

KAPOSVÁRI EGYETEM
ÁLLATTUDOMÁNYI KAR
Kémiai-Biokémiai Tanszék

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

Témavezető:
DR. CSAPÓ JÁNOS
MTA doktora

**A TŐGYGYULLADÁS HATÁSA A TEJ
ÖSSZETÉTELÉRE KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A
D-AMINOSAV-TARTALOMRA**

Készítette:
POHN GABRIELLA

KAPOSVÁR
2008

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	4
1.1. Előzmények	4
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1. A tőgygyulladás kialakulását befolyásoló tényezők	6
2.1.1. Környezeti és technológiai tényezők	7
2.1.1.1. A makro- és mikroklíma, valamint az évszak hatása	8
2.1.1.2. A takarmány és a takarmányozás módjának hatása	9
2.1.1.3. A fejés hatása	12
2.1.2. Genetikai tényezők	14
2.1.2.1. A tőgy tulajdonságai	15
2.1.2.2. A tőgybimbó hossza, átmérője, elhelyezkedése és a tőgybimbócsatorna hossza	16
2.2. A tőgygyulladás kiváltására képes kórokozók	19
2.2.1. Fertőző kórokozók	19
2.2.2. Környezeti kórokozók	20
2.2.3. Átmeneti kórokozók	21
2.3. A tőgygyulladás által okozott gazdasági veszteségek	22
2.4. A D-aminosavak általános jellemzése	22
2.4.1. A D-aminosavak szerkezete	22
2.4.2. A D-aminosavak előfordulása	24
2.4.3. A D-aminosavak metabolizmusa	27
2.5. A baktériumok sejtfalának szerkezete	30
2.6. A tej összetételének megváltozása a tőgygyulladás hatására	32
2.6.1. A gyulladással járó tej ipari kihatásai	34
2.7. Vizsgálati eljárások a tőgygyulladás kimutatására	36
2.8. Következtetések a szakirodalmi adatok alapján	37
3. CÉLKITŰZÉSEK	39
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	40
4.1. Tejminták és a mintavétel körülményei	40
4.2. Mikrobiológiai vizsgálatok	42
4.3. Kémiai vizsgálatok	42
4.3.1. A tejminták előkészítése aminosav-analízisre	42
4.3.2. Készülékek és vegyszerek	43
4.3.3. A szabad D-aminosavak mennyiségének meghatározása	44
4.3.4. A szabad aminosavak mennyiségének meghatározása	45
4.4. Az adatok statisztikai értékelése	46

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	47
5.1. Az egészséges tehenek első kettő tejsugarának és az első tejsugarakat nem tartalmazó elegytejének szabad D-aminosav-tartalma.....	47
5.2. Az egészséges és a masztitiszes tehenektől fejt tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma.....	48
5.3. Különböző bakteriális eredetű tögygyulladásos tejminták szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma.....	59
5.3.1. A mikrobafajok hatása a D-aszparaginsav-, a D-glutaminsav- és a D-alanin-tartalomra	59
5.3.1.1. A mikrobafajok hatása a szabad D-aminosavak mennyiségére	60
5.3.1.2. A mikrobafajok hatása a szabad D-aminosavak arányára.....	61
5.3.2. A mikroorganizmus fajok hatása a szabadaminosav-tartalomra.....	63
5.3.2.1. A mikrobafajok hatása a szabad aminosavak mennyiségére	63
5.3.2.2. A mikrobafajok hatása a szabad aminosavak arányára.....	70
6. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	77
6.1. A tögygyulladás hatása a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára.....	77
6.2. A baktériumfajok hatása a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára.....	78
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	80
8. ÖSSZEFOGLALÁS.....	81
SUMMARY	84
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	87
10. IRODALOMJEGYZÉK.....	88
11. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK.....	97
12. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉN KÍVÜL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK.....	100
13. SZAKMAI ÖNÉLETRAJZ.....	109

1. BEVEZETÉS

1.1. Előzmények

A tejtermelő tehenek tőgygyulladására az összetett okú, ún. produkciós betegségek közé tartozik. A tehenek iparszerű tartási körülmények közötti tartása, a legelön tartás elhagyása, a nagy állatsűrűség, a gépi fejés alkalmazása és a magas tejtermelés anyagcserére gyakorolt hátrányos hatása következtében megnőtt az esélye, hogy a kórokozó képességgel bíró mikroorganizmusok az állat környezetében vagy testfelületén, nyálkahártyáin feldúsuljanak, a tőgybe jussanak, és ott – nem kielégítő ellenállóképesség miatt – elszaporodva, tőgygyulladást idéznek elő. A külső és belső hajlamosító tényezők eredményeképp kialakuló tőgygyulladásban tehát a különféle mikroorganizmusok meghatározó szerepet töltenek be.

A tőgygyulladások okozta gazdasági veszteségek közül a legjelentősebb tényező a tejárbevétel csökkenése. Ennek legnagyobb részéért a tejtermelés-csökkenés felelős, de esetenként jelentős tényező lehet a tejminőség romlása miatt előálló és az emberi fogyasztásra alkalmatlan, elkülönített tejből származó veszteség is.

Már a szubklinikai masztitisz korai stádiumában is jelentkeznek bizonyos elváltozások a termelt tejben, amelyek a tej feldolgozhatósága illetve a fogyasztás szempontjából is kedvezőtlen hatással bírnak. Több cikk jelent meg tej és tejtermékek D-aminosav-tartalmával kapcsolatban is, melyekből nyilvánvalóvá vált, hogy a D-aminosavak elsősorban nem a technológiai beavatkozás (hőkezelés, hőntartás) miatt jönnek létre, hanem a mikrobiális tevékenység következményei (*Gandolfi és mtsai.*, 1992; *Bruckner és Hausch*, 1990; *Fuse és mtsai.*, 1984).

Feltételezhetjük ezért, hogy az egészséges tehéntejben is jelenlévő nyomnyi mennyiségű D-aminosavak a teheneknél gyakran előforduló szubklinikai masztitisz során előállt bakteriális fertőzés következményei, és a D-aminosavak a baktériumok anyagcsere-termékeiként kerülnek be a tejbe.

A diagnosztizálás szempontjából is érdeklődésre tarthat számot, hogy a szubklinikai masztitisz előrehaladtának mértékével, hogyan változik a tej D-aminosav-tartalma és hogy van-e összefüggés a gyulladást kiváltó mikrobafajok és a tej D-aminosav-tartalma között.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A tőgygyulladás kialakulását befolyásoló tényezők

A tőgygyulladás megnyilvánulhat látható klinikai tünetekben és szubklinikai (tünetmentes) formában. Az előbbi a megbetegedések 1/5-ét teszi ki, 4/5 részben pedig szubklinikai formában zajlik le és okoz igen jelentős gazdasági kárt. Előfordulási gyakorisága tehenészetenként eltérő, 10–80% között változik (*Simon és mtsai.*, 2000). A Nemzetközi Tejgazdasági Szövetség (IDF, International Dairy Federation) adatai szerint a szubklinikai tőgygyulladás a tejtermelésben mintegy 10%-os elmaradást/csökkenést okoz az érintett tőgynegyedre vonatkozóan a laktációban.

A téma fontosságát jelzi a tőgygyulladás közegészségügyi jelentősége is. A WHO (World Health Organisation) 28, a tejjel az embere áterjedő betegséget tart számon. Ezek alapján a tőgygyulladás elleni védekezést nemcsak gazdasági, állat-egészségügyi, tenyésztői, de közegészségügyi szempontok is indokolják.

A nagyüzemi tehenészetekben a tőgygyulladást polietiológiájú (többféle kórokozó által) előidézett és polifaktoriális (több tényező, ún. rizikófaktorok által elősegített) állománybetegségnek kell tekinteni (*Rafai és mtsai.*, 2003).

A tőgygyulladás kialakulását, előfordulási gyakoriságát a tehén, a kórokozó és a környezet egyensúlyi viszonyának változása befolyásolja (*Simon és mtsai.*, 2000). A tőgygyulladás kialakulásában döntő szerepe van a tőgy ellenálló képességének. Ez egyrészt öröklött tulajdonság, másrészt a termelés környezeti feltételei befolyásolják.

2.1.1. Környezeti és technológiai tényezők

A tágabb és szűkebb értelemben vett környezet, így az évszakok és a tartás higiénia, nagy szerepet játszik a tőgygyulladás kialakulásában (*Shutz és mtsai.*, 1994). Kialakulását elősegíti a kemény padozat, a rövid állás, a hiányos almozás és a szennyezett alom. A takarmányozási hibák és az el nem különített kórokozókat ürítő egyedek, szintén veszélyt jelentenek az egészséges állatokra. A hibás fejési technológia, a masztitiszes és az egészséges egyedek együttes fejése a kórokozók tőgyről-tőgyre átjutását teszi lehetővé (*Markói*, 1986).

Mind kötetlen, mind kötött tartás esetében olyan technológia környezetet kell kialakítani, ami biztosítja az állatok egészségének megőrzését, viselkedési és biológiai igényeik kielégítését, valamint lehetővé teszi – az állatok zavarása nélkül – a szükséges munkák elvégzését. *Facsar* (1980) kötetlen, mélyalmos tartás esetén legalább 6,5 m² pihenőteret, a max. 80-egyedes csoportnagyságot és a karbantartott, tág (30–35 m²/tehén) harmadában szilárd burkolattal ellátott kifutókat tartja tőgyegészségügyi szempontból a legjobbnak. Az IDF (1987) ajánlása ennél kisebb, 4–5 m² almozott és 2–2,5 m² betonozott pihenőteret tart célszerűnek egy-egy tehén részére. A magas sejtszám és a masztitisz előfordulási gyakorisága a kötetlen és a puha pihenőhelyet biztosító tartásmódok esetében kisebb, mint a kötött és az almozatlan tartásmódoknál. Az IDF (1987) kötött tartásokra vonatkozóan azt a megállapítást teszi, hogy a rövid álláson tartott teheneknél gyakoribb a bimbótaposás és a klinikai masztitisz, mint a hosszú álláson elhelyezett egyedek esetében. A tartástechnológia mellett szintén fontos az alomanyag milyensége és mennyisége, a ventiláció működése, az épületek megfelelő tájolása, továbbá a higiéniai szabályok betartása.

Almozás hatására mind a kötött, mind a kötetlen tartás esetén csökken a mechanikai sérülések, valamint a tőgygyulladás gyakorisága. Alomanyagként jobb a szalma, mint a fűrészpor, ami már a kiszórás előtt fertőződhet *Klebsiellával*. Jelentős hatással bír a kitrágyázás gyakorisága. A ritkább trágyázás, és az ebből adódó nedves és dohos alom, kedvez a kólikform kórokozók elterjedésének és ezzel a fertőzött egyedek számának emelkedését idézi elő. A kötött és almozott tartás esetén a klasszikus kórokozók jellemzőek, míg kötetlen tartás esetén a környezeti patogének részvétele meghatározóbb. *Merck és mtsai.* (1973) a rossz higiénia és az ápolás hiányára vezették vissza az ektoparaziták és a gombaindikátorok megjelenését, és ahol ezek megjelentek, ott szignifikánsan több tőgymegbetegedést tapasztaltak.

2.1.1.1. A makro- és mikroklíma, valamint az évszak hatása

A szarvasmarha hidegtűrő képessége a bőr anatómiájából adódik. Az alacsony hőmérsékletet a tejlő szarvasmarha jól tűri, ami abból adódik, hogy nagy testömegéhez képest kicsi a testfelülete, különleges a bőr vérellátása, jó a hőszigetelő zsírréteg és vastag szőrtakarója van (*Szász és Tőkei,* 1997). Ezek ellenére a kedvezőtlen klímaviszonyok rezisztenciacsökkenést eredményezhetnek és elősegítik egyes kórokozók terjedési, fejlődési és túlélési esélyeit. A hőleadás függ a testfelület nagyságától, a testfelület és a környező levegő párányomásának különbségétől, a légnyomás erősségétől és a belélegzett levegő páratartalmától. A levegő nagy nedvességtartalma, a magas és alacsony hőmérséklet káros hatását egyaránt növeli. *Horváth* (1982) meleg és páradús levegőben kifejezett csíraszámemelkedést figyelt meg istállóban. *Ungeheuer* (1955) megfigyelte, hogy normál körülmények között az időjárás ritmikussága a biológiai folyamatok változását idézi elő.

Az időjárás hatások, különösképpen a hirtelen hidegről melegre történő változás, befolyásolja a tőgy egyedi védekezőképességét. *Nelson és mtsai.* (1967) a tőgy egyedi védekezőképességét vizsgálva azt tapasztalták, hogy a leukociták száma a hőmérséklet szezonális változásával együtt változik. *Licitra és mtsai.* (1998) ezt megerősítve, egyértelműen kimutatták az évszak hatását a sejtszámra és a tej beltartalmára, bár ők a legkedvezőtlenebb termelési, tejbeltartalmi és sejtszámmutatókat májusban és októberben tapasztalták.

A masztitisz gyakorisága a legelőre való kihajtással együtt a nedves években magasabb, mint a száraz években. Ez arra utal, hogy a levegő páratartalma és hőmérséklete befolyással van a teljesítményre, a felvett takarmány minőségére és mennyiségére. A hőmérséklet hatással van a rovarpopulációkra is, a legyek elszaporodása pedig gyakori oka a bakteriális megbetegedéseknek.

2.1.1.2. A takarmány és a takarmányozás módjának hatása

A legeltetés, bár a legtermészetesebb tartási és takarmányozási mód, a nagy teljesítményű tejelő tehének esetében mégis okozhat kedvezőtlen hatásokat. Az intenzív fajták esetében problémát jelenthet a legelőre való megterhelő kihajtás, a hirtelen átállás a takarmánykeresésre, a megváltozott környezet és az előforduló szélsőséges időjárás. *Volkert* (1985) a tavaszi legelőre hajtás időpontjára teszi a sejtszámnövekedés kezdetét és az őszi időpontra helyezi csúcserőértéket. *Düiring* (1987) megállapítása szerint a sejtszám és a masztitisz növekedése nem a legelőre való hajtással, hanem a nem megfelelő fejéstechnikai és tartási higiéniai magyarázható. *Probst és Behringer* (1968) istállózott tartás esetén figyeltek meg kisebb sejtszámot és tőgyfertőzést, mint legelőn.

Ennek ellentmondanak *Carroll* (1977), továbbá *Waage és mtsai.* (1998), akik a téli istállózás esetén találtak magasabb masztitisz arányt, mint a nyári legeltetésnél. *Zeidler és mtsai.* (1969) ezzel szemben nem találtak összefüggést; a legelő és az istállózás hatását jelentéktelennek ítélték meg a sejtszám alakulására.

Ismert tény, hogy a különféle takarmányozási hibák, valamint a rossz takarmánykomponensek által okozott anyagcsere-rendellenességek befolyásolhatják a tőgy egészségi állapotát. Jellemző pl. az energiahány, ill. az energiafelesleg, ami májelégtelenséget okozhat, ezzel növelve a fertőzések iránti fokozódó hajlamot. A túlságosan kevés szálastakarmány és a sok abrak tartós etetése a szarvasmarha ún. bendő eredetű acidotikus terhelésének veszélyével jár. Az abraketetés állandó velejárója, hogy az illózsírsavakon kívül tejsav is termelődik a bendőben, ami károsan hat a tőgy egészségére. A fehérje-túladagolás hatására is emelkedő sejtszám és növekvő masztitisz gyakorisága mutatkozik.

Az irodalom foglalkozik továbbá az ásványi anyag- (Na, K), a vitamin- (A, E, PP), a β -karotin- és a nyomelem- (szelén, cink) ellátással, amelyeknek jelentős hatása lehet a tőgy egészségi állapotára. Az A-vitamin és provitaminjai a karotinok, sokirányú szerepet töltenek be. A növényi eredetű takarmányokban egyébként az A-vitamin csak provitaminok formájában található meg, és a β -karotin A-vitaminná alakulásának hatékonysága a szarvasmarhában a legrosszabb (5–15%) (*Schmidt*, 1993). *Jukola és mtsai.* (1996) nem találtak kapcsolatot az A-vitamin koncentrációja és a tőgy megbetegedések között, ugyanakkor a szomatikus sejtszámmal kapcsolatot fedeztek fel.

Az E-vitaminnak, mint antioxidánsnak, igen fontos szerepe van a sejthártyák normális élettani funkciójának fenntartásában. Ez a hatás a sejtek lipoidjainak védelméhez kötött.

Baldi és mtsai. (1999) vizsgálataiban szomatikus sejtszámcsökkenést mutattak ki 2000 IU (Nemzetközi egység) DL- α -tokoferol (E-vitamin) adagolásakor. Szoros a kapcsolat az E-vitamin és a szelént tartalmazó, ugyancsak antioxidáns tulajdonságú glutation-peroxidáz enzim működése között. Ezek ugyanis pótolhatják egymást a sejtekben végbemenő oxidációs-redukciós folyamatokban. A szelénhiány a tőgy természetes ellenálló képességét csökkenti és a megbetegedés iránti hajlamot növeli (*Erskine és mtsai.*, 1990). Epidemiológiai tanulmányok rámutattak arra is, hogy a szelén- és az E-vitamin hiány a masztitisz iránti fogékonyságot is növeli (*Smith és mtsai.*, 1984; *Weiss és mtsai.*, 1990). *Smith és mtsai.* (1984) vizsgálatai alapján azon teheneknél, amelyek szelén- és E-vitamin-kiegészítést kaptak, kisebb gyakorisággal volt tapasztalható a masztitisz előfordulása és a megbetegedett állatok is rövidebb idő alatt kigyógyultak. *Malbe és mtsai.* (1995) spontán gyógyulást tapasztaltak szubklinikai masztitiszes teheneknél a takarmányba kevert szelén- és E-vitamin-kiegészítők hatására. A szelén hatására bekövetkező – baktériumokkal szembeni – fokozott ellenállóképesség számos szerző (*Boyne és Arthur*, 1979; *Aziz és mtsai.*, 1984; *Gyang és mtsai.*, 1984; *Hogan és mtsai.*, 1993) szerint feltehetően a fagociták számbeli növekedésének és fokozódó védekezőképességének tudható be. A szelénnek oldott formában való antibakteriális hatását *Ali-Vehmas és mtsai.* (1997) mutatták ki.

A cink esetében a kutatási eredmények meglehetősen ellentmondóak. *Heinrichs és mtsai.* (1984) nem találtak semmiféle összefüggést a cinkkiegészítők etetése és a masztitisz előfordulása között. *Spain* (1994) kimutatta, hogy azok az egyedek, amelyek cinkkiegészítőt kaptak, ellenállóbbak voltak a bakteriális fertőzésekkel szemben. *Spain* (1993) megállapításai szerint a cinknek szerepe van továbbá a celluláris

immunválaszban, és a biológiai igényen felül adott cinkkiegészítés csökkenti a tej szomatikus sejtszámát. Ugyanakkor *Whitaker és mtsai.* (1997) cink etetésével nem tapasztaltak semmiféle különbséget a kontrollcsoporthoz viszonyítva sem a masztitisz gyakoriságában, sem a masztitiszes egyedek gyógyulásában.

A takarmányhigiénia szintén nagy jelentőségű, mivel az erősen szennyezett és lakszáns hatású takarmányok az enterobaktériumok által okozott megbetegedéseken keresztül a masztitisz fokozott fellépéséhez vezetnek. Hasonlóan okozhat kedvezőtlen hatást a takarmány gyakori változtatása is, mivel a bendőflóra a változó feltételekhez nehezen alkalmazkodik, aminek következménye hasmenés.

2.1.1.3. A fejés hatása

A modern fejéstechnológia a nehéz, kézzel történő fejest hivatott megkönnyíteni. A gyakorlat azonban megmutatta, hogy önmagában nem elégséges a tej géppel való levétele, hiszen sokszor olyan durva hatása lehet, amely szöveti károsodást és a természetes – baktériumokkal szembeni – védekező rendszer gyengülését okozhatja, ezzel megnövelve a masztitisz gyakoriságát. A nem megfelelő vagy nem megfelelően használt fejőgép a kórokozók terjedésében aktív szerephez juthat, egyrésztől úgy, hogy egyik állat bőréről a másik állat bőrére viszi át, vagy úgy, hogy közvetlenül a tőgyegyedek között fertőz. *Dohy* (1999) hívja fel arra a figyelmet, hogy a gépi fejés fejlesztésénél egyre inkább a biológiai feltételekhez kell igazodni és nem a fejési sebesség egyirányú növelésére kell koncentrálni. A vákuum mértéke és a pulzálás aránya befolyásolja a tej sejttartalmát (*Afifi*, 1967). Inkább a túl magas, mint a túl alacsony vákuum okozhatja a nagy sejtszámot és a masztitisz megjelenését, ill. kialakulását. A fejőkészülék helyes alkalmazása

rendkívül fontos a tőgy egészségi állapotára nézve. A fejőgép helytelen használata rontja a tejmirigy egészségi állapotát, elősegíti a masztitist okozó ágensek átvitelét, növeli a tőgyszövet mechanikus igénybevételét (főképp a tőgybimbóét és tőgycsatornáét), továbbá negatívan befolyásolja a tejleadási reflexet. *Bour* (1995) felmérése szerint a megkérdezett telepek 45%-a egyáltalán nem, vagy csak szakszerűtlenül végezte el az első tejsugarak kifejtését, ami azzal a veszéllyel jár, hogy a kézérítés révén elősegítjük a tőgypatogén baktériumok tőgynegyedek és tehenek közti áttérjedését. Másrészt a nehezebb tejleadású tehenet túlzottan megkínozza az első tejsugarak kierolettetése. A gépi utófejést a szakemberek egyre nagyobb többsége elveti (*Tóth*, 1999). Gyakori hiba a vakfejés. A vakfejés a tőgybimbó, a tőgybimbószövet és tőgybimbómirigy elváltozásához és károsodásához vezethet, ami a masztitisz kórokozók bejutásának, elszaporodásának kedvez. A vakfejés okozza a legtöbb problémát, aminek előfordulása *Breuer* (1989) szerint 23,5%-kal magasabb az általa „problémásnak” vélt telepek esetében. Ugyanakkor *Bakken* (1981) a technológiai problémákat csupán mérsékelt hatásúnak véli.

A két legfontosabb fejhetőségi mérőszám (átlagos és a maximális fejési sebesség) a tőgyegészség indikátorának is tartott szomatikus sejtszámmal laza negatív kapcsolatban áll ($r = -0,27$, illetve $r = -0,23$), ezzel szemben a főfejési, az egyenletes tejleadási, valamint a leszálló szakasz és a szomatikus sejtszám között *Húth* (2004) gyenge pozitív irányú összefüggést állapított meg. A szerző szerint a jó fejhetőség csökkenti a tőgygyulladás kialakulásának kockázatát. A tejleadást jellemző időparaméterek közül az egyenletes tejleadási és a leszálló szakasz közel azonos hosszúságú, ami a gépi fejés fontosságára hívja fel a figyelmet (*Húth*, 2004).

2.1.2. Genetikai tényezők

A masztitisz, ill. a magas szomatikus sejtszám elleni védekezés egyik, ma már egyre több országban alkalmazott módszere, a tenyésztés, aminek célja a kedvezőtlen, masztitisz előfordulást elősegítő genetikai tulajdonságok kiküszöbölése. Az elmúlt évtizedekben a tenyésztés főképp abba az irányba hatott, hogy minél nagyobb termelésű és az adott környezeti feltételekhez jól alkalmazkodó fajták kerüljenek nemesítésre. A tejmennyiség növelésére és a tejmennyiség minél könnyebb kinyerésére – azaz a fejési sebesség növelésére – irányuló szelekció azonban számos egészségügyi problémát is felvet. A tej mennyiségének növelésével a tőgygyulladás előfordulási gyakorisága megnőtt, ami a közöttük fennálló kedvezőtlen, 0,04–0,67 genetikai korreláció velejárója (*Lund és mtsai.*, 1993). A tejmennyiség növelésére irányuló szelekció eredményeként bekövetkező masztitisz-gyakorisági növekedés az állatok immunrendszerének gyengüléséből következik, bár ez a környezeti feltételek javításával tompítható. A tőgy felépítésének javítására irányuló genetikai „fejlesztések” alapját azok a vizsgálatok szolgálják, amelyek az egyes tulajdonságok és a masztitisz közötti genetikai, örökölhetőségi kapcsolatokat és ezek értékeit igyekeznek meghatározni. Számos vizsgálatban ezért a szomatikus sejtszámot veszik alapul, mivel ez a masztitisz előfordulásával 0,36–0,97-ig terjedő genetikai korrelációs értéket mutat (*Coffey és mtsai.*, 1986; *Emanuelson és mtsai.*, 1988; *Lund és mtsai.*, 1993).

2.1.2.1. A tőgy tulajdonságai

A tőgy tulajdonságai (alakja, függesztése, a tőgybimbó hossza, átmérője, elhelyezkedése és alakja, a tőgybimbóvég formája és a vég sérülései) és a masztitisz között szoros kapcsolat van.

A masztitisz és az egyes tőgyparaméterek közötti közvetlen vizsgálatok azért szükségesek, mivel a masztitisz gyanúját jelző magas szomatikus sejtszám és a masztitisz előfordulás között lehetnek akár jelentősebb eltérések is. E két tényező vizsgálatakor számos szerző (*Young és mtsai.*, 1960; *Miller és mtsai.*, 1978; *Bakken*, 1981) tapasztalt közvetlen összefüggést a masztitisz előfordulás és a csüngő tőgy között. A különböző tőgytípusok összehasonlításakor megállapították, hogy az egyes tőgytípusok esetében nem azonos a szomatikus sejtszám és a tőgygyulladás előfordulási gyakorisága. A szabályos tőgyformával rendelkező teheneknél kevesebb, a csüngőtőgyű teheneknél magasabb szomatikus sejtszám, továbbá gyakoribb masztitisz előfordulás figyelhető meg. A tőgymélység szomatikus sejtszámra gyakorolt összefüggését vizsgálva *Young és mtsai.* (1960) azt tapasztalták, hogy a mélyebb tőgy magasabb szomatikus sejtszámmal és gyakoribb masztitisz előfordulással jár. Ezt a megállapítást további szerzők eredményei (*Thomas és mtsai.*, 1984; *Rogers és mtsai.*, 1991; *Schutz és mtsai.*, 1993) is alátámasztják. *Miller és mtsai.* (1978), valamint *Thomas és mtsai.* (1984) ezt arra vezetik vissza, hogy az a tőgy, amelynek függesztése megfelelő, annak az ellenálló képessége is jobb. Fenotípus tekintetében azon tehenek szomatikus sejtszáma alacsonyabb, amelyeknek jó a tőgyfüggesztése, hátul magasan illesztett, csánk alá nem menő, feszesen a hasra illeszkedő, arányos tőgyük és szabályos tőgybimbóalakulásuk van. Ez a megállapítás egyezik *Young és mtsai.* (1960); *Thomas és mtsai.* (1984); *Monardes és*

mtsai. (1985); *Seykora és McDaniel* (1985); *Seykora és McDaniel* (1986) és *Dohy* (1999) megállapításaival.

Young és mtsai. (1960) a tőgyfelépítés és a masztitisz előfordulása közötti genetikai összefüggést vizsgálva arra az eredményre jutottak, hogy a tőgymélység és a klinikai masztitisz között $-0,28$, a tőgymélység és a bakteriológiai fertőzések között $-0,38$, a tőgymélység és a leukocitaszám között $-0,48$ korrelációs érték áll fenn. Ellentmond ezeknek *Yener* (1973) vizsgálata, aki nem talált szignifikáns összefüggést a tőgy felfüggesztése és az általa végzett Wiskonsin-Mastitis-Test eredmények között.

2.1.2.2. A tőgybimbó hossza, átmérője, elhelyezkedése és a tőgybimbócsatorna hossza

A túl hosszú (7–8 cm) tőgybimbó növeli a fertőzések rizikóját azáltal, hogy gyakoribbá válik a tőgybimbónak a taposás és a fejtőgumi relatív rövidségéből eredő sérüléseinek a száma. *Grommers és mtsai.* (1971) arról számolnak be, hogy azon tehenek tőgytaposása szignifikánsan kevesebb, amelyek tőgybimbó mérete 6,5 cm-nél rövidebb. *Johansson* (1957) megállapítása szerint mind a tőgybimbó átmérője, mind annak hossza örökletes és szerepe van a masztitisz elleni rezisztencia kialakításában. *Hickman* (1964) 200 első laktációs tehen vizsgálatában rámutat arra, hogy a masztitisek aránya egyenes arányban van a tőgybimbó átmérőjével, mivel véleménye szerint, a nagyobb átmérőjű tőgybimbók bimbónylása nagyobb, ezzel növekszik a fertőződés veszélyének lehetősége. Ezt egészíti ki és támasztja alá *Horn* (1973), aki szerint a hosszabb tőgybimbó esetén a bimbó átmérője is nagyobb. Amíg 2–3 cm-es tőgybimbó átmérőnél a masztitisz előfordulási gyakorisága 18,5%, addig 3–4 cm-es átmérő esetében már 57,1% (*Horn*, 1973).

A tőgybimbók földtől mért távolsága és a masztitisz között *Bakken* (1981) szignifikánsan negatív korrelációt tapasztalt.

Higgins és mtsai. (1980) 0,44-es h^2 -értéket állapítottak meg a tőgybimbó hosszára, míg *Mrode és Swanson* (1996) az első laktációs állatokat vizsgálva a szomatikus sejtszám és a tőgybimbók felfüggesztése között $-0,3$; a hossza között pedig $+0,4$ -es genetikai korrelációt állapított meg.

Iváncsics és Gulyás (1998) a ductus papillaris hosszúsága és a masztitiszre való hajlam összefüggésére hívja fel a figyelmet. A nyitottabb és rövidebb tőgybimbó záróizomzatot örökítő bikák utódjainál lényegesen magasabb szomatikus sejtszámot tapasztaltak. A két paraméter összefüggését vizsgálva $r = -0,58$ és $-0,89$ közötti korrelációs értéket kaptak, ami egyértelműen azt bizonyítja, hogy a szomatikus sejtszámot befolyásoló tényezők közül nagy szerepet játszik a tőgybimbó morfológiája.

Húth (2004) ultrahangos tőgymorfológiai vizsgálatnál arra a megállapításra jutott, hogy a hosszabb bimbócsatorna növeli a tőgygyulladás kialakulásának kockázatát, amelyet az emelkedő szomatikus sejtszám is alátámaszt. Ez véleménye szerint a bimbócsatorna hosszának tejleadást befolyásoló szerepével hozható összefüggésbe. Eredményei alapján arra a következtetésre jutott, hogy magyartarka teheneknél a 12–13 mm közötti bimbócsatorna hosszúság jelenti azt az optimumot, amely nem hat zavaró tényezőként a tejleadás folyamatára és emellett az intramammális fertőzések megakadályozása érdekében mechanikai védőfunkcióját tudja teljesíteni.

A tőgybimbó alakja szintén befolyásolja a tej szomatikus sejtszámát. A három tőgybimbó-típus (tölcsér, hengeres, palack-kúp) közül a masztitisz előfordulási gyakorisága a tölcsér alakú tőgybimbó esetében a legkisebb, (*Hickman*, 1964) a hengeres esetén pedig a legnagyobb (*Ahmed és mtsai.*,

1988). Ezt támasztja alá *Rathore* (1976) is, aki 548 tehén vizsgálata alapján megállapította, hogy a tölcsér alakú tőgybimbóval rendelkező tehenek 10,9%-kal több tejet termeltek és szomatikus sejtszámuk is alacsonyabb volt. *Bakken* (1981) ezzel ellentétben a tölcsér alakú tőgybimbók esetén nagyobb arányú masztitisz előfordulást tapasztalt.

A tőgybimbóvég formája és a szomatikus sejtszám közötti összefüggést szintén számos szerző vizsgálta (*Forbes*, 1969; *Macha és mtsai.*, 1981; *Seykora*, 1983; *Magid*, 1983). A tőgybimbóvég-formákat tekintve 6 típust lehet megkülönböztetni: csúcsos, kerek, sima, tányér, lapos és beforduló (*Seykora és McDaniel*, 1985). Az elvégzett vizsgálatok többnyire arra az eredményre jutottak, hogy a kifordított és a korong alakú tőgybimbó végződések esetében nagyobb a masztitisz előfordulási gyakorisága, mint a gömbölyű-hegyes tőgybimbó végződések esetén. Az egyes vizsgálatok különbözőségei azzal magyarázhatók, hogy szabvány hiányában a tőgybimbóvég formájának megítélése szubjektív (*Bakken*, 1981). A bimbócsatorna szájadéka esetén a tölcsér alakú a legkedvezőbb és a kihegyesedő alakúnál fordul elő leggyakrabban a masztitisz (*Horn*, 1973).

A tőgybimbóvég sérülések aránya szoros korrelációt mutat a tőgybimbóvég alakjával. A legkevesebb sérülés a hegyes-gömbölyű, a legtöbb sérülés pedig a befordult tőgybimbók esetében figyelhető meg (*Johansson*, 1957, *Bakken*, 1981; *Graf és Gedek*, 1983). Ennek azonban ellentmond *Sieber és Farnsworth* (1980), akik a lapos tőgybimbóvég esetén tapasztalták a legtöbb krónikus sérülést. Az ellentmondások legtöbbje itt is visszavezethető a tőgybimbó alakjánál említett azon problémára, hogy hiányzik az egységes szabvány a formák megítélésére.

2.2. A tőgygyulladás kiváltására képes kórokozók

A tőgygyulladás kiváltására képes különféle mikroorganizmusok többféleképpen csoportosíthatók. Ezek közül a legcélszerűbb a fertőzés terjedésének módja alapján történő csoportokba sorolás (Rafai és mtsai., 2003), amely a tőgygyulladás elleni védekezés szempontjait, céljait szolgáló nem járványtani, hanem didaktikai jellegű besorolás. Ennek értelmében megkülönböztetünk: állatról állatra terjedni képes ún. *fertőző kórokozókat*; a külső környezetből a tőgyet fertőző ún. *környezeti kórokozókat* és *átmeneti jellegű kórokozókat* (Rafai és mtsai., 2003).

2.2.1. Fertőző kórokozók

A tejtermelő szarvasmarha tartás korszerűsödésének hajnalán (XX. század első évtizedeiben) a tőgygyulladás leggyakrabban kórokozói a tehénhez adaptálódott *streptococcusok* voltak. Ezek domináns képviselője a *Str. agalactiae*, de egy-egy állományban hasonló megbetegedésekért ún. *pyogen streptococcusok* is felelőssé tehetők. Közös jellemzőjük a – napjainkban is fennálló – nagyfokú penicillin érzékenység. Az elmúlt évtizedek során a masztitisz kórtanában fertőző *streptococcusok* fokozatosan visszaszorultak. Ennek okai közül kiemelkedik az antibiotikumok bevezetése, valamint az időközben felismert járványtani összefüggések alapján megkezdett fertőzésmegelőző munka. Sajnos a létrejövő „ökológiai rés” nem maradt betöltetlenül. Tért nyertek az antibiotikumos kezelésnek ellenálló baktériumfajok (pl. *Staphylococcus aureus*), illetve a környezeti kórokozók. Napjainkban a tejtermelő gazdaságok jelentős részében a *S. aureus* baktérium felelős a tőgygyulladás okozta károk jelentős részéért

(Simon és mtsai., 2000). A *S. aureus* esetében kiemelt jelentősége a fejőgép által terjesztett fertőzéseknek van. Más fertőző jellegű kórokozók általában ritkábban jelentenek állomány szintű problémát. A lypophyl *corynebacteriumok* (leggyakrabban a *C. bovis*) virulenciája elmarad az előbb ismertetett kórokozókétól. Ebben a csoportban kell még említést tenni a nyári masztitiszről, amely hazánkban típusos formában csak kivételesen fordul elő. Ennek kóroktanában fakultatív anaerob (*Arcanobacterium pyogenes*, *S. aureus*, *streptococcusok* stb.) és obligát anaerob baktériumok együttesen játszanak szerepet. Az *A. pyogenes* – obligát anaerob baktériumokkal együtt – hazánkban az ún. gennyestőgyulladás idézi elő.

2.2.2. Környezeti kórokozók

A környezeti eredetű masztitiszek iránti fogékonyság az idült, a szubklinikai masztitiszek számának csökkenésével és a tejtermelés növekedésével arányosan nő.

Az *Escherichia coli* és más *coliform* baktériumok folyamatosan ürülnek a környezetbe a tehén bélsarával. Az általuk kiváltott ún. endotoxin masztitisz jellemzően perakut/akut lefolyású, de egyes esetekben a folyamat idültté válhat.

A Gram-pozitív környezeti kórokozók közül a leggyakoribb faj az „egyéb streptococcusok” közé sorolt *Str. uberis*. Ritkábban fordulnak elő az *enterococcusok* (*E. faecalis*), más *fekál-streptococcusok* (*Str. bovis*) és a *lactococcusok* okozta tőgygyulladások (Rafai és mtsai., 2003). A *Str. uberis* kitenyésztették a tehén bendőjéből, bélsarából, bőréről és környezetéből is. Széleskörű elterjedtsége és jelentékeny virulenciája szolgál magyarázatul nagy klinikai és gazdasági jelentőségére. A

felsorolt baktériumoknál jóval ritkábban, de más Gram-pozitív baktériumok is képesek tőgygyulladás előidézésére.

2.2.3. Átmeneti kórokozók

Ebbe a csoportba olyan baktériumokat sorolunk, amelyek általában jelen vannak a tehének testfelületén, nyálkahártyáin, illetve környezetében, de csak alkalmilag terjednek állatról állatra.

A *Str. dysgalactiae* elsősorban a tőgy bőrén és a tőgybimbó sérüléseiben telepszik meg, de megtalálható az állatok környezetében is. Emiatt teljes eliminálása nem lehetséges. Ugyanakkor jóval kevésbé fertőzőképes, mint a *Str. agalactiae*, így széleskörű előfordulása ellenére, egy adott állományban általában kevesebb tőgygyulladást okoz. Az utóbbi évtizedekben egyre nagyobb szerepet játszanak a masztitisz kórfejlődésében az *S. aureus*tól eltérő *staphylococcusok* (Rafai és mtsai., 2003). Ezeket általában összefoglalóan koaguláz-negatív *staphylococcusoknak* (CNS) nevezik. Kisebb mennyiségű extracelluláris enzimet (exotoxint) termelnek, mint az *S. aureus*, ezért pathogenitásuk mérsékeltebb. A tehén kültakaróján, sőt az „egészséges” tőgybimbócsatornában élő flóra részeként is megtalálhatók. Mivel a bőr normál flórája jelentős részben CNS-ből áll, ezért állandóan számolhatunk megbetegítő szerepükkel, ugyanakkor a fejőgéppel átvihetők állatról-állatra, ami elősegítheti a nagyobb megbetegítő képességgel rendelkező CNS-fajok adott állományon belüli feldúsulását. Végezetül említésre érdemes a környezeti hatásokkal és fertőtlenítőszerrel szemben igen ellenálló *Pseudomonas aeruginosa*. Általában sporadikusan jelentkezik *Pseudomonas*-masztitisz, azonban elsősorban fejéstechnológiai hibák, nem hatékony fertőtlenítőszer használat miatt istállójárványok kialakulása is előfordulhat.

2.3. A tőgygyulladás által okozott gazdasági veszteségek

A tőgygyulladások okozta gazdasági veszteségek közül a legjelentősebb tényező a tejárbevétel csökkenése.

Hazai adatok szerint (Ózsvári, 2004) a szubklinikai tőgygyulladásban beteg tehenek éves szinten napi átlagban 2,45 kg-mal kevesebb tejet termelnek az egészséges társaiknál. A tejminőségromlás okozta veszteségek elsősorban a tejár csökkent mértékű premizálásában jelentkeznek, de amennyiben az elegytej szomatikus sejtszáma meghaladja a rendeletben meghatározott határértéket, a fogyasztásra alkalmas tej termelése csak az emelkedett sejtszámú tehenek tejének teljes elkülönítésével biztosítható. További veszteséget eredményez a klinikailag tőgybeteg és gyógykezelt állatok tejének megsemmisítése.

A fentiekén kívül jelentős gazdasági kárt okoz az elvárható élettartam előtti selejtezés is (Rafai és mtsai., 2003). A tőgygyulladások gyógykezelésére, az állat-egészségügyi ellátásra, a laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatokra fordított összeg az előzőeknél kisebb arányban szerepel a veszteségek között. Emellett felmerülhetnek egyéb, technológia módosítás miatt szükséges költségek is.

Összesítve a különböző veszteségeket és költségeket, éves szinten a tőgygyulladás által okozott veszteség tehenenként átlagosan kb. 27 000 Ft-ra (110 Euro) becsülhető (Ózsvári, 2004)

2.4. A D-aminosavak általános jellemzése

2.4.1. A D-aminosavak szerkezete

A szénatomhoz közvetlen kémiai kötéssel kapcsolódó atomok és atomcsoportok térbeli elrendeződése ún. konfigurációt határoz meg. Ez azt

jelenti, hogy azonos kémiai összetételük többfajta térbeli elrendezést eredményez. Biológiai folyamatokban a molekula konfigurációja oly mértékben meghatározó, hogy több fajta térbeli lehetőség közül csak egy bizonyos térszerkezetű molekula funkcióképes, a többi módosulat nem. Ha a szénhez négy különböző atom, vagy atomcsoport kapcsolódik, akkor a tükörsík szerint aszimmetrikus konfiguráció alakulhat ki, melyet optikai izomériának, vagy sztereoizomériának nevezünk. A szénatomot aszimmetriásnak, a két aszimmetrikus izomert pedig D-, illetve L-módosulatlaknak nevezzük. Az aszimmetriás szénatomot tartalmazó vegyületek optikailag aktívak, a poláros fény síkját jobbra vagy balra forgatják el. A királis aminosavak átalakulhatnak racém keverékké, mely átalakulás reakciómechanizmusa feltételezi az α -helyzetű szénatom hidrogénjének leszakadását, a planáris karbanion szerkezet kialakulását. A racemizáció aránya függ attól, hogy az aminosav szabadon vagy a peptidláncban kötött formában fordul 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) megállapította, hogy a különböző aminosavak különböző körülmények között eltérő idejű racemizációs időt mutatnak, de az aminosavak közötti racemizációs sorrend többé-kevésbé változatlan marad. Egyes aminosavak (szerin, cisztin, treonin) racemizációja nemcsak a vonatkozó D-enantiomert eredményezheti, hanem a fehérjeépítő aminosavaktól eltérő aminosavat is. 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 keresztkötésekkel eredményezhető, mely csökkenti a fehérje emészthetőségét (*Chung és mtsai.*, 1986; *Friedman és mtsai.*, 1981), sőt a keletkező lizinoalanin toxikus hatással is rendelkezik (*Hayashi*, 1982).

2.4.2. A D-aminosavak előfordulása

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 tartalmazzák 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 sejtfolyadékának 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 tartalmazzák D-aminosavakat (*Robinson*, 1976).

Élelmiszereink is nagy mennyiségben tartalmazzák olyan idegen eredetű, nem természetes anyagokat, melyek nagymértékben befolyásolhatják annak emészthetőségét (*Finley és Schwass*, 1983). Ilyenek például a D-sztereoizomer aminosavak, melyek a közönséges L-sztereoizomer aminosavakból képződnek vagy az előállítás folyamán, vagy az élelmiszer mikrobiológiai minőségében beállt változás következtében. Jelenlétük nagymértékben csökkenti az élelmiszerfehérje emészthetőségét és az átalakult aminosav felhasználhatóságát.

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 (*Bunjapami és mtsai.*, 1982; *Chung és mtsai.*, 1986; *Friedman és mtsai.*, 1981; *Fuse és mtsai.*, 1984; *Hayashi és Kameda*, 1980; *Maga*, 1984).

A tej és tejtermékek a legjobb példák arra, hogy hogyan változhat meg a természetes anyag összetétele (*Man és Bada*, 1987). Bár az élelmiszeráruházak egy részében kezeletlen (nyers) tej is kapható, a legtöbb tejterméket először pasztörözik (hőntartás 30 percig 68–72 °C-on) vagy ultrapasztörözik (hőntartás 135–145 °C-on 15 másodpercig). Ezt követi aztán a homogénezés, a kondenzálás és befejezésképpen 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.

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 kezelések növekvő számával pedig nőtt mennyisége (acidofil tej: 2,05%, zsírtalanított tejpör: 2,15%, kefir: 2,44%, sűrített tej: 2,49%, joghurt: 3,12%, tejalapú csecsemőtápszer: 4,95%). Azok a termékek tehát, amelyek előállításához szükséges a melegítés, akár 5% D-aszparaginsav-tartalmúak is lehetnek.

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-tartalmát a tej bakteriális szennyezettségének ellenőrzésére javasolják felhasználni. A tejfehérjében kimutatott D-aminosav-tartalmát 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 a D+L aminosav-tartalomhoz viszonyítva. 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. Méréseik alapján felhívják a figyelmet arra, hogy nem azok az élelmiszerek tartalmazznak sok D-aminosavat melyeket hosszabb ideig tartó hőkezelésnek tettek ki, hanem inkább azok, melyek 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. Méréseik eredményeit a *1. táblázat* tartalmazza. A táblázat adataiból megállapítható, 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-allo-izoleucint és D-szerint is az erjesztett tejtermékekben.

1. táblázat A tej és a savanyú tejtermékek szabad D-aminosav-tartalma¹
(mg/100 g)

Aminosav	Nyers – pasztörözött tej	Kefir	Joghurt	Aludttej	Friss sajt	Harzer sajt
D-Ala	0,003–0,012	0,31	1,35	0,46	1,07	2,48
D-Asx ³	0,017–0,038	0,35	0,31	0,25	0,38	0,37
D-Glx ³	0,07–0,19	0,50	1,09	0,58	0,75	2,13
D-Val	–	0,03	–	0,04	0,09	–
D-Leu	–	0,11	–	0,15	0,16	–
D-Lys	–	0,09	–	0,13	0,44	1,49
D-allo-Ile ²	–	0,07	–	0,02	–	0,27
D-Ser	–	0,02	–	–	–	–
D-Pro	–	–	–	–	–	2,18
Szabad aminosavak (mg/100 g)	3,29–10,3	26,2	28,4	36,8	39,2	159
Szabad D-aminosavak (mg/100 g)	0,09–0,24	1,48	2,75	1,63	2,89	8,92

¹ %D = (D/D+L)·100

² %D-allo-Ile = D-allo-Ile / (D-allo-Ile + L-allo-Ile + D-Ile + L-Ile)

³ Asx = Asp+Asn, aszparaginsavként számolva, Glx = Glu + Gln, glutaminsavként számolva

A D-aminosavak eredetét elemezve megállapítják, hogy azok legnagyobbbrészt a mikrobiológiai beavatkozásból, nyers vagy pasztörözött minták esetében pedig a mikrobiális szennyezésből, esetleg a szubklinikai tőgygyulladásos egyedek tejének az elegytejhez történő hozzáfejéséből származtathatók.

2.4.3. 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) úttörő munkája óta köztudott, hogy az emlősök rendelkeznek specifikus enzimekkel a

D-aminosavak anyagcseréjére. A D-aminosavak elsősorban a *D-aminosav oxidáz* reakciósoron metabolizálódnak α -ketosavak keletkezése közben (*Bender és Krebs, 1950; Berg, 1959; Burton, 1945; Krebs, 1935, 1948; Neuberger, 1948*). Ezt követően az α -ketosavak átmehetnek sztereospecifikus transzamináción, mely az eredeti aminosav L-enantiomerjét eredményezi, mely aztán belép a szokásos anyagcsere folyamatba; vagy egy másik reakcióban közvetlenül lebomlik, pl. oxidatív dekarboxilálással. A D-aminosavak átalakulása α -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 nagyon rossz szubsztrátja a D-aminosav oxidáznak. 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, hogy az emlősök *D-aminosav oxidáz* rendszere nem fejlődött ki olyan mértékben, hogy válaszolni tudjon az ételmi 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* detoxikálja azokat a D-aminosavakat, amelyek vagy véletlenül vagy a baktériumfehérjén

keresztül kerültek be oda (Bender, 1985). A D-glutaminsav, mely a baktériumok sejtfalában előforduló peptidoglikán alkotórésze, a legrosszabb szubsztrátja a *D-aminosav oxidáznak*, és csak nagyon lassan oxidálódik a *D-glutaminsav oxidázzal* (Dixon és Kenworthy, 1967). Bár a *D-aminosav oxidáz* enzimek képessé teszik az emlősöket a D-aminosavak metabolizálására, ez az út 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 *racemázok* segítségével is racém keverékké vagy a megfelelő L-aminosavvá. Mivel azonban a *racemázok* 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. 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. Szintetikus peptidekkel végzett tanulmányok 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 fehérjék proteolitikus hidrolízisének termékei tartalmaznak racemizált aminosavakat és D-aminosav-tartalmú kis molekulatömegű peptideket. A di- és tripeptidek keresztül diffundálnak a membránon, míg a jelenlévő nagyobb tagszámú peptidek egyszerűen kiválasztódnak a bélsárral. 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, mely 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.

2.5. A baktériumok sejtfalának szerkezete

A sejtfal meghatározza a baktériumsejt alakját, s megőrzi a sejt integritását a változó környezeti ozmotikus viszonyok mellett is. A sejtfal ezen sajátosságait egy különleges molekulának, a peptidoglikánnak köszönheti. Ez egy olyan térhálós óriásmolekula, amely alternáló N-acetil-glükózamin (NAG) és N-acetil-muraminsavból (NAM) felépülő glikánból, és a glikánláncok között keresztkötéseket létrehozó rövid peptidekből épül fel (Pesti, 2001). Ezt mureinnek is nevezik. A keresztkötő peptidek szerkezete az egyes baktériumcsoportokban eltérő. A peptid alegységek négy-öt aminosav-molekulából állnak (esetenként azonban tri- vagy hexapeptidek) és a peptidoglikán váz muraminsav-molekuláinak tejsav éteréhez kapcsolódnak peptidkötéssel. A Gram-negatív baktériumok többségében, de a Gram-pozitív fajok egy

résében is (pl. *Bacillus megaterium*) a peptid alegységek közvetlenül kapcsolódnak egymáshoz. A Gram-pozitív fajok többségében a peptid alegységek nem közvetlenül, hanem peptidhidak segítségével kapcsolódnak egymáshoz. A peptid alegységekben a leggyakrabban (pl. *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* fajokban) diamino-pimelinsav fordul elő, ezt azonban gyakran lizin (pl. *Staphylococcus aureus*ban) vagy ornitin (pl. egyes *Spirochaeta* és *Lactobacillus* fajokban) helyettesíti.

A Gram-pozitív baktériumokban mindhárom fajta murein előfordul. Különbség van egyes baktériumfajok között abban is, hogy míg pl. a *Staphylococcus aureus* fajokban a peptidoglikán aminocukor fonalainak mindegyik muraminsav-molekulájához kapcsolódik peptid alegység, és így módon a peptidoglikán vázat igen szilárdra tévő sok keresztirányú kötés alakul ki, addig az *E. coli* baktériumok muraminsav-molekuláinak csak mintegy 30%-ához kapcsolódik peptid alegység, ezért a keresztirányú kötések száma kevesebb, a sejtfal vázszerkezete lazább (Pesti, 2001).

A Gram-pozitív baktériumok sejtfalának a vázszerkezete tíz-tizenkettő peptidoglikán fonalból áll, a Gram-negatívaké azonban valószínűleg csak kettőből. A Gram-pozitív baktériumok többségében a peptidoglikán vázszerkezet hézagait és felületét teichoinsavak borítják. A poliszacharidok mellett egyes Gram-pozitív baktériumok sejtfalában (pl. *Streptococcus* és egyes *Staphylococcus* fajokban) található még fehérje antigének is. A *Mycobacterium* sejtfala pedig hosszú szénláncú zsírsavak (mikolsavak) formájában jelentős mennyiségű lipoidot és viasz anyagokat is tartalmaz. A Gram-pozitív baktériumok teichoinsavakkal borított peptidoglikán váza porózus, így a viszonylag nagy molekulájú anyagok számára is könnyen elérhető. Ezért a Gram-pozitív baktériumok

igen érzékenyek a magasabb rendű szervezetek által termelt lizozim iránt (Vácz, 1978).

A Gram-negatív baktériumok sejtfalának peptidoglikán vázszerkezetét kívülről lipoproteid-lipopoliszacharid (LPS) komplexek borítják. A lipoproteid-molekulák közvetlenül kapcsolódnak a peptidoglikán vázhoz. A Gram-negatív baktériumok LPS-e citotoxikus és egyúttal antigén hatású. Az LPS komplex a Gram-negatív baktériumok endotoxinja. A Gram-negatív baktériumok sejtfa komplex morfológiájú. Legkívül a külső membrán, ez alatt egy vékony peptidoglikán-réteg, majd pedig a sejtmembrán következik. A külső membrán részben hasonlít a sejtmembránra, de attól eltérő lipideket, poliszacharidokat és fehérjéket is tartalmaz.

A peptidoglikán vázhoz kapcsolódó lipoproteid- és LPS-komplexek a Gram-negatív baktériumok sejtfalát tömörre, nagyobb molekulák számára átjárhatatlanná teszi. A sejtfa tömörségének kialakulásában kationok, főleg kalciumionok, játszanak szerepet. A tömörség miatt a Gram-negatív baktériumok nem, vagy csak alig érzékenyek a lizozim és a penicillin iránt (Tuboly, 1998). A sejtfa épsége a baktériumsejtek számára létfontosságú.

2.6. A tej összetételének megváltozása a tőgygyulladás hatására

A tőgygyulladás esetén a tej összetétele jelentősen megváltozik, melynek során csökken a tej szárazanyag-tartalma és megváltozik a különböző komponensek aránya. A megváltozott összetételt befolyásolja a gyulladást kiváltó baktérium fajtája, a gyulladás súlyossága, esetleg a vér megjelenése a tejben. A zsírtartalom átlagosan 5–12%-kal csökken, és kb. hasonlóan változik a zsírmentes szárazanyag-tartalom is. A zsírtartalom csökkenése mellett megváltozik a tejsír zsírsav-

összetétele is. Az összes fehérjén belül a kazein mennyisége csökken, a savófehérjék aránya viszont megnő. A laktóztartalom kb. 25%-kal csökken, miközben a makro- és mikroelem-tartalom is megváltozik. Legjelentősebb a változás a kloridionok és a nátriumionok esetében, amelyek koncentrációja másfél-kétszeresére nő a beteg tőgyből származó tejben. Mivel nő a makro- és mikroelemek mennyisége a tej elektromos vezetőképessége is növekedést mutat. *Csapó és mtsai.* (2001) megállapították, hogy a tőgygyulladás során csökken a tej szárazanyag-, laktóz-, kálium-, foszfor-, cink-, és réztartalma, ezzel szemben nő a nátrium-, klorid-, kalcium- vas- és mangántartalma (2. táblázat).

2. táblázat A tej laktóz-, szárazanyag- valamint makro- és mikroelem-tartalmának változása tőgygyulladás hatására

A vizsgált komponens	A vizsgált csoportok a mastitest próba különböző fokozatainak megfelelően				
	-	+	++	+++	++++
Laktóz (g/100 g)	4,92	4,57	3,99	3,42	3,35
Szárazanyag (g/100 g)	11,64	11,44	11,33	10,89	10,82
Kálium (mg/kg)	1327	1169	911	700	627
Nátrium (mg/kg)	372	678	954	1246	1559
Klorid (mg/kg)	1090	1317	1554	1770	1773
Kalcium (mg/kg)	911	975	990	1052	1136
Foszfor (mg/kg)	833	811	742	680	654
Magnézium (mg/kg)	122,3	121,4	119,8	117,4	118,0
Cink (mg/kg)	4,74	4,22	4,06	3,8	3,78
Vas (mg/kg)	1,01	1,9	2,93	3,56	3,11
Réz (mg/kg)	0,322	0,302	0,283	0,266	0,245
Mangán (mg/kg)	0,106	0,131	0,157	0,210	0,198

Az összetétel megváltozása miatt nemcsak a táplálkozásbiológiai értéke, hanem ipari felhasználhatósága is csökken, ide értve a tej hőstabilitását, pufferkapacitását, savó-leadó képességét és az alvadék szilárdságát.

Nagyobb lesz az enzim-, reduktáz-, proteáz- és lipáz aktivitása és a szabadzsírsavak mennyisége. Kisebb lesz a tej zsír- és fehérjetartalma, megváltozik a fehérjefrakciók mennyisége és aránya, csökken a vitamin-, különösen az A- és C-vitamin-tartalma (Horváth, 1982).

2.6.1. A gyulladós tej ipari kihatásai

A gyulladós tőgyet antibiotikummal kell kezelni, majd meg kell várni a szermaradványok kiürülését, hisz a korán forgalomba hozott tej jelentős mennyiségű antibiotikumot tartalmazhat. Bonyolítja a helyzetet, hogy a különböző antibiotikum-féleségek eltérő idő alatt ürülnek, a tejben maradt antibiotikumok jelentős mértékben gátolják az aromatermelő tejsavbaktériumtörzsek szaporodását ennek következtében megnövelik az alvadási időt. Az ilyen tejalvadék lágy, hajlamos a színerézisre sajtgártáskor az alvadékpótlásra, melynek következtében nagyfokú zsír- és fehérjevesztés léphet fel, mindezek mellett nagymértékben csökken az aromaanyagok termelése, gyakoribb kultúracserre válik szükségessé és jelentős lehet az antibiotikumok humán egészségügyi hatása is.

A rendellenes összetételű tej ipari értéke kisebb, a nagyobb csíraszám miatt, magas pH-értéke következtében pedig elszaporodhatnak benne a fokozott csírahidrolízist és proteolízist okozó pszichotrop és termotoleráns csírák (Szakály, 1982). A gyulladós tej táplálkozásbiológiai értéke, a kisebb zsír-, fehérje- és vitamintartalmában rejlik, és rendszerint csökken az esszenciális zsírsavak és aminosavak mennyisége is. A masztitises tőgyből származó tej tisztíthatósága és fölözhetősége – a nagy mennyiségű fehérvérsejtek és gennycsomók miatt – lényegesen nehezebb a tej nagyobb viszkozitása és a benne lévő zsírgolyócskák kisebb átmérője miatt. A kóros összetételű tej hőstabilitása csökken, ezáltal csökken a pasztörözés hatásfoka is, mert

a tejben előforduló pelyhesedés védelmet nyújt az elpusztítani kívánt csíráknak, a nagyobb fehérvérszám pedig a hőközlő berendezésre ráéggve rontja a hőátadás hatásfokát (*Szakály, 1982*).

A rendellenes összetételű tej nagyobb mennyiségben tartalmaz természetes gátló anyagokat, ami gátolja az aromatermelő kultúrátorzsek és a savtermelők életképességét, ennek következtében az oltós alvadási idő megnyúlik, a képződött alvadék szilárdsága és savóleadóképessége pedig csökken. A megnövekedett enzimaktivitás nagyobb reduktázaktivitást és proteínáz aktivitást okoz, mely utóbbi hozzájárul a tej, illetve a tejtermék kellemetlen ízéhez. Még nagyobb kárt okoz a megnövekedett lipázaktivitás, mely a szabad zsírsavak mennyiségét akár 50%-kal is megnövelheti, ami a tej és tejtermék kellemetlen szagát okozhatja. A gyulladással járó tej jelentős hatással lehet a tejtermék minőségére is, ami a tisztátalan szag- és ízhatásban nyilvánul meg, rontja a tejszín habbáverődését, a hab szilárdságát és hajlamosít a léeresztésre. A kóros összetételű tej kultúrákészítésre teljes mértékben alkalmatlan, alapanyagként felhasználva növekszik az alvadási és feldolgozási idő, nagyobb vízkötőképessége miatt az alvadék nehezen dolgozható fel. A vaj esetében az ízhibákon kívül megnyúlik a köpülés ideje és nő az író zsírtartalma, mely kisebb kitermeléshez vezet, morzsalékony és esetenként rosszul kenhető állományt kapunk (*Szakály, 1982*).

A sajt-készítés során a csökkent kazein-tartalom csökkenti a kitermelési százalékot, a lágú porlásra hajlamos és a nagy vízkötőképességű alvadék hatására nő a savó zsír- és fehérjetartalma, esetenként akár duplájára is nőhet a sajtgyártás időtartama. A későbbi laktóz fermentáció következtében a sajtészta túlsavanyodik, állománya krétás, gyakran pépes vagy repedt a lyukazottság, vegyes és zavart íze kesernyés és tisztátalan, eltarthatósági ideje megrövidül. A kóros összetételű tej

hatására a félkemény és kemény sajtok hajlamosabbak a klosztridiumos puffadásra és az ún. fehérrothadásra.

2.7. Vizsgálati eljárások a tőgygyulladás kimutatására

A nyers tej szomatikus sejtszámának mérésére a helyi igényeknek megfelelően sokféle módszert és ezek többféle változatát dolgozták ki és alkalmazzák világszerte.

A legkézenfekvőbb vizsgálati módszer a tőgy telt és kifejt állapotban történő kézi tapintása, valamint az állat általános állapotának megfigyelése (*Horváth, 1982; Merényi és Lengyel, 1996*). Egy másik eljárást képviselnek az istálló próbák vagy helyszíni vizsgálatok, amelyek nem a tej szomatikus sejtszámát mutatják ki, hanem a reagens hatására a sejtmagból kiszabaduló DNS nyálkás konzisztenciájú anyaggá alakul és ennek mennyiségétől függ a reakció erőssége ill. a betegségi állapot foka (*Horváth, 1982*). A gyakorlatban leginkább a California-Mastitis-Test (CMT) hazai változatát, a Mastitest-et alkalmazzák. Az eredményt a vizsgált tej és a hozzáadott reagens színéből, valamint állagából lehet megállapítani. A Mastitest-hez hasonló eljárás a Whiteside- és az Aulendorf-próba (*Szakály, 1962, 1963, 1965, 1982; Merényi és Lengyel, 1996*). A tej elektromos vezetőképességének a megbetegedés hatására bekövetkező változása erősségét jelzi a Mastitisz-detektor (*Takátsy, 1990*). Ennek továbbfejlesztett változata a Mastichek-készülék, ami a tőgynegyedenkénti elektromos ellenállás-értéket automatikusan összehasonlítja és a beállított hányadosnál kisebb eredményt adókat pozitívként jelzi (*Horváth, 1987*). *Facsar és Bán (1992)* egy Mastiindikátor készüléket vizsgáltak és megállapították, hogy a műszer eredményét más irányú vizsgálattal is ki kell egészíteni. A Laborscale

Analyszer segítségével végzett sejtszám meghatározás a nemzetközi gyakorlatban az IDF által ajánlott eljárás. Magyar vonatkozásban *Katona és Szita* (1988) állapították meg, hogy ennek az eljárásnak értéke találati és ismételhetőségi pontosság tekintetében nem különbözik más, nemzetközi gyakorlatban alkalmazott eljárások értékétől. A szomatikus sejtszám-meghatározás laboratóriumi gépesítése azonos idő alatt több minta értékelését teszi lehetővé. Az SCC mikroszkóp alatt, elektronikus részecskeszámlálóval (Coulter-counter technika), vagy fluorooptikai módszerrel (Fossomatic-technika) határozható meg (*Horváth*, 1987, 1983; *Horváth*, 1972; *Schalm és mtsai.*, 1971), használatuk már hosszabb idő óta hazánkban is a mastitisdiagnosztika alapját jelenti. Működési elvüket és kezelési módjukat *Horváth* (1982) tárgyalja.

2.8. Következtetések a szakirodalmi adatok alapján

A tejtermelő tehenek tőgygyulladás polietiológiájú (többféle kórokozó által előidézett) és polifaktoriális (több hajlamosító tényező) állománybetegségnek tekinthető. A tőgygyulladás kialakulása három fő tényező kölcsönhatásától függ: a külső környezet hajlamosító tényezői; a tehen, illetve a tőgy saját védekező rendszereinek működése; a környezeti mikroorganizmusok száma, faji összetétele és az egyes mikroorganizmusok virulenciája.

Tőgygyulladás hatására a tej összetétele jelentősen megváltozik, melynek következtében nemcsak táplálkozásbiológiai értéke, hanem ipari felhasználhatósága is csökken. A megváltozott összetételt befolyásolhatja a gyulladás súlyossága és a gyulladást kiváltó baktérium fajtája is. A D-aminosavak megjelenése a tejben mikrobiális tevékenységnek köszönhető, tekintve, hogy ezen aminosavak a baktériumok sejtfalában és anyagcsere termékeikben is jelen vannak. A technológiai fegyelem

hiánya következtében (pl. első tejsugarak hozzáfejtése, szubklinikai egyedek tejének el nem különítése) is kerülhetnek D-aminosavak az elegytejbe. Feltételeztük ezért, hogy a szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalom változásának vizsgálata alapján a gyulladás mértéke megállapítható és a kiváltó kórokozó elkülöníthető.

3. CÉLKITŰZÉSEK

A disszertáció célkitűzései az alábbiak voltak:

1. A szabadaminosav és szabad D-aminosav-tartalom diagnosztikai értékének vizsgálata tehéntej esetében.

1.1. Az egészséges tehenek első kettő tejsugarának és az első tejsugarakat nem tartalmazó elegytejének szabad D-aminosav-tartalmának vizsgálata.

1.2. Az egészséges és a masztitiszes tehenektől fejt tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmának összehasonlítása.

2. A tőgygyulladást kiváltó baktériumfajok elkülöníthetőségének vizsgálata szabadaminosav- és a szabad D-aminosav-tartalom alapján.

2.1. A mikroba fajok hatása a szabadaminosav-tartalomra.

2.2. A mikroba fajok hatása a szabad D-aminosav-tartalomra.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Tejminták és a mintavétel körülményei

A gyulladós tögyből a tejmintákat 3 déldunántúli tehenészeti telep holstein-fríz teheneitől vettük. Mindhárom holstein-fríz állományt kötetlen tartásmódban tartották. Az egyedek genotípusa, a laktáció száma illetve fázisa nem volt mintavételi kritérium. A takarmányozás TMR (Total Mix Ration)-el történt.

Az egészséges és a masztitiszes egyedek megkülönböztetésére és a gyulladás fokozatainak azonosítására a California-Mastitis-Test (CMT) hazai változatát, a Mastitest-et – a higiéniai rendszabályok betartása mellett – alkalmaztuk. A mintavétel során a tögybimbó lemosása és szárazra törlése után, 70%-os alkohollal megnedvesített vattával fertőtlenítettük a tögybimbó végét. Száradás és egy-két tejsugar kifejése után elvégeztük a mastitest próbát. A próba elvégzéséhez négy, egyenként mintegy 7 cm átmérőjű és 2 cm magas peremű, csészeszerű mélydedessel ellátott tálkát használtunk. A fejés elején, az első tejsugarak kifejése után, tögynegyedenként 2–3 ml tejet fejtünk, majd a tálkát 45 fokos szögben elfordítottuk, hogy a fölösleges tej kicsorogjon. Ezt követően mindegyik csészébe 2–3 ml Mastitest-reagenst (CMT-MilkTest, *Sama Vet A/S, Langeskov, Dánia*) öntöttünk, majd a tálca lassú, kör-körös mozgásával a tejet a reagenssel összekevertük. A reagensben lévő anionaktív nedvesítőszer a tejben lévő fehérvérsejtek nukleinsavával sót képez, mely kicsapódik. A tej és a reagens legmegfelelőbb aránya 1:1–1,5. A tálkát a tej kiöntése után vizet tartalmazó vödörbe többször belemártva tisztítottuk. A próba elbírálásának alapja az elegy állományának, konzisztenciájának és színének változása, mely a tej kémhatását is jelzi (3. táblázat).

A bíborlila vagy bíborkék szín a lúgos, a sárga pedig a savanyú kémhatást mutatta.

3. táblázat A mastitest próba elbírálásának szempontjai

Minősítés	A tej-reagens-elegy
Negatív (-)	az elegy változatlan, szürkés-kék színű
Kétes/Pozitív (+)	kevés átmeneti, nyálkás csomócska
Pozitív (++)	maradandó nyálkás csomók, pelyhek az elegyben
Pozitív (+++)	gyorsan sűrűsödő, de még folyékony; kifejezett nyálkaképzős, gyakori a bíborlila szín
Pozitív (++++)	kocsonyaszerű, moztatás után a csésze közepén csomóba összeálló elegy, mely rendszerint bíborlila

A negatív (-) minták esetében azon egyedek elegytejéből történt a mintavétel, ahol mind a 4 tőgynegyed egészséges volt. Pozitív esetben az egyedek, a tej-reagens elegy viszkozitásának változása alapján, +, ++, +++, +++++ minősítést kaptak a 3. táblázat alapján. A mintavételt 25 egyednél tőgynegyedenként végeztük el.

Annak eldöntésére, hogy a baktériumokban gazdag első tejsugarak tartalmazzak-e D-aminosavakat, 5 tehén minden tőgynegyedének első kettő tejsugarát (egyedenként kb. 10–12 cm³) külön fejtünk, majd miután meggyőződünk arról, hogy az egyed mastitest próba alapján negatív, az első tejsugarak aminosav-összetételét hasonlítottuk ugyanazon egyedek első tejsugarakat nem tartalmazó tejének összetételéhez. A tejmintákat a mintavétel után azonnal jeges vízben hűtöttük, majd két órán belül mélyhűtőpultba raktuk, és ott -25 °C-on tároltuk a minták aminosav-analízisre történő előkészítéséig.

A kísérletbe vont tehének tőgynegyedeiből – a mastitest próba elvégzése után – bakteriológiai vizsgálatra 200 tejmintát küldtünk. Steril műanyag

csőben fogtunk fel 10–12 ml tejsugarat, a mintákat a laboratóriumba érkezésig mélyhűtve (–18 °C) tároltuk. A laboratóriumi vizsgálatok az Országos Állategészségügyi Intézetben (Budapest) történtek.

4.2. Mikrobiológiai vizsgálatok

A laboratóriumi feldolgozás során 0,01 ml tejet szélesztettek 5% juhvért tartalmazó Columbia-agarra (*Merck KgaA, Darmstadt, Germany*). A táptalajok aerob légkörben, 37 °C-on történő inkubálása után 24 majd 48 óra múlva értékelték a tenyészeteket. A legalább 5 db, azonos morfológiájú baktériumtelepet tartalmazó szintenyészetet tekintettek masztitisz-kóroktani szempontból gyanúsnak. A kitenyésztett kórokozó baktériumtörzseket a telepmorfológia, Gram-festés, kataláz-, oxidáz-próba alapján csoportosítva, a biokémiai tulajdonságok vizsgálatán alapuló ATB baktérium-meghatározó rendszer (*bioMérieux sa, Marcy-l'Etoile, France*) megfelelő paneleinek segítségével faji szinten azonosították.

4.3. Kémiai vizsgálatok

4.3.1. A tejminták előkészítése aminosav-analízisre

A minta-előkészítést és az analitikai mérést a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszékén végeztük. A tejmintákat felolvasztás és 30 °C-ra történő felmelegítés után 8000/perc fordulatszámmal 10 percig centrifugáltuk, majd eltávolítottuk a tej alakos elemeit, melyek leülepedtek a centrifugacső aljára, és elvégeztük a tej zsírtalanítását is. Ezt követően 50 cm³ 25 %-os triklór-ecetsavat hozzáadva 20 percig állni hagytuk, az eközben kivált csapadékot 10000/perc fordulatszámmal centrifugáltuk 10 percig. A szabad aminosav-

és a szabad D-aminosav-tartalom meghatározásához a kapott felülúszó pH-ját 7-re, az összes szabad aminosav meghatározáskor pedig 2,2-re állítottuk be 4 M nátrium-hidroxiddal. Az így kapott oldatokat liofilezővel 10 °C-os tálcafűtést alkalmazva beszáritottuk, majd a szabadaminosav-tartalom meghatározásához a beszáritott anyagot 10 cm³ pH = 7 nátrium-acetát pufferben, a szabad D-aminosavak meghatározásakor pedig 1 cm³ bidesztillált vízben oldottuk fel. Az így előkészített mintákat ugyancsak -25 °C-on tároltuk az analízisek megkezdéséig.

4.3.2. Készülékek és vegyszerek

Az összes szabad aminosav meghatározása AminoChrom II. OE-914 típusú aminosav-analizátorral történt. Az elválasztást *Kemochrom 9* típusú gyantával töltött kationcserélő oszlopon (230mm x 4,5mm) végeztük, az aminosavak ninhidrinnel képzett származékaink abszorbanciáját 570 és 440 nm hullámhosszon mértük.

A szabadaminosav- és a szabad D-aminosav-tartalom meghatározása során a származékképzést és analízist MERCK-Hitachi LaChrom HPLC berendezéssel végeztük. A folyadékkromatográfias berendezés az alábbi modulokból állt: L-7250 programozható származékképző és mintaadagoló egység, L-7100 szivattyú, L-7350 oszlop termosztát, L-7480 fluoreszcens detektor és AIA adat-átalakító egység. Az adatgyűjtést és feldolgozást a „D-7000 HPLC System Manager” (HSM) program segítségével végeztük. A minta-előkészítéshez, származékképzéshez és analízishez felhasznált vegyszerek analitikai reagens (a.r.) minőségűek voltak. Az OPA-t, a TATG-t a Sigmától (*St. Louis, USA*) a merkaptotetanolt 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 elució puffereket mono- és dinátrium-hidrogén-foszfátból valamint nátrium-acetátból állítottuk elő. A pH-t nátrium-hidroxiddal állítottuk be.

4.3.3. A szabad D-aminosavak mennyiségének meghatározása

A származékképzés során az aminosav-enantiomerekből *Einarsson és mtsai.* (1987) módszere alapján diasztereomer párokat képeztünk orto-ftálaldehiddel (OPA) és 1-tio- β -D-glükóztetraacetáttal (TATG). A reakció 1,5 ml-es ampullában ment végbe. Az automatikus mintaadagolás során 465 μ l mintát 205 μ l borátpufferben (0,4 M; pH=9,5) kevertük össze 25 μ l reagenssel (8 mg OPA és 44 mg TATG feloldva 1 ml metanolban).

Az így kapott oldat 6 percig állt. A keletkezett reakcióelegyből 20 μ l-t injektáltunk az analitikai oszlopra. A detektálás során a diasztereomerek fluoreszcens jelét mértük (λ_{ex} : 325 nm, λ_{em} : 420 nm).

Az enantiomerek szétválasztása fordított fázisú (125 x 4 mm belső átmérő, 4 μ m részecske méret, Superspher (C8) töltet) analitikai oszlopon történt. A művelet végrehajtásához egy 3 komponensből álló gradiens rendszert alkalmaztunk. Az áramlás sebessége 1 ml/perc volt. A gradiens a 4. táblázat szerint változott az idő függvényében.

4. táblázat Az aminosav-enantiomerek szétválasztására alkalmazott gradiens program

Idő (perc)	Metanol (%)	Foszfát- puffer * (%)	Acetonitril (%)
0	28	72	0
10	28	72	0
40	28	55	17
45	24	36	40
55	24	36	40
57	28	72	0
60	28	72	0

* c = 39 mmol/l, pH = 7,00

4.3.4. A szabad aminosavak mennyiségének meghatározása

A származékképzés során az aminosavak orto-ftálaldehid (OPA) és 2-merkaptóetanol (MeOH) reagenssel gyűrűs származékot képeztek. A reakció körülményei az alábbiak voltak. Az automatikus származékképzés során 465 µl mintát 205 µl borátpufferben (0,4 M; pH = 9,5) kevertük össze 105 µl reagenssel (100 mg OPA feloldottuk 9 ml metanolban, 1 ml borátpufferben, majd ehhez hozzáadtunk 100 µl 3 M 2-merkaptóetanol). Az így kapott oldat 3 percig állt. A keletkezett reakcióelegyből 20 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. A keletkezett származékokat szintén fluoreszcens detektorral detektáltuk

Az aminosavak szétválasztása fordított fázisú (125 x 4 mm belső átmérő, 4 µm részecske méret, LiChrospher (C18) töltet) analitikai oszlopon történt. A művelet végrehajtásához egy 2 komponensből álló gradiens rendszert alkalmaztunk. Az áramlás sebessége 1 ml/perc volt. A szerves oldószer/puffer arány a 5. táblázatban látható gradiens program szerint változott.

5. táblázat A szabad aminosavak szétválasztására alkalmazott gradiens program

Idő (perc)	Metanol (%)	Natrium-acetát puffer * (%)
0	22	78
15	24	76
28	38	62
50	65	35
54	69	31
55	75	25
60	75	25
61	22	78
75	22	78

* c = 50 mmol/l, pH = 7,00

4.4. Az adatok statisztikai értékelése

Az eredmények értékelése SPSS for Windows 10.0 (SPSS Inc., 1999) statisztikai programcsomaggal történt.

Annak eldöntésére, hogy az első tejsugarak és az elegytej szabad D-aminosav-koncentrációja között kimutatható-e statisztikailag igazolható különbség kétmintás független t-próbát végeztünk.

Az egészséges és a mastitest próba fokozatainak megfelelő és a kórokozók általi gyulladással tejminták szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma közti különbséget egytényezős varianciaanalízissel vizsgáltuk. A vizsgált változók átlagértékeinek összehasonlítására Student-Newman-Keuls tesztet használtunk 5%-os konfidencia szinten.

Diszkriminancia-elemzéssel arra kerestünk választ, hogy mely változók (független változók: szabad aminosav, szabad D-aminosav) alapján különböznek leginkább a csoportok (függő változók: mastitest próba fokozatai, baktériumfajok) egymástól, azaz a csoportba való tartozás előrejelezhető-e a független változók egy választott csoportja alapján.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. Az egészséges tehenek első kettő tejsugarának és az első tejsugarakat nem tartalmazó elegytejének szabad D-aminosav-tartalma

A baktériumokban gazdag első két tejsugár négy-hatszor annyi D-Asp-t, D-Glu-t és D-Ala-t tartalmaz, mint az első tejsugarakat nem tartalmazó elegytej (6. táblázat). Fentieken kívül az első tejsugarakból sikerült még D-allo-izoleucint is kimutatni, melyet még nyomokban sem találtunk meg az elegytejben.

6. táblázat Egészséges tehenek első kettő tejsugarának és az első tejsugarakat nem tartalmazó elegytejének szabad D-aminosav-tartalma (mg/100 cm³)¹

D-aminosav	Tejminta		
	Első tejsugarak (n=20)	Elegytej (n=5)	P ²
D-Asp	0,132±0,017	0,021±0,010	0,000
D-Ser	ND*	ND*	-
D-Glu	0,214±0,024	0,053±0,011	0,000
D-Pro	ND*	ND*	-
D-Ala	0,203±0,020	0,043±0,005	0,000
D-Val	ND*	ND*	-
D-allo-Ile	0,061±0,008	ND*	0,000
D-Leu	ND*	ND*	-
D-Lys	0*	ND*	-

ND* A mért aminosav nincs kimutatható mennyiségben jelen.

¹ A mérési eredmények átlaga és szórása.

² A t-próba alapján – az átlagok között – számított szignifikancia érték.

Az általunk mért első tejsugarat nem tartalmazó elegytej D-aszparaginsav-tartalma (0,021 mg/100 cm³), jó egyezést mutat *Bruckner és Hausch* (1990) által közölt eredménnyel (0,017 mg/100 cm³). Az első tejsugarak D-aszparaginsav-tartalmára kapott 0,132 mg/100 g érték közelíti az előző szerzők tejtermékekre kapott eredményeit. Az elegytej D-glutaminsav-tartalmára 0,053 mg/100 cm³ értéket kaptunk, ami valamelyest kevesebb az előző szerzők eredményeinél (0,07 mg/100 g). Az első tejsugarakban mért 0,214 mg/100 cm³ mintegy 40%-a kefirre és a joghurtra kapott eredményeknek. Az elegytej D-alanin-tartalmát 0,043 mg/100 cm³-nek mértük, ami mintegy 10-szerese az *1. táblázatban* szereplő értéknek. Az első tejsugarak D-alanin-tartalma, mintegy fele-kétharmada a kefirre és az aludttejre kapott adatoknak. Az első tejsugarak esetében mért D-allo-izoleucin-koncentráció gyakorlatilag megegyezik a kefirben mért adatokkal.

5.2. Az egészséges és a masztitiszes tehenektől fejt tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma

A *7. táblázat* adataiból kitűnik, hogy a mastitest próba magasabb fokozataiban a szabad aminosavak mennyisége jelentős mértékben megnő. Az +-es minősítésű tej kétszer, a ++-es minősítésű három és félszer, a +++ és ++++-es minősítésű tej pedig öt-öt és félszer annyi szabad aminosavat tartalmaz, mint a normális – a mastitest próba alapján negatívnak minősített – tej. A kettő, a három és a négykeresztes minősítésű tejminták szabadaminosav-összetétele kezd egyre jobban hasonlítani a kolosztrum szabadaminosav-összetételéhez, mint ahogy azt korábban az összes többi tejösszetevő esetében tapasztaltuk (*Csapó, 1996*). A normális tej értékeihez viszonyítva legszembetűnőbb a

növekedés az izoleucin, a leucin, az alanin, az aszparaginsav, a prolin és a glutaminsav esetében. A többi aminosav esetében a viszonylagosan kicsi abszolút mennyiségek miatt a növekedés nem számottevő.

7. táblázat Az egészséges és a masztitiszes tehenektől fejt tej szabadaminosav-tartalma (mg/100 cm³)

Amino-sav	A vizsgált csoportok a mastitest próba alapján					SEM ¹
	- (n=5)	+ (n=5)	++ (n=5)	+++ (n=5)	++++ (n=5)	
Asp	0,12 ^d	0,89 ^c	1,13 ^b	1,39 ^a	1,45 ^a	0,021
Thr	0,12 ^b	0,16 ^b	0,18 ^{a,b}	0,20 ^{ab}	0,24 ^a	0,010
Ser	0,23 ^b	0,27 ^b	0,31 ^b	0,49 ^a	0,52 ^a	0,014
Glu	0,96 ^d	2,53 ^c	3,19 ^b	4,63 ^a	4,71 ^a	0,043
Pro	0,05 ^d	0,09 ^d	0,42 ^c	0,78 ^b	0,89 ^a	0,016
Gly	0,04 ^c	0,06 ^c	0,09 ^b	0,19 ^a	0,22 ^a	0,006
Ala	0,34 ^d	2,18 ^c	3,42 ^b	4,88 ^a	4,92 ^a	0,113
Cys	0,11 ^c	0,17 ^b	0,19 ^b	0,26 ^a	0,27 ^a	0,009
Val	0,67 ^b	0,71 ^b	0,74 ^b	0,81 ^{ab}	0,92 ^a	0,025
Met	0,011 ^c	0,014 ^{bc}	0,017 ^b	0,029 ^a	0,032 ^a	0,002
Ile	0,03 ^d	0,29 ^c	0,35 ^b	0,42 ^a	0,44 ^a	0,010
Leu	0,04 ^d	0,21 ^c	0,38 ^b	0,69 ^a	0,66 ^a	0,014
Tyr	0,09 ^c	0,11 ^{bc}	0,14 ^{ab}	0,17 ^a	0,18 ^a	0,007
Phe	0,10 ^d	0,13 ^{cd}	0,17 ^{bc}	0,21 ^{ab}	0,23 ^a	0,008
Lys	0,28 ^d	0,49 ^c	0,83 ^b	1,14 ^a	1,14 ^a	0,017
His	0,12 ^c	0,25 ^b	0,68 ^a	0,71 ^a	0,89 ^a	0,061
Arg	0,09 ^d	0,19 ^c	0,38 ^b	0,57 ^a	0,62 ^a	0,013
A szabad aminosavak összege	3,40 ^c	8,73 ^d	12,62 ^c	17,56 ^b	18,32 ^a	0,097

A sorokban az azonos indexszel jelölt átlagok szignifikánsan nem különböznek (P>0,05)

¹ Standard hiba

Bár a negatív és a ++++ -es minták között minden esetben szignifikáns a különbség, az egymás melletti kategóriák között már nem egyértelmű a különbség az egyes aminosavak esetében. Ezért annak eldöntésére, hogy a szabad aminosav profil alapján elkülöníthetőek-e a mastitest próba kategóriák, diszkriminancia-analízist végeztünk. Az elemzés során – jelen esetben – négy diszkriminancia függvényt alakítottunk ki. A diszkriminancia függvény egy mesterséges változó, amely a független változók lineáris kombinációja. A diszkriminancia függvények egymásra merőleges, ortogonális elhelyezkedésűek, azaz az egymással vett korreláció nulla. A sajátértékek alapján az első diszkrimináló függvény a variancia 88,8%-át magyarázza (8. táblázat). A diszkriminancia függvények szignifikanciájának tesztelését elvégezve, megállapítható, hogy az első függvény hatása jelentős a sajátérték és a magyarázott variancia alapján, valamint ez a hatás szignifikáns, ugyanakkor a második, harmadik és negyedik diszkriminancia függvények hatása gyenge, a magyarázott variancia szintje alacsony (<6,5%). A Pearson korrelációs együtthatók megmutatják a független változók fontosságát a teljes korreláció alapján. A 8. táblázat adatai alapján megállapíthatjuk, hogy a glutaminsav, a lizin, a leucin, az alanin, a cisztein és a szabad aminosavak összege határozzák meg leginkább a diszkriminancia függvény jelentését, az aszparaginsav és a prolin hatása kevésbé jelentős, a +++ és ++++ -es minták elkülönítése során.

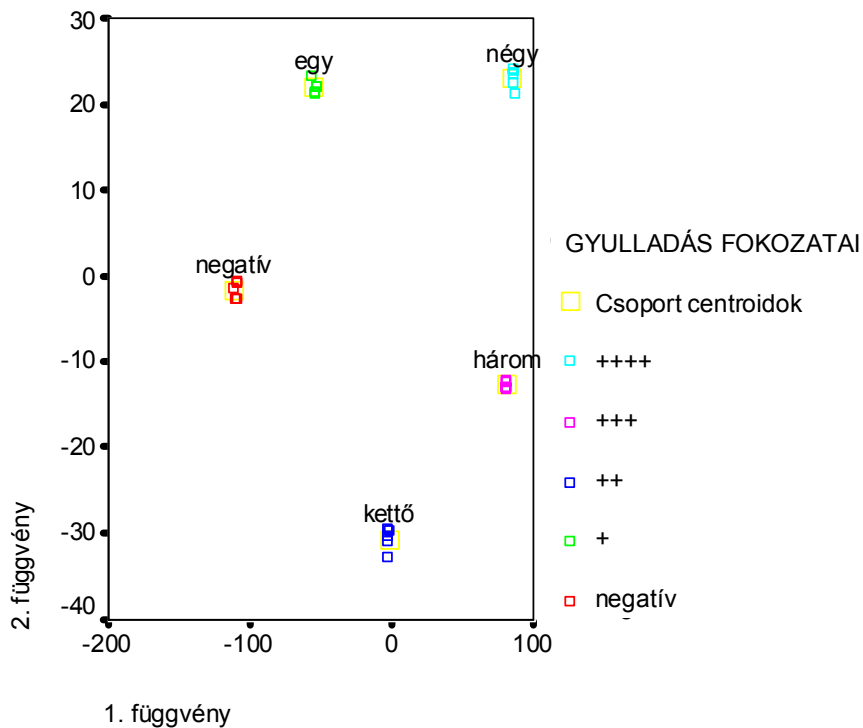
8. táblázat A mastitest próba fokozatainak megkülönböztetésére végzett diszkriminancia-analízis eredményei szabad-aminosav-tartalom (mg/100 cm³) vizsgálata alapján

Statisztikai jellemzők									
Diszkriminancia függvények száma		1.				2.			
Sajátérték		7300,07				531,37			
Relatív variancia%		88,8				6,5			
Kanonikus korreláció		1,000				0,999			
Wilks' lambda		0,000				0,000			
Chi-négyzet		319,34				203,70			
Szabadsági fokok		68				48			
Szignifikancia szint		0,000				0,000			
A 1. diszkriminancia függvény Pearson korrelációs együtthatói									
Változók	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val
Koefficiens	0,25	0,04	0,10	0,40*	0,26	0,09	0,17*	0,09*	0,04
Változók	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	ΣSzAs
Koefficiens	0,08	0,14	0,21*	0,04	0,05	0,26*	0,06	0,17	0,40*
A 2. diszkriminancia függvény Pearson korrelációs együtthatói									
Változók	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val
Koefficiens	0,01	0,03	0,06	0,06	-0,02	0,05	-0,02	0,04	0,04
Változók	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	ΣSzAs
Koefficiens	-0,01	0,02	-0,01	0,00	0,00	-0,10	-0,03	-0,02	-0,00
Csoport centroidok									
1. diszkriminancia függvény					2. diszkriminancia függvény				
Negatív		-110,49			Negatív		-1,69		
+		-54,54			+		22,07		
++		-2,32			++		-30,65		
+++		81,26			+++		-12,80		
++++		86,08			++++		23,07		

* A legmagasabb abszolút korreláció a függvények között

A diszkriminancia-elemzés során kapott *1. ábrán* az egyes pontok a függő változók csoportjainak átlagát mutatják a dimenziók (diszkriminancia függvények) függvényében. Minél nagyobb a pontok szórása egy dimenziót tekintve, annál nagyobb az adott dimenzió megkülönböztető hatása. Az *1. ábra* alapján levonhatjuk azt a

következtetést, hogy a vizsgált csoportok a független változók átlagai alapján jól elkülönülnek, továbbá minden csoport 100%-ban kategorizálható az adott független változók alapján.



1. ábra A centroidok és a megfigyelések ábrázolása a diszkriminancia függvények tükrében az egészséges és a masztitiszes tehenektől fejt tej szabadaminosav-tartalma ($\text{mg}/100 \text{ cm}^3$) alapján

A mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő tejminták szabadaminosav-tartalmának összegét összehasonlítva a különböző tejtermékek (1. táblázat) szabadaminosav-tartalmával megállapíthatjuk, hogy a negatív tejminta szabadaminosav-tartalma gyakorlatilag azonos az 1. táblázatban a nyers tejjel megadott adatokkal. Ugyan még a +++ és ++++-es tejminták szabadaminosav-tartalma sem éri el a kefir illetve az aludttej szabadaminosav-tartalmát, az azonban nyilvánvalóan látszik a

két táblázat adataiból, hogy a szabad aminosavak mennyiségének jelentős mértékű növekedése a gyulladás előrehaladásával magyarázható.

A 9. táblázat az egészséges és a mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő tejminták szabad D-aminosav-tartalmát mutatja mg/100 cm³-ben. A táblázat adataiból megállapítható, hogy a mastitest próba alapján negatívnak minősített tejminták is tartalmaznak szabad D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint. Ezek a mennyiségek (0,021–0,053 mg/100 cm³) azonban szinte elhanyagolhatók a mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő tejmintákhoz viszonyítva. Az +-es minősítésű tejmintákban a D-Asp, D-Glu és D-Ala mellett megjelenik a D-valin, a D-allo-izoleucin, a D-leucin és a D-lizin is. A ++-, +++- és ++++-es mintákból még további két D-aminosavat, a D-szerint és a D-prolint is ki tudtuk mutatni. A többi fehérjeépítő aminosav D-enantiomerje még csak nyomokban sem volt jelen a mintákban.

9. táblázat Az egészséges és a mastitisesz tehenektől fejt tej szabad D-aminosav-tartalma (mg/100 cm³)

D-aminosav	A vizsgált csoportok a mastitest próba alapján					SEM ¹
	- (n=5)	+ (n=5)	++ (n=5)	+++ (n=5)	++++ (n=5)	
D-Asp	0,02 ^d	0,17 ^c	0,23 ^b	0,32 ^a	0,32 ^a	0,008
D-Ser	ND*	ND*	0,02 ^b	0,04 ^a	0,04 ^a	0,003
D-Glu	0,05 ^c	0,74 ^b	0,99 ^b	1,48 ^a	1,53 ^a	0,027
D-Pro	ND*	ND*	0,04 ^b	0,09 ^a	0,10 ^a	0,005
D-Ala	0,04 ^d	0,48 ^c	1,13 ^b	2,32 ^a	2,41 ^a	0,020
D-Val	ND*	0,08 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,12 ^a	0,017
D-allo-Ile	ND*	0,08 ^c	0,10 ^{bc}	0,12 ^{ab}	0,15 ^a	0,006
D-Leu	ND*	0,06 ^c	0,12 ^b	0,17 ^a	0,17 ^a	0,008
D-Lys	ND*	0,11 ^c	0,27 ^b	0,36 ^a	0,37 ^a	0,012
A szabad D-aminosavak összege	0,11 ^e	1,72 ^d	2,99 ^c	4,99 ^b	5,21 ^a	0,018

A sorokban az azonos indexszel jelölt átlagok szignifikánsan nem különböznek (P>0,05)

ND* A mért aminosav nincs kimutatható mennyiségben jelen;¹ Standard hiba

A 7. és a 9. táblázat adataiból tehát levonhatjuk azt a következtetést, hogy a tőgygyulladásos tőgyből származó tej összes szabadaminosav-tartalma és a szabad D-aminosavak abszolút mennyisége a betegség előrehaladtával nő. A szabad D-aminosavak mennyiségének növekedése a 2. ábrán jól látható. Vizsgálatainkból viszont úgy tűnik, hogy nincs lényeges különbség a +++-as és a ++++-es minták szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmának abszolút értékében.

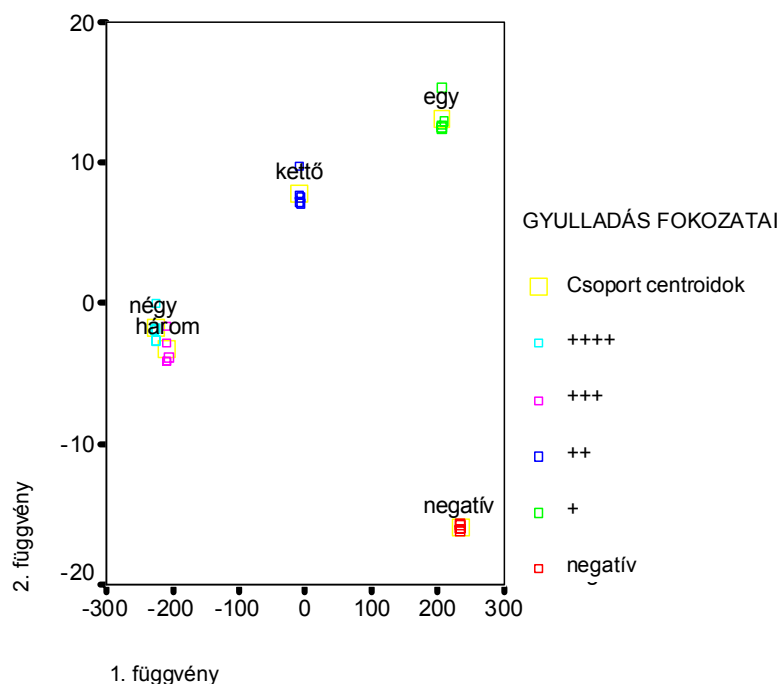
A szabad aminosavak vizsgálatánál részletesen kifejtett diszkriminancia-elemzést ismét elvégeztük, eredményeinket a 10. táblázatban foglaltuk össze. Az analízis során négy diszkriminancia függvényt alakítottunk ki. A diszkriminancia függvények szignifikanciájának tesztelését elvégezve, megállapítható, hogy az első függvény hatása jelentős. A sajátértékek alapján az első diszkrimináló függvény a variancia 99,6%-át tudja magyarázni, tehát a többi függvénynek a csoportok szétválasztásában nincs jelentősége. A 10. táblázat adatai alapján megállapíthatjuk, hogy a szabad D-aminosavak összege, a D-alanin és a D-glutaminsav határozza meg leginkább a diszkriminancia függvény jelentését, amelyek főleg a negatív és az +-es mintákat jellemzik. A +++ és ++++-es minták – a csoport centroidok alapján – alacsony értékkel rendelkeznek mindkét dimenzióban. A 2. dimenzióban az + és ++-es minták a szabad D-aminosavak összege, a D-aszparaginsav változók alapján különíthetők el leginkább, a D-allo-izoleucin, a D-lizin és a D-alanin változók is jelentős hatással bírnak.

10. táblázat A mastitest próba fokozatainak megkülönböztetésére végzett diszkriminancia-analízis eredményei szabad D-aminosav-tartalom (mg/100 cm³) vizsgálata alapján

Statisztikai jellemzők					
Diszkriminancia függvények száma		1.		2.	
Sajátérték		48198,53		125,18	
Relatív variancia%		99,6		0,3	
Kanonikus korreláció		1,000		0,996	
Wilks' lambda		0,000		0,000	
Chi-négyzet		342,38		164,46	
Szabadsági fokok		40		27	
Szignifikancia szint		0,000		0,000	
A 1. diszkriminancia függvény Pearson korrelációs együtthatói					
Változók	D-Asp	D-Ser	D-Glu	D-Pro	D-Ala
Koefficiens	-0,06	-0,03	-0,12	-0,03	-0,22
Változók	D-Val	D-allo-Ile	D-Leu	D-Lys	ΣSzD-As
Koefficiens	-0,01	-0,03	-0,04	-0,06	-0,51*
A 2. diszkriminancia függvény Pearson korrelációs együtthatói					
Változók	D-Asp	D-Ser	D-Glu	D-Pro	D-Ala
Koefficiens	0,49*	-0,03*	0,03	-0,05	-0,24*
Változók	D-Val	D-allo-Ile	D-Leu	D-Lys	ΣSzD-As
Koefficiens	0,14	0,34	0,19	0,27*	0,41
Csoport centroidok					
1. diszkriminancia függvény			2. diszkriminancia függvény		
Negatív	235,34		Negatív	-15,91	
+	206,94		+	13,13	
++	-7,82		++	7,84	
+++	-208,67		+++	-3,26	
++++	-225,80		++++	-1,81	

* A legmagasabb abszolút korreláció a függvények között

A 3. ábra alapján megállapíthatjuk, hogy független változók átlagait tekintve jelentős különbség van a negatív, a + és a ++-es minták között, azonban a +++ és ++++ minták a mért független változók alapján nem különíthetők el. A statisztikai program az esetek 100%-át tudta helyesen kategorizálni az adott független változók alapján.



3. ábra A centroidok és a megfigyelések ábrázolása a diszkriminancia függvények tükrében az egészséges és a masztitiszes tehenektől fejt tej szabad D-aminosav-tartalmának ($\text{mg}/100 \text{ cm}^3$) változása alapján

A 11. táblázat az egészséges és a masztitiszes tehenektől fejt tej szabad D-aminosav-tartalmát mutatja az összes szabad aminosav százalékában. A számolásnál a folyadékkromatográfiával meghatározott szabad D-aminosavak mennyiségét elosztottuk az ioncserés oszlop-kromatográfiával meghatározott összes szabad aminosav mennyiségével, és az eredményt szoroztuk százzal. A táblázat adataiból megállapítható, hogy a szabad D-aminosavak aránya az összes szabad aminosavhoz viszonyítva a negatív illetve az +-es mintáknál a legkisebb, és a betegség fokának növekedésével a legtöbb aminosavnál nő. Kivételt képeznek ez alól a D-leucin és a D-lizin, ahol nem találtunk különbséget a ++-es, +++-es vagy ++++-es minták között.

11. táblázat Az egészséges és a masztitiszes tehenektől fejt tej szabad D-aminosav-tartalma az összes szabad aminosav százalékában (%)¹

D-aminosav ¹	A vizsgált csoportok a mastitest próba alapján					SEM ²
	- (n=5)	+ (n=5)	++ (n=5)	+++ (n=5)	++++ (n=5)	
D-Asp	17,5 ^c	19,0 ^{bc}	20,1 ^{ab}	23,0 ^a	22,0 ^{ab}	0,92
D-Ser	ND*	ND*	6,5 ^a	8,2 ^a	7,7 ^a	0,74
D-Glu	6,2 ^c	29,2 ^{ab}	31,0 ^a	32,0 ^a	32,5 ^a	0,79
D-Pro	ND*	ND*	9,5 ^b	11,5 ^a	11,2 ^a	0,89
D-Ala	12,6 ^d	22,0 ^c	33,0 ^b	47,5 ^a	48,9 ^a	1,03
D-Val	ND*	11,3 ^a	12,2 ^a	11,1 ^a	13,0 ^a	0,79
D-allo-Ile	ND*	27,6 ^b	28,6 ^b	29,6 ^b	34,1 ^a	1,61
D-Leu	ND*	28,6 ^a	31,6 ^a	24,6 ^a	25,8 ^a	1,91
D-Lys	ND*	22,4 ^b	32,5 ^a	32,0 ^a	32,5 ^a	1,81

A sorokban az azonos indexszel jelölt átlagok nem különböznek szignifikánsan (P>0,05)

ND* A mért aminosav nincs kimutatható mennyiségben jelen.

$$^1\text{D-aminosav \%} = \frac{\text{D} - \text{As}}{\text{D} - \text{As} + \text{L} - \text{As}} \cdot 100$$

²Standard hiba

A negatív tejminta D-aminosavainak összege jó közelítéssel egyezik a nyers és a pasztörözött tejre kapott értékkel (0,09-0,24 mg/100 g), hasonlóan *Bruckner és Hausch* (1990) eredményeihez. A mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő D-aminosav-összegek az + és a ++-es tejmintáknál a kefir, az aludttej és a joghurt szintjén maradtak, a +++ és ++++-es mintáknál pedig közelítik a hosszabb ideig érlelt sajtok szabad D-aminosav-tartalmát.

5.3. Különböző bakteriális eredetű tőgygyulladásos tejminták szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma

A gyulladásos tejmintákban nyolcféle kórokozót sikerült a bakteriológiai vizsgálat során azonosítani. Kémiai analízist csak a monokontaminált minták esetében végeztünk. Az azonosított, hazánkban jellemzően tőgygyulladás-patogén mikrobák az alábbiak:

Streptococcus dysgalactiae, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium bovis*, *Arcanobacter pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*.

5.3.1. A mikrobafajok hatása a D-aszparaginsav-, a D-glutaminsav- és a D-alanin-tartalomra

Méréseinket a nyolc baktériumfaj által kiváltott +++ és ++++ mastitest fokozatú tőgygyulladásos tejminták Asp, Glu, és Ala enantiomer párjaira végeztük el (12. és 13. táblázat). Mivel a baktériumok sejtfalának peptidoglikánjaiban és anyagcsere termékeikben e három aminosav-enantiomer pár van jelen a legnagyobb koncentrációban, ezért mennyiségük nagy biztonsággal kimutatható.

A vizsgálatokhoz azért választottuk a +++ és ++++ mintákat, mert korábbi méréseink alapján bizonyítható volt, hogy ezekben a legintenzívebb a bakteriális tevékenység, ennek következtében a legmagasabb a szabad D- és az összes szabadaminosav-tartalom. A +++ és ++++ minták szabad D-aminosav- és szabadaminosav-tartalma szignifikánsan nem különbözik, ezért alkalmasak együttesen az aminosav-tartalom vizsgálatára.

5.3.1.1. A mikrobafajok hatása a szabad D-aminosavak mennyiségére

A 12. táblázat átlagértékei alapján megállapíthatjuk, hogy a negatív tejminta a vizsgált aminosavak tekintetében és azok összegében is, szignifikánsan kevesebbet tartalmaz, mint a kórokozók által kiváltott gyulladós tejminta.

12. táblázat Különböző bakteriális eredetű tőgygyulladásos tejminták D-Asp-, D-Glu-, és D-Ala-tartalma (mg/100 cm³)

	D-aminosav ¹			
	D-Asp (n=5)	D-Glu (n=5)	D-Ala (n=5)	A szabad D-aminosavak összege
Negatív	0,020 ^a ±0,008	0,031 ^a ±0,003	0,026 ^a ±0,006	0,077 ^a ±0,01
Azonosított baktériumfajok a masztitiszes mintákból				
<i>Str. dysgalactiae</i>	0,14 ^{cd} ±0,05	0,22 ^b ±0,09	0,22 ^{bc} ±0,05	0,58 ^b ±0,06
<i>E. coli</i>	0,37 ^e ±0,08	2,59 ^g ±0,11	1,55 ^f ±0,18	4,51 ^f ±0,15
<i>Staph. aureus</i>	0,23 ^d ±0,04	0,59 ^d ±0,02	0,25 ^c ±0,05	1,07 ^{cd} ±0,06
<i>Past. multocida</i>	0,10 ^c ±0,03	0,82 ^e ±0,04	0,29 ^c ±0,06	1,21 ^{cd} ±0,07
<i>Str. uberis</i>	0,62 ^f ±0,11	2,94 ^h ±0,09	0,75 ^d ±0,10	4,31 ^f ±0,11
<i>Corynebact. bovis</i>	0,04 ^b ±0,005	0,47 ^c ±0,07	0,14 ^b ±0,04	0,65 ^b ±0,09
<i>Arcanobact. pyogenes</i>	0,22 ^d ±0,06	1,50 ^f ±0,14	0,66 ^d ±0,07	2,38 ^e ±0,12
<i>Pseud. aeruginosa</i>	0,14 ^{cd} ±0,04	0,66 ^d ±0,05	0,20 ^{bc} ±0,08	1,01 ^c ±0,10

A oszlopokban az azonos indexszel jelölt átlagok nem különböznek szignifikánsan (P>0,05)

¹A mérési eredmények átlaga és szórása.

D-aszparaginsav (D-Asp) mennyiségét értékelve elmondhatjuk, hogy a *Corynebacterium bovis*, *Streptococcus uberis* és az *Escherichia coli* általi gyulladós tej esetében mérhető szignifikáns különbség. Az *Streptococcus uberis* által fertőzött tejnél szignifikánsan nagyobb koncentráció mérhető, mint az összes többi kórokozó tekintetében.

Elemelve a D-glutaminsav- (D-Glu) tartalmat az értékelés lényegesen könnyebb, mint a másik két D-aminosavnál, ugyanis a *Staphylococcus aureus* és a *Pseudomonas aeruginosa* által kiváltott gyulladós tejminták kivételével szignifikánsan igazolható különbségeket kaptunk.

A D-alanin-tartalom (D-Ala) vizsgálata esetén a kórokozók közül egyedül az *Escherichia coli* által fertőzött tej aminosav-tartalma mutat szignifikáns különbséget, a viszonylag magas 1,55 mg/100 cm³ koncentrációval.

A vizsgált aminosavak összege alapján a kórokozók közül az *Arcanobacter pyogenes* által kiváltott kóros összetételű tej különíthető el a masztitiszes tejmintáktól.

5.3.1.2. A mikrobafajok hatása a szabad D-aminosavak arányára

A 13. táblázat átlagértékeit vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a negatív tejminta mindhárom aminosav esetében szignifikánsan különbözik a gyulladós tejmintáktól.

A D-Asp esetében a mikrobafajok közül a *Staphylococcus aureus* és az *Escherichia coli* fajok D-Asp-tartalma szignifikánsan nagyobb, mint a többi csoporté. Azonban a többi fertőzött tejminta között nincs statisztikailag igazolható különbség.

13. táblázat Különböző bakteriális eredetű tőgygyulladásos tejminták D-Asp-, D-Glu-, és D-Ala tartalma az összes aminosav százalékában (%)

	D-aminosav^{1,2}		
	D-Asp (n=5)	D-Glu (n=5)	D-Ala (n=5)
Negatív	13,53 ^a ±0,48	6,13 ^a ±0,89	10,75 ^a ±1,03
Azonosított baktériumfajok a masztitiszes mintákból			
Str. dysgalactiae	22,46 ^b ±1,32	21,83 ^b ±1,05	49,37 ^g ±1,19
E. coli	31,96 ^c ±2,01	41,40 ^g ±0,96	34,47 ^c ±1,82
Staph. aureus	40,94 ^d ±0,98	28,82 ^c ±1,12	38,39 ^d ±1,25
Past. multocida	26,29 ^b ±2,10	47,88 ⁱ ±1,54	43,49 ^{ef} ±1,76
Str. uberis	22,99 ^b ±1,14	34,84 ^e ±1,34	26,26 ^b ±1,32
Corynebact. bovis	23,50 ^b ±1,64	38,43 ^f ±1,78	40,90 ^{de} ±1,32
Arcanobact. pyogenes	25,77 ^b ±1,89	32,36 ^d ±0,95	46,48 ^{fg} ±1,95
Pseud. aeruginosa	25,48 ^b ±1,72	44,88 ^h ±1,23	36,76 ^{cd} ±0,97

$$^1\text{D-aminosav \%} = \frac{\text{D-As}}{\text{D-As} + \text{L-As}} \cdot 100$$

²A mérési eredmények átlaga és szórása.

Az oszlopokban az azonos indexszel jelölt átlagok nem különböznek szignifikánsan (P>0,05)

Tehát a D-Asp% alapján csak a negatív tejminta illetve a *Staphylococcus aureus* és az *Escherichia coli* faj identifikálható. Ezért levonhatjuk azt a következtetést, hogy a vizsgált aminosav nem alkalmas a patogén mikrobák azonosítására.

A csoportok D-glutaminsav-(D-Glu) tartalmának átlagértékeit vizsgálva megállapíthatjuk, hogy az alkalmas lehet a mikroba-fajok azonosítására, mivel a csoportok között a vizsgált aminosav mennyiségében szignifikáns különbség volt.

A D-alanin (D-Ala) átlagértékeinek vizsgálata alapján az alábbi megállapítást tehetjük. A *Streptococcus uberis* kórokozó által kiváltott gyulladással tejszignifikánsan kevesebb D-Ala-t tartalmaz, mint a többi fertőzött tejminta. Ezen aminosav alapján a többi kórokozó azonban nem azonosítható.

5.3.2. A mikroorganizmus fajok hatása a szabadaminosav-tartalomra

A szabad aminosavak vizsgálata ugyanazokból a mintákból történt, amelyekből az enantiomereket mértük. A szabadaminosav-tartalom elemzése során arra kerestük a választ, hogy az egyes mikrobfajok között van-e különbség a szabad aminosavak mennyiségében és arányában.

5.3.2.1. A mikrobafajok hatása a szabad aminosavak mennyiségére

A 14. táblázatot elemezve az egyes kórokozók által kiváltott gyulladással tejszignifikánsan kevesebb aszparaginsav-(Asp) tartalmáról megállapíthatjuk, hogy a negatív tejminta, a *Corynebacterium bovis*, az *Arcanobacter pyogenes* és a *Pasteurella multocida* az összes többi mintától szignifikánsan különbözik, és közöttük is jelentős különbség van. Az *Escherichia coli* és a *Streptococcus uberis* által fertőzött tejminták aszparaginsav-tartalma egymástól illetve az összes többi kórokozó által kiváltott gyulladással tejmintától is jelentősen különbözik.

A szerin-(Ser) tartalmat elemezve megállapítottuk, hogy a negatív tejminta Ser-tartalma jelentősen eltér a többi bakteriális tejmintától. A vizsgált fajokat tekintve a legtöbbet az *Escherichia coli* és a *Streptococcus uberis*, míg a legkevesebbet a *Corynebacterium bovis* által fertőzött tejminta tartalmazta. A szerintartalmat tekintve a baktériumfajok között több esetben szignifikáns különbséget tudunk kimutatni.

A negatív tejminta szignifikánsan kevesebb glutaminsavat (Glu) tartalmaz, mint az összes többi baktériumfaj által kiváltott gyulladós tejminta. Az *Escherichia coli* és a *Streptococcus uberis* által fertőzött minták szabad Glu-tartalma is szignifikánsan különbözik egymástól, és mindegyiké szignifikánsan nagyobb az összes többi nem említett masztitiszes mintánál.

A negatív tejminta hisztidin- (His) tartalma és a patogén mikrobák által kiváltott gyulladós tej esetén szignifikáns eltérés mérhető. Az *Arcanobacter pyogenes*, *Streptococcus uberis* és az *Escherichia coli* általi masztitiszes tej His-tartalma szignifikánsan különbözik egymástól, és az aminosav koncentrációja minták között számottevően nagyobb.

A negatív tejminta glicin- (Gly) tartalma szignifikánsan kisebb, mint az összes többi fertőzött mintánál mért érték. Az *Arcanobacter pyogenes* és az *Escherichia coli* fajok általi masztitiszes tej glicintartalma szignifikánsan nagyobb.

A negatív tejminta szabad arginin- (Arg) tartalma szignifikánsan kisebb, a többi gyulladós mintához viszonyítva. Az *Escherichia coli* és a *Streptococcus uberis* kórokozók által fertőzött tejminták az Arg-tartalomban szignifikánsan nem különböznek egymástól, viszont mindketten szignifikánsan nagyobbak, mint a többi gyulladós tej Arg-tartalma. Ugyancsak szignifikáns különbség van a *Pasteurella multocida* az *Arcanobacter pyogenes* és a *Staphylococcus aureus* fajok által fertőzött tej Arg-tartalmában.

A treonin (Thr) esetében a legtöbbet a *Streptococcus uberis* által kiváltott gyulladós tej tartalmazta, mely szignifikánsan több az összes többi masztitiszes mintánál. Nem volt szignifikáns különbség az *Escherichia coli* és a *Staphylococcus aureus* fajok által kiváltott gyulladós tejminták között viszont mindketten szignifikánsan többet tartalmaztak,

mint a negatív tejminta. A negatív tejminta Thr-koncentrációja számottevően kevesebb.

Az alanin- (Ala) tartalmat elemezve megállapítottuk, hogy az *Arcanobacter pyogenes*, a *Streptococcus uberis* és az *Escherichia coli* kórokozók általi tejminták egymástól szignifikánsan különböznek, és mindhárom minta szignifikánsan több alanint tartalmaz. A negatív tej Ala-tartalma esetében ugyancsak szignifikánsan igazolható különbség mérhető.

A *Streptococcus uberis* és az *Escherichia coli* általi masztitiszes minták tirozin- (Tyr) tartalma egymástól szignifikánsan nem különbözik, de mindkettő szignifikánsan nagyobb a *Staphylococcus aureus* és az *Arcanobacter pyogenes* által fertőzött tejnél, amelyek ugyancsak szignifikánsan többet tartalmaztak tirozinból, mint a negatív tejminta, illetve, mint a nem említett kóros minták. A negatív tejminta esetében szintén szignifikáns különbség mérhető.

A metionin- (Met) tartalmat tekintve megállapítottuk, hogy az *Escherichia coli*, a *Streptococcus uberis* fajok által fertőzött tejminták, egymástól szignifikánsan nem különböznek, viszont mindegyik Met-tartalma szignifikánsan nagyobb a negatív tejmintánál és az összes többi nem említett kóros mintánál. A negatív tejminta Met-tartalma jelentősen kevesebb, mint az összes többié.

A valin- (Val) tartalmat illetően megállapítottuk, hogy a negatív tejminta szignifikánsan kevesebbet tartalmaz az összes többi gyulladásos mintánál. Kimagaslóan nagy Val-tartalmat kaptunk az *Escherichia coli* által fertőzött minta esetében, mely szignifikánsan több, mint a *Streptococcus uberis*-től fertőzött minta és mindkét minta Val-tartalma szignifikánsan nagyobb a többi vizsgált masztitiszes mintánál.

Az *Escherichia coli* és a *Streptococcus uberis* esetében kiváltott gyulladásos minták fenilalanin- (Phe) tartalma egymástól szignifikánsan különbözik, és mindegyik szignifikánsan nagyobb a negatív tejmintánál és az összes többi gyulladásos mintánál, amelyek egymástól szignifikánsan nem különböznek. A negatív minta és a *Corynebacterium bovis* által fertőzött tej között nincs számottevő különbség.

Az izoleucin (Ile) és a leucin (Leu) esetében szignifikánsan legtöbbet az *Escherichia coli*-tól fertőzött tej tartalmazott, ezt követően a *Streptococcus uberis* általi gyulladásos minta izoleucin- és leucintartalma volt a legtöbb, amely mind a negatívtól, mind az összes többi masztitiszes mintától ugyancsak szignifikánsan különbözött. Az összes többi fertőzött minta esetében lényeges különbséget az egyes fajok között nem tudtunk kimutatni.

A negatív tejminta lizin- (Lys) tartalma szignifikánsan alacsonyabb, a *Streptococcus uberis* és az *Escherichia coli*-tól fertőzött tej lizin mennyisége pedig szignifikánsan nagyobb volt az összes többi tejmintáénál. A többi masztitiszes minta között lényeges különbséget nem tudtunk kimutatni.

A szabadaminosavak összege alapján a negatív tejminta megkülönböztethető a kórokozók által okozott masztitiszes tőgyből származó tejmintáktól. A baktériumfajok közül az *Escherichia coli*, a *Staphylococcus aureus* és az *Arcanobacter pyogenes* által fertőzött tejminta különíthető el.

A diszkriminancia-analízis során nyolc függvényt alakítottunk ki, elemezve az analízis eredményeit az alábbi megállapításokat tehetjük.

15. táblázat A kórokozók által kiváltott gyulladásos tejminták megkülönböztetésére végzett diszkriminancia-analízis eredményei szabadaminosav-tartalom (mg/100 cm³) vizsgálata alapján

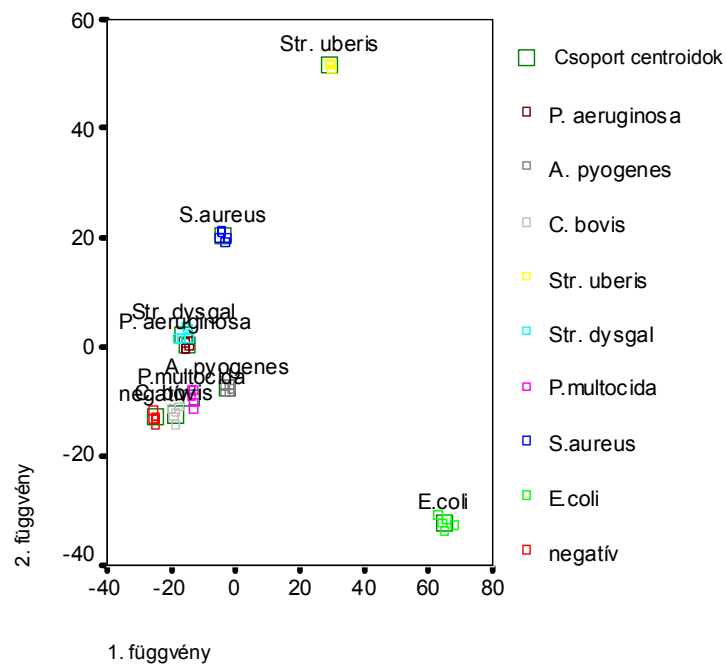
Statisztikai jellemzők								
Diszkriminancia függvény száma		1.			2.			
Sajátérték		945,91			635,32			
Relatív variancia%		56,4			37,9			
Kanonikus korreláció		0,999			0,999			
Wilks' lambda		0,000			0,000			
Chi-négyzet		832,95			613,65			
Szabadsági fokok		120			98			
Szignifikancia szint		0,000			0,000			
A 1. diszkriminancia függvény Pearson korrelációs együtthatói								
Változó	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val	Met
Koefficiens	0,12	0,06	0,22	0,22	0,22	0,27*	0,31*	0,05
Változó	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	Ile	ΣSzAs
Koefficiens	0,17	0,13	0,16	0,24	0,47*	0,20	0,32*	0,46*
A 2. diszkriminancia függvény Pearson korrelációs együtthatói								
Változó	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val	Met
Koefficiens	0,15	0,10	0,08	0,12	0,01	-0,01	-0,02	0,02
Változó	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	Ile	ΣSzAs
Koefficiens	-0,03	0,05	-0,07	0,09	-0,13	0,09	0,06	0,10
Csoport centroidok								
1. diszkriminancia függvény				2. diszkriminancia függvény				
Negatív		-25,15			Negatív		-12,91	
E. coli		65,30			E. coli		-32,20	
S. aureus		-3,73			S. aureus		20,28	
P. multocida		-13,49			P. multocida		-9,40	
Str. dysgalactiae		-15,97			Str. dysgalactiae		2,35	
Str. uberis		29,48			Str. uberis		51,53	
C. bovis		-18,89			C. bovis		-12,31	
A. pyogenes		-2,32			A. pyogenes		-7,69	
P. aeruginosa		-15,24			P. aeruginosa		0,35	

* A legmagasabb abszolút korreláció a függvények között

A teljes varianciát illetően, az első két függvény hatása jelentős (15. táblázat). A változók közül elsősorban a hisztidin és a szabad aminosavak összege határozzák meg leginkább az első diszkriminancia

függvény jelentését, amelyek főleg az *Escherichia coli* által kiváltott gyulladásos mintákra jellemzőek. A kórokozó által fertőzött gyulladásos minta elkülönítése esetén az izoleucin, a valin, az alanin, és a lizin hatása is jelentős lehet.

Az aszparaginsav, a hisztidin és a glutaminsav határozzák meg leginkább a 2. diszkriminancia függvény jelentését, amelyek sokkal inkább a *Streptococcus uberis* által okozott masztitiszes mintát jellemzik, mint a *Staphylococcus aureus*-tól fertőzött mintát.



4. ábra A centroidok és a megfigyelések ábrázolása a diszkriminancia függvények tükrében az egyes mikrobafajok szabadaminosav-tartalma (mg/100 cm³) alapján

Diszkriminancia-elemzést elvégezve 4. ábra alapján megállapíthatjuk, hogy a független változók alapján a *Streptococcus uberis*, az *Escherichia coli* és a *Staphylococcus aureus* fajok által fertőzött masztitiszes minta

jól elkülöníthető. A helyesen kategorizált esetek aránya a keresztvényességi elemzés alapján 97,8%, tekintve, hogy a *Pseudomonas aeruginosa* faj általi gyulladós tejminta esetében 80% volt a találati arány.

5.3.2.2. A mikrobafajok hatása a szabad aminosavak arányára

A Glu mennyisége 14–25% között változik, az Asp és az Ala részaránya 10%-nál kevesebb az egyes kórokozók által kiváltott gyulladós tejmintákban (16. táblázat).

A *Streptococcus dysgalactiae* kórokozó általi gyulladós minta szignifikánsan több Asp-t tartalmaz, mint a negatív tejminta. A *Corynebacterium bovis* és az *Escherichia coli* fajok által fertőzött minták százalékos Asp-tartalma szignifikánsan kevesebb volt a negatív tejmintához viszonyítva. A többi baktériumfajt tartalmazó tejminta, és a negatív tejminta között szignifikáns különbség nem volt.

A Glu-tartalom alapján megállapítható, hogy a gyulladós minták között az *Escherichia coli* által fertőzött tej szignifikánsan különbözik az összes többi masztitiszes mintától és a negatívtól is. Szignifikánsan igazolható különbség mérhető még a *Streptococcus uberis* és a *Pasteurella multocida* fajok által fertőzött minták esetében is. A *Staphylococcus aureus* és a *Streptococcus dysgalactiae* által kiváltott masztitiszes tejek egymástól jelentősen nem, de az összes többi mintától számottevően különböznek.

Az Ala-tartalom alapján elmondható, hogy az *Escherichia coli* faj által kiváltott masztitiszes tej szignifikánsan több aminosavat tartalmaz, mint a negatív tejminta. A baktériumfajok között az *Escherichia coli* és a

Staphylococcus aureus faj általi gyulladós tej Ala-tartalma jelentősen eltér.

A Gly részaránya 8–14% között változik, a Ser mennyisége 5–9%, a His átlagosan 2–4% a vizsgált tejmintákban. A Ser-tartalomban a *Staphylococcus aureus*-tól fertőzött tej jelentősen különbözik az összes többi mintától. A His-tartalomban az *Escherichia coli* által kiváltott masztitiszes tejminta szignifikánsan több, a *Staphylococcus aureus* által kiváltott pedig szignifikánsan kevesebb aminosavat tartalmaz, mint a negatív tejminta. A Gly-tartalom alapján elmondható, hogy a *Streptococcus uberis* okozta masztitiszes tej szignifikánsan különbözik az összes tejmintától.

A *Staphylococcus aureus* által okozott gyulladós tőgyből fejt tej Tyr- és Thr-tartalma szignifikánsan különbözik az összes többi mintától. A Thr-tartalomban az *Arcanobacter pyogenes* és az *Escherichia coli* okozta masztitiszes tejminták egymástól nem, de az összes többi mintától szignifikánsan különböznek.

Az Arg-tartalom alapján megállapítható, hogy a *Staphylococcus aureus* és a *Pasteurella multocida* okozta masztitiszes tejminták között jelentős különbség mérhető, amelyek az összes többi tejminta Arg-tartalmától is szignifikánsan különböznek. A Met-tartalomban a tejminták között a *Pasteurella multocida* által fertőzött tej kivételével nincs jelentős különbség. A Phe-tartalom vizsgálata esetén megállapíthatjuk, hogy az *Escherichia coli* által okozott gyulladós tőgyből fejt tej Phe-tartalma szignifikánsan különbözik az összes többi tejmintától.

A *Streptococcus dysgalactiae* okozta tejminta Val-tartalma szignifikánsan különbözik az összes többitől.

A *Pseudomonas aeruginosa* által kiváltott masztitiszes tej szignifikánsan több Lys-t tartalmaz, mint az összes többi tejminta. A *Staphylococcus aureus*, az *Arcanobacter pyogenes*, a *Streptococcus uberis*, a *Corynebacterium bovis* által kiváltott gyulladásos tőgyből származó tej Lys-tartalma szignifikánsan nőtt a negatív mintához képest, azonban a fajok között nincs szignifikáns különbség. A *Corynebacterium* faj által kiváltott kórós elváltozású tej kivételével mindegyik szignifikánsan több Leu-t tartalmaz, mint a negatív tejminta. A *Streptococcus uberis* és az *Escherichia coli* infekció következtében a tej Ile-tartalma szignifikánsan nagyobb a többi fajhoz viszonyítva, azonban e két faj Ile-tartalmában nincs jelentős különbség.

A szakirodalmi eredményeket áttanulmányozva rendkívül kevés utalást találtunk arra vonatkozóan, hogy a tőgygyulladásnak, a baktériumoknak illetve az összecsíraszámnak, milyen hatása van a tej D-aminosav-tartalmára. Több szerző vizsgálta a kultúrák hatására bekövetkező D-aminosav változást (*Palla és mtsai.*, 1989; *Bruckner és Hausch*, 1990), de olyan irodalmi adattal, ami a tőgygyulladás hatására bekövetkező megnövekedett D-aminosav-tartalmat tárgyalja nem talákoztunk. Ugyancsak nem találtunk adatot arra vonatkozóan, hogy van-e különbség a tőgygyuladást okozó baktériumfajok D-aminosav termelésében.

Saját korábbi eredményeinkhez hasonlítva az értékeket, mikor a tőgygyulladás kóroktanától függetlenül vizsgáltuk a mastitest próba alapján minősített tejmintákat, megállapíthatjuk, hogy a vizsgált három D-aminosav tekintetében a minták jó egyezést mutatnak. Eredményeinket a korábban kolosztrumra kapott eredményekhez (*Csapó*, 1996) hasonlítva megállapítható, hogy a tőgygyulladásos tejminták

szabadaminosav-tartalma gyakorlatilag megegyezik a kolosztrum szabadaminosav-tartalmával. *Gandolfi és mtsai.* (1992) a D-alanin-tartalmat a bakteriális szennyezettség ellenőrzésére javasolják felhasználni. Eredményeink alapján, ezzel egyezően és ezt kiegészítve megállapíthatjuk, hogy a D-alanin mellett az általunk vizsgált D-aszparaginsav és a D-glutaminsav is alkalmas a bakteriális szennyezettség és a gyulladás jelzésére.

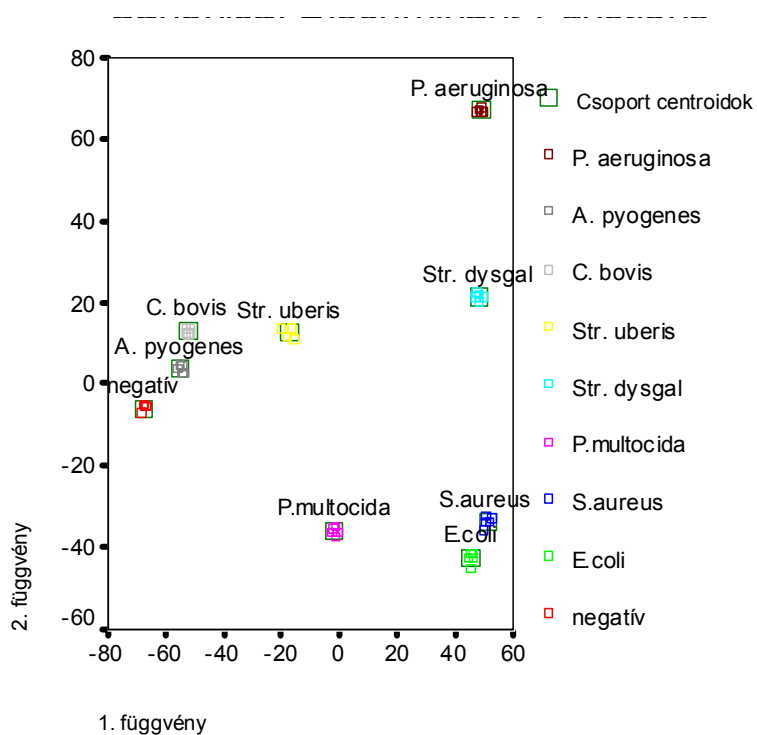
Abból a célból, hogy megtudjuk, hogy a csoporthoz (baktériumfajok) való tartozás, hány százalékban becsülhető az adott független változókkal – a mért szabad aminosav koncentráció alapján – diszkriminancia-analízist végeztünk (*17. táblázat*). Diszkriminancia-elemzést elvégezve nyolc függvényt alakítottunk ki. Az első kettő függvény hatása jelentős a magyarázott variancia alapján (*17. táblázat*).

17. táblázat A kórokozók által kiváltott gyulladáshoz tejminták megkülönböztetésére végzett diszkriminancia-analízis eredményei szabadaminosav-tartalom (%) alapján

Statisztikai jellemzők							
Diszkriminancia függvény száma		1.			2.		
Sajátérték		2774,27			1325,76		
Relatív%		54,1			25,9		
Kanonikus korreláció		1,000			1,000		
Wilks' lambda		0,000			0,000		
Chi-négyzet		1345,53			1091,82		
Szabadsági fokok		120			98		
Szignifikancia szint		0,000			0,000		
A 1. diszkriminancia függvény Pearson korrelációs együtthatói							
Változó	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val
Koefficiens	0,03	0,03	-0,01	-0,33*	-0,08	-0,02	-0,06
Változó	Met	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg
Koefficiens	0,00	0,14	0,08	0,06	0,11	0,01	0,01
A 2. diszkriminancia függvény Pearson korrelációs együtthatói							
Változó	Asp	Thr	Ser	Glu	Gly	Ala	Val
Koefficiens	0,14	-0,04	0,10	0,06	-0,08	-0,06	0,04
Változó	Met	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg
Koefficiens	-0,01	-0,06	-0,04	-0,04	0,23*	0,02	-0,13
Csoport centroidok							
1. diszkriminancia függvény				1. diszkriminancia függvény			
Negatív		-67,45		Negatív		-5,71	
E. coli		45,36		E. coli		-42,50	
S. aureus		51,13		S. aureus		-33,70	
P. multocida		-1,66		P. multocida		-35,92	
Str. dysgalactiae		48,14		Str. dysgalactiae		21,55	
Str. uberis		-17,28		Str. uberis		12,64	
C. bovis		-52,27		C. bovis		12,93	
A. pyogenes		-54,87		A. pyogenes		3,81	
P. aeruginosa		48,91		P. aeruginosa		66,90	

* A legmagasabb abszolút korreláció a függvények között

Az 5. ábra alapján megállapíthatjuk, hogy a csoport centroidokat tekintve a kórokozók már jobban elkülönülnek egymástól. A *Pasteurella multocida*, a *Pseudomonas aeruginosa* és a *Streptococcus dysgalactiea* által fertőzött tejminták a vizsgált változók alapján jól elkülöníthetők a többi kórokozótól. A független változók közül a glutaminsav és a lizin hatása jelentős. Az *Escherichia coli* és a *Staphylococcus aureus* fajok által kiváltott masztitiszes minták egymástól nem, de az összes többi kórokozótól jól elkülöníthetők. A helyesen kategorizált esetek aránya a keresztvényességi elemzés alapján is 100%-os.



5. ábra A centroidok és a megfigyelések ábrázolása a diszkriminancia függvények tükrében az egyes mikrobafajok szabadaminosav-tartalma (%) alapján

6. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

6.1. A tőgygyulladás hatása a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára

Vizsgálataink igazolták, hogy van összefüggés a mastitisz fokozatai és a tejben található összes szabad és szabad D-aminosav mennyisége között.

A gyulladással szorosan összefüggő tej összes szabad D-aminosav-tartalma és a szabad aminosavakon belül a szabad D-aminosavak részaránya a betegség előrehaladtával nő. Vizsgálatainkból úgy tűnik, hogy nincs lényeges különbség a +++ -es és a ++++-es minták szabad D-aminosav-tartalma között sem abszolút értékben, sem az aminosavak egymáshoz viszonyított arányában. A mastitest próba alapján negatívnak minősített tejminták és az elegytej is tartalmaz szabad D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint. Az így kapott mennyiségek (0,021–0,053 mg/100 cm³) azonban elhanyagolhatók a mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő tejmintákhoz viszonyítva. Valószínűsíthető, hogy az elegytej D-aminosav-tartalmát okozhatja egyrészt a baktériumokban gazdag első tejsugarak hozzáfejtése a tejhez, másrészt a tőgygyulladást okozó baktériumok jelenléte, azok anyagcseretermékei, illetve a baktériumok pusztulása után a sejtfalban lévő peptidoglikánok D-aminosav-tartalma.

A szabad aminosav-tartalom alapján a mastitest próba fokozatainak megfelelő tejminták egymástól jól elkülöníthetők. A kettő-, három- és a négykeresztes minősítésű tejminták szabadaminosav-összetétele kezd egyre jobban hasonlítani a kolosztrum szabadaminosav-összetételére.

Összességében megállapíthatjuk, hogy a szabadaminosav és szabad D-aminosav-tartalom együttes mérésével a tőgygyulladás előrehaladásának méretéke előrejelezhető.

6.2. A baktériumfajok hatása a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára

A szabad D-aminosavak abszolút mennyisége és aránya alapján is megállapítottuk, hogy a negatív tejminták mindhárom enantiomer tekintetében jelentősen eltérnek a gyulladással tejmintáktól. Vizsgálataink arra utalnak, hogy az enantiomerek közül a D-Glu százalékos mennyisége alkalmas lehet a baktériumfajok azonosítására, mivel értéke számottevően különbözik az egyes mikrobák okozta masztitiszes mintákban. A baktériumfajok D-Asp és D-Ala abszolút mennyisége alapján néhány baktériumfaj azonosítása lehetővé válhat, a D-Glu alapján két kórokozó által fertőzött tej kivételével szignifikánsan igazolható különbségeket kaptunk. A vizsgált D-aminosavak alkalmasak a tej bakteriális szennyezettségének jelzésére, azonban a gyulladást kiváltó kórokozók azonosítása ezen változók alapján nem lehetséges.

A szabadaminosav-tartalom vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a negatív tejmintában a szabad aminosavak abszolút mennyisége – a fenilalanin-tartalmat kivéve – szignifikánsan különbözik a baktériumfajok okozta masztitiszes tej szabadaminosav-tartalmától. A szabad aminosavak összegét tekintve csak a negatív tejminta különíthető el. A szabad aminosavak aránya alapján levonhatjuk azt a következtetést, hogy az egyes baktériumfajok között nincs szignifikánsan igazolható különbség az aminosavak arányában. Vannak azonban olyan szabad aminosavak, melyek részaránya jellemző az adott mikrobafajra. Mérési eredményeink arra utalnak, hogy a szabad aminosavak aránya alapján a fertőzött tejminták jobban elkülöníthetők.

Vizsgálataink felhívják a figyelmet arra is, hogy a nagy baktériumszámú tej jelentős mennyiségű D-aminosavat tartalmaz, ami – mivel a D-aminosavak íze más, mint az L-aminosavaké – hatással lehet a belőle előállított tejtermékek minőségére.

Az elegytej D-aminosav-tartalmának vizsgálatával fel tudjuk hívni a figyelmet az állomány tögyegészségügyi helyzetének romlására, ugyanis a D-aminosavak jelenléte bakteriális fertőzöttségre utal, továbbá a szabad aminosavak és szabad D-aminosavak koncentrációjának mérésével a gyulladás mértéke előre jelezhető.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Az első tejsugarak szignifikánsan több D-aminosavat tartalmaznak, mint az elegytej, ami a bakteriális tevékenységnek tulajdonítható.

A mastitest próba fokozatainak megfelelően nő az összes szabad és a szabad D-aminosav mennyisége a tejben.

A szabadaminosav-tartalom alapján a mastitest próba fokozatai elkülöníthetőek, a szabad D-aminosav-tartalom alapján a +++ és ++++-es minták nem különíthetőek el.

Az egyes kórokozók által kiváltott gyulladós tőgyből származó tej szabadaminosav-tartalma szignifikánsan nem különbözik, vannak azonban olyan aminosavak, melyek részaránya jellemző az adott mikrobafajra.

A tőgygyulladást kiváltó kórokozók csak részben különíthetőek el a szabadaminosav-tartalom alapján.

A D-alanin-tartalom mellett, a D-aszparaginsav- és D-glutaminsav-tartalom is alkalmas a tej bakteriális szennyezettségének jelzésére.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A napjainkra jellemző nagyüzemi szarvasmarha-tenyésztésben általánossá vált masztitisz elleni védekezésre a tenyésztők jelentős összegeket fordítanak. E költségek csökkentése, és a masztitisz elleni védekezés stratégiájának egyszerűbb meghatározása érdekében szükségessé vált olyan módszerek kidolgozása, melyek alkalmasak a masztitiszgyanús egyedek korai felismerésére, ezáltal a kezelést – betegség létrejöttében legdominánsabb mikroorganizmus faj elleni célirányos gyógyszerekkel – időben meg lehet kezdeni. Egy ilyen eljárás elengedhetetlen a gyulladást kiváltó mikrobafaj gyors és pontos meghatározása.

Vizsgálataink során arra kerestük a választ, hogy a tőgygyulladás előrehaladásának mértékével hogyan változik a termelt tej szabadaminosav- és D-aminosav-tartalma, továbbá lehetséges-e a gyulladással járó szabad D-aminosav- és szabadaminosav-koncentrációja alapján a betegséget kiváltó mikrobafaj azonosítása. Kísérletünkhöz a tejmintákat három déldunántúli tehenészeti telep szolgáltatta. Az egészséges és a masztitiszes egyedek megkülönböztetésére és a gyulladás fokozatainak azonosítására a California-Mastitis-Test (CMT) hazai változatát, a Mastitest-et alkalmaztuk.

Vizsgálataink bebizonyították, hogy a gyulladással járó tőgyből származó tej összes szabad D-aminosav-tartalma és a szabad aminosavakon belül a szabad D-aminosavak részaránya a betegség előrehaladtával nő. A mastitest próba alapján negatívnak minősített tejminták is tartalmaznak szabad D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint. Az így kapott mennyiségek azonban szinte elhanyagolhatók a mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő tejmintákhoz viszonyítva.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az elegytej D-aminosav-tartalmát okozhatja egyrészt a baktériumokban gazdag első tejsugarak hozzáfejeése, másrészt a tőgygyulladást okozó baktériumok jelenléte, azok anyagcseretermékei, illetve a baktériumok pusztulása után a sejtfalban lévő peptidoglikánok D-aminosav-tartalma.

A bakteriológiai vizsgálat során nyolc baktériumfajt azonosítottunk, így aminosav-vizsgálataink ezen kórokozók okozta masztitiszes tejmintákra terjedtek ki. Méréseinket a baktériumok sejtfalában és anyagcseretermékeiben legjellemzőbb három enantiomer-párra a D-aszparaginsavra, a D-glutaminsavra és D-alaninra szűkítettük le. Vizsgálataink megbízhatóságát statisztikai módszerekkel is alátámasztottuk.

Kísérleteink során megállapítást nyert, hogy a negatív tejminta D-aminosav-tartalma – az enantiomerek részarányában és összegében is – szignifikánsan különbözik a vizsgált kórokozók által kiváltott masztitiszes tej D-aminosav-tartalmától. A baktériumfajok által kiváltott gyulladós tejminták vizsgálata során az – enantiomerek közül – a D-Glu-tartalom esetében kaptunk szignifikánsan igazolható különbségeket. A vizsgált D-aminosavak alkalmasak a tej bakteriális szennyezettségének jelzésére, azonban a gyulladást kiváltó kórokozók azonosítása ezen változók alapján nem lehetséges.

A szabadaminosav-tartalom vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a negatív tejmintában a szabad aminosavak abszolút mennyisége – a fenilalanin-tartalmat kivéve – szignifikánsan különbözik a baktériumfajok okozta masztitiszes tejek szabadaminosav-tartalmától. A szabad aminosavak összegét tekintve csak a negatív tejminta különíthető el. A szabad aminosavak aránya alapján levonhatjuk azt a következtetést, hogy az egyes baktériumfajok között nincs szignifikánsan igazolható

különbség a aminosavak arányában. Vannak azonban olyan szabad aminosavak, melyek részaránya jellemző az adott mikroba fajra.

Vizsgálataink felhívják a figyelmet arra, hogy a nagy baktériumszámú tej jelentős mennyiségű D-aminosavat tartalmaz, ami – mivel a D-aminosavak íze más, mint az L-aminosavaké – hatással lehet a belőle előállított tejtermékek minőségére.

Az elegytej D-aminosav-tartalmának vizsgálatával fel tudjuk hívni a figyelmet az állomány tőgyegészségügyi helyzetének romlására, ugyanis a D-aminosavak jelenléte bakteriális fertőzöttségre utal, továbbá a szabad aminosavak és szabad D-aminosavak koncentrációjának mérésével a gyulladás mértéke előre jelezhető.

SUMMARY

Breeders spend significant amount of money for the protection against mastitis, a disease become common in the nowadays typical large-scale cattle farming. In order to reduce these costs as well as to determine a simpler strategy of protection against mastitis, it became necessary to work out methods that are suitable for the early detection of the mastitis suspicious entities, and so the treatment can be started in time with specific medicines targeting the most dominant microorganisms causing the disease. For this, quick and accurate determination of the microbe species causing the inflammation is inevitable.

During our researches we tried to find an answer how free amino acid and D-amino acid content of the produced milk change along with the degree of mastitis; furthermore if it is possible to specify the microbe species causing the disease based on the free D-amino acid and free amino acid concentration of the milk. The samples for our experiment were provided by three South-Transdanubian cattle farms. For the distinction between healthy and mastitic entities and for the identification of the degrees of the inflammation, the domestic version of the California-Mastitis-Test (CMT), the Mastitest were applied.

Our examinations proved that total free D-amino acid content and the proportion of the free D- amino acids within the free amino acids in the mastitic milk increase as the disease is developing. Mastitis-negative samples also contain free D-asparatic acid, D-glutamic acid and D-alanine. These amounts, however, are practically negligible compared to the milk samples with various degrees of the mastitest.

Based on our results it can be established that the presence of the D-amino acid in the mixed milk can be attributed on one hand to adding the first two milk flows rich in bacteria to the milk; on other hand the presence of bacteria causing mastitis and their metabolism products, as well as D-amino acid content of the peptidoglycans present in the cell walls after the destruction of the bacteria.

During the microbial analysis eight bacterial species were identified in the mastitic milk samples, therefore our amino acid examination focused on milk samples where mastitis was caused by these bacteria. We narrowed down our measurements to three enantiomer pairs characteristicly found in cell walls and also in the of the metabolism product of bacteria, that is, D-Aspartic acid, D-Glutamic acid and D-Alanine. We supported the reliability of our results with statistical methods as well.

During our research we established that the D-amino acid content of the negative milk sample is significantly different – both in the proportions and total amount of the enantiomers - from the D-amino acid content of mastitic milk where mastitis was triggered by the examined bacteria. During the analysis of the infected milk samples we obtained significant differences in case of the D-Glu content. The examined D-amino acids are suitable for the indication of the bacterial contamination of the milk, identification of the microbes causing the inflammation is not possible on the basis of these variables, however.

Based on the examination of the free amino acid content we established that the absolute amount of the free amino acids in the negative milk sample – except the Phe content - significantly differs from the free amino acid content of the mastitic milks. Considering the total amount of free amino acids only the negative sample can be identified. Based on the

proportion of the free amino acids the conclusion can be drawn that there are no significant differences between the individual bacterium species concerning the proportion of the amino acids. However, there are such amino acids proportion of which is typical of the given microbe species. Our examinations also draw the attention that the high germ number milk contains considerable amount of D-amino acid what – as D-amino acids have a different taste than the L-amino acids – can affect the quality of the dairy products manufactured from the milk.

By the examination of D-amino acid content of the mixed milk we can draw the attention to the deterioration of the udder hygienic situation of the stock, since the presence of D-amino acids indicates a bacterial infection, and by measuring the concentration of free amino acids and free D-amino acids the degree of the inflammation can be indicated.

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 Kémiai-Biokémiai Tanszék minden munkatársának önzetlen és odaadó szakmai segítségükért.

Hálásan köszönöm Dr. Baitner Károly professzor úrnak és Dr. Tornyos Gábornak a disszertáció készítése során nyújtott építő szándékú kritikai megjegyzéseit, mellyel hozzájárultak dolgozatom színvonalának emeléséhez.

Külön köszönettel tartozom Dr. Tornyos Gábornak a mintagyűjtésben való közreműködéséért és önzetlen segítségéért.

Hálás köszönettel tartozom Dr. Abonyi Tamás szakmai tanácsaiért, fáradozásáért.

Köszönettel tartozom Dr. Jánosi Szilárdnak az Országos Állategészségügyi Intézet munkatársának a bakteriális vizsgálatok elvégzéséért és értékes tanácsaiért.

Köszönettel tartozom Lengyel Gabriellának az irodalmi feldolgozásban nyújtott 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. Affi, Y.A. (1967): The effects of some mechanical properties of the milking machine on leukocyte counts in milk. *Neth. Milk Dairy J.* 21. 98-103.
2. Ahmed, M.E.S. – Ali, L. – Nagi, G.M. – El Sagheer Ahmed, M. (1988): Teat shape and size in relation to subclinical mastitis in Friesian cows. *Egyptian Journal of Veterinary Science* 25. (1) 77-83.
3. Ali-Vehmas, T. – Vikerpuur, M. – Fang, W. – Sandholm, M. (1997): Giving selenium supplements to dairy cows strengthens the inflammatory response to intramammary infection and induces a growth-suppressing effect on mastitis pathogens in whey. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 44. (9-10) 559-57.
4. Aziz, E.S. – Klesius, P.H. – Frandsen, J.C. (1984): Effects of selenium on polymorphonuclear leucocyte function in goats. *Am. J. Vet. Res.* 45. 1715-1718.
5. 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.
6. 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.
7. Bakken, G. (1981): relationship between udder and teat morphology, mastitis and milk production in norwegian red cattle. *Acta Agric. Scand.* 31. 28.
8. Baldi, A. – Cheli, F. – Monfardini, E. – Pinotti, L. – Dell’Orto, V. – Piva, G. (ed.) – Bertoni, G. (ed.) – Masoero, F. (ed.) – Bani, P. (ed.) (1999): Effects of supplementation of vitamin E and different energy sources on periparturient dairy cows. *Recent progress in animal production science. 1. Proceedings of the A.S.P.A. XIII. Congress, Piacenza, Italy, 21-24 June, 416-418.*
9. Bender, A.E. – Krebs, H.A. (1950): The oxidation of various synthetic α -amino acids by mammalian D-amino acid oxidase, L-amino acid oxidase of cobra venom and the L- and D-amino acid oxidases of *Neospora crassa*. *Biochem. J.*, 46. 210-219.
10. Bender, D.A. (1985): *Amino Acid Metabolism*, Chichester/New York, Wiley 2nd ed.
11. Berg, C.P. (1959): Utilization of D-amino acids. In *Protein and amino acid nutrition*. ed. A.A. Albanese, 57-96. New York, Academic.
12. Bour, R. (1995): *Analyse der Eutergesundheit in mittelgrossen Milchkuhbetrieben unter besonderer Berücksichtigung des Beratungserfolges*. Vet. Med. Diss., Giessen.
13. Boyne, R. – Arthur, J.R. (1979): Alternations of neutrophil function in selenium-deficient cattle. *J. Comp. Path.* 89. 151-158.
14. Breuer, F.J. (1989): *Vergleichende Untersuchungen über die Eutergesundheit in Betrieben mit unterschiedlichen Zellgehalten in der Anlieferungsmilch unter besonderer berücksichtigung der gezielten Erzeugerberatung*. Vet. Med. Diss., Giessen.

15. 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.
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. Carroll, E.J. (1977): Environmental factors in bovin mastitis. *J. American Vet. Med. Ass.* 170. 1143-1148.
19. 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.
20. Coffey, E.M. – Vinson, W.E. – Pearson, R.E. (1986): Potential of somatic cell count concentration in milk as a sire selection criterion to reduce mastitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 69. 2163-2172.
21. Corrigan, J.J. (1969): D-amino acids in animals. *Science*, 164. 142-149.
22. Csapó J. (1996): Kérődző háziállataink kolosztrum- és tejösszetétele, és néhány összetevő analitikája. Akadémiai doktori disszertáció. 171.
23. Csapó J. – Csapó-Kiss Zs. – Varga-Visi É. – Pohn G. – Pétervári E. (2001): Élelmiszerek D-aminosav-tartalma. *Tejgazdaság*. 1. 1-11.
24. 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.
25. 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.
26. Dakin, H.D. (1908): Note on the relative rate of absorption of optically isomeric substances from the intestine. *J. Biol. Chem.*, 4. 437-439.
27. Dixon, M. – Kenworthy, P. (1967): D-aspartate oxidase of kidney. *Biochem. Biophys. Acta*, 146. 54-76.
28. Dohy, J. (1999): A tőgyegészség genetikai vonatkozásai. *Tejgazdaság* LIX (1) 1-16.
29. Düring, F. (1987): Untersuchungen zur Gesundheitssituation in Schleswig-holsteinischen Milchsviehherden. *Agrar. Diss.*, Kiel.
30. Einarsson, S. – Folestad, S. – Josefsson, B. (1987): Separation of amino acid enantiomers using precolumn derivatization with o-phthalaldehyde and 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -glucopyranoside. *J. Liquid Chrom.*, 10. 1589.
31. Emanuelson, U. – Daniell, B. – Philipsson, J. (1988): Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell count, and milk production estimated by multiple trait restricted maximum likelihood. *J. Dairy Sci.* 71. 467-476.

32. Erskine, R.J. – Eberhart, R.J. – Scholz, R.W. (1990): Experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in selenium-deficient and selenium supplemented dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 51. 1107-1111.
33. Facsar I. – Bán I. (1992): A tőgygyulladás korai felismerését elősegítő új típusú hordozható elektronikai mérőműszer. *Magyar állatorvosok lapja.* 47. 8. 418-422.
34. Facsar, I. (1980): Ipari szerevezésű mélyalmos tehenészeti telepek tejhigiéniai és tőgyegészségügyi értékelése. *Állattenyésztés és Takarmányozás* 6. 495-502.
35. Felbeck, H. (1985): Occurrence and metabolism of D-aspartate in the gutless bivalve *Solemya reidi*. *J. Exp. Zool.*, 234. 145-149.
36. Felbeck, H. – Wiley, S. (1987): Free D-amino acids in the tissues of marine bivalves. *Biol. Bull.*, 173. 252-259.
37. 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.
38. Finley, J.W. – Schwass, D.E., Eds. (1983): *Xenobiotics in Foods and Feeds.* ACS Symp. Ser. No. 234. Washington, DC. Ann. Chem. Soc., 421.
39. Forbes, D. (1969): The pathogenesis of bovine mastitis. *Vet. Bull.* 39. 529.
40. Friedman, M. (1977): Crosslinking amino acids - Stereochemistry and nomenclature. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 86B. 1-27.
41. Friedman, M. (1999): Chemistry, nutrition and microbiology of D-amino acids. *J. Agric. Food Chem.*, 47. 3457-3479.
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. Graf, R. – Gedek, W. (1983): The relationship between teat and lesions caused by milking machines and udder health. *Tierarztl. Umsch.* 38. (2) 75.
47. Gray, G.M. – Cooper, H.L. (1971): Protein digestion and absorption. *Gastroenterology*, 61. 535-544.
48. Grommers, F.J. – Van De Broak, A.E. – Antoniesse, H.W. (1971): Direct trauma of the mammary glands in dairy cattle. I. variations in incidence due to animal variables. *Br. Vet. J.* 127. 271.
49. Gund, P. – Veber, P. (1979): On the base-catalysed epimerization of N-methylated peptides and diketopiperazines. *J. Am. Chem. Soc.*, 101. 1885-1887.

50. Gyang, E.O. – Stevens, J.B. – Olson, W.G. – Tsitsamis, S.D. – Usenik, E.A. (1984): Effects of selenium-vitamin E injection on bovine polymorphonucleated leucocytes phagocytosis and killing of *Staphylococcus aureus*. *A. J. Vet. Res.* 45. 175-177.
51. Hayashi, R. (1982): Lysinoalanine as a metal chelator: an implication for toxicity. *J. Biol. Chem.*, 257. 13896-13898.
52. Hayashi, R. – Kameda, I. (1980): Racemization of amino acid residues during alkali treatment of proteins and its adverse effect on pepsin digestibility. *Agric. Biol. Chem.*, 44. 891-895.
53. Heinrichs, A.J. – Tod Hunter, D.A. – Murray, F.A. – Grifo, A.P. – Harrison, J.H. – Conrad, H.R. (1984): Zink-methionine supplementation for dairy cows – A study of effects on plasma zink, wound healing, mammary health and immune responses. Ohio State University, Research Circular 281.
54. Hickman, G.C. (1964): Teat shape and size in relation to production characteristics and mastitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 47. 777.
55. Higgins, S. – Moore, R.K. – Kennedy, B.W. (1980): Direct trauma of the mammary glands in dairy cattle. I. variations in incidence due to animal variables. *Br. Vet. J.* 127. 271.
56. Hogan, J.S. – Weiss, W.P. – Smith, K.L. (1993): Role of vitamin E and selenium in host defence against mastitis. *J. Dairy. Sci.* 76. 2795-2803.
57. Horn, A. (Szerk.) (1973): Szarvasmarhatenyésztés. Mezőgazdasági Kiadó. 218.
58. Horváth, Gy. (1987): Tőgyegészségtan jegyzet, Állatorvostudományi Egyetem
59. Horváth, Gy. (1982): A tőgygyulladás elleni védekezés. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
60. Horváth, Gy. (1983): Tőgybetegségek, In: Horváth Z. (szerk.): Szarvasmarhaegészségtan, Mezőgazd. Kiadó, Budapest
61. Horváth, Z. (1972): Állatorvosi belgyógyászati laboratóriumi diagnosztika. Mezőgazd. Kiadó, Budapest 175-177.
62. Húth, B. (2004): A gépi fejhetőség javítására irányuló szelekció lehetőségei a magyartarka fajtában. PhD értekezés. Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kaposvár.
63. Iváncsics J. – Gulyás L. (1998): A nyerstej higiéniai minőségének javítása, különös tekintettel a szomatikus sejt számra. XXVII. Óvári Tudományos Napok. Új kihívások a mezőgazdaság számára az EU csatlakozás tükrében. Állattenyésztési szekció. I. kötet. Mosonmagyaróvár
64. Johansson, V. I. (1957): Untersuchungen über die Variation in der Euter und Strichform der Kühe. *Z. Tierz. Züchtungsbiol.* 70. 233.
65. Jukola, E. – Hakkarainen, J – Saloniemi, H. – Sankari, S. (1996): Blood Selenium, Vitamin E, Vitamin A, and L-Carotene Concentrations and Udder Health, Fertility Treatments, and Fertility. *Journal of Dairy Science-Champaign Illinois* 79. (5) 838-8445.

66. Katona F. – Szita G. (1988): A tej szomatikus sejtszám meghatározása, pontosságának ellenőrzése nemzetközi együttműködéssel. *Tejipar* 37. (2-3) 26-28.
67. Krebs, H.A. (1935): Metabolism of amino acids. III. Deamination of amino acids. *Biochem. J.*, 29. 1620-1644.
68. Krebs, H.A. (1948): The D- and L-amino acid oxidases. *Biochem. Soc. Symp.*, 1. 2-19.
69. Liardon, R. – Hurrell, R.F. (1983): Amino acid racemization in heated and alkali-treated proteins. *J. Agric. Food. Chem.*, 31. 432-437.
70. Licitra, G. – Blake, R.W. – Oltenacu, P.A. – Barresi, S. – Scuderi, S. – Van Soets, P.J. (1998): Assessment of Dairy Production Needs of Cattgle Owners in Southeastern Sicily. *Journal of Dairy Science-Champaign Illinois* 81. (9) 2510.
71. Lund, T. – Migliot, F. – Dekkers, J.C.M. – Burnside, E.B. (1993): Genetic relationships between clinical masztitisz, somatic cell count, and udder conformation in Danish Holsteins. *Livestock Production Science* 39. 243-251.
72. Macha, J. – Manakova, K. – Masek, N. (1981): Udder shape and occurrence of mammary gland inflammation in cattle. *Acta Univ. Agric. Fac. Agron.* 29. 203.
73. Maga, J.A. (1984): Lysinoalanine in foods. *J. Agric. Food. Chem.*, 32. 955-964.
74. Magid, S.A. (1983): The effect of selection for milk yield on milk flow and udder measurements. *Dissertation Abstract International, B Science and Engineering* 44. (6) 1652, 202.
75. Malbe, M. – Klaaseen, M. – Fang, W. – Myllys, V. – Vekrpuur, M. – Nyholm, K. – Sankari, S. – Suoranta, K. – Sandholm, M. (1995): Comparison of selenite and seleniumyeast feed supplements on Se-incorporation, masztitisz and leucocyte function in Se-deficient dairy cows. *J. Vet. Med. A.* 42. 11-121.
76. Man, H. – Bada, J.L. (1987): Dietary D-amino acids. *Ann. Rev. Nutr.*, 7. 209-225
77. Markói B. (1986): Állategészségügyi és higiéniai ismeretek. *Mezőgazda Kiadó, Budapest*
78. 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.
79. Matsushima, O. – Katayama, H. – Yamada, K. – Kado, Y. (1984): Occurence of free D-alanine and alanine racemase activity in bivalve molluscs with special reference to intracellular osmoregulation. *Mar. Biol. Lett.*, 5. 217-225.
80. Merck, C.C. – Raack, C.H. – Kretschmer, F.J. – Gramatzki, H. (1973): Über den Einfluss des Laktationsstadiums auf den Milchzellgehalt. I. Erhebungen über den Zellgehalt von Sammelmilch aus Beständen in Schleswig-holstein. *Milchwisswenschaft* 28. 769-774.
81. Merényi I. – Lengyel Z. (1996): *Tejgazdasági kézikönyv. GAZDA Kistermelői Lap- és könyvkiadó Kft., Budapest*
82. Miller, R.H. – Pearson, R.E. – Weinland B.T. (1978): Relations of masztitisz with milking rates and milking time. *J.Dairy Sci.* 61. (Suppl. 1) 129.

83. Monardes, H.G. – Hayes, J.F. (1985): Genetic and phenotypic relationships between lactation cell counts and milk yield and composition of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 68. 1250.
84. Mrode, R.A. – Swanson, G.J.T. (1996): Genetic and statistic properties of somatic cell count and its suitability as an indirect means of reducing the incidence of mastitis in dairy cattle. *Animal Breeding Abstracts* 64. (11) 847-857.
85. Murray, E.D. – Clarke, S. (1984): Synthetic peptide substrates for erythrocyte protein carboxyl methyltransferase. *J. Biol. Chem.*, 259. 1722-1732.
86. Nelson, F.E. – Scvuh, j.D. – Stott, G.H. (1967): Influence of season on leucocytes in milk. *Journal of Dairy Science* 50. 6.
87. Neuberger, A. (1948): The metabolism of D-amino acids in mammals. *Biochem. Soc. Symp.*, 1. 20-32.
88. Ózsvári L. (2004): Állat-egészségügyi döntéselemzés a tejtermelő gazdaságokban. Doktori értekezés. Szent István Egyetem, Gödöllő. 145.
89. 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.
90. 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.
91. 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.
92. Pesti M. (2001): Általános mikrobiológia. Dialog Campus Kiadó. Budapest-Pécs, 74-81.
93. Peters, T.J. (1970): Intestinal peptides. *Gut*. 11. 720-725.
94. Pohn, G. – Csapó, J. (2002): Free D-amino acid content of milk from mastitic udder. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 6. 2. 149-157.
95. 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.
96. Probst, A. – Behringer, J. (1968): Zur Frage prädisponierenden Faktoren bei Mastitis 2. Mitteilung: Über den Zellgehalt der Milch in Abhängigkeit von Lebensalter, Leistung, Abkalbezeit und Laktationsstadium. *Milchwissenschaft* 23. 395-399.
97. Rafai P. – Brydl E. – Nagy Gy. (2003): A sertés-, a szarvasmarha- és a háziyúttartás higiénája és állomány-egészségtana. Agroinform Kiadó. Budapest, 274-287.
98. Rathore, A.K. (1976): Relationships between teat shape, production and mastitis in fiesian cows. *Br. Vet. J.* 132. 389.

99. Reaveley, D.A. – Burge, R.E. (1972): Walls and membranes in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.*, 7. 1-81.
100. Robinson, T. (1976): D-amino acids in higher plants. *Life Sci.*, 19. 1097-1102.
101. Rogers, G.W. – Hargrover, T.J. – Lawlor G.L. Jr. – Ebersole, J.L. (1991): Correlations among linear type traits and somatic cell count. *J. Dairy Sci.* 74. 1083.
102. 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.
103. Schalm, O.W. – Carroll, E.J. – Jain, N.C. (eds) (1971): *Bovine Mastitis*. Lea and Febiger. Philadelphia
104. Schmidt, J. (ed.) (1993): *Takarmányozás. Mezőgazda Kiadó.*
105. Smith, K.L. – Harrison, J.H. – Hancock, D.D. – Todhunter, D.A. – Conrad, H.R. (1984): Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J. Dairy Sci.* 67. 1293-1300.
106. Schutz, M.M. – VanRaden, P.M. – Boettcher, P.J. – Hansen, L.B. (1993): Relationship of Somatic Cell Score and Linear Type Traits Evaluations of Holstein Sires. *J. Dairy. Sci* 76. 658-663.
107. 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.
108. Seykora, A.J. – McDaniel, B.T. (1985): Udder and Teat Morphology to Mastitis Resistance: A review. *J. Dairy Sci.* 68. 2087-2093.
109. Seykora, A.J. – McDaniel, B.T. (1986): Genetics statistics and relationships of teat and udder traits, somatic cell counts, and milk production. *J. Dairy Sci.* 69. 2395.
110. Seykora, A.J. (1983): Genetic parameters of udder and teat characteristics and their relationships to somatic cell counts. Ph.D. Diss., North Carolina State Univ., Raleigh.
111. Shutz, M.M. – Van Raden, P.M. et al. (1994): *Journal of Dairy Science* 77. (1) 284-293.
112. Sieber, R.L. – Farnsworth, R.J. (1980): The etiology of bovine teat end lesions. *Proc. Natl. Mastitis Council. Annu.* 5.
113. Simon F. – Szita G. – Merényi I. (2000): *Tőgyegészség és tehéntejminőség. Mezőgazda Kiadó. Budapest.*
114. Spain, J.N. (1993): Tissue integrity. A key defense against mastitis infection: the role of zinc proteinates and a theory for a mode of action, in biotechnology in the feed industry. *Proceedings of Alltech' Ninth Annual Symposium*, 53-60.
115. Spain, J.N. (1994): Tissue integrity. A key defense against mastitis infection: the role of zinc proteinates and a theory for a mode of action. *Proceedings of 8th Annual Alltech European Lecture Tour*, 125-132.
116. Steinberg, S. – Bada, J.L. (1981): Diketopiperazine formation during investigations of amino acid racemization in dipeptides. *Science*, 213. 544-545.

117. Steinberg, S. – Bada, J.L. (1983): Peptide decomposition in the neutral pH range via the formation of diketopiperazines. *J. Org. Chem.*, 48. 2295-2298.
118. Szakály S. (1962): A szekreciós hibás tej szelektálása, hatása a vajkultúra életműködésére és a vaj minőségére. Doktori Értekezés, Agrártudományi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Kar, Gödöllő, 1-63.
119. Szakály S. (1963): A szekreciós hibájú (masztitiszes) tej hatása, a vajkultúra baktériumainak életműködésére. *Tejipari Kutatási Közlemények* 6. 1-7.
120. Szakály S. (1965): A Whiteside-próba megbízhatósága és gyakorlati alkalmazhatósága a tehének tőgygyulladásának felismerésére. *Tejipari Kutatási Közlemények* 8. (1) 3-17.
121. Szakály S. (1982): A gyulladós tej ipari kihatásai (In Horváth Gy.: A tőgygyulladás elleni védekezés, 1-327.) Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 185-214.
122. Szász, G. – Tőkei, L. (ed.) (1997): Meteorológia mezőgazdáknak, kertészeknek, erdészeknek. Mezőgazda Kiadó.
123. Takátsy, T. (1990): A tőgygyulladás gazdasági összefüggései és feltárásának lehetőségei. Kandidátusi értekezés. KE-ÁTK, Kaposvár, 10-89.
124. Thomas, C.L. – Vinson, W.E. – Pearson, R.E. – Dickinson, F.N. – Johnson, L.P. (1984): Relationship between linear type scores, objective type measure and indicators of masztitisz. *J. Dairy Sci.* 67. 1281.
125. Tóth, L. (1999): A fejtőgép ill. gépi fejés, mint tőgyegészségügyi tényező. Tőgyegészségtan Továbbképzés.
126. Tuboly S. (1998): Állatorvosi járványtan I. Mezőgazda Kiadó. Budapest.
127. Ungeheuer, H. (1955): Ein meteorologischer Beitrag zu Grundproblemen der Medizinmeteorologie. *Bericht des Deutschen Wetterdienstes.* 16. 3-31.
128. Váczi L. (1978): Orvosi mikrobiológia-immunitástan-parazitológia. Medicina Könyvkiadó. Budapest.
129. Volkert, T. (1985): Studie über ein kontrolliert durchgeführtes Eutergesundheitsprogramm in Milchsviehherden. *Vet. Med. Diss., Berlin.*
130. Waage, S. – Sviland, S. – Oedegaard, S.A. (1998): Identification of Risk factors for Clinical Masztitisz in Dairy Heifers. *Journal of Dairy Science-Campaign Illionis* 81. (5) 1275-1284.
131. Weiss, W.P. – Hogan, J.S. – Smith, K.L. – Hoblet, K.H. (1990): Relationship among selenium, vitamin E and mammary gland health in commercial dairy herd. *J. Dairy Sci.* 73. 381-390.
132. Whitaker, D.A. – Eayres, H.F. – Aitchison, K. – Kelly, J.M. (1997): No effect of a dietary zinc proteinate on clinical masztitisz, infection rate, recovery rate and somatic cell count in dairy cows. *Veterinary-Journal* 153. (2) 197-204.
133. Yener, S.M. (1973): Relations of udder and milking characteristics to Wisconsin Masztitisz test scores. Ph.D. Diss., North Carolina State Univ., Raleigh.

134. Young, C.W. – Legates, J.E. – Lecce, J.G. (1960): Genetic and phenotypic relationship between clinical mastitis, laboratory criteria and udder height. J. Dairy Sci. 43. 54.
135. Zeidler, H. – Tolle, A. – Reichmuth, J. – Heeschen, W. (1969): Über die Beziehungen des Zellgehaltes der Sammelmilch zur Mastitisituation im Herkunftsbestand. 1. und 2. Mitteilung. Arch. Lebensmittelhyg. (9) 193-202.

11. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

Magyar nyelven megjelent tudományos közlemények:

1. Csapó J. – Schmidt J. – Csapó-Kiss Zs. – Holló G. – Holló I. – Wágner L. – Cenkvári É. – Varga Visi É. – Pohn G. – Andrásy-Baka G.: A bakteriális eredetű fehérje mennyiségének meghatározása a D-aszparaginsav, a D-glutaminsav és a diamino-pimelinsav-tartalom alapján. *In: Állattenyésztés és Takarmányozás.* 2001. 50. 125-137.
2. Csapó J. – Csapó-Kiss Zs. – Varga Visi É. – Pohn G. – Pétervári E.: Élelmiszerek D-aminosav-tartalma. *In: Tejgazdaság.* 2001. 1. 1-11.
3. Pohn G. – Albert Cs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *In: Tejgazdaság.* 2006. 65. 40-45.
4. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Mándoki Zs. – Csapó-Kiss Zs. – Csapó J.: A nyerstej mikroorganizmusainak hatása a tej és tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára. *In: Acta Agraria Kaposváriensis.* 2007. 3. 1-13.

Idegen nyelven megjelent tudományos közlemények:

1. Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Stefler, J. – Pohn, G. – Horn, P. – Martin, T.G.: D-amino acid content of mastitic milk. *In: Hungarian Agricultural Research.* 2000. 9. 3. 7-10.
2. Pohn, G. – Csapó, J.: Free D-amino acid content of milk from mastitic udder. *In: Acta Agraria Kaposváriensis.* 2002. 6. 2. 149-157.
3. Pohn, G. – Csapó, J. – Varga-Visi, É.: Determination of the enantiomers of methionine and cyst(e)ine in the form of methionine sulphon and cysteic acid after performic acid oxidation by reversed phase high performance liquid chromatography. *In: Agriculturae Conspectus Scientificus.* 2003. 68. 4. 269-273.

4. Csapó, J. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Csapó-Kiss, Zs. – Terlaky-Balla, É.: Mercaptoethanesulphonic acid as the reductive thiol-containing reagent employed for the derivatization on amino acids with o-phthaldialdehyde analysis. *In: Chromatographia*. 2004. 60. 231-234.
5. Pohn, G. – Albert, Cs. – Lóki, K. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on free amino acid content of milk and various dairy products. *In: Agriculture*. 2007. 13. 192-196.

Proceedingekben teljes terjedelemben megjelent közlemények:

1. Csapó J. – Csapó-Kiss Zs. – Pohn G. – Pétervári E.: Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszerek élelmiszerek D-aminosav-tartalmának meghatározására. *Analitikai és Környezetvédelmi Konferencia*. Mosonmagyaróvár, 2000. okt. 26-27. 3-12.
2. Pohn G. – Csapó J.: A tőgygyulladás hatása a tej összetételére, különös tekintettel a D-aminosav-tartalomra. *12. Magyar Buiatrikus Kongresszus*. Balatonfüred, 2001. okt. 12-14. 1-6.
3. Csapó J. – Pohn G. – Terlaky-Balla É. – Csapó-Kiss Zs. – Csokona É.: A tejsavbaktériumok által termelt D- és L-tejsav valamint D- és L-aminosav enantiomerek szétválasztása és meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. *Műszaki Kémiai Napok '02*. Veszprém, 2002. ápr. 16-18. 50-53.
4. Pohn G. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *Műszaki Kémiai Napok '04*. Veszprém, 2004. ápr. 20-22. 82-86. p.
5. Albert Cs. – Pohn G. – Lóki K. – Salamon Sz. – Albert B. – Sára P. – Mándoki Zs. – Csapó J.-né. – Csapó J.: A nyerstej összcsíraszámának hatása a különböző tejtermékek szabadaminosav- és a szabad-D-aminosav-tartalmára. *In: Műszaki Kémiai Napok '07*. Veszprém, 2007. április 25-27. 221-227.
6. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Varga-Visi, É. – Sára, P. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on the amino acid content of milk. *KRMIVA 49 2007*. Zagreb, 2007. Sept. 24-26. 15-21.

7. Pohn G. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs. – Csapó J.: A mikroorganizmusok hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *18. Magyar Buiatrikus Kongresszus*. Siófok, 2007. okt. 10-13. 186-190.

Proceedingekben megjelent abstractok:

1. Csapó-Kiss, Zs. – Fox, P.F. – Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Kametler, L.: Total free and free D-amino acid content of milk and cheeses. *EAAP-51st Annual Meeting*. Netherlands, 2000. aug. 21-24. 224.
2. Pohn G. – Csapó J. – Csapó-Kiss Zs. – Terlakyné Balla É. – Vargáné Visi É.: A tőgygyulladás hatása a tej D-aminosav-tartalmára. *KÉKI 299. Tudományos Kollokvium*. Budapest, 2000. szept. 29. 6.
3. Pohn, G. – Csapó, J.: Influence of microorganisms causing mastitis on D-amino acid content of milk. *2nd Central European Congress of Food*. Budapest, 2004. ápr. 26-28. P-S-57.
4. Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Effect of microorganisms on D-amino acid content of milk. *EAAP-58th Annual Meeting*. Dublin, 2007. Aug. 26-29. P-20, 204.

12. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉN KÍVÜL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

Szakkönyvek, könyvrészek:

Csapó, J. – Collins, M. – Csapó-Kiss, Zs. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Csapó, J. Jr.: Use of amino acids and amino acid racemization for age determination in archeometry. *In: Progress in biological chirality.* (Eds.: Pályi, G., Zucchi, K., Caglioti, L.) Oxford: Elsevier Kiadó, 2004. 65-78.

Magyar nyelven megjelent tudományos közlemények:

Csapó J. – Bernert Zs. – Csapó Zs. – Pohn G. – Csapóné Kiss Zs. – Költő L. – Szikossy I.: Az aminosavak racemizációján alapuló életkorbecslés bevezetése a történeti embertani kutatásokba. *Anthrop. Közl.*, 2000. 41. 63-77.

Holló G. – Zándoki R. – Pohn G. Varga-Visi É. – Repa I.: Charolais fajtájú bikák és tinók vágási, csontozási eredménye és húsának zsírsavösszetétele. *Acta Agraria Kaposváriensis.* 2005. 1-8.

Idegen nyelven megjelent tudományos közlemények:

Saffarzadeh, A. – Csapó, J. – Pohn, G. – Kametler L.: The effect of substituting corn with different levels of Pistacia atlantica seeds on laying hens performance in first phase of egg production. *Acta Agraria Kaposváriensis.* 1999. 2. 3. 361-368.

Saffarzadeh, A. – Vincze, L. – Csapó, J. – Pohn, G. – Kametler, L.: The effect of different levels of acorn seeds on laying hens performance in first phase of egg production. *Acta Agraria Kaposváriensis.* 1999. 2. 3. 369-378.

Saffarzadeh, A. – Vincze, L. – Csapó, J. – Kametler, L. – Pohn, G.: Determination of some anti-nutritional factors and metabolisable energy in acorn, Pistacia atlantica and Pistacia khinjuk seeds as new poultry diets. *Acta Agraria Kaposváriensis.* 2000. 4. 1. 41-47.

Varga-Visi, É. – Terlaky-Balla, É. – Pohn, G. – Kametler, L. – Csapó, J.: RP-HPLC Determination of L- and D-cystine and cysteine as cysteic acid. *Chromatographia.* 2000. 51. 325-327.

Csapó, J. – Schmidt, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Holló, G. – Holló, I. – Wágner, L. – Cenkevári, É. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Andrassy-Baka, G.: A new method for the quantitative determination of protein of bacterial origin on the basis of D-aspartic acid and D-glutamic acid content. *Acta Alimentaria.* 2001. 30. 37-52.

Csapó, J. – Schmidt, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Csokona, É.: Quantitative determination of protein of bacterial origin on the basis of D-aspartic acid and D-glutamic acid content. *Chromatographia*. 2002. 56. 169-171.

Holló, G. – Nuernberg, K. – Repa, I. – Holló, I. – Seregi, J. – Pohn G. – Ender, K.: Der Einfluss der Fütterung auf die Zusammensetzung des intramuskulären Fettes des Musculus longissimus und verschiedener Fettdepots von Jungbullen der Rassen Ungarisches Grauvieh und Holstein Friesian 1. Mitteilung: Fettsäurezusammensetzung. *Archiv für Tierzucht*. 2005. 48. 6. 573-546.

Proceedings-ben teljes terjedelemben megjelent közlemények:

Varga-Visi É. – Terlaky-Balla É. – Kametler L. – Pohn G. – Csapó J.: A ciszt(e)in enantiomerek szétválasztása és meghatározása ciszteinsav formában HPLC-vel. *Műszaki Kémiai Napok '99*. Veszprém, 1999. ápr. 27-29. 43-47.

Pohn G. – Varga-Visi É. – Terlaky-Balla É. – Kametler L. – Csapó J.: A különböző technológiával előállított toll-lisztek D-cisztein tartalma. *Műszaki Kémiai Napok '99*. Veszprém, 1999. ápr. 27-29. 48-49.

Varga-Visi É. – Csapó J. – Terlaky-Balla É. – Kametler L. – Pohn G.: A ciszt(e)in enantiomerek meghatározása ciszteinsav formában RP-HPLC-vel. *V. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 1999. márc. 11. 243-247.

Kametler L. – Csapó J. – Varga-Visi É. – Terlaky-Balla É. – Pohn G.: Módszer kis mennyiségű tejminták tejfrakcióinak és fehérjetartalmának meghatározására. *V. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 1999. márc. 11. 253-256.

Pohn G.: A halak viselkedési paramétereinek megváltozása környezetszennyező anyagok hatására. *V. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 1999. márc. 11. 248-252.

Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Kametler L. – Pohn G. – Vargáné Visi É.: Élelmiszerek D-aminosav tartalma. *Tiszántúli Mezőgazdasági Tudományos Napok*. Debrecen, 1999. okt. 28-29. 117-124.

Csapó J. – Csapó Zs. – Csapóné Kiss Zs. – Pohn G.: Az egyén korának meghatározása a fog D-aszparaginsav és D-glutaminsav tartalma alapján. *Analitikai- és Környezetvédelmi Konferencia*. Mosonmagyaróvár, 2000. okt. 26-27. 13-17.

Csapó J. – Pohn G. – Vargáné Visi É.: A mikrohullámú kezelés hatása húspogácsák vízdoldható vitamin- és D-aminosav tartalmára. *Műszaki Kémiai Napok '01*. Veszprém, 2001. ápr. 24-26. 200-204.

Csapó J. – Bernert Zs. – Csapó Zs. – Pohn G. – Csapó Kiss Zs. – Költő L. – Szikossy I.: Az aminosavak racemizációján alapuló életkorbecslés bevezetése a történeti embertani kutatásokba. *A honfoglaló magyarság állama, kultúrája és az ősi vastermelés. V. Konferencia*. Somogyfajs, 2001. máj. 25-26. 139-148.

Csapó, J. – Pohn, G. – Csapó-Kiss, Zs. – Varga-Visi, É. – Pétervári, E.: Determination of the enantiomers of methionine and cyst(e)ine in the form of methionine-sulphon and cysteic acid after performic acid oxidation by RP-HPLC. *7th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Vienna, 2001. Aug. 6-10. In: *Amino Acids*. 2001. 4-5.

Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J. – Bernert, Zs. – Csapó, Zs. – Pohn, G. – Költő, L. – Szikossy, L.: The introduction of amino acid racemisation based age estimation into paleoanthropological research. *7th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Vienna, 2001. Aug. 6-10. In: *Amino Acids*. 5-6.

Csapó, J. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Terlaky-Balla, É. – Csapó-Kiss, Zs.: Influence of the microwave heating on the water soluble vitamins and D-amino acids content of meat. *9th International Symposium Animal Science Days*. Slovenia, 2001. okt. 3-5. 267-271.

Csapó J. – Csapó Kiss Zs. – Bernert Zs. – Csapó Zs. – Pohn G. – Költő L. – Csapó J. jun.: Are there any differences in the D-aspartic acid and D-glutamic acid content of teeth from the same skull? *33rd International Symposium on Archaeometry*. Amsterdam, 2002. Apr 22-26. 149-150.

Csapó J. – Csapó Kiss Zs. – Bernert Zs. – Csapó Zs. – Pohn G. – Költő L. – Csapó J. jun.: Comparison of the age of individuals from the Avar period determined by anthropological methods and amino acid racemization. *33rd International Symposium on Archaeometry*. Amsterdam, 2002. Apr. 22-26. 148-149.

Csapó J. – Pohn G. – Terlaky-Balla É. – Vargáné Visi É.: A merkapto-etánszulfonsav mint fehérjehidrolizáló ágens és származékképző reagens az aminosavak nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás meghatározása során. *Műszaki Kémiai Napok '03*. Veszprém, 2003. ápr. 8-10. 334-338.

Csapó J. – Vargáné Visi É. – Csapóné Kiss Zs. – Pohn G.: Jódtartalom meghatározás monojód- és dijódtirozin formában ioncserés oszlopkromatográfiával és nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. *Műszaki Kémiai Napok '03*. Veszprém, 2003. ápr. 8-10. 338-342.

Pohn G. – Csapó J. – Varga-Visi É.: Determination of the enantiomers of methionine and cyst(e)ine in the form of methionine-sulphon and cysteic acid after performic acid oxidation by reversed phase high performance liquid chromatography. *11th International Symposium Animal Science Days*. Porec-Croatia, 2003. Sept. 23-26, 269-273.

Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Pohn G. – Csanádi J.: A tej konjugált linolsav tartalmának meghatározása. *VI. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2004. máj. 20-21. 6. 1-7.

Csapó J. – Pohn G. – Sára P. – Csapóné Kiss Zs.: Élelmiszer- és takarmányfehérjék komplex minősítése. *V. Takarmányanalitikai Konferencia*. Keszthely, 2004. jún. 17. 5-6.

Albert, Cs. – Lóki, K. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Sára, P. – Csapó, J.: Separation and determination of sulphur containing amino acids enantiomers by high performance liquid chromatography after performic acid oxidation. *KRMIVA 48 2006*. Opatija, Croatia, 2006. Jun 5-8. 187-191.

Lóki K. - Pohn G. - Albert Cs. - Salamon Sz. - Albert B. - Sára P. - Csapó J.: Fehérje triptofán enantiomereinek elválasztása és meghatározása. In: *XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum*. Keszthely, 2007. márc. 22. [CD-ROM]

Proceedings-ben megjelent absztraktok:

Csapó J. – Csapó-Kiss Zs. – Varga-Visi É. – Terlaky-Balla É. – Kametler L. – Pohn G.: A különböző tudományterületeken D-aminosavakkal végzett vizsgálataink. *II. Dél-Dunántúli Analitikai Nap*. Kaposvár, 1998. dec. 4. 8.

Varga-Visi É. – Csapó J. – Terlaky-Balla É. – Kametler L. – Pohn G.: A ciszt(e)in enantiomerek meghatározása L- és D-ciszteinsav formában. *II. Dél-Dunántúli Analitikai Nap*. Kaposvár, 1998. dec. 4. 9.

Kametler L. – Csapó J. – Varga-Visi É. – Terlaky-Balla É. – Pohn G.: Módszer kis mennyiségű tejminta fehérjeösszetételének meghatározására. *II. Dél-Dunántúli Analitikai Nap*. Kaposvár, 1998. dec. 4. 10.

Pohn G.: A halak viselkedési paramétereinek megváltozása környezetszennyező anyagok hatására. *II. Dél-Dunántúli Analitikai Nap*. Kaposvár, 1998. dec. 4. 21.

Saffarzadeh, A. – Csapó, J. – Vincze, L. – Kametler, L. – Pohn, G.: Gross chemical composition and metabolisable energy content of acorn, *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* seeds as unconventional poultry diets. *III. Dél-Dunántúli Analitikai Nap*. Kaposvár, 1999. máj. 21. 7.

Varga-Visi, É. – Terlaky-Balla, É. – Pohn, G. – Kametler, L. – Csapó, J.: Determination of L- and D-cyst(e)ine in the form of cysteic acid by RP-HPLC. *Balaton Symposium '99 on High-Performance Separation Methods*. Siófok, 1999. szept. 1-3. P-89.

Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Kametler L. – Pohn G. – Vargáné Visi É. – Horváth P.: Élelmiszerek D-aminosav tartalma. *IV. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2000. ápr. 27-28. 11.

Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Kametler L. – Pohn G. – Vargáné Visi É. – Horváth P.: Különböző technológiával készült sajtok összes szabad és szabad D-aminosav tartalma. *IV. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2000. ápr. 27-28. 23.

Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Kametler L. – Pohn G. – Vargáné Visi É. – Horváth P.: Kérődző háziállataink kolosztrum- és tejösszetétele. *IV. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2000. ápr. 27-28. 43.

Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Kametler, L. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Horváth, P.: Total free and free D-amino acid content of cheeses produced by different technologies. *IVth International Conference of Food Science*. Szeged, 2000. ápr. 27-28. 24.

Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Kametler, L. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Horváth, P.: Composition of colostrum and milk of ruminant domestic animals. *4th International Conference of Food Science*. Szeged, 2000. ápr. 27-28. 44.

Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Kametler, L. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Horváth, P.: The D-amino acid content of foodstuffs and animal feeds. *IVth International Conference of Food Science*. Szeged, 2000. ápr. 27-28. 12.

Pohn G. – Terlakyné Balla É. – Kametler L. – Vargáné Visi É. – Csapó J.: A kéntartalmú aminosavak D- és L-enantiomereinek szétválasztása perhangyasavas oxidáció után RP-HPLC-vel. *Vegyészkonferencia*. Debrecen, 2000. júl. 5-7. 80.

Kametler L. – Pohn G. – Terlakyné Balla É. – Vargáné Visi É. – Csapó J.: A bakteriális eredetű fehérje mennyiségének becslése gazdasági állataink emésztőrendszeréből a D-glutaminsav és a D-aszparaginsav tartalom alapján. *Vegyészkonferencia*. Debrecen, 2000. júl. 5-7. 113.

Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Kametler, L. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Horn, P.: The D-amino acid content of foodstuffs subjected to various technological procedures. *IVth International Symposium of Animal Products and Human Health*. Eszék, 2000. szept. 20-22. 132.

Kametler L. – Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Pohn G. – Vargáné Visi É.: A bakteriális eredetű fehérje mennyiségének becslése gazdasági állataink emésztőrendszeréből a D-glutaminsav és D-aszparaginsav tartalom alapján. *299. Tudományos Kollokvium*. Budapest, 2000. szept. 29. 5.

Pohn G. – Csapó J. – Vargáné Visi É. – Pétervári E. – Csapóné Kiss Zs.: A metionin enantiomerek szétválasztása metionin-szulfon formában nagyhatékonyságú folyadékromatográfiával. *Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2000*. Visegrád, 2000. nov. 8-10. E-17.

Vargáné Visi É. – Pohn G. – Kametler L. – Csapó J.: Élelmiszerek és takarmányok D- és L-ciszteintartalmának meghatározása perhangyasavas oxidációval ciszteinsav formában RP-HPLC-vel. *300. Tudományos Kollokvium*. Budapest, 2000. nov. 24. 7.

Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Kametler, L.: Total free and free D-amino acid content of milk and cheeses. *51st Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Hága, 2000. aug. 21-24. 224.

Csapó, J. – Csapó-Kiss, Zs. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Kametler, L.: The D-amino acid content of foodstuffs and animal feeds. *51st Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Hága, 2000. aug. 21-24. 164.

Csapó J. – Pohn G. – Vargáné Visi É. – Pétervári E. – Csapóné Kiss Zs.: A metionin- és cisztein-enantiomerek együttes meghatározása D- és L-ciszteinsav illetve D- és L-metionin-szulfon formában RP-HPLC-vel. *Vegyészkonferencia*. Hajdúszoboszló, 2001. jún. 27-29. 25.

Bernert, Zs. – Csapó, J. – Csapó, Zs. – Pohn, G. – Csapó-Kiss, Zs. – Költő, L. – Szikossy, I. – Némethy, S.: Introduction aux methodes d'estimation de l'age basees sur la racemisation des acides amines en paleoanthropologie. *Groupement des anthropologistes de langue francaise XXVe colloque*. Marseille, 2001. júl. 16-18. 50.

Csapó, J. – Pohn, G. – Pétervári, E. – Varga-Visi, É. – Csapó-Kiss, Zs.: Are there any differences in the composition of colostrum milked immediately after calving between cows producing twins and single? *52nd Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Budapest, 2001. aug. 26-29. 163.

Csapó, J. – Pohn, G. – Pétervári, E. – Varga-Visi, É. – Csapó-Kiss, Zs.: Determination of the D- and L-enantiomers of sulphur containing amino acids by RP-HPLC after performic acid oxidation. *Balaton Symposium '01 On High Performance Separation Methods*. Siófok, 2001. szept. 2-4. P-18.

Csapó-Kiss, Zs. – Pohn, G. – Pétervári, E. – Varga-Visi, É. – Csapó, J.: Estimation of the protein of bacterial origin by RP-HPLC determination of the D-aspartic acid and D-glutamic acid content. *Balaton Symposium '01 On High Performance Separation Methods*. Siófok, 2001. szept. 2-4. P-98.

Csapó J. – Pohn G. – Pétervári E. – Vargáné Visi É. – Csapóné Kiss Zs.: A kéntartalmú aminosavak D- és L- enantiomerjeinek szétválasztása perhangyasavas oxidáció után RP-HPLC-vel. *302. Tudományos Kollokvium*. Budapest, 2001. ápr. 27. 7.

Pohn G. – Pétervári E. – Vargáné Visi É. – Terlakyné Balla É. – Csapó J.: Különböző technológiával készült sajtok összes szabad- és szabad D-aminosav tartalma. *303. Tudományos Kollokvium*. Budapest, 2001. máj. 25. 8.

Csapó J. – Pohn G. – Vargáné Visi É. – Pétervári E. – Csapóné Kiss Zs.: A D- és L-metionin tartalom meghatározása perhangyasavas oxidációval metionin-szulfon formában RP-HPLC-vel. *Vegyészkonferencia*. Hajdúszoboszló, 2001. jún. 27-29. 46.

Pohn G. – Csapó J. – Terlakyné Balla É. – Vargáné Visi É.: A mikrohullámú kezelés hatása húspogácsák vízdoldható vitamin- és D-aminosav tartalmára. *305. Tudományos Kollokvium*. Budapest, 2001. okt. 26. 6.

Csitári, G. – Pohn, G. – Uzinger, N. – Csapó J.: Effects of rimsulfuron on microbial community in the rhizosphere. *Interaction in the microbial world. 9th International Symposium on Microbial Ecology*. Amsterdam, 2001. aug. 26-31. 299.

Pohn G. – Vargáné Visi É., – Csapó J.: Vízdoldható vitamintartalom és D-aminosav tartalom meghatározása HPLC-vel. *Analitikai és Környezetvédelmi Konferencia 2002*. Keszthely, 2002. ápr. 11. 11.

Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Pohn G.: Élelmiszerek és Takarmányok D-aminosav tartalma és meghatározása. *MTA, ÉKB KÉKI XIV. Élelmiszertudományi Konferencia*. Budapest 2002. máj. 16. 18.

Pohn G. – Csokona É. – Csapó J.: A tejsavbaktériumok által termelt D- és L-tejsav izomerek szétválasztása és meghatározása szarvasmarha-, kecske- és juhtejből készült élelmiszerekből. *308. Tudományos Kollokvium*. Budapest, 2002. szept. 27. 5.

Csapóné Kiss Zs. – Vargáné Visi É. – Pohn G. – Csapó J.: Élelmiszerek és takarmányok jódtartalmának meghatározása dijó-d-tirozin formában IEC-vel és HPLC-vel. *Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2002*. Lillafüred, 2002. okt. 16-18. P-05.

Csapó J. – Pohn G. – Vargáné Visi É. – Csapóné Kiss Zs.: A merkaptó-etán-szulfonsav mint új származékképző reagens az aminosav analízisben. *Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2002*. Lillafüred, 2002. okt. 16-18. E-17.

Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Pohn G. – Csapó J. jun.: Use of the amino acids and amino acid racemization for age determination in archaeometry. *3rd Interdisciplinary Symposium on Biological Chirality*. Italy, Modena, 2003. Apr 30. – May 4. 14.

Csapó J. – Csapóné Kiss Zs. – Pohn G.: Individual age estimation based on D-aspartic acid and D-glutamic acid content of teeth. *4th Symposium on Archeometry*. Greece, Athens, 2003. May 28-31. 74.

Csapó, J. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Csapó-Kiss, Zs.: Mercaptoethanesulfonic acid as a new derivatization reagent in the amino acid analysis. *5th Balaton Symposium*. Siófok, 2003. szept. 3-5. P-125

Varga-Visi, É. – Csapó-Kiss, Zs. – Pohn, G. – Csapó, J. .: Determination of iodine content of foods and feeds in the form of iodo-tyrosine by ion exchange chromatography and high performance liquid chromatography. *5th Balaton Symposium*. Siófok, 2003. szept. 3-5. P-209

Csapó, J. – Pohn, G. – Csapó-Kiss, Zs. – Varga-Visi, É.: Influence of microwave treatment on the D-amino acid content of meat. *8th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Róma, 2003. szept. 5-9. 143.

Csapó, J. – Varga-Visi, É. – Pohn, G. – Csapó-Kiss, Zs.: Changing the free D-amino acid content of different type of cheeses influenced by the ripening period. *8th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Róma, 2003. szept. 5-9. 144.

Csapó, J. – Schmidt, J. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Csapó-Kiss, Zs.– Juhász, A.: Determination of the protein of bacterial origin from the digestive system of cocks based on D-amino acid (D-Asp, D-Glu, D-Ala) content of excreta. *8th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Róma, 2003. szept. 5-9. 144.

Holló, G. – Csapó, J. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Seregi, J. – Holló, I. – Repa, I.: Effect of diet on amino acid profile of logissimus of young bulls. *8th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Róma, 2003. szept. 5-9. 147.

Holló, G. – Csapó, J. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Szücs, E. – Tözsér, J. – Holló, I. – Repa, I.: Amino acid composition and biological value of beef as affected by gender. *8th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Róma, 2003. szept. 5-9. 147.

Csapó J – Csapóné Kiss Zs. – Pohn G. – Csanádi J.: A tej konjugált linolsav-tartalmának meghatározása. *VI. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia*. Szeged, 2004. máj. 20-21. 164.

Csapó, J – Csapó-Kiss, Zs. – Pohn, G. – Csanádi, J.: Determination of the conjugated linoleic acid content of milk. *6th International Conference on Food Science*. Szeged, 2004. máj. 20-21. 165.

Holló, G. – Szüts, A. – Csapó, J. – Pohn, G. – Varga-Visi, É. – Tözsér, J. – Holló, I. – Repa, I.: The effect of gender on the amino acid composition and biological value of beef. *55th Annual meeting of the European Association for Animal Production*. Bled, 2004. szept. 5-9. 207.

Lóki, K. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó J.: Different acidic hydrolysis methods in order to determine the enantiomers of tryptophan. *10th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. Aug. 20-25. *Amino Acids*. 2007. 33. 49.

Lóki, K. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Albert, B. – Mándoki, Zs., – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Analysis of tryptophan enantiomers bound in proteins after p-toluenesulphonic acid hydrolysis with 3-(3-indolyl)propionic acid as a protecting agent. *7th Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. Sept. 5-7. P-78. 136.

Mándoki, Zs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Determination of selenoamino acids by ion exchange column chromatography and by high performance liquid chromatography. *7th Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. Sept. 5-7. P-81. 139.

Pohn, G. – Albert, Cs. – Albert, B. – Lóki, K. – Mándoki, Zs., – Csapó-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. *7th Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. Sept. 5-7. P-99. 157.

Lóki, K. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Salamon, Sz. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó J.: Different acidic hydrolysis methods in order to determine the enantiomers of tryptophan. *10th International Congress on Amino Acids and Proteins*. Kallithea, Greece, 2007. Aug. 20-25. *Amino Acids*. 2007. 33. 49.

Lóki, K. – Pohn, G. – Albert, Cs. – Albert, B. – Mándoki, Zs., – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Analysis of tryptophan enantiomers bound in proteins after p-toluenesulphonic acid hydrolysis with 3-(3-indolyl)propionic acid as a protecting agent. *7th Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. Sept. 5-7. P-78. 136.

Mándoki, Zs. – Pohn, G. – Lóki, K. – Albert, Cs. – Albert, B. – Csapó-Kiss, Zs. – Csapó, J.: Determination of selenoamino acids by ion exchange column chromatography and by high performance liquid chromatography. *7th Balaton*

Symposium on High-performance Separation Methods. Siófok, 2007. Sept. 5-7. P-81. 139.

Pohn, G. – Albert, Cs. – Albert, B. – Lóki, K. – Mándoki, Zs., – Csapó-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. *7th Balaton Symposium on High-performance Separation Methods*. Siófok, 2007. Sept. 5-7. P-99. 157.

Előadások:

Csapó, J. – Schmidt, J. – Kametler, L. – Csapó-Kiss, Zs. – Varga-Visi É. – Terlaky-Balla, É. – Pohn, G: A new method for the quantitative determination of protein of bacterial origin on the basis of the D-aspartic acid and D-glutamic acid content. *Symposium on Animal Nutrition*. Opatija, 1999. jún. 9-11.

Csapó, J. – Schmidt, J. – Kametler, L. – Csapó-Kiss, Zs. – Varga-Visi É. – Terlaky-Balla, É. – Pohn, G: The D-amino acid content of foodstuffs and animal feeds. *Symposium on Animal Nutrition*. Opatija, 1999. jún. 9-11.

Csapó, J. – Pohn, G. – Pétervári, E. – Varga-Visi, É. – Csapó-Kiss, Zs.: Determination of the D- and L-enantiomers of sulphur containing amino acids by RP-HPLC after performic acid oxidation. *Balaton Symposium '01 On High Performance Separation Methods*. Siófok, 2001. szept. 2-4.

Csapó J. – Pohn G., – Vargáné Visi É. – Terlaky-Balla É.: Takarmányok és élelmiszerek triptofántartalmának vizsgálata. *III. Takarmányanalitikai Konferencia*. Keszthely, 2002. június 20.

Pohn Gabriella: A Kaposvári Egyetem Állattudományi Kar Kémiai Intézetének fehérjeanalitikai kutatásai. *Tudományos Ülés 2002*. Sopron, 2002. nov. 7.

Csapó J. - Csapóné Kiss Zs. – Pohn G.: Speciális kromatográfiai módszerek aminosavak analízisében. Aminosavanalitikai kutatások a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Kémiai Intézetében. *Elvásztástudományi Ankét 2003*. Budapest, 2003. ápr. 17.

Csapó J. – Pohn G.: Archeológiai kutatások a Kaposvári Egyetem Kémiai Intézetében. *A honfoglaló magyarság állama, kultúrája és az ősi vastermelés VII. konferenciája*. Somogyfajsz, 2003. máj. 29-31.

13. SZAKMAI ÖNÉLETRAJZ

1974. április 20-án születtem Kaposváron. Középiskolai tanulmányaimat a kaposvári Táncsics Mihály Gimnáziumban végeztem. Az érettségi után 1993-ban a Veszprémi Egyetem Mérnöki Karán kezdtem meg tanulmányaimat, ahol 1998-ban okleveles környezetmérnöki diplomát szereztem. Tekintve, hogy mindig is elhivatottságot éreztem a pedagógiai pálya iránt, mérnöki tanulmányaimmal párhuzamosan 1996-ban jelentkeztem a Veszprémi Egyetem Tanári Karára, diákéveimet 1999-ben okleveles kémia-környezettan szakos tanári diplomával zártam. Egyetemi éveim alatt a közösségi élet aktív résztvevőjeként 1994-1998-ig a VE Kollégiumában kollégiumi tanárként dolgoztam, továbbá az intézmény sportéletében is jelentős szerepet vállaltam.

1998-tól a KE-ÁTK-nak Kémiai Intézetében tudományos segédmunkatársi, majd 2000-től egyetemi tanársegédi kinevezést kaptam. 1999-ben felvételt nyertem levelező tagozatos hallgatóként a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Ph.D. képzésére. Témámhoz kapcsolódóan 1999. decemberében a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Karának szervezésében részt vettem *A szarvasmarha tőgygyulladásának kórtani, klinikai és állomány egészségügyi vonatkozásai* című továbbképzési kurzusán.

Tanszékünkön részt veszek a Kémia, Biokémia, Élelmiszer-kémia, és az Agrártermelés tudományos alapjai című tantárgyak oktatásában, továbbá a hallgatók tanulmányi versenyekre és diplomadolgozatra való felkészítésében. Az elmúlt években 12 hallgatónál láttam el konzulensi teendőket, közülük az egyik hallgató az OTDK Élelmiszertudományi szekciójában I. helyezést ért el. Analitikai tevékenységem, fehérjemeghatározásra, folyadék- és gázkromatográfiás vizsgálatokra

terjed ki. Kutatási területemhez az aminosav, illetve az aminosav-enantiomerek meghatározására alkalmas módszerek kidolgozása tartozik. Tudományos tevékenységem elismeréséül 2003-ban elnyertem a régió fiatal kutatóinak kiemelkedő kutatási tevékenységért MTA PAB által alapított díját. Tagja vagyok 2000-től a MKE Elválasztástudományi Társaságnak, 2002-től MTA PAB Élelmiszertechnológiai és táplálkozástudományi munkabizottságnak. 2000-ben a PAB Szervetlen és Analitikai munkabizottság titkárává választottak. Angol nyelvből „C” típusú középfokú, német nyelvből „C” típusú alacsony fokú nyelvvizsgálattal rendelkezem.