

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

KAPOSVÁRI EGYETEM

ÁLLATTUDOMÁNYI KAR

Kémiai Intézet, Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszék

A doktori iskola vezetője:

DR. HORN PÉTER

az MTA rendes tagja

Témavezető:

DR. CSAPÓ JÁNOS

az MTA doktora

KÜLÖNBÖZŐ TAKARMÁNY-ALAPANYAGOK ELŐKÉSZÍTÉSÉNEK ÉS EGYES ÉLELMISZEREK GYÁRTÁSÁNAK HATÁSA A D-AMINOSAV- TARTALOMRA

Készítette:

VARGÁNÉ VISI ÉVA

KAPOSVÁR

2004

1. A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A fehérje az egyik legértékesebb takarmánykomponens, azonban emészthetőségét és az aminosavak hasznosíthatóságát számos átalakulás ronthatja. Ezek közül egy kevésbé tanulmányozott folyamat a racemizáció, amely az aszimmetriás szénatom körüli atomcsoportok térbeli elrendeződésének megváltozásával jár. A keletkező D-aminosavak az emésztéskor csak korlátozott mértékben szabadulnak fel a polipeptidláncból, és „használható” L-enantiomerekké való enzimes visszaalakításuk is nehézségekbe ütközik. A gátolt fehérjebontás és kedvezőtlen felszívódási viszonyok ellenére a szervezetbe kerülő D-aminosavaknak - bizonyos vélemények szerint - egészségkárosító hatásuk is lehet. Fentiek miatt célszerűnek tűnt felmérni, hogy ez az átalakulás végbemegy-e jelentős mértékben egyes gyártási folyamatok során és tanulmányozni azon tényezőket, melyeknek szerepe lehet a D-aminosavak kialakulásában.

A nyers élelmi anyagok nem, vagy csak kis mértékben tartalmaznak D-aminosavakat, azonban az élelmiszerek és a takarmányok gyártásakor a hőkezeléssel, lúgos kezeléssel, vagy fermentációval járó műveletek egyaránt kialakulásukhoz vezethetnek. A hőmérséklet emelése mind a fehérjékben kötött, mind a szabad aminosavakban felgyorsítja a racemizáció kémiai folyamatának sebességét. Az erjedéses technológiáknál a baktériumok közreműködése révén szabad D-aminosavak kerülnek a termékbe. A szabad D-aminosavak mennyisége azért tarthat érdeklődésre számot, mivel esetükben a limitált proteolízisnek nincs jelentősége, így nagyobb hányaduk szívódhat fel, mint a fehérjében kötött D-aminosavaknak. A fermentációs technológiák közül eddigi ismereteink szerint a sajtgyártás jár a legtöbb szabad D-aminosav kialakulásával.

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

1. Aminosav-racemizáció vizsgálata hőkezeléssel járó műveletek hatására.

1.1. Toronyszárítóval végzett meleg levegős szárítás hatása a kukoricafehérjék D- és L-aminosav-tartalmára.

1.2. A racemizáció mértékének vizsgálata kukoricadara extrudálásakor, a kezelési hőmérséklet és a tartózkodási idő függvényében.

1.3. A tósztolás hatása a fullfat szója D-és L-aminosav-tartalmára.

1.4. A racemizáció mértékének vizsgálata fullfat szójában extruderrel végzett száraz termikus kezelés hatására, a kezelési hőmérséklet és a tartózkodási idő függvényében.

2. A szabad D-aminosavak mennyiségének és kialakulási folyamatának vizsgálata a sajtgyártás hatására.

2.1. Különböző technológiával készült sajtok szabad D-aminosav-tartalmának vizsgálata.

2.2. A cheddar sajt D-aminosav-tartalmának alakulása a gyártás során.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Hőkezeléssel járó műveletek megvalósítása

A szárított kukoricamintákat egyrészt az Agria Mezőgazdasági és Szolgáltató Szövetkezet szentgáloskéri, másrészt a Kapostáj Mezőgazdasági Termelőszövetkezet zimányi szárítótelepén vettük. A kukorica szárítása *Bábolna B1-15* típusú gravitációs toronyszárítóval történt.

A tósztott szójatermékek (hidrotermikus szójadara és natúr hidrotermikus szója) mintavételét a Bóly Rt. (Bóly-Állomáspusztja) tette lehetővé. Az Rt. Törökdombi Takarmányüzemében, roppantást követően került sor a szójatermékek *KAHL HR-1600* hidrotermikus reaktorral végzett hőkezelésére.

Az extrudálás alapanyagául szolgáló kukorica és fullfat szója magvak aprítását követően meghatároztuk a darák szemcseméret-eloszlását. A kukorica esetében a nedvességtartalmat kondicionálással a kívánt szintre (18%) állítottuk be. Az extrúziós próbákat a BMGE Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszékén végeztük el, *Brabender* gyártmányú, *Do-Corder DC 2001* típusú egycsigás kísérleti extruderrel, melyen lehetőség volt a csiga fordulatszámának beállítására, valamint a ház és a matrica hőmérsékletének szabályozására. A kezelésekhöz kiválasztott hőmérsékleti profilok és fordulatszám-beállítások a készüléken a technikailag alkalmazható széles tartományt fogták át. Az összes kezelés-kombinációnál mértük a zónák pontos hőmérsékletét. Meghatároztuk továbbá az adott fordulatszámhoz tartozó minimális tartózkodási időt és az extrudátum tömegáramát is. A nem hőkezelt kontroll mintákat az extrudálásra kerülő sarzsból vettük, mindig közvetlenül a kezelés-kombinációk végrehajtása előtt.

2.2. A sajtgyártás

A cheddar sajtokat a standard gyártástechnológiának megfelelően (Scott, 1998) a Corki Egyetem Élelmiszertudományi és Élelmiszertechnológiai Tanszékének kísérleti üzemében állítottuk elő (Cork, Írország). A nyerstej pasztörözését, valamint a kazein-tejzsír-arány beállítását követően, a sajttej utóérlelését *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303, illetve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2 egytörzstenyészetek üzemi kultúrájának hozzáadásával végeztük el. Az utóérlelést az oltós alvasztás követte, majd a megfelelő alvadék-állag kialakulása után az alvadék kidolgozása (felvágás, aprítás, elősajtolás és utómelegítés) és különleges kezelése, a cheddarozás került sorra. A kidolgozott alvadékot ujjnyi nagyságú csíkokra aprítottuk, majd az alvadékot sóztuk, blokkformába tettük, és préseltük. A sajtok műanyag fóliába csomagolást követően kerültek érlelésre.

A gyártásközi mintavételekre minden egyes gyártási folyamatban a következő pontokon került sor: a sózás után, a préselést követően, valamint az érlelés során, a gyártás napjától számított 7. és 28. napon, illetve kilenc hét után. A mintákat aprítottuk, liofileztük, majd fagyaszttva tároltuk az analízis megkezdéséig.

2.3. Kémiai vizsgálatok

A minták kémiai analízisét a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Kémiai Intézetében, a Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszéken végeztük el. A szárazanyag-tartalmat az MSZ ISO 1442 szabvány alapján, a nyersfehérje-tartalmat a Kjeldahl-módszerrel határoztuk meg (Magyar Takarmánykódex (1991) 6.1. fejezet). Az aminosav-analízis Aminochrom OE-914 típusú aminosav-analizátorral történt. A szójatermékek tripszininhibitor-aktivitásának (TIA) meghatározását az EN ISO 14902 szabványban leírt módon végeztük el.

Az aminosav-enantiomerek kötött és szabad formában jelenlévő együttes mennyiségének meghatározása előtt a fehérjéket savas

körülmények között hidrolizáltuk. A szabad D- és L-aminosavak koncentrációjának mérésére a fehérjék triklórecetsavas kicsapása és eltávolítása után került sor. Az analízis előtt az aminosav-enantiomerekből OPA (o-ftálaldehid) és TATG (1-tio- β -D-glükóztetraacetát) reagensekkel diasztereomer-párokat képeztünk, hogy az elválasztás akirális állófázisú oszlop használatával is megvalósítható legyen. Az elválasztást Superspher 60 típusú, RP-8e állófázisú oszlopon (125 mm x 4 mm i.d.) végeztük el. A származékképzésre és az 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 adat-átalakító egység. Az adatgyűjtést és feldolgozást a „D-7000 HPLC System Manager” (HSM) program segítségével végeztük.

2.4. Az adatok statisztikai értékelése

A hőközléssel járó műveletek hatását a kísérleti egységeken mért teljes D- és L-aminosav-tartalom, valamint a racemizáció mértéke alapján értékeltük. A kukoricaszárításnál a kezeletlen és a kezelt csoportba tartozó mintaelemeknél a fenti változók középértékét független mintás t-próbával hasonlítottuk össze. A szója tósztolásánál a kontroll és a két hőkezelt szójatermék összehasonlítását egytényezős varianciaanalízissel végeztük el.

Az extrudálási kísérleteknél az alkalmazott hőmérséklet- és fordulatszám-szintek D-aminosav-tartalomra, valamint racemizációra gyakorolt hatását kéttényezős varianciaanalízissel elemeztük. A véletlen hiba becslése céljából minden egyes paraméter-kombinációjú kezelést három különböző alkalommal ismételtünk meg. A mintaelemeket a kezelési szintek szerint csoportosítottuk. Amikor a középértékek azonosságát kimondó nullhipotézist nem fogadtuk el ($P < 0,05$), az átlagok többszörös összehasonlítását a Student-Newman-Keuls-próbával végeztük el. Amennyiben a csoportok varianciája jelentősen különbözött

(Levene-teszt, $P < 0,05$), akkor a páronkénti összehasonlítást a statisztikai program által javasolt Tamhane-próbával valósítottuk meg. Néhány esetben a változók a csoportokon belül nem mutattak normális eloszlást (Shapiro-Wilk-teszt, $P < 0,01$). Ebben az esetben a két tényező hatását külön-külön vizsgáltuk, az egytényezős varianciaanalízisnek megfelelő nemparaméteres vizsgálattal, a Kruskal-Wallis-próbával.

A D-aminosav-tartalom, a $\frac{D}{D+L} \cdot 100$ arány, valamint a kezelési hőmérséklet és a tartózkodási idő kapcsolatát többváltozós lineáris regresszióanalízissel is értékeltük. Az azonos mintaelemen mért változók összefüggésének vizsgálatára, minden egyes mintaelemnél a mért pontos hőmérsékletet és tartózkodási időt használtuk fel. A D-aminosav-tartalmat, valamint a $\frac{D}{D+L} \cdot 100$ arányt függő változónak, a kezelési hőmérsékletet és a tartózkodási időt független változóknak tekintettük. A helyes regressziós modell felállítása céljából a független változók modellbe vételéről, vagy a modelltől való kizárásáról a „forward” módszerrel döntöttünk, a parciális determinációs együtthatók F-próbája alapján.

A sajtgyártás egyes lépéseinek vizsgálatok a szabad D- és L-aminosav-tartalom és a szabad D-aminosav-összetétel alakulását, valamint a $\frac{D}{D+L} \cdot 100$ arány változását követtük nyomon. A gyártási fázis és a törzshatás vizsgálatára kéttényezős varianciaanalízist alkalmaztunk mind az aminosavak abszolút mennyisége, mind a százalékos mutatók esetében. A középértékek összehasonlítását Student-Newman-Keuls-teszttel valósítottuk meg.

A statisztikai kiértékelést az SPSS for Windows 10.0 (1999) programcsomag segítségével végeztük el.

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKEELÉSÜK

3.1. Aminosav-racemizáció vizsgálata hőkezeléssel járó műveletek hatására

3.1.1. A kukoricaszárítás D-aminosav-tartalomra gyakorolt hatása

A szárítás előtt és után vett minták D-aminosav-tartalma még a legmagasabb hőmérsékletű szárításnál sem különbözött jelentősen egymástól (100 °C léghőmérséklet, 40-45 °C maghőmérséklet).

3.1.2. Az extrudálási körülmények hatása a kukorica D-aminosav-tartalmára

Az alacsony névleges hőmérsékleten (≤ 140 °C) kezelt mintákban az aszparaginsav, a szerin, a glutaminsav és a leucin racemizációja 1% alatt volt és a megfelelő D-enantiomerek mennyisége sem különbözött szignifikánsan a kontrolltól. 170 °C-on a D-aszparaginsav koncentrációja (15,6 mg/100g) már szignifikánsan magasabb volt, mint a kezeletlen mintákban, és 200 °C-os kezelés hatására még határozottabb növekedést tapasztaltunk (38,5 mg/100g). A D-szerinnél és a D-glutaminsavnál szignifikánsnak tekinthető eltérés a többi hőmérséklethez képest csak a 200 °C-on kezelt mintáknál jelentkezett (3,2 illetve 9,7 mg/100g). Az extrudálási hőmérséklet növelésének hatására a racemizáció mértékét kifejező $\frac{D}{D+L} \cdot 100$ jelzőszám a D-aminosavak koncentrációjának változásához hasonló tendenciát mutatott: a 170 °C-on extrudált mintákban az aszparaginsav 2,4%-a; 200 °C-on 6,1%-a D-enantiomer formájában volt jelen.

A különböző fordulatszámmal extrudált minták között nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni sem a D-aminosav-tartalomban, sem a racemizációban ($P > 0,05$). A vizsgált tartományban a hőmérséklet racemizációra gyakorolt hatása hangsúlyosabb volt, mint a tartózkodási időé. A racemizáció reakciósebességi állandójának

hőmérsékletfüggése, valamint a kinetikailag elsőrendű reakció idő- és koncentrációfüggését leíró egyenlete alapján megállapítható, hogy a reakcióidő legnagyobb mértékű növelése - amely háromszor hosszabb időtartamot jelentett - kevesebb, mint 10 °C hőmérsékletemelés hatásának felelt meg.

A vizsgált L-enantiomerek közül a 200 °C-on extrudált kukoricában 24%-kal kevesebb L-lizin és 7,7%-kal kevesebb L-aszparaginsav volt jelen, mint a kontrollban. Az L-aszparaginsav koncentráció-csökkenésének 78%-a a D-aszparaginsav-képződés miatt következett be. Ugyanakkor az L-lizin-szint csökkenésének legfeljebb 2%-a tulajdonítható a racemizációnak.

3.1.3. A tósztolás hatása a fullfat szója D- és L-aminosav- tartalmára

Gyakorlatilag sem a D-, sem az L-aminosavak mennyisége nem változott meg jelentősen a túlnyomásos gőzben történő főzés hatására ($P > 0,05$), miközben a hőkezelés mindkét szójatermékben megfelelően csökkentette a tripszinh inhibitorok aktivitását ($TIA < 1,5$ mg/g), és az ureáz próbával mért csekély pH változás ($\Delta pH < 0,2$) is a megfelelő mértékű hőkezelést igazolta.

3.1.4. Extruderés hőkezelés körülményeinek hatása a fullfat szója D-aminosav-tartalmára

A szójadarában már az alacsonyabb hőmérsékleten (≤ 140 °C) kezelt mintákban is számottevő mennyiségű D-szerint és D-glutaminsavat detektáltunk, melyek szintje a D-fenilalaninnal együtt a hőmérséklet emelésével fokozatosan nőtt. A fehérjén belüli átalakulást jellemző $\frac{D}{D+L} \cdot 100$ racemizációs jelzőszám a D-aminosavak koncentrációjának változásához hasonló tendenciát mutatott. Azonban a legalacsonyabb, és a legmagasabb hőmérsékletű szintek közti különbség kissé nagyobb volt (pl. glutaminsav: 0,57%, 100 °C; 1,43%, 220 °C), mint a D-aminosavak abszolút mennyiségében mért különbségek (pl. D-

glutaminsav: 40 mg/100g, 100 °C; 89 mg/100g, 220 °C). Ez magyarázható azzal, hogy a D-enantiomerek mennyiségének növekedésével párhuzamosan csökkent az L-enantiomerek mennyisége, részben a racemizáció, részben más átalakulások hatására.

A kukorica-extrudáláshoz hasonlóan, a kísérleti tartomány szélső értékei közötti fordulatszám-változtatás nem gyakorolt szignifikáns hatást a D-aminosav-tartalomra, és az aminosavak racemizációjára. Ez a jelenség a szója kezelésénél is magyarázható a hőmérséklet hatásának a vizsgált hőmérséklet-idő tartományokon belüli dominanciájával.

A magas hőmérsékletű (140 °C feletti) hőkezelés a legtöbb vizsgált L-aminosav mennyiségét jelentősen csökkentette. A kukorica kezeléséhez hasonlóan, a szójánál is az L-lizin koncentráció-csökkenése volt a legnagyobb mértékű a vizsgált L-aminosavak közül (21%; 220 °C-on), és veszteségében nem volt jelentős szerepe a racemizációnak. A szója L-lizin, L-szerin, L-glutaminsav és L-aszparaginsav-tartalmának 21, 17, 10, illetve 8,6%-os csökkenésében a veszteség 92, 76, 87, illetve 75%-a a racemizáción kívüli egyéb okokra, az oldalláncok átalakulásával és keresztkötések kialakulásával járó reakciókra vezethető vissza. A fenti négy aminosavval szemben, a 220 °C-os kezeléskor az L-fenilalanin-veszteség mértéke gyakorlatilag megegyezett D-fenilalanin-kialakulás mértékével.

A szója kezelése nagyobb mennyiségű D-aminosav kialakulásával járt, mint a kukorica extrudálása, erre magyarázatul szolgálhat, hogy a szója mintegy négyszer több fehérjét tartalmaz, mint a kukorica. A fehérje abszolút mennyiségétől független $\frac{D}{D+L} \cdot 100$ arány változása alapján látható, hogy hasonló mértékű hőkezelés nagyobb arányú átalakulást okozott a szója fehérjében, mint a kukoricafehérjékben.

3.2. A szabad D-aminosavak mennyiségének meghatározása sajtokban és kialakulási folyamatának vizsgálata a sajtgyártás során

3.2.1. Különböző technológiával készült sajtok szabad D-aminosav-tartalmának vizsgálata

Az érlelés nélkül forgalomba hozott mozzarella D-aminosav-tartalma (6,7 mg/100g) jelentősen elmaradt az érlelt sajtokétól (25-85 mg/100g), azonban a hosszabb érlelési idő nem jelent feltétlen magasabb D-aminosav-szintet. A különböző technológiával készült sajtok D-aminosav-tartalma alapján levonható az a következtetés, hogy *késztermékek* vizsgálata alapján nem lehet egyértelmű összefüggést találni a sajtok szabad D-aminosav-tartalma, valamint az érlelés időtartama között. Az érleléskor, valamint az egyéb műveletek hatására bekövetkező változásokat egy adott gyártástechnológia folyamatában, a *gyártásközi minták* D-aminosav-tartalmának mérésével és összehasonlításával célszerű megvalósítani.

3.2.2. A cheddar sajt D-aminosav-tartalmának alakulása a gyártás során

A cheddar sajt érlelésekor a szabad D-alanin mennyisége folyamatosan nőtt a sajttésztában ($P=0,002$). Ebben közrejátszhat az, hogy az érési idő előrehaladtával egyre több baktériumsejt szenved lízist, melynek hatására a D-alanin felszabadul a sejtfalból és a citoplazmából. Az érlelés alatt a D-alanin mennyiségének növekedése gyakorlatilag követte a tejfehérjéből felszabaduló L-alanin koncentrációjának növekedését. Elképzelhető, hogy a szabad D-alanin-tartalom egy része a sajttésztában található szabad L-alaninból jött létre az alanin racemáz hatására, amennyiben ez az enzim a baktériumsejten kívül is képes jelentékenyen működni. Amennyiben képes, az L→D átalakulási folyamat felerősödhet az érés során. Egyrészt a lízis intenzívebbé válásával egyre több alanin racemáz enzim szabadul fel a sejtekből, másrészt az érés mélységének és a szabad aminosavak mennyiségének

növekedésével a sejtből kiszabadult bakteriális eredetű racemáz egyre több szubsztrátra lehelhet.

Kísérletünk során a sajt szárazanyagának D-aszparaginsav-tartalma mindegyik törzskultúra, a D-glutaminsav mennyisége pedig a „303” jelű törzskultúra használatakor jelentősen nőtt a préselésnél ($P < 0,05$). A préselés során alkalmazott nyomás (75 kPa) négy nagyságrenddel kisebb volt, mint amely a nyerstej csíraszám-csökkenéséhez szükséges, így a nyomás önmagában nem tehető felelőssé a D-enantiomerek felszabadulásáért. Nem zárható ki azonban, hogy a préseléskor kialakuló erőhatások más tényezőkkel együtt elősegíthették egyes sejtek pusztulását. Ilyen momentum lehet például az ozmózisnyomás növekedése.

Az érleléskor a termék D-aminosav-összetétele folyamatosan változott ($P < 0,01$), melyet a D-alanin D-aminosav-tartalmon belüli arányának növekedése, valamint a D-glutaminsav-arány csökkenése okozott. A szabad D-aminosav-összetételben azonban nem volt szignifikáns különbség annak függvényében, hogy melyik törzset alkalmaztuk a sajtgyártás során.

A *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303 egysejtkultúrával gyártott sajtok mindegyik D-aminosavból jelentősen többet tartalmaztak ($P < 0,01$), mint a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2 tenyésztettel készített termékek. Valószínűleg ennek az volt az oka, hogy az előbbi kultúra használatánál a D-aminosav-termelődés intenzívebb volt. Elképzelhető, hogy a „303” jelű törzs adott gyártási körülmények között hajlamosabb a lízisre, mint az „AM2” jelű törzs, és így sejtejéből több D-aminosav szabadul fel, illetve alakul ki enzimes úton.

4. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

4.1. Aminosav-racemizáció vizsgálata hőkezeléssel járó műveletek hatására

A vizsgált kukoricaszárítási folyamatok hatására, üzemi körülmények között, még a legmagasabb hőmérsékleten szárított mintákban sem alakult ki számottevő mennyiségű D-aminosav.

A Brabender gyártmányú kísérleti extruderen a 140 °C alatti hőmérsékleten, 28 - 75 másodpercig tartó extrúzió nem járt szignifikáns racemizációval. Az aszparaginsav, a szerin, a glutaminsav és a leucin D-enantiomer-tartalma 1% alatt maradt, és gyakorlatilag nem különbözött a kezeletlen kontrolltól. A 200 °C-os kezelés hatására a fenti négy aminosav racemizációja jelentősen meghaladta a kontrollban mért értéket, de a szerin, a glutaminsav és a leucin átalakulása messze elmaradt az aszparaginsavétól. Ezen a magas hőmérsékleten végzett kezelésnél az L-aminosavak közül a lizin és az aszparaginsav mennyisége jelentősen csökkent. Míg az L-aszparaginsav-veszteség kétharmada a racemizációnak tulajdonítható, a lizinnél az L→D átalakulás nem volt jelentős, így a lizintartalom-csökkenés inkább a redukáló szénhidrátokkal és más aminosav-oldalláncokkal is könnyen reagáló ε-amino-csoport átalakulása miatt következett be.

A fullfat szója túlnyomósos gőzben történő főzésekor, üzemi körülmények között, nem növekedett jelentősen egyik vizsgált D-aminosav mennyisége sem, miközben a kezelés elérte a célját: a fehérje anyagcserét rontó tripszinhibitorok aktivitása megfelelő mértékben csökkent.

Az extruderrel végzett száraz termikus kezelésnél a fullfat szójadarában a racemizáció már alacsony hőmérsékleteken (≤ 140 °C) is számottevő volt. Több L-aminosav koncentrációja is jelentősen csökkent, azonban a racemizáció aminosavanként eltérő mértékben tehető felelőssé a veszteségért. Míg a fenilalanin átalakulása majdnem teljes mértékben az L→D átalakulással magyarázható, a lizinveszteség túlnyomó hányada

egyéb folyamatok eredménye. Hasonló mértékű hőkezelés több D-aminosav kialakulásával és nagyobb racemizációval járt a fullfat szójánál, mint a kukoricánál.

4.2. A szabad D-aminosavak mennyiségének és kialakulási folyamatának vizsgálata fermentációs technológia hatására

A cheddar sajt kísérleti gyártása során az érlelésekor a nagyobb mennyiségben jelenlévő szabad D-aminosavak közül (D-alanin, D-aszparaginsav és D-glutaminsav) csak a D-alanin mennyisége növekedett egyenletesen az érési idő függvényében. A D-alanin koncentráció emelkedése feltételezhetően az elpusztult és lízist szenvedett baktériumsejtek számának növekedésével függ össze. Az érés mélységének növekedésével egyre több L-alanin szabadult fel, és a két alanin-enantiomer mennyisége egymással párhuzamosan növekedett. Ez a megfigyelés utalhat arra, hogy a szabad D-alanin nemcsak bakteriális peptidoglikán vagy citoplazma eredetű lehet, hanem a proteolitikus enzimek által a tejfehérjékből felszabadított L-alaninból is kialakulhat, amennyiben a baktériumsejtek citoplazmájából a sajtésztaiba jutó alanin racemáz enzim a sejten kívül is funkcióképes.

A préselés során a szárazanyag D-aszparaginsav és D-glutaminsav-tartalma nőtt. A sajtok préselésénél alkalmazott nyomás több nagyságrenddel elmarad attól az értéktől, amely a baktériumok elpusztításához szükséges, így a nyomásnövekedés önmagában nem tehető felelőssé ezért a jelenségért.

A gyártás folyamán a D-aminosav-összetétel folyamatosan változott, azonban a D-aminosav-mintázat alakulását nem befolyásolta, hogy mely starterkultúrával végeztük el a beoltást. A vizsgált D-aminosavak abszolút mennyiségét azonban nagyban befolyásolta, hogy a beoltásnál melyik törzset alkalmaztuk, ami azt jelezte, hogy a vizsgált törzsek lízisse való hajlandósága eltérhet egymástól.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A kukorica extrudálásakor alacsony hőmérsékleten (110-140 °C) a vizsgált L-aminosavak mennyisége gyakorlatilag változatlan maradt, és a D-enantiomerek koncentrációja sem növekedett. Magasabb hőmérsékleten (170-200 °C) az aminosav racemizáció már számottevő volt.

A fullfat szója tószterezésének hatására, üzemi körülmények között nem változott meg a vizsgált aminosav enantiomerek mennyisége.

Az extruderrel végzett száraz termikus kezelés hatására a szójánál már alacsonyabb hőmérsékleten (<140°C) is jelentős aminosav-racemizációt tapasztaltunk.

6. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK

Magyar nyelven megjelent tudományos közlemények:

Csapó J. - Csapóné Kiss Zs. - Vargáné Visi É. - Andrásyné Baka G. - Terlakyné Balla É.: Élelmiszerek D-aminosav tartalma. Irodalmi áttekintés. *Acta Agraria Kaposváriensis* 1997. 1. 3-20.

Csapó J. - Csapóné Kiss Zs. - Vargáné Visi É. - Pohn G. - Pétervári E.: Élelmiszerek D-aminosav tartalma. *Tejgazdaság* 2001. 1. 1-11.

Vargáné Visi É. - Csapó J.: A cheddar sajt szabad D-aszparaginsav- D-glutaminsav és D-alanin tartalmának alakulása a gyártás során. *Acta Agraria Kaposváriensis* 2003. 7. 1. 47-61.

Idegen nyelven megjelent tudományos közlemények:

Csapó, J. - Csapó-Kiss, Zs. - Varga-Visi, É. - Kametler, L. - Pohn, G. - Horn, P.: The D-amino acid content of foodstuffs subjected to various technological procedures. *Agriculture* 2000. 6. 1. 132-135.

Varga-Visi, É. - Terlaky-Balla, É. - Pohn, G. - Kametler, L. - Csapó, J.: RPHPLC Determination of L- and D-Cystine and Cysteine as Cysteic Acid. *Chromatographia Suppl.* 2000. 51. 325-327.

Csapó, J. - Csapó-Kiss, Zs. - Kametler, L. - Varga-Visi, É. - Pohn, G. - Horn, P.: The D-amino acid content of foodstuffs. *Hungarian Agricultural Research* 2001. 10. 1. 16-19.

Varga-Visi, É. - Merész, P. - Terlakyné Balla, É. - Csapó, J.: The effect of the extrusion temperature and the residence time on the D-amino acid content of corn extrudates. *Acta Agraria Kaposváriensis* 2004. 8. 1. 59-68.

Proceedingekben teljes terjedelemben megjelent közlemények:

Csapó J. - Schmidt J. - Wágner L. - Csapóné Kiss Zs. - Vargáné Visi É. - Terlakyné Balla É.: Különböző hőkezelések hatása élelmiszerek D-aminosav tartalmára. *Műszaki Kémiai Napok '98 Veszprém*, 1998. április 15-17. 83-84.

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.

Vargáné Visi É. - Merész P. - Terlakyné Balla É. - Csapó J.: A termikus kezelés hatása a kukorica D-aminosav tartalmára. *Műszaki Kémiai Napok '04 Veszprém*, 2004. április 20-22. 87-90.

Proceedingekben megjelent abstractok:

Csapó, J. - Csapó-Kiss, Zs. - Kametler, L. - Varga, Visi, É. - Pohn, G. - Horváth, P.: The D-amino acid content of foodstuff and animal feeds. *4. International Conference of Food Science Szeged*, 2000. április 27-28. 12.

Csapó, J. - Csapó-Kiss, Zs. - Kametler, L. - Varga-Visi, É. - Pohn, G. - Horváth, P.: Total free and free D-amino acid content of cheeses produced by different technologies. *4. International Conference of Food Science Szeged*, 2000. április 27-28. 24.

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

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. szeptember 5-9. 144.

Varga-Visi, É. - Merész, P. - Terlaky-Balla, É. - Csapó, J.: The effect of extrusion temperature and residence time on the D-amino acid content of corn extrudates. *2nd Central European Congress on Food* Budapest, 2004. április 26-28. 95.