



## Különböző technológiával készült sajtok összes szabad és szabad D-aminosav tartalma (előzetes közlemény)

<sup>1</sup>Csapó, J., <sup>1</sup>Csapóné Kiss Zs., <sup>1</sup>Vargáné Visi É.  
<sup>2</sup>Albert Cs., <sup>2</sup>Salamon R.

<sup>1</sup>Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kaposvár, H-7400 Guba Sándor u. 40.

<sup>2</sup>Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Csíkszeredai Campus, Csíkszereda, R-530104 Szabadság tér 1.

### ÖSSZEFOGLALÁS

Meghatároztuk az érett ardrahan ír és a camembert sajt fél cm vastag külső rétegének, ill. belső részének, a dán kék, az ementáli, a gouda, a mozzarella, a parmezan, továbbá a különböző módszerekkel előállított cheddar sajt szabad összes aminosavtartalmát (AS) ioncserés oszlop-kromatográfiával; a szabad D-aszparaginsav (D-Asp), a D-glutaminsav (D-Glu) és a D-alanin (D-Ala) tartalmát nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. Megállapítottuk, hogy a parmezan és a gouda sajt tartalmazza a legtöbb szabad AS-t (39000-24000  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ). A mozzarella és a különböző technológiákkal előállított cheddar pedig a legkevesebbet (2400-7400  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ). A többi sajt szabad AS tartalma 13000-19000  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  között változott. A szabad D-aminosavak közül a D-Asp átlagosan 58  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (30,3%); a D-Glu 117  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (15,8%); a D-Ala pedig 276  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (37,2%) koncentrációban fordult elő a különböző sajtokban. A zárójelben lévő számok a D-AS-ak %-át mutatják az összes szabad AS százalékában. A D-AS-ak mennyiségében jelentős volt a különbség az egyes sajtok között. A D-AS-ak százalékos összetétele a D-Asp-ban 13,9-46,3%; a D-Glu-ban 12,9-26,6%; a D-Ala-ban 16,1-48,1% között változott. A három D-aminosavon kívül a többi D-AS csak nyomnyi koncentrációban, a kimutathatóság határán volt jelen a sajtokban. Nagyobb D-aminosav tartalmat mérünk azokban a cheddar sajtokban, ahol laktobacillusokat is használtak az előállításban.

(Kulcsszavak: különböző technológiával készült sajtok, szabad aminosavak, szabad D-aminosavak)

### ABSRTACT

#### Total free and free D-amino acid content of cheeses produced by different technologies (preliminary report)

J. <sup>1</sup>Csapó, Zs. <sup>1</sup>Kiss Csapóné, É. <sup>1</sup>Visi Vargáné, Cs. <sup>2</sup>Albert, R. <sup>2</sup>Salamon

<sup>1</sup>University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Kaposvár, H-7400 Guba Sándor u. 40.

<sup>2</sup>Sapientia Hungarian University of Transylvania, Csíkszereda, R-530104 Szabadság tér 1.

*The concentration of total free AA and free D-AA were determined by ion exchange column chromatography and by high performance liquid chromatography in the outer layer and inner part of Ardrahan (Irish smear-ripened cheese) and Camembert cheeses, Danish blue, Emental, Gouda Mozzarella, Parmezan and five Cheddar cheeses produced by different technologies. It was established that the total free AA concentration was highest in Parmezan and Gouda*

*cheeses (39000-24000  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), and lowest in Mozzarella and Cheddar cheese produced by different technologies (2400-7400  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), while the other cheeses examined contained 13000-19000  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  free AA. The average concentrations of free D-AA in the different cheeses were the following: D-Asp 58  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (30.3%), D-Glu 117  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (15.8%), D-Ala 276  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (37.2%). The values in brackets are the free D-AA concentration as a percentage of total free (D+L) AA. The amount of free D-AA showed differences between cheeses. D-AA as a percentage of total free AA was changed 13.9-46.3% for D-Asp, 12.9-26.6% for D-Glu and 16.1-48.1% for D-Ala. Except for these three D-AA, the other D-AA were present in the cheeses at very low concentrations, at the limit of the identification and determination. In the case of Cheddar cheese concentrations of the D-AA were a little higher, when lactobacilli were added during cheese making.*

(Keywords: free amino acids, free D-amino acids, cheeses produced by different technologies)

## BEVEZETÉS

Az utóbbi évek kutatásai tisztázták, hogy élelmiszereink vagy a technológiai beavatkozás következtében vagy az élelmiszer mikrobiológiai állapotában történő változásnak köszönhetően (Boehm és Bada, 1984; Bunjapamai és mtsai., 1982; Csapó és Henics, 1991; Friedman és mtsai., 1981; Fuse és mtsai., 1984; Hayashi és Kameda, 1980; Liardon és Lederman, 1986; Lubec és mtsai., 1990; Man és Bada, 1987; Masters és Friedman, 1980) jelentős mennyiségben tartalmazhatnak D-aminosavakat. Több cikk jelent meg tej és tejtermékek D-aminosav tartalmával kapcsolatban is (Brückner és Hausch, 1990a, 1990b; Gandolfi és mtsai., 1992; Palla és mtsai., 1989). Ezekből nyilvánvalóvá vált, hogy a D-aminosavak elsősorban nem a technológiai beavatkozás (hőkezelés, hőtartás) miatt jönnek létre, hanem a mikrobiális hatások következményei. Kevés adattal rendelkezünk a különböző sajtok összes szabad és a szabad D-aminosav tartalmáról. Nem tudunk arról, hogy a különféle sajtok D-aminosav tartalmát hazánkban rajtunk kívül más is mérte volna, ezért úgy gondoljuk, hogy a közleményünkben szereplő adatok hézagpótlónak tekinthetők és a tejipari szakemberek érdeklődésére tarthatnak számot.

A masztitiszes tőgyből származó tej és az egészséges tőgyből fejt első tejsugarak D-aminosav tartalmát vizsgálva (Csapó és mtsai., 1995) megállapítottuk, hogy a normál tejhez viszonyított magas D-aminosav tartalom a bakteriális fertőzöttség eredménye. Jelen közleményünkben arra keressük a választ, hogy a különböző sajtok előállításánál felhasznált mikroorganizmusok mennyiben járulnak hozzá a sajt szabad és a szabad D-aminosav tartalmához, hisz a D-aminosavak a mikroorganizmusok anyagcsere termékeiként kerülnek a tejbe.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### **Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) és ioncserés oszlopkromatográfia (IEC) a D, továbbá az összes szabad aminosav meghatározására**

#### *Készülékek*

Vizsgálatainkat a University of Göteborg and Chalmers University of Technology, Analitikai és Tengerkémiai Tanszékén; a Veszprémi Egyetem, Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar, Kémiai Tanszékén, továbbá a Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kémiai Intézetében végeztük.

A Göteborgban alkalmazott Varian LC gradiens képzésre alkalmas rendszerrel, Varian 9090 mintaadagolóval és gázműködtetésű, 25  $\mu\text{l}$ -es hurokkal ellátott (belső átmérő

0,25 mm) Valco injektorral rendelkezett. Shimadzu RF-535 fluoreszcenciás detektort használtunk a származékok mennyiségének mérésére. A gerjesztési és az emissziós hullámhossz 325 és 420 nm volt. Az elválasztás folyamatának és az automatikus mintaadagoló munkájának ellenőrzésére, a mintafelvitelre és a kromatogramok tárolására a Varian DS 651 vezénylő rendszert alkalmaztuk.

Kaposváron ISCO 100 DM syringe pumpákból, 20 µl-es hurokkal ellátott Rheodyne injektorból állítottuk össze kromatográfias rendszerünket. Az elválasztás folyamatának ellenőrzésére és a kromatogramok tárolására a ISCO Chem Research rendszert alkalmaztuk. A származékképzést és a mintafelvitelt kézzel végeztük.

#### *Vegyszerek*

Az acetonitrilt és a metanolt a Rathburn (Walkerburn, U.K.) cégtől, az aminosav standardokat, az o-ftálaldehidet (OPA) és a 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-glükopiranozidot (TATG) a Sigmától (St. Louis, Mo) vásároltuk. Az elúciós puffereket mono- és nátrium-hidrogén-foszfátból állítottuk elő. A pH-t nátrium-hidroxiddal állítottuk be.

#### *Származékképzés*

A reakciót 120 µl-es mikroampullában végeztük, melyet 1,8 ml-es térfogatú, teflonbevonatú belső zárólappal és kupakkal ellátott ampullába helyeztünk. Az automatikus mintaadagolót úgy programoztuk, hogy a 90 µl borátpufferben (0,4M; pH=9,5) oldott mintát (szabad aminosavak vagy nitrogén áramban bepárolt fehérje hidrolizátum) keverjen össze 15 µl reagenssel (8 mg OPA és 44 mg TATG feloldva 1 ml metanolban). Ezt követően az oldatot 100 µl levegő átbuborékolatásával jól összekevertük, majd 6 percig állni hagytuk. E reakcióelegyből – az injektáló apparátus előzetes átöblítése után – 25 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. Az injektálást befejezve a rendszert 100 µl aceton: víz 70:30 arányú elegyével háromszor átöblítettük.

Az ISCO rendszernél végzett elválasztáskor a kézi származékképzés során az előzőekben ismertettekkel azonos módon jártunk el azzal a kivétellel, hogy a származékképzési lépések során a keverést IKA Vibro Fix készülékkel végeztük.

#### *Az enantiomerek szétválasztása és meghatározása*

Az enantiomerek szétválasztását Einarsson és mtsai. (1987) módszere szerint fordított fázisú (250x4,6 mm belső átmérő, 5 µm részecskeméret, Kromasil oktil (C8) töltet) analitikai oszloppal végeztük. Az oszlop élettartamának megnövelésére a mintaadagoló és az analitikai oszlop közé egy biztonsági oszlopot (RP8, Newguard, 25x3,2 mm belső átmérő, 7 µm részecskeméret, Brownlee), a pumpa és a mintaadagoló közé pedig egy tisztítóoszlopot (C18, 36x 4,5 mm belső átmérő, 20 µm részecskeméretű Rsil) csatlakoztattunk. Az enantiomerek szétválasztására két komponensből álló gradiens rendszert alkalmaztunk, melynek összetétele az alábbi volt: A=40% metanol foszfátpufferben (9,5 mM, pH=7,05); B=acetonitril. Az áramlás sebessége 1 ml/perc volt, a gradiens pedig az alábbiak szerint változott az idő függvényében:

<b>Idő (perc)</b>	<b>A%</b>	<b>B%</b>
0	95	5
10	95	5
35	83	17
55	72	28
56	67	33
74	67	33
75	62	38

#### *Az összes szabad aminosav meghatározása*

Ioncserés oszlopkromatográfiával, automatikus aminosav-analizátorral végeztük nátrium-citrát pufferekkel és ninhidrinnel történő oszlop utáni származékképzéssel.

#### *A vizsgált sajtok*

Nyolc különböző technológiával készült sajt szabad- és szabad D-aminosav összetételét határoztuk meg. A vizsgált sajtok a következők voltak:

- érett ardrahan ír sajt külső (kb. fél cm vastag) rétege és belső része,
- camembert sajt külső (kb. fél cm vastag) rétege és belső része,
- dán kék sajt,
- ementáli sajt,
- gouda sajt,
- mozzarella sajt,
- parmezán sajt,
- közönséges cheddar sajt,
- Különböző módszerekkel előállított cheddar sajt.

- Az 1. kísérlet csak starterrel,  
a 2. kísérlet starterrel és laktobacillusokkal,  
a 3. kísérlet csak starterrel,  
a 4. kísérlet starterrel és laktobacillusokkal  
előállított cheddar sajt.

#### *A sajtok előkészítése analízisre*

A sajtokat 4°C-on tároltuk (két hét) az analízisek kezdetéig. A sajtmintákból 25-30°C-ra történő felmelegítés után 2,5-5,0 g-ot mértünk be egy homogenizátorba, és a szabad aminosavakat 20 ml 0,1 mólos sósavoldattal egy órán át 2850 fordulaton végzett homogénezéssel oldottuk ki. Az így kapott anyagot 5000 g-n centrifugáltuk 20 percig, melynek során egyrészt eltávolítottuk a sajtban lévő alakos elemeket, melyek leülepedtek a centrifugacső aljára, másrészt elvégeztük a szuszpenzió zsírtalanítását is. Ezt követően 10 cm<sup>3</sup> mintához hozzáadtunk 1,25 g triklórecetsavat, majd 30 perc állás után a kivált csapadékot 10000 g-n centrifugáltuk 30 percig. A kapott felülúszó pH-ját az összes szabad aminosav meghatározása esetén 4M nátrium-hidroxiddal pH=2,2-re, a D-aminosavak meghatározásakor pedig pH=7-re állítottuk be. Az így kapott oldatokat liofilezővel 10°C-os tálcáfűtést alkalmazva beszárítottuk, majd az összes szabad aminosav meghatározásakor a beszárított anyagot 10 cm<sup>3</sup> pH=2,2-es citrát-pufferben, a szabad D-aminosavak meghatározásakor pedig 1 cm<sup>3</sup> bidesztillált vízben oldottuk fel. Az így előkészített mintákat -25°C-on tároltuk az analízisek megkezdéséig.

## **EREDMÉNY ÉS ÉRTÉKELÉS**

A különböző sajtok ioncserés oszlopkromatográfiával meghatározott összes szabadaminosav-tartalmát az 1-4. táblázatban, szabad D-aminosav-tartalmát pedig az 5. táblázatban foglaltuk össze. A táblázatokban az aminosavak  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  mértékegységgel szerepelnek.

A különböző sajtok összes szabadaminosav-tartalmát vizsgálva megállapítható, hogy a legtöbb szabad aminosavat – 39677  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ -ot, amely 128-as átlagos aminosav molekulatömeggel számolva mintegy 5,1 g szabad aminosavnak felel meg 100 g sajtban – a parmezán sajt tartalmazza. A legkevesebbet pedig 2446  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ -mal a mozzarella. A szabad aminosavak mennyiségét illetően a második helyen a gouda sajt

található 24010  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ -mal. Ezt követi az ardrahan sajt belső, ill. külső része 19982 és 19521  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ -mal. Ötödik helyre az ementáli sajt került 18460  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ -mal alig maradva el az ardrahanétól. A camembert külső rétegének (16458  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ) szabad aminosav koncentrációja némileg nagyobb, mint a belső résznél (14709  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), ellentétben az ardrahannal, ahol a külső és belső rész között a szabad aminosavakban nem volt lényeges különbség. Kissé kevesebb szabadaminosav-tartalmat mértünk a dán kék sajtban 13008  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ -mal.

### 1. táblázat

**Az ardrahan ír és a camembert sajt külső rétegének, továbbá belső részének összes szabadaminosav-tartalma ( $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ )**

<b>Amino-savak (1)</b>	<b>Érett ardrahan ír sajt külső rétege(2)</b>	<b>Érett ardrahan ír sajt belső része(3)</b>	<b>Camembert sajt külső rétege(4)</b>	<b>Camembert sajt belső része(5)</b>
Asp	272	337	302	259
Thr	274	320	209	195
Ser	364	465	337	232
Glu	1325	1634	945	1193
Pro	1169	1207	1970	1544
Gly	938	708	875	616
Ala	1598	1395	1858	1613
Cys	194	145	24	29
Val	1850	1826	1629	1264
Met	639	558	623	530
Ile	972	904	938	790
Leu	2661	3078	1836	1533
Tyr	340	260	625	524
Phe	1327	1467	1081	945
His	3256	3116	1353	1584
Lys	1062	1389	1393	1336
Arg	1280	1173	487	522

Table 1: Total free amino acid content of outer layers and inner parts of Ardrahan Irish and Camembert cheeses ( $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ )

*Amino acids(1), Ardrahan Irish smear ripened cheese outer layer(2), Ardrahan Irish smear ripened cheese inner part(3), Camembert outer layer(4), Camembert inner part(5)*

A cheddar sajtok szabadaminosav-tartalma lényegesen kisebb volt az előbbieken felsoroltaknál. A közönséges cheddarban kaptuk a legkisebb szabadaminosav-tartalmat (3977  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ). A kísérletben előállított cheddar sajtban pedig ott volt nagyobb a szabadaminosav-tartalom, ahol nemcsak starterkultúrát (6567, ill. 5393  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), hanem laktobacillusokat is felhasználtak (7359, ill. 6028) az előállítás során.

Az egyes aminosavak mennyiségét külön-külön vizsgálva megállapítható, hogy legkisebb koncentrációban a cisztin (Cys) fordul elő (2,4-194  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ). Ezen belül az ardrahan külső és belső rétege valamint az ementáli tartalmazta a legtöbb cisztint

(118-194  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ). A camembert, a dán kék és a gouda cisztintartalma mintegy 20%-a, a mozzarella, a parmezán és a cheddar sajtok cisztintartalma pedig csak mintegy 2-5%-a volt a az elsőként említetteknek.

## 2. táblázat

### A dán kék, az ementáli, a gouda és a mozzarella sajt összes szabad D-aminosav tartalma ( $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ )

Aminosavak(1)	Dán kék(2)	Ementáli(3)	Gouda	Mozzarella
Asp	286	157	214	18
Thr	360	613	980	44
Ser	773	661	2223	110
Glu	739	734	1077	40
Pro	827	2425	3446	226
Gly	426	865	1306	117
Ala	500	888	1204	156
Cys	36	118	24	2.4
Val	735	1657	2360	197
Met	712	504	712	130
Ile	569	928	1546	139
Leu	1467	2380	2586	299
Tyr	787	471	468	126
Phe	964	1120	1610	190
His	2137	2616	1541	360
Lys	1314	1672	2231	256
Arg	376	651	482	106

*Table 2: Total free amino acid content of Danish Blue, Ementhal, Gouda and Mozzarella cheeses ( $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ )*

*Amino acids(1), Danish Blue(2), Ementhal(3)*

Az ardrahan és a camembert külső és belső részének szabad aminosav összetételét vizsgálva megállapítható, hogy az aszparaginsav (Asp), a treonin (Thr), a szerin (Ser) és a tirozin (Tyr) mennyisége 200-600  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  között, a metionin (Met), a glicin (Gly) és az izoleucin (Ile) mennyisége pedig 550-950  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  között változik. Ezeket követi növekvő sorrendben az arginin (Arg), a lizin (Lys), a glutaminsav (Glu), a valin (Val), a prolin (Pro), a fenilalanin (Phe) és az alanin (Ala) 1000-2000  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  koncentrációval, míg a sort az ardrahan sajt zárja a maga igen magas leucin (Leu, 2600-3100  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ) és hisztidin (His, 3100-3300  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ) tartalmával.

A parmezán és a gouda vonatkozásában a helyzet lényegesen megváltozik egyes aminosavakban. Ezekben a sajtokban jelentősen megnőtt a Thr, de különösen a szerin és a prolin mennyisége. A parmezánban a Pro-ban mértük az összes sajt és összes vizsgált aminosav vonatkozásában a legnagyobb értéket 6193  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ -mal, a második legnagyobbat pedig a Ser-ben 4433  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ -mal. A többi aminosav mennyisége hasonlóan alakul az ardrahannál és a camembertnél tárgyaltakhoz azzal a

különbséggel, hogy a parmezanban a Lys-tartalmat is nagynak (3457  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ) mértük.

### 3. táblázat

**A parmezan, a kereskedelmi forgalomban kapható cheddar és a különböző technológiával készült cheddar sajt összes szabadaminosav-tartalma ( $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ )**

Amino-savak(1)	Parmezan	Kereskedelmi cheddar(2)	Cheddar 1-es kísérlet(3)	Cheddar 2-es kísérlet(4)
Asp	273	160	170	215
Thr	2120	95	151	179
Ser	4433	218	401	479
Glu	678	319	497	527
Pro	6193	432	560	610
Gly	2096	139	212	262
Ala	2018	212	331	343
Cys	5.4	4,8	2,4	4,7
Val	3542	234	495	490
Met	1156	158	204	243
Ile	2742	154	213	276
Leu	3391	352	999	1250
Tyr	1153	189	188	156
Phe	2162	268	646	673
His	1727	521	805	933
Lys	3457	362	481	562
Arg	2531	159	212	157

Table 3: Total free amino acid content of Parmezan, Commercial Cheddar and Cheddar cheeses manufactured under different conditions ( $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ )

*Amino acids(1), Commercial Cheddar(2), Cheddar Cheese Trial 1(3), Cheddar Cheese Trial 2(4)*

A cheddar sajtokban nem volt lényeges különbség a különböző módszerekkel előállított sajtok között a szabad aminosavak arányát tekintve. Egyedül a közönséges cheddar tért el jobban a másik négytől a lényegesen alacsonyabb Val-, Leu- és His-tartalmával. Amennyiben a cheddar sajtokat a camemberhez vagy az ardrahanhoz hasonlítjuk megállapítható, hogy a szabad aminosavak közötti arányok egy-két esettől eltekintve gyakorlatilag megegyeznek. Említést érdemlő különbség az, hogy a cheddar sajtokban alacsonyabb az Ala és a Val részaránya, ezzel ellentétben viszont lényegesen nagyobb a Ser-é.

Amennyiben az összes általunk vizsgált sajt szabad aminosavainak arányait hasonlítjuk össze akkor megállapítható, hogy az ardrahan és a cheddar sajt a Leu és a His igen magas részarányával, a parmezan és a gouda a magas Ser és Pro, továbbá a viszonylag alacsonyabb Glu és His részarányával tűnik ki. A többi sajtban kiegyenlített szabad aminosav arány mutatkozik.

#### 4. táblázat

**A különböző technológiával készült cheddar sajtok összes szabadaminosav-tartalma ( $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ )**

<b>Aminosavak(1)</b>	<b>Cheddar 3-as kísérlet(2)</b>	<b>Cheddar 4-es kísérlet(3)</b>
Asp	130	137
Thr	104	100
Ser	241	285
Glu	426	384
Pro	437	605
Gly	187	198
Ala	336	271
Cys	2,4	2,4
Val	378	445
Met	175	214
Ile	106	112
Leu	932	1069
Tyr	155	192
Phe	587	671
His	778	874
Lys	316	363
Arg	103	106

Table 4: Total free amino acid content of Cheddar cheeses manufactured under different conditions ( $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ )

*Amino acids(1), Cheddar Cheese Trial 3(2), Cheddar Cheese Trial 4(3)*

A sajtok szabad D-aminosavait vizsgálva megállapítottuk, hogy a 14 vizsgált minta átlagában a D-Asp mennyisége a legkisebb ( $5,2\text{-}89\ \mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), a D-Ala-é a legnagyobb ( $52\text{-}752\ \mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), míg a D-Glu-é közbülső értéket foglal el  $9,6\text{-}244\ \mu\text{mol}/100\text{ g}$ -mal. A D-aminosavak mennyiségét az összes szabad aminosav százalékában kifejezve a D-Glu-ban kaptuk a legkisebb értéket  $15,84\%$ -ot, míg a D-Asp ( $30,31\%$ ) és a D-Ala ( $37,15\%$ ) százalékos összetétele lényegesen kisebb mértékben különbözött egymástól.

Az egyes sajtokat tekintve mind a szabad D-aminosavak mennyisége, mind százalékos aránya jelentős eltérést mutat. Az ardrahan és a camembert külső és belső rétegében a szabad D-aminosavak mennyisége gyakorlatilag megegyezik. Mind a négy vizsgált mintában a D-Asp mennyisége a legkisebb ( $36\text{-}42\ \mu\text{mol}/100\text{ g}$  a camembertnél és  $70\text{-}74\ \mu\text{mol}/100\text{ g}$  az ardrahannál). A D-Glu közbülső helyet foglal el ( $122\text{-}235\ \mu\text{mol}/100\text{ g}$ ), míg a legnagyobb mennyiségben a D-Ala található a mintákban ( $259\text{-}433\ \mu\text{mol}/100\text{ g}$ ). Egészen más a helyzet ha a D-aminosavak százalékos arányát tekintjük az összes aminosav százalékában. Ekkor az ardrahannál a D-Asp ( $23,2\text{-}27,2\%$ ) és a D-Ala ( $27,1\text{-}28,2\%$ ) százalékos aránya lényegesen nagyobb mint a camemberté ( $13,9\text{-}14,0\%$ , ill.  $16,1\text{-}18,0\%$ ). A D-Glu százalékos arányában viszont nincs különbség a két sajt között ( $13,1\text{-}14,4\%$  az ardrahanban és  $12,9\text{-}14,8\%$  a camembertben). Sem a D-aminosavak mennyiségében, sem azok részarányában nem találtunk lényeges különbséget a külső réteg és a belső rész között.



## 5. táblázat

A különböző sajtok fő \*\*D-aminosav-tartalma (µmol/100 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 rétege(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	61	28,5	244	22,7	462	38,4
Mozzarella	5,2	28,9	9,6	24,0	52	33,3
Parmezan	57	20,8	72	10,6	752	37,3
Kereskedelmi cheddar(9)	74	46,3	45	14,1	96	45,3
Cheddar kísérlet(10) 1-es	74	43,5	62	12,5	153	46,3
Cheddar kísérlet(11) 2-es	89	41,4	65	12,4	165	48,1
Cheddar kísérlet(12) 3-as	59	45,4	53	12,5	161	47,9
Cheddar kísérlet(13) 4-es	41	33,4	42	10,9	125	46,1

$$* D\% = \frac{D}{D+L} \cdot 100$$

\*\*Az összes D-aminosavat analizáltuk, de néhány kivételtől eltekintve, a D-aminosav kis koncentrációban volt jelen. Ezen D-aminosavak meghatározása bizonytalan volt. (All of the D-amino acids were analysed, but except some cases, the other D-amino acids were present only in very few concentrations, and the determination of these D-amino acids were uncertain.)

Table 5: Main free \*\*D-amino acid content of different cheeses (µmol/100 g)

Cheeses(1), D-amino acids(2), Ardrahan Irish smear ripened cheese outer layer(3), Ardrahan Irish smear ripened cheese inner part(4), Camembert outer layer(5), Camembert inner part(6), Danish Blue(7), Ementhal(8), Commercial Cheddar(9), Cheddar Cheese Trial 1(10), Cheddar Cheese Trial 2(11), Cheddar Cheese Trial 3(12), Cheddar Cheese Trial 4(13)

Az előzőekben elmondottakhoz hasonló a helyzet akkor, ha a dán kék, az ementáli, a gouda a mozzarella és a parmezan szabad D-aminosavainak mennyiségét hasonlítjuk

össze. Mindegyik sajtban a D-Asp mennyisége a legkisebb, a D-Ala-é a legnagyobb, a D-Glu pedig közbülső helyet foglal el. Szembeötlő a mozzarella igen kis D-aminosav-tartalma, ami nem meglepő ha tudjuk, hogy az összes szabad aminosav tekintetében is a mozzarella van az utolsó helyen. Ugyancsak szembeötlő az, hogy a parmezán D-Asp-tartalma nem különbözik lényegesen a másik hárométól, D-Glu-tartalma közülük a legkisebb, legnagyobb viszont – az összes többi sajttal összehasonlítva is – a D-Ala-tartalma, amit talán magyaráz a parmezán kiemelkedően magas összes szabad Ala-tartalma. Ha a D-aminosavak mennyiségét vizsgáljuk az összes szabad aminosav százalékos arányában akkor megállapítható, hogy az ementáli kivételével – ahol a D-Asp és a D-Glu százalékos aránya gyakorlatilag megegyezik – a D-Asp %-os részaránya 5-20%-kal nagyobb mint a D-Glu-é. Lényegesen nagyobb a D-Ala részaránya az összes D-aminosavon belül 33,3-45,6%-kal.

A különböző technológiával kapott cheddar sajtok szabad D-aminosav összetételét összehasonlítva a sajtelőállítás technológiája és a szabad D-aminosav-tartalom között nem tudunk törvényszerűségeket megállapítani. A különböző technológiával előállított cheddar sajtok szabad D-Asp-tartalma 41-89, D-Glu-tartalma 42-65, D-Ala-tartalma pedig 125-165  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  között változott. Amennyiben a D-aminosavak %-os arányát hasonlítjuk össze akkor megállapítható, hogy a negyedik kísérletben kapott sajt kissé alacsonyabb D-Asp arányától eltekintve az összes D-aminosav aránya megegyezik mindegyik általunk vizsgált – különböző technológiával készült – sajtban. Úgy tűnik, hogy a sajtelőállítás módszere a cheddar sajtokban nem befolyásolja a sajt D-aminosav-tartalmát és a D-aminosavak arányát.

## IRODALOM

- Boehm, M.F., Bada, J.L. (1984). Racemization of aspartic acid and phenylalanine in the sweetener aspartame at 100°C. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 81. 5263.
- Brückner, H., Hausch, M. (1990a). D-Amino acids in dairy products: detection, origin and nutritional aspects. I. Milk, fermented milk, fresh cheese and acid crude cheese. *Milchwissenschaft*, 45. 357.
- Brückner, H., Hausch, M. (1990b). D-Amino acids in dairy products: detection, origin and nutritional aspects. II. Ripened cheeses. *Milchwissenschaft*, 45. 421.
- Bunjapamai, S., Mahoney, R.R., Fagerson, S.I. (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.
- Csapó, J., Henics, Z. (1991). Quantitative determination of bacterial protein from the diamino pimelic acid and D-alanine content of rumen liquor and intestine. *Acta Agronomica Hungarica*, 1-2. 159-173.
- Csapó, J., Csapó-Kiss, Zs., Stefler, J., Martin, T.G., Némethy, S. (1995). Influence of mastitis on D-amino acid content of milk. *J. Dairy Sci.*, 78. 2375-2381.
- Einarsson, S., Folestad, S., Josefsson, B. (1987). Separation of amino acid enantiomers using precolumn derivatization with *o*-phthalaldehyde and 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- $\beta$ -glucopyranoside. *J. Liquid Chromatogr.*, 10. 1589.
- 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.
- Fuse, M., Hayase, F., Kato, H. (1984). Digestibility of proteins and racemization of amino acid residues in roasted foods. *J. Jpn. Soc. Food Nutr.*, 37. 348.

- 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.
- Hayashi, R., Kameda, I. (1980). Decreased proteolysis of alkali treated proteins: consequences of racemization in food processing. *J. Food Sci.*, 45. 1430.
- Liardon, R., Lederman, S. (1986). Racemization kinetics of free and protein-bound amino acids under moderate alkaline treatment. *J. Agric. Food. Chem.*, 34. 557.
- Lubec, G., Wolf, C.H.R., Bartosch, B. (1990). Amino acid isomerisation and microwave exposure. *Lancet* (Mar 31) 792.
- Man, H., Bada, J.L. (1987). Dietary D-amino acids. *Ann. Rev. Nutr.*, 7. 209.
- Masters, P.E., Friedman, M. (1980). Amino acid racemization in alkali treated food proteins -chemistry, toxicology, and nutritional consequences, 165-194, in *Chemical Deterioration of Proteins*. ACS Symp. Ser. 123 165. Ed. Whitaker, J.R., Fujimaki, M.: Am. Chem. Soc., Washington, DC.
- 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. Chromatogr.*, 45. 475.

Levelezési cím (*corresponding author*):

**Csapó János**

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar

7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.

*University of Kaposvár, Faculty of Animal Science*

*H-7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.*

Tel.: +36-82-314 155, fax: +36-82-321 749

e-mail: csapo@mail.atk.u-kaposvar.hu