

**A tehéntej ketonanyag- és citromsav-tartalmának
diagnosztikai célú vizsgálata
c. PhD értekezés tézisei**

Készítette: Baticz Orsolya, okleveles biomérnök

Témavezető: Dr. Tömösközi Sándor, egyetemi docens

I. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉSEK

A nagyüzemi, intenzív állattartás viszonyai között számos olyan kedvezőtlen következmény fellépésével lehet számolni, amelyek a tejelő tehenek egészségügyi, takarmányozási, illetve egyéb tartási körülményeiből erednek. A takarmányozási hibák szubklinikai vagy klinikai tünetekben is megnyilvánuló anyag- és energiaforgalmi betegségeket, ezzel összefüggésben szaporodásbiológiai zavarokat, tejtermelés-csökkenést okozhatnak. Általános törekvés, hogy az anyagcsere-zavarokat szubklinikai állapotban fedezzük fel, amikor még nagyobb veszteségek nélkül, sikeresen avatkozhatunk be a gyakran súlyos következményekkel járó folyamatokba.

A betegségek kialakulása során lezajló változások a testfolyadékok összetételi változásával követhető nyomon. A tehenek testnedveinek karbamid- és ketonanyag-tartalma (aceton, acetecetsav és β -hidroxivajsav) az állat energia- és fehérje-ellátottságának indikátora. Az említett komponensek koncentrációjának megváltozása az élettani egyensúly megbomlását jelzi. Az összetételi változások korai felismerése a szubklinikai állapot azonosítására alkalmas, így a súlyosabb állategészségügyi következmények kialakulása elkerülhető.

Az állatorvosi laboratóriumi diagnosztikai gyakorlatban elsősorban a vér, a vizelet, valamint a bendőfolyadék vizsgálata terjedt el. Az ilyen típusú vizsgálatok esetében a mintavételezés állatorvosi szakértelmet, jelentős rutint kíván, emellett az állatok számára sem közömbös és higiéniai problémákat is felvet. Az utóbbi évek kutatási eredményei azt mutatják, hogy a vérben megfigyelhető változások időkéssel ugyan, de a nyerstejben is kimutathatók. A nyerstej vizsgálatának lehetősége egyszerűsíti a mintavételezést, és lehetőséget biztosít állománymonitorozási diagnosztikai rendszerek kialakítására is. Ennek alapfeltétele azonban a megfelelő hatékonyságú, rutinszerűen alkalmazható, gyorsvizsgálati analitikai módszerek kidolgozása és alkalmazási feltételeinek kialakítása.

Kutatómunkám alapvető két célja a következő volt:

- Nyerstej minták ketonanyag- és citromsav-tartalmának meghatározására alkalmas összehasonlító és gyorsvizsgálati analitikai módszerek fejlesztése, optimalítása és érvényesítése.
- A nyers tehéntejben mérhető ketonanyagok koncentrációi és a tej citromsav-tartalma közötti összefüggések tanulmányozása előkísérleti jelleggel annak megállapítására, hogy a citrátkör intermedierje, a citromsav mennyiségi meghatározásán keresztül lehetséges-e a szubklinikai ketózis előrejelzése, megállapítása.

II. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK, MÓDSZERFEJLESZTÉSEK

Kísérleti munkám jelentős részében a nyerstej minták ketonanyag- és citromsav-tartalmának rutinszerű vizsgálatára alkalmas analitikai háttér kidolgozásával foglalkoztam. Mivel az említett komponensek meghatározására nincs érvényes hazai vagy nemzetközi szabvány, illetve a szakterület által általánosan elfogadott analitikai módszert a szakirodalom áttekintése során nem találtam, ezért különböző módszerek fejlesztése, optimalítása és validálása vált szükségessé. Ennek megfelelően ebben fejezetekben – rendhagyó módon – az alkalmazott módszerek egyszerű ismertetése helyett az elvégzett fejlesztőmunka eredményeit is bemutatom.

II.1. Acetontartalom meghatározása

- Kidolgoztam és validáltam egy gázkromatográfiás (GC) és egy headspace-gázkromatográfiás (HS-GC) eljárást, melyek alkalmasak az acetontartalom nyerstejből történő meghatározására.
- Áramló injektálásos analitikai (FIA) eljárást optimaltam a tehéntej minták acetontartalmának automatikus gyorsvizsgálati meghatározására. Az analitikai mérőrendszer változtatható paramétereinek optimális beállításához a kísérlettervezés matematikai-statisztikai módszerét alkalmaztam. Meghatároztam az optimált módszer analitikai teljesítményjellemzőit.

II.2. Összketonanyag-tartalom meghatározása

- A HS-GC-eljárás továbbfejlesztésével analitikai eljárást dolgoztam ki a tejminták acetecetsav- és β -hidroxi-vajsav-tartalmának vizsgálatára.

II.3. Citromsav-tartalom meghatározása

- Nyerstej minták citromsav-tartalmának meghatározása fluorimetriás módszert adaptáltam [Hori és mtsai., 1974] a mintamátrixnak megfelelő mintaelőkészítési eljárás kidolgozásával.

III. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

III.1. Módszertani fejlesztések

- A kidolgozott új gázkromatográfiás (GC és HS-GC) eljárások a meghatározott analitikai teljesítményjellemzőik alapján egyaránt alkalmasak acetontartalom nyerstejből történő pontos, precíz és reprodukálható meghatározására. A fenti két eljárást idő- és költség-szükségletét, valamint a nagy számú minta elemezhetőségére vonatkozó igényt figyelembe véve, sorozatvizsgálati célokra a HS-GC eljárást tartottam alkalmasabbnak, így összehasonlító módszerként ezt az eljárást alkalmaztam.
- A nyerstejkből történő laboratóriumi körülmények között végezhető acetontartalom-meghatározásra optimalt FIA-eljárást 102 nyerstej minta elemzésével teszteltem és a kapott eredményeket az összehasonlító módszerrel kapottakkal összevetve megállapítottam, hogy a gyors és olcsó FIA-eljárás megfelelő gyorsvizsgálati alternatívája a HS-GC-eljárásnak.
- A háromlépéses mintaelőkészítést tartalmazó új HS-GC-módszer összehasonlító eljárás-ként alkalmazható a nyerstejek egyedi- és összketonanyag-tartalmának meghatározására.

III.2. Nyerstejek ketonanyag- és citromsav-tartalma

Elvégeztem 119 nyers tehéntej minta egyedi ketonanyag- és citromsav-tartalmának meghatározását. Megállapítottam, hogy:

- a hagyományos mintavétel, tárolás és szállítás körülményei között a nyerstejben az acetoacetát spontán dekarboxileződve acetonná alakul;
- a laktációs periódus energiaegyensúly szempontjából kritikusnak tekinthető első hat hetében a tej aceton- és β -hidroxi-vajsav-tartalma ellentétes irányban változik, az elléstől számított napok számának növekedésével csökken az acetontartalom, míg a β -hidroxi-vajsav-tartalom

nő;

- azokban a mintákban, amelyekben a tej aceton-koncentrációja 0,4 mmol/l feletti, az aceton és a β -hidoxi-vajsav koncentrációja között szignifikáns, lineáris függvény segítségével közelíthető összefüggés van;
- a nyerstejek citromsav-koncentrációja a laktációs idő növekedésével az acetontartalommal megegyező módon változik, ami a citrátkör és a ketogenezis biokémiai folyamatai alapján jól értelmezhető;
- a 0,4 mmol/l-t meghaladó tej aceton-koncentrációjú mintákban a citromsav-tartalom és az aceton-tartalom között szoros szignifikáns pozitív, míg a citromsav-tartalom és a β -hidroxivajsav-tartalom között szignifikáns negatív korreláció áll fenn.

Amennyiben elfogadjuk az irodalmi hivatkozásokban található és a szubklinikai/klinikai ketózis állapotok elkülönítésére használható tej aceton-koncentráció határértékeket, abban az esetben a fentiek alapján a citromsav mennyiségi meghatározása is alkalmas lehet a tejelő tehenek energiahányos állapotának előrejelzésére, illetve megállapítására.

A fenti feltételezés igazolásához további vizsgálatokra van szükség:

- A citromsav-tartalom rutinszerű meghatározása gyorsvizsgálati módszer kidolgozását igényli, melyet enzimes elven működő FIA-eljárás kidolgozásával, vagy a nyerstejek többi beltartalmi paraméteréhez hasonlóan, Fourier transzformációs infravörös spektroszkópiai (FTIR) módszer alkalmazásával tartok megvalósíthatónak.
- A biokémiai folyamatok mélyebb értelmezése további, friss tejmintákból történő mérések elvégzését igényli, ahol a tejminták eredete, valamint az állatok állatorvos által megállapított állapota ismert és megfelelően dokumentált.

IV. A TÉMAKÖRBE MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK ÉS ELŐADÁSOK

Cikkek:

1. Baticz, O., Tömösközi, S., Vida, L. és Gaál, T.: Concentrations of citrate and ketone bodies in cow's raw milk and their relationships under real conditions, J. Dairy Sci. 2002. – elküldve
2. Tömösközi, S., Baticz, O. és Lásztity, R.: Determination of total cholesterol content in foods by flow injection analysis with immobilized cholesterol oxidase enzyme reactor, Nahrung/Food, 46 (1), 46-50, 2002.
3. Baticz, O., Vida, L. és Tömösközi, S.: Determination of acetone in cow's raw milk by flow injection and gas chromatographic methods, Acta Alimentaria, 30 (3), 297-311, 2001.
4. Tömösközi, S., Lásztity, R., Haraszi, R. és Baticz, O.: Isolation and study of the functional properties of pea proteins, Nahrung/Food, 45 (6), 399-401, 2001.
5. Baticz, O., Tömösközi, S., Vida, L. és Gaál, T.: Relationship between concentration of citric acid and ketone bodies in raw cow's milk, Acta Vet. Hung. 2002. – közlésre elfogadva
6. Lásztity, R., Khalil, M.M., Haraszi, R., Baticz, O. és Tömösközi, S.: Isolation, functional properties and potential use of protein preparations from lupin, Nahrung/Food, 45 (6), 396-398, 2001.
7. Tömösközi, S., Baticz, O. és Örsi, F.: Élelmiszerek koleszterin-tartalmának meghatározása és a mérések automatizálásának lehetőségei, Élelmészeti Ipar, LII (6), 169-173, 1998.
8. Tömösközi, S., Veress, T., Baticz, O., Simándi, B. és Örsi, F.: Szuperkritikus fluid extrakció, mint mintaelőkészítési módszer élelmiszerek koleszterintartalmának kivonására, Olaj,

szappan, kozmetika, 49. évf. Különszám, 109-111, 2000.

9. Baticz, O., Kemény, S., Vida, L. és Tömösközi, S.: Kísérlettervezés alkalmazása acetontartalom FIA-eljárással történő meghatározásának optimalására, Élelmiszervizsgálati Közlemények, XLVII. kötet, 3-4. füzet, 113-126, 2001.

Előadások:

1. Tömösközi S., Baticz O., Haraszi R., Kemény S.: Analitikai vizsgálatok minőségbiztosítása, Hungalimentaria '99 Konferencia, Budapest 1999.
2. Tömösközi S., Baticz O., Csete Zs., Gundel J-né, Katona F., Prokai S.: Takarmányozási problémák feltárása és a ketózis kialakulásának előrejelzése a nyerstej oxidált ketontest-tartalmának automatizált FIA technikával történő meghatározásával, 11. Magyar Buiatrikus Kongresszus, Siófok, 1999.
3. Tömösközi S., Baticz O. és Vida L.: Acetontartalom meghatározása nyerstejben áramló injektálásos analízissel, 296. Tudományos Kollokvium (KÉKI), Budapest, 1999.
4. Baticz O., Tömösközi S., Kemény S. és Vida L.: Kísérlettervezés alkalmazása acetontartalom FIA-eljárással, tejből történő meghatározásának optimalására, XIII. Élelmiszer Minőségellenőrzési Tudományos Konferencia, Székesfehérvár, 2000.
5. Baticz O., Tömösközi S.: Az áramló injektálásos analitika környezetvédelmi alkalmazása, XV. Országos Környezetvédelmi Konferencia, Siófok, 2001.
6. Baticz O., Tömösközi, S., Vida, L. és Gaál, T.: A nyers tehéntejben mérhető ketonanyag- és citromsav-koncentrációk összefüggései, MTA Akadémiai Beszámoló, Budapest, 2002.
7. Baticz O., Tömösközi, S., Vida, L. és Gaál, T.: A nyers tehéntejben mérhető ketonanyag- és citromsav-koncentrációk összefüggései, XIV. Élelmiszertudományi Konferencia, Budapest, 2002.

Poszterek:

1. Tömösközi S., Veress T., Baticz O., Simándi B. és Örsi F.: Szuperkritikus fluid extrakció, mint mintaelőkészítési módszer élelmiszerek koleszterintartalmának kivonására, SFE konferencia, Budapest, 1999.
2. Baticz O., Vida L. és Tömösközi S.: Relationship among quantities of different ketone bodies in raw milk, Reactions in Food IV. Konferencia, Prága, 2000.