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
-CN			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- WP			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Laktóz			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Hamu			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Zsír			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag (mért)			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag számolt			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,13	0,39
- TPN× 6,38	0,07	0,21
-NPN× 6,38	0,06	0,18
-CN	0,00	0,00
- WP	0,07	0,21
Laktóz	n.a.	n.a.
Hamu	n.a.	n.a.
Zsír	n.a.	n.a.
Szárazanyag (mért)	n.a.	n.a.
Szárazanyag számolt	n.a.	n.a.

29. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (1c kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlözött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,42	8,55	5,52	11,04	6,74	10,11	9,40	7,99	9,41	8,00	8,93	7,59
- TPN× 6,38	3,28	8,19	5,38	10,76	6,60	9,89	9,25	7,86	9,35	7,95	8,90	7,57
-NPN× 6,38	0,14	0,36	0,14	0,28	0,14	0,22	0,15	0,13	0,06	0,05	0,03	0,02
-CN	2,58	6,46	4,33	8,66	5,32	7,97	7,56	6,43	7,67	6,52	7,38	6,27
- WP	0,70	1,74	1,05	2,10	1,28	1,92	1,69	1,44	1,68	1,43	1,53	1,30
Laktóz	4,42	11,05	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	3,69	3,14	1,45	1,23	0,46	0,39
Hamu	0,71	1,78	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,14	0,97	0,94	0,80	0,81	0,69
Zsír	0,20	0,50	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,40	0,34	0,45	0,38	0,44	0,37
Szárazanyag (mért)	8,75	21,88	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,63	12,44	12,25	10,41	10,64	9,04
Szárazanyag számolt	8,75	21,88	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,63	12,44	12,25	10,41	10,64	9,04
(CN/TPN) × 100	78,8%		80,5%		80,6%		81,7%		82,0%		82,9%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,26	0,42
- TPN× 6,38	0,11	0,19
-NPN× 6,38	0,14	0,24
-CN	0,00	0,00
- WP	0,11	0,19
Laktóz	4,53	7,47
Hamu	0,47	0,78
Zsír	0,00	0,00
Szárazanyag (mért)	5,29	8,72
Szárazanyag számolt	5,26	8,67

MF permeátum												
Komponens			VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
			50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg	
			g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)			0,27	0,13	0,28	0,28	0,30	0,50	0,27	0,40	0,17	0,26
- TPN× 6,38			0,12	0,06	0,13	0,13	0,16	0,26	0,21	0,32	0,16	0,23
-NPN× 6,38			0,14	0,07	0,14	0,14	0,14	0,24	0,05	0,08	0,02	0,02
-CN			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- WP			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Laktóz			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Hamu			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Zsír			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag (mért)			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag számolt			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,11	0,34
- TPN× 6,38	0,07	0,22
-NPN× 6,38	0,04	0,13
-CN	0,00	0,00
- WP	0,07	0,22
Laktóz	1,40	4,20
Hamu	0,14	0,42
Zsír	0,03	0,09
Szárazanyag (mért)	1,68	5,05
Szárazanyag számolt	1,68	5,05

30. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (2a kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlözött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,14	7,85	7,87	15,74	7,72	11,58	9,53	8,10	10,09	8,58	10,13	8,61
- TPN× 6,38	2,96	7,39	7,68	15,37	7,53	11,29	9,32	7,93	9,99	8,49	10,04	8,53
-NPN× 6,38	0,18	0,46	0,19	0,37	0,20	0,29	0,21	0,18	0,10	0,08	0,10	0,08
-CN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- WP	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Laktóz	4,82	12,05	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,17	3,54	0,00	0,00	0,74	0,63
Hamu	0,73	1,83	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,26	1,07	0,00	0,00	1,04	0,88
Zsír	0,04	0,10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,29	0,25	0,00	0,00	0,33	0,28
Száranyag (mért)	9,36	23,40	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	16,40	13,94	0,00	0,00	13,50	11,48
Száranyag számolt	8,73	21,83	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	15,25	12,96	10,09	8,58	12,24	10,40
(CN/TPN) × 100	n.a.		n.a.		n.a.		n.a.		n.a.		n.a.	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,36	0,59
- TPN× 6,38	0,18	0,30
-NPN× 6,38	0,18	0,30
-CN	n.a.	n.a.
- WP	n.a.	n.a.
Laktóz	n.a.	n.a.
Hamu	n.a.	n.a.
Zsír	n.a.	n.a.
Száranyag (mért)	n.a.	n.a.
Száranyag számolt	n.a.	n.a.

MF permeátum												
Komponens		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%		
		50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg		
		g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	
Fehérje (TN× 6,38)		0,33	0,17	0,34	0,34	0,40	0,66	0,32	0,48	0,24	0,36	
- TPN× 6,38		0,16	0,08	0,17	0,17	0,22	0,36	0,24	0,35	0,20	0,30	
-NPN× 6,38		0,18	0,09	0,18	0,18	0,18	0,30	0,08	0,12	0,04	0,06	
-CN		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
- WP		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Laktóz		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Hamu		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Zsír		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Száranyag (mért)		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Száranyag számolt		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,25	0,76
- TPN× 6,38	0,19	0,57
-NPN× 6,38	0,06	0,19
-CN	n.a.	n.a.
- WP	n.a.	n.a.
Laktóz	n.a.	n.a.
Hamu	n.a.	n.a.
Zsír	n.a.	n.a.
Száranyag (mért)	n.a.	n.a.
Száranyag számolt	n.a.	n.a.

31. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (2b kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlőzött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,26	8,15	5,50	11,00	6,51	9,77	9,17	7,79	9,20	7,82	9,33	7,93
- TPN× 6,38	3,05	7,63	5,30	10,59	6,31	9,46	8,96	7,62	9,09	7,73	9,26	7,87
-NPN× 6,38	0,21	0,52	0,20	0,41	0,21	0,31	0,21	0,18	0,11	0,09	0,07	0,06
-CN	2,44	6,10	4,30	8,60	5,14	7,71	7,43	6,32	7,55	6,42	7,75	6,59
- WP	0,61	1,53	1,00	1,99	0,00	0,00	1,38	1,17	1,54	1,31	1,51	1,28
Laktóz	4,87	12,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,62	3,93	2,08	1,77	0,97	0,82
Hamu	0,72	1,81	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,26	1,07	1,04	0,88	0,90	0,76
Zsír	0,08	0,20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,23	0,20	0,21	0,18	0,21	0,18
Száranyag (mért)	8,93	22,33	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	15,28	12,99	12,53	10,65	11,41	9,70
Száranyag számolt	8,93	22,33	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	15,28	12,99	12,53	10,65	11,41	9,70
(CN/TPN) × 100	79,9%		81,2%		81,5%		82,9%		83,1%		83,7%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,37	0,60
- TPN× 6,38	0,23	0,39
-NPN× 6,38	0,13	0,22
-CN	0,00	0,01
- WP	0,23	0,38
Laktóz	4,71	7,77
Hamu	0,40	0,66
Zsír	0,00	0,00
Száranyag (mért)	5,56	9,17
Száranyag számolt	5,48	9,04

MF permeátum												
Komponens	VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%			
	50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg			
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg		
Fehérje (TN× 6,38)	0,32	0,16	0,36	0,36	0,47	0,78	0,33	0,49	0,20	0,30		
- TPN× 6,38	0,14	0,07	0,23	0,23	0,34	0,56	0,25	0,37	0,16	0,24		
-NPN× 6,38	0,18	0,09	0,13	0,13	0,13	0,22	0,08	0,12	0,04	0,06		
-CN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
- WP	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Laktóz	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Hamu	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Zsír	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Száranyag (mért)	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Száranyag számolt	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		

ME/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,22	0,67
- TPN× 6,38	0,16	0,48
-NPN× 6,38	0,06	0,19
-CN	0,00	0,00
- WP	0,16	0,48
Laktóz	1,23	3,69
Hamu	0,16	0,47
Zsír	0,13	0,39
Száranyag (mért)	1,74	5,22
Száranyag számolt	1,74	5,22

32. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (2c kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlőzött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,28	8,20	4,70	9,40	5,98	8,97	9,09	7,73	9,19	7,81	9,61	8,17
- TPN× 6,38	3,11	7,78	4,55	9,09	5,79	8,69	8,90	7,57	9,08	7,72	9,52	8,09
-NPN× 6,38	0,17	0,42	0,16	0,31	0,19	0,29	0,19	0,16	0,11	0,09	0,09	0,07
-CN	2,50	6,25	3,68	7,36	4,73	7,10	7,35	6,25	7,60	6,46	8,01	6,81
- WP	0,61	1,51	0,87	1,73	1,06	1,59	1,55	1,32	1,48	1,26	1,51	1,29
Laktóz	4,60	11,50	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	3,50	2,98	1,03	0,88	0,16	0,14
Hamu	0,72	1,79	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,21	1,03	0,97	0,83	0,91	0,77
Zsír	0,08	0,20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,38	0,32	0,40	0,34	0,35	0,30
Száranyag (mért)	8,68	21,69	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,18	12,05	11,59	9,85	11,03	9,37
Száranyag számolt	8,68	21,69	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,18	12,05	11,59	9,85	11,03	9,37
(CN/TPN) × 100	80,4%		81,0%		81,7%		82,6%		83,7%		84,1%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,28	0,46
- TPN× 6,38	0,12	0,20
-NPN× 6,38	0,16	0,27
-CN	0,01	0,01
- WP	0,11	0,19
Laktóz	4,10	6,77
Hamu	0,43	0,71
Zsír	0,00	0,00
Száranyag (mért)	4,85	8,00
Száranyag számolt	4,81	7,93

MF permeátum												
Komponens		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%		
		50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg		
		g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	
Fehérje (TN× 6,38)		0,26	0,13	0,27	0,27	0,33	0,54	0,18	0,27	0,12	0,18	
- TPN× 6,38		0,10	0,05	0,11	0,11	0,17	0,28	0,11	0,16	0,09	0,13	
-NPN× 6,38		0,16	0,08	0,16	0,16	0,16	0,27	0,07	0,11	0,03	0,05	
-CN		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
- WP		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Laktóz		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Hamu		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Zsír		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Száranyag (mért)		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Száranyag számolt		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,13	0,39
- TPN× 6,38	0,08	0,23
-NPN× 6,38	0,05	0,16
-CN	0,02	0,07
- WP	0,06	0,17
Laktóz	1,43	4,29
Hamu	0,12	0,35
Zsír	0,28	0,84
Száranyag (mért)	1,96	5,87
Száranyag számolt	1,96	5,87

33. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (3a kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlözött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,39	8,48	4,70	9,40	5,92	8,88	9,01	7,66	9,09	7,73	9,28	7,89
- TPN× 6,38	3,21	8,03	4,52	9,03	5,73	8,60	8,80	7,48	8,92	7,58	9,20	7,82
-NPN× 6,38	0,18	0,45	0,19	0,37	0,19	0,29	0,21	0,18	0,17	0,14	0,08	0,07
-CN	2,58	6,45	3,70	7,40	4,71	7,07	7,26	6,17	7,38	6,27	7,68	6,53
- WP	0,61	1,53	0,82	1,63	1,02	1,53	1,54	1,31	1,54	1,31	1,52	1,29
Laktóz	4,89	12,23	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,41	3,75	1,85	1,57	0,73	0,62
Hamu	0,71	1,77	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,17	0,99	0,95	0,80	0,86	0,73
Zsír	0,20	0,50	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,37	0,31	0,40	0,34	0,41	0,35
Szárazanyag (mért)	9,19	22,97	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,96	12,72	12,29	10,44	11,28	9,59
Szárazanyag számolt	9,19	22,97	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,96	12,72	12,29	10,44	11,28	9,59
(CN/TPN) × 100	80,4%		81,9%		82,2%		82,5%		82,7%		83,5%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,31	0,52
- TPN× 6,38	0,15	0,25
-NPN× 6,38	0,16	0,27
-CN	0,03	0,04
- WP	0,13	0,21
Laktóz	5,25	8,66
Hamu	0,45	0,74
Zsír	0,00	0,00
Szárazanyag (mért)	6,16	10,17
Szárazanyag számolt	6,01	9,92

MF permeátum												
Komponens	VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%			
	50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg			
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg		
Fehérje (TN× 6,38)	0,32	0,16	0,33	0,33	0,40	0,66	0,33	0,49	0,26	0,39		
- TPN× 6,38	0,15	0,08	0,13	0,13	0,25	0,40	0,15	0,22	0,17	0,26		
-NPN× 6,38	0,17	0,09	0,20	0,20	0,16	0,26	0,18	0,27	0,09	0,13		
-CN	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
- WP	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Laktóz	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Hamu	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Zsír	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Szárazanyag (mért)	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		
Szárazanyag számolt	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,19	0,56
- TPN× 6,38	0,11	0,34
-NPN× 6,38	0,07	0,22
-CN	0,01	0,04
- WP	0,10	0,30
Laktóz	1,79	5,37
Hamu	0,14	0,41
Zsír	0,04	0,12
Szárazanyag (mért)	2,15	6,46
Szárazanyag számolt	2,15	6,46

34. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (3b kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Fölözött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,41	8,53	4,69	9,38	5,63	8,45	8,24	7,00	8,23	7,00	8,31	7,06
- TPN× 6,38	3,22	8,05	4,48	8,95	5,43	8,15	8,02	6,82	8,10	6,88	8,24	7,00
-NPN× 6,38	0,19	0,48	0,21	0,43	0,20	0,30	0,22	0,19	0,13	0,11	0,08	0,06
-CN	2,56	6,40	3,59	7,18	4,42	6,63	6,55	5,57	6,68	5,68	6,83	5,81
- WP	0,66	1,65	0,89	1,78	1,01	1,52	1,47	1,25	1,42	1,21	1,42	1,20
Laktóz	4,50	11,25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,29	3,65	1,84	1,56	0,84	0,71
Hamu	0,71	1,78	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,08	0,92	0,84	0,71	0,73	0,62
Zsír	0,03	0,07	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,18	0,15	0,24	0,20	0,22	0,19
Szárazanyag (mért)	8,65	21,62	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	13,79	11,72	11,15	9,48	10,10	8,59
Szárazanyag számolt	8,65	21,62	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	13,79	11,72	11,15	9,48	10,10	8,59
(CN/TPN) × 100	79,6%		80,2%		81,4%		81,7%		82,5%		82,9%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,35	0,58
- TPN× 6,38	0,18	0,29
-NPN× 6,38	0,17	0,29
-CN	0,09	0,15
- WP	0,09	0,14
Laktóz	4,34	7,16
Hamu	0,34	0,56
Zsír	0,00	0,00
Szárazanyag (mért)	5,04	8,32
Szárazanyag számolt	5,03	8,30

MF permeátum											
Komponens		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
		50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg	
		g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)		0,35	0,18	0,37	0,37	0,47	0,78	0,24	0,36	0,22	0,33
- TPN× 6,38		0,17	0,09	0,20	0,20	0,30	0,49	0,16	0,24	0,18	0,27
-NPN× 6,38		0,18	0,09	0,17	0,17	0,17	0,29	0,08	0,12	0,04	0,06
-CN		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- WP		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Laktóz		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Hamu		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Zsír		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag (mért)		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag számolt		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,25	0,75
- TPN× 6,38	0,19	0,58
-NPN× 6,38	0,06	0,17
-CN	0,11	0,33
- WP	0,08	0,25
Laktóz	1,44	4,32
Hamu	0,12	0,36
Zsír	0,04	0,11
Szárazanyag (mért)	1,85	5,54
Szárazanyag számolt	1,85	5,54

35 számú melléklet: 0,5 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (3c kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlözött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,22	8,05	4,48	8,96	5,45	8,18	7,87	6,69	8,08	6,87	8,16	6,94
- TPN× 6,38	3,02	7,54	4,30	8,59	5,23	7,84	7,65	6,50	7,90	6,71	7,97	6,77
-NPN× 6,38	0,20	0,51	0,19	0,37	0,22	0,33	0,23	0,19	0,18	0,16	0,19	0,16
-CN	2,43	6,08	3,51	7,02	4,28	6,42	6,29	5,35	6,52	5,54	6,69	5,69
- WP	0,59	1,47	0,79	1,57	0,95	1,42	1,36	1,15	1,38	1,17	1,28	1,09
Laktóz	4,75	11,88	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	3,99	3,39	1,41	1,20	0,67	0,57
Hamu	0,64	1,60	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,02	0,87	1,03	0,88	0,74	0,63
Zsír	0,05	0,13	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,20	0,17	0,26	0,22	0,20	0,17
Szárazanyag (mért)	8,66	21,66	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	13,08	11,12	10,78	9,16	9,77	8,30
Szárazanyag számolt	8,66	21,66	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	13,08	11,12	10,78	9,16	9,77	8,30
(CN/TPN) × 100	80,5%		81,7%		81,9%		82,3%		82,6%		83,9%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,37	0,61
- TPN× 6,38	0,16	0,27
-NPN× 6,38	0,21	0,34
-CN	0,08	0,13
- WP	0,08	0,14
Laktóz	4,31	7,11
Hamu	0,42	0,69
Zsír	0,00	0,00
Szárazanyag (mért)	5,12	8,45
Szárazanyag számolt	5,10	8,42

MF permeátum												
Komponens			VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
			50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg	
			g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)			0,37	0,18	0,41	0,41	0,43	0,71	0,40	0,60	0,26	0,38
- TPN× 6,38			0,19	0,10	0,17	0,17	0,21	0,34	0,30	0,45	0,17	0,26
-NPN× 6,38			0,17	0,09	0,23	0,23	0,23	0,37	0,10	0,15	0,08	0,13
-CN			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- WP			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Laktóz			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Hamu			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Zsír			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag (mért)			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag számolt			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,20	0,61
- TPN× 6,38	0,15	0,46
-NPN× 6,38	0,05	0,15
-CN	0,03	0,09
- WP	0,12	0,37
Laktóz	1,29	3,87
Hamu	0,14	0,42
Zsír	0,12	0,36
Szárazanyag (mért)	1,75	5,26
Szárazanyag számolt	1,75	5,26

36. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (4a kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlőzött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,30	8,25	5,19	10,38	6,24	9,36	8,52	7,24	8,02	6,82	8,64	7,34
- TPN× 6,38	3,13	7,82	5,03	10,05	6,08	9,11	8,36	7,10	7,93	6,74	8,57	7,29
-NPN× 6,38	0,17	0,43	0,17	0,33	0,17	0,25	0,17	0,14	0,09	0,07	0,07	0,06
-CN	2,48	6,20	4,03	8,06	4,88	7,32	6,90	5,87	6,70	5,70	7,40	6,29
- WP	0,65	1,62	1,00	1,99	1,20	1,79	1,46	1,24	1,23	1,05	1,17	1,00
Laktóz	4,47	11,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,45	3,78	4,82	4,10	0,72	0,61
Hamu	0,71	1,76	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,18	1,00	0,88	0,75	0,86	0,73
Zsír	0,06	0,15	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,30	0,26	0,31	0,26	0,31	0,27
Szárazanyag (mért)	8,54	21,34	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,45	12,28	14,03	11,93	10,53	8,95
Szárazanyag számolt	8,54	21,34	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,45	12,28	14,03	11,92	10,53	8,95
(CN/TPN) × 100	79,3%		80,2%		80,3%		82,6%		84,4%		86,3%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,46	0,77
- TPN× 6,38	0,28	0,47
-NPN× 6,38	0,18	0,30
-CN	0,04	0,07
- WP	0,24	0,39
Laktóz	4,79	7,90
Hamu	0,47	0,77
Zsír	0,00	0,00
Szárazanyag (mért)	5,73	9,46
Szárazanyag számolt	5,72	9,44

MF permeátum												
Komponens			VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
			50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg	
			g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)			0,43	0,21	0,47	0,47	0,57	0,93	0,35	0,52	0,26	0,40
- TPN× 6,38			0,26	0,13	0,31	0,31	0,40	0,66	0,28	0,42	0,23	0,35
-NPN× 6,38			0,16	0,08	0,17	0,17	0,17	0,27	0,07	0,10	0,03	0,05
-CN			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- WP			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Laktóz			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Hamu			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Zsír			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag (mért)			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Szárazanyag számolt			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,20	0,61
- TPN× 6,38	0,16	0,48
-NPN× 6,38	0,04	0,13
-CN	0,01	0,04
- WP	0,15	0,44
Laktóz	1,24	3,72
Hamu	0,12	0,36
Zsír	0,06	0,19
Szárazanyag (mért)	1,63	4,88
Szárazanyag számolt	1,63	4,88

37. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (4b kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlözött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,30	8,25	5,68	11,36	6,70	10,05	9,01	7,66	8,84	7,51	8,81	7,49
- TPN× 6,38	3,12	7,79	5,49	10,98	6,50	9,75	8,80	7,48	8,72	7,41	8,71	7,41
-NPN× 6,38	0,18	0,46	0,19	0,38	0,20	0,30	0,21	0,18	0,12	0,10	0,10	0,08
-CN	2,49	6,23	4,43	8,86	5,32	7,98	7,25	6,16	7,41	6,30	7,66	6,51
- WP	0,63	1,58	1,06	2,12	1,18	1,77	1,55	1,32	1,31	1,11	1,05	0,89
Laktóz	4,91	12,28	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,20	3,57	1,93	1,64	0,72	0,61
Hamu	0,75	1,88	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,22	1,04	0,94	0,80	0,82	0,70
Zsír	0,07	0,18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,22	0,19	0,11	0,09	0,23	0,20
Száranyag (mért)	9,03	22,58	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,65	12,46	11,82	10,05	10,58	9,00
Száranyag számolt	9,03	22,58	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,65	12,46	11,82	10,05	10,58	9,00
(CN/TPN) × 100	79,9%		80,7%		81,8%		82,4%		85,0%		87,9%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,46	0,76
- TPN× 6,38	0,28	0,46
-NPN× 6,38	0,18	0,30
-CN	0,04	0,06
- WP	0,24	0,40
Laktóz	5,29	8,73
Hamu	0,45	0,74
Zsír	0,00	0,00
Száranyag (mért)	6,20	10,23
Száranyag számolt	6,20	10,23

MF permeátum												
Komponens			VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
			50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg	
			g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)			0,43	0,21	0,46	0,46	0,56	0,93	0,36	0,55	0,26	0,39
- TPN× 6,38			0,25	0,13	0,29	0,29	0,38	0,63	0,28	0,42	0,22	0,33
-NPN× 6,38			0,17	0,09	0,18	0,18	0,18	0,30	0,08	0,12	0,04	0,06
-CN			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- WP			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Laktóz			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Hamu			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Zsír			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Száranyag (mért)			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Száranyag számolt			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,23	0,70
- TPN× 6,38	0,17	0,51
-NPN× 6,38	0,06	0,19
-CN	0,02	0,05
- WP	0,15	0,45
Laktóz	1,41	4,23
Hamu	0,16	0,48
Zsír	0,02	0,07
Száranyag (mért)	1,83	5,48
Száranyag számolt	1,83	5,48

38. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (4c kísérlet) anyagmérlege

MF retentátum												
Komponens	Főlözött tej		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%	
	250 kg		200 kg		150 kg		85 kg		85 kg		85 kg	
	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	3,36	8,40	5,55	11,10	6,40	9,60	8,71	7,40	9,07	7,71	8,86	7,53
- TPN× 6,38	3,18	7,96	5,38	10,76	6,23	9,34	8,54	7,26	8,98	7,63	8,80	7,48
-NPN× 6,38	0,18	0,44	0,17	0,34	0,17	0,26	0,17	0,14	0,09	0,08	0,06	0,05
-CN	2,55	6,37	4,41	8,83	5,12	7,68	7,15	6,08	7,89	6,70	7,77	6,60
- WP	0,64	1,59	0,96	1,93	1,11	1,66	1,39	1,18	1,09	0,93	1,03	0,87
Laktóz	4,86	12,15	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,23	3,60	1,49	1,27	0,73	0,62
Hamu	0,78	1,95	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1,19	1,01	0,98	0,83	0,87	0,74
Zsír	0,02	0,06	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,26	0,22	0,20	0,17	0,23	0,20
Szárazanyag (mért)	9,02	22,55	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,68	12,48	11,87	10,09	10,69	9,09
Szárazanyag számolt	9,02	22,55	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,39	12,23	11,74	9,98	10,69	9,09
(CN/TPN) × 100	80,0%		82,1%		82,2%		83,7%		87,8%		88,3%	

MF átlag permeátum (VR 0-66%)		
Komponens	165 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,49	0,81
- TPN× 6,38	0,32	0,53
-NPN× 6,38	0,17	0,28
-CN	0,07	0,12
- WP	0,25	0,42
Laktóz	5,21	8,60
Hamu	0,43	0,71
Zsír	0,02	0,03
Szárazanyag (mért)	5,71	9,42
Szárazanyag számolt	6,15	10,14

MF permeátum												
Komponens		VR 20%		VR 40%		VR 66%		VR 66% DF 60%		VR 66% DF 120%		
		50 kg		100 kg		165 kg		150 kg		150 kg		
		g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	g/100 g	kg	
Fehérje (TN× 6,38)		0,45	0,22	0,49	0,49	0,56	0,93	0,37	0,56	0,26	0,40	
- TPN× 6,38		0,28	0,14	0,32	0,32	0,39	0,65	0,30	0,45	0,23	0,34	
-NPN× 6,38		0,17	0,08	0,17	0,17	0,17	0,28	0,08	0,11	0,04	0,05	
-CN		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
- WP		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Laktóz		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Hamu		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Zsír		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Szárazanyag (mért)		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	
Szárazanyag számolt		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	

MF/DF átlag permeátum (DF 0-120%)		
Komponens	300 kg	
	g/100 g	kg
Fehérje (TN× 6,38)	0,25	0,76
- TPN× 6,38	0,20	0,60
-NPN× 6,38	0,05	0,16
-CN	0,04	0,13
- WP	0,16	0,47
Laktóz	1,34	4,03
Hamu	0,13	0,39
Zsír	0,06	0,17
Szárazanyag (mért)	1,78	5,34
Szárazanyag számolt	1,78	5,34

39. számú melléklet: Üzemnapló, 0,2 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (1a kísérlet)

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2021.05.13.					Membrán típus: Alfa Laval MFP2 6338/48 P 174516 (0,2 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,2µm; 15 °C/1a				
Start: 9:00					Membránok száma: 1									
Stop: 12:30					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
9:00	0:00	0,0	—	0,0	15,4	1,8	0,8	740,0	154,0	9,0	—	—	—	10,0
9:26	0:26	20,0	—	50,0	14,6	1,8	0,8	732,0	145,0	11,0	14,5	6,8	14,9	9,4
9:46	0:46	40,0	—	100,0	14,9	1,8	0,8	739,0	148,0	13,0	14,8	6,5	14,7	9,6
10:25	1:25	66,0	—	165,0	14,9	1,8	0,8	641,0	76,0	18,1	19,3	6,1	11,6	4,9
11:32	2:32	—	60,0	315,0	14,8	1,8	0,8	680,0	228,0	14,5	16,0	3,0	11,6	14,8
12:30	3:30	—	120,0	465,0	16,2	1,8	0,8	706,0	129,0	12,5	15,0	2,0	11,4	8,4

40. számú melléklet: 0,2 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (1b kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2021.06.22.					Membrán típus: Alfa Laval MFP2 6338/48 P 174516 (0,2 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,2µm; 15 °C/1b				
Start: 8:45					Membránok száma: 1									
Stop:11:26					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvt [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
8:45	0:00	0,0	—	0,0	14,9	1,8	0,8	815,8	215,7	10,0	—	—	15,2	14,0
8:58	0:13	20,0	—	50,0	15,0	1,8	0,8	803,1	203,6	10,0	12,0	6,0	15,1	13,2
9:15	0:30	40,0	—	100,0	14,9	1,8	0,8	769,9	177,4	13,0	9,0	6,0	13,1	11,5
10:00	1:15	66,0	—	165,0	14,8	1,8	0,8	724,5	130,0	15,0	11,0	5,8	14,2	8,4
10:41	1:56	—	60,0	315,0	14,8	1,8	0,8	712,5	132,6	12,2	13,0	3,0	12,5	8,6
11:26	2:41	—	120,0	465,0	15,0	1,8	0,8	756,6	171,4	10,5	12,0	1,0	12,3	11,1

41. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (1c kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2021.10.06.					Membrán típus: Alfa Laval MFP2 6338/48 P 174516 (0,2 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,2µm; 15 °C/1c				
Start: 9:12					Membránok száma: 1									
Stop:11:32					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
9:12	0:00	0,0	—	0,0	12,8	1,8	0,8	320,7	113,5	10,5	—	—	11,8	7,4
9:24	0:12	20,0	—	50,0	13,7	1,8	0,8	339,4	138,3	11,5	13,5	6,5	11,6	9,0
9:40	0:28	40,0	—	100,0	15,0	1,8	0,8	338,7	144,8	12,2	15,0	6,2	11,1	9,4
10:19	1:07	66,0	—	165,0	15,0	1,8	0,8	276,0	95,3	15,8	18,5	6,4	9,6	6,2
10:58	1:46	—	60,0	315,0	14,9	1,8	0,8	378,3	101,7	11,7	15,2	3,4	9,1	6,6
11:32	2:20	—	120,0	465,0	14,8	1,8	0,8	461,4	150,2	10,5	14,0	1,9	9,3	9,8

42. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (2a kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2021.07.14.					Membrán típus: Alfa Laval MFP2 6338/48 P 174516 (0,2 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,2µm; 45 °C/2a				
Start: 8:45					Membránok száma: 1									
Stop:11:26					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
9:02	0:00	0,0	—	0,0	12,8	1,0	0,8	902,9	311,3	8,5	—	—	13,8	20,2
9:25	0:23	20,0	—	50,0	13,7	1,0	0,8	921,0	327,9	10,5	15,2	5,8	14,2	21,3
9:38	0:36	40,0	—	100,0	15,0	1,0	0,8	911,2	319,8	10,0	15,2	5,8	14,2	20,8
10:00	0:58	66,0	—	165,0	15,0	1,0	0,8	870,2	272,4	11,5	18,0	5,8	13,2	17,7
10:46	1:44	—	60,0	315,0	14,9	1,0	0,8	872,2	272,3	5,0	15,5	3,0	13,4	17,7
11:35	2:33	—	120,0	465,0	14,8	1,0	0,8	837,8	240,2	5,0	14,8	1,2	12,7	15,6

43. számú melléklet: 0,2 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (2b kísérlet) során vezetett

üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztőrözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2021.07.26.														
Membrán típus: Alfa Laval MFP2 6338/48 P 174516 (0,2 µm)														
Start: 9:12														
Membránok száma: 1														
Stop: 11:01														
Membrán felület (m ²): 15,4														
Kísérlet megnevezése: 0,2µm; 45 °C/2b														
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvtét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
9:12	0:00	0,0	—	0,0	45,6	1,8	0,8	507,8	259,6	9,5	—	—	15,0	16,9
9:26	0:14	20,0	—	50,0	44,6	1,8	0,8	912,6	318,5	10,0	13,0	6,0	14,8	20,7
9:37	0:25	40,0	—	100,0	45,2	1,8	0,8	908,1	309,2	11,5	14,0	6,0	14,6	20,1
9:57	0:45	66,0	—	165,0	44,6	1,8	0,8	1003,0	260,6	14,0	18,0	6,2	13,4	16,9
10:32	1:20	—	60,0	315,0	45,3	1,8	0,8	927,9	324,3	11,0	15,0	3,0	14,2	21,1
11:01	1:49	—	120,0	465,0	45,3	1,8	0,8	11,0	445,0	7,5	12,5	1,0	15,0	28,9

44. számú melléklet: 0,2 µm pórusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (2c kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2021.09.15					Membrán típus: Alfa Laval MFP2 6338/48 P 174516 (0,2 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,2µm; 45 °C/2c				
Start: 9:12					Membránok száma: 1									
Stop:11:01					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
9:12	0:00	0,0	—	0,0	45,6	1,8	0,8	507,8	259,6	9,5	—	—	15,0	16,9
9:26	0:14	20,0	—	50,0	44,6	1,8	0,8	912,6	318,5	10,0	13,0	6,0	14,8	20,7
9:37	0:25	40,0	—	100,0	45,2	1,8	0,8	908,1	309,2	11,5	14,0	6,0	14,6	20,1
9:57	0:45	66,0	—	165,0	44,6	1,8	0,8	1003,0	260,6	14,0	18,0	6,2	13,4	16,9
10:32	1:20	—	60,0	315,0	45,3	1,8	0,8	927,9	324,3	11,0	15,0	3,0	14,2	21,1
11:01	1:49	—	120,0	465,0	45,3	1,8	0,8	11,0	445,0	7,5	12,5	1,0	15,0	28,9

45. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (3a kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2021.10.17					Membrán típus: Alfa Laval MFP5 6338/48 P 114046 (0,5 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,5µm; 15 °C/3a				
Start: 9:35					Membránok száma: 1									
Stop: 14:10					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
9:35	0:00	0,0	—	0,0	14,8	1,8	0,8	673,5	76,7	11,0	—	—	18,4	5,0
10:12	0:37	20,0	—	50,0	15,1	1,8	0,8	666,9	83,9	12,2	12,6	6,1	18,2	5,4
10:48	1:13	40,0	—	100,0	14,8	1,8	0,8	665,6	85,3	13,8	14,2	7,0	17,5	5,5
11:38	2:03	66,0	—	165,0	15,8	1,8	0,8	655,2	75,1	17,4	18,2	7,0	15,8	4,9
13:04	3:29	—	60,0	315,0	14,9	1,8	0,8	659,1	91,4	14,4	15,5	3,6	15,5	5,9
14:10	4:35	—	120,0	465,0	15,3	1,8	0,8	705,8	112,9	13,2	14,8	2,2	15,5	7,3

46. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (3b kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 11,0														
Dátum: 2022.02.16					Membrán típus: Alfa Laval MFP5 6338/48 P 114046 (0,5 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,5µm; 15 °C/3b				
Start: 8:00					Membránok száma: 1									
Stop: 13:40					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennviséső [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
8:00	0:00	0,0	—	0,0	15,0	1,8	0,8	643,5	69,0	11,0	—	—	20,6	4,5
8:40	0:40	20,0	—	50,0	15,1	1,8	0,8	644,9	70,8	12,0	12,0	6,4	20,2	4,6
9:30	1:30	40,0	—	100,0	15,0	1,8	0,8	654,6	77,6	13,1	13,8	6,8	19,6	5,0
10:30	2:30	66,0	—	165,0	15,3	1,8	0,8	648,9	76,7	16,5	—	—	17,4	5,0
12:15	4:15	—	60,0	315,0	15,5	1,8	0,8	672,3	69,4	13,8	—	—	17,2	4,5
13:40	5:40	—	120,0	465,0	15,0	1,8	0,8	687,1	109,9	12,0	13,2	2,1	17,0	7,1

47. számú melléklet: 0,5 µm pórusméretű membrán 15 °C-os szűrési hőmérséklet (3c kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 11,0														
Dátum: 2022.02.22.					Membrán típus: Alfa Laval MFP5 6338/48 P 114046 (0,5 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,5µm; 15 °C/3c				
Start: 9:15					Membránok száma: 1									
Stop: 12:22					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
9:15	0:00	0,0	—	0,0	14,9	1,8	0,8	755,7	145,9	10,5	—	6,5	21,0	9,5
9:36	0:21	20,0	—	50,0	14,9	1,8	0,8	736,3	144,9	11,2	12,0	7,0	19,9	9,4
9:59	0:44	40,0	—	100,0	15,1	1,8	0,8	730,5	141,5	12,2	13,4	6,8	19,5	9,2
10:30	1:15	66,0	—	165,0	15,0	1,8	0,8	695,3	139,5	15,2	16,0	6,8	17,2	9,1
11:34	2:19	—	60,0	315,0	14,8	1,8	0,8	738,3	156,4	12,6	13,4	3,8	17,8	10,2
12:22	3:07	—	120,0	465,0	15,0	1,8	0,8	774,6	204,7	11,5	13,0	2,6	18,1	13,3

48. számú melléklet: 0,5 µm porusméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (4a kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztőrözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2022.03.22.					Membrán típus: Alfa Laval MFP5 6338/48 P 114046 (0,5 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,5µm; 45 °C/4a				
Start: 8:05					Membránok száma: 1									
Stop:9:57					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
8:05	0:00	0,0	—	0,0	44,8	1,8	0,8	1002,4	415,2	—	—	—	24,2	27,0
8:12	0:07	20,0	—	50,0	44,8	1,8	0,8	976,3	417,6	11,2	13,4	6,5	24,1	27,1
8:22	0:17	40,0	—	100,0	44,5	1,8	0,8	926,1	376,1	12,0	14,5	6,2	23,8	24,4
8:36	0:31	66,0	—	165,0	44,2	1,8	0,8	845,6	308,4	14,8	17,5	6,8	23,0	20,0
9:22	1:17	—	60,0	315,0	44,8	1,8	0,8	944,8	367,7	11,2	13,0	3,2	23,3	23,9
9:57	1:52	—	120,0	465,0	44,7	1,8	0,8	971,2	398,9	9,0	13,2	1,8	23,1	25,9

49. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (4b kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2022.03.22.					Membrán típus: Alfa Laval MFP5 6338/48 P 114046 (0,5 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,5µm; 45 °C/4b				
Start: 8:30					Membránok száma: 1									
Stop: 10:24					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
8:30	0:00	0,0	—	0,0	44,8	1,8	0,8	1090,4	413,2	10,5	—	6,8	23,2	26,8
8:37	0:07	20,0	—	50,0	45,2	1,8	0,8	1006,0	406,5	11,2	13,8	6,8	23,1	26,4
8:48	0:18	40,0	—	100,0	44,9	1,8	0,8	951,4	355,2	12,0	14,8	6,2	22,7	23,1
9:06	0:36	66,0	—	165,0	44,6	1,8	0,8	877,9	294,0	15,4	18,0	6,5	22,0	19,1
9:46	1:16	—	60,0	315,0	42,8	1,8	0,8	873,8	299,1	12,0	14,8	3,2	21,7	19,4
10:24	1:54	—	120,0	465,0	41,3	1,8	0,8	920,0	343,0	10,5	13,8	2,9	21,9	22,3

50. számú melléklet: 0,5 µm porúsméretű membrán 45 °C-os szűrési hőmérséklet (4c kísérlet) során vezetett üzemnapló

Üzemnapló MF/DF kísérleti berendezés														
Alapanyag: Pasztörözött, főlözött tej (250 liter)														
Refrakció, Brix: 10,0														
Dátum: 2022.03.29.					Membrán típus: Alfa Laval MFP5 6338/48 P 114046 (0,5 µm)					Kísérlet megnevezése: 0,5µm; 45 °C/4c				
Start: 8:55					Membránok száma: 1									
Stop: 10:30					Membrán felület (m ²): 15,4									
Idő (óra:perc)	Eltelt idő (óra:perc)	Mintavétel		Elvett permeátum mennyiség [l]	Hőmérséklet [°C]	Bázis nyomás [bar]	Δp [bar]	Betáp mennyiség [l/h]	Permeátum elvét [l/h]	Brix [°Bx]			Recirkuláció [1000 l/h]	Fluxus [l/m ² /h]
		MF VR%	DF %							betáp	retentátum	permeátum		
8:55	0:00	0,0	—	0,0	44,7	1,8	0,8	1012,0	416,4	10,0	—	—	23,3	27,0
9:03	0:08	20,0	—	50,0	44,8	1,8	0,8	999,0	401,8	11,0	13,2	6,5	23,2	26,1
9:12	0:17	40,0	—	100,0	44,7	1,8	0,8	964,7	367,8	12,0	14,1	6,8	23,0	23,9
9:28	0:33	66,0	—	165,0	44,5	1,8	0,8	895,0	301,5	14,9	16,8	6,8	22,3	19,6
9:58	1:03	—	60,0	315,0	44,2	1,8	0,8	926,2	331,8	12,0	14,0	3,5	22,2	21,5
10:30	1:35	—	120,0	465,0	44,3	1,8	0,8	973,7	385,9	10,0	13,0	1,8	22,4	25,1

51. számú melléklet melléklet



SZELLEMI TULAJDON NEMZETI HIVATALA

SZABADALMI OKIRAT

A Szellemi Tulajdon Nemzeti Hivatala az okirathoz fűzött leírás alapján

231 308

lajstromszámon a P 21 00384 ügyszámú bejelentésre
szabadalmat adott.

A szabadalmi bejelentés napja és az oltalmi idő kezdete:

2021. november 5.

A találmány címe:

Eljárás tejben lévő fő fehérjefrakciók elválasztására HPLC segítségével

A szabadalom jogosultja:

Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft., Mosonmagyaróvár

Feltaláló:

Buzás Henrietta, Mosonmagyaróvár

60%

Dr. Szafner Gábor, Mosonmagyaróvár

40%

Budapest, 2023. január 10.



Pórné Gyula
elnök