

# **DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

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

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

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

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

Készítette:  
**POHN GABRIELLA**

**KAPOSVÁR**  
**2008**

## 1. A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

A tejtermelő tehenek tőgygyulladás az összetett okú, ún. produkciós betegségek közé tartozik. A tehenek iparszerű tartási körülmények közötti tartása, a legelőn 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 – a nem kielégítő ellenállóképesség miatt – elszaporodva, tőgygyulladást idézzenek 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.

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.

**A disszertáció tárgyát képező kísérletek főbb célkitűzései az alábbi módon csoportosíthatók és fogalmazhatók meg:**

*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 mikrobafajok hatása a szabadaminosav-tartalomra.

2.2. A mikrobafajok hatása a szabad D-aminosav-tartalomra.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 2.1. Tejminták és a mintavétel körülményei

A gyulladássos tőgyből 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 masztitises egyedek megkülönböztetésére és a gyulladás fokozatainak azonosítására a California-Mastitis-Test (CMT) hazai változatát, a Mastitest-et – a higiéniai rendszabályok betartása mellett – alkalmaztuk. 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 mintavételt 25 egyednél tőgynegyedenként végeztük el.

Annak eldöntésére, hogy a baktériumokban gazdag első tejsugarak tartalmaznak-e D-aminosavakat, 5 tehén minden tőgynegyedének első kettő tejsugarát (egyedenként kb. 10–12 cm<sup>3</sup>) külön fejtük, 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 tehenek tőgynegyedeiből – a mastitest próba elvégzése után – bakteriológiai vizsgálatra 200 tejmintát küldtünk. Steril műanyag csőben 10–12 ml tejsugarat fogtunk fel, a mintákat a laboratóriumba érkezésig mélyhűtve (–18 °C) tároltuk. A laboratóriumi vizsgálatok az Országos Állategészségügyi Intézetben (Budapest) történtek.

## 2.2. 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 telep morfológia, 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.

## 2.3. Kémiai vizsgálatok

A minták kémiai analízisét a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Kémiai-Biokémiai Tanszékén végeztük.

A szabad aminosavak és a szabad D- és L-aminosavak koncentrációjának mérésére a fehérjék triklórecetsavas kicsapása és eltávolítása után került sor. Az analízis előtt a szabad aminosavakból OPA (orto-ftáaldehid) és 2-merkaptóetanol reagenssel gyűrűs származékot képeztünk, az aminosav-enantiomerekből pedig OPA és TATG (1-tio- $\beta$ -D-glükóz-tetraacetát) reagensekkel diasztereomer-párokat hoztunk létre, hogy az elválasztás akirális állófázisú oszlop használatával is megvalósítható legyen. Az szeparációt Superspher 60 és LiChrospher 100 típusú, RP-8e állófázisú oszlopokon (125 mm x 4 mm i.d.) végeztük el. A detektálás során a diasztereomerek fluoreszcens jelét mértük ( $\lambda_{\text{ex}}$ : 325 nm,  $\lambda_{\text{em}}$ : 420 nm). A származékképzésre és analízisre egy MERCK-Hitachi gyártmányú, LaChrom típusú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfot alkalmaztunk, mely a következő modulokból állt: L-7250 programozható

mintaadagoló és származékképző egység, L-7100 szivattyú, L-7350 oszloptermosztát, L-7480 fluoreszcens detektor és D-7000 AIA adatátalakító egység. Az adatgyűjtést és feldolgozást a „D-7000 HPLC System Manager” (HSM) program segítségével végeztük.

A minták összes szabadaminosav-tartalmának meghatározására, illetve a folyadékkromatográfiás analízissel kapott eredményekkel való összevetésre, az ioncserés oszlopkromatográfia elvén működő Aminochrom OE-914 típusú aminosav-analizátort is alkalmaztunk. 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.

#### **2.4. 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.

### 3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

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

Méréseink során megállapítottuk, hogy a baktériumban dús első két tejsugár szignifikánsan több D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint tartalmaz, mint az első tejsugarakat nem tartalmazó elegytej. Fentiekén kívül az első tejsugarakból sikerült még D-allo-izoleucint is kimutatni, melyet még nyomokban sem találtunk meg az elegytejben.

#### **3.2. Az egészséges és a mastitisesz tehenektől fejt tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma**

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 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. Elvégezve a diszkriminancia-analízist megállapítottuk, hogy a vizsgált csoportok (mastitest próba fokozatai) a szabad aminosavak abszolút mennyisége alapján jól elkülönülnek, továbbá minden csoport 100%-ban kategorizálható az adott független változók alapján.

Az egészséges és a mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő beteg tőgyből származó tej szabad D-aminosav-tartalmát vizsgálva az alábbi megállapításokat tehetjük. A mastitest próba alapján negatívnak

minősített tejminták is tartalmaznak szabad D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint. Ezek a mennyiségek szinte elhanyagolhatók a mastitest próba különböző fokozatainak megfelelő tejmintákhoz viszonyítva. Az +-es minősítésű tejmintákban a D-aszparaginsav, a D-glutaminsav és a D-alanin 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-serint és a D-prolint is ki tudtuk mutatni. A többi fehérjeépítő aminosav D-enantiomerje még csak nyomokban sem volt jelen a mintákban. A szabad D-aminosavak aránya (a számolásnál a folyadékkromatográfiával meghatározott szabad D-aminosavak mennyiségét elosztottuk az ioncserés oszlop-kromatográfiával meghatározott összes szabad aminosav mennyiségével, és az eredményt szoroztuk százszal,  $(D/(D+L) \cdot 100)$ ) az összes szabad aminosavhoz viszonyítva a negatív illetve az +-es mintáknál a legkisebb, és a betegség fokának növekedésével a legtöbb aminosavnál nő. Kivételt képeznek ezalól a D-leucin és a D-lizin, ahol nem találtunk különbséget a ++-es, +++-es vagy ++++-es minták között. A D-aminosavak abszolút mennyisége alapján diszkriminancia-analízis segítségével megállapítottuk, hogy a negatív, az +-, a ++-es minták egymástól jól elkülöníthetők, a +++- és ++++-es minták azonban a független változók alapján nem kategorizálhatók. A mért változók közül különösen a D-aszparaginsav, a D-glutaminsav, D-alanin és a D-aminosavak összege jelentős hatással bír. Ezen kívül a D-allo-izoleucin és D-lizin hatása sem elhanyagolható.

### **3.3. A tejminták bakteriológiai vizsgálata**

A gyulladással járó 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*.

### 3.4. A mikrobafajok hatása a szabad D-aminosav-tartalomra

Méréseinket a nyolc baktériumfaj által kiváltott +++ és ++++ mastitest fokozatú gyulladós tejminták aszparaginsav, glutaminsav, és alanin enantiomer párojaira végeztük el. Mivel a baktériumok sejtfalának peptidoglikánjaiban és anyagcsere termékeikben e három aminosav-enantiomer pár van a legnagyobb koncentrációban jelen, ezért mennyiségük biztonsággal kimutatható.

A vizsgált mastitest próba szerint 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.

A szabad D-aminosavak abszolút mennyisége alapján megállapítható, hogy a negatív tejminta a vizsgált aminosavak tekintetében és azok összegében is, szignifikánsan kevesebbet tartalmaz, mint a kórokozók által kiváltott gyulladós tejminta. A D-aszparaginsav (D-Asp) mennyiségét értékelve elmondhatjuk, hogy a *Corynebacterium bovis*, *Streptococcus uberis* és az *Escherichia coli* általi gyulladós mintáknál szignifikáns különbség mérhető. Az *Streptococcus uberis* által fertőzött tejnél szignifikánsan nagyobb koncentráció mérhető, mint az összes többi fertőzött minta tekintetében.

A D-glutaminsav (D-Glu) esetében 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, viszonylag magas koncentrációval.

A szabad D-aminosavak aránya  $(D/(D+L) \cdot 100)$  alapján megállapíthatjuk, hogy a negatív tejminta mindhárom aminosav esetében szignifikánsan különbözik a baktériumfajokat tartalmazó gyulladáshoz társított tejmintáktól. Elemezve a D-Asp-tartalmat megállapíthatjuk, hogy a mikrobafajok közül a *Staphylococcus aureus* és az *Escherichia coli* fajok D-Asp-tartalma szignifikánsan nagyobb, mint a többi csoporté. A többi fertőzött tejminta között azonban nincs statisztikailag igazolható különbség. Tehát a D-Asp% alapján csak a negatív tejminta illetve a *Staphylococcus aureus* és az *Escherichia coli* faj azonosítható. Ezért levonhatjuk azt a következtetést, hogy a vizsgált aminosav nem alkalmas a patogén mikrobák azonosítására. A csoportok D-glutaminsav-tartalmának átlagértékeit vizsgálva megállapíthatjuk, hogy az alkalmas lehet a mikrobafajok azonosítására, mivel a csoportok között a vizsgált aminosav mennyiségében szignifikáns különbség volt. A D-alanin átlagértékeinek vizsgálata alapján az alábbi megállapítást tehetjük. A *Streptococcus uberis* kórokozó által kiváltott gyulladáshoz társított tejminta szignifikánsan kevesebb D-Ala-t tartalmaz, mint a többi fertőzött tejminta. Ezen aminosav alapján a többi kórokozó azonban nem azonosítható.

### **3.5. A mikrobafajok hatása a szabadaminosav-tartalomra**

A szabad aminosavak vizsgálata ugyanazokból a mintákból történt, amelyekből az enantiomereket mértük. A szabad aminosavak abszolút mennyiségét mérve megállapítottuk, hogy a negatív tejminta – a fenilalanin-tartalmat kivéve – szignifikánsan különbözött az összes többi kórokozótól. A baktériumfajok között csak néhány aminosav esetében mérhető szignifikánsan igazolható különbség mérhető. Az *Escherichia coli* és a *Streptococcus uberis* által kiváltott gyulladáshoz társított tejek

aszparaginsav- (Asp) tartalma szignifikánsan nagyobb, mint a többi tejmintánál mért érték. A két kórokozó által kiváltott masztitiszes tejek között is jelentős különbség mérhető. 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. 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 szignifikánsan többet tartalmaztak tirozinból a negatív- és a masztitiszes mintáknál is.

A szabad aminosavak összegét tekintve a negatív tejminta szignifikánsan kisebb volt az összes gyulladós mintánál. A baktériumfajok közül az *Escherichia coli*, a *Staphylococcus aureus* és az *Arcanobacter pyogenes* által fertőzött tejminta különíthető el.

Diszkriminancia-elemzés segítségével megállapítottuk, hogy a vizsgált kórokozók közül, a független változók alapján, a *Streptococcus uberis*, az *Escherichia coli* és a *Staphylococcus aureus* fajok által fertőzött masztitiszes minta jól elkülöníthető. Az aminosavak közül a hisztidin, az aszparaginsav, glutaminsav, és az aminosavak összegének hatása jelentős.

A szabadaminosav arányát az összes aminosav százalékában fejeztük ki ( $D/(D+L) \cdot 100$ ). Méréseink során megállapítottuk, hogy az egyes baktériumfajok általi gyulladós minták szabadaminosav-tartalma között nincs szignifikánsan igazolható különbség ( $P > 0,05$ ), azonban vannak olyan aminosavak, melyek részaránya jellemző az adott mikrobafajra. A kórokozók között a *Streptococcus uberis* okozta gyulladós tőgyből származó tej glicintartalma esetében szignifikáns különbség mérhető ( $P < 0,05$ ). Megállapíthatjuk, hogy az *Escherichia coli* faj okozta masztitiszes tej jelentősen több fenilalanint tartalmaz ( $P < 0,05$ ). A lizintartalom vizsgálata esetén szignifikánsnak tekinthető

eltérést csak a *Pseudomonas aeruginosa* által kiváltott kóros elváltozású tejnél tapasztaltunk. Diszkriminancia-analízis során megállapítottuk, hogy a kórokozók közül *Pasteurella multocida*, a *Pseudomonas aeruginosa* és a *Streptococcus dysgalactiea* által fertőzött tejminták a vizsgált változók alapján elkülöníthetők.. 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.

## 4. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

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

Vizsgálataink igazolták, hogy van összefüggés a masztitisz fokozatai és a tejben található összes szabad és szabad D-aminosav mennyisége között. A gyulladással tőgyből származó 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 mastitist próba alapján negatívnak minősített tejminták és az elegytej is tartalmaz szabad D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint. Az így kapott mennyiségek azonban elhanyagolhatók a mastitist 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 szabadaminosav-tartalom alapján a mastitist 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 mérétéke előre jelezhető.

### 4.2. 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 tőgyből származó 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 kórokozók által kiváltott gyulladással tej 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 előrejelzésére, 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 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 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 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.

## 5. 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.

## 6. 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 diaminopimelinsav-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 Kaposvariensis.* 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 folyadékkromatográfias 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. – Csapóné 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-51<sup>st</sup> 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. *2<sup>nd</sup> 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-58<sup>th</sup> Annual Meeting*. Dublin, 2007. Aug. 26-29. P-20, 204.