

Acta Agraria Kaposváriensis



Acta Agraria Kaposváriensis

Az Acta Agraria Kaposváriensis évente több alkalommal megjelenő tudományos folyóirat, amely eredeti tudományos közleményeket, kutatási eredményeket, kritikai összefoglalókat, konferenciákról beszámolókat, könyvismertetéseket és szerkesztőhöz küldött leveleket közöl a mezőgazdaság, elsősorban az állattenyésztés és az állati termék előállítás minden területéről.

Acta Agraria Kaposváriensis is a scientific journal published several times a year, containing original scientific reports, research results, critical résumés, conference reviews, book reviews and letters to the editor related to topics within the field of agricultural science, particularly that of animal breeding science.

Főszerkesztő
Editor in chef

Dr. Csapó János D.Sc......egyetemi tanár

Szerkesztő
Editor

Dr. Kovách Gáborné.....tudományos segédmunkatárs

Szerkesztőbizottság
Editorial board

Dr. Babinszky László Ph.D...... egyetemi tanár
Dr. Csató László C.Sc...... egyetemi docens
Dr. Kalmár Sándor C.Sc...... egyetemi tanár
Dr. Lengyel Attila C.Sc...... egyetemi tanár
Dr. Stefler József C.Sc...... egyetemi tanár
Dr. Sütő Zoltán..... egyetemi docens
Dr. Szendrő Zsolt D.Sc...... egyetemi tanár
Dr. Ureczky József..... egyetemi adjunktus
Vadászné Varnyú Anikó..... könyvtárigazgató
Dr. Kovács Melinda C.Sc...... egyetemi tanár

Volume 7 No 1 2003
ISSN 1418-1789

Acta Agraria Kaposváriensis



Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kaposvár
University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Kaposvár



Szerkesztőség
Editorial office

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar
University of Kaposvár, Faculty of Animal Science

H-7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.
H-7401 Kaposvár, P.O.Box. 16.
Tel.: 36-82-314-155, Fax: 36-82-320-175
e-mail: csapo@mail.atk.u-kaposvar.hu

Szerkesztő asszisztens
Editorial assistants
Barna Róbert
Stanics Judit

Kiadja és terjeszti a
Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar
Published and distributed by
University of Kaposvár, Faculty of Animal Science
H-7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.
Éves előfizetési díj: 2500 Ft + ÁFA *Annual subscription: Ft 2500 + VAT*
Előfizethető a kiadónál vagy átutalással
Subscriptions may be made payable to the publishers or via account no.
MNB 10039007-01474572-00000000
Készült Nagy J. nyomdájában 400 pld.-ban
Printed at the Nagy J. press, 400 copies produced

Felelős kiadó
Responsible for publication
Dr. Paál Jenő C.Sc.
egyetemi tanár
university professor
dékán
Dean of Faculty

Kaposvár, 2003



The quantification of the economical losses caused by *Staphylococcus aureus* in a large-scale Holstein-Friesian dairy cattle farm

L. ¹Ózsvári, Cs.B. ²Illés, A. ¹Fux, O. ¹Bíró

¹Szent István University, Faculty of Veterinary Science
Department of State Veterinary Medicine and Agricultural Economics, Budapest, H-1078 István u. 2.
²Szent István University, Faculty of Economics and Social Sciences
Department of Production Economics and Management, Gödöllő, H-2100 Péter K. u. 1.

ABSTRACT

According to surveys carried out in Hungary and in countries with advanced cattle-keeping, in the dairy cattle sector mastitis causes the largest economic losses on herd level. In the last decades such udder bacteria have been spreading which are resistant to a lot of antibiotics, and nowadays in most of dairy cattle farms the Staphylococcus aureus is responsible for most of mastitis cases. The direct consequence of Staphylococcus aureus infection is that both the quality and the quantity of milk produced by the infected animals considerably deteriorates and as a result it is impossible to produce quality milk in long term in dairy farms with infected cows. In the article a model calculation was shown to quantify the losses resulting from mastitis caused by Staphylococcus aureus. The surveys were performed at an average, Hungarian large-scale Holstein-Friesian dairy farm in 2001, and the production factors of Staphylococcus aureus positive cows were compared with those of healthy ones (control group). For calculations the natural and economical data of the dairy farm were used. According to the result of the calculations Staphylococcus aureus infected cows annually produce 583 kg less milk on average than the healthy cows and the average SCC of their milk is over twice as high (exceeds the 400 SCC/ml) as in the case of the healthy ones. The annual loss caused by the 53 Staphylococcus aureus-positive cows in the examined farm is more than 5 million HUF! The yearly loss per infected cow comes up to almost 100 000 HUF. For 59% of this loss the reduced milk income is responsible, in 39% premature disposal can be blamed, while the easily demonstrated cost of medical treatment amounts to only 2% of the losses.

(Keywords: *Staphylococcus aureus*, dairy cattle, mastitis, economical losses, model calculation)

ÖSSZEFOGLALÁS

A *Staphylococcus aureus* tőgygyulladás által okozott gazdasági veszteségek számszerűsítése egy nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben

¹Ózsvári L., ²Illés B.Cs., ¹Fux A., ¹Bíró O.

¹Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Állat-egészségügyi Igazgatástani
és Agrárgazdaságtani Tanszék, Budapest, 1078 István u. 2.

²Szent István Egyetem, Gazdaság- és Társadalomtudományi Kar, Termelésökönómia és Menedzsment Tanszék
Gödöllő, 2100 Péter K. u. 1.

A fejlett szarvasmarhatartással rendelkező országokban és a hazánkban elvégzett felmérések alapján a tejelő szarvasmarha ágazatban a betegségek közül állományszinten a tőgy-

gyulladások okozzák a legnagyobb gazdasági veszteséget. A tőgygyulladás kóroktanát elemezve elmondható, hogy az elmúlt évtizedekben elterjedtek a számos antibiotikumnak ellenálló baktériumfajok, és ezek közül napjainkban a *Staph. aureus* felelős a tőgygyulladások igen nagy hányadáért a tejtermelő gazdaságok többségében. A *Staph. aureus* fertőzöttség közvetlen következménye, hogy a fertőzött állatok tejtermelése csökken, és a termelt tej minősége is oly nagymértékben romlik, hogy a fertőzött teheneket fejő tehenészetben hosszabb távon lehetetlen minőségi tejet termelni. A cikk modellszámítást mutat be a *Staph. aureus* miatti tőgygyulladások által okozott éves állományszintű veszteségek számszerűsítésére. A vizsgálatokat egy átlagos hazai, nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben végeztük 2001-ben és a *Staph. aureus*-pozitív tehenek termelési mutatóinak átlagadatait hasonlítottuk össze az egészséges tehenek (kontroll csoport) átlagadataival. A számításokhoz a vizsgált telepre jellemző természetes és ökonómiai adatokat vettük figyelembe. A számításaink eredményei szerint a *Staph. aureus* fertőzött tehenek átlagosan éves szinten 583 kg-mal kevesebb tejet termelnek, és az általuk termelt tej szomatikus sejtszáma is több mint kétszerese az egészséges állatokénak, meghaladja a 400 ezer SCC/ml-t. Az 53 *Staph. aureus*-pozitív tőgygyulladásos tehen által okozott éves veszteség a vizsgált telepen több mint 5 millió Ft! Az éves veszteség fertőzött tehenenként közel 100.000 Ft! A tejárbevétel-csökkenés felelős ezen veszteségek 59%-ért, 39%-ért az idő előtti selejtezés okolható, míg a jól kimutatható gyógykezelési költség a veszteségeknek csupán 2%-át teszi ki. (Kulcsszavak: *Staphylococcus aureus*, tejelő szarvasmarha, tőgygyulladás, gazdasági veszteségek, modellszámítás)

INTRODUCTION

In the present circumstances of cattle-keeping one of the most frequent forms of mastitis accompanied by the greatest economic losses is caused by *Staphylococcus aureus*, all over the world. Since machine milking has become predominant universally 30-40% of mastitis cases accompanied by acute and subacute symptoms and 40-60% of subclinical mastitis cases are brought on by this pathogen. Its frequency and consequently the economic losses it causes may reach catastrophic dimensions in certain dairy cattle herds. The extent of the economic losses may only be compared to those caused by classic epidemics (Simon et al., 2000).

The incidence of *Staphylococcus aureus* abroad and inland

Staphylococcus aureus has always been and at present is one of the most important pathogens causing mastitis in milking cows (Assche, 2000). Results of surveys carried out in the Netherlands show that clinical mastitis occurs on average 28%, subclinical mastitis in 11% and 11% of clinical mastitis cases and 40% of subclinical mastitis cases are caused by *Staph. aureus* (Dijkhuizen & Morris, 1997). In Switzerland 54% of mastitis is caused by this pathogen (Kasche, 1995). In Germany this bacterium was detectable in 13% of the clinical mastitis cases (Kasche, 1995). In Norway it causes 27% of the clinical mastitis and 48% of the subclinical mastitis (Kasche, 1995). During surveys carried out in Australia 9% of the cattle was diagnosed to have clinical mastitis, 38.5% of which was caused by *Staph. aureus* (Kasche, 1995). According to surveys in the USA 25% of the clinical mastitis cases were caused by *Staph. aureus* (Kasche, 1995). In Argentina 54% of animals with subclinical mastitis were *Staph. aureus* positive (Kasche, 1995). Data demonstrate that abroad a significant percentage of mastitis cases – in several countries more than half of subclinical mastitis – were caused by *Staph. aureus*.

From 1988 to 1999 77 350 milk samples from udder quarters went through bacteriological tests in Hungary. On the basis of summarized bacteriological evidences the frequency of the bacterium did not change much between 1988 and 1993, the values were about 65-70%. In 1994 the frequency of *Staph. aureus* was 74.5% (that was the peak), but by 1999 this value had decreased to 43% owing to the results of the widely started elimination program (Simon *et al.*, 2000).

The Gödöllő Livestock Performance Testing Ltd. tested 1 072 milk samples from udder quarters with mastitis in 1997 and cultured some kind of bacteria from 686 samples. According to the test results 51% of the pathogens was *Staph. aureus* and 10.3% was coagulate negative Staphylococcus (Antal *et al.*, 1998).

In the 1st half of 2001 among the 10 170 milk samples tested by a Hungarian private laboratory 2 275 (22.4%) were positive bacteriologically, in 800 (35.2%) of which *Staph. aureus* was detected (Markus, 2001). In a dairy farm milking 400 cows on average 16.8% of the sterile milk samples proved to be *Staph. aureus* infected (Simon *et al.*, 2000). In the Ödön-major dairy of Bicskei Mg. Rt. keeping 800 Holstein-Friesian milking cows, according to the bacteriological tests carried out in 2001 16% of the mastitis cases were caused by *Staph. aureus* (Soltész, 2001). It is observable from the published data that *Staph. aureus* is one of the most widespread pathogens causing mastitis not only in foreign countries but also in our country!

The influence of *Staphylococcus aureus* infection on production indexes and the extent of losses

Due to mastitis (clinical and subclinical) the quantity of produced milk decreases and the quality also becomes significantly lower. If the Somatic Cell Count (hereinafter: SCC) of the bulk milk in a dairy cattle herd is 400-500 thousand/ml or more, in most of the cases there is subclinical mastitis caused by *Staph. aureus* (in minimum 6-8% of the herd) in the background (Simon *et al.*, 2000). The influence of *Staph. aureus* infection on SCC was examined in a domestic herd under *Staph. aureus* elimination, where the SCC of the bulk milk of *Staph. aureus* negative groups was 280 000, while the SCC of the bulk milk of *Staph. aureus* positive group was 480 000 (Markus, 2001).

Model calculations for the estimation of economic losses caused by *Staph. aureus* mastitis have already been made in the Netherlands and in our country. Based on a survey carried out in numerous dairy cattle farms, in 1997 the total incidence of cows with clinical mastitis in a Dutch herd was 28% and 3% of the cows were infected by *Staph. aureus* on average. This means, considering 1.4 infected udder quarters per mastitis, 4.2 (3×1.4) clinically infected quarters per 100 cows. In mastitis caused by *Staph. aureus* milk production decreased by 26% per quarter annually on average, the culling rate was 14%, and the quantity of milk fat was reduced by 4% as well. According to the surveys carried out the average incidence of subclinical mastitis in dairy herds in The Netherlands amounted to 11.1%, and 40% of this was caused by *Staph. aureus*. The losses were restricted to the decrease in milk production (4.6% per lactation) and the reduction of the quantity of fat (1.9% per lactation) (Dijkhuizen & Morris, 1997). According to Dijkhuizen & Morris the clinical mastitis of *Staph. aureus* caused a 337 US\$ average annual loss per infected cow in 1997, while its subclinical mastitis caused a 41 US\$ loss.

In Hungary calculations were made to estimate the losses caused by mastitis on the basis of the rate of change of production indexes in the abovementioned survey in The Netherlands, considering basic data typical of an average Hungarian dairy cattle farm. The model calculation was done for a Hungarian dairy cattle herd keeping 1000 milking

cows, where the average annual milk production was 8 000 kg/cow/year. In the calculation of the losses the agro-economic circumstances of the year 2000 were taken as a basis. The results of these calculations showed that the clinical mastitis caused by *Staph. aureus* resulted in an annual loss of 57 627 HUF per infected cow, while the subclinical mastitis – 5 632 HUF (Ózsvári, 2000).

Aim of the study was to quantify the economical losses caused by *Staph. aureus* mastitis in a large-scale Holstein-Friesian dairy cattle farm.

MATERIALS AND METHODS

Our surveys were carried out in an average large-scale dairy cattle farm in Central-Hungary in 2001, where at the time of finishing the surveys (December 2001) 928 Holstein-Friesian cows were kept, 735 of which were milking cows. There are 6 loose housing system stable buildings for 120 cows each, to which paddocks were connected as well. There was no hospital-barn, the diseased cows were placed at the end of the calving stable. The calving stable also had loose housing system and a layer of straw was provided as bedding. The production groups were milked separately through Boumatic parallel milking parlours with 2×20 stands. The cows with clinical and subclinical mastitis were separated into the last group during milking. The average annual milk production of the cows was 7 570 kg, with a 3.6% milk fat and a 3.3% milk protein on average. The average length of the lactation was 305 days, and of calving interval was 420 days. The dairy cattle herd was free from brucellosis, leptospirosis, tuberculosis and leucosis. Milk sampling was done during test milking by an automatic measuring device built into the milking system. SCC is determined in a laboratory with a Fossomatic device. The bacteriological testing of the milk samples was performed by the Gödöllő Livestock Performance Testing Ltd.

The purpose of our study was to quantify the economic losses due to mastitis caused by *Staphylococcus aureus* in the given large-scale dairy cattle herd which was executed with model calculation. The method of partial budgeting was used in the calculations; the basic logic of which is that changing the value of production indexes it is possible to calculate how much extra income would be derived from the absence of the disease in the herd. The results of the model calculations used to estimate and account the extent of the losses may greatly differ, depending on the used method, on the authenticity of the data and on what include in losses. Therefore the extent of the losses originating from different calculations could be different.

In this model the losses caused by mastitis can be divided into three categories: reduced milk receipts, costs of treatment and costs of premature disposal. The reduced milk receipts are caused by the decreased milk production, the discarded milk (the separation of the milk from cows under medical treatment) and the lowered milk quality. In the calculations it must be considered that each kilogram of milk not produced means 0.5 kg of milking concentrate remaining (Ózsvári, 2000). In Hungary the milk sample qualification system is based on bulk milk sampling. The economic effect of the decreased milk quality was not calculated in this study, because the decreased bulk milk quality occurring in the examined period (during 2001) is proved to have been due to residuum and not because of SCC increasing to over 400 000/ml. The costs of treatment include the veterinary fees, the drug expenses and the farmer's labour. However, the veterinary with fixed salary was employed in the examined dairy cattle herd, hence the veterinary fee did not need to be calculated in the quantification done with partial budgeting. The „farmer's labour” implied the employees' labour in this case, so the

„farmer's” labour did not need to be calculated either, as this activity is part of the jobs of the employees with fixed salaries. During the calculation of losses caused by premature disposal the slaughter value of the culled cow and the costs of the replacement were considered.

Data were collected between 1st January and 31st December 2001. The used data were from the computer log of the farm. Those cows were considered as healthy (control group) in the dairy cattle herd which never had any kind of mastitis diagnosed. The average milk quantity, milk fat%, milk protein% and SCC of lactations closed in 2001 of cows having mastitis caused by *Staph. aureus* were compared to the average parameters of the control group in lactations closed in 2001. The cows having mastitis and the healthy ones were paternal half-breds. After determining the difference between the averages of milk production of cows having *Staph. aureus* caused mastitis and healthy cows the milk loss per lactation was calculated in the knowledge of the milk price. Having known the average length of calving interval the annual losses on animal and on herd level were calculated, so data became comparable for other dairy cattle farms having similar production characteristics.

When intramammary antibiotic treatment is applied, milk has to be separated which is also a source of loss. Knowing the intramammary drugs and their methods of application the total number of days of the withdrawal period in 2001 was calculated for clinical as well as subclinical mastitis, and after the average daily milk production of cows with mastitis (clinical and subclinical) was defined the loss due to discarded milk could be quantified. The costs of drugs were evaluated by taking the total sum of prices of intramammary drugs used in 2001 for treating all the diseased quarters of *Staph. aureus* positive cows. The costs of premature disposal were calculated from the differences of replacement costs and the slaughter values of the culled cows.

In 2001 the price of 1 liter of extra quality milk was 75 HUF, and the price of 1 kg of milking concentrate was 40 HUF in the case of the given dairy cattle farm. During the survey period 17 *Staph. aureus* positive cows were culled, the slaughter price of 4 was 195 HUF/kg (II. class), the price of 6 was 180 HUF/kg (III. class) and the price of 7 was 125 HUF/kg (IV. class). The average weight of a culled cow was 500 kg and the replacement cost in the herd was 200 000 HUF/heifer with calf, which were selected from their own progeny.

RESULTS AND DISCUSSION

The number of quarter milk samples tested by Livestock Performance Testing Ltd. in 2001 was 286. Samples were taken from only one quarter of each cow. Among the tested samples 53 (18.53%) were *Staph. aureus* positive, 4 (1.4%) were CNS positive, 20 (6.99%) *Staph. sp.* positive and 1 (0.35%) was *Staph. intermedius* positive beside several other bacteria, which shows that *Staph. aureus* caused the mastitis in a high percentage of the cases. The percentage of *Staph. aureus* infected cows was 7.2% in 2001 compared to all the milking cows (735 animals). Of the 53 *Staph. aureus* positive quarters – on the basis of Mastitest examination – 16 (30.19%) had clinical mastitis and 37 (69.81%) had subclinical mastitis, that is *Staph. aureus* mainly occurred in subclinical form in the herd. 2.2% of all the milking cows had clinical and 5% had subclinical *Staph. aureus* mastitis in 2001.

Table 1 shows the average test milking values of lactations closed in 2001 of cows with *Staph. aureus* positive quarter (53 cows) and the control group (194 cows).

Table 1

Average test milking values of healthy and *Staph. aureus* positive cows

Groups (1)	Number of cows (n) (2)	Average milk production (kg/day) (3)	Average SCC (1000/ml) (4)	Average milk fat% (5)	Average milk protein% (6)
Control (7)	194	24.76	193	3.70	3.29
<i>Staph. aureus</i> positive (8)	53	22.56	435	3.78	3.29
Of which:					
Clinical mastitis (9)	16	22.42	428	3.76	3.25
Subclinical mastitis (10)	37	22.64	439	3.79	3.31

1. táblázat: Az egészséges és a *Staph. aureus* pozitív tehenek átlagos befejési értékei

Csoportok(1), Tehénlétszám (n)(2), Átlagos tejtermelés (kg/nap)(3), Átlagos SCC (ezer/ml)(4), Átlagos tejszír%(5), Átlagos tejfehérje%(6), Kontroll(7), *Staph. aureus* pozitív(8), Ebből: klinikai tőgygyulladás(9), Szubklinikai tőgygyulladás(10)

The data in Table 1 show that *Staph. aureus* infected cows produced less milk than the healthy ones. The average daily production of the diseased cows was 2.2 kg less than in the control group. This means 671 kg/cow on lactation level and annually 583.13 kg/cow decrease in milk production on average. The average daily milk production of *Staph. aureus* positive cows with clinical mastitis decreased at a greater extent (by 2.34 kg) compared to the production of the control group than the production of the cows with subclinical mastitis, where the decrease was of 2.12 kg.

Comparing the SCC of the two groups a great increase may be detected in the case of cows with mastitis. It is observable that the average SCC of cows with clinical and subclinical mastitis is approximately the same, over 400 000/ml, that is the quality deterioration of the produced milk is significant. At the same time it is interesting to see that the average daily milk fat% produced by infected cows is nearly 0.1% higher than the values measured in the control group – this is conspicuous especially in the case of the subclinical form – and the average milk protein% basically did not change.

The most considerable element of reduced milk receipts due to *Staph. aureus* is the loss generating from the decrease in milk production, which is moderated by the value of the milking concentrate remaining because of the decreased milk production (0.5 kg concentrate/1 kg not produced milk). Therefore the loss due to decreased milk production was 1 691 205 HUF in the case of *Staph. aureus* infected cows. The total number of days of the withdrawal period due to the treatment of *Staph. aureus* positive cows in the dairy herd was 814.5 in 2001. The cost of discarded milk was 1 377 453 HUF calculated with the average daily milk production of cows with clinical and subclinical mastitis.

In 2001 17 of the 53 *Staph. aureus* positive cows – 6 with clinical and 11 with subclinical mastitis – were culled, which means that 32.1% of the infected cows (37.5% of the cows with clinical and 29.7% of the cows with subclinical *Staph. aureus* mastitis) were prematurely disposed. The cost of replacement was 3 400 000 HUF, while the slaughter value amounted to 1 367 480 HUF, thus the cost of premature disposal was 2 032 520 HUF.

Table 2**Calculated annual losses on herd level caused by *Staphylococcus aureus* mastitis (HUF)**

	Clinical (1)	Subclinical (2)	Total (3)
Loss due to reduced milk receipts (4)	546 795	1 144 409	1 691 205
Loss from discarded milk (5)	550 588	826 866	1 377 453
Cost of treatment (6)	37 668	59 910	97 578
Cost of premature disposal (7)	717 290	1 315 031	2 032 320
Total (8)	1 852 340	3 346 216	5 198 556
Loss per Unit (HUF/infected cow) (9)	115 771	90 438	*98 086

* Weighted mean (*Súlyozott átlag*)2. táblázat: A *Staph. aureus* tőgygyulladás által okozott éves állományszintű veszteségek (Ft)

Klinikai(1), Szubklinikai(2), Összesen(3), Tejtermelés-kiesés miatti veszteség(4), Elkülönített tejből származó veszteség(5), Gyógyszerköltség(6), Idő előtti selejtezés költsége(7), Összesen(8), Fajlagos veszteség (Ft/fertőzött tehén)(9)

Table 2 shows that the annual losses caused by *Staph. aureus* mastitis in the examined dairy cattle herd exceeded 5 million HUF. Clinical mastitis was responsible for 36% – nearly 1.9 million HUF – and subclinical mastitis was responsible for 64% – over 3.3 million HUF. So, the subclinical mastitis resulted in much more economic losses on herd level, the cause of which was the higher rate of incidence on herd level. The annual loss per infected cow was approximately 100 000 HUF! Clinical *Staph. aureus* mastitis resulted in a 25 thousand HUF higher loss per cow than the subclinical form, exceeding 115 thousand HUF. 59% of all the losses caused by *Staph. aureus* mastitis was from the reduced milk receipts, 39% was from the premature disposal, while the well-detectable costs of treatment made up a mere 2% of the losses.

CONCLUSIONS

Decreasing production losses may be one of the key factors of increasing profitability in stock-keeping farms. Since certain production losses are of small volume in themselves and thus avoid our attention, if they prevail for a longer time (e.g.: lower milk production), their significance becomes higher. Often, only a part of losses is directly visible – e.g.: deaths – another part is present in a hidden manner (e.g.: the reduced income due to decreased yields). The competent milk production requires the minimum losses owing to diseases on herd level. Our calculations modeling economic effect of mastitis caused by *Staph. aureus* also attract attention to the importance of handling the problem.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge for the technical assistances of Dr. Sándor Galambos and Mr. Lajos Dobra.

REFERENCES

- Antal L., Kerényi J., Katona F., Lejtényi Gy. (1998). Telepspecifikus tőgyegészségügyi és tejhigiéniai komplex program az ellenőrzött tehenészetekben, módszerek és eredmények. Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft., Gödöllő, 5-6.
- Assche, J. (2000). A tej mennyiségi növelése és minőségi javítása. (Increasing the quantity of milk and improving its quality) Holstein Magazin, 8. 22-23.
- Dijkhuizen, A.A., Morris, R.S. (1997). Animal Health Economics. University of Sydney, Sydney, 35-39.
- Kasche, S. (1995). Pathogenese und Therapie der Staphylokokkenmastitis des Rindes. Eine Literaturstudie Inagural Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doctor Mediciniae Veterinariae durch die Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, 40-48.
- Markus G. (2001). Tőgyegészségügyi állományprogramok tervezése és kivitelezése tejelő tehenészetekben. Magyar Buiatrikus Kongresszus, Balatonfüred, 7-13.
- Ózsvári L. (2000). Modellszámítás a tőgygyulladás által okozott veszteségek nagyságának számszerűsítésére. Vision-2000 III. Kongresszus, Gödöllő, 334-337.
- Simon F., Szita G., Merényi I. (2000). Tőgyegészség és tehéntejminőség. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Soltész A. (2001). Tőgygyulladások az ellés utáni időszakban és ennek hatása az állomány tőgyegészségügyi helyzetére. Magyar Buiatrikus Kongresszus, Balatonfüred, 24-27.

Corresponding author (*levelezési cím*):

Csaba B. Illés

Szent István University, Faculty of Economics and Social Sciences
Department of Production Economics and Management
H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.
Szent István Egyetem, Gazdaság- és Társadalomtudományi Kar
Termelésökonómia és Menedzsment Tanszék
2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.
Tel.: 36-28-522-090, Fax: 36-28-522-089
e-mail: illes@gtk-fl.gau.hu



A fumonizin B₁ magzatkárosító hatásának vizsgálata sertésben és házinyúlban

Kovács M., Romvári R., Orova Z., Kovács F., Horn P.

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, MTA-KE Állattenyésztési és Állathigiéniai Kutatócsoport
Kaposvár, 7400 Guba Sándor u. 40.

ÖSSZEFOGLALÁS

A vizsgálatok célja a fumonizin B₁ (FB₁) magzatkárosító hatásának sertésben és házinyúlban való kimutatása volt. A vemhes kocákkal végzett kísérletet az indokolta, hogy a toxinnak a sertéstartásban mutatható ki a legnagyobb kártétele. A házinyulakban végzett kísérletben a házinyulat placenta szerkezete miatt, mint modellállatot vizsgálták, a humán kockázat becslésére. Az első kísérletben két koca takarmányába a vemhesség 107. napjától az ellés után még 7 napig, egy harmadiknak pedig csak az ellésig, kukoricán elszaporított Fusarium moniliforme gombatenyészetet kevertek, úgy, hogy a napi FB₁ bevitel 300 mg/állat legyen. Mindhárom kocától almonként 2 malacot vizsgáltak, először az első szopás előtt, majd 24 óra elteltével, végül a 7. napon. A malacokban a toxinra jellemző tipikus elváltozás, a tüdő-ödéma, már a megszületés pillanatában kimutatható volt. Az ellést követően a toxinmentes tápot fogyasztó kocák malacai a 7. napon elváltozástól mentesek voltak, míg a továbbra is toxint fogyasztó kocák malacaiban a kóros elváltozásokat a megszületés utáni 7. napon is ki lehetett mutatni. A vizsgált vérparaméterek közül szinte minden esetben a fiziológiás határértéknél magasabb AST és ALKP aktivitásokat mértek. A szérum SA/SO értéke az elváltozások súlyosságával összhangban változott. A második kísérletben 16 (10 FB₁-el kezelt és 6 kontroll), a vemhességük 25.-30. napjában lévő Pannon Fehér anyanyúl vett részt. A kezelt állatok naponta egyszer gombatenyészetből kivont FB₁ oldatot kaptak nyelőcsőszondán keresztül, 5 mg/nap/állat mennyiségben. A 28. és a 30. napon került sor az anyák és a magzatok vizsgálatára. A kórboncolás során az anyanyulakban a máj és a vese, egyes állatokban a szív és a gyomor kóros elváltozását találták. A magzatokban többnyire a máj és a vese mutatott kóros elváltozást. A kontrollhoz képest a toxinnal kezelt anyákban és magzatokban szignifikánsan magasabb ALKP, ALT és AST aktivitást, kreatinin és karbamid koncentrációt mértek. Megállapították, hogy a FB₁ átjut a sertés és a nyúl placentáján és károsítja a méhen belül fejlődő magzatokat. Sertésben a jellemző kórkép, a tüdőödéma, míg nyúlban máj- és veseelfajulás volt megfigyelhető.

(Kulcsszavak: fumonizin B₁, magzatkárosító hatás, sertés, házinyúl)

ASBTRACT

Investigations on the foetotoxic effect of fumonisin B₁ in pig and rabbit

M. Kovács, R. Romvári, Z. Orova, F. Kovács, P. Horn

University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Research Group of Animal Science and Hygiene
Kaposvár, H-7400 Guba Sándor u. 40.

The aim of the study was to examine the foetotoxic effect of fumonisin B₁ (FB₁), the main mycotoxin of Fusarium moniliforme, in pig and rabbits. Pig was examined because the harmful effects of fumonisin toxicosis manifests in sever animal health problems and

economic losses mainly in pig production. Rabbit was used as human model. In the first experiment three sows were fed a diet mixed with Fusarium moniliforme fungal culture from the 107th day of the pregnancy in a daily dose of 300 mg. The toxin containing diet was administered to two sows for an additional 7 days subsequent to parturition (i.e., for a total 14-16 days). The third sow was fed toxin free diet after parturition. Two piglets were examined from each of the three sows immediately after parturition (i.e., prior the first suckling), after 24 h and finally, on the 7th day postparturition. It was established that the typical pathological changes indicating fumonisin toxicosis (i.e., pulmonary oedema) was developed in all of the piglets already at birth. On the 7th day in the piglet of the third sow, the diet of which contained no toxin after parturition, no changes were observed. AST and ALKP activities were higher than the physiological limits. The SA/SO values of the serum were in correspondence with the severity of the pathological changes. In the second experiment 16 (10 treated with FB₁ and 6 controls) Pannon White rabbits, being in the 25th - 30th days of pregnancy, were given 5 mg/animal/day FB₁ solution, extracted from the fungal culture of Fusarium moniliforme. Foetuses were examined on the 28th and 30th day of pregnancy. Dissection of the does revealed pathological changes in the liver and kidney, in some cases the heart and the stomach showed alterations. In the foetuses liver and kidney were the target organs. When compared to controls, in treated animals significantly elevated ALKP, ALT and AST activities, creatinine and urea concentrations were measured both in does and foetuses. It was established, that FB₁ crosses the placental barrier in pregnant sows and rabbits and is harmful for the foetuses. In pig the typical disease, pulmonary oedema was developed, while in rabbit it manifested in hepatic and renal injury.

(Keywords: fumonisin B₁, foetotoxic effect, pig, rabbit)

BEVEZETÉS

Állat- és humán-egészségügyi szempontból is kockázati tényezőt jelentenek a penészgombák által termelt mikotoxinok, mivel a gabonamagvak fogyasztásával közvetlenül, állati eredetű termékekkel pedig közvetetten az ember szervezetébe is bekerülhetnek. A táplálékkal kis mennyiségben, de hosszabb időn keresztül az emberi és állati szervezetbe jutó és ott felhalmozódó mikotoxinok egészségkárosító hatása még ma sem teljesen ismert, és a népegészségügyi kockázatok sincsenek felmérve.

A mikotoxinok egy része (ochratoxinok, patulin, zearalenon) köztudottan magzatkárosító hatású. A toxikus hatás eredményeként a magzat elhal és felszívódik, esetleg mumifikálódik, torz állapotban születik, alacsony születési súllyal, csökkent ellenállóképességgel vagy az egyes toxinokra jellemző specifikus tünetekkel jön a világra. Az ochratoxin A teratogén hatását egérben, patkányban, csirkeembrióban vizsgálták. Megnőtt a prenatalis mortalitás, a teratogén hatás vízfejűségben, nyitott gerinccsatornában, csigolya deformitásokban stb. manifestálódott. A zearalenon (F-2) szintén átjut a placentán és degeneratív elváltozásokat okoz az embrió szaporodási szerveiben. A vemhesség alatt kumulálódik az anya szervezetében és a tejtermelés megindulásával nagy mennyiségű toxin kiválasztása indul meg a tejjel. A zearalenont feltételezik a lányokban 6 hónapos–8 éves kor között, endemiásan előforduló ivari koraérés okaként Puerto Rico-ban 1978-81 között leírt esetek alapján is (JECFA, 2001). A Kaposi Mór Megyei Kórház (Kaposvár) Szülészeti Osztályán vett humán vér- és kolosztrumminták 28%-ából lehetett F-2-t kimutatni (Kovács és mtsai., 2001).

Magyarországon viszonylag magas a koraszülések száma, továbbá az egészséges csecsemőknek is igen magas hányada születik kis testsúllyal. Mindez indokolja, hogy nagyobb erőfeszítéseket tegyünk a mikotoxinok magzatkárosító hatásának vizsgálata és a káros hatások megelőzése terén.

A *Fusarium moniliforme* és a vele rokon gombafajok által termelt fumonizineket 1988-ban fedezték fel. Kimutatásukkal több állat- és humán betegség kóroktana vált ismertté. A fumonizin B₁ lóban agylágyulást (Marasas és mtsai., 1988a), sertésben tüdővízenyőt (Harrison és mtsai., 1990), nyúlban vese- és májkárosodást (Gumprecht és mtsai., 1995) okoz, embernél rákkeltő hatása, a nyelőcsőrák kialakulásával hozzák összefüggésbe (Marasas és mtsai., 1988b, 1993). A fumonizinek a kukoricát világszerte szennyezik. Magyarországon az ezzel kapcsolatos kutatásokat Fazekas és munkatársai kezdték el, akik megállapítása szerint, hazánk is az érintettebb területek közé tartozik (Fazekas és mtsai., 1995, 1996).

A fumonizin B₁ magzatkárosító hatására vonatkozóan nagyon kevés irodalmi adat áll rendelkezésünkre, azok is elsősorban laboratóriumi állatokban végzett kísérletekről számolnak be. LaBorde és mtsai (1997) a tisztított FB₁-et kis dózisban (0,1-1,0 mg/kg) nem találták magzatkárosító hatásának a vemhesség korai stádiumában lévő házinyúlban. Szíriai hörcsögben mind a gombatenyésztéssel bevitt, mind pedig a tisztított FB₁ növelte a magzati elhalást (Floss és mtsai, 1994). Bucci és mtsai (1996) nyelőcsőszondán keresztül juttattak be tisztított FB₁-et vemhes anyanyulak szervezetébe, 1,75 mg/kg dózisban. Máj és vesekárosodást, valamint az agyvelőben vérzéseket és malatiát tapasztaltak. Sertésben a magzatkárosító hatásra vonatkozóan nincsenek irodalmi adataink.

Vizsgálataink célja a fumonizin B₁ (FB₁) magzatkárosító hatásának sertésben és házinyúlban való kimutatása volt. A vemhes kocákkal végzett kísérletünket az indokolta, hogy a toxinnak a sertéstartásban mutatható ki legnagyobb kártétele. A házinyulak placenta szerkezete miatt, mint modellállatot vizsgáltuk, a humán kockázat becslésére.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Magzatkárosító hatás vizsgálata sertésben

Kísérleti állatok, kísérleti elrendezés

A vemhes kocák a Kaposvári Egyetem Állattudományi Kar Kísérleti Telepén, egyedileg kerültek elhelyezésre. Az 1-es és 2-es számmal jelölt koca takarmányába a vemhesség 107. napjától az ellés után még 7 napig, összesen tehát 14-16 napig, a 3-as számúnak az ellésig, azaz 7 napon át kukoricán elszaporított *Fusarium moniliforme* gombatenyésztetet kevertünk, úgy, hogy a napi FB₁ bevitel 300 mg/állat (0,93-1,0 mg/kg) legyen. A toxin termelése Fazekas és mtsai. (1998) módszere szerint a Debreceni Állategészségügyi Intézetben történt.

Ivóvíz *ad libitum* állt az állatok rendelkezésére. Naponta kétszer ellenőriztük az állatok klinikai állapotát.

A kísérlet menete

Mindhárom kocától almonként 2 malacot vizsgáltunk, először az első szopás előtt, majd 24 óra elteltével, végül a 7. napon. A malacokat bódítást követően elvégeztettük.

Kórbonctan, kórszövettan

A kórbonctani vizsgálat után elvégeztük a tüdő, a máj, a vese, a lép és az agyvelő kórszövettani vizsgálatát. A 8%-os puffertolt (a tüdő esetében 42°C-os) formaldehidoldatban rögzített, paraffinba ágyazott metszeteket hematoxilin-eozin- és Giemsa-festés után vizsgáltuk.

Klinikai kémiai paraméterek

Vettest 8008 biokémiai analizátorral (IDEXX Cergy Pantoise Cedex, Libourne, Franciaország), Eastman Kodak tesztlemezek (Eastman Kodak Company for IDEXX Laboratories, Inc., Maine, USA) felhasználásával vizsgáltuk a vérplazma összfehérje (TP), albumin (ALB) és globulin (GLOB) koncentrációját, valamint az aszparaginsav-

transzamináz (AST) és a gamma-glutamil-transzferáz (GGT) aktivitását. A szérumban szabad szfingarin (SA) és szfingozin (SO) koncentrációjának mérése az Állatorvostudományi Kar Állathigiéniai Tanszékén HPLC, fluorimetriás detektorral történt, majd kiszámoltuk a mért metabolitok arányszámát (SA/SO).

Magzatkárosító hatás vizsgálata házinyúlban

Kísérleti állatok, kísérleti elrendezés

A kísérletben 16 (10 FB₁-el kezelt és 6 kontroll), a vemhességük 25.-30. napjában lévő Pannon Fehér anyanyúl vett részt. Az állatokat egyedileg helyeztük el. Az életkoruknak és vemhességi stádiumuknak megfelelő alaptakarmányt *ad libitum* kapták. A kezelt állatoknak naponta egyszer nyelőcsőszondán keresztül gombatenyészetből kivont FB₁ oldatot adtunk be, a napi toxinfelvétel 5 mg/állat (1,2-1,3 mg/kg) volt. A kontroll állatok ugyancsak naponta egyszer nyelőcsőszondán keresztül fiziológias sóoldatot kaptak. Ivóvíz korlátozás nélkül állt az állatok rendelkezésére. Az állatok klinikai állapotát naponta kétszer ellenőriztük.

A FB₁ toxin kivonatának előállítás

A FB₁ vizes oldatának előállításához kukoricán elszaporított *Fusarium moniliforme* gombatenyészetet használtunk fel, melynek FB₁ koncentrációja ismert volt. A gombatenyészetből a FB₁ kivonatot az alábbiak szerint állítottuk elő: a finomra darált gombatenyészetet háromszoros térfogat mennyiségű desztillált vízzel felöntöttük, majd tizenkét órán keresztül, többször megkeverve állni hagytuk, ezután 2-3 órán keresztül rázógépen ráztuk. A felülúszót vákuum alatt, gézen átszűrtük, majd az oldatot 60°C-on bepároltuk. Az így kapott oldat FB₁ tartalma, HPLC-vel meghatározva (Fazekas és mtsai., 1998) 0,10-0,14 mg/ml volt.

Kórbonctan

A 28. és a 30. napon került sor az anyák és a magzatok vizsgálatára. A vemhes anyanyulakat elaltattuk, a hasüreget megnyitottuk s a magzatokat egyesével kiemelve, súlyukat lemértük.

Klinikai kémiai vizsgálatok

A klinikai kémiai vizsgálatokra a fentiekben leírtak szerint került sor.

Statisztikai analízis

A statisztikai analízishez az SPSS (1996) programcsomagot használtuk, a kezelések közötti eltérést páros t-tesztel igazoltuk.

Állatkísérleti engedélyek

A kísérletek elvégzéséhez rendelkezünk a megfelelő állatkísérleti engedélyekkel (KÁ-16/2001 és MÁB-11/2002).

EREDMÉNY ÉS ÉRTÉKELÉS

Magzatkárosító hatás sertésben

Klinikai tünetek

A kocák nem mutattak toxinhásra utaló klinikai tüneteket, a toxintartalmú takarmányt elfogyasztották.

Kórbonctan kórszövetten

A boncoláskor a malacokban talált elváltozásokat az 1. táblázat tartalmazza. A tipikus elváltozás a tüdőödéma kialakulása volt. A tüdő megnagyobbodott, tapintata tömötté vált, a mellkas megnyitásakor nem esett össze. A lebenyekék közötti kötőszövetes

sővények szélesebbé váltak. Az 1. táblázatban összefoglalt elváltozásokat a kórszövettani eredmények megerősítették. A tüdővizenyő elsősorban a subpleuralis, interlobuláris területekre terjedt ki, az alveolusok többsége ép volt.

1. táblázat

A malacok tüdejében talált elváltozások

	A vizsgálat időpontja		
	Ellés után azonnal(4)	24 óra múlva(5)	7. napon(6)
1. koca malacai(1)	2 kifejezett tüdőödéma vérzés a tüdő szövetében, hörgők körüli nyirokcsomók véres beszűrődése (7)	2 enyhe tüdőödéma, a rekeszi felületre kiterjedően, kifejezettebb ödéma a szív és a csücslebenyekben (10)	2 enyhe fokú tüdőödéma (8)
2. koca malacai(2)	2 enyhe tüdőödéma (8)	2 enyhe tüdőödéma (8)	2 enyhe tüdőödéma (8)
3. koca malacai(3)	1 kifejezett tüdőödéma 1 jobb tüdőfél csücs- és szívelebenyére kiterjedően, közepes fokú tüdőödéma (9)	2 enyhe fokú tüdőödéma a csücs- és a szívelebenyekre kiterjedően (11)	Nem volt látható elváltozás (12)

Table 1: Pathological changes in lungs of newborn piglets

Piglets of the 1st, 2nd and 3rd sow(1)-(3), Examined immediately(4), 24 h(5), 7 days following parturition(6), 2 sever pulmonary edemas, hemorrhages in the lung, hemorrhagic infiltration of the peribronchial lymph nodes(7), mild pulmonary edema(8), 1 severe pulmonary edema, 1 pulmonary edema located in the cranial and middle lobes(9), 2 mild pulmonary edemas in the caudal lobes, and severe pulmonary edema in the cranial and middle lobes(10), 2 mild pulmonary edemas located in the cranial and middle lobes(11), No alterations(12)

Klinikai kémiai vizsgálatok

A vérplazma egyes biokémiai paramétereinek alakulása - az irodalmi adatok szerint – nem specifikus, és általában később, a toxinhatás 2. hetétől jelentkezik. Motelin és mtsai. (1994) vizsgálatukban, a 175 és a 101 ppm FB₁-et tartalmazó tápot fogyasztó választott malacok esetében, a vizsgálat 14. napján megemelkedett bilirubin és koleszterin koncentrációt, magas enzimaktivitásokat (GGT, ALT és AST) mértek. Rotter és mtsai. (1996) választott malacokban a 10 ppm, takarmánnyal bevitt FB₁-et fogyasztó állatok mindegyikében az AST aktivitásának megemelkedését tapasztalták a kísérlet 2. hetében. Az ellés után azonnal exterminált malacokban alacsony volt a plazma TP (16-20 g/L), ALB (2-6 g/L) és GLOB (13-14 g/L) koncentrációja. A kolosztrum kiszopása után emelkedett (TP:39-50 g/L, ALB: 12-18 g/L, GLOB: 27-33 g/L), majd a tejtáplálás alatt, a 7. napra ismét csökkent (TP: 28-48 g/L, ALB: 16-31 g/L, GLOB: 12-19 g/L). A kapott értékek és azok változása a kor és a táplálkozás változásával összhangban fiziológiásnak tekinthetők. A vizsgált vérparaméterek közül szinte minden esetben a fiziológiás határértéknél magasabb AST (14-125 U/L, átlagosan: 70 U/L), az ALKP (1006-2933 U/L, átlagosan: 1899 U/L) aktivitásokat mértünk. Mindhárom koca megszületéskor és a 24. órában vizsgált malacaiban a GGT (31-47 U/L, átlagosan: 36 U/L) aktivitása is megemelkedett. A megemelkedett enzimaktivitások májkárosodásra utaltak.

Riley és mtsai. (1996) vizsgálatai alapján sertésben a szérumban szabad szfinganin és szfingozin arányának (SA/SO) megemelkedése már jóval a szérumban biokémiai paramétereinek, vagy a parenchymás szervek mikroszkopikus elváltozásának megjelenése előtt megfigyelhető, még igen alacsony, 5 ppm toxinhatás esetén is. Kísérletünkben a szabad szfingozin mennyiségének (ennek következtében a SA/SO érték) emelkedését már a kezelés 3. napjától tapasztaltuk, az értékek az elváltozások súlyosságával összhangban változtak.

A szérumban SA/SO értéke a megszületés után azonnal súlyos tüdőödémát mutató malacokban 0,29-0,36 között volt. A 24 óra múlva és a 7. napon vizsgált malacok vérének SA/SO értékei csökkentek (0,26-0,33). Az ellés után toxint nem fogyasztó 3. koca két malacában mértük a legalacsonyabb (0,19-0,20) értékeket.

2. táblázat

A FB₁ hatása az anyanyulakban és magzataikban

Anyaszám (1)	Klinikai tünetek (2)	Kórbonctani elváltozások (3)	Magzatok száma (4)	Kóros elváltozások a magzatban (5)
FB ₁ -el kezelt csoport (6)				
T1	-	Máj (8), vese (9)	2	Máj, vese
T2	4. napon elhullott (13)	Máj, vese, szív (10), gyomor (11)	3	Máj, vese, vérő agyburkok (12)
T3	-	Máj, vese	5	Máj, vese
T4	2. napon elhullott (14)	Máj, vese	6	Máj, vese
T5	-	Máj, vese	6	Máj
T6	-	Máj, vese	9	Máj, vese
T7	4. napon elhullott	Máj, gyomor	11	Máj
T8	-	Gyomor	11	Máj, vese
T9	-	Máj, gyomor	11	Máj
T10	-	Máj	14	Máj
Kontroll (7)				
K1	-	-	6	-
K2	-	-	8	-
K3	-	-	4	-
K4	-	-	3	-
K5	-	-	10 élő, 3 holt (15)	-
K6	-	-	5	-

Table 2: Effect of fumonisin B₁ in does and pups

No. of the does(1), Clinical signs(2), Pathological changes(3), Number of fetuses(4), Pathological changes in the fetuses(5), Treated with fumonisin B₁(6), Controls(7), Liver(8), Kidney(9), Heart(10), Stomach(11), Liver, kidney, vasodilatation in the meninges(12), Died on the 4th and 2nd day(13-14), 10 living and 3 dead fetuses(15)

Magzatkárosító hatás házinyúlban

Klinikai tünetek

A toxin hatását az anyanyulakban és magzataikban a 2. táblázatban foglaltuk össze. A toxinnal kezelt anyanyulak közül egy a 2., kettő pedig a 4. napon elhullott. A többi anya

nem mutatott klinikai tüneteket, takarmányfogyasztásuk sem csökkent szignifikánsan. A kontroll állatok mindegyike tünetmentes volt a kísérlet egész időtartama alatt.

Kórbonctan

A kórboncolás során tapasztalt makroszkópos elváltozások (2. táblázat) alátámasztották azon irodalmi közléseket, amelyek szerint nyúlban a FB₁ célszerve a máj és a vese, a vese érzékenysége valamivel nagyobb a toxinnal szemben (*Gumprecht és mtsai.*, 1995). Májelváltozás esetén az anyanyulakban a máj centrolobuláris zsíros infiltrációját tapasztaltuk, a vese fakó, egy állatban pedig a szív fakó és petyhüdt volt. Négy állatban a gyomor nyálkahártyája erőteljesen megduzzadt, helyenként vérzéseket, erosiokat tartalmazott. Két állatban nagymennyiségű, tiszta, szalmasárga folyadékot találtunk a hasüregben. A magzatokban többnyire a máj és a vese mutatott kóros elváltozást. A máj fakó színű és szakadékos, a vese ugyancsak fakó színű volt. A kontroll anyákban és magzataikban nem találtunk kóros elváltozást.

Klinikai kémiai vizsgálatok

A kontrollhoz képest a toxinnal kezelt anyákban és magzatokban a máj és a vesekárosodást jelezve szignifikánsan magasabb ALKP, ALT és AST aktivitást, kreatinin és karbamid koncentrációt találtunk (3. táblázat).

3. táblázat

Az anyanyulak és a magzatok vizsgált klinikai kémiai paramétereinek alakulása (x±S.D.)

	ALKP U/L	ALT U/L	AST U/L	CREA μmol/L	GGT U/L	TP g/L	TRG mmol/L	Karbamid mmol/L
K-anya (1)	19,5±4 ^a	13±3 ^a	56±5 ^a	96±4 ^a	5±1 ^a	42±2	1,49±0,67	7,4±2,1 ^a
T-anya (2)	66±6 ^b	31±5 ^b	113±15 ^b	485±34 ^b	12±3 ^b	52±3	2,06±0,56	28,8±4,8 ^b
K-magzat (3)	145±14 ^a	4±1 ^a	39±8 ^a	61±13 ^a	14±2	42±2	1,48±0,23	6,9±2,2 ^a
T-magzat (4)	221±23 ^b	13±4 ^b	75±12 ^b	501±45 ^b	16±4	48±3	4,01±0,98	27,8±7,8 ^b

K=kontroll (*control*), T=toxinnal kezelt (*treated*); a,b=kontroll és toxinnal kezelt állatok közötti szignifikáns eltérés (*significant difference between control and treated does and foetuses, respectively*) (P<0,05)

Table 3: Clinical chemical parameters of does and pups

Control does(1), Treated does(2), Control foetuses(3), Treated foetuses(4)

KÖVETKEZTETÉSEK

Kísérleteinkkel új eredményeket szolgáltatunk a fumonizin B₁ magzatkárosító hatására vonatkozóan. Megállapítható, hogy a toxin nagy dózisban adagolva átjut a placentán - még a sertés epitheliochorialis placentáján is - és károsítja a méhen belül fejlődő magzatokat.

A magzatokban kialakuló kórkép a malacokban a sertésekre jellemző tüdőödéma, míg nyulakban nem tipikus kórkép, máj- és vesekárosodás mutatható ki.

További kísérleteket igényel annak megállapítása, hogy melyik az a legkisebb toxinkoncentráció, amelyet a vemhes anya szervezete még tolerálni tud, azaz nem jelent kockázatot a fejlődő magzat számára.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatást az MTA Támogatott Kutatóhelyek Irodája (B04074), a Környezetvédelmi Minisztérium (KÖM KAC 027715) és az Oktatási Minisztérium (NKFP 4/034) támogatta.

IRODALOM

- Bucci, T.J., Hansen, D.K., LaBorde, J.B. (1996). Leukoencephalomalacia and hemorrhage in the brain of rabbits gavaged with mycotoxin fumonisin B₁. *Nat. Toxins*, 1. 51-52.
- Fazekas B., T-né Hajdú E. (1995). A fumonizin-B₁ mikotoxin előfordulása hazai termesztésű kukoricában. *Magy. Áo. Lapja*, 50. 515-518.
- Fazekas B., Bajmócy E. (1996). A lovak fumonizin B₁ okozta agylágyulásának előfordulása Magyarországon. *Magy. Áo. Lapja*, 51. 484-487.
- Fazekas B. (1998). A kukorica FB₁ és fuzariotoxin szennyezettsége, fumonizin mikotoxikózisok. Ph.D értekezés, Keszthely.
- Floss, J.L., Casteel, S.W., Johnson, G.C., Rottinghaus, G.E., Krause, G.F. (1994). Developmental toxicity of fumonisin in Syrian hamsters. *Mycopathologia*, 128. 33-38.
- Gumprecht, L.A., Marcucci, A., Weigel, R.M., Vesonder, R.F., Riley, R.T., Showker, J.L., Beasley, V.R., Haschek, W.M. (1995). Effects of intravenous fumonisin B₁ in rabbits: nephrotoxicity and sphingolipid alteration. *Nat. Toxins*, 5. 395-403.
- Harrison, L.R., Colvin, B.M., Greene, J.T., Newman, L.E., Cole, J.R. (1990). Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin-B₁, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2. 217-221.
- JECFA (2001). Safety evaluation of certain additives and contaminants. www.who.int/pcs/jecfa/JECFA_publications.htm
- Kovács F. (2001). Penészgombák-mikotoxinok. In: *Penészgombák-mikotoxinok a táplálékláncban* (szerk.: Kovács F.), MTA Agrártudományok Osztálya, Budapest, 9-20.
- LaBorde, J.B., Terry, K.K., Howard, P.C., Chen, J.J., Collins, T.F.X., Shackelford, M.E., Hansen, D.K. (1997). Lack of embryotoxicity of fumonisin B₁ in New Zealand white rabbits. *Fund. Appl. Toxicol.*, 40. 120-128.
- Marasas, W.F.O., Kellerman, T.S., Gelderblom, W.C.A., Coetzer, J.A.W., Thiel, P.G., van der Lugt, J.J. (1988a). Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 55. 197-203.
- Marasas, W.F.O., Jaskiewicz, K., Venter, F.S., van Schalkwyk, D.J. (1988b). *Fusarium moniliforme* contamination of maize in oesophageal cancer areas in Transkei. *S. Afr. Med. J.*, 74. 110-114.
- Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Gelderblom, W.C.A., Shephard, G.S., Sydenham, G.S., Rheeder, J.P. (1993). Fumonisins produced by *Fusarium moniliforme* in maize: foodborne carcinogens of pan African importance. *Afr. Newslett. Occup. Health Saf. Suppl.*, 2. 11-18.
- Motelin, K., Haschek, W.M., Ness, D.K., Hall, W.F., Harlin, K.S., Schaeffer, D.J., Beasley, V.R. (1994). Temporal and dose response features in swine fed corn screenings contaminated with fumonisin mycotoxins. *Mycopathologia*, 126. 27-40.
- Riley, R.T., Wang, E., Schroeder, J.J., Smith, E.R., Plattner, R.D., Abbas, H., Yoo, H.S., Merrill, A.H. (1996). Evidence for disruption of sphingolipid metabolism as a contributing factor in the toxicity and carcinogenicity of fumonisins. *Nat. Toxins*, 4. 3-15.

Rotter, B.A., Thomson, B.K., Prelusky, D.B., Trenholm, H.L., Stewart, B., Miller, J.D., Savard, M.E. (1996). Response of growing swine to dietary exposure to pure fumonisin-B₁ during an eight-week period: growth and clinical parameters. *Natural Toxins*, 4. 42-50.

SPSS Inc 1996: SPSS for Windows, Version 7.5, Chicago, IL.

Levelezési cím (*corresponding author*):

Kovács Melinda

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar

7401 Kaposvár, Pf. 16.

University of Kaposvár, Faculty of Animal Sciences

H-7401 Kaposvár, P.O.Box 16.

Tel.: 36-82-314-155, Fax: 36-82-320-175

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



The study of the broiler chickens' growth by X-ray computerized tomography

**G. Andrásy-Baka, R. Romvári, Z. Sütő, J. Csapó,
A. Szabó, L. Locsmándi**

University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Kaposvár, H-7400 Guba Sándor u. 40.

ABSTRACT

Non-invasive computerized tomography was performed on commercial broiler chickens, in both sexes, between 4 to 18 weeks of age, to determine the growth rate of tissues. On the basis of 16-32 scans gathered from each bird during the scanning procedure the volumetric measurement of the breast muscle was performed. These values were the 259, 493, 786 cm³ and 195, 460, 668 cm³ in male and female birds at the age of 6, 12 and 18 weeks, respectively. The total body fat content was characterized by the so called „fat index”, a value independent of the live weight. This indices were 7.3, 7.14, 9.48 and 8.8, 13.3, 21.6 following the above order. Total body fat content was determined both by CT and chemical analysis. The investigation of the tissue development in the body was carried out by means of 3D histograms, which shows the tissue composition of chicken bodies, with different peaks corresponding to the breast, drumstick and thighs muscles. Fat depots were also definitely showed, with different peaks in the neck- and abdominal regions. The volume and the anatomical location of both fat and muscle tissue were determined.

(Keywords: broiler chickens, growth, computerized tomography)

ÖSSZEFOGLALÁS

Brojlerek növekedésének vizsgálata computer tomográffal

Andrásy-Baka G., Romvári R., Sütő Z., Csapó J.,

Szabó A., Locsmándi L.

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

Kereskedelmi forgalmazású brojler állomány nem invazív CT felvételezésére került sor 4-18 hetes kor között, mindkét ivarban, az izom és zsírszövet növekedési jellemzőinek vizsgálata céljából. A mellizomzat térfogatát egyedenként 16-32 CT felvétel alapján becsülve a következő értékeket kaptuk: 259, 493, 786 cm³, 195, 460, 668 cm³ hím és nőivarban 6, 12 valamint 18 hetes korban. A teljes test zsírtartalmát a testsúlytól független ún. „zsír index”-el jellemeztük. Az index értékek 7.3, 7.14, 9.48 valamint 8.8, 13.3, 21.6; voltak a két ivarban és a három életkorban. A CT-vel becsült test zsírtartalom és a kémiai analízis során nyert adatok között $R^2=0.895$ összefüggést találtunk. Az egyes szövetek térfogat változását, valamint anatómiai lokalizációját 3D hisztogramokkal követtük nyomon, különös tekintettel az izomszövetre a mell- és a comb régióban, valamint a zsírszövetre az abdominális és a nyaki tájékon az életkor és az ivar összefüggésében.

(Kulcsszavak: brojler, növekedés, computer tomográf)

INTRODUCTION

Remarkable changes have taken place in body conformation and composition of meat-type chickens in the past 50 years. While in 1950 a 12 weeks period was required to reach the slaughter weight of 1.8–2.0 kg, nowadays it takes less than the half of it. According to *Havenstein et al.* (2002), the effects of both genetics and nutrition resulted in a body weight increase of approximately 31 to 99 g/yr at 42 and 84 days, respectively, during the last decade. However, the performance limitations are unknown, though prognosis is available (*Savory*, 2002). On the other hand, parallel with the well known reduction of market age, only a few data is available for broilers raised far over normal broiler or roaster age. The *Ross 1* broiler strain was examined until 364 days of age by *Grey et al.* (1982). The growth and chemical composition of experimental lines was studied by *Sørensen and Ducro* (1995). *Hancock et al.* (1995) characterized the growth rate of commercial genotypes until 26 weeks of age by Gompertz growth equations.

When studying the composition of growing chickens, it is often necessary to measure whole body composition. However, there is a lack of information in the literature, possibly due to the difficulties of adequate body homogenization. In reports on the a long term (20 week) fattening trial of broiler chickens (*Horn et al.*, and *Sütő et al.*, 1998), the carcass traits, abdominal fat deposition and chemical composition were studied.

In the current study parallel with the above-mentioned examinations *in vivo* CT imaging procedure was applied. Similar methods were used by *Bentse and Sehested* (1989) and *Svihus and Katle* (1993) and *Romvári et al.* (1994) for the determination of the abdominal fat amount and the breast muscle weight of broiler chickens. In regard of breast muscles comparative HRCT investigation of different broiler genotypes was performed and also complemented with 3D reconstruction by *Romvári et al.* (2000). Dual X-ray absorptiometry was applied by *Mitchell et al.* (1998) for the body composition analysis of growing broiler chickens.

MATERIALS AND METHODS

Animals

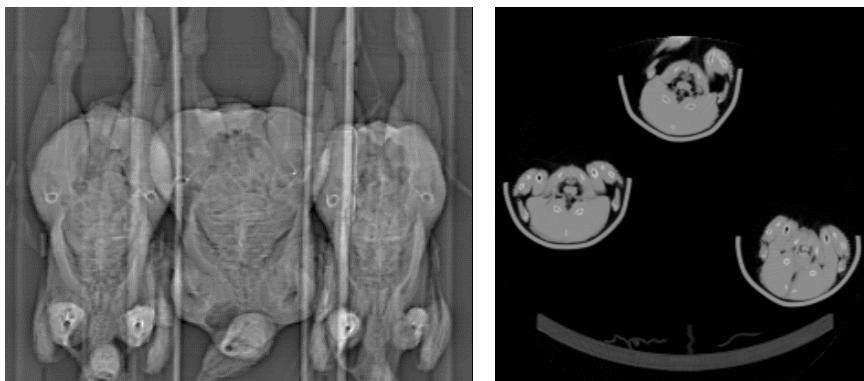
A total of 144 Arbor Acres Regular meat-type chickens were used. All birds selected for CT examination each time had to be within a 3% range deviation from the live weight mean of the population; sexes were treated separately. Six birds by sex were taken for scanning at the age 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, and 18 weeks. Birds were raised in a closed, air-conditioned building on deep litter at the Test Station of the University of Kaposvár, Faculty of Animal Science. The managerial procedures applied during the 20 week growing period was described in detail by *Horn et al.* (1997).

CT procedure and data processing

The CT images were taken by means of a Siemens Somatom DRG scanner of the Institute of Diagnostic Imaging and Radiation Oncology, after 8 hours of feed withdrawal. Chickens, three at the same time, were fixed in stretched position with belts, in a specially designed holder, without using anaesthetic. The examinations started with the taking up an overall topogram, which is similar to a conventional two dimensional X-ray picture. In the topogram the anatomical locations of the cross-sectional scans or body intervals can be marked. Depending on the size of the birds 16 to 32 overlapping scans of 8 mm scan thickness were taken, covering the whole body (*Figure 1*). To equalize the size difference and to reduce the amount of raw data, altogether 16 identical anatomic locations (IAL) were chosen.

Figure 1

Two dimensional topogram of three birds and the cross-sectional image made at the anatomical point at the end of the clavicle



1. ábra: Három madárról készült kétdimenziós topogram és a klavicula végét metsző anatómiai síkban készült keresztmetszeti CT felvétel

The picture-forming pixels of CT images are in fact small prisms with defined volume. It is possible, therefore, to determine the part of the total volume of the examined scan that falls into the Hounsfield unit (HU) interval of interest. On this basis the estimation of fat tissue volume of the body was possible, from the serial scans. Pixel density data were collected from by excluding the extreme density values (corresponding to bone or air); only those corresponding to muscle and fat were retained, i.e. the range from -200 to 200 on the Hounsfield scale (fluid water=0). Each consecutive 10 HU values were summarized, resulting altogether in 40 Hounsfield variables (HUv).

Slaughtering and chemical analysis

The birds were slaughtered following a 12-hour fasting period. The breast muscle was weighed and after removal of the alimentary tract content, the rest of the broiler (empty body) was homogenized and used for chemical analysis, according to *Sütő et al.* (1998). Dry matter (DM) was determined by drying the sample at 105°C to constant weight. Crude fat (CF) was weighed after ether extraction. Hydrochloride acid digestion and Kjel-Foss Fast Nitrogen Analyzer was used for the determination of the nitrogen content, which was converted to crude protein (CP) by multiplying with 6.25.

Statistical methods

The data arising from the sixteen intervals (representing IAL) were used for the graphical demonstration of the body composition. Based on the 40 Hounsfield variables 3D histograms were developed with negative exponential interpolation - at the age of 6, 12 and 18 weeks, in both sexes - to characterize the fat and muscle tissue development inside the body.

In order to examine the fat content of the chickens in different ages, “fat indices” were created from all the CT images, by relating pixels corresponding to fat densities to the total number of pixels according to the formula: $(HUv6-12 / HUv1-40) \times 100$ (*Romvári*, 1998). To test the predictive value of these indices, regression analysis was performed between the fat indices and the chemically determined fat content (CF) of the

body. To characterize the relative building in of the fat and muscle tissues linear and exponential regression models were developed (SPSS for Windows 10, 1999).

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 presents the data of chemical composition, slaughtering and CT processing originated from the three distinguished measuring points.

Table 1

**Characteristics live weight, tissue- and chemical composition data
(n=6 per sex and age)**

Males (1)	Weeks (2)					
	6		12		18	
	Mean (3)	SD (4)	Mean	SD	Mean	SD
Liveweight (5) (g)	1741	41.2	3473	65.3	5216	121.1
Abdominal Fat (6) (g)	15.7	5.47	37.2	12.4	112	38.1
Crude Fat (7) (%)	10.3	2.24	12.7	2.38	15.2	1.02
Fat Index (8)	0.07	0.01	0.07	0.01	0.09	0.02
Breast Volume (9) (cm³)	259	16.3	493	18.1	786	121
Females (10)						
Liveweight (5) (g)	1458	42.2	2933	64.1	4096	95.0
Abdominal Fat (6) (g)	18.3	4.08	51.5	41.9	235	58.6
Crude Fat (7) (%)	11.9	1.52	20.2	3.06	27.8	4.73
Fat Index (8)	0.08	0.01	0.13	0.02	0.21	0.04
Breast Volume (9) (cm³)	195	11.9	460	25.0	668	48.9

1. táblázat: Az élő súly, a szöveti valamint a kémiai összetétel jellemzői (ivaronként és koronként n=6)

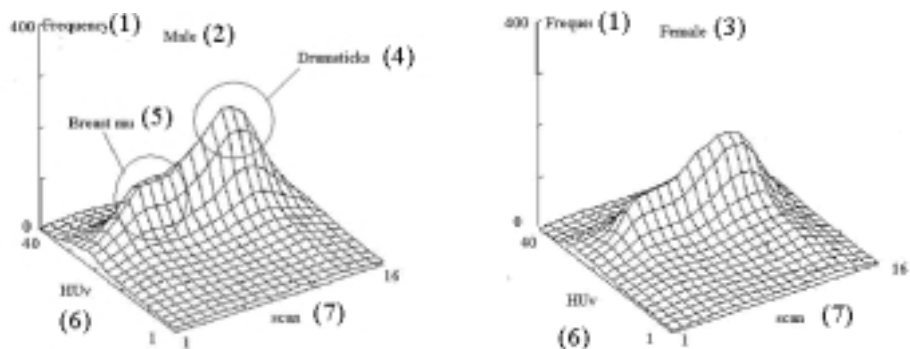
Hímivar(1), Élethét(2), Átlag(3), Szórás(4), Élő súly (g)(5), Abdominális zsír (g)(6), Nyerszsír(%) (7), Zsírindex(8), Mellterfogat(9), Nőivar(10)

Crude fat content increased from 10 to 15% in males while this change was much more pronounced in females (12-28%). The breast muscle development increased continuously in both sexes with a decreasing intensity. The breast muscle volume was larger in males than in females at all the examined live ages.

The changes of tissue composition were depicted at the age of 6, 12 and 18 weeks of age in both sexes. The 3D histograms on *Figure 2*, constructed from the average data of the chicken groups at the age of 6 weeks. The serial number of the pictures was illustrated on the X-axis, the HU variables on the Y-axis (numbering from 40 to 1 after reducing by 10 from +200 to -200) and the frequency of the density values on the Z-axis. For the comparability of the histograms prepared at different ages identical scaling was used. In case of 6-week-old animals, in the protrusion formed by the muscle tissue interval (HUv 21-40) two characteristic peaks are clearly to be recognized. The first from the head is the peripheral region of the breast muscle (2-6). The next, something lower part is the pelvic interval, after which the highest "peak", formed by the drumsticks and the thighs can be seen (9-15). The thigh musculature of males highly exceeded that of females at the age of 6 weeks.

Figure 2

3D histograms at the age of 6 weeks of the male and female chickens



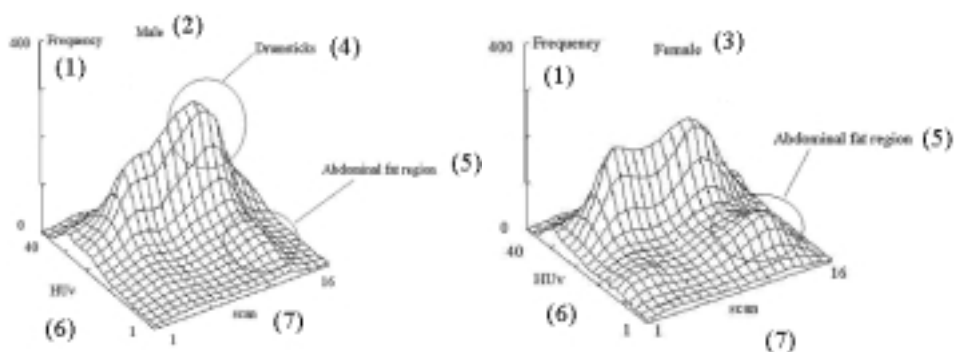
2. ábra: Hathetes korban készült 3D hisztogram him,-és nőivarban

Gyakoriság(1), Himivar(2), Nőivar(3), Combizomzat(4), Mellizomzat(5), Honsfield változók(6), Scan(7)

At 12 weeks of age, two marked differences can be seen between the two sexes (Figure 3). Besides to a same extent of the breast and the thigh muscle deposition a higher abdominal fat (HUv 6-12) content appeared in the females and, at the same time, the larger muscle peak corresponding the thigh, is clearly visible while abdominal fat deposition remained on a low level in males.

Figure 3

3D histograms at the age of 12 weeks of the male and female chickens



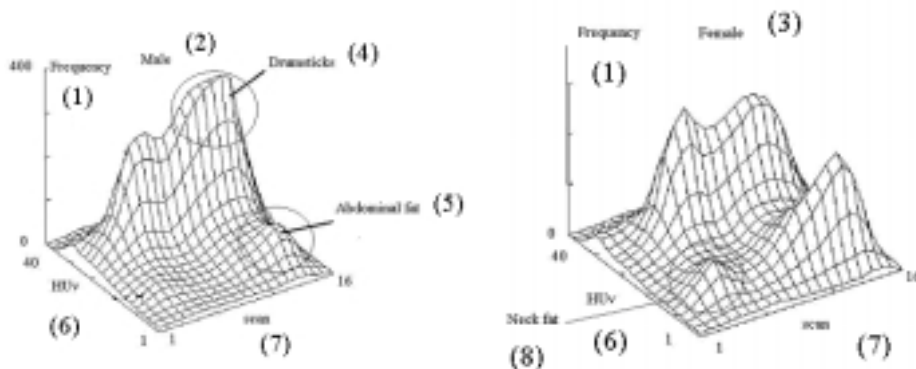
3. ábra: 12 hetes korban készült 3D hisztogram him,-és nőivarban

Gyakoriság(1), Himivar(2), Nőivar(3), Combizomzat(4), Abdominális zsír(5), Honsfield változók(6), Scan(7)

At the end, the last members of the series represent a 20-weeks-old category (*Figure 4*). Here, compared to previous categories, the amount of the fat increases significantly. The abdominal fat depot (12–16 scans) can especially be precisely identified, and the fatness of the neck part is quite significant, also in females. In addition, a large drumstick-thigh peak distinguished the males from females at this time.

Figure 4

3D histograms at the age of 18 weeks of the male and female chickens

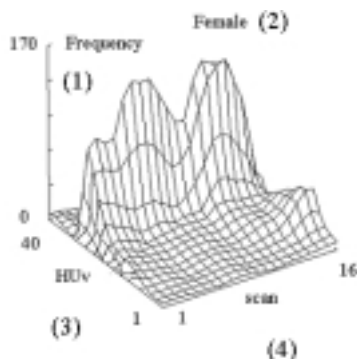


4. ábra: 18 hetes korban készült 3D hisztogram hím-, és nőivarban

Gyakoriság(1), Hímivar(2), Nőivar(3), Combizomzat(4), Abdominális zsír(5), Honsfield változók(6), Scan(7), Nyaki zsír(8)

Figure 5

3D histograms of changes of the body composition between 4 and 8 weeks of age of the female chickens



5. ábra: 4 és 8 hetes élethét közötti testösszetétel változás 3D hisztogramja nőivarban

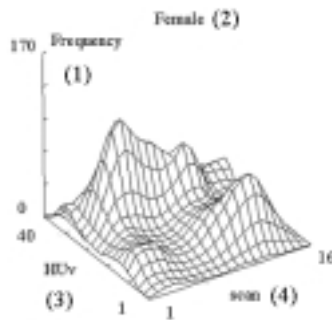
Gyakoriság(1), Nőivar(2), Honsfield változók(3), Scan(4)

Changes of the body composition within different ages were demonstrated with the differentiating of two 3D histograms demonstrating in female regarding to their pronouncedly larger fat tissue content. In *Figure 5* the change between 4 and 8 weeks is demonstrated. Confirmed of the above facts in the second phase of the broiler growth can be characterized by an intensive muscle development.

Besides the further breast muscle development intensive fat tissue deposition can be seen later especially in the abdominal fat region between 6 and 12 weeks of age (*Figure 6*). The neck fat deposition appeared also in this period which indicate the beginning of the further fat deposition in the whole body.

Figure 6

**3D histograms of changes of the body composition
between 6 and 12 weeks of age of the female chickens**

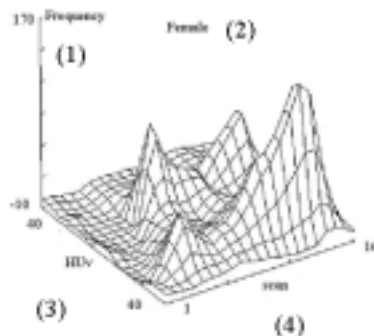


6. ábra: 6 és 12 hetes élethét közötti testösszetétel változás 3D hisztogramja nőivarban

Gyakoriság(1), Nőivar(2), Hounsfield változók(3), Scan(4)

Figure 7

**3D histograms of changes of the body composition
between 12 and 18 weeks of age of the female chickens**



7. ábra: 12 és 18 hetes élethét közötti testösszetétel változás 3D hisztogramja nőivarban

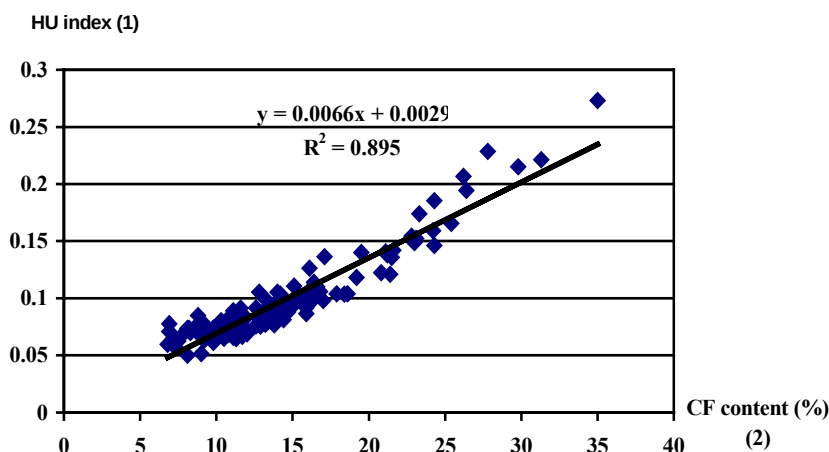
Gyakoriság(1), Nőivar(2), Hounsfield változók(3), Scan(4)

Differences of the two histograms prepared between weeks 12 and 18 demonstrated that besides the decreased muscle tissue development, the fat tissue deposition became dominant in this growth phase, within the total body (*Figure 7*).

The fat content of the chicken body was first estimated with direct volumetry. There were no changes in the characteristic X-ray density values of muscle and fat tissues in the investigated live weight intervals. For this reason, in the CT images of broilers of different size, pixels with the same numeric value (HU value) indicate identical tissue types. *Figure 8* shows the relationship between the CF content and the fat index, calculated from all the scans of the chickens ($R^2=0.895$, $P<0.05$).

Figure 8

Relationship between the HU index calculated from all images and the CF content



8. ábra: Az összes felvétel alapján számított HU index és a nyerszsír-tartalom közötti összefüggés vizsgálata

HU Index(1), Nyerszsír-tartalom(%) (2)

Figure 9 demonstrates the relative building in of both muscle and fat tissues in the total body (6-6 broilers in each group). The base (100%) is the tissue's volume of chickens of 4 weeks.

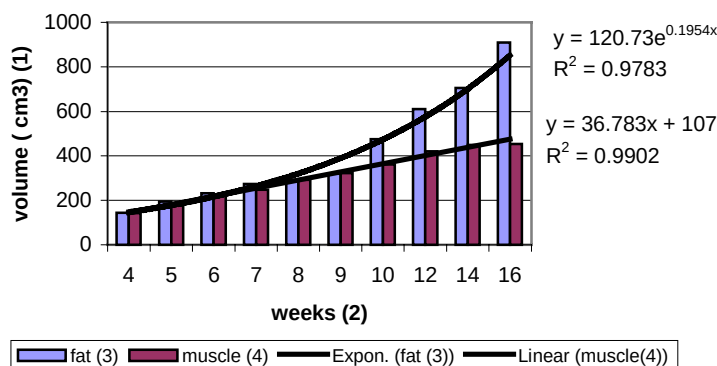
Three age categories were characterized by means of serial-scan based 3D histograms, during the 18-week raising period. The muscle development of males clearly exceeded that of females, at every age investigated. This was matched with a stronger abdominal fat deposition in females. The histograms, created from the tissue-specific density distributions, when compared to the results of the experimental slaughtering, proved to be suitable for the investigation of tissue development at pre-defined anatomical locations.

Altogether 10-15 minutes are needed for the simultaneous whole-body scanning of three chickens. The 3D histograms developed clearly show the tissue composition of chicken bodies, with separate peaks corresponding to the breast- or thigh region. Based on the 3D surfaces, the fat deposition differences can be analyzed in the two sexes. In a

similar manner, comparative investigations of the body composition were carried out on large bodied BUT and bronze type turkeys (Andrássy *et al.*, 2003).

Figure 9

**Relative building in of tissues at the 11 age categories
in the total body of female chickens**



9. ábra: A teljes test relatív szövetbeépülésének vizsgálata nőivarban

Térfogat(cm³)(1), Élethét(2), Zsír(3), Izom(4), Lineáris (izom)(4), Exponenciális (zsír)(3)

The fat indices being independent of live weight seem to be applicable in the prediction of whole body crude fat content. Former experiments also proved the applicability of these index values, as the results strongly correlated with the crude fat content of the animal (Romvári *et al.*, 2002). As the practical limit of this index is by 10% CF, and the chicken body contained the same fat amount over 4 weeks of age, the method worked well.

The correlations between the results of chemical analysis and pixel density data were strong enough for further development of prediction equations.

This methodology worked very well in case of fat content prediction, however, no adequate model could be achieved for protein (Bentsen and Sehested (1989), Svihus and Katle (1993) and Romvári *et al.* (1994) in chickens and also in other species (Romvári *et al.*, 1998; Romvári *et al.*, 2002)). In the authors opinion the applied method can effectively substitute the direct chemical analysis, especially as it is suitable for *non invasive* serial measurements of the same animal.

Fat content is one of the crucial quality traits also in broiler breeding. The good heritability of abdominal fat content ($h^2=0.40, 0.53, 0.56$ according to Leenstra, 1988; Wang *et al.*, 1991; Le Bihan-Duval, 1998) is a proper basis for the effective selection to lower it. The total body CF content investigated in the current study has a 0,53 h^2 value according to Horn (1981). Furthermore, the strong relationship between the abdominal and total body fat content is also known (Maurus *et al.*, 1988). Based on the above-mentioned facts it would be worth expanding this *non invasive* method into selection procedures of broiler breeding.

REFERENCES

- Andrássy, G., Romvári, R., Sütő Z., Szabó A., Horn, P. (2003). Comparative study of the body composition of different turkey genotypes by means of CT. Arch. Tierz., (accepted)
- Ballay A., Horn P., Kakuk T., Jeroch H., Beker J., Sütő Z. (1983). Nagytestű pecsenyecsirkék (roasterek) előállításának biológiai, Technológiai és ökonómiai kérdései. Szaktanácsok. 4. 16-21.
- Bentsen, H.B., Sehested, E. (1989). Computerized tomography of chickens. Br. Poultry Sci., 30. 575-585.
- Grey, T.C., Robinson, D., Jones, J.M. (1982). Effect of age and sex on the eviscerated yield, muscle and edible offal of a commercial broiler strain. Br. Poultry Sci., 23. 289-298.
- Hancock, C.E., Bradford, G.C., Emmans, G.C., Gous, R.M. (1995). The evaluation of the growth parameters of six strains of commercial broiler chickens. Br. Poultry Sci., 36. 247-264.
- Havenstein, G.B., Ferket, P.R. (2002). Estimated genetic changes in broiler growth, feed conversion and yield, 1991-2001. 11th European Poultry Conference, Bremen All abstracts with the full paper included CD of the 11th EPC.
- Horn P., Sütő Z., Sørensen, P. (1998). Growth, feed conversion and mortality of commercial meat type chicken during a twenty week growing period. Arc.-f.-Geflügelkunde, 62. 16-20.
- Horn P. (1981). Handbook of poultry breeders. (In Hungarian) Mezőgazdasági Könyvkiadó, Budapest. 697.
- Le Bihan-Duval, E., Berri, C., Baeza, E., Millet, N., Beaumont, C. (2001). Estimation of the genetic parameters of meat characteristics and of their genetic correlations with growth and body composition in an experimental broiler line. Poult. Sci., 80. 839-843.
- Leenstra, F.R., Vereijken, P.F.G., Pit, R. (1986). Fat deposition in a broiler sire strain. I Phenotypic and genetic variation in and correlations between abdominal fat, body weight and feed conversion. Poultry Science, 65. 1225-1235.
- Leenstra, F.R., Pit, R. (1988). Fat deposition in a broiler sire strain. 3. Heritability of and genetic correlations among body weight, abdominal fat and feed conversion. Poult. Sci., 67. 1-9.
- Maurus, E.M., Kirchgeßner, M., Roth, F.X. (1988). Beziehungen Zwischen Teilstückanalysen und der Ganzkörperzusammensetzung bei Broilern. Arch.f. Geflügelkunde, 52. 261-267.
- Mitchell, A.D., Rosebrough, R.W., Conway, J.M. (1997). Body composition analysis of energy x-ray absorptiometry. Poult. Sci., 76. 1746-1752.
- Romvári R., Perényi M., Horn P. (1994). In vivo measurement of total body fat content of broiler chickens by X-ray computerised tomography. Znan. Prak. Poljopr. Tehnol., 24. 215-220.
- Romvári R., Szendrő Zs., Jensen, J.F., Sørensen, P., Milisits G., Bogner P., Horn P., Csapó J. (1998). Noninvasive measurement of body composition of two rabbit populations between 6 - 16 week of age by computer tomography. J. of Animal Breeding and Genetics, 11. 5383-395.
- Romvári R., Andrássy- Baka G., Repa I., Závoda F., Sütő Z., Horn P. (2000). In vivo 3D evaluation of breast muscle of broiler chickens by means computer tomograph XXI World's Poultry congress Montreal, august 20-24 Proceedings CD 11-14.

- Romvári R., Hancz Cs., Petrási Zs., Molnár T., Horn P. (2002). Non-invasive measurement of fillet composition of four freshwater fish species by computer tomography. *Aquaculture International*, 10. 231-240.
- Sørensen, P., Ducro, J.B. (1995). Age related and proportional aspects of growth in broilers. *Arc. f. Geflügelkunde*, No.Sonderheft, 30-34.
- Savory, C.J. (2002). Effects of long- term selection for broiler traits. 11. European Poultry Conference, Bremen All abstracts with the full paper included CD of the 11th EPC.
- Sütő Z., Horn P., Sørensen, P., Csapó J. (1998). Carcass trait, abdominal fat deposition and chemical composition of commercial meat type chicken during a twenty week growing period. *Arc.f.-Geflügelkunde*, 62. 21-25.
- Svihus, B., Katle, J. (1993). Computerised tomography as a tool to predict composition traits in broilers. Comparisons of results across samples and years. *Acta Agriculturae Scandinavia. Section A, Animal Science*, 43. 214-218.
- Wang, L., Chambers, J.R., McMillan, I. (1991). Heritabilities of adjusted and unadjusted feed and abdominal fat traits in a broiler dam population. *Poult. Sci.*, 70. 440-446.

Corresponding author (*levelezési cím*):

Gabriella Baka

University of Kaposvár, Faculty of Animal Science

H-7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar

H-7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.

Tel.: 36-82-314-155, Fax: 36-82-320-175

e-mail: baka.gabriella@sic.hu



Eltérően hőkezelt juhtej és juhtejből készült termékek szabad D-aminosav tartalmának vizsgálata

¹Csanádi J., ¹Fenyvessy J., ²Jávör A.

¹SZTE Szegedi Élelmiszeripari Főiskolai Kar Szeged, 6724 Mars tér 7.

²Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum, Debrecen, 4015 Böszörményi út 138.

ÖSSZEFOGLALÁS

A tej és tejtermékben igen jól tanulmányozhatjuk az élelmi nyersanyagok feldolgozása során keletkező D-aminosavak képződését. A D-aminosavak megítélése nem egyértelmű és jelenleg több hátrányos következményük ismert. Vizsgáltuk a juhtejet, az eltérő hőmérsékleten hőkezelt juhtejet és néhány juhtejből készült termék szabad D-aminosav- tartalmát. A szabad D-aminosav tartalom minden vizsgált termékben jelentős volt. A szabad D-aszparaginsav 16,8-39,5%-ban, míg a szabad D-glutaminsav 13,3-27%-ban volt megtalálható a termékekben, az összes szabad aminosav százalékában. Minden vizsgált termékben megállapítottuk, hogy az aszparaginsav nagyobb mértékben racemizálódott, mint a glutaminsav. A savanyú tejtermékek nagyobb arányban tartalmazzák a vizsgált szabad D-aminosavakat, mint a sajtfélék.

(Kulcsszavak: hőkezelt juhtej, juhtejből készült termékek, D-aminosav tartalom)

ABSTRACT

Investigation of D-amino-acid content of sheep milk by different heat-treating and products from sheep milk

J. ¹Csanádi, J. ¹Fenyvessy, A. ²Jávör

¹University of Szeged, College Faculty of Food Engineering, Szeged, H-6724 Mars tér 7.

²University of Debrecen, Centre of Agriculture, Debrecen, H-4015 Böszörményi út 138.

Milk and dairy products provide very good examples of the occurrence of D-amino acids in the processing of raw foods. Although a consensus has not been reached on D-amino acids, at present their negative consequences outnumber their positive effects. We have studied the free D-amino acid content of sheep milk, heat-treated sheep milk at various temperatures and various products of sheep milk. All of the investigated products contained significant level of free D-amino acids. The free D-aspartic acid content of the products was 16.9-39.5%, while the free D-glutamic acid content was 13.3-27% in the percent of total free amino acids. The racemization of aspartic acid was higher, than at glutamic acid at every investigated products. The D-amino acid content of fermented milk products was higher than in the case of different cheeses.

(Keywords: sheep milk by different heat-treating, products from sheep milk, D-amino acid content)

BEVEZETÉS

A szervezetbe kerülő 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 eddigi kutatások szerint elsősorban a közeg pH-ja, a hőkezelés, az alkalikus behatás ideje és az egyes aminosavak szerkezete befolyásolja leginkább a racemizációt. A D-aminosavak rontják a termék minőségét és a kezelt élelmiszer biztonságos felhasználhatóságát.

A D-aminosavak jelenléte a fehérjében csökkenti az emészthetőséget és befolyásolja a többi aminosav felhasználhatóságát. 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. Másrészt viszont, bizonyos D-aminosavak hasznosak is lehetnek (pl. fájdalomcsillapítás), és a csökkent emészthetőségű D-aminosavakat tartalmazó fehérjék felhasználhatók pl. fogyókúráknál.

A tej és tejtermékek, mint alapélelmiszerek, igen jó példák az eredeti nyersanyag aminosav összetételének megváltozására. Bár a kereskedelemben (elsősorban külföldön) nyers tej (hőkezeletlen) is kapható, a legtöbb tejterméket először különböző módon pasztörözik, majd homogénezik, de sűrítetik és alvaszthatják is, így megadva a konkrét termék jellegét, mint pl. a fogyasztói tej, a joghurt vagy a különböző sajtok. Ez utóbbi két tejterméket baktériumok segítségével fermentálják, amely eljárás szintén D- aminosavak keletkezését előidézi elő. A tejben és tejtermékekben lévő D-aminosavak előfordulását eddig többen vizsgálták és arra a következtetésre jutottak, hogy elsősorban a D-Aszparaginsav, D-Alanin, és D-Glutaminsav-tartalom lehet jelentős ezekben a termékekben. Mivel a tejtermékek gyártásakor (kivéve a Na-kazeinát) lúgos kezelést nem alkalmaznak, így kijelenthetjük, hogy a tejtermékek esetében a hőkezelés és a bakteriális tevékenység idézi elő a D-aminosavak mennyiségének növekedését.

Több kutató vizsgálta a tej és különböző tejtermékek D-aminosav tartalmát és arra a következtetésre jutottak, hogy a technológia során jelentősen nőhet a D-aminosav tartalom.

A szabad aminosavak racemizációját tanulmányozva Bada (1985) és 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 & Lederman (1986) szerint pH=9-nél 83°C-on kazein esetében az előbbi 4 aminosav racemizációs felezési ideje: 16 óra, 19 óra, 11 nap, és 57 nap.

Payan et al. (1985) a tejsav hatására bekövetkező változásokat a D-aszparaginsav koncentrációjának mérésével tanulmányozták. (A következőkben a D-aminosavak koncentrációját a kérdéses aminosav teljes mennyiségére vonatkoztatva adjuk meg: %D- aminosav=(D/D+L)*100). A nyers tej tartalmazta a legkevesebb (1,48%), D-aszparagin- savat, mennyisége pedig a kezelések növekvő számával együtt nőtt (acidofilusz tej: 2,05%, sovány tejpor: 2,15%, kefir: 2,44%, sűrített tej: 2,49%, joghurt: 3,12%, tejalapú csecsemőtápszer: 4,95%). Legnagyobb a D-aszparaginsav aránya a csecsemőtápszerekben, amelyek olyan technológiai beavatkozásokon mennek keresztül, mint pl. a porlasztva szárítás vagy a sterilizálás (hővel).

Gandolfi et al. (1992) a hőkezelés és a baktériumok hatását vizsgálták a tej szabad és fehérjében kötött D-aminosav tartalmára. Megállapították, hogy a nyers tej szabad D- aminosav tartalma nem nőtt a pasztörözés, az ultrapasztörözés 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 nyers tejminták szabad D-aminosav tartalma jelentősen nőtt a 4°C-on történő tárolás alatt, ezért a D-alanin tartalom kimutatását javasolták a tej bakteriális szennyezettségének ellenőrzésére.

Palla et al. (1989) a tejpor 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 az érett sajtból. 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 mikrobiológiai fermentáción mentek keresztül.

Bruckner & 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.

Csapó és munkatársai (1995; 1996; 1997a), az egészséges és a masztitiszes tőgyből fejt tehéntej, illetve egyes sajtfélék szabad D-aminosav tartalmát vizsgálták. Megállapították, hogy fejéskor 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-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 tudtak mutatni. A D-aminosavak mennyisége és aránya a masztitisztes próba fokozatainak megfelelően nőtt a beteg tőgyből származó tejben. Vizsgálataik bizonyítják, hogy a tehéntejből gyártott fogyasztói tejfélék D-aminosav tartalmának mértékében az első tejsugarak, illetve a szubklinikai masztitiszben szenvedő tehenek teje lényeges szerepet játszik.

Különböző technológiával készült sajtok szabad D-aminosav tartalmát vizsgálva megállapították, hogy 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 D-aminosavak mennyiségében jelentős volt a különbség az egyes sajtok között; a százalékos összetétel viszont a D-Asp esetében 13,9-46,3%, a D-Glu esetében 12,9-26,6%, a D-Ala esetében pedig 16,1-48,1% között változott. A három D-aminosavon kívül a többi D-aminosav csak nyomnyi koncentrációban, a kimutathatóság határán volt jelen a sajtokban. Nagyobb D-aminosav tartalmat mértek azoknál a cheddar sajtoknál, ahol *Lactobacillus*-okat is használtak az előállítás folyamán. *Csapó e tal.* (1995; 1996; 1997a).

Kevesen vizsgálták a kiskérődzők, így a juh tejét, a belőle készített termékek D-aminosav tartalmát, valamint a hőkezelés mértékének hatását a juhtej D-aminosav tartalmára. Cikkünkben ezzel kapcsolatos eredményeinkről számolunk be.

ANYAG ÉS MÓDSZEREK

Kísérleti körülmények

Kísérleteinkhez a juhtej hőkezelése és a fermentált készítmény (joghurt) előállítása az SZTE SZÉF tejipari műhelysarnokában történt. A tehéntejből készült joghurt előflórás termék volt, mely kereskedelmi forgalomból származott, így a pontos gyártástechnológiai paramétereket nem ismertük. A nyers juhtejet 60°C-on 15 perc hőntartással, 70, 80, 90°C-on 1 perc hőntartással, és 120°C-on 10 perc hőntartással hőkezeltük. A joghurt előállításakor 75°C-os pasztörözést alkalmaztunk 5 perc hőntartással, majd homogéneztek a tejet. A fermentálást *Lactobacillus bulgaricus* - *Streptococcus thermophilus* kultúrával

végeztük 45°C-on, 4,6 pH-ig, amit 8°C-on történő érlelés követett 24 órán át. A sajtok szintén a kereskedelemből származtak, és mindegyik magyar termék volt.

D-aminosavak meghatározása

A liofilezett minták D-aminosav tartalmát a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Kémiai Intézetében, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával fluorenil-etil- kloroformiáttal (Csapó & Einarsson, 1993) ill. o-ftálaldehid/tetra-O-acati-β-D- glükopiranozid (Folestadt et al., 1994) királis reagensekkel történő oszlop előtti származékképzéssel határoztuk meg. A fehérje hidrolízise során előforduló racemizáció kiküszöbölésére magas hőmérsékleten rövid ideig végzett hidrolízis alkalmaztunk (Csapó és munkatársai, 1997b).

EREDMÉNY ÉS ÉRTÉKELES

A hőkezelés hatása a D-aminosavakra

Vizsgálataink szerint az összes hidrolizált minta D-aminosav tartalma igen csekély volt (0,0333-0,232 mg/100 g minta). A minták D-aminosav tartalma, az összes aszparaginsav és glutaminsav mennyiségéhez viszonyítva egy esetben sem érte el a 0,01% értéket. A szabad aminosavak esetében azonban lényegesen nagyobb D-enantiomer mennyiségeket találtunk, ezért a továbbiakban a szabad aminosavak eredményeit ismertetjük részletesen. A vizsgálatok eredményeit az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat

A minták szabad aminosav tartalma (mg aminosav/100g minta)

A minta megnevezése (1)	L-Asp	D-Asp	D/L-Asp	L-Glu	D-Glu	D/L-Glu	Száraz-anyag % (12)	Nyers-fehérje % (13)
Nyers juhtej (2)	0,397	0,025	0,062	4,598	0,124	0,027	96,3	31,3
Hőkezelt juhtej minták (14)								
60°C/15 min. (3)	0,432	0,031	0,071	5,481	0,175	0,032	96,0	31,5
70°C/1 min. (4)	0,458	0,032	0,070	7,148	0,293	0,041	96,3	31,6
80°C/1 min. (5)	0,609	0,046	0,075	7,323	0,337	0,046	95,9	31,3
120°C/10 min. (6)	0,645	0,055	0,083	8,144	0,456	0,056	96,1	31,1
Tejtermékek (15)								
Juhjoghurt (7)	3,314	2,167	0,654	9,427	3,497	0,371	91,1	31,2
Tehéntej joghurt (8)	3,639	1,972	0,542	10,491	2,864	0,273	88,4	25,4
Kashkaval sajt (9)	3,832	0,774	0,202	11,336	1,745	0,154	94,7	52,0
Krémfehér sajt (10)	4,831	1,657	0,343	15,901	4,754	0,299	96,4	30,0
Merinó félkemény sajt (11)	6,319	2,281	0,361	21,033	6,373	0,303	96,2	37,8

Table 1: The Free D-amino acid content of samples (Amino acid mg/100g sample)

Name of samples(1), Raw sheep milk(2), Heat treated sheep milk samples(3-6), Yoghurt from sheep milk(7), Yoghurt from cow's milk(8), Kashkaval cheese(9), Cream White cheese(10), Merino cheese(11), Dry matter(12), Crude protein(13), Heat-treated sheep milk samples(14), Dairy products(15)

A D-aminosav tartalom hőkezelés hatására történő változását láthatjuk az 1. ábrán. Megállapítottuk, hogy a hőkezelés juhtej esetében is megnöveli a D-aszparaginsav és a D-glutaminsav mennyiségét.

1. ábra

A nyers, és az eltérő hőmérsékleten hőkezelt juhtej szabad D-aszparaginsav és szabad D-glutaminsav tartalma (az összes szabad aszparaginsav, ill. glutaminsavban) %

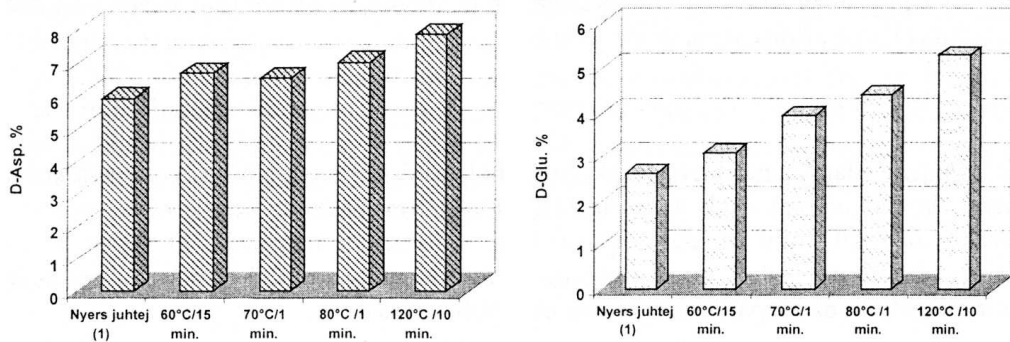


Figure 1: The free D-asparagine and free D-glutamine content of raw sheep milk and sheep milk heat-treated at various temperatures (all data for total free Asp and Glu in %)

Raw ewe 's milk(1)

Úgy tűnik azonban, hogy a két aminosav hőérzékenysége eltérő. Az aszparaginsav esetében a 60 és 70°C-os hőkezelés közel azonos D-aszparaginsav tartalom-növekedést idézett elő, majd 80°C-tól egyértelműen nőtt a D-aszparaginsav tartalom. A D- glutaminsav tartalom növekedése viszont az emelkedő hőlépcsőben szignifikáns és folyamatos volt.

Mindkét aminosav esetében a legnagyobb hőterhelés okozta a legmagasabb D- aminosav tartalmat. Az eltérő hőérzékenységet bizonyítja azonban az a tény, hogy a nyers tej esetében a D-aszparaginsav javára meglévő 3,3% különbség a 120°C-os hőkezelés után 2,5%-ra csökkent.

Az adatok alapján kijelenthetjük, hogy önmagában a hőkezelés nem okoz nagy arányú növekedést a juhtej szabad D-aminosav tartalmában (a összes szabad aszparagin- savra és glutaminsavra vonatkoztatva max.: 7,8% D-aszparaginsav, 5,3% D-glutamin-sav).

Az egyes hőkezelések hatásának mértékét a nyers tejhez képest mutatjuk be az 1. táblázatban.

A 60°C-os hőkezelés kb. egyforma változást eredményezett a két aminosavban, ám 70°C-nál már lényegesen nagyobb arányú volt a növekedés a glutaminsavban. A 120°C- os hőkezelés (sterilizálás) hatására a D-aszparaginsav tartalom 32%-al, míg a D- glutaminsav tartalom mintegy 102%-al nőtt (kb. duplázódott). A 70 és 80°C-on végzett hőkezelés eredménye alapján elmondhatjuk, hogy 1°C hőmérséklet-növekedés kb. 0,9% D-aszparaginsav és kb. 1,7% D-glutaminsav tartalom növekedést eredményez. Az azonos mértékű hőmérséklet emelés okozta D-enantiomer keletkezés sebessége glutaminsavban kétszer akkora, mint az aszparaginsavban.

2. táblázat

A különböző hőkezelési módok hatására bekövetkező szabad D-aminosav tartalom növekedés mértéke, % (nyers juhtej értéke=100%)

Aminosav (1)	Hőkezelés (2)			
	60°C 15 min	70°C 1 min	80°C 1 min	120°C 10 min
D-aszparaginsav	113,0	110,2	119,0	132,6
D-glutaminsav	117,8	149,9	167,5	201,9

Table 2: The growth rate (%) of free D-amino acid content resulting from various heat treatments (Value of raw sheep milk=100%)

Amino acid(1), Parameters of heat treatment(2)

A 2. táblázat adatai tehát bizonyítják, hogy hőkezeléskor a glutaminsav azonos körülmények között hajlamosabb a racemizációra. A D-enantiomer keletkezése gyorsabb, nagyobb mértékű, mint az aszparaginsavban. A nyers tej magasabb D-aszparaginsav tartalma viszont azt sejteti, hogy a tőgyben uralkodó illetve a hűtő-tárolás során a tejbe került mikroflóra az aszparaginsavra van nagyobb hatással.

2. ábra

A nyers juhtej és egyes tejtermékek szabad D-aszparaginsav és D-glutaminsav tartalma (az összes szabad aszparaginsav ill. glutaminsav %-ában)

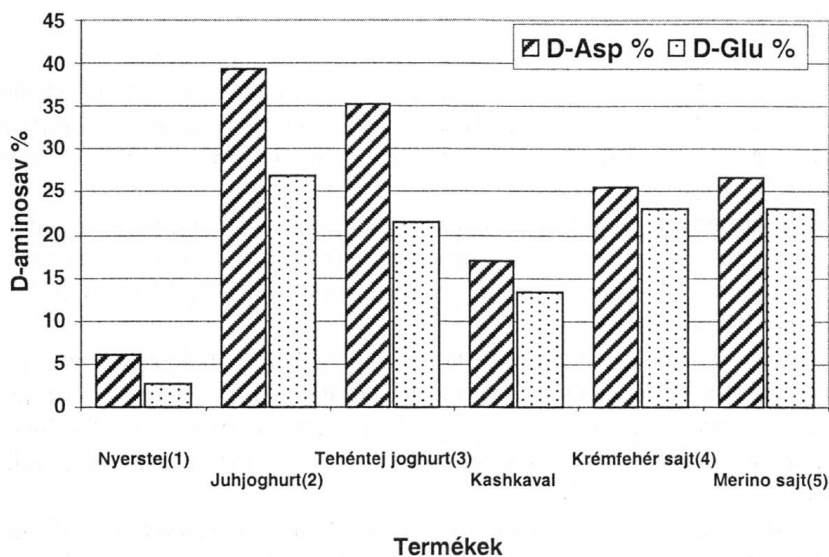


Figure 2: The free D-aspartic acid and D-glutamic acid content of raw sheep milk and certain dairy products (all data for free Asp and Glu in %)

Raw milk(1), Yoghurt from sheep milk(2), Yoghurt from cow's milk(3), Cream White cheese(4), Merino cheese(5)

Juhtejből készült termékek vizsgálata

Hagyományos érlelt juhsajt, gyúrt sajt (Kashkaval), ultraszűrővel készülő krémfehérsajt és savanyított termék (joghurt) D-aminosav tartalmának vizsgálati eredményeit mutatjuk be a 2. ábrán. Minden termékre elmondható, hogy lényegesen nagyobb arányban tartalmazza a D-enantiomereket, mint a nyers juhtej. Méréseink tehát megerősítik a szakirodalom azon közléseit, melyek szerint a kultúrákkal történő fermentálás nagymértékben növeli a D-aminosav tartalmat a tejtermékekben.

A két aminosav közül, minden termékben, magasabb D-aszparaginsav tartalmat, illetve alacsonyabb D-glutaminsav tartalmat tapasztaltunk.

A klasszikus érlelt sajt (Merino) és a vegyes alvasztással készülő krémfehérsajt D- aminosav tartalma kb. azonos volt. A Kashkaval sajt alacsonyabb értékeit az eltérő mikrobatevékenység okozhatta. A meleg sólével történő mártás ugyanis tulajdonképpen enyhe hőkezelés, amely hatással bír a sajtalvadék mikroflórájának összetételére és az egyes mikrobafélék számára. Ugyancsak eltérést okozhat, az a tény hogy a Kashkaval sajtnak kisebb a vízaktivitása - a másik két sajthoz képest - ami alacsonyabb szaporodási sebességet eredményezhet. Az alacsonyabb szabad D-aminosav tartalom így valószínűleg a kisebb mértékű mikrobatevékenység eredménye.

3. táblázat

Egyes juhtejtermékek szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav tartalma és a két aminosav aránya

Termék (1)	D-Asp/D+L-Asp %	D-Glu/D+L-Glu %	D-Asp/D-Glu
Nyerstej (2)	5,92	2,62	2,26
Juhjoghurt (3)	39,53	27,05	1,46
Tehéntej jogh. (4)	35,14	21,44	1,64
Kashkaval sajt (5)	16,80	13,34	1,26
Krémfehérsajt (6)	25,53	23,01	1,11
Merinó sajt (7)	26,52	23,25	1,14

Table 3: The content of free D-Aspartic acid and D-glutamic acid (% in total free Asp and Glu) and the ratio of these amino acids in certain products of sheep milk

Products(1), Raw milk(2), Yoghurt from sheep milk(3), Yoghurt from cow's milk(4), Kashkaval cheese(5), Cream White cheese(6), Merino cheese(7)

A joghurtfélék a sajtoknál lényegesen több D-aminosavat tartalmaztak. Ez a lényegesen nagyobb csíraszámából és az intenzívebb baktérium tevékenységből adódhat. Érdekes tapasztalat, hogy a 4,4 körüli pH értéket képviselő joghurtok esetében a D-Asp/D-Glu arány lényegesen nagyobb, mint a sajtok esetében (sajtok: 1,11-1,26). Ez az arány juhtejből készült joghurtban 1,46; tehéntej joghurtban 1,64. További érdekesség, hogy a tehéntejből készült joghurt D-Asp/D-Glu aránya nagyobb, mint a juhtej joghurté, azonban nem azonos körülmények között készült a két termék, így jelenleg erre nem adható magyarázat.

Ugyanakkor a juh joghurtnak lényegesen nagyobb a D-aminosav tartalma, amit részben a juh elegytej, tehéntejhez képest jóval magasabb összes mikrobaszámával magyarázhatunk.

A nyers juhtej természetes, illetve szokásos mikroflórája idézi elő a legnagyobb D-Asp/D-Glu arányt, míg ez egyik juhtejből készült termék esetében sem ér el 1,5 értéket. Másként fogalmazva, a juhtej termékek gyártásához használt néhány szokásos kultúra 1,1 és 1,5 közötti D-Asp/D-Glu arányt idéz elő.

KÖVETKEZTETÉSEK

- Eredményeink szerint a nyers juhtejben nem található számottevő mennyiségű D- aminosav.
- Nagyobb azonban a szabad D-aszparaginsav (5,92%) és szabad D-glutaminsav (2,62%) tartalom. A hőkezelés nem okoz 8%-nál nagyobb szabad D-aszparaginsav, ill. szabad D-glutaminsav tartalmat a juhtejben, ám kísérleteinkben az aszparaginsav és a glutaminsav eltérő mértékben reagáltak a hőkezelésre.
- A szabad D-aminosav tartalom minden vizsgált termékben jelentős volt. A szabad D-aszparaginsav 16,8-39,5%-ban, míg a D-glutaminsav 13,3%-27,0%-ban volt megtalálható a termékekben az összes szabad aminosav százalékában. Minden vizsgált termékben megállapítottuk, hogy az aszparaginsav nagyobb mértékben racemizálódott, mint a glutaminsav. A fermentálás tehát nagyobb hatással bír az aszparaginsavra.
- A savanyú tejtermékek nagyobb arányban tartalmazzák a vizsgált szabad D- aminosavakat, mint a sajtfélék. Valószínűsíthető, hogy ez a tény más tejtermékek esetén is fennáll.
- A D-aszparaginsav és D-glutaminsav mennyiségének és arányának értékei, valamint a különböző hőkezelésekből származó eredmények egyelőre nem tesznek lehetővé minden termékre vonatkoztatható általános érvényű megállapításokat.
- További vizsgálatokra van szükség, külön a hőmérséklet és hőntartási idő, valamint az egyes kultúrák, akár egyes baktérium fajok pontos hatásainak tisztázására annak érdekében, hogy a tejtermékek D-aminosav tartalmát elfogadhatóan alacsony értéken tarthassuk.

IRODALOM

- 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.
- Bruckner, 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.
- Csapó J., Einarsson, S. (1993). Élelmiszerek és takarmányok D-aminosav tartalma. 1. Az aminosav enantiomerek szétválasztása és meghatározása az 1-9-fluorenil/etil- kloroformiáttal történő származékképzés után fordított fázisú folyadékkromatográfiával. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 39. 290-302.
- Csapó J., Martin, T.G., Csapó-Kiss ZS., Stefler J., Némethy S. (1995b). Influence of udder inflammation on the D-amino acid content of milk. *J. Dairy Sci.*, 78. 2375-2381.
- Csapó J., Csapó-Kiss ZS., Stefler J. (1997b). Influence of mastitis on D-amino acid content of milk. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 1-2. 162-167.
- Csapó J., Csapó-Kiss Zs., Stefler J., Csordás E., Martin, T.G., Némethy S., Wágner L., Tálos T. (1996-97). A tőgygyulladás hatása a tej D-aminosav tartalmára. *Szaktanácsok*. 1-4. 38-52.

- Folestad, S., Tivesten, A., Csapó J. (1994). Élelmiszerek és takarmányok D-aminosav tartalma. 2. Az aminosav enantiomerek szétválasztása és meghatározása származékképzés után. Élelmiszervizsgálati Közlemények. 40. 17-26.
- Gandolfi, I., Palla, G., Delprato, L., Denisco, F., Marchelli, R., Salvadori, I.C. (1992). D- amino acids in milk as related to heat treatments and bacterial activity. J. Food Sci., 57. 377-379.
- Liardon, R., Hurrell, R.F. (1983). Amino acid racemization in heated and alkali-treated proteins. J. Agric. Food. Chem., 31. 432-437.
- 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.
- Payan, I.L., Cadilla-Perezrios, R., Fischer, 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.
- Steinberg, S., Bada, J.L. (1981). Diketopiperazine formation during investigations of amino acid racemization in dipeptides. Science, 213. 544-545.

Levelezési cím (*corresponding author*):

Csanádi József

SZTE Szegedi Élelmiszeripari Főiskolai Kar

6724 Szeged, Mars tér 7.

University of Szeged, College Faculty of Food Engineering

H-6724 Szeged, Mars tér 7.

Tel.: 36-62-546-005, Fax: 36-62-546-034

e-mail: csan@bibl.szef.u-szeged.hu



Szarvassperma mélyhűtési módszereinek vizsgálata¹

¹Nagy Sz., ²Harcosfalvi Sz., ¹Kovács A., ²Zomborszky Z.

¹Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Sejtbiológiai Osztály, Herceghalom, 2053 Gesztenyés út 1.

²Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Sertés és Kisállattenyésztési Intézet
Hal- és Társállattenyésztési Tanszék, Kaposvár, 7400 Guba Sándor u. 40.

ÖSSZEFOGLALÁS

Hazánk gím-és dámszarvas-állományának (Cervus elaphus hippelaphus, Dama dama) genetikai potenciálja világszerte elismert. Ezen kiváló genetikai állomány megőrzése a vadvédelem, a vadgazdálkodás és vadtenyésztés számára egyaránt rendkívül fontos. A kutatás célja a különböző módszerrel mélyhűtött szarvassperma vizsgálata volt. A termékenyítőanyagot elejtett bikák mellékheréiből nyertük. A visszaolvasztott sperma minőségét Kovács- Foote festési eljárással végeztük. Eredményeink szerint, mind a kétfázisú Tris-tojássárgájú, mind az egyfázisú Triladyl hígító, valamint programozható és kézi mélyhűtési eszköz alkalmas a szarvassperma fagyasztva tárolásához.
(Kulcsszavak: gímszarvas, dámszarvas, génbank, spermamélyhűtés)

ABSTRACT

Investigations on different methods of deer sperm cryopreservation

Sz. ¹Nagy, Sz. ²Harcosfalvi, A. ¹Kovács, Z. ²Zomborszky

¹Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Sejtbiológiai Osztály, Herceghalom, H-2053 Gesztenyés út 1.

²University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Institute of Swine and Small Animal Breeding
Department of Fish and Pet Animal Breeding, Kaposvár, H-7400 Guba Sándor u. 40.

The genetic potential of the red deer (Cervus elaphus hippelaphus) and fallow deer (Dama dama) populations in Hungary are well known. Conserving the variability in this excellent genetic material for game preservation and breeding is one of our most important tasks. The aim of this study was to investigate different methods of deer sperm cryopreservation. Sperm samples were collected from the epididymides of shot males. The qualitative evaluation of post-thawed sperm samples performed by Kovács and Foote staining procedure. As results showed, both tris-yolk and Triladyl diluters, and both programmable and handling freezers are suitable of the deer sperm cryopreservation. Moreover, our plan is to develop a deer frozen sperm bank.
(Keywords: deer, sperm bank, sperm cryopreservation)

BEVEZETÉS

Hazánk gím- és dámszarvas-állományának genetikai potenciálja világszerte elismert. Ezen kiváló genetikai állomány változatosságának, heterozigotizálásának megőrzése a vadvédelem, a vadgazdálkodás és vadtenyésztés számára egyaránt fontos feladat.

¹Az I. Magyar Természetvédelmi Biológiai Konferencián (Sopron, 2002. november 14-17.) bemutatott poszter bővített anyaga.

Vadállományaink genetikai anyagának biotechnológiai eszközökkel való megővését szorgalmazza többek között az urbanizációs infrastruktúra rohamos fejlődése, amely óhatatlanul csökkenti a vadon élő állatok létférőjét, az új úthálózatok hozzájárulhatnak egyes populációk egymástól való végleges elszigetelődéséhez. Emellett a mezőgazdaság szerkezetváltása újabban szorgalmazza a vadkárok enyhítésére nagyvadaink létszámának csökkentését. A kilőtt bikák genetikai anyaga azonban megőrizhető a mellékheréből *post mortem* kinyert ondósejtek mélyhűtve tárolásával. Így lehetőség adódik a jövő számára a mai genetikai állomány hosszú távú, biztonságos megőrzésére egy hazai szarvas spermabank létrehozásával.

Magyarországon, a Kaposvári Egyetemen történtek vizsgálatok a bikák halála után gyűjtött spermiumok fagyasztásával kapcsolatban. 1991 szeptemberében gyűjtöttek mintákat vadászat során elejtett 11 bika mellékheréjéből, 2-18 órával a kilövés után. A hígított és fagyasztva tárolt spermaminták felengedését követően a sejtek 40%-a mutatott folyamatos mozgást, az életképes spermiumok száma pedig műszalmánként (0,25 ml) $8,6-26,7 \times 10^6$ között változott. Két évvel később 3 gímszarvas tehenet szinkronizálás után ezekkel a spermamintákkal inszemináltak, és a kimosott embriókat lefagyasztották. Majd újabb 2 év múlva a felolvasztott embriók közül kettőt beültettek szinkronizált tehenekbe. Az egyik tehen 1996 júniusában egy teljesen normális, életképes bikaborjúnak adott életet. Az eredmények hozzásegítettek annak kimutatásához, hogy a vadászat során lelőtt kiváló bikáktól nyert sperma nagyon hasznos lehet a genetikai anyag megőrzésében (Zomborszky és mtsai., 1999). Ebben a kísérletben az optimális tárolás feltételeinek kidolgozása érdekében elejtett bikák mellékheréiből *post mortem* kinyert termékenyítő anyag tárolhatóságát különböző spermahígítási és mélyhűtési módszerekkel vizsgáltuk a szarvas fajokra korábban sikerrel adaptált fénymikroszkópos spermafestési eljárással (Nagy és mtsai., 2001).

ANYAG ÉS MÓDSZER

A spermamintákat dél-nyugat magyarországi vadászterületeken kilőtt gímszarvas és dämadvad bikák mellékheréiből gyűjtöttük, az elejtéstől számított 2 és 18 órán belül.

Az első kísérletben (I.) kettő-kettő gímszarvas és dämadvad bika kétfázisú, Tris-tojássárgája hígítóval kezelt, 0,25 ml-es műszalmába felszívott és programozható mélyhűtővel fagyasztott spermamintáit értékeltük. A gímszarvas spermiumok (1. és 2. számú) mintavételét szeptemberben végeztük, a minták hígításának kezdete az elejtéstől számított 17., illetve 2. óra volt, a dämadvad spermamintákat (3. és 4. számú) novemberben nyertük, a hígítás kezdete az elejtéstől számított 2. óra volt (I. táblázat).

A második kísérletben (II.) négy gímszarvas bika, egyfázisú Triladyl hígítóban feldolgozott, 0,25 ml-ben műszalmába felszívott, és hungarocell dobozban, folyékony nitrogéngőzben fagyasztott termékenyítő anyagát teszteltük. A spermiumok vételét az 5. és 6. számú állatok esetében a fő bögési időszakban, szeptemberben, a 7. és 8. számú állatok esetében pedig az utóbögés időszakában, novemberben végeztük. Az elejtéstől számítva a hígítások kezdete az 5., a 18., a 17. és a 14. órára esett (I. táblázat).

1. táblázat

A spermanyerés ideje, a mélyhűtés technikai kivitelezése

Kísérlet (1)	A bika sorszáma, faja(2)	A sperma- nyerés ideje (hónap)(3)	A spermamin- ta hígításának kezdeté (óra)(4)	A hígítás módja(5)	A mélyhűtés technikája(6)
I.	1. gímszarvas(7)	szeptember(9)	17.	Kétfázisú Tris-tojássár- gája(11)	Programozható fagyasztó(12)
	2. gímszarvas	szeptember	2.		
	3. dāmivad(8)	november(10)	2.		
	4. dāmivad	november	2.		
II.	5. gímszarvas	szeptember	5.	Egyfázisú Triladyl(13)	Hungarocell doboz(14)
	6. gímszarvas	szeptember	18.		
	7. gímszarvas	november	17.		
	8. gímszarvas	november	14.		

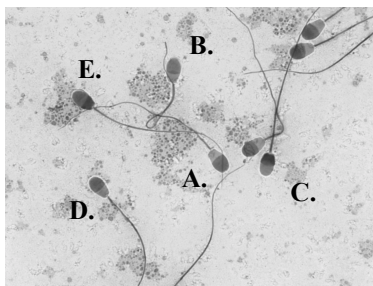
Figure 1: The time of sperm collection and the method of cryopreservation

Experiment(1), No of stag and species(2), Time of sperm collection (month)(3), Begining of sperm samples dilution (h)(4), Method of dilution(5), Method of cryopreservation(6), Red deer(7), Fallow deer(8), September(9), November(10), Tris-yolk diluter(11), Programable freezer(12), Triladyl diluter(13), Handling freezer(14)

Az élő, ép akroszómájú ondósejtek felolvasztás utáni arányát, mintánként 200-200 sejtet számolva, Kovács és Foote (1992) festési módszerével értékeltük Nagy és mtsai. (1999) alapján (1., 2. ábra).

1. ábra

Gímszarvas spermiumok (Kovács-Foote festés)

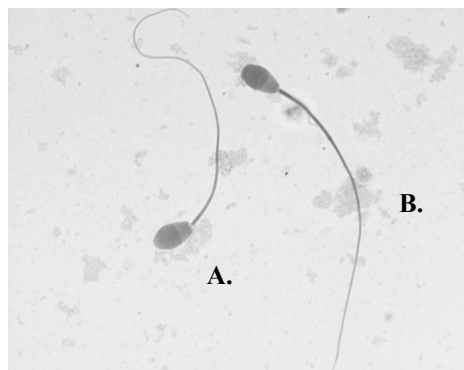


A: Ép feji és farki membrán (élő sejt), ép akroszóma (Living cell intact head and tail membrane and acrosome); B: Élő sejt, reaktált akroszóma (Living cell with acrosome); C: Elhalt sejt, hiányzó akroszóma (Dead cell with loose acrosome); D: Ép feji, sérült farki membrán (immotilis sejt), ép akroszóma (Intact head and acrosome with damaged tail); E: Sérült feji membrán (elhalt sejt), fellazult akroszóma (Dead cell with damaged head, and acrosome)

Figure 1: Red deer spermatozoa with Kovács and Foote staining procedure

2. ábra

Dámszarvas spermiumok (Kovács-Foote festés)



A: Ép feji és farki membrán (élő sejt), ép akroszóma (*Living cell intact head and tail membrane and acrosome*); B: Ép feji, sérült farki membrán (immotilis sejt), ép akroszóma (*Intact head and acrosome with damaged tail*)

Figure 2: Fallow deer spermatozoa with Kovács and Foote staining procedure

EREDMÉNY ÉS ÉRTÉKELÉS

Az ép feji és farki plazmamembránnal és ép akroszómával rendelkező ondósejtek aránya az első kísérletben a két gímszarvas bika (1. és 2. számú) esetében 18,5%, illetve 40,5%, a két dämvasd bika (3. és 4. számú) esetében 36,0%, illetve 39,0% volt. A második kísérletben a négy gímszarvas bika (5.- 8. számú) esetében ez az arány 43,5%, 36,0%, 28,5%, illetve 16,8% volt (3. ábra).

3. ábra

Az élő, ép akroszómájú ondósejtek aránya az 1.-8. számú spermamintában

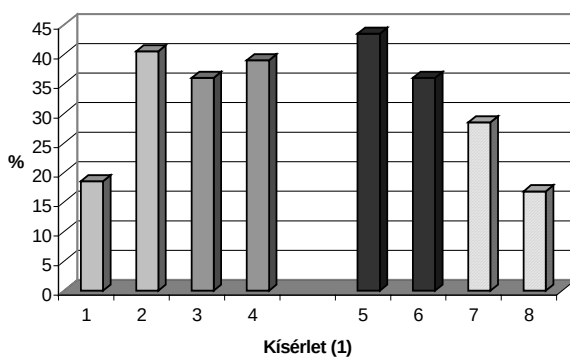


Figure 1: Ratio of living cells with intact acrosome in the sperm samples (1-8)

Experiments(1)

KÖVETKEZTETÉSEK

Eredményeink szerint mind a kétfázisú Tris-tojássárgája (1-4. számú minta), mind az egyfázisú Triladyl hígító (5-8. számú minta) alkalmas a szarvasbikák spermájának hígítására.

Az automata készülékkel végzett, programozott fagyasztás mellett, egyszerű hungarocell dobozban nitrogéngőzben végzett mélyhűtés is alkalmazható a genetikai anyag tartósításához.

A vizsgált minták többsége megközelítette, illetve el is érte a mélyhűtött szarvasmarha bikasperma forgalmazhatóságára vonatkozó szabvány (39/1994. FM-rendelet) 40% élő ondósejtet előíró küszöbértékét.

A gyengébb, 30% alatti eredmények a kilövés és mintavétel között eltelt hosszú idővel (1. számú minta), illetve az utóbőgés szakban való mintavételezéssel (7. és 8. számú minták) magyarázhatók.

A feldolgozás/mélyhűtés optimális feltételeinek kidolgozása érdekében a kísérletek folytatását tervezzük.

IRODALOM

- 39/1994. FM-rendelet. A mesterséges termékenyítésre használt bikákra és kanokra, továbbá azok spermájára vonatkozó előírások.
- Kovács A., Foote, R.H. (1992). Viability and acrosome staining of bull, boar and rabbit spermatozoa. *Biot. Histoc.*, 67.119-124
- Nagy Sz., Házas G., Bali Papp Á., Iváncsics J., Szász F., Szász Jr.F., Kovács A., Foote R.H. (1999). Evaluation of sperm tail membrane integrity by light microscopy. *Therio.*, 52. 1153-1159.
- Nagy Sz., Kovács A., Zubor T., Zomborszky Z., Tóth J., Horn P. (2001). Evaluation of membrane integrity of frozen/thawed deer spermatozoa. *Acta Vet. Hung.*, 49. 223-227.
- Zomborszky Z., Zubor T., Tóth J., Horn P. (1999). Sperm collection from shot red deer stags (*Cervus elaphus*) and the utilisation of sperm frozen and subsequently thawed. *Acta Vet. Hung.*, 47. 263-270.

Levelezési cím (*corresponding author*):

Zomborszky Zoltán

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar

7401 Kaposvár, Pf. 16.

University of Kaposvár, Faculty of Animal Sciences

H-7401 Kaposvár, P.O.Box 16.

Tel.: 36-82-314-155, Fax: 36-82-320-175

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



A cheddar sajt szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin tartalmának alakulása a gyártás során

Vargáné Visi É., Csapó J.

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kémiai Intézet, Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszék
Kaposvár, 7400 Guba Sándor u. 40.

ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérletünk célja az volt, hogy egy adott sajtgyártási technológiában több mintavételi pontot kialakítva megfigyeljük, növekszik-e a szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin egységnyi szárazanyag tartalomra vonatkoztatott mennyisége; módosul-e a D-aminosavak összetétele; illetve a D-enantiomerek aránya a szabad aminosav tartalom belül a sajtgyártás során. Továbbá megvizsgáltuk, hogy van-e különbség a fenti D-aminosavak mennyiségében annak függvényében, hogy az „AM2”, vagy a „303” jelű *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* törzs tenyésztete adja a sajttej érlelése során alkalmazott starterkultúra alapját. Az érlelés első kilenc hetében csak a szabad D-alanin tartalom növekedett jelentősen, a D-aszparaginsav, és a D-glutaminsav tartalom nem. Az általunk vizsgált időszakban (0-9 hét) még nem nőtt meg jelentős mértékben azon lízissel összefüggő folyamatok intenzitása, melyek a D-glutaminsav (és a D-aszparaginsav) felszabadulásával járnak a bakteriális sejtfalból és a citoplazmából. A sajt préselése során az egységnyi szárazanyagra vonatkoztatott D-aszparaginsav tartalom mindkét alkalmazott törzskultúra, D-glutaminsav tartalom pedig a „303” jelű törzskultúra használatakor jelentősen nőtt. Ez valószínűleg nem a lízisnek, hanem valamely más folyamatnak tulajdonítható. Az érlelés során a szabad alanin tartalom belül a D-enantiomer aránya nem változott, azaz a D-alanin tartalom mennyiségének növekedése gyakorlatilag követte az L-alanin mennyiségének növekedését. Lehetséges, hogy a szabad D-alanin tartalom egy része a sajtélesztőben található szabad L-alaninból jött létre a bakteriális alanin racemáz hatására, amennyiben ez az enzim a baktériumsejten kívül is tud jelentősen működni. A *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303 egysejtkultúrával gyártott sajtok mindegyik D-aminosavból jelentősen többet tartalmaztak, és a D-enantiomer aránya is nagyobb hányadot tett ki a teljes (L+D) szabad glutaminsav és az alanin tartalom belül, mint a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2 szintenyézzettel gyártott sajtok. Elképzelhető, hogy a „303” jelű törzs adott gyártási körülmények között hajlamosabb a lízisre, mint az „AM2” jelű törzs, és így sejteiből több D-aminosav szabadul fel, illetve alakul ki enzimes úton. A három D-aminosav egymáshoz viszonyított arányában, a „D-aminosav mintázatban” azonban nem volt különbség a két törzs között.

(Kulcsszavak: cheddar sajt gyártás, D-aszparaginsav, D-glutaminsav, D-alanin, D-enantiomer)

ABSTRACT

Changes in the free D-aspartic acid D-glutamic acid and D-alanine content of cheddar during cheesemaking process

É. Vargáné Visi, J. Csapó

University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Institute of Chemistry
Department of Biochemistry and Food Chemistry, Kaposvár, H-7400 Guba Sándor u. 40.

*The purpose of our research was to determine the variation in free D-aspartic acid, free D-glutamic acid and free D-alanine content of dry matter; the variation in free D-amino-acid composition; and that of the ratio of free D-amino acid related to total (D+L) free amino acid during experimental cheddar cheesemaking processes with two different starter strains (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303 or *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2). Until the ninth week of ripening only the increase of free D-alanine content of dry matter was significant ($P < 0.05$). The intensity of processes which are connected with lysis and responsible for release of D-aspartic acid and D-glutamic acid from cell wall and cytoplasm do not seem to increase until this stage of ripening cheddar. The dry matter of curd contained significantly higher amount of D-aspartic acid after pressing than before pressing in case of both strains ($P < 0.05$); and more D-glutamic acid in case of strain '303'. Probably these differences cannot be attributed to lysis. During ripening the ratio of D-enantiomer within the free alanine content did not change that is the increase of D-alanine content followed the increase of L-alanine content. One might speculate that part of the free D-alanine content derived from the free L-alanine content of cheese due to the bacterial alanine racemase if this enzyme can operate outside of the bacterial cell wall. Cheeses from cheesemaking trials with *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303 contained more D-amino acid ($P < 0.01$) and the ratio of D-enantiomer within the total (D+L) free glutamic acid and total free alanine was higher ($P < 0.01$) than in case of trials with *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2. It is possible that strain '303' is more susceptible to lysis than strain AM2 during this sort of Cheddar making protocol and therefore releases more D-amino acid from cells or/and releases enzymes form more D-amino acid. The ratio of the individual D-amino acid related to the total amount of D-amino acids (the D-amino acid composition) changed during ripening ($P < 0.001$) but there were no significant differences between the two strains.*

(Keywords: cheddar cheesemaking process, D-aspartic acid, D-glutamic acid, D-alanine, D-enantiomer)

BEVEZETÉS

Azok az élelmiszeripari nyersanyagok, melyek csíraszám alacsony, csak kevés D-aminosavat tartalmaznak (Man és Bada, 1987). A kérődzőktől származó alacsony csíraszámú (10^3 - 10^4 /cm³) nyerstej kis mennyiségben ugyan (0,001-0,1 mg/100 cm³), de tartalmaz D-aminosavakat (Brückner és Hausch, 1990a; Gandolfi és mtsai., 1992). Ezek részben a tejben található baktériumokból származnak, részben bendőmikroba eredetűek (Brückner és mtsai., 1992, Csapó és mtsai., 1995). A feldolgozási lépések akkor növelhetik számottevően a D-aminosavak mennyiségét, ha hőközléssel, lúgos kezeléssel (Friedman, 1991), vagy fermentációval járnak (Imai és mtsai., 1996). A tej pasztörözése, és ultrapasztörözése nem okozott jelentős D-aminosav arány növekedést a szabad és a fehérjében kötött aminosav-tartalmon belül (Brückner és Hausch, 1990a; Gandolfi és munkatársai, 1992). Ezzel szemben a fermentációs technológiával gyártott tejtermékek

szabad D-aminosav tartalma magasabb volt, mint a nyerstejé. A tejtermékek közül a sajtok tartalmazzák a legtöbb szabad D-aminosavat (10-250 mg/100 g). A sajtokban a D-aminosavak közül általában a D-alanin fordul elő a legnagyobb mennyiségben, és néhány kivételtől eltekintve a D-glutaminsav vagy a D-aszparaginsav szintén jelen van, együtt, vagy külön-külön (Brückner és Hausch, 1990a, 1990b; Brückner és mtsai., 1992).

Élesztővel és penészgombákkal szennyezett grapefruit, narancs és őszibaracklében még magas csíraszám értékeknél sem tudtak D-alanint kimutatni, szemben azokkal a gyümölcs-levelekkel, melyek romlásában főként baktériumok játszottak szerepet (Gandolfi és mtsai., 1994). A baktériumok a káros romlási folyamatok, valamint a fermentációs technológiák alkalmazása során is növelhetik a termékek szabad D-aminosav tartalmát egyrészt sejtfaluk lízise miatt, másrészt a sejtfal bioszintézisében és lízisében résztvevő racemázok, és egyéb enzimek működése révén (Brückner és mtsai., 1992; Gandolfi és mtsai., 1994). A baktériumokban ugyanis racemázok és epimerázok is jelen vannak (Adams, 1972).

A sajtgyártás során a starterkultúrákban előforduló baktériumok általában Gram-pozitívak (*Lactobacillaceae* család, *Propionibacterium*, *Brevibacterium* nemzetség). A Gram-pozitív baktériumok sejtfala viszonylag homogén murein-teichonsav-poliszacharid réteg, mely a baktériumsejt szárazanyag-tartalmának legalább 50%-át teszi ki. Mind az alapvázat adó murein (peptidoglikán), mind a mátrixot alkotó szubsztituált teichonsavak is tartalmazzák D-aminosavakat (Schleifer és Kandler, 1972; Friedman, 1999). A sejtfalból a murein tetrapeptidjében megtalálható D-glutaminsavon és D-alaninon kívül még a következő aminosavakat tudták kimutatni: D-aszparaginsav, D-aszparagin, D-izo-aszparagin, D-glutamin, D-izoglutamin (Schleifer és Kandler, 1972; Tipper és Wright, 1979), D-lizin, D-oritin, D-szerin, és D-prolin (Schleifer és Kandler, 1972; Bottazzi, 1988). A legtöbb fehérjealkotó L-aminosav D-enantiomerje szabad állapotban is megtalálható egyes baktériumsejtek citoplazmájában (Bhattacharyya és Banerjee, 1974). Két, a starterkultúrákban gyakran használt baktérium, a *Lactobacillus casei* és a *Lactobacillus acidophilus* hidrolizátuma egyaránt tartalmazott D-aszparaginsavat, D-glutaminsavat, és D-alanint. Az előbbiben D-leucint, D-allo-izoleucint, D-valint, és D-szerint is ki tudtak mutatni (Brückner és munkatársai, 1992). A fermentált élelmiszerek gyártása során alkalmazott starterkultúrákban előforduló néhány baktériumnemzetség (*Acetobacter*, *Bifidobacterium*, *Brevibacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*) összetételének vizsgálata során a D-aszparaginsav és a D-alanin fordult elő a legnagyobb mennyiségben, és a D-glutaminsav is jelen volt számos esetben. Kevesebb, de még jelentős mennyiségű D-leucint, D-lizint, D-metionint, D-ornitint, D-fenilalanint, D-prolint, D-szerint, D-treonint és D-tirozint is ki tudtak mutatni egyes baktériumokból (Brückner és mtsai., 1993).

A fermentációs technológiáknál is érvényesülnek az új tápközegekbe jutott egysejtű mikroorganizmusok sejtszám-növekedési törvényszerűségei, amely a (logaritmikus) szaporodási görbével írható le. A sajtgyártás kezdetén a starterkultúrával való beoltást követően a maximális növekedési szakasz v. exponenciális (lineáris) szakasz, a sajt érése során a lassulási, az állandósult (stacioner), majd a pusztulási szakasz érvényesül (Scott, 1998). Az érés során a mikrobapopuláció sejtszámának növekedése lassul, majd a stacionárius szakaszban ugyanannyi sejt keletkezik, mind amennyi elpusztul, végül az előcsíraszám lassan csökken (Lynch és mtsai., 1999). Az elpusztult sejtek száma a szaporodási görbe alapján számolható ki, ez az érték a sajtgyártás kezdetén alacsony, majd a sajt érlelése során gyorsan növekszik. Elektronmikroszkópos vizsgálatok szerint a nem élő baktériumsejtek a sajtban létezhetnek többé-kevésbé intakt formában is, teljes sejtfallal, vagy *sphaeroplast* formában, mely esetben a sejtfal a lízis előrehaladottsági fokának megfelelően különböző mértékben felbomlott állapotban van. A lízis folyamatának intenzitására az intracelluláris enzimek aktivitásából lehet következtetni (Wilkinson és mtsai., 1995).

Gandolfi és mtsai. (1992) nyerstej minták 4°C-on történő tárolása során azt tapasztalták, hogy a D-alanin mennyisége a tejben a pszichrotrof mikrobák elszaporodásakor a szaporodási görbe stacioner szakaszában kezdett el emelkedni, és ez folytatódott egészen a hét napos tárolás végéig. Későbbi közleményükben (Gandolfi és mtsai., 1994) sterilizált, majd *Lactobacillus plantarum*mal beoltott grapefruit és körteleveknél szintén a stacioner, illetve a lassuló-stacioner szakaszban tapasztalták a D-alanin tartalom növekedését. A sajtgyártásban a mikrobaszaporodás lassuló, illetve stacioner fázisa az érlelés műveletének idejére esik. Amennyiben hasonló, D-alanin-termelő folyamat a sajtgyártás során is lezajlik, ennek elméletileg az érlelés ideje alatt kellene bekövetkeznie, mint ahogy Brückner és Hausch (1990b) tapasztalta is kecsketejből készült sajt érlelésekor, mikor a D-alanin tartalom 1,1 mg/100 g-ról 10,4 mg/100 g-ra nőtt két hónapos, és 30,7 mg/100 g-ra 12 hónapos érlelés során. A fenti szerzők korábbi közleményükben késztermékek D-aminosav tartalmát vizsgálták, és a parmezán magasabb D-aminosav tartalmát az ementálihoz képest a parmezán magasabb szárazanyag-tartalmának és hosszabb érlelési idejének tulajdonították (Brückner és Hausch, 1990a).

A sajtokban és a starterkultúrák hidrolizátumában leggyakrabban előforduló két másik D-aminosavról: a D-aszparaginsavról és a D-glutaminsavról annyit tudunk, hogy $(D/D+L) \cdot 100$ arányuk a nyerstej tárolása során nem mutatott a D-alaninhoz hasonló növekedést (Gandolfi és mtsai., 1992).

Amennyiben kereskedelmi forgalomban beszerzett sajtféléségek D-aminosav tartalmát hasonlítjuk össze, eltérő alapanyagból, eltérő technológiai lépések sorozatán át előállított termékeket hasonlítunk össze. Az egyes sajtok alapanyagául szolgáló sajttejek D-aminosav tartalmában lévő eltérések valószínűleg nincsenek nagy hatással a késztermékek között mért D-aminosav-tartalom különbségekre, mivel a nyerstej D-aminosav tartalma legalább két nagyságrenddel kisebb (0,001-0,1 mg/100 cm³), mint a kész sajtoké (10-250 mg/100 g). A D-aminosav-tartalomban mért különbséget azonban nem indokolhatjuk azzal, hogy a gyártók egy adott gyártási műveletet (pl. érlelés) eltérő módon valósítottak meg, mivel nem zárható ki, hogy más műveletek során is keletkezhetnek D-aminosavak, és a különböző sajtok gyártása során nem csak egy műveletet valósítanak meg eltérő módon. Amennyiben célunk az egyes műveletek D-aminosav-tartalomra gyakorolt hatásának vizsgálata, nem elég a késztermékek vizsgálata, hanem gyártásközi mintavételre van szükség. Ha a D-aminosavak mennyiségének változását annak folyamatában kívánjuk vizsgálni, kísérleti sajtgyártásra van szükség, ahol a pontos műveleti paraméterek rögzíthetők, és a műveletek előtti és utáni mintavételek megoldhatók. Tudomásunk szerint ilyen vizsgálat még nem történt. Így célul tűztük ki, hogy egy adott sajtgyártási technológiában több mintavételi pontot kialakítva megfigyeljük, növekszik-e a szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin egységnyi szárazanyagra vonatkoztatott mennyisége (I.); módosul-e a D-aminosavak összetétele (II.); illetve a D-enantiomerek aránya a szabad aminosav tartalmon belül (III.) a sajtgyártás során, különös tekintettel az érlelésre. Továbbá megvizsgáltuk, hogy van-e különbség a fenti D-aminosavak mennyiségében annak függvényében, hogy az „AM2”, vagy a „303” jelű *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* törzs tenyésztete adja-e a sajttej érlelése során alkalmazott starterkultúra alapját.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Színtenyészetek és kultúrakészítés

A fagyasztott állapotú törzskultúrák (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303, és *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2) a Corki Egyetem Mikrobiológiai Tanszékének gyűjteményéből származtak (Cork, Írország).

Az anyakultúra teje porlasztva szárított tejporból visszaállított (10%, w/v) sovány tejportej volt, melyet a beoltás előtt autoklávban sterilizáltunk (121°C, 10 min). A tömegkultúra teje hőkezelt (95°C, 30 min) nyerstej volt. A kultúrakészítés első napján a kultúratejet 1% törzskultúrával oltottuk be, majd egy éjszakán át 30°C-on szaporítottuk. Másnap az így kapott anyakultúra 1%-nyi mennyiségével végeztük el az átoltást, melyet újabb éjszakán át tartó inkubálás követett (30°C). Ezt a kultúrát a harmadik napon 2%-os mennyiségben a kultúratejként használt nyerstejhez adtuk és 21°C-on egy éjszakán át szaporítottuk, majd az így kapott üzemi kultúrát használtuk fel a sajttej beoltásához az érlelés során.

Sajtgyártás

Összesen hat sajtgártási folyamatot végeztünk el. Ebből három esetben a beoltáshoz a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303 egytörzstenyészetet, további háromban a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2 egytörzstenyészetet alkalmaztuk. A kétféle sajtgártás csak a starterkultúrák minőségében tért el egymástól, minden egyéb gyártási körülmény azonos volt.

A sajtgártás a Corki Egyetem Kísérleti üzemében történt (Cork, Írország). A sajtgártás alapanyagául szolgáló nyerstej Cork környéki farmokról származó tehének elegyteje volt. Minden egyes sajtgártási folyamathoz 100 l tejet használtunk fel. A tejet pasztöröztük (72°C, 15 s), a kazein-tejsír arányt 0,7-1,0-re állítottuk be, majd 2% (v/v) egytörzstenysézzel (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303, vagy *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2 tenyészetével) oltottuk be. Ezt követően a sajtgártás a standard cheddar sajtgártási technológiának megfelelően történt (Scott, 1998). Az érlelés után - a beoltást követően kb. 1 óra múlva, mikor a sajttej savtartalma 0,20-0,22% volt - következett az oltóenzim (6 cm³) hozzáadása. Mikor az alvadék állaga megfelelő volt (a sajtkađ falától elvált és porcelánszerűen törött), az alvadék felvágása, majd aprítása következett a gél szinerezésének gyorsítása érdekében. Ezt követően az alvadék kavarása, az ún. elősajtolás és az utómelegítés (0,2°C/min 40°C-ig) került sorra. A kađ felmelegítése után a savó-alvadékrög keveréket további intenzív mozgásban tartottuk. Mikor az alvadék kellően szilárd, és savtartalma megfelelő volt (0,20-0,24%, pH=6,05-6,10), leüleptítettük, majd megkezdődött a savó leeresztése. Ezt követte az alvadék különleges kezelése, a cheddarozás, ami kimondottan erre a sajtra jellemző művelet. A savó nagy részének eltávolítása után a sajtkađ közepén csatornát képeztünk, hogy onnan is elszivárogió a savó. Az alvadékađ a kađ szélére tornyoztuk fel, s mikor már jól összetömörült, 15 cm széles táblákra vágtuk fel. A táblákat forgattuk, majd egymásra halmoztuk őket. Eközben az alvadékađ enyhén melegítettük a sajtkađ köpenyébe vezetett 28-35°C-os vízzel. A baktériumok a cheddarozás alatt intenzíven szaporodtak, a pH 5,3 alá csökkent (pH=5,2). Az alvadék állaga az egymásra rétegzés következtében előálló prérhatásra megnyúlt, és a cheddarozás végére a főtt csirkemellhez hasonló szerkezetű volt. A kidolgozott alvadékađ ezt követően ujjnyi nagyságú csikokra aprítottuk, majd az alvadékađ sóztuk (2%), blokkformába tettük, és 75 kPa nyomással 16 óráan át préseltük. A préselés után a sajtokađ vákuumzárással műanyag fóliába csomagoltuk. Az érlelés során a tárolási hőmérséklet 8°C volt.

Mintavétel

Minden egyes sajtgártási folyamatban öt gyártási fázisban vettünk mintát. Először az aprítás és a sózás után, a formázás és a préselés előtt (0. nap); majd másnap a préselés után (1. nap). A három további mintát az érlelés során vettük, a gyártás napjától számított hetedik napon; a 28. napon; illetve kilenc hét után (63. nap). A mintát aprítottuk, liofileztük, majd -24°C-on tároltuk az analízis megkezdéséig.

Mintaelőkészítés

A sajtminták kémiai analízise a Kaposvári Egyetem Kémiai Intézetének Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszékén történt.

A fagyasztva szárított sajtmintákat először lisztfínomságúra aprítottuk (Microculatti daráló), majd 100 cm³-es Erlenmeyer lombikba bemértünk 5 g mintát és hozzáadtunk 20 cm³ 0,1 M sósavoldatot. A szuszpenziót három órán át mágneses keverővel kevertettük, majd egy éjszakán át a hűtőszekrényben állni hagytuk (5°C-on). Másnap reggel a szuszpenziót felráztuk, majd centrifugáltuk (500 g, 10 perc). A felülúszóhoz vele azonos térfogatú 25%-os (w/v) triklórecetsav oldatot adtunk, az oldatot 30 percig állni hagytuk, majd a csapadékot elválasztottuk a folyadékfázistól (500 g, 10 perc). A felülúszóból 4 cm³-t 10 cm³-es mérőlombikba mértünk és 4 M-os NaOH-dal a pH-t 7-re állítottuk be, majd a lombikot desztillált vízzel jelre töltöttük. A fehérjementesített vizes kivonatot az analízis megkezdéséig fagyasztva tároltuk (-24°C), és közvetlenül az analízis előtt 0,45 µm-es hidrofíl membránszűrőn átszűrtük.

A reagensek p.a. minőségűek voltak.

Származékképzés és analízis

Az analízis előtt a D- és L-aminosavakból OPA (o-ftálaldehid) és TATG (1-tio-β-D-glükóz-tetraacetát) reagensekkel diasztereomer párokat képeztünk *Einarsson és misai* (1987) módszere alapján. Az OPA és a TATG reagenseket a Sigmától (St. Louis, MO, USA) szereztük be. Az elválasztást Superspher 60 típusú, RP-8e állófázisú oszlopon (125 mm×4 mm i.d.) végeztük (MERCK, Darmstadt, Németország); a kolonnatermosztát hőmérséklete 40°C volt. A mozgó fázis összetételének változása az elválasztás során az 1. táblázatban látható, az áramlási sebesség 1 cm³/min volt. A „HPLC gradient grade” minőségű acetonitrilt és a metanolt a MERCK-től (Darmstadt, Németország) szereztük be. A detektálás során a diasztereomerek fluoreszcens jelét mértük (λ_{ex}: 325 nm, λ_{em}: 420 nm). A származékképzésre és az analízisre MERCK-Hitachi gyártmányú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfot alkalmaztunk, amely a következő modulokból állt: L-7250 programozható mintaadagoló és származékképző egység, L-7100 szivattyú, L-7350 oszloptermosztát, L-7480 fluoreszcens detektor, és AIA adat-átalakító egység. Az adatgyűjtést és feldolgozást a „D-7000 HPLC System Manager” (HSM) program segítségével végeztük.

1. táblázat

**Az aszparaginsav, a glutaminsav és az alanin enantiomerek
OPA-TATG-származékainak elválasztására alkalmazott gradiensprogram**

Idő (min) (1)	Metanol (v/v%) (2)	Foszfátpuffer (v/v%) (50 mM) (3)	Acetonitril (v/v%) (4)
0	28	72	0
10	28	72	0
40	28	55	17
45	24	36	40
65	24	36	40

Table 1: HPLC gradient program for the separation of the OPA-TATG derivatives of the enantiomers of glutamic acid, aspartic acid and alanine

Time(1), Methanol(2), Phosphate buffer(3), Acetonitril(4)

Az adatok statisztikai értékelése

A gyártási fázisoknak (és a gyártási folyamatnak) a D-aminosavak abszolút mennyiségére gyakorolt hatását az alkalmazott törzsek esetében külön-külön is elemeztük, egytényezős varianciaanalízissel. A gyártási folyamatoknál azt vizsgáltuk, hogy az azonos körülmények között végzett három egymást követő gyártás a várákosításoknak megfelelően azonos D-aminosav tartalmat eredményezett-e. Amennyiben a gyártási folyamatok szignifikáns hatást gyakoroltak a változókra, Martin (1998) módszerén alapulva blokkelrendezést alkalmaztunk, egy faktor (a gyártási fázis) tanulmányozására. A gyártási fázisok hatását úgy elemeztük, hogy a gyártási folyamatokat blokkoknak tekintettük, és ezáltal jelentősen sikerült csökkentenünk a hibavariációt. A gyártási fázis és a törzshatás vizsgálatára kéttényezős varianciaanalízist alkalmaztunk mind az aminosavak abszolút mennyisége, mind a százalékos mutatók esetében. A középértékek összehasonlítását Student-Newman-Keuls-tesztel valósítottuk meg. A számításokat az SPSS 10.0 (1999) statisztikai programmal végeztük.

EREDMÉNY ÉS ÉRTÉKELÉS

Az eredmények értékelése során három változót elemeztünk: a szabad D-aminosavak abszolút mennyiségét (mg/100 g), a D-aminosav összetételt [(D-aminosav/ Σ D-aminosav)*100] és a D-enantiomer arányát adott szabad aminosav mennyiségén belül [(D/D+L)*100]. A gyártási folyamat (A); a gyártási fázis (B); és a starterkultúra (C) volt az a tényező, melynek a változókra gyakorolt hatását vizsgáltuk.

A gyártási fázis, a starterkultúra (és a gyártási folyamat) hatása a szabad D-aminosav tartalomra

A gyártási fázisoknak (és a gyártási folyamatnak) a D-aminosavak abszolút mennyiségére gyakorolt hatását a két különböző egytörzstenyészet használatakor külön-külön is megvizsgáltuk. A *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303 egytörzstenyészetével gyártott sajtokban a három egymást követő gyártási folyamat nem eredményezett szignifikáns eltérést ($P>0,05$) a D-aszparaginsav, a D-glutaminsav, és a D-alanin tartalomban. A D-aminosavak mennyiségét nem befolyásolta az, hogy egymás után hányadik sajtgyártási folyamatban készült a sajt. Ez azt jelenti, hogy a három ismétlés során ténylegesen nem volt különbség olyan technológiai paraméterben, mely a mért változókra jelentős hatással van. A különböző gyártási fázisban vett minták közül legalább kétfőben szignifikáns különbség volt az átlagos ($N=3$) D-aszparaginsav ($P<0,05$), D-glutaminsav ($P<0,01$), és D-alanin tartalomban ($P<0,05$). A D-aszparaginsav és a D-glutaminsav tartalom jelentősen több volt a préselés után, mint a préselés előtt (2. A. táblázat), viszont ezt követően, az érlelés során gyakorlatilag nem változott. A D-alanin tartalom mennyisége fokozatosan emelkedett, egészen az utolsó mintavételi pontig, az érlelés kilencedik hetéig. A préselés előtti alvadék D-alanin tartalma szignifikánsan kisebb volt, mint az egy hónapig érlelt sajté. A préselés utáni sajt D-alanin tartalma szignifikánsan kisebb volt, mint a kilenc hétig érlelt sajté.

A *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2 egytörzstenyészetével gyártott sajtok esetében a gyártási folyamatok között jelentős eltérés volt a vizsgált három D-aminosav szintjében ($P<0,01$), a harmadik gyártás során mindhárom D-aminosav mennyisége szignifikánsan magasabb volt, mint az első és a második gyártásnál. A gyártási fázisok között nem volt kimutatható különbség ($P>0,05$). Ennek az oka az volt, hogy az előző, „303” jelű törzs elemzéséhez képest megnövekedett a becsült hibavariancia (MS_E) a harmadik gyártási folyamat kiugró értékei miatt. A hibavariancia csökkentése érdekében

a három gyártási folyamatot blokkoknak tekintettük, a tanulmányozni kívánt faktor a gyártási fázis volt (Martin, 1998). E modell alkalmazásával azt az eredményt kaptuk, hogy a D-aszparaginsav ($P<0,05$) és a D-alanin ($P<0,01$) mennyisége jelentősen különbözött legalább két gyártási fázis között, míg a D-glutaminsav tartalom nem különbözött jelentősen a gyártási fázisok között ($0,05<P<0,1$).

A D-aszparaginsav tartalom a préselés előtti és utáni fázisban különbözött csupán, és az érlelés során nem változott, mint a „303” jelű törzs esetében (2. B. táblázat). A D-alanin tartalom emelkedési tendenciája hasonló volt, mint a „303” jelű törzs esetében: több D-alanin volt az egy hétig érlelt sajtokban, mint az érlelés előtt (a préselés után); és magasabb volt a D-alanin szintje kilenc hetes érlelés után, mint egy hónapos érlelés után.

2. táblázat

A cheddar sajtok szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin tartalmának alakulása a sajtgyártás során, két különböző egytörzstenyészet használatakor

A. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303

Átlag (N=3) (mg/100 g szárazanyag)	Sajtgyártás kezdetétől eltelt idő (nap) (2)				
	0	1	7	28	63
	Gyártási fázis (3)				
(1)	Préselés előtt (4)	Préselés után (5)	Érlelés (6)	Érlelés(6)	Érlelés(6)
D-Asp	0,98 ^a	1,89 ^b	2,17 ^b	2,21 ^b	2,37 ^b
D-Glu	4,11 ^a	6,01 ^b	6,60 ^b	6,44 ^b	6,39 ^b
D-Ala	1,83 ^a	2,44 ^{ab}	3,12 ^{abc}	3,78 ^{bc}	4,48 ^c

B. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2

Átlag (N=3) (mg/100 g szárazanyag)	Sajtgyártás kezdetétől eltelt idő (nap)				
	0	1	7	28	63
	Gyártási fázis				
	Préselés előtt	Préselés után	Érlelés	Érlelés	Érlelés
D-Asp	0,59 ^a	1,07 ^b	1,38 ^b	1,47 ^b	1,48 ^b
D-Glu	2,69	3,57	4,27	4,21	4,08
D-Ala	1,01 ^a	1,23 ^a	1,73 ^b	1,97 ^b	2,31 ^c

^{abc} Azok az egy sorban lévő átlagok, ahol egy vagy több index közös, nem különböznek. (Averages in one row with common superscript do not differ.) Az index hiánya azt jelzi, hogy a varianciaanalízis nem mutatott szignifikáns különbséget a csoportok között, így a középértékek páronkénti összehasonlítását nem végeztük el. (Absence of superscript means that there were no significant differences among groups.)

Table 2: The free D-aspartic acid, D-glutamic acid and D-alanine content of cheddar during processing with the use of two different starter strains

Average of D-amino acid content (mg/100 g dry matter)(1), Time interval from the beginning of processing(2), Stage of processing(3), Before pressing(4), After pressing(5), Ripening (6)

A két különböző egytörzstenyészet használatával végzett sajtgyártási folyamatokat együttesen vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a gyártási folyamatoknak a D-aminosavak abszolút mennyiségére gyakorolt hatása nem volt szignifikáns ($P>0,05$).

A különböző gyártási fázisokban vett minták legalább két esetben különböztek a D-aszparaginsav és a D-alanin tartalmában, azonban nem volt szignifikáns különbség a D-glutaminsav ($P=0,273$) és a teljes D-aminosav tartalmában ($P=0,063$) (3. táblázat). A két különböző starterkultúrával készített sajt között jelentős különbség volt a D-aszparaginsav, a D-glutaminsav, és a D-alanin tartalmában, és a vizsgált D-aminosavak összegében is.

3. táblázat

A gyártási fázis és a starterkultúra hatása a D-aszparaginsav, D-glutaminsav, és D-alanin tartalomra a cheddar sajt gyártása során

Tényezők (1)	D-aminosavak mennyisége (mg/100 g) (2)			
	D-Asp	D-Glu	D-Ala	D-Asp+D-Glu+D-Ala
Gyártási fázis (B) (3)	*	NS	**	NS
Starterkultúra (C) (4)	**	**	***	**
B X C	NS	NS	NS	NS

* $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$

Table 3: The influence of processing steps and applied different starter strains on the D-aspartic acid D-glutamic acid and D-alanine content of cheddar during processing

Traits(1), D-amino acid concentration (variables)(mg/100 g)(2), Processing steps(3), Starter strains(4)

A különböző gyártási fázisokban mért D-aszparaginsav tartalom elemzése a két különböző starterkultúrával készített sajtok együttes vizsgálatakor hasonló eredményt adott, mint amelyet mindkét törzsnél külön-külön is tapasztaltunk: a D-aszparaginsav mennyisége nagyobb volt a préselést követő érés első hete után, mint a préselés előtt ($P<0,05$); viszont ezt követően, az érlelés során (7-63 nap) gyakorlatilag nem változott. A D-glutaminsav mennyisége a gyártás során gyakorlatilag nem változott. Bár a „303” törzsnél a préselésnél emelkedést tapasztaltunk, nem kaptunk szignifikánsan nagyobb értékeket az „AM2” törzsnél, és az együttes elemzéskor is az utóbbi tendencia érvényesült. A D-alanin tartalom fokozatos növekedése azonos tendenciát mutatott mindkét törzsnél, és így az együttes elemzésben is: a préselés előtt kisebb volt a D-alanin tartalom, mint a 28 napos érlelés után; és 63 napos érlelés után több volt, mint a préselés után, azaz az érlelés megkezdése előtt ($P<0,05$).

A gyártási fázis, a starterkultúra (és a gyártási folyamat) hatása a szabad D-aminosav összetételre

Szabad D-aminosav összetétel alatt jelen esetben azt értjük, hogy a szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav, és D-alanin mennyisége a vizsgált szabad D-aminosavak összegének hány százalékát teszi ki.

A hat gyártási folyamat között nem volt jelentős eltérés a szabad D-aminosavak összetételében ($P>0,05$). A gyártási fázisok D-aminosav-összetétele szignifikánsan különbözött egymástól (4. táblázat), tehát a gyártás folyamata során a termék D-aminosav „mintázata” változott. A starterkultúra választás nem gyakorolt jelentős hatást

a D-aszparaginsav, a D-glutaminsav, és a D-alanin D-aminosav tartalom belüli arányára ($P>0,05$), tehát a két starterkultúra használatától függően nem különbözött jelentősen a D-aminosav összetétel.

4. táblázat

A gyártási fázis és a starterkultúra hatása a D-aminosav-összetételre a cheddar sajt gyártása során (D-aminosav-összetétel: a D-aszparaginsav, a D-glutaminsav, és a D-alanin mennyisége a vizsgált D-aminosavak összegének hány százalékát teszi ki)

Tényezők (1)	Aminosav-összetétel (2)		
	D-aminosav/ Σ D-aminosav (%) (3)		
	D-Asp	D-Glu	D-Ala
Gyártási fázis (B) (4)	***	***	**
Starterkultúra (C) (5)	NS	NS	NS
B X C	NS	NS	NS

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

Table 4: The influence of processing steps and applied different starter strains on the D-amino acid composition of cheddar during processing (D-amino acid composition means the percentage ratio of D-aspartic acid, D-glutamic acid and D-alanine within the sum of all of these amino acids)

Traits(1), D-amino acid composition (variables)(2), D-amino acid/ Σ D-amino acid(3), Processing steps(4), Starter strains(5)

5. táblázat

A D-aminosav-összetétel alakulása a cheddar sajt gyártása során (D-aminosav/ Σ D-aminosav (%))

Átlag (N=6) (%) (1)	Sajtgyártás kezdetétől eltelt idő (nap) (2)				
	0	1	7	28	63
	Gyártási fázis (3)				
	Préselés előtt (4)	Préselés után (5)	Érlelés (6)	Érlelés	Érlelés
D-Asp/ Σ D-aminosav	13,9 ^a	18,1 ^b	18,3 ^b	18,5 ^b	18,2 ^b
D-Glu/ Σ D-aminosav	62,0 ^c	59,0 ^c	56,6 ^{bc}	52,6 ^{ab}	49,6 ^a
D-Ala/ Σ D-aminosav	24,2 ^{ab}	22,9 ^a	25,1 ^{ab}	28,8 ^{bc}	32,1 ^c

^{abc} Azok az egy sorban lévő átlagok, ahol egy vagy több index közös, nem különböznek. (Averages in one row with common supercript do not differ.)

Table 5: Changes in D-amino acid composition during processing cheddar cheese (D-amino acid / Σ D-amino acid (%))

Average of D-amino acid composition (D-amino acid/ Σ D-amino acid (%))(1), Time interval from the beginning of processing(2), Stage of processing(3), Before pressing(4), After pressing(5), Ripening(6)

A D-aszparaginsav aránya a teljes D-aminosav tartalomon belül nagyobb hányadot tett ki a préselés után, mint a préselés előtt, és ezt követően már nem változott (5. táblázat). A D-glutaminsav aránya a préselés során, valamint a préselés és az érlelés első hete között nem változott, de az érlelés 7. napján magasabb volt, mint az érlelés 63. napján. A D-alanin aránya magasabb volt az érlelés 63. napján, mint az érlelés 7. napján. Az érlelés során a D-aminosav összetétel tehát úgy alakult, hogy változatlan D-aszparaginsav arány mellett a D-alanin arány nőtt, a D-glutaminsav aránya pedig csökkent a D-aminosav tartalomon belül.

A gyártási fázis, a starterkultúra (és a gyártási folyamat) hatása a szabad aminosav tartalomon belül a D-enantiomer arányának alakulására

Adott szabad aminosav esetében a D-enantiomer arányát a $(D/D+L)*100$ százalékos aránnyal fejeztük ki.

A gyártási folyamatok között nem volt jelentős különbség a D-enantiomerek arányában a szabad aszparaginsav, glutaminsav, és alanin tartalomon belül ($P>0,05$). A gyártási fázisok hatása szignifikáns volt a glutaminsav és az alanin esetében (6. táblázat). A starterkultúrák között is jelentős különbséget találtunk a D-enantiomerek arányában a szabad glutaminsav és a szabad alanin tartalomon belül.

6. táblázat

A gyártási fázis és a starterkultúra hatása a D-enantiomer arányára adott szabad aminosav tartalomon belül

Tényezők (1)	D-enantiomer aránya adott szabad aminosavban (2)		
	D-aminosav/D+L-aminosav (%) (3)		
	Asp	Glu	Ala
Gyártási fázis (B) (4)	- ^a	***	**
Starterkultúra (C) (5)	- ^a	***	***
B X C	- ^a	**	NS

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; ^aAz aszparaginsav $(D/D+L)*100$ aránya a csoportvarianciák inhomogenitása miatt ($P < 0,001$) varianciaanalízissel nem értékelhető. Az adatok transzformálása sem volt eredményes. (*The influence of processing steps and strains on the $(D/D+L)*100$ ratio of D-aspartic acid can not be evaluated with analysis of variance due to the inhomogeneity of variances among groups which cannot be eliminated with transformation of data.*)

Table 6: The influence of processing steps and applied different starter strains on the ratio of D-enantiomer within the free amino acid content

Traits(1), Tre ratio of the D-enantiomer within the free amino acid content (variables)(2), D-amino acid/D+L-amino acid(3), Processing steps(4), Starter strains(5)

A glutaminsavban a D-enantiomer aránya jelentősen magasabb volt az érlelés hetedik napján, mint a préselés előtt és után. Az érlelés 28. napján magasabb volt a D-glutaminsav aránya, mint az érlelés hetedik napján (7. táblázat). A D-glutaminsav abszolút mennyisége nem növekedett jelentősen (3. táblázat), viszont a $(D/D+L)*100$ arány szignifikánsan nőtt az érlelés során, mivel az L-glutaminsav abszolút mennyisége csökkent.

Az alanin esetében csak a préselés előtti és utáni minták D-enantiomer-arányában volt különbség, az érés során a D-alanin aránya a szabad alanin tartalom belül változatlan maradt. Az éréskor a szabad D-alanin abszolút mennyiségének növekedésével azonos arányban nőtt a szabad L-alanin tartalom.

A starterkultúra választás szignifikáns hatást gyakorolt a D-enantiomer-arányra a glutaminsav és az alanin esetében (6. táblázat). A „303” törzssel gyártott sajtok szabad glutaminsav és alanin tartalmán belül a D-enantiomer nagyobb hányadot tett ki, mint az „AM2” törzsnél. Ezen D-aminosavak abszolút mennyisége is több volt a „303” törzsnél, mint az „AM2” törzsnél (2. és 3. táblázat). A szabad L-aminosavak mennyisége nem volt a D-aminosav tartalommal arányosan magasabb a „303” törzsben.

7. táblázat

A D-enantiomerek arányának változása a szabad aminosav tartalom belül a cheddar sajt gyártása során ((D/D+L)*100)

Átlag (N=6) (%) (1)	Sajtgyártás kezdetétől eltelt idő (nap) (2)				
	0	1	7	28	63
	Gyártási fázis (3)				
	Préselés előtt (4)	Préselés után (5)	Érlelés (6)	Érlelés	Érlelés
Asp	28,2*	35,8*	38,5*	38,3*	36,4*
Glu	24,9 ^a	26,4 ^a	51,6 ^b	82,2 ^c	81,0 ^c
Ala	54,0 ^b	46,6 ^a	48,0 ^a	45,4 ^a	43,5 ^a

^{abc} Azok az egy sorban lévő átlagok, ahol egy vagy több index közös, nem különböznek. (*Averages in one row with common superscript do not differ.*); *Az aszparaginsav aránya a csoportvarianciák inhomogenitása miatt ($P < 0,001$) varianciaanalízissel nem értékelhető. Így az átlagokat sem lehet összehasonlítani. (*The influence of processing steps on the (D/D+L)*100 ratio of D-aspartic acid can not be evaluated with analysis of variance due to the inhomogeneity of variance among groups. This means that averages cannot be compared.*)

Table 7: The changes of the ratio of the D-enantiomer within the free amino acid content during processing cheddar ((D/D+L)*100)

Average of D-enantiomer ratio ((D/D+L)*100)(1), Time interval from the beginning of processing(2), Stages of processing(3), Before pressing(4), After pressing(5), Ripening(6)

KÖVETKEZTETÉSEK

Ha a starterkultúra eredetű baktériumok csíraszám változását vizsgáljuk az idő függvényében, a préselés alatt élénk mikrobatevékenység folyik, és elméletileg a populáció növekedése ilyenkor még a logaritmikus szakaszban van, az elpusztult baktériumsejtek száma csekély (Scott, 1998), így elvileg a *sphaeroplast* állapotban lévő starter eredetű baktériumok száma sem jelentős. Kísérletünk során azonban a sajt szárazanyagának D-aszparaginsav tartalma mindkét törzskultúra, D-glutaminsav tartalma pedig a „303” jelű törzskultúra használatakor jelentősen nőtt a préselésnél. A sajtgyártás során bakteriofág-fertőzés nem volt, így lízist sem okozhatott. Nem zárható ki, hogy a préseléskor kialakuló erőhatások valamilyen szinten elősegítették egyes sejtek

lízisét, de ennek kicsi a valószínűsége, mivel a préselés során alkalmazott nyomás négy nagyságrenddel kisebb volt, mint amely a nyerstej csíraszám-csökkentéséhez szükséges (Mészáros és mtsai., 2002).

A D-alanin mennyiségének fokozatos emelkedését Brücker és Hausch (1990b) is tapasztalta kecskesajt érlelése során. Az abszolút értékben mért emelkedést ők azonban nagyobbak mérték: két hónapos érlelés során tízszeres koncentráció növekedést tapasztaltak, míg jelen esetben a cheddar sajtnál kilenc hét alatt csak körülbelül két és félszeresére nőtt a D-alanin tartalom. Nyerstej tárolásakor, illetve gyümölcsle alapú fermentumokban is jelentős D-alanin tartalom növekedést tapasztaltak a mikrobaszaporodás stacioner szakaszában (Gandolfi és mtsai., 1992, 1994). A cheddar sajt érlelésének általunk vizsgált szakaszában a D-alanin mennyiségének növekedésében közrejátszhat az, hogy az érési idő előrehaladtával egyre több az elpusztult baktériumsejt a sajtban, melyek egy része lízist szenved, így a sejtfalból (és a citoplazmából) egyes D-aminosavak kijuthatnak a sejtből.

Annak ellenére, hogy a D-aszparaginsav és a D-glutaminsav is megtalálható a sejtfalban (Schleifer és Kandler, 1972; Tipper és Wright, 1979), koncentrációjuk nem változott szignifikánsan az érlelés 9. hetéig a cheddar sajt gyártása során. Gandolfi és mtsai. (1992) nyerstej 4°C-on történő tárolása során egy hét alatt nem tapasztaltak növekedést sem a szabad D-aszparaginsav sem a szabad D-glutaminsav tartalmában. A 12 hónapig érlelt kecskesajt azonban jelentősen több D-glutaminsavat tartalmazott, mint a két hónapig érlelt (Brücker és Hausch, 1990b). Valószínűleg az általunk vizsgált érlelési időszakban (0-9 hét) még nem voltak jelentősek azok a lízissel összefüggő folyamatok, melyek a D-glutaminsav (és esetleg a D-aszparaginsav) felszabadulásával járhatnak a bakteriális sejtfalból és a citoplazmából.

Ha a szabad alanin tartalmon belül vizsgáljuk a D-enantiomer részarányát, azt tapasztaljuk, hogy az érlelés során ez az arány nem változik, annak ellenére, hogy sajtgyártás során az érés mélységének a növekedésével a szabad L-alanin mennyisége nő, mivel a proteinázok és peptidázok hatására a kazeinből képződött peptidek kisebb peptidekre és szabad aminosavakra bomlanak le (Wilkinson és mtsai., 1995; Lynch és mtsai., 1999). A D-aminosavak mennyiségének növekedése gyakorlatilag követi az L-aminosavak mennyiségének növekedését. Elképzelhető, hogy a szabad D-alanin tartalom egy része a sajtjélesztében található szabad L-alaninból jött létre az alanin racemáz hatására, amennyiben ez az enzim a baktériumsejten kívül is képes jelentékenyen működni. Amennyiben képes, az L-D átalakulási folyamat felerősödhet az érés során. Ennek két oka lehet. Egyrészt a citoplazmában található alanin racemáz felszabadulhat a lízist szenvedett sejtekből, és a lízis intenzívebbé válásával aktivitása nőhet. Másrészt az érés mélységének és a szabad aminosavak mennyiségének növekedésével a sejtből kiszabadult bakteriális eredetű racemáz egyre több szubsztrátra lelhet.

A *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303 egysejtkultúrával gyártott sajtok mindegyik D-aminosavból jelentősen többet tartalmaztak, és a D-enantiomer aránya is nagyobb hányadot tett ki a teljes (L+D) szabad glutaminsav és az alanin tartalmon belül, mint a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2 egysejtkultúrával gyártott sajtok. Valószínűleg ennek az volt az oka, hogy az előbbi kultúra használatánál a D-aminosav-termelődés intenzívebb volt. Nem zárható ki, hogy a „303” jelű törzs adott gyártási körülmények között hajlamosabb a lízisre, mint az „AM2” jelű törzs, és így sejteiből több D-aminosav szabadul fel, illetve alakul ki enzimes úton. A baktériumtörzsek között a lízisre való hajlandóságban jelentős különbség lehet. Csak az intacelluláris enzimek aktivitásának a mérésével (Wilkinson és mtsai., 1995) lehetne megbizonyosodni arról, hogy a cheddar sajt gyártása során tényleg különbözik-e ez a két törzs a lízis

szempontjából. A szabad D-aminosav-összetételben azonban nem volt különbség annak függvényében, hogy a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 303, vagy a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2 törzset alkalmaztuk a sajtgyártás során.

IRODALOM

- Adams, E. (1972). Racemases and epimerases. The enzymes. Boyer, P.D., Ed.; Academic Press, New York, 6. 479.
- Bhattacharyya, S.R., Banerjee, A.B. (1974). Folia Microbiol., 19. 43-50.
- Botazzi, V. (1988). Biochimie, 70. 303-315.
- 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, 6. 357-360.
- Brückner, H., Hausch, M. (1990b). D-amino acids in dairy products: detection, origin and nutritional aspects. II. Ripened cheeses. Milchwissenschaft, 7. 421-425.
- Brückner, H., Jaek, P., Langer, M., Godel, H. (1992). Liquid chromatographic determination of D-amino acids in cheese and cow milk. Implication of starter cultures, amino acid racemases, and rumen microorganisms on formation, and nutritional considerations. Amino acids, 2. 271-287.
- Brückner, H., Becker, D., Lüpke, M. (1993). Chirality of amino acids of microorganisms used in food biotechnology. Chirality, 5. 385-392.
- 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.
- Gandolfi, I., Palla, G., Delprato, L., De Nisco, F., Marchelli, R., Salvadori, C. (1992). D-amino acids in milk as related to heat treatments and bacterial activity. J. of Food Sci., 2. 377-379.
- Gandolfi, I., Palla, G., Marchelli, R., Dossena, A., Puelli, S., Salvadori, C. (1994). D-alanine in fruit juices: a molecular marker of bacterial activity, heat treatments and shelf-life. J. of Food Sci., 1. 152-154.
- 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.
- Friedman, M. (1991). Formation, nutritional value, and safety of D-amino acids. In Nutritional and toxicological consequences of food processing. Friedman, M. Ed. Plenum Press, New York, 447-481.
- Friedman, M. (1999). Chemistry, nutrition, and microbiology of D-amino acids. J. Agric. Food Chem., 47. 3457-3479.
- Imai, K., Fukushima, T., Santa, T., Homma, H., Hamase, K., Sakai, K., Kato, M. (1996). Analytical chemistry and biochemistry of D-amino acids. Biomedical Chromatography, 10. 303-312.
- Man, E.H., Bada, J.L. (1987). Dietary D-amino acids. Ann. Rev. Nutr., 7. 209-225.
- Mészáros L., Koncz K.-né, Farkas J., Páztorné Huszár K., Helt R., Lechner N. (2002). A nyerstej pasztörözése nagy hidrosztatikus nyomással. XIV. Élelmiszertudományi Konferencia kiadványa. Budapest, 13.
- Lynch, C.M., Muir, D.D., Banks, J.M., McSweeney, P.L.H., Fox, P.F. (1999). Influence of adjunct cultures of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* or *Lactobacillus plantarum* on Cheddar cheese ripening. J. Dairy Sci., 82. 1618-1628.
- Martin, T.G. (1998). Statistical procedures for agricultural research. Egyetemi jegyzet, kiadták a PATE-ÁTK nyomdájában, 53-55.

- Scott, R. (1998). Bacteriology in relation to cheesemaking. In Cheesemaking practice; Scott, R., Ed. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, 66-68.
- Schleifer, K.H., Kandler, O. (1972). Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic implications. Bact. Rev., 4. 407-477.
- Tipper, D.J., Wright, A.(1979). The structure and biosynthesis of bacterial cell wals. In The bacteria, Sokatch, J.R., Ornston, L.N., Eds. Academic Press, New York, 7. 291-426.
- Wilkinson, M.G., Guinee, T.P., O'Callaghan, D.M., Fox, P.F. (1995). Effect of cooking temperature on the autolysis of starter, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* AM2, and the maturation of Cheddar cheese. Milchwissenschaft, 7. 376-380.

Levelezési cím (*corresponding author*):

Vargáné Visi Éva

Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar
7401 Kaposvár, Pf. 16.

*University of Kaposvár, Faculty of Animal Sciences
H-7401 Kaposvár, P.O.Box 16.*

Tel.: 36-82-314-155, Fax: 36-82-320-175

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



Az íz szerepe a hús élvezeti értékében (Irodalmi áttekintés)

¹Óváry M., ²Holló G., ¹Ábrahám Cs., ²Csapó J., ¹Seenger J., ²Holló I.,
¹Szücs E.

¹Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Gödöllő, 2103 Páter K. u. 1.

²Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar, Kaposvár, 7400 Guba Sándor u. 40.

ÖSSZEFOGLALÁS

A húsfogyasztás csökkenő tendenciát mutat, ezért előtérbe kerültek a hús minőségét, ízét, illetve az azt befolyásoló tényezőket feltáró kutatások. A nyers húsnak nincs meghatározó íze, az egyes húsok jellegzetes zamatát a feldolgozás, a főzés során keletkező íz- és illatanyagok alakítják ki. Az íz mérésére számos analitikai eljárást dolgoztak ki, a legújabb technikákat is felhasználva, mégis, az mondható el, hogy a legátfogóbb értékelésre a fogyasztók és szakemberek bevonása elengedhetetlen. A hús élvezeti értékét, ízét, illetve az ezt kialakító komponensek (zsírsavak és egyéb vegyületek) arányát legegyszerűbben a takarmány megváltoztatásával lehet befolyásolni. Általánosan elfogadott, hogy koncentrált takarmány hatására a hús intenzívebb ízű, mint az alacsony energiatartalmú zöldtakarmányok esetében, viszont az utóbbi hatására kialakuló zsírsavarányt (telítetlen zsírsavak mennyiségének növekedése) egészségesebbnek tartják. Befolyásoló tényező még a genotípus, a faj, ill. fajta, és a feldolgozás, elkészítés módja. A szélsőségeket elkerülve, s a fogyasztó egészségét szem előtt tartva, a zamat javításával befolyásolhatjuk a fogyasztókat. (Kulcsszavak: hús íz, élvezeti érték, zsírsavak, takarmányozás, fajta)

ABSTRACT

Role of flavour in palatability of meat (A review)

M. ¹Óváry, G. ²Holló, Cs. ¹Ábrahám, J. ²Csapó, J. ¹Seenger, I. ²Holló, E. ¹Szücs

¹Szent István University, Faculty for Agricultural and Environmental Sciences, Gödöllő, H-2103 Páter K. u. 1.

²University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Kaposvár, H-7400 Guba Sándor u. 40.

The time being, decreasing tendency in worldwide meat consumption has focussed efforts on research seeking factors influencing palatability of meat including flavour. However, raw meat does not seem to have any characteristic flavour. Typical taste is being established and/or created mainly during processing, cooking and frying provided by aromatic and odorant agents formed. In spite of the fact that using wide range of sophisticated analytical techniques have been recently elaborated to analyse flavour of meat, inclusion of consumers and trained panel is inevitably needed for complex organoleptic evaluation. The easiest way to alter the taste of meat can be achieved by feeding rations influencing fatty acid content and composition of adipose tissues and intramuscular fat, the derivatives of which determine ultimate flavour and/or aroma. Prevailing opinions generally agree that the intense meat flavour can developed by feeding of concentrates based rations in comparison to roughage or green fodder of low energy content. On the other hand, feeding roughage based diets the

level of unsaturated fatty acids increases improving requirement towards healthy meat. Further factors may influence meat flavour are genotype (species and breed), processing and cooking practice. Summing up the conclusions, one way to master consumers' averseness can be altered by improvement of palatability where emphasis has to be laid on production of healthy meat resulting in increased consumption.

(Keywords: meat flavour, palatability, fatty acids, nutrition, breeds)

BEVEZETÉS

Az íz- és szagérzet folyadék, illetve gázállapotú anyagok által az idegvégződésekben kifejtett ingerek agyközpontban létrejött tudata. Az ingerek együttes észlelését zamatnak hívjuk. Általánosan elfogadott az, hogy alapvetően csak négyféle íz van: édes, savanyú, sós és keserű, amiket a nyelv különböző területén elhelyezkedő ízlelőbimbókban a nem illékony, oldható vegyületek váltanak ki. Az alapízeken kívül megkülönböztetünk még ízfokozó anyagokat, melyek a kimutató küszöb alatti koncentrációban valamely más ízanyag hatásait a szájban fokozzák, az élelmiszernek kellemes vagy kellemetlen zamatot adnak. Legismertebb ízfokozó az L-glutaminsav nátrium sója és az 5'-inozin-monofoszfát (Fuke és Konosu, 1991). A hús illatát az illékony összetevők okozzák, amelyeket az orr hátsó oldalán elhelyezkedő olfaktorális receptorok kötnek meg. Aromanyagoknak vagy illatanyagoknak nevezzük azokat a vegyületeket, amelyek az élelmiszerek szagérzetét keltik. Az aromanyagok egy része nemcsak a szagérzet, hanem az ízérzet kialakításában is részt vesz. Az aromanyagok illékony vegyületek, melyeknek azon mértékét, amely még elegendő a szagérzet felismerésére, küszöbkonzentrációnak nevezzük. Ez függ a hőmérséklettől és a közegtől, de minden aroma esetében más és más.

Valamely élelmiszer ízét legtöbbször nem egy, hanem több ízanyag vagy más ízhatást befolyásoló anyag együttes fellépése és egyéb külső körülmények (pl. hőmérséklet) is befolyásolják. Az ipari feldolgozás során is különféle zamatanyagok alakulhatnak ki. A füstöléskor speciális vegyületek adszorbeálódnak a termékek felületén, majd lassú diffúzióval bejutnak a termék belsejébe. A pörkölés célja elsősorban a megfelelő zamatanyagok kialakítása. A hőkezelés során a szénhidrátok egyik lehetséges átalakulása a karamellizáció, amely bonyolult pirolitikus folyamat. A zsiradékok ugyan hőhatással szemben jobban ellenállók, azonban már alacsonyabb hőmérsékleten is keletkeznek belőlük olyan jellegzetes zamatanyagok, amelyek zsírban oldódnak és színük a világosbarnától a sötétbarnáig változik (Csapó, 2000).

A kérődzők fajspecifikus zamatanyagai a húsokban szoros kapcsolatban vannak a lipidfrakció vegyületeivel. A juh- és bárányhúsok illatanyagai, az édeskés zamat kialakulása, összefügg a közepes lánc hosszúságú zsírsavakkal, melyek közül a legfontosabb az elágazó láncú 4-metil-oktánsav. A sertéshúsban nagy mennyiségben vannak jelen a gamma-C⁵, -C⁹ és -C¹² laktonok, melyek nagy valószínűséggel a hús édeskés ízét okozzák (Meynier et al., 1998). Párolt csirkében a linolénsavból és arachidonsavból keletkező illatanyagok járulnak hozzá elsősorban a jellegzetes zamat kialakításához. Az íz a főzés, melegítés hatására fejlődik ki. A melegítéskor jelentős mennyiségben keletkeznek illatanyagok, melyek nagyon hasonlóak a redukáló cukrok és az aminosavak reakciói során keletkező barnulási reakciótermékekhez, bár azok nem illékonyak (Kersch et al., 1998). (Az erre vonatkozó értékelést részletesebben később fejtjük ki.) Az illatanyagok lehetnek nyílt láncúak, vagy gyűrűs vegyületek, nitrogén-, kén-, vagy oxigénatomot tartalmazó heterociklusos vegyületek. Előfordulnak a sült és főtt húsokban, a kávéban, a pörkölt mogoróban, a kakaóban és a sütőipari termékekben. Főzés hatására a cisztein lebontódása során kén-hidrogén, ammónia és acetaldehid keletkezik.

A zamatnak két összetevőjét határozhatjuk meg. Az egyik a nem-fajspecifikus, amely minden húsról jellemző, a másik a fajspecifikus, amely alapján különbséget tehetünk a marha, sertés, csirke, vagy más állatfajok húsa között. Az első csoportba a kis molekulatömegű, vízzoldékony vegyületek tartoznak, mint pl. a szabad cukrok, cukor-foszfátok, szabad aminosavak, peptidok, nukleotidok, és egyéb nitrogéntartalmú vegyületek. A fajspecifikus zamat a húspanban jelen lévő zsír melegítésének hatására főleg foszfolipidekből, alacsonyabb hőmérsékleten pedig a trigliceridekből származik (Warris, 2000). Amint a későbbiekben is látni fogjuk, a hús zsírtartalma nagyon fontos szerepet játszik az íz kialakításában, mert számos illékony vegyület zsírban oldódik.

A HÚS ÍZÉT MEGHATÁROZÓ VEGYÜLETEK ÉS ANALITIKAI MÓDSZEREK

A hús ízében közrejátszó vegyületek

A hús zamatát több ezer vegyület együttes hatása alakítja ki (Shahidi *et al.*, 1986), azonban ezekből csak viszonylag kis mennyiség lényeges az íz kialakítása szempontjából. Az íz kialakulásának két fontos tényezője van, az adott vegyület mennyisége, és küszöbértéke.

A hús főzése a legegyszerűbb módja az íz kialakulásának. Ekkor először a redukáló cukrok reagálnak az aminosavakkal. A hús ízéhez jelentős mértékben járul hozzá a Maillard-reakció, amit a francia L.C. Maillardról neveztek el, aki 1912-ben leírta a glükóz és glicin közötti reakciót. Ennek során a monoszacharidok, általánosságban pedig a redukáló szénhidrátok szabad aminosocsoporttal reagálva, megfelelő körülmények között, bonyolult, többirányú reakciókból álló változáson mennek keresztül. A folyamat során aromakomponensek és barna színű pigmentek, melanoidinek keletkeznek (Whitfield, 1992; Csapó, 2000). Az átalakulást nem enzimikus barnulásnak is nevezik. A reakció során első lépésként az aminosav a karbonilsocportra addicionálódik, majd vízkilépéssel imin, ezt követően ciklizálódással glikozil-amin képződik. Savas katalízis esetén végbemegy az „Amadori-átrendeződésként” ismert folyamat, melynek során az aldóz típusú vegyületek 1-amino-1-dezoxi-ketozzá alakulnak, amelyet „Amadori-vegyületnek” is hívunk. Ezek a vegyületek számos élelmiszerben, különösen a szárított gyümölcs- és zöldségfélékben, valamint a tejporban is kimutathatók. Az Amadori-vegyületek azonban csak kiindulási vegyületek a Maillard-reakcióban. A domináns reakció során aldózil-aminból 3-dezoxi-glukozil-diulozon keresztül hidroxil-metil-furfural keletkezik. A diulóz a rendszerben jelenlévő aminokkal reagál, és barna pigmentek képződnek. Egyéb átalakulások során maltol, izomaltol és különböző egyéb bomlástermékek is keletkezhetnek, továbbá az aminokkal is reakcióba léphetnek színezékek képződése közben. Az átalakulásnál keletkezett λ -dikarbonil-származékok további reakciósort indítanak el. Aminosavakkal reagálva lejátszódik a Strecker-féle lebontás, melynek során aldehidek és aminoketonok jelennek meg a rendszerben, melyek aromajellegű vegyületek. Az utóbbi években több száz Maillard-reakcióterméket izoláltak, melyek közül nagyobb hányad pigment, a kisebb hányad pedig aroma jellegű. A folyamat minden olyan élelmiszerben végbemegy, ahol redukáló szacharid és szabad aminosocport jelen van. Az átalakulásokat a rendszer hőmérsékletének emelkedése rendkívül felgyorsítja. A „Maillard-reakció” sebessége a pH-tól is függ; a barnulási minimum pedig pH=3-5 között van (Csapó, 2000).

A „Maillard-vegyületeket” alkalmazták, pl. a hústermékek ízének javítására és az antioxidánsként való alkalmazás is felmerült a hús és húspari termékeknél (Meynier *et al.*, 1999). A glükóz és a hisztidin részvételével végbemenő folyamat végtermékei

ugyanis a lipidek oxidációját jelentősen gátolják. Fentieken túl a nem enzimes barnulási folyamat nagy molekulatömegű termékei a patogén mikroorganizmusok szaporodását is gátolják (Csapó, 2000).

A másik, hús ízt meghatározó folyamat, a zsírok melegítésének hatására bekövetkező oxidatív lebontás eredménye (Shahidi et al., 1986; Shahidi, 1994; Dirinck et al., 1997; Gandemer, 2002). A telítetlen zsírsavak mennyiségének több telítetlen aldehid keletkezik, és ezért különböző ízek jelennek meg. Talán ennek tudható be a marhahús íze (a telítetlen zsírsavak kis mennyiségben vannak jelen) és a sertéshús íze (a telítetlen zsírsavak nagy mennyiségben vannak jelen) közötti különbség. A juhhús metil-oldalláncú telített zsírsavakat tartalmaz, melyeknek a jellegzetes „birkahús” zamat köszönhető. A cukor jelenléte ugyancsak hozzájárul a zamathoz, mivel magasabb hőmérsékleten (például grillezéskor) karamellizálódik, és ízalkotó vegyületek keletkeznek.

A vegyületek meghatározására szolgáló analitikai módszerek

A hús ízének meghatározására többféle módszert dolgoztak ki (Shahidi et al., 1986; Oeckel et al., 1999; Mori, 1993). A két nagy csoport közül, az egyik a kémiai elemzéseken alapuló eljárások, a másik az érzékszervi vizsgálatok csoportja. A kémiai analízis során először feltárják a hús ízalkotó vegyületeit, alaposan átmossák vízzel, és tisztítás után a vizes kivonatot gél, vagy ioncserés kromatográfiával frakcionálják. Az egyes frakciók összetételét elemzik, főleg a cukrok (glükóz, dezoxiribóz), és a szerves savak (aminosavak, inozin, hipoxantin) jelenlétét vizsgálják, illetve azt, hogy milyen aromaanyagok keletkeznek a hevítés hatására. A melegítés alatt képződő illékony komponenseket gázkromatográfiával elemzik (Larick et al., 1992). Az illatokat szenzorokkal, illetve erre képzett szakemberekkel vizsgáltatják. Azokra az anyagokra, amelyekről tudják, hogy részt vesznek a szagok kialakításában, különleges eljárást dolgoztak ki. Például a kanszagot okozó androszteronra Squires (1991) kolorimetrikus eljárást, habár a meghatározásra a gélkromatográfiás eljárások elterjedtebbek.

Az emberi orr utánzására a közelmúltban több analitikai eszközt is kifejlesztettek. Az egyik ezek közül pl. egy számítógépes program vezérelte ún. „Elektronikus Orr” (Neotronics Scientific Limited, UK), ami szenzorok segítségével a mintában lévő szagkomponensek sokaságát - hasonlóan az emberi orrban lévő olfaktoriális receptorokhoz - érzékeli (Haugen és Kvaal, 1998). A hús élvezeti értékének valós mérésére, azonban nem alkalmas egyetlen gép sem. Egyetlen készülék sem képes arra, hogy az érzet valamennyi összetevőjét egyszerre érzékelje és összehasonlítsa. Kóstolással, tapintással és más érzékszervi vizsgálatokkal határozzák meg pl. a hús lédúságát, színét, puhaságát. Általában 8 vagy 10 személy vizsgálja meg és pontozza ugyanazt a mintát egymástól függetlenül, és a végén összegzik az eredményeket. A szakembereken túl véletlenszerűen választott fogyasztók is tesztelik a húsokat. A tesztelésnek többféle módszere van, egyik típusa az, hogy két minta közül kell kiválasztani a jobbat, vagy sorrendet kell felállítani a minták között. Így csak a különbséget lehet szemléltetni, míg annak mértékét nem. Kategóriák felállításával már a minták közti különbség is kimutatható.

Az elvárással ellentétben a korreláció az érzékszervi és analitikai vizsgálatok között elég kicsi, melynek több oka van. Az érzékszervi vizsgálatokat befolyásolja az egyén ízlése, az napi hangulata, a hús elkészítésének módja, a kategóriák összetettsége, az állag, és a hőmérséklet is megváltoztathatja az eredményeket. Felmerül a kérdés, hogy vajon érdemes-e minden mintát az összes lehetséges szempontból megvizsgálni? Az eljárás ugyanis elég drága, ezért egyéb alternatívákkal is számolni kell. A műszeres vizsgálatok

objektívek, megmutatják, hogy vannak-e kiugró eltérések a minták között, és a vizsgálatok alapján kiszámítható, hogy a fogyasztók várhatóan milyen eltéréseket észlelhetnek majd. A fogyasztók bevonása a tesztelésbe tovább finomítja a hús íz értékelését, de az összes vizsgálat ellenére sem nyerhetünk teljes képet a hús élvezeti értékéről – s ezen belül annak az ízéről –, hiszen az nagyban függ az elkészítés módjától, de a fogyasztó egyéni ízlésétől is.

A hús ízét befolyásoló tényezők

Fajta és genotípus

Számos vizsgálat foglalkozik a genotípus ízalakító hatásaival. Roy *et al.* (1996) a Rendemente Napole (RN) fajtájú sertések húsának az élvezeti értékre kifejtett hatásait vizsgálta puhaság, lédúság, zamatosság és íz szempontjából. Az RN genotípusú egyedek húsának alacsony volt a pH-ja és magas a glikogénkoncentrációja, ezért kisebb pontszámot kapott a puhaságra, lédúságra, zamatra, de többet az ízre, mint a homozigóta recesszív (rn/rn) genotípusú egyedek. Cameron *et al.* (2000) az intramuszkuláris zsír zsírsavösszetételét, a genotípus és a takarmányozás összefüggéseit, továbbá ezek húsmínőségre kifejtett hatásait vizsgálva megállapítják, hogy ha soványabb húsrá szelektálnak, akkor csökken az intramuszkuláris zsír mennyisége, de ez együtt jár a foszfolipidek és a többszörösen telítetlen zsírsavak koncentrációjának csökkenésével, ami a feltételezések szerint kedvezőtlenül hat az élvezeti értékekre. Vizsgálataikban a takarmányozás jobban befolyásolta a húsmínőséget, mint a genotípus, ezért a takarmányozás megváltoztatása véleményük szerint eredményesebb lehet az n6:n3 zsírsavarány csökkentésére. A hús minőségére és ízére kifejtett hatásokat tekintve kimutathatók különbségek egyes fajták és genotípusok között. A kínai tisztavérű (meishan, ming) és kínai x európai lapály keresztezett sertések húsának minőségét, továbbá vágási tulajdonságait Suzuki *et al.* (1991) vizsgálták. Bár nem volt különbség a szabad aminosav, ill. peptidtartalomban, az inozinsav-tartalom viszont, nagyobb volt a kínai és a keresztezett sertések húsában, mint az európai lapályban. Kimata *et al.* (2001) a különböző fajtájú sertések húsában található kémiai összetevők és az élvezeti érték közötti összefüggést tanulmányozva, négy fajtatípusra, továbbá egy keresztezett állományt vizsgáltak. A főbb táplálóanyagokat, a szabad aminosavakat, nukleinsavat (inozitolmonofoszfát), a hátszalonna olvadáspontját és zsírsavösszetételét elemezve, megállapították, hogy a berkshire húsa a szerin-, glicin- és treozintartalmának köszönhetően a legédesebb. A palmitoleinsav (C16:1) tartalom a berkshire fajtában volt a legnagyobb, az olvadáspont és a sztearinsavtartalom pedig a legkisebb. Az érzékszervi értékelésnél is ez a fajta kapta a legmagasabb pontszámot mind az ízt, mind a porhanyósságot tekintve. A nagy fehér fajta húsát ítélték a legízletlenebbnek, habár ez a fajta foglalta el a második helyet a rangsorban az aminosavtartalom szempontjából, ami a kisebb zsírtartalommal és a magasabb olvadásponttal magyarázható. Szoros pozitív korreláció mutatható ki a palmitoleinsav (C16:1) és az íz ($r=0,96$), erős negatív korreláció pedig a sztearinsav (C18:0) és az íz között ($r=-0,95$). A tenyészállatok típusának és az ivarnak a hatását vizsgálva Armero *et al.*, (1999) a sertéshúsban lévő exopeptidáz, a semleges dipeptidok, és a szabad aminosavak szintjét elemezték. Eltérő típusú kanokat és kocákat párosítva, meghatározták a *dipeptidiláz-I*, *IV*., továbbá a *piroglutamil-* és *alanil-szintetáz* aktivitás közötti eltéréseket. Az enzimaktivitás a belga lapály utódainál volt a legkisebb és az adott típuson belül a kanoknak intenzívebb volt az ízük, mint a kocáknak. A belga lapályfajta húsa ízletlenebb, mivel a szabad aminosavak és az *exopeptidáz* aktivitás fejleszti az ízeket. Ezért a belga lapály húsa, véleményük szerint nem alkalmas szárazáru előállítására.

Az illékony anyagok vizsgálatával is sok faj-, ill. fajtaközi különbséget ki lehet mutatni. Guth és Grosch (1993) a főtt marhahús fajspecifikus illátat analizálta és megtalálta a 12-metil-tridekanalt, ami a marhahús és a faggyú illatanyaga. A vesepecsenyéből kivont zsírfrakciók sok fajban (marha, borjú, gímszarvas, csirke, pulyka, bárány) tartalmazták ezt a vegyületet, bár a baromfiban csak nagyon kis mennyiséget találtak belőle. Ramarathnam et al. (1991) a hús ízt tanulmányozva, a kezelt és kezeletlen marha- és csirkehús illékony karbonil és hidrokarbonil anyagainak mennyiségi vizsgálatával foglalkoztak. Megállapították, hogy a csirkében több a pentadekán, a hexadekán, és a heptadekán, továbbá sikerült azonosítani a fajra jellemző aromaalkotó karbonil vegyületeket is. Werkhoff et al. (1993) alifás, ciklikus és heterociklikus kéntartalmú vegyületeket azonosítottak a marha-, sertés- és csirkehúsban. Az azonosított alkotók közül elsődlegesen a marhánál találtak több izo- és antiizo-metil-oldalláncú, hosszú szénláncú alifás aldehideket, a csirkében pedig alkil-csoportú ciklopentén-1-karbaldehyd homológ sorokat mutattak ki. Jeong et al. (1993) a vöröshús ízéhez kapcsolódóan vizsgálták az illékony és nem illékony zsírsavak szerepét. Az illékony zsírsavak 2-metil-bután, 3-metil-bután, 4-metil-pentán, 2-etil-hexán, 4-metil-hexán, 4-metil-oktán, 4-etil-oktán, 4-metil-nonán és 2-etil-dekán savat tartalmaztak. A marhahúsban azért tér el az íze a kecske- vagy juhhústól, mert 4-metil-oktán és 4-etil-oktán oldalláncú savak találhatók benne. A sertéshúsban van a legkevesebb 2-metil-bután, 3-metil-bután és 6-metil-oktán oldalláncú sav, melyek egyikének sincs sertéshúsra jellemző íze. A 4-metil-oktán és 4-etil-oktán oldalláncú sav pl. jellegzetes kecskehúsízt ad. Az említetteken kívül még számos kísérlet bizonyítja, hogy a genotípusnak íz befolyásoló hatása van, mivel azonban ennek megváltoztatása időigényes folyamat, ennél gyorsabb és egyszerűbb módszerekkel, például a takarmány összetételének megváltoztatásával lehet célt érni.

Takarmányozás

A zöldtakarmányok ízalkotó és ízmódosító hatásai

Legeltetett, ill. koncentrált takarmányozásban részesített, hizlaldában tartott bárányokon Priolo et al. (2002) vizsgálták a takarmányozás vágóértékre és a hús élvezeti értékére kifejtett hatását. Ile de France kosbárányokat 37 napos korban két csoportra osztottak, majd az állatokat 35 kg-os élősúlyban vágták le. A két csoport között jelentős különbséget találtak a súlygyarapodásban, a nyakalt törzsek súlyában, a húsformákban és a faggyúborítottságban, az intenzíven takarmányozott csoport javára. A legelőn hizlalt bárányoknál a bőr alatti zsírréteg sárgább és keményebb, a hús színe pedig szignifikánsan sötétebb volt ($P < 0,05$). A koncentrált takarmányon tartott csoport húsát lágyabbnak és lédúsabbnak találták, a bárányhúsra jellemző íz is itt volt erősebb ($P < 0,01$). A gyepen nevelt bárányok húsának íze a májéra emlékeztetett, szemben a koncentrált takarmányokon hizlalt egyedek húsának intenzívebb, zsírosabb ízével. Sañudo et al. (2000) Nagy-Britanniában és Spanyolországban vágott eltérő fajtájú bárányok húsának zsírsavösszetételét és élvezeti értékét vizsgálták. A vizsgált négy fajta rasa aragonesa, merino, welsh mountain és egy angol korai bárány volt. A spanyol fajtákat koncentrált takarmányon, míg a brit fajtákat legelőn tartották. A zsírsavak arányának változását inkább a takarmányozási módra vezetik vissza, mintsem a fajtahatásokra. A brit állatok húsa nagyobb arányban tartalmazott sztearin, linolén és hosszú szénláncú, többszörösen telítetlen n-3 zsírsavakat, viszont kisebb arányban linolénsavat és hosszú szénláncú, többszörösen telítetlen n-6 zsírsavakat. A zsírszövet mennyisége is az utóbbiakban volt nagyobb. Véleményük szerint mind az illat, mind az íz intenzitása pozitív korrelációban van a sztearin-, és linolénsav arányával, ill. negatív arányban a linolsavval, ezért a brit bárányok húsának erősebb szaga, illata volt, mint a spanyol fajtáknak.

Zsírsavak etetésével kapcsolatos vizsgálatok

A hús ízének az alakulásában a zsírsavak jelentős szerepet játszanak, amit legegyszerűbben a magas olaj-, ill. zsírtartalmú takarmányok, mint pl. a szója, kukorica, lenmag etetésével lehet bizonyítani. Riley *et al.* (2000) azt vizsgálták, hogy javítja-e a sertéshús minőségét, ha lenmaggal egészítik ki a takarmányadagokat. A lenmag a hús ízét, ill. színét nem rontotta. Barowicz *et al.* (1999) a lenmag kalciumsóinak és a repceolaj zsírsavainak a hizlalási és a vágási tulajdonságokra gyakorolt hatását vizsgálták. A vágás után a hosszú hátizomból vett mintát érzékszervi bírálatnak vetették alá, ill. gázkromatográffal meghatározták a húsmintákban lévő intramuszkuláris zsír zsírsavösszetételét. A takarmánykiegészítők etetésének hatására nem találtak szignifikáns különbséget a súlygyarapodásban, a vágott test mennyiségi és minőségi tulajdonságaiban, valamint a hús kémiai jellemzőiben, bár a hús élvezeti értékében enyhe javulást figyeltek meg. A vizsgált húst kisebb lévesztesség, jobb porhanyósság és íz jellemezte. Brendemuhl *et al.* (1996) sertéseket tritikálével, búzával vagy kukoricával hizlalva nem találtak eltéréseket a hús ízében, lédússágában, porhanyósságában vagy márványozottságában. Lee *et al.* (1997) 70 kg élő súlyú sertéseket olyan 8%-os zsírtartalmú takarmányadagokkal etettek, amelyekben az n-3, n-6, n-9 zsírsavak aránya eltérő volt. Az élvezeti értéket tekintve a lédússág és a porhanyósság az 1:1:1 arányban volt a legkedvezőbb, ízintenzitása viszont ekkor kedvezőtlennek bizonyult. Az élvezeti érték szempontjából az n-6 zsírsav nagyobb arányú adagokon hizlalt sertések karaja kedvezőbb pontszámot ért el, mint az n-9 arányuaké.

Konjugált linolsav (KLS) etetésével kapcsolatos vizsgálatok

Talán ebben a kategóriában történt a legtöbb kísérlet, mivel kivitelezése viszonylag egyszerű, és gyors eredmény várható. Többen is vizsgálták (Dugan *et al.*, 1999a; Wiegand *et al.*, 2001) az etetett KLS húsmínőségre kifejtett hatását, de az élvezeti értékkel kevés összefüggést találtak. Dugan *et al.* (1999b) bebizonyították, hogy a takarmány összetétele a m. longissimus thoracis-ban post mortem nem befolyásolta a glikogén felhasználását, a pH-csökkenést vagy a laktát felhalmozódását. A KLS-val etetett állomány (27 ártány, 27 kan) húsa egy kicsit magasabb hőmérsékletű volt az elvéreztetés utáni 3. órában, mint a kontroll csoportnál, de a csepegési veszteség és az oldható fehérjeszint nem változott. A KLS-tartalmú hús színe kissé telítettebb volt, magasabb pontszámot kapott a márványozottságra, és nőtt az intramuszkuláris zsírtartalma. Megállapították, hogy előnyös 2% KLS-at etetni az állattal, mert anélkül növeli az intramuszkuláris zsír mennyiségét, hogy a minőséget rontaná.

A HÚS ÍZE, MINT FOGYASZTÁST ÉS ÉLVEZETI ÉRTÉKET BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐ

Élvezeti érték

Az élvezeti érték a következő jellemzőket foglalja magában: szerkezet, lédússág és zamat. Ez a felsorolás az élvezeti érték kialakításában fontossági sorrend is általában. A mai húsokat sokszor az a kritika éri, hogy szárazak, amit a gyenge víztartó képességgel, valamint az intramuszkuláris zsír, azaz a márványozottságot előidéző zsír hiányával magyaráznak. A puhaság és a lédússág összefüggésben van egymással. A műszerekkel hasonló szerkezetűnek vizsgált minták közül a fogyasztók ugyanis azt tartják puhábbnak, amelyik lédúsabb. A zamat és illat ugyancsak összefügg egymással, az ízeke általában a vízben oldható vegyületek határozzák meg, míg a szagokat a zsírban oldódók. A szag akkor válik nagyon fontossá, ha eltér a normálistól, ekkor ugyanis a vásárló az összes többi tulajdonság ellenére elutasítja a terméket.

Következésképpen a kutatások külön csoportja foglalkozik a húsfogyasztást befolyásoló húsminőségi jellemzőkkel. *Mourot és Kouba* (1995) szerint a közhiedelemmel ellentétben a sertéshús a látható zsír eltávolítása után zsírban szegény. Éles véleménykülönbség figyelhető meg a húsipar és a táplálkozástudomány képviselői között, mert míg az előbbiek a technológiai feldolgozhatóság érdekében magasabb telített zsírsav-arányt szeretnének a húsban, az utóbbiak olyan húsokat amelyeknek telítetlen zsírsav-tartalma nagyobb. A fogyasztók igényei is megosztottak, ugyanis a vásárlók sajnálják, hogy eltűntek a „régii” zsírosabb húsok a piacról, amelyeknek jobb volt az íze, ugyanakkor - az egészséges táplálkozás miatt - az alacsony zsírtartalmú húsokat szeretnék, amelyeknek ugyanakkor nem megfelelő az íze. *Fernandez et al.* (1999) azt vizsgálták, mennyire befolyásolja az intramuszkuláris zsírtartalom a húsminőséget, és milyen kapcsolatban van a fogyasztók igényeivel. A francia vásárlók úgy találták, hogy a megnövekedett intramuszkuláris zsírtartalom javítja a hús ízét és szerkezetét, mindaddig, amíg a zsír el nem érte a 2,5-3,5%-ot, mert ekkor a fogyasztók már elutasították azt. *Eikelenboom et al.* (1996a) a sertéshús élvezeti értéke és az intramuszkuláris zsír közötti kölcsönhatásokat vizsgálva megállapítják, hogy az intramuszkuláris zsír mennyisége szignifikánsan összefügg a palmitinsav-, linolsav- és linolénsavtartalommal, lédússággal, de nem függ össze az ízzel és porhanyóssággal. A porhanyósság jól korrelál a palmitinsav ($r=0,49$), linolsav($r=-0,50$), linolénsav ($r=-0,44$) arányával, a nyíróerőértékkel ($r=-0,67$), a lédússág a palmitinsavval ($r=0,37$), a nyíróerőértékkel ($r=-0,37$) és a porhanyóssággal ($r=0,46$), míg az íz a palmitinsavval ($r=0,33$) és a lédússággal ($r=0,52$). Ha a vágott testben, a színhús mennyisége nagyobb, ott az intramuszkuláris zsír aránya kevesebb, de annak nagyobb többszörösen telítetlen zsírsavak mennyisége, és ez szignifikánsan rontotta a hús porhanyósságát. *Eikelenboom et al.* (1996b) tanulmányukban azt a következtetést vonták le, hogy az intramuszkuláris zsír mennyisége kevésbé fontos az élvezeti érték szempontjából, mint a hús pH-ja. Nem tudtak meghatározni olyan intramuszkuláris zsírmennyiséget, amely egyértelműen kedvezően befolyásolta volna a hús élvezeti értékét.

Termékminőség

A hús minősége természetesen hatással van a belőle készülő termék minőségére is. Az alapanyagokon kívül a feldolgozási eljárás megválasztásával is különböző eredményeket lehet elérni. Fontos tényező lehet pl. az idő, mivel a hús saját enzimrendszere is működésbe lép az érlelés alatt. *Warnants et al.* (1998) a hátszalonna többszörösen telítetlen zsírsavainak (PUFA) a szalámi minőségére kifejtett hatásait vizsgálták 80 sertésben. A hízókat különböző PUFA-t tartalmazó szója vagy szójaolajat tartalmazó takarmánnyal etették. Az azokból az állatokból készített szalámi volt a jobb ízű, amelyeknél a hátszalonnában 23%-os, a szalámiban pedig 15%-os a PUFA aránya és az uralkodó zsírsav a linolénsav volt. Egyik szalámit sem lehetett azonban kereskedelmi forgalomba hozni, mert a zsírsavak hatására szeleteléskor kenődött a felület, illetve állaguk túl lágnak bizonyult. *Virgili et al.* (1998) a friss sertéshús proteázaival és azoknak a szárított sonkában keserű ízt okozó hatásaival foglalkoztak. 10-12 hónapos sertések combjában vizsgálták a *katepszin B* és a *dipeptidáz* aktivitást. Azokban amelyek nem voltak keserű ízűek, a *dipeptidáz* aktivitás mind a nyers húsban, mind a sonkában magasabb volt. A szabad aminosavak elemzése során kiderült, hogy a keserű sonkában bőségesen megtalálható a metionin, aszparaginsav, izoleucin, és kevesebb benne a tirozin, az arginin és az ornitin. *Molly et al.* (1997) a szárazon érlelt kolbász esetén mutattak rá a hús enzimeinek az érlelésben és az íz kialakításában betöltött fontos szerepére. A kolbász érlelése alatt a fehérjék lebomlanak és ebben a proteolízisben

fontos szerepet játszanak a hús endogén és a baktériális enzimek. A lipolízisben a zsírszövet lipázai bizonyultak legfontosabbaknak, míg az izmok lipázai a poláros lipideknél játszottak központi szerepet. Az érlelés alatti proteolízisben az izmok *D-katepszin*-szerű enzimek voltak jelentősek, míg a baktériumok enzimek a proteolízis során képződött termékek további bontásához kellettek. Wood *et al.* (1996) a fajta, a felvett takarmánymennyiség és az érlelési idő hatását vizsgálták a sertéshús porhanyósságára. A vizsgált tényezők közül az érlelési időnek volt a legnagyobb hatása, a porhanyósságra, nem függött viszont szignifikánsan a fajtától. Az íz intenzitása, és a teljes élvezeti érték pontszáma a duroc fajta húsánál volt a legmagasabb. Ennél a fajtánál volt legmagasabb a zsírtartalom is, az alfa-linolénsavat kivéve, alacsonyabb többszörösen telítetlen zsírsavak aránya mellett.

KÖVETKEZTETÉSEK

Annak ellenére, hogy számos tanulmány született és van születőben, ami a hús ízével, illetve az azt befolyásoló tényezőkkel foglalkozik, mégsem egyértelműek az eredmények. Magyarázatként megjegyezhető, hogy az íz érzékelését, az ízlést, nem lehet behatárolni és szavakkal, sőt számokkal leírni. A kutatások célja, hogy feltárják az ismeretlen összefüggéseket, egyúttal megmutatják a gazdálkodóknak, tenyésztőknek, merre haladjanak, milyen minőségű húsról találnak vevőt. Általánosságban elmondható, hogy Európában a fehéráru csökkentésére, illetve a többszörösen telítetlen, hosszú szénláncú n-3 zsírsavak arányának növelésére törekednek. Ez legegyszerűbben a takarmány megváltoztatásával pl. több zöldtakarmány etetésével érhető el, ami viszont előnytelenebb húsformákhoz vezethet. Az alacsony intramuszkuláris zsírtartalom rontja a hús ízét, mert sok ízanyag zsírban oldódik. A fajok közötti különbségekkel kevés kutatás foglalkozik. A sertés-, és marhahús fogyasztás jelenlegi csökkenése nem elsősorban az élvezeti érték romlásának a következménye, hanem a tendencia alakulásában inkább a betegségektől való, többnyire minden indokot nélkülöző félelem játszik közre.

IRODALOM

- Armero, E., Baselga, M., Aristoy, M.C., Toldra, F. (1999). Effects of sire type and sex on pork muscle exopeptidase activity, natural dipeptides and free amino acids. *J. Sci. Food Agric.*, 10. 1280-1284.
- Barowicz, T., Pietras, M., Kedzior, W. (1999). Fattening, slaughter and dietetic traits of meat of pigs fed calcium salts of linseed and rapeseed oil fatty acids. *Annals of Warsaw Agric. University, Agriculture*, 36. 171-179.
- Brendemuhl, J.H., Myer, R.O., Johnson, D.D., Guedes, P.H. (ed: Darvey, N., Carnide, V.P.) (1996). Influence of feeding growing finishing pigs triticale, wheat or maize based diets on resulting carcass composition, and on taste and quality characteristics of pork. *Triticale: today and tomorrow*, 807-811.
- Cameron, N.D., Enser, M., Nute, G.R., Whittington, F.M., Penman, J.C., Fiskén, A.C., Perry, A.M., Wood, J.D. (2000). Genotype with nutrition interaction on fatty acid composition of intramuscular fat and the relationship with flavour of pig meat. *Meat Sci.*, 2. 187-195.
- Csapó J. (2000). *Élelmiszerkémia. Egyetemi Jegyzet*, Kaposvár, 370.
- Dirinck, P., Van Opstaele, F. Vandendriessche, F. (1997). Flavour differences between northern and southern European cured hams. *Food Chem.*, 4. 511-521.

- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Yurawecz, M.P. (1999a). Feeding CLA to pigs: effects on feed conversion, carcass composition, meat quality and palatability: Advances in conjugated linoleic acid research. (ed.: Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.) 354-368.
- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Jeremiah, L.E., Kramer, J.K.G., Schaefer, A.L. (1999b). The effects of feeding conjugated linoleic acid on subsequent pork quality. *Can. J. Anim. Sci.*, 1. 45-51.
- Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A.H., van der Wal, P.G. (1996a). The eating quality of pork. II. The influence of intramuscular fat. *Fleischwirt.*, 5. 559-560.
- Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A.H., van der Wal, P.G. (1996b). The eating quality of pork. I. The influence of ultimate pH. *Fleischwirt.*, 4. 405-406.
- Fernandez, X., Monin, G., Talmant, A., Mourot, J., Lebre, B. (1999). Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat. I. Composition of the lipid fraction and sensory characteristics of m. longissimus lumborum. *Meat Sci.*, 1. 59-65.
- Fuke, S., Konosu, S. (1991). Taste active components in some foods: a review of Japanese research. *Physiology and Behavior*, 5. 863-868.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscle and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Proc. of 48th ICoMST*, 29-38.
- Guth, H., Grosch, W. (1993). 12 Methyltridecanal, a species specific odorant of stewed beef. *Lebensmittel Wissensch. Techn.*, 2. 171-177.
- Haugen, J.E., Kvaal, K. (1998). Electronic nose and artificial network. *Meat Sci.*, 49. S.1. 273-286.
- Jeong, O. K., Ha, Y.L., Lindsay, R.C. (1993). Role for volatile branched chain and other fatty acids in species related red meat flavours. *J. Korean Soc. Food and Nutr.*, 3. 300-306.
- Kerscher, R., Grosch, W. (1998). Quantification of 2 methyl 3 furanthiol, 2 furfurylthiol, 3 mercapto 2 pentanone, and 2 mercapto 3 pentanone in heated meat. *J. Agric. Food Chem.*, 5. 1954-1958.
- Kimata, M., Ishibashi, T., Kamada, T. (2001). Studies on relationship between sensory evaluation and chemical composition in various breeds of pork Japanese. *J. Swine Sci.*, 2. 45-51.
- Larick, D.K., Turner, B.E., Schoenherr, W.D., Coffey, M.T., Pilkington, D.H. (1992). Volatile compound content and fatty acid composition of pork as influenced by linoleic acid content of the diet. *J. Anim. Sci.*, 5. 1397-1403.
- Lee, S.B., Kim, Y.J., Yoon, C.S., Lee, M.H., Kang, T.S. (1997). Study on the changes of pork quality due to fat content and fatty acid composition of feed. *Korean J. Anim. Sci.*, 6. 739-748.
- Meynier, A., Genot, C., Gandemer, G. (1998). Volatile compounds of oxidized pork phospholipids. *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 1. 1-7.
- Meynier, A., Novelli, E., Chizzolini, R., Zanardi, E., Gandemer, G. (1999). Volatile compounds of commercial Milano salami. *Meat Sci.*, 175-183.
- Molly, K., Demeyer, D., Johansson, G., Raemaekers, M., Ghistelinck, M., Geenen, I. (1997). The importance of meat enzymes in ripening and flavour generation in dry fermented sausages. First results of a European project. *Food Chem.*, 539-545.
- Mori, K. (1993). Recent developments in flavor and fragrance chemistry. *Proc. of the 3rd International Haarmann & Reimer Symposium*, 304.
- Mourot, J., Kouba, M. (1995). Lipid content in pig meat. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 6. 365-370.

- Oeckel, M.J. van Warnants, N., Boucque, V.C., van Oeckel, M.J. (1999). Pork tenderness estimation by taste panel, Warner Bratzler shear force and on line methods. *Meat Sci.*, 4. 259-267.
- Priolo, A., Micola, D., Agabriel, J., Prache, S. Dransfield, E. (2002). Effect of grass or concentrate feeding systems on lamb carcass and meat quality. *Meat Sci.*, 2. 179-185.
- Ramarathnam, N., Rubin, L.J., Diosady, L.L. (1991). Studies on meat flavour. II. A quantitative investigation of the volatile carbonyls and hydrocarbons in uncured and cured beef and chicken. *J. Agric. Food Chem.*, 10. 1839-1847.
- Riley, P.A., Enser, M., Nute, G.R., Wood, J.D. (2000). Effects of dietary linseed on nutritional value and other quality aspects of pig muscle and adipose tissue. *Anim. Sci.*, 3. 483-500.
- Roy, P., Juin, H., Caritez, J.C., Billon, Y., Lagant, H., Elsen, J.M., Sellier, P., Le Roy, P. (1996). Effect of the genotype RN on eating qualities of pork. *Journées de la Recherche Porcine en France*, 28. 53-56.
- Sañudo, C., Enser, M.E., Campo, M.M., Nute, G.R., María, G., Sierra I., Wood, J.D. (2000). Fatty acid composition and sensory characteristics of lamb carcasses from Britain and Spain. *Meat Sci.*, 4. 339-346.
- Shahidi, F., Rubin, L.J., D' Souza, L.A. (1986). Meat flavor volatiles: a review of the composition, techniques of analysis, and sensory evaluation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2. 141-243.
- Shahidi, F. (1994). Flavor of meat and meat products. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 298.
- Squires, E.J., Gullett, E.A., Fisher, K.R.S., Partlow, G.D. (1991). Comparison of androst-16-ene steroid levels determined by a colorimetric assay with boar taint estimated by a trained sensory panel. *J. Anim. Sci.*, 3. 1092-1100.
- Suzuki, A., Kojima, N., Ikeuchi, Y., Ikarashi, S., Moriyama, N., Ishizuka, T., Tokushige, H. (1991). Carcass composition and meat quality of Chinese purebred and European x Chinese crossbred pigs. *Meat Sci.*, 1. 31-41.
- Virgili, R., Schivazappa, C., Parolari, G., Bordini, C.S., Degni, M. (1998). Proteases in fresh pork muscle and their influence on bitter taste formation in dry cured ham. *J. Food Biochem.*, 1. 53-63.
- Warnants, N., Oeckel, M.J., Van Boucque, V.C., Van Oeckel, M. (1998). Effect of incorporation of dietary polyunsaturated fatty acids in pork backfat on the quality of salami *Meat Sci.*, 4. 435-445.
- Warris, P.H. (2000). *Meat Science An Introductory Text*. Cabi Publishing, Wallingford, 295.
- Werkhoff, P., Bruening, J., Emberger, R., Guentert, M., Hopp, R. (1993). Flavor chemistry of meat volatiles: new results on flavor components from beef, pork, and chicken. *Recent developments in flavor and fragrance chemistry*. Weinheim, New York, 183-213.
- Whitfield, F.B. (1992). Volatiles from interactions of Maillard reactions and lipids. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1/2. 158.
- Wiegand, B.R., Parrish, F.C.Jr., Swan, J.E., Larsen, S.T., Baas, T.J. (2001). Conjugated linoleic acid improves feed efficiency, decreases subcutaneous fat, and improves certain aspects of meat quality in stress genotype pigs. *J. Anim. Sci.*, 8. 2187-2195.
- Wood, J.D., Brown, S.N., Nute, G.R., Whittington, F.M., Perry, A.M., Johnson, SP, Enser, M. (1996). Effects of breed, feed level and conditioning time on the tenderness of pork. *Meat Sci.*, 44. 105-112.

Corresponding author (*levelezési cím*):

Óváry Melinda

Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
2103 Gödöllő, Pf. 303.

*Szent István University, Faculty for Agricultural and Environmental Sciences
H-2103 Gödöllő, P.O.Box 303.*

Tel.: 36-28-410200/1648, Fax: 36-28-410804

e-mail: abrahamcsaba@freemail.hu

KÖNYVISMERTETÉS

Megjelent a **Mezőgazda Kiadó** gondozásában a „**Tej és tejtermékek a táplálkozásban**” című könyv **Dr. Csapó János egyetemi tanár és Csapóné dr. Kiss Zsuzsanna tudományos munkatárs** tollából. A könyvben a szarvasmarha, a kecske- és juhajták, valamint potenciális táplálékforrásként a ló- és sertésajták kolosztrumanak és tejének összetételét ismertetik. Foglalkoznak a tej összetevőinek táplálkozási értékével, a tejszír, a zsírsavak, a tejfehérje, az aminosavak, a szénhidrátok, az ásványi anyagok, a nyomelemek, a vitaminok és az enzimek, valamint a különböző szerves savak jelentőségének elemzésével.

Részletesen írnak a sajtról, a szinténészetekkel előállított savanyú tejtermékekről, ezek közül is a vajról, a tejszínről, a tejfölről és az íróról. Mivel hazánkban a tej és tejtermékek szerepéről a táplálkozásban magyar nyelven az utóbbi 20 évben nem jelent meg könyv, ezért a szerzők ezt a hiányt kívánták pótolni. A könyv megírásának elsősorban az volt a célja, hogy korszerű ismeretanyagot adjon a felsőoktatásban tanuló főiskolai és egyetemi hallgatóknak, másodsorban pedig, hogy eloszlassa mindazokat a félreértéseket - helyesbítse a hibás vagy rosszul értelmezett tudományos eredményeket - amelyek az utóbbi időben hozzájárultak a tej- és tejtermék-fogyasztás drasztikus csökkenéséhez. A 426 oldal szöveget 23 oldal irodalomjegyzék és 10 oldal tárgymutató egészíti ki a könnyebb eligazodás céljából.

A könyvet †Dohy János akadémikus az alábbi szavakkal ajánlotta mindazoknak, akik érdeklődnek az egészséges táplálkozás iránt: „Sok szempontból különleges, egyedi értéket jelentő könyvet tart kezében a tisztelt Olvasó. A Szerzőpáros több évtizedre terjedő, sokrétű és igen alapos kísérletes vizsgálatait, valamint széleskörű és elmélyült szakirodalom-értékelő munkájának eredményeit szintetizálta ebben a jelentős és előremutató műben.

Különösen érdekesek és hézagpótlóak a vizsgált fajok kolosztruma és teje összehasonlító értékelésének eredményei, az ezekből levont következtetések és javaslatok, a tej fontos alkotóelemei táplálkozási értékére - sőt egészségvédő szerepére - vonatkozó újabb megállapítások és ajánlások, amelyek a további kutatásoknak is irányt szabhatnak.

A zsírban és fehérjében koncentrált tej termelése és ipari feldolgozása, valamint a választék bővítést is szolgáló értékesítése egyre jelentősebbé válik hazánkban is. Ezért nagy figyelmet érdemelnek a könyv azon fejezetei is, amelyek ezekben a kérdésekben adnak szakszerű és sokrétű tájékoztatást az Olvasónak, aki - remélhetően - nemcsak rendszeres fogyasztója, hanem propagálója is a tej és tejtermékek fogyasztásának. Nemzetünk egészségének, életminőségének javítása érdekében minden eszközzel - a szakirodalom meggyőző erejével is - küzdenünk kell az optimális tej- és tejtermék-fogyasztás megvalósításáért.”



Dr. Kovách Gáborné
szerkesztő

KÖNYVISMERTETÉS

Magyarország fehérjegyazdálkodásának helyzete és fejlesztési stratégiája

Szerkesztette: Dr. Babinszky László

Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományok Osztálya

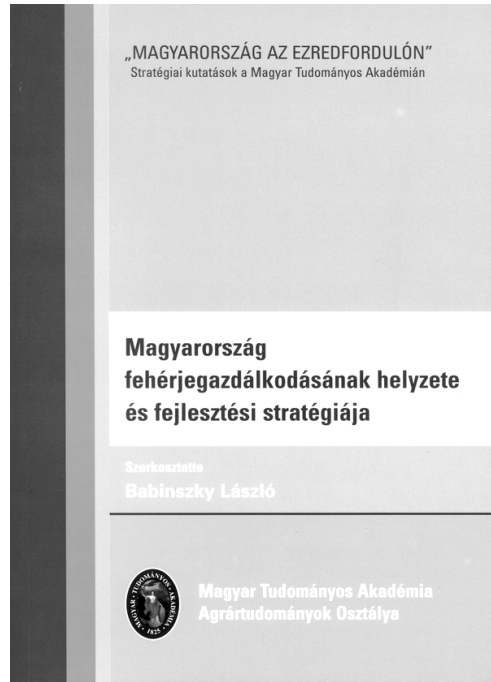
Agroinform Kiadó, Budapest, 2002, 207 pp.

Magyarország fehérjegyazdálkodásának jelenlegi helyzetét, a fejlesztés szükségességét és lehetőségét bemutató munkára már régóta vár a hazai szakmai közvélemény.

A szerzők részletesen tárgyalják az életminőség javításának lehetőségeit, az állattenyésztés, állati termék előállítás jelenlegi helyzetét, valamint annak fehérjeigényét. Számba veszik és jellemzik a rendelkezésre álló hazai fehérjeforrásokat, valamint az ipari úton előállított aminosavak felhasználásának lehetőségét a takarmányozásban. A szerzők elkészítették Magyarország fehérjemérlegét. Javaslatot tesznek a fehérjegyazdálkodás hatékonyságának javítására, valamint bemutatják a hazai fehérjetermelésre és felhasználásra vonatkozó középtávú tervüket.

A könyvet nemcsak a tudomány képviselőinek, hanem egyetemi hallgatóknak, az irányításban, a döntéshozásban, valamint a gyakorlatban dolgozó szakembereknek is ajánljuk.

Az angol nyelvű ábrák, táblázatok és összefoglaló lehetővé teszi, hogy a könyv anyagával a nem magyar anyanyelvű szakemberek is megismerkedhessenek.



Szerkesztőség

Rövidített útmutató a kéziratok elkészítéséhez

A folyóirat tárgyköre magában foglalja az állati termék előállítás teljes vertikumát, az állatok elhelyezésétől a nemesítésem, takarmányozásem, szaporításem és egészségvédelmen át az állati termékek feldolgozásaíg, ill. értékesítéséíg, beleértve e részterületek elméleti, alapozó vonatkozásaít is, mint pl. az élettant, a mezőgazdasági kémiát, valamint vizsgálati módszereiket. Ezeken túlmenően helyet kapnak a növénytermesztés, az ökonómia, a környezetvédelem tárgykörét érintő közlemények is.

Az Acta Agraria Kaposváriensisben csak olyan írások közölhetők, melyek más kiadványban még nem jelentek meg -kivéve a kongresszusi előadásokat-, ill. amelyeknek nincs folyamatban publikálásuk. A kéziratot az alábbi címre kell eljuttatni.

Acta Agraria Kaposváriensis Szerkesztőbizottsága
Pannon Agrártudományi Egyetem, Állattenyésztési Kar
7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.
Tel.: 36-82-314-155, Fax: 36-82-320-175
e-mail: kutszerv@atk.kaposvar.pate.hu

A cikket 3 példányban, *dupla sorközzel*, Winword 6.0 (vagy hasonló és konvertálható) szövegszerkesztő programmal, *Times New Roman CE betűvel* (12-es nagyság) sorkizárt formában, A4-es méretben, a lapnak csak az egyik oldalára gépelve kérjük benyújtani. A kézirat ne haladja meg a 8000 szót, ami kb. 20 oldalnak felel meg, mely ábrákkal, összefoglalással és irodalomjegyzékkel együtt értendő. Kivételes esetben, a szerkesztőbizottság hosszabb cikkek elfogadására is javaslatot tehet. A cikkek nyelve magyar, vagy angol.

A *cím* legyen tömör, maximum 20 szóból álljon, 20-as nagyságú félkövér betűvel írva, középre igazítottan. Felette kérjük adja meg a fejléc szövegét is. A szerző(k) nevét 15-ös normál betűvel kérjük írni, középre illesztve. Magyar nyelvű cikknél pl. Kiss J., Martin, T.G., Tóth J., angolnál, J. Kiss, T.G. Martin, J. Tóth legyen az írásmód. A szerzők neve alá 10-es normál betűvel írják a munkahelyet, címmel együtt, középre rendezetten.

Az első *összefoglaló* a kézirat nyelvével megegyező, a második - angol közlemény esetén magyar, magyar cikk esetén angol legyen. Az összefoglalás szót középre illesztve, 15-ös döntött félkövér nagybetűvel, szövegét 12-es normál döntöttel kérjük írni. Mindkét összefoglalót követően zárójelben adják meg a közlemény kulcsszavait, normál betűvel (max. 5 szó, vagy fogalom). Az összefoglalás ne haladja meg a 200-250 szót (egy oldal). A kézirat nyelvével ellentétes összefoglaló címét 12-es normál félkövér betűvel, szerzőinek nevét 12-es, munkahelyét 10-es normállal kell írni, középre igazítva.

Az egyes *fejezetek* (bevezetés stb.) címét középre illesztve 15-ös nagy, az alcímeket balra rendezetten 12-es normál félkövér betűvel kérjük írni. A bekezdések (kivéve a fejezet és alfejezet kezdőt, ill. a táblázat, ábra, kép, "francia jelzésű" (-) rész utáni elsőt), egy tabulátor jellel kezdődjenek. A kiemelendő szavak és mondatrészek jelölése dőlt betűvel történjen.

A dolgozat tartalmáért írói felelnek. A beérkezett kéziratot a szerkesztőség lektoráltatja, majd visszaküldi a szerzőnek javításra, ha szükséges. A javított kéziratot két pld.-ban kinyomtatva ill. 3.5"-es mágneslemezen kérjük a szerkesztőséghez eljuttatni.

A közlemény részei

Bevezetés

A szövegben a hivatkozást a szerző(k) családnévvel (dőlt betűvel írva) és a mű megjelenésének évszámával (zárójelbe téve) kérjük megadni. A név kiemelésekor a zárójel elmarad.

Anyag és módszer

Eredmény és értékelés

A megjelenő cikkben, ebben a fejezetben nyernek majd elhelyezést a táblázatok, ábrák stb. A kéziratban, azonban csak azok tervezett helyét kérjük megjelölni. A jobb szerkeszthetőség érdekében a táblázatok és ábrák a cikk végén, külön-külön oldalon szerepeljenek. A szövegben hivatkozzon rájuk (a sorszám után a táblázat szót dőlt betűvel írva).

Következtetések

Köszönetnyilvánítás (ha szükséges)

Irodalom

Csak a közleményben idézett műveket tartalmazhatja. Ezeket sorszám nélkül, az első szerző családi neve szerint ABC sorrendben kell felsorolni. Hivatkozásként, az összes szerzőt tüntesse fel, vesszővel elválasztva. Ezt, a megjelenés évszáma kövesse, zárójelbe téve, majd a mű címe, a folyóirat megnevezése (ha van, nemzetközileg elfogadott rövidítéssel), az évfolyam- és kötettség, a szám, ill. a közlemény kezdő és befejező oldalszáma (kötőjellel) írandó. Könyv esetén a szerző(k) neve és az évszám után a könyv címe eredeti nyelven, a kiadó neve, székhelye és az oldalszám következzen. A publikáció második, ill. további sora egy tabulátor jellel kezdődjön, az első szerző kiemelése érdekében.

Levelezési cím (az első szerző posta, ill. e-mail címe, telefon- és faxszáma)

Táblázat, ábra, kép stb.

Elhelyezésüket a cikk végére kérjük, külön-külön oldalra. Fejezetben belül, csak azok tervezett helyét jelöljék. A táblázat, ábra... sorszámát balra rendezetten, címét középre illesztve, 12-es félkövér betűvel kell írni. A diagramokat Excelben javasoljuk megrajzolni. A táblázatokat a Winword táblázat szerkesztőjével készítsék, az ábrákat azonban - a konvertálhatóság miatt - ne a beépített rajzolójával alkossák meg, hanem használjanak helyette pl. Corel Draw, AutoCAD... programot. A táblázatok stb. alatt közöljék először a cím, majd a szöveges rész (zárójelben számozva) fordítását. A diagramok, rajzok... forrás fájljait is kérjük mellékelni. A fekete-fehér fotók hátoldalán a szerző(k) nevét és az ábra számát tüntessék fel. Az utóbbit, a hozzá tartozó címmel együtt listán szíveskedjék csatolni. *(Részletes útmutatót a szerkesztőbizottság kérésre postán küld!)*

Rövidített útmutató az áttekintő (review) cikk készítéséhez

Korlátozott számban a szerkesztőség elfogad un. áttekintő (review) közleményt is, amennyiben a feldolgozott téma szakmai aktualitásához nem fér kétség és az elmúlt 3 évben az adott témakörben nem jelent meg sem hazai, sem külföldi szakfolyóiratban hasonló témájú dolgozat. Az áttekintő cikk elkészítésének technikai követelményei (sortávolság, betűnagyság, szövegszerkesztő program stb.) és általános előírásai (terjedelem, a kézirat nyelve...) megegyeznek a korábban leírtakkal.

Az áttekintő cikknek az alábbi fontosabb fejezeteket kell tartalmaznia:

- összefoglalás
- bevezetés (célkitűzés)
- következtetések
- irodalom

Guidelines in brief for the preparation of manuscripts

The subject sphere encompassed by the journal covers the entire spectrum of the production of animal products, ranging from livestock accommodation, via breed improvement, nutrition, reproduction and the maintenance of health to the processing and marketing of animal products, including the respective theoretical, fundamental aspects of these subfields, such as physiology and agricultural chemistry, and also pertinent examination methods. In addition to these topics space in the journal is also devoted to publications relating to the fields of plant production, economics and environmental protection.

The Acta Agraria Kaposváriensis accepts only papers which have not appeared in other publications, the exception being congress presentation; nor should they be in the process of publication. Scripts should be submitted to following address:

Acta Agraria Kaposváriensis Editorial Board
Pannon University of Agriculture, Faculty of Animal Science
H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.
Tel.: 36-82-314-155. Fax: 36-82-320-175
e-mail: kutszerv@atk.kaposvar.pate.hu

Three copies of the paper should be submitted; these should be typed *double* spaced using Winword 6.0 (or a similar, convertible programme) in *Times New Roman CE* font, with 12 pt character size and in justified paragraph form. Copies should be printed on A4 paper, only one side to be used. Manuscript length should not exceed 8000 words, which corresponds approximately to 20 pages. This length of 20 pages is to include any tables and illustrations used, in addition to the abstract and references. In exceptional cases the editorial committee may recommend that longer articles be accepted. The language of articles should be Hungarian or English.

Titles should be concise, consisting of a maximum of 20 words, and should be typed in bold 20 pt size characters. Authors are requested to include the text for the running head above the title. Authors' names should be typed, centred, using normal 15 pt size characters. For articles written in Hungarian the form Kiss J., Martin, T.G., Tóth J. should be used; for articles written in English, J. Kiss, T.G. Martin, J. Tóth. The place of employment of each author and the address of the institution/company should be entered, centred, beneath the authors' names, using normal 10 pt size characters.

The first *abstract* is to be in the language of the paper; the second should be in Hungarian for articles written in English and vice versa. Authors are requested to ensure that the title of each abstract is written centred and in bold italic 15 pt upper case characters, while its text should be written in 12 pt size normal italics. At the end of each abstract the relevant keywords should be given in brackets, typed in normal characters (max. 5 words or concepts). The abstract should not exceed 200-250 words (one page) in length. The title of the abstract written in the language not used in the paper should be written, centred, in 12 pt normal bold characters, followed by the names of the authors in normal 12 pt characters, and subsequently the place of employment of each author in normal 10 pt characters.

Titles of the respective *sections* (introduction, etc.) should be written centred and in 15 pt size bold upper case characters. Subtitles are to appear aligned to the left in 12 pt size bold lower case. Paragraphs (with the exception of those beginning sections or subsections, and the first paragraph after table, diagram, illustration or text in French style layout (i.e., points beginning with dashes or bullets)) should begin with one tabulator space indentation. Authors are requested to mark in italics any words or phrases to be emphasised.

Constituent sections of the publication

Introduction

Authors are requested to bracket after each reference the surname of the author(s) (in italics) and the year of publication of the work to which reference is made. If the name is stressed as a component part of the text it should not be bracketed.

Material and method

Results and discussion

This section of any paper to be published should include table, diagrams, etc.. Authors are however requested simply to mark in the text positions allocated to such graphic items. In the interest of achieving better editability tables, diagrams, etc. should appear at the end of the paper, on separate pages, in the script submitted. Reference should be made in the text to such inclusions (in italics, the word *table* followed by its number).

Conclusions

Acknowledgements (if applicable).

References

These should include only works referred to in the publication. References should be listed without numbers, in alphabetical order of main author's surname. For each citation made the names of all authors contributing to article should be quoted, separated by commas. The year of publication should follow in brackets, and subsequently the title of the work, the title of the journal in which it appeared (where appropriate using internationally recognised abbreviations), the year of publication or volume number and the first and last page numbers (separated by a hyphen) in the publication of the relevant paper. Where books are cited, the name(s) of the author(s) and the year of publication should be followed by the original title of the book in its language of publication, the name of the publishing company and the town/city in which it is based, and the numbers of the pages cited. Authors are requested to ensure that the second and subsequent lines of each reference begin with one tabulator space indentation, to give prominence to the name of the main author.

Correspondence address

The postal and e-mail address of the main author, and telephone and fax numbers on which he/she may be contacted, should be included.

Tables, diagrams, illustrations, etc.

Authors are requested to position such inclusions at the end of the paper, on separate pages. The positions allocated to these should be marked within the appropriate section of the text. Numbers of tables, diagrams, etc. should be aligned to the left and their titles centred, both in 12 pt size bold characters. It is requested that Microsoft Excel be used for the composition of diagrams. Tables may be compiled with the Winword table facility; however, in the case of other figures, due to the need for convertibility, the drawing facility installed with Winword should not be used, but a separate programme such as Corel Draw or AutoCAD. Beneath each table etc. authors should include a translation into the language (English or Hungarian) not used in the paper of the title and the text components (with referring numbers in brackets). It is requested that source files for diagrams, illustrations etc. be enclosed with the submitted paper. Black and white photographs should be marked on the reverse side with the name(s) of the author(s) submitting them and their illustration number. Authors should include a list of illustration titles with their respective numbers.

(Detailed guidelines will be posted on request by the editorial board.)

Guidelines for the composition of review articles

The editorial board will also accept a limited number of review articles, should there be no doubt as to the professional topicality of the subject dealt with and providing that no paper on a similar topic within the given subject sphere has been published in the previous three years in any Hungarian or international journal. The technical stipulations for the composition of review articles (length, language used, etc.) correspond to those outlined above for the preparation of manuscripts.

Review articles should consist of the following:

- abstract
- introduction (objective)
- conclusions
- list of literature cited.

TARTALOM

<i>Ózsvári L., Illés Cs. B., Fux A., Bíró O.</i> A <i>Staphylococcus aureus</i> tőgygyulladás által okozott gazdasági veszteségek számszerűsítése egy nagyüzemi holstein-fríz tehenészetben	1
<i>Kovács M., Romvári R., Orova Z., Kovács F., Horn P.</i> A fumonizin B1 magzatkárosító hatásának vizsgálata sertésben és házinyúlban	9
<i>Andrássy-Baka G., Romvári R., Sütő Z., Csapó J., Szabó A., Locsmándi L.</i> Brojlerek növekedésének vizsgálata computer tomográffal	19
<i>Csanádi J., Fenyvessy J., Jávora A.</i> Eltérően hőkezelt juhtej és juhtejből készült termékek szabad D-aminosav tartalmának vizsgálata	31
<i>Nagy Sz., Harcosfalvi Sz., Kovács A., Zomborszky Z.</i> Szarvassperma mélyhűtési módszereinek vizsgálata	41
<i>Vargáné Visi É., Csapó J.</i> A cheddar sajt szabad D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin tartalmának alakulása a gyártás során	47
<i>Óváry M., Holló G., Ábrahám Cs., Csapó J., Seenger J., Holló I., Szűcs E.</i> Az íz szerepe a hús élvezeti értékében (Irodalmi áttekintés)	63
Könyvismertetés	75
Útmutató a kéziratok elkészítéséhez	79

CONTENTS

<i>L. Ózsvári, Cs. B. Illés, A. Fux, O. Bíró</i> The quantification of the economical losses caused by <i>Staphylococcus aureus</i> in a large-scale Holstein-Friesian dairy cattle farm	1
<i>M. Kovács, R. Romvári, Z. Orova, F. Kovács, P. Horn</i> Investigations on the foetotoxic effect of fumonisin B1 in pig and rabbit	9
<i>G. Andrássy-Baka, R. Romvári, Z. Sütő, J. Csapó, A. Szabó, L. Locsmándi</i> The study of the broiler chickens' growth by X-ray computerized tomography	19
<i>J. Csanádi, J. Fenyvessy, A. Jávora</i> Investigation of D-amino-acid content of sheep milk by different heat-treating and products from sheep milk	31
<i>Sz. Nagy, Sz. Harcosfalvi, A. Kovács, Z. Zomborszky</i> Investigations on different methods of deer sperm cryopreservation	41
<i>É. Vargáné Visi, J. Csapó</i> Changes in the free D-aspartic acid D-glutamic acid and D-alanine content of cheddar during cheesemaking process	47
<i>M. Óváry, G. Holló, Cs. Ábrahám, J. Csapó, J. Seenger, I. Holló, E. Szűcs</i> Role of flavour in palatability of meat (A review)	63
Book review	75
Guide for the preparation of manuscripts	79