

Húsok és hústermékek fehérjéinek és biogén aminjainak változásai

Ph.D. értekezés tézisei

Készítette: Szerdahelyi Emőke

KÖZPONTI ÉLELMISZERIPARI KUTATÓ INTÉZET
Biokémia Osztály

2000

I. BEVEZETÉS

A húsfehérjék magas biológiai értékük révén lényeges szerepet játszanak a megfelelő esszenciális aminosav bevitel biztosításában, és a húsok számos fontos vitamint és mikroelemet is tartalmaznak jól hasznosítható formában. Az élelmiszertudomány egyik célja ennek a bonyolult összetételű és szerkezetű, meghatározott biológiai funkciójú rendszernek a vizsgálata olyan szempontból, hogy miképpen lehet az állat levágása után olyan élelmiszeripari termékeket előállítani, melyeknek a táplálkozás szempontjából fontos összetevői és azok hasznosulása, valamint fizikai és érzékszervi tulajdonságai a lehető legkedvezőbbek. 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 technológiák döntően befolyásolják a termék minőségét. A húsminőség kérdése napjainkban különösen jelentőssé vált.

Az élelmiszeralitika területén az utóbbi évtizedekben igen nagy szerepet kaptak az elektroforetikus módszerek a fehérjék izolálásában és tisztításában, valamint az állati és növényi eredetű fehérjék jellemzésében. A táplálékfehérjék szerkezetét az élelmiszeripari eljárások különböző mértékben módosíthatják. A húsfehérjék szerkezetének elektroforetikus és kromatográfiai vizsgálata - az állatfajok azonosításán, és az idegen fehérjék kimutatásán túl - alkalmazható a fehérjemintázatra ható különféle tényezők (pl. fajta, tartási mód, érlelés, fagyasztás, hőkezelés, stb.) nyomon követésére is. A húsfehérjékben bekövetkező változások tanulmányozása szempontjából előnyös, hogy az elektroforetikus elválasztást követően az általánosan alkalmazott fehérje festéseken kívül más - nagyobb érzékenységgű és eltérő specificitású - detektálási módszerek is használhatók. A fehérjék elválasztása alapul szolgálhat további, pl. immunológiai vagy enzimes vizsgálatok elvégzéséhez is.

A táplálékfehérje-allergia kérdése a húsipari termékek esetén is lényeges. A táplálékok által kiváltott allergiás megbetegedéseknél ugyanis fontos az allergén összetevő (fehérje) elhagyása az étrendből. Ezt megnehezítheti az egyes hústermékekben "rejtett" formában, pl. adalékanyagként jelen levő idegen fehérje. A keresztallergia lehetősége miatt is nagy jelentőséggel bír a húsipari termékek potenciális allergén aktivitásának vizsgálata.

A biogén aminok szintje friss húsokban viszonylag alacsony, a tárolás során vagy egyes élelmiszeripari technológiák hatására bekövetkező fehérjedegradáció és mikrobiális tevékenység következtében azonban koncentrációjuk jelentősen megemelkedhet. A fiziológiai aktivitásukból adódó egészségügyi vonatkozásokon kívül a biológiailag aktív aminok meghatározása azért is fontos, mert mennyiségük és arányuk a húsok frissességét illetve minőségét is jól jellemzi.

II. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatómunkámban a következő feladatokat tűztem ki célul:

1. A húsminták fajspecifikus fehérjemintázatának meghatározása
 - a fehérjefrakciók molekulatömeg szerinti megoszlása alapján
 - sertéshús esetén immunblott technikával
 - 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 γ -besugárzás hatása a húsok fehérje-szerkezetére

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

III. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

- ◆ SDS-poliakrilamid gélelektroforézis
- ◆ elektroforetikus blott technika és immunfestés
- ◆ fehérjék izoelektromos pont alapján való elválasztása agaróz vagy poliakrilamid gélben
- ◆ hemfehérjék pszeudoperoxidáz festése
- ◆ fehérjéhez kötött nem hem vas kimutatása ferroin reakcióval
- ◆ az elektroforetogramok videodenzitométeres kiértékelése
- ◆ fehérjék középnyomású folyadékkromatográfiás (FPLC) elválasztása gélszűrővel
- ◆ biogén aminok meghatározása aminosavanalizátorral illetve HPLC technikával (reverz fázisú ionpár kromatográfia, fluoreszcens detektálás)

IV. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- Izoelektromos fókuszálást követően pszeudoperoxidáz festéssel (Hofmann és Blüchel, 1986) meghatároztam a hazánkban gyakran fogyasztott állatfajokból származó húsminták mioglobinnintázatát. Megállapítottam, hogy bár a rendszertanilag igen közel álló fajok pl. kacsa és liba, vagy sertés és vaddisznó esetén a mintázat nagyon hasonló, de ha a fő mioglobinsávok egybe is esnek, a mellékfrakciók eltérő eloszlása lehetővé teszi az azonosítást.
- Sertéshús, vaddisznóhús és marhahús esetén kimutattam, hogy a három hétig tartó, speciális érlelőtartályban 2°C-on történő kondicionálás nem befolyásolja számottevően a mioglobinnintázatot.
- Az irodalmi állításokkal megegyezően megállapítottam, hogy hústermékek esetén a mioglobinnintázat alapján való eredet meghatározás alkalmazhatóságának a hőkezelés mértéke határt szab. Kolbászfélék esetén intenzíven festődő sávok mutathatók ki, vörösáruk esetén az elektroforetogram már nem minden esetben értékelhető egyértelműen, konzervek esetén pedig olyan mértékben megváltozott a fehérjék szerkezete, hogy a húsk eredetének meghatározása a mioglobinnintázat alapján nem lehetséges.
- Nagyüzemi és organikus módon tartott sertésekből származó minták mioglobinnintázatát összehasonlítva, a két fő mioglobinnintázat egymáshoz viszonyított arányában eltérést mutattam ki: a 6,5 és 6,0 izoelektromos pontú frakciók aránya a vizsgált organikus húsmintákban átlagosan 47:53, a kontroll mintákban pedig 66:34.
- Besugárzott (0-25 kGy) sertéscsont mintákban a mioglobinnintázat 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.
- 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 húskban, vagy más élelmiszermintákban.

- Megfigyeltem az irodalmi állításokkal egyezően (Penny, 1980, Di Lisa és munkatársai, 1995) a troponin-T frakció bomlását a három hetes kondicionálási folyamat során sertés-, marha- és vaddisznó-húsmintákban. A degradációs termékek létrejöttét troponin elleni antitestet tartalmazó nyúlszérum felhasználásával végzett immunelektroforetikus vizsgálatokkal igazoltam.
- Kimutattam, egyes hazai hústermékek esetén a szója illetve tejfehérje adalékanyag jelenlétét immunblott módszerrel. Tejet adó állatok húásával néhány esetben - a korábbi irodalmi megfigyelésekhez hasonlóan (Pastorello és munkatársai, 1995, Polgár és munkatársai, 1998) - keresztreakciót mutattam ki tejfehérje pozitív humán szérumot alkalmazva.
- Friss húsmintákban az irodalmi adatokkal egyezően (Tschabrun és munkatársai, 1990, Hernandez-Jover és munkatársai, 1997) viszonylag alacsony biogén amin szintet találtam. Megfigyeltem, hogy a friss sertés-, marha- és vaddisznóhús minták közül a vaddisznóhúsról magasabb tiramin és kadaverin érték jellemző. Kimutattam, hogy a vizsgált PSE-jellegű sertéskaraj és -felsál mintákban a biogén aminok koncentrációja (a felsál minták esetén szignifikánsan) alacsonyabb, mint a normális érésű húsmintákban.
- Vizsgálataim igazolták, a húsminták (sertés-, marha- és vaddisznóhús) speciális érlelőtartályban 2 °C-on végzett kondicionálása során a tiramin, a putreszcin és a kadaverin szintjének folyamatos emelkedését. A vaddisznótartályban 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 mintái esetében 10 mg/kg alatt maradt.

V. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK ÉS ELŐADÁSOK

Nemzetközi folyóiratokban megjelent cikkek:

Németh-Szerdahelyi E., Freudenreich P., Fischer K.:
Untersuchungen über den Gehalt biogener Amine in Schweinefleisch.
Fleischwirtschaft 73, 789-790 (1993)

Hajós Gy., Mátrai B., **Szerdahelyi E.**, Örsi F.:
Differences in the electrophoretic patterns of soluble pork proteins as a consequence of the rearing conditions
Meat Science 41, 77-81 (1995)

Szerdahelyi E., Hajós Gy., Dworschák E.:
Untersuchungen über den Einfluss der Haltungsbedingungen und des Genotypus auf das Elektrophoreseverhalten von Schweinefleischproteine
Nahrung 41, 302-305 (1997)

Hajós Gy., Farkas Sz., **Szerdahelyi E.**, Polgár M.:
Effect of methionine enrichment on the biological activities of food proteins
Acta Biologica Hungarica 49, 201-207 (1998)

Sass-Kiss Á., **Szerdahelyi E.**, Hajós Gy.:
Study of biologically active amines in grapes and wines by HPLC
Chromatographia 51, 316-320 (2000)

Hajós Gy., Sass-Kiss Á., **Szerdahelyi E.**, Bardocz S.:
Changes in biogenic amine content of Tokaj grapes, wines and aszu wines
J. of Food Sci. in press (2000)

Nemzetközi folyóiratokban megjelent összefoglalók:

Hajós Gy., Gelencsér É., **Szerdahelyi E.**, Bardocz S., Pusztai A.:
Enzymatic modification as a tool for improving the quality of food proteins
in: "COST 98 Effects of antinutrients of the nutritial value of legume diets" (Eds: S. Bardocz, A. Pusztai) Official Publications of the European Communities, Brussels, 1, 69-74 (1996)

Hajós Gy., Gelencsér É., **Szerdahelyi E.**, Bardocz S., Pusztai A.:
Enzymatic modification as a tool for alteration of safety and quality of soya proteins
in: "COST 98 Effects of antinutrients of the nutritial value of legume diets" (Eds: S. Bardocz, A. Pusztai) Official Publications of the European Communities, Brussels, 1, 82-86 (1996)

Gy. Hajós., **E. Szerdahelyi.**, É. Gelencsér., M. Polgár.
Food Protein Allergens
Acta Alimentaria 26, 63-64 (1997)

Hajós Gy., **Szerdahelyi E.**, Gelencsér É., Polgár M.
Antigenic character and protein structure
Acta Alimentaria 26, 294-295 (1997)

Szerdahelyi E., Fischer K.
Changes in biogenic amine content in pork meat during storage
in "COST 917 Biogenically activa amines in food" (Edited by S. Bardocz, A. White and Gy. Hajós)
Official Publications of the European Communities, Brussels, 1998 Volume 2, pp 16-18

Hazai folyóiratokban megjelent közlemények:

Szerdahelyi E., Fischer K., Freudenreich P.:
Sertéshús biogén aminosav tartalmának vizsgálata.
Élelmiszeripar 48, 73-76 (1994)

Szerdahelyi E., Hajós Gy., Molnár P.:
Tehéntej meghatározása hazai sajtokban izoelektromos fókuszálással
Élelmiszervizsgálati közlemények 41, 225-231 (1995)

Előadások és poszterek:

Némethné Szerdahelyi E., Fischer K.:
Biogén aminosavok vizsgálata sertéshúsban.
Vegyészkonferencia 1992. júl. 6-8. Szombathely
Összefoglalók: AÉ-P-11

Szerdahelyi E., Hajós Gy., Dworschák E.:
Natur és hagyományos sertéshús fehérjék összehasonlítása elektroforetikus módszerekkel
VI. Biokultúra Napok 1993 dec. 8-10. Budapest
Összefoglalók: 6

Szerdahelyi E., Bekes A.:
Húsféhérjék és biztonságos táplálkozás
I. Országos Agrár PhD Konferencia és Találkozó 1995 jún. 27-28. Debrecen
Összefoglalók: 66-67

Szerdahelyi E., Hajós Gy.:
Distribution of iron proteins in meat and milk samples by electrophoretic methods
EURO FOOD CHEM VIII 1995 szept. 18-20. Bécs, Ausztria
Proceedings III/774
Hajós Gy., **Szerdahelyi E.**, Gelencsér É., Polgár M.:
Élelmiszerfehérje allergének
XI. Élelmiszertudományi Konferencia 1996 máj. 30-31. Budapest
Összefoglalók: 6

Szerdahelyi E., Zárai B., Hajós Gy.:
Húsféhérjék összetételének nyomon követése elektroforetikus és enzimes vizsgálatokkal
MKE Vegyészkonferencia 1996 júl. 2-4. Eger
Összefoglalók: 6.

Szerdahelyi E., Hajós Gy., Vidács I., Beczner J.:
Effect of irradiation of microbiological state and protein structure of chicken minced meat
Food Micro 16th International Symposium of the International Committee on Food Microbiology and
Hygiene 1996 aug. 27-30. Budapest
Abstract Book 3P5

E. Szerdahelyi., K. Fischer.:
Changes in biogenic amine content in pork meat during storage
COST 917 " Biogenically Active Amines in Food " Second Workshop "Metabolic Effects of
Biologically Active Amines in Food" 1997 máj. 28 – jun. 1. Badacsonytomaj
Abstract Book, P-5

A. Alarcon -Rojó., É. Gelencsér., M. Polgár., **E. Szerdahelyi.**, Gy. Hajós
Selected groups of meat and meat products in case of protein allergy
ICACI XVI Mexico '97 Cancun
Abstract book p. 254

Gy. Hajós., **E. Szerdahelyi .**, É. Gelencsér., M. Polgár
Cross-reactivity in cow's milk allergy
ICACI XVI Mexico '97 Cancun
Abstract book p. 254

É. Gelencsér., M. Polgár., **E. Szerdahelyi.**, Gy. Hajós
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 p. 255

Szerdahelyi E. Izquierdo-Pulido M.
Biológiailag aktív aminosavak friss és érlelt húsmintákban
Vegyészkonferencia 2000. júl. 5-7. Debrecen

Szerdahelyi E.
A vadhúsok táplálkozási jelentősége
A Magyar Szarvasenyésztők Egyesülete Bemutató Programja 2000 okt.14. Ropoly