



A nyerstej mikroorganizmusainak hatása a tej és tejtermékek szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmára

Albert² Cs., Pohn¹ G., Lóki¹ K., Salamon² Sz., Albert² B., Sára¹ P.,
Mándoki¹ Zs., Csapó¹ J-né, Csapó^{1,2} J.

¹Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kaposvár, H-7400 Guba S. u. 40.

²Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Csíkszeredai Campus, Csíkszereda, RO-4100 Szabadság tér 1.

ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteink első szakaszában megállapítottuk, hogy a tőgygyulladást okozó egyes mikroorganizmusok (*Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium bovis*, *Arcanobacter pyogenes* és *Pseudomonas aeruginosa*) különböző mértékben járulnak hozzá a tej D-aszparaginsav-, D-glutaminsav- és D-alanin-tartalmához, azonban az aminosavak vizsgálata csak részben alkalmas a tőgygyulladást okozó patogén baktériumfajok azonosítására. A peptidoglikán D-aminosavai közül a D-glutaminsav-tartalom alapján lehetőség van a mikrobák azonosítására, a D-aszparaginsav-tartalom alapján azonban csak a mastitest próba alapján negatív tejminta, illetve a *Staphylococcus aureus* faj azonosítható. A D-alanin-tartalom alapján az *Escherichia coli* a *Streptococcus aureus* és a *Pseudomonas aeruginosa* fajok kivételével, az általunk vizsgált mikrobák azonosíthatók. Az egyes baktériumfajok által okozott gyulladással tőgyből származó tej szabadaminosav-tartalma szignifikánsan nem különbözik egymástól, vannak azonban olyan aminosavak, melynek részaránya jellemző az adott mikrobafajra. A *Streptococcus uberis* termeli a legkevesebb glicint, az *Escherichia coli* pedig igen magas szabad fenilalanin-tartalmával tűnik ki. A *Pseudomonas aeruginosa* által okozott gyulladással tőgyből származó tej tartalmazza a legtöbb szabad lizint. Kutatásaink második szakaszában vizsgáltuk különböző csíraszámú tejminták szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát és a belőlük készült tejtermékek összetételét. Az általunk vizsgált tejminták összcsíraszám 1,23·10⁶ és 2,95·10⁶ között változott. Megállapítottuk, hogy a csíraszám növekedésével mind a szabad D-aminosavak, mind a szabad L-aminosavak koncentrációja nőtt, de arányában a D-aminosavak növekedése nagyobb volt. Különösen jelentős volt a növekedés a 1,5·10⁶ és 2,9·10⁶ csíraszámú tartományban. A különféle technológiával készült tehéntúró- és sajtminták elemzése során arra a következtetésre jutottunk, hogy a friss illetve rövid ideig érlelt tejtermékeknél szoros az összefüggés az összcsíraszám és a szabad D-aminosav-, valamint a szabad L-aminosav-tartalom között, az enantiomerek arányát azonban az összcsíraszám nem befolyásolja. Azoknál a tejtermékeknél azonban, ahol a kultúrák aminosav-termelőképesége lényegesen meghaladja a tejalapanyagban eredetileg benne levő mikroorganizmusok termelését, a tejtermék szabadaminosav-tartalma (mind a D-, mind az L-enantiomerek) függetlennek látszik a tejalapanyag összetételétől.

(Kulcsszavak: szabad aminosavak, szabad D-aminosavak, tőgygyulladás, mikroorganizmusok, kultúrák)

ABSTRACT

The effect of microorganisms of raw milk on free amino acid and free D-amino acid contents of milk and dairy products

Cs. Albert², G. Pohn¹, K. Lóki¹, Sz. Salamon², B. Albert², P. Sára¹, Zs. Mándoki¹,
Zs. Csapó-Kiss¹, J. Csapó^{1,2}

¹University of Transylvania, Csíkszereda Campus, Department of Food Sciences, Csíkszereda, RO-530104 Szabadság tér 1.

²University of Kaposvár, Faculty of Animal Sciences, Kaposvár, H-7400 Guba S. u. 40.

*In the first part of our experiments it was established that certain microbe species causing mastitis (inflammation of the udder) (*Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium bovis*, *Arcanobacter pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*) contributed to D-aspartic acid, D-glutamic acid and D-alanine contents of milk to a different extent, however, examination of amino acids was only partially suitable for identification of pathogen microbe species causing mastitis. Out of D-amino acids of peptidoglycan D-glutamic acid contents provides the possibility of identifying the microbes. Based on D-aspartic acid contents only Mastitest-negative milk sample and the species *Staphylococcus aureus* can be identified. On the basis of D-alanine contents microbes examined by us with the exception of the species *Escherichia coli*, *Streptococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* can be identified. Free amino acid contents of milk derived from mastitic udder with mastitis caused by the individual bacterial species do not differ significantly from each other, there are, however, such free amino acids whose proportion is characteristic of the given microbe species. The species *Streptococcus uberis* produces the least glycine, for the *Escherichia coli* is typical the very high phenylalanine contents. Milk derived from mastitic udder with mastitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* contains the most of free lysine. In the second part of our researches we have examined free amino acid and free D-amino acid contents of milk samples with different germ numbers and composition of dairy products produced from them. Total germ number of milk samples examined varied from $1.23 \cdot 10^6$ to $2.95 \cdot 10^6$. It was established that with an increase in germ number concentration of both free D-amino acids and free L-amino acids increased, however, increase in D-amino acid contents was bigger considering its proportion. There was a particularly significant growth in the germ number range of $1.5 \cdot 10^6$ to $2.9 \cdot 10^6$. In the course of analysis of curds and cheese samples produced using different technologies we have come to the conclusion that for fresh dairy products and for those matured over a short time there was a close relation between total germ number and free D-amino acid and free L-amino acid contents, ratio of the enantiomers was not affected by the total germ number, however. For dairy products, however, where amino acid production capability of the microbial cultures considerably exceeds production of microorganisms originally present in the milk raw material, free amino acid contents of the milk product (both D- and L-enantiomers) seem to be independent of the composition of milk raw material. (Keywords: free amino acids, free D-amino acids, mastitis (udder inflammation), microorganisms, cultures)*

BEVEZETÉS

Élelmiszereinkben vagy a technológiai beavatkozás következtében, vagy az élelmiszer mikrobiológiai állapotában bekövetkezett változásnak köszönhetően jelentős

mennyiségű lehet a D-aminosav-tartalom (*Gandolfi és mtsai.*, 1992; *Brückner és Hausch*, 1990; *Fuse és mtsai.*, 1984). Több cikk jelent meg a tej és tejtermékek D-aminosav-tartalmáról melyekből kiderült, hogy a D-aminosavak főként a mikrobiális tevékenység következményei, és létrejöttükben a technológiai beavatkozásnak csak csekély szerepe van.

Bizonyosnak tűnik, hogy egészséges tehenektől származó elegytejben lévő nyomnyi mennyiségű D-aminosavak a szubklinikai masztitisz során előállt bakteriális fertőzés eredményei, melyek a baktériumok anyagcsere-termékeiként kerülnek be a tejbe. Korábban már vizsgáltuk a tőgygyulladás hatására bekövetkező tejösszetétel-változást, és módszert dolgoztunk ki az egészséges tejhez hozzáfejt kóros összetételű tej részarányának meghatározására (*Csapó és mtsai.*, 1986). Vizsgáltuk a mastitist próba különböző fokozatainak megfelelő beteg tőgyből származó tej D-aminosav-tartalmát, és megállapítottuk, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható tej D-aminosav-tartalmát okozhatja egyrészt a baktériumokban gazdag első tejsugarak hozzáfejtése az elegytejhez, másrészt a tőgygyuladást okozó baktériumok jelenléte, azok anyagcsere-termékei, illetve a baktérium pusztulása után a sejtfalban levő peptidoglikánok D-aminosav-tartalma. Megállapítottuk azt is, hogy a mastitist próba fokozatainak megfelelően, nő az összes szabad- és a szabad D-aminosavak mennyisége a tejben (*Pohn és Csapó*, 2002).

Korábbi vizsgálatainkból (*Csapó és mtsai.*, 1986; 1995; *Pohn és Csapó*, 2002) nyilvánvaló, hogy a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmát jelentős mértéken befolyásolja a technológia, elsősorban azonban a tejalapanyag mikrobiológiai állapota. Köztudott, hogy a D-sztereioizomer aminosavak nem vagy csak nehezen hasznosulnak az emberi szervezetben, káros hatásukról több közlemény jelent meg a szakirodalomban (*Gandolfi és mtsai.*, 1992; *Brückner és Hausch*, 1990a,b; *Fuse és mtsai.*, 1984). Ismert az is, hogy a D-aminosavak jelenléte a fehérjében csökkenti az emészthetőséget, és nagyobb mennyiségben növekedési inhibitoroként is hathatnak (*Man és Bada*, 1987). Élelmiszer-tudományi szempontból jelentős az a tény, hogy a D-aminosavak és a D-aminosav-tartalmú peptidok íze más, mint a nekik megfelelő L-sztereioizomereké (*Boehm és Bada*, 1984).

Korábbi vizsgálatainkra alapozva kísérleteink első szakaszában azt szerettük volna megállapítani, hogy vajon a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-koncentrációja alapján azonosíthatóak-e a tőgygyuladást okozó mikrobafajok, mert így lehetővé válna egy új módszer bevezetése a tőgygyuladást okozó mikroorganizmusok azonosítására. Mivel az Európai Unióba újonnan belépett országok esetében a tejfeldolgozók esetenként olyan több millió összcsíraszámú tejből kénytelenek a szabványoknak megfelelő különféle tejterméket előállítani, amely tejet az EU országokban emberi fogyasztásra alkalmatlannak ítélnék, kísérleteink második szakaszában egyrészt a különféle összcsíraszámú tej szabad összes- és szabad D-aminosav-tartalmát vizsgáltuk. Ennek során szerettünk volna összefüggést feltárni a csíraszám és a tej szabad összes- és szabad D-aminosav-tartalma között, majd arra kerestük a választ, hogy a tejalapanyag szabadaminosav-tartalma, hogyan befolyásolja a belőle készült tejtermékek szabadaminosav-összetételét.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgált tejminták

Kísérleteink első szakaszában a gyulladásos tőgyből származó tejmintákat három tehenészeti telep (Lajoskomáromi „Győzelem” Mgtsz. Tehenészeti Telep, Mosdósi Tehenészeti Telep, Kaposvári Egyetem Állattudományi Kar, Szarvasmarhatelep)

holstein-fríz teheneitől vettük. A mintavétel steril, autoklávozott 2–10 cm³ térfogatú edényekbe történt. A negatív egyedeknél a teljesen kifejt tőgy elegytejéből végeztük a mintavételt, míg a pozitív esetekben az első két tejsugarat (egyedenként kb. 10–12 cm³) külön fejtük, majd elvégeztük a mastitest próbát. Az aminosav-analízisekhez csak a +++, ++++ mintákat használtuk fel. A tejminták egyik felét a mintavétel után azonnal jeges vízben hűtöttük, majd két órán belül mélyhűtőpultba raktuk és ott –25 °C-on tároltuk a minták aminosav-analízisre történő előkészítéséig. A minták másik részét +4 °C-on hűtőszekrényben tároltuk, majd 12 órán belül továbbítottuk az Országos Állategészségügyi Intézetbe bakteriológiai vizsgálatra.

Kísérleteink második felében különböző összcsíraszámú tejeket és a belőle készült tejtermékeket egy Székelyföldön működő tejipari vállalattól gyűjtöttük be azokból az elegytej-mintákból, amelyekből a vállalat fogyasztási tejet és különböző tejterméket állított elő. Az így kapott tejminták összcsíraszámát 1,23·10⁶–2,95·10⁶ értékek között változott. Kontrolként a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának szarvasmarhatelepeiről származó 100.000-nél kisebb összcsíraszámú tejet tekintettük, melyet egy 10.000 liter körüli laktációs tejtermeléssel rendelkező, mintegy 100 darab holstein-fríz tehén elegytejéből vettünk. A tejmintákat, a mintavételt és az összcsíraszám meghatározását követően, azonnal –25 °C-ra hűtöttük, és ezen a hőfokon tartottuk a kémiai analízisre történő előkészítésig.

Az összcsíraszám meghatározása

A mikrobaszám vizsgálatára közvetlen baktériumszámlálást alkalmaztunk. A steril kémcsőbe vett tejmintát alaposan összekevertük, majd tízszeres hígítást készítettünk (a hígító oldat 0,85%-os nátrium-klorid, melyet előzetesen autoklávban sterilizáltunk). A pasztörözött tejminta 1 ml-ét bemértük 9 ml steril hígító vízbe, majd az így előkészített és alaposan homogenizált hígításból 1 ml-t pipettáztunk a táptalajjal ellátott steril lemezes Petrifilm lapkára. A Petrifilm lapkát 24 órán át 37 °C-on inkubáltuk, majd telepszámláló segítségével a kifejlődött telepeket közvetlenül megszámláltuk.

A vizsgált tejtermékek

A székelyföldi tejipari vállalattól joghurtot, Sanát, tehéntúrót, Telemeát, Dalia és Rucăr típusú sajtot kaptunk analízisre. A vállalat dokumentációjából kiderült, hogy melyik tejterméket milyen átlagos összcsíraszámú tejből állították elő, ezért a vizsgált tejtermékeket a csíraszám függvényében egyenként csoportosítani tudtuk. A vizsgált tejtermékek közül a tehéntúró, a joghurt, a Sana és a Telemea rövid ideig, míg a Dalia és Rucăr típusú sajtok hosszabb ideig érlelt tejterméknek számítanak. A vizsgált tejtermékeket a román szabványok, illetve leírások, valamint a higiéniai rendszabályok betartásával állították elő.

Minta-előkészítés

A minta-előkészítést és az analitikai mérést a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Kémiai-Biokémiai Tanszékén végeztük. A tejmintákat felolvasztás és 30 °C-ra történő felmelegítés után 10 percig 8000 g-n centrifugáltuk, eltávolítottuk a tej alakos elemeit, és elvégeztük a tej zsírtalanítását is. Ezt követően 50 cm³ mintához 50 cm³ 25%-os triklórecetsavat hozzáadva 20 percig állni hagytuk, a kivált csapadékot 10 percig 10 000 g-n centrifugáltuk. A kapott felülúszó pH-ját 4M-os nátrium-hidroxid-oldattal 7-re állítottuk be mind a szabadaminosav-, mind a szabad D-aminosav-tartalom meghatározásához. Az így kapott oldatokat liofilezővel 10 °C-os tálcáfűtést alkalmazva beszártítottuk, majd a szabadaminosav-tartalom meghatározásához a beszártított anyagot 10 cm³ (pH=7) nátrium-

acetát pufferben, a szabad D-aminosavak meghatározásakor pedig 1 cm³ bidesztillált vízben oldottuk fel. Az így előkészített mintákat ugyancsak –25 °C-on tároltuk az analízisek megkezdéséig. Tejtermékek analízise esetén azokból annyit homogénezünk desztillált vízzel, hogy a kapott keverék szárazanyag-tartalma a tejhez hasonlóan 12–15% közé essen. Ezt követően a teljesen tejszerű homogenizátumokkal úgy jártunk el, mintha azok tejminták lettek volna.

Analitikai módszerek, készülék, vegyszerek

A szabadaminosav- és a szabad D-aminosav-tartalom meghatározása során a származékképzést és analízist MERCK-Hitachi LaChrom HPLC berendezéssel végeztük. A mérési adatok gyűjtésére és kiértékelésére D-7000 HPLC System Manager szoftvert használtunk. A minta-előkészítéshez, származékképzéshez és az analízishez felhasznált vegyszerek analitikai reagens minőségűek voltak. Az OPA-t, a TATG-t a Sigmától (St. Louis, USA), a merkapto-etanol pedig a MERCK cégtől (Darmstadt, Germany) vásároltuk. Az analízis során használt oldószereket (acetonitril, metanol) szintén a MERCK cégtől szereztük be, melyek „HPLC gradient grade” minőségűek voltak. Az elúciós puffereket mono- és dinátrium-hidrogén-foszfátból, valamint nátrium-acetátból állítottuk elő. A pH-t 4M-os nátrium-hidroxiddal állítottuk be.

A szabad aminosavak meghatározása

A származékképzés során az aminosavakból orto-ftálaldehiddel (OPA) és 2-merkapto-etanolal (MeOH) gyűrűs származékot képeztünk. A reakció körülményei az alábbiak voltak: az auto-matikus mintaadagolás során 465 µl mintát 205 µl borátpufferben (0,4M; pH=9,5) összekevertünk 105 µl reagenssel (100 mg OPA-t feloldottunk 9 cm³ metanolban, 1 cm³ borátpufferben, majd ehhez hozzáadtunk 100 µl 3M 2-merkapto-etanol). Az így kapott oldat 3 percig állt. A keletkezett reakcióelegyből 20 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. A keletkezett származékokat fluoreszcens detektorral detektáltuk (gerjesztési hullámhossz: 325 nm, emissziós hullámhossz: 420 nm). A szabad aminosavak szétválasztása fordított fázisú (LiChrospher 100 Rp-18, 125×4 mm, 4µm) analitikai oszlopon történt. A meghatározáshoz egy két komponensből (metanol–nátrium-acetát-puffer) álló gradiensrendszert alkalmaztunk. Az áramlás sebessége 1 cm³/perc volt.

A szabad D-aminosavak meghatározása

A származékképzés során az aminosav-enantiomerekből diasztereomer párokat képeztünk orto-ftálaldehiddel (OPA) és 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glükopiranoziddal (TATG) *Einarsson és mtsai.* (1987) módszere alapján. A reakció a 1,5 cm³-es ampullában ment végbe. Az automatikus mintaadagolás során 465 µl mintát 205 µl borátpufferben (0,4M; pH=9,5) összekevertük 25 µl reagenssel (8 mg OPA és 44 mg TATG feloldva 1 cm³ metanolban). Az így kapott oldat 6 percig állt. A keletkezett reakcióelegyből 20 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. A származékokat fluoreszcens detektorral detektáltuk (gerjesztési hullámhossz: 325 nm, emissziós hullámhossz: 420 nm). Az enantiomerek szétválasztása fordított fázisú (Superspher 60 RP-8, 125×4 mm, 4 µm) analitikai oszlopon történt. A művelet végrehajtásához egy három komponensből (metanol– acetonitril–foszfát-puffer) álló gradiensrendszert alkalmaztunk. Az áramlás sebessége 1 cm³/perc volt.

Statisztikai értékelés

Az eredmények statisztikai kiértékelése SPSS 10.0 statisztikai programcsomaggal történt. A baktériumcsoportok szabad D-aminosav-tartalma közti különbséget

egytenyezős variancia-analízissel vizsgáltuk. A varianciaanalízis előfeltétele teljesült, mivel a vizsgált fajok adatainak varianciájában nem találtunk szignifikáns különbséget ($P>0,01$). A baktériumfajok közép-értékeinek összehasonlítására Student-Newman-Keuls tesztet használtunk.

EREDMÉNY ÉS ÉRTÉKELÉS

A tejminták bakteriológiai vizsgálata

A gyulladással összefüggő tejmintákban nyolc baktériumfajt azonosítottak a bakteriológiai vizsgálat során. Az azonosított, Magyarországon jellemzően tejsavbaktérium-patógén mikroorganizmusok: *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Arcanobacter pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium bovis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Az aminosav-enantiomerek vizsgálata

Méréseinket a nyolc baktériumfaj által kiváltott +++ és ++++ mastitist fokozatú gyulladással összefüggő tejminták vizsgálata során végeztük el (1. táblázat). Mivel a baktériumok sejtfalának peptidoglikánjaiban és anyagcseretermékeiben e három aminosav-enantiomer van a legnagyobb koncentrációban jelen, ezért mennyiségük biztonsággal kimutatható. A +++ és ++++ minták szabad D-aminosav- és szabadaminosav-tartalma szignifikánsan nem különbözik, ezért alkalmasak együttesen az aminosav-tartalom vizsgálatára.

1. táblázat

Különböző bakteriális eredetű tejsavbaktérium tejminták D-Asp-, D-Glu-, és D-Ala-tartalma az összes szabad aminosav százalékában

Baktériummentes, nem mastitiszese minta (1)	D-aminosav* (2)		
	D-Asp (n=3)	D-Glu (n=3)	D-Ala (n=3)
Negatív	13,53	6,13	10,75
Azonosított baktériumfajok a mastitiszese mintákból (3)			
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	22,46	21,83	49,37
<i>Escherichia coli</i>	31,96	41,40	34,47
<i>Staphylococcus aureus</i>	40,94	28,82	38,39
<i>Pasteurella multocida</i>	26,29	47,88	43,49
<i>Streptococcus uberis</i>	22,99	34,84	26,26
<i>Corynebacterium bovis</i>	23,50	38,43	40,90
<i>Arcanobacter pyogenes</i>	25,77	32,36	46,48
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25,48	44,88	36,76

*D-aminosav% = $D-As \times 100 / (D-As + L-As)$ ($D\text{-amino acid}\% = (D\text{-amino acid} \times 100) / (D\text{-amino acid} + L\text{-amino acid})$)

Table 1. D-Asp, D-Glu and D-Ala contents of milk samples with mastitis of various bacterial origin in percentage of total free amino acids

Bacterium-free, non-mastitic sample(1), D-amino acid(2), Bacterium species identified in the mastitic samples(3)

Az 1. táblázat adatait vizsgálva megállapítható, hogy a baktériummentes, negatív tejminta D-aszparaginsav-tartalma szignifikánsan különbözik a baktériumfajokat tartalmazó tejmintáktól. A mikrobafajok közül a *S. aureus* faj D-aszparaginsav-tartalma szignifikánsan nagyobb volt, mint a többi csoporté, azonban a *Str. dysgal.*, a *Str. uberis*, a *Corynebact. bovis*, a *Pseud. aeruginosa*, az *Arc. pyogenes*, és a *Past. multocida* fajok egymástól a D-aszparaginsav-tartalom alapján nem különböznek. Tehát a D-aszparaginsav % alapján csak a negatív, baktériummentes tejminta, illetve a *S. aureus* faj azonosítható. Levonhatjuk tehát azt a következtetést, hogy a vizsgált aminosav nem alkalmas a patogén mikrobák azonosítására.

A csoportok D-glutaminsav-tartalmának átlagértékeit vizsgálva megállapítható, hogy az alkalmas a mikrobafajok azonosítására, mivel a csoportok között a vizsgált aminosav mennyiségében szignifikáns a különbség. Tehát a glutaminsav-enantiomerek vizsgálata alapján a kórokozó mikrobafajok azonosítása lehetővé válhat. A D-alanin átlagértékeinek vizsgálata alapján megállapítható, hogy az *E. coli*, a *S. aureus* és a *Pseud. aeruginosa* fajok ezen aminosav alapján nem azonosíthatók, a többi faj D-alanintartalma viszont jelentős különbséget mutat.

A szabadaminosav-tartalom vizsgálata

A szabad aminosavak vizsgálata ugyanazokból a mintákból történt, amelyekből az enantiomereket mértük. A szabad aminosavak analízisének eredményeit a 2. táblázatban foglaltuk össze, ahol a szabadaminosav-tartalmat az összes szabad aminosav százalékában fejeztük ki. Az Asp, a Glu és az Ala mennyiségét vizsgálva megállapítottuk, hogy a Glu mennyisége 14–25% között változik, az Asp és az Ala részaránya pedig 10%-nál kevesebb.

A *Str. dysgalactiae* faj szignifikánsan több Asp-t tartalmaz, mint a baktériummentes, negatív tejminta. A *Corynebact. bovis*, és az *E. coli* fajok hatására az Asp-tartalom szignifikánsan kevesebb a negatív tejmintához viszonyítva. A többi baktériumfajt tartalmazó és a negatív tejminta között szignifikáns különbség nem volt. A Glu-tartalom alapján megállapíthatjuk, hogy a baktérium csoportokon belül (1. csoport: *Str. dysgalactiae*, *S. aureus*, 2. csoport: *Arc. pyogenes*, *Str. uberis*, *Corynebact. bovis*, 3. csoport: *E. coli*, *Pseud. aeruginosa*, *P. multocida*) az aminosav-tartalomban nincs jelentős különbség. A 2. csoport azonban szignifikánsan több Glu-t tartalmaz, mint az 1-es és a 3-as csoportban lévő baktériumfajok. Az 1-es csoport és a 3-as csoport között nincs jelentős különbség a Glu-tartalomban.

A negatív tejminta szignifikánsan több Glu-t tartalmaz, mint az 1. és a 3. csoport baktériumfajai által kiváltott masztitiszes tejminták. A 2. csoport és a negatív tejminta Glu-tartalma szignifikánsan nem különbözik.

Az Ala-tartalom alapján elmondható, hogy az *E. coli* faj által kiváltott masztitiszes tej szignifikánsan több aminosavat tartalmaz, mint a negatív tejminta. A többi baktériumfaj a negatívától szignifikánsan nem különbözik. A baktériumfajok között az *E. coli* és a *S. aureus* fajra kapott Ala-tartalom jelentősen eltér. A Ser, a His és a Gly százalékos átlagértékeit vizsgálva megállapítottuk, hogy a három aminosav közül a Gly részaránya 8–14%, a Ser mennyisége 5–9% között változik, a His pedig átlagosan 2% a vizsgált tejmintákban. A Ser-tartalomban nincs szignifikáns különbség a tejminták között. A His-tartalomban az *E. coli* által kiváltott masztitiszes tejminta szignifikánsan több, a *S. aureus* által kiváltott pedig szignifikánsan kevesebb aminosavat tartalmaz, mint a negatív tejminta. A Gly-tartalom alapján elmondható, hogy a *Str. uberis* okozta gyulladáshoz vezető tejből származó tej szignifikánsan különbözik az összes tejmintától. A *S. aureus* faj által fertőzött tej Tyr- és Thr-tartalma szignifikánsan különbözik az összes

többi mintától. A Thr-tartalomban az *Arc. pyogenes* és az *E. coli* okozta masztitiszes tejminták egymástól nem, de az összes többi mintától jelentősen különböznek. Az Arg-tartalom alapján megállapítható, hogy az *S. aureus* és a *P. multocida* okozta masztitiszes tejminták között nincs jelentős különbség, azonban az összes többi tejminta Arg-tartalmától szignifikánsan különböznek. A Met-tartalomban a tejminták között nem találtunk jelentős különbséget. A Phe-tartalom vizsgálata esetén megállapítható, hogy az *E. coli* faj okozta gyulladós tej Phe-tartalma szignifikánsan különbözik az összes többi tejmintától. A *Str. dysgalactiae* okozta gyulladós tögyből származó tejminta Val-tartalma szignifikánsan különbözik a *S. aureus*, az *Arc. pyogenes*, és a *Str. uberis* okozta masztitiszes és a negatív tejminta Val-tartalmától is. A *Pseud. aeruginosa* által kiváltott gyulladós tögyből származó tej szignifikánsan több Lys-t tartalmaz, mint az összes többi tejminta. A *S. aureus*, az *Arc. pyogenes*, a *Str. uberis* és a *Corynebact. bovis* okozta gyulladós tögyből származó tej Lys-tartalma szignifikánsan nőtt a negatív mintához képest, azonban a fajok között nincs szignifikáns különbség. A *Corynebact.* faj kivételével mindegyik szignifikánsan több Leu-t tartalmaz, mint a negatív tejminta. A *Str. uberis* és az *E. coli* által kiváltott gyulladás esetén a tej Ile-tartalma szignifikánsan nőtt a többi fajhoz viszonyítva, azonban e két tej Ile-tartalmában nincs jelentős különbség.

2. táblázat

Az egyes mikroba fajok szabadaminosav-tartalma az összes szabad aminosav százalékában

Aminosav, % (1)	Negatív (n=3) (2)	Baktériumfajok (n=3) (3)							
		E. coli	Staph. aureus	Past. multocida	Str. dysgal.	Str. uberis	Corynebact. bovis	Arcanobact. pyogenes	Pseud. aeruginosa
Asp	5,30	2,57	4,25	4,10	9,26	6,83	3,60	4,83	5,96
Ser	8,80	6,42	4,86	5,51	7,27	7,62	6,09	5,48	8,65
Glu	25,00	14,04	15,32	18,88	15,39	21,50	24,87	25,66	15,96
His	2,00	4,36	1,02	2,15	2,13	2,02	2,61	2,36	2,33
Gly	13,90	10,98	12,80	13,61	10,47	8,47	13,40	14,23	10,45
Arg	5,80	4,35	8,64	6,91	4,17	5,22	4,20	4,87	3,56
Thr	2,00	1,17	5,45	3,47	2,38	3,37	2,98	0,92	2,26
Ala	6,80	10,13	4,84	7,36	6,73	7,27	7,12	7,87	5,87
Tyr	3,50	4,01	8,61	4,62	5,1	4,18	4,01	3,97	4,84
Met	1,30	1,35	1,22	2,36	1,12	1,78	1,56	1,08	1,58
Val	8,80	11,26	8,00	9,41	12,57	7,36	10,90	7,68	10,78
Phe	2,70	5,33	3,53	3,37	3,24	2,32	1,62	2,42	3,75
Ile	3,00	5,80	3,26	3,56	2,61	5,36	2,69	3,01	1,12
Leu	4,00	9,61	7,36	6,68	6,72	6,91	4,39	6,22	7,39
Lys	7,10	8,64	10,85	8,02	10,84	9,80	10,42	9,41	15,55

Table 2. Free amino acid contents of the individual microbe species in the percentage of total free amino acid contents

Amino acid(1), Negative(2), Bacterium species(3)

Kísérleteink eredményeként megállapítottuk tehát, hogy a baktériummentes, negatív tej-minta D-Asp-tartalma szignifikánsan különbözik a vizsgált baktériumfajok D-aszparaginsav-tartalmától, azonban a mikrobafajok között csak a *S. aureus* különbözik szignifikánsan ettől. A D-glutaminsav alkalmas lehet a mikrobák azonosítására, mivel a vizsgált aminosav szignifikáns mértékben különbözik az egyes mikrobák okozta masztitiszes tejmintákban. A D-alanin alapján az *E. coli*, a *S. aureus* és a *Pseud. aeruginosa* kivételével szintén szignifikáns különbségeket állapítottunk meg. Az egyes baktériumfajok által okozott tögygyulladásos tögyből származó tej szabadaminosav-tartalma szignifikánsan nem különbözik. Vannak azonban olyan szabad aminosavak, melyek részaránya jellemző az adott mikrobafajra. A glicintartalom alapján elmondható, hogy a *Str. uberis* okozta masztitiszes tejminta szignifikánsan különbözik az összes tejmintától. A Phe-tartalom vizsgálata esetén megállapítható, hogy az *E. coli* által fertőzött tej Phe-tartalma szignifikánsan különbözik az összes többi tejmintától.

Kísérleteink második szakaszában az összcsíraszám hatását vizsgáltuk a tej összes szabad és szabad D-aminosav-tartalmára. A különböző összcsíraszámú tejek összes szabad- és szabad D-aminosav-tartalmát 500.000 összcsíraszám egységenként a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat

A különböző összcsíraszámú tejek összes szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalma (mg/100 g minta) és a D-aminosavak részaránya
($D\text{-aminosav}\% = D\text{-As} \times 100 / (D\text{-As} + L\text{-As})$)

Csíra- szám 10^6 (1)	Aminosav (2)								
	Aszparaginsav (3)			Glutaminsav (4)			Alanin (5)		
	L	D	Arány (6)	L	D	Arány	L	D	Arány
0,1	0,12	0,015	11,11	0,96	0,053	5,23	0,32	0,043	11,85
1,23	0,34	0,042	10,99	1,22	0,084	6,44	0,67	0,102	13,21
1,53	0,54	0,087	13,88	1,47	0,124	7,78	0,91	0,235	20,52
2,00	0,84	0,145	14,72	2,79	0,455	14,02	1,69	0,454	21,17
2,20	0,88	0,257	22,60	2,80	0,715	20,32	1,85	0,942	33,73
2,95	1,48	0,321	21,97	4,53	1,534	25,30	4,83	2,419	33,37

Table 3. Total free amino acid and free D-amino acid contents of milks with different total germ numbers (mg/100 g sample) and proportion of D-amino acids ($D/(D+L) \times 100$)

Germ number (10^6)(1), Amino acid(2), Aspartic acid(3), Glutamic acid(4), Alanine(5), Ratio(6)

Megállapítottuk, hogy a kontroll tejminta L-aszparaginsav-tartalma 0,12; D-aszparaginsav-tartalma 0,015 mg/100 g, és a D-aszparaginsav részaránya az összes szabad aminosavon belül 11,11%. Ugyanezen minta L-glutaminsav-tartalma 0,96; D-glutaminsav-tartalma pedig 0,053 mg/100 g, a D-glutaminsav részaránya pedig 5,23%. A kontroll L-alanin-tartalmát 0,32; D-alanin-tartalmát pedig 0,043 mg/100 g-nak mértük, a D-alanin részaránya pedig 11,85% volt. A tejipari vállalat által rendelkezésünkre bocsátott mintáknál $1,23 \cdot 10^6$ és $1,53 \cdot 10^6$ összcsíraszám között, sem a szabad L-

aminosavak mennyisége, sem a szabad D-aminosavak mennyisége nem mutatott lényeges változást, bár mind a szabad L-aminosavak koncentrációja, mind a D-aminosavak részaránya folyamatosan nőtt az összcsíraszám függvényében. Ez a minimális változás folytatódott $2,20 \cdot 10^6$ összcsíraszámig, ahol szinte robbanásszerűen megnőtt mind az összes szabad aminosav, mind a szabad D-aminosavak mennyisége, és ez a növekedés igaz volt a D-aminosavak részarányaira is az összes szabad aminosavon belül. Úgy tűnik tehát, hogy 1,5–1,6 millió csíraszámig nincsenek jelentős változások a tej szabadaminosav- és szabad D-aminosav-tartalmában. Ezen rövid periódust követően azonban gyors a növekedés. Összegzőként tehát elmondható, hogy mindegyik általunk vizsgált szabad aminosav esetében, mind a szabad D-aminosavak, mind a szabad L-aminosavak koncentrációja nő, de arányaiban a D-aminosavak növekedése nagyobb, hisz az aszparaginsav esetében a kontroll tejhez viszonyítva a $2,95 \cdot 10^6$ csíraszámig ez az arány 11,11%-ról 21,97%-ra, a glutaminsav esetében 5,23%-ról 25,30%-ra, az alanin esetében pedig 11,85%-ról 33,37%-ra nőtt.

Miután megállapítottuk a tejalapanyag összetételének alakulását a csíraszám függvényében, kutatásaink következő fázisában azt vizsgáltuk, hogy a szabad D- és L-aminosavak megnövekedett mennyisége milyen hatással van a belőle készült tejtermékek összetételére. Akárcsak a tej szabadaminosav-tartalmának vizsgálatok a tejtermékek esetében is az aszparaginsavra, a glutaminsavra és az alaninra koncentráltunk, hisz e három aminosav része a baktériumok sejtfalát alkotó peptidoglikánnak, és onnan kiszabadulva a tejtermékek legnagyobb D-aminosav hányadát képezik. A baktérium pusztulása után a lízist követően ezen aminosavak hozzájárulnak a tejtermékek ízének, aromájának valamint táplálkozási értékének kialakulásához. A tejalapanyag összcsíraszámja és a D-aminosav koncentrációja közti összefüggést ismerve feltételezhető, hogy a tejalapanyag hatással lehet a belőle készült tejtermék összetételére. Ezen hipotézis bizonyítására 4 db különböző összcsíraszámú tejből készült Sana, 4 db Dalia, 3 db Telemea, 2 db tehéntúró, 1 db Rucăr és 1 db joghurt összetételét vizsgáltuk. Vizsgálatainkból a tehéntúró, a Rucăr és a joghurt alacsony mintaszámja miatt végleges következtetést nem kívánunk levonni, a vizsgálati eredményeket csak tájékoztató jelleggel közöljük. Mérési eredményeinket a 4. táblázat tartalmazza.

A 4 darab Sana 1,23; 1,35; 1,53 és 2,95 millió összcsíraszámú tejből készült. A három alacsonyabb összcsíraszámú tejből készült sajt nál a szabad L-aszparaginsav-tartalom 0,55–0,73 mg/100 g között változott, a 2,95 millió összcsíraszámú alapanyag esetében pedig 1,13 mg/100 g-ra nőtt. A D-aszparaginsav ugyanezen mintáknál 0,25–0,32 mg/100 g között alakult, és legmagasabb értéket a legnagyobb csíraszámú alapanyagból készült termékénél érte el 0,54 mg/100 g-mal. A D-aszparaginsav részaránya 31,3 és 32,4% között változott az összes aszparaginsav-tartalmon belül. Az L-glutaminsav mennyisége a legkisebb összcsíraszámú alapanyagból készült Sana-nál 1,62 mg/100 g volt, amely $1,5 \cdot 10^6$ csíraszámig 2,55; a legmagasabb összcsíraszámú tejalapanyagnál pedig 4,56 mg/100 g-ra nőtt. Ezeknél a mintáknál a D-glutaminsav mennyisége 0,58 mg/100 g-ról 0,83 mg/100 g-ra, a legmagasabb összcsíraszámú tejalapanyag esetében pedig 1,54 mg/100 g-ra nőtt. A D-glutaminsav aránya 22,4 és 26,4% között változott. Az L-alanin mennyisége az előzőekben felsorolt összcsíraszámú tejalapanyagból készült minták esetében 0,70 mg/100 g-ról 1,27 mg/100 g-ra, a legnagyobb összcsíraszámú tejből készült termékénél pedig 1,74 mg/100 g-ra nőtt. A D-alanin mennyisége ezeknél a mintáknál 0,46; 0,52; 0,79 és 1,25 mg/100 g volt, melynek következtében a D-alanin részaránya az összes alaninon belül 37,6 és 41,9% között változott.

4. táblázat

A különböző összcsíraszámú tejből készült tejtermékek összes szabad- és szabad D-aminosav-tartalma (mg/100 g minta) és a D-aminosavak részaránya (D-aminosav% = $D-As \times 100 / (D-As + L-As)$)

Összcsíraszám 10^6 (1)	Tejtermék (2)	Aminosav (3)								
		Aszparaginsav			Glutaminsav			Alanin		
		L	D	Arány	L	D	Arány	L	D	Arány
1,228	Sana	0,552	0,251	31,34	1,624	0,583	26,41	0,698	0,462	39,81
1,351		0,567	0,259	31,42	2,144	0,619	22,39	0,861	0,519	37,63
1,530		0,725	0,320	30,64	2,548	0,834	24,65	1,265	0,790	38,42
2,945		1,132	0,543	32,43	4,556	1,542	25,09	1,735	1,251	41,90
1,250	Dalia	13,419	5,593	29,42	42,535	12,791	23,12	21,706	15,621	41,85
2,000		15,309	6,142	28,63	43,049	12,852	22,99	26,379	17,601	40,02
2,800		16,754	6,231	27,11	48,247	13,439	21,85	27,347	17,803	39,43
2,912		15,170	6,324	29,42	41,381	13,516	24,62	24,816	17,004	40,66
1,320	Telemea	0,861	0,389	31,14	3,057	0,752	19,73	1,688	1,071	38,81
1,664		1,027	0,428	29,42	3,493	0,841	19,41	1,904	1,223	39,12
2,200		1,504	0,610	28,99	3,212	0,935	22,54	1,973	1,349	40,60
1,560	Tehéntúró(4)	0,081	0,038	32,14	0,458	0,109	19,23	0,187	0,124	41,62
1,684		0,101	0,051	33,51	0,492	0,112	18,54	0,213	0,133	38,43

Table 4. Total free and free D-amino acid contents (mg/100 g sample) of dairy products manufactured from milk with various total germ numbers and proportion of D-amino acids ($D/(D+L) \times 100$)

Total germ number (10^6)(1), Dairy products(2), Amino acid(3), Cow's curds(4)

A Sana esetében tehát levonhatjuk azt a következtetést, hogy a tejalapanyag összcsíraszámának növekedésével, mind a három aminosav esetében nő a D- és az L-enantiomer mennyisége is, és e növekedés az $1,53 \cdot 10^6$ csíraszám után válik jelentőssé, hisz a majd 3 milliós összcsíraszámú tejből készült Sana mind az L-, mind a D-aminosavakból a legtöbbet tartalmazza. Nem tapasztaltunk lényeges változásokat az egyes aminosavakon belül a D- és L-arányokat illetően. A D-glutaminsav aránya a legkevesebb az összes szabad aminosavon belül 24–25%-kal, melyet a D-aszparaginsav követ 30–32%-kal, végül a D-alanin zárja a sort, melynek részaránya közelíti a 40%-ot.

A Dalia sajtjánál 1,25; 2,00; 2,80 és $2,91 \cdot 10^6$ összcsíraszámú tejből előállított sajtok szabad-aminosav-tartalmát elemeztük. A szabad L-aszparaginsav a legalacsonyabb összcsíraszámú tejből készült sajtjánál 13,42; a legmagasabb összcsíraszámú tejből készülté pedig 15,17 mg/100 g, a D-aszparaginsav koncentrációja pedig 5,59 és 6,23 mg/100 g volt. A D-aszparaginsav százalékos részaránya 27,11 és 29,42% között változott. Gyakorlatilag alig volt különbség a különböző összcsíraszámú tejből készült Dalia sajt L-glutaminsav-tartalmában, mely 41,38 és 48,25 mg/100 g között változott, és hasonlókat lehet elmondani a D-glutaminsav mennyiségéről is, mely 12,79 és 13,52 mg/100 g között alakult. A D-glutaminsav részaránya 21,85 és 24,62% között változott és úgy tűnik, hogy az aszparaginsavhoz hasonlóan független a tejalapanyag összcsíraszámától. A Dalia sajtjánál az L-alanin mennyisége 21,71 és 27,35; a D-alanin

menyisége 15,62 és 17,80 mg/100 g között változott. A D-alanin százalékos mennyisége egy minta kivételével meghaladta a 40%-ot (39,43–41,85%). A három D-aminosav részarányt vizsgálva a Sanához hasonló következtetéshez jutottunk, ugyanis a szabad D-glutaminsav részaránya az összes szabad D-glutaminsavon belül 21,85 és 24,62% között változott, míg ezek az értékek a D-aszparaginsavnál 27,11–29,42%, a D-alaninnál pedig 39,43–41,85% között alakultak.

A Telemea esetében 1,32; 1,66 és 2,20 millió összcsíraszámú tejből készült terméket analizáltunk. Ezen összcsíraszámú tartományban az L-glutaminsav kivételével minden amino-savnál és minden enantiomernél növekedést kaptunk, de mivel az összcsíraszám tartomány nem volt elég széles, az előző két tejtermékhez hasonló, határozott következtetést vizsgálatainkból nem tudtunk levonni. A vizsgált összcsíraszám tartományban az L-aszparaginsav mennyisége 0,86–1,50; a D-aszparaginsavé pedig 0,39–0,61 mg/100 g, az L-glutaminsav mennyisége 3,06–3,49; a D-glutaminsavé pedig 0,75–0,94 mg/100 g, az L-alanin mennyisége 1,69–1,97; a D-alanin mennyisége pedig 1,07–1,35 mg/100 g között alakult. Az előző két sajthoz hasonlóan a D-glutaminsav százalékos arányát találtuk a legkisebbnek 19,73–22,54%-kal, a D-aszparaginsav mennyisége 28,99–31,14% között, a D-alanin részaránya pedig 38,81–40,6% között alakult. Úgy tűnik tehát, hogy a Telemea esetében sincs összefüggés a tejalapanyag összcsíraszámja és a belőle készült, általunk vizsgált termékek között.

A két darab tehéntúró, az egy darab Rucăr, és az egy darab joghurt esetében a csíraszám hatásáról természetesen következtetéseket levonni nem lehet. A tehéntúró aminosav-összetételét hasonlítva az összes többi tejtermékéhez, megállapítható, hogy abban mind a D-, mind az L-aminosavak mennyisége majdnem egy nagyságrenddel kisebb, mint a többi vizsgált terméké, a D-aminosavak részaránya viszont alig különbözik a többitől.

Összefoglalva vizsgálataink ezen szakaszának eredményét elmondható, hogy a tejalapanyag esetében az összcsíraszám növekedésével mind a szabad D-aminosavak, mind a szabad L-aminosavak koncentrációja nő, de arányában a D-aminosavak növekedése nagyobb, hisz a kontroll mintához viszonyítva a D-aminosavak aránya többszörösére nő. A különböző összcsíraszámú tejalapanyagból készült tejtermékek minősége és az összcsíraszám kapcsolata közötti összefüggést vizsgálva megállapítottuk, hogy a D-aminosavak százalékos összetételét az összes szabadaminosav-tartalomon belül nem befolyásolja sem a tejalapanyag összcsíraszámja, sem pedig az, hogy milyen tejtermékről van szó. A D-aszparaginsav részaránya a vizsgált tejtermékek többségénél 30% körül alakul, bár a Sana esetében és a tehéntúrónál ez az arány kicsivel több, a Daliánál pedig valamivel kisebb. A D-glutaminsav százalékos részaránya 18–27% között változik, mely arány a Sana esetében nagyobb, mint a Dalia esetében, és legkisebb a Telemea esetében. A D-alanin aránya mindegyik tejterméknél függetlenül a tej összcsíraszámától, 40% körül alakul. A vizsgált három aminosavon belül a D-glutaminsav részaránya a legkisebb, a D-alaniné a legnagyobb, a D-aszparaginsav pedig a D-glutaminsavhoz közelebb eső köztes értéket mutat.

A friss, illetve a rövid ideig érlelt tejtermékeknél (Sana, joghurt, tehéntúró, Telemea) összefüggést lehet megállapítani, az összcsíraszám és a D-aminosav-tartalom között, és ez az összefüggés a legtöbb esetben igaz az L-enantiomerekre is. Annak ellenére azonban, hogy az összcsíraszám jelentős mértékű hatást gyakorol mindkét enantiomer koncentrációjára, az enantiomerek arányát az összcsíraszám nem befolyásolja. Azoknál a tejtermékeknél viszont, amelyeket hosszabb ideig érlelnek, és

amelyeknél a kultúrák aminosav-termelőképesége lényegesen meghaladja a tejalapanyagban eredetileg benne lévő mikroorganizmusok termelését, nem lehet számítani a tejalapanyag hatására, tehát a tejtermékek szabadaminosav-tartalma függetlennek látszik a tejalapanyag összetételétől.

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. 5263-5266.
- Brückner, H., Hausch, M. (1990a). D-amino acids in dairy products: Detection, origin and nutritional aspects. I. Milk, fermented milk, fresh cheese and acid curd 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.
- Csapó, J., Csapó-Kiss, Zs., Máté, J., Juricskay, I. (1986). Kísérletek a masztitiszes tej részarányának meghatározására elegytejeből. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 35. 337.
- 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. *J. of 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- β -glucopyranoside. *J. Liquid Chrom.*, 10. 1589.
- 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.
- 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.
- Man, H., Bada, J.L. (1987). Dietary D-amino acids. *Ann. Rev. Nutr.*, 7. 209-225.
- Pohn, G., Csapó, J. (2002). Free D-amino acid content of milk from mastitic udder. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 6. 149.

Levelezési cím (*Corresponding authors*):

Albert Csilla

Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Csíkszeredai Campus,
Élelmiszer-tudományi Tanszék, Csíkszereda, 530104 Szabadság tér 1.
University of Transylvania, Csíkszereda Campus,
Department of Food Sciences, Csíkszereda, 530104 Szabadság tér 1.
Tel.: 40-266-317-121, Fax: 40-266-314-657
e-mail: albertcsilla@sapientia.siculorum.ro