



## Takarmánnyal adagolt D-Trp akkumulációjának vizsgálata patkányokon

<sup>1</sup>Lóki K., <sup>1</sup>Pohn G., <sup>2</sup>András Cs.D. <sup>1,2</sup>Csapó J.

<sup>1</sup>Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kémiai-Biokémiai Tanszék, H-7400 Kaposvár, Guba Sándor út 40.  
<sup>2</sup>Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Műszaki és Társadalomtudományi Kar, Élelmiszertudományi Tanszék, RO-530104 Csíkszereda, Szabadság tér 1.

### BEVEZETÉS

A szakirodalomban számos közleményt jelent meg, melyek a D-aminosavak élő szervezetekre gyakorolt hatásáról szólnak. Kimutatták, hogy a D-aminosavak jelenléte az élelmiszerekben, takarmányokban rontja azok emészthetőségét (*Hayashi and Kameda*, 1980), *Schwass és mtsai.* (1983) szerint pedig már egy D-aminosav alkalmatlanná teszi a peptidet a szállításra.

Egy nagyon fontos kérdés, hogy vajon az élelmiszerekben lévő D-aminosavak toxikusak-e? *Masters és Friedman* (1980) szerint néhány D-aminosav hosszú időn keresztül fejti ki toxicitását. *Imai és mtsai.* (1998) az intravénásan adagolt <sup>14</sup>C-D-szerin felhalmozódását figyelték meg patkányok veséjében. *Schieber és mtsai.* (1997) D-prolin és D-aszparaginsav adagolását követően megállapították, hogy egy hónap elteltével a máj és a vese D-aszparaginsav-tartalma, valamint a vese által kiválasztott D-prolin mennyisége megnőtt.

A témával kapcsolatos irodalom áttanulmányozása során nem találtunk olyan kísérletet, melyben a D-triptofán hatását vizsgálták volna, melynek oka feltehetően a Trp-enantiomerek meghatározásának a nehézsége. Fentiek miatt kísérletünkben különböző mennyiségű, a takarmánnyal a kísérleti állatok szervezetébe juttatott D-Trp akkumulációját vizsgáltuk.

### ANYAG ÉS MÓDSZER

#### Etetési kísérletek

A kísérleteket 50–200 g közötti Charles River (WI) nőstény patkányokkal végeztük. Az egyszeri kísérleteket 3–3, a folyamatos terhelési vizsgálatokat 7–7 állattal végeztük. Kontrollként D-Trp mentes táppal etetett patkányok szerveit vizsgáltuk.

A szakirodalom alapján a D-aminosavak szervezetbe való juttatásának legegyszerűbb módja az ivóvízben való feloldás. Ez a megoldás D-Trp esetén, annak oldhatósága miatt, nem volt kivitelezhető. Kísérletünkben ezért a D-Trp-t a takarmányhoz kevertük.

Egyszeri D-Trp bevitelének hatását vizsgálva 200 mg/testtömeg kg mennyiséget kevertünk a takarmány adagokba, majd az etetést követően két és három óra elteltével mintát vettünk az állatok veséjéből, májából, lépéből, valamint a béltartalomból, és vizsgáltuk azok D-Trp tartalmát.

A folyamatos terhelés vizsgálata során az állatok kétnaponta kaptak a D-Trp-tartalmú takarmány keverékből, melyek D-Trp tartalmát a négy sorozatban (100, 200, 350 és 600 mg/testtömeg kg) változtattuk. A kísérletek időtartama három hét volt, így

összesen 11 etetés végeztünk. A kísérlet végén mintát vettünk az állatok veséjéből, májából, valamint lépéből, és vizsgáltuk azok D-Trp tartalmát.

### **Kémiai analízisek**

A minták fehérjetartalmát 3 M-os p-toluolszulfonsav-oldattal (ami 3-indol-propionsavat tartalmazott védőreagensként) hidrolizáltuk 110 °C-on 24 órán át. Az elegyben a fehérje-3-indol-propionsav arányt 1:1-re állítottuk be. A hidrolízist követően a reakcióelegyet 4 M-os NaOH-oldattal közönbösítettük.

Az aminosavakból OPA (o-ftáldaldehyd) és TATG (1-tio-β-D-glükóz-tetraacetát) felhasználásával *Einarsson et al.* (1987) módszere alapján diasztereomer párokat képeztünk, és a származékokat az általunk kidolgozott módszerrel (*Csapó et al.*, 2006) egy MERCK-Hitachi HPLC berendezéssel határoztuk meg.

## **EREDMÉNYEK**

### **Egyszeri D-Trp etetés**

Az egyszeri Trp bevitelnek esetén egyik esetben sem tudtuk kimutatni a D-Trp jelenlétét a szervekben. Megfigyeltük azonban, hogy az etetés után két órával vett béltartalom mintákból a D-Trp még kimutatható, három óra elteltével azonban D-Trp-t nem tudunk kimutatni.

### **Folyamatos D-Trp etetés**

Az eredményeinket értékelve megállapítható, hogy a vese és a lép esetében már a takarmány legkisebb D-Trp koncentrációja (100 mg/testtömeg kg) esetében kimutatható volt a D-Trp megjelenése a szervekben. Máj esetében ez a koncentráció 200 mg/testtömeg kg volt.

A feldúsulás mértékét a szervekben megjelenő D-Trp részaránya ( $D \times 100 / (D+L)$ ) alapján vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy valamennyi kezelés esetén a D-Trp részaránya a lép esetében volt a legmagasabb, ezt követte a vese, majd a máj. Ennek oka, hogy míg a májban működik a D-aminosav oxidáz rendszer, ami képes a D-aminosavakat L-aminosavvá alakítani, a vese képes bizonyos mértékben a vizelettel üríteni a D-aminosavakat, addig a lép esetében kevésbé jellemzőek az olyan speciális folyamatok, amelyek a szervbe jutó D-aminosavak átalakítását vagy eltávolítását céloznák.

### **A belső szervek D-Trp-tartalmának alakulása**

D-Trp adagok	Lép		Vese		Máj	
	D-Trp <sup>1</sup>	részarány <sup>2</sup>	D-Trp <sup>1</sup>	részarány <sup>2</sup>	D-Trp <sup>1</sup>	részarány <sup>2</sup>
kontroll	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1
100 mg/tt kg	1,7	3,7	1,6	2,3	0,1	0,2
200 mg/tt kg	3,3	7,5	3,2	4,0	1,1	4,7
350 mg/tt kg	4,8	9,7	4,0	5,9	1,2	5,3
600 mg/tt kg	5,7	9,8	4,8	6,6	1,5	6,7

<sup>1</sup>mg/100 g minta

<sup>2</sup> $D \times 100 / (D+L)$

## **IRODALOM**

- Csapó, J., Varga-Visi, É., Lóki, K., Albert, Cs. (2006): Analysis of the racemization of tryptophan. *Chromatographia*, 63. S101-S104.
- Hayashi, R., Kameda, I. (1980): Decreased proteolysis of alkali-treated protein: consequences of racemization in food processing, *J. Food Sci.*, 45. 1430-1431.
- Imai, K., Fukushima, T., Santa, T., Homma, H., Huang, Y., Shirao, M., Miura, K. (1998): Whole body autoradiographic study on the distribution of <sup>14</sup>C-D-serine administered intravenously to rats. *Amino Acids*, 15. 351-361.
- 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, M. Fujimaki. Washington, DC. Am. Chem. Soc., 268.
- Schieber, A., Brückner, H., Rupp-Classen, M., Specht, W., Novitzki-Grimm, S., Classen, H.G. (1997): Evaluation of D-amino acid levels in rat by gas chromatography-selected ion monitoring mass spectrometry: evidence for subacute toxicity of orally fed D-proline and D-aspartic acid. *J. of Chrom. B*, 691. 1-12.
- Schwass, D.E., Tovar, L.R., Finley, J.W. (1983): Absorption of altered amino acids from the intestine. Ed.: J.W. Finley, D.E. Schwass. *Xenobiotics in Foods and Feeds. ACS Symp. Ser. No. 234.* Washington, DC: Am. Chem. Soc., 187-201.

Levelezési cím:

**Lóki Katalin**

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar

7400 Kaposvár, Guba S. út 40.

Tel: 82-505-800

e-mail: loki.katalin@ke.hu