

# **Húsok és hústermékek fehérjéinek és biogén aminosavainak változásai**

**Ph.D. értekezés**

**Készítette: Szerdahelyi Emőke**  
**Témavezető: Dr. habil Hajós Gyöngyi**  
**tudományos osztályvezető**

**KÖZPONTI ÉLELMISZERIPARI KUTATÓ INTÉZET**  
**Biokémia Osztály**

**2000**

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>1. BEVEZETÉS</b> .....	<b>3</b>
<b>2. CÉLKITŰZÉSEK</b> .....	<b>6</b>
<b>3. IRODALMI RÉSZ</b> .....	<b>7</b>
3. 1. A HÚS ÖSSZETÉTELÉNEK ÁLTALÁNOS JELLEMZŐI .....	7
3. 2. ÁLLATFAJOK AZONOSÍTÁSA ÉS A FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA A HÚSMINŐSÉGGEL ÖSSZEFÜGGÉSBEN .....	12
3. 2. 1. Kémiai módszerek .....	13
3. 2. 2. Elektroforetikus módszerek .....	14
3. 2. 2. 1. Állatfajok azonosítása fehérjemintázat alapján .....	14
3. 2. 2. 2. Idegen fehérjék kimutatása .....	17
3. 2. 2. 3. Egyes élelmiszeripari eljárások hatása a fehérjemintázatra .....	19
3. 2. 3. Immunanalitikai módszerek .....	23
3. 2. 4. DNS meghatározáson alapuló módszerek .....	24
3. 3. HÚSTERMÉKEK POTENCIÁLIS ALLERGÉN JELLEGE .....	25
3. 4. BIOGÉN AMINOK .....	28
<b>4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK</b> .....	<b>32</b>
4. 1. ANYAGOK .....	32
4. 1. 1. Húsminták .....	32
4. 1. 2. Humán szérumok .....	34
4. 2. MÓDSZEREK .....	34
4. 2. 1. Miofibrilláris és szarkoplazma fehérjék izolálása .....	35
4. 2. 2. Mioglobín kinyerése .....	35
4. 2. 3. Troponin izolálása .....	35
4. 2. 4. Nyúlban kifejlesztett ellenanyagok előállítása .....	36
4. 2. 5. Izoelektromos fókuszálás .....	36
4. 2. 5. 1. Izoelektromos fókuszálás agaróz gélben .....	36
4. 2. 5. 2. Izoelektromos fókuszálás poliakrilamid gélben .....	37
4. 2. 5. 3. Preparatív izoelektromos fókuszálás .....	38
4. 2. 6. SDS-poliakrilamid-gélelektroforézis .....	39
4. 2. 6. 1. 15%-os gél .....	39
4. 2. 6. 2. 8%-os gél .....	40
4. 2. 7. Elektroforetikus blott technika és immunfestés .....	40
4. 2. 8. Videodenzitométeres kiértékelés .....	41
4. 2. 9. Mikrobiológiai módszerek .....	42
4. 2. 10. Középnomású folyadékkromatográfia (FPLC) .....	42
4. 2. 11. Biológiai aktív aminosavak meghatározása .....	42
4. 2. 11. 1. Biológiai aktív aminosavak meghatározása aminosavanalizátorral .....	42
4. 2. 11. 2. Biológiai aktív aminosavak meghatározása HPLC-vel .....	44
4. 2. 12. Statisztikai módszerek .....	48
<b>5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS</b> .....	<b>48</b>
5. 1. KÜLÖNBÖZŐ ÁLLATFAJOK FEHÉRJEMINTÁZATÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA .....	48
5. 1. 1. Molekulatömeg szerinti megoszlás .....	49
5. 1. 2. Sertéshús kimutatása immunblott módszerrel .....	50
5. 1. 3. Vasat tartalmazó fehérjefrakciók vizsgálata izoelektromos fókuszálással .....	53
5. 1. 3. 1. Mioglobín-mintázat meghatározása .....	53
5. 1. 3. 2. Vasat tartalmazó nem hem-fehérjék kimutatása .....	62
5. 2. AZ ÁLLATTARTÁSI MÓD HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA SERTÉSHÚS-FEHÉRJÉKRE .....	64

5. 3. A KONDICIONÁLÁSI FOLYAMAT JELLEMZÉSE A MIOFIBRILLÁRIS FEHÉRJÉK SDS-PAGE SZEPARÁLÁSÁVAL .....	70
5. 4. A $\gamma$ -BESUGÁRZÁS ÉS A HŐKEZELÉS HÚSFEHÉRJÉKRE GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA .....	76
5. 5. HÚSOK ÉS HÚSTERMÉKEK POTENCIÁLIS ALLERGÉN JELLEGÉNEK VIZSGÁLATA .....	83
5. 6. BIOLÓGIAILAG AKTÍV AMINOK VIZSGÁLATA FRISS ÉS KONDICIONÁLT HÚSMINTÁKBAN .....	88
<b>6. ÖSSZEFOGLALÁS.....</b>	<b>96</b>
<b>7. SUMMARY .....</b>	<b>99</b>
<b>FÜFFELÉK 1 .....</b>	<b>102</b>
<b>FÜGGELÉK 2.....</b>	<b>103</b>
<b>RÖVIDÍTÉSEK:.....</b>	<b>104</b>
<b>IRODALOMJEGYZÉK.....</b>	<b>105</b>
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS:.....</b>	<b>131</b>

## 1. BEVEZETÉS

A húsfehérjék magas biológiai értékük és jó enzimes hasíthatóságuk révén lényeges szerepet játszanak a megfelelő esszenciális aminosav bevitel biztosításában, ezáltal az egészségmegőrző táplálkozásban (Hajós, 2000). A húsok számos fontos vitamint és mikroelemet is tartalmaznak könnyen felvehető formában. Az élelmiszertudomány egyik célja ennek a bonyolult összetételű és szerkezetű, meghatározott biológiai funkciójú rendszernek a vizsgálata abból a szempontból, hogy miképpen lehet az állat levágása után olyan élelmiszeripari termékeket előállítani, amelyeknek a táplálkozás szempontjából fontos összetevői és azok hasznosulása, valamint a fizikai és érzékszervi tulajdonságai a lehető legkedvezőbbek (Lásztity, 1981). A húsnak az emberi táplálkozásban elfoglalt kiemelt helyét jelzi az is, hogy az angol *meat* szó eredeti jelentése *élelmiszer*, amely nélkülözhetetlen (Bíró, 2000). A húsétel a legtöbb kultúrában a családi és társadalmi ünnepek, vendégváró asztalok fő fogása. Ez a kiemelkedő hely mind a gasztronómiai élmény, mind tápanyagainak gazdagsága miatt megilleti (Incze, 2000).

A táplálékfehérjék szerkezetét az élelmiszeripari eljárások különböző mértékben módosíthatják. A húsról alapvetően jellemző, hogy a vágást követően folyamatos és jelentős változásokon megy keresztül. Az állattartás és a vágás módja, a hűtés, az aprítás és a tárolás körülményei, valamint a különféle feldolgozási műveletek döntően befolyásolják a termék minőségét. A húsminőség kérdése az utóbbi években különösen nagy jelentőségűvé vált (Honikel, 1993, Hofmann, 1994, Maltin és munkatársai, 1997, Fiedler és munkatársai, 1999).

Az élelmiszeralitika területén az utóbbi évtizedekben igen nagy szerepet kaptak az elektroforetikus és kromatográfias módszerek a fehérjék izolálásában és tisztításában, valamint az állati és növényi eredetű fehérjék jellemzésében. A húsfehérjék kutatásában az elektroforetikus és kromatográfias vizsgálatok - az állatfajok azonosításán és az idegen fehérjék kimutatásán túl - alkalmazhatóak a fehérjemintázatra ható különféle tényezők, (pl. fajta, tartási mód, érlelés, fagyasztás, hőkezelés stb.) nyomon követésére is. Az izomfehérjékben bekövetkező változások tanulmányozása szempontjából előnyös, hogy az elektroforézist követően az

általánosan alkalmazott fehérje festéseken kívül más, nagyobb érzékenységű és különféle specificitású detektálási módszerek is használhatók. A fehérjék elektroforetikus szeparálása alapul szolgálhat további, pl. immunológiai vagy enzimes vizsgálatok elvégzéséhez is.

A hús fehérjéi közül a szarkoplazma fehérjékre jellemző, hogy fajspecifitással rendelkeznek. A miofibrilláris fehérjék kevésbé fajspecifikusak, másrészt a tárolás során részben bomlást szenvednek. Ezért az állatfajok azonosítására elsősorban a szarkoplazma fehérjék használhatók, míg az egy állatfajon belül, a fehérje szerkezetében az élelmiszeripari technológiák hatására bekövetkező, a termék minőségét befolyásoló változások nyomán követésére a miofibrilláris fehérjék megfelelőbbek (Kaiser és Krause, 1985). A fajok azonosítására a szarkoplazma fehérjék közül a mioglobinnel kapcsolatos vizsgálatok különösen előnyös, mivel az egyes mioglobinnel kapcsolatos izoelektromos pontja jellemző a fajokra (Hofmann és Blüchel, 1986).

A táplálék-allergia kérdése a húsipari termékek esetén is lényeges. A táplálékok által kiváltott allergiás megbetegedések esetén ugyanis fontos az allergén elhagyása az étrendből. Bár a hús az egyik legkisebb allergiás potenciállal rendelkező élelmi anyag (Barna, 2000), problémát okozhatnak az egyes hústermékekben "rejtett" formában, pl. adalékanyagként jelen levő, nem hús eredetű (pl. szója) fehérjék. A keresztallergia előfordulása miatt is lényeges a húsipari termékek allergén aktivitásának vizsgálata.

A biogén aminosavak meghatározása a fiziológiai aktivitásukból adódó egészségügyi vonatkozásokon kívül azért is fontos, mert mennyiségük és arányuk a húsok frissességét, minőségét is jól jellemzik. A biogén aminosavak a fehérjéket felépítő aminosavak származékai. A biogén aminosavak szintje friss húsokban viszonylag alacsony, a tárolás során vagy egyes élelmiszeripari technológiák hatására bekövetkező fehérjedegradáció és mikrobiális tevékenység következtében azonban koncentrációjuk jelentősen megemelkedhet (Silla Santos, 1996, Hernandez-Jover és munkatársai, 1997).

## **2. CÉLKITŰZÉSEK**

A bevezetésben említett előzmények alapján kutatómunkámban a következő feladatokat tűztem ki célul:

### **1. A húsminták fajspecifikus fehérjemintázatának meghatározása**

- a fehérjefrakciók molekulatömeg szerinti megoszlása alapján,
- sertéshús esetén immunblott módszerrel,
- izoelektromos pont szerinti elválasztás segítségével, különös tekintettel a vasat tartalmazó fehérjefrakciókra.

### **2. Az állattartási mód és egyes élelmiszer-technológiai tényezők hatásának**

tanulmányozása az izomfehérjékre :

- nagyüzemi és organikus körülmények között tartott sertésekből származó húsminták fehérje-szerkezetének vizsgálata
- húsok kondicionálási folyamatának jellemzése a miofibrilláris fehérjék szerkezetének változásaival
- a hőkezelés és a  $\gamma$ -besugárzás hatására az izomfehérjékben bekövetkező változások vizsgálata

### **3. Húsok és hústermékek fehérje-összetevői potenciális allergén jellegének vizsgálata**

### **4. Biogén aminok meghatározása nyers húsmintákban, és mennyiségi változásaik nyomon követése tárolás és érlelés során**

- normál érésű és PSE jellegű sertéshúsminták biogén amin tartalmának összehasonlítása
- friss sertéshús, marhahús és vaddisznóhús biogén amin profiljának jellemzése
- biogén aminok mennyiségi változásainak nyomon követése a tárolás illetve az érlelés során

### 3. IRODALMI RÉSZ

#### 3. 1. A HÚS ÖSSZETÉTELÉNEK ÁLTALÁNOS JELLEMZŐI

A hús az emberi táplálkozásban fontos szerepet tölt be, számos tápanyagot tartalmaz könnyen felvehető formában. Kifejlett vágóállatok izomszövetének átlagos összetételi adatait az **I. táblázat** szemlélteti.

VÍZ	75,50 %
FEHÉRJE	18,00 %
ZSÍR	3,00 %
NEM FEHÉRJE NITROGÉN	1,57 %
SZÉNHIDRÁT	0,28 %
SZERVES SAVAK, VITAMINOK	1,00 %
SZERVETLEN ALKOTÓRÉSZEK	0,65 %

**I. táblázat:** Vágóállatok izomszövetének átlagos összetételi adatai (Lásztity, 1980)

A szűkebb értelemben vett hús izomszövet, tágabb értelemben azonban egyéb szövetek (ínszövet, kötőszövet, zsírszövet) is kísérik. A hús szárazanyag komponensei közül a fehérjék a legfontosabbak, ezek adják meg elsősorban a hús biológiai értékét. A vágóállatok húsanak makroösszetételi adatai az állatok fajától, korától, testtájától függően különbözőek. A húsfehérjék megfelelő mennyiségben és arányban tartalmazzák az esszenciális aminosavakat. A vágóállatok húsanak átlagos fehérjetartalmát a **II. táblázat** mutatja. A víz/fehérje arány csak kis ingadozásokat mutat és a zsírtartalomtól lényegében független (Csapó és munkatársai, 1992).

Húsféleség	Fehérje, %
Marhahús	
sovány	20,6
kövér	18,9
Sertéshús	
sovány	20,1
zsíros	15,1
nagyon zsíros	9,1
Sonka	20,1
Borjúhús	
sovány	21,7
zsíros	19,5

**II. táblázat:** Vágóállatok hújának átlagos fehérjetartalma (Lásztity, 1980)

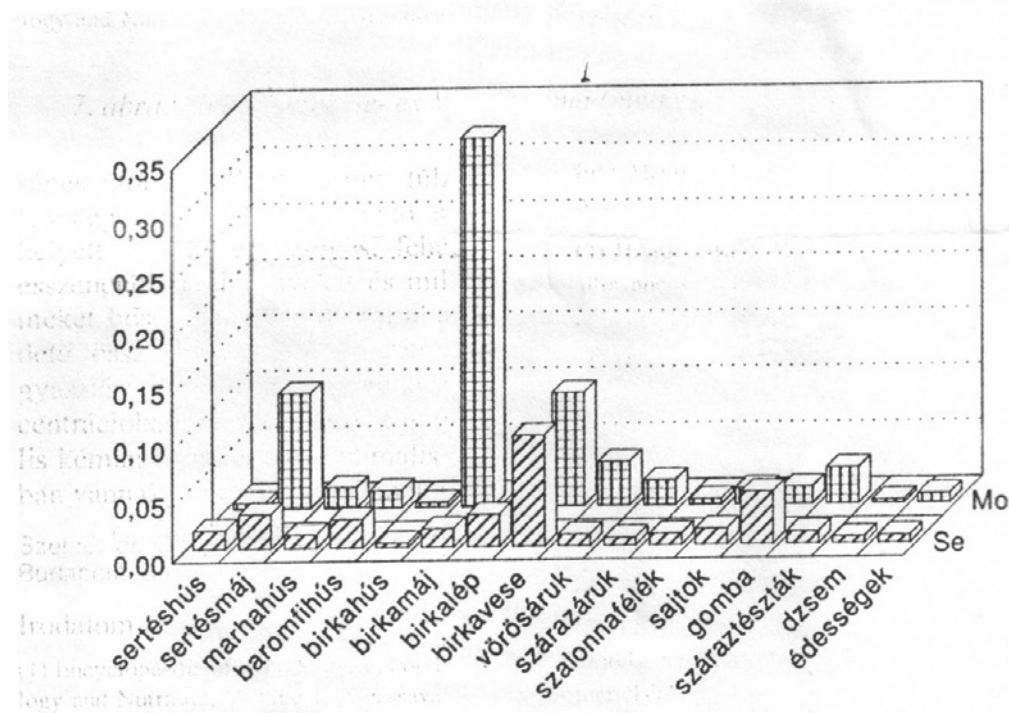
Táplálkozásélettani szempontból jelentősek a vitaminok és számos ásványi anyag komponens is. A húsok és ehető belsőségek majdnem minden, a humán táplálkozás szempontjából fontos ásványi anyagot tartalmaznak. Ezek közül kiemelkedő szerepe van a húspanban található jelentős mennyiségű vasnak, ami lényegesen jobban hasznosítható az emberi szervezetben, mint a növényi élelmiszerek vastartalma. A hús a megfelelő szelénellátottság szempontjából is fontos élelmiszer. Az izomszövetben igen kedvező a kálium nátrium arány, ezt csak az élelmiszeripari vagy konyhatechnikai műveletek változtatják meg. A különféle húsok, illetve belsőségek, és összehasonlításképp néhány egyéb élelmiszer ásványi anyag összetételét foglalja össze a **III. táblázat** és az **1. ábra**.

A húspanban a szénhidrát-tartalom igen alacsony. A szerves savak, és több igen kis mennyiségben jelenlévő szerves vegyület elsősorban a jellegzetes húsaroma kialakításában vesz részt.



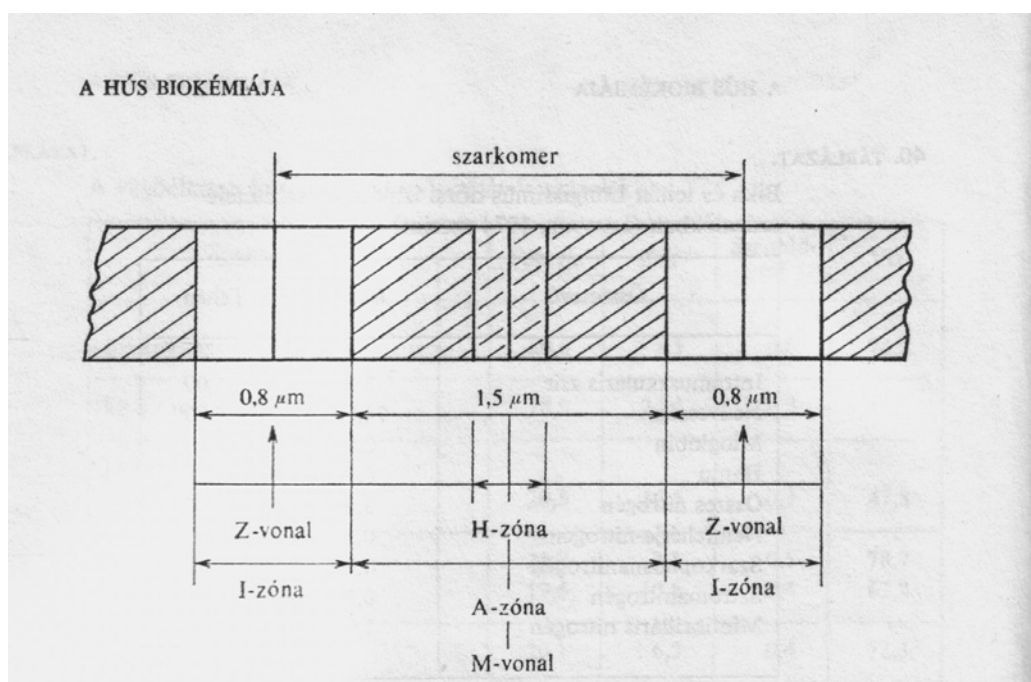
élelmiszer (100 g)	Na (mg)	K (mg)	Ca (mg)	Mg (mg)	Fe (µg)	Zn (µg)	Cu (µg)	Mn (µg)	F (µg)	I (µg)
csirkehús	83	359	12	37	18000	850	300	20	33	nyo m
kacsahús	140	292	11	15	2100	1600	450	30	40	1
libahús	1207	517	24	33	2660	1666	372	65	73	6
borjúhús	98	331	10	15	1924	2787	155	28	20	3
borjúmáj	87	316	9	19	7900	8400	5500	280	19	8
marhahús	50	364	5	20	2467	4112	71	20	128	3
marhamáj	116	292	7	17	7100	5100	3600	250	130	14
sertéshús	76	252	5	17	2200	2252	58	72	56	3
sertésmáj	77	350	10	21	22100	5900	5480	360	290	14
teljes tej 3,5%	48	157	120	12	46	380	17	3	17	11
kukorica	6	330	15	120	2100	2500	2500	480	62	3
rizs (fényezett)	6	103	6	64	600	500	500	2000	45	2
fehérkenyér	540	132	58	24	950	500	220	600	80	6
főtt burgonya	3	440	10	25	700	300	150	170	10	4
alma	2	144	7	6	400	120	100	65	7	2
<i>napi ajánlott bevitel</i>	<i>2000- 3000</i>	<i>3000- 4000</i>	<i>800</i>	<i>350</i>	<i>12000 - 18000</i>	<i>15000</i>	<i>2000- 4000</i>	<i>2000- 5000</i>	<i>1000</i>	<i>200</i>

**III. táblázat:** Húsok és más élelmiszerek ásványi elem tartalma (Steinmaßl, 1994)



1. ábra: Élelmiszerek Se- és Mo-tartalma [mg/kg] (Horváth, 2000)

Az izomszövet legnagyobb részét képező harántcsíkolt izmok izomkötegeit kötőszöveti hártya (epimizium) határolja. Az izomkötegeken belüli izomnyalábokat szintén egy kötőszöveti elem (perimizium) választja el egymástól. Az izomnyalábokon belüli izomrostok felszínén a szarkolemma, vagy plazmolemma foglal helyet. Az izomrost belsejében található a miofibrillumok. A miofibrillumok közötti teret a szarkoplazma, az izomrost protoplazmája tölti ki. Az izomrost szarkomereknek nevezett ismétlődő egységekből áll (2. ábra). A miofibrillumon belül szabályos elrendezésben vékony (I) és vastag (A) filamentumok helyezkednek el, nyugalmi állapotban hosszúságban egymáshoz képest eltolva. Az I vékony zónát a Z-membránok határolják (Z-vonal). A közepén elhelyezkedő H-zónában csak vastag filamentumok vannak (középvonala az M-vonal). A kétféle filamentum hidakkal kapcsolódik össze egymással, melyek a vastag filamentumon szabályos periodicitásban alakultak ki.



2. ábra: Az izomrost szerkezete (Lásztity, 1981)

A húsok fehérjéi oldhatóság szerint három nagy csoportba sorolhatók: a miofibrilláris fehérjék csak magas sókoncentrációjú oldatban oldhatók, a szarkoplazma fehérjék vízben és gyengébb sóoldatban oldódnak, a kötőszöveti fehérjék (kollagén, elasztin, retikulin) pedig vízben vagy sóoldatban oldhatatlanok.

A miofibrilláris fehérjék közül a vastag filamentumban található a miozin, a C-protein és az M-vonal fehérjék. Az izomszövet fehérjéinek majdnem a felét teszi ki a teljes értékű miozin fehérje. A miozin több alegységből épül fel, molekulatömege 460000. A miozin egyik legfontosabb tulajdonsága az ATP-áz aktivitás, másik lényeges sajátossága, hogy komplexet képez az aktinnal. A C-protein molekulatömege 140000, az M-vonal fehérjék pedig 155000, illetve 88000 molekulatömegeggel jellemezhetőek. A vékony filamentum fontosabb fehérjéi az aktin, a tropomiozin, a troponin komplex, és az  $\alpha$ - valamint  $\beta$ -aktinin. Az aktin a vékony filamentumok fő fehérjéje. A húsból kivont globuláris 42000-es molekulatömegű G-aktin fiziológiás körülményeknek megfelelő ionerősségű közegben F-aktinná polimerizál. A tropomiozin két azonos 33000 molekulatömegű alegységből felépülő, 100%-ig

helikális fehérje. A troponin komplexet a 17800-as molekulatömegű troponin-C, a 37000-es molekulatömegű troponin-T, valamint a 24000-es molekulatömegű troponin-I alkotja. Az  $\alpha$ -aktinin 100000, a  $\beta$ -aktinin pedig 70000 molekulatömegű fehérje.

A szarkoplazma fehérjék az élő szervezetben sokoldalú funkciót töltenek be, és ennek megfelelően nagyszámú fehérje mutatható ki, mint az albuminok, miogén, mioglobín, hemoglobín, mitokondriális fehérjék, lizoszómák, liposzómák, szarkoplazmás retikulum hálózat. Az enzimek között igen lényeges a glükózlebontást és az energiatermelést végzők szerepe, a szállító fehérjék közül pedig a mioglobín, amely mint a hús alapvető színanyaga élelmiszertechnológiai szempontból is kiemelkedő jelentőségű. A mioglobín mellett, amely a hús összes pigmentjének kb. 90%-a, kb. 10% hemoglobín is található. Az egy vasat tartalmazó mioglobín molekulatömege 16 900. A mioglobín 96%-át a fehérjekomponens, a globin, 4%-át pedig a prosztetikus csoport, a hem alkotja, amely a vegyület színét meghatározza. A porfirinváz központjában elhelyezkedő vas hat koordinációs kötése közül négyet a porfirinyűrű köt meg, a maradék kettő közül az egyikhez imidkötéssel a globin rész kapcsolódik, a másikhoz pedig egy víz. Ez az utolsó kötés nem stabil, és a részecske kicserélődhet más ionra vagy ioncsoportra, ami összefüggésben van a hús színének változásával. A mioglobín koncentráció az állatok fajtától, korától, nemétől, tápláltsági állapotától, mozgási aktivitásától, és az izom fajtájától is függ.

### 3. 2. ÁLLATFAJOK AZONOSÍTÁSA ÉS A FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA A HÚSMINŐSÉGGEL ÖSSZEFÜGGÉSBEN

Sok más élelmiszertől eltérően a hús az állat levágását követően folyamatos és jelentős változásokon megy keresztül (Honikel, 1993). Az állattartás és a vágás módja, a hűtés, az aprítás és tárolás körülményei, valamint a különféle feldolgozási eljárások döntően befolyásolják a termék minőségét (Dworschák és munkatársai, 1995, Griot, 1998, Hildrum és munkatársai, 1999, Hoving-Bolink és munkatársai, 1999). Az élelmiszerválaszték egyre szélesebb, a hagyományostól eltérő

technológiákat is alkalmaznak, és az alapanyagok köre is bővül a korábban egzotikusnak számító állatfajok húásával, ami újabb kihívások elé állítja az élelmiszeranalitikusokat (Schupp és munkatársai, 1998, Lakritz és munkatársai, 1998). Ezzel párhuzamosan a húsminőség kérdése az utóbbi években különösen nagy jelentőségűvé vált (Ellis és munkatársai, 1999, Branscheid és munkatársai, 1999, Nardone és Valfre, 1999, Warkup, 1999).

A húsok és hústermékek vizsgálatában kiemelt fontosságú az állatfajok azonosítása, és az idegen fehérjék kimutatása (Righetti, 1981). Az eredetvizsgálat műszeres megközelítését indokolja, hogy darált húsok, fagyasztott tömbhúsok, különféle hústermékek esetén a fajok érzékszervileg sokszor már nem azonosíthatóak (Jánosi és munkatársai, 1998). A gazdasági okok mellett a húsok azonosításának egészségi, vallási és állatvédelmi szempontból nagy a jelentősége.

A húsok eredetének meghatározására az élelmiszeranalitikai eljárások széles skálája alkalmazható. Az állatfajok azonosítására jelenleg legelterjedtebbek a fehérje-meghatározáson alapuló elektroforetikus és immunanalitikai eljárások, de ismertek kémiai módszerek is, és az utóbbi években elterjedőben vannak a DNS meghatározásán alapuló vizsgálatok (Winterř, 1990, Hofmann, 1997).

### **3. 2. 1. Kémiai módszerek**

Különböző izomminták anszerin, balenin és karnozin tartalmát határozták meg Carnagie és Illic (1983) nagyteljesítményű folyadékkromatográfiával (HPLC). Állításuk szerint az izomszövetben szabadon is előforduló dipeptidek mennyisége és aránya jellemző egy adott fajra, sőt ezek az adatok főzés során sem változnak meg. Plowman és Close (1988) azonban ellenőrző vizsgálataik során megállapították, hogy az eredmények nem egyértelműek.

Zsírsav-összetétel vizsgálattal próbálták húseredetet megállapítani Verbeke és Van de Sompel (1986). A húskeverékekben jelenlévő trigliceridek zsírsavkomponenseinek meghatározásával sikerült megállapítani a húshamisítást.

Saed és Abbu-Daga (1986) szerint egy a sertéshúsban jelenlévő zsírsav, a 11,14-ekozadién sav egyértelműen és mérhetően bizonyítja a sertéshús jelenlétét.

### 3. 2. 2. Elektroforetikus módszerek

Az élelmiszeranalitika területén az elektroforetikus módszerek kiemelkedő jelentőségűek a növényi és állati fehérjék jellemzésében, izolálásában és azonosításában (Spell, 1974, Kaiser és munkatársai, 1980, Righetti és munkatársai, 1981, Kaiser és Krause, 1985, Hajós, 1993, Claeys és munkatársai, 1995, Szerdahelyi és munkatársai, 1995, Ochirkhuyag és munkatársai, 1998). A húskutatásban ezeket az eljárásokat elsősorban az állatfajok azonosítására, és az izomfehérjéknek az egyes élelmiszeripari technológiák hatására bekövetkező, a húsminőséggel összefüggő változásainak nyomon követésére, valamint az idegen fehérjék kimutatására használják (Brauner-Glaesner és Ristow, 1990, Abraham és Varadarajulu, 1993, Rak, 1996).

A szarkoplazma fehérjékre jellemző, hogy fajspecifitással rendelkeznek. A miofibrilláris fehérjék kevésbé fajspecifikusak, és a tárolás során nagy részben bomlást szenvednek. Ezért az állatfajok azonosítására elsősorban a szarkoplazma fehérjék használhatók (Kaiser és Krause, 1985, Hofmann és Blüchel, 1992). A miofibrilláris fehérjék vizsgálata inkább az élelmiszeripari technológiák hatására bekövetkező fehérjeszerkezeti változások nyomon követésére alkalmazható (Kaiser és Krause, 1985, Hajós és munkatársai, 1995, Claeys és munkatársai, 1995).

#### 3. 2. 2. 1. Állatfajok azonosítása fehérjemintázat alapján

Giles (1962) már a hatvanas évek elején el tudta különíteni a marha, a sertés, a juh és a nyúl szarkoplazma-fehérjéit keményítőgél-elektroforézissel. Állati fehérjék azonosítására Höyem és Thorson (1970) bevezette a poliakrilamid gélelektroforézist, és a fajokat a mioglobinnél alapján különböztették meg. Őz és szarvas

húsfhérjéinek megkülönböztetésére Heinert és Klinger (1980) az észteráz-mintázatot javasolta. 14 melegvérű és 18 hidegvérű állatfaj fehérjemintázatának összehasonlító vizsgálatát végezték el Kaiser és munkatársai (1980). Nyers és hőkezelt húsminták szarkoplazma és miofibrilláris fehérjéit Tinbergen és Olsman (1976) izoelektromos fókuszálással vizsgálta. Az izoelektromos fókuszálást halfajok azonosításának hivatalosan is elismert módszereként alkalmazták az USA-ban (Kaiser és Krause, 1985).

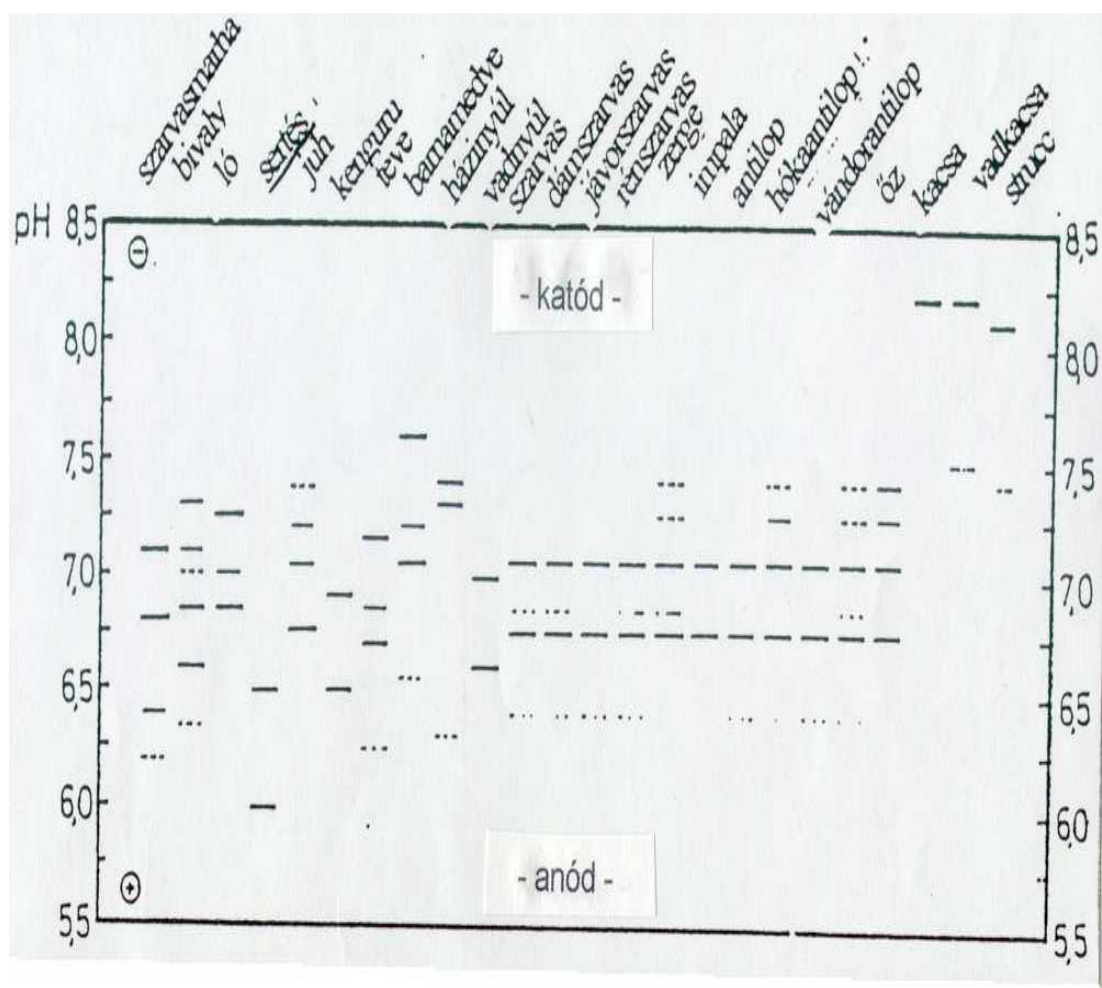
Húskeverékekből is lehetséges az állatfajok azonosítása izoelektromos fókuszálással (Kaufer és munkatársai, 1990, Wintero és munkatársai, 1990). A fajok azonosítása szempontjából hasonlították össze Rüggeberg és munkatársai (1997) az izoelektromos fókuszálást és a PCR módszert különféle állatfajok mintáiból előállított nyers és főtt húskeverékek vizsgálata során. Megállapították, hogy a két módszerrel kapott eredmények jól összehasonlíthatók. Sertéshús és marhahús valamint pulykahús és marhahús keverékek meghatározásakor a PCR módszer érzékenyebbnek bizonyult, azonban marhahús és birkahús keverékek esetén poliakrilamidgél izoelektromos fókuszálással kaptak jobb eredményt. Az izoelektromos fókuszálás előnyeként említik a DNS-alapú meghatározással szemben a kisebb költségigényt és az egyszerűbb kivitelezhetőséget is.

A mioglobinnel kapcsolatos izoelektromos pontja jellemző az egyes fajokra, ezért pl. a húsból kinyert lében található fehérjék izoelektromos fókuszálása az állatfajok azonosítására jól használható. Hofmann és Blüchel (1986) az úgynevezett mioglobinnel atlaszban foglalta össze a táplálkozási szempontból legjelentősebb állatfajok és néhány más faj mioglobinnel mintázatát (**3. ábra**).

Mivel a mioglobin önmagában is színes, a mintázat nagy mioglobinnel tartalmú húsok esetén festés nélkül is felismerhető. A mioglobinnel kapcsolatos izoelektromos pontja azonban a hemfehérjék peroxidáz aktivitása alapján az elektroforetikus elválasztást követően pszeudoperoxidáz festéssel specifikusan és érzékenyen detektálható, így a világosabb húsrészekből is kimutathatók (Bauer és Hofmann, 1989). Az egyes élelmiszeripari technológiák azonban megnehezíthetik a fajok azonosítását (Bauer és munkatársai, 1993).

A hemfehérjékben hő hatására bekövetkező változásokat tanulmányozták Geileskey és munkatársai (1998) modelloldatok segítségével. Az elektroforetikus

módszerek alkalmazhatóságának határait vizsgálta a húszonosítás területén Mann és Bauer (1991), melynek során megállapították, hogy a húsok sózása és hőkezelése erőteljesen befolyásolja a fehérjemintázatot. Hofmann és Blüchel (1991) eredményei szerint az izoelektromos fókuszálás részben alkalmazható a húsok eredetének meghatározására hőkezelt termékekből is.



3. ábra: A "mioglobin-atlasz" (Hofmann és Blüchel, 1986)



Erősen hőkezelt termékek, például húskonzervek azonosítására a viszonylag érzékeny ezüstoffestést javasolták (Bauer, 1990, Hofmann és Blüchel, 1992). King (1984) vizsgálatai szerint a fajok főtt húsokból történő azonosítására 105 °C-ig az izoelektromos fókuszálást követő kreatin kináz festés, 120 °C-ig pedig az adenilát kináz festés alkalmas, mivel ezek az enzimek viszonylag hőtűrőek. Különböző hőkezelt hústermékekből történő eredetvizsgálatra Bauer és Hofmann (1989) az ezüstoffestést és a mioglobinra specifikus pszeudoperoxidáz festést hasonlította össze.

Jemmi és Schlosser (1993) nemcsak hőkezelt, hanem marinált hústermékekből is elvégezték az azonosítást poliakrilamidgél-izoelektromos fókuszálással, és a fajokat keverékeikből is meg tudták határozni ezüstoffestés segítségével. Izoelektromos fókuszálással rendszertanilag igen közeli rokonságban álló fajok is megkülönböztethetőek voltak (Jemmi és Schlosser, 1991, Santín és Centrich, 1997). Az izoelektromos fókuszálás alkalmazhatóságát vizsgálták halfajok meghatározására Rehbein és munkatársai (1995) és tanulmányozták az extrakciós puffer, valamint a mintafelvitel helyének befolyását a módszer eredményességére egy nemzetközi körvizsgálat során. Az újabb módszernek számító „Laurell-féle” crossover immunoelektroforézis technikát alkalmazva Zanon és Vianello (1998) marhahúst, sertéshúst, juhhúst, lóhúst és csirkehúst határozott meg húskeverékekben 5%-os kimutatási határral.

Az utóbbi években a kapilláris elektroforézis is egyre nagyobb jelentőségű a húsfehérjék vizsgálatában (Werner és munkatársai, 1993, Gallardo és munkatársai, 1995). Különböző halfajok szarkoplazma-fehérjéit hasonlították össze kapilláris elektroforézissel LeBlanc és munkatársai (1994), Cota-Rivas és Vallejo-Cordoba (1997) pedig marha-, sertés- és pulykahúst azonosítottak kapilláris elektroforézissel.

### *3. 2. 2. 2. Idegen fehérjék kimutatása*

A húskutatásban a húsfehérjék azonosítása mellett jelentős szerepet játszik az egyéb állati eredetű és a növényi fehérjék kimutatása is. Az adalékfehérjéket egyrészt a húsipari termékek funkciós tulajdonságainak javítására, másrészt a

húsfehérjék olcsóbb fehérjékkel való helyettesítése céljából alkalmazzák. A húsipari termékekben jelenlévő, nem húseredetű fehérjék például szója-, tej- vagy tojásfehérje kimutatása azért is lényeges, mert a táplálékok által kiváltott allergiás megbetegedések esetén szükséges az allergén kihagyása az étrendből (Polgár és munkatársai, 1996). Az adott húsfehérjétől eltérő eredetű fehérjék kimutatására az elektroforetikus módszerek eredményesen alkalmazhatóak (Olsman és Hitchcock, 1980, Feigl, 1990, Rak, 1996).

Szójafehérjét mutatott ki hústermékekből Molander (1982) SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel. Az elektroforetogramokat denzitometriásan értékelve megállapította, hogy a módszer mennyiségi meghatározásra is használható olyan termékeknél, amelyek nem kaptak 100 °C-nál erősebb hőkezelést. Többféle elektroforetikus és kromatográfiás módszert hasonlítottak össze Cattaneo és munkatársai (1994) a szójafehérje meghatározása szempontjából. Megfelelően szelektív mintaelőkészítést alkalmazva 0,6 g/kg szójafehérjét tudtak kimutatni SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel, izoelektromos fókuszálással pedig a kimutatási határ 30 g/kg volt. Körs és Steinhart (1997) a hagyományosan alkalmazott elektroforetikus módszerekkel való szójafehérje kimutatás és meghatározás nehézségeire hívta fel a figyelmet, és a poliakrilamid gélelektroforézisnél az anionos nátriumdodecilszulfát detergens (SDS) helyett egy kationos detergens, a CTAB (N-cetil-N,N,N-trimetilammóniumbromid) használatát javasolta. Megállapította, hogy a CTAB elektroforézist immunblott módszerrel kombinálva már 0,5% szójafehérje is kimutatható, még erősen hőkezelt termékekből is.

Egy németországi vásárló kérésére Hofmann és munkatársai (1991) egy "marhagulyás" néven forgalomba hozott nyers apróhús terméket vizsgáltak meg, és a mioglobinnel való azonosításával kimutatták, hogy az áru sertéshúst is tartalmaz. A hozzáadott vér kimutatására Horn (1991) is az állatfaj-azonosításra már sikerrel alkalmazott izoelektromos fókuszálást, és pszeudoperoxidáz festést használta, abból kiindulva, hogy ezzel a módszerrel a mioglobin mellett a hemoglobin is specifikusan detektálható: munkájában 0,3% sertésvért mutatott ki vagdalthúskészítményekben.

3. 2. 2. 3. *Egyes élelmiszeripari eljárások hatása a fehérjemintázatra*

A húsfehérjék elektroforetikus mintázatát számos külső és belső tényező befolyásolja (Hofmann és Blüchel, 1986) mint például:

- az állat fajtája,
- az állat kora,
- az állat neme,
- izomcsoportok közti különbségek,
- protein polimorfizmus,
- az állattartás módja és a takarmányozás,
- betegségek és stresszhatások,
- a hús PSE-jellege,
- tárolás alatti változások,
- érlelés,
- hőkezelés,
- besugárzás,
- fagyasztás, stb.

Ezek a tényezők megnehezíthetik az állatfajok azonosítását, azonban lényeges a fehérjékre gyakorolt - a húsminőséggel is összefüggő - hatásaik nyomon követése.

Nagyüzemi valamint organikus (bio) körülmények között tartott sertések húsának vízdoldható fehérjéit hasonlítottuk össze (Hajós és munkatársai, 1995) SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel és izoelektromos fókuszálással. A fehérjék elválasztása után az elektroforetogramokat denzitometriásan értékeltük és a denzitogramokat matematikai statisztikai módszerekkel összehasonlítva mutattunk ki különbségeket az izomfehérjék mintázatában. Az állattartási körülményeknek a

mioglobinnal kapcsolatos hatását vizsgáltuk (Szerdahelyi és munkatársai, 1997) sertéshús minták felhasználásával.

A kondicionálás, a húsok fagypont fölötti hőmérsékleten történő hosszabb idejű tárolása, számos változást idéz elő az izomfehérjék struktúrájában, és azoknál a húsoknál, amelyekre jellemző a rágósság, az érzékszervi tulajdonságokat kedvezően befolyásolja (Izquierdo-Pulido és munkatársai, 1992, Augustini és Freudenreich, 1998, Schwaegele, 1999). A kondicionálás folyamán a húsban, elsősorban a miofibrilláris fehérjék szerkezetében lejátszódó változások összefüggésbe hozhatók a porhanyósság javulásával (Ouali, 1990, Smulders és munkatársai, 1999). Már néhány napos kondicionálást követően megindul a strukturális elváltozás. Nő a degradációs fehérjetermékek száma, a szerkezeti fehérjék hisztológiai képe érzékelhetően megváltozik. Ennek a biokémiai folyamatnak köszönhetően nő a termék porhanyóssága, csökken a húsok főzése, illetve sütése során fellépő veszteség, s ezáltal nő a termék forgalmi értéke (Németh-Szerdahelyi és munkatársai, 1998). Ennek, különösen az értékesebb, de frissen rágósságra hajlamos marhahúsok illetve vadhúsok esetében van nagy jelentősége. A hús érési folyamatait a rágósság megszűnésén kívül még bizonyos íz- és zamatanyagok kialakulása is jellemzi. E folyamatok alatt a fehérjék változásai jól nyomon követhetők SDS-poliakrilamid gélelektroforézises elválasztással és az elektroforetogramok denzitometriás értékelésével (Claeys és munkatársai, 1995, Uytterhaegen és munkatársai, 1995). A kondicionálási folyamatok jellemzésére egyrészt a miofibrilláris fehérjék oldhatóságát, másrészt SDS-PAGE szeparálását használták fel elsősorban (Gil és munkatársai, 1998, Uytterhaegen, 1994). A porhanyósodás elsősorban a hús endogén proteázainak köszönhető, amelyek a troponin komplex és más fehérjék degradációját okozzák (Penny, 1980, Doumit és Koohmaraie, 1999). A *post mortem* proteolízisért felelős endogén enzimek (katepszin, kalpain) működését számos tényező befolyásolja (Morton, 1999) :  $Ca^{++}$  ionokkal aktiválhatók (Alarcon-Rojo és Dransfield, 1995, Northcutt és munkatársai, 1998), a magas mioglobinnal koncentráció viszont inhibitor hatású (Volle, 1999). A 37000-es molekulatömegű troponin T frakció mennyiségének fokozatos csökkenését és alacsonyabb molekulatömegű fehérjék megjelenését figyelte

meg Penny (1976) sertéshús kondicionálásakor. A troponin T-vel kapcsolatos kutatások rámutattak arra, hogy a troponin felbomlásával egyidejűleg javul a hús porhanyóssága, mivel felbomlik a Z-diszk régió (Penny, 1980, Di Lisa és munkatársai, 1995). A degradációs termékek megjelenését összefüggésbe tudták hozni mind a tárolás idejével, mind a tárolási hőmérséklettel. (Ashie és Simpson, 1997). Különböző korú és nemű szarvasmarhák húsának érlelésekor a miofibrilláris fehérjék közül a nagy molekulatömegű titin és nebulin frakciók degradációját híg poliakrilamid-gélben vizsgálva jellemezték a porhanyósodási folyamat előrehaladtát Huff-Lonergan és munkatársai (1995). Más fehérjék, mint a 49000-es molekulatömegű dezmin lebomlásának mértéke különböző állatfajoknál lényegesen eltér, és degradációjának mechanizmusa nem teljesen tisztázott (Verres-Bagnis és munkatársai, 1999).

Az előzetes fagyasztásra utaló specifikus fehérjesávot mutattak ki az izoelektromos fókuszálással kapott mintázatban Siebert és munkatársai (1994). A fagyasztott és felengedett, valamint a friss húsminták fehérjemintázatának denzitogramjait összehasonlítva, a fagyasztás hatására megjelenő sáv marhahús esetén 7,0 pI-vel, juhhús esetén pedig 7,3 pI-vel volt jellemezhető. Baromfihúsokat vizsgálva a fagyasztva tárolt mintákban 9,45-ös pI-jű karakterisztikus fehérjefrakciót lehetett detektálni a húsból kipréselt lé izoelektromos fókuszálásával (Niemann és munkatársai, 1995).

A hőkezelés hatásait tanulmányozva, sertés és marha szarkoplazma-fehérjéinek hőstabilitását vizsgálták Bauer és Hofmann (1990). Nyomon követték a hőmérsékletnek és a hőkezelés idejének hatását a szarkoplazma fehérjék oldhatóságára és az elektroforetikus képre. Eredményeik szerint legtöbb fehérje koagulációja már 40 és 60 °C-on megkezdődik, és emiatt az erősen hőkezelt hústermékek esetén az állatfajok azonosítása nehézkes, és sok esetben bizonytalan. A mioglobint kissé hőstabilabb, csak 60 és 75 °C között kezd denaturálódni, jellegzetes kettős sávjai még 60 perces 100 °C-on történő hőkezelés után is kimutathatóak voltak. Azt tapasztalták, hogy a marhahúsfehérjék valamivel hőtűrőbbek a sertéshúsfehérjéknél. Az izoelektromos fókuszálással elválasztott fehérjéket

ezüsthévízzel jelezve, a hőkezelés hatására bekövetkező legmarkánsabb változásokat éppen a vizsgált állatfajokra specifikus neutrális és gyengén bázikus pH tartományban figyelték meg. A hőkezelés mértékének meghatározására javasolta Rehbein (1992) különféle halfajok szarkoplazma fehérjéinek izoelektromos fókuszálását.

A besugárzás hatására sertés- és marhahús- fehérjefrakciók molekulatömegének változását vizsgálták SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel Hamm és munkatársai (1979). A hőkezeléshez hasonlóan a  $\gamma$ -sugárzás is oldhatóság csökkenésre utaló sávszegényedést okoz a fehérjemintázatban. Denzitometriásan értékelve a legfőbb szarkoplazma és miofibrilláris fehérjefrakciók mennyiségi változásait, azt tapasztalták, hogy a miozin fehérje csúcsterülete a kezelés hatására jelentősen csökkent, míg az aktin viszonylag stabilabbnak bizonyult. A szarkoplazma fehérjék közül foszforiláz-b, az  $\alpha$ -aktinin és a mioglobin frakcióknál besugárzás hatása csak az alkalmazott maximális dózis (50 kGy) esetén volt egyértelműen felismerhető. Izoelektromos fókuszálással a fehérjetérképben aggregációra utaló változásokat lehetett kimutatni besugárzaskor, de a hús peroxidáz izoenzimei nem inaktiválódtak teljes mértékben (Righetti, 1981). Mivel a besugárzás hatására az izomszövetben bekövetkező változások nem eléggé specifikusak, a besugárzottság kimutatására a fehérjék vizsgálatán alapuló technikák helyett más módszerek terjedtek el (Surinder és munkatársai, 1999).

Speciális, az egyes népek konyhájára jellemző eljárásokkal készült, különleges minőségű élelmiszerek fehérjéinek szerkezete is jól jellemezhető elektroforetikus módszerekkel. A füstölt és szárított marhahúskészítmény a "cecina" érlelésekor a 200000 és 16000 közötti molekulatömeg tartományba eső miofibrilláris fehérjék fokozatos degradációját követték nyomon spanyol kutatók (Garcia és munkatársai, 1997). A *Monascus anka* (egy az ázsiai fermentált élelmiszerek készítésénél használatos mikroorganizmus, amelynek segítségével sertéshús-különlegességeket is előállítanak) kezelés hatását tanulmányozta a sertéshús fehérjéire Kuei és Chen (1994). Az izomfehérjék SDS-PAGE képe szignifikánsan megváltozott már a fermentáció harmadik napján. Két hét után az aktinnál magasabb molekulatömegű miofibrilláris fehérjék gyakorlatilag már nem voltak kimutathatóak.

### 3. 2. 3. Immunanalitikai módszerek

Az állatfajok friss és feldolgozott húsokból történő azonosításában jelentős szerepe van a különféle immunanalitikai módszereknek is (Goodwin, 1992). Ezek az eljárások az antigén és az ellenanyag specifikus kölcsönhatásának kimutatásán alapulnak (Hernandez, 1994). A század elején kezdődött az immunológiai módszerek fejlesztése a nyers húsok azonosítására (Uhlenhuth és Weidanz, 1909), amikor az antitestet tartalmazó szérum és a húsextrakt érintkezési felületén megjelenő csapadék jelezte az immunreakciót. Később a gélimmundiffúziós technikát és ellenáram-elektroforézist alkalmazva 1-3 %-os kimutatási határt lehetett elérni (Cutrufelli és munkatársai, 1989, Mageau és munkatársai, 1984). Az immundiffúziós módszert Kang'ete és mtsai (1982) használták többek közt egzotikus állatok húsmintáinak és azok keresztreakciójának vizsgálatára.

Napjainkban elsősorban enzimes-immunvizsgálatokkal határozzák meg az állatfajok eredetét (Martin, 1988, Smith, 1995). A vizsgálatokhoz egyre elterjedtebben monoklonális antitestet használnak (Garcia, 1994, Morales és munkatársai, 1994), amelyek általában jól definiált fehérjék, mint például a dezmin (Billett és munkatársai, 1996) vagy a laktátdehidrogenáz (Cheng és Smith, 1995).

Míg a nyers húsok azonosítására az immunológiai módszerek számos változata ismert, és a megfelelő antitestek többnyire kereskedelmi forgalomban is elérhetők, erősen hőkezelt termékek esetén az azonosítás lehetőségei a fehérjék hődenaturációja miatt korlátozottabbak (Rossmanith és Bauer, 1994). Hőkezelt húsok meghatározásához viszonylag termostabil fehérjék (Kang'ethe és Lindquist, 1987, Adagonda és munkatársai, 1988) például mioglobin (Hayden, 1979, Levieux és Levieux, 1996) vagy troponin (Saisekhar, 1995) ellen kifejlesztett szérumok megfelelőbbek, bár ezek kevésbé immunogének. Gyors ELISA (szilárdfázisú enzimjelzéses immunmódszer) technikát dolgoztak ki Ayob és munkatársai (1989) sertéshús kimutatására hústermékekből. Több mint száz kolbász és felvágottfélélt vizsgált meg Hofmann (1994) ELISA-teszttel, mivel többek között Németországban

is problémát jelent, hogy a gyártók a sertés- vagy marhahúst olcsóbb baromfihússal igyekeznek helyettesíteni. Hazai vörösárútból és felvágottakból végezte el az állatfajok (marha, sertés, csirke) azonosítását Kerekes (1993) automatizált nemkompetitív *sandwich* ELISA módszerrel.

### 3. 2. 4. DNS meghatározáson alapuló módszerek

A legújabb kutatási eredményekben beszámolnak húsfajták DNS meghatározása alapján történő azonosításáról (Janssen, 1998). Ezek a módszerek az elektroforetikus és immunanalitikai eljárásokhoz képest még kevésbé terjedtek el, de nagy szelektivitásuk és érzékenységük miatt ígéretesnek számítanak, annak ellenére, hogy viszonylag komplikáltak és időigényesek. Ezek az eljárások lehetővé teszik az állatfajok sikeres megkülönböztetését a legkülönbözőbb élelmiszerekből, mivel a DNS sokkal kevésbé károsodik a hőkezelés, füstölés, sózás és sok más élelmiszeripari művelet hatására, mint a fehérjék (Meyer és munkatársai, 1994, Bauer és Rippel-Rachlé, 1998, Behrens és munkatársai, 1999). A besugárzás viszont számottevően megváltoztathatja a DNS láncokat. Ezt a hatást felhasználva, hatékonyan ki lehet mutatni a besugárzott csirke-, sertés- vagy halhúst (Cerdea és munkatársai, 1997, Koppen és Cerda, 1997, Cerda, 1998/a-c, Cerda és Koppen, 1998) a DNS fragmentek vizsgálatával (DNA comet assay).

Az egyes fajokra jellemző DNS szakasz enzimes technikával történő sokszorozásán alapuló PCR módszert sikeresen alkalmazták (Chukini és munkatársai, 1994) még rendszertanilag egymáshoz közel álló fajok, pl. kecske és juh húsának megkülönböztetésére is (Meyer és munkatársai, 1995), valamint különféle egzotikus állatokból származó hús kimutatására (Colombo és munkatársai, 1998). Újabban a sokszorozott DNS szakasz különböző restrikciós enzimekkel történő hasításával, és a kapott fragmentek elektroforetikus mintázatának összehasonlításával fejlesztették tovább az eljárást (Rachlé és munkatársai, 1997). Tíz különböző vörös húsú (marha, bivaly, kenguru, ló, sertés, vaddisznó, szarvas, macska, kutya, nyúl) állatfajt (1998) és számos szárnyast (1997) azonosított RAPD-PCR (random amplified polymorphic



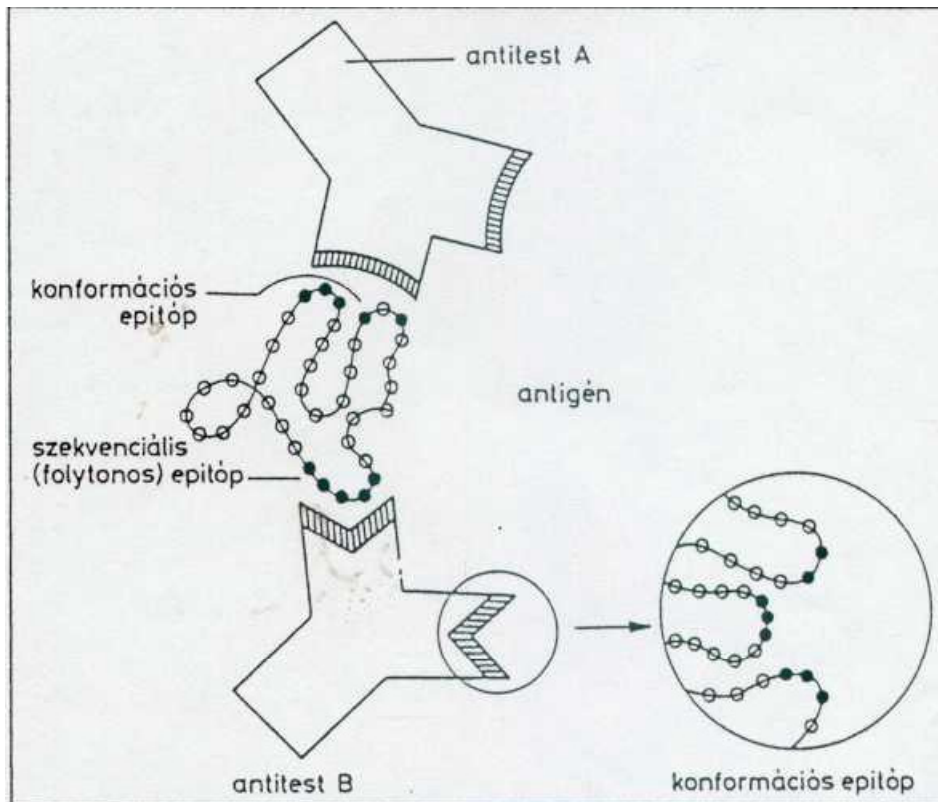
DNA fingerprint) eljárással Koh és kutatócsoportja. Martinez és Malmheden-Yman (1998) szerint a RAPD eljárás egyszerűbb és olcsóbb eredet-meghatározási módszer, mint más DNS alapú technikák.

### 3. 3. HÚSTERMÉKEK POTENCIÁLIS ALLERGÉN JELLEGE

Az élelmiszerekkel és élelmiszer-összetevőkkel szembeni túlérzékenységi reakciók egyre növekvő problémát jelentenek (Wood, 1986, Edwards, 1995, Blades, 1997, Deibel és munkatársai, 1997, Bair, 1997, Moneret-Vautrin, 1998, Polgár, 2000). Elsősorban azok a fehérjék okoznak allergiát, amelyek már viszonylag korai életkorban alapvető táplálékok. Bár a táplálékallergia problémakörében a húsfehérje-allergia lehetősége is fennáll, ez azonban a lakosságnak csak kis százalékát érinti, ellentétben a húsipari termékek által okozott túlérzékenységi reakciókkal, melyeket a hústermékekben lévő, nem húseredetű fehérjék váltanak ki (Hajós, 2000). Hazánkban a leggyakoribb allergének a tej-, tojás-, szója- és búzafehérje (Polgár, 1993, Antal, 1994). A táplálékok által kiváltott allergiás megbetegedések esetén fontos az allergén elhagyása az étrendből (Carter, 1995), amit megnehezíthet az egyes élelmiszerekben, többek között húsalapú készítményekben adalékanyagként jelen levő tej-, szója-, vagy más élelmiszer-fehérje (Gern és munkatársai, 1991, Leduc és munkatársai, 1996, Frémont és munkatársai, 1996, Hanley, 1997). Ezért szükséges az élelmiszerek antigén jellegének vizsgálata, illetve a felhasznált alap- és adalékanyagok ismeretében a betegek megfelelő tájékoztatása (Munoz-Furlong, 1997, Smith, 1997). Másrészt a keresztallergia lehetősége miatt is jelentős lehet az egyes húsfajták és húsipari termékek allergén aktivitásának vizsgálata (Polgár és munkatársai, 1996). Bár a húsfehérjékkel szembeni táplálék allergia viszonylag ritka, keresztallergia a tejtermelő állatok teje és húsa, illetve a tojástermelő állatok tojása és húsa között előfordulhat (Walsh és munkatársai, 1987, Restani és munkatársai, 1995, Gelencsér és munkatársai, 1997). Egyes esetekben más állatfajok izomfehérjéi is lehetnek allergének: például sertéshús valamint sertésbelsősegekkel szemben kifejlődött allergiás tünetekkel találkoztak Llátser és munkatársai (1998), és a páciens

vérszérumával végzett immunoblott vizsgálattal az allergén aktivitást mutató sertéshús-, vese- és bél-fehérjék molekulatömegét is meghatározták.

A fehérjék allergén jellegét szerkezetük határozza meg. Az utóbbi években nagyszámú táplálék allergént azonosítottak, izoláltak és jellemeztek (Anet és munkatársai, 1985, Wahn, 1988, Matsuda és Nakamura, 1990, Elsayed és munkatársai, 1991, Uhlemann, 1993, Ebbelhj és munkatársai, 1995, Hajós, 1996, Möller és munkatársai, 1997). Ennek ellenére a fehérje allergének esetében nem írható le egy közös, általános szerkezeti vagy kémiai jellemzése az allergén/antigén molekuláknak. Az egyes élelmiszeripari és konyhatechnikai eljárások módosíthatják a táplálékfehérjék szerkezetét és biológiai aktivitását (Aas, 1988, Urisu és munkatársai, 1997). A fehérjék allergén aktivitásában nagy szerepet játszik egyrészt immunogén karakterük, másrészt stabilitásuk mind az élelmiszeripari kezelések, mind a tápcsatornán való áthaladás folyamán (Aalberse, 1995). Az antitestek az antigén molekuláknak meghatározott helyére specifikusan kötődnek. Az epitópok a fehérje antigéneknek/allergéneknek azok a háromdimenziós részei, amelyhez antitestek kapcsolódhatnak. A szekvenciális epitópokat peptidkötéssel közvetlenül egymáshoz kapcsolt aminosavakból álló peptidláncok alkotják, a konformációs epitópokat pedig a fehérje térszerkezetének kialakulása következtében egymáshoz asszociálódott fehérjeláncok hozzák létre (Regenmortel, 1992). Ezeket az epitópokat bizonyos immunoglobulin molekulák kapcsolódó helyei, az úgynevezett paratópok felismerik, és létrejön az allergiás reakcióért felelős antigén-antitest komplex. Eltérő eredetű tápanyagok különböző fehérjéi közös epitópokkal rendelkezhetnek. Ez az oka annak, hogy különböző fehérjék között az immunológiai keresztreakció lehetőségével, az izoantigének létével is számolni kell (Pastorello és munkatársai, 1995, Spitzauer és munkatársai, 1995, Hajós és munkatársai, 1997, Chael és Wal, 1999). Az antigén-antitest kapcsolódását mutatja szekvenciális és konformációs epitóppal a **4. ábra**.



**4. ábra:** Az antigén-antitest kapcsolódás sematikus ábrázolása szekvenciális és konformációs epitópokkal (Regenmortel, 1992)

A potenciális allergén jelleget korszerű immunanalitikai és immunoelektroforetikus módszerekkel (pl. SDS-poliakrilamid-gélelektroforézis és izoelektromos fókuszálás blott eljárással és immunfestéssel kombinálva, radioimmunoelktroforézis, ELISA) vizsgálva különféle élelmiszerekben kimutathatók azok a fehérjekomponensek, amelyek fogyasztása egyes betegcsoportok számára nem ajánlható (Langeland, 1982, Demeulemester és munkatársai, 1987 és 1991, Desvaux és munkatársai, 1990, Baudner és Dreher, 1991, Alarcon-Rojo és munkatársai, 1997, Leduc és munkatársai, 1999). Nagyszámú hústermék vizsgálatával hazánkban is készült összeállítás azokról az élelmiszerekről, amelyeket a tehéntej-, tojás- és szójaallergiában szenvedők biztonságosan fogyaszthatnak (Polgár, 1996).

### 3. 4. BIOGÉN AMINOK

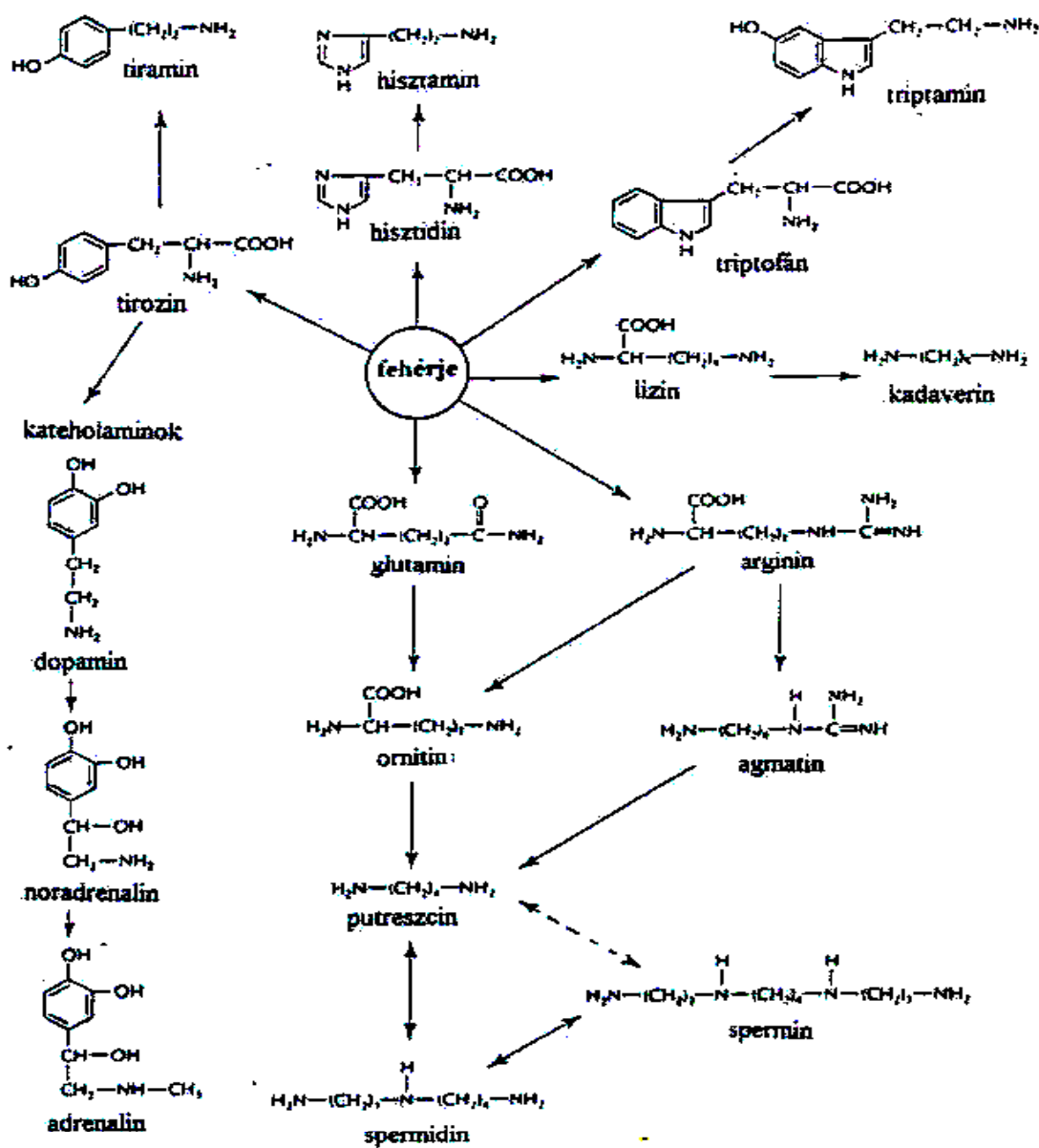
Az élelmiszerek, illetve nyersanyagok minősítése szempontjából alapvető fontosságú a biogén aminosavak vizsgálata.

A biológiailag aktív aminosavak szerepe az élő szervezet számos funkciójában jól ismert. Ezek a vegyületek élő szervezetekben fehérje- vagy nukleinsav-anyagcseréjük során jönnek létre, és számos élelmiszer természetes alkotórészei.

Az élelmiszereinkben található biológiailag aktív aminosavak kémiai szerkezetük alapján monoaminok, diaminok vagy poliaminok lehetnek. Általában azonban inkább biológiai szerepük alapján osztják fel őket, "természetes poliaminokra" és "biogén aminosavokra". A természetes poliaminok a *de novo* poliamin bioszintézis során keletkeznek, míg a biogén aminosavak nem specifikus dekarboxilálással jönnek létre, gyakran mikroorganizmusok tevékenysége folytán. A biogén aminosavak legjellegzetesebb képviselői a hisztamin, a tiramin, a triptamin, és a feniletilamin, természetes poliaminoknak elsősorban a spermidint és a spermint tekintjük, néhány aminosav - például a kadaverin és az agmatin - pedig bizonyos szempontok alapján mindkét csoportba besorolható (Bardocz 1995). A biogén aminosavak keletkezése az élelmiszerekben a jelenlévő prekursor aminosav mennyiségének és az aminosav dekarboxiláz enzim működésének függvénye. A biológiailag aktív aminosavak keletkezésének fő biokémiai útjait foglalja össze az **5. ábra**.

Az élelmiszerek biológiailag aktív aminosav tartalmának ismerete több szempontból is fontos. Az élő szervezetek képesek olyan aminosavak szintézisére, melyeknek fontos szerepe van a DNS-, RNS- és fehérje-szintézisben, valamint az egészségmegőrzésben (Bardocz és munkatársai, 1993), ugyanakkor a biológiailag aktív aminosavak közül néhány pszichoaktív és/vagy vazóaktív hatással lehet egyes fogyasztókra (Pechanek és munkatársai, 1980). E vegyületek nagyobb koncentrációban az érzékeny egyéneknél fontos szerepet töltenek be a pszeudoallergiás reakció kiváltásában, és nem kívánatos tüneteket, pl. szédülést, fejfájást, gyomorpanaszokat, vagy bőrtüneteket válthatnak ki (Bardocz, 1993, Polgár 2000). A kimutatásukra irányuló kísérleteket és hatásuk vizsgálatát felgyorsította az a megfigyelés, hogy élelmiszermérgezők kiváltásán túl, nitrit jelenlétében egyes

aminok a karcinogén N-nitrózamin vegyületek prekursorai is lehetnek (Rogowski és Döhla, 1983, Scanlan, 1995).



5. ábra: A biológiailag aktív aminok keletkezésének fő biokémia útjai (Halász és munkatársai, 1994)

Az egyes élelmiszerekre jellegzetes szabad aminosav összetétel, valamint a természetes mikroflóra jellemző. Ez alapján lényeges különbség van a növényi és állati eredetű élelmiszerek biogén amin tartalmában mind minőségi, mind mennyiségi szempontból (Simon Sarkadi és Hodosi, 1998). Biogén aminokban általában gazdagok azok az élelmiszerek, amelyek előállításánál mikrobiológiai folyamatok játszódnak le, ilyenek a fermentált savanyúságok, tejtermékek, hal- és húskészítmények stb. (Halász és Baráth, 1998, Mendes és munkatársai, 1999).

A biogén aminok mennyisége és az élelmiszer mikrobiológiai állapota közötti szoros összefüggés miatt meghatározásuk lehetővé teszi a termék minőségének, fogyaszthatóságának jellemzését. Halak illetve húsok minősítésére a következő biogén amin indexet dolgozták ki (Mietz és Karmas, 1977, Yamanaka és Matsumoto, 1989), amely jól használható a termékek minősítésére, frissességének megítélésére:

hisztamin (ppm) + putreszcín (ppm) + kadaverin (ppm)

1 + spermidin (ppm) + spermin (ppm).

További vizsgálatok alapján több szerző is javasolta a biogén amin index számlálójában a tiramin tartalmat is figyelembe venni, mert ez esetben még szorosabb korrelációt mutat az index értéke a tárolási idővel és az érzékszervi bírálatok során kapott adatokkal (Abadouch és munkatársai, 1991, Veciana-Nougés és munkatársai, 1996 és 1997).

A friss húsmintákban minden esetben megtalálhatók a spermin és a spermidin, mint a hústra jellemző természetes poliaminok (Hernandez-Jover és munkatársai, 1996). A vágást követően a hús biogén aminokban viszonylag szegény, a tárolás és a feldolgozás során azonban mennyiségük jelentősen megnövekedhet (Tschabrun és munkatársai, 1990, Szerdahelyi és munkatársai, 1994, Hernandez-Jover és munkatársai, 1997).

Nem fermentált húsok esetén a biogén aminok megjelenése és felszaporodása jól jelzi a mikrobiológiai eredetű romlási folyamatot, bár az aminok koncentrációja nincs minden esetben arányban a mikrobás szennyezettség mértékével, ugyanis a romlást okozó mikrobák nem mindegyike dekarboxiláz pozitív

(Silla Santos, 1996). A hisztamin, putreszcin és kadaverin tartalom általában emelkedik a romlási folyamat során, a spermidin és spermin koncentrációja pedig nem változik jelentősen, illetve kissé csökken (Schmidtlein, 1979, Brink és munkatársai, 1990). Érelett vagy fermentált húskészítmények aminosavprofilját az alkalmazott starterkultúra, és a különféle technológiai paraméterek jelentősen befolyásolják (Cantoni, 1995, Butturini, 1995, Masson és munkatársai, 1999, Bover-Cid, 1999, Ayhan és munkatársai, 1999, Montel és munkatársai, 1999).

A biológiailag aktív aminosavak meghatározására elsősorban kromatográfiás módszerek jöhetnek számításba (Treptow és Askar, 1990). Alkalmazták a papír- és vékonyréteg-kromatográfiát (Shaluby, 1994), új és hatékony módszereket számít az élelmiszerek biogén aminosav tartalmának kimutatására a túlnyomósos rétegekromatográfia (Simon-Sarkadi és munkatársai, 1998). Gázkromatográfiás- illetve GC-MS módszereket is kipróbáltak (Lyons és munkatársai, 1983). Azonban az élelmiszerekben előforduló biogén aminosavak és poliaminok gyors, érzékeny és pontos meghatározására leginkább a folyadékkromatográfiás módszerek terjedtek el, elsősorban az aminosavanalizátor (Rogowski és Döhla, 1984, Baráth és munkatársai, 1991, Simon-Sarkadi és Holzapfel, 1994) és a HPLC (Schmidtlein, 1979, Etter és munkatársai, 1990, Hernandez-Jover és munkatársai, 1996, Farkas és Hajós, 1998).

## 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### 4. 1. ANYAGOK

#### 4. 1. 1. Húsminták

A tartási mód fehérjemintázatra gyakorolt hatásának tanulmányozásához Magyar nagy fehér, illetve 75% Magyar nagy fehér X 25% Mangalica genotípusú sertéseket választottunk. Ez utóbbira jellemző, hogy nagy alkalmazkodóképessége következtében jól tartható organikus és nagyüzemi körülmények között egyaránt. Az organikus tartási körülmények azt jelentik, hogy az állatoknak a nagyüzemi tartáshoz képest nagyobb szabad mozgásteret és komfortérzetet kell biztosítani, valamint az etetett takarmány szermaradványt az engedélyezett határérték felett nem tartalmazhat, és az állatok antibiotikumot és szintetikus hozamfokozót nem kaphatnak (MI 1991). Az állatok levágása után az egyes állatcsoportokból (**IV. táblázat**) 6-6 egyed karaj, comb illetve tarja részeit vizsgáltuk.

Állatcsoport	1.	2.	3.	4.
Genotípus	Magyar nagy fehér	Magyar nagy fehér x Mangalica	Magyar nagy fehér x Mangalica	Magyar nagy fehér x Mangalica
Tartási mód	nagyüzemi (kontroll)	organikus (natúr)	nagyüzemi (kontroll)	organikus (natúr)
Vágósúly	100-120 kg	160-200 kg	100-120 kg	100-120 kg
Kor	8 hónap	12 hónap	8 hónap	8 hónap
Vizsgált húsrész	comb, karaj	comb, karaj	tarja	tarja

**IV. táblázat:** a tartási mód hatásának vizsgálatához használt állatanyag főbb jellemzői

A kondicionálási kísérletekhez a sertés-, marha- és vaddisznóhús modellmintákat csontozva, 2,5 cm vastagon szeletelve helyeztük a 10 literes BARFI



húsérlelő konténerbe (RINTER Gépgyártó és kereskedelmi Kft, Budapest). A különböző fajú állatokból származó húsrészeket külön konténerbe helyeztük. A kísérlet kezdetén, majd a kijelölt mérőpontokban mintát vettünk.

Kondicionálási feltételek:

- sertés-, marha-, vaddisznóhús 2 °C-on Tyler kamrában, 0-4 hétig légmentesen, BARFI tároló edényben tárolva;
- sertés-, marhahús 8-10 °C-on hűtőszekrényben, 0-1 hétig légmentesen, BARFI tároló edényben tárolva;
- sertés-, marha-, vaddisznóhús 2 °C-on Tyler kamrában, 0-9 napig, 30 mM CaCl<sub>2</sub> oldatban tárolva.

A különböző állatfajokból származó friss és kondicionált húsminták fehérjéit elektroforetikus módszerekkel hasonlítottuk össze. A kondicionálási kísérlet mintáit használtuk fel arra is, hogy a biológiailag aktív aminoszármazékok változásait nyomon kövessük az érlelés folyamán.

A  $\gamma$ -besugárzás fehérjékre gyakorolt hatásának vizsgálatához ismert genotípusú (Magyar sárga, Erdélyi kopasznyakú fekete, és Fehér Hampshire fajtájú) csirkék mell és combrészeiből származó mintákat, valamint kereskedelmi forgalomból származó sertéscomb mintát használtunk. A besugárzást Co<sup>60</sup> zárt sugárforrásban végeztük. A mintákat jég közé helyezve sugároztuk be, hogy a felmelegedésüket elkerüljük.

A hőkezeléshez a mintákat előzetesen megdaráltuk, majd 10-10 g-ot 30 percig vízfürdőben hőkezeltünk 50, 60, 70, 80, 100 és 121 °C-on.

A biogén aminoszármazékok meghatározásához a különböző PSE-státusú sertéseket a németországi Szövetségi Húsipari Kutató Intézetben (Kulmbach) vágták le. A

vizsgált 10-10 állat Pietrain x Duroc genotípusú volt. A biogén aminosav tartalom vizsgálatához karaj (*M. long. dorsi*) és felsál (*M. semimembranosus*) mintákat vettünk. A normál érésű és a PSE jellegű húsok elkülönítéséhez a minták pH-ját post mortem 45 perccel és 24 órával mértük meg. A biogén aminosav tartalmat frissen ill., 3 és 7 napos hűtőtárolás után vizsgáltuk. Néhány mintát hosszabb ideig tároltunk (29 nap) hogy a biogén aminosav mennyiségi változásait a romlási folyamat alatt is nyomon követhessük.

Az állatfajok azonosításához és az idegen fehérjék kimutatásához részben a kondicionálási kísérletből származó húsmintákat, részben kereskedelmi forgalomból származó húsokat és hústermékeket használtunk.

#### **4. 1. 2. Humán szérumok**

Az immunblott vizsgálatokhoz felhasznált pozitív humán szérumok klinikailag igazolt tehéntej-, tojás- illetve szójafehérje-allergiás személyektől származtak.

#### **4. 2. MÓDSZEREK**

#### **4. 2. 1. Miofibrilláris és szarkoplazma fehérjék izolálása**

A miofibrilláris fehérjék kinyeréséhez a húsmintákat felaprítottuk, elpépesítettük, és hideg 0,6 M KCl-el homogenizáltuk (Ultraturrax 20000 rpm). A kapott szuszpenziót centrifugáltuk (30 perc, 10000 g), végül a felülúszót liofileztük. A szarkoplazma fehérjék izolálásakor KCl helyett 0,05 M-os NaCl oldatot használtunk.

#### **4. 2. 2. Mioglobinnal kinyerése**

A húsmintákból illetve a hústermékekből 0,1M-os 6,5-ös pH-jú foszfátpufferrel vontuk ki a mioglobint. 5 g mintát háztartási kutterben homogenizáltuk 6 ml foszfátpufferrel, majd 5500 g-n 15 percig centrifugáltuk, és leszűrtük.

#### **4. 2. 3. Troponin izolálása**

A húsmintát (vaddisznó, marha és sertés) háztartási kutterben összeaprítottuk. Ötszörös mennyiségű 0,1 M KCl, 3 mM NaHCO<sub>3</sub> oldatot adtunk hozzá, és két percig homogenizáltuk ULTRA TURRAX készülékkel 20000 rpm-en, majd centrifugáltuk 5000 g-n 10 percig. A felülúszót eltettük, és a maradékot újra homogenizáltuk a sóoldatban, majd centrifugáltuk. Ezt a műveletet összesen négyszer végeztük el, a felülúszókat összeöntöttük, és leszűrtük. A szűrlethez ugyanolyan térfogatú 0,8 M-os LiCl oldatot adtunk és a pH-ját 4,5-re állítottuk be 4,5-ös pH-jú nátrium acetát pufferral. Az oldatot 2 órán keresztül 1°C-on tartottuk, majd 10 percig centrifugáltuk 35000 g-n. Ezután a szuszpenzió pH-ját 7,5-re állítottuk 1M-os TRIS oldattal, és a fehérjét ammónium szulfát adagolásával csaptuk ki (kb. 50% ammónium szulfát). A kicsapódott anyagot lecentrifugáltuk, 35000 g-n 15 percig, és a csapadékot desztillált vízben vettük fel. A szuszpenziót desztillált vízzel szemben egy napig dializáltuk, majd az anyagot liofileztük. A liofilezett troponin komplexet standardként, illetve az immunizáláshoz antigénként használtuk.

#### 4. 2. 4. Nyúlban kifejlesztett ellenanyagok előállítása

A nyúlserumok előállítása és az ellenanyagok tisztítása a Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet Biológia Osztályán történt: az immunizálás során a megfelelő (mioglobinn, troponin, tej, tojás, szója) tisztított antigénekre specifikus poliklonális ellenanyagot fejlesztettünk ki magyar-vadas fajtájú nyúlban (Harboe és Ingrid 1973).

#### 4. 2. 5. Izoelektromos fókuszálás

##### 4. 2. 5. 1. Izoelektromos fókuszálás agaróz gélben

Az agaróz oldatot (0,8 % agaróz IEF (Pharmacia), 10% szorbit (Pharmacia), 1% amfolit (Pharmacia)) vízfürdőn 20 percig melegítettük, és gel-bond film hidrofíll oldalára öntöttük. A desztillált vízben oldott fehérjemintákat műanyag felvivőcsík segítségével juttattuk a gél felületére. A gél két szélére, anód-oldattal (1%-os kénsav oldat), illetve katód-oldattal (2%-os etilén-diamin oldat) átitatott szűrőpapírcsíkot helyeztünk. Az elválasztást 10 °C-on 2,5 órán keresztül végeztük Pharmacia FBE-3000 típusú készüléken. A feszültséget a következőképpen változtattuk:

50 V	20 perc
100 V	10 perc
200 V	20 perc
400 V	30 perc
600 V	20 perc
800 V	30 perc

- kék festés: a gél 5 percre fixáló oldatba (3,46 g szulfoszalicilsav, 11,5 g triklórecetsav 100 ml desztillált vízben) helyeztük, 2 x 10 percig metanolban mostuk, 1 órán át préseltük, és Commassie-blue oldattal (1%-os Commassie-blue (Reanal)

mosóoldatban) festettük, végül a fölösleges festéket, mosó oldattal (350 ml metanol, 100 ml ecetsav 1000 ml desztillált vízben) távolítottuk el.

- pszeudoperoxidáz festés: gél közvetlenül az elektroforetikus elválasztás után ortodianizidin oldat (33 mg o-dianizidin (Charbiochem) 10 ml etanolban) és foszfátpuffer (2,02 g citromsav 1-hidrát, 3,56 g di-nátrium-hidrogén-foszfát 2-hidrát, 50 µl 37%-os hidrogénperoxid pH: 5,0) 3:7 arányú elegyében inkubáltuk. A hemfehérjék, - mint a hemoglobin és a mioglobin - hidrogénperoxid jelenlétében katalizálják egyes szerves anyagok, pl. az ortodianizidin oxidációját, ilyenkor barnásvörös színanyag keletkezik (Bauer és Hofmann 1987).

#### 4. 2. 5. 2. Izoelektromos fókuszálás poliakrilamid gélben

A gél oldatot (485 mg akrilamid, 15 mg N,N-bisz-akrilamid, 4.4 g karbamid, 1.2 g 87%-os glicerol 10 ml-re feltöltve desztillált vízzel + 26 mg β-alanin, 550 µl amfolit (Bio-Rad) pH 3-10, 550 µl amfolit pH 5-7, 11 µl 40%-os ammónium-perszulfát oldat, 11 µl N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin) két egymástól 0,5 mm távolságra lévő üveglap közé öntöttük, és egy éjszakán át hűtőszekrényben tároltuk.

A liofilizált fehérjéket mintaoldó pufferben (5,7 g 87%-os glicerol, 24 g karbamid, 250 mg ditioeritritol 50 ml desztillált vízben) vettük fel, és 10 x 5 mm-es szűrőpapír csíkok segítségével 10-10 µl-t vittünk fel a géltre. A gél két szélére, anód-oldattal (5%-os foszforsav oldat), illetve katód-oldattal (2%-os NaOH oldat) átitatott szűrőpapírcsíkot helyeztünk.

Az elválasztást Pharmacia FBE-3000 típusú készüléken végeztük a következő kondíciók mellett (**V. táblázat**):

lépés	idő (perc)	feszültség (V)	áramerősség (mA)	teljesítmény (W)	hőmérséklet (°C)
1	60	max. 2500	max. 150	konst. 4	10
2	60	max. 2500	konst. 5	max. 20	10

**V. táblázat:** A poliakrilamidgél izoelektromos fókuszálás kondíciói

- kék festés: a fehérjéket 15 percig fixáltuk 15%-os triklórecetsav oldatban rázatva, majd színező oldatban (0,3 g Comassie Brilliant Blue, 0,5g réz-szulfát pentahidrát 90 ml metanol, 20 ml jégecet, 90 ml desztillált víz) 15 percig festettük, majd színtelenítő oldattal (250 ml metanol + 100 ml jégecet + 650 ml desztillált víz) többször átöblítettük, amíg a háttér színtelenné vált.

- vas festés: Az  $Fe^{2+}$  ion egyes nitrogéntartalmú heterociklusos vegyületekkel, például a batofenantrolinnal piros komplexet képez. A  $Fe^{3+}$  előbb redukálódik a merkaptocetsav hatására, ezután reagál a batofenantrolinnal (Ohmori és munkatársai, 1985). A vasat tartalmazó fehérjefrakciók rózsaszín sávokként jelennek meg. A gélt az elektroforetikus elválasztás után desztillált vízzel többször mostuk, ezután 6,4 % w/v merkaptocetsavat (Sigma) és 0,08 % w/v batofenantrolin-diszulfonátot (Sigma) tartalmazó oldatban 60 percig inkubáltuk

*4. 2. 5. 3. Preparatív izoelektromos fókuszálás*

A preparatív izoelektromos fókuszálást ROTOFOR-CELL (Bio-Rad) készüléken végeztük. Az 50ml-es mintakamrába közvetlenül vittük be a desztillált vízben feloldott, és az amfolit (Bio-Rad), oldattal elkevert fehérjét. Anód-oldattal (0,1 n foszforsav oldat), illetve katód-oldattal (0,1 n NaOH oldat) töltöttük fel a két elektrolit kamrát. Az elválasztást maximum 1500 V maximum 30 mA és konstans 12 W mellett addig folytattuk, amíg a feszültség már nem növekedett tovább (kb. 3 óra). Ezután a hús frakcióra szeparálódott mintát kémcsövekbe szedtük. Az egyes frakciók pH-ját megmértük, és tisztaságukat SDS-poliakrilamid-gélelektroforézissel, illetve agaróz izoelektromos fókuszálással ellenőriztük.

#### 4. 2. 6. SDS-poliakrilamid-gélelektroforézis

##### 4. 2. 6. 1. 15%-os gél

Az SDS-PAGE elválasztást MINI PROTEAN II. (Bio-Rad) készüléken végeztük. A főgél 15%-os, a gyűjtőgél pedig 6%-os akrilamid gél volt. A gél összetétele, és a futtatás körülményei a következők voltak:

15%-os főgél: 8 ml akrilamid oldat (30 g akrilamid és 1 g N,N-bisz-akrilamid 100 ml-re hígítva desztillált vízzel)

3,6 ml 2 M-os TRIS (tris-(hidroximetil)-amino-metán) puffer  
pH: 8,8) 0,1 M-os sósavval beállítva

4,13 ml desztillált víz

160 µl 10%-os SDS (nátrium-dodecil-szulfát) oldat

12 µl TEMED (N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin)

100 µl 10%-os ammónium-perszulfát

6%-os gyűjtőgél: 2 ml akrilamid oldat

1,32 ml 0,5 M-os TRIS puffer pH: 6,8 0,1 M-os sósavval  
beállítva

6,46 ml desztillált víz

110 µl 10%-os SDS oldat

12 µl TEMED

100 µl 10%-os ammónium-perszulfát

Futtató puffer: 6 g TRIS, 1 g SDS, 28,8 g glicin 1000 ml-re feltöltve desztillált vízzel

Mintaoldószer: 0,757 g TRIS, 2 g SDS, 10 ml glicerol, 5 ml β-merkapto etanol, 7 mg brómfenolkék 100 ml-re hígítva desztillált vízzel és pH-ja 6,8-ra állítva 6 N sósavval.

A futtatást 60 percig maximum 200 V, 45 mA, 12 W, beállításával konstans 200 V-on végeztük.

- kék festés: a gélt 20 percre fixáló oldatba (20%-os triklórecetsav) helyeztük, 3 x 10 percig mosó oldatban (50 ml ecetsav, 100 ml etanol, 850 ml desztillált víz) mostuk, és Commassie-blue oldattal (1%-os Commassie-blue (Reanal) mosóoldatban) festettük, végül a fölösleges festéket 7%-os ecetsavval távolítottuk el.

#### 4. 2. 6. 2. 8%-os gél

Törzsoldatok:

- A. 31:1g/100ml akrilamid-biszakrilamid
- B. 1,5 M-os TRIS puffer pH: 8,8
- C. 10%-os SDS
- D. 10%-os ammónium-perszulfát
- E. 10 v/v%-os TEMED
- F. 0,25 M-TRIS puffer, 2 M glicin, 1% SDS, 0,05 M imidazol, pH: 8,3

A gél összetétele:

2,6 ml A-oldat, 2,5 ml B-oldat, 0,55 ml C-oldat, 4 ml desztillált víz, 0,3 ml E-oldat, 100 µl D-oldat, 150 µl β-merkaptó etanol

A mintaoldó összetétele:

0,4 ml β-merkaptó etanol, 4 ml 10%-os SDS, 1,6 ml 1 M TRIS-HCl pH: 6,8 puffer, 13,6 mg imidazol, 14 ml desztillált víz, 15% szacharóz, 6 mg brómfenolkék

#### 4. 2. 7. Elektroforetikus blott technika és immunfestés

Az elektroforetikus elválasztás után poliakrilamid-gélt és a 0,45 µm-es pórusméretű nitrocellulóz membránt (Bio-Rad) 25 mM TRIS-t 192 mM glicint, 20%



metanolt, és 0,1% SDS-t tartalmazó Towbin pufferben 10 percig ekvilibráltuk. Az SDS-poliakrilamid-gélelektroforézissel szeparált fehérjefrakciókat Semi-Dry Blot (BIO-RAD) készülékkel nitrocellulóz membránra vittük át. A blottolási idő 60 perc, az áramerősség pedig  $0,8 \text{ mA/cm}^2$ . Az immunfestéshez pozitív humán szérumokat, illetve nyúlban kifejlesztett szérumokat használtunk. A vizsgálatokhoz felhasznált pozitív humán szérumok klinikailag igazolt tehéntej, tojás, vagy szójaallergiás betegektől származtak.

Az immunfestés lépései a következők voltak:

— 30 perc inkubálás fedőpufferben (2% Tween-20 mosó inkubáló pufferben oldva)

— 3 x 10 perc mosás (mosó inkubáló puffer: 0,05 M TRIS, 0,15 M nátrium klorid, 0,1 mM fenil-metil-szulfonil-fluorid, 0,05% Tween-20).

— 16 óra inkubálás humán vagy nyúlban kifejlesztett antitestet tartalmazó mosóoldattal

— 3 x 10 perc mosás

— 2 óra inkubálás anti-nyúl IgG elleni peroxidáz enzimmel konjugált nyúl IgG ellenanyagot (Sigma), illetve anti-human IgG elleni peroxidáz enzimmel konjugált kecske IgG ellenanyagot (Sigma) tartalmazó mosóoldattal

— 3 x 10 perc mosás

— 2 óra inkubálás avidin-peroxidázt (Sigma) tartalmazó mosóoldattal

— 3 x 10 perc mosás

— 5 perc inkubálás hideg PBS (8,0 g nátrium klorid, 0,2 g kálium klorid, 2,86 g dinátrium-hidrogén-foszfát 2-hidrát, 0,27 g kálium-dihidrogén-foszfát 1000 ml desztillált vízben) oldattal

— előhívás 4-kloro-naftollal hidrogénperoxid jelenlétében (30 mg 4-kloro-naftol (Bio-Rad) 10 ml etanolban oldva + 25 ml PBS oldat + 100  $\mu\text{l}$  37%-os hidrogénperoxid)

#### **4. 2. 8. Videodenzitométeres kiértékelés**

Az elektroforetogramok kiértékelését VarioCam D-6301 Hicam típusú videodenzitóméterrel, és a hozzá kifejlesztett 1D programcsomaggal (Biotec-Fischer) végeztük el. A szoftver tartalmazza a molekulatömeg és izoelektromos pont szerinti kalibrálás lehetőségét. A csúcsok területe alapján mennyiségi elemzésre, és az adatok összevetésére volt lehetőség.

#### **4. 2. 9. Mikrobiológiai módszerek**

A kezeletlen és besugárzott húsminták mikrobiológiai állapotára vonatkozó fontosabb jellemzőket a Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet Mikrobiológia Osztályán végeztük. A szabványnak megfelelő módszerekkel meghatároztuk az összcsíraszámot (MSZ-3640-4: 1986), a Salmonella- (MSZ-3640-8: 1980), az Enteriobacteriaceae- (MSZ-3640-21: 1983) és a Staphilococcus aureus (MSZ-3640-9: 1985) számot.

#### **4. 2. 10. Középnomású folyadékkromatográfia (FPLC)**

Az FPLC analízist Pharmacia LC-500 készüléken végeztük. A liofilizált szarkoplazma fehérjékből 0,01 M-os ammónium-hidrogénkarbonáttal 1mg/ml-es oldatot készítettünk és szűrtük. Az elválasztást SUPEROSE12 (Pharmacia) gélszűrő oszlopon 1ml/perc áramlási sebességgel végeztük, 0,01 M-os ammónium-hidrogénkarbonát eluenssel.

#### **4. 2. 11. Biológiailag aktív aminosavak meghatározása**

##### *4. 2. 11. 1. Biológiailag aktív aminosavak meghatározása aminosavanalizátorral*

- Mintaelőkészítés:

Az izomszövetet laborkutterben aprítottuk fel. A húspépből 10 g-ot egy 100 ml-es edénybe mértünk be és 40 ml 0,6 mólos perklórsavat hozzáadva homogenizáltuk a H04 típusú készülékkel (Bühler) maximális fordulatszámon. Hűtés után (30 percig, +5 °C-on) 10 percig 15000 g-n centrifugáltuk. Az extrakciót még kétszer 30-30 ml perklórsavval megismételtük. Az így nyert extraktot leszűrtük és 50 ml-ét AG 1-\*8 50-100, 10 x 400 mm ioncserélő oszlopra (Bio-Rad) vittük, majd 40-40 ml foszfátpufferrel (pH=8) és 1 mólos sósavval tisztítottuk, végül az aminosavakat 15 ml 6 mólos sósavval eluáltuk. Az eluátumot vákuumbepárlón (60 °C-on) szárazra pároltuk. A maradékot 0,01 mólos sósavban újraoldottuk, és szűrtük.

- Analízis:

A meghatározást BIOTRONIK LC 2000 aminosavanalizátorral végeztük. A kromatográfiai körülmények a következők voltak:

oszlop:	DC-6-A, (6mm x 170mm)
oszlophőmérséklet:	67 °C
puffer áramlási sebesség:	30ml/óra
ninhidrin oldat áramlási sebesség:	20ml/óra
a reakció hőmérséklete:	100 °C
mintatérfogat:	100µl
detektálás:	570nm

Az eluensek adatait a **VI. táblázat** mutatja.

PUFFER	A	B	C
pH	5,80	5,75	5,40
citrát-molalitás	0,1	0,1	0,1
Na-molalitás	1,0	2,5	2,5

futási idő (perc)	1	37	65
-------------------	---	----	----

**VI.táblázat:** Az eluensek adatai a biológiailag aktív aminosav meghatározásához

Az ismételhetőségre vonatkozó adatokat a **VII. táblázat**ban foglaltuk össze.

	Putreszcin	Hisztamin	Kadaverin	Spermidin	Spermin
retenciós idő: (perc)	43,4 ± 0,6	53,8 ± 0,4	58,3 ± 0,5	69,3 ± 1,1	115 ± 1,3
ismételhetőség: x: (mg/kg)	20,7	0,8	47,75	1,9	13,1
s:	1,20	0,09	1,6	0,1	1,3
visszanyerhetőség: (%)	86	89	93	96	98
linearitás :	r = 0,999	r = 0,998	r = 0,999	r = 0,999	r = 0,999

**VII. táblázat:** Ismételhetőségre vonatkozó adatok a biológiailag aktív aminosav aminosavanalizátoros elválasztásakor (n=5)

#### 4. 2. 11. 2. Biológiailag aktív aminosav meghatározása HPLC-vel

- Mintaelőkészítés:

Az izomszövetet laborkutterben aprítottuk fel. 10 g húspéphez 10 ml 0,6 mólos perklórsavat adtunk, és mágneses keverővel 15 percen keresztül kevertük. Ezután 20 percig 30000 g-n centrifugáltuk, és elkülönítettük a két fázist. Ezután 6 ml 0,6 mólos perklórsavat adtunk a csapadékhoz és újabb 15

percen keresztül kevertük, majd megismételtük a centrifugálást. Az extrakciós lépéseket 5 ml perklórsavval újra elvégeztük, és a felülúszókat összeöntöttük. Az így nyert perklórsavas extraktot összegyűjtöttük, és 25 ml-re egészítettük ki perklórsav oldattal. Az extraktokat 0,45 µm-es pórusméretű szűrőn átszűrtük a HPLC analízis előtt.

- HPLC analízis:

A biológiailag aktív aminokat (Sigma), [oktopamin (OCT), dopamin (DOPA), tiramin (TIR), putreszcin (PUT), szerotonin (SER), kadaverin (CAD), hisztamin (HIS), agmatin (AGM), β-feniletílamín (B-FEN), spermidin (SPD), triptamin (TRP), és spermin (SPM)] a Hernandez-Jover és mtsai. (1996) által leírt folyadékkromatográfiás módszerrel határoztuk meg. A módszer alapja biológiailag aktív aminok elválasztása reverz fázisú ionpár kromatográfiával (oktánszulfonsav ionpárképző reagens felhasználásával), és oszlop derivatizációt követő spektrofotometrius detektálással.

A HPLC rendszer (Waters) W600E típusú pumpából (az eluensek számára), és W510 típusú pumpából (az oszlop utáni derivatizáló reagens számára) és W474 fluoreszcens detektorból állt. Az elválasztást Nova Pack C18 (3,9 x 150 mm, 4 µm (Waters)) oszlopon végeztük 40 °C-on. A mobil fázis áramlási sebessége 1 ml/perc, a derivatizáló reagensé pedig 0,4 ml/perc volt.

- A eluens: 0,1 M nátrium acetátot és 10 mM nátrium oktánszulfonátot tartalmazó vizes (MilliQ) oldat pH 5,25-re állítva 100%-os ecetsavval.

- B eluens: 660 ml B oldat + 340 ml acetonitril (Merck, gradient grade) A B oldat 0,2 M nátrium acetátot és 10 mM nátrium oktánszulfonátot (Romil) tartalmazó vizes (MilliQ) oldat pH 5,50-re állítva 100%-os ecetsavval.

- Derivatizáló reagens: 15,5 g bórsavat és 13,0 g kálium hidroxidot oldottunk 500 ml desztillált vízben, majd 1,5 ml 30 % brij-35 oldatot (Merck) és 1,5 ml β-

merkaptóetanolt adtunk hozzá. Ezután 2,5 ml metanolban oldott 0,1 g orto-ftálaldehidet (Merck) adtunk az oldathoz és elkevertük. A gradiens elúció adatait a **VIII. táblázat** tartalmazza.

Idő	A eluens	B eluens
0 perc	80 %	20 %
50 perc	20 %	80 %
52 perc	20 %	80 %
54 perc	80 %	20%
56 perc	80 %	20 %

**VIII. táblázat:** Gradiens program a biológiailag aktív aminoszámainak HPLC-s elválasztásához

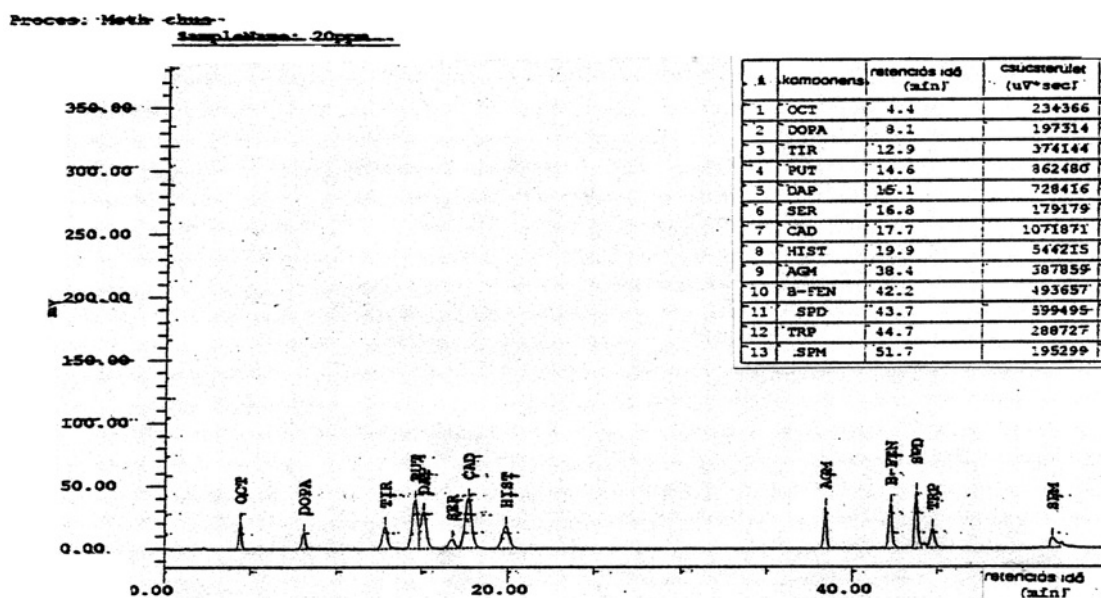
Az ismételhetőségre vonatkozó adatokat a **IX. táblázat**ban foglaltuk össze.

	TIR.	PUT	CAD	HIST	AGM	SPD	TRP	SPM.
retenciós idő: (perc)	12,9 ± 0,09	14,6 ± 0,11	17,7 ± 0,20	19,9 ± 0,20	38,4 ± 0,32	43,7 ± 0,53	44,7 ± 0,55	51,7 ± 0,68
ismételhetőség: x: (mg/kg)	3,90	3,95	4,35	4,20	4,10	6,00	4,00	19,40
s:	± 0,17	± 0,22	± 0,30	± 0,23	± 0,34	± 0,35	± 0,29	± 0,45
visszanyerhető-	97,61	101,20	99,62	100,51	99,75	101,50	92,86	103,65

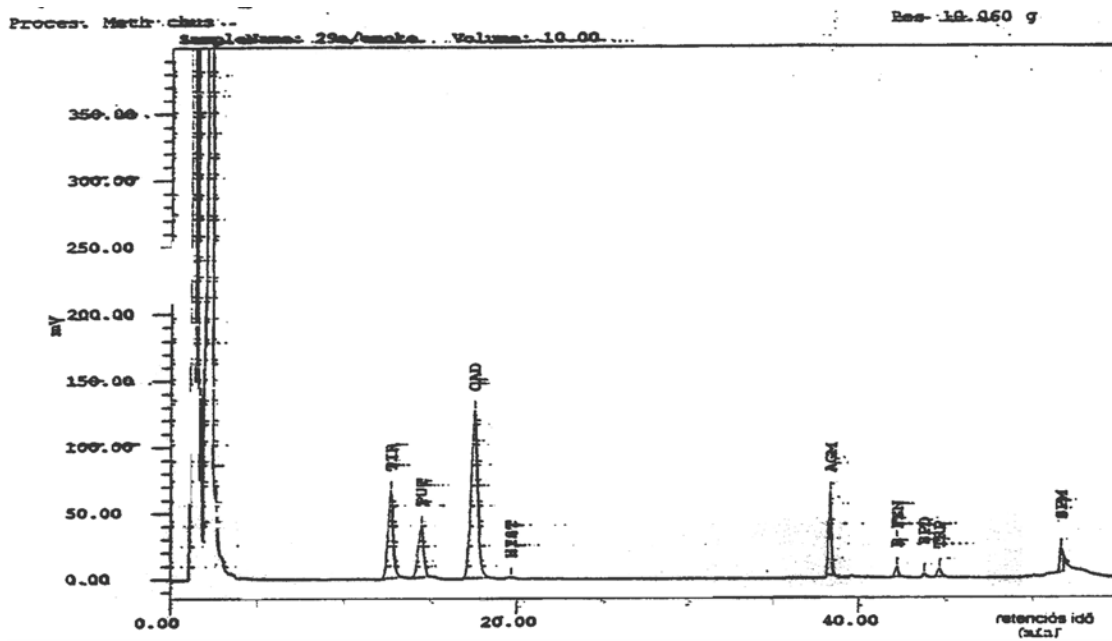
ség: (%)								
linearitás :	0,9975	0,999	0,999	0,999	0,999	0,9975	0,999	0,999
r (p<0,0001)								

**IX. táblázat:** Ismételhetőségre vonatkozó adatok a biológiailag aktív aminosavak HPLC-s elválasztásakor (n=6)

A standardként használt aminosavkeverék kromatogramját és egy négy hétig érlelt marha hátszín minta kromatogramját mutatja a 6. és 7. ábra.



6. ábra: Standard kromatogram a biogén aminosavak HPLC analíziséhez



**7. ábra:** Négy hétig érlelt marha hátszín minta kromatogramja

#### **4. 2. 12. Statisztikai módszerek**

A biológiailag aktív aminosav vizsgálatoknál a PSE jelleg hatását, és a vizsgált testtájak közötti eltéréseket varianciaanalízissel, illetve kétmintás t-próbával értékeltem. A számításokat a Microsoft Excel program segítségével végeztem.

### **5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS**

#### **5. 1. KÜLÖNBÖZŐ ÁLLATFAJOK FEHÉRJEMINTÁZATÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA**

Az élelmiszeriparban meghatározóvá váló minőségi és fogyasztóvédelmi követelmények, és az élelmiszerek állandóan bővülő nemzetközi kereskedelme miatt egyre nagyobb jelentőségű a húsok eredetvizsgálata, illetve az idegen fehérjék kimutatása a hústermékekből. Mivel a szeletelt vagy darált húsok, és fagyasztott tömbhúsok érzékszervileg már nem azonosíthatóak, szükség van olyan megbízható eljárásokra, amelyekkel az állatfajok azonosítása ilyen előkészítések illetve tárolás után is viszonylag egyszerűen elvégezhető.

Az állatfajok azonosítását friss, különböző ideig tárolt és fagyasztott húsrészekből végeztük el, majd vizsgálatokat különböző húsalapú termékekre is kiterjesztettük. A hazánkban általánosan fagyasztott húsokból (sertés, marha, birka, csirke, pulyka, liba, kacsa, vaddisznó stb.) származó minták szarkoplazma fehérjéit



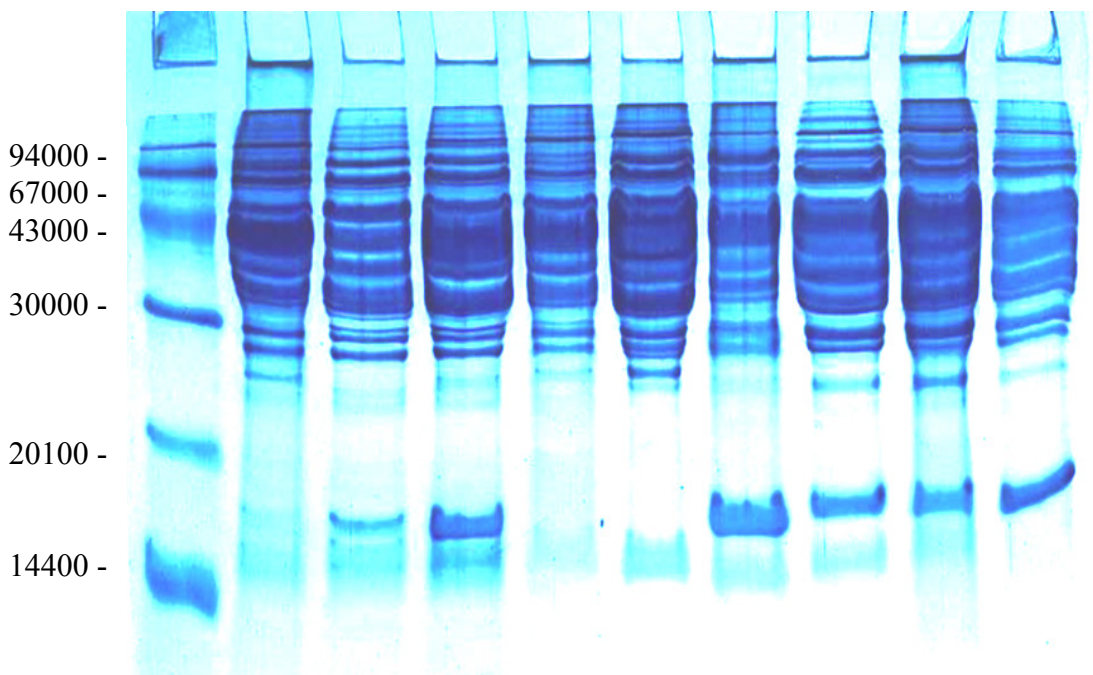
elektroforézissel választottuk el molekulatömegük, valamint izoelektromos pontjuk alapján.

Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel szeparált fehérjéket elektroforetikus blott technikával nitrocellulóz membránra vittük át, és mioglobin ellen nyúlban kifejlesztett szérum felhasználásával immunreakciót játsztunk le.

Az izoelektromos fókuszálással szeparált mioglobin frakciókat peroxidáz aktivitásuk alapján specifikus enzimfestéssel is jeleztük. Az elektroforetogramokat videodenzitométerrel értékeltük ki.

### 5. 1. 1. Molekulatömeg szerinti megoszlás

A különböző állatfajok izomfehérjéinek SDS-poliakrilamid-gélelektroforézises elválasztási képét összehasonlítva, látható (8. ábra), hogy az egyes fajok fehérjemintázatában bizonyos eltérések vannak, de a különbségek elsősorban mennyiségi jellegűek az egyes fehérjefrakciókra nézve, és a főbb fehérjesávok minden mintában egyformán jelen vannak. Ezek alapján elmondható, hogy az izomfehérjék molekulatömeg szerinti megoszlásának vizsgálata nem teszi lehetővé a húsminták egyértelmű azonosítását.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

1.) LMW molekulatömeg standard (Pharmacia)      2.) marhahús    3.) sertéshús  
4.) vaddisznóhús      5.) birkahús    6.) nyúlhús    7.) csirkehús    8.) kacsahús  
9.) libahús      10.) pulykahús

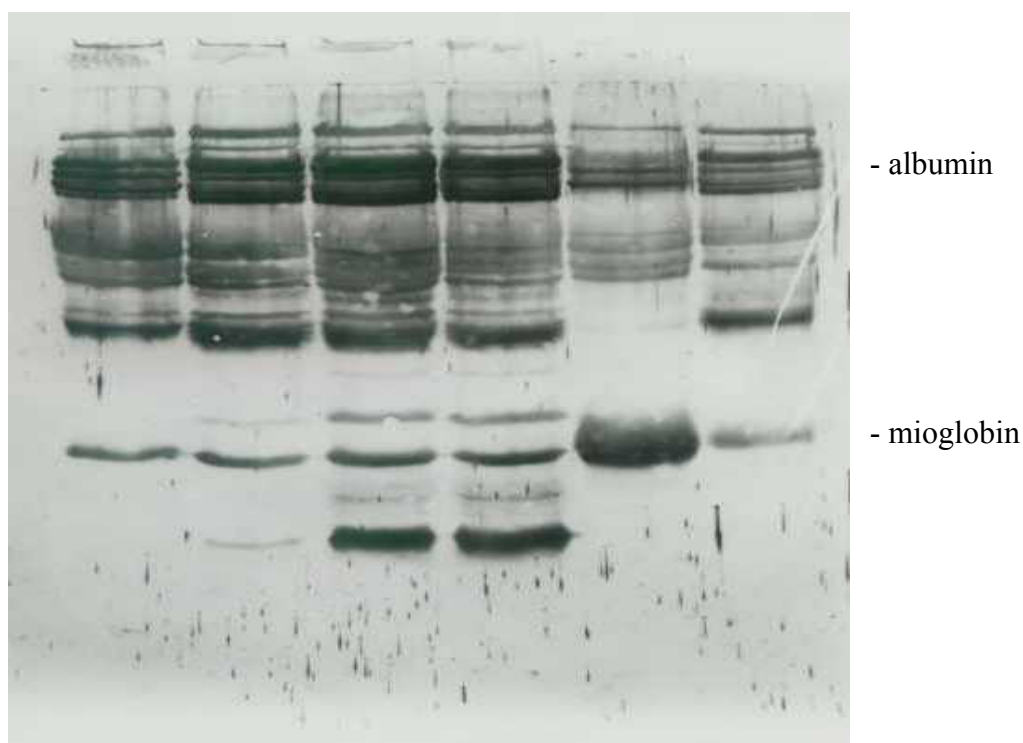
**8. ábra:** Különböző állatfajok friss húsából származó fehérjék 0,05 M NaCl-os kivonatának SDS-PAGE elválasztása

### 5. 1. 2. Sertéshús kimutatása immunblott módszerrel

Preparatív izoelektromos fókuszálással tisztított sertés mioglobinnal immunizált nyulak szérumát felhasználva az SDS-PAGE szeparálást és elektroforetikus blottot követő immunreakcióhoz, azt vizsgáltuk, hogy az immunblott kép alapján mennyire különíthető el egymástól a friss és érlelt sertés-, marha-, illetve vaddisznóhús. A poliakrilamid géltre friss és különböző ideig érlelt húsminták 0,05 M-os NaCl-lel készült kivonatait vittük fel. Az immunblott képekről leolvasható, hogy számos a mioglobinnál magasabb molekulatömegű fehérjefrakció erős immunreakciót adott, ezek azonban jól elkülöníthetőek voltak a mioglobin sávoktól. Érdekes megfigyelni, hogy az érlelés során az immunválasz nem gyengül, inkább kissé erősödik, és hogy az eredeti fehérjeképhez képest újabb alacsonyabb molekulatömegű frakciók, - feltehetően degradált termékek – jelennek meg. Megállapítható az is, hogy a marhahús és a vaddisznóhús mind a mioglobinnak megfelelő helyen, mind a magasabb molekulatömeg tartományban erős keresztreakciót mutat a sertéshússal (**9. ábra**), így az eljárás nem ajánlható egyértelműen a vizsgált állatfajok azonosítására.

További vizsgálatainkban sertés szérum albumin ellen nyúlban kifejlesztett antitest felhasználásával próbáltuk elkülöníteni a sertéshúst a többi állatfajtól. Ebben

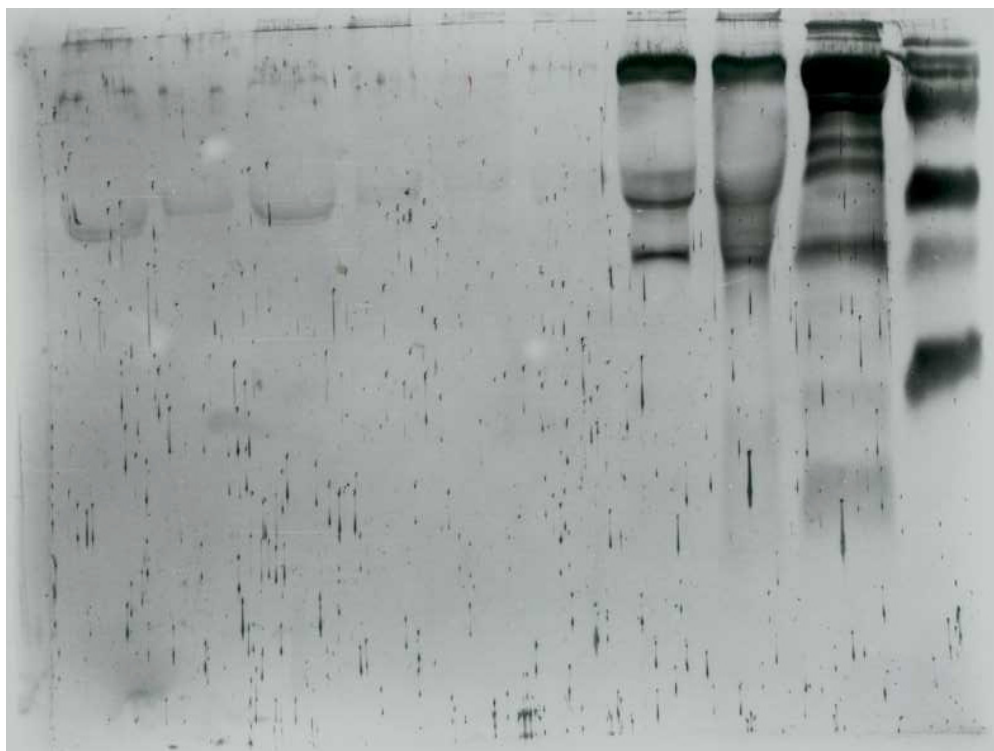
az esetben a sertés albuminon kívül a sertéshúsból és a vaddisznóhúsból készített kivonatok igen intenzív színreakciót adtak, az összes többi állatfaj izomfehérjéi pedig nem, vagy csak elhanyagolható mértékben festődtek. A marhahús és a birkahús gyakorlatilag nem adott immunreaktív fehérjefrakciókat, a baromfihúsok és a nyúlhús fehérjéi is csak minimális mértékben reagáltak a felhasznált antitesttel. Amint az a **10. ábrán** is megfigyelhető, ezzel a módszerrel a „sertés fajok” egyértelműen elkülöníthetőek a többi vizsgált állatfajból származó mintáktól.



1                    2                    3                    4                    5                    6

- 1.) friss sertéshús    2.) 7 napig érlelt sertéshús    3.) 14 napig érlelt sertéshús  
4.) 21 napig érlelt sertéshús    5.) friss marhahús    6.) friss vaddisznóhús

**9. ábra:** Sertéshúslé fehérjefrakciók: SDS-PAGE, semi-dry blott, immunfestés nyúlban kifejlesztett sertés-mioglobinnal szembe fordított immunizációval készített antitestet tartalmazó szérum felhasználásával



1      2      3      4      5      6      7      8      9      10

1.) nyúlhús    2.) csirkehús    3.) kacsahús    4.) pulykahús    5.) birkahús  
6.) marhahús    7.) vaddisznóhús    8.) sertéshús    9.) sertésalbumin  
10.) előszínezett molekulatömeg standard (MW: 94000, 67000, 43000, 30000, 20100,14400. BIO-RAD)

**10. ábra:** SDS-PAGE, semi-dry blott, immunfestés nyúlban kifejlesztett sertés albumin elleni antitestet tartalmazó szérum felhasználásával

### **5. 1. 3. Vasat tartalmazó fehérjefrakciók vizsgálata izoelektromos fókuszálással**

#### *5. 1. 3. 1. Mioglobin-mintázat meghatározása*

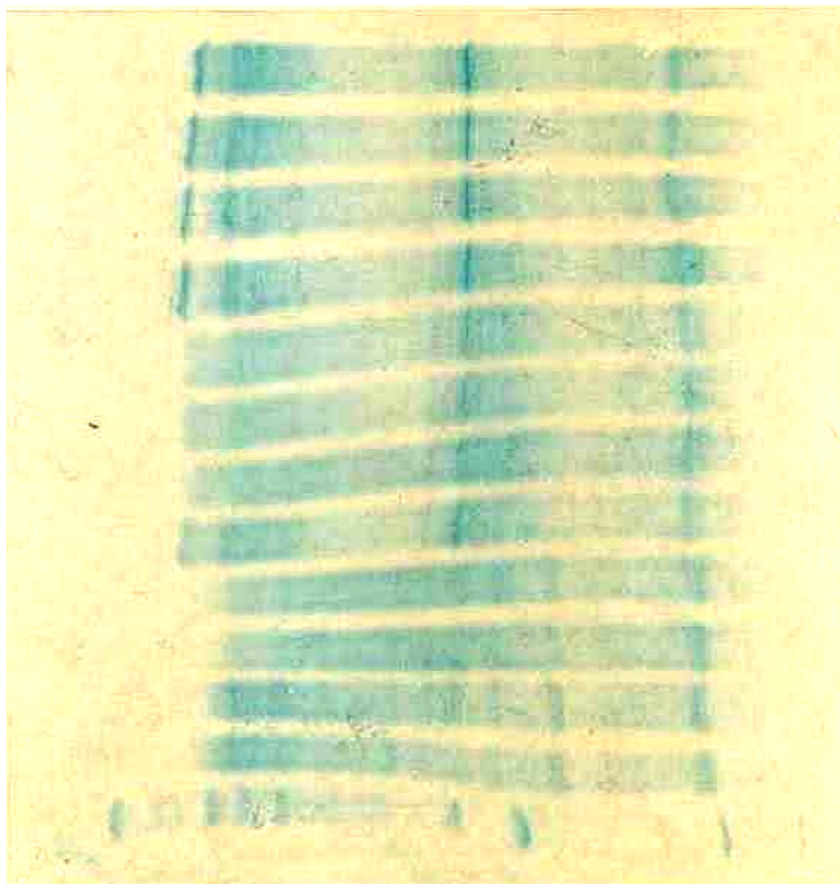
Mivel a szarkoplazma fehérjék izoelektromos fókuszálásával kapott fehérjemintázat jellemző az egyes állatfajokra, különösen a mioglobin frakciók fajspecifikusak, ez a tulajdonságuk felhasználható a húsminták eredetének meghatározására. Megkönnyíti az azonosítást, ha az összes fehérjét jelző kék festés helyett a hemfehérjékre specifikus pszeudoperoxidáz festést alkalmazunk. A közelebbi rokonságban álló fajok mintázata nagyon hasonló lehet, de a legtöbb esetben, ha a fő sávok helye meg is egyezik a pH gradiensben, a további mioglobin frakciók, az úgynevezett melléksávok izoelektromos pontja részben különbözik.

Kísérleteinkben friss és kondicionált húsminták izoelektromos fókuszálását végeztük el, és összehasonlítottuk a kék festéssel és pszeudoperoxidáz festéssel kapott eredményeket.

A **11. ábra** friss és érlelt sertés-, vaddisznó- és marhahúslé minták kék festéssel jelzett fehérjemintázatát mutatja. Ebben az esetben is megfigyelhető néhány jellegzetes különbség az állatfajok között: feltűnő a sertésre jellemző sáv a közel a pI:

9-hez, ami a másik két mintacsoportnál hiányzik, és a  $\approx$  pI: 5,5-tel jellemezhető fehérjefrakció a marhahúslé mintáknál. A friss és a különböző ideig érlelt minták között nem találtunk jelentős különbségeket.

A Magyarországon gyakran fogyasztott húsfélék (sertés, marha, birka, csirke, pulyka, liba, kacska, vaddisznó stb.) 0,05 M-os NaCl-lel készített kivonatait pH-gradiensben elválasztva, és a hemfehérjékre specifikus festést alkalmazva meghatároztuk az adott állatfajokra jellemző mioglobint mintázatot friss húsminták vízdoldható fehérjéinek felhasználásával (**12. ábra**).

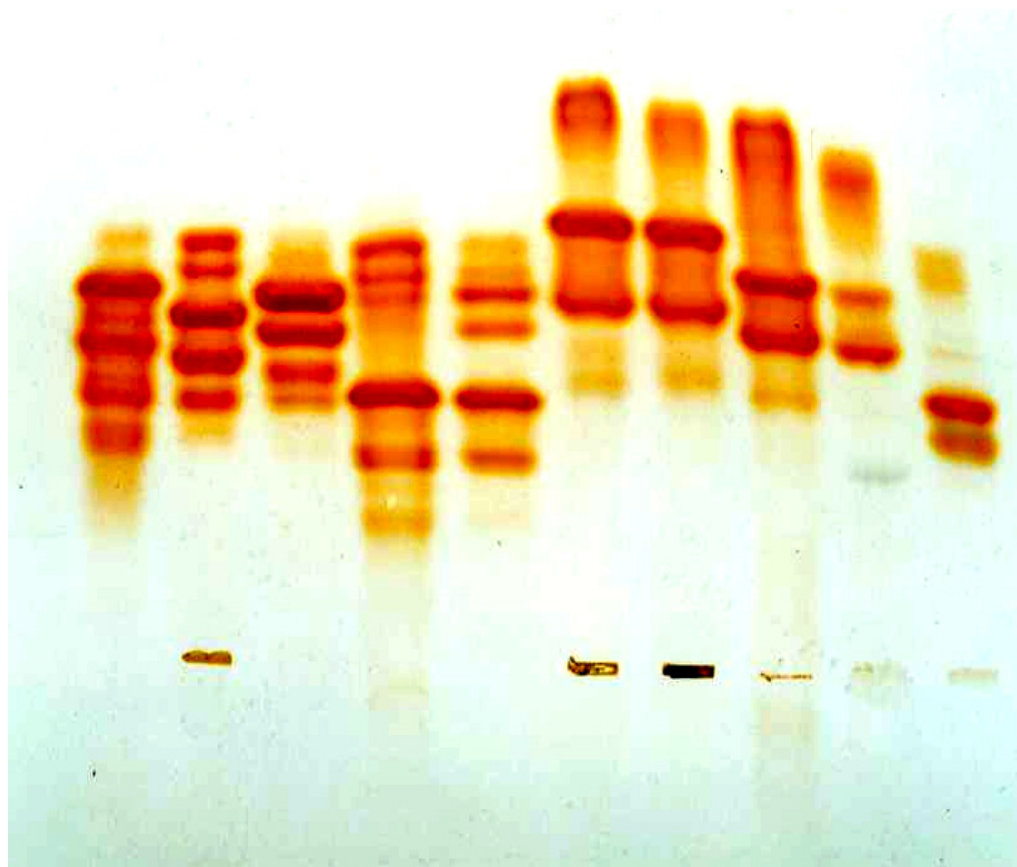


- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.
- 11.
- 12.
- 13.

- +  
pI 9,3 8,4 7,3 6,5 5,2 4,5 3,5

- 1.) friss sertéshús    2.) 7 napig érlelt sertéshús    3.) 14 napig érlelt sertéshús  
4.) 21 napig érlelt sertéshús    5.) friss vaddisznóhús    6.) 7 napig érlelt vaddisznóhús  
7.) 14 napig érlelt vaddisznóhús    8.) 21 napig érlelt vaddisznóhús  
9.) friss marhahús    10.) 7 napig érlelt marhahús    11.) 14 napig érlelt marhahús  
12.) 21 napig érlelt marhahús    13.) IEF standard (Pharmacia)

11. ábra: Sertés-, vaddisznó- és marhahúslé izoelektromos fókuszálása, kék festés



+

1      2      3      4      5      6      7      8      9      10

1.) nyúlhús    2.) csirkehús    3.) pulykahús    4.) libahús    5.) kacsahús

6.) sertéshús    7.) vaddisznóhús    8.) marhahús    9.) birkahús    10.) lómioglobin

**12. ábra:** Különböző állatfajok mioglobin mintázata

A mioglobin frakciók elhelyezkedését tekintve az eredmények összhangban vannak a Hoffman és Blüchel-féle (1986) mioglobinatlasszal, egyedül a nyúlhús esetén figyeltünk meg az általuk megadottakhoz képest savasabb tartományban peroxidáz aktivitással rendelkező sávokat.

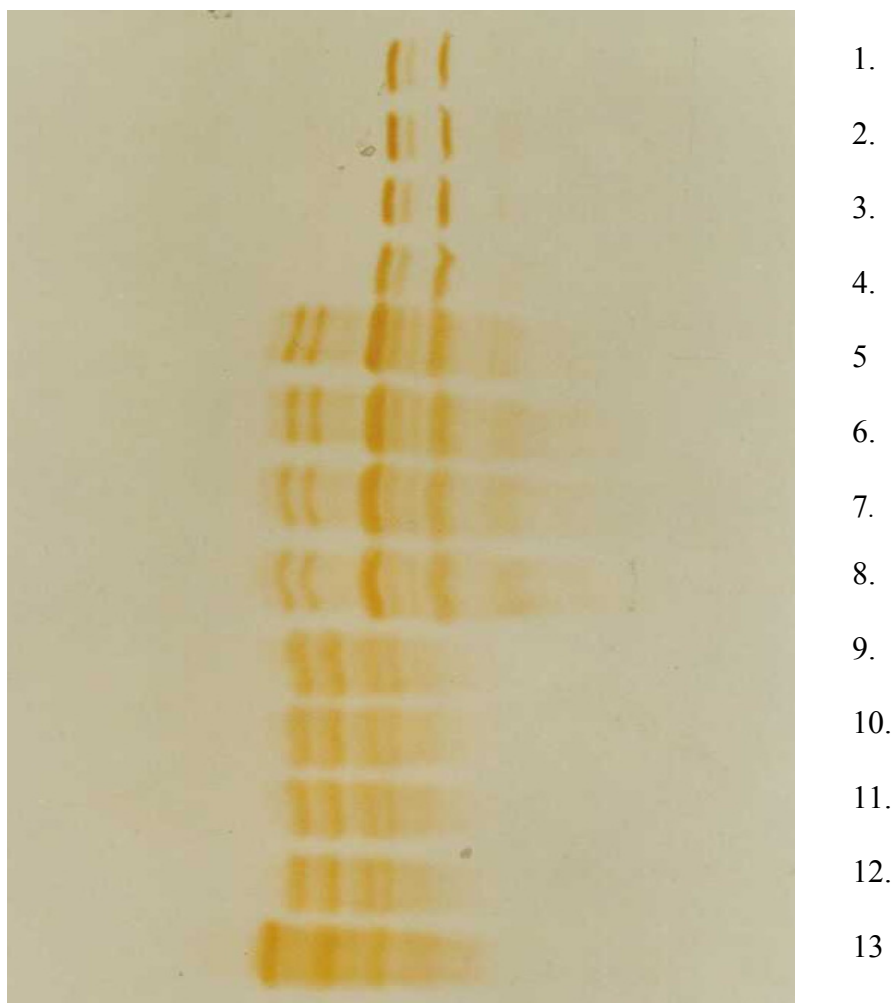
Az irodalmi adatoknak megfelelően a rendszertanilag közeli rokonságban lévő fajok mioglobin mintázatában csak kisebb eltéréseket tapasztaltunk, de a két fő mioglobin frakción kívül megjelenő mellékfrakciók segítségével, biztonsággal megkülönböztethető volt egymástól, pl. a sertéshús és a vaddisznóhús is.

Különböző ideig érlelt marhahús, sertéshús és vaddisznóhús modellminták felhasználásával nyomon követve a kondicionálás hatását, azt tapasztaltuk, hogy még a három hétig tartó kezelés sem okoz jelentős változást a mioglobin mintázatban (**13. ábra**). Megfigyeltük továbbá, hogy a friss és az előzőleg fagyasztva tárolt minták mioglobin képében sincs eltérés.

A mioglobin hőtűrésére vonatkozó kísérleteket lómioglobin modelloldatok (5mg/ml-es vizes oldat) különböző hőmérsékletre beállított vízfürdőn való



hőkezelésével végeztük, a peroxidáz aktivitás csökkenésével arányos színintenzitás-változást videodenzitométerrel értékeltük (14. ábra, és X. táblázat). Ezek a vizsgálatok azért lényegesek, mert hőkezelt termékek esetén a mioglobinnal mintázat alapján történő fajtaazonosításnak határt szab a hődenaturáció. A hőkezelés mértékének növelésével egyre kevésbé intenzíven festődő mioglobinnal frakciókat kaptunk. A peroxidáz-aktivitás jelentős csökkenése rövid idejű (3 perces) hőkezelés esetén 70 és 80 °C között következett be, de a mioglobin sávok még 15 perces 80 illetve 90 °C történő kezelés után is kimutathatóak voltak

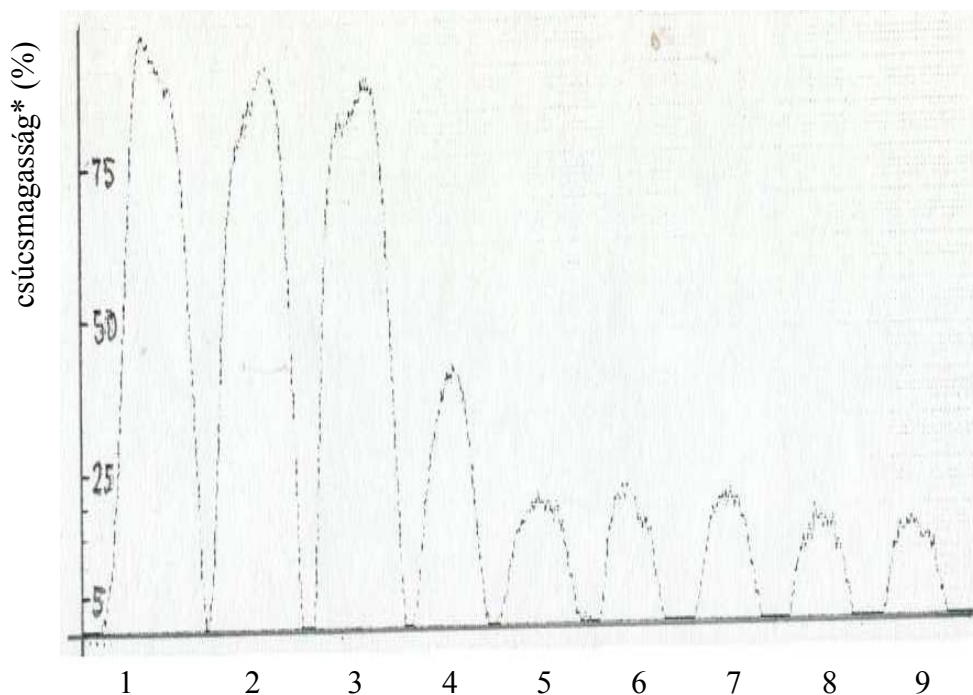


-  
pI: 10,0

+  
3,5

- 1.) friss sertéshús    2.) 7 napig érlelt sertéshús    3.) 14 napig érlelt sertéshús  
4.) 21 napig érlelt sertéshús    5.) friss vaddisznóhús    6.) 7 napig érlelt vaddisznóhús  
7.) 14 napig érlelt vaddisznóhús    8.) 21 napig érlelt vaddisznóhús  
9.) friss marhahús    10.) 7 napig érlelt marhahús    11.) 14 napig érlelt marhahús  
12.) 21 napig érlelt marhahús    13.) lómioglobin (Calbiochem)

13. ábra: Friss és érlelt húsok kivonatainak izoelektromos fókuszálása, mioglobinnel festés



- 1.) kezeletlen oldat    2.) 60 °C, 3 perc    3.) 70 °C, 3 perc    4.) 80 °C, 3 perc  
5.) 80 °C, 10 perc    6.) 80 °C, 15 perc    7.) 90 °C, 3 perc    8.) 90 °C, 15 perc  
9.) 100 °C, 3 perc

\* kezeletlen (kontroll) oldat = 100 %

**14. ábra:** Különböző mértékben hőkezelt, és az izoelektromos fókuszálást követően mioglobinfestéssel jelzett lómioglobin minták denzitogramja

Tanulmányoztuk a mioglobin mintázat alapján való eredet-meghatározás alkalmazhatóságát húsipari termékek esetén, ezért a hústermékek közül a fontosabb termékcsoportok (fermentált húsárúk, vörösárúk, és konzervek) néhány jellegzetes képviselőjét vizsgáltuk. A „parasztkolbász” esetén számos intenzíven festődő sáv jelent meg, a „marhapárizsi” mintában viszont csak két fehérjesáv adott reakciót a marha-mioglobinnak megfelelő helyen (**15. ábra**).

kezelések	csúcsmagasság (%)	csúcsterület*	
			(%)
kezeletlen oldat	100,0	11920	100,0
60 °C, 3 perc	94,0	11180	93,8
70 °C, 3 perc	91,7	11080	93,0
80 °C, 3 perc	43,8	3640	30,5
80 °C, 10 perc	22,0	2070	17,4
80 °C, 15 perc	23,0	1800	15,1
90 °C, 3 perc	21,9	1750	14,7
90 °C, 15 perc	19,1	1340	11,2
100 °C, 3 perc	16,7	1290	10,8

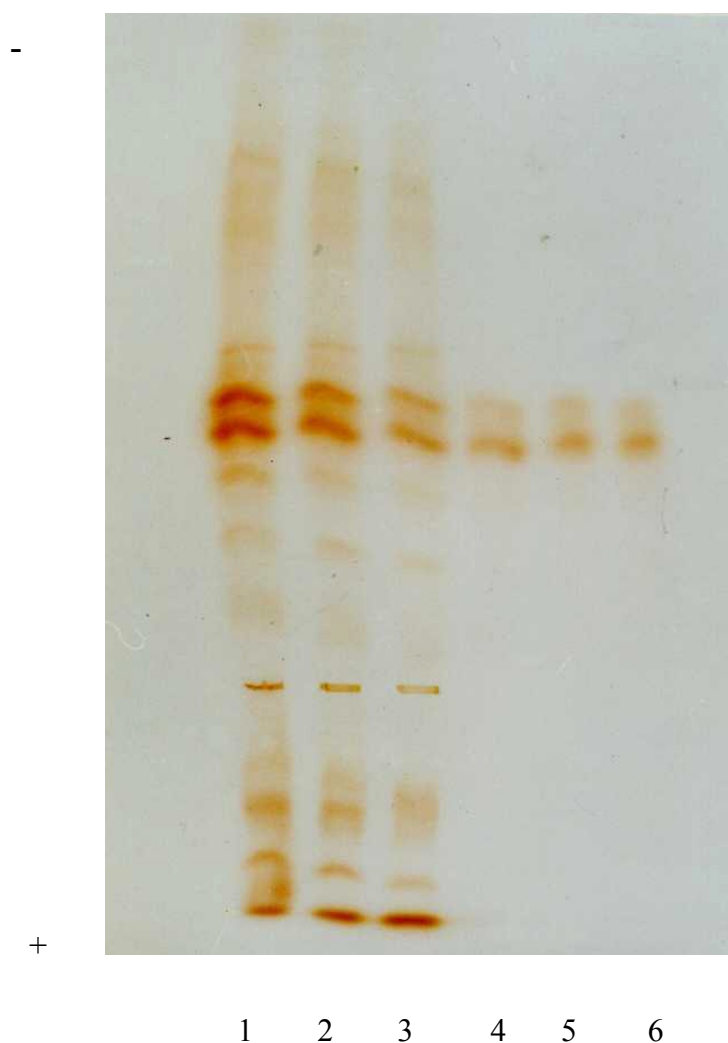
\*a lómioglobinra jellemző három fő sáv kiértékeléséből adódó csúcsterületösszeg

**X. táblázat:** A hőkezelt mioglobinoldatok **14. ábrán** látható denzitogramjához tartozó adatok

Virsli mintában kimutathatóak voltak mind a marhahúsra, mind a sertéshúsra jellemző mioglobin frakciók. Füstölt sertéscomb esetén a sertés-mioglobinra jellemző

helyen halvány, elmosódott sávok jelentek meg, a sertéspárizsi és löncskonzerv kivonatai viszont egyáltalán nem mutattak színreakciót. Az egyes hústermékek peroxidáz aktivitással rendelkező fehérjéinek denzitogramjait foglalja össze a **16. ábra**.

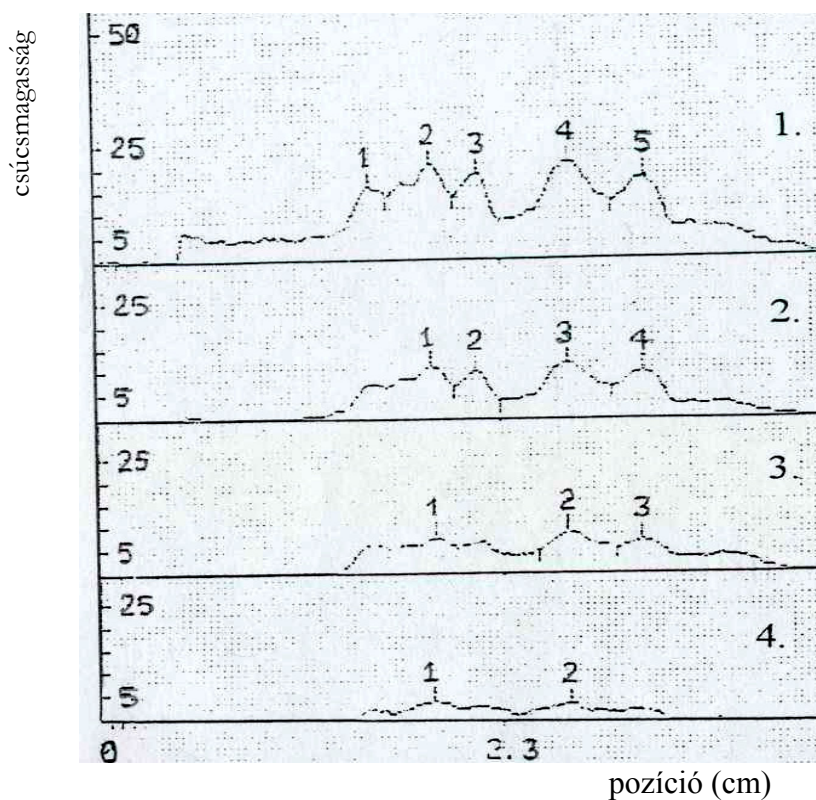
Az eredmények arra utalnak, hogy az izoelektromos fókuszálással elválasztott mioglobín frakciók pszeudoperoxidáz festése alkalmas módszer friss, érlelt, illetve fagyasztott húsminták eredetének meghatározására, még rendszertanilag közeli rokonságban álló fajok, pl. sertés és vaddisznó esetén is.



1.-3.) „parasztkolbász” kivonat

4.-6.) „marhapárizsi” kivonat

15. ábra: Parasztkolbász- és marhapárizsi-kivonat mioglobin festése



1.) sertés virsli      2.) füstölt tarja      3.) rakott fejhús      4.) ceglédi löncs

16. ábra: Különféle hústermékek peroxidáz aktivitással rendelkező fehérjéinek denzitogramjai

Feldolgozott termékek esetén az alkalmazott technológia (füstölés, hőkezelés, pácolás) határt szab az állatfajok izoelektromos fókuszálással való azonosíthatóságának. A konzerv mintáknál az egyes technológiai műveletek olyan mértékben megváltoztatták a fehérjék szerkezetét, hogy a felhasznált húsok eredetének meghatározása mioglobinnel mintázattal alapján már nem lehetséges. Az erősen hőkezelt, vagy alacsony színhústartalmú termékek egyértelmű azonosításához szükség lehet további (immunanalitikai és/vagy DNS kimutatáson alapuló) vizsgálatokra is.

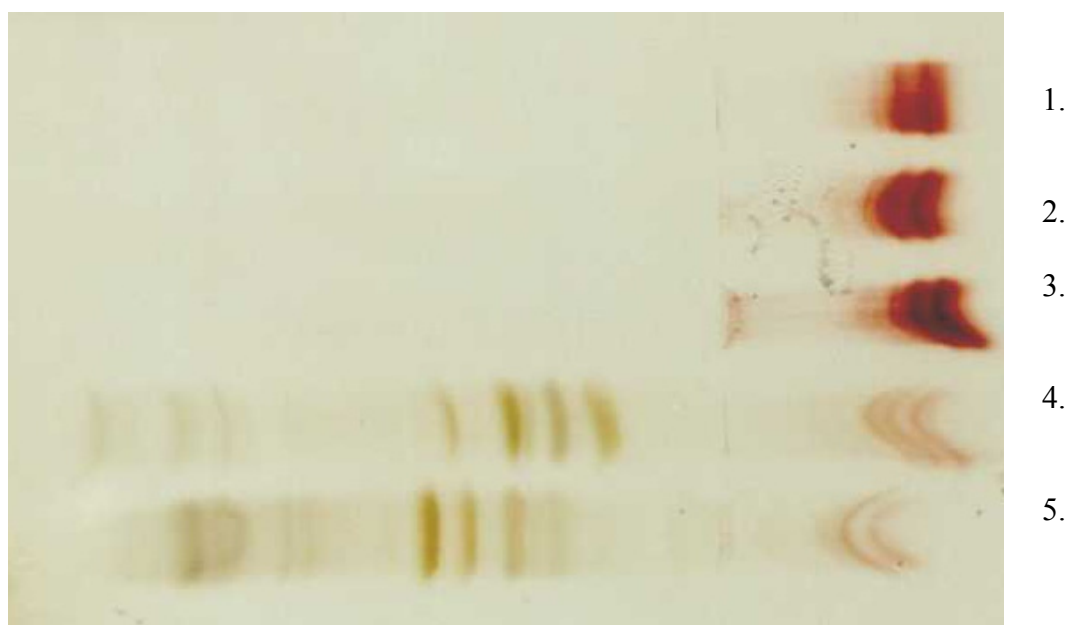
#### *5. 1. 3. 2. Vasat tartalmazó nem hem-fehérjék kimutatása*

A nem hem vas kimutatására régóta ismeretes a ferroin reakció, amelyben a  $Fe^{2+}$  ion egyes nitrogéntartalmú heterociklusos vegyületekkel (például a batofenantrolinnal) piros komplexet képez (Smith és munkatársai, 1952). Ez a reakció az alapja annak a módszernek is, amelyeket elsősorban víz, illetve más folyadékok, pl. bor, vérérum vastartalmának meghatározására dolgoztak ki (Landers és Zak, 1959, Craig és munkatársai, 1991, Hassan és Marzouk 1994, Saito, 1994). Ezt az úgynevezett vas festést használták Ohmori és munkatársai, (1985) vasat tartalmazó fehérjék natív-poliakrilamid gélelektroforetikus elválasztása után.

Kísérleteinkben izoelektromos fókuszálást követően húsférfekivonat esetén végeztük el a vastartalmú fehérjék specifikus detektálására alkalmas festést (**17. ábra**). Nem hem vasat tartalmazó kontrollként ferritint vittünk fel a géltre. Mind a vaddisznó-, mind a marhahúsmintában ki lehetett mutatni a nem hem vasat tartalmazó jellegzetes rózsaszínűre festődő sávokat. Érdekes megfigyelni, hogy a gélen jól kivehetőek a mioglobinnel sávok a két állatfajra jellemző helyen, azonban míg a nem hem vasat tartalmazó frakciók a batofenantrolin hatására rózsaszínűre festődtek, a mioglobinnel nem adott színreakciót, csak természetes barnászörös színe miatt látható.

Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az általunk kifejlesztett eljárás lehetővé teszi a nem hem vasat tartalmazó fehérjefrakciók specifikus kimutatását

húsmintákban, illetve a hem és nem hem vasat tartalmazó fehérjesávok egyidejű vizsgálatát.



pH: 10,0

3,5

- 1.) ferritin (0,03mg) 2.) ferritin (0,05mg) 3.) ferritin (0,08mg) 4.) vaddisznóhús  
5.) marhahús

17. **ábra:** Izoelektromos fókuszálással szeparált vaddisznóhúslé és marhahúslé vas festése

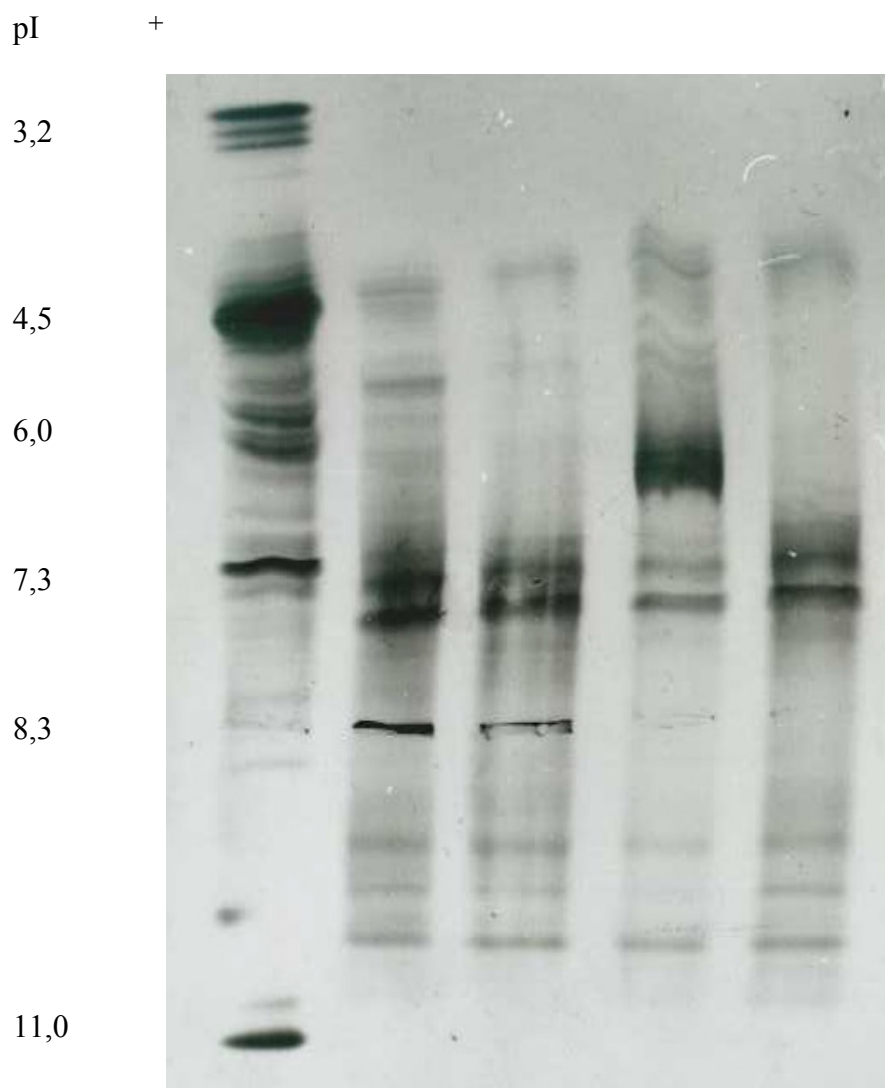
## 5. 2. AZ ÁLLATTARTÁSI MÓD HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA SERTÉSHÚS-FEHÉRJÉKRE

Kísérleteinkben nagyüzemi illetve organikus körülmények között tartott sertésekből származó húsmintákat hasonlítottunk össze. A felhasznált állatanyag főbb jellemzői az **IV. táblázatban** (a 31. oldalon) található.

Az első állatcsoport a másodiktól tartási módban és genotípusban is különbözik, így fehérjeszerkezetük összehasonlítása a két tényező együttes hatásának vizsgálatát teszi lehetővé. Az első és a második állatcsoport húsmintáinak vizsgálatakor a molekulatömeg eloszlásban jelentős különbséget nem lehetett kimutatni sem a miofibrilláris, sem a szarkoplazma fehérjék esetén. Mind a karaj- mind a combmintákról elmondható, hogy az elektroforetogramok nagyon hasonlóak. A továbbiakban az izomfehérjéket izoelektromos fókuszálással szeparáltuk. Az optimális elválasztás érdekében többféle amfolitot, illetve ezek keverékeit is kipróbáltuk. A leghatékonyabb elválasztást a 2-11, 5-7 és 7-9 pH tartományú amfolitok (2:1:1 arányú) keverékével lehetett elérni. Az eredmények alapján megállapítható, hogy tartási mód és a genotípus izomfehérjékre gyakorolt hatásának vizsgálatára az SDS-poliakrilamid gélelektroforézisnél alkalmasabb az izoelektromos fókuszálás. Az azonos csoportban található egyedekből származó minták fehérjemintázata között nem lehetett különbséget kimutatni. Az izoelektromos fókuszálással szeparált natúr és kontroll (nagyüzemi körülmények közt tartott állatokból származó) húsminták elektroforetogramjai között azonban észrevehető



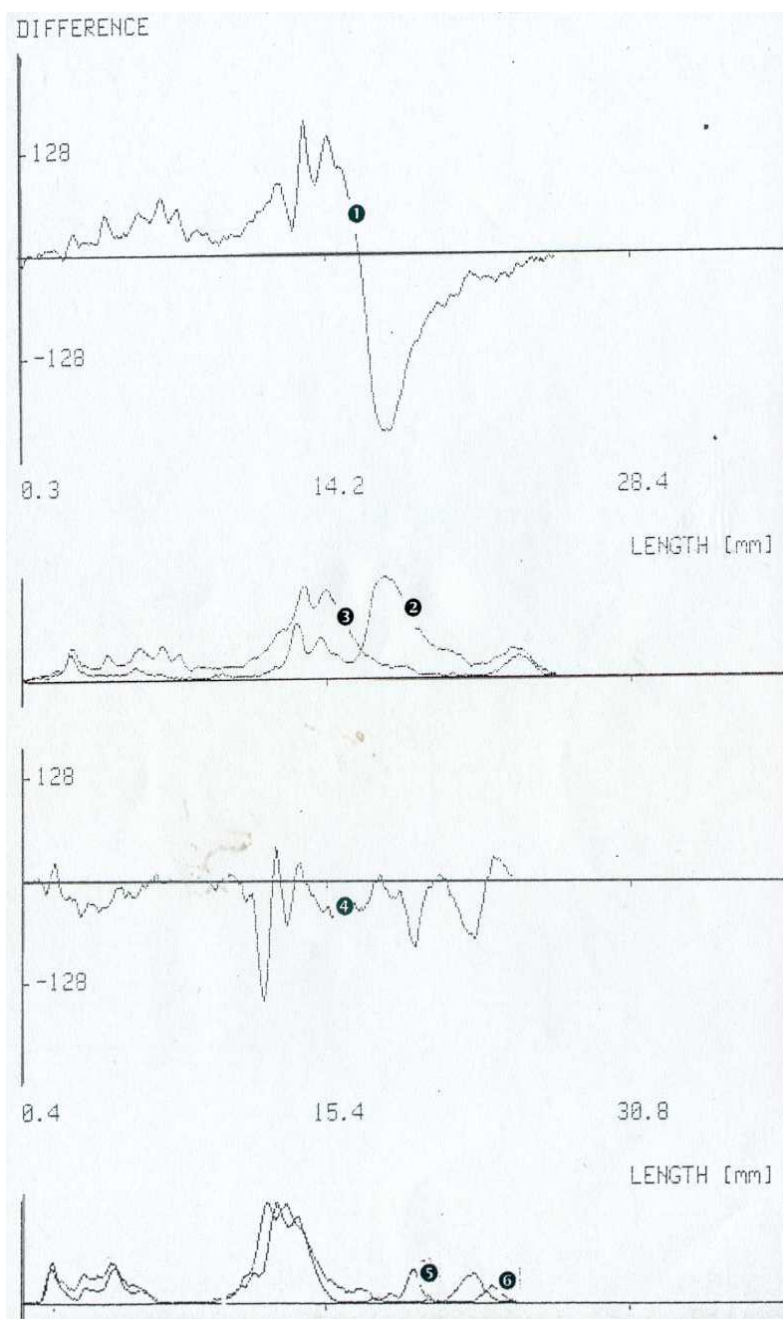
eltérés figyelhető meg, különösen a combmintáknál. A karajminták esetén a különbség kevésbé kifejezett. Elsősorban a bázikus és a gyengén savas pH tartományban található fehérjefrakciók mintázatában láthatóak minőségi és mennyiségi különbségek. Egy-egy natúr és kontroll comb-, illetve karajminta izoelektromos fókuszálását mutatja a **18. ábra**, amelyen megfigyelhető a kontroll karajmintára jellemző 5-ös körüli izoelektromos pontú fehérjesáv, a natúr combmintánál látható diffúz zóna a 4-5 közötti pH tartományban, és a 6-os és 7-es izoelektromos pont közötti eltérések a karajminták mintázatában. Az agaróz gélről készített denzitogramokon is megfigyelhetők a húsminták fehérjefrakcióinak izoelektromos pont szerinti megoszlásában mutatkozó különbségek (**19. ábra**).



1 2 3 4 5

- 1.) IEF standard (Pharmacia)
- 2.) karajminta az 1. állatcsoportból (kontroll)
- 3.) karajminta a 2. állatcsoportból (natúr)
- 4.) combminta az 1. állatcsoportból (kontroll)
- 5.) combminta a 2. állatcsoportból (natúr)

18. ábra: Az 1. és 2. állatcsoportból származó húsminták izoelektromos fókuszálása



① - különbséggörbe  
(5. minta - 4. minta)

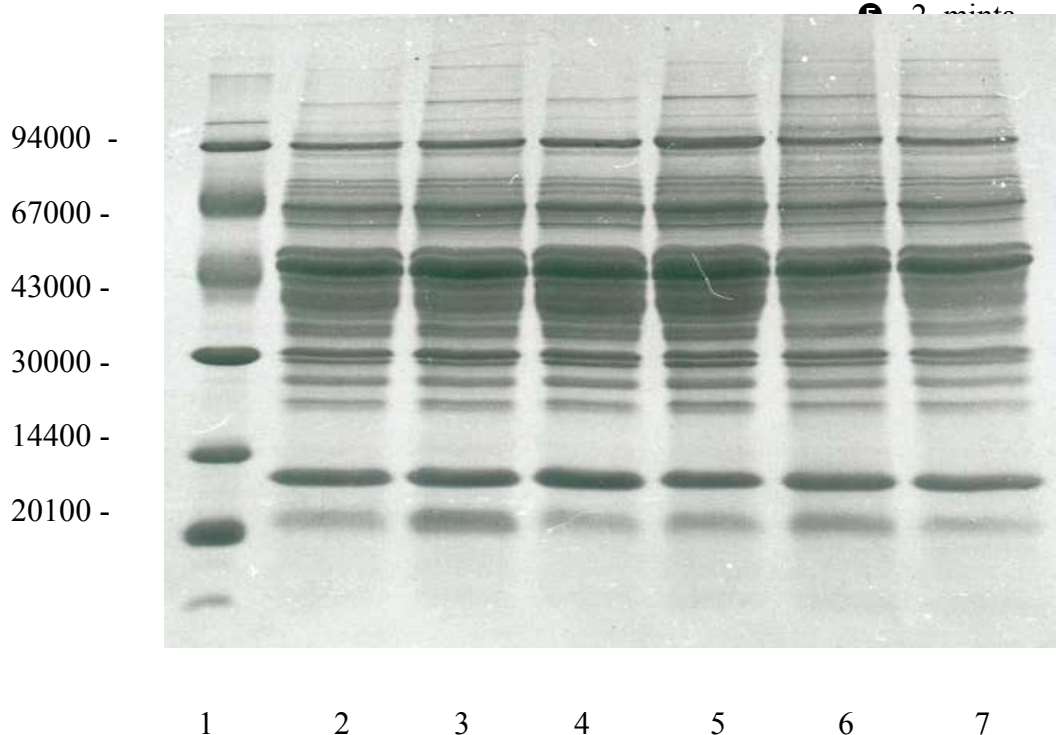
② - 4. minta

③ - 5. minta

**19. ábra:** A 18. ábrán látható fehérjesávok denzitogramjai és különbség-görbéi

A nagyüzemi és az organikus körülmények között tartott állatok genotípusa és vágósúlya általában nem azonos, mégis felvetődik a kérdés, hogy az 1. és 2. állatcsoport fehérjeszerkezete között kimutatott eltérések mennyiben az állattartási mód, és mennyiben az egyéb tényezők következményei. Ezért összehasonlítottuk a 3. és 4. állatcsoportból származó mintákat, amelyek csak a tartási módban különböztek. Ebben az esetben sem a szarkoplazma fehérjék, sem a miofibrilláris fehérjék molekulatömeg megoszlásában (**20. ábra**), sem az izoelektromos fókuszálással és kék festéssel kapott mintázatban nem lehetett jellegzetes különbségeket kimutatni a két állatcsoportból származó húsminták között.

④ - különbség-görbe  
(3. minta - 2. minta)

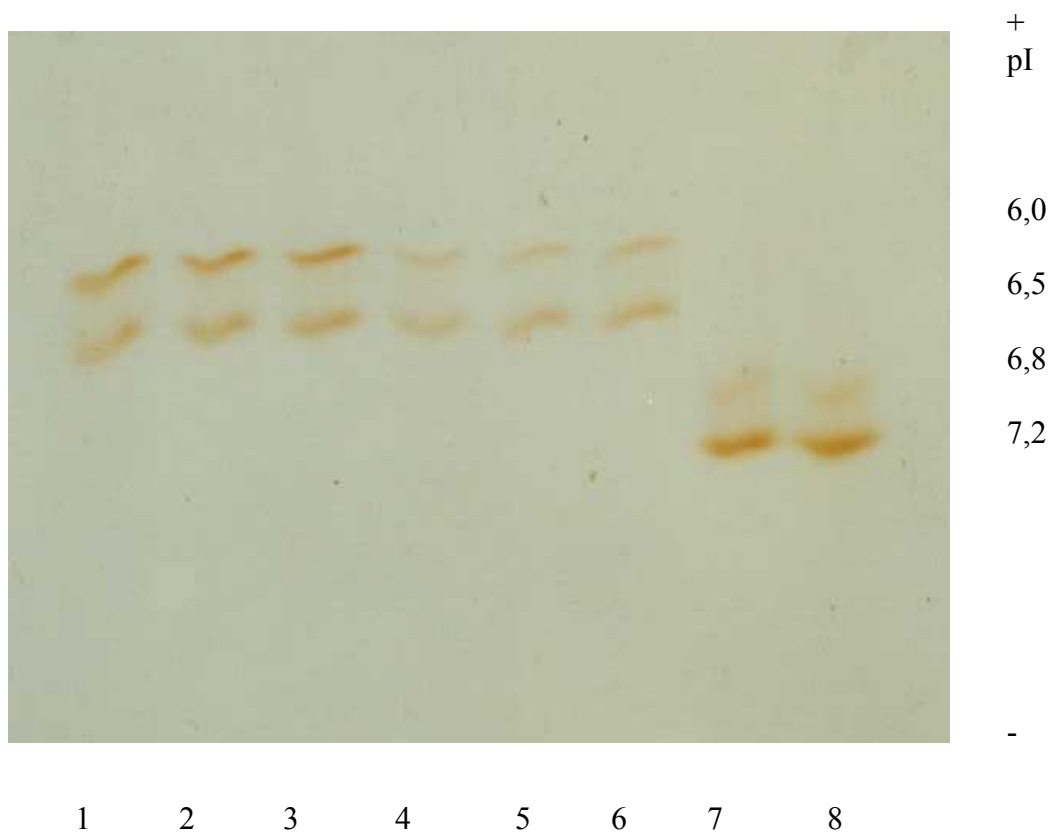


- 1.) LMW molekulatömeg standard (Pharmacia)
- 2-4.) a 4. állatcsoportba (natúr) tartozó különböző egyedekből származó húsminták

5-7.) a 3. állatcsoportba (kontroll) tartozó különböző egyedekből származó húsminták

**20. ábra:** A 3. és 4. állatcsoportból származó húsminták miofibrilláris fehérjéinek SDS-PAGE képe

Irodalmi adatok szerint az izomszövet mioglobin tartalma összefügghet néhány a húsminőséget is befolyásoló tényezővel, mint az élő állat mozgási aktivitása (Hofmann és Blüchel, 1986), vagy a hús PSE-jellege (Bauer és Hofmann, 1990). Ezek alapján feltételeztük, hogy a tartási mód hatással lehet az izoelektromos fókuszálással és pszeudoperoxidáz festéssel meghatározott mioglobin mintázatra. Az organikus és a hagyományos körülmények között tartott sertések (3. és 4. állatcsoport) húsból származó szarkoplazma fehérjék mioglobin mintázatát összehasonlítva feltűnő, hogy az azonos genotípusú állatból származó, de nagyüzemi módon előállított sertéshúshoz képest ezeknek a sertéseknek a húzában magasabb a mioglobin tartalom, és megváltozott a két fő mioglobinsáv egymáshoz viszonyított aránya is (**21. ábra**).



- 1-3.) a 4. állatcsoportba (natúr) tartozó különböző egyedekből származó húsminták  
 4-6.) a 3. állatcsoportba (kontroll) tartozó különböző egyedekből származó húsminták  
 7-8.) lómioglobin (Calbiochem)

**21. ábra:** A 3. és 4. állatcsoportból származó húsminták mioglobinsávok mintázata  
 Az o-dianizidinnel specifikusan megfestett mioglobinsávok (21. ábra) denzitometriás értékelésével kapott adatokat a **XI. táblázat** foglalja össze. Az egy-egy állatcsoporton belüli minták mioglobinsáv mintázatáról elmondható, hogy az elektroforetogramok nagyon hasonlóak, amit a denzitometriás adatok viszonylag alacsony szórása is jelez. Vizsgálataink igazolták, hogy az eltérő tartási mód hatására a mioglobinsávok helye a pH gradiensben változatlan marad, azonban az egyes sávok intenzitásában változás következik be.

MINTA*	pI 6,5		pI 6,0	
	csúcsterület**	csúcsterület (%)	csúcsterület**	csúcsterület (%)
1	3125 ± 96	46,0	3682 ± 120	54,0
2	3382 ± 110	46,5	3886 ± 131	53,5
3	3444 ± 108	48,0	3711 ± 125	52,0
4	2760 ± 88	62,0	1662 ± 79	38,0
5	2654 ± 101	70,0	1156 ± 91	30,0
6	3057 ± 127	66,0	1578 ± 82	34,0

\*a minták jelölése megegyezik a 21. ábrával

\*\*6 futtatás alapján számított átlagértékek

**XI. táblázat:** A 3. és 4. állatcsoport mioglobinsáv-mintázatának kiértékelése: a mioglobinsávok csúcsterületei

Az eredmények alapján elmondható, hogy az elektroforetikus elválasztási technikák, specifikus jelzési módszerekkel kombinálva alkalmasak az izomfehérjék szerkezetében az eltérő állattartási technológia hatására létrejövő eltérések kimutatására.

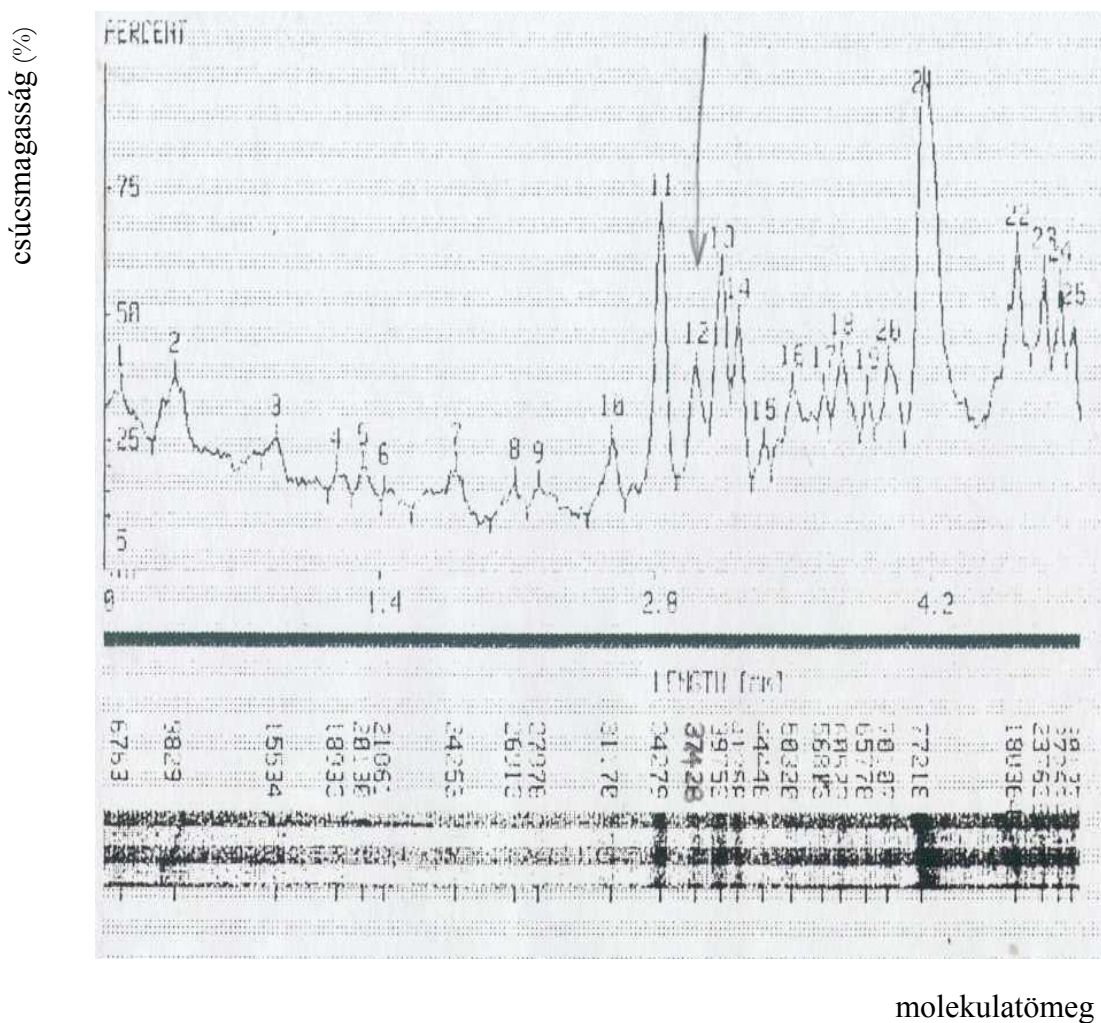
### 5. 3. A KONDICIONÁLÁSI FOLYAMAT JELLEMZÉSE A MIOFIBRILLÁRIS FEHÉRJÉK SDS-PAGE SZEPARÁLÁSÁVAL

A darabolt húsok és húsrészek kondicionálása (érlelése) régóta ismert eljárás a hús porhanyósabbá tételére. A kondicionálás folyamán a hús szerkezetében, elsősorban a miofibrilláris fehérjékben lejátszódó változásokat számos kutató közvetlen összefüggésbe hozta az érzékszervi és funkcionális tulajdonságok javulásával, ami a termék forgalmi értékét is növeli (Penny, 1976, Uytterhaegen és munkatársai, 1994, García és munkatársai, 1997, Gil és munkatársai, 1998, Verrez-Bagnis és munkatársai, 1999).

Kísérleteinkben marha, sertés és vaddisznó eredetű nyers húsmintákból izolált miofibrilláris fehérjékben bekövetkező változásokat követtük nyomon SDS poliakrilamid-gélelektroforézissel a több hetes kondicionálási folyamat alatt. A friss sertéscomb fehérjéit molekulatömeg szerint szeparálva, és az elektroforetogramot videodenzitométerrel kiértékelve kimutatható volt a troponin T frakció molekulatömegének (37000 D) megfelelő helyen lévő fehérjesáv (**22. ábra**).

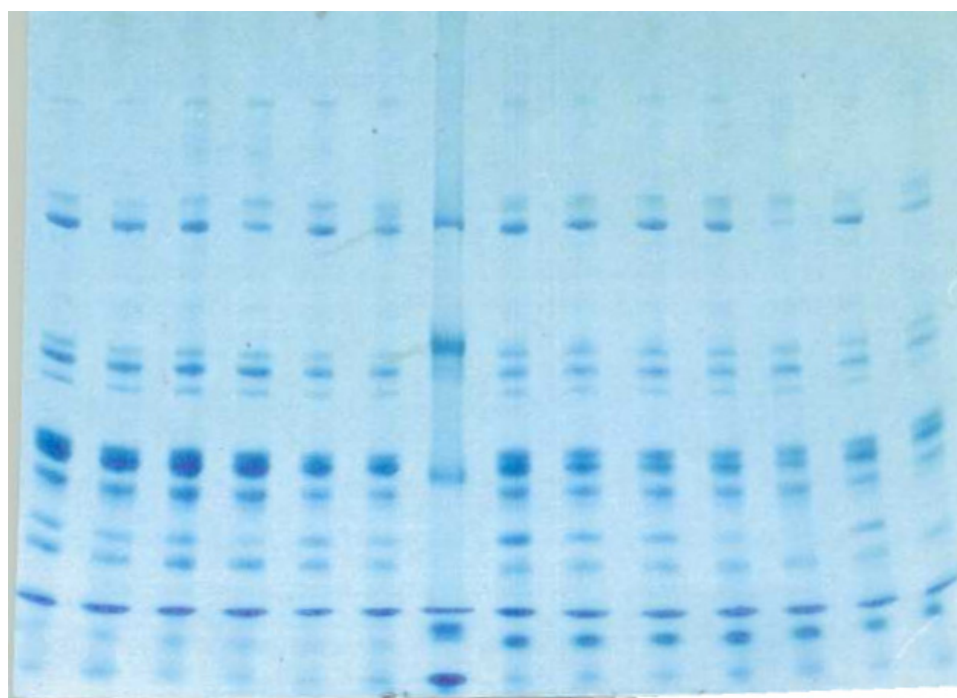
Annak érdekében, hogy a vizsgálat szempontjából leglényegesebb fehérjefrakciók esetén hatékonyabb elválasztást kapjunk, a 30000 - 40000-es molekulatömeg tartományra koncentrálva, a továbbiakban 15%-os helyett 8%-os akrilamidgél használtunk a kondicionált húsok fehérjemintázatának meghatározásához (Claeys és munkatársai, 1995). A nyers, és a különböző ideig érlelt húsok miofibrilláris fehérjéinek SDS-PAGE képét összehasonlítva megfigyelhető egy a troponin T-nek megfelelő molekulatömeg tartományban található fehérjesáv, amelynek intenzitása a tárolás folyamán fokozatosan csökken mind a sertéshús, mind a marhahús, mind a vaddisznóhús esetén. Az elektroforetogramokról az is leolvasható, hogy a miofibrilláris fehérjékben bekövetkező degradációs folyamatokat a CaCl<sub>2</sub>-os kezelés gyorsítja. Példaképpen a sertés karaj és a marha hátszín esetén

kapott fehérjemintázatot mutatjuk be a **23. ábrán**, a **XII. táblázat** pedig a három állatfajból származó minták elektroforetogramjainak videodenzitométeres értékelésével kapott adatokat foglalja össze.



\* legmagasabb csúcs =100%

**22. ábra:** Friss sertéshús SDS-PAGE elektroforetogramjának denzitometriás értékelése



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

- 1.) friss sertés karajból izolált miofibrilláris fehérjék
- 2.) 1 hétig 2 °C-on tárolt sertés karajból izolált miofibrilláris fehérjék
- 3.) 2 hétig 2 °C-on tárolt sertés karajból izolált miofibrilláris fehérjék
- 4.) 3 hétig 2 °C-on tárolt sertés karajból izolált miofibrilláris fehérjék
- 5.) 3 napig 2°C-on kalciummal kezelt sertés karajból izolált miofibrilláris fehérjék
- 6.) 9 napig 2 °C-on kalciummal kezelt sertés karajból izolált miofibrilláris fehérjék
- 7.) LMW molekulatömeg standard (Pharmacia): 94000, 67000, 43000, 30000, 20100, 14400
- 8.) friss marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 9.) 1 hétig 2 °C-on tárolt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 10.) 1 hétig 10 °C-on tárolt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 11.) 2 hétig 2 °C-on tárolt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 12.) 3 hétig 2 °C-on tárolt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 13.) 3 napig 2°C-on kalciummal kezelt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék



14.) 9 napig 2°C-on kalciummal kezelt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék

23. ábra: Sertés karajból és marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék SDS-PAGE elválasztása

	friss		1 hét		2 hét		3 hét		3 nap, Ca <sup>++</sup>		9 nap, Ca <sup>++</sup>	
		%		%		%		%		%		%
sertéskaraj	552	7,4 ± 0,76*	220	2,9 ± 0,40	202	2,4 ± 0,15	106	1,3 ± 0,11	172	2,9 ± 0,19	156	2,7 ± 0,22
sertésstarja	248	4,3 ± 0,58	91	1,7 ± 0,11	47	0,7 ± 0,10	42	0,6 ± 0,10	-	-	-	-
sertés-szűzpecsenye	598	7,2 ± 1,16	138	2,0 ± 0,16	27	0,4 ± 0,08	∅	∅	-	-	-	-
marhahátszín	882	9,8 ± 0,97	448	5,0 ± 0,71	111	1,9 ± 0,15	∅	∅	410	8,0 ± 0,59	300	6,6 ± 0,68
marhabélszín	265	4,4 ± 0,48	139	2,3 ± 0,15	105	2,2 ± 0,11	∅	∅	130	2,5 ± 0,15	∅	∅
vaddisznó-gerinc	127	2,0 ± 0,36	∅	∅	∅	∅	∅	∅	29	0,5 ± 0,08	∅	∅
vaddisznótarja	59	1,1 ± 0,25	∅	∅	∅	∅	∅	∅	28	0,8 ± 0,10	∅	∅

\* három futtatás alapján számított átlag és szórás

- nem volt ilyen kísérlet

∅ a troponin T-nek megfelelő molekulatömegnél nem volt kimutatható fehérjesáv

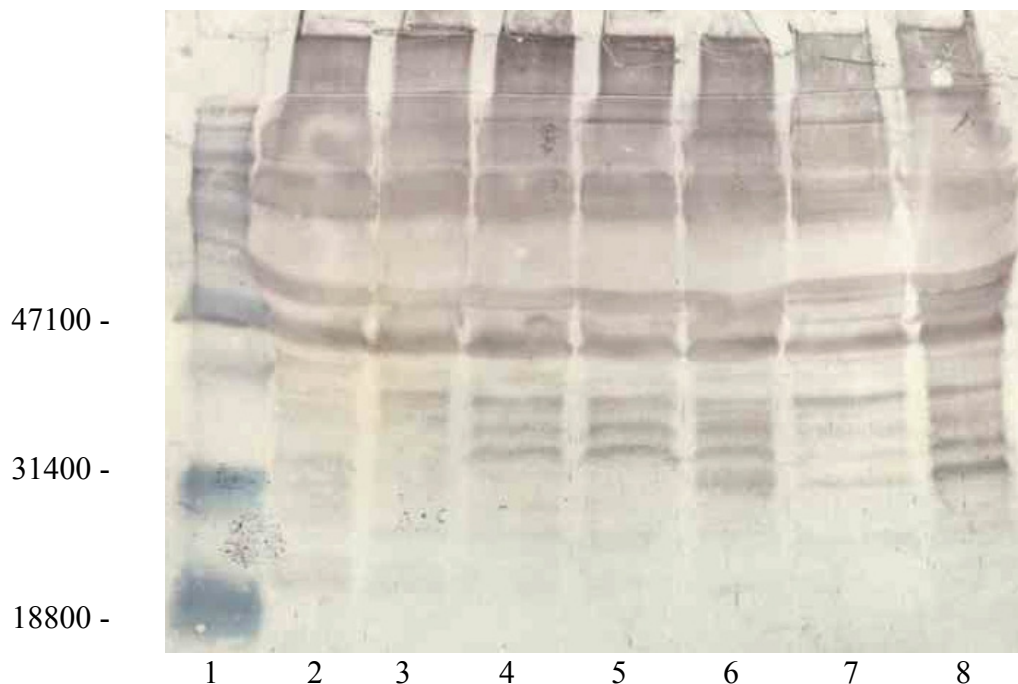
XII. táblázat: A troponin T frakciók csúcsterülete és relatív mennyisége friss és kondicionált húsmintákban

A táblázat adatai jelzik, hogy a 2 °C-on kondicionált modellmintáknál a kb. 37000-es molekulatömegű troponin T frakciónak jelentős része már egy hét után lebomlik. A sertéshús minták esetén a vizsgált fehérjefrakció intenzitása több mint 60%-al, a marhahúsrészeknél pedig hozzávetőlegesen 50%-al csökkent mind az abszolút, mind a relatív értékeket tekintve. A vaddisznóhúsokban a kísérlet kezdetén is viszonylag kis mennyiségben volt jelen ez a fehérjesáv, és egy hetes érlelés után már nem volt kimutatható, sem a gerinc, sem a tarja testtájban. A kondicionálás második és harmadik hetében a 37000-es molekulatömegű sáv további fokozatos csökkenése volt jellemző. A  $\text{Ca}^{++}$ -aktivált közegben tárolt minták esetében a húsok endogén proteázainak fokozottabb működése miatt ez a változás lényegesen gyorsabban ment végbe. A sertés és a marha modellmintáknál a 3 napos  $\text{CaCl}_2$ -os kezelés legalább 7 napos érlelésnek felelt meg a troponin komplexben bekövetkező változást tekintve. A vaddisznó húsok esetén is jelentősen csökkent a troponin T frakció csúcsterülete a 3 napig tartó  $\text{CaCl}_2$  oldatban való tárolás hatására. Azokban az esetekben, ahol a 3 napos  $\text{CaCl}_2$  oldatban való kezelés után a vizsgált fehérje még jelen volt, a kezelés 9. napjára további csökkenést mutatott.

A kondicionált mintákból izolált miofibrilláris fehérjék szerkezetében bekövetkezett változásokat az SDS PAGE szeparálást követő fehérjefestéssel jól nyomon lehetett követni, a videodenzitométeres kiértékelés segítségével pedig megbecsülhető a troponin T frakció bomlásának mértéke.

A troponin komplex ellen nyúlban kifejlesztett szérum felhasználásával végzett immunfestés további információt nyújthat az izomfehérjékben az érlelés alatt lejátszódó változásokról. Ezért az SDS-PAGE elválasztást követően a fehérjesávokat nitrocellulóz membránra vittük át, majd a membránt nyúlban troponin ellen kifejlesztett antitestet tartalmazó szérumban inkubáltuk, és a kialakult antigén-antitest komplexet peroxidázzal jelzett konjugátum segítségével mutattuk ki. Friss és kondicionált marhahátszín minták immunfestését mutatja a **24. ábra**. Megállapítható, hogy a troponin komplexre specifikusan nyúlban kifejlesztett, tisztított IgG reakciót ad a teljes troponin komplexszel, és bomlástermékeivel, továbbá néhány magas

molekulatömegű fehérjével is (aktin, tropomiozin stb.) keresztaktivitást mutat. Az immunaktív fehérjék molekulatömeg tartománya így viszonylag széles sávban jelentkezik. A 30000-40000 körüli molekulatömeg-tartományban található fehérjesávok hosszabb idejű érlelés esetén többnyire csökkenő mértékű reakciót jeleztek, bár ez nem volt minden egyes minta esetén kimutatható.



- 1.) előszínezett molekulatömeg standard (BIO-RAD)
- 2.) friss marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 3.) 1 hétig 2 °C-on tárolt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 4.) 1 hétig 10 °C-on tárolt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 5.) 2 hétig 2 °C-on tárolt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 6.) 3 hétig 2 °C-on tárolt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 7.) 3 napig 2°C-on kalciummal kezelt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék
- 8.) 9 napig 2°C-on kalciummal kezelt marha hátszínből izolált miofibrilláris fehérjék

**24. ábra:** Friss és kondicionált marhahátszín minták immunfestése

Az ábrán jól nyomon követhető a troponin komplex felbomlásával egyidejűleg több kisebb molekulatömegű frakció megjelenése. A friss marhahátszínhez képest két új 30000 alatti molekulatömegű immunválaszt adó fehérjesáv jelenik meg az egy hétig 2 °C-on tárolt mintában, és újabbak mutathatók ki a két illetve a három hétig érlelt húsokban. A immunblott kép azt is jelzi, hogy magasabb hőmérsékleten (2 °C helyett 10 °C-on) gyorsabb a fehérjék degradációja. Az is jól látszik, hogy a CaCl<sub>2</sub> oldatban való kezelés elősegíti a fehérjeszerkezetben bekövetkező változást, mivel Ca<sup>++</sup>-aktivált közegben érlelt minták esetén már viszonylag rövid idő után intenzíven festődő alacsony móltömegű frakciók jelennek meg.

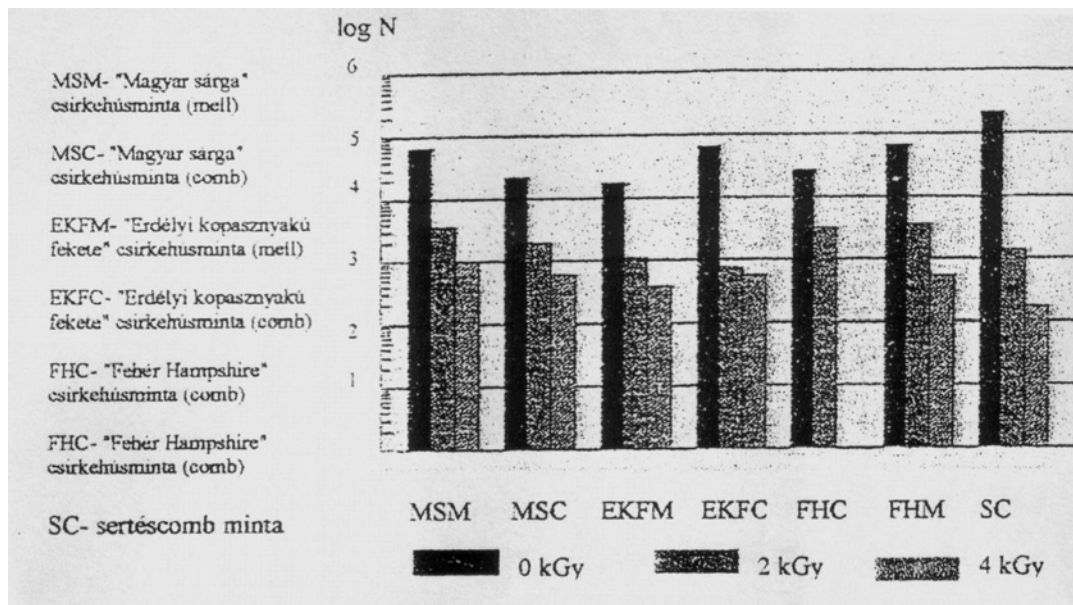
Az eredmények alapján elmondható, hogy az elektroforetikusan szeparált troponin T frakció szemiquantitatív denzitométeres kiértékelésével a kondicionálás folyamata jól követhető, és a fehérjék elektroforetikus elválasztását követő immunfestéssel az érlelés alatt a miofibrilláris fehérjékben bekövetkező változás szelektíven kimutatható.

#### 5. 4. A $\gamma$ -BESUGÁRZÁS ÉS A HŐKEZELÉS HÚSFEHÉRJÉKRE GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

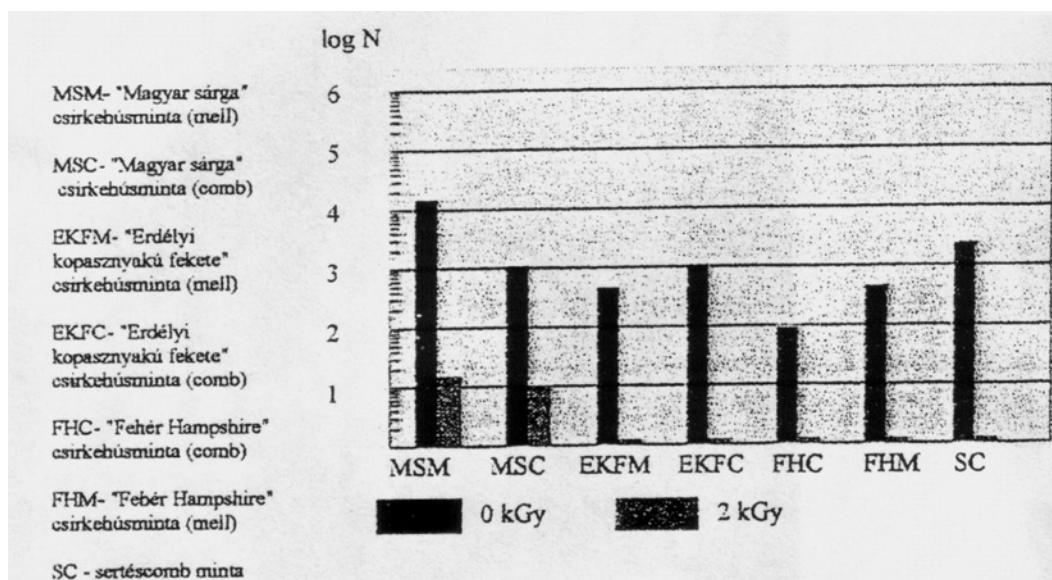
Az élelmiszerek tartósításánál a hőkezelés mellett a besugárzásnak is fontos szerepe van. Mindkét kezelés hatást gyakorol az élelmiszerfehérjékre, módosíthatja azok aggregációs állapotát. Mivel a fehérjeszerkezetben a besugárzás hatására bekövetkező változások nem eléggé specifikusak, és részben hasonlóak a hőkezelés hatásaihoz, ezért a besugárzottság kimutatására nem a fehérjék vizsgálata a leginkább alkalmas módszer. Azonban a besugárzásnak a fehérjékre gyakorolt hatásainak minél jobb megismerése lényeges az egészségmegőrző táplálkozás szempontjából, különösen a húsfehérjék, mint alapvető fontosságú és teljes értékű fehérjeforrás esetében.

A  $\gamma$ -besugárzási és hőkezelési kísérletekhez különböző fajtájú csirkék mell- és combmintáit, valamint sertéscomb mintákat használtunk. A kezeletlen és besugárzott minták mikrobiológiai állapotát is vizsgáltuk, hogy a kezelés hatásosságát ellenőrizzük. Salmonellát a kezeletlen mintákban sem lehetett kimutatni. A

Staphylococcus aureus mind a kontroll mind a besugárzott mintákban kevesebb volt, mint  $10^2/g$ . Az összcsíraszám a 2 kGy-es besugárzás hatására legalább egy nagyságrenddel csökkent, 4 kGy-nél pedig két vagy három nagyságrendnyi csökkenést figyeltünk meg (25. ábra). Az Enterobacteriaceae szám a kezdeti  $10^2 - 10^3/g$  értékről a 2 kGy-es kezelés után  $10^1/g$  alá csökkent, a 4 kGy-es kezelés hatására pedig már nem volt megtalálható egyetlen mintában sem (26. ábra).

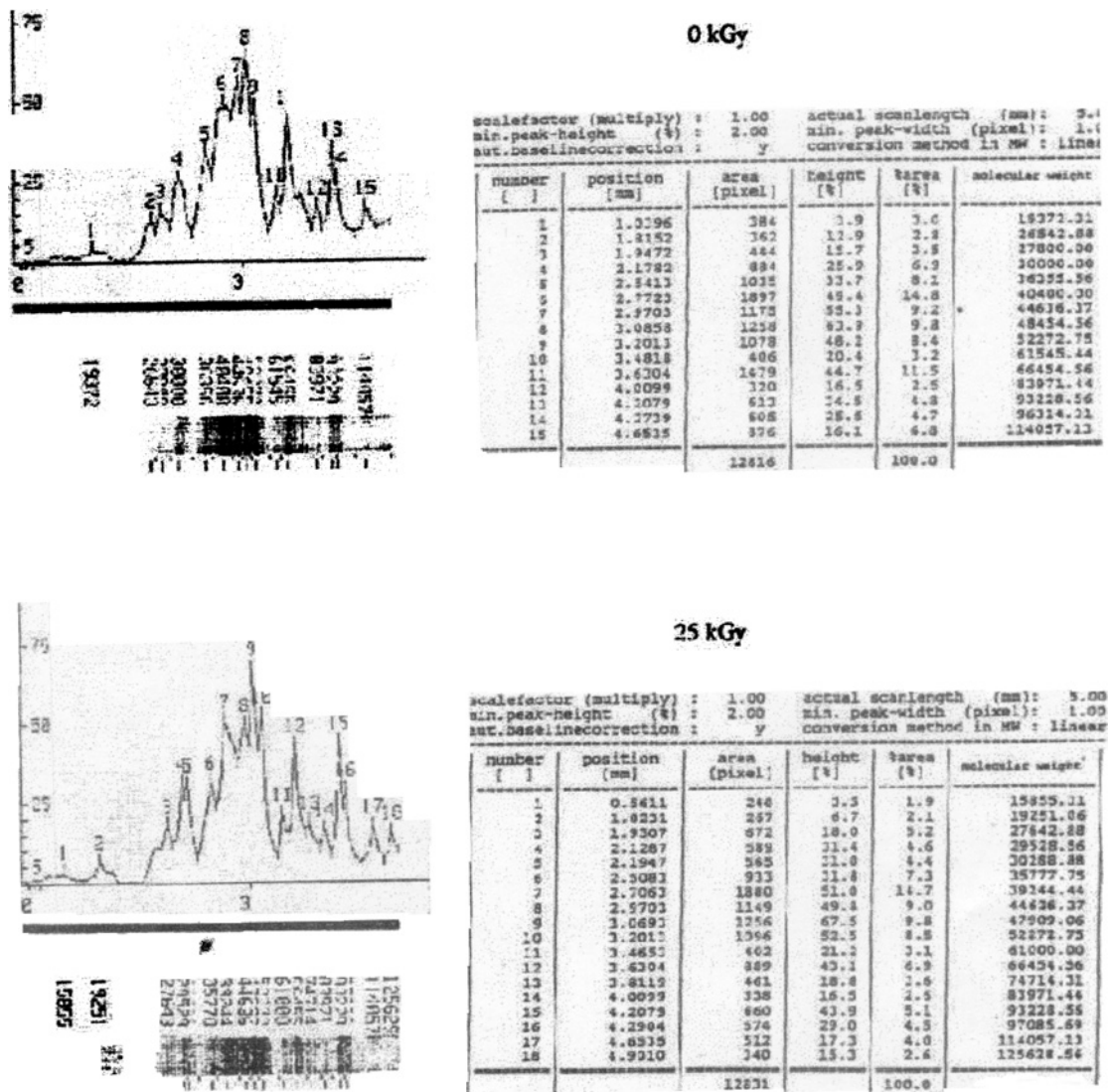


25. ábra: Húsminták összcsíraszámának változása a besugárzás hatására



26. ábra: Húsminták Enterobacteriaceae számának változása a besugárzás hatására

A 2, 4 és 10 kGy dózissal besugárzott minták és a kezeletlen húsminták miofibrilláris frakcióinak SDS-PAGE képei között jelentős eltérést nem lehetett kimutatni, sem a sertés, sem a csirkehúsok esetén. A 25 kGy-el besugárzott minták esetén azonban új sávok jelentek meg a húszezer alatti és a százezer fölötti molekulatömeg tartományban. Ez a degradált termékek képződését igazolja, és arra utal, hogy az aggregátumok között olyanok is lehetnek, amelyek elsődleges kötással kapcsolódnak össze. A **27. ábra** a kezeletlen és a 25 kGy-el besugárzott sertéshús miofibrilláris fehérjék SDS-PAGE mintázatát és denzitometriás kiértékelését mutatja. A kezeletlen és a besugárzott húsmintákból kivont szarkoplazma fehérjéket izoelektromos fókuszálással 3,5-10 pH gradiensben szeparálva és Commassie Brilliant Blue-val megfestve, a dózis növekedésével a mintázat kismértékű fokozatos változását tapasztaltuk a pI 7 alatti tartományban, elsősorban a sertéshús esetében. Mivel a sertésizom fő mioglobinnal frakcióira a 6-os és a 6,5-ös izoelektromos pont jellemző, célszerűnek tartottuk a mioglobinnal frakciókban bekövetkező változásokat a többi fehérjétől függetlenül is nyomon követni. Azért is jeleztük a mioglobinnal sávokat specifikus festéssel az izoelektromos fókuszálással történő szeparálás után, mert irodalmi adatok szerint a besugárzáskor keletkező hidroxil gyökök előidézhetik az oximioglobinnal metmioglobinná alakulását, a metmioglobinnal pedig dimerek és különböző bonyolult reakciótermékek keletkezhetnek (Satterlee és munkatársai, 1971, Giddings és Markakis, 1972). Megállapítottuk, hogy a fő mioglobinnal sávok helye a besugárzás hatására a pH gradiensben nem változik, és a mioglobinnal frakciók még a 25 kGy-es kezelés után is kimutathatóak peroxidáz aktivitásuk alapján. A besugárzott mintáknál azonban további frakciók jelentek meg az összintenzitás kismértékű csökkenése mellett. A sertéshús esetén, a 6,5 fölötti tartományban két, a 6,0 alatti tartományban pedig egy új fehérjesávot figyeltünk meg az agaróz gélen. A sertéshúsléből nyert mioglobinnal frakciók videodenzitométeres értékelésével kapott összecsúcsterületre vonatkoztatott relatív csúcsterületeit a **XIII. táblázat** foglalja össze.



27. ábra: A kezeletlen és a 25 kGy-el besugárzott sertéshús fehérjék SDS-PAGE mintázata és denzitometriás kiértékelése

	0 kGy	2 kGy	4 kGy	10 kGy	25 kGy
csúcsterület- összeg	12380	12060	11890	11550	10150
pI 6,5 fölött (1.)	0	3,1	3,9	4,1	7,3
pI 6,5 fölött (2.)	0	1,5	2,7	4,4	6,9
pI 6,0 alatt	0	0	1,3	1,7	10,1

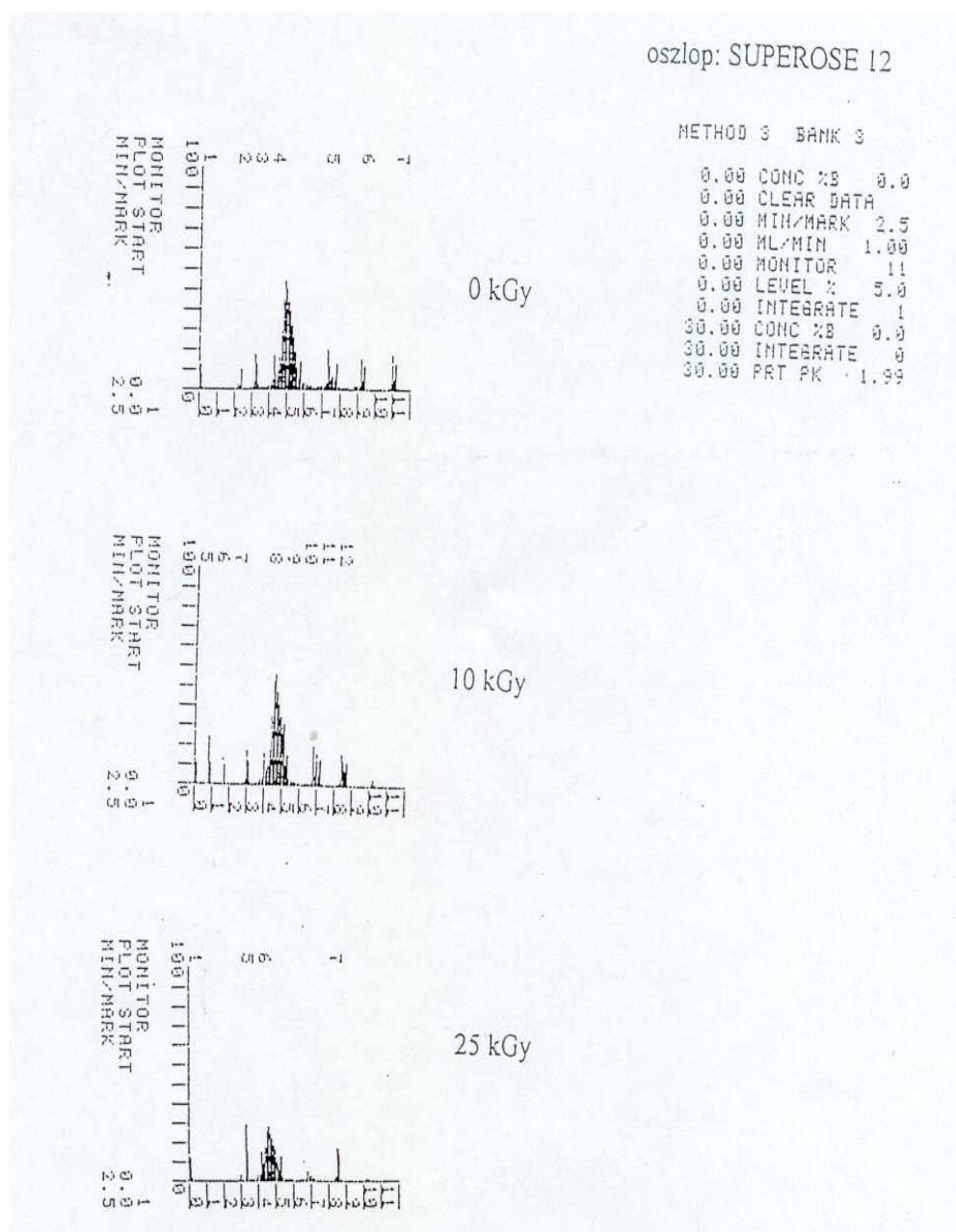
három futtatás értékeléséből számított átlagos értékek

**XIII. táblázat:** Kezeletlen és besugárzott sertéshúsminták peroxidázaktivitással rendelkező frakcióinak csúcsterület-összege, és a besugárzott mintákban megjelenő új sávok (csúcsterület-összegére vonatkoztatott) relatív aránya

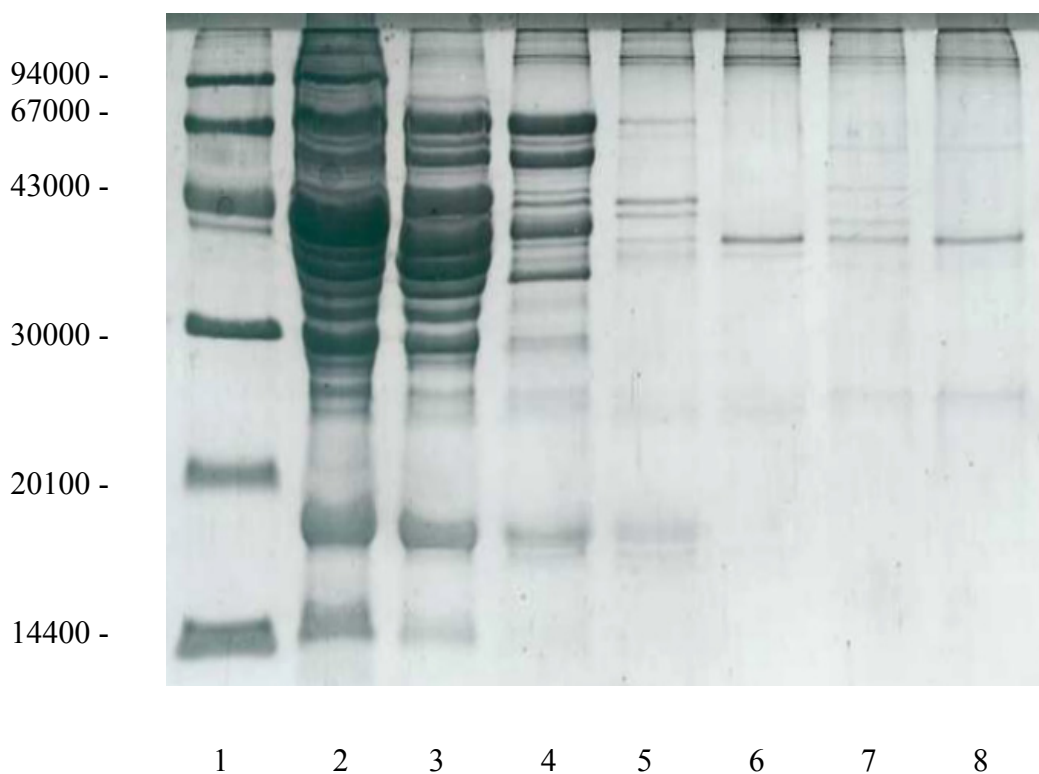
A kezelések hatására bekövetkező aggregációs és degradációs folyamatok nyomon követéséhez folyadékromatográfiás (FPLC) vizsgálatokat végeztünk. Superose 12 gélszűrő oszlopon választottuk el a vízoldható fehérjefrakciókat. A kezeletlen és a 2 illetve 4 kGy-el besugárzott húsminták kromatogramjai nem különböztek egymástól, azonban a 10 kGy -es dózison megjelent egy alacsony retenciós idejű új csúc, ami aggregátum képződésre utalhat. A 25 kGy-es besugárzás hatására a fehérjék oldhatósága jelentősen csökkent, amit az is jelez, hogy a detektálható csúcsok területe kisebb volt (**28. ábra**).

A besugárzás és a hőkezelés fehérjemintázatra gyakorolt hatásának összehasonlítása érdekében tanulmányoztuk az 50-121 °C-os hőmérsékleteken kezelt sertéshúsminták elektroforetikus tulajdonságait is. A hőkezelt minták vizsgálatokor mind az SDS-poliakrilamid gélelektroforézises kép (**29. ábra**), mind a mioglobin mintázat egyértelműen jelezte az oldhatóság csökkenését a hőmérséklet emelkedésének függvényében. A friss minta SDS-PAGE képének videodenzitométeres kiértékelésekor 15 sávot kaptunk, 80 °C-on kezelt mintánál 11-et, és a 121 °C-os kezelés után már csak 4 sáv volt kimutatható. A görbe alatti összterület 12800-ról visszaesett 220-re. Egy 40000 körüli molekulatömeggel jellemezhető, viszonylag hőstabil fehérjefrakció még a 121 °C-on hőkezelt mintában is egyértelműen kimutatható volt.





28. ábra: Kezeletlen és besugárzott sertéshúsminták vízoldható fehérjéinek FPLC elválasztása



1.) LMW molekulatömeg standard (Pharmacia) 2.) nyers sertéshús 3.) 50 °C-on hőkezelt sertéshús 4.) 60 °C-on hőkezelt sertéshús 5.) 70 °C-on hőkezelt sertéshús 6.) 80 °C-on hőkezelt sertéshús 7.) 100 °C-on hőkezelt sertéshús 8.) 121 °C-on hőkezelt sertéshús

**29. ábra:** Nyers és hőkezelt sertéshús fehérjék SDS-PAGE elválasztása

A sertéshús minták mioglobin mintázatának változása az 5. 1. 3. 1. fejezetben tárgyalt hőkezelt lómioglobin oldatokéhoz hasonlóan alakult. Az izoelektromos fókuszálással szétválasztott, majd pseudoperoxidáz aktivitásuk alapján megfestett sávok száma csökkent, a melléksávok fokozatosan eltűntek, a 70°C-on hőkezelt mintában már gyakorlatilag csak a két fő mioglobin frakció látható,

ennél magasabb hőmérsékletű kezelés esetén pedig már csak nyomokban lehet peroxidáz aktivitással rendelkező fehérjét kimutatni.

Eredményeink azt mutatták, hogy a fehérjék hőkezelés okozta oldhatósági változásai már 50 °C-on megkezdődnek, az ipari gyakorlatban gyakran alkalmazott 70-80 °C közötti tartományban a legjelentősebb az eltérés. A hőkezeléshez képest az általunk alkalmazott besugárzás az izomfehérjék SDS-PAGE képét jóval kisebb mértékben módosította, még viszonylag nagy dózis (25 kGy) alkalmazásakor is. Nem denaturáló közegben végzett gélkromatográfiás elválasztással, valamint izoelektromos fókuszálással viszont eltérések mutatkoztak a kezeletlen és a besugárzott minták között. Ezek a megfigyelések azt jelzik, hogy a  $\gamma$ -besugárzás az általunk alkalmazott dózisokban az izomfehérjék szerkezetét csak kis mértékben módosítja.

## 5. 5. HÚSOK ÉS HÚSTERMÉKEK POTENCIÁLIS ALLERGÉN JELLEGÉNEK VIZSGÁLATA

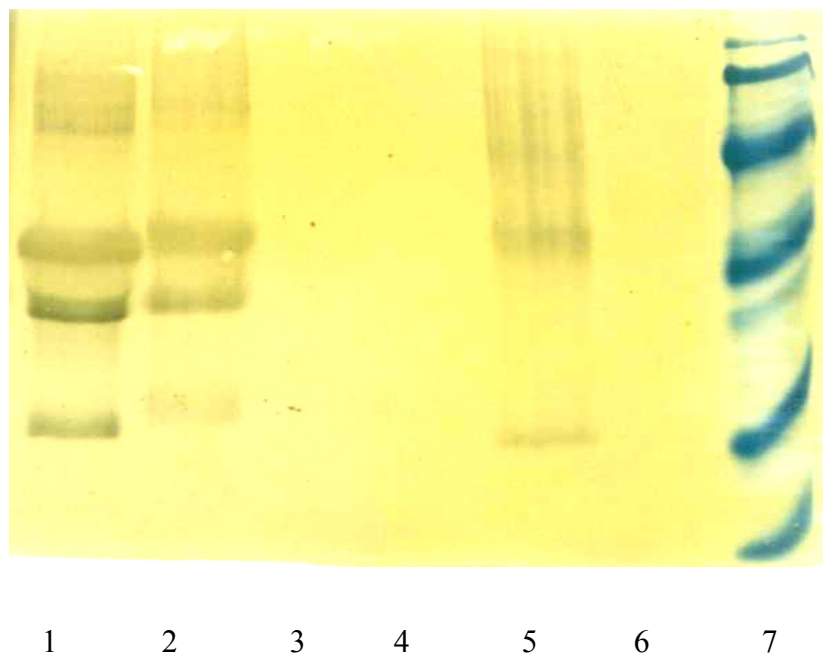
Mivel a különféle élelmiszerallergiás megbetegedések világszerte növekvő problémát okoznak, kiemelkedő jelentőségű az élelmiszerek - köztük a hústermékek - vizsgálata potenciális allergén jellegük szempontjából. A húsalapú élelmiszerek elsősorban az előállításukhoz felhasznált nem húseredetű fehérjék (pl. tej, tojás, szójafehérje) jelenléte miatt okozhatnak problémát az élelmiszerfehérje allergiában szenvedők számára, másrészt maguk a húsfehérjék más élelmiszerfehérjékkel hasonló szerkezetű epitópokkal rendelkezhetnek (különösen akkor, ha ezek a fehérjék azonos állatfajból származnak, pl. marhahús és tejfehérjék, vagy csirkehús és tyúktojásfehérjék), ezért az immunológiai keresztreakció lehetőségével is számolni kell.

A megfelelő antitestek felhasználásával végzett immunanalitikai eljárások alkalmasak lehetnek a húsok eredetének (állatfajok) meghatározására, hústermékeknél a hozzáadott nem húseredetű fehérjék kimutatására, és a különböző táplálékfehérjék keresztreakáló aktivitásának vizsgálatára. A korábbi fejezetekben

nyúlban kifejlesztett ellenanyag felhasználásával különítettük el a sertéshúst és a vaddisznóhúst, és tanulmányoztuk a kondicionálás alatti miofibrilláris degradációt. Ebben a fejezetben tej-, tojás-, illetve szója-pozitív humán szérumokkal készített immunblott képek segítségével vizsgálunk néhány élelmiszert a potenciális élelmiszerfehérje allergia szempontjából. Ezek a kísérletek azért lényegesek, mert az eredmények segítséget adhatnak a különböző élelmiszerfehérjék, illetve fehérjefrakciók antigén aktivitásának jellemzésében. Az antigén karakter ismerete információt adhat allergiás egyének diétájának megválasztásához.

A fehérjemintákat SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel szeparáltuk, majd nitrocellulóz membránra átblottoltuk, és az immunfestést tehéntej pozitív kevert humán szérum felhasználásával végeztük el (**30. ábra**). A tehéntejből készült különféle tejtermékek gyakorlatilag azonos aktivitást mutatnak az állat natív tejjével, ami arra utal, hogy az élelmiszeripari technológiák (fermentáció, hőkezelés, stb.) nem változtatják meg számottevően a szekvenciális és konformációs epitópok szerkezetét, és ezek a készítmények a tehéntej-allergiás beteg számára a tejjel azonos veszélyt jelenthetnek. A tehéntejből készült termékekhez képest a marhahúsminták jóval kevésbé intenzív, alig detektálható immunaktivitást mutatnak. A juhhúsnál, a marhapárizsinál és az aszpikos sonkánál nem kaptunk színreakciót. A sajtos párizsi viszont több, intenzíven festődő sávot mutat, ami összhangban van azoknak a korábbi vizsgálatoknak az eredményeivel, amelyben a szerzők a marhahúshoz 2%, 5%, 10% tejpport keverve, az immunoblotting képen a tehéntejhez hasonló mértékű allergén aktivitást figyeltek meg (Hajós és munkatársai, 1997, Alarcon-Rojo és munkatársai 1997).

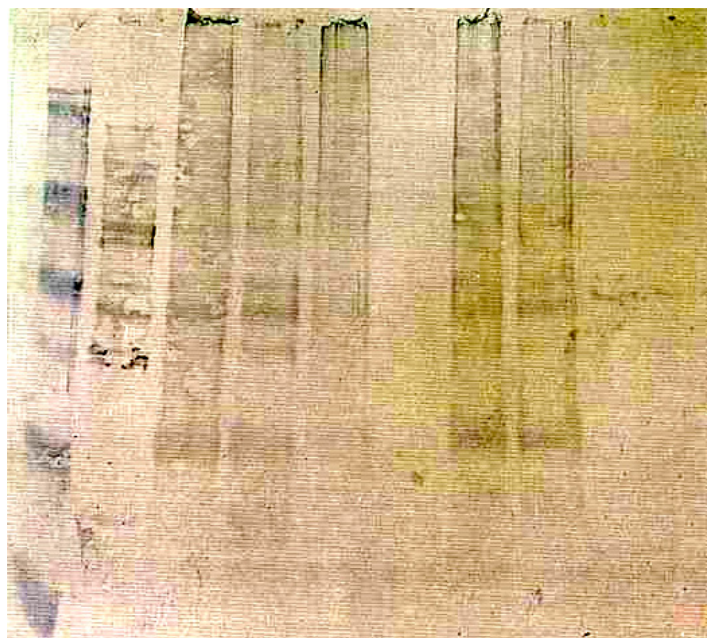
A tehéntej mellett a szója- és a tojásfehérje húskészítményben, illetve más élelmiszeripari termékben való felhasználása is problémát okozhat az élelmiszerfehérje allergia szempontjából. Kísérletekkel kimutattuk, hogy azokban az esetekben, ahol a hústermék szója adalékanyagot tartalmaz, szintén egyértelműen növekszik az antigén aktivitás, amit a szója pozitív humán szérum felhasználásával készített immunblott kép támaszt alá (**31. ábra**).



1.) tehéntejből készült sajt 2.) juhtej 3.) juhhús 4.) aszpikos sonka  
5.) sajtos párizsi 6.) marhahús 7.) LMW előszínezett molekulatömeg standard  
(97000, 67000, 43000, 30000, 20100, 14400 BIO-RAD)

**30. ábra:** Tej és húsfehérjék immunfestése tehéntej pozitív kevert humán szérum felhasználásával

Azoknál a húskészítményeknél, amelyek szója alapú adalékanyagot is tartalmaztak, a szójalisztéhez hasonló mértékű, bár a szójalisztétől eltérő molekulatömeg megoszlásban jelentkező immunfestődés mutatható ki, a szójat nem tartalmazó kolbász és a csirkehúsminták viszont egyáltalán nem, vagy csak minimális mértékben festődtek.



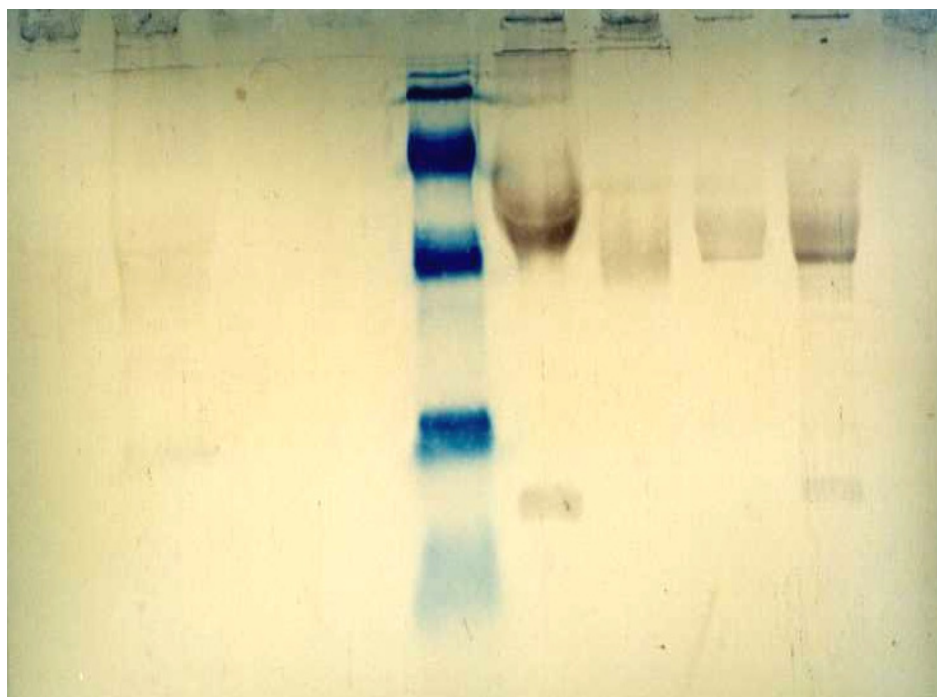
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

**1.)** előszínezett molekulatömeg standard (200000, 118000, 78000, 47100, 31400, 25500, 18800, 8300 BIO-RAD) **2.)** szója albumin **3-8.)** kolbász- és felvágottfélék **9-10.)** csirkehús minták

**31. ábra:** Kolbász és felvágottfélék immunfestése szója pozitív kevert humán szérum felhasználásával

Az SDS-PAGE elválasztást és elektroforetikus blottot követően a hús-, tészta- és tojásmintákat tojásfehérje pozitív humán szérummal reagáltatva, megfigyelhető, hogy a pulyka-, csirke-, liba- és kacsahús közül egyedül a csirkehús minta mutat minimális mértékű színreakciót, ami arra utal, hogy a baromfihúsok allergén aktivitása alacsony, még tojásallergia esetén sem kell lényeges

keresztallergiával számolni (32. ábra). A fürjtojás a tyúktojásnál gyengébben festődik, de egyértelműen kimutatható keresztreakciót jelez, és a tésztákban felhasznált tojás is immunreaktív sávok megjelenését eredményezi a blotton.



1            2            3            4            5            6            7            8            9            10

- 1.) pulykahús 2.) csirkehús 3.) libahús 4.) kacsahús 5.) előszínezett molekulatömeg standard (97000, 67000, 43000, 30000, 20100, 14400 BIO-RAD)  
6.) tyúktojás-fehérje 7.) fürjtojás 8.) fürjtojásos tészta 9.) tészta (10 tojásos)  
10.) pulykasonka

**32. ábra:** Baromfihúsok és tojásos tészták tojás pozitív kevert humán szérum felhasználásával végzett immunfestése

## 5. 6. BIOLÓGIAILAG AKTÍV AMINOK VIZSGÁLATA FRISS ÉS KONDÍCIONÁLT HÚSMINTÁKBAN

A nyers húsmintákban előforduló biológiailag aktív aminosavakkal kapcsolatban két kísérletsorozatot végeztünk el. Az első kísérletsorozatban nagyszámú friss, illetve különböző ideig hűtőkamrában tárolt normál érésű és PSE jellegű sertéshúsminta aminosavprofilját hasonlítottuk össze karaj és felsál részek felhasználásával. A második kísérletsorozatban sertés-, marha- és vaddisznóhús esetén a kondicionálási folyamat során a biológiailag aktív aminosav koncentrációjában bekövetkező változásokat követtük nyomon.

Az első kísérletsorozathoz kiválasztott sertéshúsmintákban a spermin, a spermidin, a kadaverin, a putreszcin és a hisztamin szintjét határoztuk meg. A kiválasztott sertéshúsminták vizsgálatával célunk volt:

- adatok gyűjtése a friss sertéshús biogén aminosav tartalmáról,
- a PSE status befolyásának tisztázása,
- az izomcsoportok közti különbségek vizsgálata és
- a tárolás alatti változások nyomon követése.

A friss mintáknál viszonylag alacsony biológiailag aktív aminosav tartalmat találtunk. Csak a spermidin és a spermin mennyisége volt minden esetben a kimutatási határ felett. A különböző testtájakból származó normál érésű és PSE húsok átlagos spermidin és spermin tartalmát foglalja össze a **XIV. táblázat**, a részletes adatokat pedig a függelékben található két táblázat tartalmazza.

A PSE-jellegű húsok esetében kissé alacsonyabb volt a biológiailag aktív aminosav koncentrációja, mint a normál érésű húsmintákban, ez a különbség azonban nem volt mind a két izomcsoportnál szignifikáns. A testtájak közötti különbségről viszont elmondható, hogy a karaj mintákra szignifikánsan magasabb spermin és spermidin tartalom volt jellemző a felsál mintákhoz képest. A tárolás hetedik napjára a spermin koncentrációja a kezdeti 13-17 mg/kg értékről kb. 11 mg/kg-ra csökkent, a spermidinnél pedig növekedést tapasztaltunk, a kezdeti 0,6 mg/kg körüli értékről kb. 0,9 mg/kg-ra. Hús tárolási vizsgálataik során Petchanek és munkatársai (1980), valamint Lakritz és munkatársai (1988) szintén a spermin tartalom csökkenését és a

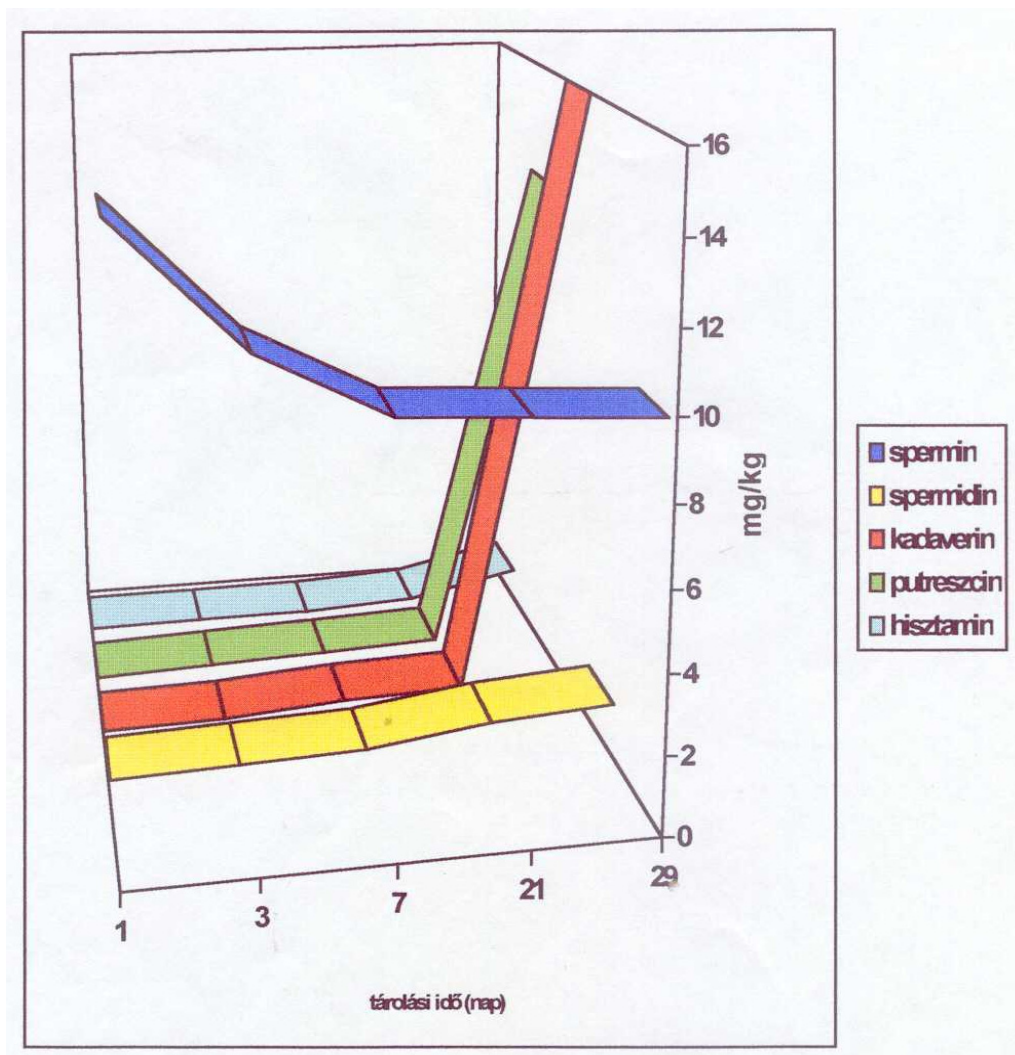


spermidin tartalom növekedését figyelték meg. A **XIV.** táblázatból az is kitűnik, hogy a négy mintacsoport közti kezdeti különbségek fokozatosan kisebbé váltak a tárolás során. Néhány mintát hosszabb ideig tároltunk, hogy a biogén aminosav koncentrációjának változását a romlási folyamat során is nyomon követhessük. A biogén aminosav mennyiségében bekövetkező változásokat a **33. ábra** szemlélteti. A 14. napon a spermin szint további folyamatos csökkenése és a spermidin szint enyhe növekedése mellett, már a putreszcin, a kadaverin és a hisztamin is kimutatható volt. Drasztikus változás azonban csak a 21. naptól következett be, ekkor azonban a húsmintákon már érzékszervileg is a romlás nyilvánvaló jelei voltak megfigyelhetők.

	SPERMIN (mg/kg)			SPERMIDIN (mg/kg)		
	1 nap /SZD=0,455/	3. nap	7. nap	1. nap /SZD=0,026/	3. nap	7. nap
normál karaj	17,01	12,73	11,46	0,72	0,76	0,93
normál felsál	15,84	12,85	10,89	0,61	0,77	0,92
PSE karaj	16,60	13,05	11,06	0,60	0,74	0,91
PSE felsál	13,04	11,77	10,48	0,50	0,70	0,86

**XIV. táblázat:** Normál érésű és PSE-státusú sertéshúsminták spermin és spermidin tartalma

Az eredményeket összefoglalva megállapítható, hogy a biogén aminosav koncentráció a vizsgált sertéshúsmintákban alacsony volt. Szokásos hűtőtárolási körülmények között a biogén aminosav koncentrációja nem változott jelentős mértékben. Csak a tárolás 29. napjára növekedett meg a minták biogén aminosav tartalma olyan mértékben, hogy az már egészségre ártalmas lehet, de ez a változás együtt járt a hús organoleptikus tulajdonságainak romlásával is.



33. ábra: A biogén aminosav tartalom változása sertéshúsban a hűtőtárolás és a romlási folyamat során.

A második kísérletsorozatban friss és különböző ideig érlelt sertés-, marha- és vaddisznóhúsminták aminprofilját vizsgáltuk, mindhárom állatfaj esetén két-két testtájából származó mintában. Ebben az esetben a spermin, a spermidin, a tiramin, az agmatin, a triptamin, a kadaverin, a putreszcin és a hisztamin szintjét határoztuk meg. A kiválasztott minták vizsgálatával célunk volt:

- a friss sertés-, marha- és vaddisznóhús biológiailag aktív amin tartalmának összehasonlítása
- a kondicionálás alatt bekövetkező változások nyomon követése.

A mérési adatokat a **XV.**, **XVI.** és **XVII. táblázatokban** foglaltuk össze. A friss húsmintákra ebben az esetben is viszonylag alacsony biogén amin szint volt jellemző. A spermin, a spermidin és a putreszcin, mint a húsról leginkább jellemző természetes aminok minden mintában kimutathatóak voltak már a kondicionálás megkezdése előtt is. A spermidin koncentrációja a friss húsokban 2 és 3 mg/kg között volt, a spermidiné pedig állatfajtól és testtájától függően 27 és 42 mg/kg között változott. Putreszcin esetében a friss minták közül a legmagasabb értéket a vaddisznótarjában (12,26 mg/kg), a legalacsonyabbat pedig a sertésarjában (1,27 mg/kg) mutattuk ki. A friss mintákra a hisztamin jelenléte nem volt jellemző, csak a marhahúsokban volt a kimutatási határ felett, de mindössze 1mg/kg körüli koncentrációban. A friss vaddisznóhús mintákban kissé magasabb volt a tiramin, és a kadaverin mennyisége, mint a sertés- és marhahúsmintákban, a vaddisznótarja több mint 40 mg/kg kadaverint tartalmazott.

A kondicionálás során a tiramin, a putreszcin és a kadaverin szintje folyamatosan emelkedett. A kondicionálás negyedik hetében a sertés és marhahúsminták közül a legmagasabb tiramin értéket a marhabélszínben (67,8 mg/kg) a legnagyobb putreszcin koncentrációt a marhahátszínben (51,9 mg/kg), a kadaverin maximumát pedig a sertéskarajban mértük. A kondicionált vaddisznóhús mintákban ezeknek az aminoknak a szintje általában magasabb volt, a vaddisznótarjában a putreszcin és a kadaverin koncentráció már az érlelés második hetében meghaladta a 100 mg/kg-ot, a negyedik hétre pedig megközelítette a 200 mg/kg-ot.

minta	TIR (mg/kg)	PUT (mg/kg)	CAD (mg/kg)	HIST (mg/kg)	AGM (mg/kg)	SPD (mg/kg)	SPM (mg/kg)
tarja friss	10,98 ± 20,6	12,26 ± 1,73	40,85 ± 1,71	ND*	ND	2,01 ± 0,01	41,79 ± 4,46
tarja 1 hét	20,55 ± 1,88	20,54 ± 1,08	20,21 ± 3,71	1,37 ± 0,33	ND	4,14 ± 0,75	40,69 ± 1,92
tarja 2 hét	31,54 ± 10,6	103,12 ± 0,23	110,17 ± 2,79	1,71 ± 0,04	ND	2,96 ± 0,07	32,01 ± 3,21
tarja 3 hét	69,93 ± 2,64	142,92 ± 9,94	155,37 ± 8,85	2,93 ± 0,00	ND	3,30 ± 0,33	31,55 ± 2,07
tarja 4 hét	72,00 ± 4,24	171,89 ± 3,69	190,17 ± 15,04	2,68 ± 0,77	ND	3,06 ± 0,77	29,09 ± 1,71
gerinc friss	1,27 ± 0,04	1,42 ± 0,02	1,26 ± 0,05	ND	ND	2,83 ± 0,01	28,24 ± 0,29
gerinc 1 hét	66,41 ± 6,18	4,53 ± 1,80	20,26 ± 2,59	1,75 ± 0,32	ND	3,61 ± 0,43	27,82 ± 2,29
gerinc 2 hét	67,72 ± 4,99	8,11 ± 1,25	112,48 ± 7,55	2,55 ± 0,62	ND	3,30 ± 0,44	24,46 ± 0,19
gerinc 3 hét	73,11 ± 1,25	28,78 ± 3,16	129,36 ± 3,25	2,94 ± 0,39	ND	3,77 ± 0,31	21,43 ± 1,25
gerinc 4 hét	76,73 ± 1,01	72,79 ± 4,85	146,21 ± 6,73	3,15 ± 0,19	ND	3,97 ± 0,16	18,03 ± 1,73

3-3 mérés átlaga

\* ND - nem detektálható

**XV. táblázat:** Friss és érlelt vaddisznóhús minták biogén aminoszámainak tartalma

minta	TIR (mg/kg)	PUT (mg/kg)	CAD (mg/kg)	HIST (mg/kg)	AGM (mg/kg)	SPD (mg/kg)	SPM (mg/kg)
tarja friss	2,86 ± 0,97	1,27 ± 0,07	2,42 ± 0,64	ND	2,17 ± 0,43	2,78 ± 0,32	29,36 ± 1,73
tarja 1 hét	5,14 ± 0,57	19,37 ± 0,53	24,78 ± 1,04	ND	2,20 ± 0,34	2,96 ± 0,27	28,93 ± 1,33
tarja 2 hét	15,57 ± 2,75	27,56 ± 0,14	32,46 ± 1,6	ND	2,01 ± 0,26	3,10 ± 0,30	25,89 ± 5,54
tarja 3 hét	16,7 ± 4,59	32,72 ± 6,13	45,99 ± 2,29	ND	1,61 ± 0,41	2,65 ± 0,44	23,50 ± 4,55
tarja 4 hét	28,23 ± 2,80	15,63 ± 0,95	57,08 2,49	6,36 ± 1,00	1,11 ± 0,16	3,40 ± 0,14	19,41 ± 1,06
karaj friss	ND	2,52 ± 0,50	ND	ND	ND	2,15 ± 0,05	29,48 ± 1,16
karaj 1 hét	24,89 ± 1,64	10,30 ± 1,08	43,76 ± 0,57	ND	4,87 ± 7,53	1,99 ± 0,08	29,55 ± 4,39
karaj 2 hét	39,00 ± 2,27	31,59 ± 4,17	52,26 ± 8,71	ND	4,61 ± 0,49	2,18 ± 0,33	21,58 ± 1,64
karaj 3 hét	41,74 ± 1,76	37,49 ± 1,39	56,96 ± 1,93	ND	4,65 ± 0,14	2,32 ± 0,17	14,32 ± 2,71
karaj 4 hét	55,73 ± 1,88	41,85 ± 0,06	74,26 ± 0,60	ND	4,39 ± 0,51	3,69 ± 0,98	11,55 ± 0,04

3-3 mérés átlaga

\* ND - nem detektálható

**XVI. táblázat:** Friss és érlelt sertéshús minták biogén aminoszámainak tartalma

minta	TIR (mg/kg)	PUT (mg/kg)	CAD (mg/kg)	HIST (mg/kg)	AGM (mg/kg)	TRP (mg/kg)	SPD (mg/kg)	SPM (mg/kg)
bélszín friss	2,13 ± 1,11	8,15 ± 2,46	8,14 ± 2,19	1,18 ± 0,16	ND	ND	2,59 ± 0,55	27,76 ± 3,45
bélszín 1 hét	26,09 ± 0,54	17,30 ± 1,84	34,91 ± 0,21	1,45 ± 0,23	37,68 ± 1,84	0,55 ± 0,02	2,62 ± 0,20	27,22 ± 2,94
bélszín 2 hét	45,89 ± 3,71	24,75 ± 5,59	41,70 ± 2,35	1,49 ± 0,13	36,03 ± 9,30	0,69 ± 0,09	3,28 ± 0,48	23,70 ± 1,27
bélszín 3 hét	52,90 ± 2,58	31,46 ± 2,55	50,95 ± 3,66	1,61 ± 0,16	36,16 ± 3,69	3,58 ± 0,31	3,85 ± 0,13	23,25 ± 1,83
bélszín 4 hét	67,80 ± 5,17	51,91 ± 3,98	62,91 ± 4,34	1,73 ± 0,36	31,63 ± 9,21	6,93 ± 0,72	3,72 ± 0,53	18,08 ± 2,01
hátszín friss	1,59 ± 0,35	2,07 ± 0,21	1,10 ± 0,15	1,35 ± 0,49	1,37 ± 0,00	ND	2,96 ± 0,19	31,65 ± 4,51
hátszín 1 hét	18,93 ± 0,36	6,54 ± 0,67	42,67 ± 2,60	1,53 ± 0,67	45,86 ± 5,77	ND	1,37 ± 0,44	29,27 ± 1,69
hátszín 2 hét	34,59 ± 10,5	11,14 ± 1,54	42,78 ± 3,09	3,81 ± 0,30	46,27 ± 1,08	1,02 ± 0,26	1,47 ± 0,53	24,66 ± 1,09
hátszín 3 hét	41,56 ± 1,43	22,79 ± 5,65	50,91 ± 1,15	4,78 ± 0,33	45,05 ± 3,21	2,06 ± 1,23	1,68 ± 0,43	22,42 ± 6,17
hátszín 4 hét	65,18 ± 7,12	25,57 ± 4,90	66,04 ± 6,38	4,92 ± 0,11	44,66 ± 3,28	4,25 ± 0,51	1,70 ± 0,20	18,47 ± 5,60

3-3 mérés átlaga

\* ND - nem detektálható

**XVII. táblázat:** Friss és érlelt marhahús minták biogén aminosav tartalma

A vaddisznóhústól eltérően azonban sertés és marhahús mintákban az agmatin jelenlétét is ki lehetett mutatni, a sertéshúsokban viszonylag kis (5 mg/kg alatt), a marhahúsoknál viszont számottevő (40 mg/kg körüli) mennyiségben. A hisztamin mennyisége mindhárom állatfaj mintái esetében 10 mg/kg alatt maradt. A spermidin tartalom csak kis mértékben változott az érlelés alatt, minden mintában 5 mg/kg alatt maradt. A spermin pedig folyamatos csökkenést mutatott mindhárom állatfaj mintáiban, hasonlóan az előzőekben tárgyalt normál érésű és PSE-jellegű sertéshúsokhoz.

Az eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy érleléshez csak friss és kifogástalan mikrobiológiai állapotban lévő húsrészeket érdemes használni, és a tárolási időt gondosan kell megválasztani, illetve a húsok minőségét ellenőrizni kell, mivel két hétnél hosszabb idejű érlelés esetén a biogén aminoszármazékok mennyisége olyan mértékben megnövekedhet, ami az élelmiszer biztonságos fogyaszthatóságát befolyásolhatja.

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatómunkám során különböző állatfajokból származó húsminták fehérje-, valamint biogén aminosav-összetételét tanulmányoztam korszerű elektroforetikus és kromatográfiai módszerekkel.

*Különböző elektroforetikus eljárásokkal vizsgáltam a hazánkban leggyakrabban fogyasztott állatfajokból származó húsminták fehérje-összetételét a fajspecifikus fehérjemintázat meghatározása szempontjából.*

- Különböző állatfajok húsmintáinak fehérjekivonatait SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel összehasonlítva megfigyeltem, hogy csak kisebb, és elsősorban mennyiségi jellegű eltérések mutathatók ki az egyes fehérjefrakciókra nézve, így az izomfehérjék molekulatömeg szerinti megoszlásának vizsgálata nem tette lehetővé a húsminták egyértelmű azonosítását.

- Immunblott vizsgálatokat végeztem egyes húsfelhárjék ellen nyúlban kifejlesztett antitestet tartalmazó szérumok felhasználásával, és megállapítottam, hogy míg az anti-sertés mioglobinnal végzett immunfestés esetén a marhahús erős keresztreakciót adott, a sertés albumin ellen kifejlesztett szérum használata esetén a sertéshús és a vaddisznóhús egyértelműen elkülöníthető a többi vizsgált állatfajtól.

- A nyers húsminták izoelektromos fókuszálását követő pszeudoperoxidáz festéssel meghatároztam az egyes fajok mioglobin mintázatát. A rendszertanilag igen közel álló fajok (pl. kacska és liba vagy sertés és vaddisznó) esetén nagyon hasonló mintázatokat kaptam, de ha a fő mioglobinsávok egybe is estek, a mellékfrakciók eltérő eloszlása lehetővé tette az azonosítást. Sertéshús, marhahús és vaddisznóhús esetén kimutattam, hogy a fagyasztás valamint a speciális érlelőtartályban több hétig tartó kondicionálás nem befolyásolja számottevően a mioglobin mintázatot. Megfigyeltem az irodalmi állításokkal megegyezően, hogy hústermékeknel a mioglobin mintázat alapján való eredet meghatározás alkalmazhatóságának a hőkezelés mértéke határt szab: kolbászfélék kivonataiban intenzíven festődő sávok mutathatók ki, a vörösáruk elektroforetogramjai már nem minden esetben értékelhetők egyértelműen, konzervek esetén pedig a húsok eredetének meghatározása mioglobin mintázat alapján nem volt lehetséges.



- A feroin reakción alapuló „vas festést”, amit korábban egyes élelmiszerek, pl. víz vagy bor vastartalmának kimutatására, illetve natív poliakrilamid gélben elválasztott nem hem vasat tartalmazó fehérjék jelzésére használtak, a húsfhérjék esetén az izoelektromos fókuszálást követően alkalmaztam. Megállapítottam, hogy ezzel a módszerrel lehetővé válik a nem hem vasat tartalmazó fehérjefrakciók specifikus kimutatása húsokban, vagy más élelmiszermintákban. Ennek az eljárásnak a húsokon kívül a nem hem vasat nagyobb mennyiségben tartalmazó máj, és belőle készült termékek vizsgálatában is jelentősége lehet.

*Tanulmányoztam az állattartási mód és egyes élelmiszertechnológiai tényezők hatását az izomfehérjékre.*

- Az állattartási mód hatását vizsgálva a sertéshúsfhérjékre, eltérést mutattam ki a mioglobinnel mintázott az organikus és a nagyüzemi módon tartott állatokból származó minták között. A pszeudoperoxidáz festéssel jelzett mioglobinfrakciók összingentitása az organikus módon tartott állatok húsmintáiban magasabb volt, és a két fő mioglobinfrakció csúcsterületének egymáshoz viszonyított aránya eltért: a 6,5 és 6,0 izoelektromos pontú frakciók aránya a vizsgált organikus húsmintákban átlagosan 47:53, a kontroll (nagyüzemi) mintákban pedig 66:34.

- A kondicionálás alatt a miofibrilláris fehérjékben bekövetkező változásokat SDS-poliakrilamid gélelektroforézissel tanulmányoztam sertés, marha és vaddisznó modellminták felhasználásával. Az elektroforetogramokat videodenzitométerrel kiértékelve az irodalmi állításokkal egyezően megfigyeltem a troponin-T frakció bomlását a háromhetes kondicionálási folyamat során. A degradációs termékek létrejöttét troponin elleni antitestet tartalmazó nyúlserum felhasználásával végzett immunoelektroforetikus vizsgálatokkal igazoltam.

- A  $\gamma$ -besugárzás és hőkezelés hatásának vizsgálatok a besugárzott (0-25 kGy) sertéscsomb minták mioglobinnel mintázottában a sávok intenzitásának a hőkezeltekhez (50-121 °C) képest kisebb mértékű csökkenését, valamint a 6,5 izoelektromos pont fölötti és a 6,0 izoelektromos pont alatti tartományban újabb peroxidáz aktivitással rendelkező frakciók megjelenését mutattam ki.

*Hústermékek és néhány más élelmiszer potenciális allergén jellegét vizsgáltam tehéntej illetve szójafehérje allergia szempontjából (in vitro) immunblott módszerrel.*

Kimutattam egyes hazai hústermékek esetén a szója, illetve tejfehérje adalékanyag jelenlétét immunblott eljárással. Tejet adó állatok húásával néhány esetben - a korábbi irodalmi megfigyelésekhez hasonlóan - keresztreakciót mutattam ki tejfehérje pozitív humán szérumot alkalmazva.

*Vizsgálatokat végeztem nyers húsminták biogén aminoszámainak összetételére vonatkozóan.*

- Megfigyeltem, hogy a vizsgált PSE-jellegű sertéskaraj és –felsál mintákban a biogén aminoszámainak koncentrációja (a felsál minták esetén szignifikánsan) alacsonyabb, mint a normális érésű húsmintákban.

- A friss sertés-, marha- és vaddisznóhús minták biogén aminoszámainak profilját összehasonlítva, a vaddisznóhúsban számottevően magasabb tiramin és kadaverin szintet mutattam ki.

- Vizsgálataim igazolták, a húsminták speciális érlelőtartályban 2 °C-on történő kondicionálása során a tiramin, a putreszcin és a kadaverin szintjének folyamatos emelkedését. A vaddisznótarjában a putreszcin és a kadaverin koncentráció már az érlelés második hetében meghaladta a 100 mg/kg-ot, a hisztamin mennyisége azonban az érlelés négy hetében mindhárom állatfaj (sertés, marha, vaddisznó) mintái esetében 10 mg/kg alatt maradt.

Kísérleteim során a teljesértékű táplálkozásban kiemelkedő jelentőségű húsok illetve hústermékek néhány olyan jellemzőjét tanulmányoztam, amelyek a húsminőséggel és a biztonságos táplálkozással is összefüggésben vannak. Vizsgáltam az izomfehérjékben és a húsminták biogén aminoszámainak profiljában bekövetkező változásokat néhány, az élelmiszeriparban alkalmazott kezelés hatására, így az eredmények az élelmiszer-előállítási gyakorlat számára is hasznosak lehetnek, és jelentős a szerepük az egészség megőrző táplálkozás és a minőség szempontjából.

## **7. SUMMARY**

### **Changes of proteins and biogenic amines in meat and meat products**

#### **Electrophoretic methods for determination of meat samples originated from different animal species:**

\* Electrophoretic and immunoblotting separation using rabbit anti-pork serum albumin as antibody, showed definite differences between the samples of wildboar and pork meat and the meat samples originated from other species, from beef, rabbit, chicken, turkey, duck, goose.

\* Pseudoperoxidase staining of myoglobin fractions separated from sarcoplasmic proteins by isoelectric focusing, gave significant differences between the meat samples of different species even in the case of samples of nearly related species. However, this method is suitable for identification of species only in the case of samples without heat treatments.

\* Our results established that the non-heme iron proteins are well detectable by using of bathophenanthroline disulphonate after isoelectric focusing.

#### **Differences in the electrophoretic patterns of soluble pork proteins as a consequence of pig rearing conditions, irradiation, heat treatment and conditioning processes:**

\* Rigorous rearing conditions has raised the emphasis on meat quality problems. The meat of the pigs kept in a natural farming system called organic meat. Different muscles of pigs kept under natural circumstances and under traditional conditions were compared using SDS polyacrylamide gel electrophoresis and isoelectric

focusing. The mioglobin pattern of the organic and control meat samples were different, the total intensity of the mioglobin zones was significantly higher in the case of the organic samples. The ratio of the two main mioglobin fractions (pI: 6.5 and pI: 6.0) of pork samples was 47 : 53 in the case of the organic samples, and 66 : 34 in the case of the control group.

\* The  $\gamma$ -irradiated (1- 25 kGy) samples of pork meat showed lower decrease in the total intensity of mioglobin zones stained for pseudoperoxidase activity than that of the heat treated (50-121 ° C) samples of pork meat.

\* The changes in the miofibrillar proteins during the conditioning process were investigated by SDS polyacrylamide gel electrophoresis and evaluated by a Videodensitometer. There were significant differences in the degree of the decreasing of troponin T in the different extracts originated from pork, beef and wildboar meats. The degradation of troponin T was monitored by immunoelectrophoretic methods using anti troponin antibody developed in rabbit.

#### **Cross-reactivity of meat products in cow's milk allergy:**

\* Although meat allergy has been considered as a rare pathology, it could not be ignored due to its nutritional and functional importance. However, a major problem has been for the patients suffering from food protein allergies, the presence of milk-, egg-, or soybean proteins as additives in the meat products and the possibility of cross-allergy against beef (in the case of milk allergy) or poultry (in the case of egg allergy) meat.

- *In vitro* cross-reactivity between sera of patients suffering from cow's milk allergy and different meat products were examined by electrophoretic and immunanalytical methods. Among the meat samples tested, beef showed moderate cross-reactivity.

### **Changes in biogenic amine content in meat samples during storage and tenderisation:**

\* Biogenic amines can occur as a result of bacterial growth and metabolism in meat and are thus indicators of the extent of spoilage. The aim of this study was to provide quantitative data of biogenic amine content in fresh meat, to compare the biogenic amine content of normal and PSE meat samples, and to investigate the formation of biogenic amines during refrigeration, tenderisation process and spoilage.

\* The meat samples investigated were in general poor in biogenic amines, with only spermidine and spermine just at detectable levels. Normal pork meat samples contained more biogenic amines than PSE-pork meat, but the differences were not significant. Significant differences were found between *Longissimus dorsi* and *Musculus semimembranosus* muscles.

\* The level of biogenic amines harmful to health was found only after several weeks of storage. Histamine appeared in detectable amounts only after 20 days, by which time the meat samples were spoiled.

\* The influence of meat tenderisation process on the formation of biogenic amines was significant. The level of tyramine, putrescine and cadaverine in the fresh wild boar samples was slightly higher than those of pork and beef samples. It was found, that during the tenderisation process the content of tyramine, putrescine and cadaverine increased continuously, and in some cases approached or exceeded the 100 mg/kg level. The content of histamine was in all cases below 10 mg/kg. Spermidine and spermine are always present in the raw meat samples at a relatively constant level and during the tenderisation the content of spermine decreased slightly. These results might be useful in the technology of ageing of the meat.

## Függelék

	Norm karaj	PSE felsől	PSE karaj	Norm felsől	Norm karaj	PSE felsől	PSE karaj	Norm felsől
<b>1. nap</b>	0,69	0,46	0,66	0,56	0,75	0,9	0,75	0,77
	0,58	0,39	0,54	0,65	0,77	0,7	0,68	0,67
	0,77	0,52	0,51	0,59	0,81	0,67	0,65	0,65
	0,73	0,64	0,59	0,66	0,69	0,66	0,77	0,8
	0,67	0,48	0,64	0,54	0,78	0,71	0,77	0,89
	0,74	0,45	0,62	0,6	0,85	0,76	0,7	1,06
	0,75	0,5	0,58	0,63	0,69	0,69	0,65	0,69
	0,77	0,55	0,6	0,55	0,79	0,66	0,81	0,71
	0,74	0,49	0,62	0,7	0,66	0,68	0,79	0,74
	0,76	0,52	0,64	0,63	0,8	0,57	0,82	0,72
<b>átlag</b>	<b>0,72</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,611</b>	<b>0,759</b>	<b>0,7</b>	<b>0,739</b>	<b>0,77</b>
<b>szórás</b>	<b>0,059067</b>	<b>0,066332</b>	<b>0,046904</b>	<b>0,052164</b>	<b>0,061001</b>	<b>0,085114</b>	<b>0,064196</b>	<b>0,123468</b>

	Norm karaj	PSE felsől	PSE karaj	Norm felsől
<b>7. nap</b>	0,95	0,9	0,95	0,88
	0,82	0,85	1,21	0,96
	0,86	0,88	0,85	0,78
	0,9	0,92	0,79	0,77
	0,84	0,78	0,88	0,96
	0,98	0,85	0,92	1,03
	1,06	0,8	0,9	0,99
	0,96	0,93	0,82	0,84
	1,1	0,84	0,86	1,05
	0,86	0,84	0,95	0,97
<b>átlag</b>	<b>0,933</b>	<b>0,859</b>	<b>0,913</b>	<b>0,923</b>
<b>szórás</b>	<b>0,094522</b>	<b>0,048865</b>	<b>0,116814</b>	<b>0,099783</b>

### Varianciaanalízis Spermidin 1. nap

#### ÖSSZESÍTÉS

Csoportok	Darabszám	Összeg	Átlag	Variancia
Norm karaj	10	7,2	0,72	0,003489
PSE felsől	10	5	0,5	0,0044
PSE karaj	10	6	0,6	0,0022
Norm felsől	10	6,11	0,611	0,002721

#### VARIANCIANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Csoportok	0,242808	3	0,080936	25,2727	5,63E-09	2,866265
Csoporton	0,11529	36	0,003203			

Összesen 0,358098 39

**SZD = 0,0256**

<b>1. nap</b>	Norm karaj	PSE felsál	PSE karaj	Norm felsál
	16,18	12,32	16,99	15,76
	17,56	13,86	16,96	16,94
	17,92	12,1	17,82	15,06
	15,58	13,98	17,8	15,62
	16,36	12,48	17,9	14,88
	17,91	12,15	15,09	16,71
	18,26	14,02	16,96	16,1
	15,37	13,2	14,8	14,66
	17	12	15,52	17,06
	18,01	14,3	16,2	15,64
<b>átlag</b>	<b>17,015</b>	<b>13,041</b>	<b>16,604</b>	<b>15,843</b>
<b>szórás</b>	<b>1,072321</b>	<b>0,926096</b>	<b>1,148721</b>	<b>0,852448</b>

<b>3. nap</b>	Norm karaj	PSE felsál	PSE karaj	Norm felsál
	13,5	12,06	14,02	13,85
	14,6	12,65	13,86	14,01
	11,26	11,33	14,25	12,56
	12,8	13,12	13,02	12,11
	14,55	11,45	12,32	11,98
	11,02	12,52	11,69	13,66
	15,03	10,29	12,42	12,36
	11,11	11,32	13,25	12,78
	10,98	10,95	12,4	13,54
	12,41	12,06	13,24	11,63
<b>átlag</b>	<b>12,726</b>	<b>11,775</b>	<b>13,047</b>	<b>12,848</b>
<b>szórás</b>	<b>1,618341</b>	<b>0,862081</b>	<b>0,837709</b>	<b>0,856333</b>

<b>7. nap</b>	Norm karaj	PSE felsál	PSE karaj	Norm felsál
	12,5	11	12,35	11,54
	12,9	11,32	11,41	12
	10,35	9,65	11,98	10,63
	11,05	11,47	10,2	10,04
	11,59	11,96	9,85	9,74
	12,87	10,25	10,03	11,32
	9,98	9,25	11,21	10,2
	12,21	10,1	11	11,34
	9,65	8,86	10,47	12,65
	11,54	10,95	12,09	9,42
<b>átlag</b>	<b>11,464</b>	<b>10,481</b>	<b>11,059</b>	<b>10,888</b>
<b>szórás</b>	<b>1,183011</b>	<b>1,021485</b>	<b>0,902631</b>	<b>1,048234</b>

#### Varianciaanalízis SPERMIN 1. nap

##### ÖSSZESÍTÉS

Csoportok	Darabszám	Összeg	Átlag	Variancia
Norm karaj	10	170,15	17,015	1,1498722
PSE felsál	10	130,41	13,041	0,8576544
PSE karaj	10	166,04	16,604	1,31956
Norm felsál	10	158,43	15,843	0,7266678

##### VARIANCIAANALÍZIS

Tényezők	SS	df	MS	F	p-érték	F krit.
Csoportok k	96,151187	3	32,050396	<b>31,625394</b>	3,415E-10	<b>2,8662654</b>
Csoporton t	36,48379	36	1,0134386			

Összesen 132,63498 39

**SZD = 0,455**

## **RÖVIDÍTÉSEK:**

AGM – agmatin

CAD – kadaverin

CTAB – N-cetil-N,N,N-trimetilammóniumbromid

DNS – dezoxiribonukleinsav

DOPA – dopamin

ELISA – (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) szilárfázisú enzimjelzéses immunmódszer

$\beta$ -FEN –  $\beta$ -feniletilamin

FPLC – (Fast Protein Liquid Chromatography) folyadékkromatográfia fehérjék gyors elválasztására

GC-MS – (Gas Chromatography Mass Spectroscopy) gázkromatográfia – tömegspektrometria

HIS – hisztamin

HPLC – (High Pressure Liquid Chromatography) nagynyomású folyadékkromatográfia

IEF – izoelektromos fókuszálás

IgG – immunglobulin G

LMW – (low molecular weight) alacsony molekulatömeg

ND – nem detektálható

OCT – oktopamin

pI – izoelektromos pont

PAGE – poliakrilamid-gélelektroforézis

PCR – (polymerase chain reaction) polimeráz láncreakció

PSE – (pale, soft, exudative) halvány, puha, vizenyős

PUT – putreszcin

RAPD-PCR – (random amplified polymorphic DNA fingerprint) véletlenszerűen felerősített polimorfikus DNS mintázat

RNS – ribonukleinsav

SDS – (sodium dodecyl sulfate) nátrium-dodecil-szulfát

SER – szerotonin

SPD – spermidin

SPM – spermin

SZD – szignifikáns differencia

TEMED – N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin

TIR – tiramin

TRIS – trisz-(hidroximetil)-amino-metán

TRP – triptamin



## IRODALOMJEGYZÉK

- AALBERSE, R. C. (1995)  
Physicochemical Characteristic of food allergens  
in: WECK, A., SAMPSON, H. (eds) Intestinal immunology and food allergy  
Raven Press, Ltd, New York, pp 47-51
- AAS, K. (1988)  
The biochemistry of food allergens  
in: REINHARD, D., SCHMIDT, E. (eds.) Food allergy  
Raven Press, Ltd, New York, Vol. 17. pp 1-15
- ABADOUCHE, I., AFILAL, M. E., BENABDELJELIL, H. & FUSTA, F. F. (1991)  
Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines in sardine (*Sardina pilchardus*) stored at ambient temperature (25-28 °C) and in ice  
Int. J. Food Sci. Technol. 26, 297-306
- ABRAHAM, J. & VARADARAJULU, P. (1993)  
Species identification and detection of adulteration level in cooked meat using agarose isoelectric focusing  
Indian J. Anim. Sci. 63, 212-216
- ADAGONDA, T. S., JAYAKUMAR, B. K., BHUSHAN, M. J. & SHREEKUMAR, R. P. (1988)  
Use of species-specific antisera to adrenal heat-stable antigens for the identification of raw and cooked meats by agar gel diffusion and counter immunoelectrophoretic techniques  
J. Sci. Food Agric. 44, 63-73
- ALARCON-ROJO, A.D. (1995)  
Alteration of post-mortem ageing in beef by the addition of enzyme inhibitors and activators  
Meat Sci. 41. 163-178.
- ALARCON –ROJO, A., GELENCSEK É., POLGÁR, M., SZERDAHELYI, E. & HAJÓS, GY. (1997)  
Selected groups of meat and meat products in case of protein allergy  
ICACI XVI Mexico '97 Cancun  
Abstract book p. 254
- ANET, J., BACK, J. F., BAKER, R. F., BARNET, D., BURLEY, R. W. & HOWDEN, M. E. H. (1985)  
Allergens in the white and yolk of hen's egg  
Int Arch. Allergy Appl. Immunol. 77,364-371

- ANTAL, M. (1994)  
Táplálékallergének, táplálékagglutininek  
in: NÉKÁM, K., SZEMERE, P. (eds) Táplálkozási allergiák  
Springer Hungarica Kft. Budapest, pp159-163
- ASHIE, I. N. A. & SIMPSON, B. K. (1997)  
Proteolysis in food myosystems  
J. of Food Biochem. 21, 91-115
- AUGUSTINI, C. & FREUDENREICH, P. (1998)  
Reifungsdauer und Zartheit bei Rindfleisch  
Fleischwirtschaft 78, (11) 65-67
- AYHAN, K., KOLSARICI, N. & OZKAN, G. A. (1999)  
The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in  
Turkish soudjoucks  
Meat Sci. 53, 183-188
- AYOB, M. K., RAGAB, A. A., ALLEN, J. C., FARAG, R. S. & SMITH,  
C. J. (1989)  
An improved, rapid, ELISA technique for detection of pork in meat  
products  
J. Sci. Food Agric. 49, 103-116
- BAIR, H. (1997)  
Nahrungsmittelaallergien  
Ernährung 20,486-488
- BÁNYAINÉ, S.J. & PERZELNÉ, Z. M. (1983)  
Tartósított termékek statisztikai minőségellenőrzése  
Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- BARÁTH, Á., HALÁSZ, A., DARWISH, S. M. & HOLZAPFEL, W. H.  
(1991)  
Tejsavbaktériumok biogén aminoszámainak termelésének vizsgálata  
Élelmezési Ipar 45, 286-291
- BARDOCZ, S. (1995)  
Polyamines in food and their consequences for quality and human health  
Trends Food Sci. Technol. 6, 341-346
- BARDOCZ, S., DUGUID, T. J., BROWN, D. S., GRANT, G., PUSZTAI,  
A., WHITE, A. & RALPH, A. (1995)  
The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth  
British Journal of Nutrition 73, 819-828

BARDOCZ, S., GRANT, G., BROWN, D. S., RALPH, A. & PUSZTAI, A. (1993)

Poliamines in food – implications for growth and health  
J. Nutr. Biochem. 4, 66-71

BARNA, M. (1999)

A hús jelentősége a gyermekek táplálkozásában  
A HÚS 10, 13-15

BAUDNER, S. & DREHER, R. M. (1991)

Immunochemische Methoden in der Lebensmittelanalytik  
Lebensmittelchemie 45, 53-69

BAUER, F. (1990)

Elektrophoretische Tierartenidentifizierung bei rohem und erhitztem Fleisch.  
Ernährung 14, 357-361

BAUER, F. & HOFMANN, K. (1987)

Empfindlicher elektrophoretischer Nachweis von Schweinefleisch in erhitzten Rindfleisch / Schweinefleisch-Mischungen  
Fleischwirtschaft 67, 1141-1144

BAUER, F. & HOFMANN, K. (1987)

Meat species identification: ultrathinlayer isoelectric focusing and myoglobin visualization by peroxidase staining  
In: BALTES, W. (ed.): Rapid analysis in food processing and food control. Vol. II. 347-351

BAUER, F. & HOFMANN, K. (1987)

Elektrophoretische Tierartbestimmung – Steigerung der Empfindlichkeit durch Peroxidasefärbung der Myoglobine  
Fleischwirtschaft 67, 861-867

BAUER, F. & HOFMANN, K. (1987)

Application of the myoglobin method for the identification of meat species in heated materials  
Proc. 33<sup>rd</sup> Congress of Meat Science & Technology, Helsinki Vol.II. 364-367

BAUER, F. & HOFMANN, K. (1989)

Elektrophoretische Tierartidentifizierung bei erhitztem Fleisch und Fleischerzeugnissen  
Fleischwirtschaft 69, (3) 419-422

BAUER, F. & HOFMANN, K. (1990)

Einfluß des Erhitzens auf die Löslichkeit und das Elektrophoreseverhalten der Sarcoplasmproteine von Rind- und Schweinefleisch

- Z. Lebensm. Unters. Forsch. 190, 223-227  
BAUER, F., LORENZ, S., & HILBERT, F. (1993)  
Species identification in fermented meat products  
In: BARBER, B., COLAR, C., MARTINEZ-ANAYA, M.A., & MORELL, J.(eds.):  
Progress in food fermentation Vol.II. 429-434
- BAUER, F. & RIPPEL-RACHLÉ, B. (1998)  
Tierartidentifizierung bei Fleisch und Fleischwaren  
Wien. Tierärztl. Mschr. 85, 260-266
- BEHRENS, M., UNTHAN, M., BRINKMANN, Y., BUCHHOLZ, P. & LATUS, N. (1999)  
Identification of animal species in heated and complex meat products using species specific PCR reactions  
Fleischwirtsch. 79, 97-100
- BILLET, E.E., BEVAN, R., SCANLON, B., PICKERING, K., & GIBBONS, B. (1996)  
The use of a poultry-specific murine monoclonal antibody directed to the insoluble muscle protein desmin in meat speciation  
J. Sci. Fd. Agric. 70, 396-404
- BÍRÓ, GY. (2000)  
A hús az emberi nem táplálkozásának történetében, a múlt tényei, a jelenlegi ajánlások és perspektívák  
A HÚS 10, 10-12
- BLADES, M. (1997)  
Food allergies and intolerances: an update  
Nutr. And Food Sci. 4/5, 146-151
- BOVER-CID, S., SCHOPPEN, S., IZQUIERDO-PULIDO, M. & VIDAL-CAROU, M. C. (1999)  
Relationship between biogenic amine contents and the size of dry fermented sausages  
Meat Sci. 51, 305-311
- BRANSCHIED, W., BEIMDICK, E. & SOENNICHSEN, M. (1999)  
Quality meat programs for beef  
Fleischwirtschaft 79, 79-82
- BRAUNER-GLAESNER, G. & RISTOW, R. (1990)  
Fleischfremde proteine  
Fleischwirtschaft 70, 824-828

BRINK, B., Damink, C., Joosten, H. M. L. J., & HUIS VELD, J. H. J. (1990)

Occurrence and formation of biologically active amines in foods  
Int. J. Food Microbiol. 11, 73-84

BUTTURINI, A., ALOIN, P., TAGLIAZUCCHI, R. & CANTONI, C. (1995)

Production of biogenic amines by enterobacteria and lactic acid bacteria isolated from meat products  
Ind. Aliment. 34, 105-107

CANTONI, C. (1995)

Amines in Italian meat products  
Ind. Aliment. 34, 9-12

CARNAGIE, P. R. & ILLIC, M. Z. (1983)

Improved HPLC method for analysis of histidine dipeptides anserine, balenone and carnosine in skeletal muscle  
J. of the Sci. of Food and Agric. 45, 69-78

CARTER, C. (1995)

Dietary treatment of food allergy and intolerance  
Clinical and Experimental Allergy 25, 34-42

CATTANEO, T. M. P., FEROLDI, A., TOPPINO, P. M. & OLIEMAN C. (1994)

Sample preparation for selective and sensitive detection of soya proteins in dairy products with chromatographic and electrophoretic techniques  
Netherlands Milk & Dairy J. 48, 225-234

CERDA, H. (1998)

Detection of irradiated fresh chicken, pork and fish using the DNA comet assay  
Lebensm. Wiss. und Techn. 31, 89-92

CERDA, H. & KOPPEN, G. (1998)

DNA degradation in chilled fresh chicken studied with the neutral comet assay  
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 207, 22-25

CERDA, H., DELINCÉE, H., HAINE, H. & RUPP, H. (1997)

The DNA "comet assay" as a rapid screening technique to control irradiated food  
Mutation Research 375, 161-181

CHATEL, A. & WAL, J. M. (1999)

Immunological IgE cross reaction of bovine and human  $\alpha$ -lactalbumins in cow's milk allergic patients  
Food and Agric. Immunol. 11, 179-190

- CHENG, H.W., & SMITH, D.M. (1995)  
Lactate dehydrogenase monoclonal antibody immunoassay for detection of turkey meat in beef and pork  
J. Food Sci. 60, 253-256
- CHUKINI, K., TABATA, T., KOSUGIYAMA, M., & MONMA, M., (1994)  
Polymerase chain reaction assay for detection of sheep and goat meats  
Meat Sci. 37, 337-345
- CLAEYS, E., UYTTERHAGEN, L., BUTS B. D. & DEMEYER (1995)  
Quantification of beef miofibrillar proteins by SDS-PAGE.  
Meat Sci. 39, 117-193
- COLOMBO, F., VIACAVA. R., SACHELLI, D., COLOMBO, M. & CAMISCASA, S. (1998)  
Differentiation of the ostrich (*Struthio camelus*) and emu (*Dromaius novaehollandiae*) species by polymerase chain reaction.  
Industrie Alimentari 37, 618-619
- COTA-RIVAS, M., & VALLEJO-CORDOBA B. (1997)  
Capillary electrophoresis for meat species differentiation  
J. Cap. Elec. 4, 195-199
- CRAIG, J., BOWERS, J. A. & SEIB, P. (1991)  
Sodium tripolyphosphate and sodium ascorbate monophosphate as inhibitors of off-flavor development in cooked, vacuum-packaged, frozen turkey  
J. of Food Sci. 56, 1529-1531
- CUTRUFELLI, M.E., MAGEAU, R. P., SCHWAB, B. & JOHNSTON, R.W. (1989)  
Development of serological ovine field test (SOFT) by modified agar gel diffusion  
J. AOAC 72, 60-61
- CSAPÓ I., KÖRMENDI L. & MIHÁLYI GY. (1992)  
"Hús és egészség"  
*Az Országos Húsipari Kutatóintézet Kiadványa, Budapest*
- DEIBEL, K., TRAUTMAN, T., DeBOOM, T., SVEUM, W. H., DUNAIF, G., SCOTT, V. N. & BERNARD, D. T. (1997)  
A comprehensive approach to reducing the risk of allergens in foods  
J. of Food Protection 60, 436-441

DEMEULEMESTER, C., LAJON, A., ABRAMOWSKI, V., MARTIN, J. L. & DURAND, P. (1991)

Improved ELISA and dot-blot methods for the detection of whey proteins in meat products

J. Sci. Food Agric. 325-333

DEMEULEMESTER, C., PELTRE, G., LAURENT, M., PANHELEUX, D. & DAVID, B. (1987)

Cyanogen bromide activated nitrocellulose membranes: a new tool for immunoprint techniques

Electrophoresis 8, 71-73

DESVAux, F. X., DAVID, B. & PELTRE, G. (1990)

Multiple successive immunoprinting: a fast blotting technique of a single agarose isoelectric focusing gel

Electrophoresis 11, 37-41

DI LISA, F. R., DE TULIO, F., SALAMINO, R., BARBATO, E., MELLONI, N., SILIPRANDI, S., SCHIAFFINO, S. & PONTREMOLI, S. (1995)

Specific degradation of troponin T and I by  $\mu$ -calpain and its modulation by substrate phosphorylation

Biochem. J. 308, 57-61

DOUMIT, M. E. & KOOHMARAIE (1999)

Immunoblot analysis of calpastatin degradation: evidence for cleavage by calpain in postmortem muscle

J. Anim. Sci. 77, 1467-1473

DWORSCHÁK, E., BARNA, É., CZUCZY, P., GERELY, A., HÓVÁRI, J., KALTENECKER, J., KONTRASZTI, M., LUGASI, A., NESZLÉNYI, K. & RADNÓTI, L. (1995)

Comparison of some components from pigs of different body mass kept in natural conditions

Acta Alimentaria 24, 191-201

EBBEHŘJ, K. F. & THOMSEN, P. D. (1995)

Species differentiation of heated meat products by DNA hybridisation

Meat Sci. 30, 221-234

EBBEHŘJ, K. F. & THOMSEN, P. D. (1995)

Differentiation of closely related species by DNA hybridisation

Meat Sci. 30, 359-366

- EDWARDS, A. M. (1995)  
Food allergy and intolerance  
Clinical and Experimental Allergy 25, 16-19
- ELLIS, M., McKEITH, F. K. & MILLER, K. D. (1999)  
The effects of genetic and nutritional factors on pork quality  
Asian-Australian J. of Animal Sci. 12, 261-270
- ELSAYED, S., APOLD, J., KOLEN, E., VIK, H., FLORVAAG, E. & DYBENDAL, T. (1991)  
The structural requirements of epitopes with IgE binding capacity demonstrated by three major allergens from fish, egg and tree pollen  
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 51, 17-31
- ETTER, R., DIETRICH, S. & BATTAGLIA (1990)  
Bestimmung von biogenen Aminen in Lebensmitteln  
Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 81, 106-119
- FARKAS, SZ. & HAJÓS, GY. (1998)  
Monitoring of biologically active amines in cereals and cereal based food products by HPLC  
Chromatographia 48, 37-42
- FEIGL, E. (1990)  
Elektrophoretischer Sojanachweis inBrühwürsten. Verwendung käuflicher SDS-haltiger Gelplatten und einer Apparatur für isoelektrische Fokussierung  
Fleischwirtschaft 70, 702-703
- FIEDLER, I., ENDER, K., WICKE, M., MAAK, S., LENGERKEN, G. & MEYER, W. (1999)  
Structural and functional characteristics of muscle fibres in pigs with different malignant hyperthermia susceptibility (MHS) and different meat quality  
Meat Sci. 53, 9-15
- FRÉMONT, S., KANNY, G., Bieber, S., NICOLAS, J. P. & MONERET-VAUTRIN, D. A. (1996)  
Identification of a masked allergen,  $\alpha$ -lactalbumin, in baby food cereal flour guaranteed free of cow's milk protein  
Allergy 51, 749-754
- GALLARDO, J. M., SOTELO, G., PIÑERIO, C. & PÉREZ-MARTIN, R., I. (1995)  
Use of capillary zone electrophoresis for fish species identification. Differentiation of flatfish species  
J. Agric. Food Chem. 43, 1238-1244



- GARCÍA, I., DÍEZ, V. & ZUMALACÁRREGUI, J. M. (1997)  
Changes in proteins during the ripening of Spanish dried beef "cecina"  
Meat Sci. 46 (4) 379-385
- GARCÍA, T., MARTIN, R., MORALES, P., HAZA, A. I., ANGUITA, G.,  
GONZALEZ, I., SANZ, B. & HERNANDEZ, P. E. (1994)  
Production of a horse specific monoclonal antibody and detection of horse  
meat in raw mixtures by an indirect ELISA  
J. Sci. Fd. Agric. 66, 411-415
- GEILESKEY, A., KING, R. D., CORTE, D., PINTO, P. & LEWARD, D.  
A. (1998)  
The kinetics of cooked meat haemprotein formation in meat and model  
systems  
Meat Sci. 48 (3/4) 189-199
- GELENCSÉR, É., POLGÁR, M., SZERDAHELYI, E. & HAJÓS, GY.  
(1997)  
Screening individuals for cross-reactivity of selected food groups in case of  
cow's milk and egg white allergy  
ICACI XVI Mexico '97 Cancun  
Abstract book pp. 255
- GERN, J. E., YANG, E., EVRARD, H. E. & SAMPSON, H. A. (1991)  
Allergic reactions to milk contaminated "nondairy" products  
N. Engl. J. Med. 324, 976-979
- GIDDINGS, G. G. & MARKAKIS, P. (1972)  
Characterization of the red pigments produced from ferrymyoglobin by  
ionizing radiation  
J. Food Sci. 37, 361-366
- GIL, M., HORTÓS, M. & SÁRRAGA, C. (1998)  
Calpain and cathepsin activities, and protein extractability during ageing of  
*longissimus* porcine muscle from normal and PSE meat  
Food Chem. 63, 385-390
- GILES, B. G. (1962)  
Species differences observed in the sarcoplasmic proteins of mammalian  
muscle  
J. Sci. Food Agric. 13, 264-268
- GOODWIN, P. (1992)  
Immunoassay methods for animal specification  
In: Food safety and quality assurance: applications of immunoassay  
systems  
Eds.: MORGAN, M. R. A., SMITH, C, J. & WILLIAMS, P. A.  
Elsevier, London, 33-39

- GRIOT, B. (1998)  
'Organic' pork production. Drawing up references  
Viandes et Produits Carnes 19, 203-210
- HAJÓS, GY. (1993)  
Elektroforézis és alkalmazása az élelmiszerfehérjék elválasztásában  
Élelmiszervizsgálati Közlemények 39, 7-25
- HAJÓS, GY. (1996)  
Enzymatic modification as a tool for alteration of safety and quality of food proteins  
in: Surface activity of food proteins  
Ed: MAGDASSI, S.  
Marcel Dekker Inc. New York, 131-180
- HAJÓS, GY. (2000)  
A húsfehérjék humánbiológiai megítélése.  
A HÚS 10, 16-18
- HAJÓS, GY., MÁTRAI, B., SZERDAHELYI, E. & ÖRSI, F. (1995)  
Differences in the electrophoretic patterns of soluble pork proteins as a consequence of the rearing conditions  
Meat Sci. 41, 78-81
- HAJÓS, GY., SZERDAHELYI, E., GELENCSÉR, É. & POLGÁR, M. (1997)  
Cross-reactivity in cow's milk allergy  
ICACI XVI Mexico '97 Cancun  
Abstract book p. 254
- HAJÓS, GY., SZERDAHELYI, E., GELENCSÉR, É. & POLGÁR, M. (1997)  
Antigenic character and protein structure  
Acta Alimentaria 26, 294-295
- HALÁSZ, A. & BARÁTH, Á. (1998)  
Biogenic amines the chemical compounds as special biological activity  
in: COST 917 Biologically active amines in food Vol. II. 1-7  
Official publications of the European Communities  
Eds.: Bardocz, S., White, A. & Hajós Gy.
- HALÁSZ, A., BARÁTH, Á., SIMON-SARKADI, L. & HOLZAPFEL W. (1994)  
Biogenic amines and their production by microorganisms in food  
Trends in Food Science & Technology 5, 42-49
- HAMM, R., RÖBLER, I. & HOFMANN, K. (1979)  
Veränderungen der Muskelproteinen bei der Behandlung von Rind- und Schweinefleisch mit energiereichen Strahlen

- Fleischwirtschaft 59, (7) 989-997  
HANLEY, J. J. (1997)  
Allergy attack  
Food processing 58, 79-82
- HARBOE, N. & INGRID, A. (1973)  
Immunization, isolation of immunoglobulins, estimation of antibody titre  
Scand. J. Immunol. (Suppl.1), 161-164
- HARKAINÉ VINKLER, M., BIACS, P. & KARDOS, GY. (1992)  
Új természetes natur (bio) élelmiszerek előállítása  
Élelmészeti Ipar 47, 2-6
- HASSAN, S. S. M., & MARZOUK, S. A. M. (1994)  
A novel ferroin membrane sensor for potentiometric determination of iron  
Talanta 41, 891-899
- HAYDEN, A. R. (1979)  
Immunochemical detection of ovine, bovine and equine flesh in beef products with antisera to species myoglobin  
J. Food Sci. 44, 494-500
- HEINERT, H. H. & KLINGER, A. (1980)  
Tierartspezifische Eiweißdifferenzierung. Protein- und Enzymmuster bei Reh (*Capreolus elaphus*) und Hirsch (*Cervus elaphus*)  
Fleischwirtschaft 60, 1682-1683
- HERNÁNDEZ, P.E. (1994)  
Antibody-based analytical methods for meat species determination and detecting adulteration of milk  
Food & Agricultural Immunology 6, 95-104
- HERNANDEZ-JOVER, T., IZQUIERDO-PULIDO, M., VECIANA-NOGUÉS, M. T. & VIDAL-CAROU, M. C. (1996)  
Biogenic amine sources in cooked cured scouler pork  
J. Agric. Food Chem. 44, 3097-3101
- HERNANDEZ-JOVER, T., IZQUIERDO-PULIDO, M., VECIANA-NOGUÉS, M. T., MARINE-FONT, A. & VIDAL-CAROU, M. C. (1996)  
Ion-pair high-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products  
J. Agric. Food Chem. 44, 2710-2715
- HERNANDEZ-JOVER, T., IZQUIERDO-PULIDO, M., VECIANA-NOGUÉS, M. T., MARINE-FONT, A. & VIDAL-CAROU, M. C. (1997)

Effect of starter cultures on biogenic amine formation during fermented sausage production  
J. Food Prot. 60, 825-830

HILDRUM, K. I., SOLVANG, M., NILSEN, B. N., FROYSTEIN, T. & BERG, J. (1999)  
Combined effects of chilling rate, low voltage electrical stimulation and freezing on sensory properties of bovine *M. longissimus dorsi*  
Meat Sci. 52, 1-7

HOFMANN, K. (1994)  
Quality concepts for meat and meat products  
Fleischwirtschaft 73, 1014-1019

HOFMANN, K. (1994)  
Überprüfung von Fleischerzeugnissen auf Geflügelzusatz  
Die Fleischerei 3, 10-13

HOFMANN, K. (1997)  
Nachweis der Tierart bei Fleisch und Fleischerzeugnissen  
Fleischwirtschaft 77, 38-40

HOFMANN, K. & BLÜCHEL, E. (1986)  
Bestimmung der Tierart von rohem Muskefleisch anhand der Myoglobinnmuster im pH-Gradienten-Gel  
Fleischwirtschaft 66, 916-921

HOFMANN, K. & BLÜCHEL, E. (1992)  
Tierartbestimmung von hocherhitztem Fleisch und Fleischkonserven durch isoelektrische Fokussierung und empfindliche Silberfärbung  
Fleischwirtschaft 72, (1) 85-89

HOFMANN, K., BLÜCHEL, E. & HOFMANN, B. (1991)  
Verfälschung von Rindergulasch durch Schweinefleisch  
Die Fleischerei 9, 643-644

HONIKEL, K. O. (1993)  
Quality products demand suitable methods of measurement  
Fleischwirtschaft 73, 1010-1013

HORN, D. (1991)  
Blutzusatz bei rohen Hackfleischerzeugnissen  
Fleischwirtschaft 71, (12) 1402-1404

HORVÁTH, E. (2000)  
Húsok és húskészítmények mikroelem-összetétele  
A HÚS 10, 41-46

HOVING-BOLINK, A. H., HANEKAMP, W. J. A. & WALSTRA, P. (1999)

Effects of sire breed and husbandry system on carcass, meat and eating quality of Piemontese and Limousin crossbred bulls and heifers  
Livestock Production Sci. 57, 273-278

HÖYEM, T. & THORSON, D. (1970)

Myoglobin electrophoretic patterns in identification of meat from different animal species  
J. Agric. Food Chem. 18, 737-739

HUFF-LONERGAN, F. C., PARRISH, F. C. & ROBSON, R. M. (1995)

Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle  
J. Anim. Sci. 73, 1064-1073

INCZE, K. (2000)

Húsok, húskészítmények

A táplálkozás egészségkönyve 2. fejezet. Élelmiszereink (Szerk. HAJÓS, GY. & ZAJKÁS, G.) Kossuth Kiadó, Budapest 144-154. old.

IZQUERDO-POLIDO, M. A., HATAE, K. & HAARD, N. F. (1992)

Nucleotide catabolism and changes in texture indices during ice storage of cultured sturgeon, *Acipenser transmontanus*  
J. Food Biochem. 16, 173-192

JANSSEN, F. W., HÄGELE, G. H., BUNTJER, J. B. & LENSTRA, J. A. (1998)

Species identification in meat by using PCR-generated satellite probes  
J. Indust. Microbiol. Biotechnol. 21, 115-120

JÁNOSI, A., GELENCSÉR, É. & HAJÓS, GY. (1998)

Húsok eredetének meghatározására alkalmas immunológiai módszer  
XII. Élelmiszertudományi Konferencia, Budapest  
Előadásösszefoglalók pp.: 24

JEMMI, T. & SCHLOSSER, H. (1991)

Tierartbestimmung bei erhitztem Fleisch von Haus- und Wildwiederkäuern mittels isoelektrischer Fokussierung  
Fleischwirtschaft 71, 1-4

JEMMI, T. & SCHLOSSER, H. (1993)

Tierartbestimmung aus mariniertem und erhitztem mariniertem Fleisch mittels isoelektrischer Fokussierung  
Fleischwirtschaft 73, 600-602

KANG'ETE, L. & LINDQUIST, K. J. (1982)  
Immunological detection of thermostable muscle antigens and their possible use in speciation of cooked and fresh animal meats  
Meat Sci. 7, 229-240

KANGETHE, E. K. & LINDQUIST, K. J. (1987)  
Thermostable muscle antigens suitable for use in enzyme immunoassays for identification of meat from various species  
J. Sci. Food. Agric. 39, 179-188

KAISER, K. P. & KRAUSE, I. (1985)  
Analytik von Proteinen in Lebensmitteln mit elektrophoretischen und chromatographischen Verfahren  
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 180, 181-201

KAISER, K. P., MATHEIS, G., KMITA-DÜRRMANN, C. & BELITZ, H. D. (1980)  
Identifizierung der Tierart bei Fleisch, Fisch, und abgeleiteten Produkten durch Proteindifferenzierung mit elektrophoretischen Methoden. I. Rohes Fleisch und roher Fisch  
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 170, 334-342

KAISER, K. P., MATHEIS, G., KMITA-DÜRRMANN, C. & BELITZ, H. D. (1980)  
Proteindifferenzierung mit elektrophoretischen Methoden bei Fleisch, Fisch und abgeleiteten Produkten. II. Qualitative und quantitative Analyse roher binärer Fleischmischungen durch isoelektrische Fokussierung in Polyacrylamidgel  
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 171, 415-419

KAUFER, K., BENEKE, B. & BENTLER, W. (1990)  
Nachweis von zerkleinertem Hundefleisch in nativen und erhitzten Fleischmischungen mit der isoelektrischen Fokussierung in Polyacrylamidgelen  
Fleischwirtsch. 70, 1188-1191

KEREKES, L. (1993)  
Állatfajok húsának azonositása hőkezelt húskészítményekben automatizált enzim-immunanalitikai (Auto-EIA) eljárással  
A hús 4, 224-226

KING, N. L. (1984)  
Species identification of cooked meats by enzymestaining of isoelectricfocusing gels  
Meat Sci. 11, 59-72

KOH, M. C., LIM, C. H., CHUA, S. B., CHEW, S. T. & PHANG, S. T. W. (1997)

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprint profiling of domestic and game birds

Asia Pacific J. of Biol. and Biotechnol. 5, 173-182

KOH, M. C., LIM, C. H., CHUA, S. B., CHEW, S. T. & PHANG, S. T. W. (1998)

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints for identification of red meat animal species

Meat Sci. 48, 275-285

KOPPEN, G. & CERDA, H. (1997)

Identification of low-dose irradiated seeds using the neutral comet assay

Lebensm. Wiss. u. Technol. 30, 452-457

KÖRS, M. & STEINHART, H. (1997)

CTAB electrophoresis and immunoblotting: a new method for the determination of soy protein in meat products

Z. Lebensm. Unters. Forsch. 205, 224-226

KUEI, C. H. & CHEN, M. T. (1994)

Changes in nucleotides and their derivatives and in muscle proteins of pork treated with anka mash

Fleischwirtsch. 74, 404-407

LAKRITZ, L., FOX, J. B. & THAYER, D. W. (1998)

Thiamin, riboflavin, and tocopherol content of exotic meats and loss due to gamma radiation

J. of Food Protection 61, 1681-1683

LANDERS, J. W. & ZAK, B. (1959)

Determination of serum copper and iron in a single small sample

Anal. Chem. 29, 590-592

LANGELAND, T. (1982)

A clinical and immunological study of allergy to hen's egg white. III. Allergens in hens'egg white studied by crossed radio-immunoelectrophoresis (CRIE)

Allergy 37, 521-530

LÁSZTITY, R. (1980)

A hús kémiaja és fizikája

Kézirat, BME Vegyészmérnöki Kar, Mosonmagyaróvár

LÁSZTITY, R. (1981)

Az élelmiszerbiokémia alapjai

Mezőgazdasági Kiadó, Budapest

- LeBLANC, E. L. SINGH, S. & LeBLANC, R. J. (1994)  
Capillary zone electrophoresis of fish muscle sarcoplasmic proteins  
J. of Food Sci. 59, 1267-1270
- LEDUC, V., DEMEULEMESTER, C., POLACK, B., GUIZARD, C.,  
LeGUERN, L. (1999)  
Immunochemical detection of egg-white antigens and allergens in meat  
products  
Allergy 54, 464-472
- LEDUC, V., POLACK, B., PELTRE, G., HUNEAU, J. F. &  
DEMEULEMESTER, C. (1996)  
Antigenicity and allergenicity of ingredients in meat products  
Viandes et Produits Carnes 17, 359-360
- LEVIEUX, D. & LEVIEUX, A. (1996)  
Antigenic specificity of monoclonal antibodies to beef myoglobin  
determined by cross reactivity studies against myoglobins from domestic  
species  
Meat. Sci. 42, 239-249
- LLÁTSER, R., POLO, F., DE LA HOZ, & GUILLAUMET, B. (1998)  
Alimentary allergy to pork. Crossreactivity among pork kidney and pork  
and lamb gut  
Clinical and Experimental Allergy. 28, 1021-1025
- LYONS, D. E., BEERY, J. T., LYONS, S. A. & TAYLOR, S. L. (1983)  
Cadaverine and aminoguanidine potentiate the uptake of histamine *in vitro*  
in perfused intestinal segments of rats  
Appl. Pharmacol. 70, 935-940
- MAGEAU, H. P., CUTRUFELLI, M. E., SCHWAB, B. & JOHNSTON, R.  
W. (1984)  
Development of an overnight rapid bovine identification test (ORBIT) for  
field use  
J. Ass. Off. Anal. Chem. 67, 949-955
- MALTIN, C. A. WARKUP, C., MATTHEWS, K. R., GRANT, C. M.,  
PORTER, A. D. & DELAY, A. M. (1997)  
Pig muscle fiber characteristics as a variation in ageing quality  
Meat. Sci. 47, 237-248
- MANN, M. & BAUER, F. (1991)  
Influence of storage, salting, curing and heating on the electrophoretic  
behaviour of sarcoplasmic proteins  
Proc. 37<sup>th</sup> ICOMST, Kulmbach, Vol. III, 1163-1166



MANN, M., BAUER, F. & ROSSMANITH, W. (1991)  
Meat species identification: rapid electrophoretic methods and staining techniques  
Proc. 37<sup>th</sup> ICOMST, Kulmbach, Vol. III, 1167-1170

MANN, M., BAUER, F. & ROSSMANITH, W. (1991)  
Rapid electrophoretic methods for meat species identification  
In: Strategies for food quality control and analytical methods in Europe Ed: BALTES, W. Vol. II. 489-494

MARTIN, R., AZCONA, J. I., CASAS, L., HERNANDEZ, P. E. & SANZ, B. (1988)  
Sandwich ELISA for detection of pig meat in raw beef using antisera to muscle soluble proteins  
J. Food Prot. 51, 790-794

MARTIN, R., AZCONA, J. I., TORMO, J., HERNANDEZ, P. E. & SANZ, B. (1988)  
Detection of chicken meat in raw meat mixtures by a sandwich enzyme immunoassay  
J. Food Sci. Technol. 23, 303-310

MARTINEZ, I. & MALMHEDEN-YMAN, I. (1998)  
Species identification in meat products by RAPD analysis  
Food Res. Int. 31, 459-466

MASSON, F., JOHANSSON, G. & MONTEL, M. C. (1999)  
Tyramine production by strain of *Carnobacterium divergens* inoculated in meat-fat mixture  
Meat Sci. 52, 65-69

MATSUDA, T. & NAKAMURA, R. (1990)  
Molecular structure and immunological properties of food allergens  
Trends in Food Sci. Technol. 9, 289-293

MENDES, R., GONCALVES, A. & NUNES, M. L. (1999)  
Changes in free amino acid and biogenic amines during ripening of fresh and frozen sardine  
J. of Food Biochem. 23, 295-306

MEYER, R., CANDRIAN, U. & LÜTHY, J. (1994)  
Detection of pork in meat products by polymerase chain reaction  
J. AOAC 77, 617-622

MEYER, R., HOEFELIN, C., LÜTHY, J. & CANDRIAN, U. (1995)

Polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism analysis: a simple method for species identification in food  
J. AOAC 78, 1542-1551

MEYER, G., MÜLLER, M., KRUSE, L., RÜGGERBERG, H., KETSCHAU, G. & HILDEBRANT, A. (1994)  
DNA-Sonden zur Tierartidentifizierung in verarbeiteten Lebensmitteln  
Fleischwirtschaft 74, (11) 1237-1238

MI- 7033 (1991)  
Natúrsertés

MIETZ, J. L. & KARMAS, E. (1977)  
Chemical index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography  
J. Food Sci. 42, 155-158

MOLANDER, E. (1982)  
Determination of soya protein in meat products by standard curves obtained from SDS gel electrophoresis  
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 174, 278-281

MONERET-VAUTRIN, D. A. (1998)  
Modification of allergenicity linked food technologies  
Allerg.- Immunol. 30, 9-13

MONTEL, M. C., MASSON, F. & TALON, R. (1999)  
Comparison of biogenic amine content in traditional and industrial French dry sausages  
Sciences des Aliments 19, 247-254

MORALES, P., GARCÍA, T., GONZALEZ, I., MARTIN, R., SANZ, B. & HERNANDEZ, P. E. (1994)  
Monoclonal antibody detection of porcine meat  
J. Food Prot. 57, 146-149

MORTON, J. D., BICKERSTAFFE, R., KENT, M. P., DRANSFIELD, E. & KEELEY, G. M. (1999)  
Calpain-calpastatin and toughness in *M. longissimus* from electrically stimulated lamb and beef carcasses  
Meat Sci. 52, 71-79

MÖLLER, M., PASCHKE, A., VIELUF, D., KAYMA, M., VIETHS, S. & STEINHART, H. (1997)

Characterization of allergens in kiwi fruit and detection of cross-reactivities with allergens of birch pollen and related fruit allergens  
Food and Agric. Immunol. 9, 107-121

MSZ- 3640-4: 1986

Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Aerob mikrobák legvalószínűbb számának meghatározása folyékony tápközegben

MSZ- 3640-8: 1980

Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Szalmonellák kimutatása

MSZ- 3640-9: 1985

Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. A Staphylococcus aureus kimutatása és legvalószínűbb számának (nagyságrendjének) meghatározása folyékony tápközegben

MSZ- 3640-21: 1983

Húsok és húsalapú élelmiszerek mikrobiológiai vizsgálata. Enterobaktériumok számának meghatározása szilárd tápközegben telepszámlálással

MUNOZ-FURLONG, A. (1997)

The consumer's perspective on food allergy

J. of the Association of Food and Drug Officials 61, 66-67

NARDONE, A. & VALFRE, F. (1999)

Effects of changing production methods on quality of meat, milk and eggs

Livestock Production Sci. 59, 165-182

NÉMETH-SZERDAHELYI, E., HAJÓS, GY. & GELENCSÉR, É. (1998)

Kondicionált húsok eredetének meghatározására alkalmas biokémiai módszerek

XII. Élelmiszertudományi Konferencia, Budapest

Előadásösszefoglalók pp.: 23

NIEMANN, C., BENEKE, B. & W. BENTLER (1995)

Gefügelfleisch, Nachweis von Gefrierfahren

Fleischwirtsch. 75, 323-326

NORTHCUTT, J. K., PRINGLE, T. D., DICKENS, R. A., BUHR, R. J. & YOUNG, L. L. (1998)

Effects of age and tissue type on the calpain proteolytic system in turkey skeletal muscle

Poultry Sci. 77, 367-372

OCHIRKHUYAG, B., CHOBERT, J. M., DALGALARRONDO, M., CHOISET, Y. & HAERTLE, T. (1998)

Characterization of whey proteins from mongolian yak, khainak, and bactrian camel  
J. of Food Biochem. 22, 105-124

OLSMAN, W. J. & HITCHCOCK, C. H. S. (1988)  
Detection and estimation of food proteins by electrophoretic methods  
In: Developments in food analysis techniques Vol. 2 Appl. Sci. Publ.  
London 225-238

OUALI, A. (1990)  
Meat tenderization: possible causes and mechanisms  
J. Muscle Foods 1, 129-165

OHMORI, D., TANAKA, Y., YAKAMURA, F. & SUZUKI, K. (1985)  
Detection of non-heme iron proteins following polyacrylamide gel  
electrophoresis  
Electrophoresis 6, 351-352

PASTORELLO, E. A., ISPANO, M. & PRAVETTONI, V. (1995)  
Cross-reactive allergens in clinical syndromes  
Sonderdruck aus Allergologie 18, 390-398

PECHANEK, U., WOIDICH, H., PFANNHAUSER, W. & G. BLAICHER  
(1980)  
Untersuchung über das Vorkommen von biogenen Aminen in  
Lebensmitteln  
Ernährung 4, 58-61

PENNY, I. F. (1976)  
The effect of conditioning on the myofibrillar proteins of pork muscle  
J. Sci. Food Agric. 27, 1147-1155

PENNY, I. F. (1980)  
The enzymology of conditioning  
in: Developments in meat science . (ed.: LAWRIE, P.)  
Applied Sci. Publ., London

PLOWMAN, J. E. & CLOSE, E. A. (1988)  
An evaluation of a method to differentiate the species of origin of meats on  
the basis of the contents of anserine, balenine and carnosine in skeletal  
muscle  
J. of the Sci. of Food and Agric. 45, 69-78

POLGÁR, M. (1996)  
Allergia és hús  
Az Országos Egészségbiztosítási Pénztár Életmód Programja keretében  
készült kiadvány, Budapest

POLGÁR, M. (2000)

Táplálkozás és allergia

A táplálkozás egészségkönyve 3. fejezet. Életmód, egészség (Szerk. HAJÓS, GY. & ZAJKÁS, G.) Kossuth Kiadó, Budapest 226-232. old.

POLGÁR, M., GELENCSÉR, É. & HAJÓS, GY. (1993)

Szójaallergia

Élelmezési Ipar 47, 204-209

POLGÁR, M., GELENCSÉR, É. & HAJÓS, GY. (1996)

Keresztallergia vizsgálata tehéntejallergia esetében

Gyermekgyógyászat 47, (2) 91-97

RACHLÉ, B., HILBERT, F. & BAUER, F. (1997)

Anwendung der DNA/DNA-Hybridisierung und des RFLP (Restriktionsenzym-längenpolymorphismus) zur Identifizierung der Tierart bei erhitzten Fleischwaren

Tag. Ber. 37. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene". Garmisch-Partenkirchen, Vol. I. 176-181

RAK, L. (1996)

Zafalszowania mięsa /Meat adulteration/

Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego 33, 119-134

REGENMORTEL, M. H. V. (1992)

Molecular dissection of protein antigens

in: REGENMORTEL, M. H. V. (ed) Structure of antigens

CRC Press, Boca Raton, pp. 1-27

REHBEIN, H. (1992)

Determination of the heating temperature of fishery products

Z. Lebensm. Unters. Forsch. 195, 417-422

REHBEIN, H., ETIENNE, M., JEROME, M., HATTULA, T., KNUDSEN, L. B., JESSEN, F., LUTEN, J. B., BOUGET, W., MACKIE, I. M., RITCHIE, A. H., MARTIN, R. & MENDES, R. (1995)

Influence of variation in methodology on the reliability of the isoelectric focusing method of fish species identification

Food Chem. 52, 193-197

RESTANI, P., FIOCCHI, A. & DIETEMANN, J. C. (1995)

Proteins involved in meat allergy and cross-reactivity between different animal species

Sonderdruck aus Allergologie 18, 412-416

RIGHETTI, G. P. & BOSISIO, A. B. (1981)

Applications of isoelectric focusing to the analysis of plant and food proteins

Electrophoresis 2, 65-75

ROGOWSKI, B. & DÖHLA, I. (1983)  
Untersuchungen zur Bildung von Histamin, Tyramin und Tryptamin in Rohwürsten  
Arch. Lebensmittelhyg. 36, 5379-5381

ROGOWSKI, B. & DÖHLA, I. (1984)  
Bestimmung und Gehalt biogener Amine in Fleisch und Fleischwaren  
Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem. 38, 20-20

ROSSMANITH, W. & BAUER F. (1994)  
Enzymimmunologischer Nachweis von Hühnerfleisch in erhitzten Fleischwaren  
Wiener Tierärztliche Monatschrift 82 (9) 253 258

RÜGGERBERG, H., GAEDE, W., TSCHIRDEWAHN, B., BOOKE, A. & MÜLLER, M. (1997)  
Ein methodischer Vergleich der PCR-Analyse, der DNA-Sonden-Technik und der isoelektrischen Fokussierung  
Fleischwirtschaft 77, 732-734

SAED, T. & ABBU-DAGA, F. (1986)  
Detection of pork and lard adulterans in beef and mutton mixtures  
Assoc. of Official Analytical Chemist's J. 69, 999-1002

SAISEKHAR, Y. & REDDY, P. M. (1995)  
Use of troponin for species identification of cattle and buffalo meats  
J. Food Sci. Technol. 32, 68-70

SAITO, T. (1994)  
Colorimetric determination of trace iron in water samples by using a poly(vinylchloride) membrane containing bathophenanthroline as a solid-phase extraction medium  
J. of the AOAC Int. 77, 1031-1035

SANTÍN, C. & CENTRICH, F. (1997)  
Identificación de especie animal en productos carnicos por electroforesis  
Alimentaria Mayo 43-48

SATTERLEE, L. D., WILHWM, M. S. & BARNHART, H. M. (1971)  
Low dose gamma irradiation of bovine metmyoglobin  
J. Food Sci. 36, 549-553

SCHMITH, G. F., McCURDY, W. H. & DIEHL H. (1952)  
Iron in raw and treated municipal water supplies by use of 4:7-diphenyl-1:10 phenanthroline  
Analyst 77, 418-422

SCHMIDTLEIN, H. (1979)  
Bestimmung von biogenen Aminen mit Hilfe der Hochdruck-  
flüssigkeitschromatographie  
Lebensmittelchemie u. gerichtl. Chemie 130, 81-83

SCHUPP, A., GILLESPIE, J. & REED, D. (1998)  
Consumer choice among alternative red meats  
J. of Food Distribution Research 29, 35-43

SCHWAEGELE, F. (1999)  
Chilling, cold storage and ageing of meat. Chemical and physical  
principles. I. Muscle structure.  
Fleischwirtschaft 79, 91-93

SCANLAN, R. A. (1995)  
Volatile nitrosamines in foods – an update  
In: Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence Ed:  
Charalambous  
Elsevier Science B. V.

SHALUBY, A. R. (1994)  
Separation, identification and estimation of biogenic amines in foods by  
thin-layer chromatography  
Food Chem. 49, 305-310

SIEBERT, S., BENEKE, B. & BENTLER, W. (1994)  
Rind-, Schweine- und Schaffleisch. Nachweis einer vorgegangenen  
Gefrierbehandlung mit der isoelektrischen Fokussierung in  
Polyacrylamidgel in Routinediagnostik  
Fleischwirtschaft 74, (4) 1-4

SILLA SANTOS, M. H. (1996)  
Biogenic amines: their importance in foods  
International Journal of Food Microbiology 29, 213-231

SIMON SARKADI, L., & HODOSI, E. (1998)  
Formation of biogenic amines during cheese processing  
in: COST 917 Biologically active amines in food Vol. II. 8-10  
Official publications of the European Communities  
Eds.: Bardocz, S., White, A. & Hajós Gy.

SIMON SARKADI, L., & HOLZAPFEL, W. H. (1994)  
Determination of biogenic amines in vegetables by amino acid analyser  
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 198, 230-233

SIMON SARKADI, L., KOVÁCS, Á. & MICSNOVICS E. (1998)  
Élelmiszerek biogén aminoszámainak tartalmának kimutatása OPLC-vel (túlnyomásos rétegekromatográfiával)  
A XII. Élelmiszertudományi Konferencia kiadványa pp. 9

SMITH, D. (1995)  
Immunoassays in process control and speciation of meats  
Food Technology 49 (2) 116-119

SMITH, J. (1997)  
Allergen labelling in foods  
IFI 3, 15-16

SMULDERS, F. J. M., HOFBAUER, P., DRANSFIELD, E. & TAYLOR, R. (1999)  
The muscle biological background of meat tenderness  
Wiener Tierärztliche Monatsschrift 86, 99-108

SPELL, E. (1974)  
Die elektrophoretische Unterscheidung verschiedener Fleischarten  
Fleischwirtschaft 54, 533-538

SPITZAUER, S., PANDJAITAN, B., SÖREGI, G., MÜHL, S., EBNER, C., KRAFT, D., VALENTA, R. & RUMPOLD, H. (1995)  
IgE cross-reactivities against albumins in patients allergic to animals  
J. Allergy Clin. Immunol. 94, 951-959

STEINMABL, J. (1994)  
How meat consumption benefits balanced nutrition ?  
Die Fleischerei 4, III-VII

SURINDER, P. C., PUSHPA, P., THOMAS, P., YOHANNAN, B. & MEDURY, D. S. (1999)  
Detection of irradiated lamb meat with bone: effect of chilled storage and cooking on ESR signal strength.  
Int. J. of Food Sci. & Technol. 34, 41-45

SZERDAHELYI, E., FISCHER, K. & FREUDENREICH, P. (1994)  
Sertéshús biogén aminoszámainak tartalmának vizsgálata  
Élelmezési Ipar 48 (2) 73-76

SZERDAHELYI, E., HAJÓS, GY. & DWORSCHÁK, E. (1997)



Einfluß der Haltungsbedingungen und des Genotyps auf das Elektrophoreseverhalten von Schweinwfleischproteinen  
Nahrung 41, (5) 302-305

SZERDAHELYI, E., HAJÓS, GY. & MOLNÁR, P. E. (1995)  
Tehéntej meghatározása hazai sajtokban izoelektromos fókuszálással  
Élelmiszervizsgálati Közlemények 41, 225-231

TINBERGEN, B. J. & OLSMAN, W. J. (1976)  
Isoelektrische Fokussierung als eine Technik zur Speciesidentifizierung in der Lebensmittelüberwachung  
Fleiswirtschaft 56, 1495-1498

TREPTOW, H. & ASKAR A. (1990)  
Analytische Methoden zur Bestimmung von biogenen Aminen in Lebensmitteln  
Ernährung 14, 9-17

TSCHABRUN, R., SICK, K., BAUER, F. & P. KRANNER (1990)  
Bildung von Histamin in schnittfesten Rohwürsten  
Fleiswirtschaft 70, 448-452

UHLEMANN, L. BECKER, W. M. & SCHLAAK, M (1993)  
Nahrungsmittelallergie: Identifizierung und Charakterisierung von Erdnussallergenen mit Patientenseren und monoklonaren Antikörpern  
Zeitschrift für Ernährungswissenschaft 32, 139-151

UHLENHUT, P. & WIEDANZ, O. (1909)  
Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchung sowie der Gewinnung präzipitierender Sera  
Fischer, Jena

URISU, A., ANDO, H. & MORITA, Y. (1997)  
Allergenic activity of heated and ovomucoid-depleted egg white  
J. Allergy Clin. Immunol. 100, 171-176

UYTTERHAGEN, L., CLAEYS, E. & DEMEYER, D. (1994)  
Effects of endogenous protease effectors on beef tenderness development and myofibrillar degradation and solubility  
J. Anim. Sci. 72, 1209-1223

UYTTERHAGEN, L., CLAEYS, E. & DEMEYER, D. (1995)  
Use of exogenous protease effectors to investigate postmortem tenderness development and related myofibrillar protein fragmentation  
in: Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality

eds: OUALI, A., DEMEYER, D. I. & SMULDERS, J. M. Ecceamst

VECIANA-NOUGÉS, M. T., ALBALÁ-HURTADO, M. S., MARINÉ-FONT, A. & VIDAL-CAROU, M. C. (1996)

Changes in biogenic amines during the manufacture and storage of semiprserved anchovies

J. Food Prot. 59, 1218-1222

VECIANA-NOUGÉS, M. T., MARINÉ-FONT, A. & VIDAL-CAROU, M. C. (1997)

Bigenic amines as hygenic quality indicators if tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes

J. Agric. Food Chem. 45, 2036-2041

VERBEKE, R., & VAN de SOMPEL (1986)

Identification of animal species by cluster analysis

Proceedig of the 32<sup>nd</sup> Europe Meat Research Workers Meeting, Gent, Belgium pp. 503-507

VERRES-BAGNIS, V., NOEL, J., SAUTEREAU, C. & FLEURENCE, J. (1999)

Desmin degradation in postmortem fish muscle

J. of Food Sci. 64, 240-242

VOLLE, B., DUTAUD, D. & OUALI, A. (1999)

Myoglobin inhibition of most protease activities measured with fluorescent substrates is an artifact

Meat Sci. 52, 81-87

WAHN, U. (1988)

Antigens in cow's milk and hen's egg allergy

In: SCHMIDT, E. (ed.) Food Allergy

Raven Press, Ltd, New York, pp. 81-86

WALSH, R. V. & WILLIAMS, J. (1987)

Allergenis cross-reactivity os egg-white and egg-yolk proteins

Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 84, 228-232

WARKUP, C. (1999)

Future developments in pig carcass quality

International Pig Topics 14,13-16

WERNER, W. E., DEMOREST, D. M., STEVENS, J. & J. E. WIKTOROVICZ (1993)

Size-dependent separation of proteins denatured in SDS by capillary electrophoresis using a replacable sieving matrix

Anal. Biochem. 212, 253-258

WINTERŘ, A. K., THOMSON, P. D. & DAVIES, W. (1990)  
A comparison of DNA-hybridisation, immunodiffusion, countercurrent immuno electrophoresis and isoelectric focusing for detecting the admixture of pork and beef  
Meat Sci. 27, 75-85

WOOD, C. (1986)  
How common is food allergy?  
Acta Pediatr. Scand. 323, 76-131

YAMANAKA, H. & MATSUMOTO, M. (1989)  
Simultaneous determination of polyamines in red meat by high performance liquid chromatography and evaluation of freshness  
J. of the Food Hygenic Society of Japan 30, 396-400

ZANON, F. & D. VANELLO (1998)  
Identificazione dell' origine biologica di alimenti carnei  
Industrie Alimentari 37, 470-472

## **KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS:**

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Hajós Gyöngyinek azért a szakmai és emberi segítségért, ahogyan utamat egyengette, fejlődésemet irányította.

Köszönöm Dr. Bánáti Diánának a Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet főigazgatónőjének és Dr. Biacs Péternek aki dolgozatom elkészítése idején az Intézet főigazgatója volt, hogy lehetővé tették és támogatták Ph. D. tanulmányaimat.

A Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet Biokémia Osztályán dolgozó Zárai Bettynek és Sólyom Katinak, valamint az ott dolgozott, Dr. Mátrai Beátának, Bekes Anikónak és Nagy Göde Péternek a baráti légkörért, és a munkámhoz nyújtott szakmai és technikai segítségükért mondok köszönetet.

A Biológia Osztály vezetőjének Dr. Gelencsér Évának, és az ott dolgozó Jánosi Annának, valamint az osztály többi munkatársának is köszönöm a munkámhoz nyújtott segítségét.

Dr. Beczner Juditnak, és Vidács Ildikónak a besugárzással és a mikrobiológiai vizsgálatokkal kapcsolatos kísérletekhez nyújtott segítséget köszönöm. Köszönet illeti Dr. Polgár Mariannat az élelmiszerfehérje allergiához kapcsolódó vizsgálatokhoz nyújtott fontos szakmai segítségéért.

Köszönettel tartozom Dr. Halász Annának dolgozatom elkészítéséhez adott hasznos tanácsaiért, és hogy segítségemre volt a németországi ösztöndíjas utam megszervezésében, ahol a biogén aminosav vizsgálatát elkezdtem.

Hálával tartozom Dr. Klaus Fischernek és kollégáinak, akik a Német Szövetségi Húsipari Kutatóintézetben, valamint Dr. María Izquierdo-Pulidonak és munkatársainak, akik a Barcelonai Egyetemen végzett munkámban segítettek.

Köszönöm Makk Istvánnak az igényesen elkészített fényképeket, és ifj. Trischler Ferencnek a színes ábrák feldolgozásában nyújtott segítségét.

Szeretném köszönetemet kifejezni családomnak azért a nyugodt és kiegyensúlyozott családi háttérért, ami alapot adott doktori munkámhoz: szüleimnek a sok biztatást és anyagi támogatást, férjemnek pedig a türelmét, és a számítógépes munkában való segítségét köszönöm.

