



# Fehérje- és DNS-alapú vizsgálati módszerek alkalmazási lehetőségei fajspecifikus eredet-meghatározásra tejtermékek esetén

**Szerdahelyi Emőke, Jánosi Anna**

Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ,  
Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet, Biológia Osztály

**I. SAJTAKADÉMIA 2017. Augusztus 23. – Gyöngyös**



Tej és tejtermékek: a hamisítások kockázata viszonylag magas.

a juh- vagy kecsketej helyettesítése tehéntejjel



fajspecifikus eredet-meghatározás

savófehérjék hozzáadása

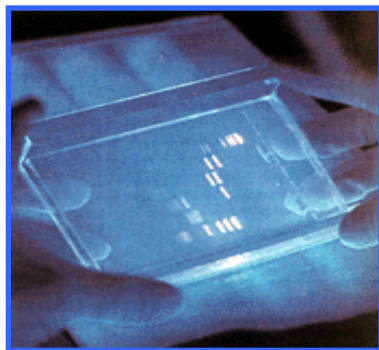


savó/kazein arány meghatározás



## Analitikai módszerek az állatfajok azonosítására tejtermékekben

➤ DNS-alapú: PCR



előnyök - fajtaszintű azonosításra is alkalmas lehet  
korlátok - alacsony a tejelő állatból származó DNS tartalom

➤ Immunanalitikai: ELISA



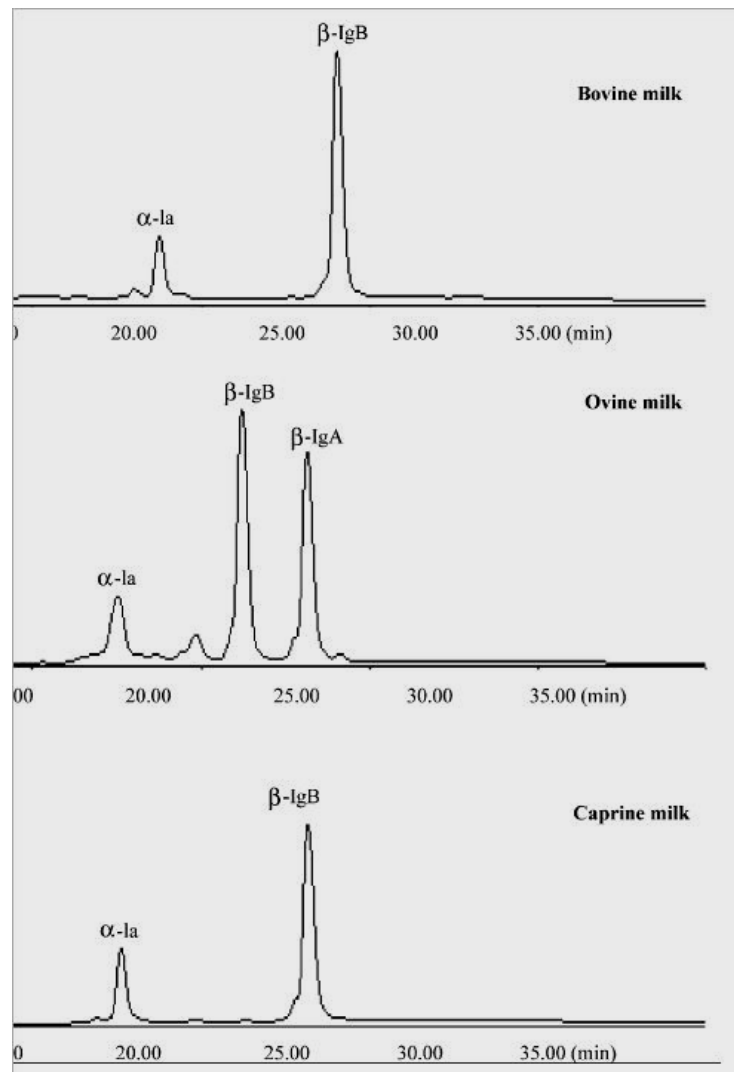
előnyök - gyors, nagy érzékenységű, automatizálható  
korlátok - az antigének érzékenysége a hőre és a proteolízisre



➤ Fehérje alapú: kromatográfia

kazein frakciók ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ ) vagy savófehérjék ( $\alpha$ -laktalbumin és  $\beta$ -laktoglobulin) fordított fázisú, ioncserés, hidrofób kölcsönhatású elválasztása

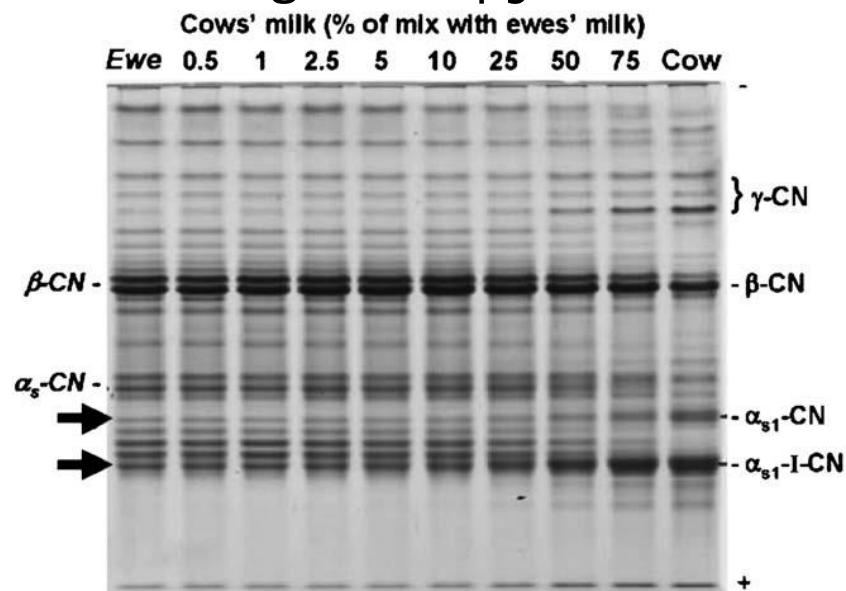
RP-HPLC →



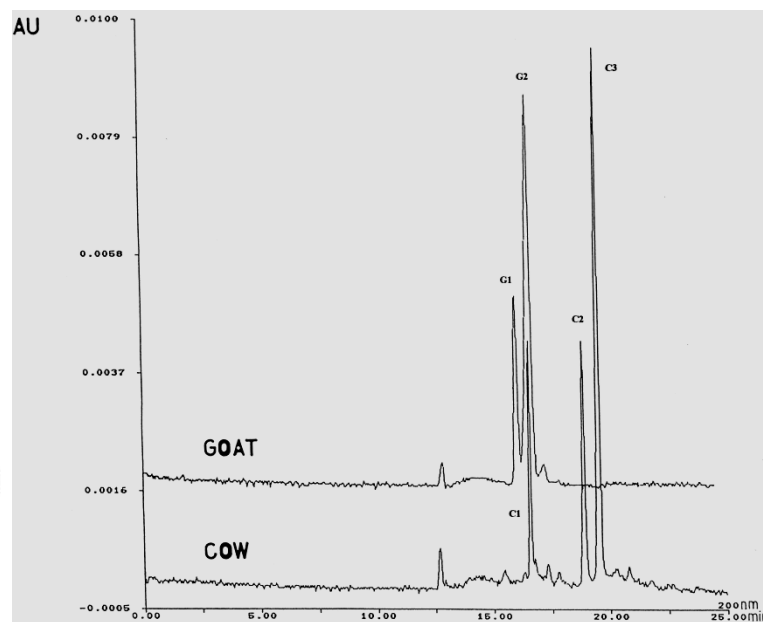


➤ Fehérje alapú: elektroforézis

kazein frakciók ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$   $\kappa$ ) vagy a savófehérjék elválasztása elektroforetikus mobilitásuk, izoelektromos pontjuk vagy molekulatömegük alapján



camembert modellsajtok  
Urea-PAGE analízise



CZE elválasztás



Jelenlegi élelmiszerjogi előírások szerinti referencia módszer:  
 $\gamma$ -kazeinek plazminos emésztését követő izoelektromos fókuszálása

**Táblázat**  
**a 40/1995. (XI. 16.) FM rendelethez**

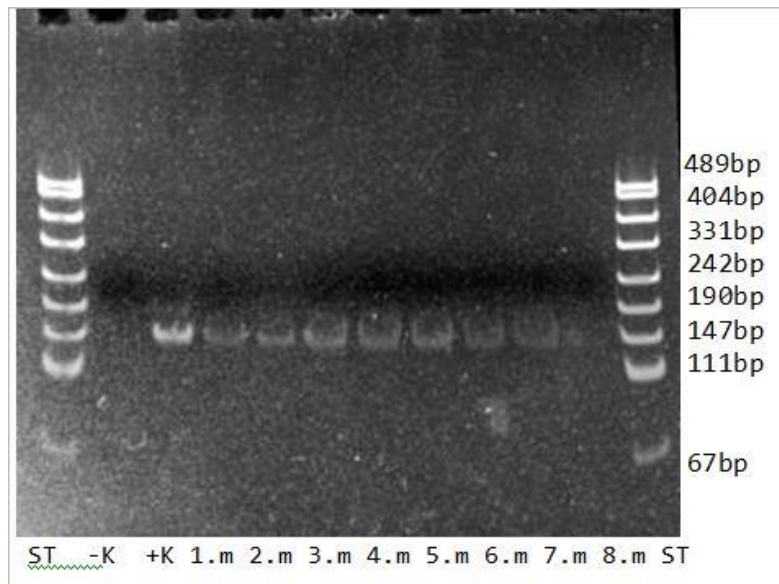
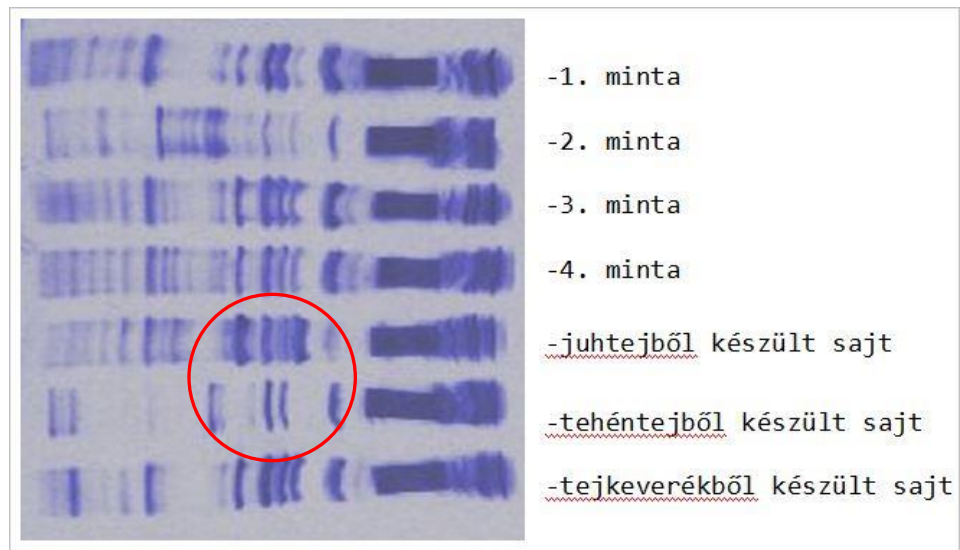
Magyar Élelmiszerkönyv előírás jele	Magyar Élelmiszerkönyv előírás címe	Irányadó közösségi jogszabály száma	Kötelező alkalmazás időpontja
3-1-1081/96	Referenciamódszer juh-, kecske- vagy bivalytejből, illetve azok elegyéből készült sajtokban a tehéntej és a tehéntej-kazein kimutatására	A Bizottság 1081/96 EK rendelete	1999. április 1.

### 3. A MÓDSZER ELVE

- 3.1. A kazeinek izolálása a sajtból és a referenciastandardból.
- 3.2. Az izolált kazeinek feloldása és alávetése a plazminos (EC.3.4.21.7.) bontásnak.
- 3.3. Izoelektromos fókuszálás alkalmazása a plazminnal kezelt kazeinekre karbamid jelenlétében, és a fehérjék megfestése.
- 3.4. A megfestett (a tehéntej jelenlétét bizonyító)  $\gamma_3$  és  $\gamma_2$ -kazeinmintázatoknak az értékelése a vizsgálati mintából nyert mintázatok és az ugyanazon a gélen, a 0 %, illetve az 1 % tehéntejet tartalmazó referenciastandardokból kapott mintázatok összehasonlításával.



## Fajok azonosítása tejtermékekben a NAIK-ÉKI Biológia osztályán



tehéntej kazein kimutatása  
referencia módszerrel (IEF)

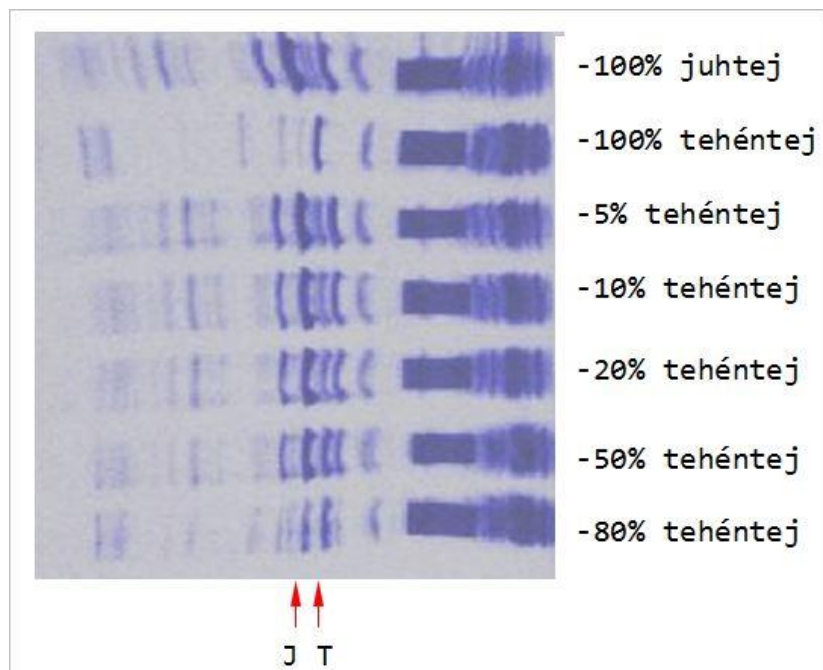
marha-specifikus PCR termékek  
kimutatása (Ca03-04 primerpár)

- A referencia módszerrel kimutattuk a tehéntej jelenlétét különböző sajt és túró mintákban.
- Az eredményt a PCR vizsgálattal megerősítettük.

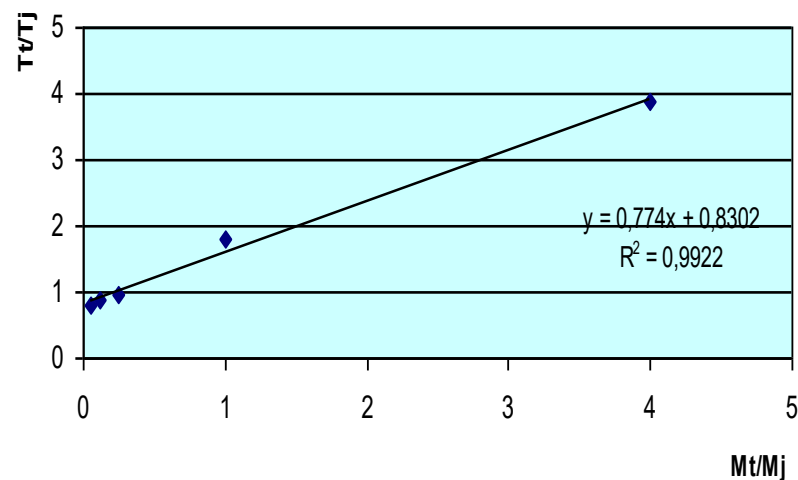
**I. SAJTAKADÉMIA 2017. Augusztus 23. – Gyöngyös**



## Fajok azonosítása tejtermékekben a NAIK-ÉKI Biológia osztályán



tehéntej/juhtej keverékek  
analízise referencia módszerrel



tejkeverék arányok és a  
tehéntejre és juhtejre  
jellemző  $\gamma_2$  kazeinek  
csúcsterületeinek aránya

➤ A módszer alapján a hozzáadott tehéntej mennyisége is meghatározható a termékből.





## Savó/kazein arány meghatározása a NAIK-ÉKI Biológia osztályán

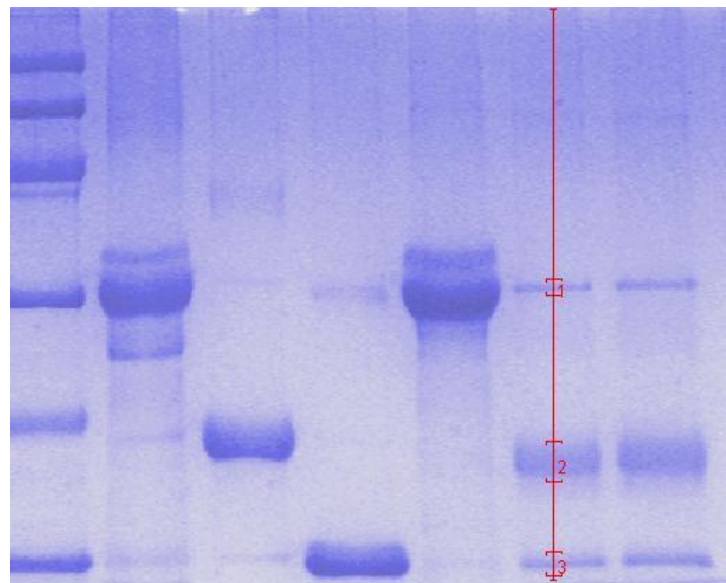
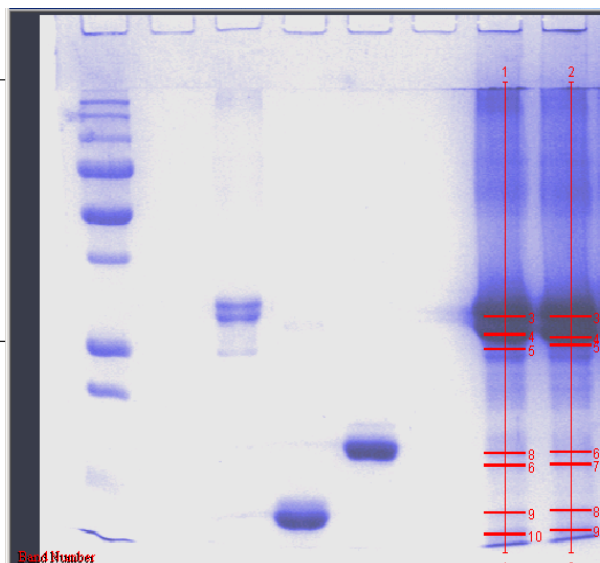
Lane 1

Band #	Band Type #	Relative Front	Peak ODU	Trace ODU x mm
1 - 3		0.500	0.46	2.754
1 - 4		0.537	0.45	1.295
1 - 5		0.569	0.21	0.566
1 - 6		0.816	0.04	0.053
1 - 8		0.790	0.06	0.066
1 - 9		0.917	0.04	0.049
1 - 10		0.963	0.08	0.093

Lane 2

Band #	Band Type #	Relative Front	Peak ODU	Trace ODU x mm
2 - 3		0.500	0.46	2.819
2 - 4		0.543	0.45	1.158
2 - 5		0.560	0.26	0.678
2 - 6		0.787	0.06	0.063
2 - 7		0.813	0.04	0.053
2 - 8		0.911	0.05	0.060
2 - 9		0.954	0.10	0.113

Molecular Weight Calculation Method: Point to Point  
= Known x Extrapolated



Savó/kazein arány tápszer és tejpor mintákban molekulatömeg szerinti elválasztással (SDS-PAGE) és denzitometriás kiértékeléssel.

➤ A savófehérjék hozzáadása a termékhez viszonylag egyszerű gélelektroforézises módszerrel (SDS-PAGE) kimutatható.

# Köszönöm a figyelmüket!



Szerdahelyi Emőke: szerdahelyi.emoke@eki.naik.hu

Jánosi Anna: janosi.anna@eki.naik.hu