

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**ALBERT CSILLA**

**KAPOSVÁRI EGYETEM ÁLLATTUDOMÁNYI KAR**

2010

KAPOSVÁRI EGYETEM  
ÁLLATTUDOMÁNYI KAR  
Kémiai-Biokémiai Tanszék

A doktori iskola vezetője:  
DR. HORN PÉTER  
MTA rendes tagja

Témavezető:  
DR. CSAPÓ JÁNOS  
MTA doktora

**A SZÉKELYFÖLDÖN ELŐÁLLÍTOTT TEJ ÉS  
TEJTERMÉKEK ÖSSZETÉTELE, KÜLÖNÖS  
TEKINTETTEL A TEJ ALAPANYAG  
ÖSSZCSÍRA SZÁMÁRA**

Készítette:  
**ALBERT CSILLA**

KAPOSVÁR  
**2010**

# TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	4
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS .....	8
2.1. A D-aminosavak szerepe és jelentősége a táplálkozásban .....	8
2.1.1. A D-aminosavak előfordulása az élő szervezetekben .....	8
2.1.2. A D-aminosavak kialakulásának mechanizmusa .....	9
2.1.3. Az esszenciális aminosavak racemizációja .....	10
2.1.4. A lúgos kezelés hatása a racemizációra.....	11
2.1.5. Élelmezési eredetű D-aminosavak .....	12
2.1.5.1. A hőkezelés hatása a D-aminosavak kialakulására .....	12
2.1.5.2. A természetes alapanyagok D-aminosav-tartalma .....	12
2.1.5.3. Különböző technológiai műveleteknek alávetett élelmiszerek .....	16
2.1.5.4. Ipari eredetű élelmiszerek és mesterségesen előállított peptidek.....	18
2.2. A D-aminosavak metabolizmusa.....	19
2.3. A D-aminosavak hatása az emberi szervezetre .....	22
2.3.1. A D-aminosavak káros hatásai .....	23
2.3.2. A D-aminosavak toxicitása .....	24
2.3.3. A D-aminosavak hasznos hatásai .....	24
2.4. A hőkezelés hatása a tej összetételére .....	25
2.4.1. A mikrohullámú kezelés elvi alapjai .....	25
2.4.2. A mikrohullámú hőkezelés alkalmazása az ételkészítési eljárások során.....	27
2.4.3. A vízdékony vitaminok károsodása a hőkezelés során .....	29
2.4.4. A Maillard-reakciótermékek kialakulása a hőkezelés során .....	32
2.5. Következtetések a szakirodalmi adatok alapján .....	34
2.5.1. A D-aminosavak szerepe és jelentősége.....	34
2.5.2. A mikrohullámú kezelés hatása a tej összetételére.....	37
3. CÉLKITŰZÉSEK .....	38
4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	39
4.1. Az összcsíraszám és a tej és tejtermékek összetétele .....	39
4.1.1. A vizsgált tejminták, tejmintavétel.....	39
4.1.2. Az összcsíraszám meghatározása.....	40
4.1.3. A vizsgált tejtermékek.....	40
4.1.4. A minták kémiai analízise .....	41
4.1.4.1. Minta-előkészítés .....	41
4.1.4.2. Analitikai módszerek, készülékek, vegyszerek .....	41
A szabad aminosavak meghatározása .....	42
A szabad D-aminosavak meghatározása .....	42
4.2. Különböző pasztörözési eljárások összehasonlítása .....	43
4.2.1. A vizsgált tejminták, pasztörözési eljárások.....	43
4.2.2. Minta-előkészítés és analízis .....	44
4.2.2.1. A tejminták aminosav-tartalmának meghatározása .....	44
4.2.2.2. A tejminták vitamintartalmának meghatározása .....	47

4.2.2.3. A tejminták hidroximetil-furforol-tartalmának meghatározása .....	48
4.2.2.4. A hasznosítható lizin-tartalom meghatározása .....	49
4.2.2.5. A lizinoalanin-tartalom meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával .....	49
4.3. Statisztikai analízis .....	50
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK .....	51
5.1. Az összcsíraszám hatása a tej összes szabad- és szabad D-aminosav-tartalmára .....	51
5.2. A tej összcsíraszámának hatása a tejtermékek összetételére .....	58
5.2.1. A Sana összetételének alakulása a tejpalanyag összcsíraszámának függvényében .....	59
5.2.2. A Dália összetételének alakulása a tejpalanyag összcsíraszámának függvényében .....	64
5.2.3. A Telema és a tehéntúró összetételének alakulása a tejpalanyag összcsíraszámának függvényében .....	68
5.2.4. Az érlelési idő és a D-aminosav-tartalom kapcsolata .....	70
5.3. Magas összcsíraszámú tej összetételének alakulása különböző hőkezelési eljárások hatására .....	71
5.3.1. A tejminták összes aminosav-tartalma .....	71
5.3.2. A fehérje aminosav-összetétele és biológiai értéke .....	74
5.3.3. A tejminták szabad aminosav-tartalma .....	76
5.3.4. A tej B- és C-vitamin-tartalma .....	82
5.3.5. A tej hidroximetil-furfurol-tartalma .....	85
5.3.6. A tej hasznosítható lizin- és lizinoalanin-tartalma .....	87
6. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK .....	89
6.1. Az összcsíraszám hatása a tej összes szabad- és szabad D-aminosav-tartalmára .....	89
6.2. A tej összcsíraszámának hatása a tejtermékek összetételére .....	90
6.3. A magas összcsíraszámú tej összetételének alakulása a különböző hőkezelési eljárások hatására .....	92
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK .....	94
8. ÖSSZEFOGLALÁS .....	95
SUMMARY .....	98
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....	100
10. IRODALOMJEGYZÉK .....	101
11. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK .....	
12. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉN KÍVÜL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK .....	
13. SZAKMAI ÖNÉLETRAJZ .....	

## 1. BEVEZETÉS

Élelmiszereinkben vagy a technológiai beavatkozás következtében, vagy az élelmiszer mikrobiológiai állapotában bekövetkezett változásnak köszönhetően jelentős mennyiségű lehet a D-aminosav-tartalom. A kutatások során kiderült, hogy a tej és tejtermékek D-aminosav-tartalma főként a mikrobiális tevékenység következményei, és létrejöttükben a technológiai beavatkozásnak csak csekély szerepe van. Bizonyosnak tűnik, hogy az egészséges tehenektől származó elegytejben lévő nyomnyi mennyiségű D-aminosavak a szubklinikai mastitisz során előállt bakteriális fertőzés eredményei, melyek a baktériumok anyagcsere-termékeiként kerülnek a tejbe. Megállapítottuk, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható tej D-aminosav-tartalmát okozhatja egyrészt a baktériumokban gazdag első tejsugarak hozzáfejtése az elegytejhez, másrészt a tőgygyulladást okozó baktériumok jelenléte, azok anyagcsere-termékei, illetve a baktérium pusztulása után a sejtfalban levő peptidoglikánok D-aminosav-tartalma. Rájöttünk arra is, hogy a mastitest próba fokozatainak megfelelően, nő az összes szabad- és a szabad D-aminosavak mennyisége a tejben. Vizsgálatainkból nyilvánvaló, hogy a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát elsősorban a tejalapanyag mikrobiológiai állapota befolyásolja.

Köztudott, hogy a D-sztereoizomer aminosavak nem vagy csak nehezen hasznosulnak az emberi szervezetben, és káros hatásukat is többen bizonyították. Ismert az is, hogy a D-aminosavak jelenléte a fehérjében csökkenti az emészthetőséget, és nagyobb mennyiségben növekedési inhibitoroként is hathatnak. Élelmiszer-tudományi szempontból jelentős az a tény is, hogy a D-aminosavak és a D-aminosav-tartalmú peptidek íze más, mint a nekik megfelelő L-

sztereoizomereké, ami befolyásolhatja a tej és tejtermékek ízének és aromájának alakulását is.

Mivel az Európai Unióba újonnan belépett országok esetében a tejfeldolgozók esetenként olyan magas csíraszámú tejből kénytelenek a szabványoknak megfelelő különféle tejterméket előállítani, amelyet az EU országaiban emberi fogyasztásra alig tartanak alkalmasnak, kísérleteink első szakaszában egyrészt a különféle összcsíraszámú tejek szabad összes- és szabad D-aminosav-tartalmát vizsgáltuk. Ennek során szerettünk volna összefüggést feltárni a csíraszám és a tej szabad összes- és szabad D-aminosav-tartalma között, majd arra kerestük a választ, hogy a tejalapanyag szabadaminosav-tartalma, hogyan befolyásolja a belőle készült, rövidebb és hosszabb ideig érlelt tejtermékek szabadaminosav-összetételét.

Székelyföldön, nevezetesen Hargita megyében is, a tejipari vállalatoknak és a tejfeldolgozóknak alapvető problémát jelent a kisk gazdaságokból és a ma még kevés számú mezőgazdasági nagyüzemekből beérkező tej esetenként rendkívül magas csíraszama. Egyes időszakokban nem ritka a milliónál nagyobb csíraszám, sőt esetenként az összcsíraszám a három milliót is elérheti. Ilyen tejalapanyagból rendkívül nehéz jó minőségű tejtermékeket készíteni. Fentiek miatt célul tűztük ki annak megismerését, hogy az alapanyag minősége, nevezetesen összcsíraszama, milyen hatással van a Székelyföldön előállított, savanyítással készült, különféle tejtermékek összetételére. Mivel köztudott, hogy a szabad aminosavaknak, és ezen belül a D-aminosavaknak jelentős hatása van a tejtermékek ízére és aromájára, ezért feladatul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy hogyan változik a tej és a belőle készített különféle tejtermékek szabad- és D-aminosav-tartalma az összcsíraszám függvényében.

Kutatásunk harmadik szakaszában azt vizsgáltuk, hogy a magas csíraszámú tej pasztörözésére lehet-e egy olyan eljárást kidolgozni, ami nem kívánja meg a kívánatosnál magasabb hőmérsékletet és hőntartást, viszont a mikroorganizmusokat tökéletesen elpusztítja. Ezért vizsgáltuk a mikrohullámú pasztörözés során a tejben végbemenő változásokat, mert a hagyományos pasztörözési eljárások mellett az utóbbi időben a mikrohullámú kezelést kezdték el alkalmazni a tej pasztörözésére. Szinte semmit sem tudunk az így előállított tej tulajdonságairól, a mikrohullám hatásáról a tej összetételére. Feladatul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a mikrohullámú kezelés milyen hatással van a tej fehérjetartalmára és a szabadaminosav-összetételére. Vizsgálatainkat az „érzékeny” aminosavakra (Tyr, Lys, Met, Cys) koncentráltuk nézve azt, hogy a mikrohullámú kezelés hatására történt-e jelentős változás ezen aminosavak esetében a hagyományos technológiához hasonlítva.

A természetes élelmiszer alapanyagok, mint amilyen a tej, nyers állapotban nem tartalmaznak jelentős mennyiségben D-aminosavakat, a fogyasztásra való előkészítés folyamán – ilyen lehet pl. a pasztörözés – azonban gyakran vannak olyan körülményeknek kitéve, amelyek racemizációt okozhatnak. Ezért vizsgáltuk a nyerstej-alapanyag, a hagyományos módon pasztörözött, valamint a mikrohullámmal pasztörözött tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát. A vizsgálatok során szerettük volna megállapítani a szabad aminosav változását, a tejfehérje esetleges károsodását, a D-aminosavak kialakulását a hagyományos és a mikrohullámú hőkezelés hatására, valamint összehasonlítani a két pasztörözési eljárás hatékonyságát a tejfehérje minőségének megtartása szempontjából.

Ezt követően elemeztük, hogy a mikrohullámú kezelés milyen hatással van a tej vízdoldható vitamintartalmára. Mivel a hőre a

legérzékenyebbek a C- és B-vitaminok, ezért a C- és a B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>- és B<sub>12</sub>-vitaminok koncentrációjának vizsgálatával teszteltük a mikrohullámú módszert, hasonlítva a hagyományos pasztörözéshez.

Feladatul tűztük ki ezentúl a tej hasznosíthatólizin-tartalmának, a lizinoalanin-koncentrációjának és a Maillard-reakció leggyakrabban detektált reakciótermékének, a hidroximetil-furfurolnak (HMF) a mérését. A Maillard-reakció termékei hozzájárulnak a pasztörözött tej íz- és aromaanyagainak a kialakításához, de jelentős mértékben csökkenthetik a fehérje biológiai értékét, elsősorban a lizin ε-aminocsoportja blokkolásán keresztül.



## 2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A D-aminosavak szerepe és jelentősége a táplálkozásban

#### 2.1.1. A D-aminosavak előfordulása az élő szervezetekben

Az élelmiszerek kisebb-nagyobb mennyiségben tartalmaznak olyan idegen eredetű, nem természetes anyagokat, amelyek befolyásolhatják annak emészthetőségét (*Finley és Schwass, 1983*). Ilyenek például a D-sztereoizomer aminosavak, melyek az L-sztereoizomer aminosavakból képződnek az előállítás folyamán, vagy az élelmiszer mikrobiológiai minőségében beállt változás következtében. Jelenlétük csökkenti az élelmiszerfehérje emészthetőségét és az átalakult aminosav felhasználhatóságát.

*Pasteur* (1852) a bükkönyből előállított aszparaginsavról kimutatta, hogy az optikailag aktív (királis), az ammónium-fumarát hevítésével előállított pedig nem mutat optikai aktivitást. Ezt követően rájöttek arra, hogy az élő szervezet fehérjéit kizárólag L-aminosavak építik fel annak ellenére, hogy a D- és az L-sztereoizomerek (enantiomerek) ugyanazzal a kémiai és fizikai tulajdonsággal rendelkeznek egyetlen kivételével, ez pedig a polarizált fény síkjának az elforgatása. A két sztereoizomer a polarizált fény síkját különböző irányban forgatja el. Az élő szervezet fehérjéinek sztereospecifikus szintézisét (*Yamane és mtsai., 1981*) nem tudták megmagyarázni, és ez a problémakör még ma is foglalkoztatja a tudósokat (*Bada és Miller, 1987*).

Az aminosav-enantiomerek szétválasztására és meghatározására kifejlesztett módszerek tökéletesedésével úgy találták, hogy a D-aminosavak – a korábbi felfogással ellentétben – nagyon sok szervezetben előfordulnak. A baktériumok sejtfalának peptidoglikánjai tartalmaznak például D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint (*Bada és mtsai., 1983; Reaveley és Burge, 1972; Csapó és Henics, 1991*), néhány tengeri féreg és gerinctelen állat sejtfoliadéka fő komponensként

D-aminosavat (*Corrigan, 1969; D'Aniello és Guiditta, 1978; Felbeck, 1985; Matsushima és mtsai., 1984*), néhány tengeri kagylóban pedig a D-aminosav mennyisége az 1%-ot is meghaladhatja (*Felbeck és Wiley, 1987; Preston, 1987*), és a magasabbrendű növények is tartalmazzak D-aminosavakat (*Robinson, 1976*).

Az elmúlt években több módszert dolgoztak ki a bendőből az oltóba, illetve vékonybélbe jutó nitrogéntartalmú anyagok mikrobiális eredetű részének meghatározására (*Csapó és Henics, 1991; Csapó és mtsai., 1991b; Csapó és mtsai., 1995a*). *Csapó és mtsai.* (2001a, b) meghatározva öt növendék bika duodenális chymusának, valamint az ugyanezeketől a bikáktól származó bendőbaktériumok DAPA-, D-Asp- és D-Glu-tartalmát, szoros összefüggést állapítottak meg a bendőbaktériumok nyersfehérje-tartalma és a vizsgált markerek között. Javasolják, hogy a D-aszparaginsavat és a D-glutaminsavat is vonják be a bakteriális fehérje markerei közé.

A hosszú élettartamú emlősök metabolikusan stabil fehérjei nagyobb mennyiségben tartalmazzak racemizációból származó D-aszparaginsavat (*Bada, 1984*), az emberi agy fehér állományának D-aszparaginsav koncentrációja eléri a 3, a gerincvelő tisztított bázikus fehérjéje pedig a 10%-ot (*Man és mtsai., 1987; Fisher és mtsai., 1986*). *Clarke* (1985) bebizonyította, hogy az aszparaginsav *in vivo* racemizálódik az emberi szövetekben, bár a gyors anyagforgalom miatt nem akkumulálódik mérhető mennyiségben.

### **2.1.2. A D-aminosavak kialakulásának mechanizmusa**

A királis aminosavak átalakulhatnak racém keverékké, mely átalakulás reakciómechanizmusa feltételezi az  $\alpha$ -helyzetű szénatom hidrogénjének leszakadását, a planáris karbanion szerkezet kialakulását. A racemizáció aránya függ attól, hogy az aminosav szabadon vagy a peptidláncban kötött formában fordul-e elő, és természetesen leginkább függ a hőmérséklettől és a pH-tól, és az aminosavban előforduló R csoport tulajdonságától (*Bada, 1985*). A szabad aminosavak racemizációját

tanulmányozva *Bada* (1985) és *Steinberg és mtsai.*, (1981) megállapították, hogy 100 °C-on 7 és 8 pH között a szerin racemizációs felezési ideje (az az idő, amikor a D/L arány eléri a 0,33-at) 3 nap, az aszparaginsavé 30 nap, az alaniné 120 nap, az izoleuciné pedig 300 nap. *Liardon és Lederman* (1986) szerint pH=9-nél 83 °C-on kazein esetében az előbbi négy aminosav racemizációs felezési ideje az alábbiak szerint alakult: 16 óra, 19 óra, 11 nap, 57 nap, a szójafehérje esetében pedig (*Friedman és Liardon*, 1985) 75 °C-on 0,1 normál nátrium-hidroxidban: 9 perc, 20 perc, 5 óra, 25 óra.

Amint látható, a különböző aminosavak különböző körülmények között eltérő idejű racemizációs időt mutatnak, de az aminosavak közötti racemizációs sorrend többé-kevésbé változatlan marad. A szerin, a cisztin és a treonin racemizációja nemcsak a vonatkozó D-enantiomert eredményezheti, hanem a fehérjeépítő aminosavaktól eltérő aminosavat is. Pl. a szerin a karbanion közti állapotban gyorsan elveszítheti OH-csoportját dehidroalanin keletkezése közben. A dehidroalanin reakciója a lizin ε-amino csoportjával lizinoalanint eredményez (*Friedman*, 1977; *Maga*, 1984, *Masters és Friedman*, 1980), egy olyan aminosavat amelynek az alanin része racém, a lizin része pedig optikailag aktív. A táplálékfehérjékben ez a reakció keresztkötéseket eredményezhet, ami csökkenti a fehérje emészthetőségét (*Chung és mtsai.*, 1986; *Friedman és mtsai.*, 1981) és a táplálék lizinoalanin-tartalma toxikus hatással is rendelkezik (*Hayashi*, 1982).

### **2.1.3. Az esszenciális aminosavak racemizációja**

Táplálkozási szempontból az esszenciális aminosavak racemizációjának van a legnagyobb jelentősége. Az esszenciális aminosavak D-enantiomerjeinek emészthetőségét és metabolizmusát már régóta vizsgálják. *Neuberger* (1948) és *Berg* (1959) a korai tanulmányokat összefoglaló munkájából kitűnik, hogy az emlősökben az esszenciális aminosavak D-enantiomerjei igen gyengén hasznosulnak, néhány esetben növekedési inhibitoroként hatnak, és főként a vizelettel ürülnek ki. A

jelenlegi vizsgálatok megerősítették a korábbi kutatási eredményeket (*Friedman és Gumbman, 1984; Friedman és Liardon, 1985; Kies és mtsai., 1975; Stegnick és mtsai., 1986*).

Az esszenciális aminosavak racemizációs felezési idejét csak az utóbbi időkben vizsgálták. A pH 7 és 8 között *Bada (1985)* az izoleucin, a leucin és a valin racemizációs felezési idejét 100 °C-on 300 napnak, a fenilalaninét és a tirozinét pedig 50 napnak mérte. Ugyanilyen körülmények között a lizinét *Engel és Hare (1982)* 40 napnak, *Liardon és Lederman (1986)* a triptofánét pH=9-en és 83 °C-on 40 napnak, a treoninét 20 napnak, a ciszteinét pedig két napnak mérték. *Boehm és Bada (1984b)* a metionin racemizációs felezési idejére 100 °C-on és pH 7 és 8 között 30 napot kaptak. A mérési adatokból úgy tűnik, hogy a cisztein különösen hajlamos a racemizációra, míg az alifás oldalláncú aminosavak a legstabilabbak e tekintetben. A legtöbb esszenciális aminosav racemizációs felezési ideje hosszabb, mint az aszparaginsavé.

#### **2.1.4. A lúgos kezelés hatása a racemizációra**

A lúgos kezelésnek vagy hosszabb ideig hőnek kitett élelmiszerfehérjék nagyobb koncentrációban tartalmaznak racemizációból eredő aminosavakat. *Dakin (1908)* volt az első, aki kimutatta, hogy a hőnek és az erős alkáliáknak kitett fehérjék emészthetősége csökken. Most már nyilvánvaló, hogy az emészthetőség csökkenése összefüggésben van a lizinoalanin keletkezéssel és a fellépő racemizációval (*Bunjapamai és mtsai., 1982; Chung és mtsai., 1986; Friedman és mtsai., 1981; Fuse és mtsai., 1984; Hayashi és Kameda, 1980a; Maga, 1984*).

*Pohn és mtsai. (1999)* szerint a lúgos hidrolízissel előállított tollliszt aminosavainak 10–40%-a racemizálódik az előállítási paraméterek függvényében. Megállapították, hogy a toll fehérjét lúgos hidrolízissel fel lehet tární, és egy nagy nyersfehérje-tartalmú és kémiai módszerrel meghatározva kiváló emészthetőségű terméket lehet előállítani, azonban ez a termék rendkívül nagy mennyiségben tartalmaz D-aminosavakat az összes rossz élettani hatásukkal együtt.

### **2.1.5. Élelmezési eredetű D-aminosavak**

Annak ellenére, hogy néhány rovar, féreg és tengeri gerinctelen állat jelentős mennyiségű D-aminosavat tartalmaz – mivel ezek nem fő élelmiszer komponensek az emberiség számára – mennyiségük jelentéktelen, jelentőségüktől ezért eltekinthetünk. Azokban a közösségekben azonban, ahol a tengeri kagylók fontos élelmiszerforrások, a nagy mennyiségben elfogyasztott D-aminosavakat nem csak táplálkozási, hanem toxikológiai szempontból is figyelembe kell venni (*Felbeck és Wiley, 1987*), a tengeri kagylókban ugyanis a D-aminosavak mennyisége az 1%-ot is meghaladhatja. *Preston (1987)* szerint a D-aminosavak mennyisége tengeri puhatestű állatokban 0,11–1,6 mM között változhat 70% víztartalmú testszövetre vonatkoztatva.

#### **2.1.5.1. A hőkezelés hatása a D-aminosavak kialakulására**

Az élelmiszer-kezelések többsége, melyet az íz, az állag vagy eltarthatóság miatt végeznek – beleértve a főzést és a sütést is – hőkezeléssel jár és esetenként alkalikus körülményeket is alkalmaznak. Ez a beavatkozás által indukált racemizáció eredményezi a D-aminosavakat a fehérjékben. *Fuse és mtsai. (1984)*, *Jenkins és mtsai. (1984)*, *Liardon és Hurrel (1983)* és *Masters és Friedman (1980)* kimutatták, hogy néhány technológiai behatásnak alávetett, kereskedelmi forgalomban kapható élelmiszerben nagyobb mennyiségű D-aminosav található. A lizinoalanin szinte mindenütt jelen van az élelmi anyagokban (*Maga, 1984*). Ráadásul az olyan szintetikus előállított termékek, mint az aszpartám dipeptid, különösen hajlamosak a racemizációra (*Boehm és Bada, 1984a*). A lúgos hidrolízissel előállított toll-liszt aminosavainak 10–40%-a racemizálódik az előállítási paraméterek függvényében (*Pohn és mtsai., 1999*).

#### 2.1.5.2. A természetes alapanyagok D-aminosav-tartalma

A tej, a hús és a gabonafélék – melyek nem tartalmaznak jelentős mennyiségben D-aminosavakat – a fogyasztásra történő előkészítés folyamán gyakran vannak olyan körülményeknek kitéve, melyek racemizációt okozhatnak. A tej és tejtermékek a legjobb példák arra, hogy hogyan változhat meg a természetes anyag összetétele (*Man és Bada, 1987*). A legtöbb tejterméket először pasztörözik vagy ultrapasztörözik, melyet követ a homogénezés, és végül egy olyan speciális terméket kapunk, mint a fogyasztási tej, a joghurt vagy a különböző tejfehérje frakciókból kapott sajt. Ez utóbbi két tejterméket baktériumok segítségével fermentálják, ami ugyancsak forrása a D-aminosavaknak. (A következőkben a D-aminosavak koncentrációját minden esetben az alábbiak szerint adjuk meg: %D-aminosav =  $(D/D+L) \times 100$ ).

*Payan és mtsai. (1985)* a tejkezelés hatására bekövetkező változásokat a D-aszparaginsav koncentrációjának mérésével tanulmányozták. A kezeletlen nyers tej tartalmazta a legkevesebb D-aszparaginsavat (1,48%), a kezeléseket növekvő számával pedig nőtt mennyisége (acidofil tej: 2,05%, zsírtalanított tejpor: 2,15%, kefir: 2,44%, sűrített tej: 2,49%, joghurt: 3,12%, tejalapú csecsemőtápszerek: 4,95%). Azok a termékek tehát, amelyek előállításához szükséges a melegítés, akár 5% D-aszparaginsav-tartalmúak is lehetnek. Legnagyobb a D-aszparaginsav aránya a csecsemőtápszerekben, melyek olyan technológiai beavatkozásokon mennek keresztül, mint pl. a porlasztva szárítás vagy a hővel való sterilizálás.

*Gandolfi és mtsai. (1992)* a hőkezelés és a baktériumok hatását vizsgálva a tej szabad és fehérjében kötött D-aminosav-tartalmára megállapították, hogy a nyers tej szabad D-aminosav-tartalma nem nőtt a pasztörözés, az ultrapasztörözés vagy a sterilizálás hatására. A vizsgált tejminták szabad D-alanin-tartalmát 3–8% közöttinek, D-aszparaginsav-tartalmát 2–5% közöttinek, D-glutaminsav-tartalmát pedig 2–4% közöttinek mérték. Ezzel szemben megállapították, hogy a nyers

tejminták szabad D-aminosav-tartalma jelentősen nőtt a 4 °C-on történő tárolás alatt, ezért a D-alanin-tartalmat a tej bakteriális szennyezettségének ellenőrzésére javasolják felhasználni. A tejfehérjében kimutatott D-aminosav-tartalmat a fehérje hidrolízise során bekövetkezett racemizációnak tulajdonítják.

*Palla és mtsai.* (1989) a tejpor szabad D-aszparaginsav-tartalmát 4–5%, D-alanin-tartalmát pedig 8–12% közöttinek találták. A joghurt szabad D-alanin-tartalmát 64–68%-nak, szabad D-aszparaginsav-tartalmát 20–32%-nak, szabad D-glutaminsav-tartalmát pedig 53–56%-nak mérték. Ugyanezek az értékek érett sajt esetében 20–45%, 8–35% és 5–22% között alakultak. Az érett sajt szabad D-fenilalanin-tartalmát 2–13% közöttinek találták, és egy minimális mennyiségű D-leucint is ki tudtak mutatni az érett sajtból. A pörkölt kávé D-aszparaginsav-tartalmát 23–38%, D-glutaminsav-tartalmát 32–41%, D-fenilalanin-tartalmát pedig 9–12% közöttinek találták. Méréseik alapján felhívják a figyelmet arra, hogy nem azok az élelmiszerek tartalmazzak sok D-aminosavat, amelyeket hosszabb ideig tartó hőkezelésnek tettek ki, hanem inkább azok, amelyek baktériumos fermentáción mentek keresztül.

*Bruckner és Hausch* (1990) a tej, a fermentált tej, a friss sajt és a túró szabad D-aminosavait vizsgálva megállapították, hogy jelentős mennyiségű D-aminosav fordul elő mind a nyers tejben mind a belőle készített erjesztett tejtermékekben. Megállapították, hogy a joghurt és a sajt jelentős mennyiségű D-alanint (1,35–2,48 mg/100 g), D-aszparaginsavat (0,31–0,37 mg/100 g) és D-glutaminsavat (1,09–2,13 mg/100,g) tartalmaz, és ezen kívül jelentős lehet még a D-lizin (1,49 mg/100,g) és a D-prolin (2,18 mg/100,g) mennyisége is. Fentiekén kívül találtak még nyomnyi mennyiségben D-valint, D-leucint, D-alloizoleucint és D-szerint is az erjesztett tejtermékekben. A D-aminosavak eredetét elemezve megállapítják, hogy azok legnagyobb részét a mikrobiológiai beavatkozásból, nyers vagy pasztörözött minták esetében pedig a mikrobiális szennyeződésből, esetleg a szubklinikai

tőgygyulladásos egyedek tejének az elegytejhez történő hozzáfejeséből származtathatók.

*Csapó és mtsai.* (1997c) az érett ardrahan ír sajt és a camembert sajt fél cm vastag külső rétegének és belső részének, a dán kék-, az ementáli-, a gouda-, a mozzarella-, a parmezán- és a különböző módszerekkel előállított cheddar sajtok szabad összes aminosav-tartalmát és szabad D-aszparaginsav-, D-glutaminsav- és D-alanin-tartalmát határozták meg. Megállapították, hogy a parmezán és a gouda sajt tartalmazza a legtöbb szabad aminosavat (AS) (39000–24000  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), a mozzarella és a különböző technológiákkal előállított cheddar pedig a legkevesebbet (2400–7400  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), a többi sajt szabad AS-tartalma pedig 13000–19000  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  között változott. A szabad D-aminosavak közül a D-Asp átlagosan 58  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (30,3%), a D-Glu 117  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (15,8%), a D-Ala pedig 276  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (37,2%) koncentrációban fordult elő a különböző sajtokban. A zárójelben lévő számok a D-As-ak %-át mutatják az összes szabad AS százalékában. A D-AS-ak mennyiségében jelentős volt a különbség az egyes sajtok között; a D-As-ak százalékos összetétele pedig a D-Asp esetében 13,9–46,3%, a D-Glu esetében 12,9–26,6%, a D-Ala esetében pedig 16,1–48,1% között változott. A három D-aminosavon kívül a többi D-aminosav csak nyomnyi koncentrációban, a kimutathatóság határán volt jelen a sajtokban. Nagyobb D-aminosav tartalmat mértek azoknál a cheddar sajtoknál, ahol laktobacilusokat is használtak az előállítás folyamán.

Keresve a választ arra, hogy vajon mi okozza a kereskedelmi forgalomban kapható tej D-aminosav-tartalmát, *Csapó és mtsai.* (1995b; 1996-97; 1997b) meghatározták egészséges tehének első tejsugarai, első tejsugaraktól mentes elegyteje, valamint a mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő tejminták szabad D-aminosav-tartalmát. Megállapították, hogy mind az első tejsugarak, mind pedig a beteg tőgyből származó tej jelentős mennyiségben tartalmaz D-Asp-t, D-Glu-t, D-Ala-t és D-allo-Ile-t. A felsorolt aminosavakon kívül a tőgygyulladásos



tőgyből származó tejből még D-Ser-t, D-Pro-t, D-Val-t, D-Leu-t és D-Lys-t is ki tudtak mutatni. Vizsgálataik bizonyították, hogy a kereskedelmi tej D-aminosav-tartalmát az első tejsugarak illetve a szubklinikai masztitiszben szenvedő tehenek teje okozhatja (Csapó és mtsai., 1994; Csapó és mtsai., 1997d).

#### 2.1.5.3. Különböző technológiai műveleteknek alávetett élelmiszerek

A mai modern élelmiszeripari technológiák különféle eljárások során megváltoztatják a fehérje tulajdonságait azért, hogy javítsák ízét, állagát és eltarthatóságát. Előszeretettel alkalmazzák a hővel és lúggal történő kezelést olyan termékek előállítására, melyek speciális tulajdonsággal, formával és funkcióval rendelkeznek. A szójafehérjét például alkáliákkal és hővel kezelik azért, hogy olyan rostos szerkezetű terméket kapjanak a extrúzió folyamán, melyet hús helyettesítőként használhatnak. Hogy a kukoricafehérjéből kukoricapelyhet vagy tortillát kapjanak, szintén lúgos kezelést alkalmaznak.

*Bunjapamai és mtsai.* (1982) a kenyér és a pirított D-aminosav-tartalmát vizsgálva megállapították, hogy maga a kenyér is tartalmaz 0,9–2,4%-ban D-alanint, D-fenilalanint, D-leucint, D-valint és D-metionint. D-aszparaginsav-tartalma volt a legtöbb, 5,6%-kal. Amennyiben a fehérkenyeret 1 perc 45 másodpercig melegítették, és ezt követően csak a felszínét analizálták, akkor a D-aszparaginsav mennyisége 5,6%-ról 10,5%-ra nőtt, míg az összes többi D-aminosav gyakorlatilag változatlan maradt. Ugyancsak *Bunjapamai és mtsai.* (1982) az extrudált szójaliszt D-aminosav-tartalmát hasonlítva az eredeti szójaliszthez, a D-aszparaginsav-tartalom 4,4%-ról 7,6%-ra nőtt, az összes többi aminosav pedig gyakorlatilag változatlan maradt.

Lényegesen nagyobb változásról számoltak be *Friedman és Liardon* (1985), akik a kezeletlen szójafehérje D-aminosav-tartalmát hasonlították olyanhoz, amelyet 3 órán át 65 °C-on 0,1 mólos nátrium-hidroxiddal kezeltek. Míg a kezeletlen szójafehérjében csak nyomokban tudtak kimutatni D-aminosavakat, addig a lúggal kezelt szójafehérje D-

aszparaginsav-tartalmát 27,7%-nak, D-fenilalanin-tartalmát 19,7%-nak, D-leucin-tartalmát 3,1%-nak, D-valin-tartalmát 1,0%-nak, D-metionin-tartalmát pedig 18,2%-nak mérték. Hasonlóan nagyfokú racemizációról számoltak be *Jenkins és mtsai.* (1984), akik a nem hőkezelt, illetve a 4 órán keresztül 85 °C-on, 0,2 mólos nátrium-hidroxiddal kezelt zein aminosav-összetételét hasonlították össze. A hőkezelés során a D-aszparaginsav mennyisége 3,4%-ról 40,2%-ra, a D-alanin mennyisége 0,7%-ról 17,6%-ra, a D-fenilalanin mennyisége 2,2%-ról 31,3%-ra, a D-leucin mennyisége 0,7%-ról 5,0%-ra, a D-valin mennyisége 0,4%-ról 2,9%-ra, a D-metionin mennyisége pedig 0,9%-ról 19,5%-ra nőtt.

*Bunjapamai és mtsai.* (1982) a nyershús és a belőle készült hamburger D-aminosav-tartalmát összehasonlítva megállapították, hogy gyakorlatilag nincs különbség e két élelmiszer D-aminosav-tartalmában. A kísérlet során a hamburger mindkét oldalát 4 percig sütötték, melynek során a serpenyő hőmérséklete 250 °C volt, csak a felszíni részt analizálták. *Fuse és mtsai* (1984) a hőkezeletlen és a 180 °C-on 20 percig sütött szalonna D-aminosav-tartalmát összehasonlítva csak a D-aszparaginsavnál kaptak lényeges változást, ahol annak mennyisége 2,4%-ról 10,7%-ra nőtt. *Liardon és Hurrel* (1983) a nyers csirkehús és a 121 °C-on 4 órán keresztül melegített csirkehús D-aminosav-tartalmát összehasonlítva megállapították, hogy a D-aszparaginsav mennyisége 2,9%-ról 22,4%-ra nőtt, míg az összes többi vizsgált aminosavnál nem volt számottevő a változás. Hasonlóan nagymértékű racemizációt tapasztaltak a hőkezeletlen és a 230 °C-on, 20 percig kezelt kazein aminosav-összetételében *Hayase és mtsai.* (1973, 1975). Kísérleteik során a D-aszparaginsav mennyisége 3,1%-ról 31,0%-ra, a D-alanin mennyisége pedig 1,5%-ról 12,0%-ra nőtt. A hőkezelt termék D-leucin-tartalmát 7,0%-nak, D-valin-tartalmát pedig 4,4%-nak mérték.

A hó vagy a hővel kombinált alkalikus kezelés tehát minden esetben mérhető mennyiségben produkál D-aminosavat. A legnagyobb D-aszparaginsav-tartalma annak a kazeinnek (31%) volt, amelyet 20 percig 230 °C-ra hevítettek fel. A racemizálódott aminosavak

összehasonlítása azt mutatja, hogy legnagyobb mértékű a racemizáció az aszparaginsavnál, de néhány aminosav, mint pl. a szerin és a cisztein, valószínűleg még az aszparaginsavnál is gyorsabban racemizálódnak. Általánosságban elmondható, hogy az esszenciális aminosavak nem racemizálódnak gyorsan, csak ha magas hőmérsékletnek vannak kitéve. De a magas hőmérséklet és a lúgos kezelés kombinációja az esszenciális aminosavaknál is jelentős racemizációval járhat.

Más vizsgálatok is a kezelt élelmiszerek nagy D-aminosav-tartalmáról számolnak be. *Masters és Friedman* (1980) néhány kereskedelmi forgalomban kapható élelmiszer D-Asp-tartalmát vizsgálva megállapították, hogy a texturált szójafehérjében (9%), a szalonnában (13%) és a nem tejeredetű zsiradéokban (17%) igen magas annak aránya. *Finley* (1985) jelentős mennyiségű D-Asp-t talált a búzalisztból készült sós kekszben (9,5%), a búzátésztaiban (11,9%), a mexikói tortillában (11,6%) és a kukoricamáléban (15,4%). A zsírban sült hamburger adatai azt jelzik, hogy a sütés folyamán csak jelentéktelen mennyiségben fordul elő racemizáció ennél a speciális élelmiszernél. A fehérkenyérből készült pirítósnál, a sültszalonnánál és a csirkehúsnál kapott magas D-aminosav arány azt jelzi, hogy néhány élelmiszernél jelentős mennyiségű racemizáció léphet fel a főzés illetve a sütés folyamán.

*Lubec és mtsai.* (1990) a mikrohullámú kezelés hatását vizsgálva az élelmiszerfehérjékre megállapították, hogy 10 percig tartó mikrohullámú kezelés hatására megnőtt a három vizsgált gyermektápszerek cisz-3- illetve cisz-4-hidroxi-prolin-tartalma, és csak a mikrohullámmal kezelt tápszerek tartalmaztak kimutatható mennyiségben D-prolint. A cisz-izomer koncentrációja 1–2 mg/liter volt. Felhívják a figyelmet arra, hogy ha a cisz-izomer épül be a fehérjébe a transz-izomer helyett, akkor ez strukturális, funkcionális és immunológiai változásokhoz is vezethet.

#### *2.1.5.4. Ipari eredetű élelmiszerek és mesterségesen előállított peptidek*

E kategóriába tartozik minden olyan élelmiszer, amit jelentős technológiai kezelésnek vetettek alá, vagy amelyet szintetikusán állítottak

elő (pl. aszpartám). Néhány folyékony élelmiszerben a fehérjét szénhidráttal kombinálják, amely során a fehérje jelentős változást szenvedhet. Jelentős D-aminosav-tartalommal bírhatnak az antibiotikum peptidek (*Bodansky és Perlman, 1969; Shoji, 1978*) és néhány kemoterápiában használt gyógyszer is (*Chakravarty és mtsai., 1983*), amelynek maradékai jelentős D-aminosav-tartalmat eredményezhetnek az élelmiszerekben.

Az irodalmi adatokat értékelve megállapítható, hogy a szintetikus termékek lényegesen több aminosavat tartalmaznak, mint a természetes alapanyagok, és ezek a fő forrásai az élelmiszerek D-aminosav-tartalmának. A szójafehérje alapanyagú folyékony tápszer – melyet egyébként az egészséges élelmiszerek áruházából szereztek be – 13% D-aszparaginsavat tartalmazott, mely lényegesen több volt annál, mint amit a szója alapú gyermektápszerben találtak. *Finley (1985)* beszámol arról, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható fogyasztó – súlyvesztést előidéző – tápszerek, melyeket alkáliákkal kezeltek, 50% D-szerint, 37% D-aszparaginsavat és 26% D-fenilalanint tartalmaztak, és ez a nagymennyiségű D-aminosav veszélyes lehet akkor, ha egyedüli fehérjeforrásként alkalmazzák. Az ilyen szélsőséges esetek viszonylag ritkák, de azért felhívják a figyelmet arra, hogy alkáliával és hővel huzamosabb ideig kezelt élelmiszer esetében az aminosavak nagy része racemizáción mehet keresztül.

*Boehm és Bada (1984a)* az aszpartám édesítőszer racemizációját tanulmányozva beszámoltak arról, hogy mind az aszparaginsav mind a glutaminsav gyorsan racemizálódott neutrális pH-n és 100 °C-on. A racemizáció akkor fordul elő, mikor az édesítőszer ciklikus dipeptiddé alakul át, ami nagyon hajlamos a racemizációra. Azért fontos ezt tudni, mert ha pl. főzés előtt adják az édesítőszert az ételhez, az nagymértékben racemizálódhat.

## 2.2. A D-aminosavak metabolizmusa

Az előzőekben leírtak világosan bizonyítják, hogy D-aminosavak jelentős mennyiségben előfordulhatnak az élelmiszerekben. Mi történik ezekkel a természetestől eltérő sztereoizomerekkel? *Krebs* (1935) óta köztudott, hogy az emlősök rendelkeznek specifikus enzimekkel a D-aminosavak anyagcseréjére. A D-aminosavak elsősorban a D-aminosav oxidáz reakcióson metabolizálódnak  $\alpha$ -keto savak keletkezése közben (*Bender és Krebs*, 1950; *Berg*, 1959; *Burton*, 1945; *Krebs*, 1935, 1948; *Neuberger*, 1948). Ezt követően az  $\alpha$ -ketosavak átmehetnek sztereospecifikus transzamináción, mely az eredeti aminosav L-enantiomerjét eredményezi, ami aztán belép a szokásos anyagcsere folyamatba; vagy egy másik reakcióban közvetlenül lebomlik pl. oxidatív dekarboxilálással. A D-aminosavak átalakulása  $\alpha$ -ketosavakká elsősorban a vesében megy végbe, így az elfogyasztott D-aminosavoknak először a membránokon kell átdiffundálni, hogy metabolizálódhassanak ezen az úton. A transzportműveletek azonban sztereoszelektívek és diszkriminatívak a D-aminosavakkal szemben (*Finch és Hird*, 1960; *Gibson és Wiseman*, 1951; *Schwass és mtsai.*, 1983).

A különböző aminosavak különböző mértékben oxidálódnak a D-aminosav oxidázzal. Az aszparaginsav D-enantiomerje – az az aminosav amely a vizsgálatok szerint az egyik leghajlamosabb a racemizációra – nagyon rossz szubsztrátja a D-aminosav oxidáznak. Ennek ellenére *Dixon és Kenworthy* (1967) szerint az emlősökben megtalálható a D-aszparaginsavra specifikus D-aminosav oxidáz, hiányzik azonban az összes többi aminosavra.

Az esszenciális aminosavak, mint pl. a lizin és a treonin, gyorsabban racemizálódnak mint az alanin, és szintén nagyon rossz szubsztrátjai a D-aminosav oxidáznak. A prolin viszont – mely nem racemizálódik jelentősebb mennyiségben az élelmiszer előállítás során – a lehető legjobb szubsztrátja annak (*Liardon és Hurrel*, 1983). Úgy tűnik tehát, hogy nincs összefüggés a racemizációra való fogékonyság és a D-aminosav oxidázzal történő reakció sebessége között. Ezért állítható,

hogyan az emlősök D-aminosav oxidáz rendszere nem fejlődött ki olyan mértékben, hogy válaszolni tudjon az élelmi eredetű racemizált aminosavak kihívására. *Krebs* (1935, 1948) még bizonytalan volt a D-aminosav oxidáz biológiai funkcióját illetően, ma azonban már általánosságban az a nézet, hogy a D-aminosav oxidáz detoxifikálja azokat a D-aminosavakat, amelyek vagy véletlenül, vagy a baktérium fehérjén keresztül kerültek be oda (*Bender*, 1985). Ezt az a tény is megerősíti, hogy azok a patkányok, amelyek csiramentes környezetben nevelkedtek, sokkal kisebb D-aminosav oxidáz aktivitással rendelkeznek mint azok, amelyek normális környezetben nőttek fel. Ennek ellenére az a D-glutaminsav, ami a baktériumok sejtfalában előforduló peptidoglikán alkotórésze, a legrosszabb szubsztrátja a D-aminosav oxidáznak, és csak nagyon lassan oxidálódik a D-aszparaginsav oxidázzal (*Dixon és Kenworthy*, 1967). Bár a D-aminosav oxidáz enzimek képessé teszik az emlősöket a D-aminosavak metabolizálására, ez az út azonban nem hatékony, és nyilvánvalóan túlterhelt, mert amikor racém aminosavak kerülnek be a szervezetbe, a D-aminosavak nagy része a vizeleten keresztül kiválasztódik (*Neuberger*, 1948; *Berg*, 1959). A szabad D-aminosavak átalakulhatnak racémázok segítségével is racém keverékké vagy a megfelelő L-aminosavvá. Mivel azonban a racémázok elsősorban a baktériumokban fordulnak elő, az emlősökben nem ez az út a D-aminosavak metabolizmusára. Az aminosav transzaminázok is – mai tudásunk szerint – csak a baktériumokban találhatóak.

Az emberi élelmiszerek D-aminosavainak fő forrásai az iparilag előállított fehérjék. Mielőtt az ezekben levő D-aminosavak metabolizálódnának a D-aminosav oxidáz reakcióson, először szabaddá kell válniuk a metabolikus enzimek segítségével. Az élelmiszerfehérjék emésztése az első lépésben szabad aminosavakat és kistagszámú peptideket eredményez (*Bender*, 1985; *Gray és Cooper*, 1971), majd a peptideket a peptidázok hidrolizálják tovább (*Peters*, 1970; *Rosen-Levin és mtsai.*, 1980). Az teljesen nyilvánvaló, hogy a D-aminosavat tartalmazó peptidek ellenállnak az enzimes hidrolízisnek az emésztés

folyamán. Tanulmányok szintetikus peptidekkel azt jelzik, hogy a D-aszparaginsav (*Murray és Clarke, 1984*) és a D-metionin (*Paquet és mtsai., 1985*) még akkor sem szabadul fel a peptidkötésből az enzimes hidrolízis során, ha a mellettük lévő összes többi aminosav L-enantiomer. Számos közlemény beszámol arról, hogy a hő és az alkáli kezelés hatására nagymértékben racemizálódott aminosavak ellenállnak a proteolitikus hidrolízisnek. *Chung és mtsai (1986)* a fenilalanin racemizációja és a fehérje emészthetősége közti összefüggést tanulmányozva megállapították, hogy a racemizáció növekedésével az emészthetőség rohamosan csökken. Mivel a fenilalanin lassabban racemizálódik mint az aszparaginsav, a szerin vagy a cisztein, nyilvánvaló hogy az a fehérje, amely jelentős mennyiségben tartalmaz racemizált aminosavakat, csak részben bomlik le a proteolízis folyamán.

A fehérjék proteolitikus hidrolízisének termékei tartalmaznak racemizált aminosavakat és D-aminosav-tartalmú, kis molekula tömegű peptideket. A di- és tripeptidek keresztüldiffundálnak a membránon, míg a jelenlévő nagyobb tagszámú peptidek egyszerűen kiválasztódnak a bélsár útján. A D-aminosav-tartalmú di- és tripeptidek nem jó szubsztrátjai a D-aminosav oxidáznak (*Burton, 1945; Krebs, 1948*).

A dipeptidek gyorsan ciklizálnak in vitro körülmények között 7-es pH-n ciklikus peptidekké (diketopiperazinná) (*Steinberg és Bada, 1981*). A tripeptidek gyorsan hidrolizálódnak nem enzimatikusan, in vitro, egy belső ammonolízis során, ami ciklikus dipeptideket és szabad C-terminális aminosavat eredményez (*Steinberg és Bada, 1983*). A ciklikus dipeptid igen fogékony az in vivo racemizációra (*Gund és Veber, 1979; Steinberg és Bada, 1981*). Így amennyiben a hidrolitikus folyamat in vivo is előfordulna, akkor az más egyéb D-aminosavak előfordulásához is vezethetne.

### **2.3. A D-aminosavak hatása az emberi szervezetre**

A racemizált aminosavakat tartalmazó fehérjék hosszú időn keresztül történő fogyasztásának hatása az emberi szervezetre még nem eléggé

ismert. *Masters és Friedman* (1980) rámutattak arra, hogy senki sem végzett specifikus kísérletet a racemizált aminosavaknak az emberi szervezetre kifejtett hatásáról, arról, hogy hogyan hat a racemizáció az emészthetőségre és az aminosav hozzáférhetőségére.

### **2.3.1. A D-aminosavak káros hatásai**

A fehérjében kötött D-aminosavak hasznosulása attól függ, hogy a D-aminosavak felszabadulnak-e az L-D, D-L és D-D kötésekéből, és hogy a felszabadult D-aminosavak hatékonyan át tudnak-e alakulni L-aminosavakká. A múlt század elején *Dakin és Dudley* (1913) voltak az elsők akik megfigyelték, hogy a lúggal kezelt kazein nagy része emésztetlenül távozott a kutyák bélsarával. Ezt követően többen meghatározták az alkáliával kezelt, illetve nem kezelt fehérje emészthetőségét. Minden alkalommal csökkent emészthetőséget figyeltek meg a kezelt mintáknál, amit elsősorban a racemizációval és/vagy a lizinoalanin kialakulásával magyaráztak. *Hayashi és Kameda* (1980b) a lúggal kezelt fehérjékben lévő aminosavak racemizációját tanulmányozva beszámoltak arról, hogy kismértékű racemizáció is nagymértékű emésztéscsökkenést idéz elő. A csökkent emészthetőséget azzal magyarázták, hogy a racemizálódott aminosavak nem szubsztrátjai a proteázoknak, és hatással vannak a nem racemizálódott szomszédos aminosavak felszabadíthatóságára is. Így néhány aminosav racemizációja lényeges veszteséget okozhat a környező esszenciális aminosavak tekintetében is, csökkentve a fehérje proteolitikus emészthetőségét.

*Friedman és mtsai.* (1981) vizsgálták a hőmérséklet, az idő és a pH hatását a lúggal kezelt kazein tripszin- és kimotripszin-emészthetőségére. Megfigyelték hogy miközben az aszparaginsav és a fenilalanin emészthetősége csökken, a lizinoalanin keresztkötések és a racemizáció nő. *Bunjapamai és mtsai.* (1982) munkája volt az első, amelyben szét tudták választani a racemizáció és a keresztkötések hatását az in vitro emészthetőségre. Szerintük a csökkent emészthetőséget elsősorban a racemizáció okozza. *Schwass és mtsai.* (1983) szerint egy D-



aminosav már alkalmatlanná teszi a peptidet a szállításra. Szerintük a racemizáció az, ami egyedül csökkenti az in vitro emészthetőséget és az enzimatikusan emésztett fehérje in vivo felvételét.

### **2.3.2. A D-aminosavak toxicitása**

Egy nagyon fontos kérdés, hogy vajon az élelmiszerekben lévő D-aminosavak toxikusak-e. Az rögtön az elején megállapítható, hogy a különböző D- és L-aminosavak ugyanolyan akut toxicitással rendelkeznek, melyet LD<sub>50</sub> értékük is bizonyít (*Gullino és mtsai.*, 1956). Kivételt képez talán a D-prolin, melyről nagyobb letalitást állapítottak meg a csirke esetében, mint az L-prolinról (*Cherkin és mtsai.*, 1978). Az már az előzőekből ismert, hogy a D-prolin a legjobb szubsztrátja a D-aminosav oxidáznak. *Masters és Friedman* (1980) szerint néhány D-aminosav hosszú időn keresztül fejt ki toxicitását. Vizsgálataik szerint az élelmiszerekben lévő D-szerin, lizinoalanin és a különböző lúggal kezelt fehérjék kóros elváltozást idéztek elő patkányok veséjében. A szabad lizinoalanin sokkal nefrotoxikusabb mint a peptidkötésben lévő, ebből következően a lúggal kezelt fehérjékben levő kötött lizinoalanin nefrotoxikus hatása lényegesen kisebb (*Friedman*, 1977). *DeGroot és mtsai.* (1976) szerint a patkányok különösen érzékenyek a lúggal kezelt fehérjék és a lizinoalanin nefrotoxikus hatására, és vizsgálataikból kitűnik, hogy a különböző állatfajok különböző érzékenységgel rendelkeznek e tekintetben.

A lizinoalanin és a lúggal kezelt fehérjékben lévő D-alanin in vitro inhibitorai a karboxi- és aminopeptidázoknak (*Friedman és mtsai.*, 1985; *Hayashi*, 1982). A lizinoalanin részéről a gátlás úgy nyilvánul meg, hogy komplexet képez az enzim enzimreakcióban résztvevő fémionjával (*Hayashi*, 1982). Azt, hogy vajon az élelmiszereredetű lizinoalanin és a D-aminosavak inhibitorai-e a metabolikus enzimeknek, még nem vizsgálták, és még nincs adat a hosszú idejű kezelés hatásáról sem az inhibícióra.

### **2.3.3. A D-aminosavak hasznos hatásai**

A D-aminosavak által okozott csökkent emészthetőség az élelmiszerfehérjékben bizonyos esetben előnyös lehet élelmezési szempontból, feltéve, hogy a proteolitikus emésztés után visszamaradó anyagok nem toxikusak. Néhány napig alkalmazni lehet a racemizált fehérjéket fogyókúra kezelésénél, és az igen alacsony emészthetőség miatt rövid idő alatt jelentős súlycsökkenést lehet remélni. A D-fenilalaninról és a D-leucinról kimutatták (*Cheng és Pomeranz, 1979*), hogy fájdalomcsillapító hatással rendelkeznek, és ezért használják is őket makacs fájdalmak esetén (*Budd, 1983*). A fájdalomcsillapító hatás azon alapszik, hogy inhibíálják a karboxipeptidáz A-t és a hozzá hasonló enzimeket, amelyek résztvesznek az opioid pentapeptid lebontásában az agyban és a gerincagyban (*Budd, 1983*). *Friedman és mtsai. (1985)* beszámoltak arról, hogy az alkáliákkal kezelt élelmiszerfehérjék lizinoalanin- és D-aminosav-tartalma szintén inhibíálják a karboxipeptidáz A-t. Ezek a kutatási eredmények arra engednek következtetni, hogy a racém aminosavak jelenléte az élelmiszerfehérjében hasznos lehet a fájdalom megszüntetésére.

Azt már régebb óta jól ismerjük, hogy a legtöbb antibiotikum peptidnek van D-aminosav szekvenciája. Ezért elképzelhető, hogy a racemizált élelmiszerfehérjék proteolitikus lebontása folyamán olyan peptidok is keletkeznek, melyek rendelkezhetnek antibiotikus tulajdonságokkal.

## **2.4. A hőkezelés hatása a tej összetételére**

### **2.4.1. A mikrohullámú kezelés elvi alapjai**

A mikrohullámú sugárzásnak a 300 MHz – 300 GHz frekvencia tartományba eső elektromágneses hullámokat nevezzük (*Pozar, 1993*), mely az alábbi mikrohullámú tartományt tartalmazza:

- ultra-magas frekvencia: ultra-high frequency (UHF) (0,3–3 GHz),
- szuper-magas frekvencia: super high frequency (SHF) (3–30 GHz),

– extrém-magas frekvencia: extremely high frequency (EHF) (30–300 GHz).

Az élelmiszeripari gyakorlatban a mikrohullámú technika egyik alkalmazási területe a termékek mikrobiológiai biztonságának növelése pasztörözési eljárásokkal. *Pozar* (1993) szerint a mikrohullámú eljárások során elsősorban a 2450 MHz, illetve néhány esetben a 915 MHz-es frekvenciát használták. *Rajkó és mtsai.* (1996) szerint a mikrohullámok energiája a molekulák kötéseinek felbontására nem elegendő, bizonyos körülmények között azonban képes a biológiai szerkezetek módosítására, a sejtmembránok, és néhány molekulák közötti kötések elroncsolására a termikus műveletek (pl. sterilizálás, főzés, tartósítás, ipari sejtbonthatás, fermentálás, enzim-átalakítás stb.) során. A mikrohullámú melegítés során az elektromos tér erőt fejt ki a töltött, vagy elektromos térben polarizálható, dipólussal rendelkező részecskékre (*Barótfi*, 2001). Az elektromágneses tér igen nagy frekvenciával rezeg, ezért a víz és a nagy víztartalmú anyagok, mivel a vízmolekula töltéseloszlását tekintve elektromos dipólus, igen gyorsan melegednek. A nagyfrekvenciájú térben az elektromos mező polaritásával összhangban a dipólusos molekulák olyan gyorsan forognak, hogy a súrlódásuk hőmérsékletemelkedéshez vezet. A kezelt anyag hőmérsékletemelkedése függ a kezelés időtartamától, az anyag méretétől és térbeli elhelyezkedésétől (*Szabó*, 1991).

A mikrohullámú energiaközlés természete miatt az energia elnyelődése egyenletesebb az anyagban, így a hőkiegyenlítés is gyorsabban játszódik le. A mikrohullámú hőkezelés előnye, hogy az eljárás során jelentéktelen a hőveszteség, mert nem a környezet, hanem az anyag melegszik teljes térfogatában. A hőkezelés során a hullámok az élelmiszer felületétől a belseje felé haladnak, melynek során a melegítő

hatás függ az elektromos térerősségtől, a frekvenciától, az élelmiszer dielektromos állandójától (*Sieber és mtsai.*, 1999). *Valero* (2000) szerint az élelmiszer külső felületén a melegítő hatás intenzívebb, mint a belső rétegekben. A 2450 MHz-es frekvencián az energia az anyag belseje irányában 19 mm-enként feleződik.

A mikrohullámú készülékekben az élelmiszerek hőkezelése 100 °C-on lehetséges addig, amíg az élelmiszernak van víztartalma. Ha az anyagban nincs víz vagy már elpárolgott, olyan magas hőmérséklet is keletkezhet, hogy az anyag szénné ég. Ezért a mikrohullámú készülékben csak melegíteni és főzni lehet. A sütéshez, illetve felületi kérgesítéshez (pirításhoz) külön erre a célra alkalmas fűtőtesteket vagy edényeket kell alkalmazni (barnító edény). Mivel a mikrohullámú sütők általában kevesebb hővel működnek, mint a hagyományos főzési módszerek, és rövidebb idő is szükséges az ételek elkészítéséhez, ezért ezek a sütők a legkíméletesebbek a tápanyagtartalom megőrzése szempontjából (*DeLorenzo*, 1994).

#### ***2.4.2. A mikrohullámú hőkezelés alkalmazása az ételkészítési eljárások során***

A mikrohullámú technika élelmiszeripari alkalmazásának ötlete a II. világháború idején merült fel először (*Decreau*, 1985). Az első folyamatos mikrohullámú berendezést Hollandiában helyezték üzembe az 1960-as években, majd ezután egyre elterjedtebben alkalmazták az élelmiszeripar területén. *Lau és Tang* (2002) szerint a mikrohullámú pasztörözés alkalmazásával a rövid hőkezelési és besugárzási idő következtében az élelmiszerek kevésbé károsodnak, ezért számos élelmiszer esetében alkalmazzák.

Az utóbbi években számos munka látott napvilágot, ami a különböző élelmiszeripari anyagok mikrohullámú térben való viselkedésének modellezésével foglalkozott (*Romano és mtsai.*, 2005; *McMinn*, 2006). Megállapították, hogy a spenót a mikrosütőben szinte a teljes folsavtartalmát megőrzi, tűzhelyen főzve viszont 77%-a elvész. A mikrohullámú kezelés a zöldségek vitamintartalmának megőrzése szempontjából kíméletesebb eljárás, mint a hagyományos főzés, és a szalonnában is jelentősen alacsonyabb volt a rákkeltő nitrózaminok szintje, mint hagyományos módon sütve.

A mikrohullámú kezelésnek azonban káros hatásai is vannak. A mikrohullámú sütőben melegített, felengedett vagy főzött ennyivaló a kísérleti alanyok vérében szignifikáns elváltozásokat okozott. Csökkent valamennyi hemoglobin érték, és a HDL és az LDL (koleszterin) aránya is. A mikrohullám hatásának kitett emberi táplálékok vizsgálata azt is igazolta, hogy fogyasztásuk az emberi szervezetben patogén folyamatok kezdetét válthatja ki, így rákos elváltozásokat is előidézhetnek. Ma az általános vélemény, hogy a mikrohullám káros az élő szervezetre, sejtekre, de ez a hatás a sütőn belül marad, s így a benne lévő étel nem jobb és nem rosszabb, mint a hagyományos módon sült, főzött (*Romano és mtsai.*, 2005; *McMinn*, 2006).

A pasztörözéssel kapcsolatos sikerek ellenére a mikrohullámú sterilizálás nem terjedt el a gyakorlatban, aminek az az oka, hogy a sterilizáláshoz szükséges mikrohullámú berendezések kialakítása igen drága, mivel a szükséges magas nyomás, illetve a kívánt egyenletes hőmérséklet elérése bonyolult és drága berendezések fejlesztését igényli (*László és mtsai.*, 2005). Bár a mikrohullám igen hatékony energiaközlési forma, előállításának hatékonysága csak kb. 50–70%, ezért a mikrohullámú kutatások egyik kulcsfontosságú területe a nagy

energiahatékony mikrohullámú berendezések fejlesztése (*Ku és mtsai.*, 2002; *Szabó*, 1991; *Cheng és mtsai.*, 2006).

A mikrohullámú pasztörözés azért is ígéretes módszer, mivel a tapasztalatok szerint a rövid hőkezelési és besugárzási idő következtében az élelmiszerek kevésbé károsodnak, mint a hagyományos hőkezelés során (*Rosenberg és Bogl*, 1987; *Lau és Tang*, 2002; *Wang és mtsai.*, 2003; *Sun és mtsai.*, 2006). *Sieber és mtsai.* (1999) mikrohullámmal kezelve a tejet nem tudtak egészségkárosító hatást kimutatni. *Özilgen és Özilgen* (1991) az *Escherichia Coli* hőpusztulásának kinetikáját mikrohullámú pasztörözéssel vizsgálva arra a következtetésre jutottak, hogy a mikrohullámú kezelés alacsonyabb hőmérsékleten alkalmazható mind pasztörözés, mind sterilizálás esetében. A módszer egyik legnagyobb előnye a hagyományos hőkezeléssel szemben, hogy a termék a csomagolását, lezárását követően is kezelhető, így eltarthatósága lényegesen megnövelhető tartósítószer hozzáadása nélkül is.

#### **2.4.3. A vízoldékony vitaminok károsodása a hőkezelés során**

A tej minden ismert vitamint tartalmaz különböző koncentrációban. A pasztörözött tej tiamin-, piridoxin-, pantoténsav-, nikotinsav- és riboflavintartalma nem változik az évszakok szerint, de a kobalamin esetében kismértékű évszakhatást ki tudtak mutatni. Többek szerint mintegy 7%-kal nagyobb a tavaszi–nyári periódusban a legelőn tartott állatok tejének kobalamintartalma, mint az őszi–téli időszakban az istállóban tartottaké. Úgy tűnik, hogy csökkenő nyersrostbevitel mellett a tej kobalamintartalma jelentősen csökkent. Különböző fajtájú tehének tejének B-vitamin-tartalmában, a riboflavin kivételével, nem találtak különbséget.

A riboflavin (laktoflavin) a tejben főleg szabad formában fordul elő, míg más táplálékokban kötött állapotban található. A riboflavin 20%-a a tejben flavin-mononukleotidként vagy flavin-adenin-dinukleotidként fordul elő fehérjéhez kötve. A B<sub>12</sub>-vitamin a tejben öt különböző kobalamin formában fordul elő, de az adenozil- és hidroxikobalamin forma a legnagyobb jelentőségű. 95%-a fehérjéhez, főleg a savófehérjéhez kötött, míg szabad formában csak nyomokban mutatható ki a kezeletlen tejből.

A B<sub>6</sub>-vitamin a tejben főleg piridoxál formában található, de sok tejtermék több piridoxamint is tartalmaz. A folsav főleg szabad formában található; az inozit részben a lipidekhez kötött. A B-vitamin-tartalmat csak nagyon kis mértékben lehet a takarmányozással befolyásolni. Kivétel ez alól a B<sub>12</sub>-vitamin, aminek a koncentrációja a tejben a takarmányhoz való kobaltadagolással növelhető. Mindezek ellenére a tejben magasabb biotin-, pantoténsav- és B<sub>12</sub>-vitamin-tartalmat találtak istállózott tartásnál, és magasabb volt a folsav koncentrációja, amikor az állatok a legelőn voltak (*Csapó és Csapóné, 2002*).

A nyerstej C-vitamin-tartalma jelentős, azonban a fogyasztói tej hőkezelése során ennek egy része elbomlik (*Csapó és Csapóné, 2002*). A kereskedelmi tej mind aszkorbinsavat, mind dehidro-aszkorbinsavat tartalmaz; a két anyag mennyisége függ a tejkezeléstől, a tej korától, a megvilágítástól, a réztartalomtól, valamint a hőkezelés és a tárolás hőmérsékletétől. A tehéntej C-vitamin-tartalma több mint 20 mg/kg, de az előzőekben felsoroltak miatt a kereskedelmi tej ritkán tartalmaz 10 mg/kg-nál többet.

Zöldségek és gyümölcsök C-vitamin-tartalma friss állapotban a legnagyobb, a különböző hőkezelési eljárások kisebb-nagyobb mértékben csökkentik azt. Általánosságban elmondható, hogy a bő folyadékban

főzés okozza a legnagyobb vízoldható vitaminvesztést, és a mikrohullámú főzésnél marad a legtöbb C-vitamin a gyümölcsökben és a zöldségekben. Ajánlatos ezért e termékeket nyersen vagy rövid ideig hőkezelt formában fogyasztani, mert így biztosítani lehet, hogy a kiindulási C-vitamin mennyisége minimális mértékben károsodjon fogyasztás előtt (*Rab és Farkas, 2003*).

A mikrohullámú készülékekkel igen gyorsan fel lehet melegíteni az élelmiszert, ami elősegíti a vitaminok megmaradását. *Bognár és Molnár* (1999) szerint a vitaminok és ásványi anyagok a mikrohullámú sütőben jobban megmaradnak, mint hagyományos főzésnél. *Sierra és mtsai.* (2000) a mikrohullámú kezelés hatását vizsgálták a tehéntej B<sub>1</sub>- és B<sub>2</sub>-vitamin-tartalmára. Arra a következtetésre jutottak, hogy a magas hőfokon történő mikrohullámú melegítés során nem következik be számottevő B-vitamin-károsodás, szemben az azonos hőfokon, azonos időtartam alatt, azonos hosszúságú pihenő és hűlési szakaszokkal történő melegítéssel. *Sieber és mtsai.* (1996) a hagyományos úton pasztörözött teljes tejben és a mikrohullámú kezelés során vizsgálva a B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>- és B<sub>6</sub>-vitamin-tartalom változását, a B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>- és piridoxintartalomban nem találtak veszteséget, a piridoxáltartalom viszont 3,1%-kal csökkent mindkét hőkezelés során.

*Kidmose és Kaack* (1999) zöldségfélék C-vitamin-tartalmának változását vizsgálva a mikrohullámú főzés során arra a következtetésre jutottak, hogy a C-vitamin-tartalom főzés közben 8,3–19,8% bomlást szenved, szemben a hagyományos főzési eljárásoknál tapasztalt 16,8–60,4%-kal. *Watanabe és mtsai.* (1998) sertés- és marhahúson, valamint tejen végzett mikrohullámú kezelés során azt tapasztalták, hogy a B<sub>12</sub>-vitamin-vesztesség 40%-os, és emellett a B<sub>12</sub>-vitamin két bomlástermékét is sikerült kimutatniuk.



*Pohn és mtsai.* (2001) húspogácsák B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>- és C-vitamin-tartalmát vizsgálták a mikrohullámú sütés idejének függvényében. A normál méretű húspogácsához 50 mg/100 g koncentrációban hozzákevert B<sub>1</sub>-vitamin 10 perc alatt csak minimálisan változott, 20 perces sütés alatt azonban mintegy 70%-a elbomlott. A B<sub>2</sub>-vitamin úgy tűnik jobban ellenáll a mikrohullámú kezelésnek, hisz 10 perc alatt koncentrációja 50 mg/100 g-ról 43 mg/100 g-ra, 20 perces mikrohullámú kezelés után pedig 35 mg/100 g-ra csökkent. A húspogácsák C-vitamin-tartalmát 10 perces kezelés után 20–22 mg/100 g-nak, 20 perces kezelés után pedig 13–14 mg/100 g-nak mérték. A húspogácsa belsejének és külsejének vitamintartalmában nem találtak lényeges különbséget.

#### ***2.4.4. A Maillard-reakciótermékek kialakulása a hőkezelés során***

A magas hőmérsékleten történő hőkezelés, vagy a hosszú ideig tartó raktározás alatt az aldehidek, ketonok és a redukáló cukrok a Maillard-reakció során reagálnak az aminosavakkal, az aminokkal, a peptidekkel és a fehérjékkel. *Ferrer és mtsai.* (2000) szerint a tejfehérjék közül a  $\beta$ -laktoglobulin az, ami leginkább részt vesz a laktózzal a Maillard-reakcióban, azonban a kazeinnel is létrejöhet ez a reakció. *Van Renterghem és Block* (1996) szerint a Maillard-reakció termékei csak a sterilizált tejben vagy a sűrített tejporban okozhatnak színváltozást, egyéb tejekben csekély a jelentőségük. *Ferrer és mtsai.* (2002) megállapították, hogy a Maillard-reakció során a leggyakrabban azonosított reakciótermék a hidroximetil-furfurol (HMF), amelynek koncentrációja a hőkezelés mértékével nő, és főleg ultrapasztörözött és steril tejekben mutatható ki.

*Csapó és Csapóné* (2002) szerint a HMF a nyers tejben nem fordul elő, és mennyisége a pasztörözött tejben is csak 1  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ .

Koncentrációja az indirekt hőkezeléssel előállított UHT-tejben kissé nagyobb (6–18  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ), míg a direkt hőkezeléssel készült tejben kissé alacsonyabb (2–12  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ). A sterilizett tej HMF-tartalma még ennél is nagyobb.

A Maillard-reakció csak igen kis mértékben fordul elő folyékony tejtermékekben, mert a víz inhibálja a Maillard-reakciót. Termékei étvágykeltő aromaanyagok, ezért jelenlétük kívánatos a különböző ételféleségekben, de a túl magas hőmérsékleten való hőkezelés rossz illatú, illékony anyagok képződésével járhat, amelyek képződése kerülendő. *Boekel* (1998) szerint a Maillard-reakcióban az aldehidek főként aminosavakkal, azok közül is a lizin  $\epsilon$ -amino-csoportjával kapcsolódnak, ezért a lizin különösen érzékeny erre a reakcióra. A reakció termékei (fruktóz-lizin, laktulóz-lizin, furozin és piridazin) az emésztő enzimeknek ellenállnak, ezért csökken a tej hasznosíthatólizintartalma. A normál hőkezelés csak igen csekély veszteséget okoz a lizintartalomban, és még az UHT-kezelés hatása sem számottevő ebben a tekintetben. A lizinvesztés a pasztörözött tejben 1–2%, az UHT tejben 1–4%, a forralt tejben kb. 5%, a sterilizett tejben 6–10%, a sűrített tejben pedig kb. 20%. Mivel a tej eredeti lizintartalma magas, az UHT-tejekben a csekély veszteség gyakorlati szempontból elhanyagolható, tehát csak a magas hőmérsékleten, hosszú ideig tartó hőkezelés okoz számottevő veszteséget a hasznosíthatólizintartalomban.

*Ferrer és mtsai.* (2005) csecsemőtápszerek szabad HMF-tartalmát vizsgálva a tárolás során arra a következtetésre jutottak, hogy az folyamatosan nőtt, és a növekedés a 37 °C-on tárolt terméknel elérte a 600  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  mennyiséget. A fehérjék lúgos kezelése során keletkező származékok közül legnagyobb gazdasági jelentőséggel a lizinoalanin bír. Az első ízben szójaizolátumban kimutatott vegyület prekursora a cisztein

lebomlásából keletkező dehidroalanin. *Csapó* (2006) szerint a lizinoalanin (LAL) hatására a kísérleti patkányok veséjében a hámszövet sejtjeinek sejtmagja, valamint DNS- és fehérjetartalma megnőtt. A nephrocytomegalia tünetei már az első etetési hét után jelentkeztek a vesetubulusok sejtjeinek fokozott osztódásában. A vesekárosodási tünetek a patkánytörzstől függően 500–1000 mg/kg LAL etetéskor jelentkeztek. A LAL vesekárosító hatása nem tekinthető karcinogén jellegűnek, mert egy kétéves kísérlet alatt *DeGroot és mtsai.* (1976) 200 mg/kg LAL-tartalmú takarmánnyal etetett patkányokon nem tapasztaltak rákos tüneteket, sőt nephrocytomegalias tüneteket csak szintetikus LAL adagolása esetén tudtak kimutatni. A LAL hatását a különböző dietetikus faktorok jelentősen befolyásolhatják, és a LAL-t nem tartalmazó védő fehérjék ellensúlyozhatják a LAL hatását. Úgy tűnik, hogy a szabad, illetve oligopeptid formában található LAL toxicitása jóval nagyobb, és a fehérjékben kötött LAL toxicitásának érvényre jutását akadályozhatja a fehérje emészthetőségének csökkenése, ami a keresztkötések kialakulása miatt következett be. Az emberi táplálkozásban használt élelmiszerek az állatkísérletekben használtakhoz képest alacsony LAL-tartalmúak, ezért ezek semmiféle egészségügyi kockázatot nem jelentenek. Nincs adatunk arról, hogy a különböző hőkezelési eljárások hatására hogyan alakul a tej LAL-tartalma.

## **2.5. Következtetések a szakirodalmi adatok alapján**

### **2.5.1. A D-aminosavak szerepe és jelentősége**

A szakirodalmi adatokat áttekintve megállapítható, hogy a pár évtizeddel ezelőtti állásponttal ellentétben a D-aminosavak szinte az élet minden területén megtalálhatók, és különösen jelentős mennyiségben fordulnak elő táplálékainkban. A D-aminosavak előfordulásával különösen ott kell

számolni, ahol az élelmiszert magas hőkezelésnek, lúgos kezelésnek, esetleg e kettő kombinációjának vetik alá, illetve ott, ahol az élelmiszer valamilyen bakteriális fermentáción megy keresztül.

A D-aminosavak kialakulhatnak *in vivo* és *in vitro* racemizáció során is, amikor az  $\alpha$ -helyzetű szénatomról lehasad a hidrogén, és amelyet követően a planáris karbanion rekombinációja mindkét enantiomert eredményezheti. Különösen számottevő a racemizáció a lúgos kezelések során, hisz a lúgos környezet segíti az  $\alpha$ -helyzetű szénatomon lévő hidrogén eltávolítását. Megállapítható az is, hogy az esszenciális aminosavak racemizációja nem különbözik lényegesen a nem esszenciális aminosavakétól. Különösen gyorsan racemizálódik a féligesszenciális cisztein, és gyakorlatilag nem kell számolni az alifás oldalláncú esszenciális aminosavak racemizációjával az ételkészítési eljárások során.

Alapélelmiszereink, illetve a nyers élelmiszer-alapanyagok, néhány rovar, féreg és gerinctelen állat kivételével, jelentős mennyiségben D-aminosavakat nem tartalmaznak. A technológiai műveletek során azonban a D-aminosav-tartalom jelentős mennyiségben megnőhet. Tej és tejtermékeknél a D-aminosavak mennyisége különösen ott számottevő, ahol az élelmiszer-előállítás során tejsavbaktérium kultúrákat alkalmaztak, melyek anyagcseretermékeként kerülne be a D-aminosavak az élelmiszerbe. Különösen magas lehet az egyes hosszú ideig érlelt sajtok D-aminosav-tartalma. Megállapították azt is, hogy a tej és tejtermékeknél az első tejsugarak, valamint a gyulladásozó tögyből származó tej tartalmaz jelentős mennyiségben D-aminosavat.

A technológiai műveletek során, a lúgos kezelésen kívül, számottevő D-aminosavat eredményezhet a piritás és a pörkölés, melyet magas hőmérsékleten végeznek. A hővel kombinált alkalikus kezelés

esetében mindig kell D-aminosavakkal számolni, és a mikrohullámú kezelés is okozhatja egyes aminosavak racemizációját. Jelentős D-aminosav források lehetnek az iparilag előállított élelmiszerek, elsősorban az aszpartám édesítőszer.

A D-aminosavaknak az emberi szervezetben először fel kell szabadulni a peptidkötésekből, azonban a fehérjebontó enzimek a D-aminosavak melletti és a közvetlen környezetükben lévő peptidkötéseket nem tudják bontani, sőt elképzelhető, hogy egy D-aminosav az előtte és az utána következő 3-3 L-aminosav felszabadulását is lehetetlenné teszi. A D-aminosavak és a D-aminosav-tartalmú peptidek a sejtmembránon nem, vagy csak nehezen tudnak áthatolni, így a bélsárral ürülnek. A felszívódott aminosavak a vesében a D-aminosav oxidázzal oxo-savakká alakulnak, melyek vagy részt vehetnek a metabolizmusban, vagy visszaalakulhatnak L-aminosavakká. Amennyiben nagymennyiségű D-aminosav kerül a szervezetbe, a szervezet D-aminosav oxidáz rendszere túlterhelt lesz, és nem tud megbirkózni a D-aminosavak jelentette kihívással. A D-aminosavak átalakulásának másik lehetséges útját a racemázok jelentik, ezek azonban nem, vagy csak igen korlátozottan működnek az emberi szervezetben.

A vonatkozó szakirodalom áttanulmányozása során nem talákoztunk olyan közléssel, amely a csíraszám alapján vizsgálta volna a tej, illetve a belőle készült tejtermékek D-aminosav-tartalmát. Találkozhattunk viszont több olyannal, amelyből világosan kitűnik, hogy a baktériumok sejtfalának alkotói, a D-aszparaginsav, a D-glutaminsav és a D-alanin, egyrészt a baktériumok anyagcseretermékeiként kerülhetnek a tejbe, másrészt a baktérium pusztulása után a lízis következtében szabadulnak fel.

### ***2.5.2. A mikrohullámú kezelés hatása a tej összetételére***

A mikrohullámú kezelést az utóbbi időben elterjedten alkalmazzák a különböző ételkészítési eljárások során, a mikrohullám hatásáról azonban a D-aminosavak kialakulására alig rendelkezünk szakirodalmi adattal. Egyértelműnek tűnik, hogy a mikrohullámú sütőben történő ételkészítés nem javasolt, hisz a hő és a mikrohullámú energia együttes hatására, egyes irodalmi adatok szerint, jelentős összetételbeli változás állhat elő. Javasolt viszont a mikrohullámú sütőben történő rövid ideig tartó felmelegítés, hisz a mikrohullám energiája jó hatásfokkal alakul át víztartalmú ételek kezelésekor hőenergiává.

A hosszabb ideig tartó mikrohullámú hőkezelés során elképzelhető racemizáció, és beszámoltak arról is, hogy a hőre érzékeny vitaminok bomlása is jelentős lehet. Ennek ellenére a többi ételkészítési eljáráshoz viszonyítva rövid ideig végzett mikrohullámú kezelés a vitaminok jelentős részét megőrzi az ételkészítési eljárás során. Nincsenek adatok a mikrohullámú kezelés során bekövetkező aminosav veszteségről, az aminosavak racemizációjáról, a hasznosítható lizintartalomban beálló változásokról, a lizinoalanin kialakulásáról és a hidroximetil-furfurol képződéséről.

### 3. CÉLKITŰZÉSEK

A disszertáció célkitűzései az alábbiak voltak:

*1. A különböző összcsíraszámú tejek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmának vizsgálata.*

*2. A különböző összcsíraszámú tejek hatásának vizsgálata a tejtermék összetételére.*

2.1. A Sana összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében.

2.2. A Dália összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében.

2.3. A Telemea és a tehentúró összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében.

*3. A magas összcsíraszámú tej összetételének vizsgálata a különböző hőkezelési eljárások hatására.*

3.1. Aminosav-összetétel, biológiai érték.

3.2. Szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalom

3.3. C- és B-vitamin-tartalom

3.4. Hasznosítható lizin-, lizinoalanin- és hidroximetil-furfurol-tartalom.

## 4. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1. Az összcsíraszám és a tej és tejtermékek összetétele

#### 4.1.1. A vizsgált tejminták, tejmintavétel

Kísérleteink során különböző csíraszámú tejek D- és L-aszparaginsav-, D- és L-glutaminsav-, valamint D- és L-alanin-tartalmát határoztuk meg, és számoltuk a D-aminosav-enantiomerek részarányát a vizsgált összes aminosav-tartalmon belül. A különböző csíraszámú tejmintákat és a belőlük készült tejtermékeket két szakaszban gyűjtöttük egy székelyföldi tejipari vállalattól. Kísérleteink első szakaszában 2006. áprilisában olyan tejmintákat tudtunk gyűjteni, amelyeknek összes csíraszama 1,23–2,95 millió között változott.

Kísérleteink második szakaszában 2007. novemberében és decemberében olyan mintákat gyűjtöttünk, melynek összcsíraszama 220 és 390 ezer között változott. A tejipari vállalatnál ebben az időszakban az ilyen csíraszámú tejből állították elő a joghurtot, a Sana-t, a tehéntúrót, a Telemea-t, valamint a Dália és a Rucar típusú sajtokat. A minták elegytej minták voltak, amelyből a vállalat az említett tejtermékeken kívül a fogyasztási tejet is előállította. 2007-ben a tejbeszállítók higiénés viszonyai olyan mértékben javultak, hogy a tejipari vállalattól 390 ezer összcsíraszámnál nagyobb csíraszámú tejet, valamint belőle készült tejterméket már nem tudtunk beszerezni. Ebben az időszakban a legjobb minőségű elegytej minta még mindig 220 ezres összcsíraszámmal rendelkezett, ezért kontrollként a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának szarvasmarhatelepéről származó 100 ezernél kisebb összcsíraszámú tejet tekintettük, melyet egy 10.000 liter körüli laktációs tejtermeléssel rendelkező, mintegy 100 darab holstein-fríz tehén elegytejéből vettünk. A tejmintákat, a mintavételt és az összcsíraszám



meghatározását követően, azonnal  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra hűtöttük, és ezen a hőfokon tartottuk a kémiai analízisre történő előkészítésig.

#### ***4.1.2. Az összcsíraszám meghatározása***

A mikrobaszám vizsgálatára közvetlen baktériumszámlálást alkalmaztunk. A steril kémcsőbe vett tejmintát alaposan összekevertük, majd tízszeres hígítást készítettünk (a hígító oldat 0,85%-os nátrium-klorid, melyet előzetesen autoklávban sterileztünk). A pasztórozott tejminta  $1\text{ cm}^3$ -ét bemértük  $9\text{ cm}^3$  steril hígító vízbe, majd az így előkészített és alaposan homogenizált hígításból  $1\text{ cm}^3$ -t pipettáztunk a táptalajjal ellátott steril lemezes Petrifilm lapkára. A Petrifilm lapkát 24 órán át  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk, majd telepszámláló segítségével a kifejlődött telepeket közvetlenül megszámláltuk.

#### ***4.1.3. A vizsgált tejtermékek***

A székelyföldi tejipari vállalattól joghurtot, Sanát, tehéntúrót, Telemeát, Dalia és Rucăr típusú sajtot kaptunk analízisre. A vállalat dokumentációjából kiderült, hogy melyik tejterméket milyen átlagos összcsíraszámú tejből állították elő, ezért a vizsgált tejtermékeket a csíraszám függvényében egyenként csoportosítani tudtuk. A vizsgált tejtermékek közül a tehéntúró, a joghurt, a Sana és a Telemea rövid ideig, míg a Dalia és Rucăr típusú sajtok hosszabb ideig érlelt tejterméknek számítanak. A vizsgált tejtermékeket a román szabványok, illetve leírások, valamint a higiéniai rendszabályok betartásával állították elő.

#### **4.1.4. A minták kémiai analízise**

##### **4.1.4.1. Minta-előkészítés**

A minta-előkészítést és az analitikai méréseket a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Kémiai-Biokémiai Tanszékén végeztük. A tejmintákat felolvasztás és 30 °C-ra történő felmelegítés után 10 percig 8000 g-n centrifugáltuk, eltávolítottuk a tej alakos elemeit, és elvégeztük a tej zsírtalanítását is. Ezt követően 50 cm<sup>3</sup> mintához 50 cm<sup>3</sup> 25%-os triklór-ecetsavat hozzáadva 20 percig állni hagytuk, a kivált csapadékot 10 percig 10000 g-n centrifugáltuk. A kapott felülúszó pH-ját 4 M-os nátrium-hidroxid-oldattal 7-re állítottuk be mind a szabadaminosav-, mind a szabad D-aminosav-tartalom meghatározásához. Az így kapott oldatokat liofilezővel 10 °C-os tálcáfűtést alkalmazva beszárítottuk, majd a szabadaminosav-tartalom meghatározásához a beszárított anyagot 10 cm<sup>3</sup> (pH=7) nátrium-acetát pufferben, a szabad D-aminosavak meghatározásakor pedig 1 cm<sup>3</sup> bidesztillált vízben oldottuk fel. Az így előkészített mintákat ugyancsak –25 °C-on tároltuk az analízisek megkezdéséig. Tejtermékek analízise esetén azokból annyit homogéneztünk desztillált vízzel, hogy a kapott keverék szárazanyag-tartalma a tejhez hasonlóan 12–15% közé essen. Ezt követően a teljesen tejszerű homogenizátumokkal úgy jártunk el, mintha azok tejminták lettek volna.

##### **4.1.4.2. Analitikai módszerek, készülékek, vegyszerek**

A szabadaminosav- és a szabad D-aminosav-tartalom meghatározása során a származékképzést és analízist MERCK-Hitachi LaChrom HPLC berendezéssel végeztük. A mérési adatok gyűjtésére és kiértékelésére D-7000 HPLC System Manager szoftvert használtunk. A minta-előkészítéshez, származékképzéshez és az analízishez felhasznált

vegyszerek analitikai reagens minőségűek voltak. Az OPA-t, a TATG-t a Sigmától (St. Louis, USA), a merkapto-etanolt pedig a MERCK cégtől (Darmstadt, Germany) vásároltuk. Az analízis során használt oldószereket (acetonitril, metanol) szintén a MERCK cégtől szereztük be, melyek „HPLC gradient grade” minőségűek voltak. Az elúciós puffereket mono- és dinátrium-hidrogén-foszfátból, valamint nátrium-acetátból állítottuk elő. A pH-t 4 M-os nátrium-hidroxiddal állítottuk be.

#### ***A szabad aminosavak meghatározása***

A származékképzés során az aminosavakból orto-ftálaldehiddel (OPA) és 2-merkapto-etanollal (MeOH) gyűrűs származékot képeztünk. A reakció körülményei az alábbiak voltak: az automatikus mintaadagolás során 465 µl mintát 205 µl borátpufferben (0,4 M; pH = 9,5) összekevertünk 105 µl reagenssel (100 mg OPA-t feloldottunk 9 cm<sup>3</sup> metanolban, 1 cm<sup>3</sup> borátpufferben, majd ehhez hozzáadtunk 100 µl 3 M 2-merkapto-etanolt). Az így kapott oldat három percig állt. A keletkezett reakcióelegyből 20 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. A keletkezett származékokat fluoreszcens detektorral detektáltuk (gerjesztési hullámhossz: 325 nm, emissziós hullámhossz: 420 nm). A szabad aminosavak szétválasztása fordított fázisú (LiChrospher 100 Rp-18, 125 x 4 mm, 4 µm) analitikai oszlopon történt. A meghatározáshoz egy két komponensből (metanol–nátrium-acetát-puffer) álló gradiensrendszert alkalmaztunk. Az áramlás sebessége 1 cm<sup>3</sup>/perc volt.

#### ***A szabad D-aminosavak meghatározása***

A származékképzés során az aminosav-enantiomerekből diasztereomer párokat képeztünk orto-ftálaldehiddel (OPA) és 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glükopiranoziddal (TATG) Einarsson és mtsai. (1987) módszere

alaján. A reakció 1,5 cm<sup>3</sup>-es ampullában ment végbe. Az automatikus mintaadagolás során 465 µl mintát 205 µl borátpufferben (0,4 M; pH = 9,5) összekevertük 25 µl reagenssel (8 mg OPA és 44 mg TATG feloldva 1 cm<sup>3</sup> metanolban). Az így kapott oldat hat percig állt. A keletkezett reakcióelegyből 20 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. A származékokat fluoreszcens detektorral detektáltuk (gerjesztési hullámhossz: 325 nm, emissziós hullámhossz: 420 nm). Az enantiomerek szétválasztása fordított fázisú (Superspher 60 RP-8, 125×4 mm, 4 µm) analitikai oszlopon történt. A művelet végrehajtásához egy három komponensből (metanol–acetonitril–foszfát-puffer) álló gradiens rendszert alkalmaztunk. Az áramlás sebessége 1 cm<sup>3</sup>/perc volt.

## **4.2. A különböző pasztörözési eljárások összehasonlítása**

### ***4.2.1. A vizsgált tejminták, pasztörözési eljárások***

A vizsgált nyerstejet egy Hargita megyei tejpári vállalattól szereztük be, melynek során a normál (kíméletesen) pasztörözött tejet 72 °C-on 40 másodpercig történő hőkezeléssel nyertük. A mikrohullámmal pasztörözött tejminták esetén a tejet lemezes hőcserélővel 63 °C-ra előmelegítettük, 2,45 GHz-es, 12,2 cm hullámhosszú mikrohullámmal kezelve a nyerstejet 68 °C-ra felmelegítettük, majd 40 másodpercig ezen a hőfokon tartottuk. A kísérleti pasztöröző berendezést három ALASCA típusú háztartási mikrohullámú sütő sorba kötésével alakítottuk ki úgy, hogy a három készülék egymás fölött helyezkedett el. Mindhárom készülék belső üregébe egy-egy vízszintes tengelyű üvegspirált tettünk, amelyek az üreg hátsó falán távoztak a berendezésből. A spirál belső átmérője 18 cm, az üvegcső belső átmérője pedig 20 mm volt. A három spirálalakú üvegcső sorba kötését rugalmas csövekkel oldottuk meg, és a mikrohullámú pasztöröző berendezés 200 l/h kapacitással működött.

Kísérleteinket háromszor ismételtük meg, és a párhuzamos kísérletből származó három-három tejminta analízisét végeztük el.

#### **4.2.2. Minta-előkészítés és analízis**

##### *4.2.2.1. A tejminták aminosav-tartalmának meghatározása*

A minta-előkészítést és az analitikai mérést a Sapientia EMTE Csíkszeredai Műszaki és Társadalomtudományi Karának Élelmiszer-tudományi Tanszékén végeztük. A tejmintákat  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk az analízisek megkezdéséig. A mélyhűtőpultban tárolt tejmintákat felolvasztottuk,  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra történő felmelegítés után 15 percig  $8000\text{ g-n}$  centrifugáltuk, melynek során eltávolítottuk a tej alakos elemeit, majd elvégeztük a tej zsírtalanítását is. Ezt követően  $50\text{ cm}^3$  tejhez  $50\text{ cm}^3$  25%-os triklór-ecetsavat hozzáadva a keveréket 20 percig állni hagytuk, a kivált csapadékot 10 percig  $10000\text{ g-n}$  centrifugáltuk. A kapott felülúszó pH-ját  $4\text{ M}$  nátrium-hidroxiddal  $7,0$ -re állítottuk be mind a szabadaminosav-, mind a szabad D-aminosav-tartalom meghatározásához. Az így kapott oldatokat liofilezővel,  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os tálcáfűtést alkalmazva, beszárítottuk, majd a szabadaminosav-tartalom meghatározásához a beszárított anyagot  $10\text{ cm}^3$ ,  $\text{pH} = 7,0$ , nátrium-acetát pufférben, a szabad D-aminosavak meghatározásakor pedig  $1\text{ cm}^3$  bidesztillált vízben oldottuk fel. Az így előkészített mintákat  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk az analízisek megkezdéséig.

**Készülék és vegyszerek.** A szabadaminosav- és a szabad D-aminosav-tartalom meghatározása során a származékképzést és az analízist Varian Pro Star HPLC berendezéssel végeztük. A mérési adatok gyűjtésére és kiértékelésére Varian Star 6.0 szoftvert használtunk. A minta-előkészítéshez, származékképzéshez és analízishez felhasznált

vegyszerek HPLC minőségűek voltak. Az OPA-t, a TATG-t a Sigmától (St. Louis, USA), a merkapto-etanol pedig a MERCK cégtől (Darmstadt, Germany) vásároltuk. Az analízis során használt oldószereket (acetonitril, metanol) szintén a MERCK cégtől szereztük be. Az elúciós puffereket mono- és dinátrium-hidrogén-foszfátból, valamint nátrium-acetátból állítottuk elő, a pH-t 4 M nátrium-hidroxiddal állítottuk be.

**A szabad aminosavak meghatározása.** A származékképzés során az aminosavakból orto-ftálaldehiddel (OPA) és 2-merkapto-etanolal gyűrűs származékot képeztünk. A reakció körülményei: az automatikus mintaadagolás során 465 µl mintát 205 µl borátpufferben (0,4 M; pH = 9,5) összekevertük 105 µl reagenssel (100 mg OPA feloldottuk 9 cm<sup>3</sup> metanolban és 1 cm<sup>3</sup> borátpufferben, majd ehhez hozzáadtunk 100 µl 3 M 2-merkapto-etanol). Az így kapott oldatot három percig állni hagytuk. A keletkezett reakcióelegyből 20 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. A keletkezett származékokat fluoreszcens detektorral detektáltuk (gerjesztési hullámhossz: 325 nm, emissziós hullámhossz: 420 nm). A szabad aminosavak szétválasztása fordított fázisú (150x4 mm belső átmérő, 5 µm részecske méret, Supelcosil (C18) töltet) analitikai oszlopon történt. A meghatározáshoz egy két komponensből (metanol–nátrium-acetát puffer) álló gradiens rendszert alkalmazunk. Az áramlás sebessége 1 cm<sup>3</sup>/perc volt.

**A szabad D-aminosavak meghatározása.** A származékképzés során az aminosav-enantiomerekből diasztereomer párokat képeztünk orto-ftálaldehiddel (OPA) és 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glükopiranoziddal (TATG). A származékképzés 1,5 cm<sup>3</sup>-es ampullában történt, melynek során 465 µl mintát 205 µl borátpufferben (0,4 M; pH =

9,5) összekevertük 25 µl reagenssel (8 mg OPA és 44 mg TATG feloldva 1 cm<sup>3</sup> metanolban). Az így kapott oldatot 6 percig állni hagytuk. A keletkezett reakcióelegyből 20 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. A származékokat fluoreszcens detektorral detektáltuk (gerjesztési hullámhossz: 325 nm, emissziós hullámhossz: 420 nm). Az enantiomerek szétválasztása fordított fázisú (125x4 mm belső átmérő, 4 µm részecske méret, Superspher (C8) töltet) analitikai oszlopon történt. A művelet végrehajtásához egy három komponensből (metanol–foszfát-puffer–acetonitril) álló gradiens rendszert alkalmaztunk. Az áramlás sebessége 1 cm<sup>3</sup>/perc volt.

**Az aminosavak összes mennyiségének meghatározása.** Az aminosav-analízishez szükséges nyersfehérje-tartalmat a Kjeldahl-módszerrel határoztuk meg (Magyar Takarmánykódex (1991) 6.1. fejezet). A fehérjék hidrolízisét, a hígításokat és pH-beállítást a Csapó és mtsai. (2005) leírása szerint végeztük. Az aminosav-analízist INGOS AAA400 aminosav-analizátorral, OSTION Lg ANB ioncserélő műgyantán (oszlop: 35 x 0,37 cm) a következő pufferekkel végeztük: puffer: 1: pH 2,7, 0,2 M [Na<sup>+</sup>]; 2: pH 4,25, 0,5 M [Na<sup>+</sup>]; 3: pH 6,9, 1,12 M [Na<sup>+</sup>]; 4: 0,2 M NaOH. Az aminosavak ninhidrinnel képzett származékainak abszorbanciáját 440 és 570 nm hullámhosszon mértük.

**A fehérje biológiai értékének meghatározása.** A tejfehérje biológiai értékét Morup és Olesen (1976) módszere alapján számoltuk a fehérje aminosav-összetételéből.

#### 4.2.2.2. A tejminták vitamintartalmának meghatározása

**Felhasznált vegyszerek.** A vitaminok vizsgálata során felhasznált vegyszerek HPLC tisztaságúak („HPLC gradient grade”) voltak. A metanolt, az acetonitrilt és az ecetsavat a Merck (Darmstadt, Germany) cégtől, míg a tiamint (B<sub>1</sub>-vitamin), a riboflavint (B<sub>2</sub>-vitamin), a piridoxint (B<sub>6</sub>-vitamin), a kobalamint (B<sub>12</sub>-vitamin), az aszkorbinsavat (C-vitamin) és a triklór-ecetsavat a Fluka cégtől szereztük be.

**A tejminták előkészítése.** A tejmintákat a mintavétel után azonnal 0 °C-ra hűtöttük le és a laboratóriumba történő szállítás után azonnal elvégeztük a vitamin-meghatározásokat. A mintákat 15 percig 8000 g-n centrifugáltuk, eltávolítottuk a tej alakos elemeit, majd elvégeztük a tej zsírtalanítását. Ezt követően 5 cm<sup>3</sup> mintához 5 cm<sup>3</sup> 50%-os triklór-ecetsavat hozzáadva 20 percig állni hagytuk, a kivált csapadékot 10 percig 10000 g-n centrifugáltuk. A kapott felülúszót leválasztottuk, és az így előkészített minták vitamin-koncentrációját nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszerrel mértük.

**A C- és a B-vitamin-tartalom meghatározása HPLC-vel.** A C- és B-vitaminok szétválasztása fordított fázisú (150x4 mm belső átmérő), Supercosil (C18 töltet) LC oszlopon történt. A HPLC rendszerünk: 2 darab Varian ProStar 210-es pumpából, Varian ProStar 320 nm-es UV-detektorból és Varian ProStar 363 nm-es fluoreszcens detektorból állt. A kromatográfiás elválasztást 0,8 cm<sup>3</sup>/perc áramlási sebesség mellett végeztük. A mozgó fázis összetétele a B-vitaminok meghatározása esetén metanol : foszfátpuffer 50:50%-os elegye, a C-vitamin-meghatározás esetén acetonitril : ecetsav (0,4%-os) 10:90%-os elegye. Izokratikus programmal dolgozva az előkészített mintából 20 µl-t injektáltunk az



analitikai oszlopra. A detektálást 254 nm-en végeztük. A mintákat injektálás előtt 0,20 µm-es Millipore (Millipore, Milford, MA, USA) szűrőn szűrtük át. Az eredmények rögzítését és feldolgozását a Varian ProStar 6.0. szoftver segítségével végeztük.

#### *4.2.2.3. A tejminták hidroximetil-furfurol-tartalmának meghatározása*

A mélyhűtőpultban tárolt tejmintákat felolvasztás és 30 °C-ra történő felmelegítés után 15 percig 4000 g-n centrifugáltuk, eltávolítottuk a tej alakos elemeit, majd elvégeztük a tej zsírtalanítását. Ezt követően 50 cm<sup>3</sup> 25%-os triklór-ecetsavat adtunk hozzá, 20 percig állni hagytuk, a kivált csapadékot pedig 15 percig 4000 g-n centrifugáltuk. A kapott felülúszó pH-ját 4 M nátrium-hidroxiddal 7,0-re állítottuk be a HMF meghatározásához. Az így előkészített mintákat ugyancsak –25 °C-on tároltuk az analízisek megkezdéséig.

A HMF meghatározását Varian Pro Star HPLC berendezéssel végeztük, Supelcosil LC-C18 fordított fázisú analitikai oszloppal (150x4,6 mm belső átmérő) Pro Star 320 UV-VIS detektorral. A minta-előkészítéshez és analízishez felhasznált vegyszerek analitikai reagens (a. r.) minőségűek voltak. A triklór-ecetsavat (TCA), a HMF-t (5-hidroxi-metil-furfurol) a Fluka cégtől (Buchs, Switzerland) vásároltuk. Az analízis során használt oldószert (acetonitril) a MERCK cégtől (Darmstadt, Germany) szereztük be, amely „HPLC gradient grade” minőségű volt. A pH-t 4 M nátrium-hidroxiddal állítottuk be.

A meghatározáshoz két komponensből álló gradiensrendszert alkalmaztunk (Ferrer és mtsai., 2000). A kétkomponensű rendszer acetonitril–víz (5:95, v/v) keveréke (áramlási sebessége 1 cm<sup>3</sup>/perc) volt. A mintából 20 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra, amelyet az

injektálás előtt 0,20 µm-es Millipore szűrőn átszűrtünk. A HMF-t UV-detektorral detektáltuk 284 nm hullámhosszon.

#### *4.2.2.4. A hasznosíthatólizin-tartalom meghatározása*

A meghatározás 2,4-dinitro-1-fluor-benzol (DNFB) segítségével történt, ami reakcióba lép a lizin ε-aminocsoportjával, dinitrofenil-ε-amino-lizin (DNP-lizin) keletkezése közben, amely kötés a savas hidrolízis során sem bomlik el. A DNFB-lal való reakció után a mintát 6 M sósavval, 24 órán át, 110 °C-on hidrolizáltuk, majd a hozzá nem férhető lizint, a korábban az összes aminosav meghatározásánál leírtak szerint, automatikus aminosav-analizátorral (INGOS AAA) meghatároztuk. A minta összes lizintartalmát a DNFB-lal nem kezelt mintából határoztuk meg, a hozzáférhető lizin mennyiségét a két analízis különbségéből számoltuk.

#### *4.2.2.5. A lizinoalanin-tartalom meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával*

Az ioncserés oszlopkromatográfia elvén működő aminosav-analizátornál a pufferek pH-jának és nátriumion-koncentrációjának, valamint a kromatografálás hőmérsékletének változtatásával az aminosavak elúciós sorrendje megváltoztatható, illetve az elúciós idők optimálhatók. A lizinoalanin ebben a kromatográfias rendszerben a tirozin és a fenilalanin után, a bázikus aminosavak előtt eluál. A lizinoalaninnal párhuzamosan meghatározható az ornitoalanin is. A lizinoalanin környékén eluálódó aminosavak sorrendje a következő: ornitoalanin, hidroxilizin, lizinoalanin, triptofán, ornitin. A lizinoalanin meghatározását a korábban az összes aminosav meghatározásánál leírtak szerint, automatikus aminosav-analizátorral (INGOS AAA) végeztük.

### **4.3. Statisztikai analízis**

Az eredmények értékelése SPSS for Windows 17.0 (SPSS Inc., 2009) statisztikai programcsomaggal történt.

Annak eldöntésére, hogy a nyerstej, a különböző összcsíraszámú tejminták, a belőlük készült tejtermékek összetételében kimutatható-e statisztikailag igazolható különbség, regresszióanalízist és korrelációs számítást alkalmaztunk. Az eltérő módon kezelt tejminták összes aminosav-, szabad aminosav- és szabad D-aminosav-tartalma közti különbséget kétmintás t-próbával vizsgáltuk.

## 5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 5.1. Az összcsíraszám hatása a tej összes szabad- és szabad D-aminosav-tartalmára

Kísérleteink első szakaszában az összcsíraszám hatását vizsgáltuk a tej összes szabad és szabad D-aminosav-tartalmára. Az aminosavak közül az aszparaginsavra, a glutaminsavra és az alaninra koncentráltunk, mert ennek a három aminosavnak a D-enantiomere fordul elő legnagyobb mennyiségben a tejben. Az összes többi szabad aminosav D-enantiomerjét a rendelkezésünkre álló rendkívül érzékeny nagyhatékonyságú folyadékkromatográfias módszerrel sem tudtuk kimutatni, ezért a továbbiakban az említett három aminosavon kívül más aminosavval nem foglalkoztunk. Az 1. táblázat a különböző összcsíraszámú tejek összes szabad és szabad D-aminosav-tartalmát, valamint a D-aminosavak részarányát mutatja az összes aminosav %-ában a 100–2950 ezer közötti csíraszám (CFU) tartományban.

1. táblázat

**A különböző összcsíraszámú tejek szabad L-aminosav- és szabad D-aminosav-tartalma (mg/100 g minta) és a D-aminosavak részaránya ( $D\text{-aminosav}\% = D\text{-As} \cdot 100 / (D\text{-As} + L\text{-As})$  (n=5))**

CFU /ml (10 <sup>5</sup> )	Aminosav								
	Aszparaginsav			Glutaminsav			Alanin		
	L	D	Arány	L	D	Arány	L	D	Arány
1,00	0,12± 0,001	0,015± 0,001	11,11± 0,57	0,96± 0,003	0,053± 0,002	5,23± 0,17	0,32± 0,0005	0,043± 0,001	11,85± 0,22
2,20	0,25± 0,001	0,031± 0,002	11,03± 0,67	1,02± 0,01	0,056± 0,004	5,20± 0,30	0,41± 0,0015	0,055± 0,002	11,83± 0,34
2,30	0,27± 0,002	0,034± 0,0005	11,18± 0,11	1,04± 0,01	0,058± 0,002	5,28± 0,22	0,45± 0,002	0,061± 0,002	11,94± 0,14
2,80	0,29± 0,001	0,036± 0,001	11,04± 0,38	1,10± 0,01	0,063± 0,001	5,42± 0,03	0,52± 0,0015	0,070± 0,001	11,86± 0,32
3,10	0,29± 0,002	0,038± 0,001	11,58± 0,34	1,15± 0,02	0,068± 0,002	5,58± 0,06	0,59± 0,028	0,079 ±0,001	11,81± 0,49
3,60	0,35± 0,002	0,044± 0,001	11,17± 0,16	1,26± 0,03	0,073± 0,001	5,48± 0,05	0,64± 0,0058	0,087± 0,001	11,97± 0,13
3,90	0,37±	0,046±	11,06±	1,24±	0,075±	5,70±	0,65±	0,087±	11,81±

	0,001	0,001	0,45	0,015	0,000	0,04	0,0065	0,000	0,22
12,3	0,34± 0,002	0,042± 0,002	10,99± 0,17	1,22 ±0,005	0,084± 0,002	6,44± 0,16	0,67± 0,002	0,102± 0,002	13,21± 0,09
15,3	0,54± 0,001	0,087± 0,001	13,88± 0,13	1,47± 0,01	0,124± 0,001	7,78± 0,00	0,91± 0,002	0,235± 0,001	20,52± 0,09
20,0	0,84± 0,002	0,145± 0,003	14,72± 0,24	2,79± 0,03	0,455± 0,002	14,02± 0,07	1,69± 0,01	0,454± 0,003	21,17± 0,06
22,0	0,88± 0,002	0,257± 0,002	22,60± 0,17	2,80± 0,01	0,715± 0,004	20,32± 0,05	1,85± 0,005	0,942± 0,002	33,73± 0,01
29,5	1,48± 0,02	0,321± 0,001	21,97± 0,22	4,53± 0,03	1,534± 0,005	25,30± 0,07	4,83± 0,029	2,419± 0,002	33,37± 0,11

A nem lineáris regresszió paramétereit (a, b), a regressziós modell determinációs együtthatóit ( $R^2$ ) és a regresszióanalízis F-próbájának megfigyelt szignifikancia-szintjeit (P)

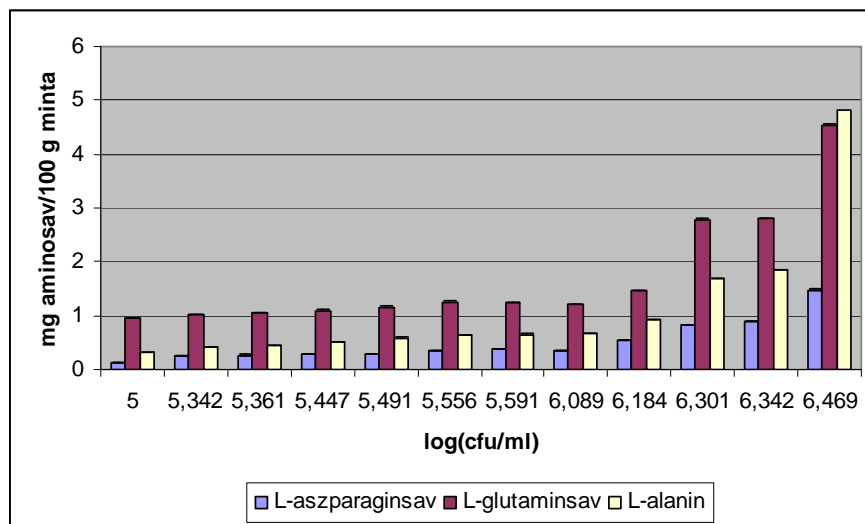
D-aminosav (mg/100g)	A · 10 <sup>-6</sup>	b	R <sup>2</sup>	P
D-Asp	2,487	1,749	0,847	<0,0001
D-Glu	1,064	2,030	0,731	<0,0001
D-Ala	0,200	2,349	0,805	<0,0001

$$Y = a \cdot e^{(b \cdot X)}$$

$$Y = \text{D-aminosav (mg/100 g)}; X = \log(\text{cfu/ml})$$

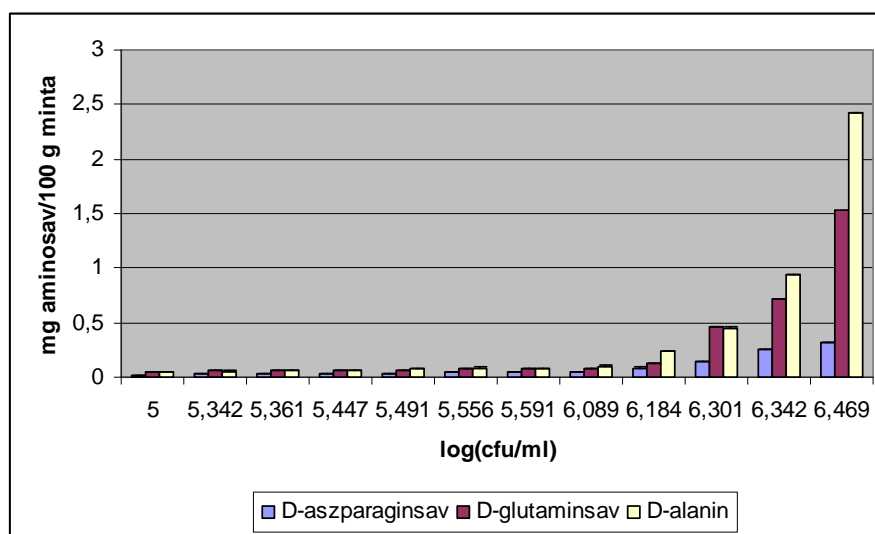
A nemlineáris modell a variancia jelentős hányadát (73–85% a különböző aminosavakra) magyarázza, tehát a megállapított összefüggés jól használható a D-aminosav-tartalom és az összcsíraszám közötti kapcsolat leírására.

Az 1. táblázat adataiból szerkesztett 1. ábra a vizsgált három aminosav L-enantiomerjének mennyiségét mutatja a csíraszám függvényében.



**1. ábra.** A különböző csíraszámú tejek szabad L-aszparaginsav-, L-glutaminsav- és L-alanin-tartalma (mg aminosav/100 g minta)

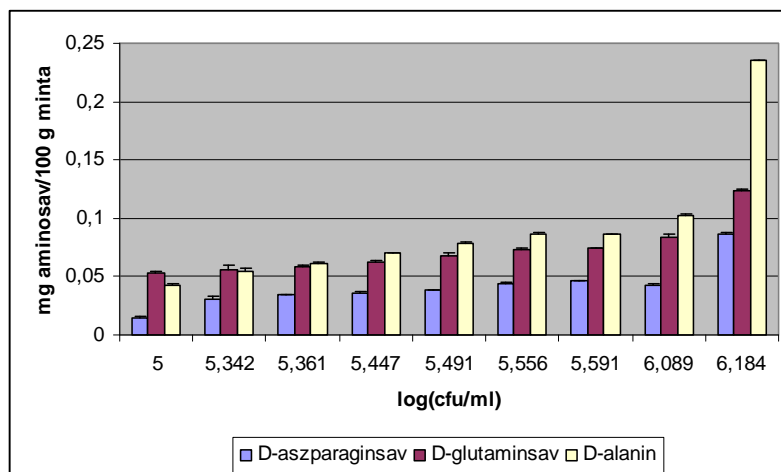
A 2. ábra ugyanezen három aminosav D-enantiomerjének mennyiségét mutatja csíraszám függvényében.



**2. ábra.** A különböző csíraszámú tejek szabad D-aszparaginsav-, D-glutaminsav- és D-alanin-tartalma (mg aminosav/100 g minta) I.

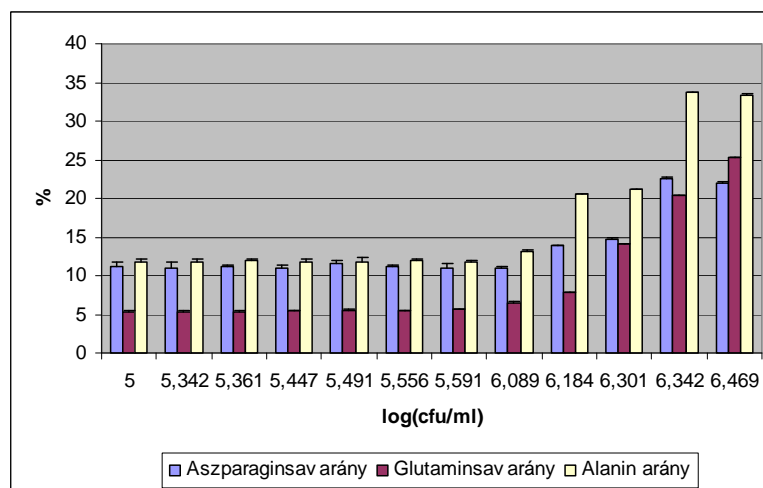
Mivel a közel három millió összcsíraszámú tejből készült minta aminosav-tartalma mindhárom aminosav esetében lényegesen nagyobb, mint az összes többié, a 3. ábrán a jobb összehasonlíthatóság miatt a 100

ezer–1,5 millió összcsíraszám közötti tejminták eredményeit ismételtén bemutatom.



**3. ábra.** A különböző csíraszámú tejek szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin tartalma (mg aminosav/100 g minta) II.

A 4. ábra a csíraszám függvényében mutatja a vizsgált három D-aminosav arányát az összes szabad aminosav (L+D) mennyiségének függvényében.



**4. ábra.** A különböző csíraszámú tejek D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin arányai ( $D\text{-aminosav}\% = \frac{D\text{-As} \times 100}{D\text{-As} + L\text{-As}}$ )

A nem lineáris regresszió paraméterei (a, b), a regressziós modell determinációs együtthatói (R<sup>2</sup>) és a regresszióanalízis F-próbájának megfigyelt szignifikancia-szintjei (P)

<b>(D/D+L) ·100</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
Asp	1,445	0,369	0,601	<0,003
Glu	0,023	1,011	0,726	<0,0001
Ala	0,218	0,741	0,747	<0,0001

$$Y = a \cdot e^{(b \cdot X)}$$

$$Y = (D/D+L) \cdot 100, X = \log(\text{cfu/ml})$$

A D-aminosavak arányát illetően a lineáris modell a variancia jelentős hányadát (60–75%) itt is magyarázza, tehát a megállapított összefüggés jól használható a D-aminosavak aránya és az összcsíraszám közti kapcsolat leírására.

2007-ben a tejipari vállalattól rendelkezésünkre bocsátott tejminták összcsíraszámja 220–390 ezer között változott. Ebben a tartományban a szabad L-aszparaginsav mennyisége 0,25 mg/100 g minta értékről 0,37 mg/100 g-ra, a D-aszparaginsav mennyisége pedig 0,031 mg/100 g-ról 0,046 mg/100 g-ra nőtt. A D-aszparaginsav aránya ebben a csíraszám tartományban gyakorlatilag nem változik; 11,03%, illetve 11,58% körül alakul.

A 2006-ban vett magasabb – milliós nagyságrendű – csíraszámú tejmintáknál a szabad L-aszparaginsav mennyisége az 1 milliót meghaladó csíraszámú mintánál alig különbözik a 390 ezres csíraszámú mintáétól, ezt követően azonban 1,5 millió csíraszámú mintánál 0,54 mg/100 g-ra, 2 millió körüli csíraszámú mintánál 0,84–0,88 mg/100 g-ra, a 3 milliót közelítő csíraszámú mintánál pedig 1,48 mg/100 g-ra nő. A D-aszparaginsav mennyisége az 1 millió körüli csíraszámú mintánál hasonló a 400 ezres csíraszámú tej adataihoz, 1,5 millió csíraszámú mintánál értéke 0,087 mg/100 g-



ra, 2 millió körüli, illetve azt meghaladó csíraszámánál 0,145 és 0,257 mg/100 g-ra, a 3 milliót közelítő csíraszámánál pedig 0,321 mg/100 g-ra nő. A D-aszparaginsav aránya a 100 ezer–1,2 millió csíraszámú tartományban gyakorlatilag változatlan, 11% körül alakul; ez az arány az 1,5 millió csíraszámú tejben 13,88%-ra, a 2,0–2,2 millió összcsíraszámú tejben 14,72–22,60%-ra nő, mely arány a továbbiakban már nem változik, hisz a közel 3 millió összcsíraszámú tejben is 21,97%-ot mutat.

Az L-glutaminsav mennyisége a 220–390 ezer csíraszám közötti tartományban 1,02–1,26 mg/100 g minta között alakult. Ugyanebben a tartományban a D-glutaminsav mennyisége 0,056 és 0,75 mg/100 g között található. A 390 ezer és 1,2 millió csíraszám közötti tartományban csak minimális a változás mind az L-, mind a D-glutaminsav esetében, ezt követően azonban az 1,5 milliós csíraszámánál az L-glutaminsav mennyisége 1,47 mg/100 g-ra, 2,0–2,2 millió csíraszámánál 2,79–2,80 mg/100 g-ra nő, majd maximális értékét a 3 millió csíraszám körüli tartományban éri el 4,53 mg/100 g-mal. A D-glutaminsav mennyisége a 1,5 millió csíraszámú tejmintánál 0,124 mg/100 g-ra, a 2,0–2,2 millió csíraszám tartományban 0,455–0,715 mg/100 g-ra nő, és maximális értékét itt is a 3 millió körüli csíraszámánál éri el 1,534 mg/100 g-mal. A D-glutaminsav részaránya az összes szabad glutaminsavon belül a 100–390 ezer közötti összcsíraszámú tejeknél 5,20–5,70% között minimálisan változik. Az 1,2–1,5 millió közötti tartományban értéke 6,44–7,78% között alakul, 2,0–2,2 millió összcsíraszámánál 14,02–20,32%-ra, a 3 milliót közelítő összcsíraszámánál pedig 25,30%-ra nő.

Az L-alanin mennyisége a 220–390 ezer összcsíraszámú tejmintáknál 0,41 mg/100 g-ról 0,65 mg/100 g-ra nő. Ugyanebben a

tartományban a D-alanin mennyisége 0,055–0,087 mg/100 g között folyamatosan nő. Nincs lényeges változás a 390 ezer és 1,2 millió összcsíraszám között az L-alanin-tartalomban, 1,5 millió csíraszámánál azonban mennyisége 0,91 mg/100 g-ra, 2,0–2,2 millió összcsíraszámánál 1,69–1,85 mg/100 g-ra nő, maximális értékét pedig 3 millió összcsíraszám környékén éri el 4,83 mg/100 g-mal. A D-alanin mennyisége az 1,2–1,5 millió közötti csíraszám tartományban 0,102–0,235 mg/100 g-ra, a 2,0–2,2 millió tartományban 0,454–0,942 mg/100 g-ra nő, maximális értékét pedig a 3 millió csíraszám környékén éri el 2,419 mg/100 g-mal. A D-alanin aránya gyakorlatilag változatlan a 100–390 ezer összcsíraszám közötti tartományban; értéke 11,81 és 11,97% között változik. Az 1,2 millió csíraszámú tejnél 13,21%-ra, az 1,5 millió csíraszámú tejnél 20,52%-ra, a 2 millió csíraszámánál 21,17%-ra nő, a 2,2–2,95 millió csíraszám tartományban pedig némileg meghaladja a 33%-ot.

Összefoglalva tehát elmondható, hogy a tejipari vállalat által rendelkezésünkre bocsátott mintáknál a 100–300 ezer összcsíraszám közötti tartományban mind az L-, mind a D-enantiomerek koncentrációja némileg emelkedett. Nem történtek lényeges változások a 390 ezer és 1,23 millió csíraszám közötti tartományban, sőt az  $1,23 \cdot 10^6$  és  $1,53 \cdot 10^6$  összcsíraszám között, ahol sem a szabad L-aminosavak mennyisége, sem a szabad D-aminosavak mennyisége nem mutatott lényeges változást, bár mind a szabad L- és D-aminosavak koncentrációja, mind a D-aminosavak részaránya folyamatosan nőtt az összcsíraszám függvényében. Ez a minimális változás folytatódott  $2,20 \cdot 10^6$  összcsíraszámig, ahol szinte robbanásszerűen megnőtt mind az összes szabad aminosav, mind a szabad D-aminosavak mennyisége, és ez a növekedés igaz volt a D-aminosavak részarányaira is az összes szabad aminosavon belül. Úgy

tűnik tehát, hogy 1,5–1,6 millió csíraszámig nincsenek jelentős változások a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmában, ezen rövid periódust követően azonban gyors a növekedés. Összegzésként tehát elmondható, hogy mindegyik általunk vizsgált szabad aminosav esetében, mind a szabad D-aminosavak, mind a szabad L-aminosavak koncentrációja nő, de arányaiban a D-aminosavak növekedése nagyobb, hisz az aszparaginsav esetében a kontroll tejhez viszonyítva a  $2,95 \cdot 10^6$  csíraszámig ez az arány 11,11%-ról 21,97%-ra, a glutaminsav esetében 5,23%-ról 25,30%-ra, az alanin esetében pedig 11,85%-ról 33,37%-ra nőtt.

## **5.2. A tej összcsíraszámának hatása a tejtermékek összetételére**

Miután megállapítottuk a tejalapanyag összetételének alakulását a csíraszám függvényében, kutatásaink következő fázisában azt vizsgáltuk, hogy a szabad D- és L-aminosavak megnövekedett mennyisége milyen hatással van a belőle készült tejtermékek összetételére. Akárcsak a tej szabadaminosav-tartalmának vizsgálatakor, a tejtermékek esetében is az aszparaginsavra, a glutaminsavra és az alaninra koncentráltunk, hisz e három aminosav része a baktériumok sejtfalát alkotó peptidoglikánnak, és onnan kiszabadulva a tejtermékek legnagyobb D-aminosav hányadát képezik. A baktérium pusztulása után a lízist követően ezen aminosavak hozzájárulnak a tejtermékek ízének, aromájának valamint táplálkozási értékének kialakulásához. A tejalapanyag összcsíraszám és a D-aminosav koncentrációja közti összefüggést ismerve feltételezhető, hogy a tejalapanyag hatással lehet a belőle készült tejtermék összetételére. Ezen hipotézis bizonyítására 10 db különböző összcsíraszámú tejből készült Sana, 10 db Dalia, 3 db Telemea, 2 db tehéntúró, 1 db Rucăr és 1 db joghurt összetételét vizsgáltuk. Vizsgálatainkból a tehéntúró, a Rucăr

és a joghurt alacsony mintaszáma miatt végleges következtetést nem kívánunk levonni, a vizsgálati eredményeket csak tájékoztató jelleggel közöljük.

**5.2.1. A Sana összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében**

A 2. táblázat a különböző összcsíraszámú tejből készült Sana összes szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát (mg/100 g minta) és a D-aminosavak részarányát ( $D\text{-aminosav}\% = D\text{-As}\cdot 100/(D\text{-As}+L\text{-As})$ ) mutatja.

2. táblázat

**A különböző összcsíraszámú tejből készült Sana szabad L-aminosav- és szabad D-aminosav-tartalma (mg/100 g minta) és a D-aminosavak részaránya ( $D\text{-aminosav}\% = D\text{-As}\cdot 100/(D\text{-As}+L\text{-As})$ ) (n=3)**

CFU /ml $10^5$	Aminosav								
	Aszparaginsav			Glutaminsav			Alanin		
	L	D	Arány	L	D	Arány	L	D	Arány
2,20	0,463± 0,032	0,211± 0,015	31,31± 0,074	1,150± 0,251	0,369± 0,041	24,29± 2,019	0,549± 0,025	0,331± 0,015	37,61± 0,014
2,30	0,457± 0,019	0,214± 0,024	31,89± 3,38	1,143± 0,098	0,388± 0,018	23,79± 0,744	0,538± 0,009	0,342± 0,029	38,86± 1,627
2,80	0,482± 0,041	0,231± 0,01	32,40± 0,816	1,292± 0,111	0,416± 0,033	24,35± 0,09	0,571± 0,072	0,354± 0,036	38,27± 0,533
3,10	0,487± 0,017	0,229± 0,015	31,98± 0,689	1,194± 0,104	0,394± 0,042	24,81± 0,375	0,614± 0,038	0,380± 0,014	38,23± 0,590
3,60	0,501± 0,025	0,237± 0,022	32,11± 0,975	1,387± 0,108	0,425± 0,033	23,45± 0,024	0,629± 0,038	0,377± 0,009	38,69± 0,808
3,90	0,491± 0,039	0,241± 0,021	32,92± 0,163	1,432± 0,140	0,450± 0,025	23,91± 0,770	0,632± 0,045	0,398± 0,048	38,64± 1,171
12,28	0,552± 0,025	0,251± 0,055	31,34± 3,74	1,624± 0,188	0,583± 0,057	26,41± 0,327	0,698± 0,067	0,462± 0,028	39,81± 0,866
13,51	0,567± 0,045	0,259± 0,014	31,42± 0,544	2,144± 0,203	0,619± 0,093	22,39± 0,992	0,861± 0,086	0,519± 0,026	37,63± 1,14
15,30	0,725± 0,1	0,320± 0,028	30,64± 1,072	2,548± 0,328	0,834± 0,127	24,65± 0,447	1,265± 0,155	0,790± 0,127	38,42± 0,911
29,45	1,132± 0,183	0,543± 0,046	32,43± 1,694	4,556± 0,574	1,542± 0,282	25,09± 1,095	1,735± 0,271	1,251± 0,282	41,90± 1,723

A nem lineáris regresszió paraméterei (a, b), a regressziós modell determinációs együtthatói ( $R^2$ ), a regresszióanalízis F-próbájának megfigyelt szignifikancia-szintjei (P)

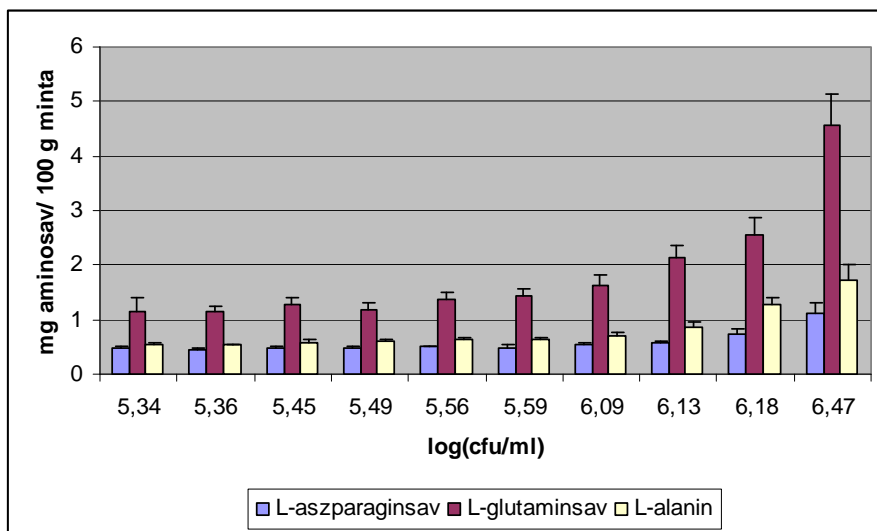
D-aminosav (mg/100 g)	a	b	$R^2$	P
D-Asp	0,009	0,576	0,699	<0,003
D-Glu	0,001	1,026	0,866	<0,0001
D-Ala	0,002	0,957	0,827	<0,0001

$$Y = a \cdot e^{(b \cdot X)}$$

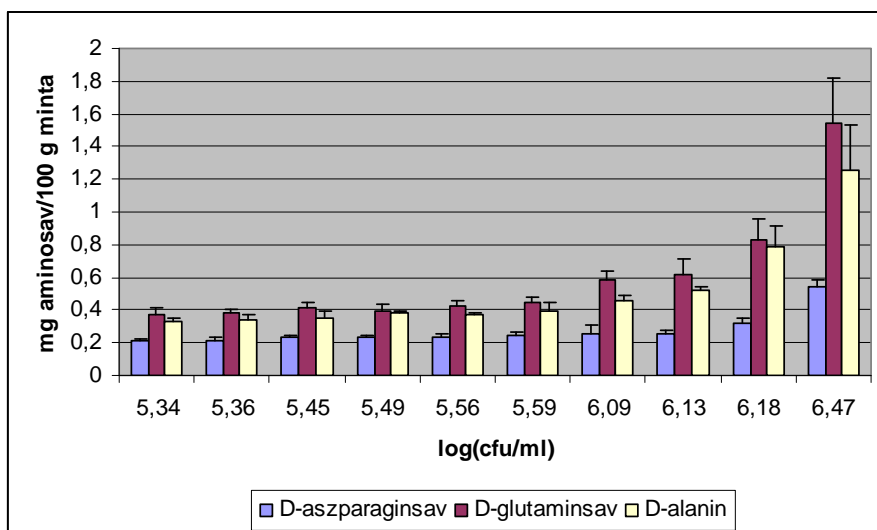
Y = D-aminosav (mg/100 g); X = log(cfu/ml)

A különböző összcsíraszámú tejből készült Sana szabad D-aminosav-tartalmát (mg/100 g minta) illetően a lineáris modell a variancia jelentős hányadát (70–87%) itt is magyarázza, tehát a megállapított összefüggés jól használható a Sana D-aminosav-tartalma és az összcsíraszám közti kapcsolat leírására.

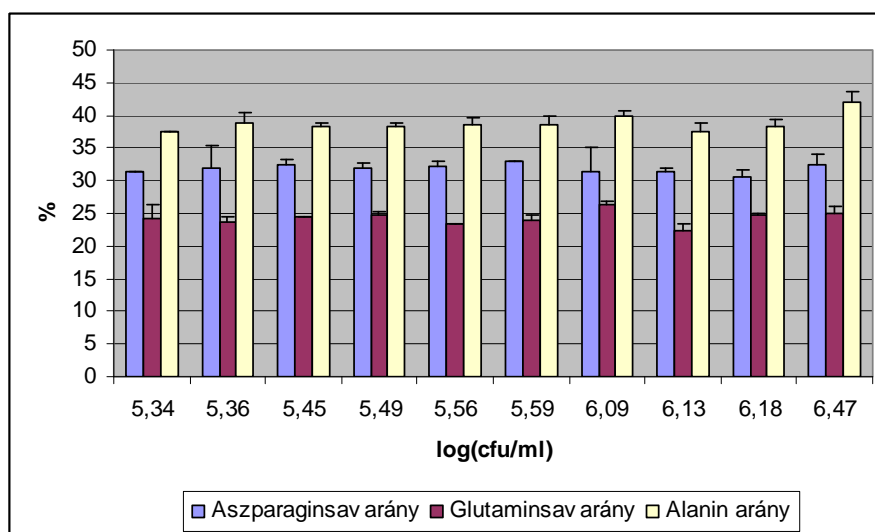
A 2. táblázat adataiból szerkesztett 5. ábra a Sana L-aminosavait, a 6. ábra pedig a Sana D-aminosavait mutatja mg aminosav/100 g egységekben. A 7. ábra a Sana esetében a D-aminosavak %-os arányának alakulását tartalmazza.



**5. ábra.** A különböző csíraszámú tejből készült Sana szabad L-aszparaginsav-, L-glutaminsav- és L-alanin-tartalma (mg aminosav/100 g minta)



**6. ábra.** A különböző csíraszámú tejből készült Sana szabad D-aszparaginsav-, D-glutaminsav- és D-alanin-tartalma (mg aminosav/100 g minta)



**7. ábra.** A különböző csíraszámú tejből készült Sana D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin arányai ( $D\text{-aminosav}\% = D\text{-As} \cdot 100 / (D\text{-As} + L\text{-As})$ )

A 220–390 ezer összcsíraszám-tartományban 6 db Sana analízisét végeztük el. Az L-aszparagin mennyisége az említett csíraszámok mellett 0,457–0,501 mg/100 g között változott. Ugyanebben a tartományban a D-aszparaginsav mennyisége 0,211–0,241 mg/100 g között alakult. A D-aszparaginsav részaránya az összes szabad D-aszparaginsavon belül 31,31–32,92% között mozgott. Megállapítható tehát, hogy a 220–390 ezer összcsíraszámú tejből készült Sana mintáknál némiképp nőtt mind az L-, mind a D-aszparaginsav mennyisége, az arányok azonban gyakorlatilag változatlanok maradtak. Hasonló megállapítást tehetünk a glutaminsav esetében is. A 220 ezer csíraszámú tejből készült Sana L-glutaminsav-tartalma 1,150 mg/100 g, ami folyamatosan emelkedett a 390 ezres csíraszámú tejből készült Sana 1,432 mg/100 g értékéig. Ugyanebben a tartományban a D-glutaminsav mennyisége 0,369 mg/100 g-ról 0,450 mg/100 g-ra nőtt, míg a D-glutaminsav aránya gyakorlatilag változatlan volt; 23,45 és 24,81% között alakult. Hasonló

megállapításokat tudunk tenni a szabad alanintartalom esetében is. A 220–390 ezer csíraszámú tejből készült Sana L-alanin-tartalma 0,538–0,632 mg/100 g között változott. Az L-alanin-tartalom minimális emelkedését követte a szabad D-alanin-tartalom emelkedése is, ami 0,331 mg/100 g-ról 0,398 mg/100 g-ra nőtt. Arányaiban mindkét aminosav-enantiomer hasonló módon változott, hisz a D-alanin aránya ebben a periódusban szinte változatlan volt; 37,61–38,86% között alakult. Leszűrhetjük tehát azt a következtetést, hogy mindhárom aminosav L- és D-enantiomere pár százalékos növekedést mutatott a 220 és 390 ezer összcsíraszám közötti tartományban; a növekedés azonban mindkét enantiomernél hasonló módon ment végbe, hisz az arányok gyakorlatilag semmit nem változtak a vizsgált periódusban.

Az 1,23–2,95 millió összcsíraszám-tartományban 4 db Sana analízisét végeztük el, melyek 1,23; 1,35; 1,53 és 2,95 millió összcsíraszámú tejből készültek. A három alacsonyabb összcsíraszámú tejből készült Sananál a szabad L-aszparaginsav-tartalom 0,55–0,73 mg/100 g között változott, a 2,95 millió összcsíraszámú alapanyag esetében pedig 1,13 mg/100 g-ra nőtt. A D-aszparaginsav ugyanezen mintáknál 0,25–0,32 mg/100 g között alakult, és legmagasabb értékét a legnagyobb csíraszámú alapanyagból készült termékénél érte el 0,54 mg/100 g-mal. A D-aszparaginsav részaránya 31,3 és 32,4% között változott az összes aszparaginsav-tartalmon belül. Az L-glutaminsav mennyisége a legkisebb összcsíraszámú alapanyagból készült Sananál 1,62 mg/100 g volt, amely  $1,5 \cdot 10^6$  csíraszámig 2,55; a legmagasabb összcsíraszámú tejalapanyagnál pedig 4,56 mg/100 g-ra nőtt. Ezeknél a mintáknál a D-glutaminsav mennyisége 0,58 mg/100 g-ról 0,83 mg/100 g-ra, a legmagasabb összcsíraszámú tejalapanyag esetében pedig 1,54 mg/100 g-ra nőtt. A D-glutaminsav aránya 22,4 és 26,4% között



változott. Az L-alanin mennyisége az előzőekben felsorolt összcsíraszámú tejalapanyagból készült minták esetében 0,70 mg/100 g-ról 1,27 mg/100 g-ra, a legnagyobb összcsíraszámú tejből készült termékénél pedig 1,74 mg/100 g-ra nőtt. A D-alanin mennyisége ezeknél a mintáknál 0,46; 0,52; 0,79 és 1,25 mg/100 g volt, melynek következtében a D-alanin részaránya az összes alanin mennyiségén belül 37,6 és 41,9% között változott.

A Sana esetében tehát levonhatjuk azt a következtetést, hogy a tejalapanyag összcsíraszámának növekedésével, mind a három aminosav esetében nő a D- és az L-enantiomer mennyisége is, és e növekedés az  $1,53 \cdot 10^6$  csíraszám után válik jelentőssé, hisz a majd 3 milliós összcsíraszámú tejből készült Sana mind az L-, mind a D-aminosavakból a legtöbbet tartalmazza. Nem tapasztaltunk lényeges változásokat az egyes aminosavakon belül a D- és L-arányokat illetően. A D-glutaminsav aránya a legkevesebb az összes szabad aminosavon belül 24–25%-kal, melyet a D-aszparaginsav követ 30–32%-kal, végül a D-alanin zárja a sort, melynek részaránya közelíti a 40%-ot.

### ***5.2.2. A Dália összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében***

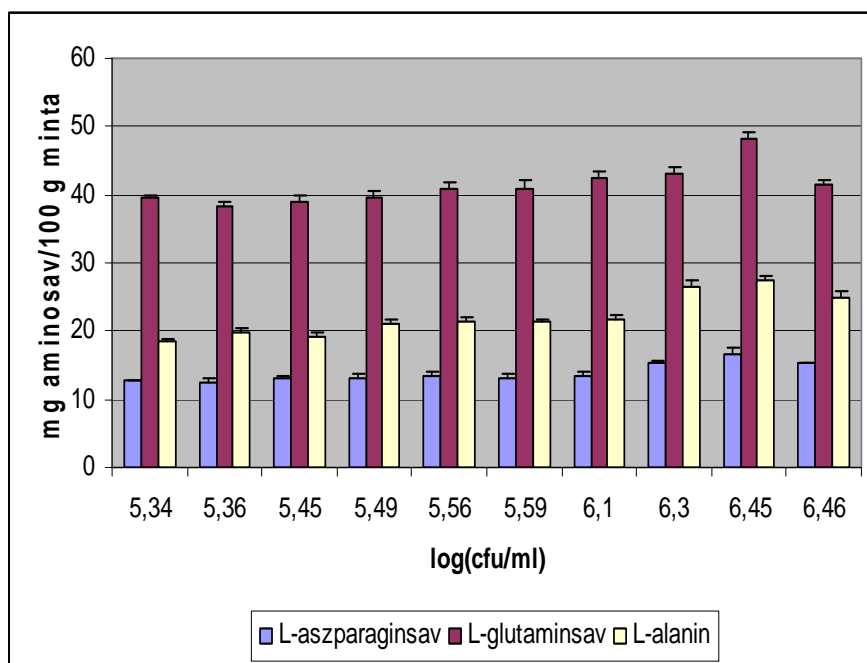
A Sana-hoz hasonlóan a 220–390 ezer összcsíraszámú tartományban 6 db Dália sajt analízisét tudtuk elvégezni. A 3. táblázat a különböző összcsíraszámú tejből készült Dália sajt összes szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát (mg/100 g minta) és a D-aminosavak részarányát ( $D\text{-As}\% = D\text{-As} \cdot 100 / (D\text{-As} + L\text{-As})$ ) mutatja.

3. táblázat

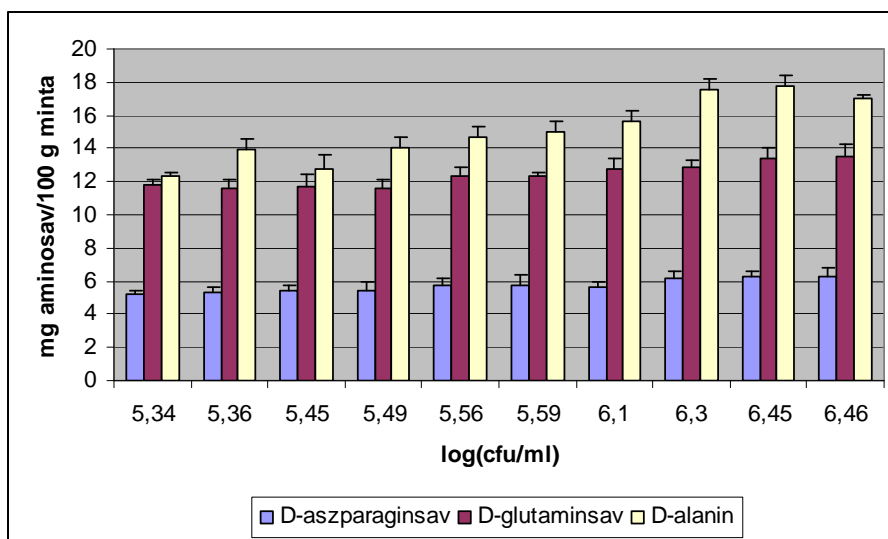
**A különböző összcsíraszámú tejből készült Dália szabad L-aminosav- és szabad D-aminosav-tartalma (mg/100 g minta) és a D-aminosavak részaránya (D-aminosav% =  $D-As \cdot 100 / (D-As + L-As)$ ) (n=5)**

CFU /ml 10 <sup>5</sup>	Aminosav								
	Aszparaginsav			Glutaminsav			Alanin		
	L	D	Arány	L	D	Arány	L	D	Arány
2,20	12,621 ±0,189	5,260± 0,212	29,42± 0,706	39,463 ±0,501	11,824 ±0,276	23,06± 0,384	18,452 ±0,314	12,301 ±0,295	39,99± 0,214
2,30	12,549 ±0,408	5,324± 0,294	29,79± 0,479	38,399 ±0,411	11,642 ±0,489	23,26± 0,564	19,694 ±0,654	13,921 ±0,621	41,41± 0,299
2,80	13,004 ±0,484	5,428± 0,273	29,45± 1,715	39,001 ±0,912	11,690 ±0,767	23,06± 0,804	19,015 ±0,912	12,769 ±0,808	40,17± 0,562
3,10	12,973 ±0,804	5,446± 0,461	29,57± 0,729	39,574 ±0,840	11,593 ±0,522	22,66± 0,467	20,960 ±0,867	14,016 ±0,637	40,08± 0,191
3,60	13,452 ±0,494	5,714± 0,487	29,81± 1,676	40,970 ±0,974	12,291 ±0,621	23,08± 1,073	21,409 ±0,637	14,723 ±0,632	40,07± 1,440
3,90	13,242 ±0,331	5,719± 0,657	30,16± 1,996	41,004 ±1,258	12,313 ±0,258	23,09± 0,567	21,396 ±0,336	15,001 ±0,637	41,21± 1,292
12,50	13,419 ±0,588	5,593± 0,408	29,42± 0,724	42,535 ±0,998	12,791 ±0,650	23,12± 0,527	21,706 ±0,522	15,621 ±0,662	41,85± 0,527
20,00	15,309 ±0,368	6,142± 0,457	28,63± 1,050	43,049 ±0,948	12,852 ±0,450	22,99± 0,649	26,379 ±1,011	17,601 ±0,639	40,02± 0,145
28,00	16,754 ±0,680	6,231± 0,398	27,11± 1,084	48,247 ±0,954	13,439 ±0,562	21,85± 0,500	27,347 ±0,599	17,803 ±0,625	39,43± 0,438
29,12	15,170 ±0,260	6,324± 0,435	29,42± 1,076	41,381 ±0,783	13,516 ±0,785	24,62± 0,733	24,816 ±0,877	17,004 ±0,248	40,66± 0,674

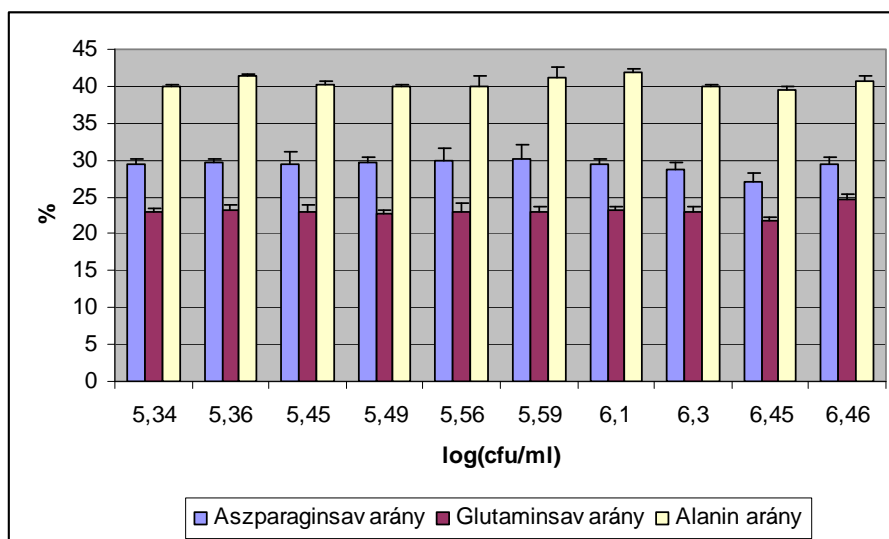
A 8. ábra a Dália esetében mutatja be az L-aminosavak alakulását a csíraszám növekedésével összefüggésben, a 9. ábra a Dália D-aminosavainak mennyiségéről ad információt, míg a 10. ábra a D-aminosavak arányát mutatja be a Dália esetében az összes szabad aminosav függvényében.



**8. ábra.** A különböző csíraszámú tejeből készült Dália szabad L-aszparaginsav-, L-glutaminsav- és L-alanin-tartalma (mg aminosav/100 g minta)



**9. ábra.** A különböző csíraszámú tejeből készült Dália szabad D-aszparaginsav-, D-glutaminsav- és D-alanin-tartalma (mg aminosav/100 g minta)



**10. ábra.** A különböző csíraszámú tejből készült Dália D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin arányai ( $D\text{-aminosav}\% = \frac{D\text{-As} \cdot 100}{D\text{-As} + L\text{-As}}$ )

A Dália esetében a változások még annál is kisebb mértékűek, mint amit korábban a Sana-nál mértünk. A 220–390 ezer összcsíraszámú tejből készült Dália sajtoknál az L-aszparaginsav mennyisége 12,55–13,45 mg/100 g között, a D-aszparaginsav mennyisége pedig 5,26–5,72 mg/100 g között változott. Mindkét enantiomer mennyisége némiképp nőtt az összcsíraszám növekedésével, melynek következtében a D-aszparaginsav aránya gyakorlatilag változatlanul 29,42–30,16% között alakult. Az L-glutaminsav mennyisége a vizsgált periódusban 38,40–41,00 mg/100 g között, a D-glutaminsav mennyisége pedig 11,64–12,29 mmg/100 g között alakult, miközben a D-glutaminsav aránya gyakorlatilag változatlan volt (22,66–23,26% között alakult). A 220 ezer összcsíraszámú tejből készült Dália sajt L-alanin-tartalma 18,452 mg/100 g volt, mely 21,409 mg/kg-ra nőtt az összcsíraszám növekedésével. Ugyanebben a periódusban a D-alanin mennyisége 12,30 mg/100 g-ról

15,00 mg/100 g-ra nőtt, miközben a D-alanin aránya gyakorlatilag változatlan maradt; 39,99–41,21% között alakult.

Az 1,25; 2,00; 2,80 és  $2,91 \cdot 10^6$  összcsíraszámú tejből előállított Dália sajtok szabadaminosav-tartalmát elemezve megállapítottuk, hogy a szabad L-aszparaginsav a legalacsonyabb összcsíraszámú tejből készült sajtnál 13,42; a legmagasabb összcsíraszámú tejből készülnél pedig 15,17 mg/100 g, a D-aszparaginsav koncentrációja pedig 5,59 és 6,23 mg/100 g volt. A D-aszparaginsav százalékos részaránya 27,11 és 29,42% között változott. Gyakorlatilag alig volt különbség a különböző összcsíraszámú tejből készült Dália sajt L-glutaminsav-tartalmában, mely 41,38 és 48,25 mg/100 g között változott, és hasonlókat lehet elmondani a D-glutaminsav mennyiségéről is, ami 12,79 és 13,52 mg/100 g között alakult. A D-glutaminsav részaránya 21,85 és 24,62% között változott, és úgy tűnik, hogy az aszparaginsavhoz hasonlóan független a tejalapanyag összcsíraszámától. A Dália sajtnál az L-alanin mennyisége 21,71 és 27,35; a D-alanin mennyisége pedig 15,62 és 17,80 mg/100 g között változott. A D-alanin százalékos mennyisége egy minta kivételével meghaladta a 40%-ot (39,43–41,85%). A három D-aminosav részarányt vizsgálva a Sanához hasonló következtetéshez jutottunk, ugyanis a szabad D-glutaminsav részaránya az összes szabad D-glutaminsavon belül 21,85 és 24,62% között változott, míg ezek az értékek a D-aszparaginsavnál 27,11–29,42%, a D-alaninnál pedig 39,43–41,85% között alakultak.

### ***5.2.3. A Telemea és a tehéntúró összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében***

A 4. táblázat a különböző összcsíraszámú tejből készült Telemea és tehéntúró összes szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát

(mg/100 g minta) és a D-aminosavak részarányát ( $D\text{-aminosav}\% = D\text{-As}\cdot 100/(D\text{-As}+L\text{-As})$ ) mutatja.

4. táblázat

**A különböző összcsíraszámú tejből készült Telemea és tehéntúró szabad L-aminosav- és szabad D-aminosav-tartalma (mg/100 g minta) és a D-aminosavak részaránya ( $D\text{-aminosav}\% = D\text{-As}\cdot 100/(D\text{-As}+L\text{-As}, n=3)$ )**

CFU/ml 10 <sup>6</sup>	Aminosav								
	Aszparaginsav			Glutaminsav			Alanin		
	L	D	Arány	L	D	Arány	L	D	Arány
Telemea 1,320	0,861± 0,028	0,389± 0,033	31,14± 1,16	3,057± 0,141	0,752± 0,073	19,73± 0,817	1,688± 0,424	1,071± 0,1	38,81± 3,89
1,664	1,027± 0,038	0,428± 0,039	29,42± 1,15	3,493± 0,159	0,841± 0,056	19,41± 0,336	1,904± 0,452	1,223± 0,031	39,12± 5,08
2,200	1,504± 0,076	0,610± 0,022	28,99± 0,281	3,212± 0,115	0,935± 0,048	22,54± 0,267	1,973± 0,141	1,349± 0,282	40,60± 3,35
Túró 1,560	0,081± 0,008	0,038± 0,002	32,14± 0,662	0,458± 0,065	0,109± 0,012	19,23± 0,396	0,187± 0,028	0,124± 0,005	41,62± 2,54
1,684	0,101± 0,0084	0,051± 0,004	33,51± 0,018	0,492± 0,072	0,112± 0,016	18,54± 0,075	0,213± 0,018	0,133± 0,004	38,43± 1,29

A Telemea esetében 1,32; 1,66 és 2,20 millió összcsíraszámú tejből készült terméket analizáltunk. Ezen összcsíraszámú tartományban az L-glutaminsav kivételével minden aminosavnál és minden enantiomernél növekedést kaptunk, de mivel az összcsíraszám tartomány nem volt elég széles, az előző két tejtermékhez hasonló, határozott következtetést vizsgálatainkból nem tudunk levonni, azaz nem tudunk semmiféle kapcsolatot felállítani a csíraszám és a D-aminosav-tartalom között.

A vizsgált összcsíraszám tartományban az L-aszparaginsav mennyisége 0,86–1,50; a D-aszparaginsavé pedig 0,39–0,61 mg/100 g, az L-glutaminsav mennyisége 3,06–3,49; a D-glutaminsavé pedig 0,75–0,94 mg/100 g, az L-alanin mennyisége 1,69–1,97; a D-alanin mennyisége pedig 1,07–1,35 mg/100 g között alakult. Az előző két

vizsgált anyaghoz hasonlóan a D-glutaminsav százalékos arányát találtuk a legkisebbnek 19,73–22,54%-kal, a D-aszparaginsav részaránya 28,99–31,14% között, a D-alanin részaránya pedig 38,81–40,60% között alakult. Úgy tűnik tehát, hogy a vizsgált tartományban a Telemea esetében csak csekély az összefüggés a tejalapanyag összcsíraszama és a belőle készült termékek között.

A két darab tehéntúró, az egy darab Rucăr, és az egy darab joghurt esetében a csíraszám hatásáról természetesen következtetéseket levonni nem lehet. A tehéntúró aminosav-összetételét hasonlítva az összes többi tejtermékéhez, megállapítható, hogy abban mind a D-, mind az L-aminosavak mennyisége majdnem egy nagyságrenddel kisebb, mint a többi vizsgált terméké, a D-aminosavak részaránya viszont alig különbözik a többitől.

#### ***5.2.4. Az érlelési idő és a D-aminosav-tartalom kapcsolata***

A különböző összcsíraszámú tejalapanyagból készült tejtermékek minősége és az összcsíraszám kapcsolata közötti összefüggést vizsgálva megállapítottuk, hogy a D-aminosavak százalékos összetételét az összes szabadaminosav-tartalmon belül nem befolyásolja sem a tejalapanyag összcsíraszama, sem pedig az, hogy milyen tejtermékről van szó. A D-aszparaginsav részaránya a vizsgált tejtermékek többségénél 30% körül alakul, bár a Sana esetében és a tehéntúrónál ez az arány kicsivel több, a Daliánál pedig valamivel kisebb. A D-glutaminsav százalékos részaránya 18–27% között változik, mely arány a Sana esetében nagyobb, mint a Dalia esetében, és legkisebb a Telemea esetében. A D-alanin aránya mindegyik tejterméknél függetlenül a tej összcsíraszámától, 40% körül alakul. A vizsgált három aminosavon belül a D-glutaminsav részaránya a

legkisebb, a D-alaniné a legnagyobb, a D-aszparaginsav pedig a D-glutaminsavhoz közelebb eső köztes értéket mutat.

A friss, illetve a rövid ideig érlelt tejtermékeknel (Sana, Telemea) összefüggést lehet megállapítani, az összcsíraszám és a D-aminosav-tartalom között, és ez az összefüggés a legtöbb esetben igaz az L-enantiomerekre is. Annak ellenére azonban, hogy az összcsíraszám jelentős mértékű hatást gyakorol mindkét enantiomer koncentrációjára, az enantiomerek arányát az összcsíraszám nem befolyásolja. Azoknál a tejtermékeknel viszont, amelyeket hosszabb ideig érlelnek (Dália), és amelyeknél a kultúrák aminosav-termelőképesége lényegesen meghaladja a tejalapanyagban eredetileg benne lévő mikroorganizmusok termelését, nem lehet számítani a tejalapanyag hatására, tehát a tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma függetlennek látszik a tejalapanyag összetételétől.

### **5.3. Magas összcsíraszámú tej összetételének alakulása különböző hőkezelési eljárások hatására**

#### ***5.3.1. A tejminták összes aminosav-tartalma***

A nyerstej, a hagyományos módon pasztörözött tej (normál vagy kíméletesen pasztörözött tej) és a mikrohullámmal pasztörözött tej aminosav-tartalmát az 5. és a 6. táblázat tartalmazza. Az 5. táblázatban az esszenciális és féligesszenciális aminosavakat, a 6. táblázatban pedig a nem esszenciális aminosavakat foglaltuk össze.



## 5. táblázat

**A különböző módon kezelt tejminták esszenciális- és féligesszenciális aminosav-tartalma (g aminosav/100 g tej) (n=5)**

Aminosav	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztörözött tej	Mikrohullámmal pasztörözött tej
Treonin	0,124±0,0035	0,118±0,0029	0,123±0,003
Cisztin	0,021±0,0015	0,022±0,0027	0,023±0,0024
Valin	0,185±0,0037	0,173±0,0057	0,180±0,0074
Metionin	0,097±0,0027	0,090±0,0031	0,090±0,0028
Izoleucin	0,154±0,0035	0,146±0,0046	0,140±0,0039
Leucin	0,284±0,0049	0,265±0,0057	0,276±0,0102
Tirozin	0,130±0,0042	0,127±0,0027	0,132±0,0027
Fenilalanin	0,140±0,0051	0,135±0,0046	0,139±0,0064
Lizin	0,232±0,0050	0,223±0,0057	0,236±0,0075
Hisztidin	0,086±0,0048	0,079±0,0037	0,080±0,0032
Arginin	0,073±0,0032	0,070±0,0025	0,078±0,0027

## 6. táblázat

**A különböző módon kezelt tejminták nemesszenciális aminosav-tartalma (g aminosav/100 g tej) (n=5)**

Aminosav	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztörözött tej	Mikrohullámmal pasztörözött tej
Aszparaginsav	0,216±0,0052	0,207±0,0059	0,212±0,0039
Szerin	0,165±0,0038	0,158±0,0030	0,159±0,0030
Glutaminsav	0,694±0,0116	0,650±0,0116	0,669±0,0099
Prolin	0,376±0,0080	0,343±0,0076	0,356±0,0066
Glicin	0,058±0,0035	0,055±0,0026	0,058±0,0049
Alanin	0,101±0,0042	0,098±0,0030	0,100±0,0027

A nyerstej illetve a két kezelt tej aminosav-tartalma között szignifikáns különbséget a két kezelési mód esetén csak az arginintartalomban tudunk kimutatni ( $P < 0,05$ ).

Az 5. táblázat adataiból megállapítható, hogy az esszenciális aminosavak mennyisége gyakorlatilag teljes mértékben megegyezik függetlenül attól, hogy kezeletlen nyerstejről vagy különböző módon hőkezelt tejről van szó. Nem találunk különbséget az oxidációra érzékeny cisztintartalomban, melynek értéke 0,021 és 0,023% között, a metionintartalomban, melynek értéke 0,090 és 0,097% között változott. Ugyancsak minimális volt a különbség a hőkezelésre rendkívül érzékeny treonin- (0,118–0,124%) és tirozintartalomban (0,127–0,132%) is.

Az oxidációra és a hő hatására rendkívül bomlékony kéntartalmú aminosavak, és a tirozin és a treonin minimális módon történő megváltozása után nem meglepő, hogy a valin- (0,173–0,185%), az izoleucin- (0,140–0,154%), a leucin- (0,265–0,284%) és a fenilalanintartalomban (0,135–0,140%) sem tudtunk a nyerstej, valamint a belőle hőkezeléssel készített pasztörözött tejek között különbséget kimutatni. A lizintartalom a három tejmintánál 0,223–0,236, a hisztidintartalom 0,079–0,086, az arginintartalom pedig 0,070–0,078% között változott.

Az esszenciális aminosavakhoz hasonlóan nem tapasztaltunk változást a nem esszenciális aminosavaknál sem a hőkezelés hatására (6. táblázat). A fehérje legnagyobb részét kitevő glutaminsav 0,650–0,694% között, a prolin 0,343–0,376% között, az aszparaginsav 0,207–0,216% között, a nem esszenciális aminosavak közül talán legérzékenyebb szerin 0,158–0,165% között, a glicin 0,055–0,058% között, az alanin pedig 0,098–0,101% között változott. Vizsgálatainkból levonhatjuk tehát azt a következtetést, hogy az általunk alkalmazott kétféle hőkezelés gyakorlatilag semmiféle változást nem okozott a tej aminosav-tartalmában sem az esszenciális, sem a nem esszenciális aminosavak

tekintetében. Minimális volt az ammóniatartalomban történő változás is, hisz az ammóniatartalmat a hagyományos módon pasztörözött tejnél, 0,047%-nak, a mikrohullámmal pasztörözött tejnél pedig 0,048%-nak mértük, ami gyakorlatilag egybeesett a kontrollminta ammóniatartalmával.

### 5.3.2. A fehérje aminosav-összetétele és biológiai értéke

A 7. és 8. táblázatban az előzőekben elemzett minták eredményei láthatók g aminosav/100 g fehérje mértékegységre átszámolva, melyek a fehérje minőségéről adnak felvilágosítást.

7. táblázat

#### A különböző módon kezelt tejminták esszenciális- és féligesszenciális aminosav-tartalma (g aminosav/100 g fehérje)

Aminosav	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztörözött tej	Mikrohullámmal pasztörözött tej
Treonin	3,9	3,9	4,0
Cisztin	0,7	0,7	0,7
Valin	5,8	5,8	5,8
Metionin	3,0	3,0	2,9
Izoleucin	4,8	4,9	4,5
Leucin	8,9	9,0	8,9
Tirozin	4,1	4,2	4,3
Fenilalanin	4,4	4,5	4,5
Lizin	7,3	7,4	7,6
Hisztidin	2,7	2,6	2,6
Arginin	2,3	2,3	2,5

## 8. táblázat

**A különböző módon kezelt tejminták nemesszenciális aminosav-tartalma (g aminosav/100 g fehérje)**

Aminosav	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztörözött tej	Mikrohullámmal pasztörözött tej
Aszparaginsav	6,8	6,9	6,8
Szerin	5,2	5,3	5,1
Glutaminsav	21,8	21,6	21,6
Prolin	11,8	11,4	11,5
Glicin	1,8	1,8	1,9
Alanin	3,2	3,3	3,2

A 7. és a 8. táblázat tehát az összes aminosav arányát mutatja a tejfehérje százalékában. Mivel a gramm aminosav/100 g minta egységekben kifejezett aminosav-összetétel a különféle kezelések hatására alig változott, és az aminosavak összege mindhárom mintánál jól közelítette a nyersfehérje-tartalmat, ezért a fehérje aminosav-összetételében sem találtunk különbséget a három tejminta között. A legfontosabb esszenciális aminosavak egyike, a lizin értéke a fehérjében 7,3–7,6% között változott, a legnagyobb mennyiségben előforduló nem esszenciális glutaminsav százalékos aránya pedig 21,6 és 21,8% között alakult. Levonhatjuk tehát azt a következtetést, hogy az általunk alkalmazott hőkezelés nem befolyásolta a tej aminosav-tartalmát (gramm aminosav/100 g minta), és nem volt semmilyen hatással a fehérje aminosav-összetételére (gramm aminosav/100 g fehérje), ezen keresztül a fehérje biológiai értékére. Morup és Olesen (1976) szerint kiszámolva a tejfehérje biológiai értékét, a kontroll tejmintára 81,2, a hagyományos módon pasztörözött tejre 80,9, a mikrohullámmal pasztörözött tejre pedig 80,8 értéket kaptunk. Ezen eredmények bizonyítják, hogy az alkalmazott hőkezelés semmiféle hatással nem volt a tejfehérje biológiai értékére.

### 5.3.3. A tejminták szabadaminosav-tartalma

A 9. és 10. táblázat a nyerstej és a különböző módon pasztörözött tejek szabadaminosav-tartalmát mutatja mg aminosav/100 g tej mértékegységben.

9. táblázat

#### A különböző módon kezelt tejminták esszenciális- és féligesszenciális szabadaminosav-tartalma (mg aminosav/100 g tej)

Aminosav	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztörözött tej	Mikrohullámmal pasztörözött tej
Treonin	0,14	0,09	0,07
Cisztin	0,06	0,01	0,02
Valin	1,04	0,14	0,18
Metionin	0,27	0,01	0,03
Izoleucin	0,14	0,05	0,04
Leucin	0,54	0,04	0,06
Tirozin	1,40	0,07	0,08
Fenilalanin	1,03	0,08	0,08
Lizin	0,76	0,20	0,20
Hisztidin	0,45	0,14	0,17
Arginin	0,10	0,10	0,10

A szabad aminosavak mennyiségét vizsgálva egészen más megállapítások adódtak, mint amit a fehérje összesaminosav-tartalmának vizsgálatakor tettünk. A nyerstej összes szabadaminosav-tartalmát 20,67 mg/100 g tejnek mértük, mely érték a hagyományos módon pasztörözött tejben 8,02 mg aminosav/100 g tejre, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig 8,96 mg aminosav/100 g tejre csökkent. Az egyes

aminosavakon belül rendkívül nagymértékben csökkent a fenilalanin, a hisztidin, a leucin, a lizin, a metionin, a valin, az aszparaginsav, a prolin és a tirozin mennyisége, csekélyebb mértékben az izoleuciné, a treoniné, az alaniné, az argininé és a cisztiné, és arányaiban némi növekedést kaptunk a glicin és a szerin esetében. Egyenként értékelve az esszenciális aminosavakat megállapítottuk, hogy a treonin mennyisége 0,14 mg aminosav/100 g tej értékekről a hagyományos módon pasztörözött tejben 0,09, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig 0,07 mg aminosav/100 g tejre csökkent. (A továbbiakban az első helyen mindig a nyerstej, a második helyen a hagyományos módon pasztörözött tej, a harmadik helyen pedig a mikrohullámmal pasztörözött tej értékeit tárgyaljuk.)

A cisztintartalom 0,06-ről 0,01-re és 0,02-re, a valintartalom 1,04-ről 0,14 és 0,18-ra, a metionintartalom 0,27-ről 0,01-re és 0,03-ra, az izoleucintartalom 0,14-ről 0,05-re és 0,04-re, a leucintartalom 0,54-ről 0,04-re és 0,06-ra, a tirozintartalom 1,40-ről 0,07-re és 0,08-ra, a fenilalanintartalom 1,03-ről 0,08-ra és 0,08-ra, a lizintartalom 0,76-ről 0,20-ra és 0,20-ra, a hisztidintartalom 0,45-ről 0,14-re és 0,17-re csökkent, míg az arginintartalom mindhárom tejmintánál 0,10 mg aminosav/100 g tej volt. Leszűrhetjük tehát azt a következtetést, hogy az arginin kivételével mindegyik esszenciális szabad aminosav mennyisége lényeges mértékben csökkent a hőkezelés során. Legszembetűnőbb csökkenést a fenilalanin, a leucin, a lizin, a valin és a tirozin esetében kaptunk.

## 10. táblázat

**A különböző módon kezelt tejminták nemesszenciális szabadaminosav-tartalma (mg aminosav/100 g tej)**

Aminosav	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztörözött tej	Mikrohullámmal pasztörözött tej
Aszparaginsav	1,66	0,41	0,46
Szerin	0,07	0,16	0,08
Glutaminsav	7,07	4,75	5,15
Prolin	4,23	0,14	0,23
Glicin	0,33	0,74	1,01
Alanin	0,50	0,28	0,37

A nem esszenciális aminosavakat tekintve az aszparaginsav 1,66-ról 0,41 és 0,46 mg aminosav/100 g tejre csökkent. A szabad szerintartalom 0,07-ről 0,16 illetve 0,08 mg aminosav/100 g tej értékre nőtt. A glutaminsavtartalom 7,07-ről 4,75-re és 5,15-re, a prolintartalom pedig 4,23-ről 0,14-re és 0,23-ra csökkent. A glicintartalom 0,33-ról 0,74-re és 1,01-re nőtt, az alanintartalom pedig 0,50-ről 0,28-ra és 0,37-re csökkent. A nem esszenciális aminosavaknál a legszembetűnőbb csökkenést a prolin és az aszparaginsav esetében tapasztaltuk, arányaiban viszont elhanyagolható a változás a legnagyobb mennyiségben lévő szabad aminosav, a glutaminsav esetében. Összességében elmondható tehát, hogy a nyerstej esszenciális szabadaminosav-tartalma az arginin kivételével jelentős mértékben csökken, és a nem esszenciális aminosavak is, a glicin és a szerin kivételével, csökkennek a hőkezelés hatására.

Mivel magyarázható ez a csökkenés? Mivel a nyerstej mintát azonnal mélyhűtő szekrényben fagyasztottuk a különböző módon hőkezelt mintákkal együtt, ezért kizártuk annak a lehetőségét, hogy a nyerstej savanyodásának indulása, a Laktobacillusok elszaporodása és az

élettevékenységük következtében lenne magasabb a szabadaminosav-tartalom. Mivel a mintavételi szabályokat betartottuk, és a nyerstejet a hőkezelt mintákkal együtt azonnal fagyasztottuk, ezért a szabad aminosavak mennyiségben észlelt nagymérvű csökkenés csak a technológiai beavatkozás következménye lehet. Kétfajta lehetőséggel kellene számolni a hőkezelés során mutatkozó változásokat illetően. Lehetséges, hogy mivel a szabad aminosavak lényegesen reakcióképesebbek, mint a peptidláncban kötöttek, ezért a hőkezelés során reakcióba léptek a tejcukorral Maillard-reakciótermékeket eredményezve. Erre egyetlen bizonyítékunk, hogy egy másik kísérlet során mérve a hasznosítható lizin-tartalmat, hőkezelés hatására mintegy 4–5%-os csökkenést tapasztaltunk. Ez a minimális csökkenés elképzelhetően a szabad lizin átalakulásának következménye, és nem a tejfehérjében kötötté. Az összes többi aminosav esetében kísérleti bizonyítékkal nem rendelkezünk elképzelésünk alátámasztására.

A másik lehetőség talán az, hogy a hőkezelés során koagulálódott savófehérjék felületükön meg tudták kötni a szabad aminosavakat, és ez a kötés oly erős volt, hogy az általunk alkalmazott meghatározás során a felületről a szabad aminosavakat nem tudtuk eltávolítani. Valójában ez utóbbi lehetőség lenne a gyakorlat számára a legjobb, hisz ilyenkor a szabad aminosavak a tejtermékek készítése során nem maradnának a savóban, hanem a fehérje felületéhez adszorpcióval kötődve növelnék a tejtermék biológiai értékét.

**A szabad aminosavak százalékos részaránya.** A 11. és a 12. táblázat a szabad aminosavak százalékos részarányát és annak alakulását mutatja a hőkezelés során.



11. táblázat

**A különböző módon kezelt tejminták esszenciális és féligesszenciális szabadaminosav-tartalmának aránya (%)**

Aminosav	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztőrözött tej	Mikrohullámmal pasztőrözött tej
Treonin	0,7	1,1	0,8
Cisztin	0,3	0,1	0,2
Valin	5,0	1,7	2,0
Metionin	1,3	0,1	0,3
Izoleucin	0,7	0,6	0,4
Leucin	2,6	0,5	0,7
Tirozin	6,8	0,9	0,9
Fenilalanin	5,0	1,0	0,9
Lizin	3,7	2,5	2,2
Hisztidin	2,2	1,7	1,9
Arginin	0,5	1,2	1,1

A legtöbb esszenciális aminosavnál az arányok is a kezeletlen mintánál a nagyobbak, mely megállapítás alól csak a treonin és az arginin képez kivételt. Meglepően nagy változás tapasztalható a szabad glutaminsav esetében az arányokat illetően.

12. táblázat

**A különböző módon kezelt tejminták nem esszenciális szabadaminosav-tartalmának aránya (%)**

Aminosav	Tejminta		
	Nyerstej	Normál pasztőrözött tej	Mikrohullámmal pasztőrözött tej
Aszparaginsav	8,0	5,1	5,1
Szerin	0,3	2,0	0,9
Glutaminsav	34,2	59,2	57,4
Prolin	20,5	1,7	2,6
Glicin	1,6	9,2	11,3
Alanin	2,4	3,5	4,1

A nyerstej szabad glutaminsav aránya a legkisebb, míg a két hőkezelt minta szabad glutaminsav aránya 57–59% között alakult, ami annyit jelent, hogy a hőkezelt minta szabad aminosavainak több mint felét a glutaminsav teszi ki. A glicin és a szerin esetében is a nyerstej minta tartalmazta arányaiban a legkevesebb szabad aminosavat; ezeket az eredményeket jelenlegi tudásunk alapján nem tudjuk magyarázni.

Összességében tehát megállapítható, hogy jelentős eltérést kaptunk a szabad aminosavakat illetően a nyerstej és a különböző módon hőkezelt tejminták között. A két hőkezelési mód között azonban a szabad aminosavak tekintetében nem tudunk különbséget tenni, tehát a szabad aminosavak alapján úgy tűnik, hogy a két hőkezelési módszer azonos értékűnek mondható.

**A tejminták szabad D-aminosav-tartalma.** A szabad D-aminosavak vizsgálata során a tejmintákból a D-aszparaginsavat, a D-glutaminsavat és a D-alanint tudtuk kimutatni. Más D-aminosav a HPLC rendszerünk érzékenységének megfelelő szinten a mintákból nem volt kimutatható. Megállapítottuk, hogy a kontroll tejminta D-aszparaginsav-tartalma 0,016

mg/100 g, és a D-aszparaginsav részaránya az összes aszparaginsavon belül 12,35%. Ugyanezen minta D-glutaminsav-tartalma 0,053 mg/100 g, a D-glutaminsav részaránya pedig 7,41%. A kontroll minta D-alanin-tartalmát 0,043 mg/100 g-nak mértük, a D-alanin részaránya pedig 14,86% volt.

A különböző hőkezelési eljárások hatására a D-aminosavak mennyisége gyakorlatilag nem változott. A D-Asp mennyisége 0,016 mg aminosav/100 g tej értékekről a hagyományos módon pasztörözött tejben 0,017, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig 0,018 mg aminosav/100 g tejre, a D-Glu 0,053-ról 0,052-re és 0,054-re, a D-Ala pedig 0,043-ról 0,049 és 0,046 mg aminosav/100 g tej értékre változott. Levonható tehát az a következtetés, hogy a pasztörözésnél alkalmazott hő és idő kombinációk a nyerstej D-aminosav-tartalmát nem változtatták meg, és e tekintetben a két hőkezelési eljárás között nem lehet különbséget tenni.

#### **5.3.4. A tej B- és C-vitamin-tartalma**

Kísérleteink során a nyerstej, a kíméletesen pasztörözött tej és a mikrohullámmal pasztörözött tej C-, valamint B-vitamin-tartalmát vizsgáltuk nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. Azért választottuk ezeket a vitaminokat, mert mind a C-vitamin, mind a B-vitaminok rendkívül érzékenyek a technológiai beavatkozásokra, különösen a hőkezelésre. A nyers tejmintát közvetlenül a pasztöröző berendezésbe történő bejuttatás előtt, a pasztörözött mintát pedig a berendezést elhagyó csővezetékéből vettük. A mintákat azonnal 0 °C-ra lehűtöttük, és a laboratóriumba történő szállítás után vitamintartalmukat azonnal meghatároztuk. A mintatároló edényeket teljesen tele töltöttük, ügyelve arra, hogy a levegő oxigéntartalmát a lehető legjobban kizárjuk.

A különböző módszerekkel hőkezelt és a nyerstej aszkorbinsav-tartalmát a 13. táblázat tartalmazza.

13. táblázat

**A nyerstej, a hagyományos és mikrohullámmal pasztörözött tejminták C-vitamin-tartalma (n=5)**

<b>Minták</b>	<b>C-vitamin-tartalom, mg/dm<sup>3</sup></b>
Nyerstej	22,71±0,619
Kíméletesen pasztörözött tej	22,11±0,844
Mikrohullámmal pasztörözött tej	6,25±0,244

A két pasztörözési eljárás között kétmintás t-próba segítségével szignifikáns különbséget tudtunk kimutatni (P=0,0001).

A nyerstej C-vitamin-tartalmát a három párhuzamos kísérlet átlagában 22,71 mg/dm<sup>3</sup>-nek mértük, ami mintegy 3–4 mg-mal több, mint a szakirodalomban közölt érték, illetve amit korábban saját magunk mértünk. Ez a mennyiség a normál pasztörözés során 22,11 mg/dm<sup>3</sup>-re, a mikrohullámú pasztörözés során pedig 6,25 mg/dm<sup>3</sup>-re csökkent. Amint látható, a kíméletes pasztörözés hatására a C-vitamin-tartalom alig változott, a mikrohullámú pasztörözés során viszont kevesebb, mint harmadára csökkent.

Ez azért különösen meglepő, mert a mikrohullámú pasztörözés alacsonyabb hőmérsékleten (68 °C) történt, mint a hagyományos (72 °C), ezért úgy tűnik, hogy a mikrohullámú pasztörözésnél nem csak a hőmérséklet, hanem a mikrohullám energiája is szerepet játszott a C-vitamin-tartalom elbomlásában.

A 14. táblázat a nyerstej, a hagyományos módon pasztörözött és a mikrohullámmal pasztörözött tejminták B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>- és B<sub>12</sub>-vitamin-tartalmát mutatja.

14. táblázat

**A nyerstej, a hagyományos módon és a mikrohullámmal pasztörözött tejminták B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>- és B<sub>12</sub>-vitamin-tartalma (n=3)**

B-vitamin-tartalom, mg/dm <sup>3</sup>	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztörözött tej	Mikrohullámmal pasztörözött tej
B <sub>1</sub> -vitamin	0,39±0,027	0,27±0,017	0,26±0,011
B <sub>2</sub> -vitamin	1,81±0,033	1,63±0,014	1,65±0,019
B <sub>6</sub> -vitamin	0,52±0,013	0,48±0,013	0,46±0,011
B <sub>12</sub> -vitamin	0,0039±0,00013	0,0035±0,00011	0,0034±0,00015

A B-vitamin-tartalomban nem találtunk szignifikáns különbséget a kíméletesen pasztörözött tej és a mikrohullámmal pasztörözött tej között (kétmintás t-próba; P>0,05).

Az adatok mg/dm<sup>3</sup> értékben szerepelnek a táblázatban. Az általunk mért vitaminok közül a B<sub>1</sub>-vitamin a legérzékenyebb a hőkezelésre, míg a másik három vitamin jobban ellenáll a különböző hőhatásnak. A nyerstej B<sub>1</sub>-vitamin-tartalmát 0,39 mg/dm<sup>3</sup>-nek mértük, mely érték a normál pasztörözött tejben 0,27 mg/dm<sup>3</sup>-re, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig 0,26 mg/dm<sup>3</sup>-re csökkent. Ez a csökkenés mintegy 33,34%-os, ami azért nem meglepő, mert a B<sub>1</sub>-vitamin, a B-vitamincsoport leghőérzékenyebb tagja, és itt gondoltuk a legnagyobb változást a hőkezelés hatására.

A nyerstej B<sub>2</sub>-vitamin-tartalmát 1,81 mg/dm<sup>3</sup>-nek mértük, ami a normál pasztörözött tejben 1,63-mg/dm<sup>3</sup>l-re, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig 1,65 mg/dm<sup>3</sup>l-re csökkent. A csökkenés a két hőkezelési módnál mintegy 10% körüli, ami a B<sub>2</sub>-vitamin hőstabilitását, illetve az alkalmazott módszerek csekély károsító hatását mutatják a B<sub>2</sub>-vitamin-tartalomra. A nyerstej B<sub>6</sub>-vitamin-tartalmát 0,52 mg/dm<sup>3</sup>l-nek, a normál pasztörözött tejtét 0,48 mg/dm<sup>3</sup>-nek, a mikrohullámmal pasztörözött tejtét pedig 0,46 mg/dm<sup>3</sup>l-nek mértük. A csökkenés a hőkezelés során, a nyerstejhez viszonyítva, a B<sub>6</sub>-vitamin esetében is kb. 10%. A nyerstej B<sub>12</sub>-vitamin-tartalmát 0,0039 mg/dm<sup>3</sup>l-nek mértük, mely a normál pasztörözött tejben 0,0035 mg/dm<sup>3</sup>l-re, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig 0,0034 mg/dm<sup>3</sup>-re csökkent. A csökkenés mintegy 10–11%.

Összehasonlítva a nyerstej és a két hőkezelési módszerrel kapott tej vitamintartalmát megállapítható, hogy a B<sub>1</sub>-vitamin esetében 30–40%-os csökkenéssel lehet számolni, a másik három vitaminnál viszont kb. 10%-os csökkenés prognosztizálható a hőkezelés során. A kétféle módszerrel pasztörözött tej B-vitamin-tartalma gyakorlatilag azonosnak mondható. Leszögezhetjük tehát, hogy a B-vitamin-tartalom szempontjából a normál és a mikrohullámmal pasztörözött tej egyenértékűnek tekinthető, a mikrohullámú pasztörözésnél viszont jelentős C-vitamin-bomlással kell számolni.

#### ***5.3.5. A tej hidroximetil-furfurol-tartalma***

A mikrohullámmal pasztörözött és a hagyományos pasztörözéssel készült tej minőségét a hidroximetil-furfurol (HMF) mérésével elemeztük, ami hőkezelés hatására magas fehérje és cukortartalmú készítményeknél mindig megjelenik. A minták HMF-tartalmát nagyhatékonyságú

folyadékkromatográffal határoztuk meg a nyerstejből, illetve a különböző pasztőrözési eljárással készült tejekből. A 15. táblázat a különböző módon hőkezelt tejminták, a cukrozott sűrített tej és a tejpor HMF-tartalmát mutatja  $\mu\text{g HMF}/100\text{ g}$  minta egységben.

15. táblázat

**A különböző módon hőkezelt tejminták, a cukrozott sűrített tej és a tejpor HMF-tartalma ( $\mu\text{g HMF}/100\text{ g}$  minta)**

Minta		HMF-tartalom, $\mu\text{g HMF}/100\text{ g}$ minta
Nyerstej		-
Kíméletesen pasztőrözött tej		-
Mikrohullámmal pasztőrözött tej		-
Cukrozott sűrített tej	Átlag	127 $\pm$ 4,77
Tejpor	Átlag	684 $\pm$ 17,16

A három párhuzamos kísérlet összegzéseként elmondható, hogy a nyerstej, a hagyományosan pasztőrözött tej és a mikrohullámmal pasztőrözött tej HMF-t még nyomokban sem tartalmazott, tehát ebből a szempontból a két pasztőrözési eljárás egyenértékűnek mondható. Hogy az általunk alkalmazott analitikai módszer alkalmasságát ellenőrizzük, meghatároztuk három párhuzamos méréssel, egy a kereskedelmi forgalomban kapható, cukrozott sűrített tej és tejpor HMF-tartalmát. Megállapítottuk, hogy a cukrozott sűrített tej átlagosan 127  $\mu\text{g}$ , míg a tejpor 684  $\mu\text{g}$  HMF-et tartalmaz 100 g mintában.

Levonhatjuk tehát azt a következtetést, hogy az alkalmazott módszer alkalmas a HMF-tartalom mérésére, és nem a módszer hibája, hogy a tejekben nem tudtunk HMF-t kimutatni hanem az, hogy a tejek a

HPLC érzékenységének megfelelő szinten nem tartalmaznak hidroximetil-furfurolt. Összehasonlítva a cukrozott sűrített tej és a tejpör értékeit, azt találtuk, hogy a tejpörben nagyobb mennyiségben fordul elő a HMF, mint a sűrített tejben, aminek az a magyarázata, hogy a tejpört magasabb hőfokon állítják elő, mint a sűrített tejet, és a Maillard-reakció termékeinek képződése magasabb hőmérsékleten felgyorsul. A tejpörben mi átlagosan 684 µg/100 g HMF-t találtunk.

### 5.3.6. A tej hasznosíthatólizin- és lizinoalanin-tartalma

A tejminták HMF-tartalmának elemzésével párhuzamosan vizsgáltuk a különböző módon hőkezelt tejminták hasznosíthatólizin- és lizinoalanin-tartalmát. Az eredményeket a 16. táblázat mutatja.

16. táblázat

#### A különböző módon kezelt tejminták hasznosíthatólizin- és lizinoalanin-tartalma

A vizsgált komponens	Tejminta		
	Nyerstej	Kíméletesen pasztőrözött tej	Mikrohullámmal pasztőrözött tej
Hasznosíthatólizin-tartalom, %	0,229±0,0024	0,217±0,0023	0,219±0,0021
Lizinoalanin-tartalom, mg/dm <sup>3</sup>	< 5	< 5	< 5

A lizinoalanin-tartalom mérése során sem a nyerstej-, sem a két hőkezelt tejmintánál nem tudtuk a mérés érzékenységét meghaladó lizinoalanin-tartalmat kimutatni. A 16. táblázatban szereplő < 5 érték azt mutatja, hogy mindhárom mintánál a lizinoalanin-tartalom 5 mg/dm<sup>3</sup> alatt maradt, tehát sem a hőkezelésre rendkívüli érzékeny treonin (esetleg szerin), sem



a hőkezelésre és az oxidációra érzékeny cisztein és cisztin nem bomlott el számottevő mennyiségben, hisz ez a két aminosav a legfőbb prekursora a lizinoalanin képződésnek.

A nyerstej hasznosíthatólizin-tartalmát 0,229%-nak, a hagyományosan pasztörözöttét 0,217%-nak, a mikrohullámmal pasztörözöttét pedig 0,219%-nak mértük. Levonható az a következtetés, hogy az általunk alkalmazott hőkezelés során a redukáló cukrokra és a hőhatásra rendkívül érzékeny lizin  $\epsilon$ -aminocsoportja nem alakult át olyan mértékben, mely annak biológiai értékesülését, hasznosíthatóságát befolyásolta volna. A hasznosíthatólizin-tartalomban mutatkozó mintegy 4–5%-os különbség jelzi, hogy némi Maillard-reakciótermék keletkezhetett a hőkezelés során.

Vizsgálatainkból leszűrhetjük azt a következtetést, hogy az általunk alkalmazott kétféle hőkezelés során a hasznosíthatólizin-tartalomban csak mintegy 4–5%-os csökkenés figyelhető meg, a lizinoalaninban pedig egyáltalán nem tudtunk kimutatni különbséget a három tejminta között. Ebből a szempontból tehát a két hőkezelési módszer egyenértékűnek tekinthető, és egyik sem csökkentette lényeges mértékben az egyik legfontosabb esszenciális aminosav, a lizin hasznosíthatóságát, és egyik hőkezelési módszer sem eredményezett számottevő mennyiségben lizinoalanin-tartalmat.

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

### 6.1. Az összcsíraszám hatása a tej szabad L-aminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára

Kísérleteink igazolták, hogy az alacsony összcsíraszámú tej is tartalmaz minimális mennyiségben D-aminosavat, elsősorban D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint. A csíraszám növekedésével mind az L-, mind a D-aminosavak koncentrációja nőtt, azonban ez a növekedés a kb. 400 ezer csíraszámig csekélynek mondható, és nem történnek lényeges változások a 400 ezer – 1,5 millió tartományban sem, ahol az L- és a D-aminosavak mennyisége csekély változást mutat, bár mindkét aminosav-enantiomer koncentrációja folyamatosan nő az összcsíraszám függvényében. 1,5–2,0 millió közötti tartományban mindkét aminosav-enantiomer koncentrációja fokozatosan nő, majd ezt követően hirtelen mind a szabad aminosavak, mind a szabad D-aminosavak mennyisége nő, és az aminosavakon belül a D-aminosavak részaránya is határozott növekedést mutat. Ez a növekedés rohamosan folytatódik a 2–3 millió csíraszám közötti tartományban, melynek következtében a szabad aszparaginsav mennyisége meghaladja az 1,8, a glutaminsavé a 6,0, az alaniné pedig a 7,2 mg/100 g-ot.

A vizsgált tartományban a D-aszparaginsav részaránya a kontroll tejben mért 11%-ról 22%-ra, a glutaminsavé 5%-ról 25%-ra, az alaniné pedig 12%-ról 33%-ra nőtt. Összességében legvonhatjuk tehát azt a következtetést, hogy a csíraszám növekedésével a 100 ezer – 3 millió tartományban mind az L-aminosavak, mind a D-aminosavak mennyisége nő, a növekedés azonban a D-aminosavaknál jelentősebb, ami az összes aminosavon belül a D-aminosavak részarányának növekedését okozza.

## **6.2. A tej összcsíraszámának hatása a tejtermékek összetételére**

A 220–390 ezer összcsíraszám tartományban hat, az 1,23–2,95 millió összcsíraszám tartományban pedig négy darab Sana analízisét végeztük el. Megállapítottuk, hogy a 220–390 ezer összcsíraszámú tejből készült Sana L-aminosav-tartalma is és D-aminosav-tartalma is némiképp nőtt, arányaiban azonban egyik általunk vizsgált aminosavnál sem tapasztaltunk változást, így a D-enantiomerek aránya szinte változatlan maradt. Ezen csíraszám tartományban végzett vizsgálatainkból leszűrhetjük tehát azt a következtetést, hogy mindhárom általunk vizsgált aminosav (Asp, Glu, Ala) mindkét enantiomere némileg nőtt a csíraszám függvényében, a növekedés azonban mindkét enantiomernél hasonló módon ment végbe, ezért az arányok szinte semmit nem változtak a vizsgált periódusban. Az 1,23–2,95 millió összcsíraszám tartományban mindhárom aminosav esetében nőtt mind a D-, mind az L-enantiomer mennyisége, mely növekedés az 1,5 millió csíraszám után vált jelentőssé, és a közel három milliós összcsíraszámú tejből készült Sana mind az L-, mind a D-aminosavakból a legtöbbet tartalmazta. Ezen magas csíraszámú tejből készült Sana L-aminosav-tartalma 2–3-szor több, mint az alacsonyabb csíraszámú tejből készült terméké, és ugyanez elmondható a D-aminosavak mennyiségére is, ezért ebben a tartományban sem tapasztaltunk lényeges változást a D- és az L-aminosavak arányát illetően. A D-glutaminsav mintegy 25%-ot, a D-aszparaginsav 32%-ot, a D-alanin pedig mintegy 40%-ot tett ki, az összes aminosavon belül. A két összcsíraszám tartományban végzett kísérleteink eredményeit összegezve tehát elmondható, hogy mintegy 500 ezer csíraszámig nem kell lényeges szabadaminosav-tartalom növekedéssel számolni, a milliós nagyságrendű csíraszám esetében azonban mind az L-, mind a D-aminosavak

mennyisége lényegesen nagyobb lehet az alacsonyabb csíraszámú tejből készítekhez képest.

A 220–390 ezer összcsíraszám tartományban 6 db, az 1,25–2,91 milliós tartományban pedig 4 db Dália sajt analízisét tudtuk elvégezni. Megállapítottuk, hogy az általunk vizsgált csíraszám tartományban az L-aminosavak mennyisége alig mutatott változást, és ugyanez elmondható az általunk vizsgált három D-aminosav mennyiségére is, ahol csak a kétmillió fölötti csíraszám tartományban kaptunk némileg nagyobb D-alanin-tartalmat a kisebb csíraszámú tejből készült sajtokhoz viszonyítva. Összességében elmondható tehát, hogy a Dália sajt esetében a 220–390 ezer összcsíraszám tartományban a változások egészen minimálisak. A D-aminosavak részarányát vizsgálva a csíraszám függvényében is minimális a változás, hisz a D-glutaminsav részaránya 21,85–24,62% között, a D-aszparaginsavnál 27,11–29,42% között, míg a D-alaninnál 39,43–41,85% között alakult.

A Telemea és a tehéntúró összes szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát vizsgálva – az L-glutaminsav kivételével – minden aminosavnál és minden enantiomernél növekedést kaptunk, de mivel az összcsíraszám tartomány nem volt elég széles, határozott következtetést a csíraszám befolyásolásáról mondani nem tudunk.

A különböző összcsíraszámú tejalapanyagból készült tejtermékek összetétele és összcsíraszám közötti összefüggést vizsgálva megállapítottuk, hogy a friss, illetve a rövid ideig érlelt tejtermékeknél (Sana, Telemea) az összcsíraszám növekedésével mind a D-, mind az L-enantiomerek mennyisége nőtt. Annak ellenére, hogy ez a hatás a mennyiségre jelentős, az enantiomerek arányát az összcsíraszám nem befolyásolta. Azoknál a tejtermékeknél viszont, amelyeket hosszabb ideig érlelnek (Dália), és amelyeknél az alkalmazott szintenyészetek

aminosavtermelő-képessége lényegesen meghaladja a tejalapanyagban eredetileg benne lévő mikroorganizmusok által produkált mennyiséget, nem lehet számítani a tejalapanyag hatására, tehát a tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma függetlennek látszik a tejalapanyag összetételétől.

### **6.3. A magas összcsíraszámú tej összetételének alakulása a különböző hőkezelési eljárások hatására**

Összehasonlítva a kíméletesen és a mikrohullámmal pasztörözött tej összetételét egymással és a kiindulási nyerstej összetételével megállapítottuk, hogy mikrohullámú pasztörözés hatására a tejfehérje aminosav-összetétele és az ebből számolt biológiai értéke gyakorlatilag megegyezik az eredeti nyerstejével. A nyerstej összes szabadaminosav-tartalma mindkét pasztörözési eljárással mintegy 40–45%-ra csökken, ami a pasztörözés során lejátszódó változásokkal magyarázható. Feltételezéseink szerint a szabad aminosavak vagy a Maillard-reakció során használódtak el, vagy a hőkezelés során koagulálódott savófehérjék kötötték meg őket. A két hőkezelési mód között azonban a szabad aminosavak tekintetében nem tudtunk különbséget tenni. Megállapítottuk, hogy a kétfajta pasztörözésnél alkalmazott hőmérséklet és hőntartás nem okozott D-aminosav-növekedést, és e tekintetben sem tudtunk a két hőkezelési eljárás között különbséget tenni. A nyerstejhez viszonyítva a B<sub>1</sub>-vitamin esetében mindkét hőkezelési eljárásnál mintegy 30–40%-os, a többi B-vitaminnál pedig mintegy 10%-os veszteséget kaptunk. Jelentős veszteséget tapasztaltunk a mikrohullámú pasztörözésnél a C-vitamin esetében, ami a kíméletesen pasztörözött tejben alig változott a nyerstejhez viszonyítva, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig mintegy harmadára csökkent. Feltételezésünk

szerint a pasztőrözésnél nem csak a hőmérséklet, hanem a mikrohullám egyéb hatása is szerepet játszhatott a C-vitamin elbomlásában. A tej hidroximetil-furfurol-, hasznosítható lizin- és lizinoalanin-tartalmát vizsgálva csak minimális eltérést kaptunk mindkét pasztőrözési eljárásnál a nyerstejhez viszonyítva, és a két eljárás között e komponensek tekintetében nem tudtunk különbséget kimutatni.

Összességében megállapítottuk, hogy a mikrohullámú pasztőrözés az általunk vizsgált komponensek tekintetében – a C-vitamin kivételével – azonos értékűnek tekinthető a hagyományos, kéméletes pasztőrözéssel.

## 7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

– Megállapítottuk, hogy a tej csíraszámának növekedésével mind a szabad L-, mind a szabad D-aminosavak koncentrációja nő. A növekedés az 50–400 ezer tartományban minimális, majd 1,5 millió összcsíraszámig folyamatosan emelkedik, 1,5–2,0 millió csíraszám után pedig mind a szabad aminosavak, mind a szabad D-aminosavak koncentrációja megnő, és az összes mennyiség növekedésén túl a növekvő csíraszámmal nő a D-aminosavak részaránya.

– Megállapítottuk, hogy a friss, illetve a rövid ideig érlelt tejtermékeknél a tejalapanyag összcsíraszámának növekedésével mind a D-, mind az L-aminosav-enantiomerek mennyisége nő, az enantiomerek arányát azonban az összcsíraszám nem befolyásolja. A hosszabb ideig érlelt termékeknél, az alkalmazott szintenyészetek aminosav-produkciója miatt, a tejalapanyag összcsíraszámja nincs hatással a tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára.

– A mikrohullámú pasztörözés a hagyományos pasztörözési eljáráshoz hasonlóan nem változtatja meg a tejfehérje aminosav-összetételét és biológiai értékét, csökkenti a tej szabadaminosav-tartalmát, nincs hatással a tej szabad D-aminosav-tartalmára, nem okoz számottevő mennyiségű hidroximetil-furfurol és lizinoalanin képződést, és nem csökkenti a hasznosítható lizintartalmat. Mintegy 10–40%-kal csökkenti a B-vitamin-tartalmat, és jelentős C-vitamin-bomlást idéz elő a hagyományos, kémiletesen végzett pasztörözéshez képest.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

Székelyföldön a tejfeldolgozó üzemeknek 2005–2008 folyamán esetenként olyan magas csíraszámú tejből kellett jó minőségű tejtermékeket előállítani, amely az EU szabványai szerint emberi fogyasztásra alig alkalmasak. A nem megfelelő tőgyegészségügy és fejési higiénia esetenként több milliós csíraszámú tej termelését okozza, amelynek összetétele kedvezőtlen lehet a tejtermékek előállítására szempontjából.

Vizsgálataink során arra kerestük a választ, hogy hogyan alakul a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma az összcsíraszám függvényében, és arra, hogy a különböző összcsíraszámú tejek milyen hatással vannak a belőle készült tejtermékek összetételére. E feladat kapcsán vizsgáltuk a Sana frissen fogyasztott savanyú tejtermék, a Dália közepesen hosszú ideig érlelt sajt, valamint a Telemea és a tehéntúró rövid ideig érlelt tejtermékek összetételének alakulását a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében.

Kutatómunkám során arra is kíváncsi voltam, hogy a magas összcsíraszámú tej pasztörözésére alkalmazható-e a mikrohullámú eljárás. Ennek eldöntésére vizsgáltam a különféle pasztörözéssel kapott tej aminosav-összetételét és biológiai értékét, szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát, C- és B-vitamin-tartalmát, valamint hasznosítható lizin-, lizinoalanin- és hidroximetil-furfurol-tartalmát. Az aminosav-összetétel és a szabadaminosav-tartalom meghatározását ioncserés oszlopkromatográfiával, illetve nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával vizsgáltam, a D-aminosavakat oszlop előtti származékképzést követően, akirális oszlopon, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával elemeztem. A vitaminokat és a hidroximetil-



furfurolt nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával, a hasznosítható lizintartalmat és a lizinoalanint ioncserés oszlopkromatográfiával elemeztem.

Kutatómunkám során megállapítottam egyrészt azt, hogy az alacsony összcsíraszámú tej is tartalmaz minimális mennyiségben D-aminosavakat, valamint azt, hogy a csíraszám növekedésével mind az L-, mind a D-aminosavak koncentrációja nő. Ez a növekedés azonban csak a 1,5–2 millió összcsíraszám után válik intenzívvé, és mindkét aminosav-enantiomer koncentrációja a 3 millió csíraszám közelében lesz a legnagyobb. Az L-aminosavak mellett a D-aminosavak koncentrációjának növekedése intenzívebb, ezért a D-aminosavak részaránya az összcsíraszám függvényében folyamatosan emelkedett, és maximumát a 3 millió csíraszám körüli értéken érte el.

A különböző összcsíraszámú tejalapanyagból készült tejtermékeket vizsgálva megállapítottuk, hogy a friss, illetve a rövid ideig érlelt tejtermékeknél a tejalapanyag összcsíraszámának növekedésével mind a D-, mind az L-enantiomerek mennyisége nő. A jelentős növekedés ellenére az aminosav-enantiomerek arányát az összcsíraszám nem befolyásolta. A hosszabb ideig érlelt tejtermékeknél, ahol az alkalmazott szintenyészetek aminosav-termelő képessége meghaladta a tejalapanyagban eredetileg benne lévő mikroorganizmusok által produkált aminosavak mennyiségét, a tejalapanyag összcsíraszama és a tejtermék szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma között nem tudtunk összefüggést kimutatni.

Összehasonlítva a hagyományos módon, kéméletesen és a mikrohullámmal pasztörözött tej összetételét egymással és a kiindulási nyerstej összetételével, megállapítottuk, hogy a két pasztörözési eljárás között csak a C-vitamin-tartalom tekintetében lehet különbséget

kimutatni. Míg a hagyományos, kéméletes pasztőrözés hatására a nyerstej eredeti C-vitamin-tartalma alig változott, addig mikrohullámú pasztőrözésnél 40%-ára csökkent. A többi vizsgált paraméter tekintetében (aminosavösszetétel és biológiai érték, szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalom, B-vitaminok, hasznosítható lizin-, lizino-alanin- és hidroximetil-furfurol-tartalom) a két pasztőrözési eljárás között nem tudunk különbséget kimutatni.

## SUMMARY

During 2005-2008 dairy companies in Székelyland had to produce good quality dairy products occasionally from milks with so high CFU which were hardly fit for human consumption according to the EU standards. Unproper udder and milking hygiene are responsible occasionally for production of milk with CFU of several millions, composition of which can be unfavourable in the respect of production of dairy products.

In the course of our investigations the answer was sought to how the free amino acid and free D-amino acid content of milk changed in the function of total germ number, and to how milks with different total CFU affected the composition of dairy products made of them. In association with this task we examined the change in composition of Sana, a freshly consumed sour dairy product, Dalia, a mid-term ripened cheese as well as Telemea and cow's curd that are ripened for a short time, in the function of total CFU of the milk raw material.

During my research I also wanted to know whether for the pasteurization of milk with high total CFU the microwave procedure can be applied. In order to find out this, I examined the amino acid composition and biological value, free amino acid content and free D-amino acid content, vitamin C and B content as well as utilizable lysine, lysinoalanine and hydroxymethyl furfural content of milk pasteurized using the different methods. The amino acid content and free amino acid content were determined by ion-exchange column chromatography and high-performance liquid chromatography, respectively, D-amino acids were analyzed after precolumn derivatization on achiral column, by high-performance liquid chromatography. Vitamins and hydroxymethyl furfural were analyzed by high-performance liquid chromatography,

utilizable lysine content and lysinoalanine by ion-exchange column chromatography.

During my research I established that also the milk with low total germ number contained in minimal amount D-amino acids and also that with increasing germ number both the concentration of L-amino acids and D-amino acids increased. The increase, however, becomes intense only after total CFU of 1.5-2 million, and the concentration of both amino acid enantiomers becomes the highest near the CFU of 3 million. Beside the L-amino acids the increase of the concentration of D-amino acids is more intense, therefore the proportion of D-amino acids in the function of total germ number continuously increased and reached its maximum at a CFU value of around 3 million.

Examining the dairy products made of milk raw material with different total CFU it was established that in case of fresh dairy products and of those ripened for a short time, respectively, with increasing total germ number of the milk raw material the amount of both D- and L-enantiomers increased. Despite the considerable increase the ratio of the amino acid enantiomers was not affected by the total germ number. In case of dairy products matured for a longer time, where the amino acid producing ability of the applied pure cultures exceeded the amount of amino acids produced by microorganisms originally being present, no relationship could be established between total germ number of the milk raw material and free amino acid and free D-amino acid content of the dairy product.

Comparing the composition of milk pasteurized traditionally mildly and by microwave with that of the starting raw milk, it was found that between the two pasteurization methods only in vitamin C content can be distinguished. While due to the traditional mild pasteurization the

original vitamin C content of the raw milk hardly changed, it changed during the microwave pasteurization to its 40%. In respect of the other examined parameters (amino acid composition and biological value, free amino acid and free D-amino acid content, vitamins B, utilizable lysine, lysinoalanine and hydroxymethyl furfural content) we could not establish any difference between the two pasteurization methods.

## 9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Csapó János professzor úrnak, aki értékes tanácsokkal látott el a kísérletek végrehajtásakor és a dolgozat összeállítása során, valamint tanszékvezetőként is támogatta tevékenységemet és a disszertáció elkészítését.

Ezúton is köszönetet szeretnék mondani a SAPIENTIA Erdélyi Magyar Tudományegyetem Csíkszeredai Karai Élelmiszertudományi Tanszék és a Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar Kémiai-Biokémiai Tanszék minden munkatársának önzetlen és odaadó szakmai segítségükért.

Hálásan köszönöm Csapóné dr. Kiss Zsuzsannának a disszertáció készítése során nyújtott építő szándékú kritikai megjegyzéseit és segítségét, mellyel hozzájárult dolgozatom színvonalának emeléséhez.

Külön köszönettel tartozom Huszti Orbán Saroltának a mintagyűjtésben való közreműködéséért és önzetlen segítségéért.

Nem utolsósorban köszönettel és hálával tartozom Szüleimnek, hogy áldozatkész segítségükkel lehetővé tették a dolgozat elkészítését, továbbá Kisfiamnak és Férjemnek a felkészülés során nyújtott végtelen türelmükért, megértésükért.

## 10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Bada, J.L. – Cronin, J.R. – Ho, M.S. – Kvenvolden, K.A. – Lawless, J.G. (1983): On the reported optical activity of amino acids in the Murchison meteorite. *Nature*, 310. 494-497.
2. Bada, J.L. – Miller, S.L. (1987): Racemization and the origin of optical active organic compounds in living organisms. In: H. Man és J.L. Bada (1987): *Dietary D-amino acids*. *Ann. Rev. Nutr.*, 7. 209-225.
3. Bada, J.L. (1984): In vivo racemization in mammalian proteins. *Methods Enzimol.*, 106. 98-115.
4. Bada, J.L. (1985): Racemization of amino acids. In *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids*, ed. G.C. Barrett, 399-411. London-New York, Chapman & Hall.
5. Barótfi I. (2001). *Szolgáltatástechnika. A mikrohullámú sütők*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 786.
6. Bender, A.E. – Krebs, H.A. (1950): The oxidation of various synthetic  $\alpha$ -amino acids by mammalian D-amino acid oxidase, L-amino acid oxidase of cobra venom and the L- and D-amino acid oxidases of *Neurospora crassa*. *Biochem. J.*, 46. 210-219.
7. Bender, D.A. (1985): *Amino Acid Metabolism*, Chichester/New York, Wiley 2nd ed.
8. Berg, C.P. (1959): Utilization of D-amino acids. In *Protein and amino acid nutrition*. ed. A.A. Albanese, 57-96. New York, Academic.
9. Bodansky, M. – Perlman, D. (1969): Antibiotic peptides. *Science*, 163. 352-358.
10. Boehm, M.F. – Bada, J.L. (1984a): Racemization of aspartic acid and phenylalanine in the sweetener aspartame at 100 °C. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 81. 5263-5266.
11. Boehm, M.F. – Bada, J.L. (1984b): Investigations of in vivo methionine racemization in mammalian tissues. *Biochem. Int.*, 8. 603-608.
12. Boekel, M.A.J.S. (1998): Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chemistry*. 62. 4. 403-414.
13. Bognár A. – Molnár P. (1999): A háztartásokban végzett élelmiszerfeldolgozás során bekövetkező szubsztanciális változások jellemzése. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*. 45. 3. 131-148.
14. Bruckner, H. – Hausch, M. (1990): D-amino acids in dairy products: Detection, origin and nutritional aspects. I. Milk, fermented milk, fresh cheese and acid curd cheese. *Milchwissenschaft*, 45. 357-360.
15. Budd, K. (1983): Use of D-phenylalanine, and enkephalinase inhibitor, in the treatment of intractable pain. In *Adv. Pain Res. Ther.*, 5. 305-308.

16. Bunjapamai, S. – Mahoney, R.R. – Fagerson, I.S. (1982): Determination of D-amino acids in some processed foods and effect of racemization on in vitro digestibility of casein. *J. Food Sci.*, 47. 1229-1234.
17. Burton, K. (1945): D-amino acid oxidase from kidney. *Methods Enzymol.*, 2.199-204.
18. Chakravarty, P.K. – Carl, P.L. – Weber, M.J. – Katzenelknbogen, J.A. (1983): Plasmin-activated prodrugs for cancer chemotherapy. 2. Synthesis and biological activity of peptidyl derivatives of dextrorubicin. *J. Med. Chem.*, 26. 638-644.
19. Cheng, R.S.S. – Pomeranz, B. (1979): Correlation of genetic difference in endorphin systems with analgesic effects of D-amino acid in mice. *Brain Res.*, 177. 583-587.
20. Cheng, W.M. – Raghavan, G.S.V. – Ngadi, M., – Wang, N. (2006): Microwave power control strategies on the drying process I. Development and evaluation of new microwave drying system. *Journal of Food Engineering.*, 76. 2. 188-194.
21. Cherkin, A. – Davis, J.L. – Garman, M.W. (1978): D-prolin stereospecificity and sodium chloride dependence of lethalconvulsant activity in the chick. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 8. 623-625.
22. Chung, S.Y. – Swaisgood, H.E. – Catignani, G.L. (1986): Effect of alkali treatment in the presence of fructose on digestibility of food proteins as determined by an immobilized digestive enzyme assay (IDEA). *J. Agric. Food Chem.*, 34. 579-584.
23. Clarke, S. (1985): The role of Asp and Asn residues in the aging of erythrocyte proteins: Cellular metabolism of racemized and isomerized forms by methylation reactions. In *Cellular and Molecular Aspects of Aging: The Red Cells as a Model*. Ed. J.W. Eaton – D.K. Konzen – J.G. White, 91-103. New York, Liss.
24. Corrigan, J.J. (1969): D-amino acids in animals. *Science*, 164. 142-149.
25. Csapó J. (szerk.) (2006): *Élelmiszer- és takarmányfehérjék minősítése*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 265-269., 323-328.
26. Csapó J., – Csapóné Kiss Zs. (2002): *Tej és tejtermékek szerepe a táplálkozásban*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 1-464.
27. Csapó, J. – Schmidt, J. – Csapó-Kiss, Zs. (2001b): Determination of protein of bacterial origin. A review. *Trends in Analytical Chemistry*. 2001. 20. 1. 42-48.
28. Csapó, J. – Schmidt, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Holló, G. – Holló, I. – Wágner, L. – Cenkvári, É. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Andrassy-Baka, G. (2001a): A new method for the quantitative determination of protein of bacterial origine on the basis of D-aspartic acid and D-glutamic acid content. *Acta Alimentaria*. 30. 1. 37-52.
29. Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Csordás, E. – Folestad, S. – Tivesten, A. – Martin, T.G. – Némethy, S. (1995a): Rapid method for the determination of



- diaminopimelic acid using ion exchange column chromatography. *Analytical Letters*, 28. 2049-2061.
30. Csapó J. – Csapó-Kiss Zs. – Csordás E. – Fox, P.F. – Wágner L. – Tálos T. (1997c): Különböző technológiával készült sajtok összes szabad- és szabad D-aminosav-tartalma. *Tejipar*, 57. 1. 25-30.
  31. Csapó J. – Csapó-Kiss Zs. – Stefler J. – Csordás E. – Martin, T.G. – Némethy S. – Wágner, L. – Tálos, T. (1996-97): A tőgygyulladás hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *Szaktanácsok*, 1-4. 38-52.
  32. Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Stefler, J. (1997b): Influence of mastitis on D-amino acid content of milk. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 62. 1-2. 162-167.
  33. Csapó J. – Csapó-Kiss Zs. – Vargáné Visi É. – Andrásyné Baka G. – Terlakyné Balla É. (1997d): Élelmiszerek D-aminosav-tartalma. Irodalmi áttekintés. *Acta Agrária Kaposváriensis*, 1. 3-20.
  34. Csapó J. – Folestad, S. – Tivesten, A. (1994): Élelmiszerek és takarmányok D-aminosav tartalma. 3. Irodalmi összefoglaló. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 4. 299-316.
  35. Csapó J. – Gombos S. – Csapó Jné – Tossenberger J. (1991b): A bakteriális eredetű fehérje mennyiségi meghatározása a bendőfolyadék és a béltartalom diaminopimelinsav- és D-alanin-tartalma alapján. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 5. 431-441.
  36. Csapó, J. – Henics, Z. (1991): Quantitative determination of bacterial protein from the diaminopimelic acid and D-alanine content of rumen liquor and intestines. *Acta Agronomica Hungarica*, 1991. 1-2. 159-173.
  37. Csapó, J. – Martin, T.G. – Csapó-Kiss, Zs. – Stefler, J. – Némethy, S. (1995b): Influence of udder inflammation on the D-amino acid content of milk. *Journal of Dairy Science*, 78. 2375-2381.
  38. Csapó, J. – Tóth-Pósfai, I. – Csapó-Kiss, Zs. (1991a): Separation of D- and L-amino acids by ion exchange column chromatography in the form of alanyl dipeptides. *Amino Acids*, 1. 331-337.
  39. Csapó, J., – Lóki, K., – Csapó-Kiss, Zs., – Albert, Cs. (2005): Separation and determination of the amino acids by ion exchange column chromatography applying post-column derivatization. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 9. 2. 33-51.
  40. D'Aniello, A. – Giuditta, A. (1978): Presence of D-aspartate in squid axoplasm and in other regions of the cephalopod nervous system. *J. Neurochem.*, 31. 1107-1108.
  41. Dakin, H.D. – Dudley, H.W. (1913): The action of enzymes on racemized proteins and their fate in the animal body. *J. Biol. Chem.*, 15. 271-277.
  42. Dakin, H.D. (1908): Note on the relative rate of absorption of optically isomeric substances from the intestine. *J. Biol. Chem.*, 4. 437-439.
  43. Decreau, R. (1985): *Microwaves in the Food Processing Industry*. Academic Press, New York.

44. DeGroot, A.P. – Slump, P. – Feron, V.J. – Van Beek, L. (1976): Effects of alkali treated proteins: feeding studies with free and protein-bound lysinoalanine in rats and other animals. *J. Nutr.*, 106. 1527-1538.
45. DeLorenzo, R. (1994): Heating Food and Eliminating Air Pollution with Microwaves Dewey 'Understanding Chemistry, An Introduction', West Publishing Company, 220.
46. Dixon, M. – Kenworthy, P. (1967): D-aspartate oxidase of kidney. *Biochem. Biophys. Acta*, 146. 54-76.
47. Einarsson, S. – Folestad, S. – Josefsson, B. (1987): Separation of amino acid enantiomers using precolumn derivatization with o-phtalaldehyde and 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- $\beta$ -glucopyranoside. *J. Liquid Chrom.*, 10. 1589.
48. Engel, M.H. – Hare, P.E. (1982): Racemization rates of the basic amino acids. *Carnegie Inst. Washington Yearb.*, 81. 422-425.
49. Felbeck, H. – Wiley, S. (1987): Free D-amino acids in the tissues of marine bivalves. *Biol. Bull.*, 173. 252-259.
50. Felbeck, H. (1985): Occurrence and metabolism of D-aspartate in the gutless bivalve *Solemya reidi*. *J. Exp. Zool.*, 234. 145-149.
51. Ferrer, E. – Alegría, A. – Courtois, G. – Farré, R. (2000): High-performance liquid chromatographic determination of Maillard compounds in store-brand and name-brand ultra-high-temperature-treated cows' milk. *Journal of Chromatography*, 881. 559-606.
52. Ferrer, E. – Alegría, A. – Farré, R. – Abellán, P. – Romero, F. (2002): High-performance liquid chromatographic determination of furfural compounds in infant formulas. Change during heat treatment and storage. *Journal of Chromatography*, 947. 85-95.
53. Ferrer, E. – Alegría, A. – Farré, R. – Abellán, P. – Romero, F. (2005): High-performance liquid chromatographic determination of furfural compounds in infant formulas during full shelf-life. *Food Chemistry*, 89. 639-645.
54. Finch, L.R. – Hird, F.J.R. (1960): The uptake of amino acids by isolated segments of rat intestine. II. A survey of affinity for uptake from rates of uptake and competition for uptake. *Biochim. Biophys. Acta*, 43. 278-287.
55. Finley, J.W. – Schwass, D.E., Eds. (1983): *Xenobiotics in Foods and Feeds*. ACS Symp. Ser. No. 234. Washington, DC. Ann. Chem. Soc., 421.
56. Finley, J.W. (1985): Environmental effects of protein quality. In *Chemical Changes in Food During Processing*. (Inst. Food Technologists Basic Symp. Ser.), Ed. T. Richardson – J.W. Finley, 443-482. Westport, Conn. AVI Publ.
57. Fisher, G.H. – Garcia, N.M. – Payan, I.L. – Cadilla-Perezrios, R. – Sheramata, W.A. – Man, E.H. (1986): D-aspartic acid in purified myelin and myelin basic protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 135. 683-687.
58. Folestad, S. – Tivesten, A. – Csapó J. (1994): Élelmiszerek és takarmányok D-aminosav tartalma. 2. Az aminosav enantiomerek szétválasztása és

- meghatározása származékképzés után. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 40. 17-26.
59. Friedman, M. – Grosjean, D.K. – Zahnley, J.C. (1985): Carboxipeptidase inhibition by alkali-treated food proteis. *J. Agric. Food Chem.*, 33. 208-213.
  60. Friedman, M. – Gumbman, M.R. (1984): The utilization and safety of isomeric sulfur-containing amino acids in mice. *J. Nutr.*, 114. 2301-2310.
  61. Friedman, M. – Liardon, R. (1985): Racemization kinetics of amino acid residues in alkali-treated soybean proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 33. 666-672.
  62. Friedman, M. – Zahnley, J.C. – Masters, P.M. (1981): Relationship between in vitro digestibility of casein and its content of lysinoalanine and D-amino acids. *J. Food Sci.*, 46. 127-134.
  63. Friedman, M. (1977): Crosslinking amino acids - Stereochemistry and nomenclature. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 86B. 1-27.
  64. Fuse, M. – Hayase, F. – Kato, H. (1984): Digestibility of proteins and racemization of amino acid residues in roasted foods. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, 37. 348-354.
  65. Gandolfi, I. – Palla, G. – Delprato, L. – Denisco, F. – Marchelli, R. – Salvadori, C. (1992): D-amino acids in milk as related to heat treatments and bacterial activity. *J. Food Sci.*, 57. 377-379.
  66. Gibson, Q.H. – Wiseman, G. (1951): Selective absorption of stereoisomers of amino acids from loops of the small intestine of the rat. *Biochem. J.*, 48. 426-429.
  67. Gray, G.M. – Cooper, H.L. (1971): Protein digestion and absorption. *Gastroenterology*, 61. 535-544.
  68. Gullino, P. – Winitz, M. – Birnbaum, S.M. – Cornfield, J. – Otey, M.C. – Greenstein, J.P. (1956): Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo. I. Toxicity of essential amino acids, individually and in mixtures, and the protective effect of L-arginine. *Arch. Biochem. Biophys.*, 64. 319-332.
  69. Gund, P. – Veber, P. (1979): On the base-catalysed epimerization of N-methylated peptides and diketopiperazines. *J. Am. Chem. Soc.*, 101. 1885-1887.
  70. Hayase, F. – Kato, H. – Fujimaki, M. (1973): Racemization of amino acid residues in protein during roasting. *Agric. Biol. Chem.*, 37. 191-192.
  71. Hayase, F. – Kato, H. – Fujimaki, M. (1975): Racemization of amino acid residues in proteins and poly(L-amino)acids during roasting. *J. Agric. Food Chem.*, 23. 491-494.
  72. Hayashi, R. – Kameda, I. (1980a): Racemization of amino acid residues during alkali treatment of proteins and its adverse effect on pepsin digestibility. *Agric. Biol. Chem.*, 44. 891-895.

73. Hayashi, R. – Kameda, I. (1980b): Decreased proteolysis of alkali treated proteins: consequences of racemization in food processing. *J. Food Sci.*, 45. 1430-1431.
74. Hayashi, R. (1982): Lysinoalanine as a metal chelator: an implication for toxicity. *J. Biol. Chem.*, 257. 13896-13898.
75. Jenkins, W.L. – Tovar, L.R. – Schwass, D.E. – Liardon, R. – Carpenter, K.L. (1984): Nutritional characteristics of alkali-treated zein. *J. Agric. Food Chem.*, 32. 1035-1041.
76. Kidmose, V. – Kaack, K. (1999): Changes in texture and nutritional quality of green asparagus spears (*Asparagus officinalis L.*) during microwave blanching and cryogenic freezing. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 49. 2. 110-116.
77. Kies, C. – Fox, H. – Aprahamian, S. (1975): Comparative values of L, D/L and D-methionine supplementation of an oat-based diet for humans. *J. Nutr.*, 105. 809-814.
78. Krebs, H.A. (1935): Metabolism of amino acids. III. Deamination of amino acids. *Biochem. J.*, 29. 1620-1644.
79. Krebs, H.A. (1948): The D- and L-amino acid oxidases. *Biochem. Soc. Symp.*, 1. 2-19.
80. Ku, H.S. – Siores, E. – Taube, A. – Ball, J.A.R. (2002): Productivity improvement through the use of industrial microwave technologies. *Computers & Industrial Engineering*. 42. 281-290.
81. László Zs. – Simon E. – Hodúr C. – Fenyvessy J. (2005): Mikrohullámú technika alkalmazásának újabb lehetőségei az élelmiszer- és környezetiparban. *Szeged. Agrártudományi Közlemények*, 18. 29-34.
82. Lau, M.H. – Tang, J. (2002): Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves. *Journal of Food Engineering*, 51. 4. 283-290.
83. Liardon, R. – Hurrel, R.F. (1983): Amino acid racemization in heated and alkali-treated proteins. *J. Agric. Food. Chem.*, 31. 432-437.
84. Liardon, R. – Lederman, S. (1986): Racemization kinetics of free and protein-bound amino acids under moderate alkaline treatment. *J. Agric. Food. Chem.*, 34. 557-565.
85. Lubec, G. – Wolf, C.H.R. – Bartosch, B. (1990): Amino acid isomerisation and microwave exposure. *The Lancet*. March 31. 792.
86. Maga, J.A. (1984): Lysinoalanine in foods. *J. Agric. Food. Chem.*, 32. 955-964.
87. Man, E.H. – Fisher, G.H. – Payan, I.L. – Cadilla-Perezrios, R. – Garcia. N.M. (1987): D-aspartate in human brains. *J. Neurochem.*, 48. 510-515.
88. Man, H. – Bada, J.L. (1987): Dietary D-amino acids. *Ann. Rev. Nutr.*, 7. 209-225.
89. Masters, P.E. – Friedman, M. (1980): Amino acid racemization in alkali treated food proteins – chemistry, toxicology, and nutritional consequences. In

- Chemical Deterioration of Proteins ACS Symp. Ser., 123. 165-194., Ed. J.R. Whitaker - M. Fujimaki. Washington, DC. Am. Chem. Soc., 268.
90. Matsushima, O. – Katayama, H. – Yamada, K. – Kado, Y. (1984): Occurrence of free D-alanine and alanine racemase activity in bivalve molluscs with special reference to intracellular osmoregulation. *Mar. Biol. Lett.*, 5. 217-225.
  91. McMinn, W.A.M. (2006): Thin-layer modelling of the convective, microwave, microwave-convective and microwave-vacuum drying of lactose powder. *Journal of Food Engineering*, 72. 2. 113-123.
  92. Morup, K. – Olesen, E.S. (1976): New method for prediction of protein value from essential amino acid pattern. *Nutrition Reports International*, 13. 355-365.
  93. Murray, E.D. – Clarke, S. (1984): Synthetic peptide substrates for erythrocyte protein carboxyl methyltransferase. *J. Biol. Chem.*, 259. 10722-10732.
  94. Neuberger, A. (1948): The metabolism of D-amino acids in mammals. *Biochem. Soc. Symp.*, 1. 20-32.
  95. Özilgen, S. – Özilgen, M. (1991): Food Engineering Department, Middle East Technical University, Ankara, Turkey *Enzyme and Microbial Technology*. 13. 5. 419-423.
  96. Palla, G. – Marchelli, R. – Dossena, A. – Casnati, G. (1989): Occurrence of D-amino acids in food. Detection by capillary gas chromatography and by reversed-phase high-performance liquid chromatography with L-phenylalaninamides as chiral selectors. *J. Chromatography*, 475. 45-53.
  97. Paquet, A. – Thresher, W.C. – Swaisgood, H.E. – Catignani, G.L. (1985): Syntheses and digestibility determination of some epimeric tripeptides occurring in dietary proteins. *Nutr. Res.*, 5. 891-901.
  98. Pasteur, L. (1852): Untersuchungen über Asparaginsäure und Aepfelsäure. *Ann. Chem.*, 82. 324-335.
  99. Payan, I.L. – Cadilla-Perezrios, R. – Fisher, G.H. – Man E.H. (1985): Analysis of problems encountered in the determination of amino acid enantiomeric ratios by gas chromatography. *Anal. Biochem.*, 149. 484-491.
  100. Peters, T.J. (1970): Intestinal peptides, *Gut*. 11. 720-725.
  101. Pohn G. – Csapó J. – Terlakyné Balla É. – Vargáné Visi É. (2001): A mikrohullámú kezelés hatása húspogácsák vízdoldható vitamin- és D-aminosav-tartalmára. 305. Tudományos Kollokvium. Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest, 2001. október 26. 6.
  102. Pohn G. – Vargáné Visi É. – Terlakyné Balla É. – Kametler L. – Csapó J. (1999): A különböző technológiával készült toll-lisztek D-cisztein-tartalma. *Műszaki Kémiai Napok'99. Veszprém, 1999. ápr. 27-29.* 48-49.
  103. Pozar, D.M. (1993): *Microwave Engineering*. Addison-Wesley Publishing Company.
  104. Preston, R.L. (1987): Occurrence of D-amino acids in higher organisms: A survey of the distribution of D-amino acids in marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87B. 55-62.

105. Rab R. – Farkas K. (2003): A zöldségek és gyümölcsök C-vitamin-tartalmának változása hőkezelés hatására. *Új Diéta*. 3. 15-17.
106. Rajkó R. – Szabó G. – Kovács E. – Papp G-né – Hotya L-né (1996): Szójabab tripszininhibitor-aktivitásának csökkentése mikrohullámú kezeléssel. *Élelmiszeripari Főiskola, Tudományos Közlemények*. 18. 45-57.
107. Reaveley, D.A. – Burge, R.E. (1972): Walls and membranes in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.*, 7. 1-81.
108. Robinson, T. (1976): D-amino acids in higher plants. *Life Sci.*, 19. 1097-1102.
109. Romano, V.R. – Marra, F. – Tamarro, U. (2005): Modelling of microwave heating of foodstuff: study on the influence of sample dimensions with a FEM approach. *Journal of Food Engineering*. 71. 3. 233-241.
110. Rosenberg, U. – Bogl, W. (1987). Microwave pasteurization, sterilization, blanching, and pest control in the food industry. *Food Technol.*, 41. 92-99.
111. Rosen-Levin, E.M. – Smithson, K.W. – Gray, G.M. (1980): Complementary role of surface hydrolysis and intact transport in the intestinal assimilation of di- and tripeptides. *Biochim. Biophys. Acta*, 629. 126-134.
112. Schwass, D.E. – Tovar, L.R. – Finely, J.W. (1983): Absorption of altered amino acids from the intestine. Eds. J.W. Finley - D.E. Schwass. *Xenobiotics in Foods and Feeds. ACS Symp. Ser. No. 234. Washington, DC: Am. Chem. Soc.*, 187-201.
113. Shoji, J.I. (1978): Recent chemical studies on peptide antibiotics from the genus *Bacillus*. *Adv. Appl. Microbiol.*, 24. 187-214.
114. Sieber, R. – Eberhard, P. – Fuchs, D. – Gallmann, P.U. – Strahm, W. (1996): Effect of microwave heating on vitamin A, E, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, and B<sub>6</sub> in milk. *Journal of Dairy Research*, 63. 169-172.
115. Sieber, R. – Eberhard, P. – Gallmann, P.U. (1999): Heat treatment of milk in domestic microwave ovens. *International Dairy Journal*. 6. 3. 231-246.
116. Sierra, I. – Vidal-Valverde, C. – Valverde, C.V. (2000): Influence of heating conditions in continuous- flow microwave or tubular heat exchange systems on the vitamin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> content of milk. *Lait*. 80. 6. 601-608.
117. Stegnick, L.D. – Bell, E.F. – Filer, L.J. – Ziegler, E.E. – Anderson, D.W. (1986): Effect of equimolar doses of L-methionine, D-methionine and L-methionine-dl-sulfoxide on plasma and urinary amino acid levels in normal adult humans. *J. Nutr.*, 116. 1185-1192.
118. Steinberg, S. – Bada, J.L. (1981): Diketopiperazine formation during investigations of amino acid racemization in dipeptides. *Science*, 213. 544-545.
119. Steinberg, S. – Bada, J.L. (1983): Peptide decomposition in the neutral pH range via the formation of diketopiperazines. *J. Org. Chem.*, 48. 2295-2298.
120. Steinberg, S. – Masters, P.M. – Bada, J.L. (1981): The racemization of free and peptide-bound serine and aspartic acid at 100 °C as a function of pH: implications for in vivo racemization. *Bioorg. Chem.*, 12. 349-355.

121. Sun, T. – Tang, J. – Powers, J.R. (2006): Antioxidant activity and quality of asparagus affected by microwave-circulated water combination and conventional sterilization. *Food Chemistry*, 2007., 100. 2. 813-819.
122. Szabó G. (1991): A mikrohullámú technika alkalmazása az élelmiszeripari és biotechnológiai gyakorlatban. *Szeszipar*, 4. 124-127.
123. Valero, E. (2000): Chemical and sensorial changes in milk pasteurized by microwave and conventional systems during cold storage. *Food Chemistry*, 70. 1. 77-81.
124. Van Renterghem, R. – De Bock, H. (1996): Furosine in consumption milk and milk powders. *International Dairy Journal*, 6. 371-382.
125. Wang, Y. – Wig, T.D. – Tang, J. – Hallberg, L.M. (2003): Dielectric properties of foods relevant to RF and microwave pasteurization and sterilization. *Journal of Food Engineering*, 57. 3. 257-268.
126. Watanabe, F. – Abe, K. – Fujita, T. – Goto, M. – Hiemori, M. – Nakano, Y. (1998): Effects of microwave heating on the loss of vitamin B<sub>12</sub> in foods. *J. Agric. And Food Chem.*, 46. 1. 206-210.
127. Yamane, T. – Miller, D.L. – Hopfield, J.J. (1981): Discrimination between D- and L-tyrosyl transfer ribonucleic acid in peptide chain elongation. *Biochemistry*, 20. 7059-7065.

## 11. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

### Magyar nyelven megjelent tudományos közlemények:

1. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Salamon R.: Különböző technológiával készült sajtok összes szabad és szabad D-aminosav-tartalma. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2005. 9. 2. 61-71. p.
2. Pohn G. – Albert Cs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *In: Tejgazdaság*. 2006. 65. 40-45. p.
3. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej mikroorganizmusainak hatása tej és tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*, 2007. 11. 3. 1-13. p.
4. Csapó J. – Albert Cs. – Lányi Sz. – Salamon Sz. – Csapóné Kiss Zs.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére I. Aminosav-összetétel, szabadaminosav-tartalom, biológiai érték. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2008. 12. 3. 11-24.
5. Albert Cs. – Lányi Sz. – Csapóné Kiss Zs. – Salamon Sz. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére II. B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>-, B<sub>12</sub>- és C-vitamin-, hasznosítható lizin-, lizinoalanin-, hidroximetil-furfurol-tartalom. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2008. 12. 3. 25-36.
6. Albert Cs. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej aminosav-összetételére, szabadaminosav-tartalmára, biológiai értékére, B- és C-vitamin-, hasznosítható lizin-, lizinoalanin- és hidroximetil-furfurol-tartalmára. *In: Tejgazdaság*. 2008. 68. 1-2. 93-106.

### Idegen nyelven megjelent tudományos közlemények:

1. Csapó, J. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs.: Separation and determination of the amino acids by ion exchange column chromatography applying post-column derivatization. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2005. 9. 2. 33-51. p.
2. Albert, Cs. – Sára, P. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol containing amino acid enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 349-354. p.
3. Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 187-192. p.



4. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: The influence of manufacture on the free D-amino acid content of Cheddar cheese. *In: Amino Acids*. 2007. 32. 1. 39-44. p.
5. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on the D-amino acid content of milk. *In: Krmiva*. 2007. 49. 1. 15-21.p.
6. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number in raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: Krmiva*. 2007. 49. 1. 29-35. p.
7. Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Mándoki, Zs. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: Agriculture*. 2007. 13. 1. 192-196. p.
8. Csapó, J. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs.: The D-amino acid content of foodstuffs. (A Review). *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 5-30.
9. Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Influence of mastitis on D-amino acid content of milk. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 31-43.
10. Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid contents of various dairy products. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 45-53.

#### **Proceedings-ben teljes terjedelemben megjelent közlemények:**

1. Albert, Cs. – Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid as hydrolysis reagent of the protein and derivatization reagent of amino acids during high performance liquid chromatographic analysis. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 35-38. p.
2. Csapó, J. – Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs.: Special chromatographic methods for amino acid analysis. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 28-34. p.
3. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The determination of the amount of protein of bacterial origin on the basis of D-amino acid content. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 129-132. p.
4. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Changes in the free D-amino acid content of Cheddar during cheesemaking process. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science Proceedings*. Szeged, 2006. ápr. 20. 1-5. p. [CD-ROM].
5. Csapó, J. – Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Vargáné Visi, É.: Takarmányok D-aminosav-tartalmának meghatározása nagyhatékonyságú

folyadékkromatográfiai módszerekkel. In: *VI. Takarmányanalitikai Konferencia*. Keszthely, 2006. jún. 29. 4-5. p.

6. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22. 1-6. p.
7. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. In: *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27. 221-226. p.
8. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27. 227-232. p.
9. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Tamás M. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 21-24.
10. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Tamás M. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 81-84.
11. Mándoki Zs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert Cs. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. nov. 8-11. 63-67. p.
12. Albert Cs. – Pohn G. – Mándoki Zs. – Lóki K. – Csapó J.: Különböző összcsíraszámú tejből készült tej és tejtermékek összetétele, különös tekintettel a D-aminosavakra. *XXXII. Óvári Tudományos Nap*. Mosonmagyaróvár, 2008. október 9. [CD-kiadvány, 5 oldal].
13. Véha, A. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *International Conference on Science and Technique in the Agri-Food Business. ICoSTAF 2008*. Szeged, 2008. nov. 5-6. 102-108. p.
14. Albert Cs. – Lányi Sz. – Salamon Sz. – Lóki K. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére. I. Aminosav-összetétel, szabadaminosav-tartalom, biológiai érték. *14<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2008. nov. 13-15. 32-34. p.
15. Albert Cs. – Kovács E. – Lányi Sz. – Csapóné Kiss Zs. – Salamon Sz. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére. II. B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>-, B<sub>12</sub>- és C-vitamin-, hasznosítható lizin-, lizinoalanin-, hidroximetil-furfurol-tartalom. *14<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2008. nov. 13-15. 35-38. p.

16. Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evoluția conținutului de aminoacizi, de aminoacizi liberi, și a valorii biologice a laptelui în procesul pasteurizării clasice și cu microunde. *Zilele Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului Ed. a V-a*. Iași, 2008. nov. 19-21. 332-335. p.

### **Proceedings-ben megjelent absztraktok:**

1. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Changes in the free D-amino acid content of Cheddar during cheesemaking process. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science*. Szeged, 2006. ápr. 20. 122. p.
2. Vargáné Visi É. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapó J.: A Cheddar sajt szabad D-aminosav-tartalmának alakulása a gyártás során. *In: VII. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2006. ápr. 20. 121. p.
3. Albert Cs. – Lóki K. – Varga-Visi É. – Sára P. – Bíró M. – Salamon Sz. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: The separation and determination of the enantiomers of sulphur containing amino acids after performic acid oxidation with high performance liquid chromatography. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 110. p.
4. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapó, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid contents of milk. *In: KRMIVA 14<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2007. jún. 11-14. 95. p
5. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: KRMIVA 14<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2007. jún. 11-14. 96. p.
6. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 12. p.
7. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid content of milk. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 14. p.
8. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid content of milk. *In: 58<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Dublin, Ireland, 2007. aug. 26-29. 204. p.
9. Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Pohn, G. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid contents of various dairy products. *In: 58<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Dublin, Ireland, 2007. aug. 26-29. 205. p

10. Pohn, G. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Albert, B. – Salamon, Sz. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid content of milk and various dairy products. *In: 15<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Osijek, 2007. szept. 19-21. P-8.
11. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Tamás, M. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various milk products. *In: Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*. Sinaia, Romania, 2007. szept. 19-22. S-2-28.
12. Albert, Cs. – Csapó, J. – Pohn, G. – Mándoki, Zs. – Csapó-Kiss, Zs.: The effect of microwave pasteurization on the amino acid compositions, free amino acid content, biological value, vitamin B- and C-, utilizable lysine-, lysino-alanine-, and hidroximethyl furfurol content of milk. *KRMIVA 2009. 16<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2009. jún. 1-3. 68. p.

### **Előadások:**

1. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22.
2. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27.

## 12. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉN KÍVÜL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

### Szakkönyvek, könyvrészek:

1. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs. – Varga-Visi, É.: Quantitative determination of the protein of bacterial origin based on D-amino acid content. In: *D-amino acids: a new frontier in amino acid and protein research*. (Ed.: Ryuichi, Konno) 2006. 123-133. p.
2. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Albert Cs. – Salamon Sz.: Élelmiszerfehérjék minősítése. Kolozsvár: Scientia Kiadó, 2007. 1-506.
3. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Albert Cs.: Élelmiszeranalitika. Kolozsvár: Scientia Kiadó, 2007. 1-400. p.

### Magyar nyelven megjelent tudományos közlemények:

1. Salamon R. – Csapó J. – Vargáné Visi É. – Csapóné Kiss Zs. – Altorjai A. – Györi Z. – Sára P. – Lóki K. – Albert Cs.: A tej zsírsavösszetételének és konjugált linolsavtartalmának változása az évszakok szerint. In: *Acta Agraria Kaposváriensis*. 2005. 3. 1-15. p.
2. Albert Cs. – Salamon R. – Csapó J.: Fosztilis anyagok korának meghatározása az aminosavak átalakulása és racemizációja alapján. In: *Csiki Székely Múzeum Periodikája*. 2006. 415-438. p.
3. Albert Cs. – Salamon Sz. – Darvas L. – Kovács J. – Salamon R. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: Egy magyarországi és egy erdélyi gypjas mamut korának meghatározása az aminosavak racemizációja alapján. In: *Csiki Székely Múzeum Periodikája*. 2007. 359-372. p.
4. Albert Cs. – Lóki K. – Bíró M. – Salamon Sz. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A miccs aminosav-összetételének változása különböző idejű és hőmérsékletű hőkezelés hatására. In: *Műszaki Szemle. Kémia szám*. 2007. 39-40. 5-7. p.
5. Lóki K. – Albert Cs. – Vargáné Visi É. – Bíró M. – Salamon Sz. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A szabad és fehérjében kötött triptofán-enantiomerek meghatározása különböző hidrolízismódszerek alkalmazásával. In: *Műszaki Szemle. Kémia szám*. 2007. 39-40. 35-39. p.
6. Csapó J. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Darvas L. – Kovács J. – Salamon R.V. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs.: Az aminosavak racemizációján alapuló korbecslés alkalmazása egy magyarországi és egy erdélyi mamutsont és -agyar korának meghatározására. In: *Somogyi Múzeumok Közleményei*. 2008. 18. 139-146.

### **Idegen nyelven megjelent tudományos közlemények:**

1. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 341-348. p.
2. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Analysis of the racemization of the tryptophan. *In: Chromatographia*. 2006. 63. 101-104. p.
3. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 341-348. p.
4. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 181-186. p.
5. Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 201-205. p.
6. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Salamon, Sz.: The influence of the extrusion on the racemization of the amino acids. *In: Amino Acids*. 2007. [Published online January 25, 2007. Springer Verlag 2007].
7. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Salamon, Sz.: The influence of the extrusion on the racemization of the amino acids. *In: Amino Acids*. 2007. 34. 2. 287-292.
8. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó-Kiss, Zs.: Separation and determination of the amino acids by ion exchange column chromatography applying postcolumn derivatization. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 5-30.
9. Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Albert, Cs. – Lóki, K.: Hydrolysis of proteins performed at high temperatures and for short times with reduced racemization, in order to determine the enantiomers of D- and L-amino acids. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 31-48.
10. Csapó, J. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid as the reductive thiol-containing reagent employed for the derivatization of amino acids with o-phthalaldehyde analysis. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 49-60.
11. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 61-72.
12. Albert, Cs. – Lóki, K. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol-containing amino acid. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 73-80.

13. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó-Kiss, Zs.: Quantitative determination of the protein of bacterial origin based on D-amino acid contents. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 81-98.
14. Csapó, J. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Csapó-Kiss, Zs.: Rapid method for the determination of diaminopimelic acid using ion exchange chromatography. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 99-108.
15. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Pohn, G.: Age determination based on amino acid racemization: a new possibility. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 109-118.
16. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of manufacture on the free D-amino acid content of Cheddar cheese. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 55-64.
17. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of extrusion on loss of and racemization of amino acids. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 65-79.
18. Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 111-117.
19. Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Mándoki, Zs. – Csapó, J.: The effect of thermic treatment conditions on the amino acid composition of soybean and maize. *In: Krmiva*. 2009. 51. 139-144.

### **Proceedings-ben teljes terjedelemben megjelent közlemények:**

1. Csapó J. – Lóki K. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Lányi Sz. – Albert Cs.: Csíkszereda környéki forrásvizek makro- és mikroelem-tartalma. *In: Mineral Waters in the Carpatian Basin. 2<sup>nd</sup> International Scientific Conference*. Miercurea Ciuc, 2005. júl. 29-30. 99-110. p.
2. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Csapó, J.: Different hydrolysis methods in order to determine the tryptophan content of proteins. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 125-128. p.
3. Salamon, R. – Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Csapóné Kiss, Zs. – Altorjai, A. – Györi, Z. – Boros-Györi, A. – Sára, P. – Albert, Cs.: Changes in fatty acid and conjugated linoleic acid content of milk according to season. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, Romania, 2005. nov. 11-13. 308-311. p.
4. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Application of sulphonic acid hydrolysis methods in order to determine the racemization of tryptophan. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science Proceedings*. Szeged, 2006. ápr. 20. 1-6. p. [CD-ROM].

5. Lóki K. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Csapó J.: Szulfonsavas hidrolízis módszerek a fehérje triptofántartalma racemizációjának mérésére. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 65-68. p.
6. Albert Cs. – Lóki K. – Vargáné Visi É. – Csapó J.: A kéntartalmú aminosav- enantiomerek mennyiségének meghatározása. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 69-72. p.
7. Vargáné Visi É. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapó J.: Különböző hőmérsékleteken végzett technológiai műveletek hatása élelmiszer- és takarmányfehérjék aminosavainak racemizációjára. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 87-90. p.
8. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs.: Spectrophotometric methods for the determination of the micro- and macroelements of mineral waters with special regards of microelements. *In: Mineral Waters in the Carpatian Basin. 3<sup>rd</sup> International Scientific Conference.* Miercurea Ciuc, 2006. júl. 27-29. 59-70. p.
9. Csapó J. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapóné Kiss Zs.: Új nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszerek a kéntartalmú aminosavak és a triptofán enantiomerei meghatározására. *In: XXXI. Óvári Tudományos Nap.* Mosonmagyaróvár, 2006. okt. 5. 90-91. p.
10. Lóki K. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapó J.: A fehérje triptofán enantiomereinek elválasztása és meghatározása. *In: XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum.* Keszthely, 2007. márc. 22. 1-5. p.
11. Lóki K. – Mándoki Zs. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert, B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A para-toluol-szulfonsav, mint fehérjék hidrolízisére alkalmas reagens a triptofán-enantiomerek szempontjából. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry.* Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 59-62.
12. Mándoki Zs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert Cs. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: Szeleno-aminosavak meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával és nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry.* Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 63-67.

#### **Proceedings-ben megjelent absztraktok:**

1. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Racemization of tryptophan of food protein influenced by different technologies. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids.* Vienna, 2005. aug. 8-12. *In: Amino Acids.* 2005. 29. 61. p.
2. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid hydrolysis of protein in order to determine the tryptophan content. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids.* Vienna, 2005. aug. 8-12. *In: Amino Acids.* 2005. 29. 45. p.



3. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Influence of a thermic treatment on the D-amino acid content of corn. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids*. Vienna, 2005. aug. 8-12. In: *Amino Acids*. 2005. 29. 34. p.
4. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Determination of the tryptophan content by mercaptoethanesulphonic acid hydrolysis of protein. In: *6<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2005. szept. 7-9. 10. p.
5. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Influence of different technologies for racemization of tryptophan of food protein. In: *6<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2005. szept. 7-9. 78. p.
6. Csapó J. – Vargáné Visi É. – Lóki K. – Albert Cs.: A kéntartalmú aminosavak és a triptofán enantiomereinek szétválasztása és meghatározása. In: *Központi Élelmiszertudományi Kutatóintézet 323. Kollokviuma*. Budapest, 2006. márc. 2. 6. p.
7. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Application of sulphonic acid hydrolysis methods in order to determine the racemization of tryptophan. In: *7<sup>th</sup> International Conference on Food Science*. Szeged, 2006. ápr. 20. 103. p.
8. Lóki K. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Csapó J.: Szulfonsavas hidrolízis módszerek alkalmazása a triptofán racemizációjának vizsgálata során. In: *VII. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2006. ápr. 20. 102. p.
9. Varga-Visi É. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapó J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. In: *KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 80. p.
10. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. In: *KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 113. p.
11. Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. In: *KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 114. p.
12. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. In: *57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 124. p.
13. Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. In: *57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 169. p.

14. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. *In: 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 169. p.
15. Albert, Cs. – Lóki, K. – Bíró, M. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: The changing of amino acid composition of miccs samples under the effect of heat-treating of different times and temperature. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 85. p.
16. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Bíró, M. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: The determination of free and protein bound tryptophan enantiomers by using different hydrolysis methods. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 97. p.
17. Csapó, J. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Pohn, G. – Kovács, J. – Darvas, L. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs.: Age determination of two mammoths from Hungarian and Transylvanian regions based on amino acid racemization in tusk and bone. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 46. p.
18. Lóki, K. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Different acidic hydrolysis methods in order to determine the enantiomers of tryptophan. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 49. p.
19. Mándoki, Zs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Determination of selenoamino acids by ion exchange column chromatography and by high performance liquid chromatography. *In: 7<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. szept. 5-7. P-81. 139. p.
20. Pohn, G. – Albert, Cs. – Albert, B. – Lóki, K. – Mándoki, Zs., – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Separation of amino acids with aliphatic side chain by RP-HPLC with eliminating of the disturbing effect of methionine by performic acid oxidation. *In: 7<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. szept. 5-7. P-99. 157. p.
21. Pohn, G. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Albert, B. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid content of milk and various dairy products. *15<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Osijek, 2007. September 19-21. P-8.
22. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Tamás, M. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various milk products. *Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*. Sinaia, Romania, 2007. Sept. 19-22. S-2-28.

23. Lóki K. – Mándoki Zs. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A para-toluol-szulfonsav, mint fehérjék hidrolízisére alkalmas reagens a triptofán-enantiomerek szempontjából. *In: 13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. nov. 8-11. 59-62. p.
24. Lóki, K. – Kalambura, S. – Mándoki, Zs. – Kricka, T. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: D-tryptophan contents of alkaline digested meat flours. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 89.
25. Mándoki, Zs. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Separation and determination of selenoamino acids in foods and feeding stuffs by ion-exchange chromatography. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 90.
26. Mándoki, Zs. – Pohn, G. – Albert, Sz. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Possibilities of liquid chromatographic determination of selenoamino acids and its food and feeding stuff analytical aspects. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 101.
27. Lóki, K. – Kalambura, S. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of disposal technology obtained with alkaline treatments on D-amino acid content of slaughter waste. *Amino Acids*. Vienna, 2009. 37. 1. S92.

#### **Előadások:**

1. Albert, Cs. – Sára, P. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol-containing amino acid enantiomers. *14<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Lillafüred, 2006. okt. 11-13.
2. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *14<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Lillafüred, 2006. okt. 11-13.
3. Lóki K. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapó J.: A fehérje triptofán enantiomereinek elválasztása és meghatározása. *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22.

### 13. SZAKMAI ÖNÉLETRAJZ

1976. augusztus 23-án születtem Balánbányán (Románia). Középiskolai tanulmányaimat a csíkszeredai Márton Áron Gimnáziumban végeztem, matematika-fizika szakon. Az érettségi után 1996-ban a Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem Gyógyszerészeti Karán kezdtem meg tanulmányaimat, ahol 2001-ben okleveles gyógyszerész diplomát szereztem. 2001-2003 között a csíkszeredai Árnika gyógyszertárban dolgoztam gyógyszerészként.

2003-tól a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Csíkszeredai Műszaki és Társadalomtudományi Karának Élelmiszer-tudományi Tanszékén dolgozom, kezdetben tudományos munkatársként, 2005-től egyetemi tanársegédként, majd 2010 februárjában egyetemi adjunktusi kinevezést kaptam.

2006-ban felvételt nyertem levelező tagozatos hallgatóként a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának PhD képzésére, ahol 2007-től tanulmányaimat nappali tagozaton folytattam.

A Tanszéken oktatom az Analitikai kémia és műszeres analízis című tárgyat, továbbá hallgatókat készítek fel tanulmányi versenyekre és diplomadolgozatok vezetésében is részt veszek. Az elmúlt években 10 hallgatónál láttam el konzulensi teendőket. Analitikai tevékenységem az aminosavak nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás meghatározására terjed ki. Kutatási területemhez az aminosav-enantiomerek meghatározására alkalmas módszerek kidolgozása és optimalálása tartozik.

A 2004–2008 közötti időszakban többször nyertem az MTA által biztosított Domus junior ösztöndíjat. 2002-től tagja vagyok a Romániai Gyógyszerész Kollégiumnak illetve 2005-től az Erdélyi Magyar Műszaki Tudományos Társaságnak. A román nyelvet folyékonyan beszélem és angol nyelvből "B" típusú alapfokú nyelvvizsgával rendelkezem.

# **DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**KAPOSVÁRI EGYETEM**  
**ÁLLATTUDOMÁNYI KAR**  
Kémiai-Biokémiai Tanszék

A doktori iskola vezetője:  
**DR. HORN PÉTER**  
MTA rendes tagja

Témavezető:  
**DR. CSAPÓ JÁNOS**  
MTA doktora

## **A SZÉKELYFÖLDÖN ELŐÁLLÍTOTT TEJ ÉS TEJTERMÉKEK ÖSSZETÉTELE, KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A TEJ ALAPANYAG ÖSSZCSÍRA SZÁMÁRA**

Készítette:  
**ALBERT CSILLA**

**KAPOSVÁR**  
**2010**

## 1. A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

Élelmiszereinkben vagy a technológiai beavatkozás következtében, vagy az élelmiszer mikrobiológiai állapotában bekövetkezett változásnak köszönhetően jelentős mennyiségű lehet a D-aminosav-tartalom. A kutatások során kiderült, hogy a tej és tejtermékek D-aminosav-tartalma főként a mikrobiális tevékenység következményei, és létrejöttükben a technológiai beavatkozásnak csak csekély szerepe van. Bizonyosnak tűnik, hogy egészséges tehenektől származó elegytejben lévő nyomnyi mennyiségű D-aminosavak a szubklinikai mastitisz során előállt bakteriális fertőzés eredményei, melyek a baktériumok anyagcsere-termékeiként kerülnek be a tejbe. Megállapítottuk, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható tej D-aminosav-tartalmát okozhatja egyrészt a baktériumokban gazdag első tejsugarak hozzáfejtése az elegytejhez, másrészt a tőgygyulladást okozó baktériumok jelenléte, azok anyagcsere-termékei, illetve a baktérium pusztulása után a sejtfalban levő peptidoglikánok D-aminosav-tartalma. Megállapítottuk azt is, hogy a mastitest próba fokozatainak megfelelően nő az összes szabad- és a szabad D-aminosavak mennyisége a tejben. Vizsgálatainkból nyilvánvaló, hogy a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát elsősorban a tejalapanyag mikrobiológiai állapota befolyásolja.

Köztudott, hogy a D-sztereoizomer aminosavak nem vagy csak nehezen hasznosulnak az emberi szervezetben, és káros hatásukat is többen bizonyították. Ismert az is, hogy a D-aminosavak jelenléte a fehérjében csökkenti az emészthetőséget, és nagyobb mennyiségben növekedési inhibitoroként is hathatnak. Élelmiszer-tudományi szempontból jelentős az a tény is, hogy a D-aminosavak és a D-

aminosav-tartalmú peptidek íze más, mint a nekik megfelelő L-sztereoizomereké, ami befolyásolhatja a tej és tejtermékek ízének és aromájának alakulását is.

Mivel az Európai Unióba újonnan belépett országok esetében a tejfeldolgozók esetenként olyan magas csíraszámú tejből kénytelenek a szabványoknak megfelelő különféle tejterméket előállítani, amelyet az EU országokban emberi fogyasztásra alig tartanak alkalmasnak, kísérleteink első szakaszában egyrészt a különféle összcsíraszámú tejek szabad összes- és szabad D-aminosav-tartalmát vizsgáltuk. Ennek során szerettünk volna összefüggést feltárni a csíraszám és a tej szabad összes- és szabad D-aminosav-tartalma között, majd arra kerestük a választ, hogy a tejalapanyag szabadaminosav-tartalma, hogyan befolyásolja a belőle készült, rövidebb és hosszabb ideig érlelt, tejtermékek szabadaminosav-összetételét.

Székelyföldön, nevezetesen Hargita megyében is, a tejipari vállalatoknak és a tejfeldolgozóknak alapvető problémát jelent a kisgazdaságokból és a ma még kevés számú mezőgazdasági nagyüzemből beérkező tej esetenként rendkívül magas csíraszama. Egyes időszakokban nem ritka a milliónál nagyobb csíraszám, sőt időnként az összcsíraszám a három milliót is elérheti. Ilyen tejalapanyagból rendkívül nehéz jó minőségű tejtermékeket készíteni. Fentiek miatt célul tűztük ki annak megismerését, hogy az alapanyag minősége, nevezetesen összcsíraszama, milyen hatással van a Székelyföldön előállított, savanyítással készült, különféle tejtermékek összetételére. Mivel köztudott, hogy a szabad aminosavaknak, és ezen belül a D-aminosavaknak jelentős hatása van a tejtermékek ízére és aromájára, ezért feladatul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy hogyan változik a tej és a

belőle készített különféle tejtermékek szabad- és szabad D-aminosav-tartalma.

Kutatásunk harmadik szakaszában azt vizsgáltuk, hogy a magas csíraszámú tej pasztörözésére lehet-e egy olyan eljárást kidolgozni, ami nem kívánja meg a kívánatosnál magasabb hőmérsékletet és hőntartást, viszont a mikroorganizmusokat tökéletesen elpusztítja. Ezért vizsgáltuk a mikrohullámú pasztörözés során a tejben végbemenő változásokat, mert a hagyományos pasztörözési eljárások mellett az utóbbi időben a mikrohullámú kezelést kezdték el alkalmazni a tej pasztörözésére. Szinte semmit sem tudunk az így előállított tej tulajdonságairól, a mikrohullám hatásáról a tej összetételére. Feladatul tűztük ki ezért annak vizsgálatát, hogy a mikrohullámú kezelés milyen hatással van a tej fehérjetartalmára és a szabadaminosav-összetételére. Vizsgálatainkat az „érzékeny” aminosavakra (Tyr, Lys, Met, Cys) koncentráltuk nézve azt, hogy a mikrohullámú kezelés hatására történt-e jelentős változás ezen aminosavak esetében a hagyományos technológiához hasonlítva.

A természetes élelmiszer alapanyagok, mint amilyen a tej, nyers állapotban nem tartalmaznak jelentős mennyiségben D-aminosavakat, a fogyasztásra való előkészítés folyamán – ilyen lehet pl. a pasztörözés – azonban gyakran vannak olyan körülményeknek kitéve, amelyek racemizációt okozhatnak. Ezért vizsgáltuk a nyerstej alapanyag, a hagyományos módon pasztörözött, valamint a mikrohullámmal pasztörözött tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát. A vizsgálatok során szeretnénk volna megállapítani a szabad aminosav változását, a tejfehérje esetleges károsodását, a D-aminosav kialakulását a hagyományos és a mikrohullámú hőkezelés hatására, valamint összehasonlítani a két pasztörözési eljárás hatékonyságát a tejfehérje minőségének megtartása szempontjából.



Ezt követően elemeztük, hogy a mikrohullámú kezelés milyen hatással van a tej vízoldható vitamintartalmára. Mivel a hőre a legérzékenyebb a C- és B-vitaminok, ezért a C- és a B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>- és B<sub>12</sub>-vitaminok koncentrációjának vizsgálatával teszteltük a mikrohullámú módszert, hasonlítva a hagyományos pasztörözéshez.

Feladatul tűztük ki ezen túl a tej hasznosíthatólizin-tartalmának, a lizinoalanin-koncentrációjának és a Maillard-reakció leggyakrabban detektált reakciótermékének, a hidroximetil-furfurolnak (HMF) a mérését. A Maillard-reakció termékei hozzájárulnak a pasztörözött tej íz- és aromaanyagainak a kialakításához, de jelentős mértékben csökkenthetik a fehérje biológiai értékét, elsősorban a lizin ε-aminocsoportja blokkolásán keresztül.

#### **A disszertáció célkitűzései az alábbiak voltak:**

- *A különböző összcsíraszámú tejek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmának vizsgálata.*
- *A különböző összcsíraszámú tejek hatásának vizsgálata a tejtermék összetételére.*
  - A Sana összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében.
  - A Dália összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében.
  - A Telemea és a tehéntúró összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében.
- *A magas összcsíraszámú tej összetételének vizsgálata a különböző hőkezelési eljárások során.*
  - Aminosav-összetétel, biológiai érték
  - Szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalom
  - C- és B-vitamin-tartalom
  - Hasznosítható lizin-, lizino-metionin- és hidroximetil-furfurol-tartalom

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 2.1. Az összcsíraszám valamint a tej és tejtermékek összetétele

#### 2.1.1. A vizsgált tejminták, tejmintavétel

A különböző csíraszámú tejmintákat és a belőlük készült tejtermékeket két szakaszban gyűjtöttük egy székelyföldi tejipari vállalattól. Kísérleteink első szakaszában, 2006 áprilisában, olyan tejmintákat tudtunk gyűjteni, amelyeknek összes csíraszámja 1230–2950 ezer között változott. Kísérleteink második szakaszában, 2007 novemberében és decemberében, olyan mintákat gyűjtöttünk, melynek összcsíraszámja 220 és 390 ezer között változott. A tejipari vállalatnál ebben az időszakban az ilyen csíraszámú tejből állították elő a joghurtot, a Sana-t, a tehéntúrót, a Telemea-t, valamint a Dália típusú sajtot. A minták elegytek voltak, amelyből a vállalat az említett tejtermékeken kívül a fogyasztási tejet is előállította. Kontrollként a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának szarvasmarhatelepéről származó 100 ezernél kisebb összcsíraszámú tejet választottuk, melyet a mintegy 100 darab holstein-fríz tehén elegytejéből vettünk. A tejmintákat, a mintavételt és az összcsíraszám meghatározását követően, azonnal  $-25\text{ °C}$ -ra hűtöttük, és ezen a hőfokon tartottuk a kémiai analízisre történő előkészítésig.

#### 2.1.2. Az összcsíraszám meghatározása

A mikrobaszám vizsgálatára közvetlen baktériumszámlálást alkalmaztunk. A steril kémcsőbe vett tejmintát alaposan összekevertük, majd tízszeres hígítást készítettünk (a hígító oldat 0,85%-os nátrium-klorid, melyet előzetesen autoklávban sterilítettünk). A pasztörözött tejminta  $1\text{ cm}^3$ -ét bemértük  $9\text{ cm}^3$  steril hígító vízbe, majd az így előkészített és alaposan homogenizált hígításból  $1\text{ cm}^3$ -t pipettáztunk a

táptalajjal ellátott steril lemezes Petrifilm lapkára. A Petrifilm lapkát 24 órán át 37 °C-on inkubáltuk, majd telepszámláló segítségével a kifejlődött telepeket közvetlenül megszámláltuk.

### ***2.1.3. A vizsgált tejtermékek***

A székelyföldi tejipari vállalattól joghurtot, Sanát, tehéntúrót, Telemeát és Dália típusú sajtot kaptunk analízisre. A vállalat dokumentációjából kiderült, hogy melyik tejterméket milyen átlagos összcsíraszámú tejből állították elő, ezért a vizsgált tejtermékeket a csíraszám függvényében egyenként csoportosítani tudtuk. A vizsgált tejtermékek közül a tehéntúró, a joghurt, a Sana és a Telemea rövid ideig, míg a Dália típusú sajt hosszabb ideig érlelt tejterméknek számítanak. A vizsgált tejtermékeket a román szabványok, illetve leírások, valamint a higiéniai rendszabályok betartásával állították elő.

### ***2.1.4. A minták kémiai analízise***

#### ***2.1.4.1. Minta-előkészítés***

Kísérleteink első szakaszában a minta-előkészítést és az analitikai méréseket a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Kémiai-Biokémiai Tanszékén végeztük. A tejmintákat felolvasztás és 30 °C-ra történő felmelegítés után 10 percig 8000 g-n centrifugáltuk, eltávolítottuk a tej alakos elemeit, és elvégeztük a tej zsírtalanítását is. Ezt követően 50 cm<sup>3</sup> mintához 50 cm<sup>3</sup> 25%-os triklór-ecetsavat hozzáadva 20 percig állni hagytuk, a kivált csapadékot 10 percig 10000 g-n centrifugáltuk. A kapott felülúszó pH-ját 4 M-os nátrium-hidroxid-oldattal 7-re állítottuk be mind a szabadaminosav-, mind a szabad D-aminosav-tartalom meghatározásához. Az így kapott oldatokat liofilezővel 10 °C-os tálcáfűtést alkalmazva beszáritottuk, majd a szabadaminosav-tartalom

meghatározásához a beszárított anyagot 10 cm<sup>3</sup> (pH=7) nátrium-acetát pufferben, a szabad D-aminosavak meghatározásakor pedig 1 cm<sup>3</sup> bidesztillált vízben oldottuk fel. Az előkészített mintákat ugyancsak –25 °C-on tároltuk az analízisek megkezdéséig. Tejtermékek analízise esetén azokból annyit homogénezünk desztillált vízzel, hogy a kapott keverék szárazanyag-tartalma a tejhez hasonlóan 12–15% közé essen. Ezt követően a teljesen tejszerű homogenizátumokkal úgy jártunk el, mintha azok tejminták lettek volna.

#### *2.1.4.2. Analitikai módszerek, készülékek, vegyszerek*

A szabadaminosav- és a szabad D-aminosav-tartalom meghatározása során a származékképzést és analízist MERCK-Hitachi LaChrom HPLC berendezéssel végeztük. A minta-előkészítéshez, származékképzéshez és az analízishez felhasznált vegyszerek analitikai reagens minőségűek voltak. A szabad aminosavak meghatározásakor oszlop előtti származékképzést végeztünk orto-ftálaldehiddel (OPA) és 2-merkaptóetanollal (MeOH). A szabad aminosavak szétválasztása fordított fázisú (LiChrospher 100 Rp-18, 125 x 4 mm, 4 µm) analitikai oszlopon történt. A keletkezett származékokat fluoreszcens detektorral detektáltuk (gerjesztési hullámhossz: 325 nm, emissziós hullámhossz: 420 nm).

A szabad D-aminosavak meghatározásakor a az aminosav-enantiomerekből diasztereomer párokat képeztünk orto-ftálaldehiddel (OPA) és 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glükopiranoziddal (TATG). Az enantiomerek szétválasztása fordított fázisú (Superspher 60 RP-8, 125×4 mm, 4 µm) analitikai oszlopon történt, a detektálást fluoreszcens detektorral végeztük.

## **2.2. A különböző pasztőrözési eljárások összehasonlítása**

### **2.2.1. A vizsgált tejminták, pasztőrözési eljárások**

Vizsgált nyerstejet egy másik Hargita megyei tejipari vállalattól szereztük be, melynek során a normál (kíméletesen) pasztőrözött tejet 72 °C-on 40 másodpercig történő hőkezeléssel nyertük. A mikrohullámmal pasztőrözött tejminták esetén a tejet lemezes hőcserélővel 63 °C-ra előmelegítettük, 2,45 GHz-es, 12,2 cm hullámhosszú mikrohullámmal 68 °C-ra felmelegítettük, majd 40 másodpercig ezen a hőfokon tartottuk. A kísérleti pasztőröző berendezést három ALASCA típusú háztartási mikrohullámú sütő sorba kötésével alakítottuk ki úgy, hogy a berendezés 200 l/h kapacitással működött. Kísérleteinket háromszor ismételtük meg, és a párhuzamos kísérletből származó három-három tejminta analízisét végeztük el.

### **2.2.2. Minta-előkészítés és analízis**

#### **2.2.2.1. A tejminták aminosav-tartalmának meghatározása**

A 2.1.4. fejezetben leírtakhoz hasonló előkészítést követően az analitikai mérést a Sapiencia EMTE Csíkszeredai Élelmiszer-tudományi Tanszékén végeztük. A szabadaminosav- és a szabad D-aminosav-tartalom meghatározása során a származékképzést és az analízist Varian Pro Star HPLC berendezéssel végeztük a 2.1.4. fejezetben leírtak szerinti származékképzési eljárásokat alkalmazva.

Az aminosavak összes mennyiségének meghatározása során a nyersfehérje-tartalmat a Kjeldahl-módszerrel határoztuk meg (Magyar Takarmánykódex (1991) 6.1. fejezet). A fehérjék hidrolízisét követően az aminosav-analízist INGOS AAA400 aminosav-analizátorral, OSTION Lg ANB ioncserélő műgyantán (oszlop: 35 x 0,37 cm), nátrium-citrát

pufferekkel, az aminosavak ninhidrinnel történt oszlop utáni származékképzésével végeztük.

#### *2.2.2.2. A tejminták vitamintartalmának meghatározása*

A minták megfelelő előkészítése után a C- és B-vitaminok szétválasztása fordított fázisú (150x4 mm belső átmérő), Supercosil (C18 töltet) LC oszlopon Varian ProStar HPLC-vel, a B-vitaminok meghatározása esetén metanol : foszfátpuffer 50:50%-os elegyével, a C-vitamin meghatározásnál acetónitril : ecetsav (0,4%-os) 10:90%-os elegyével, izokratikus módon történt.

#### *2.2.2.3. A tejminták HMF-tartalmának meghatározása.*

A HMF meghatározását Varian Pro Star HPLC berendezéssel, Supelcosil LC-C18 fordított fázisú analitikai oszloppal (150x4,6 mm belső átmérő), Pro Star 320 UV-VIS detektorral, két komponensből álló gradiensrendszerrel (acetónitril : víz 5:95%-os elegyével) végeztük. A HMF-t UV detektorral 284 nm hullámhosszon detektáltuk.

#### *2.2.2.4. A hasznosítható lizin-tartalom meghatározása*

A meghatározást 2,4-dinitro-1-fluor-benzollal (DNFB) történő származékképzést követően INGOS AAA automatikus aminosav-analizátorral végeztük. A minta összes lizintartalmát a DNFB-lal nem kezelt mintából határoztuk meg, a hozzáférhető lizin mennyiségét pedig a két analízis különbségéből számoltuk.

#### *2.2.2.5. A lizinoalanin-tartalom meghatározása*

A lizinoalanin meghatározását a korábban az összes aminosav meghatározásánál leírtak szerint, INGOS AAA automatikus aminosav-analizátorral végeztük.

### **2.3. Statisztikai analízis**

Az eredmények értékelése SPSS for Windows 17.0 (SPSS Inc., 2009) statisztikai programcsomaggal történt.

Annak eldöntésére, hogy a nyerstej, a különböző összcsíraszámú tejminták, a belőlük készült tejtermékek összetételében kimutatható-e statisztikailag igazolható különbség, regresszióanalízist és korrelációs számítást alkalmaztunk. Az eltérő módon kezelt tejminták összes aminosav, szabad aminosav- és szabad D-aminosav-tartalma közti különbséget kétmintás t-próbával vizsgáltuk.

### 3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

#### **3.1. Az összcsíraszám hatása a tej összesszabad- és szabad D-aminosav-tartalmára**

Kísérleteink első szakaszában az összcsíraszám hatását vizsgáltuk a tej összesszabad- és szabad D-aminosav-tartalmára. Az aminosavak közül az aszparaginsavra, a glutaminsavra és az alaninra koncentráltunk, mert ennek a három aminosavnak a D-enantiomere fordul elő legnagyobb mennyiségben a tejben. A 2006-ban a tejjipari vállalattól rendelkezésünkre bocsátott tejminták összcsíraszámuk 1,23–2,95 millió között, 2007-ben pedig 220–390 ezer között változott.

A 100–390 ezer összcsíraszám közötti tartományban mind az L-, mind a D-enantiomerek koncentrációja némileg emelkedett. Nem történtek lényeges változások a 390 ezer és 1,23 millió csíraszám közötti tartományban, sőt az  $1,23 \cdot 10^6$  és  $1,53 \cdot 10^6$  összcsíraszám között sem, ahol sem a szabad L-aminosavak mennyisége, sem a szabad D-aminosavak mennyisége nem mutatott lényeges változást, bár mind a szabad L- és D-aminosavak koncentrációja, mind a D-aminosavak részaránya folyamatosan nőtt az összcsíraszám függvényében. Ez a minimális változás folytatódott  $2,20 \cdot 10^6$  összcsíraszámig, ahol szinte robbanásszerűen megnőtt mind az összes szabad aminosav, mind a szabad D-aminosavak mennyisége, és ez a növekedés igaz volt a D-aminosavak részarányaira is az összes szabad aminosavon belül. Úgy tűnik tehát, hogy 1,5–1,6 millió csíraszámig nincsenek jelentős változások a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmában, ezen rövid periódust követően azonban gyors a növekedés.

Összességként tehát elmondható, hogy mindegyik általunk vizsgált szabad aminosav esetében, mind a szabad D-aminosavak, mind a



szabad L-aminosavak koncentrációja nő, de arányaiban a D-aminosavak növekedése nagyobb, hisz az aszparaginsav esetében, a kontroll tejhez viszonyítva, a  $2,95 \cdot 10^6$  csíraszámig ez az arány 11,11%-ról 21,97%-ra, a glutaminsav esetében 5,23%-ról 25,30%-ra, az alanin esetében pedig 11,85%-ról 33,37%-ra nőtt.

### **3.2. A tej összcsíraszámának hatása a tejtermékek összetételére**

Kutatásaink következő fázisában azt vizsgáltuk, hogy a szabad D- és L-aminosavak megnövekedett mennyisége milyen hatással van a belőle készült tejtermékek összetételére. A tejalapanyag összcsíraszámára és a D-aminosav koncentrációja közti összefüggést ismerve feltételezhető, hogy a tejalapanyag hatással lehet a belőle készült tejtermék összetételére. Ezen hipotézis bizonyítására 10 db különböző összcsíraszámú tejből készült Sana, 10 db Dália, 3 db Telemea, 2 db tehéntúró, és 1 db joghurt összetételét vizsgáltuk.

#### ***3.2.1. A Sana összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében***

A 220–390 ezer összcsíraszám-tartományban 6 db, az 1,23–2,95 millió összcsíraszám-tartományban pedig 4 db Sana analízisét végeztük el, melyek 1,23; 1,35; 1,53 és 2,95 millió összcsíraszámú tejből készültek. Megállapítottuk, hogy a tejalapanyag összcsíraszámának növekedésével, mind a három aminosav esetében nő a D- és az L-enantiomer mennyisége is, és e növekedés az  $1,53 \cdot 10^6$  csíraszám után válik jelentőssé, hisz a majd hárommillió összcsíraszámú tejből készült Sana mind az L-, mind a D-aminosavakból a legtöbbet tartalmazza. Nem tapasztaltunk lényeges változásokat az egyes aminosavakon belül a D- és L-arányokat illetően. A D-glutaminsav aránya a legkevesebb az összes szabad aminosavon

belül 24–25%-kal, melyet a D-aszparaginsav követ 30–32%-kal, végül a D-alanin zárja a sort, melynek részaránya közelíti a 40%-ot.

### ***3.2.2. A Dália összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében***

A 220–390 ezer összcsíraszámú tartományban 6 db, az 1,25–2,91 millió összcsíraszám tartományban pedig 4 db Dália sajt analízisét tudtuk elvégezni. Megállapítottuk, hogy a Dália esetében a változások még annál is kisebb mértékűek, mint amit korábban a Sana-nál mértünk. A 220–2912 ezer összcsíraszámú tejből készült Dália sajtoknál az L-aszparaginsav mennyisége 12,55–16,75 mg/100 g között, a D-aszparaginsav mennyisége pedig 5,26–6,32 mg/100 g között változott. Mindkét enantiomer mennyisége némiképp nőtt az összcsíraszám növekedésével, melynek következtében a D-aszparaginsav aránya gyakorlatilag változatlanul 29,42–30,16% között alakult. Az L-glutaminsav mennyisége a vizsgált periódusban 38,40–48,25 mg/100 g között, a D-glutaminsav mennyisége pedig 11,64–13,52 mg/100 g között alakult, miközben a D-glutaminsav aránya gyakorlatilag változatlan volt (22,66–24,62% között alakult). A 220 ezer összcsíraszámú tejből készült Dália sajt L-alanin-tartalma 18,45 mg/100 g volt, mely 27,35 mg/kg-ra nőtt az összcsíraszám növekedésével. Ugyanebben a periódusban a D-alanin mennyisége 12,30 mg/100 g-ról 17,80 mg/100 g-ra nőtt, miközben a D-alanin aránya gyakorlatilag változatlan maradt; 39,99–41,21% között alakult.

### ***3.2.3. A Telemea és a tehéntúró összetételének alakulása a tejalapanyag összcsíraszámának függvényében***

A Telemea esetében 1,32; 1,66 és 2,20 millió összcsíraszámú tejből készült terméket analizáltunk. Ezen összcsíraszámú tartományban az L-glutaminsav kivételével minden aminosavnál és minden enantiomernél növekedést kaptunk, de mivel az összcsíraszám tartomány nem volt elég széles, az előző két tejtermékhez hasonló, határozott következtetést vizsgálatainkból nem tudtunk levonni. A vizsgált összcsíraszám tartományban az L-aszparaginsav mennyisége 0,86–1,50; a D-aszparaginsavé pedig 0,39–0,61 mg/100 g, az L-glutaminsav mennyisége 3,06–3,49; a D-glutaminsavé pedig 0,75–0,94 mg/100 g, az L-alanin mennyisége 1,69–1,97; a D-alanin mennyisége pedig 1,07–1,35 mg/100 g között alakult. Az előző két vizsgált anyaghoz hasonlóan a D-glutaminsav százalékos arányát találtuk a legkisebbnek 19,73–22,54%-kal, a D-aszparaginsav részaránya 28,99–31,14% között, a D-alanin részaránya pedig 38,81–40,60% között alakult. Úgy tűnik tehát, hogy a vizsgált tartományban a Telemea esetében csak csekély összefüggés van a tejalapanyag összcsíraszámával és a belőle készült termékek között.

### ***3.2.4. Az érlelési idő és a D-aminosav-tartalom kapcsolata***

A különböző összcsíraszámú tejalapanyagból készült tejtermékek minősége és az összcsíraszám kapcsolata közötti összefüggést vizsgálva megállapítottuk, hogy a D-aminosavak százalékos összetételét az összes szabadaminosav-tartalmon belül nem befolyásolja sem a tejalapanyag összcsíraszámával, sem pedig az, hogy milyen tejtermékről van szó. A D-aszparaginsav részaránya a vizsgált tejtermékek többségénél 30% körül alakul, bár a Sana esetében és a tehéntúróknál ez az arány kicsivel több, a Daliánál pedig valamivel kisebb. A D-glutaminsav százalékos

résaránya 18–27% között változik, mely arány a Sana esetében nagyobb, mint a Dálianál, és legkisebb a Telemea esetében. A D-alanin aránya mindegyik tejterméknél függetlenül a tej összcsíraszámától, 40% körül alakul. A vizsgált három aminosavon belül a D-glutaminsav részaránya a legkisebb, a D-alaniné a legnagyobb, a D-aszparaginsav pedig a D-glutaminsavhoz közelebb eső köztes értéket mutat.

A friss, illetve a rövid ideig érlelt tejtermékeknél (Sana, Telemea) összefüggést lehet megállapítani, az összcsíraszám és a D-aminosav-tartalom között, és ez az összefüggés a legtöbb esetben igaz az L-enantiomerekre is. Annak ellenére azonban, hogy az összcsíraszám jelentős mértékű hatást gyakorol mindkét enantiomer koncentrációjára, az enantiomerek arányát az összcsíraszám nem befolyásolja. Azoknál a tejtermékeknél viszont, amelyeket hosszabb ideig érlelnek (Dália), és amelyeknél a kultúrák aminosav-termelőképesége lényegesen meghaladja a tejalapanyagban eredetileg benne lévő mikroorganizmusok termelését, nem lehet számítani a tejalapanyag hatására, tehát a tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma függetlennek látszik a tejalapanyag összetételétől.

### **3.3. Magas összcsíraszámú tej összetételének alakulása különböző hőkezelési eljárások hatására**

#### **3.3.1. A tejminták összesaminosav-tartalma**

Az esszenciális aminosavak mennyiségét azonosnak mértük függetlenül attól, hogy kezeletlen nyerstejről vagy különböző módon hőkezelt tejről van szó. Nem találunk különbséget az oxidációra érzékeny cisztintartalomban, melynek értéke 0,021 és 0,023% között, a metionintartalomban, melynek értéke 0,090 és 0,097% között változott. Ugyancsak minimális volt a különbség a hőkezelésre rendkívül érzékeny

treonin- (0,118–0,124%) és tirozintartalomban (0,127–0,132%) is. A lizintartalom a három tejmintánál 0,223–0,236 között változott. Az esszenciális aminosavakhoz hasonlóan nem tapasztaltunk változást a nem esszenciális aminosavaknál sem a hőkezelés hatására.

Vizsgálatainkból levonhatjuk azt a következtetést, hogy az általunk alkalmazott kétféle hőkezelés gyakorlatilag semmiféle változást nem okozott a tej aminosav-tartalmában sem az esszenciális, sem a nem esszenciális aminosavak tekintetében.

### ***3.3.2. A fehérje aminosav-összetétele és biológiai értéke***

Mivel az aminosav-összetétel a különféle kezelések hatására alig változott, és az aminosavak összege mindhárom mintánál jól közelítette a nyersfehérje-tartalmat, ezért a fehérje aminosav-összetételében sem találtunk különbséget a három tejminta között. Morup és Olesen (1976) szerint kiszámolva a tejfehérje biológiai értékét, a kontroll tej mintára 81,2, a hagyományos módon pasztörözött tejre 80,9, a mikrohullámmal pasztörözött tejre pedig 80,8 értéket kaptunk. Az eredmények bizonyítják, hogy az alkalmazott hőkezelés semmiféle hatással nem volt a tejfehérje biológiai értékére.

### ***3.3.3. A tejminták szabadaminosav-tartalma***

**A tejminták összes szabadaminosav-tartalma.** A nyerstej összes szabadaminosav-tartalmát 20,67 mg/100 g tejnek mértük, mely érték a hagyományos módon pasztörözött tejben 8,02 mg aminosav/100 g tejre, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig 8,96 mg aminosav/100 g tejre csökkent. Az egyes aminosavakon belül rendkívül nagymértékben csökkent a fenilalanin, a hisztidin, a leucin, a lizin, a metionin, a valin, az aszparaginsav, a prolin és a tirozin mennyisége, csekélyebb mértékben az

izoleuciné, a treoniné, az alaniné, az argininé és a cisztiné, és arányaiban némi növekedést kaptunk a glicin és a szerin esetében.

A szabad aminosavak mennyiségében észlelt nagymérvű csökkenés csak a technológiai beavatkozás következménye lehet. Lehetséges, hogy mivel a szabad aminosavak lényegesen reakcióképesebbek, mint a peptidláncban kötöttek, ezért a hőkezelés során reakcióba léptek a tejcukorral Maillard-reakciótermékeket eredményezve. Erre bizonyíték, hogy a hasznosítható lizin-tartalomban a hőkezelés hatására mintegy 4–5%-os csökkenést tapasztaltunk, és feltételezzük, hogy ez a szabad lizin átalakulásának a következménye. A másik lehetőség, hogy a hőkezelés során koagulálódott savófehérjék felületükön meg tudták kötni a szabad aminosavakat, és ez a kötés oly erős, hogy az általunk alkalmazott meghatározás során a felületről a szabad aminosavakat nem tudtuk eltávolítani.

Összességében tehát megállapítható, hogy jelentős eltérést kaptunk a szabad aminosavakat illetően a nyerstej és a különböző módon hőkezelt tejminták között, a két hőkezelési mód között azonban a szabad aminosavak tekintetében nem tudunk különbséget tenni.

**A tejminták szabad D-aminosav-tartalma.** A szabad D-aminosavak vizsgálata során a tejmintákból a D-aszparaginsavat, a D-glutaminsavat és a D-alanint tudtuk kimutatni. Megállapítottuk, hogy a különböző hőkezelési eljárások hatására a D-aminosavak mennyisége gyakorlatilag nem változott. Levonható tehát az a következtetés, hogy a pasztörözésnél alkalmazott hő és idő kombinációk a nyerstej D-aminosav-tartalmát nem változtatták meg, és e tekintetben a két hőkezelési eljárás között nem lehet különbséget tenni.

#### **3.3.4. A tej B- és C-vitamin-tartalma**

A nyerstej C-vitamin-tartalmát 22,71 mg/l-nek mértük, ami a normál pasztörözés során 22,11 mg/l-re, a mikrohullámú pasztörözés során pedig 6,25 mg/l-re csökkent, tehát a kíméletes pasztörözés hatására a C-vitamin-tartalom alig változott, a mikrohullámú pasztörözés során viszont kevesebb, mint harmadára csökkent. A B<sub>1</sub>-vitamin esetében 30–40%-os csökkenéssel lehet számolni, a másik három vitaminnál viszont kb. 10%-os csökkenés prognosztizálható a hőkezelés során. A kétféle módszerrel pasztörözött tej B-vitamin-tartalma gyakorlatilag azonosnak mondható. Leszögezhetjük tehát, hogy a B-vitamin-tartalom szempontjából a normál és a mikrohullámmal pasztörözött tej egyenértékűnek tekinthető, a mikrohullámú pasztörözésnél viszont jelentős C-vitamin-bomlással kell számolni.

#### **3.3.5. A tej hidroximetil-furfurol-tartalma**

A nyerstej, a hagyományosan pasztörözött tej és a mikrohullámmal pasztörözött tej HMF-t még nyomokban sem tartalmazott, tehát ebből a szempontból a két pasztörözési eljárás egyenértékűnek mondható.

#### **3.3.6. A tej hasznosíthatólizin- és lizinoalanin-tartalma**

A lizinoalanin-tartalom mérése során sem a nyerstej-, sem a két hőkezelt tejmintánál nem tudtuk a mérés érzékenységét meghaladó lizinoalanin-tartalmat kimutatni. Mindhárom mintánál a lizinoalanin-tartalom 5 mg/dm<sup>3</sup> alatt maradt, tehát sem a hőkezelésre rendkívüli érzékeny treonin (esetleg szerin), sem a hőkezelésre és az oxidációra érzékeny cisztein és cisztin nem bomlott el számottevő mennyiségben, hisz ez a két aminosav a legfőbb prekuzora a lizinoalanin képződésnek.

A nyerstej hasznosítható lizin-tartalmát 0,229%-nak, a hagyományosan pasztörözöttét 0,217%-nak, a mikrohullámmal pasztörözöttét pedig 0,219%-nak mértük, tehát az általunk alkalmazott kétféle hőkezelés során a hasznosítható lizin-tartalomban mintegy 4–5%-os csökkenés figyelhető meg, és ebből a szempontból a két hőkezelési módszer egyenértékűnek tekinthető.



## 4. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

### 4.1. Az összcsíraszám hatása a tej összes szabad és szabad D-aminosav-tartalmára

Kísérleteink igazolták, hogy az alacsony összcsíraszámú tej is tartalmaz minimális mennyiségben D-aminosavat, elsősorban D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint. A csíraszám növekedésével mind az L-, mind a D-aminosavak koncentrációja nőtt, a növekedés az 1,5–2,0 millió közötti tartományig fokozatos, majd ezt követően hirtelen mind a szabad aminosavak, mind a szabad D-aminosavak mennyisége nő, és az aminosavakon belül a D-aminosavak részaránya is határozott növekedést mutat. A legmagasabb csíraszámú tejben a szabad aszparaginsav mennyisége meghaladja az 1,8, a glutaminsavé a 6,0, az alaniné pedig a 7,2 mg/100 g-ot. A vizsgált tartományban a D-aszparaginsav részaránya 11%-ról 22%-ra, a glutaminsavé 5%-ról 25%-ra, az alaniné pedig 12%-ról 33%-ra nőtt. A növekedés a D-aminosavaknál jelentősebb, ami az összes aminosavon belül a D-aminosavak részarányának növekedését okozza.

### 4.2. A tej összcsíraszámának hatása a tejtermékek összetételére

A 220–390 ezer összcsíraszámú tejből készült Sana mindhárom általunk vizsgált aminosavának (aszparaginsav, glutaminsav, alanin) mindkét enantiomere némileg nőtt a csíraszám függvényében. A növekedés mindkét enantiomernél hasonló módon ment végbe, ezért az arányok szinte semmit nem változtak a vizsgált periódusban. Az 1,23–2,95 millió összcsíraszám tartományban mindhárom aminosav esetében nőtt mind a D-, mind az L-enantiomer mennyisége, mely növekedés az 1,5 millió csíraszám után vált jelentőssé, és a közel három milliós összcsíraszámú tejből készült Sana L-aminosav-tartalma 2–3-szor több, mint az

alacsonyabb csíraszámú tejből készült terméké, és ugyanez elmondható a D-aminosavak mennyiségére is, ezért ebben a tartományban sem tapasztaltunk lényeges változást a D- és az L-aminosavak arányát illetően. A D-glutaminsav mintegy 25%-ot, a D-aszparaginsav 32%-ot, a D-alanin pedig mintegy 40%-ot tett ki, az összes aminosavon belül. Megállapítottuk, hogy mintegy 500 ezer csíraszámig nem kell lényeges szabadaminosav-tartalom növekedéssel számolni, a milliós nagyságrendű csíraszám esetében azonban mind az L-, mind a D-aminosavak mennyisége lényegesen nagyobb lehet az alacsonyabb csíraszámú tejből készíttettekhez képest.

A Dália sajt analízise kapcsán megállapítottuk, hogy az általunk vizsgált csíraszám tartományban az L-aminosavak mennyisége alig mutatott változást, és ugyanez elmondható az általunk vizsgált három D-aminosav mennyiségére is. Összességében elmondható tehát, hogy a Dália sajt esetében a változások egészen minimálisak a csíraszám függvényében. A D-glutaminsav részaránya 21,85–24,62%, a D-aszparaginsavé 27,11–29,42%, a D-alaniné pedig 39,43–41,85% között alakult.

A Telemea és a tehéntúró összes szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát vizsgálva – az L-glutaminsav kivételével – minden aminosavnál és minden enantiomernél növekedést kaptunk, de mivel az összcsíraszám tartomány nem volt elég széles, határozott következtetést a csíraszám befolyásáról mondani nem tudunk.

Megállapítottuk, hogy a friss, illetve a rövid ideig érlelt tejtermékeknel (Sana, Telemea) az összcsíraszám növekedésével mind a D-, mind az L-enantiomerek mennyisége nőtt, az enantiomerek arányát azonban az összcsíraszám nem befolyásolta. Azoknál a tejtermékeknel viszont, amelyeket hosszabb ideig érlelnek (Dália), és amelyeknél az

alkalmazott szintenyészetek aminosavtermelő-képessége lényegesen meghaladja a tejalapanyagban eredetileg benne lévő mikroorganizmusok által produkált mennyiséget, nem lehet számítani a tejalapanyag hatására, tehát ezen tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma függetlennek látszik a tejalapanyag összetételétől.

#### **4.3. A magas összcsíraszámú tej összetételének alakulása a különböző hőkezelési eljárások hatására**

Megállapítottuk, hogy mikrohullámú pasztörözés hatására a tejfehérje aminosav-összetétele és az ebből számolt biológiai értéke gyakorlatilag megegyezik az eredeti nyerstejével. A nyerstej összes szabadaminosav-tartalma mintegy 40-45%-ra csökken, ami a pasztörözés során lejátszódó változásokkal magyarázható. Feltételezéseink szerint a szabad aminosavak vagy a Maillard-reakció során használódtak el, illetve a hőkezelés során koagulálódott savófehérjék kötötték meg őket. A hőkezelési módok között azonban a szabad aminosavak tekintetében nem tudtunk különbséget tenni. Megállapítottuk, hogy a kétfajta pasztörözésnél alkalmazott hőmérséklet és hőntartás nem okozott D-aminosav növekedést.

A B<sub>1</sub>-vitamin esetében mindkét hőkezelési eljárásnál mintegy 30-40%-os, a többi B-vitaminnál pedig mintegy 10%-os veszteséget kaptunk. Jelentős veszteséget tapasztaltunk a mikrohullámú pasztörözésnél a C-vitamin esetében, ami a kíméletesen pasztörözött tejben alig változott a nyerstejhez viszonyítva, a mikrohullámmal pasztörözött tejben pedig mintegy harmadára csökkent. A tej hidroximetil-furfurol-, hasznosítható lizin- és lizinoalanin-tartalmát vizsgálva csak minimális eltérést kaptunk mindkét pasztörözési eljárásnál a

nyerstejhez viszonyítva, és a két eljárás között e komponensek tekintetében nem tudunk különbséget kimutatni.

## 5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

– Megállapítottuk, hogy a tej csíraszámának növekedésével mind a szabad L-, mind a szabad D-aminosavak koncentrációja nő. A növekedés az 50–400 ezer tartományban minimális, majd 1,5 millió összcsíraszámig folyamatosan emelkedik, 1,5–2,0 millió csíraszám után pedig mind a szabad aminosavak, mind a szabad D-aminosavak koncentrációja megnő, és az összes mennyiség növekedésén túl a növekvő csíraszámmal nő a D-aminosavak részaránya.

– Megállapítottuk, hogy a friss, illetve a rövid ideig érlelt tejtermékeknel a tejalapanyag összcsíraszámának növekedésével mind a D-, mind az L-aminosav-enantiomerek mennyisége nő, az enantiomerek arányát azonban az összcsíraszám nem befolyásolja. A hosszabb ideig érlelt termékeknel, az alkalmazott színtenyészetek aminosav-produkciója miatt, a tejalapanyag összcsíraszámja nincs hatással a tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára.

– A mikrohullámú pasztörözés a hagyományos pasztörözési eljáráshoz hasonlóan nem változtatja meg a tejfehérje aminosav-összetételét és biológiai értékét, csökkenti a tej szabadaminosav-tartalmát, nincs hatással a tej szabad D-aminosav-tartalmára, nem okoz számottevő mennyiségű hidroximetil-furfurol és lizinoalanin képződést, és nem csökkenti a hasznosítható lizintartalmat. Mintegy 10–40%-kal csökkenti a B-vitamin-tartalmat, és jelentős C-vitamin-bomlást idéz elő a hagyományos, kémiletesen végzett pasztörözéshez képest.

## 6. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

### Magyar nyelven megjelent tudományos közlemények:

7. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Salamon R.: Különböző technológiával készült sajtok összes szabad és szabad D-aminosav-tartalma. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2005. 9. 2. 61-71. p.
8. Pohn G. – Albert Cs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *In: Tejgazdaság*. 2006. 65. 40-45. p.
9. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej mikroorganizmusainak hatása tej és tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*, 2007. 11. 3. 1-13. p.
10. Csapó J. – Albert Cs. – Lányi Sz. – Salamon Sz. – Csapóné Kiss Zs.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére I. Aminosav-összetétel, szabadaminosav-tartalom, biológiai érték. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2008. 12. 3. 11-24.
11. Albert Cs. – Lányi Sz. – Csapóné Kiss Zs. – Salamon Sz. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére II. B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>-, B<sub>12</sub>- és C-vitamin-, hasznosíthatólizin-, lizinoalanin-, hidroxi-metil-furfurol-tartalom. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2008. 12. 3. 25-36.
12. Albert Cs. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej aminosav-összetételére, szabadaminosav-tartalmára, biológiai értékére, B- és C-vitamin-, hasznosíthatólizin-, lizinoalanin- és hidroxi-metil-furfurol-tartalmára. *In: Tejgazdaság*. 2008. 68. 1-2. 93-106.

### Idegen nyelven megjelent tudományos közlemények:

11. Csapó, J. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs.: Separation and determination of the amino acids by ion exchange column chromatography applying post-column derivatization. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2005. 9. 2. 33-51. p.
12. Albert, Cs. – Sára, P. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol containing amino acid enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 349-354. p.
13. Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 187-192. p.

14. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: The influence of manufacture on the free D-amino acid content of Cheddar cheese. *In: Amino Acids*. 2007. 32. 1. 39-44. p.
15. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on the D-amino acid content of milk. *In: Krmiva*. 2007. 49. 1. 15-21.p.
16. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number in raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: Krmiva*. 2007. 49. 1. 29-35. p.
17. Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Mándoki, Zs. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: Agriculture*. 2007. 13. 1. 192-196. p.
18. Csapó, J. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs.: The D-amino acid content of foodstuffs. (A Review). *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 5-30.
19. Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Influence of mastitis on D-amino acid content of milk. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 31-43.
20. Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid contents of various dairy products. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 45-53.

#### **Proceedings-ben teljes terjedelemben megjelent közlemények:**

17. Albert, Cs. – Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Csapó-Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid as hydrolysis reagent of the protein and derivatization reagent of amino acids during high performance liquid chromatographic analysis. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 35-38. p.
18. Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Albert, Cs.: Special chromatographic methods for amino acid analysis. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 28-34. p.
19. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The determination of the amount of protein of bacterial origin on the basis of D-amino acid content. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 129-132. p.
20. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Changes in the free D-amino acid content of Cheddar during cheesemaking process. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science Proceedings*. Szeged, 2006. ápr. 20. 1-5. p. [CD-ROM].

21. Csapó, J. – Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Vargáné Visi, É.: Takarmányok D-aminosav-tartalmának meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiai módszerekkel. In: *VI. Takarmányanalitikai Konferencia*. Keszthely, 2006. jún. 29. 4-5. p.
22. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22. 1-6. p.
23. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. In: *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27. 221-226. p.
24. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27. 227-232. p.
25. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Tamás M. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 21-24.
26. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Tamás M. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 81-84.
27. Mándoki Zs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert Cs. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. nov. 8-11. 63-67. p.
28. Albert Cs. – Pohn G. – Mándoki Zs. – Lóki K. – Csapó J.: Különböző összcsíraszámú tejből készült tej és tejtermékek összetétele, különös tekintettel a D-aminosavakra. *XXXII. Óvári Tudományos Nap*. Mosonmagyaróvár, 2008. október 9. [CD-kiadvány, 5 oldal].
29. Véha, A. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *International Conference on Science and Technique in the Agri-Food Business. ICoSTAF 2008*. Szeged, 2008. nov. 5-6. 102-108. p.
30. Albert Cs. – Lányi Sz. – Salamon Sz. – Lóki K. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére. I. Aminosav-összetétel, szabadaminosav-tartalom, biológiai érték. *14<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2008. nov. 13-15. 32-34. p.



31. Albert Cs. – Kovács E. – Lányi Sz. – Csapóné Kiss Zs. – Salamon Sz. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére. II. B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>-, B<sub>12</sub>- és C-vitamin-, hasznosíthatólizin-, lizinoalanin-, hidroximetil-furfurool-tartalom. *14<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2008. nov. 13-15. 35-38. p.
32. Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evoluția conținutului de aminoacizi, de aminoacizi liberi, și a valorii biologice a laptelui în procesul pasteurizării clasice și cu microunde. *Zilele Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului Ed. a V-a*. Iași, 2008. nov. 19-21. 332-335. p.

### **Proceedings-ben megjelent absztraktok:**

13. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Changes in the free D-amino acid content of Cheddar during cheesemaking process. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science*. Szeged, 2006. ápr. 20. 122. p.
14. Vargáné Visi É. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapó J.: A Cheddar sajt szabad D-aminosav-tartalmának alakulása a gyártás során. *In: VII. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2006. ápr. 20. 121. p.
15. Albert Cs. – Lóki K. – Varga-Visi É. – Sára P. – Bíró M. – Salamon Sz. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: The separation and determination of the enantiomers of sulphur containing amino acids after performic acid oxidation with high performance liquid chromatography. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 110. p.
16. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapó, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid contents of milk. *In: KRMIVA 14<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2007. jún. 11-14. 95. p
17. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: KRMIVA 14<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2007. jún. 11-14. 96. p.
18. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 12. p.
19. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid content of milk. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 14. p.
20. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid content of milk. *In: 58<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Dublin, Ireland, 2007. aug. 26-29. 204. p.

21. Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Pohn, G. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid contents of various dairy products. *In: 58<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Dublin, Ireland, 2007. aug. 26-29. 205. p
22. Pohn, G. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Albert, B. – Salamon, Sz. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid content of milk and various dairy products. *In: 15<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Osijek, 2007. szept. 19-21. P-8.
23. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Tamás, M. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various milk products. *In: Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*. Sinaia, Romania, 2007. szept. 19-22. S-2-28.
24. Albert, Cs. – Csapó, J. – Pohn, G. – Mándoki, Zs. – Csapó-Kiss, Zs.: The effect of microwave pasteurization on the amino acid compositions, free amino acid content, biological value, vitamin B- and C-, utilizable lysine-, lysino-alanine-, and hidroximethyl furfurol content of milk. *KRMIVA 2009. 16<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2009. jún. 1-3. 68. p.

#### **Előadások:**

3. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22.
4. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összesírászámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27.

## 7. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉN KÍVÜL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

### Szakkönyvek, könyvrészek:

4. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs. – Varga-Visi, É.: Quantitative determination of the protein of bacterial origin based on D-amino acid content. *In: D-amino acids: a new frontier in amino acid and protein research.* (Ed.: Ryuichi, Konno) 2006. 123-133. p.
5. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Albert Cs. – Salamon Sz.: Élelmiszerfehérjék minősítése. Kolozsvár: Scientia Kiadó, 2007. 1-506.
6. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Albert Cs.: Élelmiszeranalitika. Kolozsvár: Scientia Kiadó, 2007. 1-400. p.

### Magyar nyelven megjelent tudományos közlemények:

7. Salamon R. – Csapó J. – Vargáné Visi É. – Csapóné Kiss Zs. – Altorjai A. – Györi Z. – Sára P. – Lóki K. – Albert Cs.: A tej zsírsavösszetételének és konjugált linolsavtartalmának változása az évszakok szerint. *In: Acta Agraria Kaposváriensis.* 2005. 3. 1-15. p.
8. Albert Cs. – Salamon R. – Csapó J.: Fosszilis anyagok korának meghatározása az aminosavak átalakulása és racemizációja alapján. *In: Csíki Székely Múzeum Periodikája.* 2006. 415-438. p.
9. Albert Cs. – Salamon Sz. – Darvas L. – Kovács J. – Salamon R. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: Egy magyarországi és egy erdélyi gypjas mamut korának meghatározása az aminosavak racemizációja alapján. *In: Csíki Székely Múzeum Periodikája.* 2007. 359-372. p.
10. Albert Cs. – Lóki K. – Bíró M. – Salamon Sz. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A miccs aminosav-összetételének változása különböző idejű és hőmérsékletű hőkezelés hatására. *In: Műszaki Szemle. Kémia szám.* 2007. 39-40. 5-7. p.
11. Lóki K. – Albert Cs. – Vargáné Visi É. – Bíró M. – Salamon Sz. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A szabad és fehérjében kötött triptofán-enantiomerek meghatározása különböző hidrolízismódszerek alkalmazásával. *In: Műszaki Szemle. Kémia szám.* 2007. 39-40. 35-39. p.
12. Csapó J. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Darvas L. – Kovács J. – Salamon R.V. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs.: Az aminosavak racemizációján alapuló korbecslés alkalmazása egy magyarországi és egy erdélyi mamutsont és -agyar korának meghatározására. *In: Somogyi Múzeumok Közleményei.* 2008. 18. 139-146.

### **Idegen nyelven megjelent tudományos közlemények:**

20. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 341-348. p.
21. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Analysis of the racemization of the tryptophan. *In: Chromatographia*. 2006. 63. 101-104. p.
22. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 341-348. p.
23. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 181-186. p.
24. Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 201-205. p.
25. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Salamon, Sz.: The influence of the extrusion on the racemization of the amino acids. *In: Amino Acids*. 2007. [Published online January 25, 2007. Springer Verlag 2007].
26. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Salamon, Sz.: The influence of the extrusion on the racemization of the amino acids. *In: Amino Acids*. 2007. 34. 2. 287-292.
27. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó-Kiss, Zs.: Separation and determination of the amino acids by ion exchange column chromatography applying postcolumn derivatization. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 5-30.
28. Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Albert, Cs. – Lóki, K.: Hydrolysis of proteins performed at high temperatures and for short times with reduced racemization, in order to determine the enantiomers of D- and L-amino acids. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 31-48.
29. Csapó, J. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid as the reductive thiol-containing reagent employed for the derivatization of amino acids with o-phthalaldehyde analysis. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 49-60.
30. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 61-72.
31. Albert, Cs. – Lóki, K. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol-containing amino acid. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 73-80.

32. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó-Kiss, Zs.: Quantitative determination of the protein of bacterial origin based on D-amino acid contents. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 81-98.
33. Csapó, J. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Csapó-Kiss, Zs.: Rapid method for the determination of diaminopimelic acid using ion exchange chromatography. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 99-108.
34. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Pohn, G.: Age determination based on amino acid racemization: a new possibility. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 109-118.
35. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of manufacture on the free D-amino acid content of Cheddar cheese. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 55-64.
36. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of extrusion on loss of and racemization of amino acids. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 65-79.
37. Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 111-117.
38. Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Mándoki, Zs. – Csapó, J.: The effect of thermic treatment conditions on the amino acid composition of soybean and maize. *In: Krmiva*. 2009. 51. 139-144.

**Proceedings-ben teljes terjedelemben megjelent közlemények:**

13. Csapó J. – Lóki K. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Lányi Sz. – Albert Cs.: Csíkszereda környéki forrásvizek makro- és mikroelem-tartalma. *In: Mineral Waters in the Carpatian Basin. 2<sup>nd</sup> International Scientific Conference*. Miercurea Ciuc, 2005. júl. 29-30. 99-110. p.
14. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Csapó, J.: Different hydrolysis methods in order to determine the tryptophan content of proteins. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 125-128. p.
15. Salamon, R. – Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Csapóné Kiss, Zs. – Altorjai, A. – Györi, Z. – Boros-Györi, A. – Sára, P. – Albert, Cs.: Changes in fatty acid and conjugated linoleic acid content of milk according to season. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, Romania, 2005. nov. 11-13. 308-311. p.
16. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Application of sulphonic acid hydrolysis methods in order to determine the racemization of tryptophan. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science Proceedings*. Szeged, 2006. ápr. 20. 1-6. p. [CD-ROM].

17. Lóki K. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Csapó J.: Szulfonsavas hidrolízis módszerek a fehérje triptofántartalma racemizációjának mérésére. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 65-68. p.
18. Albert Cs. – Lóki K. – Vargáné Visi É. – Csapó J.: A kéntartalmú aminosav-enantiomerek mennyiségének meghatározása. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 69-72. p.
19. Vargáné Visi É. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapó J.: Különböző hőmérsékleteken végzett technológiai műveletek hatása élelmiszer- és takarmányfehérjék aminosavainak racemizációjára. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 87-90. p.
20. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs.: Spectrophotometric methods for the determination of the micro- and macroelements of mineral waters with special regards of microelements. *In: Mineral Waters in the Carpatian Basin. 3<sup>rd</sup> International Scientific Conference.* Miercurea Ciuc, 2006. júl. 27-29. 59-70. p.
21. Csapó J. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapóné Kiss Zs.: Új nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszerek a kéntartalmú aminosavak és a triptofán enantiomerei meghatározására. *In: XXXI. Óvári Tudományos Nap.* Mosonmagyaróvár, 2006. okt. 5. 90-91. p.
22. Lóki K. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapó J.: A fehérje triptofán enantiomereinek elválasztása és meghatározása. *In: XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum.* Keszthely, 2007. márc. 22. 1-5. p.
23. Lóki K. – Mándoki Zs. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert, B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A para-toluol-szulfonsav, mint fehérjék hidrolízisére alkalmas reagens a triptofán-enantiomerek szempontjából. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry.* Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 59-62.
24. Mándoki Zs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert Cs. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: Szeleno-aminosavak meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával és nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry.* Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 63-67.

#### **Proceedings-ben megjelent absztraktok:**

28. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Racemization of tryptophan of food protein influenced by different technologies. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids.* Vienna, 2005. aug. 8-12. *In: Amino Acids.* 2005. 29. 61. p.
29. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid hydrolysis of protein in order to determine the tryptophan content. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids.* Vienna, 2005. aug. 8-12. *In: Amino Acids.* 2005. 29. 45. p.

30. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Influence of a thermic treatment on the D-amino acid content of corn. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids*. Vienna, 2005. aug. 8-12. In: *Amino Acids*. 2005. 29. 34. p.
31. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Determination of the tryptophan content by mercaptoethanesulphonic acid hydrolysis of protein. In: *6<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2005. szept. 7-9. 10. p.
32. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Influence of different technologies for racemization of tryptophan of food protein. In: *6<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2005. szept. 7-9. 78. p.
33. Csapó J. – Vargáné Visi É. – Lóki K. – Albert Cs.: A kéntartalmú aminosavak és a triptofán enantiomereinek szétválasztása és meghatározása. In: *Központi Élelmiszertudományi Kutatóintézet 323. Kollokviuma*. Budapest, 2006. márc. 2. 6. p.
34. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Application of sulphonic acid hydrolysis methods in order to determine the racemization of tryptophan. In: *7<sup>th</sup> International Conference on Food Science*. Szeged, 2006. ápr. 20. 103. p.
35. Lóki K. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Csapó J.: Szulfonsavas hidrolízis módszerek alkalmazása a triptofán racemizációjának vizsgálata során. In: *VII. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2006. ápr. 20. 102. p.
36. Varga-Visi É. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapó J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. In: *KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 80. p.
37. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. In: *KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 113. p.
38. Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. In: *KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 114. p.
39. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs.: Evaluation of the inactivation of heath sensitive antinutritive factors in fullfat soybeen. In: *57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 124. p.
40. Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. In: *57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 169. p.

41. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. *In: 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 169. p.
42. Albert, Cs. – Lóki, K. – Bíró, M. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: The changing of amino acid composition of miccs samples under the effect of heat-treating of different times and temperature. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 85. p.
43. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Bíró, M. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: The determination of free and protein bound tryptophan enantiomers by using different hydrolysis methods. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 97. p.
44. Csapó, J. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Pohn, G. – Kovács, J. – Darvas, L. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs.: Age determination of two mammoths from Hungarian and Transylvanian regions based on amino acid racemization in tusk and bone. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 46. p.
45. Lóki, K. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Different acidic hydrolysis methods in order to determine the enantiomers of tryptophan. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 49. p.
46. Mándoki, Zs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Determination of selenoamino acids by ion exchange column chromatography and by high performance liquid chromatography. *In: 7<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. szept. 5-7. P-81. 139. p.
47. Pohn, G. – Albert, Cs. – Albert, B. – Lóki, K. – Mándoki, Zs., – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Separation of amino acids with aliphatic side chain by RP-HPLC with eliminating of the disturbing effect of methionine by performic acid oxidation. *In: 7<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. szept. 5-7. P-99. 157. p.
48. Pohn, G. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Albert, B. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid content of milk and various dairy products. *15<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Osijek, 2007. September 19-21. P-8.
49. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Tamás, M. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various milk products. *Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*. Sinaia, Romania, 2007. Sept. 19-22. S-2-28.



50. Lóki K. – Mándoki Zs. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A para-toluol-szulfonsav, mint fehérjék hidrolízisére alkalmas reagens a triptofán-enantiomerek szempontjából. *In: 13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. nov. 8-11. 59-62. p.
51. Lóki, K. – Kalambura, S. – Mándoki, Zs. – Kricka, T. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: D-tryptophan contents of alkaline digested meat flours. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 89.
52. Mándoki, Zs. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Separation and determination of selenoamino acids in foods and feeding stuffs by ion-exchange chromatography. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 90.
53. Mándoki, Zs. – Pohn, G. – Albert, Sz. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Possibilities of liquid chromatographic determination of selenoamino acids and its food and feeding stuff analytical aspects. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 101.
54. Lóki, K. – Kalambura, S. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of disposal technology obtained with alkaline treatments on D-amino acid content of slaughter waste. *Amino Acids*. Vienna, 2009. 37. 1. S92.

#### **Előadások:**

4. Albert, Cs. – Sára, P. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol-containing amino acid enantiomers. *14<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Lillafüred, 2006. okt. 11-13.
5. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *14<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Lillafüred, 2006. okt. 11-13.
6. Lóki K. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapó J.: A fehérje triptofán enantiomereinek elválasztása és meghatározása. *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22.

# **DOCTORAL (PhD) DISSERTATION THESES**

**KAPOSVÁR UNIVERSITY**  
**FACULTY OF ANIMAL SCIENCE**  
Department of Chemistry and Biochemistry

Head of doctorate school:  
**DR. PÉTER HORN**  
Member of the Hungarian Academy of Science

Supervisor:  
**DR. JÁNOS CSAPÓ**  
Doctor of the Hungarian Academy of Science

## **THE COMPOSITION OF MILK AND DAIRY PRODUCTS PRODUCED IN SZÉKELYLAND, WITH SPECIAL RESPECT TO THE TOTAL GERM NUMBER OF THE MILK RAW MATERIAL**

**CSILLA ALBERT**

**KAPOSVÁR**  
**2010**

## 1. BACKGROUND OF THE RESEARCH, OBJECTIVES

Our foods can contain either due to technological interventions or due to changes in microbiological conditions in the food considerable amount of D-amino acids. The researches showed that D-amino acid content of milk and dairy products can be attributed mainly to microbial activity and the technological intervention can have here only a minor role. It appears to be proven that D-amino acids present in traces in mixed milk of healthy cows are the result of bacterial infection during subclinical mastitis, and they enter the milk as metabolic products of bacteria. We established that D-amino acid content of commercially obtainable milk can be caused by milking of the first milk flows rich in bacteria to the mixed milk on the one hand, and the presence of bacteria causing mastitis, the metabolism product of these bacteria and after death of the D-amino acid content of peptidoglycans being in the cell wall. It was also established that according to the degrees of the Mastitest the quantity of total free and free D-amino acids increased in the milk. It is obvious from our examinations that the free amino acid and free D-amino acid are affected mainly by the microbial condition of the milk raw material.

It is known that D-stereoisomer amino acids are not or not easily utilized by the human organism, their harmful effects were reported in several publications. It is also known that the presence of D-amino acids in the proteins reduces digestibility and in bigger volumes they can act as growth inhibitors. In nutritional scientific respect an important fact is that D-amino acids and peptides containing D-amino acids have a different taste than the corresponding L-stereoisomers.

As in case of countries recently joined the European Union dairy producers are reduced to occasionally produce various dairy products complying with the standards out of milk with germ number of several millions considered to be unsuitable for human consumption in EU countries in the first phase of our experiments we examined total free and free D-amino acid content of milk with various total germ numbers. During this we wanted to establish a relationship between germ number and total free and free D-amino acid content of milk, then we looked for an answer to the question how free amino acid content of milk raw material affects free amino acid composition of dairy products matured for shorter and longer time, manufactured from it.

In Székelyland, more closely also in Hargita county, the occasionally extremely high germ number of milks from the small farms and from a few large-scale agricultural plants is a basic problem for the dairy companies and milk processors. In some periods germ numbers above one million are not seldom, in fact occasionally the total CFU can reach the even 3 million. From such a milk raw material it is very difficult to produce good quality dairy products. Because of the above we targeted to establish how the quality of the raw material, namely, total CFU affects the composition of various dairy products produced by souring, manufactured in Székelyland. As it is widely known that the free amino acids and D-amino acids significantly affect the taste and aroma of the dairy products, we set as our task to examine how free and free D-amino acid content of the milk and the dairy products manufactured from it changes.

In the third phase of our research we examined if it is possible to elaborate such a procedure for the pasteurization of milks with high CFU, that does not require a temperature higher than desired and keeping at this

temperature, whereas it kills the microorganisms perfectly. Therefore we studied the changes taking place during microwave pasteurization, as recently beside the traditional pasteurization procedures the microwave treatment has been used for the pasteurization of milk. There is not much known about the properties of milk obtained by microwave pasteurization, and about the effect of microwaves on the milk's composition. Therefore we investigated how the microwave treatment affects protein content and free amino acid composition of milk. We focused on the „sensitive” amino acids (Tyr, Lys, Met and Cys) and examined whether there was a considerable change in case of these amino acids compared to the traditional technology.

The natural food raw materials like milk do not contain considerable amount of D-amino acids in crude condition, however, they are frequently exposed in the course of preparation for the consumption – like eg. pasteurization – to such circumstances that can cause racemization. Therefore we examined free amino acid and free D-amino acid content of the raw milk, conventionally pasteurized as well as microwave pasteurized milk. In the course of the examinations we tried to find out whether there was a change in the free amino acid content, any possible damage to the milk protein, whether D-amino acids have formed due to the traditional and microwave heat treatment, as well as to compare the efficiency of the two pasteurization procedures regarding the maintaining the quality of the milk protein.

Subsequently we analyzed how the microwave treatment affected the water soluble vitamin content of the milk. As the most heat sensitive are vitamin C and vitamins B, we tested the microwave method by examining the concentration of vitamin C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub>, comparing to the traditional pasteurization.

We also set as a task to measure the utilizable lysine content, the concentration of lysinoalanine and hydroxymethyl furfural (HMF) which is the most commonly detected Maillard reaction product of the milk. The Maillard reaction products contribute to the taste and aroma of the pasteurized milk, but they can also reduce considerably the biological value of the protein mainly by blocking the  $\epsilon$  amino group of lysine.

**The goals of the dissertation were as follows:**

- *Examination of free amino acid and free D-amino acid content of milks of various CFU.*
- *Examination of the effect of milks with various total CFU on the composition of the dairy product.*
  - Changes in the composition of Sana in the function of total CFU of the milk raw material.
  - Changes in the composition of Dalia in the function of total CFU of the milk raw material.
  - Changes in the composition of Telemea and cow's curd in the function of total CFU of the milk raw material.
- *Examination of the composition of milk with high CFU during different heat treatments.*
  - Amino acid composition, biological value
  - Free amino acid and free D-amino acid content
  - Vitamin C and vitamin B content
  - Utilizable lysine content, lysinomethionine and hydroxymethyl furfural content

## 2. MATERIALS AND METHODS

### **2.1. Total CFU as well as composition of the milk and dairy products**

#### ***2.1.1. Milk samples examined, milk sampling***

Milk samples with different CFU and dairy products produced from them were collected in two phases from a dairy company in Székelyland. In the first phase of our experiments in April 2006, we could collect milk samples with total CFU varied between 1,230 and 2,950 thousand. In the second phase of our experiments in November and December 2007, we collected samples with total CFU between 220 and 390 thousand. At the dairy company in this period these milks were used to produce yoghurt, Sana, curds, Telemea and the cheese Dalia. The samples were mixed milks from which the company produced also the consumption milk in addition to the mentioned dairy products. As a control sample milk of total CFU less than 100,000 was used, obtained from the cattle farm of the University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, and which was taken from a mixed milk of around 100 Holstein-Friesian cows. After the sampling and determination of the total CFU the milk samples were immediately cooled down to  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  and were kept at this temperature until the preparation for chemical analysis.

#### ***2.1.2. Determination of the total CFU***

For determination of the microbe number direct bacterium counting was applied. The milk sample taken into a sterile test tube was thoroughly mixed and a tenfold dilution was prepared (the diluting solution was a 0.85% sodium chloride solution which was sterilized in autoclave beforehand).  $1\text{ cm}^3$  of the pasteurized milk sample was added to  $9\text{ cm}^3$  of sterile dilutant water, then  $1\text{ cm}^3$  of the thoroughly mixed diluted sample

was pipetted onto a sterile Petrifilm plate with a culture medium. The Petrifilm plate was incubated at 37 °C for 24 h, and the developed colonies were directly counted with the use of a colony counter.

### ***2.1.3. Dairy products examined***

From the dairy company in Székelyland yoghurt, Sana, curds, Telemea and cheese Dalia were obtained for analysis. The company documentation showed which dairy product from milk of what average total CFU was produced, so the examined products could be sorted individually as per CFU. Out of dairy products examined, the curds, yoghurt, Sana and Telemea are considered for products matured over a short time while the cheese Dalia as product matured over a longer time. The examined dairy products were produced by keeping the Rumanian standards and specifications as well as the hygienic regulations.

### ***2.1.4. Chemical analysis of the samples***

#### ***2.1.4.1. Sample preparation***

In the first phase of our experiments sample preparation and the analytical measurements were carried out at the University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Department of Chemistry and Biochemistry. The milk samples were after defrosting and warming up to 30 °C centrifuged at 8,000 g for 10 min in order to remove the cellular elements, and also defatting of the milk was done. Subsequently, to 50 cm<sup>3</sup> of sample 50 cm<sup>3</sup> of 25% trichloroacetic acid was added, left standing for 20 min, and centrifuged at 10,000 g for 10 min. The pH of the supernatant was adjusted to be 7 with 4 M sodium hydroxide solution for the determination of both free amino acid and free D-amino acid



content. The obtained solution was dried-up using a lyophilizer at a plate temperature of 10 °C, then for the determination of free amino acid content the dried-up material (pH=7) was solved in 10 cm<sup>3</sup> of sodium acetate buffer, whereas for the determination of free D-amino acids in 1 cm<sup>3</sup> of bidistilled water. The prepared samples were stored at -25 °C until being analyzed. In case of the analysis of dairy products, they were homogenized with distilled water so that the dry matter content of the obtained mixture similarly to milk is between 12–15%. Subsequently, the completely milk-like homogenized samples were treated as they had been milk samples.

#### *2.1.4.2. Analytical methods, instruments, chemicals*

For the determination of free amino acid and free D-amino acid content derivatization and analysis were carried out using a Merck-Hitachi LaChrom HPLC apparatus. Chemicals used for sample preparation, derivatization and analysis were reagents of analytical grade. For the determination of free amino acids precolumn derivatization was carried out with o-phthaldialdehyde (OPA) and 2-mercaptoethanol (MeOH). Separation of free amino acids was carried out on a reversed-phase (LiChrospher 100 Rp-18, 125 × 4 mm, 4 μm) analytical column. The formed derivatives were detected using a fluorescence detector (excitation wavelength: 325 nm, emission wavelength: 420 nm).

For the determination of free D-amino acids from the amino acid enantiomers diastereomer pairs were formed with o-phthaldialdehyde (OPA) and 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranoside (TATG). The separation of the enantiomers was carried out on a reversed-phase (Superspher 60 RP-8, 125×4 mm, 4 μm) analytical column. Detection was carried out using a fluorescence detector.

## **2.2. Comparison of the different pasteurization procedures**

### ***2.2.1. Milk samples examined, pasteurization procedures***

The examined raw milk was obtained from another dairy company in Hargita county. The normal (mildly) pasteurized milk was obtained by a heat treatment at 72 °C for 40 sec. In case of microwave pasteurized milk samples the milk was pre-heated to 63 °C in a plate heat-exchanger, and was heated to 68 °C by treatment with microwave of 2.45 GHz frequency and of a wavelength of 12.2 cm, and was kept at this temperature for 40 sec. The experimental pasteurization equipment consisted of three ALASCA household microwave ovens that were connected into cascade so that the microwave pasteurization equipment worked with a capacity of 200 l/h. The experiments were repeated three times, and the three milk samples from each experiment were analysed.

### ***2.2.2. Sample preparation and analysis***

#### ***2.2.2.1. Determination of the amino acid content of the milk samples***

After a sample preparation similar to as described in Chapter 2.1.4. the analytical measurement was carried out at the Department of Food Science of the Sapientia Hungarian University of Science of Transylvania, in Csíkszereda. During the determination of the free amino acid and free D-amino acid content, derivatization and the analysis were performed using a Varian Pro Star HPLC apparatus applying the derivatization methods described in Chapter 2.1.4.

During the determination of the total amount of amino acids, the crude protein content was determined by the Kjeldahl method (Hungarian Feeding Stuff Codex (1991) Chapter 6.1.).

After hydrolysis of the proteins the amino acid analysis was carried out using an INGOS AAA400 amino acid analyzer, on an Ostion Lg ANB ion-exchange resin (column: 35 cm x 0,37 cm), with sodium citrate buffers and precolumn derivatization of the amino acids with ninhydrin.

#### *2.2.2.2. Determination of the vitamin content of the milk samples*

After appropriate preparation of the samples, the separation of vitamins C and B was carried out on a reversed-phase (150x4 mm id) Supercosil (C18) LC column with a Varian ProStar HPLC, for determination of vitamins B with a 50:50% mixture of methanol and phosphate buffer, for determination of vitamin C using a 10:90% mixture of acetonitrile and acetic acid (0.4%) with isocratic analysis.

#### *2.2.2.3. Determination of the HMF content of the milk samples*

HMF was determined using a Varian Pro Star HPLC apparatus, on a Supelcosil LC-C18 reversed-phase analytical column (150x4.6 mm id) and a Pro Star 320 UV-VIS detector. A two-component eluent (a 5:95% mixture of acetonitrile and water) was used. HMF was detected at 284 nm.

#### *2.2.2.4. Determination of the utilizable lysine content*

The determination was carried out after a derivatization with 2,4-dinitro-1-fluorobenzene (DNFB) using the INGOS AAA automatic amino acid analyzer. The total lysine content of the sample was determined from the sample not treated with DNFB, the amount of the utilizable lysine was calculated from the difference of the two analyses.

#### *2.2.2.5. Determination of the lysinoalanine content*

The determination of the lysinoalanine was carried out as described earlier for the total amino acid determination, using the INGOS AAA amino acid analyzer.

### **2.3. Statistical analysis**

The results were evaluated using SPSS for Windows 17.0 (SPSS Inc., 2009) statistical software. In order to decide whether there is a statistically verifiable difference in the composition of the raw milk, milk samples with different total germ numbers, dairy products produced from them, correlation and regression analysis was carried out. The difference between total amino acid, free amino acid and free D-amino acid content of the differently treated milk samples was examined by two-sample t-test.

### 3. RESULTS AND THEIR EVALUATION

#### **3.1. The effect of the total germ number on the total free and free D-amino acid content of milk**

In the first phase of our experiments we examined the effect of the total germ number on the total free and free D-amino acid content of milk. Out of the amino acids we focused on aspartic acid, glutamic acid and alanine since the D-enantiomers of these three amino acids occur in the highest amount in milk. In 2006 the total CFU of milk samples obtained from the dairy company varied between 1.23–2.95 million, while in 2007 between 220–390 thousand.

In the range of total CFU of 100–390 thousand the concentration of both the L and D enantiomers increased somewhat. No important changes happened in the CFU range between 390 thousand and 1.23 million, in fact not even in the CFU range of  $1.23 \cdot 10^6$  and  $1.53 \cdot 10^6$  where neither the amount of the free L amino acids nor the amount of the free D-amino acids showed essential changes, although both the concentration of the free L and D amino acids and the proportion of the D amino acids increased continuously in the function of the total germ number. This minimal change continued up to the total CFU of  $2.20 \cdot 10^6$  where there was an almost explosion-like increase in both the amount of the total free amino acids and the amount of the free D-amino acids, and this increase, and this increase applied also to the proportions of the D-amino acids within the total free amino acids. It appears therefore that up to a CFU of 1.5–1.6 million there are no considerable changes in the free amino acid and free D-amino acid content of the milk. After this period, however, the increase is fast.

Summarized it can be said that for each free amino acid we examined, the concentration of both the free D-amino acids and the L-amino acids increase, but the increase of the D-amino acids is relatively bigger since this ratio increased in case of aspartic acid compared to the control milk up to CFU of  $2.95 \cdot 10^6$  this ratio increased from 11.11% to 21.97%, in case of glutamic acid from 5.23% to 25.30%, and in case of alanine from 11.85% to 33.37%.

### **3.2. The effect of the total germ number of milk on the composition of the dairy products**

In the next phase of our researches we examined how the increased amount of the free D- and L-amino acids affected the composition of the dairy products. Knowing the relationship between the total germ number of the milk raw material and the concentration of the D-amino acid it can be assumed that the milk raw material can affect the composition of the dairy product produced from it. In order to prove this hypothesis we examined the composition of 10 Sana produced from milks with different germ numbers, 10 Dalia, 3 Telemea, 2 cow's curd, and 1 yoghurt.

#### ***3.2.1. Changes in the composition of Sana in the function of total CFU of the milk raw material***

In the total CFU range of 220–390 thousand 6, in the total CFU range of 1.23–2.95 million 4 Sana were analyzed that were produced from milks with total CFU of 1.23; 1.35; 1.53 and 2.95 million. It was established that with increasing total germ number of the milk raw material in case of all the three amino acids the amount of both the D- and L-enantiomer also increases and this increase becomes considerable after total CFU of  $1.53 \cdot 10^6$ , as the Sana produced from the milk with total CFU of almost 3

million contains the highest amount of L- and D-amino acids. We did not experience essential changes within the individual amino acids regarding the D- and L-ratios. The ratio of the D-glutamic acid is the lowest within the total free amino acids with 24–25%, followed by D-aspartic acid with 30–32%, and D-alanine with almost 40%.

### ***3.2.2. Changes in the composition of Dalia in the function of total CFU of the milk raw material***

We could analyze in the total CFU range of 220–390 thousand 6 and in the total CFU range of 1.25–2.91 million 4 Dalia cheeses. We established that in the case of Dalia the changes are even less than those measured for Sana. For the Dalia cheeses produced from milk with total CFU of 220–2912 thousand the amount of L-aspartic acid varied between 12.55–16.75 mg/100 g, the amount of D-aspartic acid between 5.26–6.32 mg/100 g. The amount of both enantiomers increased somewhat with the increase of the total germ number resulting in a practically unchanged ratio of D-aspartic acid being between 29.42–30.16%. The amount of L-glutamic acid varied between 38.40–48.25 mg/100 g in the examined period, while the amount of the D-glutamic acid varied between 11.64–13.52 mg/100 g with practically unchanged ratio of D-glutamic acid (ranged between 22.66–24.62%). The L-alanine content of the Dalia cheese produced from the milk of total CFU of 220 thousand was 18.45 mg/100 g, which increased to 27.35 mg/kg with the increase of the total germ number. In the same period the amount of the D-alanine increased from 12.30 mg/100 g to 17.80 mg/100 g with practically unchanged ratio of D-alanine varying between 39.99–41.21%.

### ***3.2.3. Changes in the composition of Telemea and cow's curd in the function of total CFU of the milk raw material***

In case of Telemea we analyzed products produced from milks with total CFU of 1.32; 1.66 and 2.20 million. In this total CFU range except L-glutamic acid we obtained an increase for each amino acid and enantiomer. However, as the total CFU range was not wide enough, we could not draw a definite conclusion similar to those for the previous two dairy products from our examinations. In the examined total CFU range the amount of L-aspartic acid varied between 0.86–1.50 and that of D-aspartic acid between 0.39–0.61 mg/100 g, the amount of L-glutamic acid between 3.06–3.49, that of D-glutamic acid between 0.75–0.94 mg/100 g, the amount of L-alanine between 1.69–1.97, and that of D-alanine between 1.07–1.35 mg/100 g. Similarly to the previously examined two materials we found the percentage ratio of D-glutamic acid to be the lowest with 19.73–22.54%, the proportion of D-aspartic acid ranged between 28.99–31.14%, and that of D-alanine between 38.81–40.60%. It appears therefore that in the examined range in case of Telemea there is only a slight relation between the total germ number of the milk raw material and the produced dairy products.

### ***3.2.4. The relationship between the ripening time and D-amino acid content***

By the examination of the relationship between the quality of dairy products produced from milk raw materials of different total germ numbers and the total germ number we established that the percentage of the D-amino acids within the total free amino acids was not affected either by the total germ number of the milk raw material or the kind of dairy product. The proportion of D-aspartic acid is around 30% for most



of the examined dairy products, although this proportion for Sana and the cow's curd is a little higher, for the Dalia a little lower. The percentage of D-glutamic acid varies between 18–27%, which is higher for Sana than in case of Dalia, the lowest is for Telemea. The proportion of D-alanine is around 40% for each dairy product independently of the germ number of the milk. Within the examined three amino acids the proportion of D-glutamic acid is the lowest, that of D-alanine is the highest, while D-aspartic acid exhibits a medium value nearer to D-glutamic acid.

For fresh dairy products and for those matured for a short time (Sana, Telemea) a relationship can be established between total germ number and D-amino acid content and this relation applies in most cases also to the L-enantiomers. Despite the fact that total germ number has a substantial effect on the concentration of both enantiomers, ratio of the enantiomers is not affected by the total germ number. For those dairy products, however, which are ripened over a longer time (Dalia) and for those where amino acid production capability of microbial cultures significantly exceeds production of microorganisms originally present in the milk raw material no effect of the milk raw material can be expected, thus, free amino acid and free D-amino acid content of the milk products seem to be independent of the composition of the milk raw material.

### **3.3. Changes in the composition of milk with high total CFU due to different heat treatments**

#### ***3.3.1. Total amino acid content of the milk samples***

The amount of the essential amino acids was measured to be equal independently of whether in case of untreated raw milk or milk heat treated in different way. No difference was found in the cistine content that is sensitive to oxidation, ranging between 0.021 and 0.023%, in the

methionine content that varied between 0.090 and 0.097%. Similarly, there was a minimal difference in the to the heat treatment very sensitive threonine (0.118–0.124%) and tyrosine (0.127–0.132%) content. The lysine content in the three milk samples varied between 0.223–0.236%. Similar to the essential amino acids no change was experienced also in the case of the non-essential amino acids due to the heat treatment.

From our examinations we can conclude that the two heat treatments we applied practically did not cause any changes in the amino acid content regarding either the essential or the non-essential amino acids.

### ***3.3.2. Amino acid composition and biological value of the protein***

As the amino acid composition hardly changed due to the different treatments and the sum of the amino acids nearly gave the crude protein content for all of the three samples, therefore we could not find any differences even in the amino acid composition of the protein between the three milk samples. Calculating the biological value of milk protein according to Morup and Olesen (1976) 81.2 was obtained for the control milk sample, 80.9 for the conventionally pasteurized milk, while 80.8 for the microwave pasteurized milk. The results prove that the applied heat treatment had no effect at all on the biological value of the milk protein.

### ***3.3.3. Free amino acid content of the milk samples***

**Total free amino acid content of the milk samples.** Total free amino acid content of the raw milk was measured to be 20.67 mg/100 g milk, which value reduced to 8.02 mg amino acid/100 g milk for the traditionally pasteurized milk, whereas to 8.96 mg amino acid/100 g milk for the microwave pasteurized milk. The amount of phenylalanine, histidine, leucine, lysine, methionine, valine, aspartic acid, proline and

tyrosine decreased considerably, while that of isoleucine, threonine, alanine, arginine, cystine decreased to a less extent, while some increase was obtained for glycine and serine.

The huge decrease observed in the amount of the free amino acids can be due to the technological intervention only. It is possible that as the free amino acids are significantly more reactive than those bound in the peptide chain, therefore they reacted with the milk sugar during the heat treatment resulting in Maillard reaction products. It is supported by the fact that we experienced a decrease of 4–5% in the utilizable lysine content due to the heat treatment, and we assume that this is the result of the transformation of the free lysine. The other possibility may be that the whey proteins coagulated during the heat treatment could absorb the free amino acids on their surface, and this binding is so strong that we could not remove the free amino acids from the surface in the course of the determination.

Summarized it can be established that we obtained a considerable difference regarding the free amino acids between the raw milk and the milk samples heat treated in different ways, however, we could not distinguish between the two heat treatments as to the free amino acids.

**Free D-amino acid content of the milk samples.** In the course of the examination of the free D-amino acids we could detect D-aspartic acid, D-glutamic acid and D-alanine in the milk samples. We established that due to the different heat treatments the amount of the D-amino acids practically did not change. It can be concluded therefore that during the pasteurization with the applied temperature and time combinations did not change the D-amino acid content of the raw milk, and in this respect between the two heat treatment procedures cannot be distinguished.

#### ***3.3.4. Vitamin B and C content of milk***

Vitamin C content of the raw milk was measured to be 22.71 mg/l which reduced during the normal pasteurization to 22.11 mg/l, and during the microwave pasteurization to 6.25 mg/l, that is, due to mild pasteurization the vitamin C content hardly changed, however, during the microwave pasteurization it reduced to less than its one-third. In the case of vitamin B<sub>1</sub> a decrease of 30–40% can be calculated with, however, for the other three vitamins a reduction of approx. 10% can be expected during the heat treatment. Vitamin B content of milk pasteurized by the two methods can be considered practically as identical. It can be stated therefore, that in the respect of the vitamin B content the normal and the microwave pasteurized milk can be considered as equal, however, during the microwave pasteurization a considerable deterioration of vitamin C must be calculated with.

#### ***3.3.5. Hydroxymethyl furfural content of milk***

The raw milk, the conventionally pasteurized and microwave pasteurized milk did not contain HMF even in traces, thus, in this respect the two pasteurization procedures can be regarded as equal.

#### ***3.3.6. Utilizable lysine and lysinoalanine content of milk***

In the course of the measurement of the lysinoalanine content no lysinoalanine could be detected above the level of the sensitivity of the measurement either in the raw milk or in the two heat-treated milk samples. For all three samples the lysinoalanine content remained below 5 mg/ dm<sup>3</sup> therefore neither threonine (perhaps serine) that is very sensitive to heat treatment, nor cysteine and cystine that are sensitive to

heat treatment and oxidation, decomposed considerably, as these two amino acids are the main precursors of lysinoalanine.

Utilizable lysine content of the raw milk was measured to be 0.229%, that of the conventionally pasteurized milk to be 0.217%, whereas that of microwave pasteurized milk to be 0.219% thus during the two kinds of heat treatment we applied an around 4–5% decrease in the utilizable lysine content can be observed, and in this respect the two heat treatment methods can be considered as equal.

## 4. CONCLUSIONS, SUGGESTIONS

### **4.1. The effect of the total germ number on the total free and free D-amino acid content of milk**

Our experiments proved that even the milk of low total germ number contains in minimal amount D-amino acid, in the first place D-aspartic acid, D-glutamic acid and D-alanine. With the increase of the germ number the concentration of both the L- and D-amino acids increased and the increase is gradual up to the range of 1.5–2.0 millions, then suddenly the amount of both the free amino acids and the free D-amino acids rises and within the amino acids also the proportion of the D-amino acids shows a definite increase. At the highest germ number the amount of the free aspartic acid exceeds 1.8, that of glutamic acid 6.0, and that of alanine 7.2 mg/100 g. In the examined range the proportion of D-aspartic acid increased from 11% to 22%, that of glutamic acid from 5% to 25%, and that of alanine from 12% to 33%. The increase is more significant for the D-amino acids which results in the increase of the ratio of the D-amino acids within the total amino acids.

### **4.2. The effect of the total germ number of milk on the composition of the dairy products**

Both enantiomers of all three amino acids examined (aspartic acid, glutamic acid, alanine) of Sana produced from milk with total CFU of 220–390 thousand increased somewhat in the function of the germ number. The increase took place in the similar manner for both enantiomers, therefore the ratios did not change practically in the examined period. In the range of 1.23–2.95 million CFU in case of all the

three amino acids the amount of both the D- and the L-enantiomer, which increase became significant after 1.5 million CFU and the L-amino acid content of Sana produced from a milk of almost three million CFU is 2–3 times higher than that of the product produced from the milk with lower germ number, and the same can be said about the amount of the D-amino acids, therefore in this range no essential change was experienced as to the ratio of D- and L-amino acids. D-glutamic acid represented around 25%, D-aspartic acid 32% and D-alanine around 40% within the total amino acids. We established that up to a CFU of around 500 thousand no considerable increase of the free amino acid content must be reckoned with, however, in the case of a CFU of an order of magnitude of a million the amount of both the L- and D-amino acids can be significantly higher compared to the products made from milk with lower CFU.

Regarding the analysis of the Dalia cheese we established that in the CFU range examined the amount of the L-amino acids hardly showed a change and the same can be said about the amount of the three D-amino acids we examined. Summarized it can be said that in case of the Dalia cheese the changes are quite minimal in the function of the germ number. The proportion of D-glutamic acid ranged between 21.85–24.62%, that of D-aspartic acid between 27.11–29.42%, and that of D-alanine between 39.43–41.85%.

Examining the total free amino acid and free D-amino acid content of Telemea and the curd – except L-glutamic acid – for each amino acid and each enantiomer we obtained an increase but since the total germ number range was not wide enough a definite conclusion could not be drawn on the effect of the germ number.

It was established that for fresh dairy products and for those are matured for a short time (Sana, Telemea) with the increase of the total

germ number the amount of both the D- and the L-enantiomers increased, but the ratio of the enantiomers is not affected by the total germ number. For those dairy products, however, which are ripened over a longer time (Dalia) and for those where the amino acid production capability of microbial cultures significantly exceeds the amount produced by the microorganisms originally present in the milk raw material, no effect of the milk raw material can be expected, thus, the free amino acid and free D-amino acid content of these milk products seem to be independent of the composition of the milk raw material.

#### **4.3. Changes in the composition of milk with high total CFU due to different heat treatments**

We established that due to the microwave pasteurization the amino acid composition and the from this calculated biological value of the milk protein are practically identical with those of the original raw milk. The total free amino acid content of the raw milk reduces to around 40–45% which can be explained by changes taking place during the pasteurization. According to our hypotheses the free amino acids were either utilized in the Maillard reaction or bonded by the coagulated whey proteins during the heat treatment. Between the heat treatment methods, however, we could not make a difference regarding the free amino acids. We established that the temperature and keeping at the temperature applied during the two kinds of pasteurization did not cause an increase of the D-amino acids.

In the case of the vitamin B<sub>1</sub> a loss of around 30–40% was obtained, and for the other vitamins B around a loss of 10% for both heat treatment processes. We experienced a considerable loss during the microwave pasteurization in the case of vitamin C that in the mildly



pasteurized milk hardly changed compared to the raw milk, whereas in the microwave pasteurized milk reduced to around its one-third. Examining the hydroxymethyl furfural, utilizable lysine and lysinoalanine content of milk we obtained only a minimal difference for both pasteurization procedures compared to the raw milk, and between the two procedures in the respect of these components we could not establish any difference.

## 5. NEW SCIENTIFIC RESULTS

– We established that with the increase of the germ number of milk the concentration of both the free L- and the free D-amino acids increases. The increase in the range of 50-400 thousand is minimal, then up to 1.5 million total CFU continuously increases, after 1.5–2.0 million CFU the concentration of both the free amino acids and the free D-amino acids increases, and beyond the increase of the total quantity with increasing germ number the proportion of the D-amino acids increases.

– We established that for fresh dairy products and for those matured for a short time with the increase of the total germ number of the milk raw material the amount of both the D- and L-amino acid enantiomers increases, the ratio of the enantiomers is not affected by the total germ number, however. For dairy products ripened over a longer time due to the amino acid production of the applied pure cultures, the total germ number of the milk raw material has no effect on the free amino acid and free D-amino acid content of the dairy products.

– The microwave pasteurization similarly to the traditional pasteurization does not change the amino acid composition and biological value of the milk protein, reduces the free amino acid content of milk, has no effect on the free D-amino acid content of milk, does not cause considerable amount of hydroxymethyl furfural and lysinoalanine formation, and does not reduce the utilizable lysine content. It decreases by around 10–40% the vitamin B content and results in substantial deterioration of vitamin C compared to the traditional, mildly performed pasteurization.

## 6. SCIENTIFIC PAPERS AND PRESENTATIONS ON THE SUBJECT OF THE DISSERTATION

### Articles in Hungarian:

13. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Salamon R.: Különböző technológiával készült sajtok összes szabad és szabad D-aminosav-tartalma. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2005. 9. 2. 61-71. p.
14. Pohn G. – Albert Cs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *In: Tejgazdaság*. 2006. 65. 40-45. p.
15. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej mikroorganizmusainak hatása tej és tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*, 2007. 11. 3. 1-13. p.
16. Csapó J. – Albert Cs. – Lányi Sz. – Salamon Sz. – Csapóné Kiss Zs.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére I. Aminosav-összetétel, szabadaminosav-tartalom, biológiai érték. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2008. 12. 3. 11-24.
17. Albert Cs. – Lányi Sz. Csapóné Kiss Zs. – Salamon Sz. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére II. B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>-, B<sub>12</sub>- és C-vitamin-, hasznosítható lizin-, lizinoalanin-, hidroximetil-furfurol-tartalom. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2008. 12. 3. 25-36.
18. Albert Cs. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej aminosav-összetételére, szabadaminosav-tartalmára, biológiai értékére, B- és C-vitamin-, hasznosítható lizin-, lizinoalanin- és hidroximetil-furfurol-tartalmára. *In: Tejgazdaság*. 2008. 68. 1-2. 93-106.

### Articles in foreign languages

21. Csapó, J. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs.: Separation and determination of the amino acids by ion exchange column chromatography applying post-column derivatization. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2005. 9. 2. 33-51. p.
22. Albert, Cs. – Sára, P. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol containing amino acid enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 349-354. p.
23. Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 187-192. p.

24. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: The influence of manufacture on the free D-amino acid content of Cheddar cheese. *In: Amino Acids*. 2007. 32. 1. 39-44. p.
25. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on the D-amino acid content of milk. *In: Krmiva*. 2007. 49. 1. 15-21.p.
26. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number in raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: Krmiva*. 2007. 49. 1. 29-35. p.
27. Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Mándoki, Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: Agriculture*. 2007. 13. 1. 192-196. p.
28. Csapó, J. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs.: The D-amino acid content of foodstuffs. (A Review). *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 5-30.
29. Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Influence of mastitis on D-amino acid content of milk. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 31-43.
30. Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid contents of various dairy products. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 45-53.

### **Full conference papers in proceedings**

33. Albert, Cs. – Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid as hydrolysis reagent of the protein and derivatization reagent of amino acids during high performance liquid chromatographic analysis. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 35-38. p.
34. Csapó, J. – Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs.: Special chromatographic methods for amino acid analysis. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 28-34. p.
35. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The determination of the amount of protein of bacterial origin on the basis of D-amino acid content. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 129-132. p.
36. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Changes in the free D-amino acid content of Cheddar during cheesemaking process. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science Proceedings*. Szeged, 2006. ápr. 20. 1-5. p. [CD-ROM].

37. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Albert Cs. – Lóki K. – Vargáné Visi É.: Takarmányok D-aminosav-tartalmának meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszerekkel. In: *VI. Takarmányanalitikai Konferencia*. Keszthely, 2006. jún. 29. 4-5. p.
38. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22. 1-6. p.
39. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. In: *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27. 221-226. p.
40. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27. 227-232. p.
41. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Tamás M. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 21-24.
42. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Tamás, M. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 81-84.
43. Mándoki Zs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert Cs. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. In: *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. nov. 8-11. 63-67. p.
44. Albert Cs. – Pohn G. – Mándoki Zs. – Lóki K. – Csapó J.: Különböző összcsíraszámú tejből készült tej és tejtermékek összetétele, különös tekintettel a D-aminosavakra. *XXXII. Óvári Tudományos Nap*. Mosonmagyaróvár, 2008. október 9. [CD-kiadvány, 5 oldal].
45. Véha, A. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *International Conference on Science and Technique in the Agri-Food Business. ICoSTAF 2008*. Szeged, 2008. nov. 5-6. 102-108. p.
46. Albert Cs. – Lányi Sz. – Salamon Sz. – Lóki K. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére. I. Aminosav-összetétel, szabadaminosav-tartalom, biológiai érték. *14<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2008. nov. 13-15. 32-34. p.

47. Albert Cs. – Kovács E. – Lányi Sz. – Csapóné Kiss Zs. – Salamon Sz. – Csapó J.: A mikrohullámú pasztörözés hatása a tej összetételére. II. B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>-, B<sub>12</sub>- és C-vitamin-, hasznosítható lizin-, lizinoalanin-, hidroximetil-furfurol-tartalom. *14<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2008. nov. 13-15. 35-38. p.
48. Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evoluția conținutului de aminoacizi, de aminoacizi liberi, și a valorii biologice a laptelui în procesul pasteurizării clasice și cu microunde. *Zilele Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului Ed. a V-a*. Iași, 2008. nov. 19-21. 332-335. p.

### Abstracts in proceedings

25. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Changes in the free D-amino acid content of Cheddar during cheesemaking process. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science*. Szeged, 2006. ápr. 20. 122. p.
26. Vargáné Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: A Cheddar sajt szabad D-aminosav-tartalmának alakulása a gyártás során. *In: VII. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2006. ápr. 20. 121. p.
27. Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Bíró, M. – Salamon, Sz. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: The separation and determination of the enantiomers of sulphur containing amino acids after performic acid oxidation with high performance liquid chromatography. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 110. p.
28. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapó, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid contents of milk. *In: KRMIVA 14<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2007. jún. 11-14. 95. p.
29. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *In: KRMIVA 14<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2007. jún. 11-14. 96. p.
30. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various dairy products. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 12. p.
31. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid content of milk. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 14. p.
32. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid content of milk. *In: 58<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Dublin, Ireland, 2007. aug. 26-29. 204. p.

33. Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Pohn, G. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid contents of various dairy products. *In: 58<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Dublin, Ireland, 2007. aug. 26-29. 205. p
34. Pohn, G. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Albert, B. – Salamon, Sz. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid content of milk and various dairy products. *In: 15<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Osijek, 2007. szept. 19-21. P-8.
35. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Tamás, M. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various milk products. *In: Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*. Sinaia, Romania, 2007. szept. 19-22. S-2-28.
36. Albert, Cs. – Csapó, J. – Pohn, G. – Mándoki, Zs. – Csapó-Kiss, Zs.: The effect of microwave pasteurization on the amino acid compositions, free amino acid content, biological value, vitamin B- and C-, utilizable lysine-, lysino-alanine-, and hidroximethyl furfurol content of milk. *KRMIVA 2009. 16<sup>th</sup> International Conference*. Opatija, 2009. jún. 1-3. 68. p.

### **Presentations**

5. Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Sára P. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22.
6. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Mándoki Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. ápr. 25-27.

## 7. SCIENTIFIC PAPERS AND PRESENTATIONS OUT OF THE SUBJECT OF THE DISSERTATION

### Books and lecture notes

7. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs. – Varga-Visi, É.: Quantitative determination of the protein of bacterial origin based on D-amino acid content. *In: D-amino acids: a new frontier in amino acid and protein research.* (Ed.: Ryuichi, Konno) 2006. 123-133. p.
8. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Albert Cs. – Salamon Sz.: Élelmiszerfehérjék minősítése. Kolozsvár: Scientia Kiadó, 2007. 1-506.
9. Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Albert Cs.: Élelmiszeranalitika. Kolozsvár: Scientia Kiadó, 2007. 1-400. p.

### Articles in Hungarian

13. Salamon R. – Csapó J. – Vargáné Visi É. – Csapóné Kiss Zs. – Altorjai A. – Györi Z. – Sára P. – Lóki K. – Albert Cs.: A tej zsírsavösszetételének és konjugált linolsavtartalmának változása az évszakok szerint. *In: Acta Agraria Kaposváriensis.* 2005. 3. 1-15. p.
14. Albert Cs. – Salamon R. – Csapó J.: Fosszilis anyagok korának meghatározása az aminosavak átalakulása és racemizációja alapján. *In: Csíki Székely Múzeum Periodikája.* 2006. 415-438. p.
15. Albert Cs. – Salamon Sz. – Darvas L. – Kovács J. – Salamon R. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: Egy magyarországi és egy erdélyi gyapjas mamut korának meghatározása az aminosavak racemizációja alapján. *In: Csíki Székely Múzeum Periodikája.* 2007. 359-372. p.
16. Albert Cs. – Lóki K. – Bíró M. – Salamon Sz. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A miccs aminosav-összetételének változása különböző idejű és hőmérsékletű hőkezelés hatására. *In: Műszaki Szemle. Kémia szám.* 2007. 39-40. 5-7. p.
17. Lóki K. – Albert Cs. – Vargáné Visi É. – Bíró M. – Salamon Sz. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A szabad és fehérjében kötött triptofán-enantiomerek meghatározása különböző hidrolízismódszerek alkalmazásával. *In: Műszaki Szemle. Kémia szám.* 2007. 39-40. 35-39. p.
18. Csapó J. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Darvas L. – Kovács J. – Salamon R.V. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs.: Az aminosavak racemizációján alapuló korbecslés alkalmazása egy magyarországi és egy erdélyi mamutcsont és -agyar korának meghatározására. *In: Somogyi Múzeumok Közleményei.* 2008. 18. 139-146.



### Articles in foreign languages

39. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 341-348. p.
40. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Analysis of the racemization of the tryptophan. *In: Chromatographia*. 2006. 63. 101-104. p.
41. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Agraria Kaposváriensis*. 2006. 10. 2. 341-348. p.
42. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 181-186. p.
43. Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *In: Krmiva*. 2006. 48. 4. 201-205. p.
44. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Salamon, Sz.: The influence of the extrusion on the racemization of the amino acids. *In: Amino Acids*. 2007. [Published online January 25, 2007. Springer Verlag 2007].
45. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Salamon, Sz.: The influence of the extrusion on the racemization of the amino acids. *In: Amino Acids*. 2007. 34. 2. 287-292.
46. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó-Kiss, Zs.: Separation and determination of the amino acids by ion exchange column chromatography applying postcolumn derivatization. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 5-30.
47. Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Albert, Cs. – Lóki, K.: Hydrolysis of proteins performed at high temperatures and for short times with reduced racemization, in order to determine the enantiomers of D- and L-amino acids. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 31-48.
48. Csapó, J. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid as the reductive thiol-containing reagent employed for the derivatization of amino acids with o-phthalaldehyde analysis. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 49-60.
49. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 61-72.
50. Albert, Cs. – Lóki, K. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol-containing amino acid. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 73-80.

51. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó-Kiss, Zs.: Quantitative determination of the protein of bacterial origin based on D-amino acid contents. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 81-98.
52. Csapó, J. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Csapó-Kiss, Zs.: Rapid method for the determination of diaminopimelic acid using ion exchange chromatography. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 99-108.
53. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Pohn, G.: Age determination based on amino acid racemization: a new possibility. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2008. 1. 109-118.
54. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of manufacture on the free D-amino acid content of Cheddar cheese. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 55-64.
55. Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of extrusion on loss of and racemization of amino acids. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 65-79.
56. Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó, J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *In: Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*. 2009. 2. 1. 111-117.
57. Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Mándoki, Zs. – Csapó, J.: The effect of thermic treatment conditions on the amino acid composition of soybean and maize. *In: Krmiva*. 2009. 51. 139-144.

### **Full conference papers in proceedings**

25. Csapó J. – Lóki K. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Lányi Sz. – Albert Cs.: Csíkszereda környéki forrásvizek makro- és mikroelem-tartalma. *In: Mineral Waters in the Carpatian Basin. 2<sup>nd</sup> International Scientific Conference*. Miercurea Ciuc, 2005. júl. 29-30. 99-110. p.
26. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Csapó, J.: Different hydrolysis methods in order to determine the tryptophan content of proteins. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, 2005. nov. 11-13. 125-128. p.
27. Salamon, R. – Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Csapóné Kiss, Zs. – Altorjai, A. – Györi, Z. – Boros-Györi, A. – Sára, P. – Albert, Cs.: Changes in fatty acid and conjugated linoleic acid content of milk according to season. *In: 11<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj, Romania, 2005. nov. 11-13. 308-311. p.
28. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Application of sulphonic acid hydrolysis methods in order to determine the racemization of tryptophan. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science Proceedings*. Szeged, 2006. ápr. 20. 1-6. p. [CD-ROM].

29. Lóki K. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Csapó J.: Szulfonsavas hidrolízis módszerek a fehérje triptofántartalma racemizációjának mérésére. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 65-68. p.
30. Albert Cs. – Lóki K. – Vargáné Visi É. – Csapó J.: A kéntartalmú aminosav-enantiomerek mennyiségének meghatározása. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 69-72. p.
31. Vargáné Visi É. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapó J.: Különböző hőmérsékleteken végzett technológiai műveletek hatása élelmiszer- és takarmányfehérjék aminosavainak racemizációjára. *In: Műszaki Kémiai Napok '06.* Veszprém, 2006. ápr. 25-27. 87-90. p.
32. Csapó, J. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs.: Spectrophotometric methods for the determination of the micro- and macroelements of mineral waters with special regards of microelements. *In: Mineral Waters in the Carpatian Basin. 3<sup>rd</sup> International Scientific Conference.* Miercurea Ciuc, 2006. júl. 27-29. 59-70. p.
33. Csapó J. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapóné Kiss Zs.: Új nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiai módszerek a kéntartalmú aminosavak és a triptofán enantiomereinek meghatározására. *In: XXXI. Óvári Tudományos Nap.* Mosonmagyaróvár, 2006. okt. 5. 90-91. p.
34. Lóki K. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapó J.: A fehérje triptofán enantiomereinek elválasztása és meghatározása. *In: XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum.* Keszthely, 2007. márc. 22. 1-5. p.
35. Lóki K. – Mándoki Zs. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert, B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A para-toluol-szulfonsav, mint fehérjék hidrolízisére alkalmas reagens a triptofán-enantiomerek szempontjából. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry.* Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 59-62.
36. Mándoki Zs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert Cs. – Albert B. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: Szeleno-aminosavak meghatározása ioncserés oszlopkromatográfiával és nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. *13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry.* Cluj Napoca, 2007. November 8-11. 63-67.

### **Abstracts in proceedings**

55. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Racemization of tryptophan of food protein influenced by different technologies. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids.* Vienna, 2005. aug. 8-12. *In: Amino Acids.* 2005. 29. 61. p.
56. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid hydrolysis of protein in order to determine the tryptophan content. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids.* Vienna, 2005. aug. 8-12. *In: Amino Acids.* 2005. 29. 45. p.

57. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs.: Influence of a thermic treatment on the D-amino acid content of corn. *9<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids*. Vienna, 2005. aug. 8-12. *In: Amino Acids*. 2005. 29. 34. p.
58. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Determination of the tryptophan content by mercaptoethanesulphonic acid hydrolysis of protein. *In: 6<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2005. szept. 7-9. 10. p.
59. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Lóki, K. – Albert, Cs.: Influence of different technologies for racemization of tryptophan of food protein. *In: 6<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2005. szept. 7-9. 78. p.
60. Csapó J. – Vargáné Visi É. – Lóki K. – Albert Cs.: A kéntartalmú aminosavak és a triptofán enantiomereinek szétválasztása és meghatározása. *In: Központi Élelmiszertudományi Kutatóintézet 323. Kollokviuma*. Budapest, 2006. márc. 2. 6. p.
61. Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Csapó, J.: Application of sulphonic acid hydrolysis methods in order to determine the racemization of tryptophan. *In: 7<sup>th</sup> International Conference on Food Science*. Szeged, 2006. ápr. 20. 103. p.
62. Lóki K. – Vargáné Visi É. – Albert Cs. – Csapó J.: Szulfonsavas hidrolízis módszerek alkalmazása a triptofán racemizációjának vizsgálata során. *In: VII. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2006. ápr. 20. 102. p.
63. Varga-Visi É. – Lóki K. – Albert Cs. – Csapó J.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *In: KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 80. p.
64. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. *In: KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 113. p.
65. Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. *In: KRMIVA 2006. International Conference*. Opatija, 2006. jún. 5-8. 114. p.
66. Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapóné Kiss, Zs.: Evaluation of the inactivation of heat sensitive antinutritive factors in fullfat soybean. *In: 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 124. p.
67. Csapóné Kiss, Zs. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acid enantiomers by high performance liquid chromatography. *In: 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 169. p.

68. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: New possibilities for the determination of the tryptophan enantiomers. *In: 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, 2006. szept. 17-20. 169. p.
69. Albert, Cs. – Lóki, K. – Bíró, M. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: The changing of amino acid composition of miccs samples under the effect of heat-treating of different times and temperature. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 85. p.
70. Lóki, K. – Albert, Cs. – Varga-Visi, É. – Bíró, M. – Salamon, Sz. – Sára, P. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: The determination of free and protein bound tryptophan enantiomers by using different hydrolysis methods. *In: 12<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Miercurea Ciuc, 2006. okt. 3-8. 97. p.
71. Csapó, J. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Pohn, G. – Kovács, J. – Darvas, L. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs.: Age determination of two mammoths from Hungarian and Transylvanian regions based on amino acid racemization in tusk and bone. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 46. p.
72. Lóki, K. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Different acidic hydrolysis methods in order to determine the enantiomers of tryptophan. *10<sup>th</sup> International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. aug. 20-25. *In: Amino Acids*. 2007. 33. 49. p.
73. Mándoki, Zs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Albert, B. – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Determination of selenoamino acids by ion exchange column chromatography and by high performance liquid chromatography. *In: 7<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. szept. 5-7. P-81. 139. p.
74. Pohn, G. – Albert, Cs. – Albert, B. – Lóki, K. – Mándoki, Zs., – Csapóné Kiss, Zs. – Csapó, J.: Separation of amino acids with aliphatic side chain by RP-HPLC with eliminating of the disturbing effect of methionine by performic acid oxidation. *In: 7<sup>th</sup> Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. szept. 5-7. P-99. 157. p.
75. Pohn, G. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Albert, B. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid content of milk and various dairy products. *15<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Osijek, 2007. September 19-21. P-8.
76. Albert, Cs. – Lóki, K. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Sára, P. – Tamás, M. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of total germ number of raw milk on free amino acid and free D-amino acid content of various milk products. *Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*. Sinaia, Romania, 2007. Sept. 19-22. S-2-28.

77. Lóki K. – Mándoki Zs. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A para-toluol-szulfonsav, mint fehérjék hidrolízisére alkalmas reagens a triptofán-enantiomerek szempontjából. *In: 13<sup>th</sup> International Conference of Chemistry*. Cluj Napoca, 2007. nov. 8-11. 59-62. p.
78. Lóki, K. – Kalambura, S. – Mándoki, Zs. – Kricka, T. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: D-tryptophan contents of alkaline digested meat flours. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 89.
79. Mándoki, Zs. – Albert, Cs. – Pohn, G. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Separation and determination of selenoamino acids in foods and feeding stuffs by ion-exchange chromatography. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 90.
80. Mándoki, Zs. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Possibilities of liquid chromatographic determination of selenoamino acids and its food and feeding stuff analytical aspects. *Krmiva 2008. 15<sup>th</sup> International Conference*. Croatia, Opatija, 2008. jún. 2-5. 101.
81. Lóki, K. – Kalambura, S. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Csapó, J.: The influence of disposal technology obtained with alkaline treatments on D-amino acid content of slaughter waste. *In: Amino Acids*. Vienna, 2009. 37. 1. S92.

### **Presentations:**

7. Albert, Cs. – Sára, P. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Investigation of performic acid oxidation in case of thiol-containing amino acid enantiomers. *14<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Lillafüred, 2006. okt. 11-13.
8. Lóki, K. – Sára, P. – Varga-Visi, É. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó, J.: Separation and determination of the tryptophan enantiomers. *14<sup>th</sup> International Symposium "Animal Science Days"*. Lillafüred, 2006. okt. 11-13.
9. Lóki K. – Pohn G. – Albert Cs. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Csapó J.: A fehérje triptofán enantiomereinek elválasztása és meghatározása. *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22.