



Élelmiszerek D-aminosav tartalma Irodalmi áttekintés

**Csapó J., Csapóné Kiss Zs., Vargáné Visi É., Andrássyné Baka G.,
Terlakyné Balla É.**

Pannon Agrártudományi Egyetem, Állattenyésztési Kar, Kémiai Intézet, Kaposvár, 7400 Guba S. u. 40.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az élelmiszer fehérjékben előforduló D-aminosavak a technológiai beavatkozás következtében jönnek létre, miközben előkészítik az alapanyagokat fogyasztásra. A D-aminosavak legfontosabb forrásai az élelmiszerek, ugyanis az élelmiszer fehérjék a főzés vagy a különböző élelmiszeripari feldolgozási folyamatok során kisebb-nagyobb mértékű racemizáción esnek át. Az élelmiszer áruházak növekvő mennyiségben tartalmaznak olyan élelmiszereket (reggelihez használt cereáliák, sült krumpli, folyékony és por alakú gyermektápszerek, húshelyettesítők és egyéb kiegészítő szerek) melyek egy része jelentős mennyiségű D-aminosavat tartalmaz, és ezek a D-aminosavak káros emésztési és egészségügyi sajátságokkal bírnak. A lúgos kezelés katalizálja az optikailag aktív aminosavak racemizációját. A racemizáció aránya eltérő ugyan a különböző fehérjéknél, de a fehérjéken belül az egyes aminosavak relatív sorrendje igen hasonló. Elsősorban a közeg pH-ja, a hőkezelés, az alkális behatás ideje és az egyes aminosavak szerkezete befolyásolja leginkább a racemizációt. Az alkáliával vagy a hővel történő kezelés során kapott D-aminosavak rontják a minőséget és a kezelt élelmiszer biztonságos felhasználhatóságát. A D-aminosavak jelenléte a fehérjében csökkenti az emészthetőséget és a többi aminosav hozzáférhetőségét. Ez az esszenciális aminosavak L-enantiomerjei mennyiségének csökkenését eredményezheti, mivel a peptid kötések a normális úton nem tudnak szétszakadni. Néhány D-aminosav izomer toxikus hatással is rendelkezhet és módosíthatják a lizinoalanin biológiai hatását is. A másik részről viszont bizonyos D-aminosavak hasznosak is lehetnek (fájdalomcsillapítás), és a csökkent emészthetőségű D-aminosavakat tartalmazó fehérjéket fel lehet használni, pl. fogókúránál.

ABSTRACT

D-amino acid content of feed

A review

J. Csapó, Zs. Csapó-Kiss, É. Varga-Visi, G. Andrassy-Baka, É. Terlaky-Balla

Pannon University of Agriculture, Faculty of Animal Science, Institute of Chemistry, Kaposvár, H-7400 Guba S. u. 40.

The most important source of D-amino acids in nutritional protein is the processing that some foods undergo, either in cooking or as part of the manufacturing process used to prepare commercial food products. Supermarkets contain increasing quantities of processed food products, including breakfast cereals, fried potato and corn chips, liquid and powdered infant formulas, and meat substitutes. Such products probably contain

significant quantities of D-amino acids, coupled with the evidence that these D-amino acids most likely have deleterious or negative nutritional effects. Alkali treatment of proteins catalyses racemization of optically active amino acids. The racemization rates vary among proteins but it is observed that, within each protein studied, the relative order is similar. Factors which influence racemization include pH, temperature, time of exposure to alkali, and the inductive nature of amino acid side chains. Protein-bound D-amino acids formed during alkali and heat treatment of food proteins may adversely affect the nutritional quality and safety of processed foods. D-amino acids in dietary proteins reduce the digestibility as well as the availability of the component amino acids. This may be the result of decreased amounts of essential amino acid L-enantiomers, decreased digestibility through peptide bonds not susceptible to normal peptidase cleavage, specific toxicity of certain D-isomers, and/or modification of the biological effects of lysinoalanine or other unnatural amino acids. On the other hand, certain D-amino acids may be beneficial. The limited digestibility of D-amino acids in dietary proteins can be utilised in nutrition, for example in weight management or chronic pain control.

(Keywords: D-amino acids, free D-amino acids, racemization, heat treatment of proteins, alkaline treatment, bacterial activity).

BEVEZETÉS

Az élelmiszerek nagy mennyiségben tartalmaznak olyan idegen eredetű, nem természetes anyagokat, melyek nagymértékben befolyásolhatják annak emészthetőségét (Finley és Schwass, 1983). Ilyenek például a D-sztereioizomer aminosavak, melyek a közönséges L-sztereioizomer aminosavakból képződnek; vagy az előállítás folyamán, vagy az élelmiszer mikrobiológiai minőségében beállt változás következtében. Jelenlétük csökkenti az élelmiszer fehérje emészthetőségét és az átalakult aminosav felhasználhatóságát. Annak ellenére, hogy a D-aminosavakat általában nem tartják kívánatosnak az élelmiszerekben, többen azon a véleményen vannak, hogy a D-aminosavak némely esetben még előnyösek is lehetnek az emberi szervezet számára.

Pasteur (1852) mint sokminden másban, e területen is úttörő munkát végzett. A bükknöyből előállított aszparaginsavról kimutatta, hogy az optikailag aktív (királis), ezzel szemben az ammonium-fumarát hevítésével előállított aszparaginsav nem mutat optikai aktivitást. Ezt követően rájöttek arra, hogy az élő szervezet fehérjéit kizárólag L-aminosavak építik fel annak ellenére, hogy a D- és az L-sztereioizomerek (enantiomerek) többnyire azonos kémiai és fizikai tulajdonságokkal rendelkeznek. Szembetűnő különbség azonban, hogy a két sztereioizomer a polarizált fény síkját ellentétes irányban forgatja el. Az élő szervezet fehérjéinek sztereospecifikus szintézisét (Yamane et al., 1981) nem tudták megmagyarázni, s így ez a probléma csaknem egy évszázadon át foglalkoztatta a kutatókat (Bada és Miller, 1987).

Az aminosav enantiomerek szétválasztására és meghatározására kifejlesztett módszerek tökéletesedésével úgy találták, hogy a D-aminosavak - a korábbi felfogással ellentétben - számos élő szervezetben előfordulnak. A baktériumok sejtfala, pontosabban az abban lévő peptidoglikánok, viszonylag nagy mennyiségű D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat és D-alanint tartalmaznak (Bada et al., 1983; Reaveley és Burge, 1972; Csapó és Henics, 1991), s így ezek meghatározása révén következtetni lehet a bakteriális eredetű fehérje jelenlétére, és a baktériumok által termelt fehérje mennyiségére (Csapó et al., 1997; nem publikált adat). Korábban többnyire a diamino-pimelinsavat használták erre a célra, de a vizsgálatokból úgy tűnik, hogy a D-aszparaginsav és a D-glutaminsav is

megfelelő markere lehet a bakteriális fehérjeszintézisnek. Ismert tény az is, hogy néhány tengeri féreg és gerinctelen állat sejtfolyadék tartalmazhat fő komponensként D-aminosavat (Corrigan, 1969; D'Aniello és Guiditta, 1978; Matsushima et al., 1984; Felbeck, 1985), és néhány tengeri kagylóban a D-aminosav mennyisége az 1 %-ot is meghaladhatja (Felbeck és Wiley, 1987; Preston, 1987), sőt a magasabbrendű növények is tartalmaznak D-aminosavakat (Robinson, 1976). A hosszú élettartamú emlősök metabolikusan stabil fehérjéi szintén nagyobb mennyiségben tartalmaznak racemizációból származó D-aszparaginsavat (Bada, 1984); az emberi agy fehér állományának D-aszparaginsav koncentrációja eléri a 3, a gerincvelő tisztított bázikus fehérjéje pedig a 10 %-ot (Fisher et al., 1986; Man et al., 1987). Clarke (1985) bebizonyította, hogy az aszparaginsav in vivo racemizálódik az emberi szövetekben, bár a gyors anyagforgalom miatt nem akumulálódik számottevő mennyiségben.

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) ill. Steinberg et al., (1984) megállapították, hogy 100 °C-on 7 és 8 pH között a szerin racemizációs felezési ideje (az az idő, amikor a D/L arány eléri a 0.33-at) 3 nap, az aszparaginsavé 30 nap, az alaniné 120 nap, az izoleuciné pedig 300 nap. Liardon és Lederman (1986) szerint kazein esetében pH=9-nél 83 °C-on az előbbi 4 aminosav racemizációs felezési ideje a következőképpen alakult: 16 óra, 19 óra, 11 nap, 57 nap, a szójafehérje esetében pedig (Friedman és Liardon, 1985) 75 °C-on 0.1 normál nátrium-hidroxidban: 9 perc, 20 perc, 5 óra, 25 óra. Amint a 4. táblázatból is látható, a különböző aminosavak különböző körülmények között eltérő idejű racemizációs időt mutatnak, de az aminosavak közötti racemizációs sorrend többé-kevésbé változatlan marad. A szerin, a cisztin és a treonin racemizációja nemcsak a vonatkozó D-enantiomert eredményezheti, hanem a fehérjeépítő aminosavaktól eltérő aminosavat is. Pl. a szerin a karbanion közti állapotban gyorsan elveszítheti OH csoportját dehidroalanin keletkezése közben. A dehidroalanin reakciója a lizin ϵ -amino csoportjával lizinoalanint eredményez (Friedman, 1977; Masters és Friedman, 1980; Maga, 1984), vagyis egy olyan aminosavat, amelynek az alanin része racém, a lizin része pedig optikailag aktív. A táplálékfehérjékben ez a reakció keresztkötéseket eredményezhet, melyek csökkentik a fehérje emészthetőségét (Chung et al., 1986; Friedman et al., 1981). A táplálék lizinoalanin tartalma egyébként toxikus hatással is rendelkezik (Hayashi, 1982).

Táplálkozási szempontból az esszenciális aminosavak racemizációjának van a legnagyobb jelentősége. Az esszenciális aminosavak D-enantiomerjeinek emészthetőségét és metabolizmusát már régóta vizsgálják. Neuberger (1948) és Berg (1959) a korábbi tanulmányokat összefoglaló munkájából kitűnik, hogy az emlősökben az esszenciális aminosavak D-enantiomerjei igen gyengén hasznosulnak, néhány esetben növekedési inhibitoroként hatnak, és főként a vizelettel ürülnek ki. A jelenlegi vizsgálatok megerősítették a korábbi kutatási eredményeket (Kies et al., 1975; Friedman és Gumbman, 1984; Friedman és Liardon, 1985; Stegnick et al., 1986).

Az esszenciális aminosavak racemizációs felezési idejét csak a legutóbbi időkben vizsgálták. Bada (1985) pH 7 és 8 között az izoleucin, a leucin és a valin racemizációs felezési idejét 100 °C-on 300 napnak, a fenilalaninét és a tirozinét pedig 50 napnak mérte. Ugyanilyen körülmények között a lizinét Engel és Hare (1982) 40 napnak,

Liardon és Lederman (1986) a triptofánét pH=9 esetén 83 °C-on 40 napnak, a treoninét 20 napnak, a ciszteinét pedig 2 napnak mérték. *Boehm és Bada* (1984b) a metionin racemizációs felezési idejére 100 °C-on és pH 7 és 8 között 30 napot kaptak. Mérési adataik alapján úgy tűnik, hogy a cisztein különösen hajlamos a racemizációra, míg az alifás oldalláncú aminosavak a legstabilabbak e tekintetben. A legtöbb esszenciális aminosav racemizációs felezési ideje hosszabb, mint az aszparaginsavé.

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

ÉLELMEZÉSI EREDETŰ D-AMINOSAVAK

Mint ahogy a rovarok, férgek és tengeri gerinctelenek általában nem, illetve csak csekély szerepet játszanak az emberi táplálkozásban, nincs különösebb jelentősége annak, hogy ezek szervezete meglehetősen nagy mennyiségű D-aminosavat tartalmaz. Ha azonban a táplálkozási szokások közé a gyakori kagylófogyasztás is beletartozik, a fokozott D-aminosav fogyasztással együtt járó, kedvezőtlen élettani hatásokkal is számolni kell (*Felbeck és Wiley*, 1987; *Preston*, 1987).

A technológiai és konyhai élelmiszer-feldolgozás többsége hőkezeléssel (gőzölés, főzés, sütés), esetenként pedig lúgos behatással jár. Mindezek racemizációt indukálhatnak a fehérjében (*Fuse et al.* 1984; *Jenkins et al.*, 1984; *Liardon és Hurrell*, 1983). *Masters és Friedman* (1980) kimutatták, hogy néhány technológiai behatásnak alávetett, kereskedelmi forgalomban kapható élelmiszerben nagyobb mennyiségű D-aminosav található. A lizinoalanin szinte mindenütt jelen van az élelmi anyagokban (*Maga*, 1984). Ráadásul az olyan szintetikusan előállított termékek, mint az aszpartám dipeptid különösen hajlamosak a racemizációra (*Boehm és Bada*, 1984a). Saját vizsgálataink szerint (*I. táblázat*) a lúgos hidrolízissel előállított toll-liszt aminosavainak 10-40%-a racemizálódik az előállítási paraméterek függvényében (*Csapó*, 1993; nem publikált adat).

Természetes alapanyagok

A tej, a hús és a gabonafélék - melyek természetes állapotukban nem tartalmaznak jelentős mennyiségben D-aminosavakat - a fogyasztásra történő előkészítés folyamán gyakran vannak olyan körülményeknek kitéve, melyek racemizációt okozhatnak. A tej és tejtermékek a legjobb példák arra, hogyan változhat meg a természetes anyag összetétele a technológiai műveletek során (*Man és Bada*, 1987). Bár az élelmiszer áruházak egy részében kezeletlen (nyers) tej is kapható, a legtöbb tejterméket először pasztörözik (hőntartás 30 percig 68-72 °C-on) vagy ultraszűrtörözik (hőntartás 135-145 °C-on 15 másodpercig). Ezt követi aztán a homogénezés, a kondenzálás és befejezéséppen egy olyan speciális terméket kapunk, mint a fogyasztási tej, a joghurt vagy a különböző tejfehérje frakciókból kapott sajt. Ez utóbbi két tejterméket baktériumok segítségével fermentálják, ami ugyancsak forrása a D-aminosavaknak. (A következőkben a D-aminosavak koncentrációját minden esetben az alábbiak szerint adjuk meg: %D-aminosav = $[D/(D+L)] \times 100$).

1. táblázat

A lúggal feltárt toll-liszt D-aminosav tartalma

Aminosav (1)	Összes aminosav (2)	Fél órás főzés (3)	Egy órás főzés (4)
		1 M nátriumhidroxidban (5) % D-aminosav (6)	
Asp	6.187	31	44
Thr	3.98	19	27
Ser	9.16	22	31
Glu	8.51	17	23
Pro	10.74	?	?
Gly	5.74	-	-
Ala	4.14	10	14
Cys	6.38	24	34
Val	5.61	3	4
Met	0.40	17	24
Ile	3.72	6	8
Leu	6.80	5	7
Tyr	2.72	17	24
Phe	4.09	14	20
Lys	0.89	16	22
His	0.57	29	41
Arg	5.37	?	?
Trp	0.23	?	?

Table 1: D-amino acid content of feather meal treated by alkaline solution

Amino acid (1), Total amino acid (2), Heating for 0.5 h. (3), Heating for 1 h. (4), In 1 M NaOH (5), % D-amino acid (6)

Payan *et al.* (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 tejpor: 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. Legnagyobb a D-aszparaginsav aránya a csecsemőtápszerekben, melyek olyan technológiai beavatkozásokon mennek keresztül, mint pl. a porlasztva szárítás vagy a hővel való sterilizálás.

Gandolfi *et al.* (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 ultraszűrés 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 nyerstej-minták szabad D-aminosav tartalma jelentősen nőtt a 4 °C-on történő tárolás alatt, ezért a D-alanin tartalmat a tej bakteriális

szennyezettségének ellenőrzésére javasolják felhasználni. A tejfehérjében kimutatott D-aminosav tartalmát a fehérje hidrolízise során bekövetkezett racemizációnak tulajdonítják.

2. táblázat

A különböző sajtok fő D-aminosav tartalma ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$)**

Sajtok (1)	D-aminosavak (2)					
	D-Asp	D-Asp %,*	D-Glu	D-Glu %,*	D-Ala	D-Ala %,*
Érett Ardrahan ír sajt külső rétege (3)	74	27.2	173	13.1	433	27.1
Érett Ardrahan ír sajt belső része (4)	70	23.2	235	14.4	393	28.2
Camembert sajt külső rétege (5)	42	13.9	122	12.9	334	18.0
Camembert sajt belső része (6)	36	14.0	176	14.8	259	16.1
Dán kék sajt (7)	89	31.1	149	20.2	212	42.4
Ementáli (8)	42	26.8	195	26.6	405	45.6
Gouda sajt (9)	61	28.5	244	22.7	462	38.4
Mozzarella (10)	5.2	28.9	9.6	24.0	52	33.3
Parmezán (11)	57	20.8	72	10.6	752	37.3
Kereskedelmi Cheddar (12)	74	46.3	45	14.1	96	45.3

*%D=[D/(D+L)]100

**Az összes D-aminosavat analizáltuk, de néhány kivételtől eltekintve, az összes többi D-aminosav igen kis koncentrációban volt jelen, ezen D-aminosavak meghatározása bizonytalan volt. (*All of the D-amino acids were analysed, but disregarding some exceptions, the other D-amino acids were present only in a very low concentration, and the determination of these D-amino acids was uncertain.*)

Table 2: Main** D-amino acid content of cheeses ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)

Cheeses (1), D-amino acids (2), Smear ripened Ardrahan outer layer (3), Smear ripened Ardrahan inner layer (4), Camembert outer layer (5), Camembert inner layer (6), Danish blue (7), Emmental (8), Gouda (9), Mozzarella (10), Parmesan (11), Commercial Cheddar (12)

Keresve a választ arra, hogy mi okozza a kereskedelmi forgalomban kapható tej D-aminosav tartalmát, meghatároztuk (Csapó et al., 1995) egészséges tehenek első tejsugarai, első tejsugaraktól mentes elegyteje, valamint a masztítást próbá különböző fokozatainak megfelelő tejminták szabad D-aminosav tartalmát. Megállapítottuk, hogy mind az első tejsugarak, mind pedig a beteg tőgyből származó tej jelentős mennyiségben tartalmaz D-Asp-t, D-Glu-t, D-Ala-t és D-allo-Ile-t. A felsorolt aminosavakon kívül a tőgygyulladásos tőgyből származó tejből még D-Ser-t, D-Pro-t, D-Val-t, D-Leu-t és D-Lys-t is ki tudtunk mutatni. A D-aminosavak mennyisége és aránya a masztítást próbá fokozatainak megfelelően nőtt a beteg tőgyből származó tejben. Vizsgálataink

bizonyították, hogy a kereskedelmi tej D-aminosav tartalma az első tejsugarakból és/vagy a szubklinikai masztitiszben szenvedő tehenek tejéből származik.

3. táblázat

A tej és a savanyú tejtermékek szabad aminosav tartalma* (mg/100g)

Aminosav (1)	Nyerstej (2)	Pasztörőzött tej (3)	Kefir (4)	Joghurt (5)	Aludttej (6)	Friss sajt (7)	Harzer sajt (8)
D-Ala	0.003	0.012	0.31	1.35	0.46	1.07	2.48
D-Asx (10)	0.017	0.038	0.35	0.31	0.25	0.38	0.37
D-Glx (10)	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 (9)	-	-	0.07	-	0.02	-	0.27
D-Ser	-	-	0.02	-	-	-	-
D-Pro	-	-	-	-	-	2.18	-
Szabad aminosavak (mg/100g) (11)	3.29	10.3	26.2	28.4	36.8	39.2	159
Szabad D-aminosavak (mg/100g) (12)	0.09	0.24	1.48	2.75	1.63	2.89	8.92

*%D=[D/(D+L)]100

Table 3: Free amino acid content of milk and sour milk products* (mg/100g)

Amino acid (1), Raw milk (2), Pasteurised milk (3), Kefir (4), Yoghurt (5), Sour milk (6), Fresh cheese (7), Harzer cheese (8), %D-allo-Ile=D-allo-Ile/(D-allo-Ile+L-allo-Ile+D-Ile+L-Ile) (9), Asx=Asp+Asn, calculated as aspartic acid, Glx=Glu+Gln, calculated as glutamic acid (10), Free amino acids (11), Free D-amino acids (12)

Palla et al. (1989) a tejpör szabad D-aszparaginsav tartalmát 4-5%, D-alanin tartalmát pedig 8-12% közöttinek találták. A joghurt szabad D-alanin tartalmát 64-68%-nak, szabad D-aszparaginsav tartalmát 20-32%-nak, szabad D-glutaminsav tartalmát pedig 53-56%-nak mérték. Ugyanezek az értékek érett sajt esetében 20-45%, 8-35% és 5-22% között alakultak. Az érett sajt szabad D-fenilalanin tartalmát 2-13% közöttinek találták, és egy minimális mennyiségű D-leucint is ki tudtak mutatni belőle. A pörkölt kávé D-aszparaginsav tartalmát 23-38%, D-glutaminsav tartalmát 32-41%, D-fenilalanin tartalmát pedig 9-12% között találták. 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.

Ioncserés oszlopkromatográfiával vizsgáltuk (Csapó et al., 1997) az érett ardrahan ír sajt és a camembert sajt fél cm vastag külső rétegének és belső részének, a dán kék-, az ementáli-, a gouda-, a mozzarella-, a parmezán- és a különböző módszerekkel előállított cheddar sajtok szabad összes aminosavtartalmát, nagyhatékonyságú folyadék-

kromatográfiával pedig szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin tartalmát. A 2. táblázatban összefoglalt eredmények szerint a D-Asp, a D-Glu és a D-Ala mennyisége, mind a minta tömegére, mind az összes szabad aminosav mennyiségére vonatkoztatva, igen széles tartományban változott. Ezzel szemben az összes többi D-aminosav koncentrációja szinte egyöntetűen a kimutathatóság határán volt a vizsgált sajtokban. Kivételt képeztek ebben a tekintetben a különböző cheddar sajtok, melyek gyártásához laktobacilusokat is használtak.

Brückner 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 3. táblázat tartalmazza. E táblázat adataiból megállapítható, hogy a joghurt és a sajt jelentős mennyiségű D-alanint (1.35-2.48 mg/100g), D-aszparaginsavat (0.31-0.37 mg/100g) és D-glutaminsavat (1.09-2.13 mg/100g) tartalmaz és ezen kívül jelentős lehet még a D-lizin (1.49 mg/100g) és a D-prolin (2.18 mg/100g) mennyisége is. Fentieken kívül találtak még nyomnyi mennyiségben D-valint, D-leucint, D-alloizoleucint és D-szerint is az erjesztett tejtermékekben. Feltételezhető, hogy ezek túlnyomórészt mikrobiológiai tevékenység révén keletkeztek (erjesztéses technológiai műveletek, vagy mikrobiális eredetű tögygyulladás).

Különböző technológiai műveleteknek alávetett élelmiszerek

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

A 4. táblázatban a különböző lúggal kezelt élelmiszerek D-aminosav tartalma látható a kezeletlen kontroléhoz hasonlítva. A hó vagy a hővel kombinált alkalikus kezelés minden esetben mérhető mennyiségben produkál D-aminosavat. A legnagyobb D-aszparaginsav tartalma annak a kazeinnek (31%) volt, amelyet 20 percig 230 °C-ra hevítettek fel. A racemizálódott aminosavak összehasonlítása azt mutatja, hogy legnagyobb mértékű a racemizáció az aszparaginsavnál. Néhány olyan aminosav amely nem szerepel a táblázatban, mint pl. a szerin és a cisztein, valószínűleg még gyorsabban racemizálódik az aszparaginsavnál. Általánosságban elmondható, hogy az esszenciális aminosavak nem racemizálódnak gyorsan, csak ha csupán magas hőhatásnak vannak kitéve. A magas hőmérséklet és a lúgos kezelés kombinációja az esszenciális aminosavaknál is jelentős racemizációval járhat.

Más vizsgálatok is a kezelt élelmiszerek nagy D-aminosav tartalmáról tanúskodnak. *Masters és Friedman* (1980) néhány kereskedelmi forgalomban kapható élelmiszer D-Asp tartalmát vizsgálva megállapították, hogy a texturált szójafehérjében (9%), a szalonnában (13%) és a nem tejeredetű zsiradékban (17%) igen magas annak koncentrációja. *Finley* (1985) jelentős mennyiségű D-Asp-t talált a búzalisztból készült sós kekszben (9.5%), a búzátésztaiban (11.9%), a mexikói palacsintában (11.6%) és a kukoricamáléban (15.4%). A zsírban sült hamburger adatai viszont azt jelzik, hogy ez esetben a sütés folyamán csak jelentéktelen mértékű racemizáció megy végbe. Ezzel szemben a fehérkenyérből készült piritósnál, a sültszalonnánál és a csirkehúsnál kapott

magas D-aminosav arány azt jelzi, hogy bizonyos körülmények között a főzés és a sütés nagymértékű racemizációval járhat.

4. táblázat

Különböző élelmiszerek D-aminosav tartalma (%)*

Kezelt termékek (Hiv.) (2) (Kezeletlen kontrol) (3)	Aminosavak (1)					
	Asp	Ala	Phe	Leu	Val	Met
Piritós (4)	10.5	2.8	2.4	2.7	1.1	1.7
(Kenyér, Bunjapamai et al.,1982)	5.6	2.4	2.3	3.2	0.9	2.3
Extrudált szójaliszt (5)	7.6	2.2	2.4	2.7	0.8	-
(Szójaliszt, Bunjapamai et al.,1982)	4.4	2.5	2.8	1.4	1.0	-
Szójafehérje (6)	27.7	9.9	19.7	3.1	1.0	18.2
(Kezeletlen, Friedman és Liardon,1985)	0.5	0.2	0.5	0.2	0.03	0.3
Zein (7)	40.2	17.6	31.3	5.0	2.9	19.5
(Nem hőkezelt, Jenkins et al.,1984)	3.4	0.7	2.2	0.7	0.4	0.9
Hamburger (8)	5.5	2.8	2.7	3.2	1.5	2.9
(Nyers hús, Bunjapamai et al.,1982)	6.2	3.2	2.8	3.1	1.6	2.4
Csirke izom (9)	22.4	0.5	0.4	0.1	0	0
(Nyers csirke, Liardon és Hurrel,1983)	2.9	0	0	0	0	0
Szalonna 180°C (10)	10.7	2.4	3.1	3.1	1.6	-
(Hőkezeletlen, Fuse et al.,1984)	2.4	1.8	3.3	0.7	-	-
Kazein 230 °C (11)	31.0	12.0	-	7.0	4.4	-
(Hőkezeletlen, Hayase et al.,1973,1975)	3.1	1.5	-	-	-	-

* % D-amino sav=(D/D+L)100 (% D-amino acid)

A fehér kenyeret 1 perc 45 másodpercig melegítették és csak a felszínét elemezték (4), 3 óra, 65 °C. 0.1 N NaOH (6), 4 óra, 85 °C, 0.2 N NaOH (7). A hamburgert mindkét oldalán 4 percig sütötték. A serpenyő hőmérséklete 250 °C. Csak a felszíni részt analizálták (8), Melegítés 121 °C-on 4 órán át (9), Sütés 20 percig (10).

Table 4: D-amino acid content of different foods (%)

Amino acids (1), Treated products (Ref.) (2), Untreated control (3), Toast (bread) (4), The white bread was heated for 1 min. 45 sec., and only the surface was analysed. Extruded soybean meal (untreated) (5), Soy protein (untreated) 3 h. 65°C 0.1 NaOH (6), Zein (untreated) 4 h. 85 °C 0.2 NaOH (7), Hamburger (raw meat). The hamburger was roasted for 4 min. on each side. The temperature of the pan was 250 °C. Only the surface was analysed (8), Chicken muscle (raw chicken muscle). Heated at 121 °C for 4 h. (9), Bacon (untreated). Roasted for 20 min. (10), Casein (untreated) (11)

Érdekes és igen időszerű kérdésfeltevés, hogy a mikrohullámú kezelés megváltoztatja-e az élelmiszerfehérjék aminosav-összetételét (Lubec et al., 1990). Gyermektápszerre vonatkozó adatok arra mutatnak, hogy 10 perces mikrohullámú kezelés hatására megnő a cisz-3- és a cisz-4-hidroxi-prolin, továbbá a D-prolin mennyisége. A cisz izomer

koncentrációja 1-2 mg/liter volt. Felhívják a figyelmet arra, hogy ha a cisz izomer épül be a fehérjébe a transz izomer helyett, akkor ez strukturális, funkcionális és immunológiai változásokhoz is vezethet.

Ipari eredetű élelmiszerek és mesterségesen előállított peptidok

E kategóriába tartozik minden olyan élelmiszer, melyet jelentős technológiai kezelésnek vetettek alá, vagy amelyet szintetikusán állítottak elő (pl. aszpartám). Néhány folyékony élelmiszerben a fehérjét szénhidráttal kombinálják, amely során a fehérje jelentős változást szenvedhet. Jelentős D-aminosav tartalommal bírhatnak az antibiotikum peptidok (*Bodanszky és Perlman, 1969; Shoji, 1978*) és kemoterápiában használt egyes gyógyszerek is (*Chakravarty et al., 1983*), amelyek maradékai egyébként jelentős D-aminosav tartalmat eredményezhetnek az élelmiszerekben. Az irodalmi adatokat értékelve megállapítható, hogy a szintetikus termékek lényegesen több aminosavat tartalmaznak, mint a természetes alapanyagok, s ezek a fő forrásai lehetnek az élelmiszerek D-aminosav tartalmának. A szójafehérje alapanyagú folyékony tápszer - melyet egyébként az "egészséges élelmiszerek" áruházából szereztek be - 13% D-aszparaginsavat tartalmazott; ez lényegesen több volt annál, mint amit a szója alapú gyermektápszerben találtak. *Finley (1985)* beszámol arról, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható, fogyasztható tápszerek 50% D-szerint, 37% D-aszparaginsavat és 26% D-fenilalanint tartalmaztak (valószínűleg alkalikus kezelés hatására). Ez a nagymennyiségű D-aminosav jelen esetben különösen veszélyes lehet, mivel egyedüli fehérjeforrásként alkalmazzák. Az ilyen szélsőséges esetek viszonylag ritkák, de azért felhívják a figyelmet arra, hogy alkáliával és hővel huzamosabb ideig kezelt élelmiszer esetében az aminosavak nagyrésze racemizáción mehet keresztül.

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

A D-AMINOSAVAK METABOLIZMUSA

Fentiek szerint a D-aminosavak jelentős mennyiségben előfordulhatnak az élelmiszerekben. Mi történik ezekkel a természetestől eltérő sztereoizomerekkel? *Krebs (1935)* úttörő munkája óta köztudott, hogy az emlősök is rendelkeznek specifikus enzimekkel a D-aminosavak anyagcserejére. Ezek a sztereoizomerek elsősorban a D-aminosav oxidázok reakciósorain metabolizálódnak α -keto savak keletkezése közben (*Krebs, 1935, 1948; Neuberger, 1948; Bender és Krebs, 1950; Burton, 1955; Berg, 1959*). Ezt követően az α -ketosavak átmehetnek sztereospecifikus transzamináción, mely az eredeti aminosav L-enantiomerjét eredményezi, aztán pedig 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 diffundálni, hogy metabolizálódhassanak ezen az úton. A transzportfolyamatok azonban sztereoselektívek és diszkriminatívak a D-aminosavak vonatkozásában (*Gibson és Wiseman, 1951; Finch és Hird, 1960; Schwass et al., 1983*).

A különböző aminosavak különböző mértékben oxidálódnak a megfelelő D-aminosav oxidázok közreműködésével. Az aszparaginsav D-enantiomerje - az az aminosav amely a vizsgálatok szerint a leghajlamosabb a racemizációra - nagyon rossz szubsztrátja a megfelelő D-aminosav oxidáznak. Ennek ellenére *Dixon és Kenworthy* (1967) szerint az emlősökben megtalálható a D-aszparaginsavra specifikus D-aminosav oxidáz, hiányzik azonban az összes többi aminosavra. Az esszenciális aminosavak, mint pl. a lizin és a treonin, gyorsabban racemizálódnak mint az alanin, és szintén nagyon rossz szubsztrátjai a D-aminosav oxidáznak. A prolin viszont - mely nem racemizálódik jelentősebb mennyiségben az élelmiszer előállítás során - a lehető legjobb szubsztrátja annak (*Liardon és Hurrel*, 1983). Úgy tűnik tehát, hogy nincs összefüggés a racemizációra való fogékonyság és a D-aminosav oxidázzal történő reakció sebessége között. Ezért állítható, hogy az emlősök D-aminosav oxidáz rendszere nem fejlődött ki olyan mértékben, hogy válaszolni tudjon az élelmi eredetű racemizált aminosavak kihívására. *Krebs* (1935, 1948) még bizonytalan volt a D-aminosav oxidáz biológiai funkcióját illetően, ma azonban már bizonyítottnak tekinthető, hogy a D-aminosav oxidáz eliminálja azokat a D-aminosavakat, amelyek vagy véletlenül vagy a baktérium fehérjén keresztül kerültek be oda (*Bender*, 1985). Ezt az a tény is megerősíti, hogy azok a patkányok, amelyek csiramentes környezetben nevelkedtek, sokkal kisebb D-aminosav oxidáz aktivitással rendelkeznek, mint azok, melyek normális környezetben nőttek fel. Ennek ellenére az a D-glutaminsav, mely a baktériumok sejtfalában előforduló peptidoglikán alkotórésze, a legrosszabb szubsztrátja a D-aminosav oxidáznak, következésképpen nagyon lassan oxidálódik a D-aszparaginsav oxidáz hatására (*Dixon és Kenworthy*, 1967). Bár a D-aminosav oxidáz enzimek elméletileg képessé teszik az emlősöket a D-aminosavak metabolizálására, ez a mechanizmus nem elég hatékony és nyilvánvalóan túlterhelt, mert amikor racém aminosavak kerülnek be a szervezetbe, a D-aminosavak nagy része a vizeleten keresztül választódik ki (*Neuberger*, 1948; *Berg*, 1959). A szabad D-aminosavak átalakulhatnak racemázok segítségével is racém keverékké vagy a megfelelő L-aminosavvá. Kétségtelen, hogy a D-aminosavak egy része racemázok hatására átalakulhat L-aminosavakká, de ez a lehetőség csak a baktériumokban áll fenn. Ugyanez a helyzet a transzaminázok vonatkozásában is, melyek szintén csak a baktériumok esetében biztosítják a D-aminosavak eliminációját.

A D-aminosavakat tartalmazó fehérjék emésztése

Az emberi szervezetet terhelő D-aminosavak fő forrásai az iparilag feldolgozott fehérjék. Mielőtt az ezekben levő D-aminosavak metabolizálódnának a D-aminosav oxidáz reakcióson, először szabaddá kell válniuk a metabolikus enzimek segítségével. Az élelmiszerfehérjék emésztése az első lépésben szabad aminosavakat és kistagszámú peptideket eredményez (*Gray és Cooper*, 1971; *Bender*, 1985), majd azokat a peptidázok hidrolizálják (*Peters*, 1970; *Rosen-Levin et al.*, 1980). Nyilvánvaló, hogy a D-aminosavat tartalmazó peptidek ellenállnak az enzimes hidrolízisnek az emésztés folyamán. Szintetikus peptidekkel folytatott kísérletek eredményei bizonyítják, hogy a D-aszparaginsav (*Murray és Clarke*, 1984) és a D-metionin (*Paquet et al.*, 1985) még akkor sem szabadul fel a peptidkötésből az enzimes hidrolízis során, ha a mellettük lévő összes többi aminosav L-enantiomer. Számos szerző beszámol arról, hogy a hő és az alkalikus kezelés hatására nagymértékben racemizálódott aminosavak ellenállnak a proteolitikus hidrolízisnek. *Chung et al.* (1986) a fenilalanin racemizációja és a fehérje emészthetősége közti összefüggést tanulmányozva megállapították, hogy a racemizáció növekedésével az emészthetőség rohamosan csökken. Mivel a fenilalanin lassabban

racemizálódik mint az aszparaginsav, a szerin és a cisztein, nyilvánvaló, hogy a racemizált aminosavakban gazdag fehérjék csak részben bomlanak le a proteolizis folyamán.

A fehérjék proteolitikus hidrolizisének termékei tartalmaznak racemizált aminosavakat és D-aminosavtartalmú kis molekulatömegű peptideket. A di- és tripeptidek keresztül diffundálnak a membránon, míg a jelenlévő nagyobb tagszámú peptidek egyszerűen kiválasztódnak a bélsár útján. A D-aminosavtartalmú di- és tripeptidek nem jó szubsztrátjai a D-aminosav oxidáznak (Krebs, 1948; Burton, 1955). A dipeptidek gyorsan ciklizálódnak in vitro körülmények között 7-es pH-n ciklikus peptidekké (diketopiperazinná) (Steinberg és Bada, 1981). Enzimek felhasználása nélkül, in vitro végzett kísérletek során is igazolták, hogy a tripeptidek belső ammonolízist szenvedhetnek, s így ciklikus dipeptidekké és szabad C-terminális aminosavakká alakulhatnak (Steinberg és Bada, 1983). A tárgyalt anyag szempontjából ez azért figyelemreméltó, mert a ciklikus dipeptid igen hajlamos a racemizációra (Gund és Veber, 1979; Steinberg és Bada, 1981). Feltételezhető, hogy ez a folyamat in vivo is végbemegy, és végső soron további D-aminosav képződéshez vezet. A D-aminosavak metabolizmusát tanulmányozva azonban eddig még nem figyeltek fel a diketopiperazin jelenlétére.

A D-AMINOSAVAK EMÉSZTÉSE

A racemizált aminosavakat tartalmazó fehérjék hosszú időn keresztül történő fogyasztásának hatása az emberi szervezetre még nem eléggé ismert. Masters és Friedman (1980) rámutattak arra, hogy ez idáig nem tanulmányozták elég behatóan a racemizált aminosavak az emberi szervezetre kifejtett hatását, egyelőre nincs minden részletében tisztázva, hogyan hat a racemizáció az emészthetőségre és az aminosav hozzáférhetőségére.

A D-aminosavak káros hatásai

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

Friedman et al. (1985) vizsgálták a hőmérséklet, az idő és a pH hatását a lúggal kezelt kazein tripszin és kimotripszin emészthetőségére. Megfigyelték, hogy miközben az aszparaginsav és a fenilalanin emészthetősége csökken, a lizinoalanin keresztkötések száma és a racemizáció foka nő. Bunjapamai et al. (1982) munkája volt az első, melyben

szét tudták választani a racemizáció és a keresztkötések hatását az *in vitro* emészthetőségre. Munkájuk fő következtetése az volt, hogy a csökkent emészthetőséget elsősorban a racemizáció okozza. *Schwass et al.* (1983) szerint egyetlen D-aminosav már alkalmatlanná teszi a peptidet a szállításra. Szerintük egyedül a racemizáció az, ami csökkenti az *in vitro* emészthetőséget és az enzimatikusan feltárt fehérje *in vivo* hasznosulását.

Nagyon fontos kérdés, hogy az élelmiszerekben lévő D-aminosavak toxikusak-e. Az rögtön az elején megállapítható, hogy a különböző D- és L-aminosavak ugyanolyan akut toxicitással rendelkeznek, melyet LD₅₀ értékük is bizonyít (*Gullino et al.*, 1956). Kivételt képez talán a D-prolin melyről nagyobb letalitást állapítottak meg a csirke esetében, mint az L-prolinról (*Cherkin et al.*, 1978). Már az előzőekből kiderült, hogy a D-prolin a legjobb szubsztrátja a D-aminosav oxidáznak. *Masters és Friedman* (1980) szerint néhány D-aminosav hosszú időn keresztül fejt ki toxikus hatását. Vizsgálataik szerint az élelmiszerekben lévő D-szerin, lizinoalanin és a különböző lúggal kezelt fehérjék kóros elváltozást idéztek elő patkányok veséjében. A szabad lizinoalanin sokkal nefrotoxikusabb mint a peptidkötésben lévő, ebből következően a lúggal kezelt fehérjékben található lizinoalanin nefrotoxikus hatása lényegesen kisebb (*Friedman*, 1977). *DeGroot et al.* (1976) szerint a patkányok különösen érzékenyek a lúggal kezelt fehérjék és a lizinoalanin nefrotoxikus hatására. Igazolták egyébként a különböző állatfajok nagyon eltérő érzékenységét is e tekintetben.

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

A D-aminosavak hasznos hatásai

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

Viszonylag régóta ismert, hogy a legtöbb antibiotikum-polipeptidben D-aminosavak is vannak. Ezért elképzelhető, hogy a racemizált élelmiszer fehérjék proteolitikus lebontása folyamán olyan peptidok keletkeznek, melyek antibiotikus tulajdonságokkal is rendelkeznek.

KÖVETKEZTETÉSEK

Az előzőekből világosan kiderül, hogy a D-aminosavak - a természetes élelmiszer-alapanyagok kivételével - szinte minden táplálékunkban, élelmiszerben, kisebb nagyobb mennyiségben előfordulnak. Ennek ellenére néhány kutatóhelytől eltekintve, a D-aminosav tartalmat rutinszerűen sehol sem vizsgálják. Az ioncserés oszlopkromatográfián alapuló rutin aminosav analízissel, vagy a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfián alapuló gyors módszerekkel a D- és L-aminosavakat nem lehet egymástól elválasztani. Ezek alkalmazásával az eredmény ugyanaz lesz, ha olyan fehérjét elemeznek, amely tisztán csak L-aminosavakból épül fel, vagy ha ugyanebben a fehérjében az aminosavak teljes mértékben racemizálódtak. Pedig micsoda különbség van a két analizált élelmiszer között! A látszólagosan azonos aminosav összetétel ellenére az egyik fehérjéje jó minőségű, a másiké pedig nemcsak hogy szinte teljesen emészthetetlen, de még káros is lehet az egészségre. Mi jelenthet előrelépést ebben a tekintetben? Ma már hazánkban is sok helyütt használnak jó minőségű nagyhatékonyságú folyadékkromatográfokat ill. gázkromatográfokat. Megfelelő módszerfejlesztéssel elérhető, hogy mindkét készülék alkalmas lesz a D- és az L-aminosavak szétválasztására, ill. a D-aminosavak mennyiségének pontos meghatározására. Amilyen nagyhorderejű dolog volt a Kjeldahl féle fehérjemeghatározás bevezetése, majd az ioncserés oszlopkromatográfiás elven működő aminosav analízátorok felhasználása, ezeket követően pedig az aminosav alapon történő élelmiszer- és takarmányreceptúrák kidolgozása, véleményünk szerint ugyanolyan nagy lépés lenne az, ha kiváló minőségű élelmiszereket tudnánk előállítani az aminosav racemizáció csökkentésével. Jó lenne, ha a kritikusabb élelmiszerek nem csak a fehérjetartalom és az aminosavösszetétel, hanem a D-aminosav tartalom alapján is minősítve lennének.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönik az OTKA (T-14916) és az MKM (MKM-15) támogatását.

IRODALOM

- Bada, J.L. (1984). In vivo racemization in mammalian proteins. *Methods Enzimol.*, 106. 98-115.
- 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.
- Bada, J.L., Cronin, J.R., Ho, M.S., Kvenvolden, K.A. and Lawless, J.G. (1983). On the reported optical activity of amino acids in the Murchison meteorite. *Nature*, 310. 494-497.
- Bada, J.L., Miller, S.L. (1987). Racemization and the origin of optical active organic compounds in living organisms. In: H. Man and J.L. Bada (1987): *Dietary D-amino acids*. *Ann. Rev. Nutr.*, 7. 209-225.
- Bender, D.A. (1985). *Amino Acid Metabolism*, Chichester/New York, Wiley 2nd ed.
- 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 *Neurospora crassa*. *Biochem. J.*, 46. 210-219.
- Berg, C.P. (1959). Utilization of D-amino acids. In *Protein and amino acid nutrition*. ed. A.A. Albanese, 57-96. New York, Academic.

- Bodansky, M., Perlman, D. (1969). Antibiotic peptides. *Science*, 163. 352-358.
- Boehm, M.F., Bada, J.L. (1984a). Racemization of aspartic acid and phenylalanine in the sweetener aspartame at 100 °C. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 81. 5263-5266.
- Boehm, M.F., Bada, J.L. (1984b). Investigations of in vivo methionine racemization in mammalian tissues. *Biochem. Int.*, 8. 603-608.
- Brückner, 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.
- Budd, K. (1983). Use of D-phenylalanine, and enkephalinase inhibitor, in the treatment of intractable pain. In *Adv. Pain Res. Ther.*, 5. 305-308.
- 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.
- Burton, K. (1955). D-amino acid oxidase from kidney. *Methods Enzymol.*, 2. 199-204.
- Chakravarty, P.K., Carl, P.L., Weber, M.J., Katzenelknbogen, J.A. (1983). Plasmin-activated prodrugs for cancer chemotherapy. 2. Synthesis and biological activity of peptidyl derivatives of dextrorubicin. *J. Med. Chem.*, 26. 638-644.
- Cheng, R.S.S., Pomeranz, B. (1979). Correlation of genetic difference in endorphin systems with analgesic effects of D-amino acid in mice. *Brain Res.*, 177. 583-587.
- Cherkin, A., Davis, J.L., Garman, M.W. (1978). D-prolin stereospecificity and sodium chloride dependence of lethal convulsant activity in the chick. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 8. 623-625.
- 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.
- Clarke, S. (1985). The role of Asp and Asn residues in the aging of erythrocyte proteins: Cellular metabolism of racemized and isomerized forms by methylation reactions. In *Cellular and Molecular Aspects of Aging: The Red Cells as a Model*. Ed. J.W. Eaton, D.K. Konzen, J.G. White, 91-103. New York, Liss.
- Corrigan, J.J. (1969). D-amino acids in animals. *Science*, 164. 142-149.
- Csapó J., Henics Z. (1991). Quantitative determination of bacterial protein from the diaminopimelic acid and D-alanine content of rumen liquor and intestines. *Acta Agr. Hung.*, 40. 159-173.
- Csapó J., Martin, T.G., Csapó-Kiss Zs., Stefler J. Némethy S. (1995). Influence of udder inflammation on the D-amino acid content of milk. *Journal of Dairy Science*, 78. 2375-2381.
- Csapó J., Csapó-Kiss Zs., Csordás E., Fox, P.F., Wágner L. és Tálos T. (1997). Különböző technológiával készült sajtok összes szabad- és szabad D-aminosav tartalma. *Tejipar*. 1997. 57. 1. 25-30.
- Dakin, H.D. (1908). Note on the relative rate of absorption of optically isomeric substances from the intestine. *J. Biol. Chem.*, 4. 437-439.
- Dakin, H.D., Dudley, H.W. (1913). The action of enzymes on racemized proteins and their fate in the animal body. *J. Biol. Chem.*, 15. 271-277.
- Dŕnielo, A., Guiditta, A. (1978). Presence of D-aspartate in squid axoplasm and in other regions of the cephalopod nervous system. *J. Neurochem.*, 31. 1107-1108.
- DeGroot, A.P., Slump, P., Feron, V.J., VanBeek, L. (1976). Effects of alkali treated proteins: feeding studies with free and protein-bound lysinoalanine in rats and other animals. *J. Nutr.*, 106. 1527-1538.

- Dixon, M., Kenworthy, P. (1967). D-aspartate oxidase of kidney. *Biochem. Biophys. Acta*, 146. 54-76.
- Engel, M.H., Hare, P.E. (1982). Racemization rates of the basic amino acids. *Carnegie Inst. Washington Yearb.*, 81. 422-425.
- Felbeck, H. (1985). Occurrence and metabolism of D-aspartate in the gutless bivalve *Solemya reidi*. *J. Exp. Zool.*, 234. 145-149.
- Felbeck, H., Wiley, S. (1987). Free D-amino acids in the tissues of marine bivalves. *Biol. Bull.*, 173. 252-259.
- 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.
- Finley, J.W. (1985). Environmental effects of protein quality. In *Chemical Changes in Food During Processing*. (Inst. Food Technologists Basic Symp. Ser.), Ed. T. Richardson, J.W. Finley, 443-482. Westport, Conn. AVI Publ.
- Finley, J.W., Schwass, D.E., Eds. (1983). *Xenobiotics in Foods and Feeds*. ACS Symp. Ser. No. 234. Washington, DC. Ann. Chem. Soc., 421.
- Fisher, G.H., Garcia, N.M., Payan, I.L., Cadilla-Perezrios, R., Sheramata, W.A., Man, E.H. (1986). D-aspartic acid in purified myelin and myelin basic protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 135. 683-687.
- Friedman, M. (1977). Crosslinking amino acids - Stereochemistry and nomenclature. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 86B. 1-27.
- Friedman, M., Gumbman, M.R. (1984). The utilization and safety of isomeric sulfur-containing amino acids in mice. *J. Nutr.*, 114. 2301-2310.
- Friedman, M., Liardon, R. (1985). Racemization kinetics of amino acid residues in alkali-treated soybean proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 33. 666-672.
- 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.
- Friedman, M., Grosjean, D.K., Zahnley, J.C. (1985). Carboxipeptidase inhibition by alkali-treated food proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 33. 208-213.
- 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.
- 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.
- 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.
- Gray, G.M., Cooper, H.L. (1971). Protein digestion and absorption. *Gastroenterology*, 61. 535-544.
- Gullino, P., Winitz, M., Birnbaum, S.M., Cornfield, J., Otey, M.C., Greenstein, J.P. (1956). Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo. I. Toxicity of essential amino acids, individually and in mixtures, and the protective effect of L-arginine. *Arch. Biochem. Biophys.*, 64. 319-332.
- Gund, P., Veber, P. (1979). On the base-catalysed epimerization of N-methylated peptides and diketopiperazines. *J. Am. Chem. Soc.*, 101. 1885-1887.
- Hayase, F., Kato, H., Fujimaki, M. (1973). Racemization of amino acid residues in protein during roasting. *Agric. Biol. Chem.*, 37. 191-192.

- Hayase, F., Kato, H., Fujimaki, M. (1975). Racemization of amino acid residues in proteins and poly(L-amino)acids during roasting. *J. Agric. Food. Chem.*, 23. 491-494.
- Hayashi, R., Kameda, I. (1980a). Racemization of amino acid residues during alkali treatment of proteins and its adverse effect on pepsin digestibility. *Agric. Biol. Chem.*, 44. 891-895.
- Hayashi, R., Kameda, I. (1980b). Decreased proteolysis of alkali treated proteins: consequences of racemization in food processing. *J. Food Sci.*, 45. 1430-1431.
- Hayashi, R. (1982). Lysinoalanine as a metal chelator: an implication for toxicity. *J. Biol. Chem.*, 257. 13896-13898.
- Jenkins, W.L., Tovar, L.R., Schwass, D.E., Liardon, R., Carpenter, K.L. (1984). Nutritional characteristics of alkali-treated zein. *J. Agric. Food Chem.*, 32. 1035-1041.
- Kies, C., Fox, H., Aprahamian, S. (1975). Comparative values of L, DL and D-methionine supplementation of an oat-based diet for humans. *J. Nutr.*, 105. 809-814.
- Krebs, H.A. (1935). Metabolism of amino acids. III. Deamination of amino acids. *Biochem. J.*, 29. 1620-1644.
- Krebs, H.A. (1948). The D- and L-amino acid oxidases. *Biochem. Soc. Symp.*, 1. 2-19.
- Liardon, R., Hurrell, R.F. (1983). Amino acid racemization in heated and alkali-treated proteins. *J. Agric. Food. Chem.*, 31. 432-437.
- Liardon, R., Lederman, S. (1986). Racemization kinetics of free and protein-bound amino acids under moderate alkaline treatment. *J. Agric. Food. Chem.*, 34. 557-565.
- Lubec, G., Wolf, C.H.R., Bartosch, B. (1990). Amino acid isomerisation and microwave exposure. *The Lancet*. March 31. 792.
- Maga, J.A. (1984). Lysinoalanine in foods. *J. Agric. Food. Chem.*, 32. 955-964.
- Man, E.H., Fisher, G.H., Payan, I.L., Cadilla-Perezrios, R., Garcia, N.M. (1987). D-aspartate in human brains. *J. Neurochem.*, 48. 510-515.
- Man, H., Bada, J.L. (1987). Dietary D-amino acids. *Ann. Rev. Nutr.*, 7. 209-225.
- 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 and M. Fujimaki. Washington, DC. Am. Chem. Soc., 268.
- Matsushima, O., Katayama, H., Yamada, K., Kado, Y. (1984). Occurrence of free D-alanine and alanine racemase activity in bivalve molluscs with special reference to intracellular osmoregulation. *Mar. Biol. Lett.*, 5. 217-225.
- Murray, E.D., Clarke, S. (1984). Synthetic peptide substrates for erythrocyte protein carboxyl methyltransferase. *J. Biol. Chem.*, 259. 10722-10732.
- Neuberger, A. (1948). The metabolism of D-amino acids in mammals. *Biochem. Soc. Symp.*, 1.20-32.
- 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.
- 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.

- Pasteur, L. (1852). Untersuchungen über Asparaginsäure und Aepfelsäure. *Ann. Chem.*, 82. 324-335.
- 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.
- Peters, T.J. (1970). Intestinal peptides. *Gut*. 11. 720-725.
- 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.
- Reaveley, D.A., Burge, R.E. (1972). Walls and membranes in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.*, 7. 1-81.
- Robinson, T. (1976). D-amino acids in higher plants. *Life Sci.*, 19. 1097-1102.
- 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.
- Schwass, D.E., Tovar, L.R., Finely, J.W. (1983). Absorption of altered amino acids from the intestine. Eds. J.W. Finley and D.E. Schwass. *Xenobiotics in Foods and Feeds. ACS Symp. Ser. No. 234. Washington, DC: Am. Chem. Soc.*, 187-201.
- Shoji, J.I. (1978). Recent chemical studies on peptide antibiotics from the genus *Bacillus*. *Adv. Appl. Microbiol.*, 24. 187-214.
- Stegnack, L.D., Bell, E.F., Filer, L.J., Ziegler, E.E., Anderson, D.W. (1986). Effect of equimolar doses of L-methionine, D-methionine and L-methionine-dl-sulfoxide on plasma and urinary amino acid levels in normal adult humans. *J. Nutr.*, 116. 1185-1192.
- Steinberg, S., Bada, J.L. (1981). Diketopiperazine formation during investigations of amino acid racemization in dipeptides. *Science*, 213. 544-545.
- Steinberg, S., Bada, J.L. (1983). Peptide decomposition in the neutral pH range via the formation of diketopiperazines. *J. Org. Chem.*, 48. 2295-2298.
- Steinberg, S., Masters, P.M., Bada, J.L. (1984). The racemization of free and peptide-bound serine and aspartic acid at 100 °C as a function of pH: implications for in vivo racemization. *Bioorg. Chem.*, 12. 349-355.
- Yamane, T., Miller, D.L., Hopfield, J.J. (1981). Discrimination between D- and L-tyrosyl transfer ribonucleic acid in peptide chain elongation. *Biochemistry*, 20. 7059-7063.

Levelezési cím (*corresponding author*):

Csapó János

Pannon Agrártudományi Egyetem, Állattenyésztési Kar
7401 Kaposvár, Pf.: 16.

*Pannon University of Agriculture, Faculty of Animal Science
H-7401 Kaposvár P.O.Box. 16.*

Tel.: (82) 314-155, Fax: (82) 320-175

e-mail: csapo@elettan.kaposvar.pate.hu