

Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola

**Az otthoni sütési-főzési eljárások hatása a
baromfihúsok kémiai és mikrobiológiai biztonságára,
valamint minőségi jellemzőire**

PhD értekezés

dr. Pleva Dániel

2020

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....

Prof. Dr. Laczay Péter

Állatorvostudományi Egyetem, Élelmiszer-higiéniai Tanszék
témavezető

.....

Dr. Lányi Katalin

Állatorvostudományi Egyetem, Élelmiszer-higiéniai Tanszék
társtémavezető

Készült 8 példányban. Ez a sz. példány.

.....

dr.Pleva Dániel

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	2
Rövidítések jegyzéke	4
1. Összefoglalás.....	6
1.1. Összefoglalás	6
1.2. Summary	9
2. Bevezetés	12
2.1. A téma jelentősége	12
2.2. Célkitűzés.....	13
3. Irodalmi áttekintés	14
3.1. Rákkeltő vegyi anyagok az élelmiszerláncban.....	14
3.2. A hús élelmiszer-kémiája.....	19
3.3. Heterociklikus aromás aminok.....	21
3.4. A baromfihús mikrobiológiai biztonságossága	24
4. Anyag és Módszer.....	26
4.1. Bőrös és bőr nélküli csirkemell- és csirkecombminták HCA tartalmának vizsgálata ...	26
4.2. A bőr és a grillezési eljárás hatásának vizsgálata a HCA-tartalomra csirkemellminták felszínén és mélyebb rétegeiben; a sütés során jelentkező színváltozás és a HCA-tartalom kapcsolata.....	32
4.3. A kiskereskedelmi csirkehús Salmonella szennyezettsége és a S. Enteritidis hőpusztulása grillezés során.....	35
5. Eredmények	37
5.1. Bőrös és bőr nélküli csirkemell- és csirkecombminták HCA tartalmának vizsgálata ...	37
5.2. A bőr és a grillezési eljárás hatásának vizsgálata a HCA-tartalomra csirkemellminták felszínén és mélyebb rétegeiben; a sütés során jelentkező színváltozás és a HCA-tartalom kapcsolata.....	39
5.3. A grillezés hatása a Salmonella Enteritidis hőpusztulására.....	52
5.4. Összefüggés a HCA-képződés és a Salmonella pusztulás között	56
6. Megbeszélés	57
6.1. A testtájak és a bőr hatása a HCA képződésre	57
6.2. A grillezett csirkehús különböző rétegeinek HCA-mennyiségét befolyásoló tényezők, valamint a színváltozás és a HCA-mennyiség összefüggése	59
6.3. A különböző hőmérséklet-idő kombinációjú grillezés hatásának vizsgálata a Salmonella Enteritidis hőpusztulására	66
6.4. A toxikológiai és mikrobiológiai élelmiszer-biztonság, valamint az érzékszervi szempontok együttes értékelése grillezett baromfihús esetén.....	67
7. Új tudományos eredmények	71
8. Irodalom	72

9. A doktori kutatás eredményeinek közlései.....	80
9.1. Lektorált, impakt faktorral bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk.....	80
9.2. Lektorált, impakt faktorral nem bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk.....	80
9.3. Konferencia prezentációk.....	80
10. Mellékletek	82
11. Köszönetnyilvánítás.....	92

Rövidítések jegyzéke

Rövidítés	Jelentés	
	Idegennyelvű	Magyar
µl	-	mikroliter
4,8-DiMeIQx	-	2-amino-3,4,8-trimetil-imidazo [4,5-f] kinoxalin
a*	-	CIELAB vörösség skála
AIA	-	amino-imidazo-azaarének
ALARA	As Low As Reasonably Applicable	az észszerűen alkalmazható legalacsonyabb szinten
Ar	-	argon
b*	-	CIELAB sárgaság skála
BMDL10	Benchmark Dose Lower Confidence Limit 10%	a vizsgált állatok 10%-ában daganatot kiváltó, legkisebb rákkeltő dózis 95%-os valószínűséggel megadott értékének alsó szintje
cfu	colony forming unit	telepformáló egység
CIE	Commission internationale de l'éclairage	Nemzetközi Világítástechnikai Bizottság
cm	-	centiméter
DNS	-	dezoxiribonukleinsav
ESI	Electrospray Ionization	elektrospray ionizáció
Fe	-	vas
g	-	gramm
harman	-	1-metil-9H-pirido [3,4-b] indol
HCA	heterocyclic amine	heterociklikus amin
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	nagy teljesítményű folyadékkromatográfia
IARC	International Agency for Research on Cancer	Nemzetközi Rákkutató Ügynökség
IQ	-	2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kinolin
kg	-	kilogramm

kV	-	kilovolt
L	-	liter
L*	-	CIELAB világosság skála
LC	liquid chromatography	folyadékkromatográfia
LOD	limit of detection	kimutatási határ
LOQ	limit of quantification	mérési határ
M	-	1 mol/L töménységű
MeIQ	-	2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5-f]kinolin
MeIQx	-	3,8-dimetil-imidazo [4,5-f]kinoxalin
mg	-	milligramm
ml	-	milliliter
MOE	Margin of Exposure	expozíciós tűréshatár
MRM	Multiple Reaction Monitoring	többszörös reakciómegfigyelés
MS	Mass Spectrometry	tömegspektrometria
N ₂	-	nitrogén gáz
NaOH	-	nátrium-hidroxid
NÉBIH	-	Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal
ng	-	nanogramm
NOEL	No Observed Effect Level	megfigyelhető káros hatást nem okozó szint
norharman	-	9H-β-karbolin
PAH	polycyclic aromatic hydrocarbon	policiklikus aromás szénhidrogén
PhIP	-	2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-b] piridin
S.	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i> nemzetség
SPE	solid phase extraction	szilárdfázisú extrakció
WHO	World Health Organization	Egészségügyi Világszervezet

1. Összefoglalás

1.1. Összefoglalás

Az Egészségügyi Világszervezet Nemzetközi Rákkutató Ügynöksége által 2015-ben kiadott közlemény a vörös (emlős) húsok és húskészítmények besorolásáról világszerte nagy visszhangot keltett. Egyes feldolgozott termékek az 1-es, bizonyítottan emberi rákkeltő kategóriába kerültek, amelynek okai között szerepel a technológiai szennyezők (nitrózaminok, policiklikus aromás szénhidrogének – PAH-ok, heterociklikus aminok – HCA-ok) keletkezése a gyártásuk során. Ezek a vegyületek különösen hőkezelés hatására képződhetnek egyebek mellett az otthoni vagy a vendéglátóhelyi sütési eljárások, például a grillezés során. Ugyanakkor az utóbbi évek élelmiszer-eredetű járványai azt mutatták, hogy a mikrobiológiai biztonság megteremtése érdekében szükségünk van megfelelő antimikrobiális eljárások, így a hőkezelés alkalmazására mind az élelmiszeriparban, mind pedig az otthoni vagy a vendéglátóhelyi ételkészítés során.

Az értekezés témáját képező kutatásaim keretében három kísérletsorozatban a következőket vizsgáltam:

- a baromfihústra jellemző heterociklikus aminok (harman, norharman, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, PhIP) képződésének mértéke grillezett bőrös és bőr nélküli csirkemellben, valamint csirkecombban az alkalmazott hőmérséklet és idő függvényében;
- a nyitott és zárt módon végzett grillezés hatása a heterociklikus aminok keletkezésére bőrös és bőr nélküli csirkemellben különböző hőmérséklet-idő kombinációk alkalmazásával, továbbá a heterociklikus amin képződés és a hús színének változása közötti kapcsolat tanulmányozása;
- a különböző hőmérséklet-idő kombinációjú grillezés hatásának vizsgálata a *Salmonella* Enteritidis hőpusztulására.

A vizsgálatokat az Állatorvostudományi Egyetem Élelmiszer-higiéniai Tanszékén végeztem. Az első kísérletsorozatban a grillezést nyitott elektromos grillen 150, 180 és 210 °C-on, oldalanként 2,5, 5 és 10 perc időtartamig, a második sorozatban pedig nyitott, illetve zárt körülmények között 150, 190 és 230 °C-on oldalanként 5, 10 és 15 perc időtartamig hajtottam végre (zárt sütés esetén a két oldalt egyszerre érte a hőhatás).

A heterociklikus aminok mennyiségi meghatározása validált HPLC-MS/MS módszerrel Shimadzu LCMS 8030 berendezésen történt. A hús színének változását érzékszervi módszerrel és kolorimetriás méréssel, Konica Minolta CHROMA METER CHR-400 tristimulus színmérővel elemeztem a színváltozás és a heterociklikus amin képződés közötti összefüggés tanulmányozása céljából.

A mikrobiológiai vizsgálatokat kereskedelmi forgalomból beszerzett *Salmonella* Enteritidis baktériumokkal mesterségesen kontaminált csirkemellmintákon végeztem. A minták hőkezelése a második kísérletsorozatban alkalmazott hőmérséklet-idő kombinációkkal, a mikrobaszám-meghatározás pedig redoxpotenciál-méréssel történt.

Vizsgálataim eredményei szerint az azonos módon elkészített mell és combszeletek között jelentős mennyiségi és minőségi eltérés figyelhető meg a hőkezelés hatására keletkező heterociklikus aminok profilját illetően. A mellben alapvetően magasabb volt az össz-HCA, azon is belül a PhIP mennyisége. A 210°C-on 15 percig végzett grillezés során a comb mennyiségének háromszorosa, PhIP esetén majdnem ötszöröse volt található a mellben. A bőr jelenléte a hosszabb hőkezelések esetén fokozta a HCA-termelődést, de rövidebb (210 °C-2,5 perc) időtartam alatt hőszigetelőként működve csökkentette azt.

A második kísérletsorozatban végzett vizsgálataim eredményei szerint, zárt grillezés esetén a HCA-ok mennyisége többnyire magasabb volt a nyitott módon grillezett mintákhoz képest, de nem volt markáns eltérés a két eljárás között. A bőr rövid távú védő, és hosszabb távon HCA-képződést serkentő hatása itt is megmutatkozott, de maga a bőr mindig több HCA-t tartalmazott, mint az azonos módon hőkezelt bőr nélküli húsfelszín. A színmérés során az érzékszervi eredmények minden esetben erős korrelációt ($R > 0,7$) mutattak a minták HCA-koncentrációival, a műszeres mérés paramétereinek közül a világosság (L^*) és a vörösség (a^*) bizonyult hasznosnak a keletkező amin mennyiségének jellemzésére. A bőrös nyitott sütésen kívül ezek a paraméterek is erős korrelációt mutattak a rákkeltő vegyületek mennyiségével.

Vizsgálataink eredményei szerint a grillezés hatékony hőkezelési módszer a *S. Enteritidis* elpusztítására. Ugyanakkor fontos a megfelelő hőmérséklet-idő kombináció megválasztása, mivel ahogy az várható volt, a magasabb hőmérséklet és a hosszabb időtartamú hőkezelés kifejezettebb baktériumpusztulást okoz.

A második kísérletsorozathoz hasonló módon hőkezelt, szalmonellával szennyezett hússzeletek esetén a bőr védő hatása a szalmonellák túlélését is elősegítette, mivel jelentősen csökkentette a maghőmérséklet emelkedését.

Kutatásaink eredményei alapján amennyiben csak a heterociklikus aminok keletkezését tekintjük, a hosszabb ideig tartó (15 perc), de alacsony (150 °C) hőmérsékletű kontakt grillezés során jellemzően kevesebb rákkeltő vegyület keletkezik, mint magasabb hőmérsékleten akár rövidebb ideig tartó behatás következtében. Ugyanakkor az érzékszervi jellemzőket és a *Salmonella* pusztulás mértékét is figyelembe véve >150 - ≤190 °C hőkezelés szükséges 10 – 15 perc időtartamig. A vizsgált 190 °C hőmérsékleten 10, illetve 15 percig tartó grillezés nyitott és zárt körülmények között is megfelelő érzékszervi jellemzőket és *Salmonella* pusztulást biztosít, miközben a heterociklikus aminok képződése mérsékelt marad. Amennyiben a grillezési hőmérsékletet 230 °C-ra emeljük, az számottevően növeli a rákkeltő vegyületek

keletkezését. Mivel a hús színének változása, mindenekelőtt a vöröses-barnás jelleg intenzívebbé válása szoros korrelációt mutat az abban keletkező heterociklikus aminok koncentrációjával, ezért a grillezés során a színváltozás figyelemmel kísérésével, azaz a grillezés időtartamának pontosításával jelentősen csökkenthetjük a rákkeltő aminok képződését. Fokozott figyelmet kell fordítani a bőrös részek grillezésére, minthogy a bőrben általában több genotoxikus anyag keletkezik. A bőr jelenléte egyúttal csökkenti a baktériumpusztulás mértékét is, amit a grillezés hőmérséklet-idő paramétereinek kiválasztásánál ugyancsak figyelembe kell venni.

A kémiai vizsgálatok kockázatelemzése során fényt derítettünk arra, hogy a magasabb hőmérsékletű (230 °C) grillezéssel elkészített húsminták, tekintetbe véve a baromfifogyasztási szokásokat akár közegészségügyi kockázattal is bírhatnak a bennük keletkezett PhIP MOE értékei alapján. Ezen kívül azt is megfigyeltük, hogy a kémiai és mikrobiológiai rizikófaktorok a hőkezelés hatására egymással ellentétesen alakultak, egyes esetekben (például bőrös nyitott sütésnél) kifejezetten erős negatív korrelációt tapasztaltunk a HCA-mennyiség és a túlélő *Salmonellák* száma között ($R < -0,9$).

1.2. Summary

The World Health Organization's International Agency for Research on Cancer issued a statement in 2015 about the classification of red (mammalian) meats and meat products that caused alarm worldwide. Some processed products were placed in category 1, as proven human carcinogens, due to the formation of technological contaminants (nitrosamines, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), heterocyclic amines (HCA)) during their production. These compounds can be formed by heat treatment, during home or catering cooking processes, such as grilling. At the same time, food-borne epidemics in recent years have shown that in order to establish microbiological safety, we need appropriate antimicrobial procedures, such as the application of heat treatment, both in the food industry and in food preparation at home or in restaurants.

During my research into the dissertation topic, in three sets of experiments I examined the following:

- the formation of heterocyclic amines (harman, norharman, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, PhIP) that are characteristic of poultry meat, in grilled skin covered and skinless chicken breast and chicken thigh samples at different grilling temperature and time combinations;
- the effect of opened and closed grilling on the formation of heterocyclic amines in skin covered and skinless chicken breasts using different temperature-time combinations, and the relationship between heterocyclic amine formation and meat colour change;
- the effect of grilling with different temperature-time combinations on the elimination of *Salmonella* Enteritidis.

The tests were performed at the Department of Food Hygiene of the University of Veterinary Medicine.

In the first set of experiments, grilling was conducted on an open electric grill at 150°C, 180°C and 210°C for 2.5, 5 and 10 minutes per side. The second set of experiments used different parameters: under open and closed conditions at 150°C, 190°C and 230°C for 5, 10 and 15 minutes (in the case of closed baking, the two sides were exposed to heat at the same time). Heterocyclic amines were quantified by a validated HPLC-MS / MS method on a Shimadzu LCMS 8030 instrument. The colour change of the meat was analysed by sensory method and colorimetric measurement with a Konica Minolta CHROMA METER CHR-400 tristimulus colorimeter to study the relationship between colour change and heterocyclic amine formation. Microbiological tests were performed on chicken breast samples originating from retail market sources artificially contaminated with *Salmonella* Enteritidis bacteria. The samples were heat

treated with the temperature-time combinations used in the second set of toxicological experiments, and the number of microbes was determined by redox potential measurement.

The study's results indicated that a significant quantitative and qualitative difference can be observed between the breast and thigh slices prepared in the same way in terms of the profile of heterocyclic amines formed during heat treatment. The amount of total HCA, including PhIP, was higher in the breast. During grilling at 210°C for 15 minutes, the amount of HCA in the breast was three times higher than in the thigh, and in the case of PhIP the difference was almost five fold. The presence of skin increased HCA production with longer heat treatments, but decreased it by acting as a thermal insulator for a shorter period of time (210°C – 2.5 min). The results of the second set of experiments demonstrated that the amount of HCA was slightly higher in the closed-grilled samples compared to open-grilled samples, but there was no significant difference between the two groups. The short-term protective and long-term HCA-stimulating effect of the skin was also detectable, but the skin itself always contained more HCA than the same heat-treated meat surface without skin. During the colour measurement, the sensory results showed a strong correlation ($R > 0.7$) with the HCA concentrations of the samples in all cases, and in the case of the instrumental colour measurement the parameters of brightness (L^*) and redness (a^*) were proven to be useful for characterizing the amount of the amines formed. Except for the case of opened grilling with skin, these parameters also showed a strong correlation with the amount of carcinogenic compounds.

The results of our studies suggest that grilling is an effective heat treatment method to kill *S. Enteritidis*. However, it is important to choose the right temperature-time combination because, as hypothesized higher temperatures and longer heat treatments cause more effective elimination on the number of bacteria.

In the case of salmonella-contaminated meat slices treated in a manner similar to the second set of experiments, the protective effect of the skin also promoted the survival of salmonella, as it significantly reduced the increase in core temperature.

Based on the results of our research, if only the formation of heterocyclic amines is considered, prolonged (15 min) but low (150°C) contact grilling typically causes the formation of less carcinogenic compounds than at higher temperatures even for a shorter period. However, with respect to the organoleptic characteristics and the rate of salmonella death, heat treatment between 150°C and 190°C for 10 to 15 minutes is required. Grilling at 190°C for 10 and 15 minutes provides adequate sensory characteristics and salmonella death under both open and closed conditions, while the formation of heterocyclic amines remains moderate. Raising the grilling temperature to 230°C significantly increases the formation of carcinogens. Since the change in the color of the meat, especially the intensification of the reddish-brown character, is closely correlated with the concentration of heterocyclic amines formed in it, we can

significantly reduce the formation of carcinogenic amines by monitoring the colour change during grilling. Increased attention should be paid to grilling skin covered parts, as more genotoxic substances are usually produced in the skin. The presence of the skin also reduces the rate of bacterial death, which should also be taken into account when selecting the temperature-time parameters for grilling.

During the risk analysis of the chemical tests, we found that meat samples prepared by grilling at a higher temperature (230 ° C), taking into account the consumption habits of poultry, may even pose a risk to public health based on the MOE values of PhIP formed in them. In addition, we observed that the changes of chemical and microbiological risk factors were opposite to each other as a result of the heat treatment, in some cases (for example at open grill with skin) we found a very strong negative correlation between the amount of HCA and the number of surviving *Salmonellae* ($R < -0.9$).

2. Bevezetés

2.1. A téma jelentősége

A nyilvántartott vegyi anyagok száma jóval meghaladja a 10 milliót, amelyből 70–80 ezerre tehető azon vegyületek száma, melyekkel az ember közvetlenül kapcsolatba kerülhet. Ezeknek az anyagoknak nagy része potenciálisan az élelmiszerekben is megjelenhet és a fogyasztó egészségét is károsíthatja (Laczay 2013).

A kémiai szennyezők túlnyomó többsége az elsődleges termelés során, a gazdaságban jut az élelmiszer-termelő állatok és a növények szervezetébe, illetve ez utóbbiak felületére. Ugyanakkor az élelmiszerlánc későbbi szakaszaiban, az élelmiszer-ipari feldolgozás, valamint az ételkészítés során, a vendéglátásban és a háztartásokban is keletkezhetnek a fogyasztó egészségét károsító vegyi anyagok. Ezeket összefoglaló néven technológiai eredetű szennyezőknek nevezzük.

A technológiai eredetű szennyezők között nagy számban találhatunk igazoltan vagy feltételezhetően karcinogén hatású vegyületeket. Ezek közé tartoznak egyes két vagy három gyűrűt tartalmazó heterociklikus aminok is, amelyek húsok, halak magas hőmérsékleten való sütésekor, grillezésekor keletkezhetnek. A szervezetben a citokróm P-450 rendszeren keresztül aktiválódnak, hidroxiamin-származékokká alakulnak, amelyek a DNS-hez kovalensen kötődő adduktokat képezve tumoriniciátor hatásúak, azaz a daganatképződés első lépését, a szomatikus mutáció bekövetkeztét indukálják (Laczay *et al.* 2017).

A Nemzetközi Rákkutató Ügynökség 2015-ben állásfoglalást tett közzé és abban a vörös húsokat az emberben valószínűleg rákkeltő vegyületek csoportjába, a húskészítményeket pedig a bizonyítottan rákkeltők közé sorolta, mivel az azok feldolgozása, otthoni sütése, főzése során genotoxikus karcinogén vegyületek keletkezhetnek. Az állásfoglalás a vörös húsok és húskészítmények lehetséges rákkeltő hatását három vegyületcsoport, az N-nitroso vegyületek, a policiklikus aromás szénhidrogének és a heterociklikus aminok keletkezésével hozza összefüggésbe (IARC 2015, Bouvard *et al.* 2015, Domingo és Nadal 2017).

Heterociklikus aminok a vörös húsok mellett baromfifajok és halak húzában is keletkezhetnek hőkezelés hatására. Mennyiségük a hőmérséklet és a hőkezelés időtartamának növelésével emelkedik. Keletkezésük mértékét ugyanakkor számos tényező befolyásolhatja (Tengilimoglu-Metin *et al.* 2017).

A húsok sütése, grillezése során képződő rákkeltő vegyületek, így a heterociklikus aminok mennyisége általában csökkenthető, ha a hőkezelést alacsonyabb hőfokon és rövidebb ideig végezzük. Ugyanakkor kérdés, hogy mindez hogyan befolyásolja a húsokban, illetve azok felületén található zoonotikus baktériumok hőkezelés hatására bekövetkező pusztulását, azaz a hőkezelt ételek mikrobiológiai biztonságosságát, továbbá az alkészült étel minőségét és élvezeti értékét.

A jelen értekezés keretében a heterociklikus aminok keletkezését befolyásoló tényezőket vizsgáltam grillezett csirkehúsban, valamint az alkalmazott hőkezelési eljárásoknak a mikrobiológiai biztonságosságra és az ételek minőségére gyakorolt hatását tanulmányoztam különös tekintettel a szín és a keletkező rákkeltő vegyületek közötti esetleges korrelációra.

2.2. Célkitűzés

Az értekezés témáját képező kutatásaim keretében három kísérletsorozatban a következőket vizsgáltam:

2.2.1. A heterociklikus amin képződés mértéke grillezett bőrös és bőr nélküli csirkemellben, valamint csirkecombban az alkalmazott hőmérséklet és idő függvényében

Az első kísérletsorozatban az öt leggyakoribb heterociklikus amin (harman, norharman, MeIQx, 4,8-DiMeIQx és PhIP) képződését vizsgáltam csirkemellben és csirkecombban azonos grillezési hőmérséklet-idő kombinációk esetében. Tanulmányoztam továbbá a bőr jelenlétének befolyásoló szerepét csirkemell esetében.

2.2.2. A heterociklikus amin képződés mértéke a hús felszínén illetve belsejében bőrös és bőr nélküli csirkemellben nyitott és zárt grillezés körülményei között különböző hőmérséklet-idő kombinációk alkalmazásával, továbbá a heterociklikus amin képződés és a hús színének változása közötti kapcsolat tanulmányozása

Kutatásaim második részében szélesebb hőmérsékleti spektrumú és összetettebb grillezési eljárást követően bőrös és bőr nélküli csirkemell minták külső, sütőlappal érintkező, illetve belső rétegeiben vizsgáltam a heterociklikus amin képződés mértékét. További fontos célkitűzésként a keletkező rákkeltő kémiai anyagok mennyisége és a hús színének változása közötti korreláció mértékét is tanulmányoztam annak megállapítására, hogy a fogyasztó számára könnyen érzékelhető színváltozás megfelelő indikátora lehet-e a genotoxikus anyagok képződésének.

2.2.3. A különböző hőmérséklet-idő kombinációjú grillezés hatásának vizsgálata a *Salmonella* Enteritidis hőpusztulására

A harmadik kísérletsorozatban az élelmiszer-kémiai eredményeinket mikrobiológiai vizsgálatokkal egészítettük ki. Ennek keretében *S. Enteritidis* baktériumokkal mesterségesen szennyezett csirkemellmintákban vizsgáltuk a baktériumok hőpusztulásának mértékét a második kísérletsorozatban alkalmazott hőmérséklet-idő kombinációkkal nyitott, illetve zárt körülmények között történt grillezés során.

3. Irodalmi áttekintés

3.1. Rákkeltő vegyi anyagok az élelmiszerláncban

3.1.1. Az élelmiszerekben előforduló testidegen kémiai anyagok

Az emberi szervezetet károsító ágensek 70 %-a táplálkozás során, az élelmiszerrel kerül be a szervezetbe. Emiatt az élelmiszer-higiéniának kiemelten fontos feladata van az egészségmegőrzés területén, hiszen az alapvető, a fejlődéshez és a létfenntartáshoz nélkülözhetetlen anyagok (fehérjék, szénhidrátok, zsírok, makro- és mikroelemek, vitaminok és egyéb hatóanyagok) biztosítása mellett az élelmiszerek biztonságos fogyaszthatóságát is garantálni kell a biológiai, a kémiai és fizikai szennyeződések tekintetében egyaránt.

Az élelmiszerekben előforduló testidegen kémiai anyagok főbb csoportjait az 1. táblázat szemlélteti (Laczay 2012).

1. táblázat: Az élelmiszerekben előforduló, az egészséget veszélyeztető kémiai anyagok típusai

Idegen anyagok		Természetes eredetű károsító anyagok
Toxikus szennyezők	Adalékanyagok	
Állatgyógyszer-maradékok Peszticidmaradékok Környezeti eredetű szennyezők Biológiai eredetű szennyezők Technológiai eredetű szennyezők	Íz- és aromaanyagok Színezékek Tartósító szerek Technológiai segédanyagok	Alkaloidok (pl. szolanin, morfin) Ciánglikozidok Kumarin Metil-alkohol Nitrátok

A kémiai szennyezők az élelmiszer-termelési folyamat különböző stádiumaiban kerülhetnek az élelmiszerekbe. Legkorábban a még élő állati és növényi szervezetbe, illetve a felszínére kerülő, a gazdaságban használt vegyszerekkel érintkezik a nyersanyag az elsődleges termelés során, az állatok és növények kezelésére alkalmazott gyógyszerek, növényvédő szerek maradáka az élelmezés-egészségügyi várakozási idő, illetve a megfelelő előkészítő eljárások be nem tartása révén megjelenhetnek a végtermékben is. Ezen kívül különböző környezeti eredetű szennyezők, biológiai eredetű kontaminánsok, valamint természetes tartalomként előforduló toxikus anyagok is előfordulhatnak az elsődleges termelés helyén. A szennyezőanyagok kisebb része az élelmiszer-feldolgozás során kerül az élelmiszerbe: az adalékanyagok között is lehetnek az egészségre károsak, valamint a felhasznált termelési eszközökből és csomagolóanyagokból is kerülhetnek vegyi anyagok a termékbe. Ezen kívül

nem elhanyagolható az a hatóságok által kevésbé ellenőrizhető terület sem, amely az otthoni ételkészítési eljárások károsanyag-keletkezésére gyakorolt hatását vizsgálja.

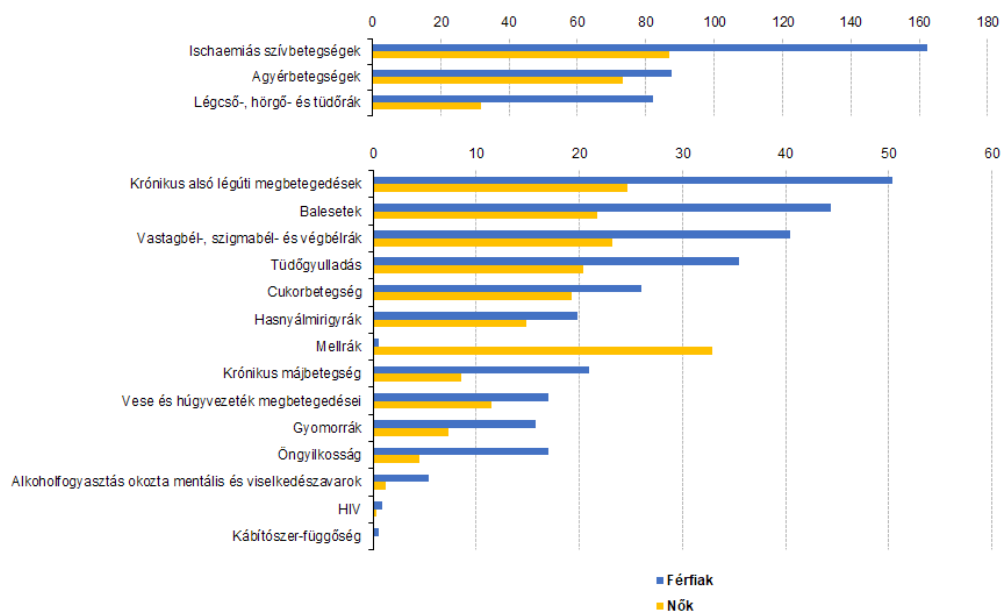
A mikrobiológiai ágensekkel szemben az idegen kémiai anyagok egészségkárosító hatásai általában lassan, a fogyasztó számára rejtetten alakulnak ki. Érvényes ez a különböző sejtfunkciókat befolyásoló és ezáltal egyes célszerveket vagy a szervezet egészét károsító fizikai, kémiai, biokémiai vagy fiziológiai hatásokra, és hatványozottan jellemző a genetikai állományt károsító speciális, genotoxikus tulajdonságokra.

3.1.2. A daganatos betegségek kóroktana

A genotoxikus hatás kialakulhat az ivarsejtekben, ez esetben az utódokban fejlődhetnek ki mutációk, amennyiben azonban a DNS-molekula károsodása a testi, szomatikus sejtekben jön létre, az a sejt alapvető biológiai funkcióinak - szaporodás, differenciálódás, sejthalál - zavara következtében a sejt rákos elfajulását, majd rosszindulatú daganat keletkezését okozhatja.

A rosszindulatú daganatok halálteki jelentősége a korai (25-64 év közötti) halálozás tekintetében a legjelentősebb, de az 1. ábra tanúsága szerint a keringési rendszer betegségei után a legtöbb halálesetet okozzák az összhálózás vonatkozásában is (Eurostat 2016).

Haláltekok – standardizált halálozási arány, EU-28, 2016
(100 000 lakosra)



Megjegyzés: a sorrendiség a férfiakra és a nőkre vonatkozó adatok átlagát tükrözi. Az ábra két részében eltérő skálázást alkalmaztunk.
Forrás: Eurostat (online adatkód: hlth_cd_asdr2)

1. ábra: A leggyakoribb halálozási okok az Európai Unióban (esetszám 100000 lakosra vetítve)

A daganatos betegségek kialakulása a genetikai tényezőkön túl a környezeti tényezők hatásától is függ, az arra hajlamos egyének karcinogén környezeti expozíciója következtében fejlődhetnek ki (Ádány és Hajdú 2006). Ezek közül a környezeti tényezők közül kiemelkedik a táplálkozás és azzal összefüggésben az élelmiszerek szerepe. A táplálkozási szokásokon túl (például a tartósan túlzó táplálékfogyasztás, a nagy energiabevitel, a magas zsírtartalmú és telítetlen zsírsavakban gazdag, valamint rostszegény étrend) egyes ételkészítési eljárások is növelhetik a rosszindulatú daganatok kialakulásának valószínűségét, mert fokozzák a főként kémiai genotoxikus testidegen anyagok DNS-károsító hatását (Key *et al.* 2002).

3.1.3. A rákkeltő anyagok csoportosítása hatásmechanizmusuk alapján

A rákos sejtek általában szomatikus mutációk miatt válnak rákossá, amik előidézéséért elsődlegesen olyan genotoxikus karcinogén vegyületek a felelősek, amelyek a DNS-t károsítják. A folyamat lehet direkt vagy indirekt, vagyis okozhatja a szervezetbe került anyamolekula maga, vagy – és ez a gyakoribb eset – a szervezetben történt metabolikus aktivációt követően a leánymolekulák által. A metabolikus aktiváció célja alapvetően a testidegen kémiai anyag eliminációjának elősegítése a szervezetből, de e során keletkezhetnek nagy reakcióképességű, elektrofil metabolitok, amik a DNS-hez is kapcsolódhatnak. Direkt hatású vegyületek pl. az alkilező szerek (mustárgáz, etilénimin stb.) vagy az aktív halogének, indirekten hatnak pl. a policiklikus aromás szénhidrogénekből (PAH-ok) keletkező epoxidok, az N-nitrozó-vegyületek, az aromás és heterociklikus aminok, illetve a karcinogén hatású mikotoxinok. A genotoxikus karcinogének hatása véletlenszerű, ezért küszöbdózis, azaz hatástalan dózisszint ezekre az anyagokra nem állapítható meg (Lehel és Laczay 2010).

A genotoxikus karcinogéneken kívül a rákkeltő anyagok másik csoportját az epigenetikus karcinogének alkotják. Hatásukat nem közvetlenül a DNS-re, hanem a genetikai üzenet közvetítésében résztvevő láncolatra (hisztonfehérjék, repair, illetve riboszomális enzimek, szuppresszor fehérjék stb.) fejtik ki, ami kóros fehérjeszintézisben és végső soron szintén mutációban nyilvánul meg. Az epigenetikus karcinogének jellemzője, hogy rákkeltő hatásuk determinisztikus, nagy valószínűséggel küszöbdózishoz kötött, reverzibilis, a szervezetben egyébként is gyakran jelen vannak, kis dózisban létszükségletűek lehetnek és általában nagyobb dózisban válnak rákkeltővé (Gundy 2006).

3.1.4. A kémiai karcinogenezis folyamata

A kémiai karcinogenezis folyamata alapvetően négy lépésből áll, amelyek: az iniciáció, a promóció, a transzformáció és a progresszió (Van Leeuwenen és Zonneveld 2001).

Az első lépés az iniciáció, amikor a karcinogén vegyület hatására bekövetkezik a szomatikus mutáció (genotoxikus hatás), illetve az osztódási sebesség nagyfokú növekedése következtében a DNS replikációs hibák halmozódása (epigenetikus hatás).

A folyamat kialakulását egyéni eltérések jelentősen befolyásolhatják, az expozíció mértéke és gyakorisága függ a táplálkozási szokásoktól (pl. az étrend összetétele, preventív anyagok jelenléte), valamint a védekezési mechanizmusok működőképességétől és az immunrendszer állapotától. A DNS károsodásának kezelésére rendelkezésre állnak eszközök a sejt, illetve a szervezet számára. A repair, helyreállító enzimek segítségével a hibák kijavíthatóak, illetve a programozott sejthalál (apoptosis) révén a szervezet elpusztíthatja a keletkező kóros sejteket. Amennyiben ez nem következik be (pl. a szuppresszor, a DNS-repair vagy az apoptosis gének sérülése következtében) az iniciált sejtben létrejön a daganatos transzformáció, az iniciációt kiváltó ágens vagy ún. promóterek hatására jelentős változás következik be a sejt működésben és megindul a sejt szaporodás. A promóterek általában önmagukban nem daganatkeltők, csak elősegítik a tumorgenezist a sejtek közötti kommunikáció, a sejtek növekedése és differenciálódása befolyásolása által. Ilyen promóter hatással bírhatnak a már említett táplálkozási szokások is, valamint egyes betegségek, a hormonális és az immunállapot is, és az egyedi érzékenységnek is jelentős szerepe van a folyamat végkimenetelében. A promóter hatást egyszerre több ágens vagy körülmény is kiválthatja (Gundy 2006).

A progresszió a folyamat végső állomása, amely során a rákosan elfajult sejt szaporodni kezd és klónokat, hasonlóan károsodott és gátlástalan növekedésre képes utódsejteket képez. A sejtek expanzív növekedése ebben a stádiumban már visszafordíthatatlan, és metasztázisok, áttétek is kialakulhatnak a szervezet távolabbi részein is. A tumorsejtek növekedési erélyét, illetve terjedési potenciáljukat több faktor is befolyásolja. A gyorsan osztódó és növekedő sejtek számára nélkülözhetetlen a jó tápanyag-ellátottság, vagyis az őket ellátó kapilláris hálózat kialakulása. Ehhez az endothelialis sejtek növekedését serkentő angiogén faktor termelésével összefüggésben álló mutációknak is be kell következnie, és az ér hálózat sűrűségén múlik a daganatnövekedés agresszivitása. Az áttétképződéshez egy másik feltételnek is teljesülnie kell, a tumorsejteknek képessé kell válniuk olyan proteázok termelésére, amellyel feloldhatják az alapmembránt, ezáltal infiltrálhatják a kötőszövetet és a vér-, illetve nyirokáramba is be tudnak törni. Ez úton pedig a szervezeten belül szóródhatnak és metasztázisokat képezhetnek (Joyce és Pollard 2009).

3.1.5. A kémiai rákkeltők által okozott kockázat becslése

A testidegen kémiai anyagokra általánosságban meghatározható a toxikológiai vizsgálatokban ártalmatlannak, hatástalannak bizonyult dózisszint, küszöbérték (NOEL = No Observed Effect Level). Genotoxikus karcinogén anyagok esetében, mivel a legkisebb dózis bevitele sem

tekinthető hatástalannak, az egészségi kockázatának megítélésére és jellemzésére a nemzetközi gyakorlatban többnyire az ún. ALARA (As Low As Reasonably Achievable) elvet alkalmazzák, amely szerint a genotoxikus rákkeltők előfordulását az élelmiszerekben a technikailag elérhető legalacsonyabb szintre kell szorítani.

A kockázat számszerű összehasonlító értékelésére az elmúlt években az EFSA (Európai Élelmiszer-biztonsági Hivatal) a WHO-val együttműködve az ún. expozíciós küszöbérték (MOE = Margin of Exposure) bevezetését javasolta. A MOE meghatározásának alapja annak a legkisebb karcinogén dózisonak a 95%-os valószínűséggel megadott alsó konfidencia értéke, amely a kísérleti állatok 10%-ában okoz daganatképződést (BMDL10 = Benchmark Dose Lower Confidence Limit 10%). A MOE pedig a BMDL10 és a humán beviteli (expozíciós) érték hányadosa. Amennyiben a MOE 10.000 (ami a különböző kísérleti állatfajok, illetve az állati és az emberi szervezet közötti különbségből, valamint a karcinogén folyamat lehetséges eltéréseiből származó bizonytalansági faktor) vagy ennél nagyobb, a kockázat közegészségügyi szempontból elhanyagolható (Barlow és Schlatter 2010).

Néhány genotoxikus karcinogén vegyület MOE értékét a 3. táblázat mutatja (Barlow és Schlatter 2010, Benford *et al.* 2010, Pouzouet *al.* 2018).

Az adatok alapján a vizsgált karcinogének közül különösen az aflatoxin B1 és az akrilamidok, valamint a heterociklikus aminok közül például a MeIQx tekinthetők közegészségügyi szempontból aggályosnak.

2. táblázat: Genotoxikus karcinogének expozíciós küszöbértéke (MOE)

Vegyület	MOE
Aflatoxin B1	88-483
Akrilamid	75-300
Etil-karbamát	3.800-20.000
PAH-ok	10.000-25.000
Benzpirének	2.200-15.000
PhIP	101.449-400.582
MeIQx	2.536-10.226*

*sejttenyészetten végzett kísérlet eredménye alapján

3.1.6. A kémiai rákkeltők minősítése

Az IARC (Nemzetközi Rákkutató Ügynökség) végzi a feltételezhetően karcinogén ágensek minősítését és ennek alapján veszélyességi osztályba sorolását. Az egyes anyagokra, illetve biológiai ágensekre vonatkozóan rendelkezésre álló toxikológiai adatok mennyisége és minősége alapján azokat öt csoportba sorolják. Az 1. kategóriába azokat az anyagokat

sorolják, amelyek emberre vonatkozó rákkeltő hatása az állatkísérletes, valamint humán epidemiológiai adatok alapján bizonyítottan tekinthető. Több mint száz kémiai anyag, illetve biológiai ágens tartozik ide, a táblázatban felsorolt vegyületek mellett pl. a dohányfüst, a *Helicobacter pylori*, a hepatitis B és C vírus, számos humán papillomavírus, a HIV 1. típusa, valamint egyes *Clonorchis*, *Opistorchis* és *Schistosoma* fajok. A 2A, illetve a 2B kategóriába sorolt anyagok esetében az emberre vonatkozó adatok száma korlátozott, de az állatkísérletes eredmények alapján valószínűsíthető vagy feltételezhető a humán karcinogén hatás. A legtöbb minősített ágens - jelenleg több mint 500 – a 3. kategóriába került, mivel nincs elegendő bizonyíték az emberre vonatkozó rákkeltő hatásról és állatkísérletes eredmények sem tesznek lehetővé egyértelmű besorolást. A 4. kategóriába sorolt anyagnak sem emberre, sem állatra vonatkozóan nincs bizonyítottan rákkeltő hatása (IARC 2020).

3.1.7. Fontosabb kémiai rákkeltők az élelmiszerekben

Az adatok alapján az élelmiszerekbe jutó, illetve ott keletkező karcinogének közül különösen az aflatoxin B₁ és az akrilamid tekinthetők közegészségügyi szempontból aggályosnak, a vörös hússal, illetve húskészítményekkel kapcsolatos rákkeltők kockázati értéke ugyanakkor kisebb.

A karcinogén vegyi anyagok többsége az élelmiszerlánc kezdeti szakaszában, a gazdaságban végzett tevékenységek során, mint környezeti, illetve biológiai szennyezők kerülhetnek az élelmiszerbe. Ugyanakkor a későbbi fázisokban, így az élelmiszer-előállítás, illetve a vendéglátóhelyi vagy az otthoni ételkészítés során is keletkezhetnek rákkeltő vegyületek, amelyeket a technológiai eredetű szennyezők csoportjába sorolunk. Ide tartoznak a nitrózaminok és az egyéb N-nitroso vegyületek, a policiklikus aromás szénhidrogének, a heterociklikus aromás aminok és az akrilamid. A felsoroltak közül az első három forrásai jelentős részben a hússal és húskészítményekkel lehetnek, az akrilamid pedig főként szénhidrátokban gazdag élelmiszerekben keletkezhet hő hatására (Cross és Sinha 2004).

3.2. A hús élelmiszer-kémiája

Az élelmiszerjog szerint húsnak tekintjük a tenyésztett és vadon élő állatok testének valamennyi emberi táplálkozás céljára szolgáló ehető részét, valamint az ezekből előállított húskészítményeket és a jellemzően hús felhasználásával készült élelmiszereket. (Jávor és Szigeti 2011). Jelen kutatásban főként pecsenyekorú házityúk (brojlercsirke) különböző testtájairól vett harántcsíkolat izommintákkal dolgoztunk, ez alól kivételt csak bizonyos esetekben a húst fedő bőr jelentett. Összetétele nagymértékben függ az adott állat fajától, fajtájától, korától, takarmányozásától, tartási körülményeitől és a testtájtól is, ahonnan a minta származik (Souza *et al.* 2011), ezért törekedtünk mi is arra, hogy lehetőleg minden mintánk mélyalmos tartásból származó Ross 308 húshibrid állományból származzon. A hús, mint

élelmiszer a népesség nagy százalékának fontos fehérjeforrása, még a legmagasabb vegetáriánus aránnyal rendelkező Indiában is a lakosság több, mint 70 %-a fogyaszt húst. (Census Govt. India 2014), ebből adódóan fehérjetartalma az egyik legfontosabb paraméter, aránya csirkehús esetén 20-25 % körül mozog, legmagasabb a csirkemellben (USDA 2020). Az egyes testtájak fehérjei között is adódhatnak eltérések, főként az izom funkciójából adódóan. Megkülönböztethetünk fehér- és vöröshúsokat: a fehér izmok kevesebb mioglobint alkalmaznak és a rövidtávú, nagy erő kifejtésre specializálódtak (pl. mellizom – repülés), míg a vörös izmok hosszútávú, kisebb energiaigényű izomcsoportokra jellemzőbbek (pl. combizom – járás). Az izomszövet fehérjei három csoportba oszthatók: az izom-összehúzó részben részt vevő fehérjék (aktin, miozin, tropomiozin, troponin, titin), a vízdoldható fehérjék (pl. miooglobin), valamint a kötőszövetben és a membránban jelenlévő oldhatatlan fehérjék (kötőszöveti fehérjék, pl. kollagén). Az oldhatatlan fehérjék csoportjába főként kötőszöveti fehérjék tartoznak. A miooglobin egy vízdoldékony, heme és globint tartalmazó fehérje, amely lehetővé teszi, hogy az izomzat kötött oxigént tárolhasson (Wittenberg 1970). Amennyiben az oxigén parciális nyomása magas, a jelen lévő oximioglobin adja a friss hússzeletek világospiros színét. Amennyiben az oxigén parciális nyomása alacsony, az oxidáció lassú, és barna metmiooglobin képződik. Az eltérő miooglobin és egyéb, statikus és regulátorfehérjék arányának eltéréseiből kifolyólag aminosavprofiljuk is különbözhet (Hamm 1981). (Ez az osztályozás eltér a korábban említett, IARC által megfogalmazott definíciótól, abban az esetben az emlőshúsokat illeték a „red meat” kifejezéssel. Ebben az esetben a miofibrillum-szarkoplazma arány miatti színkülönbözésre utaltak: a fehér húsok (baromfi és hal) miofibrillumban gazdagok és kevés szarkoplazmát tartalmaznak, míg a vörös húsokban a szarkoplazma aránya nagy a miofibrillumokhoz képest (Csapó és Vargáné 2011).) Ezen kívül a hús jelentős mennyiségű zsírt is tartalmazhat, ugyancsak testtájéktól függően, valamint az izmok működéséhez szükséges és helyben is tárolt glikogént és glükózt is nagyon kis arányban (Entfält és Hullberg 2005). Az izom energiaháztartását elősegítő guanidinszármazék a kreatin, mely akár az izom 0,5 %-át is kiteheti, és spontán környezeti hatásra vagy kreatin-kináz enzim segítségével alakulhat kreatininná (del Campo 1998, Allen 2012). A harántcsíkolt izomzaton kívül kísérleteink fontos tárgyát képezte a bőr és annak összetétele. A bőr, mint a hőháztartásban is fontos szigetelő szerepet betöltő szerv teljesen más fehérjékből áll (pl. keratin) és zsírtartalma is sokkal magasabb (USDA 2020), hőkezelésre eltérően reagál, mint a harántcsíkolt izmok.

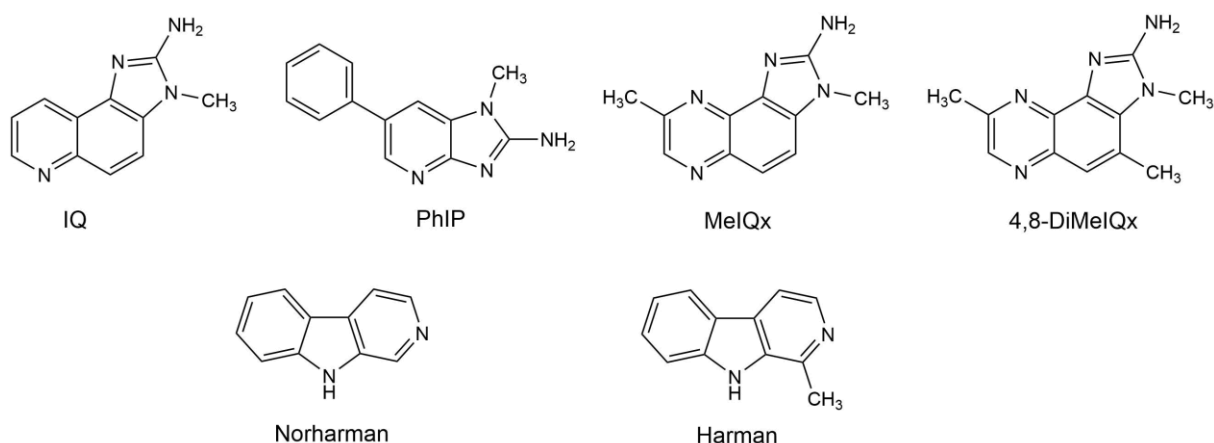
3.2.1. A Nemzetközi Rákkutató Ügynökség állásfoglalása a vörös húsokról és húskészítményekről

Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organisation, WHO) Nemzetközi Rákkutató Ügynöksége (International Agency for Research on Cancer, IARC) 2015 októberében

állásfoglalást tett közzé a vörös húsok és a húskészítmények lehetséges rákkeltő hatásáról (IARC 2015). Ebben a vörös húsokat, amelyek a feldolgozatlan szarvasmarha-, borjú-, sertés-, juh-, kecske- és lóhúst foglalják magukba, az emberben valószínűleg rákkeltő vegyületek csoportjába (2A csoport), a húskészítményeket pedig, amelyek főként sertés és marhahúsból készülnek (de tartalmazhatnak egyéb vörös húsokat, baromfihúst, belsőségeket vagy húsipari melléktermékeket, pl. vért is), az emberben bizonyítottan rákkeltők (1. csoport) közé sorolták. Az állásfoglalás a vörös húsok és húskészítmények lehetséges rákkeltő hatását három vegyületcsoport, az N-nitroso vegyületek, a policiklikus aromás szénhidrogének és a heterociklikus aminok keletkezésével hozza összefüggésbe.

3.3. Heterociklikus aromás aminok

A heterociklikus aromás aminok, röviden heterociklikus aminok (HCA-ok) genotoxikus karcinogének, amelyek húsok, halak és húskészítmények 150°C feletti hőmérsékleten való sütésekor, grillezésekor keletkezhetnek. Felismerésük az 1970-es évek második felében japán kutatók nevéhez fűződik (Nagao *et al.* 1977), ma már több mint 25 heterociklikus aminot izoláltak és azonosítottak a húsok, húskészítmények sütése során (Kizil *et al.* 2011). Két vagy három gyűrűt tartalmazó vegyületek; kémiai két fő csoportjuk különíthető el. Az egyik az amino-imidazo-azaarének (AIA, IQ-típusú) csoportja vagy termikus aminok, amelyek a húsokban található kreatinból, illetve kreatininből, szabad aminosavakból és cukrokból keletkeznek hagyományos sütési hőmérsékleten (150-250°C) a Maillard reakció során (Jägerstad *et al.* 1998). A másik csoport az amino-karbolinek (nem IQ-típusú) vagy pirolitikus aminok, amelyek fehérjék, illetve aminosavak pirolízise során keletkeznek magas (>250°C) hőmérsékleten (Matsumoto *et al.* 1981, Martins *et al.* 2000).



2. ábra: Az általunk vizsgált heterociklikus aminok, illetve a csoport névadó vegyülete, az IQ. A felső sorban a termikus (IQ-típusú), az alsóban a pirolitikus (nem IQ-típusú) heterociklikus aminok.

A gyakorlati szempontból jelentősebb termikus csoporton belül a vegyületek kémiai szerkezete alapján elkülöníthetünk kinolin (pl. IQ, MeIQ), kvinoxalin- (pl. MeIQx) és piridin-származékokat (pl. PhIP). Ezek képződését a húspanban található kreatin, illetve az abból a sütés, főzés során keletkező kreatinin szabad aminosavakkal és cukrokkal való reakciója váltja ki. A kreatinból magas hőmérsékleten kreatinin keletkezik, ami a termikus aminok imidazo-csoportját alkotja. A kreatin ily módon a hús mutagén aktivitásának egyik felelőse (Jägerstad és Skog 1991). Minél magasabb a hőmérséklet, annál gyorsabb a kreatin kreatinná történő átalakulása, A kreatinin aminosavakkal és glükózzal reakcióba lépve mintegy 50%-kal kifejezettebb mutagén aktivitású, mint a kreatin (Skog és Jägerstad 1990). A vas (Fe^{2+} és Fe^{3+}) kreatinnal, glicinnel és glükózzal reagálva mintegy kétszeresére növelheti a heterociklikus aminok képződését (Johansson és Jägerstad 1996). Ugyanakkor természetes és mesterséges antioxidánsok jelenléte csökkenti a heterociklikus aminok keletkezését (Kizil *et al.* 2011).

Az alkalmazott sütési, főzési eljárás nagymértékben befolyásolja a rákkeltő aromás aminok képződését. A rendelkezésre álló adatok szerint a legtöbb heterociklikus amin a serpenyőben kevés zsiradékkal 200°C felett történő sütés, illetve a húsok grillezése során keletkezik, míg a forralás vagy a mikrohullámú hőkezelés alig vagy egyáltalán eredményezi ezek képződését. A bő zsiradékban történő sütés és a roston sütés változó mennyiségű heterociklikus amin keletkezésével járhat. Igen nagy mennyiségben tartalmazhat rákkeltő aromás aminokat a serpenyőben visszamaradó zsiradék (Skog *et al.* 1998). A sütés során a keletkező heterociklikus aminok a hús külső felületén koncentrálnak és minél vastagabb a sült kéreg, annál több rákkeltő aromás aminot foglalhat magába.

A húsokkal, húskészítményekkel felvett heterociklikus aminok a szervezetben a citokróm P-450 rendszeren keresztül aktiválódnak, hidroxiamin származékokká alakulnak. Ezek a DNS-hez kovalensen kötődő adduktokat képezve iniciátor hatásúak, azaz a daganatképződés első lépését, a szomatikus mutáció bekövetkeztét indukálják (Jägerstad és Skog 2005).

A termikus HCA-ok a WHO-IARC 2A vagy 2B listájában szerepelnek (valószínűleg vagy feltehetően rákkeltő az emberek számára) (Zeng *et al.* 2017). A pirolitikus HCA-ok (például a harman és a norharman) viszont nem közvetlen karcinogének, de erősítik más vegyületek rákkeltő hatását, így ko-karcinogéneknek számítanak (Nagao *et al.* 1977).

Az elfogyasztott húseleink heterociklikus amin tartalma tág határok között, 0 és 500 µg/kg között változhat (Exponent 2009, Wakabayashi *et al.* 1993). A vörös húsok közül a jól átsütött (well done) állapotúra grillezett, illetve serpenyőben sült marhahús heterociklikus amin (különösen PhIP) tartalma bizonyult a legmagasabbnak, a sertéshús esetében lényegesen alacsonyabb koncentrációkat tapasztaltak. Kiemelendő a jól átsütött, illetve grillezett csirkehús, valamint a grillezett vagy roston sült halhús lehetséges magas aromás amin tartalma is. A fenti adatok a fogyasztási szokások figyelembe vételével naponta marhahúsból mintegy 0,1 µg, sertéshúsból 0,05 µg, baromfihúsból pedig 0,5 µg rákkeltő aromás amin

felvételét eredményezheti. Ez testtömegre vetítve 1-10 ng/kg mennyiséget jelent, ami önmagában valószínűleg nem elegendő a rákkeltő hatás előidézéséhez. Ezt támasztja alá a jellemzően legnagyobb mennyiségben keletkező PhIP MOE értéke, ami a nagy expozíciónak kitett fogyasztóra nézve is 20.000, az átlagos fogyasztó tekintetében pedig 80.000 (Benford és Bolger 2010). Ugyanakkor a heterociklikus aminok mint tumor iniciátorok jelentősen növelhetik az egyidejűleg jelenlevő, a tumorképződést elősegítő promóterek iránti érzékenységet, ezért a mennyiségüket az élelmiszerekben a lehető legalacsonyabb szintre kell csökkenteni (Sugimura *et al.* 2004). Újabb vizsgálatok szerint a heterociklikus aminok (PhIP) genotoxikus hatása kétszeresére nő a policiklikus aromás szénhidrogének (benzpirén) jelenlétében (Jamin *et al.* 2013).

Noha a tudományos szakirodalomban számos adat található a HCA-ok kialakulásáról és profiljáról, azok elsősorban az emlőshúsokra (Khan *et al.* 2009, Jian *et al.* 2019), ritkábban a baromfihúsra vonatkoznak (Puangsombat *et al.* 2012, Iwasaki *et al.* 2010). Ezen kívül a baromfihúsra vonatkozóan rendelkezésre álló információk hiányosak a HCA képződését befolyásoló fő tényezők, például a testrészek (pl. mell, comb), a bőr jelenléte és a hőkezelés hőmérsékletére, illetve időtartamára vonatkozólag.

A szakirodalom szerint baromfiban leggyakrabban előforduló öt heterociklikus amin (Gibis és Weiss 2010) közül három termikus (3,8-dimetil-imidazo [4,5-f] kinoxalin – MeIQx; 2-amino-3,4,8-trimetil-imidazo [4,5-f] kinoxalin – 4,8-DiMeIQx; 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-b] piridin – PhIP) és két pirolitikus (1-metil-9H-pirido [3,4-b] indol – harman; 9H- β -karbolin – norharman).

3.3.1. A színmérés, és jelentősége a heterociklikus aminok kimutatásában

A minták színének meghatározásához műszeres, illetve érzékszervi vizsgálatok állnak rendelkezésre. A műszeres vizsgálatok előnye, hogy objektíven és konkrétan határozzák meg az adott szint, ezzel könnyen ismételtetővé teszik a kísérletet. A színek sztenderd meghatározását különféle színtérrendszerek teszik lehetővé, amelyekkel a színek leírhatóvá válnak. Ezek az eszköztől és szoftvertől függően alkalmazható színterek: az RGB (red-green-blue; a vörös-zöld-kék összetevők arányait alkalmazó leképezés, Smith és Guild 1931), a CYMK (cyan-magenta-yellow-key; a ciánkék-magentaszín-sárga-fekete kombinációval dolgozó színekép, Stewart *et al.* 1991), és az emberi szem érzékeléséhez legközelebb álló, az International Commission on Illumination (CIE) által is használt $L^*a^*b^*$ (világosság-vörösség-sárgaság, León *et al.* 2006).

Érzékszervi vizsgálat esetén az emberi szem és a szubjektív benyomás alapján értékelhetjük a minták színét. Erre alkalmazható képzett szakember (Aaslyng *et al.* 2013) vagy laikusok csoportja, korlátozódhat csak a szín vizsgálatára vagy más érzékszervi tulajdonságokra is

(Gibis és Loeffler 2019). A szín értékelése történhet egy abszolút skálán vagy egymáshoz viszonyítva is.

A rákkeltő HCA-k mennyiségének meghatározását a nagyműszeres vizsgálat mellett otthon is elvégezhető módszerrel is szeretnénk volna lehetővé tenni, ezért vizsgáltuk a húsok színváltozását azok HCA-mennyiségével párhuzamosan. Már rendelkezésre állnak irodalmi eredmények a műszeres kolorimetriás elemzés kapcsolatáról a sertés lipid-oxidációjával (Fan *et al.* 2019) vagy akár a füstölt kolbászok HCA-képződésével Yang *et al.* 2019) kapcsolatban, ám az emberi érzékszervi színvizsgálat lehetőségét ezek a kutatások nem érintették. Buła és munkatársai (2019) kísérletet folytattak sertéshúsmintákkal, amelyek során a HCA kimutatását kombinálták a kolorimetriával és érzékszervi elemzéssel, de ez az érzékszervi rész nem tartalmazott színelemzést. Másik oldalról vannak olyan kombinált érzékszervi színvizsgálati eredmények HCA-tartalommal összevetve, amelyek nem rendelkeznek kolorimetriás műszeres igazolással (Quenhas *et al.* 2010). Tikkanen és munkatársai (1996) hasonló kísérletet végeztek a csirkehússal, de inkább az aminok mutagén aktivitására koncentráltak. Aasling és munkatársai (2013) a HCA és a színváltozás összefüggését vizsgálták otthoni körülmények között készített grillszeletekkel, köztük csirkehússal is dolgoztak, de ebben az esetben a szín detektálására szakértőt, és nem átlagembereket alkalmaztak. Gibis és Weiss (2010) megvizsgálták a marhahúsban a HCA-ok képződését és csatoltan a kolorimetrikus változásokat, ám az instrumentális kolorimetriából csak az L* (világosság) paramétert alkalmazták. Gibis és Loeffler (2019) a mi kísérleti elrendezésünkhöz hasonlóan elektromos kontaktgrillt is használtak a csirkemellminták előkészítéséhez és a műszeres kolorimetriás vizsgálatot ötvözték az emberi érzékszervi színvizsgálattal, de céljuk a képződött HCA mennyisége és a húsminták kezdeti cukortartalma közötti összefüggés megfigyelése volt.

3.4. A baromfihús mikrobiológiai biztonságossága

A hőkezelés kockázatainak felismerése miatt manapság számos olyan nézet és mozgalom alakult, amelyek a főzés hátrányaira összpontosítottak. De a „nyers” étrend esetén a mikrobiológiai kockázat magasabb, és még fejlett országokban is vannak súlyos, élelmiszer eredetű járványok, amelyeket többek között *Escherichia coli* (Buchholz *et al.* 2011), *Listeria monocytogenes* (NÉBIH 2018) vagy *Salmonella enterica* (Food Safety News 2019) okoz.

A nyers hús a magasabb kockázatú élelmiszerek közé sorolható, mivel tökéletes táptalajt tud biztosítani a romlást előidéző és egyes kórokozó mikrobáknak is. Bár a hús az állat életében steril közeget alkot, elsődlegesen az állat szisztémás (vagy akár lokális, izmokat érintő) fertőzésekor, másodlagosan a vágási folyamat során például bélsárkenődéssel, harmadlagosan a feldolgozás során a személyzet részéről kerülhetnek bele, illetve rá emberre (is) veszélyes kórokozók (Laczay 2018). Házityúk húzában így a legvalószínűbben azok a mikrobák fordulhatnak elő, amik a bélfőrában is megtalálhatóak, főként *Lactobacillus* spp.,

Bifidobacterium spp., *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli* és *Clostridium spp.* (Amit-Romach 2004). Ezek közül gyakorlati körülmények között elsődlegesen a *Campylobacter coli* és *jejuni*, és a *Salmonella enterica* zoonotikus szerotípusai jelenthetnek veszélyt az emberre nézve.

3.4.2. A *Salmonella enterica* szerepe az élelmiszer eredetű megbetegedésekben

A *Salmonella* az egyik leggyakrabban kimutatott élelmiszer-eredetű kórokozó (EFSA 2019). Jóllehet a közvetlenül az emberi patogén szerotípusok (*S. Typhi*, *S. Paratyphi*) már visszaszorultak a fejlett országokban, vannak olyan szerovariánsok, amelyek a haszonállatok körében cirkulálnak, kifejlett állatokban jellemzően tünetmentes hordozás formájában, és számos betegséget okozhatnak az emberben (Locht *et al.* 2002). Ezért az Európai Unió *Salmonella* gyérítési programot indított a közegészségügyi szempontból legfontosabb szerotípusok, mindenképp a *S. Typhimurium* és *S. Enteritidis* (EUR-Lex 2006) előfordulásának csökkentésére.

A *Salmonella enterica* egyik legfontosabb zoonotikus szerotípusa a *Salmonella* Enteritidis, ami Magyarországon a szalmonellák által okozott csoportos megbetegedések 59 %-áért felel (NÉBIH 2018). Fertőző dózisa 10^4 - 10^5 cfu/g nagyságrendben határozható meg (Kothary és Babu 2001). A tünetek általában gyomor- és bélrendszeri problémák, hasmenés, hányás, láz, de súlyos esetekben septicaemiát és halált is okozhat (Wright *et al.* 1997). A leggyakoribb megbetegedést okozó élelmiszerek, a nyers vagy nem megfelelően főtt tojás, tojással készült ételek, hidegkonyhai termékek és a nem kellően hőkezelt baromfihús (Laczay 2018).

Az Európai Unió mikrobiológiai rendelete (2073/2005/EK rendelet) szerint a forgalomba hozott friss baromfihús nem tartalmazhat *S. Enteritidis* és *S. Typhimurium* szerotípusokat a termékek fogyaszthatósági ideje alatt (élelmiszer-biztonsági kritérium).

4. Anyag és Módszer

4.1. Bőrös és bőr nélküli csirkemell- és csirkecombminták HCA tartalmának vizsgálata

4.1.1. Vegyszerek

A HCA sztenderdek közül a MeIQx-t, a 4,8-DiMeIQx-t és a PhIP-t a Toronto Research Chemicals-tól (North York, ON, Kanada), a harmant és a norharmant, valamint a belső sztenderdként alkalmazott koffeint a Sigma-Aldrich-től (Saint Louis, MO, USA) szereztük be. Egyéb vegyszereket, például acetonitrilt, dimetil-formamidot, metanolt, hangyasavat, ecetsavat és nátrium-hidroxidot a VWR Internationaltól (Radnor, PA, USA) vásároltuk. Az I. type ultra-pure vizet a SUEZ Environment® víztisztító rendszer (Párizs, Franciaország) segítségével állítottuk elő.

4.1.2. Eszközök

A grillezést Electrolux ETG340 elektromos egylapú grillsütőn végeztük (Electrolux, Stockholm, Svédország), a maghőmérők TFA gyártmányúak voltak. A minta előkészítéséhez a tanszékünk Bosch kézi turmixgépét, a Certomat WR vízfürdő-rázót (Sartorius AG, Göttingen, Németország), a Biofuge Primo R centrifugát (Kendro, Asheville, NC, USA) és a Biotage VP bepárlóberendezést (Biotage, Uppsala, Svédország) használtuk. A szilárdfázisú extrakcióhoz a Phenomenex SI-szilikagél (Phenomenex, Torrance, CA, USA) és a Phenomenex C18 oszlopok (Phenomenex, Torrance, CA, USA) kerültek felhasználásra. Az elemzést Shimadzu LCMS 8030 HPLC-MS/MS rendszerrel (Shimadzu, Kioto, Japán) hajtottuk végre Phenomenex Kinetex C18 EVO 100 × 4,6 mm ID (2,6 µm részecskeméret) oszloppal, amely 40x2 mm C18 védőkollonnával volt kiegészítve. A mérési eredményeket LabSolutions® szoftverrel (Shimadzu, Kioto, Japán) értékeltük ki. Az I. type ultra-pure vizet az Állat-higiéniai Osztály SUEZ Environment® víztisztító rendszere biztosította (Budapest, Magyarország).

4.1.3. Grillezés

A vizsgálatokat az Állatorvostudományi Egyetem Élelmiszer-higiéniai Tanszékén végeztük. A kísérletekhez Ross 308 húshibrid csirke húsrészeit használtuk, amelyeket a kiskereskedelmi forgalomból (Budapest, Magyarország) szereztünk be. A Ross 308 fajta kémiai húsvizsgálatát előzetesen glükóztartalomra a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerlánc-biztonsági Laboratórium Igazgatóság Analitikai Nemzeti Referencia Laboratóriumában és aminosav-összetételre az Élelmiszerlánc-biztonsági Centrum Nonprofit Kft. Székesfehérvári Regionális Élelmiszerlánc Laboratóriumában vizsgáltattuk be. A húsminták glükózmennyisége nem érte el a kimutatási határértéket (0,1%), az aminosav-összetételt a 3. táblázatban,

valamint a Melléklet fejezetben közöljük. Három csirkéből vett három mintát elemeztünk az állatok meghatározott testrészeiből, a sütési hőmérséklet és idő egyes kombinációiban.

3. táblázat: A Ross 308 húshibrid csirkemellhús aminosav-összetétele

AMINOSAV	ÁTLAG (m/m%)	SZÓRÁS
ASZPARAGIN/SAV	2,097	0,026
TREONIN	0,938	0,013
SZERIN	0,780	0,015
GLUTAMIN/SAV	2,348	0,047
GLICIN	0,902	0,010
ALANIN	1,191	0,013
VALIN	1,112	0,007
IZOLEUCIN	1,118	0,010
LEUCIN	1,713	0,009
TIROZIN	0,793	0,012
FENILALANIN	0,891	0,017
HISZTIDIN	0,767	0,017
LIZIN	1,980	0,020
ARGININ	1,409	0,021
PROLIN	1,018	0,022
CISZTEIN	0,004	0,004
METIONIN	0,010	0,010

A bőr nélküli mell- és a combfilét 40 g 1,6 cm vastag szeletekre vágtuk, minden sütési összeállítással 3 párhuzamost süttünk. A hőkezeléshez Electrolux ETG340 elektromos egylapú grillsütőt használtunk. A grillezési körülmények három hőmérséklet (150/180/210 °C) és három időtartam (2,5/5/10 perc) kilenc kombinációját foglalták magukba, a sütési időt minták mindkét oldalára külön-külön kell értelmezni. Az alkalmazott grillezési körülményeket a fogyasztói és a kereskedelmi, vendéglátó-ipari gyakorlati szokások határozták meg, a két szélső hőmérséklet érintkezőrács maximális hőmérséklete, valamint az a legkisebb hőmérséklet volt, ahol HCA-ok keletkezése irodalmi források szerint várható.

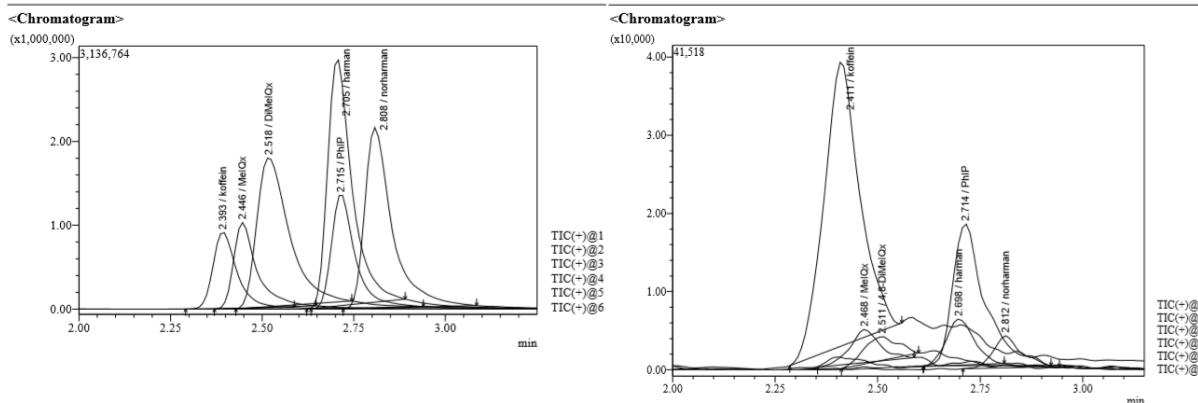
4.1.4. Minta-előkészítés

Ezután mindegyik mintából 10 g-ot vettünk és öt, 2 g-os darabra osztottuk, amelyeket külön készítettünk elő. A mintákat egy Bosch kézi botmixerrel (Bosch, Gerlingen, Németország) aprítottuk, homogenizáltuk, majd a szappanosítás következett, 32 ml 1 M NaOH-oldattal. Az elegyet 190 fordulat/perc sebességgel 90 percig 60 °C-on vízfürdő-rázógépen (Certomat WR) ráztuk, majd 50 ml-re töltöttük 1 M NaOH-dal. A 10 ml-es alikvot részeket centrifugacsövekbe

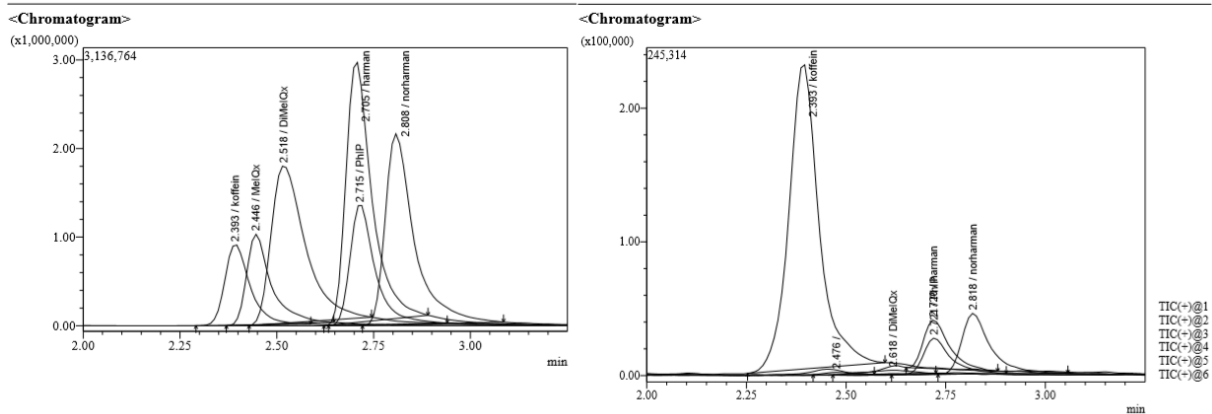
vettük, és 8000 fordulat/perc sebességgel 10 °C-on centrifugáltuk Biofuge Primo R centrifugával, majd az összes felülúszót Strata® SI-1 mg 500 mg/ 6 ml szilikagél SPE oszlopokra (55 µm, 70 Å) vittük. Az oszlopokat korábban 2 ml vízzel és 2 ml 1 M NaOH-oldattal kondicionáltuk. A mintát 2x1,5 ml etil-acetáttal eluáltuk, majd 50 °C hőmérsékleten N₂ gáz alatt szárazra pároltuk Biotage VP bepárlóban. A NaOH-keverék többi részét, amely korábban lefolyt az SPE oszlopon, egy Phenomenex C18 oszlopra vittük, amelyet 2 ml acetonitrillel és 2 ml 1 M NaOH-oldattal előkezeltünk. A mintát a C18-ből 2,5 ml acetonitrillel oldottuk le ugyanabba a számozott csőbe, amibe korábban a szilikagélről leoldottuk a HCA-at, majd ismét bepároltuk. A bepárolt terméket feloldottuk 0,5 ml acetonitrilben, amely belső sztenderd koffeint tartalmazott (150 ng/minta).

4.1.5. LC-MS/MS analízis

A HCA-k mennyiségi elemzését Shimadzu LCMS 8030 HPLC-MS/MS rendszerrel végeztük. A kromatográfias elválasztást egy Phenomenex Kinetex C18 EVO 100x4,6 mm ID (2,6 µm részecskeméret) oszlopon végeztük, amely 40x2 mm C18 védőoszloppal volt felszerelve. A folyadékkromatográfias vizsgálatot gradiens elúcióval végeztük: az „A” eluens 50 mM ammónium-acetát vízben (ecetsavval beállított pH 5) volt és a „B” 0,1 V/V% hangyasav acetonitrilben. Az áramlási sebesség 0,4 ml/perc, a kromatográfias vizsgálat 6 percig tartott. Az oszlophőmérsékletet 30 °C-ra állítottuk, az autoinjektor hőmérsékletét 7 °C-ra. Az injektált térfogat 10 µl volt. A kvadrupol tandem tömegspektrométert elektropray ionizációs (ESI) ionforrással, pozitív módban és multiple reaction monitoring (MRM) szerint használtuk. Az egyéb MS paraméterek a következők voltak: interfész 4,5 kV; interfész hőmérséklete 250 °C; desolvation line 300 °C; heatblock 350 °C; detektor 1,78 kV, porlasztó gáz (N₂) 3 L/perc, szárítógáz (N₂) 15 L/perc; ütközési gáz (Ar) 230 kPa. Az összehasonlításban résztvevő húsrészek kromatogramjait az 3. és a 4. ábra szemlélteti.



3.ábra A bőr nélküli mell- és combrészek HCA tartalmának kromatogramjai



4. ábra A bőr nélküli és a bőrös csirkemellrészek HCA tartalmának kromatogramjai

4.1.6. Az LC-MS/MS mérés validálása

A kísérletek megkezdése előtt elvégeztük a kidolgozott analitikai módszer validálását, amit a vonatkozó EU jogszabályok és tudományos iránymutatások követelményeivel összhangban hajtottuk végre [26,27]. Meghatározzuk a specifitást/szelektivitást, a linearitást, a kimutatási (LOD) és a mérési határt (LOQ), a napközbeni és a napok közötti pontosságot és a visszanyerés %-át. A módszer specifitását úgy vizsgáltuk, hogy ellenőriztük, hogy nincsenek-e interferáló csúcsok a megfelelő tömegspektrometriás eseményben (MRM) a várt retenciós időkben ugyanazon minta-előkészítésnek alávetett vak húsmintáinak sorozatában (70 °C-on 20 percig főtt csirkemellfilé). A linearitást az ismert koncentrációjú oldatok befecskendezésével kapott kalibrációs görbék vizsgálatával értékeltük. Az egyes kalibrációs pontok legfeljebb 15%-kal különbözhetnek a névleges értékektől (a kalibrálás legalacsonyabb pontja esetében 20%). A kimutatás határát (LOD) az MRM jel-zaj (S/N) aránya alapján határoztuk meg az adott vegyület időablakában az vak húsmintákból származó analitikai minták esetében. Háromszor (3x) az S/N arány volt a döntési határérték. A mérési határértéket (LOQ) az adott HCA ng/g koncentrációja alapján határoztuk meg, a kalibrációs görbe legalacsonyabb pontjától számítva, amely illeszkedik a validálási paraméterekhez a minta előkészítésének paramétereivel.

A módszer alkalmazhatóságát a napközbeni és a napok közötti pontossággal és a visszanyerés%-ával határoztuk meg. A visszanyerés%-át az ismert koncentrációjú minta mért koncentrációjának és a névleges érték százalékos aránya fejezik ki. A pontosságot az ugyanazon koncentrációhoz tartozó öt párhuzamos minta mért koncentrációjának variációs együtthatója (CV) adja. A napközbeni paraméterek esetében öt mintát elemeztünk koncentrációs szintenként ugyanazon a napon, ugyanazon tételnél. A napok közötti paraméterekhez öt mintát elemeztünk koncentrációs szintenként három különböző nap alatt, három különböző tételben. A pontosság érdekében a $CV \leq 15\%$ -ot határoztunk meg. A

visszanyerés%-ában a kísérletileg meghatározott koncentrációértékek eltérését az elméleti értékektől -20% és + 10% között determináltuk elfogadhatónak.

Az LC-MS/MS módszer validálásának részeként meghatároztuk a specifitást/ szelektivitást, a linearitást, a kimutatási határt (LOD), a mérési határt (LOQ), a mérés közbeni és a mérések közti pontosságot (precizitás és valódiság) mind az öt vizsgált vegyületre. A specifitás és a linearitás paraméterei minden esetben megbízhatóan teljesültek. A mérési határt 0,25 ng/g-ban állapítottuk meg valamennyi vizsgált vegyületre. A mérésen belüli és a mérések közti precizitás értékek jóval a 15%-os határ alatt maradtak. Megállapítást nyert, hogy a módszer pontosságát mutató valódiság megbízhatóan teljesíti -20% és + 10% közötti elfogadott határértékeket is.

A grillezett csirkerészekben a HCA-k kvantitatív meghatározására használt LC-MS / MS módszer validálási eredményeit az 4. táblázat tartalmazza. Mint látható, az összes paraméter megfelelt a követelményeknek.

4.1.7. Adatelemzés

Az adatfeldolgozást először az LC-MS rendszer LabSolutions® szoftverével végeztük. A másodlagos adatfeldolgozást és a statisztikai elemzés egy részét R statisztikai programmal (general linear mixed model - pairwise post hoc test), MS Excel szoftverrel és multi-way ANOVA számítással végeztük. A modellek függő változói tartalmazták a HCA-k mennyiségét (HAR, NOR, MeIQx, 4,8-DiMeIQx és PhIP), míg a független változók a különféle húsfajták voltak.

4. táblázat A HCA-mennyiség kvantitatív meghatározására használt LC-MS/MS módszer validálása

Vegyület	Kalibrációs görbe paraméterei			LOD (ng·g ⁻¹)	LOQ (ng·g ⁻¹)	Pontosság		Visszanyerés %
	Egyenlet (y = a·x + b)*					Közbenő %	Ismételhetőség %	
	a	b	r**					
MelQx	8±1	0±1E-3	0,9974±0,0007	0,02	0,08	5±1	7±2	110±10
4,8-DiMelQx	11±2	0±2E-3	0,9965±0,0002	0,02	0,08	5±1	5,8±0,9	110±10
PhIP	7±1	0±3E-3	0,9982±0,0005	0,02	0,08	4±1	10±2	112±9
harman	8±1	0±2,5E-3	0,9974±0,0007	0,02	0,08	2,9±0,8	6±1	98±8
norharman	8±1	0±2E-3	0,9973±0,0003	0,02	0,08	4±1	8±2	100±10

*y: A célvegyület és a belső standard közötti csúcsterület aránya az adott koncentrációs szinten;; *x: A koncentrációk aránya;

**r: Regressziós együttható.

4.2. A bőr és a grillezési eljárás hatásának vizsgálata a HCA-tartalomra csirkemellminták felszínén és mélyebb rétegeiben; a sütés során jelentkező színváltozás és a HCA-tartalom kapcsolata

4.2.1. Vegyszerek és Eszközök

Ehhez a kísérlethez már beszerzésre került egy DeLonghi CGH 1012D elektromos kontakt grill, ami több sütési paraméter felvételét tette lehetővé. Mint kontakt grill, két egymástól függetlenül fűthető és állítható lappal rendelkezik, amelyek kontakt grillezéskor összecukhatók; a későbbiekben ezt a helyzetet neveztük „zárt” állásnak. Ezen kívül a sütőlap maximális hőmérséklete 230°C, ami az Electroluxhoz képest 20 °C-kal magasabb, így szélesebb vizsgálati hőmérséklet-spektrumot tesz lehetővé.

A kísérlet során felhasznált további eszközök, illetve vegyszerek megegyeznek a korábbi kísérletekben leírtakkal.

4.2.2. Grillezés

A kísérletekhez a Ross 308 csirkemellet (filé és teljes mell) a helyi kiskereskedelmi forgalmazásból szereztük be. A fajta kémiai elemzését korábban a nemzeti akkreditált laboratórium végezte az aminosav-profil és a cukortartalom szempontjából. A grillezéshez standard méretű (40 g súlyú és 1,6 cm vastag) csirkemell szeleteket készítettünk elő bőrében vagy anélkül. Minden tételből három szeletet készítettünk a különböző analízisekhez (szenzoros, kolorimetriás, HPLC). A grillezési kísérleteket Tanszékünk Élelmiszer-technológiai Laboratóriumában végeztük. A DeLonghi grillsütőt nyitott és zárt módban használták (nyitott grillezés esetén a hús szeleteket egyszer megfordítottuk, tehát a megadott idő paraméterek egy oldal sütési idejére vonatkoznak). A bőr jelenlétén és a felső sütőlap helyzetén kívül a hőkezelés idejét és hőmérsékletét is vizsgáltuk. A vizsgált hőmérsékletek 150, 190 és 230 °C voltak, és a kezelések 5, 10 vagy 15 percig tartottak. Ezeknek a kombinációknak a megválasztását is a szakirodalomban leírt HCA képződés várható legalacsonyabb hőmérséklete (150 °C), a grill-lapok maximálisan beállítható hőmérséklete (230 °C) és korábbi mérési eredményeink befolyásolták. Zárt grillezés esetén a felső lemez nem volt sík, hanem bordázott; a színmérés mindig a lapos oldalon sült húsrészeletről történt.

4.2.3. Minta-előkészítés

A grillezett szeletből 10 g mintát vettünk (mind a „belső”, mind a „felszín/bőr” minták esetén). A „belső” minták a szeletek belső, felszínnel nem érintkező részét tartalmazzák, a „felszín” (vagy pedig bőrös szeletek esetében a „bőr”) csak a felszín kérgi réteget tartalmazta, ahol a színváltozás és a HCA-képződés a legkifejezettebb. A mintákat kézzel daraboltuk és homogenizáltuk, majd mindegyikből 2 grammot dolgoztunk fel a minta-előkészítéséhez. Az

aprítás és kézi keverővel végzett homogenizálás után 15 ml 1 M NaOH oldattal (bőrminták esetén 25 ml 5 M NaOH-dal) elszappanosítás kezdődött, és az elegyet 60 °C-on 190 fordulat/perc sebességgel ráztattuk 90 percig (bőrminták 80 °C-on 120 percig) a vízfürdős rázógépből. Ezután centrifugacsövekbe töltöttük, amelyeket 8000 fordulat/perc sebességgel centrifugáltunk 10 percig 10 °C-on (bőrminták 6 °C-on). A felülúszót, 12 µl 50000 ng/ml koncentrált belső sztenderd koffeinnel dúsítva, a Phenomenex Strata® SI-1 (55 µm, 70 Å) 500 mg/6 ml szilikagél szilárd fázisú extrakciós (SPE) oszlopokra vittük, amelyek korábban kondicionálva voltak 2 ml vízzel és 2 ml 1 M NaOH-oldattal. A mintát 2x2 ml etil-acetáttal eluáltuk, majd 50 °C hőmérsékleten N₂ gáz alatt szárazra pároltuk a Biotage VP bepárlóban. Ugyanazt a felülúszót, amely korábban lefolyt a szilikagél SPE oszlopon, egy Phenomenex C18 oszlopra vittük, amelyet 2 ml acetonitrilrel és 2 ml 1 M NaOH-víz-oldattal előkondicionáltak. A mintát a C18-ből 2x2 ml acetonitrilrel ugyanabba a csőbe eluáltuk, amibe a korábbi azonos sorszámú folyadék került a szilikagélről, majd ismét bepároltuk. A szilikagél SPE-ből maradt némi olajos üledék, amelyet 5 ml hexánban oldottunk, és 8000 fordulat/perc sebességgel 10 °C-on 10 percig centrifugáltuk. A felülúszót ismét SPE szilikagélre tettük, és az erről eluált oldatot szintén bepároltuk. A száraz mintát visszaoldottuk 0,6 ml acetonitrilben.

4.2.4. LC-MS/MS módszer

A HCA-kat ebben az esetben is folyadékkromatográfiához kapcsolt tömegspektrometriás méréssel mutattuk ki a mintákból, amihez a Tanszék Shimadzu LCMS 8030 HPLC-MS/MS rendszerét vettük igénybe. A beállítások és a validálási, valamint adatelemzési módszerek megegyeztek a korábban közölt kísérletek során alkalmazottakkal.

4.2.5. A grillezett csirkemell színének és HCA tartalmának összefüggései

4.2.5.1. Minták

A színméréshez felhasznált húsminták, a bőrös, illetve bőr nélküli csirkemell a 4.3. fejezetben ismertetett módon kerültek beszerzésre és feldolgozásra, helyi, VII. kerületi kiskereskedelmi forgalomból. A sütéshez a DeLonghi CGH 1012D elektromos kontakt grillt alkalmaztunk nyitott és zárt helyzetben, 5, 10 vagy 15 percig 150, 190 vagy 230 °C laphőmérséklet mellett.

4.2.5.2. Érzékszervi bírálat

Az érzékszervi elemzést az egyetem munkatársai végezték. Rövid oktatást kaptak a specifikus érzékszervi elemzés menetéről, de korábbi szakirányú képzettséggel nem rendelkeztek, így képviselheték az átlagfogyasztókat. Egy vizsgálathoz tíz személyt (6 nő, 4 férfi; 24–62 éves kor) vontunk be, akiknek egyszerre 3 mintát kellett megvizsgálni egy laboratóriumi helyiségben, 23 °C szobahőmérsékleten, minden alkalommal 11:00–11:30 között, közvetlenül ebéd előtt. A mintákat mindig véletlenszerű három számjegyű kód titkosította, így a tesztelők

nem tudták, milyen kezelésben részesült mintát vizsgálnak éppen. A vizsgálandó minta egy standard szeletből állt, egy darabban (a színelemzéshez) és egy kockára vágott hús szeletből az íz és az állomány vizsgálatához. A tesztelőknek 1-5-ös skálán kellett értékelniük a következő paramétereket: Világosság; Sötétség; Illat; Idegen illat; Íz; Idegen íz; Szaftosság; Porhanyóosság; Összbenyomás. A paramétereket és a skálákat a hasonló vizsgálatokban nagy gyakorlattal rendelkező élelmiszermérnök segítségével állítottuk össze. Kutatásaimhoz csak a Világosság-Sötétség kombinált 1-9 értékű paraméter kapcsolódik, ahol az értékek meghatározása a következő:

- 1 - Fekete, odaégett
- 2 - Vannak égett fekete foltok, de többnyire inkább sötétbarna
- 3 - Egyöntetűen sötétbarna, nincs fekete folt
- 4 - Egyöntetűen barna, sötétebb árnyalatok nélkül
- 5 - Aranybarnára sült (kívánt szín)
- 6 - Egyöntetűen aranysárga
- 7 - Egyöntetűen világossárga
- 8 - Döntően fehér, de egyes részein halványsárga
- 9 - Fehéres és nyers

A bőrös húsminták esetében a bőrrel borított felületet vizsgáltuk. A válaszokat ezután elemeztük, összegeztük és összehasonlítottuk egymással.

4.2.5.3. Kolorimetriai vizsgálat

Az objektív színvizsgálathoz Konica Minolta CHROMA METER CHR-400 tristimulus színmérő rendszert használtunk. A berendezés a felület színét CIELAB értékekkel elemezte:

L * - fényerő, ahol a 100 érték a tökéletes fehér, és 0 teljes fekete

a * - vörösség, minél pozitívabb az érték, annál vörösebb a minta (negatív - zöld)

b * - sárgaság, ahol minél pozitívabb az érték, annál sárgább a minta (negatív - kék)

Tíz egyedi mérés történt a sütési paraméterek mindegyik kombinációjában, azonos külső fényviszonyok mellett minden alkalommal. A bőrös húsminták esetében a bőrrel borított felület színét határoztuk meg.

4.2.5.4. Adatelemzés

Az adatok feldolgozása és a statisztikai elemzés egy része R statisztikai programmal, MS Excel szoftverrel és multi-way ANOVA számítással történt. A korrelációs elemzéshez Pearson-féle módszert alkalmaztunk.

4.3. A kiskereskedelmi csirkehús *Salmonella* szennyezettsége és a *S. Enteritidis* hőpusztulása grillezés során

A mikrobiológiai vizsgálatok a 4.2. fejezetben tárgyalt élelmiszer-kémiai, illetve színmérési kísérletekkel párhuzamosan, azokkal összhangban folytak.

4.3.1. Nyers csirkemellminták *Salmonella* kontaminációjának vizsgálata

A minták alapjául szolgáló filézett és csontos, bőrös csirkemellet a korábban említettekhez hasonlóan a VII. kerület egyik helyi szupermarketében szereztük be. A csirkemellből standard méretű mintákat készítettünk a következők szerint: 1,6 * 4 * 6 cm oldalhossz és 40 gramm tömeg. A nem filézett húsokat az Állatorvostudományi Egyetem Élelmiszer-higiéniai Tanszékének Élelmiszer-technológiai Laboratóriumában csontoztuk, de ebben az esetben a bőrt nem távolították el a felszínről. A nyers, mesterségesen nem kontaminált húsból nyolc esetben 10 grammot vettünk az eredeti *Salmonella* szennyezés szintjének kimutatására, amelyet redoxpotenciál-méréssel végeztünk a tanszék Élelmiszer-mikrobiológiai Laboratóriumában. A redoxpotenciál-mérés során a kiindulási mintában lévő élő *Salmonellák* számát határoztuk meg, amelyek metabolizmusuk révén csökkentik a táptalajuk redoxpotenciálját. A bekövetkező csökkenésnek a görbéjéből lehet következtetni az eredeti mikrobaszámra. A 10 grammos mintát 100 ml-re egészítettük ki Rappaport-Vassiliadis szójapepton tápközeggel (RVS). Ezután 10 ml-t használtunk fel egy Microtester redoxpotenciál-mérő berendezésben.

4.3.2. A humán patogén *Salmonella* szerotípusok kimutatása PCR-rel

A nyers, mesterségesen nem szennyezett mintákból valós idejű PCR-vizsgálatot is végeztünk *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* és *S. Infantis* szerotípusainak kimutatására. Ugyanazon mintákból, amelyeket a redoxpotenciál méréséhez használtunk, 1 ml RVS-t vettünk steril Eppendorf csövekbe. A DNS extrakcióját a Mericon TM DNA Bacteria Kit segítségével végeztük. A folyamat után (a gyártó útmutatásait követve) a felülúszó készen állt a PCR-készülékben való felhasználásra. Az összes *Salmonella enterica* szerotípus kimutatására a Mericon *Salmonella spp.* Kitet (Qiagen) használtunk, és a három megkülönböztetett szerotípushoz (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* és *S. Infantis*) egy DiaSalmR Kitet (a Diagon cégtől) alkalmaztunk. A mérést egy SLAN 20® valós idejű PCR rendszerrel (Hongshi) végeztük, fluoreszcens detektorral. A folyamat során pozitív és negatív kontrollt használtunk a minta mellett.

4.3.3. A mesterségesen kontaminált minták előkészítése és hőkezelése

A *S. Enteritidis* hőpusztulásának vizsgálatához mesterségesen szennyezett, ismert kontaminációs szintű mintákra volt szükségünk. Ezt ismert *Salmonella* koncentrációjú

kontaminált tápoldatban való áztatással értük el. Egyidejűleg azt is vizsgálni kívántuk, hogy, mennyi idő alatt diffundálhat a kórokozó a hússzeletek belsőbb rétegeibe is. Az áztatási időnek a *Salmonella* eloszlására gyakorolt hatásának kimutatására 2 csoportot hoztunk létre 4-4 standard méretű mintával: az 1. csoportot 4 órán át, a 2.-at 16 órán át áztattuk 5 °C-on. Az áztató folyadék peptonos tápoldat volt, 10^5 nagyságrend cfu/ml *S. Enteritidis* kontaminációval, és 10 standard szeletet áztattunk 500 ml-ben, úgy hogy a folyadék a hússzeleteket teljesen ellepje. A kontamináció mértékének meghatározásánál az általunk mesterségesen nem szennyezett mintából kimutatott legmagasabb *Salmonella* értékeket, valamint a fertőző dózis mértékét is figyelembe vettük. A *Salmonella* kimutatását ebben az esetben is a nyers, nem szennyezett mintákhoz hasonlóan redoxpotenciál-méréssel hajtottuk végre.

A hőkezelést DeLonghi CGH 1012D elektromos kontakt grillsütőn végeztük, amelynek 2 sütőlapja van. Ezek külön is használhatóak (nyitott állás), de össze is csukhatóak (zárt állás, vagyis kontakt grillezés). A hőkezelés hőmérséklete és időtartama a grillsütő hőkapacitása és a fogyasztói szokások figyelembevételével történt, de a fogyasztásra ajánlott intervallumnál szélesebb skálát öleltünk fel, hogy a *Salmonella* pusztulás részletesebben tanulmányozható legyen. A hőmérsékletek 150, 190 és 230 °C voltak; 5, 10 és 15 perc időtartammal kombinálva. A nyitott grillezés esetén az idő kétszeresen értendő, mivel mindkét a minta fele megkapta a fent említett hőkezelést. A hőkezelés során a minták maghőmérsékletét maghőmérővel monitoroztuk. A párhuzamos kísérletekben mesterségesen szennyezett, standard méretű mintákat használtunk, később ezekből vettünk 10 grammokat a feljebb leírtaknak megfelelő redoxpotenciál-méréshez.

5. Eredmények

5.1. Bőrös és bőr nélküli csirkemell- és csirkecombminták HCA tartalmának vizsgálata

A különböző csirkerészek vizsgálatakor bőr nélküli mell-, illetve húsminták HCA-tartalmát vetettük össze 150, 180 és 210 °C-os grillezés esetén.

A csirkemellben azt figyelhettük meg, hogy a 150 °C-os hőkezelés még a leghosszabb kezelési idő, 10 perc alatt sem váltott ki számottevő HCA-képződést, a vizsgált vegyületek közül csak a norharman volt detektálható ezen a hőmérsékleten, az is csak 10 perc kezelés után, de a mennyisége az LOQ alatt maradt. A 180 °C-os 2,5 perces hőkezelés szintén nem okozott kimutatható mennyiségű HCA-képződést, de az ezen a hőmérsékleten végzett 10 perces kezelés mellett már minden egyes HCA vegyület mérhető mennyiségben keletkezett, kivéve a harmant. A 210 °C-on végzett grillezés során valamennyi kezelési időt követően az összes vizsgált HCA kimutatható volt, azonban koncentrációik jelentősen függtek az alkalmazott grillezés idejétől. A legmagasabb koncentrációt a PhIP esetében figyeltük meg, ahol 10 perc elteltével 15,73 ng/g szintet mértünk, amely az összes mért HCA-tartalom 75,0%-át adta (5. táblázat).

5. táblázat: A hőkezelt bőr nélküli csirkemell heterociklikus amin (HCA) tartalma

Bőr nélküli csirkemell		Harman	Norharman	MelQx	4,8-DiMelQx	PhIP	Összes
T (°C)	t (min)	Mennyiség (ng/g)					
150	2,5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
	5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
	10	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
180	2,5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
	5	<0,08	0,13±0,03 ^a	0,09±0,01 ^a	<0,08	0,42±0,06 ^a	0,64±0,06 ^a
	10	<0,08	0,18±0,02 ^b	0,33±0,05 ^b	0,17±0,02 ^a	1,9±0,3 ^b	2,5±0,3 ^b
210	2,5	0,08±0,02 ^a	0,20±0,03 ^b	0,35±0,06 ^b	0,14±0,02 ^b	1,7±0,2 ^b	2,5±0,2 ^b
	5	0,20±0,03 ^b	0,47±0,04 ^c	1,0±0,2 ^c	0,49±0,07 ^c	5,5±0,6 ^c	7,6±0,8 ^c
	10	0,48±0,05 ^c	1,0±0,1 ^d	2,3±0,2 ^d	1,5±0,2 ^d	16±2 ^d	21±2 ^d

Mérési határ 0.08 ng/g; T: Hőmérséklet; t: Időtartam; Egy oszlopon belül az értékek, amelyeknél nem áll azonos indexbetű, szignifikánsan eltérnek egymástól ($p < 0.05$).

A combminták esetében a harman előfordulása meghatározóbb volt, 5 perc hőkezelés után már 150 °C-on mérhető mennyiségben volt jelen. A többi HCA abszolút értéke általában alacsonyabb volt az azonos hőmérsékleten és időtartamon kezelt mellhúshoz képest. Különösen a PhIP esetén volt számottevő a csökkenés, a legerősebb hőkezelés, azaz a 210

°C – 10 perc kombináció során is csupán 3,39 ng/g koncentrációt mérhettünk, amely a csirkemellben mért mennyiség 21,6%-a. A PhIP a combban a teljes HCA mennyiségének 53,7%-át tette ki, míg a harman aránya 9,0% volt (6. táblázat), ez az előbbi esetében, több mint 20%-kal kevesebb, vagyis relatíve is csökkent a PhIP mennyisége.

6. táblázat: A hőkezelt bőr nélküli csirkecombfilé heterociklikus amin (HCA) tartalma

Bőr nélküli csirkecomb		Harman	Norharman	MelQx	4,8-DiMelQx	PhIP	Összes
T (°C)	t (min)	Mennyiség (ng/g)					
150	2,5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
	5	0,08±0,01 ^a	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	0,08±0,01 ^a
	10	0,17±0,02 ^b	0,11±0,02 ^a	<0,08	<0,08	<0,08	0,28±0,02 ^b
180	2,5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
	5	0,14±0,01 ^c	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	0,14±0,01 ^c
	10	0,19±0,03 ^d	0,17±0,02 ^b	0,38±0,05 ^a	0,11±0,02 ^a	0,41±0,05 ^a	1,3±0,1 ^d
210	2,5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
	5	0,17±0,03 ^{b,d}	0,13±0,02 ^c	<0,08	<0,08	0,41±0,05 ^a	0,71±0,06 ^e
	10	0,57±0,06 ^e	0,54±0,07 ^d	1,2±0,2 ^b	0,66±0,07 ^b	3,4±0,4 ^b	6,3±0,6 ^f

Mérési határ 0.08 ng/g; T: Hőmérséklet; t: Időtartam; Egy oszlopon belül az értékek, amelyeknél nem áll azonos indexbetű, szignifikánsan eltérnek egymástól ($p < 0.05$).

A bőr jelenléte a csirkemell szeleteken kimutathatóan befolyásolta a vizsgált HCA-k előfordulását. Már 150 °C-on mérési határ felett mértük több vegyület mennyiségét is (a MelQx-en kívül mindegyikét). Ezzel szemben 210 °C-on is előfordult, hogy ez alatt az érték alatt maradt egyes aminosavak mennyisége: 210 °C-on 2,5 percig tartó grillezésnél a MelQx és a 4,8-DiMelQx nem volt mérhető, és az összes HCA koncentráció szintén alacsonyabb volt, mint a bőr nélküli csirkemell filé esetén (4. táblázat). A többi hőmérséklet-idő kombináció esetén a bőrös mintából több HCA-t tudtunk kimutatni, vagy nem mutatott szignifikáns eltérést a bőr nélkülihez képest (180 °C-5 perc). A PhIP relatív aránya 210 °C-on és 10 perc után 62,1%-nak adódott (7. táblázat).

7. táblázat: Bőrös hőkezelt csirkemell heterociklikus amin (HCA) tartalma

Bőrös csirkemell		Harman	Norharman	MelQx	4,8-DiMelQx	PhIP	Összes
T (°C)	t (min)	Mennyiség (ng/g)					
150	2,5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
	5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
	10	0,19±0,3 ^a	0,32±0,06 ^a	<0,08	0,09±0,01 ^a	1,0±0,1 ^a	1,6±0,2 ^a
180	2,5	<0,08	0,09±0,01 ^b	<0,08	<0,08	<0,08	0,09±0,01 ^b

	5	0,30±0,04 ^b	0,15±0,02 ^c	<0,08	<0,08	0,20±0,02 ^b	0,64±0,04 ^c
	10	0,7±0,1 ^c	0,33±0,04 ^a	0,57±0,07 ^a	0,35±0,04 ^b	2,9±0,3 ^c	4,9±0,3 ^d
	2,5	0,09±0,01 ^d	0,16±0,02 ^d	<0,08	<0,08	0,9±0,1 ^d	1,1±0,1 ^e
210	5	0,39±0,05 ^e	0,51±0,07 ^e	0,7±0,1 ^b	0,49±0,07 ^c	10±1 ^e	12,6±1,5 ^f
	10	1,1±0,2 ^f	1,4±0,2 ^f	8,0±0,9 ^c	2,3±0,3 ^d	20,5±2,5 ^f	33±4 ^g

Mérési határ 0.08 ng/g; T: Hőmérséklet; t: Időtartam; Egy oszlopon belül az értékek, amelyeknél nem áll azonos indexbetű, szignifikánsan eltérnek egymástól ($p < 0.05$).

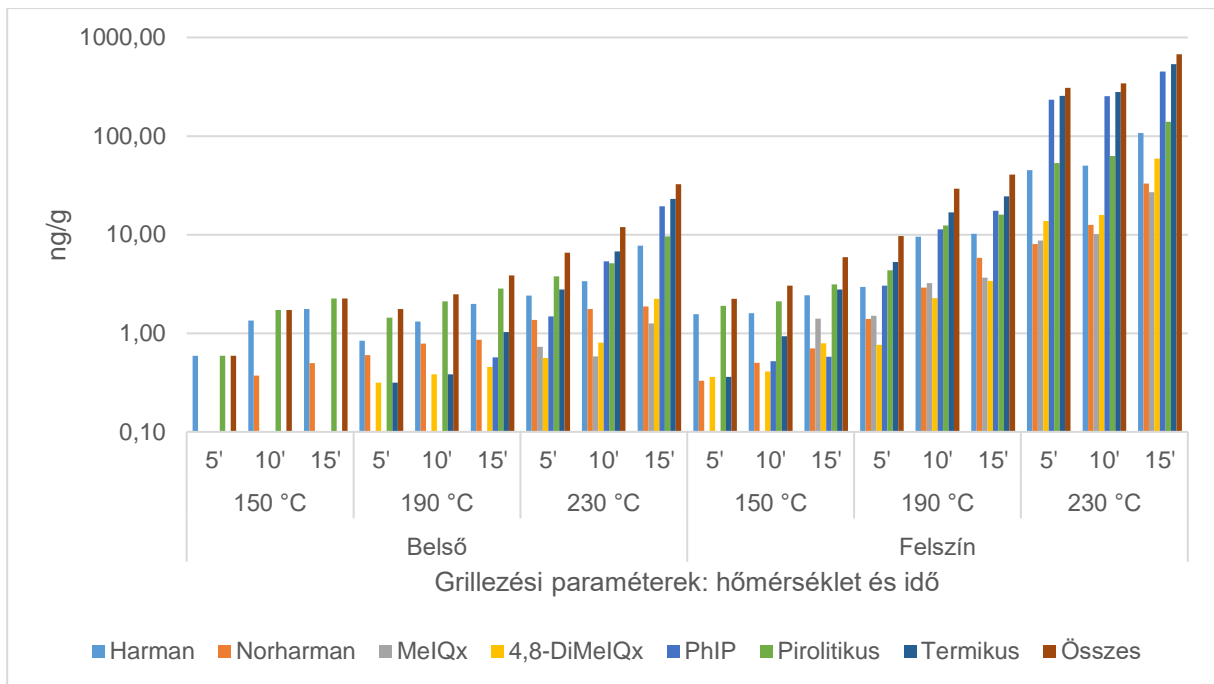
5.2.A bőr és a grillezési eljárás hatásának vizsgálata a HCA-tartalomra csirkemellminták felszínén és mélyebb rétegeiben; a sütés során jelentkező színváltozás és a HCA-tartalom kapcsolata

5.2.1. Az egyes minták HCA-tartalma

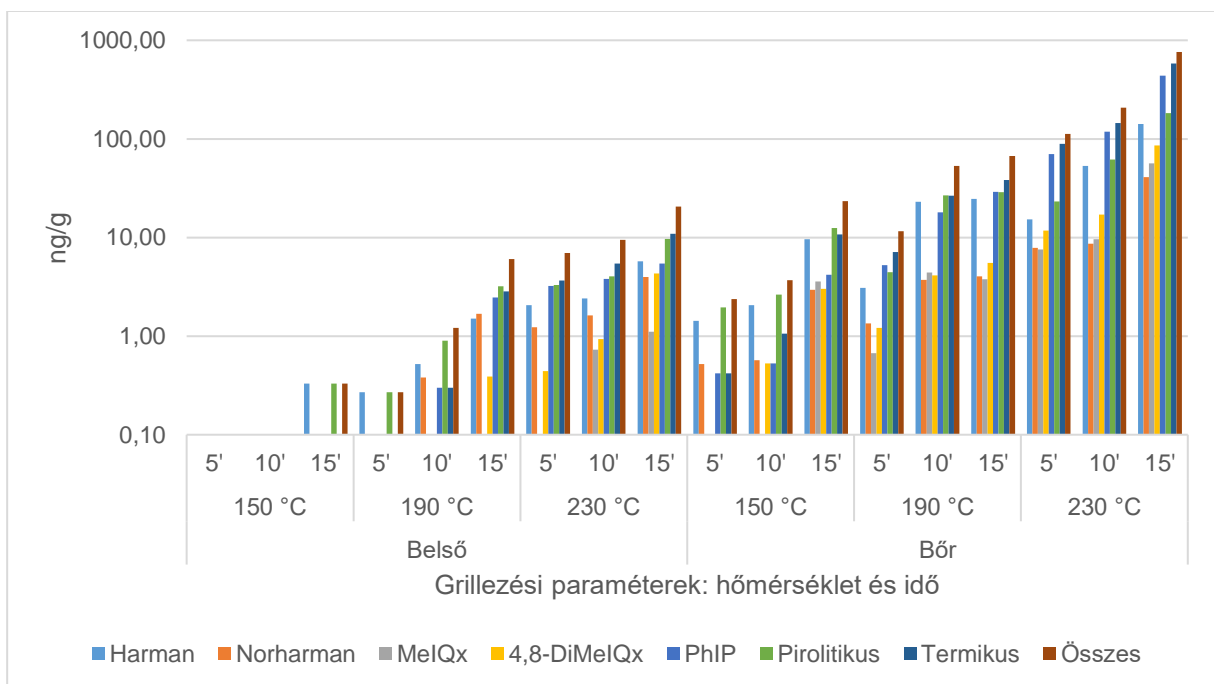
A mennyiségi kémiai elemzés során két pirolitikus (harman, norharman) és három termikus (MeIQx, 4,8-DiMeIQx, PhIP) HCA-t vizsgáltunk. Az adatsor tartalmazza a vegyületek egyedi eredményeit, valamint az összesített pirolitikus, termikus és összes HCA-mennyiséget (5-8. ábra). Mindegyik csoportra vonatkozóan öt hőkezelési paramétert határoztunk meg: (1) a bőr jelenléte (vagy hiánya); (2) a felső sütőlap helyzete (nyitva vagy zárva); (3) a sütőlappal közvetlenül érintkező, illetve belsőbb rétegek (belső vagy felszín / bőr); (4) hőmérséklet (150, 190 vagy 230 °C); és (5) időtartam (5, 10 vagy 15 perc).

A képződött HCA-ok mennyiségi és minőségi eloszlása az alkalmazott hőmérséklettől függően valamelyest különbözött egymástól. Míg 150 °C-on a termikus vegyületek, különösen a harman, voltak a leggyakrabban, legnagyobb mennyiségben kimutatott HCA-komponensek, magasabb hőmérsékleten a PhIP dominált: 230 °C-on 15 percig sütvé a felület és a bőr teljes HCA-arányának több mint 50%-át tette ki. A MeIQx általában a legkevésbé volt jelen: belső minták vizsgálatakor 150 és 190 °C-on három esetben (bőr nélkül nyitva; bőrrel és bőr nélkül zárva) mennyisége kevesebb volt, mint a mennyiségi meghatározási határ (0,08 ng/g). A képződését úgy tűnik, hogy nem befolyásolja jelentősen a bőr jelenléte vagy a felső sütőlemez állása.

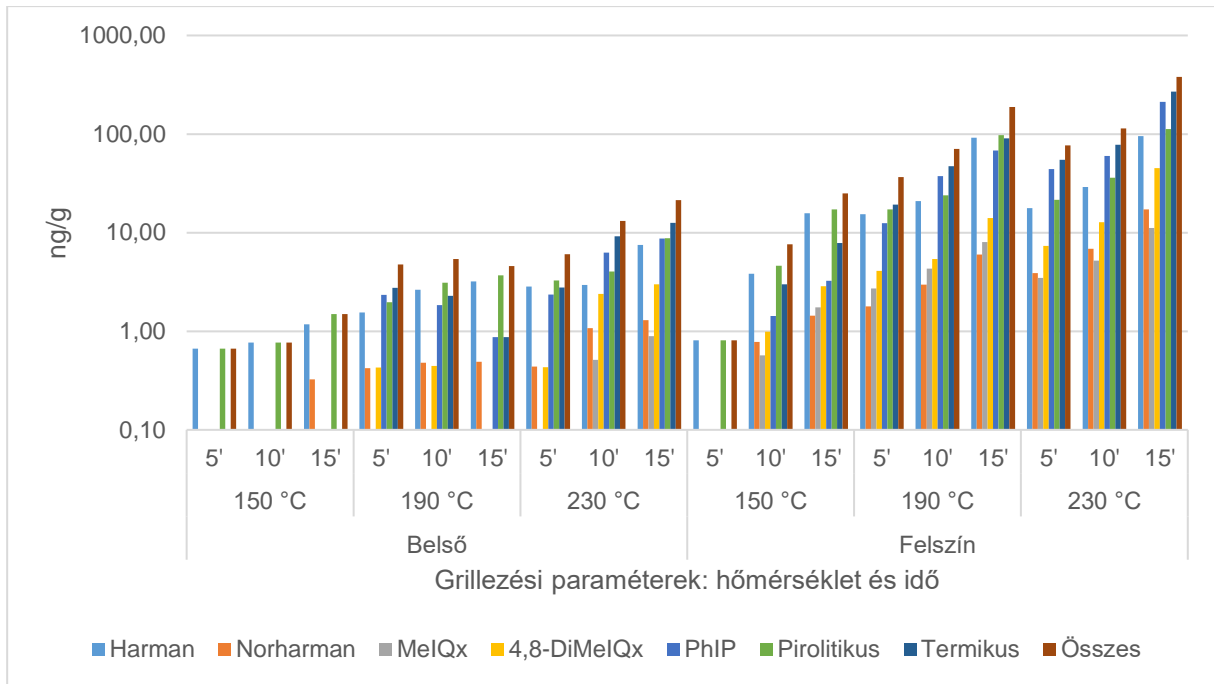
Kontakt (zárt) grillezés esetén a HCA-k mennyisége mindig magasabb volt az azonos módon grillezett nyitott mintákhoz képest. A 150 °C-on és 190 °C-on 5 és 10 percig grillezett belső minták kevesebb HCA-t tartalmaztak a bőrös minták esetén. Magasabb hőmérsékleten és / vagy hosszabb ideig tartó grillezés során ez a tendencia megváltozott. A bőr mindig több HCA-t tartalmazott, mint az azonos módon kezelt bőr nélküli húsfelszín (8–12. táblázat).



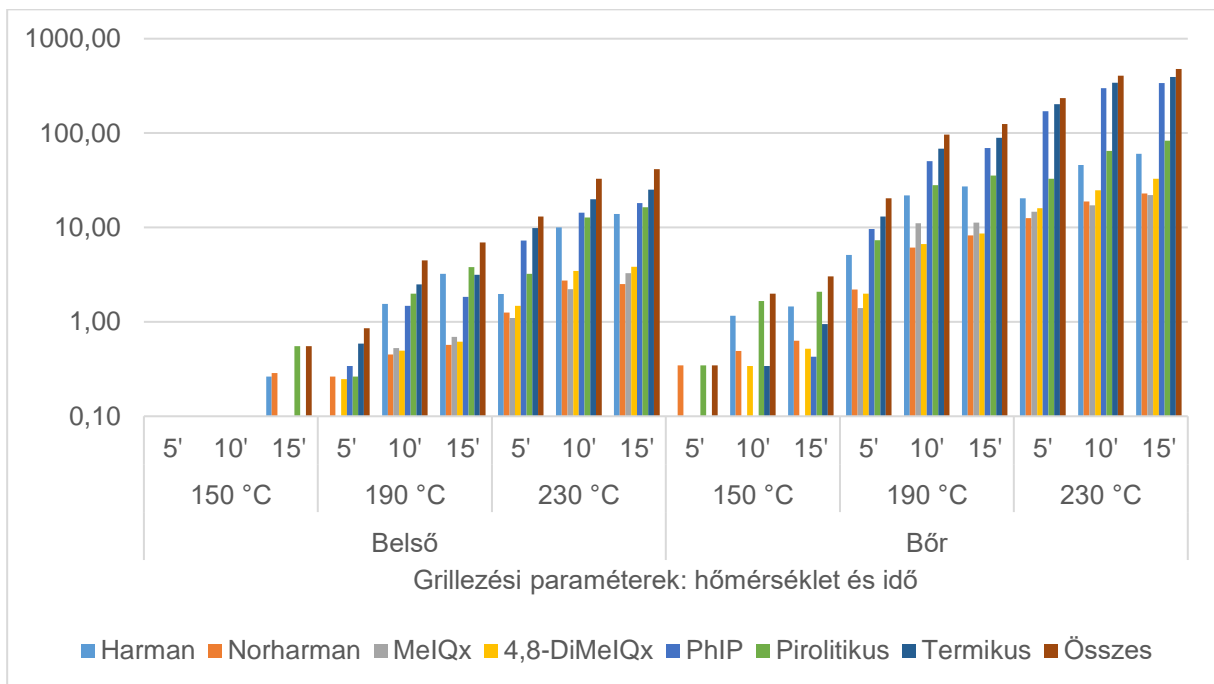
5. ábra: Bőr nélküli, zártan grillezett csirkemell heterociklikus amin tartalma (logaritmikus skála)



6. ábra: Bőrös, zártan grillezett csirkemell heterociklikus amin tartalma (logaritmikus skála)



7. ábra: Bőr nélküli, nyitottan grillezett csirkemell heterociklikus amin tartalma (logaritmikus skála)



8. ábra: Bőrös, nyitottan grillezett csirkemell heterociklikus amin tartalma (logaritmikus skála)

8. táblázat: Összes heterociklikus amin tartalom a különböző módokon grillezett csirkemellekben (ng/g)

Hőmérséklet (°C)	Idő (min)	Zárt				Nyitott			
		Bőr nélküli		Bőrös		Bőr nélküli		Bőrös	
		Belső	Felszín	Belső	Bőr	Belső	Felszín	Belső	Bőr
150	5	0,59	2,24	<0,08	2,37	0,67	0,81	<0,08	0,35
	10	1,71	3,03	<0,08	3,68	0,77	7,61	<0,08	2,00
	15	2,25	5,89	0,33	23,30	1,50	25,05	0,54	3,03
190	5	1,75	9,64	0,27	11,59	2,85	36,49	0,60	20,35
	10	2,49	29,22	1,21	53,25	5,38	70,88	4,50	96,12
	15	3,88	40,50	6,04	67,10	6,48	187,89	6,95	124,98
230	5	5,82	308,34	6,95	112,52	6,05	76,47	13,11	234,65
	10	11,88	342,81	9,48	206,96	13,18	113,75	32,50	406,49
	15	32,58	675,86	20,58	764,18	21,38	380,81	41,87	476,06

9. táblázat: Bőr nélküli, zártan grillezett minták heterociklikus amin tartalma (ng/g)

	Hőm. (°C)	Idő (min)	Harman	Norharman	MeIQx	4,8-DiMeIQx	PhIP	Össz HCA
Belső	150	5	0,59 ±0,05	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	0,85
		10	1,34 ±0,15	0,37 ±0,05	<0,08	<0,08	<0,08	1,72
		15	1,75 ±0,06	0,50 ±0,06	<0,08	<0,08	<0,08	2,25
	190	5	0,84 ±0,08	0,60 ±0,03	<0,08	0,32 ±0,02	<0,08	1,75
		10	1,32 ±0,17	0,79 ±0,04	<0,08	0,38 ±0,03	<0,08	2,49
		15	1,99 ±0,22	0,86 ±0,11	<0,08	0,45 ±0,05	0,57 ±0,06	3,87
	230	5	2,40 ±0,20	1,37 ±0,06	<0,08	0,56 ±0,06	1,48 ±0,11	6,54
		10	3,38 ±0,19	1,76 ±0,19	0,58 ±0,05	0,80 ±0,06	5,36 ±0,36	11,89
		15	7,75 ±0,31	1,87 ±0,10	1,26 ±0,12	2,24 ±0,15	19,46 ±1,87	32,58
Felszín	150	5	1,56 ±0,09	0,33 ±0,03	<0,08	0,36 ±0,04	<0,08 ±	2,24
		10	1,60 ±0,11	0,50 ±0,03	<0,08	0,41 ±0,04	0,52 ±0,04	3,03
		15	2,42 ±0,24	0,70 ±0,05	1,41 ±0,11	0,79 ±0,09	0,58 ±0,05	5,89
	190	5	2,94 ±0,17	1,40 ±0,04	1,50 ±0,11	0,76 ±0,06	3,03 ±0,17	9,64
		10	9,50 ±0,36	2,91 ±0,10	3,23 ±0,18	2,27 ±0,10	11,31 ±0,35	29,22
		15	10,18 ±0,36	5,80 ±0,13	3,65 ±0,17	3,39 ±0,14	17,48 ±0,55	40,50
	230	5	45,01 ±1,30	8,01 ±0,43	8,70 ±0,36	13,74 ±0,41	232,87 ±5,96	308,34
		10	49,93 ±3,39	12,54 ±1,42	10,14 ±0,28	15,79 ±1,12	254,42 ±14,38	342,81
		15	107,00 ±3,17	33,02 ±1,36	27,04 ±0,76	59,19 ±2,48	449,60 ±15,14	675,86

10. táblázat: Bőrös, zártan grillezett minták heterociklikus amin tartalma (ng/g)

	Hőm. (°C)	Idő (min)	Harman	Norharman	MeIQx	4,8-DiMeIQx	PhIP	Össz HCA
Belső	150	5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
		10	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
		15	0,33 ±0,04	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	0,33
	190	5	0,27 ±0,02	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	0,27
		10	0,52 ±0,05	0,38 ±0,03	<0,08	<0,08	0,30 ±0,03	1,21
		15	1,51 ±0,07	1,68 ±0,06	<0,08	0,39 ±0,05	2,46 ±0,13	6,04
	230	5	2,06 ±0,12	1,23 ±0,10	<0,08	0,44 ±0,05	3,22 ±0,30	6,95
		10	2,41 ±0,11	1,62 ±0,11	0,73 ±0,10	0,93 ±0,10	3,79 ±0,30	9,48
		15	5,72 ±0,17	3,97 ±0,29	1,11 ±0,12	4,33 ±0,18	5,46 ±0,28	20,58
Bőr	150	5	1,43 ±1,10	0,52 ±0,05	<0,08	<0,08	0,42 ±0,05	2,37
		10	2,06 ±0,15	0,57 ±0,04	<0,08	0,53 ±0,05	0,53 ±0,05	3,68
		15	9,58 ±0,47	2,94 ±0,18	3,57 ±0,28	3,01 ±0,25	4,19 ±0,42	23,30
	190	5	3,09 ±0,34	1,35 ±0,08	0,67 ±0,09	1,21 ±0,12	5,26 ±0,63	11,59
		10	22,95 ±0,54	3,73 ±0,13	4,41 ±0,18	4,12 ±0,17	18,04 ±0,55	53,25
		15	24,71 ±1,03	4,03 ±0,19	3,76 ±0,21	5,51 ±0,25	29,08 ±0,77	67,10
	230	5	15,25 ±0,85	7,87 ±0,40	7,57 ±0,31	11,78 ±0,89	70,05 ±5,80	112,52
		10	53,34 ±1,51	8,63 ±0,33	9,60 ±0,43	17,05 ±0,76	118,34 ±4,45	206,96
		15	141,34 ±11,66	41,11 ±4,91	56,68 ±6,33	85,61 ±9,35	439,44 ±44,19	764,18

11. táblázat: Bőr nélküli, nyitottan grillezett minták heterociklikus amin tartalma (ng/g)

	Hőm. (°C)	Idő (min)	Harman	Norharman	MelQx	4,8-DiMelQx	PhIP	Össz HCA
Belső	150	5	0,67±0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	0,67
		10	0,77±0,07	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	0,77
		15	1,17±0,13	0,32±0,04	<0,08	<0,08	<0,08	1,50
	190	5	1,55±0,08	0,42±0,05	<0,08	<0,08	0,87±0,06	4,74
		10	2,64±0,21	0,48±0,06	<0,08	0,43±0,04	1,84±0,14	5,40
		15	3,21±0,21	0,49±0,06	<0,08	0,44±0,05	2,34±0,24	4,57
	230	5	2,83±0,11	0,44±0,05	<0,08	0,43±0,06	2,35±0,15	6,05
		10	2,94±0,07	1,08±0,09	0,51±0,05	2,39±0,20	6,26±0,28	13,18
		15	7,50±0,28	1,30±0,013	0,89±0,10	3,00±0,23	8,70±0,48	21,38
Felszín	150	5	0,81±0,09	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	0,81
		10	3,84±0,42	0,78±0,09	0,57±0,05	0,99±0,12	1,43±0,08	7,61
		15	15,76±1,67	1,44±0,18	1,74±0,10	2,85±0,27	3,25±0,30	25,05
	190	5	15,41±0,43	1,79±0,15	2,72±0,15	4,10±0,38	12,47±0,71	36,49
		10	20,85±1,65	2,98±0,17	4,32±0,12	5,40±0,36	37,33±1,69	70,88
		15	91,66±2,20	6,02±0,28	8,02±0,40	14,04±0,78	68,16±2,07	187,89
	230	5	17,69±2,31	3,89±0,36	3,47±0,19	7,35±0,43	44,07±2,06	76,47
		10	29,06±1,98	6,88±0,45	5,22±0,47	12,76±0,67	59,84±3,22	113,75
		15	95,26±3,69	17,16±0,48	11,16±0,35	45,12±2,14	212,11±4,76	380,81

12. táblázat: Bőrös, nyitottan grillezett minták heterociklikus amin tartalma (ng/g)

	Hőm. (°C)	Idő (min)	Harman	Norharman	MeIQx	4,8-DiMeIQx	PhIP	Össz HCA
Belső	150	5	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
		10	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08	<0,08
		15	0,26±0,02	0,28±0,03	<0,08	<0,08	<0,08	0,55
	190	5	<0,08	<0,08	<0,08	0,26±0,01	0,34±0,05	0,85
		10	1,54±0,12	0,45±0,05	0,53±0,04	0,50±0,06	1,47±0,16	4,49
		15	3,22±0,44	0,57±0,07	0,69±0,05	0,62±0,08	1,84±0,14	6,95
	230	5	1,97±0,12	1,25±0,16	1,10±0,14	1,48±0,14	7,30±1,52	13,11
		10	10,01±0,89	2,74±0,15	2,22±0,20	3,45±0,16	14,30±0,55	32,72
		15	13,92±0,45	2,52±0,30	3,29±0,29	3,83±0,23	18,09±1,68	41,64
Bőr	150	5	<0,08	0,35±0,04	<0,08	<0,08	<0,08	0,35
		10	1,16±0,08	0,49±0,04	<0,08	0,34±0,03	<0,08	2,00
		15	1,45±0,09	0,63±0,08	<0,08	0,52±0,07	0,43±0,03	3,03
	190	5	5,13±0,47	2,20±0,24	1,40±0,14	1,99±0,15	9,63±1,05	20,35
		10	21,87±0,83	6,11±0,18	11,09±0,83	6,67±0,41	50,38±0,70	96,12
		15	27,30±0,83	8,25±0,22	11,26±0,79	8,62±0,23	69,54±2,03	124,98
	230	5	20,32±0,70	12,55±0,47	14,66±0,83	16,01±0,59	171,10±6,32	234,65
		10	46,07±1,31	18,83±0,75	17,21±0,84	24,80±2,63	299,58±17,34	406,49
		15	60,18±2,71	22,99±0,65	22,01±1,52	32,72±1,07	338,16±8,33	476,06

5.2.2. A grillezett csirkemell színének és HCA tartalmának összefüggései

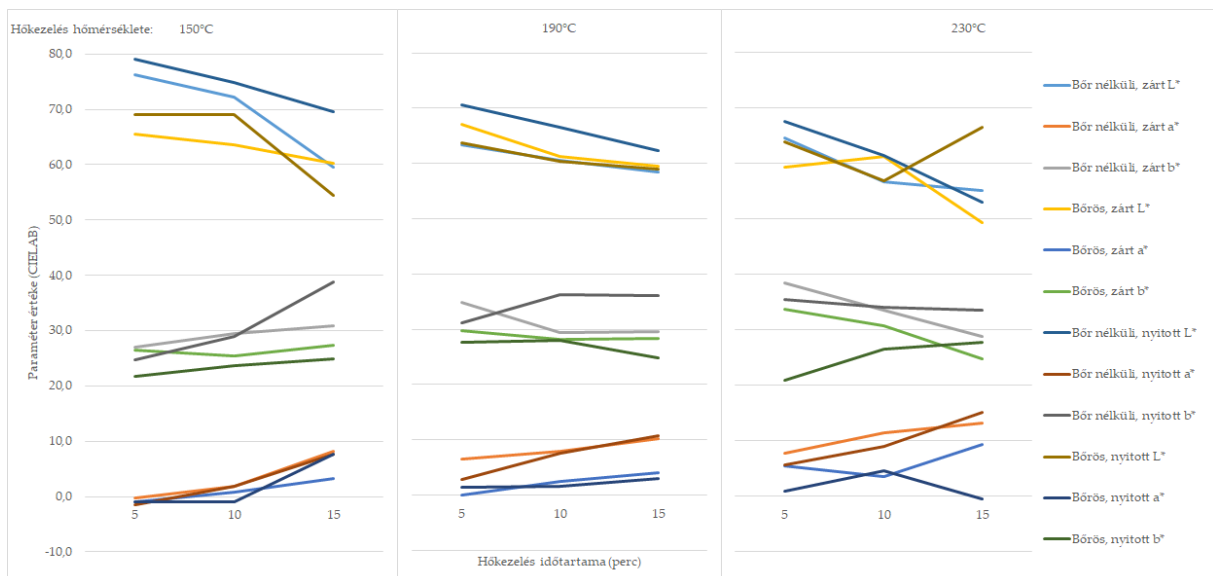
5.2.2.1. Kolorimetria

A kolorimetriás mérés paramétereinek (L^* , fényerő; a^* , vörösség; b^* , sárgaság) eredményeit először is a szerint vizsgáltuk meg, hogy a sütési hőmérséklettel, illetve a sütési idővel felismerhető-e kapcsolat. Mivel csak 3 hőmérséklet (150, 190 és 230 °C) és 3 időtartam (5, 10 és 15 perc) szerepelt a kísérleti összeállításban, a szignifikancia megállapításához ($p < 0,05$) magas, 0,994-es feletti R^2 érték volt szükséges, tendencia kimondásához ($0,05 \leq p < 0,1$) pedig 0,976 feletti értéket kellett kapni.

A kolorimetriai paraméterek közül az L^* és a^* kapcsolata mind a hőmérséklettel, mind az idővel megfigyelhető volt: az L^* csökkenő, az a^* növekvő trendet mutatott mindkét sütési paraméterrel. Egyetlen kivétel a bőrös nyitott sütés volt, ahol 230°C-on, illetve 15 percnél is az ellentétes tendencia érvényesült.

Az időfaktor hatásának vizsgálatakor (9. ábra) a trendvonalak R^2 értékei meghaladták a 0,8 értéket a minták 75%-ában L^* és a^* esetén is. Az esetek 92%-ában negatív korreláció volt az L^* -ra, és pozitív a^* -ra; és bár az R^2 értéke az esetek 58%-ában a b^* esetében is nagyobb volt, mint 0,8, de a korreláció 50%-ban negatív és 50%-ban pozitív volt. A p-érték kevesebb volt 0,1-nél az L^* esetek 42%-ában, és az a^* esetek 50%-ában, tehát ezekben az esetekben tendencia tapasztalható, sőt L^* esetén az eredmények 25%-a szignifikánsnak tekinthető.

A hőmérsékleti tényező az L^* -gal 58,3%-ban, az a^* -gal 83,3%-ban mutatott 0,8 feletti R^2 eredményt, az a^* esetén 50%-ban tendencia jellegű korreláció volt megállapítható. A b^* ebben a mérési sorban is változékonyan viselkedett.



9. ábra: A CIELAB értékek (L^* , világosság; a^* , vörösség; b^* , sárgaság) változása a különböző hőkezelési paraméterek hatására: Hőmérséklet, idő, a bőr jelenléte és a

felső sütőlap állása (az értékek jelentésének magyarázata az Anyag és Módszer fejezetben található)

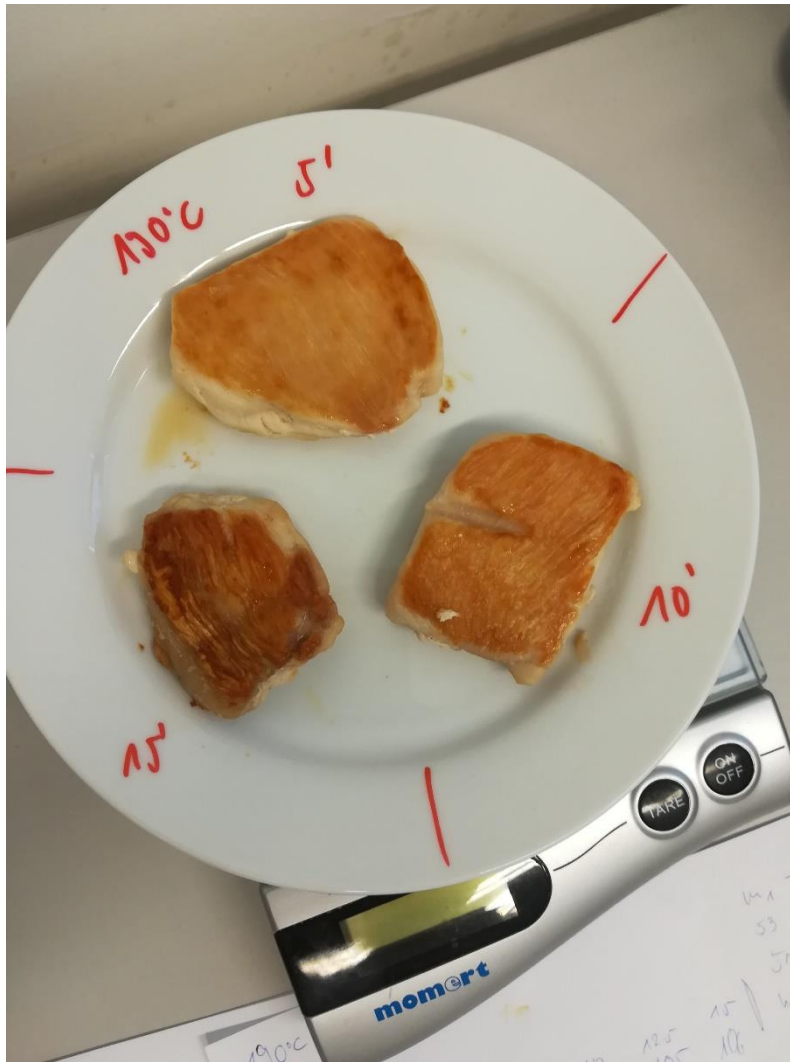
5.2.2.2. Érzékszervi bírálat

Az érzékszervi vizsgálatban az 5-ös érték volt a grillezés során elérendő, kívánt szín (aranybarna) kódja. A várakozásoknak megfelelően mind a hőmérséklet, mind a hőkezelés időtartama befolyásolta a grillezett hús színét. Az érzékszervi teszt eredményei megerősítik, hogy a nyitott grillezési módszer valóban enyhébbnek minősült, és a kapott pontértékek általában alacsonyabbak voltak, mint az ugyanolyan paraméterekkel, de zártan elkészített húsok esetén. A bőr jelenléte lassító hatást gyakorolt az égésre: a bőrös húsok pontozási értékei általában alacsonyabbak voltak a bőr nélküli ugyanazon eredményekhez képest, bár a legalacsonyabb értéket (2,8) éppen a zárt grillezésű, bőrös húsminta esetén (230 °C-on 15 percig) kaptuk (13. táblázat). A 10. ábrán látható egy példa, amely összehasonlítja a zárt módon grillezett minták különböző színárnyalatait 190 °C-on 5, 10 és 15 perc alatt sütve.

13. táblázat: A szubjektív érzékszervi színbírálat eredménye

Hőmérséklet (°C)	Idő (min)	ZÁRT		NYITOTT	
		bőr nélkül	bőrrel	bőr nélkül	bőrrel
150	5	7,6 ± 0,5	7,8 ± 0,6	8,7 ± 0,5	8,0 ± 0,7
	10	6,4 ± 0,7	6,7 ± 1,4	7,9 ± 0,4	6,8 ± 2,2
	15	4,6 ± 0,7	7,3 ± 0,9	7,0 ± 0,8	7,5 ± 0,6
190	5	6,0 ± 1,2	6,9 ± 1,4	7,0 ± 1,2	7,6 ± 0,5
	10	5,5 ± 1,0	5,9 ± 0,6	5,8 ± 1,5	5,8 ± 1,8
	15	4,5 ± 0,8	5,0 ± 0,0	5,0 ± 1,4	6,0 ± 1,2
230	5	5,8 ± 0,8	5,2 ± 0,7	6,7 ± 1,2	8,0 ± 0,7
	10	4,5 ± 0,7	5,0 ± 1,0	4,8 ± 1,2	5,0 ± 1,7
	15	3,4 ± 1,0	2,8 ± 1,4	4,4 ± 1,3	4,5 ± 0,6

Az értékek jelentésének magyarázata az Anyag és Módszer fejezetben található.



10. ábra: Bőr nélküli, zártan grillezett csirkemellminták összehasonlítása 190 °C-on történt 5, 10, illetve 15 perces hőkezelés után

5.2.2.3. Korrelációanalízis

A jelen kísérletek során három különféle adatsort hasonlítottunk össze: a kémiai HCA-elemzést, az érzékszervi színelemzést és a műszeres kolorimetriás elemzést azonos módon hőkezelt húsok esetén. Ezen adatkészletek összehasonlításával különféle elemzések készíthetők. A korreláció erősségének kiértékelésére a Pearson-féle korrelációs együtthatót (r) alkalmaztuk. A korreláció akkor tekinthető erősnek, ha abszolút értéke ($|r|$) nagyobb, mint 0,7, és gyenge, de kimutatható, ha 0,3 és 0,7 között van.

Először megvizsgáltuk az érzékszervi és az objektív színelemzés eredményeit annak meghatározására, hogy található-e olyan kolorimetrikus paraméterek, amelyek szoros kapcsolatban vannak az érzékszervi elemzéssel. Kiderült, hogy az L^* (fényerő) és a^* (vörösség) index nagyon erős ($L^* r > 0,85$ – vagyis pozitív; $a^* r < -0,9$ – vagyis negatív; $p < 0,05$) korrelációt mutat mindkét zárt és a nyitott bőr nélküli kombinációk esetén. A bőrös nyitott

minták nem mutatták ezt az erős korrelációt, ami magyarázható a bőr egyenetlen színváltozásaival, ha a hőkezelés kevésbé kiegyensúlyozott és enyhébb, mint például nyitott grillezés esetén. A b^* (sárgaság) indexnek gyenge korrelációja volt a nyitott grillezés során mért érzékszervi megfigyelésekkel ($-0,7 < r < -0,6$; $p < 0,05$), és a zárt grillezés esetén nem volt kapcsolat. Ezen eredmények szerint az L^* és a^* változásai állnak inkább közelebb az emberi szem által érzékelt színváltozásokhoz, és az $|r|$ ezekben az esetekben nagyobb, mint 0,7, míg b^* esetén csak 0,34 (14. táblázat).

14. táblázat: Az egyes paraméterek közötti korrelációs együttható (r) értéke különböző sütési módok és rétegek esetén

Bőr nélküli, zárt

Belső	Érzék	Harman	Norharman	MelQx	4,8-DiMelQx	PhIP	Összes	Pirolitikus	Termikus
L*:	0,943	-0,611	-0,703	-	-0,698	-	-0,561	-0,650	-0,524
a*:	-0,948	0,717	0,821	-	0,826	-	0,671	0,762	0,632
b*:	-0,040	-0,062	0,349	-	-0,395	-	-0,077	0,027	-0,114
Érzék:	1,000	-0,765	-0,714	-	-0,834	-	-0,701	-0,777	-0,668

Kéreg

L*:	0,943	-0,550	-0,588	-0,601	-0,513	-0,499	-0,532	-0,561	-0,524
a*:	-0,948	0,686	0,706	0,824	0,633	0,692	0,674	0,693	0,668
b*:	-0,040	0,123	-0,040	-0,208	-0,049	0,133	0,170	0,086	0,190
Érzék:	1,000	-0,656	-0,714	-0,702	-0,655	-0,623	-0,636	-0,672	-0,626

Bőrös, zárt

Belső	Érzék	Harman	Norharman	MelQx	4,8-DiMelQx	PhIP	Összes	Pirolitikus	Termikus
L*:	0,868	-0,887	-0,935	-	-	-0,741	-0,889	-0,907	-0,871
a*:	-0,907	0,912	0,925	-	-	0,849	0,896	0,910	0,881
b*:	-0,019	-0,370	-0,614	-	-	-0,212	-0,085	-0,101	-0,072
Érzék:	1,000	-0,946	-0,997	-	-	-0,890	-0,943	-0,951	-0,933

Bőr

L*:	0,868	-0,889	-0,907	-0,899	-0,895	-0,882	-0,890	-0,897	-0,886
a*:	-0,907	0,838	0,856	0,867	0,863	0,837	0,841	0,846	0,837
b*:	-0,019	-0,310	-0,306	-0,595	-0,402	-0,286	-0,303	-0,310	-0,300
Érzék:	1,000	-0,798	-0,656	-0,636	-0,652	-0,686	-0,703	-0,770	-0,681

Bőr nélküli, nyitott

Belső	Érzék	Harman	Norharman	MelQx	4,8-DiMelQx	PhIP	Összes	Pirolitikus	Termikus
L*:	0,962	-0,918	-0,898	-	-0,938	-0,793	-0,886	-0,939	-0,820
a*:	-0,929	0,858	0,732	-	0,873	0,640	0,775	0,872	0,688
b*:	-0,612	0,317	-0,396	-	-0,145	-0,345	0,216	0,339	0,140
Érzék:	1,000	-0,807	-0,821	-	-0,919	-0,619	-0,795	-0,838	-0,738

Kéreg

L*:	0,962	-0,841	-0,946	-0,959	-0,918	-0,928	-0,908	-0,867	-0,892
a*:	-0,929	0,848	0,873	0,914	0,856	0,861	0,867	0,865	0,834
b*:	-0,612	0,366	0,035	0,184	0,012	0,034	0,281	0,360	0,231
Érzék:	1,000	-0,799	-0,804	-0,905	-0,751	-0,776	-0,806	-0,815	-0,770

Bőrös, nyitott

Belső	Érzék	Harman	Norharman	MelQx	4,8-DiMelQx	PhIP	Összes	Pirolitikus	Termikus
L*:	0,198	0,465	0,221	0,433	0,098	0,195	-0,062	-0,098	-0,040
a*:	-0,036	-0,415	-0,221	-0,265	0,002	-0,097	-0,021	0,010	-0,041
b*:	-0,674	0,471	0,090	0,341	0,106	0,060	0,348	0,416	0,301
Érzék:	1,000	-0,820	-0,690	-0,632	-0,680	-0,637	-0,772	-0,830	-0,728
Bőr									
L*:	0,198	0,015	-0,108	0,080	0,097	0,353	-0,097	-0,141	-0,088
a*:	-0,036	-0,158	-0,022	-0,102	-0,186	-0,354	-0,015	-0,010	-0,016
b*:	-0,674	0,342	0,297	-0,113	0,172	0,048	0,293	0,411	0,268
Érzék:	1,000	-0,846	-0,743	-0,670	-0,701	-0,686	-0,743	-0,838	-0,721
ÁTLAG									
L*:	0,743	-0,527	-0,608	-0,389	-0,538	-0,471	-0,603	-0,632	-0,580
a*:	-0,705	0,536	0,584	0,448	0,553	0,490	0,586	0,619	0,560
b*:	-0,336	0,110	-0,073	-0,078	-0,100	-0,081	0,105	0,153	0,081
Érzék:	1,000	-0,805	-0,767	-0,709	-0,742	-0,702	-0,763	-0,811	-0,733

Erős korreláció $|r| \geq 0,7$; gyenge korreláció $0,7 > |r| \geq 0,3$; nincs korreláció $|r| < 0,3$;
5 adatpont alatt a korrelációs számításához nem áll rendelkezésre elegendő adat

Ezen kívül megvizsgáltuk, hogy van-e összefüggés az objektív műszeres kolorimetriás eredmények és a hús HCA-tartalma között (13. táblázat). Mind az öt HCA-t külön-külön vizsgáltuk, de csoportosítva is figyelembe vettük a termikus, pirolitikus és az összes HCA mennyiségét. A korrelációs együtthatót csak akkor határoztuk meg, ha a kilenc hőmérséklet-idő kombinációból legalább öt esetén a HCA-mennyiség meghaladta a mennyiségi meghatározási határértéket. Ami a kolorimetriás paramétereket illeti, L* és a* bizonyult a leginkább figyelembe vehetőnek. Ezeknél az átlagos $|r|$ érték magasabb volt, mint 0,3 minden egyes HCA esetében és az összesített értéknél is, az L* átlaga pedig $r = -0,60$, az a*-é $r = -0,59$ ($p < 0,1$) volt. Az abszolút értékeik 0,7-nél magasabbak voltak ($p < 0,05$) a bőrös zárt és a bőr nélküli nyitott grillezés esetén, mind a belső, mind a kérgi / bőr eredményeknél az összes HCA tekintetében. A kémiai HCA elemzéshez, zárt bőr nélküli módszerek esetén csak gyenge korrelációt lehetett kimutatni, és korreláció a bőrös nyitott kombinációnál egyáltalán nem volt detektálható. A HCA-tartalom és a b* összefüggése csak bizonyos esetekben volt kimutatható, és soha nem volt erős korreláció.

A harmadik összehasonlítást az érzékszervi vizsgálat és a HCA-tartalom között végeztük. A legtöbb esetben szoros összefüggést állapítottunk meg a szubjektív emberi megfigyelések és a műszeresen mért HCA mennyisége között. Az átlag $|r|$ érték nagyobb volt, mint 0,7 ($p < 0,05$) minden egyes HCA esetében, valamint a termikus, pirolitikus és az összes HCA csoportnál is. A grillezési módszer szerint rendezve a legrosszabb R érték -0,64 (még mindig $p < 0,1$) volt az összes HCA-ra (zárt-bőr nélküli kéreg), a leggyengébb mért korreláció (PhIP: nyitott-bőr nélküli-belső) pedig -0,62-nak adódott.

5.3. A grillezés hatása a *Salmonella Enteritidis* hőpusztulására

Eredményeink szerint mind a nyolc kiskereskedelemben vásárolt, mesterségesen nem szennyezett minta mindegyike tartalmazott szalmonellát. Az átlagos szennyeződés mértéke $2,78 \cdot 10^4$, a nagyságrendi eloszlás a következő volt: 10^0 : 1 minta; 10^2 : 4 minta; 10^4 : 2 minta; 10^5 : 1 minta. PCR-vizsgálattal az egyik mintában *S. Typhimurium* szerotípust mutattunk ki, de a kiskereskedelemből vásárolt csirkében nem találtunk *S. Enteritidis* vagy *S. Infantis* szerotípusokat.

A két kontaminációs áztatási időtartam 4-4 mintájának *Salmonella* szintje összehasonlításakor szignifikáns különbség nem volt kimutatható. A 4 órás áztatás után mért *Salmonella* szám átlaga $2,01 \cdot 10^5$ cfu/10 g, 16 órás áztatás esetén pedig $2,26 \cdot 10^5$ cfu / 10 g (15. táblázat). A csoportok között ANOVA számítást végeztünk (az átlagot is beleértve), és a „p” értéke 0,7093-nak adódott (p <0,05 esetén a különbség szignifikáns lenne).

15. táblázat: A különböző áztatási idők után mért *Salmonella* kontamináció mértéke, tízes alapú logaritmus (cfu/10 g)

	4 óra	16 óra
1.	5,42	4,50
2.	5,05	5,33
3.	5,42	5,42
4.	5,23	5,60
Átlag	5,30	5,35

Két párhuzamos grillezési kísérletet végeztünk a hőmérséklet, az idő, a bőr és a sütőlapállások befolyásoló hatásának összehasonlítására az előzetesen mesterségesen kontaminált minták felhasználásával. A két *Salmonella* pusztulási mérés átlaga az egyes bőr-sütőlap paraméterek szerint csoportosítva a 16. táblázatban, valamint az 8., 9., 10. és 11. ábrán látható. A kiindulási (0 perc) koncentrációk átlaga minden esetben $1,64-2,85 \cdot 10^5$ cfu/10 g között változott, majd az értékek minden hőkezelés során csökkentek. Az eliminációs sebesség különbsége a hőmérsékleti csoportgörbék között észlelhető volt: az átlagos hőmérséklet 150 °C-on $y = -1,3189x$, 190 °C-on $y = -1,4900x$ és 230 °C-on $y = -1,6011x$. A trendvonalak R^2 értékei minden esetben 0,916 és 0,999 között voltak, tehát az *S. Enteritidis* hőeliminációja minden alkalommal logaritmikus tendenciát követett.

16. táblázat: A különböző kombinációk szerint hőkezelt mintákban mért *S. Enteritidis* mennyiségek (Idő: perc; Hőmérséklet: °C; *Salmonella* szám: log cfu/10 g)

Nyitott bőrös

Idő\Hőm.	150	190	230
0	5,17	5,17	5,17
5	4,86	4,67	3,94
10	4,42	3,75	0,00
15	3,74	2,74	0,00

Zárt bőrös

Idő\Hőm.	150	190	230
0	5,42	5,42	5,42
5	5,02	3,10	3,10
10	3,56	2,36	2,55
15	1,72	0,00	0,00

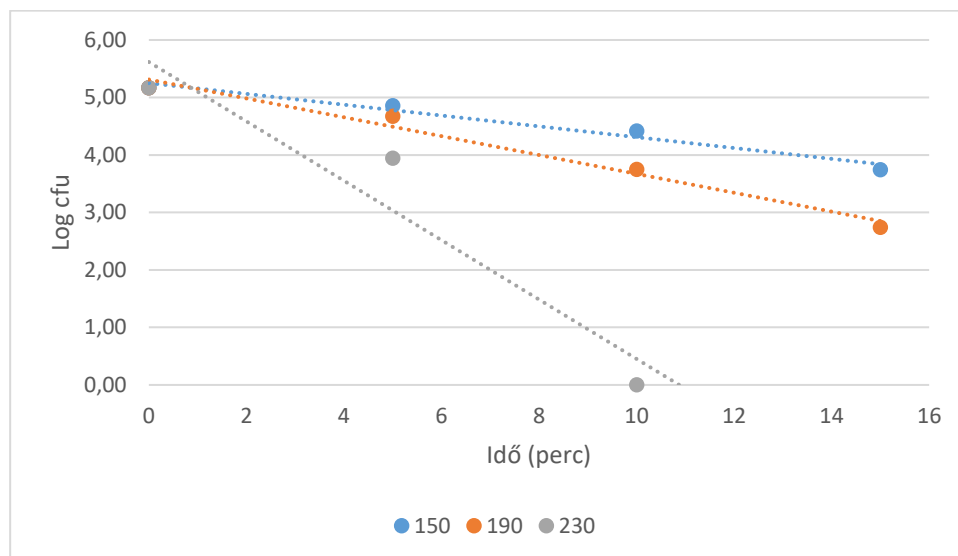
Nyitott bőr nélküli

Idő\Hőm.	150	190	230
0	5,21	5,21	5,21
5	3,50	2,73	3,74
10	0,00	0,00	0,00
15	0,00	0,00	0,00

Zárt bőr nélküli

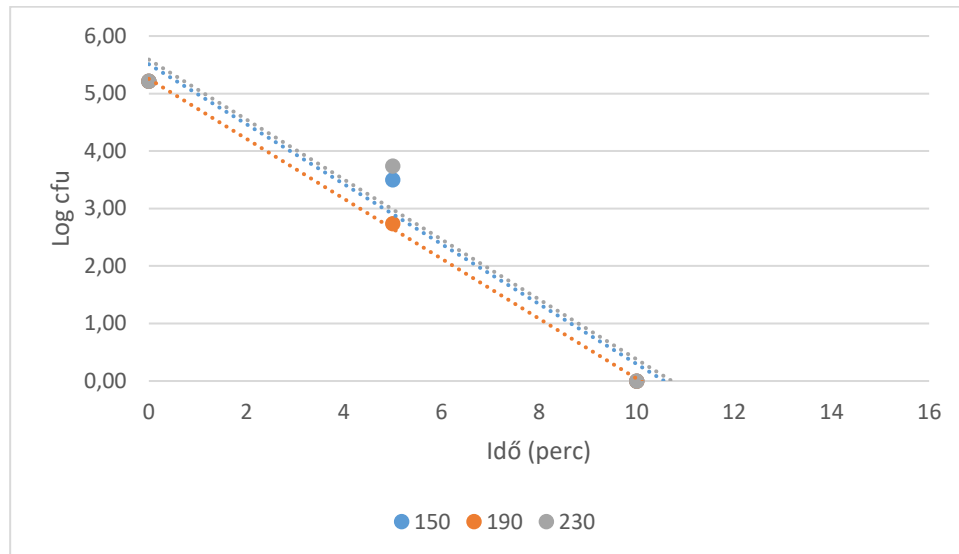
Idő\Hőm.	150	190	230
0	5,45	5,45	5,45
5	0,00	0,00	0,00
10	0,00	0,00	0,00
15	0,00	0,00	0,00

A nyitott bőrös sütés esetén (11. ábra) 150 és 190 °C-on is még a kétoldali 15 perces sütés után is maradtak kórokozók, 230 °C-on viszont már 10 perc alatt teljes mértékben elpusztultak. A maghőmérsékletek átlagai hasonlóan alakultak a különböző hőmérsékleteken. A maghőmérsékletek 5 perc után még mindhárom esetben a *Salmonella* számára kritikus 49 °C alatt maradtak, és a 15 perces sütés után sem emelkedtek 80 °C fölé (76,3; 76,0; 78,3 °C – 150; 190 és 230 °C-os laphőnél).



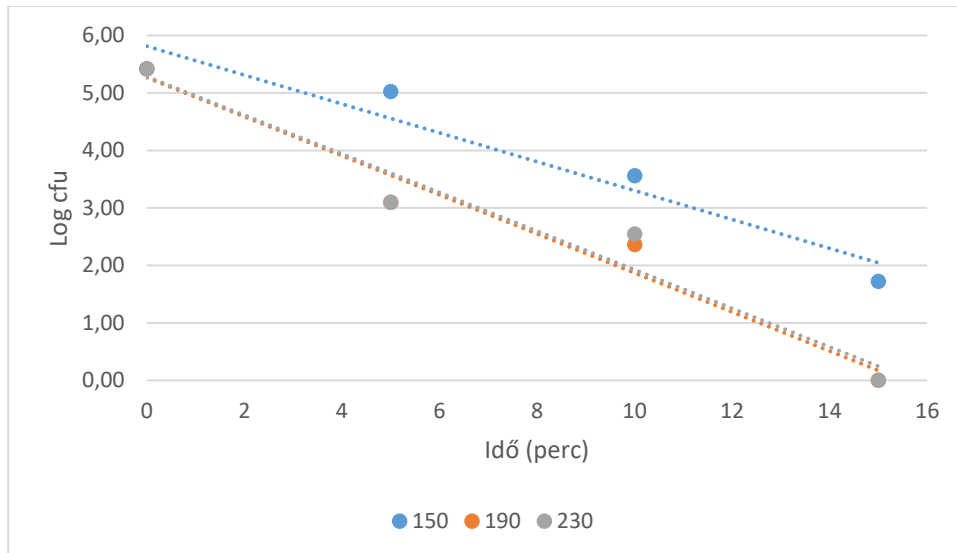
11. ábra: A *S. Enteritidis* mennyisége (cfu/10 g) nyitottan grillezett bőrös csirkemell esetén, különböző hőmérsékleteken (°C)

Ezzel szemben a nyitott bőr nélküli sütés (12. ábra) mindhárom hőmérsékleten már 10 perc után teljes *Salmonella* mentességet eredményezett, és már 5 perc után jelentősebb pusztulás volt kimutatható, mint a nyitott bőrös grillezés esetén. A maghőmérsékletek mindvégig együtt mozogtak, és már 5 percnél 50 °C felett voltak mindegyik esetben, 10 percnél pedig már 67,0; 69,0 és 69,7 °C volt az átlagos maghőmérséklet az egyes laphőmérsékletek esetén. Ezután viszont sokkal több hőt látszólag már nem vett át a minták belseje, a legmagasabb mért érték 70,0 °C volt 230 °C laphőmérsékletnél.



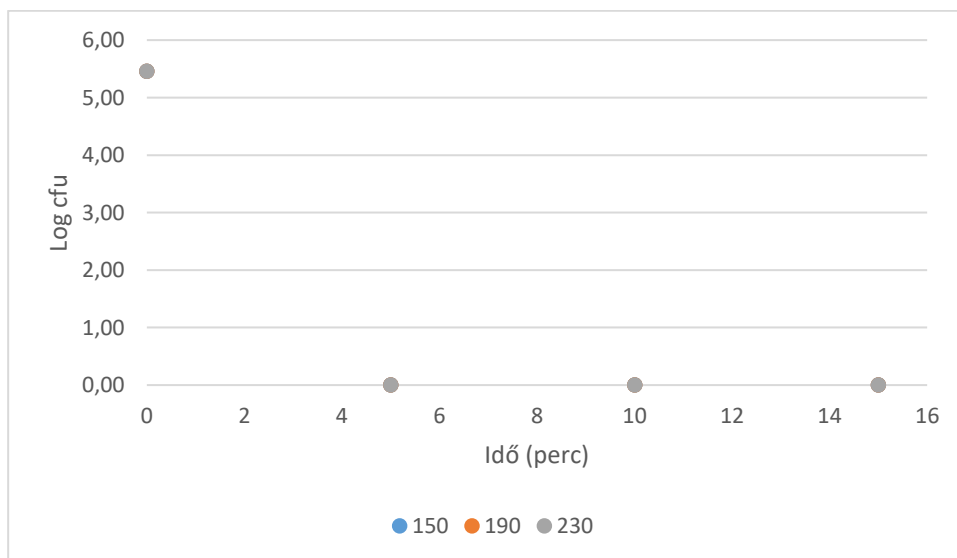
12. ábra: A *S. Enteritidis* mennyisége (cfu/10 g) nyitottan grillezett bőr nélküli csirkemell esetén, különböző hőmérsékleteken (°C)

A zárt sütések sokkal hatékonyabb pusztító hatást eredményeztek. A zárt bőrös sütés (13. ábra) során 150 °C esetén még 15 perc után is mérhető mennyiségű élő mikroba volt a húspan (jóllehet a maghőmérséklet eddigre itt is elérte a 100 °C-ot). Ugyanakkor 190 és 230 °C sütésnél már 15 perc elegendő volt a teljes pusztuláshoz. A 190 és a 230 °C laphőmérsékleteknél a maghőmérsékletek teljesen együtt változtak; 5 perc után már 80 °C, 10 perc után pedig 100 °C feletti hőmérsékletet mértünk. Viszont 103 °C fölé nem emelkedett a hőmérséklet egyetlen méréskor sem.



13. ábra: A *S. Enteritidis* mennyisége (cfu/10 g) zártan grillezett bőrös csirkemell esetén, különböző hőmérsékleteken (°C)

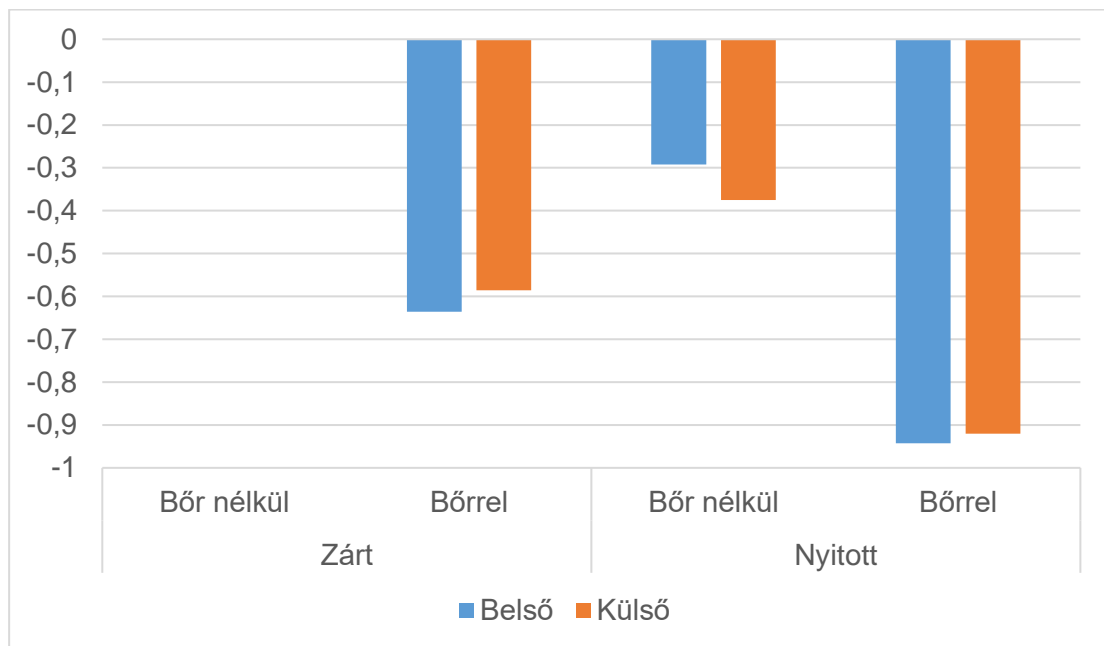
A zárt bőr nélküli sütés (14. ábra) minden hőmérsékleten már 5 perc után a szalmonellák teljes pusztulását idézte elő. A maghőmérsékletek a bőrös méréshez képest a rövidebb sütési idők esetén magasabbak voltak, de hosszabb sütési idők esetén ez a különbség fokozatosan csökkent.



14. ábra: A *S. Enteritidis* mennyisége (cfu/10 g) zártan grillezett bőr nélküli csirkemell esetén, különböző hőmérsékleteken (°C)

5.4. Összefüggés a HCA-képződés és a *Salmonella* pusztulás között

Kémiai és mikrobiológiai eredményeinket a keletkező HCA, illetve a túlélő *Salmonella* mennyisége közötti korreláció vizsgálatával vetettük össze (15. ábra). A zárt bőr nélküli sütések ilyen jellegű megfigyelésre alkalmatlanok voltak, mert minden sütés-idő kombinációnál teljes *Salmonella* mentességet tapasztaltunk, de a többi sütési kombináció vizsgálható volt. A másik bőr nélküli sütés negatív, de gyenge korrelációs értékeket mutatott (-0,3 körül), mind a kéri, mind a belső réteg HCA-mennyiségének figyelembevételkor. A bőrös sütések viszont már zárt sütésnél -0,6 körüli; nyitott sütésnél -0,9 alatti R értékeket mutattak. Főleg ez utóbbi tekinthető erős korrelációnak.



15. ábra:

6. Megbeszélés

6.1. A testtájak és a bőr hatása a HCA képződésre

6.1.1. A grillezett mell és comb minták HCA tartalmának összehasonlítása

Összehasonlítva a csirkemell- és csirkecombfilé minták grillezése során kapott eredményeket ugyanazon hőmérsékleti és időbeli kombinációk alkalmazásával, azt tapasztaltuk, hogy a mell esetén a magasabb hőmérséklet fokozottabban növelte a HCA-képződést, mint combban. Míg mellmintákban 150 °C-on még nem volt LOQ érték feletti HCA eredmény még 10 perces sütés után sem, addig a combmintákban már ezen a hőmérsékleten is mérhető mennyiségű vegyületet detektáltunk 5 és 10 perc grillezést követően. Ezek nagy része harman volt, ami a combmintákra a többi hőmérséklet-idő kombinációban is jellemzőbb volt. A vizsgált második hőmérsékleten, 180 °C-on 2,5 perc után egyik minta sem tartalmazott kimutatható mennyiségű HCA-t, de a hosszabb idejű hőkezelések és a magasabb (210 °C) hőmérséklet minden esetében már a mellminták HCA-tartalma volt magasabb. Az ebben a kísérleti összeállításban legkifejezettebb hőkezelést jelentő, 10 percig 210 °C-on történő grillezéskor minden vizsgált HCA mennyisége szignifikánsan magasabb ($p < 0,05$) volt a csirkemellben, mint a csirkecombban, a harman kivételével. Az össz-HCA tartalom több mint háromszorosa volt a combban mértnek, és a legnagyobb arányban PhIP (76,2%) és MeIQx (11,0%) alkotta a HCA-profil. A combban is a PhIP és a MeIQx voltak a legmeghatározóbb aminok magasabb hőmérsékleten, de a PhIP aránya 210 °C-10 perc grillezés után alacsonyabb volt (54,0%). Jóllehet a MeIQx arányaiban nagyobb részt tett ki az összes HCA között (19,0%), abszolút mennyisége csak közel fele volt a mellben mérthez képest. Ezzel szemben a harman aránya a combban 9 % felett volt még ennél a kombinációnál is, szemben a mell esetén mért 2,2 %-kal. Az össz-HCA mennyiségek különbsége a két hústípus között feltehetően annak is köszönhető, hogy a mellnek magasabb a fehérjetartalma (Zhang *et al.* 2012). Az egyes HCA-k arányának különbségei, illetve a keletkezési körülményeik eltérése a mell és a comb különböző aminosav-profiljával magyarázható (Straková *et al.* 2006). Eredményeink összhangban állnak a témában rendelkezésre álló bibliográfiai adatokkal, bár az általunk használt összetett hőmérséklet-grillezési időspektrumot az irodalmi adatok során alkalmazottak csak részben fedik le (Iwasaki *et al.* 2010, Kondjoyan *et al.* 2016).

A rendelkezésre álló irodalmi adatok arra utaltak, hogy egy húsfajtán belül a magasabb hőmérséklet és a hosszabb hőkezelési idő szignifikáns ($p < 0,05$) növekedést okoz az egyes keletkező HCA-k mennyiségében. Kondjoyan és munkatársai (2016) hasonló tendenciát tapasztalt egy másik módszerrel hőkezelt marhahús esetében is. Mind a hőmérséklet emelkedésével, mind a behatási idő hosszabbá tételével a húsminta nagyobb részén emelkedhet a hőmérséklet a HCA-képződés szempontjából kritikus szint fölé. Ez termikus

HCA-k esetén korábbi irodalmi adatok szerint 150 °C, pirolitikusok esetén 300 °C (Kizil *et al.* 2011), de az újabb eredmények és a saját vizsgálatunk is kérdésessé ezeket a határhőmérsékleteket. Kísérleteink során a húsok leginkább átforrósodott pontja sem melegedhetett 230 °C fölé, mégis számos esetben mértünk harman és norharman koncentrációkat az LOQ felett. A fent említett hivatkozások miatt a kísérleti beállításunk nem tartalmazott 150 °C alatti hőmérsékletet, de mindenképpen célszerű lenne a tényleges határértékek felmérése, mert elősegítheti a biztonságosabb élelmiszer-előkészítési eljárások kidolgozását.

6.1.2. A bőr szerepe a HCA-ok képződésében

Több kutató, így Iwasaki és munkatársai (2010) is vizsgálták az összefüggést a bőr jelenléte és a hőkezelt húsok HCA-tartalma között. Egyértelmű összefüggést ugyanakkor nem találtak a különböző hőkezelési eljárások tekintetében, és a mi eredményeink is megerősítik a kérdés összetettségét.

A bőr szerepe a saját kísérleteink eredményei alapján kettősnek bizonyult. Bőrrel vagy bőr nélkül grillezett mellminták esetén a bőr nélküli eredmények általában alacsonyabbak voltak a bőrrel borított minták eredményeinél. A legszembetűnőbb különbség 210°C-on volt megfigyelhető 10 perces grillezésnél, ahol az statisztikailag szignifikánsnak bizonyult ($p < 0,05$) minden HCA esetén. Ennek a jelenségnek az oka lehet a bőr magasabb zsírtartalma, amely a hőátadás fokozásával növelheti a HCA-termelést (Iwasaki *et al.* 2010). A zsírban sütés egy a grillezéstől merőben eltérő hőkezelési módszer (Gertz, 2014), és mivel az elektromos grill-lap nem rácsos részén történt a grillezés, a zsiradék felgyülemlt a minták alatt. Ez megváltoztatta a környezetet és a hőátadás módját is, ebből következhetett az aminképződés fokozódása. A bőr eltérő fehérje-összetételéből adódhat az is, hogy az általánosan jellemző és szignifikáns HCA-mennyiség emelkedésen túl két vegyület, a MeIQx és a harman mennyisége volt kiugróan magasabb (3,5-szeres, illetve 2,3-szeres) a bőr nélküli mintákhoz képest.

A bőr jelenlétének a megnövekedett HCA-termelésre gyakorolt hatása azonban nem minden kombinációban jelentkezett. Bizonyos esetekben, különösen a rövidebb kezelési idők esetén, megfigyeltük, hogy amíg a bőrben található zsiradék nem olvad ki, mintegy szigetelő hatást fejt ki és így a HCA-termeléshez szükséges hő kevésbé éri el a fehérjében dúsabb szöveteket. Szignifikánsan ez a 210 °C-2,5 perc grillezés során volt kimutatható. Ekkor az össz-HCA tartalom a bőr nélküli csirkemell minta mindössze 44%-át tette ki, és a MeIQx és a DiMeIQx nem érte el a LOQ szintet sem. Ugyanezen a hőmérsékleten 5 perc hőkezelés után viszont már megfordult az arány, a bőrös minta a bőr nélküli amin mennyiségének 166 %-át tartalmazta a méréseink szerint. A rövidebb időtartamú sütések során rendszerint alacsonyabb maghőmérsékletet mértünk a bőrrel borított minták esetén, ami megmagyarázhatja a HCA-

képződés alacsonyabb sebességét. (A maghőmérséklet szerepéről részletesebb kifejtés a fejezet 6.5. pontjában található.)

6.2. A grillezett csirkehús különböző rétegeinek HCA-mennyiségét befolyásoló tényezők, valamint a színváltozás és a HCA-mennyiség összefüggése

6.2.1. A bőr és a grillezési módszer hatása a csirkemell felszínének és belsejének HCA-tartalmára

Ezt a kísérletsorozatot egy másik, szélesebb hőmérsékleti spektrumot lefedni képes elektromos grillezővel végeztük. Ezáltal a magasabb hőmérséklet (230 °C) hatásait is vizsgálni tudtuk, emellett pedig hosszabb sütési idő-beállításokat (15 perc) is alkalmaztunk. Mivel a hőkezelés hőmérséklete és időtartama jelentős hatással volt a HCA-ok képződésére, a szélesebb hőmérsékleti- és időintervallumokkal árnyaltabb képet kaphattunk az aminképződés dinamikájáról. Ezen felül az otthoni eljárásokhoz is közelebb álltak ezek a beállítások (Thermoworks, 2016).

A hőmérsékleten és az időtartamon kívül a bőr jelenléte vagy hiánya is mérhető hatást gyakorolt a keletkező HCA-k mennyiségére. A bőr kettős szerepének hipotézisét meg tudtuk erősíteni ezen kísérletek során is. Magában a bőrben a bőr nélküli felszíni értékekhez képest az esetek 2/3-ában mértünk magasabb össz-HCA mennyiséget. Ugyanakkor két esetben ez a tendencia megfordult. Zárt sütés során, 230 °C-on rövidebb behatási idejű (5 és 10 perc) grillezések, valamint nyitott sütés során, alacsonyabb hőmérséklet és/vagy rövidebb behatási idejű (150 °C mindhárom, 190 °C 5 perc) kombinációk esetében. Az előbbi nehezen magyarázható az általunk az eddigiek során leírt összefüggésekkel (főleg mivel a belső rétegek értékei ezekben az esetekben magasabbak voltak a bőrös mintáknál), de valószínűsíthető, hogy a zárt sütés esetében a 230 °C már annyira intenzív hőkezelést jelent, ahol a biokémiai összefüggések már nem egyértelműen mutatkoznak. A másik csoport viszont a korábbi mérési eredményeinknek megfelelően viselkedett, a bőr bizonyos szintig működő hőszigetelő hatása magyarázatot adhat a csökkent HCA-képződésre. Ez a védő funkció a belső rétegek vizsgálatánál is megmutatkozott. A 150 °C-os sütések mindegyikénél, valamint 190 °C-on 5 és 10 perc grillezés után is (nyitott és zárt egyaránt) alacsonyabb össz-HCA értékeket mérhettünk a bőrrel fedett minták esetén, mint a bőr nélkülieken. Ezekben a kombinációkon felül viszont a bőr, feltehetően a zsírtartalmának kiolvadása végett fokozta a belső rétegek átsülését, ezzel együtt a HCA-tartalmuk növekedését is (kivéve zárt sütés 230 °C 5, illetve 10 perces hőkezelés után, ami a fent említettek miatt kivételes viselkedést mutatott).

A kétféle grillezési mód (zárt és nyitott) összehasonlítása során azt tapasztaltuk, hogy a zárt grillezés során jelentősen fokozódott a HCA-szint emelkedése a nyitott grillezéshez képest, ami valószínűleg az egyszerre két irányból érkező hőhatás és a rendszer zártsága miatti csökkentett hővesztésnek volt köszönhető. Az esetek 72,2 %-ában szignifikánsan magasabb volt az össz-HCA a zárt sütéseknél, míg a nyitottak az esetek 22,2 %-ában tartalmaztak szignifikánsan több rákkeltő amint a velük párhuzamos zárt sütéseknél.

Várakozásainknak megfelelően a PhIP volt a csirkehústra legjellemzőbb HCA, főként magasabb kezelési hőmérsékleteken, az általunk vizsgált vegyületek közül. Ez összhangban áll az irodalmi adatokkal (Iwasaki *et al.* 2010, Puangsombat *et al.* 2012, Jägerstad és Skog 2005). Ez a termikus HCA 2B kategóriájú, lehetséges rákkeltő anyag az IARC listán; következésképpen magas koncentrációja veszélyt jelenthet a fogyasztókra. Aránya a többi HCA-hoz képest különösen a bőrben volt magas. A PhIP-en kívül a pirolitikus aminok, közülük is főként a harman szintje volt magas. A korábbi kísérleteinkhez képest már alacsonyabb hőmérséklet-idő kombinációk esetén is LOQ érték feletti mennyiségben jelentkeztek a csirkemellmintákban. A 150 °C-os sütések esetén egyértelműen uralta a HCA-profil, de még 190 °C-on, sőt, a bőr nélküli sütések belső mintáiban mind a nyitott, mind a zárt sütés esetén 230 °C-5 perc kombinációban is a legmagasabb arányban megfigyelhető amin volt az általunk vizsgált öt vegyület közül. Bár a termikus HCA-ok nem direkt rákkeltőek, csak karcinogének, a ténylegesen rákkeltőnek tekintett aminok (például a PhIP) vagy akár az általunk nem vizsgált PAH-ok tumor iniciátor hatását fokozhatják, bevitelük mindenképpen elkerülendő vagy minimalizálendő.

A mért HCA-koncentrációk toxikológiai jelentőségének értelmezéséhez és az expozíció meghatározásához összegeztük a baromfihús-fogyasztási adatokat, az általunk mért HCA mennyiségeket és a korábbi, állatkísérletek során megfigyelt, 10%-os valószínűséggel rákkeltő hatással bíró határértékeket. Az expozíció kiszámításához az egy főre jutó évi baromfihús-fogyasztási adatokat három országban, az OECD adatai szerint legtöbbször fogyasztó Izraelben és az USA-ban, valamint Magyarországon vettük figyelembe (OECD 2020, KSH 2018). A PhIP esetében, mint a magasabb hőmérséklet-idő kombinációk esetén a leggyakoribb rákkeltő amin, a referencia-dózis, ami 10 %-os valószínűséggel (BMDL10) okoz vastagbél-daganatokat patkányokban 2,72 mg/kg/napra becsülhető és 0,48 mg/kg/nap bevitel a prosztatata daganatokat 10 %-os eséllyel okozó limit. Emlődaganatok kialakulásának vizsgálata esetén a BMDL10 érték 0,74 mg/kg/nap (Carthew *et al.* 2010) Hetven testtömegkilogrammos fogyasztót feltételezve ezek a szintek emberben 189,7 mg/nap, 33,6 mg/nap, illetve 51,8 mg/nap PhIP-nek felelnek meg.

Amint az a 9-12. táblázatokból kitűnik, kísérleteinkben mért legmagasabb PhIP-koncentrációk a csirkemell felületén és belsejében 449,60 ng/g, illetve 19,46 ng/g voltak. Az általunk végzett kísérletek alapján feltételezhető, hogy a felület és a belső részek aránya 1:9, ez átlagosan 62,74 ng/g koncentrációt jelent. Amennyiben feltételezzük, hogy az OECD által megadott átlagosan elfogyasztott csirkehúsmennyiséget a fogyasztók teljes egészében 230 °C-on, 15 percig grillezett csirkemell formájában veszik magukhoz, a becsült napi PhIP-expozíció 11,0, 8,6 és 6,1 µg/nap a három vizsgált országban csak csirkehúsból. A referencia-dózis és a fent bemutatott expozíció alapján az expozíciós határérték (toxikológiai referenciaérték, jelen esetben a BMDL10, és a becsült humán bevitel hányadosa, MOE) értékeket a 17. táblázat mutatja be az egyes ráktípusokra, sütési körülményekre és a fogyasztási adatokra bontva. Általában véve a 10^4 vagy annál magasabb expozíciós határral rendelkező vegyületek - ha az állatkísérletekből származó BMDL10-en alapul, és figyelembe veszi az értelmezés általános bizonytalanságait - közegészségügyi szempontból kevés aggodalomra adnak okot (EFSA 2012). Ennek megfelelően a vastagbél-daganatra vonatkozóan kiszámított MOE kevésbé jelentős lehet; azonban a prosztatata-, és a mellrákkal kapcsolatos MOE aggodalomra adhat okot. Ezen túlmenően a HCA-k mint tumor iniciátorok jelentősen megnövelhetik a szervezet érzékenységét az egyidejűleg jelen lévő egyéb genotoxikus hatások iránt, amelyek megkönnyítik a tumorgenezist. Ezért mennyiségeiket a lehető legalacsonyabb szintre kell csökkenteni (Laczay 2018).

17. táblázat: A zártan, bőr nélkül grillezett csirkemellel potenciálisan felvehető PhIP toxikológiai értékei egyes hőmérséklet-idő kombinációknál

HCA	Grillezés	Ország	Daganat	BMDL10		Baromfihús-fogyasztás		PhIP koncentráció*	Expozíció**	MOE***
				mg/kg/nap	mg/fő	kg/év	g/nap	ng/g	mg/fő/nap	
PhIP	230/15	Izrael	Prosztata	0,48	33,6	64	175	62,47	0,01093	3073
			Emlő	0,74	51,8	64	175	62,47	0,01093	4738
			Vastagbél	2,71	189,7	64	175	62,47	0,01093	17352
		USA	Prosztata	0,48	33,6	50,1	137	62,47	0,00856	3926
			Emlő	0,74	51,8	50,1	137	62,47	0,00856	6053
			Vastagbél	2,71	189,7	50,1	137	62,47	0,00856	22165
		Magyarország	Prosztata	0,48	33,6	35,4	97	62,47	0,00606	5545
			Emlő	0,74	51,8	35,4	97	62,47	0,00606	8548
			Vastagbél	2,71	189,7	35,4	97	62,47	0,00606	31306
	230/10	Izrael	Prosztata	0,48	33,6	64	175	30,27	0,00530	6344
			Emlő	0,74	51,8	64	175	30,27	0,00530	9780
			Vastagbél	2,71	189,7	64	175	30,27	0,00530	35816
		USA	Prosztata	0,48	33,6	50,1	137	30,27	0,00415	8103
			Emlő	0,74	51,8	50,1	137	30,27	0,00415	12493
			Vastagbél	2,71	189,7	50,1	137	30,27	0,00415	45750
		Magyarország	Prosztata	0,48	33,6	35,4	97	30,27	0,00294	11445
			Emlő	0,74	51,8	35,4	97	30,27	0,00294	17644
			Vastagbél	2,71	189,7	35,4	97	30,27	0,00294	64616
	230/5	Izrael	Prosztata	0,48	33,6	64	175	24,62	0,00431	7799
			Emlő	0,74	51,8	64	175	24,62	0,00431	12023
			Vastagbél	2,71	189,7	64	175	24,62	0,00431	44031
		USA	Prosztata	0,48	33,6	50,1	137	24,62	0,00337	9962

			Emlő	0,74	51,8	50,1	137	24,62	0,00337	15358	
			Vastagbél	2,71	189,7	50,1	137	24,62	0,00337	56244	
		Magyarország	Proszтата	0,48	33,6	35,4	97	24,62	0,00239	14070	
			Emlő	0,74	51,8	35,4	97	24,62	0,00239	21691	
			Vastagbél	2,71	189,7	35,4	97	24,62	0,00239	79437	
			Proszтата	0,48	33,6	64	175	2,26	0,00040	84956	
	190/15	Izrael	Emlő	0,74	51,8	64	175	2,26	0,00040	130973	
			Vastagbél	2,71	189,7	64	175	2,26	0,00040	479646	
			Proszтата	0,48	33,6	50,1	137	2,26	0,00031	108520	
		USA	Emlő	0,74	51,8	50,1	137	2,26	0,00031	167302	
			Vastagbél	2,71	189,7	50,1	137	2,26	0,00031	612687	
			Proszтата	0,48	33,6	35,4	97	2,26	0,00022	153271	
		Magyarország	Emlő	0,74	51,8	35,4	97	2,26	0,00022	236292	
			Vastagbél	2,71	189,7	35,4	97	2,26	0,00022	865341	
			Proszтата	0,48	33,6	64	175	0,12	0,000021	1600000	
		150/15	Izrael	Emlő	0,74	51,8	64	175	0,12	0,000021	2466667
				Vastagbél	2,71	189,7	64	175	0,12	0,000021	9033033
				Proszтата	0,48	33,6	50,1	137	0,12	0,000016	2100000
USA	Emlő		0,74	51,8	50,1	137	0,12	0,000016	3237500		
	Vastagbél		2,71	189,7	50,1	137	0,12	0,000016	11856250		
	Proszтата		0,48	33,6	35,4	97	0,12	0,000012	2800000		
Magyarország	Emlő		0,74	51,8	35,4	97	0,12	0,000012	4316667		
	Vastagbél		2,71	189,7	35,4	97	0,12	0,000012	15808333		
	Proszтата		0,48	33,6	35,4	97	0,12	0,000012	15808333		

*1:9 arányban a kéregben és a hús belsejében mért koncentráció

**Baromfihús-fogyasztás/nap (g) x PhIP koncentráció (ng/g) / 1.000.000

***BMDL10 (mg/fő) / expozíció (mg/fő/nap); értéke 10000 alatt közegészségügyi kockázatot jelez

6.2.2. A grillezett csirkemell színének és HCA tartalmának összefüggései

A színelemzés az élelmiszer-előállítás és az élelmiszer-minőség ellenőrzésének fontos része. Ezenkívül a fogyasztók preferenciája nagymértékben függhet az élelmiszerek tényleges színétől. A közelmúltban több kutatás is arra a következtetésre jutott, hogy az élelmiszerek minőségén kívül az élelmiszer-biztonság szempontjából is releváns információval szolgálhat az élelmiszerek színvizsgálata, főleg az oxidációval (Fan *et al.* 2019) vagy hőkezeléssel (Soladoye *et al.* 2017) való összefüggései miatt.

A színmérést a kísérleteink során műszeres és érzékszervi tesztekkel végeztük. A műszeres elemzés elsősorban az L^* , a^* és b^* (fényerő, vörösség és sárgás) paraméterek detektálásával működik, és ezek az eredmények objektívek és további kutatási mérésekhez felhasználhatóak (Buła *et al.* 2019). Az érzékszervi elemzés jobban figyelembe veszi a fogyasztók benyomásait; ezek a tesztek felmérhetik a minta konkrét színét (Tikkanen *et al.* 1996) vagy csak annak elfogadhatóságát (hedonikus szenzoros teszt) (Gibis és Weiss, 2010) Vizsgálatainkhoz megfelelőbbnek találtuk a konkrét szenzoros színmeghatározást, és ezt ötvöztük a műszeres méréssel, melyek kombinációjával a szubjektív-objektív színmérést egymással és a minta HCA-tartalmával is összehasonlíthatóvá tettük.

A színmérés értékelése így három formában zajlott: érzékszervi – műszeres, érzékszervi – toxikológiai, műszeres – toxikológiai.

Az érzékszervi és a műszeres színmérés összevetésekor korrelációs kapcsolatot kerestünk a vizsgálatban részt vevő válaszadók által adott pontozás és a színmérő műszer által kapott értékek között. Az érzékszervi bírálatához alkalmazott színdefiníciós skála az Anyag és Módszer fejezet 4.2.5.2. pontjában található. Ez alapján a skála főként a minta az aranybarna árnyalatait értelmezte. A műszeres mérés L^* és a^* paraméterei többnyire nagyon erős kapcsolatot mutattak az érzékszervi pontozással. Az L^* esetén pozitív korrelációt tapasztalhattunk, a korrelációs együttható (R) bőr nélküli zárt sütésnél 0,94, bőrös zárt sütésnél 0,86, bőr nélküli nyitott sütésnél pedig 0,96 értéket vett fel, ez szignifikáns összefüggést ($p < 0,05$) jelez mindhárom esetben. Az a^* értékek negatív korrelációban álltak az érzékszervi pontrendszerével, zárt sütéseknél bőr nélkül -0,94, míg a bőrös minták esetén -0,91; nyitott grillezésnél a bőr nélküli mintáknál -0,93 értékeket mutatott, szintén szignifikáns összefüggést jelezve. Ezekből az eredményekből arra következtethetünk, hogy a hús színváltozása a sütés során főként a világosság és a vörösség skálán változik és ezeket a változásokat az emberi szem is hasonlóan érzékeli. A nyitott bőrös sütések esetén viszont semmilyen korrelációt nem találtunk az érzékszervi és a műszeres értékek között, ahogyan a b^* paraméter változásai sem mozogtak együtt az érzékszervi bírálat pontértékeivel.

A HCA-tartalom és a színelemzés eredménye közötti kapcsolat feltételezésénél az érzékszervi teszt a legmagasabb pontszámot és a legerősebb korrelációt mutatta a mért HCA-tartalommal, amelyet az L^* és az a^* értékek követtek. Buła et al. (2019) erős exponenciális kapcsolatot talált a 7,8-MelQx és a b^* érték között. Ez a megfigyelés eltér a saját eredményeinktől, ahol a b^* korreláció gyengének bizonyult, bár nem ugyanazt a kémiai vegyületet vizsgáltuk. Eredményeink kifejezettebb összefüggést mutattak a HCA-tartalom és az L^* értékek között, mint azt Gibis és Weiss munkája nyomán a marhahústra vonatkozó adatokból látható (2010). Aaslyng és munkatársai (2013), a felület színét öt pontos vizuális skálán értékelték a húsminták fényképei alapján. Annak feltárása érdekében, hogy van-e kapcsolat a HCA-tartalom és a felületi szín között, meghatározták a színhez viszonyított HCA-tartalom százalékos megoszlását. A mért HCA-tartalom és a színváltozás között azonban nem volt értékelhető korreláció. Megállapították viszont, hogy a HCA-tartalom a hús felületének színével összefügg, és főleg a csirke esetében a sötét felületű minták általában több HCA-t tartalmaztak, mint a világosabb részek. Ez a megfigyelés egyezést mutat saját vizsgálataink eredményeivel, bár a mi méréseink alapján korreláció is megállapítható a mért HCA-koncentrációk és a felület színe között az alkalmazott hőmérséklet és a grillezési idő függvényében. A jelen vizsgálatok eredményei alapján a csirkemell felszínének színe hasznos mutatója lehet a különböző hőmérsékleten és időben történő grillezés során képződött HCA-tartalomnak.

Az érzékszervi vizsgálat korrelációs eredményeinek átlaga minden heterociklikus aminnál külön-külön, valamint csoportosítva is (termikus, pirolitikus, össz-HCA) az erős tartományba esett, a legalacsonyabb értéket PhIP esetén mértük (-0,70), de pirolitikus aminok esetén -0,81-et ért el. Az egyes sütési beállítások értékelése során a zárt grillezések esetén megállapítható, hogy az érzékszervi és a toxikológiai eredmények korrelációja a belső réteg HCA-tartalmával áll szorosabb korrelációban (az össz-HCA: bőr nélküli -0,70, bőrös -0,94), mintsem a kéregével, illetve a bőrével (az össz-HCA: bőr nélküli -0,64, bőrös -0,80). A bőrös minták láthatóan jobban együtt mozogtak az érzékszervi vizsgálatok eredményével, mint a bőr nélküliek. Nyitott grillezés során ilyen jelentős eltérés nem mutatkozott. Az érzékszervi vizsgálat minden esetben valamennyi HCA-nal legalább közepes korrelációt mutatott, a leggyengébb R érték -0,61 volt. Ezek alapján az érzékszervi bírálat egy megbízható eljárásnak tekinthető a HCA-tartalom szemikvantitatív meghatározásában. A nyitott bőrös sütés esetén, ahol az érzékszervi és a műszeres színmérés adatai jelentős eltérést mutattak, eredményeink szerint az érzékszervi bírálat volt pontosabb és erősebb korrelációt mutatott a HCA-tartalommal, mint a műszeres mérés.

A regressziós analízis eredményei közepesen szoros összefüggést ($0,3 < |R| < 0,7$) mutatnak a grillezett csirkemell HCA-tartalma és az L^* és a^* értékek között, ha az össz-HCA korrelációk átlagát tekintjük (L^* 0,60, a^* -0,59), és ugyanebben a tartományban szerepel az összes amin

egyenként, illetve csoportosítva vizsgálva. A műszeres színmérés kifejezetten jól működött a bőrös zárt és a bőr nélküli nyitott sütések esetén, a PhIP-et leszámítva minden aminnal erős korrelációt mutatott mind az L^* , mind az a^* a felszínben/bőrben és a belső rétegben is ($|R|>0,7$). A zárt bőr nélküli sütések főként az L^* -nál gyengébb, de még mindig értékelhető korrelációt mutatott, de nyitott bőrös sütések során kimondható, hogy nem volt korreláció a színértékek és a HCA-tartalom között.

6.3. A különböző hőmérséklet-idő kombinációjú grillezés hatásának vizsgálata a *Salmonella Enteritidis* hőpusztulására

Vizsgálataink eredményei, összhangban az irodalmi adatokkal (Uyttendaele *et al.* 1999) megerősítik a *Salmonella* szerotípusok jelenlétét a kiskereskedelmi forgalomból származó csirkehúsokban. Eredményeink arra utalnak, hogy a gyérítési program tárgyát képező jelentősebb szerotípusok (például *S. Typhimurium*) is potenciálisan megjelenhetnek a baromfihúsban. Ugyanakkor a friss húsban a *Salmonella* kontamináció mértéke többnyire alacsonyabbnak bizonyult, mint a potenciálisan fertőző dózis. Azonban, ha a húst nem tárolják, és nem kezelik megfelelően a háztartásokban, akkor a felszínen megtalálható szalmonellák elszaporodhatnak és megbetegedést okozhatnak.

A húsminta kontaminációs, áztatási ideje (4 és 16 óra) a kontaminált tápoldatban nem okozott szignifikáns különbséget a *Salmonella* kontamináció mértékében. Eredményeink szerint a baktériumok már 4 óra alatt diffundálni képesek a mélyebb szövetekbe is. Ezzel a rendszerrel azt az esetet modelleztük, amikor a marinád összetevői közül akár csak egy is szennyezett szalmonellával (egy szennyezett hússzelet vagy tojás alapú hozzávaló), és a marinálás során a baktérium a hús mélyebb rétegeibe is beszaporodhat.

Vizsgálataink eredményei szerint a grillezés hatékony hőkezelési módszer a *S. Enteritidis* elpusztítására. Ugyanakkor fontos a megfelelő hőmérséklet-idő kombináció megválasztása, mivel ahogy az várható volt, a magasabb hőmérséklet és a hosszabb időtartamú hőkezelés kifejezettebb baktériumpusztulást okoz.

A zárt kontakt grillezés, feltehetően a jobb hőtartás miatt, a baktériumok gyorsabb pusztulását idézte elő. A bőr ugyanakkor hőszigetelő réteget képezhet, amely hosszabb ideig tartja a hőmérsékletet alacsonyabban, és ezáltal elősegítheti a *Salmonella* túlélését a húsban. A bőr nélküli zárt grillezés esetén az összes baktérium már a legkisebb hőmérséklet-idő kombinációban elpusztult.

Ugyanakkor a többi esetben, ahol az elimináció sebessége kiszámítható volt, a görbék meredeksége közötti különbség nem tükrözte teljes mértékben a szakirodalom alapján várt

pusztulási időt (Myhrvold *et al.* 2011). Ez abból is adódhat, hogy a sütőlemez hőmérséklete nem felel meg a maghőmérsékletnek, amely a nem elhanyagolható vastagságú minták esetén ugyancsak befolyásolja baktériumok számának redukcióját. A maghőmérséklet csúcsa nem ér el sokkal magasabb hőmérsékletet, mint a víz forráspontja (az abszolút maximális maghőmérséklet 103 °C volt). Észlelhető volt egy plató-effektus magas hőmérsékleten és / vagy hosszabb időtartamokon, amikor a maghőmérsékleti görbe elérte a „telítettséget”, a *Salmonella* pusztulás sebességében nem voltak megfigyelhetők jelentős különbségek. A bőr jelenléte hőszigetelő hatást fejtett ki: zárt grillezésnél a bőr nélküli és a bőrrel borított minták közötti átlagos maghőmérsékleti különbség 2,5 és 5 percnyi grillezés után 7,2 °C felett volt. A plató eléréséhez közeledve a különbségek csökkentek, 7,5 perc után a különbség 3,7 °C volt, és a szignifikáns differencia eltűnt 10 perc után 190 °C és 230 °C hőmérsékleten.

6.4. A toxikológiai és mikrobiológiai élelmiszer-biztonság, valamint az érzékszervi szempontok együttes értékelése grillezett baromfiús esetén

A mikrobiológiai élelmiszer-biztonság szempontjából a magasabb hőmérséklet-idő kombinációval végzett hőkezelés előnyösebb. Ugyanakkor magasabb hőmérsékleten és hosszabb időn keresztül végzett hőkezelés során megnő a keletkező rákkeltő hatású heterociklikus aminok mennyisége. Saját vizsgálataink során (Pleva *et al.* 2020A, 2020B) hasonló elkészítési módokat alkalmazva magas, egészségre káros mennyiségű károsanyag-szinteket találtunk, különös tekintettel a húsok felületi, kérگی részére. Éppen ezért kiemelten fontos a hőkezelés paramétereinek megfelelő megválasztása. Egy nem megfelelő hőmérséklet-idő kombináció egyidejűleg jelenthet kémiai és mikrobiológiai kockázatot az égett kéreg és a nem kellően átsült belső részek miatt. Az előbbieket mellett figyelemmel kell lennünk a grillezett hús érzékszervi tulajdonságaira is. Korábbi vizsgálataink során ugyanis azt tapasztaltuk (Pleva *et al.* 2020A), hogy a hús színe mind gépi, mind érzékszervi vizsgálat alapján összefüggésbe hozható a heterociklikusamin-tartalommal, így megfelelő tájékoztatással a lakosság körében csökkenthető lehet ezen karcinogének felvétele.

Mindezek alapján a grillezés során a megfelelő hőmérséklet-idő kombináció meghatározásának a mikrobiológiai és a kémiai-toxikológiai szempontok, valamint az érzékszervi jellemzők figyelembevételével kell történnie.

Salmonella mentesség szempontjából, mivel a baktérium az élelmiszerben szaporodni képes lehet, azok a minták tekinthetők biztonságosnak, amelyek teljesen mentesnek bizonyultak a kórokozótól. Ez a feltétel bőr nélküli sütések esetén hamarabb teljesül, zárt sütés esetén minden kombináció elégségesnek bizonyult, míg nyitott sütésnél minden hőmérsékleten legalább 10 perces (oldalankénti) hőkezelés szükséges. Bőrös sütések során a *Salmonella*

nagyobb eséllyel túlélte, zárt, kontakt grillezésnél 190 vagy 230 °C és 15 perc behatási időre volt szükség a baktériumok teljes eliminálásához, nyitott sütésnél csak 230 °C-on sikerült ezt a hatást elérni, 10, illetve 15 perc után.

Ezeket a „mentes” húsmintákat összevetve az élelmiszer-kémiai vizsgálatokhoz felhasznált azonos körülmények között hőkezelt párjaikkal összetettebb képet kaphatunk a grillezés élelmiszer-biztonsági jellemzőiről. A legkisebb össz-HCA mennyiség a mikrobiológiailag biztonságosnak ítélt minták közül a bőr nélküli, zárt sütéssel, 5 percig 150 °C-on grillezett húsokban volt detektálható, 0,85 ng/g a minta belsejében és 2,24 ng/g a kéregben. Ehhez képest az ugyanezen a módon, de 15 percig és 230 °C-on grillezett húsminták belsejében több, mint 30-szor, a kéregben pedig több, mint 300-szor ennyi HCA volt megtalálható. Ezen kívül a 25 ng/g körüli kérgi HCA-koncentráció alatt a bőrnélküli, 150 °C-os nyitott és zárt grillezések mintái voltak 1-2 ng/g belső össz-HCA tartalommal. Jóllehet ezek a minták mind mikrobiológiailag, mind kémiailag a legbiztonságosabbaknak számítottak, az érzékszervi bírálat során többnyire a vizsgálatban részt vevő bírálók a színüket átlagosan az optimális (4-6 pont) sávnál nyersebb árnyalatúnak, kevésbé kívánatosnak ítélték meg. Közülük csak a zártan, 150 °C-on, 15 percig készült hússzeletek értékelése volt a kívánatos tartományon belül (4,6 pont). Ugyanakkor a toxikológiai számítások alapján (17. táblázat) a 190 °C-on 15 percig grillezett minták MOE értéke is a rákkeltők esetén biztonságos tartományon belül maradt (10^5 nagyságrendben), tehát még ez a grillezési mód sem tekinthető közegészségügyi szempontból veszélyesnek. A kémiai biztonság tekintetében ellenpéldaként említett 230 °C-15 perces sütés az érzékszervi színvizsgálat során ugyancsak az optimális sávon kívül szerepelt, 3,4 ponttal már a túlsütés színjegyeit viselte magán, valamint a MOE értéke is a kritikus 10000 alatt szerepeltek prosztata- és mellrák kialakulásának kockázatbecslésénél.

Vizsgálataink eredményei alapján az elektromos grillezés esetén a HCA és a *S. Enteritidis* által modellezett élelmiszer-higiéniái kockázatot a következő szempontok figyelembevételével lehet csökkenteni:

- Bőr nélküli sütés: a bőr védelmet nyújthat a kórokozók számára a hús belsőbb rétegeiben, emellett magasabb hőmérsékleten a kiolvadó zsírok hatására fokozhatja a külsőbb (de nemcsak a felszíni) rétegek hőátvételét, ezzel együtt a HCA-képződést is.
- Alacsonyabb sütési hőmérséklet, hosszabb sütési idő: 150 °C-on még hosszabb sütési idő során, a kérgi rétegben sem figyeltünk meg magas HCA-szinteket, 190 °C-on pedig az átlagolt minták MOE értékei 15 perc után is 10000 alatt maradtak. Ugyanakkor a nyitott, de különösen a bőrös sütés esetén nehéz elérni a *Salmonella* pusztuláshoz szükséges biztonságos maghőmérsékletet. Egyidejűleg az alacsony hőmérsékleten

végzett grillezés során a hús érzékszervi jellemzői sem felelnek meg a fogyasztói elvárásoknak.

- Kontakt grillezés: a HCA-ok keletkezése főként a hús és a sütőlap érintkezési felületén történik, amely nyitott és zárt (kontakt) grillezés esetén is hasonló mértékben fennáll. Ezzel együtt a *Salmonella* pusztulása sokkal inkább a maghőmérséklet függvénye, ami viszont a zárt rendszerben, kisebb környezeti hőveszteség mellett gyorsabban növelhető. A kontakt grill tehát rövidebb idő alatt mikrobiológiailag biztonságosabb termék előállítására képes. Ezzel párhuzamosan nem találtunk szignifikáns különbséget az azonos körülmények között grillezett zárt-nyitott párosítások között a bennük keletkezett HCA-mennyiség tekintetében. Ennek oka feltehetően két tényezőtől adódhat össze, egyrészt a sütőlap hőmérsékletét a nyílt sütés sem csökkenti jelentősen, valamint a minták összességében kétszer annyi időt töltöttek a sütőlapon (zárt minták esetén a két oldal egyszerre kapta a hőkezelést, nyitotknál külön-külön).
- Színváltozás: Az érzékszervi színvizsgálat eredményei a méréseink szerint erős korrelációt mutatott a mintáink HCA-tartalmával. Ezért a fogyasztók a grillezett hús színéből következtethetnek az abban található rákkeltő aminok mennyiségére. Ezért fontos felhívni a lakosság figyelmét arra, hogy a túlsütés milyen veszélyeket rejt magában, valamint arra, hogy ez a veszély érzékszervileg felismerhető.

Kutatásaink eredményei alapján amennyiben csak a heterociklikus aminok keletkezését tekintjük, a hosszabb ideig tartó (15 perc), de alacsony (150 °C) hőmérsékletű kontakt grillezés jellemzően kevesebb rákkeltő vegyület keletkezik, mint magasabb hőmérsékleten akár rövidebb ideig tartó behatás következtében. Ugyanakkor az érzékszervi jellemzőket és a *Salmonella* pusztulás mértékét is figyelembe véve >150 - ≤190 °C hőkezelés szükséges 10 – 15 perc időtartamig a kellő hatás eléréséhez. A vizsgált 190 °C hőmérsékleten 10, illetve 15 percig tartó grillezés nyitott és zárt körülmények között is megfelelő érzékszervi jellemzőket és *Salmonella* pusztulást biztosít, miközben a heterociklikus aminok képződése mérsékelt marad. Amennyiben a grillezési hőmérsékletet 230 °C-ra emeljük, az számottevően növeli a rákkeltő vegyületek keletkezését. Mivel a hús színének változása, mindenekeelőtt a vöröses-barnás jelleg intenzívebbé válása szoros korrelációt mutat az abban keletkező heterociklikus aminok koncentrációjával, ezért a grillezés során a színváltozás figyelemmel kísérésével, azaz a grillezés időtartamának pontosításával jelentősen csökkenthetjük a rákkeltő aminok képződését. Fokozott figyelmet kell fordítani a bőrös részek grillezésére, minthogy a bőrben általában több genotoxikus anyag keletkezik. A bőr jelenléte egyúttal csökkenti a baktériumpusztulás mértékét is, amit a grillezés hőmérséklet-idő paramétereinek kiválasztásánál ugyancsak figyelembe kell venni.

Eredményeink megerősítik az élelmiszerlánc-biztonsági szakértők körében már ismert tendenciát, amely szerint a kémiai és mikrobiológiai élelmiszer-biztonsági tényezők sok esetben egymással ellentétes irányban hatnak. Különösen igaz ez az otthoni sütési-főzési eljárásokra, ahol a hőkezelés kiemelt jelentőségű elkészítési módszernek minősül. Ezen kívül az elkészítési eljárások hőmérséklet-idő paraméterei is korlátlanabban változhatnak, mint egy hatóság által ellenőrzött üzem esetében.

Míg a hőkezelés fokozása elősegíti a kórokozók pusztulását a nyers élelmiszerben, ugyanezen hőhatás rákkeltő vegyületek kialakulását okozhatja, ami élelmiszer-toxikológiai veszélynek teszi ki a fogyasztót.

Kémiai, HCA-méréseink eredményeit összevetve a mikrobiológiai, *Salmonella* pusztulási vizsgálatainkkal negatív korrelációt találtunk a keletkezett karcinogének és a túlélő baktériumok száma között. A bőrös nyitott sütések esetén, ahol a *Salmonella* túlélése a leginkább megfigyelhető volt, a -0,9 alatti R értékek egyértelműen jelzik az erős korrelációt a két érték változása között. Bőr nélküli zárt sütésnél, ahol a korrelációs számítás lehetetlen volt, mert már 150 °C-on 5 perc alatt minden vizsgált baktérium elpusztult, a sütési módszer mikrobiológiai hatékonysága miatt nagyobb hangsúlyt lehet fektetni a kémiai biztonságra. Míg a HCA-ok toxikológiai vizsgálata és a vizsgálatok eredménye országonként nem mutat nagy eltérést (adott körülmények között mindenhol ugyanúgy keletkeznek), addig az élelmiszer eredetű *Salmonella* fertőzések kockázatbecslését torzítják az egyes országok eltérő fertőzöttségi szintjei. Emiatt bár a PhIP toxikológiai kockázatbecslését el tudtuk végezni a hazai baromfifogyasztási adatok ismeretében, ugyanígy a *Salmonella* Enteritidis okozta kockázatot nem tudtuk számszerűsíteni. Ezen rizikófaktorok összevetése további érdekes kutatások tárgya lehet.

7. Új tudományos eredmények

1. Magyarországon elsőként írtuk le a rákkeltő heterociklikus aminok keletkezését befolyásoló alapvető tényezőket baromfihúsban.
2. Elsőként vizsgáltuk egyidejűleg a grillezés hőmérséklet-idő kombinációjának hatását a heterociklikus aminok képződésére, a baromfihús érzékszervi tulajdonságaira és a *Salmonella* pusztulás mértékére.
3. Elsőként vizsgáltuk a korrelációt az érzékszervi vizsgálatok, a műszeres színelemzés és a grillezett baromfihús-minták heterociklikusamin-tartalma között.
4. Elsőként vizsgáltuk a korrelációt a HCA-képződés és a *Salmonella* pusztulás mértéke között különböző körülmények között végzett grillezés során baromfihúsban.

8. Irodalom

AASLYNG M. D., DUEDAHL-OLESEN L., JENSEN K., MEINERT L.: Content of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in pork, beef and chicken barbecued at home by Danish consumers. *Meat Science*, 2013.,93. 1. 85–91.

ÁDÁNY R., V. HAJDÚ P.: A nem fertőző betegségek epidemiológiája. In: ÁDÁNY,R.: Megelőző orvostan és népegészségtan. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2006. 115-204.

ALLEN P. J.: Creatine metabolism and psychiatric disorders: Does creatine supplementation have therapeutic value? *Neurosci Biobehav Rev.*, 2012., 36, 5, 1442–1462

AMIT-ROMACH E., SKLAN D., UNI Z.: Microflora Ecology of the Chicken Intestine Using 16S Ribosomal DNA Primers. *Poultry Science*, 2004., 83, 7, 1093-1098

BARLOW S., SCHLATTER J.: Risk assessment of carcinogens in food. *Review. Tox. Appl. Pharmacol.*2010.,243. 180-190.

BENFORD D.,BOLGER, P. M. ET AL.: Application of the margin of exposure (MOE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic. *Food Chem. Toxicol.*, 2010. 48. S2–S24.

BENFORD D., DINOVI, M., SETZER R. W.: Application of the margin-of-exposure (MOE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic e.g.: Benzo(a)pyrene and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Food Chem. Toxicol.*2010.,48. 542-548.

BOUVARD V., LOOMIS D., GUYTON K. Z., GROSSE Y., EL GHISSASSI F., BENBRAHIM-TALLAA L., GUHA N., MATTOCK H., STRAIF K.: Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology*, 2015., 16. 16. 1599-1600

BUŁA M., PRZYBYLSKI W., JAWORSKA D., KAJAK-SIEMASZKO K.: Formation of heterocyclic aromatic amines in relation to pork quality and heat treatment parameters. *Food Chem.* 2019, 276,511–519.

BUCHHOLZ U., BERNARD H. ET AL.: German Outbreak of Escherichia coli O104:H4 Associated with Sprouts. *New England Journal of Medicine*, 2011. 365. 1763–1770.

DEL CAMPO G., GALLEGO B., BERREGI I., CASADO J. A.: Creatinine, creatine and protein in cooked meat products. *Food Chemistry*, 1998., 63, 2, 187-190

CARTHEW P., DINOVI M., SETZER R. W.: Application of the Margin of Exposure (MOE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic: example: CAS No: 105650-23-5 PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine). *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48 Suppl 1: S98-105.

CENSUS GOVT. INDIA: Sample Registration System Baseline Survey 2014., Retrieved 10 April 2014.

CROSS A. J., SINHA R.: Meat-related mutagens/carcinogens in the etiology of colorectal cancer. *Environmental and molecular mutagenesis*, 2004., 44(1), 44-55.

CSAPÓ J., VARGÁNÉ V. É.: Élelmiszerkémia. Oktatási segédlet a Takarmányozási és takarmánybiztonsági mérnöki, valamint az Állattenyésztő mérnöki (MSc) mesterszak hallgatói számára. Egyetemi jegyzet. Budapest 2011

DOMINGO J. L., NADAL M.: Carcinogenicity of consumption of red meat and processed meat: A review of scientific news since the IARC decision. *Food Chem. Toxicol.* 2017., 105, 256–261.

EFSA SCIENTIFIC COMMITTEE: Statement on the applicability of the margin of exposure approach for the safety assessment of impurities which are both genotoxic and carcinogenic in substances added to food/feed. *EFSA J.*,2012, 10,2578.

ENFÄLT A., HULLBERG A.: Glycogen, Glucose and Glucose-6-Phosphate Content in Fresh and Cooked Meat and Meat Exudate from Carriers and Noncarriers of the Rn– Allele. *J. Muscle Foods*, 2005., 16, 4

EUR-LEX-32006R1177. URL <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32006R1177> (2006)

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. URL <https://www.efsa.europa.eu/en/news/salmonella-most-common-cause-foodborne-outbreaks-european-union> (2019)

EUROSTAT: Causes of death — standardised death rate, EU-28, 2016 (per 100 000 inhabitants) HLTH19-HU, https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Causes_of_death_statistics/hu

EXPONENT: Assessment of the potential human exposure to heterocyclic amines from cooked meat products, *Exponent*, 2009. <http://meatpoultryfoundation.org/namif/wp-content/uploads/07-414.pdf>

FANX.-J.,LIUS.-Z.,LIH.-H.,HEJ.,FENGJ.-T.,ZHANGX.,YANH.:Effects of *Portulaca oleracea* L. extracton lipid oxidation and color of pork meat during refrigerated storage.*Meat Sci.* 2019, 147,82–90.

FOOD SAFETY NEWS. URL <https://www.foodsafetynews.com/2019/03/more-than-130-deaths-in-europe-linked-to-salmonella-in-2016/> (2019)

GERTZ C.: Fundamentals of the frying process. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2014., 116, 6, 669-674.

GIBIS M., WEISS J.: Inhibitory effect of marinades with hibiscus extract on formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of fried beef patties. *Meat Sci.* 2010., 85,735–742.

GIBISM.,LOEFFLERM.:EffectofcreatineandglucoseonFormationofheterocyclicaminesingrilled chickenbreasts.*Foods*2019, 8,616.

GUNDY S.: Kémiai és fizikai tényezők szerepe a daganatok kialakulásában. *Magyar Onkológia*, 2006. 50. 5-18.

HAMM. D.: Amino Acid Composition of Breast and Thigh Meat from Broilers Produced in Four Locations of the United States. *J. Food Science*, 1981., 46, 4, 1122-1124

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER: Evaluation of consumption of red meat and processed meat *IARC Monographs*, 2015., Volume 114

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER: Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–127 *IARC Monographs*, 2020., Volume 1-127

IWASAKI M., KATAOKA H., ISHIHARA J., TAKACHI R., HAMADA G.S., SHARMA S.; LE MARCHAND L., TSUGANE S.: Heterocyclic amines content of meat and fish cooked by Brazilian methods. *J. Food Compos. Anal.*2010, 23, 61–69.

JÄGERSTAD M., SKOG K., ARVIDSSON P., SOLYAKOV. A.: Chemistry, formation and occurance of genotoxic heterocyclic amines identified in model systems and cooked foods. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 1998. 207. 419–427.

JÄGERSTAD M., SKOG K.: Formation of heterocyclic amines using model systems. *Mutat. Res.*, 1991. 259. 219–233

JÄGERSTAD M., SKOG K.: Genotoxicity of heat-processed foods. Review. *Mut.Res.* 2005. 574. 156-172.

JAMIN E. L., RIU A., DOUKI T., DEBRAUWER L., CRAVEDI J., ZALCO D., AUDEBERT M.: Combined genotoxic effects of a polycyclic aromatic hydrocarbon (B(a)P) and a heterocyclic amine (PhIP) in relation to colorectal carcinogenesis. *PLoS One*, 2013. 8. e58591

JÁVOR A., SZIGETI J.: Termékminősítés és Termékhigiéna. Az Agrármérnöki MSc szak tananyagfejlesztése Egyetemi jegyzet, Budapest, 2011

JIAN S.-H., YEH P.-J., WANG C.-H., CHEN H.-C., CHEN S.-F.: Analysis of heterocyclic amines in meat products by liquid chromatography—Tandem mass spectrometry. *J. Food Drug Anal.* 2019, 27, 595–602.

JOHANSSON M. A. E., JÄGERSTAD M.: Influence of pro- and antioxidants on the formation of mutagenic-carcinogenic heterocyclic amines in a model system. *Food. Chem.*, 1996. 56. 69–75.

JOYCE J. A., POLLARD J. W.: Microenvironmental regulation of metastasis. *Nature Reviews Cancer*, 2009. 9. 4. 239-252

KEY T. J., ALLEN N. E., SPENCER E. A., TRAVIS R. C.: The effect of diet on risk of cancer. *The Lancet*, 2002. 360. 9336. 861-868

KHAN M.R., BERTUS L.M., BUSQUETS R., PUIGNOU L.: Mutagenic heterocyclic amine content in thermally processed offal products. *Food Chem.* 2009, 112, 838–843.

KIZIL M., OZ F., BESLER H. T.: A review on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic aromatic amines. *J. Food Process. Technol.*, 2011. 2. 120–124.

KONDJOYAN A., CHEVOLLEAU S., PORTANGUEN S., MOLINA J., IKONIC P., CLERJON S., DEBRAUWER, L.: Relation between crust development and heterocyclic aromatic amine formation when air-roasting a meat cylinder. *Food chemistry*, 2016., 213, 641-646.

KOTHARY M.H., BABU U.S.: Infective Dose of Foodborne Pathogens in Volunteers: A Review. *Journal of Food Safety*, 2001. 21. 49–68.

KSH: STADAT – 4.1.2.1.7. Baromfihúsmérleg (1970–); https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_hosszu/elm07.html (2018)

LACZAY P.: Rákkeltő vegyi anyagok az étel láncban. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2012., 134. 491–503.

LACZAY P.: Élelmiszer-higiéna. Élelmiszerlánc-biztonság. Budapest, A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft, 2018.

LACZAY P., LÁNYI K., LEHEL J., PLEVA D.: A vörös húsok és húskészítmények feldolgozása, előállítása, illetve otthoni sütése, főzése során keletkező rákkeltő anyagok. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2017., 139. 105-116.

VAN LEEUWENEN I. M. M., ZONNEVELD C.: From exposure to effect: a comparison of modelling approaches to chemical carcinogenesis. *Mutat. Res.*, 2001., 489. 17-45.

LEHEL J., LACZAY P.: Toxikológia az ökotoxikológus MSc szak hallgatói számára. Egyetemi jegyzet. Budapest, 2010. 14-26

LEÓN K., MERY D., PEDRESCHI F., LEÓN J.: Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Research International*, 2006., 39, 10, 1084-1091

LOCHT H., MØLBAK K., KROGFELT K.A.: High frequency of reactive joint symptoms after an outbreak of Salmonella enteritidis. *The Journal of Rheumatology*, 2002. 29. 767–771.

MARTINS S.I.F.S., JONGEN W.M.F., VAN BOEKEL M.A.J.S.: A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends Food Sci. Technol.* 2000, 11, 364–373.

MATSUMOTO T., YOSHIDA D., TOMITA H.: Determination of mutagens, amino- α -carbolines in grilled foods and cigarette smoke condensate. *Cancer Lett.*, 1981. 12. 105–110.

MYHRVOLD N., CHRIS Y.: Extended and Simplified 6.5D Salmonella Reduction Table. *Modernist Cuisine: The Art and Science of Cooking*, 2011. 193. 1st ed. Vol. 1.

NAGAOM., HONDAM., SEINOY., YAHAGIT., SUGIMURAT.: Mutagenicities of smoke condensate and the charred surface of fish and meat. *Cancer Lett.* 1977, 2, 221–226.

NÉBIH. URL <https://portal.nebih.gov.hu/-/a-salmonella-esetek-szama-mar-nem-csokkentovabb-az-eu-ban> (2018)

NÉBIH. URL <https://portal.nebih.gov.hu/-/gyorsfagyasztott-zoldsegeket-hiv-vissza-a-nebih> (2018)

OECD: Agricultural output — Meat consumption — OECD Data. Available online:

<http://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm> (accessed on 20 March 2020).

PLEVA D., LÁNYI K., DARNAY L., LACZAY P.: Predictive Correlation between Apparent Sensory Properties and the Formation of Heterocyclic Amines in Chicken Breast as a Function of Grilling Temperature and Time. *Foods*, 2020. 9. 412. 1-16.

PLEVA D., LÁNYI K., MONORI K. D., LACZAY P.: Heterocyclic amine formation in grilled chicken depending on body parts and treatment conditions. *Molecules*, 2020, 25(7), 1547-1556

PLEVA D., DEBRECZENI D., LÁNYI K., MONORI K. D., LACZAY P.: Az aszkorbinsav hatása a rákkeltő heterociklikus aminok keletkezésére grillezett csirkemellben. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2020, 142. 313-319.

POUZOU J. G., COSTARD S., ZAGMUTT F. J.: Probabilistic assessment of dietary exposure to heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons from consumption of meats and breads in the United States. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 114. 361-374

PUANGSOMBAT K., GADGIL P., HOUSER T.A., HUNT M.C., SMITH J.S.: Occurrence of heterocyclic amines in cooked meat products. *Meat Sci.* 2012, 90, 739–746.

QUELHASI.,PETISCAC.,VIEGASO.,MELOA.,PINHOO.,FERREIRAI.M.P.L.V.O.:Effectofgreente amarinaesontheformationofheterocyclicaromaticaminesandsensoryqualityofpan-friedbeef.*Food Chem.* 2010, 122,98–104.

SKOG K., JÄGERSTAD M.: Effects of monosaccharides and disaccharides on the formation of foodmutagens in model systems. *Mutat. Res.*, 1990. 230. 263–272.

SKOG K., JOHANSSON M, JAGERSTA, M.: Carcinogenic heterocyclic amines in cooked foods and model systems – a review on formation and occurrence. *Food Chem. Toxicol.*, 1998. 36. 879–896.

SMITH T., GUILD J.: The C.I.E. colorimetric standards and their use. *Transactions of the Optical Society*, 1931., 33, 3, 73-134

SOLADOYEO.P.,SHANDP.,DUGANM.E.R.,GARIÉPYC.,AALHUSJ.L.,ESTÉVEZM.,JUÁREZ M.:Influenceofcookingmethodsandstoragetimeonlipidandproteinoxidationandheterocyclicaromaticaminesproductioninbacon.*Food Res. Int.* 2017, 99,660–669.

SOUZA X. R., FARIA P. B., BRESSAN M.C.: Proximate Composition and Meat Quality of Broilers Reared under Different Production Systems. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 2011., 13 1 15-20

STEWART J.R., CUNNINGHAM A., ALEXANDER D., SILEN B. A., FENTON C.: Method and apparatus for converting RGB digital data to optimized CMYK digital data. Szabadalom. 1991

STRAKOVÁ E., SUCHÝ P., VITULA F., VEČEREK V.: Differences in the amino acid composition of muscles from pheasant and broiler chickens. *Arch. Anim. Breed.* 2006, 49, 508–514.

SUGIMURA T., WABAKAYASHI K. ET AL.: Heterocyclic amines: mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer Sci.*, 2004. 95. 290–299.

TENGILIMOGLU-METIN M. M., HAMZALIOGLU A., GOKMEN V., KIZIL M.: Inhibitory effect of hawthorn extract on heterocyclic aromatic amine formation in beef and chicken breast meat. *Food Research International*, 201799, 586–595.

THERMOWORKS. URL <https://blog.thermoworks.com/thermometer/grilling-bbqwhats-difference/> (2016)

TIKKANEN L.M., LATVA-KALAK. J., HEINIÖR.-L.: Effect of commercial marinades on the mutagenic activity, sensory quality and amount of heterocyclic amines in chicken grilled under different conditions. *Food Chem. Toxicol.* 1996, 34, 725–730.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE: FNDDS 2015-2016 (SURVEY 782228). *FoodData Central*, 2020

UYTTENDAELE M., DE TROY P., DEBEVERE, J.: Incidence of Salmonella, Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, and Listeria monocytogenes in Poultry Carcasses and Different Types of Poultry Products for Sale on the Belgian Retail Market. *J Food Prot*, 1999. 62. 735–740.

WAKABAYASHI K., USHIYAMA H., TAKAHASHI M., NUKAYA H., KIM S. B., HIROSE M., OCHIAI M., SUGIMURA T., NAGAO M.: Exposure to heterocyclic amines. *Environmental Health Perspectives*, 1993. 99. 129-134

WITTENBERG J. B.: Myoglobin facilitated oxygen diffusion and the role of myoglobin in oxygen entry into muscle. *Physiol. Rev.* 1970., 50, 559-636.

WRIGHT J., THOMAS P., SERJEANT G.R.: Septicemia caused by salmonella infection: An overlooked complication of sickle cell disease. *The Journal of Pediatrics*, 1997. 130. 394–399.

YANG D., HEZ., GAOD., QINF., DENG S., WANG P., XUX., CHEN J., ZENG M.: Effects of smoking or baking procedures during sausage processing on the formation of heterocyclic amines

measured using UPLC-MS/MS. *Food Chem.* 2019, 276,195–201.

ZENG M., ZHANG M., CHEN J., HE Z., QIN F.,HU C., XU H., TAO G., ZHANG S., CHEN J.: UPLC-MS/MS and multivariate analysis of inhibition of heterocyclic amine profiles by black pepper and piperine in roast beef patties. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 2017, 168, 96–106.

ZHANG Z.Y., JIA G.Q., ZUO J.J., ZHANG Y., LEI J., REN L., FENG D.Y.: Effects of constant and cyclic heat stress on muscle metabolism and meat quality of broiler breast fillet and thigh meat. *Poult. Sci.*2012, 91, 2931–2937.

9. A doktori kutatás eredményeinek közlései

9.1. Lektorált, impakt faktorra bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk

LACZAY P., LÁNYI K., LEHEL J., PLEVA D.: A vörös húsok és húskészítmények feldolgozása, előállítás, illetve otthoni sütése, főzése során keletkező rákkeltő anyagok. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2017., 139. 105-116.

LEHEL J., LÁNYI K., PLEVA D., LACZAY P.: Természetes eredetű élelmiszer-összetevők toxikus hatásai. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2018. 140. 239-250.

PLEVA D., LÁNYI K., DARNAY L., LACZAY P.: Predictive Correlation between Apparent Sensory Properties and the Formation of Heterocyclic Amines in Chicken Breast as a Function of Grilling Temperature and Time. *Foods*, 2020. 9. 412. 1-16.

PLEVA D., LÁNYI K., MONORI K. D., LACZAY P.: Heterocyclic amine formation in grilled chicken depending on body parts and treatment conditions. *Molecules*, 2020. 25. 1547-1556

PLEVA D., DEBRECZENI D., LÁNYI K., MONORI K. D., LACZAY P.: Az aszkorbinsav hatása a rákkeltő heterociklikus aminok keletkezésére grillezett csirkemellben. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2020. 142. 313-319.

PLEVA D., SZAKMÁR K., TŐZSÉR D., SWEENEY R., DOMAK A., LACZAY P.: Kiskereskedelmi forgalomban kapható csirkehúsok Salmonella-szennyezettségének és a Salmonella Enteritidis grillezés közbeni hőpusztulásának vizsgálata. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 2020. 142. 681-688.

9.2. Lektorált, impakt faktorra nem bíró tudományos folyóiratban megjelent/elfogadott publikációk

PLEVA, D., LÁNYI, K., OLÁH, B., LACZAY, P.: Study on the Consumers' Habits for Meat Preparation in the Light of Cancer Hazards. *Approaches in Poultry, Dairy & Veterinary Sciences*, 2019. 6. 591-592.

9.3. Konferencia prezentációk

PLEVA D., LACZAY P., LÁNYI K.: Az otthoni sütési-főzési eljárások hatása a baromfiúsok kémiai és mikrobiológiai biztonságára. *Akadémiai beszámolók*, 2017

LEHEL J., ZWILLINGER D., PLEVA D., LACZAY P., BARTHA A., BUDAI P.: „Enni vagy nem enni?” - Környezetszennyező nehézfémek élelmiszer-biztonsági vonatkozásai őzekben. *TOX'2017 Tudományos Konferencia*, Bükkfürdő, 2017

PLEVA D., LACZAY P., LÁNYI K.: Az otthoni sütési-főzési eljárások hatása a baromfihúsok mikrobiológiai biztonságára. *Akadémiai beszámolók*, 2018.

LÁNYI K., DONOHOE S., PLEVA D., LACZAY P.: Red meat and polyaromatic hydrocarbons: a consumers' attitude study in the light of cancer hazards. *SenseAsia 2018 The 3rd Asian Sensory and Consumer Research Symposium*, Kuala Lumpur, Malaysia, 2018.

PLEVA D., LÁNYI K., LEHEL J., DARNAY L., LACZAY P.: Potenciálisan rákkeltő hatású heterociklusos aminok keletkezése grillezett csirkehúsban. *TOX'2018 Tudományos Konferencia*, Lillafüred, 2018.

GREANY S., LÁNYI K., PLEVA D., LACZAY P.: Rákkeltő heterociklusos aminok keletkezése ételajokban és étkezési zsírokban. *TOX'2018 Tudományos Konferencia*, Lillafüred, 2018.

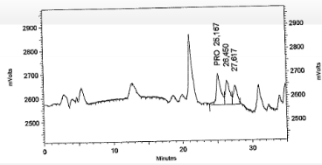
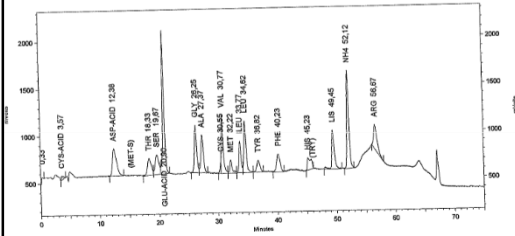
PLEVA D., LÁNYI K., SZAKMÁR K., TÓZSÉR D., LACZAY P.: Grillezett csirkecomb és csirkeszárny minták kémiai és mikrobiológiai változásai különböző sütési hőmérséklet – idő kombinációk hatására, *Akadémiai beszámolók*, 2019.

LÁNYI K., PLEVA D., SZIJJÁRTÓ J., HOPPE C., LACZAY P.: Heterocyclic amine content of vegetable oils after preparing various foods, *Elsevier 2nd Food Chemistry Conference*, Sevilla, Spanyolország, 2019.

PLEVA D., LÁNYI K., LACZAY P.: Heterociklikus aminok képződése grillezett csirkehúsban a testtájék és a hőkezelési körülmények függvényében, *Akadémiai beszámolók*, 2020.

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 1/3 SH
method: C:\2018 Amino\Method\ünus\ünus 13\TAK 06 13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\ünus\ünus 13\TAK 06 13.008
run time: 2018.08.15. 22:00:45
sample amount: 0.1250g



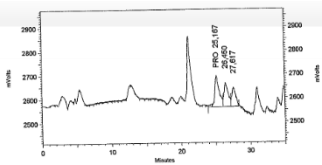
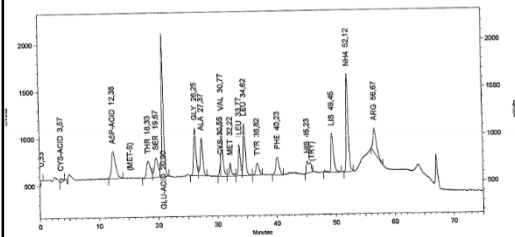
CS 1/3 SH

Detector 570 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration m/m%
ASP-ACID	1504023014	2.08 m/m%
THR	391035795	0.94 m/m%
SER	1394763958	0.81 m/m%
GLU-ACID	2485505918	2.26 m/m%
GLY	1312694472	0.82 m/m%
ALA	1810040181	1.21 m/m%
VAL	1156374401	1.14 m/m%
ILEU	1030440191	1.17 m/m%
LEU	1891725900	1.78 m/m%
TYR	354455208	0.83 m/m%
PHE	845825344	0.91 m/m%
HIS	580542788	0.75 m/m%
LIS	1822924267	2.05 m/m%
ARG	1044573214	1.41 m/m%
Totals	17537960131	18.28

Detector 440 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration m/m%
PRO	411609727	1.05 m/m%
Totals	411609727	1.05

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 2/1 SH
method: C:\2018 Amino\Method\ünus\ünus 13\TAK 06 13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\ünus\ünus 13\TAK 06 13.010
run time: 2018.08.16. 1:03:19
sample amount: 0.1149g



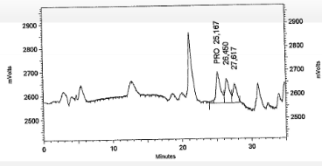
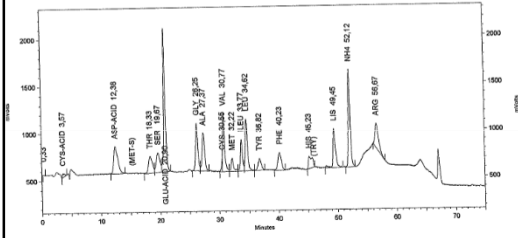
CS 2/1 SH

Detector 570 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration m/m%
ASP-ACID	1831954799	2.17 m/m%
THR	339524570	0.94 m/m%
SER	1190505985	0.80 m/m%
GLU-ACID	2321313514	2.43 m/m%
GLY	1133917585	0.91 m/m%
ALA	1301817096	1.17 m/m%
VAL	1000489143	1.13 m/m%
ILEU	875142721	1.14 m/m%
LEU	1460096961	1.76 m/m%
TYR	487165231	0.82 m/m%
PHE	581658783	0.95 m/m%
HIS	527300982	0.78 m/m%
LIS	1528962278	1.98 m/m%
ARG	918246367	1.42 m/m%
Totals	13348221485	18.98

Detector 440 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration m/m%
PRO	335503485	0.98 m/m%
Totals	335503485	0.98

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLKÉVEL**

sample: CS 2/2 SH
method: C:\2018 Amino\Method\jónius\jónius 13\ITAK 06.13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\jónius\jónius 13\ITAK 06.13.012
run time: 2018.06.16. 3:56:51
sample amount: 0,1287g



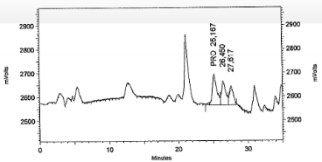
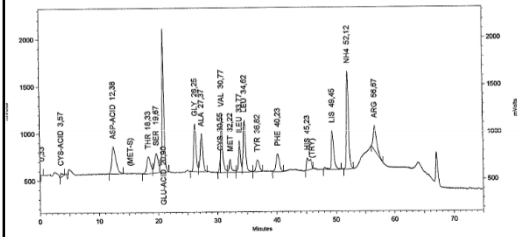
CS 2/2 SH

Detector 570 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration m/m%
ASP-ACID	1824785338	2,96
THR	417361928	0,80
SER	1405003787	2,38
GLU-ACID	2897306013	0,91
GLY	1333069940	1,18
ALA	1616972493	1,12
VAL	1166224475	1,09
ILEU	897073469	1,87
LEU	1636850501	0,75
TYR	534518635	0,90
PHE	855117744	0,82
HIS	658135471	1,99
LIS	1817708924	1,43
ARG	1091327207	
Totals	17847374925	18,08

Detector 440 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration m/m%
PRO	408049729	1,01
Totals	408049729	1,01

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLKÉVEL**

sample: CS 2/3 SH
method: C:\2018 Amino\Method\jónius\jónius 13\ITAK 06.13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\jónius\jónius 13\ITAK 06.13.014
run time: 2018.06.16. 6:50:22
sample amount: 0,1797g



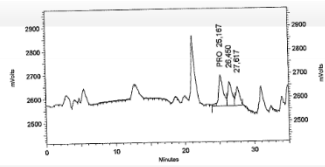
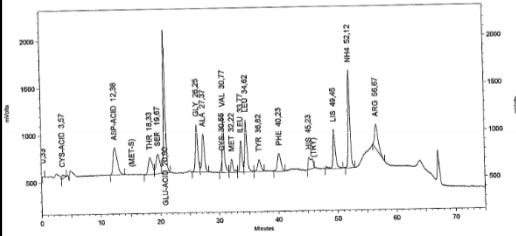
CS 2/3 SH

Detector 570 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration m/m%
ASP-ACID	2454759769	2,02
THR	536034382	0,91
SER	1904425260	0,76
GLU-ACID	3604359790	2,33
GLY	1840328536	0,82
ALA	2202553426	1,19
VAL	1591063453	1,11
ILEU	1345740287	1,09
LEU	2282515809	1,89
TYR	723495813	0,76
PHE	866770857	0,87
HIS	816006996	0,75
LIS	2512863281	2,01
ARG	1517372413	1,45
Totals	24187292852	17,88

Detector 440 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration m/m%
PRO	583512853	1,06
Totals	583512853	1,06

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 3/1 SH
method: C:\2016 Amino\Method\jünius\jünius 13\TAK 06.13.3.met
data: C:\2016 Amino\Data\jünius\jünius 13\TAK 06.13.016
run time: 2018.05.16. 8:43:54
sample amount: 0,1492g



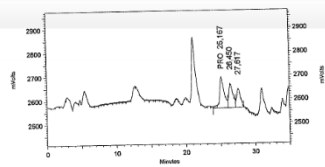
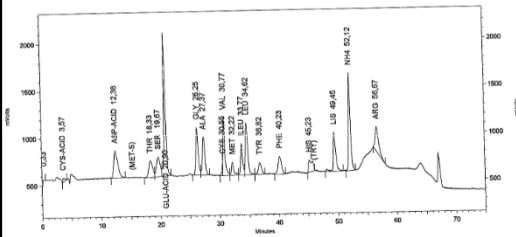
CS 3/1 SH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
ASP-ACID	206936261	2,02	m/m %
THR	491983681	0,98	m/m %
SER	1494078298	0,72	m/m %
GLU-ACID	3075333204	2,93	m/m %
GLY	1489565987	0,87	m/m %
ALA	1946807409	1,22	m/m %
VAL	1262843311	1,06	m/m %
ILEU	1152055304	1,09	m/m %
LEU	1926814143	1,68	m/m %
TYR	630955090	0,77	m/m %
PHE	885253432	0,81	m/m %
HIS	671892169	0,72	m/m %
LIS	2048923384	1,92	m/m %
ARG	1288175547	1,41	m/m %
Totals	20289615300	17,60	

Detector 440 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
PRO	486377749	1,03	m/m%
Totals	486377749	1,03	

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 3/2 SH
method: C:\2016 Amino\Method\jünius\jünius 13\TAK 06.13.3.met
data: C:\2016 Amino\Data\jünius\jünius 13\TAK 06.13.018
run time: 2018.05.16. 12:37:30
sample amount: 0,1359g



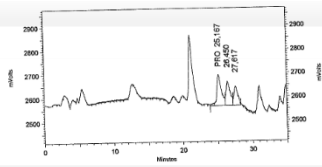
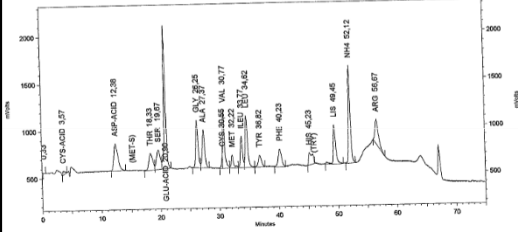
CS 3/2 SH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
ASP-ACID	1931964799	2,17	m/m %
THR	339524570	0,94	m/m %
SER	1190559655	0,80	m/m %
GLU-ACID	2321313514	2,43	m/m %
GLY	1133917585	0,91	m/m %
ALA	1351817089	1,17	m/m %
VAL	1000408143	1,13	m/m %
ILEU	875142721	1,14	m/m %
LEU	1460209961	1,76	m/m %
TYR	457160231	0,82	m/m %
PHE	581658783	0,95	m/m %
HIS	527507032	0,76	m/m %
LIS	1528902278	1,68	m/m %
ARG	918246367	1,42	m/m %
Totals	15346221485	18,36	

Detector 440 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
PRO	335503485	0,98	m/m%
Totals	335503485	0,98	

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLKÉKKEL**

sample: CS 3/3 SH
 method: C:\2018 Amino\Method\jünius\jünius 19\TAK 06.13.3.met
 data: C:\2018 Amino\Batal\jünius\jünius 19\TAK 06.13.020
 run time: 2018.06.18. 15:31:02
 sample amount: 0,1205g



CS 3/3 SH

Detector 570 nm Results

Name	Area	ESTD concentration	m/m%
ASP-ACID	1726517958	2,16	m/m %
THR	324694403	0,80	m/m %
SER	1257421147	0,80	m/m %
GLU-ACID	2365446343	2,35	m/m %
GLY	1159437113	0,91	m/m %
ALA	1458472871	1,21	m/m %
VAL	1063352046	1,14	m/m %
ILEU	919121874	1,14	m/m %
LEU	1474610872	1,69	m/m %
TYR	500842410	0,80	m/m %
PHE	590712335	0,92	m/m %
HIS	567560007	0,80	m/m %
LIS	1667014567	1,97	m/m %
ARG	931663466	1,37	m/m %

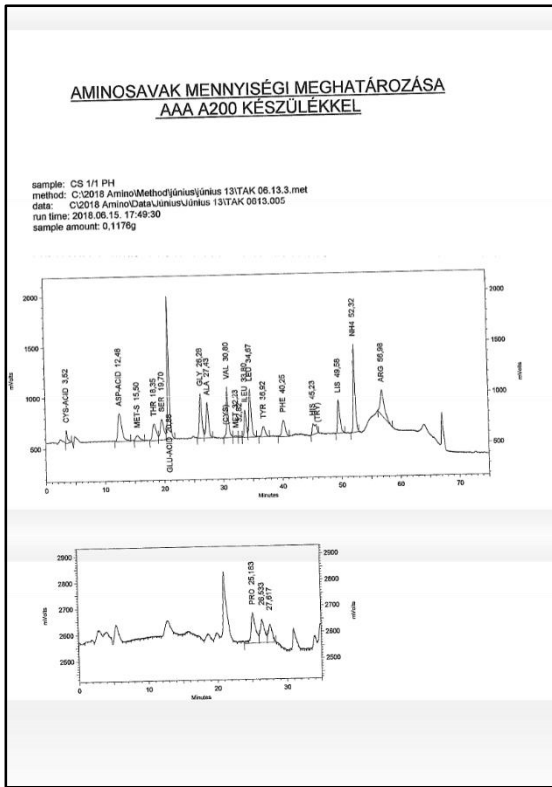
Totals	15974316442	18,14	
--------	-------------	-------	--

Detector 440 nm Results

Name	Area	ESTD concentration	m/m%
PRO	349991283	0,98	m/m%

Totals	349991283	0,98	
--------	-----------	------	--

A perhangyasas oxidációt követő sósavas hidrolízises fehérjeösszetétel-vizsgálat eredménye



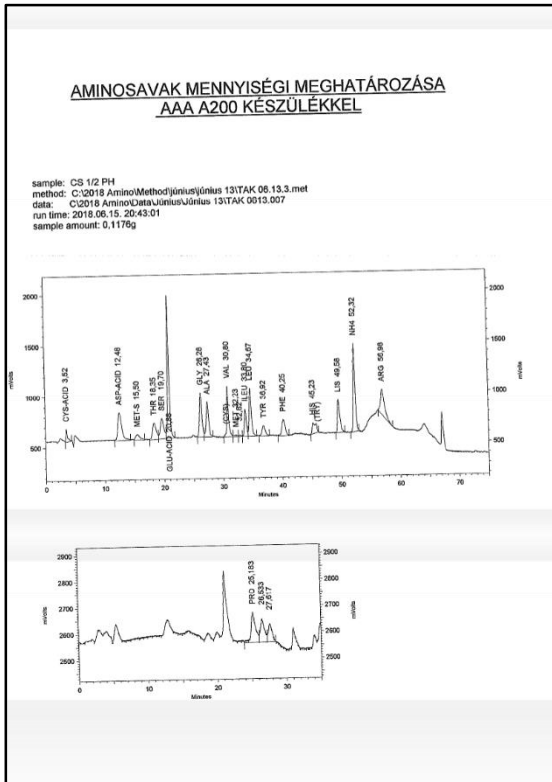
CS 1/1 PH

Detector 570 nm Results

Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	185276087	0.25	m/m %
MET-S	112028042	0.66	m/m %
Totals	297304129	0.92	

Detector 440 nm Results

Name	Area	ESTD concentration	m/m%



CS 1/2 PH

Detector 570 nm Results

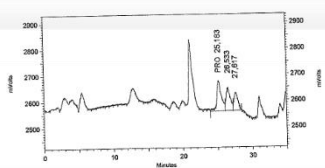
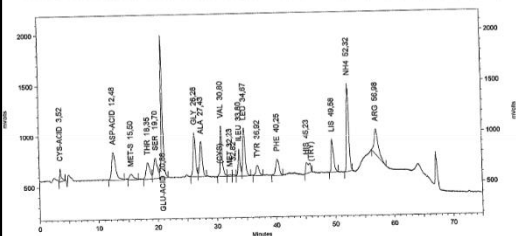
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	149045155	0.23	m/m %
MET-S	95428473	0.65	m/m %
Totals	244473628	0.88	

Detector 440 nm Results

Name	Area	ESTD concentration	m/m%

AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL

sample: CS 1/3 PH
method: C:\2018 Amino\Method\ünus\ünus 13\ITAK 06.13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\ünus\ünus 13\ITAK 0613.009
run time: 2018.06.15. 23:36:35
sample amount: 0,0985g



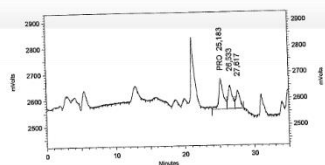
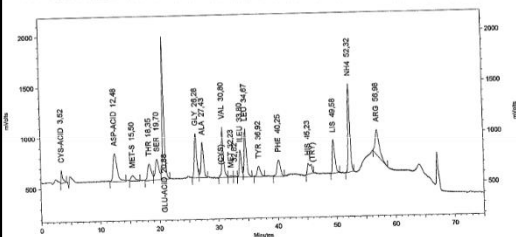
CS 1/3 PH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	187258493	0,25	m/m %
MET-S	119107831	0,65	m/m %
Totals	297366324	0,91	

Detector 440 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration
		m/m%

AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL

sample: CS 2/1 PH
method: C:\2018 Amino\Method\ünus\ünus 13\ITAK 06.13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\ünus\ünus 13\ITAK 0613.011
run time: 2018.06.16. 2:30:05
sample amount: 0,1343g



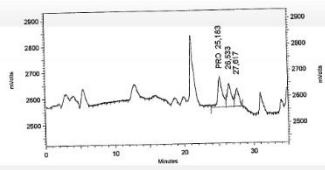
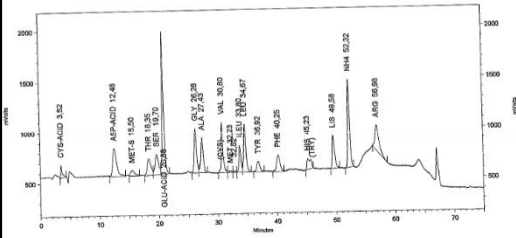
CS 2/1 PH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	172094819	0,24	m/m %
MET-S	104752084	0,65	m/m %
Totals	276846903	0,89	

Detector 440 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration
		m/m%

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 2/2 PH
method: C:\2018 Amino\Method\jónius\jónius 13\ITAK 06.13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\jónius\jónius 13\ITAK 0613.013
run time: 2018.06.16. 5:23:39
sample amount: 0,1195g



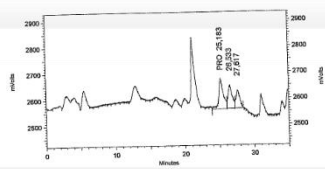
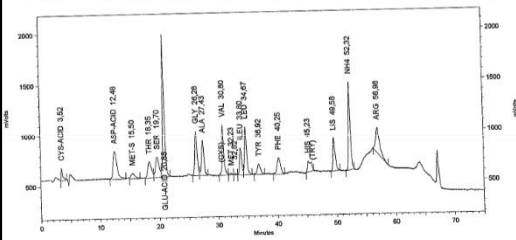
CS 2/2 PH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	152622691	0,24	m/m %
MET-S	96198461	0,65	m/m %
Totals	248821152	0,89	

Detector 440 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration
		m/m%

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 2/3 PH
method: C:\2018 Amino\Method\jónius\jónius 13\ITAK 06.13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\jónius\jónius 13\ITAK 0613.015
run time: 2018.06.16. 8:17:07
sample amount: 0,1284g



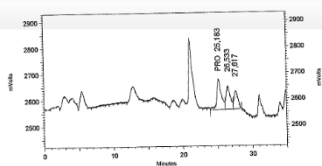
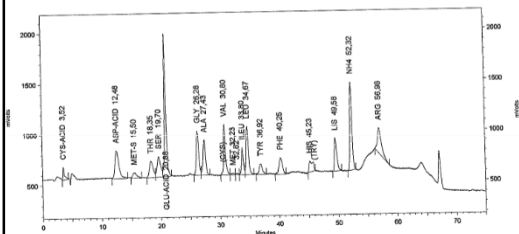
CS 2/3 PH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	156286296	0,23	m/m %
MET-S	102478487	0,64	m/m %
Totals	261764783	0,86	

Detector 440 nm Results		
Name	Area	ESTD concentration
		m/m%

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 3/1 PH
method: C:\2018 Amino\Method\jónius\jónius 13\ITAK 06.13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\jónius\jónius 13\ITAK 0613.017
run time: 2018.06.16. 11:10:43
sample amount: 0,1053g



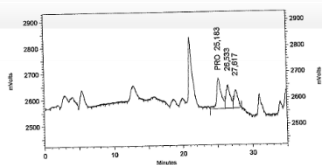
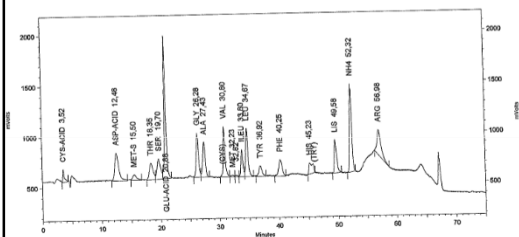
CS 3/1 PH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	199570569	0,26	m/m %
MET-S	116475008	0,88	m/m %
Totals	307145578	0,94	

Detector 440 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 3/2 PH
method: C:\2018 Amino\Method\jónius\jónius 13\ITAK 06.13.3.met
data: C:\2018 Amino\Data\jónius\jónius 13\ITAK 0613.019
run time: 2018.06.16. 14:04:16
sample amount: 0,1357g



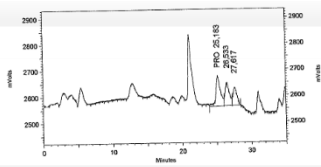
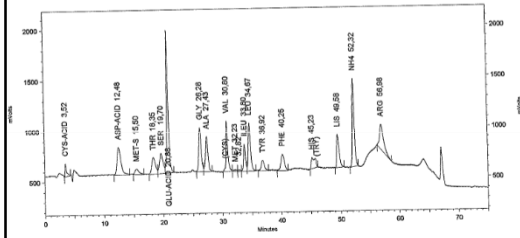
CS 3/2 PH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	131956020	0,23	m/m %
MET-S	85782704	0,65	m/m %
Totals	217718724	0,88	

Detector 440 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%

**AMINOSAVAK MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA
AAA A200 KÉSZÜLÉKKEL**

sample: CS 3/3 PH
 method: C:\2018 Amino\Method\junius\junius 131TAK 08.13.3.met
 date: C:\2018 Amino\Data\junius\junius 131TAK 0813.021
 run time: 2018.05.15 16:57:48
 sample amount: 0.1294g



CS 3/3 PH

Detector 570 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%
CYS-ACID	172184333	0.24	m/m %
MET-S	108315827	0.67	m/m %
Totals	280500160	0.91	

Detector 440 nm Results			
Name	Area	ESTD concentration	m/m%

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm dr. Laczay Péternek, témavezetőmnek a segítséget és türelmet a téma kidolgozásában, a kísérletek szervezésében és a publikációban, nagyon sokat tanultam tőle!

Köszönöm dr. Lányi Katalinnak, társtémavezetőmnek és a Tanszék Élelmiszer-toxikológiai Laboratórium vezetőjének a kémiai vizsgálatok tervezését, levezénylését, adatelemzését, és a gyakran estébe nyúló közös gyakorlati laboratóriumi munkát is!

Köszönöm dr. Szakmár Katalinnak, a Tanszék Élelmiszer-mikrobiológiai Laboratórium vezetőjének a mikrobiológiai kísérletek megtervezésében és megvalósításában nyújtott segítségét!

Köszönöm dr. Darnay Líviának, a Tanszék Élelmiszer-technológiai Laboratórium vezetőjének a technikai segítséget és az élelmiszermérnöki szempontok bevonását a kísérlettervezésbe!

Köszönettel tartozom Miklós Gabriellának, az Élelmiszerlánc-biztonsági Centrum Nonprofit Kft. Székesfehérvári Regionális Élelmiszerlánc Laboratórium vezetőhelyettesének és dr. Hannig Zoltánnak, a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerlánc-biztonsági Laboratórium Igazgatóság Analitikai Nemzeti Referencia Laboratórium vezetőjének a hús kémiai analízisében nyújtott gyors segítségükért!

Köszönöm az Állathigiéniai Tanszék, valamint a Kémiai Tanszék munkatársainak a vegyszerekben és eszközökben nyújtott támogatást és szakmai segítséget!

Kiemelt köszönettel tartozom a Tanszékünk munkatársainak, akik erejükön felül is teljesítve elősegítették ennek a munkának a létrejöttét laboratóriumi munkával, szakmai tudással vagy akár konferenciaszervezéssel! Név szerint kiemelném dr. Lehet Józsefet, dr. Tőzsér Dórát, Domak Adrienn, Lucsányi Georginát, Szita Mónikát és Utasi Tibort, akik nélkül ez az értekezés nem születhetett volna meg!

Köszönöm tudományos diákköri és szakdolgozó hallgatóinknak, Monori Kitti Dórának, Debreczeni Dorinának, Szijjártó Józsefnek, Oláh Boglárkának, Shauna Greaneynek, Carolin Hoppénak, Ronan Sweeneynek és Mong Balázsnak, hogy témarészükön felül is segítettek a kísérletek lebonyolításában és a publikálásban!

Hálásan köszönöm családomnak és barátaimnak a támogatást és az építő kritikát, valamint Tóth Ritának, unokatestvéremnek a statisztikai számításokban, Chris Freemannek pedig az angol fordításban nyújtott segítséget!