



ÉLELMISZER-ALKOTÓK KÉMIÁJA

Jánosi Anna – Horváth-Szanics Enikő – Nagy András
– Némethné Szerdahelyi Emőke – Szabó Erika – Takács Krisztina

■ Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet

janosi.anna@eki.naik.hu | nagy.andras@eki.naik.hu | szerdahelyi.emoke@eki.naik.hu

koppanyne.szabo.erika@eki.naik.hu | szanics.eniko@eki.naik.hu | takacs.krisztina@eki.naik.hu

Bioaktív molekulákra alapozott kutatások a NAIK ÉKI-ben

Második rész

Fehérje- és DNS-alapú vizsgálatok

A NAIK ÉKI-ben folyó kutatásainkról szóló cikkünk második részében az élelmiszer-fehérje és DNS vizsgálatára alkalmas módszereinket, vizsgálati eredményeinket kívánjuk ismertetni. (Az első rész 2018 novemberében jelent meg.)

A fehérjék az emberi és állati szervezetek számára fontos tápanyagforrások, kedvező élettani hatásuk mellett azonban többek között okozhatnak allergiás megbetegedéseket, vagy akár befolyásolhatják egyes tápanyagok felszívódását is. A fehérjék tulajdonságainak (pl. szerkezetük, mennyiségük, funkciójuk, emészthetőségük) monitorozására, mennyiségi meghatározására különböző kutatásokat folytatunk. Emellett vizsgáljuk viselkedésüket az őket ért különböző hatások során (pl. technológiai kezelés, biotikus/abiotikus stressz).

A DNS-molekula a fehérjék aminosavsorrendjét meghatározó örökítő anyag. A DNS kimutatására alapozott vizsgálatok során elsősorban alkalmazott kutatást végzünk, amelynek során vizsgáljuk az adott mikroorganizmusra, növényi vagy állati összetevőre jellemző DNS-szekvencia – mint biomarker – jelenlétét vagy hiányát a különböző növényi és haszonállatokból készült vagy azt tartalmazó élelmiszerekből. A hagyományos és real-time PCR-módszerek használata lehetővé teszi számunkra, növényi, állati eredetű minták faj/fajtaazonosítását, élelmiszer-allergének, élelmiszer-hamisítások kimutatását, starterkulturák és mikrobiológiai szennyezők vizsgálatát.

Fehérjevizsgálati módszerek

Elektroforetikus fehérjeszeparálási módszerek

A NAIK ÉKI-ben több évtizedes hagyománya van az elektroforézis alkalmazásának a fehérjék vizsgálatában, izolálásában, tisztításában, valamint a növényi és állati eredetű fehérjék jellemzésében [1]. A leggyakrabban alkalmazott technikák a poliakrilamid-gélelektroforézis nem denaturáló körülmények között (natív PAGE), illetve denaturáló körülmények között, azaz nátrium-dodecilszulfát jelenlétében (SDS-PAGE), valamint az izoelektromos fókuszálás (IEF), a kétdimenziós gélelektroforézis (2DE; az izoelektromos fókuszálás és az SDS-PAGE kombinációja) és a kapilláris elektroforézises módszerek (CE). Napjainkban egyre nagyobb igény van a nagy hatékonyságú, automatizált és miniatü-

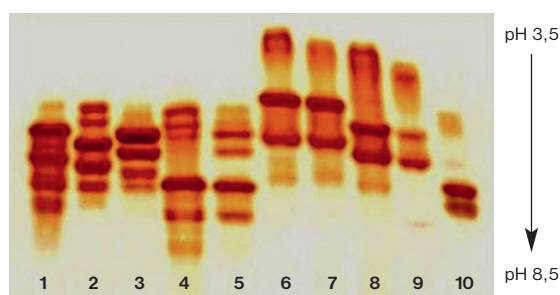
rízált rendszerek fejlesztésére. Ezek a fejlesztések megjelentek az elektroforézis körében is, amikor az 1990-es években kifejlesztették az elektroforetikus chip-technikát, amit „lab-on-a-chip” technikának is neveznek.

Fajspecifikus eredetmeghatározás izoelektromos fókuszálással mioglobinmintázat alapján

Az állatfajok azonosítására a szarkoplazma-fehérjék közül a mioglobinfraekciók vizsgálata különösen előnyös, mivel az egyes mioglobinsávok izoelektromos pontja jellemző a fajokra. A mioglobin önmagában is színes, így az izoelektromos fókuszálással létrehozott mintázat nagy mioglobintartalmú húsok esetén festés nélkül is felismerhető. A mioglobinfraekciók azonban a hemfehérjék peroxidáz-aktivitása alapján pszeudoperoxidáz-festéssel specifikusan és érzékenyen detektálhatók, így a világosabb hús-részekből is kimutathatók. Az **1. ábra** a Magyarországon gyakran fogyasztott húsfélék izoelektromos fókuszálással kapott mioglobinmintázatát mutatja be. Eredményeink szerint a módszer alkalmas friss, érlelt, illetve fagyasztott húsminták elkülönítésére, még rendszertanilag közeli rokonságban álló fajok, például sertés és vaddisznó esetén is. A mioglobinsávok intenzitása összefügg az állattartási móddal, amelyet igazoltunk a nagyüzemi, illetve organikus körülmények között tartott sertések húsmintáinak vizsgálata során [2]. Az erőteljes hőkezelés vagy más fehér-

1. ábra. Különböző állatfajok mioglobinmintázata

1. nyúlhús, 2. csirkehús, 3. pulykahús, 4. libahús, 5. kacsahús, 6. serteshús, 7. vaddisznóhús, 8. marhahús, 9. birkehús, 10. lómioglobin standard





jedenaturációt okozó eljárások azonban határt szabnak a mio-globinmintázatra alapozó fajtaazonosításnak. A kéméletes tartósítási eljárások közé tartozó, nagy hidrosztatikus nyomással történő kezelés alkalmazásakor viszont még viszonylag magas dózis (600 MPa, 5 perc) esetén is csak minimális változást tapasztaltunk a mintázatban [3].

Abiotikus stressz hatásának vizsgálata gabonák fehérjemintázataira

A növényekben bizonyos környezeti hatásokra (fertőzés, növényvédők szerek alkalmazása, UV-sugárzás, fagyás, szárazság, gombák, rovarok) olyan fehérjék termelődnek, amelyeknek a védelmi funkció ellátásában van szerepük. Az ilyenkor képződő stressz-fehérjék jelentős élelmiszer-allergének, az élelmiszeripari eljárások során többnyire megőrzik allergénaktivitásukat, fogyasztásuk egészségügyi kockázattal járhat.

Vizsgálatainkban négy tavaszi árpafajta fehérje-összetételének összehasonlító vizsgálatát végeztük el a stresszhatás függvényében. Az optimális körülmények között termesztett árpaminták magfehérjéit hasonlítottuk össze a szárazság-stressznek kitett mintacsoporttal. A kétdimenziós fehérjetérképek elemzése alapján azt tapasztaltuk, hogy a környezeti stressz hatására a négy vizsgált tavaszi árpafajta fehérje-összetétele nem változott meg a kontrollmintákhoz képest. Eredményeink azt mutatták, hogy a vizsgált évjáratban a talaj-előkészítéssel kapcsolatos környezeti hatások nem okoztak olyan mértékű stresszt az árpanövények számára, hogy befolyásolják azok fehérje-összetételét, illetve a söripar számára fontos tulajdonságait.

Nagyszámú vizsgálatot végeztünk annak felderítésére is, hogy a különböző búza- és tritikáléfajták fehérjemintázata hogyan változik emelt dózisú fungicidkezelés alkalmazását követően. Az emelt adagú fungicidkezelés (tebukonazol és propikonazol hatóanyagú fungicid) kísérleteibe vont fajtát (Tisza búza, Bogó és Markó tritikáléfajták) víz- és sóoldható, alkohololdható, valamint savoldható frakcióinak 2D elektroforetikus képei alapján az érzékeny Bogó tritikáléfajta fehérjemintázatában jelentős eltéréseket tapasztaltunk. A kezelés dimer α -amiláz inhibitorok és endogén α -amiláz/szubtilizin inhibitorok szintézisét idézte elő a Bogó tritikálé mintában, az α -amiláz enzimaktivitás szignifikáns csökkenése mellett. Két endogén inhibitor (α -amiláz, szubtilizin) és két proteináz-inhibitor izoform mennyisége ugyanakkor növekedett.

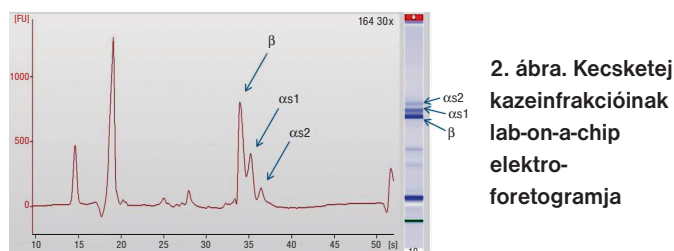
Imidazol-dipeptidek meghatározása kapilláris zónaelektroforézissel

Az imidazol-dipeptidek két legfontosabb képviselője a karnozin és az anszerin, amelyek a gerincesek izom- és idegszövetében fordulnak elő. Ezek a peptidok egyrészt pozitív élettani hatások (antioxidáns, immunerősítő, daganatellenes stb.) miatt jelentősek [4], másrészt mert a hús minőségére (szín, illat, eltarthatósági idő) kedvező hatást gyakorolnak [5]. Az élelmiszerek vagy takarmányok eredetvizsgálatában a karnozin kimutatásával igazolni lehet az állati eredetű alapanyag jelenlétét, a jellegzetes karnozin/anszerin arány pedig lehetővé teszi a baromfihúsok megkülönböztetését az emlőállatok húásától. Intézetünkben kidolgoztunk egy gyors és egyszerű kapilláris zónaelektroforézis (CZE) eljárást karnozin és anszerin meghatározására. Vizsgáltuk továbbá az egyes élelmiszeripari műveletek hatását az imidazol-dipeptidekre, valamint számos hazai és külföldi húsalapú terméket is analizáltunk. Eredményeink azt igazolták, hogy a hústermékek karnozin- és anszerintartalmára az alapanyag minősége van a legnagyobb hatással, a különféle feldolgozási technológiák

(fagyasztás, hőkezelés, liofilizálás, nagynyomású kezelés stb.) azonban nem okoznak jelentős változást [6]. Szimulált gyomor- és bélfolyadékkal végzett kísérleteinkben megfigyeltük, hogy a sertéskaraj eredeti karnozintartalmának több mint fele kimutatható volt az *in vitro* emésztés végén is, ami arra utal, hogy az imidazol-dipeptidek meglehetősen ellenállóak a tápcsatorna fehérjebontó enzimeivel szemben [7].

Lab-on-a-chip technika alkalmazása kazeinfrakciók szeparálására

Az egyes tejfehérje-frakciók mennyisége és megoszlása befolyásolja a tej élelmiszer-technológiai tulajdonságait, másrészt jelenlétük detektálása fontos az élelmiszerfehérje-allergia szempontjából, mivel a tejben lévő kazeinek és a fő savófehérjék a legjelentősebb fehérje-allergének közé tartoznak. Egy állatfajon belül is jelentős eltérések tapasztalhatók a tej egyes kazeinfrakcióinak mennyiségében és arányában. Ezek a különbségek, más tényezők mellett, leginkább a tejfehérjék genetikai polimorfizmusára vezethetők vissza. A kazeinek szeparálását megnehezíti, hogy az egyes fehérjefrakciók molekulatömege között csak nagyon kis eltérés van. Juhtej- és kecsketejmintákat vizsgálva megállapítottuk, hogy a lab-on-a-chip technikával a gélelektroforézishez képest lényegesen hatékonyabb elválasztás és pontosabb mennyiségi meghatározás érhető el, így ebben az esetben ez a technika kedvező alternatívája lehet a hagyományos SDS-PAGE módszernek (2. ábra).



2. ábra. Kecsketej kazeinfrakcióinak lab-on-a-chip elektroforetogramja

In vitro fehérjeemészthetőség meghatározása

Az emésztési folyamatokat szimuláló *in vitro* módszereket széles körben alkalmazzák az élelmiszerek, illetve azok egyes összetevőinek, például fehérjéknek a szájbán-gyomorban-vékonybélben, valamint alkalmanként a vastagbél fermentációs szakaszában mutatott viselkedésének tanulmányozására.

Intézetünkben az enzimes úton lejátszódó humán emésztést *in vitro* modelleztük élelmiszer-mátrixokon/fehérjéken (tészta, szója, garnélarák-tropomiozin), ahol biztosítottuk többek között azt is, hogy az emésztés enzimes szakaszában az emésztőenzimek a szervezet valós fiziológiás körülményeivel közel egyező aktivitással működjenek.

Az élelmiszerben előforduló fehérjéket, vagy akár tisztított fehérjét száj-gyomor-vékonybél fázisokon keresztül vizsgáljuk olyan szimulált nyálfolyadék (pH 7,0)/gyomorfoladék (pH 3,0)/vékonybélfoladék (pH 7,0) felhasználásával, amely tartalmazza a megfelelő elektrolitoldatot, emésztőenzimeket (alfa-amiláz, pepszin, pankreatin), kalcium-kloridot és vizet. Fehérjevizsgálat esetén a szájbeli szénhidrátbontás modellezése elhagyható. A fehérjék emészthetőségéről gélelektroforetikus vizsgálatok alapján tájékozódunk [8].

Az *in vitro* emésztési vizsgálatok jelentősen hozzájárulnak a fehérjék (allergén, antinutritív fehérjék, pl. glutén, szója proteázinhibitorok) tulajdonságainak felderítéséhez, valamint az új fehérjeforrások (pl. garnélarák-tropomiozin) allergénkockázat-bebecslésének monitorozásához is. A fehérje funkcióját, emészthetőségét,



a tápcsatornán való túlélését befolyásolja szerkezete, valamint az emésztése során lejátszódó biokémiai folyamatok is. A fehérjék megtarthatják vagy elveszthetik allergénaktivitásukat, illetve antinutritív tulajdonságuk is megváltozhat.

In vitro módszert alkalmaztunk, amelynek során a biológiai érték javítása érdekében rádiófrekvenciás hőkezeléssel kezelt szójákban (Pannónia Kincse – KTI- és BBI-tartalmú kontroll, Aires – KTI-mentes fajta) lévő biológiai aktív anyagok (Kunitz-KTI és a Bowman Birk-BBI típusú proteázinhibitorok) aktivitásának változását *in vitro* emésztés során vizsgáltuk. Mindkét szójafajta esetében az tapasztaltuk, hogy 110 °C-on már sem a gyomorban, sem a bélfázist követően nem volt kimutatható KTI-, BBI-aktivitás.

Az emésztési módszerrel új fehérjék allergén-predikciós vizsgálatát végeztük izomfehérjében lévő homológ tropomiozin fehérjékkel (rákeredetű ismert allergén – csirkeeredetű nem allergén) történő összehasonlítással. Az emésztés hatását 2 DE gél-ektroforézissel monitoroztuk. Megállapítottuk, hogy a gyomoremésztés az, ami diszkriminálja az allergén és nem-allergén tropomiozin-ortológokat, mivel a csirkeeredetű tropomiozin fehérje részlegesen bomlott le, szemben a pepszines emésztést túlélő rákeredetű tropomiozin fehérjével. A vékonybélben viszont mindkét fehérje teljesen lebomlott. Az emésztési modellel tehát rávilágíthatunk arra, hogy azok a fehérjék, amelyek a gyomoremésztést túlélnek, érzékenységet vagy az egyénnél meglévő allergia kiújulását okozhatnak.

Összességében elmondható, hogy a proteomikai vizsgálatok eredményei új információkkal szolgálhatnak többek között a növénynevelés, a takarmányipar, az élelmiszer-technológia (élelmiszeripari termékfejlesztés) számára, valamint hozzájárulhatnak az allergiás megbetegedések predikciójához, terápiás kezeléséhez.

Enzimkapcsolt immunszorbens vizsgálatok (ELISA-technika)

ELISA-technikával élelmiszer alapanyagokban, illetve élelmiszer-mátrixban lévő fehérjék (potenciális allergének, tápcsatorna-rezisztens, antinutritív, biológiailag aktív, expresszált) jelenlétének/hiányának kimutatását, a jelen lévő fehérjék mennyiségi meghatározását végezzük. Kutatásaink során kiemelten foglalkoztunk a cöliakiás betegséget okozó gluténfehérjék kimutathatóságával, azaz a különböző ellenanyag-alapú, érzékenységu ELISA-glutén detektálási módszerek alkalmazhatóságának vizsgálatával nyers és feldolgozott élelmiszer-modelleken keresztül. A cöliakiás betegek számára ugyanis a gluténmentes diéta tartása rendkívül fontos, éppen ezért az ún. gluténmentes élelmiszerek tényleges gluténmentességének biztosítása elvárt követelmény, egy megbízható és érzékeny ellenőrző módszer használatával. A kvalitatív analízishez jelenleg az ún. monoklonális R5 ellenanyag-bázisú ELISA-módszer ajánlott, de napjainkban a kutatók célja olyan klinikailag is igazolt, validált módszer fejlesztése, amelynél a tervezett ellenanyagának az immundomináns gliadin T-sejtet stimuláló (cöliakiát kiváltó) epitópjait kell felismernie a gliadin fehérjeszekvenciák közül.

ELISA-módszerrel meghatároztuk továbbá a búzafélékben az antinutritív tulajdonságú búzacóra agglutinin (lektin) fehérjék mennyiségét, illetve a tápcsatornában való túlélésüket is [9].

In vivo állatmodellek alkalmazása élelmiszer-fehérjék hasznosulásának és emészthetőségének vizsgálatában

A fehérjék táplálkozási minőségét, hasznosulását legmegbízhatóbban állatkísérletek vagy humán táplálási tesztek eredményei

alapján határozhatjuk meg. Attól függően, hogy mely táplálkozási jellemzők vizsgálatával követjük nyomon a fehérje hasznosulását (testtömeg-gyarapodás, N-forgalom), különböző módszerek kialakítására kerülhet sor. Intézetünkben régóta folyik növényi eredetű (többek között búza, borsó, kukorica, szója) kezeletlen és különböző hőkezeléssel kezelt minták fehérjehasznosulásának vizsgálata patkányetelési kísérletekben. Az állatetelési kísérleti modell egyik korlátja az állatok igény szintjének megfelelő izoenergetikus és izo-protein- (10%) tartalmú táp elkészítése, beállítása. A kukoricaminták alacsony fehérjetartalma (6–8%) miatt nem lehetséges 10%-os fehérjetartalmú felszintetikus tápot beállítani abban az esetben, ha a fehérjeforrás csak a kukoricából származik. Kimutattuk, hogy a búzafehérje mint egyedüli fehérjeforrás felhasználása, szinte csak az endogén fehérjevesztés pótlására elegendő, és nem támogatja az állatok növekedését, ezért nem alkalmas a hőkezelés esetleges pozitív hatásának kimutatására sem. A kukorica és a búza esetében a táp kialakításánál a fehérje bizonyos százalékát egy jól hasznosuló fehérjével (pl. tojásfehérjével) tudtuk helyettesíteni az etetési kísérletekben. A magasabb fehérjetartalmú hüvelyesek (szója, borsó) etetése esetében lehetőségünk volt, a hüvelyes magvakra alapozva, a 10%-os fehérjetartalmú diéta összeállítására. Megállapítottuk, hogy a fehérjehasznosulást ebben az esetben a kiegyensúlyozatlan aminosav-összetétel (kémertartalmú aminosavak hiánya) és az antinutritív anyagok (lektinek, tripszin inhibitorok) jelenléte ronthatja le. A tesztminták hőkezelését követően vizsgáltuk az antinutritív komponensek inaktiválódását is a fehérjehasznosulási kísérletben.

Herbiciddel szemben toleráns transzgenikus búzaetelési kísérleteinknél, ha tojásfehérjével is kiegészítettük a tesztápot, az újonnan expresszált fehérje (PAT) csak kis mennyiségben volt jelen. Ezért a PAT fehérje esetleges toxikus hatásának vizsgálatához más modellre volt szükségünk. Ez esetben a fehérjét koncentráltan tartalmazó só- és vízzoldható frakciót szájon át vagy gyomorszonda segítségével adtuk be az állatoknak, majd egy bizonyos idő elteltével meghatároztuk a tápcsatornában túlélő PAT fehérjét. Kísérleteinkben a PAT fehérjét a gyomormosó folyadékban és a béllumenben sem tudtuk visszamérni, azaz az újonnan expresszált fehérje a tápcsatornában peptidre és aminosavakra bomlott.

A tápcsatornában túlélő és a szervezetbe átjutó tápanyagok befolyásolhatják az anyagcserét, a szervezet fiziológiai aktivitását, ezért a különböző fehérjék, peptidok emészthetőségének, túlélésének vizsgálatára is alkalmas a fentiekben bemutatott modell. Ezen vizsgálatok során azonban figyelembe kellett vennünk azt, hogy az antinutritív komponensek közül a lektinek specifikus cukorkormegkötő képességük miatt képesek a bélfalhoz kötődni, így a gyomormosó folyadék és béllumen vizsgálata mellett a lektinek tápcsatornában lévő túlélését a bélfalhoz kötött lektinekre is ki kellett terjesztenünk [9].

DNS-sokszorozáson alapuló vizsgálati módszerek

Hagyományos PCR-eljárások

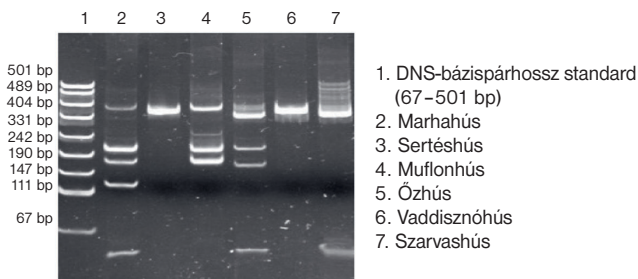
A PCR-rendszerek a sejtek genetikai információját meghatározó DNS kimutatásán alapulnak, melynek három alaplépése a megfelelő tisztaságú DNS izolálása, a DNS-szakaszok polimeráz enzimmel történő felsokszorozása és a keletkezett termékek azonosítása. Különböző haszonállatfajokból származó minták (marha, sertés, csirke, pulyka) egymás melletti szelektív, kimutatására alkalmas PCR-módszert fejlesztettünk. A módszer megalapo-



zása, a DNS-kivonás hatékonyságának vizsgálata és a láncreakciók kimutatási határértékének meghatározása összetett húsmo-dellek alapján történt. A marha- és sertés eredetű összetevők azonosítására a növekedési hormont kódoló, genomiális DNS-szakaszokon alapuló egyszerű PCR-technikát használtunk, ahol PCR-termék csak az adott faj húsmintájának esetében képződött. A baromfieredetű összetevők elkülönítésére a mitokondriális citokróm b fehérjét kódoló rendszert alkalmaztuk. A sokszorozás során minden vizsgálatba vont haszonállatfaj húsából képződött PCR-termék, ezeket restriktív enzimmel hasítva csak a csirke és pulyka esetében kaptunk kisebb, jellemző méretű fragmentumokat. A kialakított módszereket laboratóriumban előállított, nyershús-keverékeken, összetett, vörösrú-típusú és sterilizett konzerv modelleken sikeresen teszteltük [10].

Vadhúsok egymás melletti meghatározására és a haszonállatoktól való elkülönítésére alkalmas PCR-eljárást dolgoztunk ki, egyszerű PCR- és PCR-t követő restriktív enzimes módszerek (PCR-RFLP) kombinációjának segítségével. A nemzetközi irodalomban publikált eredményektől eltérően, a vecsési feldolgozóból származó vaddisznóminták mitokondriális géntípusú PCR-RFLP rendszerben történt vizsgálati eredmények azt mutatták, hogy ennél a populációnál hiányzik a Hinfl restriktív enzimes hasítási hely [11].

Vadhúsokból elkülönítésére példaként a **3. ábrán** látható egy felsokszorozást követő enzimes hasítás gélképe: a vizsgálat segítségével el tudtuk különíteni a muflon- és vaddisznóhúsokat a szarvasfélék mintáitól.



3. ábra. Fagyasztott haszonállat- és vadhúsokból izolált DNS-mintákból származó, a citokróm b fehérjét kódoló mitokondriális géntípusú, Cytb1-Cytb2 primerrel sokszorozott PCR-RFLP reakciótermékek Hinfl enzimes restriktív profilja

Real-time PCR-analízis

A GM-növények társadalmi megítélése nem egységes, ezért biztosítani kell a termeszítőknek és fogyasztóknak a szabad választás lehetőségét, hogy dönthessenek a GM-növények termesztése, fogyasztása ellen, illetve mellette. A mai álláspont szerint az 1830/2003-as európai közösségi (EK) rendelet értelmében a 0,9%-nál nagyobb részarányban genetikailag módosított alkotót tartalmazó termékek jelölése az EU tagállamaiban kötelező. Élelmiszeripari szempontból a GM-szója felhasználása a legjelentősebb, különösen a húsiparban, ahol nagyobb mennyiségben használják a különböző szójakészítményeket fehérjepótlóként, illetve állományjavítóként. Kutatásaink során a Joint Research Center (JRC) által GMO-kimutatásra javasolt mennyiségi vizsgálatokra is alkalmas real-time PCR-módszereket adaptáltuk, és sikerrel teszteltük különböző feldolgozottsági fokú élelmiszereket (párizsi, kolbász májkrém stb.) vizsgálatára.

Ezt a módszert alkalmaztuk patkánytetés kísérletekben Roundup Ready szója 35S promotorének tápcsatornabeli kimu-

tatására és a szervezetbe jutásának vizsgálatára. A kísérlet eredményeit összefoglalva elmondható, hogy az 50% RR-szójat tartalmazó táppal történő etetés során egyes esetekben a gyomorból, bélből, gyomor- és bélfolyadékából detektáltuk a 35S promotert. A vizsgált szervminták és az izomszövet minden esetben negatív volt, ami azt jelenti, hogy a 35S promotor vagy annak kisebb fragmentuma nem jutott át a bélfalon, így nem került be a véráramba [12].

Izotermális PCR-vizsgálatok

Az utóbbi években továbbra is fennálló élelmiszer-hamisítások kimutatására alkalmas gyors módszerek fejlesztésével dolgozták ki az ún. izotermális PCR-eljárást. Ez a technika gyors, akár terepen történő vizsgálatot tesz lehetővé állandó hőmérsékleten, eltérően a korábbi ciklikus hőprofil igénylő PCR- és real-time PCR-eljárások helyett. A NAIK ÉKI-ben az izotermális PCR-módszer kivitelezéséhez kereskedelmi kitéket használtunk, amelyek többféle változatban léteznek és jelenleg elsősorban mikrobiológiai, virológiai vizsgálatokra használatosak. A kiték különböző változataiban közös, hogy a PCR-reakcióhoz DNS-rekombinááz enzimet használnak, ellentétben a hagyományos PCR-módszerrel, amely DNS-polimeráz enzimmel működik. A DNS rekombinááz-enzim révén a DNS-sokszorozás 37–40 °C-on folyik, és 30–40 perc alatt végbemegy a reakció. A jelenlegi rendszerünkben az eredmények kiértékeléséhez tesztcsíkot alkalmazunk. Fejlesztéseink során az általunk használt kereskedelmi kité egyik változatát adaptáljuk különböző hússok faj- és fajtaazonosításához (sertés, azon belül is mangalica, mint fajta, valamint szarvasmarha) és az élelmiszer-allergének közül szója kimutatásához [13].

Összefoglalás

A NAIK ÉKI közel 60 éves fennállása óta számos jelentős hazai és nemzetközi eredmény született. Két részből álló cikkünkben ezek közül ismertettünk néhányat a teljesség igénye nélkül. Mindezek alapján megállapítható, hogy az ÉKI átfogó kutatási irányai (analitikai módszerek fejlesztése, műszerfejlesztés, élelmiszer-technológia, fehérje- és DNS-analítika stb.) nagymértékben hozzájárulnak a hazai élelmiszer-kutatás eredményeihez, valamint az eredmények gyakorlati hasznosításához a termeszítők, a feldolgozók és a fogyasztók körében egyaránt. Ugyanakkor az intézet kutatói mindig nagy hangsúlyt fektettek a kutatói utánpótlás nevelésére, amit az intézetben készített számos diplomamunka, PhD-dolgozat is bizonyít.

IRODALOM

- [1] Gy. Hajós, M. Idei, *Magy. Kém. Lapja* (2001) 56, 364.
- [2] E. Szerdahelyi, Gy. Hajós, E. Dworschák *Nahrung* (1997) 41, 302.
- [3] B. Cseh, E. Szerdahelyi, K. Pásztor-Huszár, B. Salamon, A. Tóth, I. Zeke, G. Jónás, L. Friedrich, *Acta Alimentaria* (2016) 45, 565.
- [4] S. E. Gariballa, A. J. Sinclair, *Age and Ageing* (2000) 29, 207.
- [5] A. K. Das, A. S. R. Anjaneyulu, S. Biswas, *Food Chem.* (2006) 97, 531.
- [6] D. Rémond, M. A. Peyron, E. Pujos, J. L. Sébédio, L. Salt, E. Szerdahelyi, A. Nagy, E. Gelencsér, A. Mackie, *THE DREAM Project Book of Results* (2014) 59.
- [7] E. Marcolini, E. Babini, A. Bordoni, M. Di Nunzio, L. Laghi, A. Maczók, G. Picone, E. Szerdahelyi, V. Valli, F. Capozzi, *J. Agric. Food Chem.* (2015) 63, 4973.
- [8] K. Takács, W. Wiczowski, S. Cattaneo, E. Szerdahelyi, M. Stuknytė, M. C. Casiraghi, S. N. El, I. De Noni, *J. Funct. Foods* (2018) 44, 118.
- [9] Nagy, A., Pauk, J., Takács, K., Gelencsér, É., *Acta Alimentaria* (2008) 37, 159.
- [10] A. Janosi, J. Szamos, *Acta Alimentaria* (2001) 1, 113.
- [11] Meyer R, Höfelein C, Lüthy J, Candrian U, *Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis: a simple method for species identification in food* *J AOAC Int.* (1995) 78(6), 154.
- [12] Ujhelyi G, Vajda B, Béki E, Jakab J, Jánosi A., Neszlényi K., Némédi E., Gelencsér É., *Food Control* (2008) 19, 967.
- [13] A. Zsolnai, R. Szántó-Egész, E. Ferencz-Elblinger, A. D. Huu, A. Jánosi, E. Koppány Szabó, I. Anton, *Acta Alimentaria* (2017) 46, 383.