

Állatorvostudományi Egyetem

Élelmiszerhigiéniai tanszék

Rákkeltő aromás aminok keletkezése rákhúsfélékben

Készítette: Mong Balázs

Témavezető: Dr. Lányi Katalin

ÁTE, Élelmiszerhigiéniai Tanszék, tudományos főmunkatárs

Budapest

2020.

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke	4
2. Bevezetés	5
3. Irodalmi áttekintés	6
3.1. A heterociklikus aromás aminok	6
3.1.1. Felfedezésüktől napjainkig	6
3.1.2. A heterociklikus aromás aminok keletkezése és hatásai.....	7
3.2. A rákhús összehasonlítása a csirkemellel.....	10
3.3. Rákhús a világban	11
4. Célkitűzések	13
5. Anyag és módszer	14
5.1. Felmérés kérdőívvel	14
5.2. Laboratóriumi vizsgálatok	14
5.2.1. A felhasznált vegyszerek és fogyóeszközök	14
5.2.2. A vizsgált minták.....	14
5.2.3. A minták extrakciója	15
5.2.4. LC-MS/MS vizsgálatok.....	16
5.2.5. Kolorimetriás vizsgálat.....	16
6. Eredmények	17
6.1. A kérdőívek eredményei	17
6.1.1. Demográfia.....	17
6.1.2. Vásárlási és fogyasztási szokások.....	17
6.2. Az LC-MS/MS mérések eredményei	20
6.2.1. A koktélrákok mérési eredményei	20
6.2.2. A garnélarákok mérési eredményei.....	23
6.2.3. A tigrisrákok mérési eredményei.....	25
6.2.4. A mérési eredmények értékelése	26

6.3. A kolorimetriás mérések eredményei	32
7. Következtetések	33
8. Összefoglalás	35
9. Abstract	36
10. Irodalomjegyzék	37
11. Köszönetnyilvánítás, egyéb nyilatkozatok	41

1. Rövidítések jegyzéke

AaC	2-amino-9 <i>H</i> -pirido[2,3- <i>b</i>]indol
AIA	amino-imidazo-azaaren
ENSZ	Egyesült Nemzetek Szervezete
ESI	Electrospray ionization (Elektrospray ionizáció)
Harman	1-metil-9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol
HCA	Heterociklikus aromás amin
IARC	International Agency for Research on Cancer (Nemzetközi Rákkutató Ügynökség)
IQ	2-amino-3-metilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinolin
ISTD	Internal Standard (Belső Standard)
LC-MS/MS	Liquid chromatography–mass spectrometry/ mass spectrometry (Folyadékkromatográfia-tömegspektrometria/ tömegspektrometria)
MeIQ	2-amino-3,4-dimetilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinolin
MeIQx	2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinoxalin
N. D.	not detectable (nem detektálható)
N. Q.	not quantifiable (nem mérhető)
Norharman	9 <i>H</i> -pirido[3,4- <i>b</i>]indol
PhIP	2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5- <i>b</i>]piridin
SPE	Solid Phase Extraction (Szilárd Fázisú Extrakció)
Trp	3-amino-1,4-dimetil-5 <i>H</i> -pirido[4,3- <i>b</i>]indol
US FDA	United States Food and Drug Administration (Amerikai Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatal)
USD	USA dollár
4,8-diMeIQx	2-amino-3,4,8-trimetilimidazo[4,5- <i>f</i>]kinoxalin

2. Bevezetés

„A diéta minden orvosi eszköz között a legelső, mert folytonosan hat, éjjel-nappal, úgy az ébrenlét, mint az alvás idején; s ez a hatás minden étkezéskor felfrissül és úrrá válik a test minden részén.” Jean Anthelme Brillat-Savarin

Élelmiszereink hőkezelésének számos előnyét ismerjük: fokozza a nutricionális minőséget, javítja az emészthetőséget és a szervezet számára elérhetőbbé teszi a szükséges tápanyagokat, meghosszabbítja az eltarthatósági időt, az állagok javításán keresztül fogyasztásukat élvezetessé teszi, valamint elpusztít rengeteg kórokozót is. A modern korra jellemző növekvő életszínvonal életünk sok aspektusában megfigyelhető változást idézett elő, nincs ez másképp az étkezési szokásainkban sem. A modern gasztronómia középpontjában a hús szerepel, megszámlálhatatlanul sok elkészítési móddal és fajtával.

1977-ben egy japán kutató, Takashi Sugimura rákkeltő anyagokat, heterociklikus aromás aminokat mutatott ki, a 150 °C feletti hőmérsékleten hőkezelt húsokban. További kísérletek során 25 ilyen vegyületet sikerült izolálni és megvizsgálni. Általánosan megállapítható, hogy ezek a vegyületek karcinogén és mutagén hatással (Ames/Salmonella-teszttel vizsgálva) is rendelkeznek és hosszú távú kitettség esetén, már ng/g koncentrációban kifejtik hatásukat. Ahogy folynak a további kísérletek, egyre bizonyosabbá válik, hogy a húsfogyasztás rengeteg pozitív hatása mellett, bizonyos elkészítési módok és húsfajták esetében számolni kell az esetlegesen bekövetkező negatív következményekkel is. A téma fontossága miatt egyre szerteágazóbban vizsgálják, hogy milyen faktorok hogyan befolyásolják a karcinogén anyagok keletkezésének mértékét. A kutatások jelen szakaszában, a HCA vegyületek emberi szervezetre kifejtett hatását vizsgálják, valamint azt, hogy milyen reakcióutakon keresztül mekkora mennyiség keletkezik az egyes vegyületekből, adott húsoknál és elkészítési technikáknál. Amikor ezen területekről elég tudásanyag áll rendelkezésünkre, elkezdődhet a kutatások egy új és sokkal fontosabb iránya: hogyan csökkenthetjük vagy akadályozhatjuk meg a HCA vegyületek keletkezését az ételeink elkészítése során.

Jelen kísérletünkben háromféle (tigrisrák *Panaeus monodon*, garnéla *Panaeus vannamei*, koktélrák *Solenocera spp*) rákhús elkészítése során vizsgáltuk, hogy a különböző mértékben megsütött húsokban, milyen típusú és mekkora mennyiségű HCA vegyület keletkezik. A témában készült cikkek és eredmények alapján elmondható, hogy a feltételezhetően keletkező HCA vegyületek mennyiségét többek között jelentősen befolyásolja az, hogy milyen fajú/fajtájú állatból származik az elkészített hús. Eddig még egy elvégzett kísérlet sem vizsgálta, hogy a rákok elkészítése során mekkora mennyiségű és milyen heterociklikus aromás amin keletkezik, így kísérletünk egy új irányból fogja megközelíteni ezt a rendkívül fontos témát.

3. Irodalmi áttekintés

3.1. A heterociklikus aromás aminok

Humán epidemiológiai statisztikák elemzésével és állatkísérletek megfigyelései során az a következtetés vonható le, hogy az elfogyasztott ételmiszer szoros összefüggésben van a rákos megbetegedések kialakulásával (Soladoye et al., 2017). A kimutatások szerint, az emberi rákos megbetegedések egyharmada dietetikus eredetű (Kizil et al., 2011). A vizsgált statisztikák továbbá, szoros összefüggést mutattak a rák kialakulásának kockázata és a gyakori/mindennapos húsfogyasztás között (Soladoye et al., 2017).

3.1.1. Felfedezésüktől napjainkig

1977-ben egy japán kutató, Takashi Sugimura mutatta ki először, hogy a húsokban, hőkezelés hatására karcinogén és mutagén tulajdonságokkal rendelkező vegyületek képződnek, melyeket szerkezetük alapján heterociklikus aromás aminoknak nevezünk. A témában végzett további kutatások során, összesen 25 ilyen vegyületet találtak, melyeket az IARC kivétel nélkül potenciálisan karcinogén hatású vegyületeként tart számon. Ezen vegyületek hatásukat, hosszú távú expozíció esetén már ng/g koncentrációban is kifejtik és a napi bevitelről készült felmérések is igazolják, hogy ez a mennyiség jelen van a mindennapi fogyasztási cikkekben: PhIP 43-110 ng/nap, MeIQx 14-47 ng/nap (Sinha et al., 2000a; Sinha et al., 2000b; Delfino et al., 2000; Sinha et al., 2001; Cantwell et al., 2004; Bouvard et al., 2015a). Ames/Salmonella tesztben már 1978-ban bizonyították mutagén hatásukat (Commoner et al., 1978), továbbá összevetve más mutagén hatással rendelkező anyagokkal - szintén Ames/Salmonella tesztben - az eredmények alapján az aflatoxinhoz képest százszor, míg a benzo[a]pirénhez képest kétezerszer potensebb mutagén hatást mértek (Kizil et al., 2011). Fontos megemlíteni, hogy a genetikai predispozíciónak van a legnagyobb szerepe a dietetikus eredetű rákos megbetegedések kialakulásában, megelőzve a bevitt karcinogén anyagok mennyiségének szempontját. Ezt vizsgálták Alaejos és mtsai. (2008) megfigyelve azt, hogy a HCA vegyületek metabolizmusában szerepet játszó enzimek létrehozásáért felelős gének bizonyos variációi eltérő incidenciát mutatnak a heterociklikus aromás aminok okozta rákos megbetegedések kialakulásának szempontjából (Alaejos et al., 2008).

Ahogy egyre több információ gyűlt össze a HCA vegyületek képződéséről, előfordulásukról a mindennapi ételmiszereinkben, valamint hatásaikról, 2015-ben az IARC októberi közleménye a vörös húsokat a „2A” (valószínűleg humán karcinogén termék) kategóriába sorolta, a fogyasztásuk és a colorectalis, pajzsmirigy és prosztatata rákos

megbetegedései között megállapítható pozitív korreláció miatt. A vörös húsból készült feldolgozott termékeket - mint például a szalámit és a bacont - pedig az 1-es csoportba (humán karcinogén termék) helyezi, mivel elegendő bizonyítékot találtak fogyasztásuk és a gyomor, valamint a colorectum rákos megbetegedésének kialakulása között (Bouvard et al., 2015b).

3.1.2. A heterociklikus aromás aminok keletkezése és hatásai

A HCA-k keletkezését húsban számos tényező befolyásolja: Skog és mtsai. (1998) és Kizil és mtsai. (2011) által végzett kísérletek rámutattak, hogy szoros összefüggés van a húsok elkészítési hőmérséklete, a hőközlés technikája és ideje, a húsból jelenlévő aminosavak és más prekursor vegyületek jelenléte, szénhidrátok milyensége, a hús lipid tartalma, a hús pH-ja, a hús nedvességtartalma, vízaktivitása és a húshoz hozzáadott pác vagy egyéb ízfokozó anyagok között (Skog et al., 1998; Kizil et al., 2011). Ezek közül kiemelten fontos az adott hús nedvességtartalma és vízaktivitása, mivel hőközlés hatására a húsból kifelé távozó nedvesség a HCA-k képződéséhez szükséges vegyületeket a hús külső, kérgei része felé szállítja. Ez a jelenség, valamint a hús felületi részében az elkészítés során mérhető magasabb hőmérséklet a magyarázata annak, miért magasabb a HCA-k koncentrációja az elkészült húsok kérgei részében, mint a kéreg alatti részekben.

A heterociklikus aromás aminokat képződésük alapján két fő csoportba soroljuk: aminoimidazo-azaréneket (IQ típusú) és amino-karbolineket (nem IQ-típusú). Az amino-karbolinekre legtöbbször pirolitikus mutagénként hivatkoznak, mivel első kimutatásuk cigarettafüst kondenzátumból, valamint bizonyos pirolizált aminosavakból (triptofán, glutaminsav, lizin, fenil-alanin, ornitin, kreatin) vagy pirolizált fehérjékből (kazein, albumin, glutén, szója globulin) történt (Sugimura, 1997). Az amino-karbolineket felépítésére jellemző egy indol vagy imidazol molekularészhez kötött piridin gyűrű, amihez exociklikus amino- és, egyes esetekben metil-csoport kapcsolódik. Jelen kísérletünkben a béta-karbolineket közé tartozó Harman (1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol) és Norharman (9H-pirido[3,4-b]indol) vegyületek képződését mértük, amelyekből hiányzik az exociklikus amino-csoport, valamint önmagukban nem mutagének az Ames/Salmonella tesztben vizsgálva, ellenben komutagén hatással rendelkeznek (Jägerstad et al., 1998). Ezen anyagok főleg magas hőmérsékleten, 300 °C felett keletkeznek aminosavak és fehérjék pirolízisével, mely reakció során számos más, reaktív melléktermék is képződik (Sugimura et al., 2004). A béta-karbolineket további jellegzetessége, hogy tíz-százszor nagyobb mennyiségben keletkeznek, mint az alfa vagy gamma karbolineket. Korábbi vizsgálatok azt mutatták, hogy a hagyományos, konyhai körülmények között elkészített ételekben (roston készült húsok, sült húsok, grillezett húsok, levesben felhasznált húsok), már 100-225 °C-on,

10-120 perc hőkezelés után kimutathatóak voltak ezek a vegyületek (Johansson et al., 1995). Az amino-karbolin vegyületek különlegessége, hogy nem szükséges kreatin vagy kreatinin prekursor a képződésükhöz, így zöldség eredetű fehérjékből is keletkezhetnek olyan konyhai folyamatok során, mely hőközléssel járnak (Jägerstad et al., 1998). A Béta-karbolinek közé tartozó harman és norharman hatását vizsgálva az alábbiakat figyelték meg: emberi szervezetben olyan betegségek jelenlétével hozhatóak összefüggésbe, mint a Parkinson-kór, a tremor, egyes rákos megbetegedések vagy a függőség. A béta-karbolinek endogén úton is képződhetnek a szervezeten belül, azonban számos exogén forrást is azonosítottak az évek során: egyes növényekben (szíriai rutafű, malphigi cserjék, *Symplocos racemosa*), illetve fehérjében gazdag, hőkezelésen átesett ételek, alkoholos italok (sör, bor, égetett szeszek), valamint a dohányfüstben. Dietetikai számítások alapján a napi bevitel a két vegyület esetében: harman 1 µg/ttkg és norharman 4,1 µg/ttkg naponta (Pfau & Skog, 2004).

Az amino-imidazo-azaarének a Maillard-reakció során lejátszódó kondenzációs folyamatok (piridin és pirazin gyökök keletkezése) eredményeként létrejövő vegyületek. A képződésük aminosavak, redukáló cukrok és kreatin/ kreatinin reakciójából, 150-300 °C között történik, mely folyamat végén barna pigmentként jelennek meg a hús állományában (Chiu et al., 1998). Az AIA-k képződéséhez elengedhetetlen kreatin/kreatinin, így főleg húsfélékben számíthatunk a jelenlétükre. A reakció utak, mely ezen anyagok keletkezéséhez vezetnek, azonban többnyire még ismeretlenek előttünk a tudomány jelen állása szerint, hiába már negyvenhárom év telt el felfedezésüktől számítva (Sugimura et al., 2004). A reakció utak felderítéséhez szükséges lenne tudnunk, hogy az adott étel karbolinomját felépítő vegyületek, hogyan, milyen formában vannak jelen a hőkezelés során adott időpontokban. A rövid láncú karbolinokra igaz, hogy ugyanazon vegyület számos eltérő reakció végső termékeként is megjelenhetnek és reaktív tulajdonságaikból adódóan rövid időn belül más vegyületekkel reakcióba lépve felhasználódnak: karonil-amino és karbolin-fenol termékek keletkeznek. Amennyiben ez nem történik meg, gyűrűképződésen és oligomerizáción esnek át ammónia jelenlétében, ezzel heterociklikus gyűrűket létrehozva. A fentiekben leírt reakció út kreatin/kreatinin jelenlétében HCA-k képződéséhez vezet. Amíg azokat a specifikus rövidláncú karbolinokat, amelyek az egyes AIA vegyületek felépítésében vesznek részt, nem sikerül azonosítani, addig nincs rá módunk, hogy ezen vegyületek képződését bármilyen úton-módon szabályozzuk/megakadályozzuk (Zamora & Hidalgo, 2020). Az ide tartozó vegyületeket az IARC részletesen vizsgálta, genotoxikus, illetve mutagén tulajdonságaik alapján különböző kategóriákba rangsorolta őket. A vizsgálatok, melyeket baktérium-, rágsáló- és humán sejt kultúrákkal in vitro és rágsálókön in vivo végeztek, konzekvensen megerősítették ezen

vegyületek negatív hatásait. Az AIA vegyületekben közös a felépítésük alapját adó imidazol gyűrűhöz kapcsolt pirazin vagy piridin gyűrű, a 2-amino-imidazo csoport és egy nitrogénatomhoz kapcsolt metilcsoport. Az alábbiakban a kísérletünkben vizsgált amino-imidazo-azaaréneket fogom ismertetni: **IQ** (2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinolin) először 2002-ben a 'Tenth report on carcinogens'-ben sorolták a 'reasonably anticipated to be a human carcinogen' kategóriába az állatkísérletek során mutatott eredmények alapján. Patkányban, mindkét nemnél orális bevitel során hepatocelluláris carcinoma, vastagbél adenocarcinoma, Zymbal-gland laphám carcinoma alakult ki. A nőstény patkányok esetében továbbá emlő mirigy adenocarcinoma, clitoris mirigy laphám carcinoma, míg hím egyedeknél vékonybél adenocarcinoma, bőr laphám carcinoma volt megfigyelhető. Hím patkányok esetében rectalis beöntés során beadott IQ colon carcinoma és bőr laphám carcinoma, valamint benignus hepatocelluláris adeoma kialakulását segítette elő. Egerekben vizsgálva, szintén orális bevitel során, mindkét nemnél megjelent benignus és malignus hepatocelluláris adenoma, bőr laphám carcinoma, előgyomor papilloma és laphám carcinoma, tüdő adenoma/adenocarcinoma. Újszülött egerek hasüregébe befecskendezett IQ hatására benignus és malignus hepatocelluláris adenoma és carcinoma alakult ki. Humán kísérletek során a mellrák kialakulásának incidenciája nőtt meg. **MeIQ** (2-amino-3H-imidazo [4,5-f] kinolin) egerekben vizsgálva mindkét nemben, orális bevitelt követően, benignus és malignus előgyomor daganat típusok alakultak ki (papilloma, sarcoma, laphám carcinoma), egyes daganat típusok csak a nőnemű egyedekben voltak megfigyelhetők: adenocarcinoma kialakulása a ceacum vagy a colon területén, benignus és malignus máj fibrosarcoma, hepatocelluláris adenoma és carcinoma. Patkányokon végzett kísérletek során mindkét nemben megfigyelhető volt, benignus és malignus colon tumorok (adenoma és adenocarcinoma), szájüregi és Zymbal-gland laphám carcinoma megjelenése, továbbá hím patkányok esetében bőr laphám carcinoma jelent meg. A nőnemű patkány csoport tagjaiban emlőmirigy adenocarcinoma megjelenése volt a legjellemzőbb. A MeIQ-val végzett humán kísérletekben rectalis és colon carcinoma jelent meg az anyag applikációját követően. **MeIQx** (2-amino-3,8-dimetil-imidazo [4,5-f] kinoxalin) orális applikációval, patkányokon és egereken végzett kísérletek eredményei alapján a következő ráktípusok voltak jellemzőek: mindkét faj és nem esetében benignus és malignus máj tumorok (hepatocelluláris adenoma és carcinoma), nőstény egyedeknél: benignus és malignus tüdő adenoma és adenocarcinoma, hím egyedeknél lymphoma és leukémia alakult ki. A patkányoknál nemtől függetlenül Zymbal-gland és faggyúmirigy adenoma, laphám papilloma és carcinoma megjelenését okozta a beadott anyag, hímeknél bőrrák, nőstényeknél clitoris gland laphám carcinoma jelent meg. Újszülött egerekben intraperitoneális applikáció után benignus hepatocellularis adenoma alakult ki.

Humán kísérletekben benignus colon adenomát és tüdő rákot okozott. 3 független kísérlet azonban eltérő következtetéseket vont le: mellrák vonatkozásában kettő kísérlet megerősítette a MeIQx kifejtett hatását, míg egy kísérlet ez ellen szólt. **PhIP** (2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-*b*] piridin) vegyület szájon át történő bejuttatása hím patkányoknál és egérenél mindkét nemben lymphomát váltott ki. Hím patkányokban, prosztatata carcinoma, vékonybél és colon adenocarcinoma, míg nőstényekben, mellrák adenocarcinoma kialakulását vonta maga után. Újszülött hím egerekben intaperitoneális injekcióban a bejuttatott vegyület benignus hepatocellularis adenomát okozott. A humán kísérletek mell és gyomorrák továbbá, benignus colon adenoma megjelenését igazolták (U.S. Department of Health and Human Services, 2016).

Amikor kínai gyorséttermi ételek HCA tartalmát mérték Khan és mtsai. (2019), egyértelműen megállapítható volt, hogy a rákhúst tartalmazó shrimp cake burger-ben található a legkevesebb ilyen típusú káros anyag a mérésben részt vevő egyéb ételek közül, mint például a csirkeszárnyak, csirke falatok vagy a csirkecombok. Az összes HCA értékek ng/g összehasonlításban: shrimp cake burger: 13.17 ± 1.77 , csirkeszárnyak 15.81 ± 2.74 , csirke falatok 19.17 ± 1.23 , csirkecombok: 24.18 ± 3.57 . (Khan et al., 2019)

Az emberi szervezetbe bekerült AIA vegyületek esetén a bevitt mennyiség kis hányada változatlan formában ürül vizelettel, míg a döntő hányada biotranszformáción esik át: az első fázisban a CYP1A2 enzimrendszer oxidálja, majd a második fázisban acetiláció, glükuronizáció, szulfatálás megy végbe. A végtermékek megjelennek a legtöbb testfolyadékban és a szövetekben is. A legreaktívabb metabolitok kovalensen kötődhetnek a DNS-hez vagy fehérjékhez, mely termékek kimutathatóak a DNS-ből, a szövetekből, valamint a vizeletből is a DNS-repair vagy protein degradációt követően (Cuparencu et al., 2019).

3.2. A rákhús összehasonlítása a csirkemellel

Soglia és mtsai. (2016) és Bernard és Bolatito (2016), valamint Puga-lopez és mtsai. (2013) és Khasim és mtsai. (1990) munkái alapján összehasonlítottam a csirkemell és az általunk vizsgált tigrisrák (*Panaeus monodon*) és garnélarák (*Litopenaeus vannamei*), valamint koktélrák (*Solenocera spp.*) összetételét (1. Táblázat) (Khasim et al., 1990; Puga-lopez et al., 2013; Bernard & Bolatito, 2016; Soglia et al., 2016). Az adatok alapján elmondható, hogy az egyes rákok eltérő beltartalmi értékekkel rendelkeznek, továbbá eltérők a csirkemell beltartalmi értékeitől is.

1. Táblázat –A hús összetétele (g/100g hús) saját összeállítás

	csirkemell	tigrisrák	garnéla	koktélrák
nedvesség	74,1	68,2	73,6	78,1
protein	22,8	9,2	20,1	16,7
zsír	0,87	4,67	2,1	1,37
hamu	1,37	3,53	1,32	1,56

3.3. Rákhús a világban

A rákhús fogyasztási szokásairól és népszerűségéről kérdőív segítségével kaptam egy lokális statisztikai képet, azonban globálisan adatokra is szükségem volt, hogy árnyaltabban lássam a rákok dietetikai jelentőségét. Az Európai Unió 2004 május 1-jei, az akkori 15 tagországaról készült statisztikák alapján elmondható, hogy 1995 és 2004 között, jelentősen megnőtt az importált élő vagy feldolgozott rákok (Crustacea) mennyisége: 1995-ben 257 000 tonna, míg 2004-ben már 436 000 tonna volt ez a mennyiség. A legjelentősebb importőr Norvégia mellett Kína és Izland volt (Eurostat, 2004). A következő, 2008-as adatok szerint, az EU-27, hal és tenger gyümölcsei importja évente 4,2%-kal növekedett átlagosan, mely 7 éves időszakot nézve 5 évben növekedést produkált. 2000 és 2007 között a fenti kategóriából kiemelve, a rákok (Crustacea) importja mutatta a legnagyobb növekedést: míg 2004-ben 439 000 tonna volt az importált élő vagy feldolgozott rákok mennyisége, 2007-ben ez az érték 535 000 tonnára nőtt, ami a 2000-es adatokhoz viszonyítva több, mint másfélszeres növekedés az import tekintetében (Eurostat, 2008). A 2000-es évek elején tapasztalható gyors növekedéshez képest, az évtized harmadik harmadában stagnált vagy enyhén csökkent az import mennyisége, feltételezhetően a gazdasági világválság következményeként. A 2007-es adatokhoz képest 2008 és 2009-ben 507 000 tonna, míg 2010-ben 514 000 tonna volt az import mennyiség. A '95-ös adatokhoz képest, az eltelt idő alatt a fő importőr országokban is változás figyelhető meg: Norvégia, Kína, Vietnám (Eurostat, 2011). A fenti adatok alapján elmondható, hogy az Európai Unió nettó importőr rákhús tekintetében, mely a haltermékek és egyéb tenger gyümölcseivel kiegészítve a legnagyobb import értéket képviseli az élelmiszeripari cikkek között az EU-ban.

A FAO globális termelési adatainak alakulása alapján megfigyelhető, hogy a tengeri és partvidéki rákhalászat és belföldi aquakultúrákban megtermelt rákok mennyisége is növekvő tendenciákat mutat 1990 és 2018 között. A tengeri és partvidéki rákhalászat 1990 és 2018 között 1 millió tonna élősúlyról 6 millió tonna élősúlyra nőtt, mely növekedés harmadát 2013-tól számítva produkálta. A belföldi aquakultúrákban megtermelt rákok mennyisége 2000-ig nem

érte el az 1 millió tonnát, azonban 2018-ra már 4 millió tonna fölött van ("State World Fish. Aquac. 2020," 2020). A tigrisrákra és a garnélára vonatkozóan számszerűsített termelési adatok is rendelkezésre állnak. Tigrisrák esetében, 2010-ben 562 893 tonna volt 3 209 208 000 USD értékben, ezzel szemben 2018-ban már 750 605 tonna, 6 294 369 000 USD értékben. A garnélarák adatai: 2010-ben 2 648 541 tonna, 12 418 392 000 USD értékben, 2018-ban 4 966 241 tonna, 30 221 551 000 USD értékben (Aquaculture, 2017).

4. Célkitűzések

A heterociklusos aromás aminok keletkezését a húsekban hőkezelés hatására, már számos húsfélében megvizsgálták, megmérték. Az aktuális irodalomban azonban nem található a rákhúsekkel lefolytatott, azok sütése során keletkező HCA vegyületek méréséről szóló kutatás. A jelen tanulmányban a rákok (garnélarák *Panaeus vannamei*, tigrisrák *Panaeus monodon*, koktélarák *Solenocera spp.*) leggyakrabban alkalmazott elkészítési módját alkalmazva, olajban különböző ideig történő kisütését követően megmértük, hogy a sütés és a sütési idő hatására mekkora mértékben keletkeztek az általunk mért karcinogén és kokarcinogén hatással bíró vegyületek a rákok húzában és a felhasznált olajban. A kísérletben kíváncsiak voltunk, hogy megfigyelhető-e mennyiségi vagy minőségi eltérés a keletkező HCA vegyületekben az idő függvényében, ezzel megállapítva, hogy egészségesebb-e a rákhúsek fogyasztása, mint a többi húsféleségé. A kísérlet során 9 HCA koncentrációját mértük meg: AaC, harman, norharman, Trp, IQ, MeIQ, MeIQx, 4,8-diMeIQx, PhIP.

A sütési folyamatok után az elkészült rákhúsekön kolorimetriás méréseket végeztünk, hogy megvizsgáljuk van-e összefüggés a sütési idő és a sütés során létrejövő színváltozás között.

A kísérlet részeként kérdőív segítségével mértük fel, hogy a magyar gasztronómiában és a magyar fogyasztók mindennapos étrendjében milyen mértékben és hogyan található meg a rákhús. A feltett kérdéseink vonatkoztak többek között az elkészítési módokra, hőmérsékletre, fűszerezésre és a vásárlási szokásokra.

5. Anyag és módszer

5.1. Felmérés kérdőívvel

A Google Űrlapok segítségével egy kérdőívet készítettem, amely 4 szakaszra bontva 23 kérdésből állt. Az első szakasz a demográfiai adatokat gyűjti össze, a további szakaszok a rákhússal kapcsolatosak (fogyasztási és elkészítési szokások, vásárlói magatartás). A kérdőív célja, hogy felmérjem a vásárlási és fogyasztási szokásokat, továbbá, hogy egy tisztább képet kapjak arról, hogy a mai magyar gasztronómiának mennyire képezi részét a rákhús fogyasztása. A kérdőívet több platformon is megosztottam online formában (facebook, email). A kitöltési időszak 2020. augusztus 11. és 2020. szeptember 29. között tartott. A kérdőív az alábbi linken volt elérhető:

https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSdt3DXf_cZoIsli392mO4DWfhsfPe0wK7PAJxNwNhmZ-7OEfQ/viewform

5.2. Laboratóriumi vizsgálatok

5.2.1. A felhasznált vegyszerek és fogyóeszközök

A standard-ok (célvegyületek és a belső standard-ok) a Toronto Research Chemicals-tól kerültek beszerzésre. A 9 célvegyületet 5 belső standard segítségével mértem: ISTD01: koffein, amihez az AaC-t, harman-t, norharman-t és a Trp-t mértük; ISTD02: IQ-D3, amihez az IQ-t mértük; ISTD03: MeIQ-D3, amihez a MeIQ-t mértük; ISTD04: 4,8-diMeIQx-D3, amihez a MeIQx-t és 4,8-diMeIQx-t mértük; ISTD05: PhIP-D3, amihez PhIP-t mértünk. A kalibrációs tartomány 0,2-250 ng/ml volt mindegyik mért vegyületre. A NaOH, hexán, NaCl, etil-acetát, ACN, hangyasav, ammónium-acetát, a VWR International Kft-től került beszerzésre. A szilárd fázisú extrakciós kolonnák (SPE-k) a Gen-Lab Kft-től kerültek beszerzésre: Phenomenex Strata®SI-1Silica (55µm, 70 Å), 500 mg/6 mL silicagel SPE columns; Strata®SI-1Silica (55µm, 70 Å), 500 mg/6 mL silicagel SPE columns. Az LCMS vizet egy SUEZ Environment®Water PurificationSystem (Paris, France) víztisztító rendszerből nyertük.

5.2.2. A vizsgált minták

A kísérlet első lépése a fagyasztott rákok beszerzése volt, amiket a lehető legrövidebb időn belül újra mélyhűtött körülmények között tároltunk felhasználásukig. A sütés megkezdése előtti este a mélyhűtőből egy csepegtető tálcára kerültek, így hűtött környezetben 14-18 óra alatt olvadtak ki.

A kísérlet kezdetekor a hűtőből kivett rákokat kontakt sütőlapon 180 °C-ra melegített

olajban sütöttük ki: az egyes sütési idők 0,5, 1, illetve 2 perc voltak, kivétel tigrisrák esetén, itt a rák mérete miatt 1, 2 és 3 perces sütési időket alkalmaztunk. A sütési kísérletet háromszor ismételtük meg mindegyik időhossz és mindegyik rák esetén, tehát három párhuzamos mérést is végeztünk ezzel megegyezően. A sütési idő alatt folyamatosan mértük az olaj hőmérsékletét. Azt tapasztaltuk, hogy a minta bekerülését követően, az olaj gyorsan veszít a hőmérsékletéből: 155 °C-ra hűlt vissza 8 másodpercen belül, majd 20-30 másodpercet követően melegedett vissza az olaj 170 °C fölé. A sütési idő lejártával a mintákat kiemeltük, papírtörölkőn leitatottuk a felesleges olajat, majd kódokkal ellátott tányérokra helyeztük. A kódok a sütési időket és az adott mérés számát jelölték.

A késsel apróra vágott rákokból reprezentatívan 6-6 g-ot mértünk főzőpoharakba, kivéve koktélrákból, itt 3 g kimérése történt. A mérést OHAUS Explorer EX125M félmikro analitikai mérleggel végeztem négy tizedes pontossággal (tized miligramm). A sütéshez felhasznált olajokból 1-1 ml-t mértünk ki pipettával, mivel ennek jelentősen magasabb a zsírtartalma és nem akartuk túlterhelni az elszappanosítási folyamatot. A bemérés után 30 ml 1M NaOH-oldatot öntöttem a főzőpoharakba, majd a mintákat áttöltöttem csavaros tetejű Erlenmeyer lombikokba. A termosztálható rázógéphez kerültek a minták, amelyben 90 percig 60 fokon 190 rpm sebességgel rázattuk azokat (N-Biotek, NB-205). Ezután a belső standard mixeket adtuk hozzá oldat formájában 100 ng/g rákhús koncentrációnak megfelelően, a mennyiségi mérés pontosságának, megbízhatóságának növelése miatt. A rendszerhez hexánt és konyhasót adtunk. A hexán a mintában eloszlott olajok, zsírok eltávolítását szolgálta, mert ezek zavarták volna a további mintaelőkészítést, rontották volna az extrakció hatékonyságát, a NaCl növelte a vizes fázis polaritását. Az elegyek kihűlése után 10 percig 10 fokon 8000 rpm sebességgel Biofuge Primo R centrifugában megtörtént a minták ülepitése.

5.2.3. A minták extrakciója

A nátrium-hidroxidos húskivonaton, korábban vízzel és NaOH-val kondicionált szilikagél tölteten szilárdfázis extrakciót végeztünk. Vizes mosást követően etil-acetáttal történt az anyagok leoldása, majd az etil-acetáttal képzett oldatot szárazra pároltuk kémcsőben, így kinyerve a számunkra szükséges poláros vegyületeket. A megmaradt nátrium-hidroxidos húskivonaton C18-as szilárd-fázisú extrakciót végeztünk, melynek az előkondicionálása acetonitrillel és NaOH oldattal történt. A szilárd fázis leoldását acetonitrillel végeztük ugyanabba a kémcsőbe, ahova a poláros vegyületek kerültek, majd szárazra párlást követően megkaptuk az apoláros vegyületeket. A kétlépésben végrehajtott szilárdfázisú extrakcióra azért volt szükség, mert az aromás aminok között nagyon eltérő polaritással rendelkező anyagok

vannak, ezért kinyerésük egy munkafázisban nem lehetséges. A kinyert poláros és apoláros vegyületeket 500 µl acetonitrilbe oldottuk vissza, mely oldatot 22 mikronos pórusú fecskendőszűrőn szűrtük át. A kapott végtermék LC-MS/MS vizsgálata során kaptuk meg a minták HCA tartalmát.

5.2.4. LC-MS/MS vizsgálatok

Az előkészítés és extrakciós lépések végén a minták vizsgálatát LC-MS/MS módszerrel végeztük. A kísérlet során Shimadzu LCMS-8030 + HPLC-MS/MS rendszert használtunk, ez egy olyan rendszer, amely kombinálja a folyadékkromatográfia szeparációs és a tömegspektrometria tömegelemzési képességét. A mérésekhez Shimadzu LCMS-8030 HPLC-MS/MS rendszert használtunk. A szeparációhoz alkalmazott kromatográfias oszlop egy Phenomenex Kinetex C18 EVO, 50 x 4,6 mm ID (2,6 µm részecskeméret) kolonna volt; 4 x 2 mm C18 védőkolonnával. Gradiens elúciót használtunk, melyben az 'A' eluens: 50 mM ammónium-acetát vízben (pH=5 ecetsavval), a 'B' eluens: 0,1 % (v/v%) hangyasav acetonitrilben. Az áramlási sebesség: 0,6 mL/min; egy kromatográfias mérés ideje: 4,5 perc volt. Kolonnatér hőmérséklete 30 °C, míg a mintaadagoló hőmérséklete 15 °C volt. Az injektált térfogat 10 µl volt. Az electrospray (ESI) ionforrás pozitív ionizációs módban volt. A multiple reaction monitoring (MRM) átmenetek vizsgálatát alkalmaztuk. A következő paramétereket állítottuk be: Interfész: 4,5 kV, interfész hőmérséklet 250 °C, deszolvációs vonal: 300 °C, hőblokk: 350 °C, detektor feszültség: 1,78 kV, porlasztó gáz (N₂): 3 l/perc, szárító gáz (N₂): 15 l/perc. Ütközési gáz (Ar): 230 kPa.

5.2.5. Kolorimetriás vizsgálat

A kolorimetriás vizsgálathoz Konica Minolta CHROMA METER CHR-400 tristimulus színmérő rendszert használtunk. A berendezés segítségével a nyers és a különböző ideig sütött rákok színét CIELAB értékeket vizsgálva elemeztük: Az L * a fényerőt jellemzi, ahol a 100 érték a tökéletes fehérnek felel meg, míg a 0 érték a teljes feketének; Az a * - a vörösséget jellemzi, minél pozitívabb a kapott érték, annál vörösebb a minta, a negatív érték a zöld színt jellemzi, minél kisebb a kapott érték, annál zöldebb a vizsgált minta; A b * - sárgaság mértékét jellemzi, minél pozitívabb az érték, annál sárgább a minta, a negatív érték a kék színt jelöli, minél kisebb a kapott érték, annál kékebb a minta. Tíz egyedi mérést végeztünk a rákok vizsgálata során azonos külső fényviszonyok mellett.

6. Eredmények

6.1. A kérdőívek eredményei

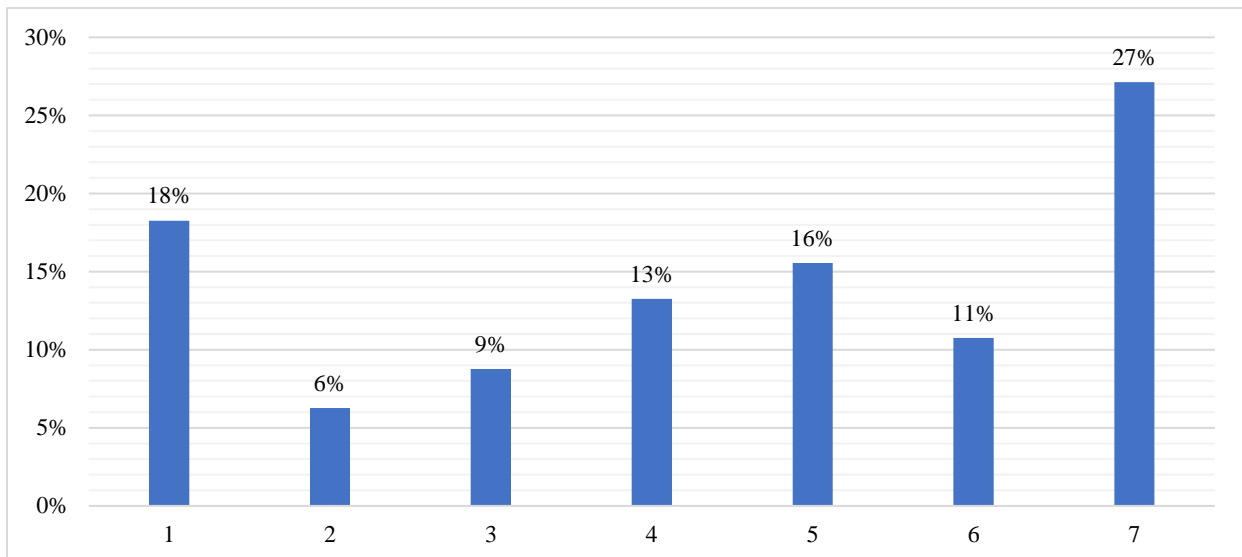
6.1.1. Demográfia

A kérdőív 1,5 hónapig volt elérhető online, ez idő alatt 958 fő töltötte ki. A demográfiai adatok azt mutatják, hogy a legtöbb kitöltő fiatal nő volt. A nemek szerinti eloszlást nézve, a kitöltők 58,6 %-a nő és 41,4%-a férfi volt, míg a korosztályos megoszlást tekintve, a 18-25 év közöttiek (362 kitöltés), 26-40 év közöttiek (314 kitöltés) és a 41-60 közöttiek (225 kitöltés) adták a válaszok 94,1%-át, ez alapján elmondható, hogy a saját korosztályomat sikerült leginkább elérnem a felhívással. Legkevesebben a 75 év fölöttiek töltötték ki (4 kitöltés), őket követte a 18 év alattiak 10 kitöltéssel, majd a 61-75 év közöttiek 43 kitöltéssel. A megkérdezettek többsége gimnáziumi vagy magasabb végzettséget jelölt legmagasabb végzettségének, ezen belül: 29,4% gimnáziumi, 28,6% főiskolai (BSc, BA fokozat), 15,9% egyetemi (MSc, MA fokozat), 1% PhD végzettséget jelölte. Az alacsonyabb végzettségek közül 20,7% volt a szakközépiskola / OKJ-s szakma, 2,5% befejezett 8 általános iskola és 1,9% a szakmunkás / szakiskolai végzettségek aránya.

A megkérdezettek többsége a fővárosban (50,8%), kisebb része megyeszékhelyen/városban (10.000 lakosnál több) (8% és 22,9%), míg kis százalékuk él ennél ritkábban lakott településen, 7,7% faluban és 7,7% 10 000 lakos alatti kisvárosban. Az egy háztartásban élők száma az alábbi megoszlásban szerepelt: egyedül él 9,6%, ketten 39,6%, hárman 21,4%, négyen 17,2%, öten 9,3%, hatan 2,3% és hatnál többen 0,6% élnek egy háztartásban.

6.1.2. Vásárlási és fogyasztási szokások

A válaszadók 1-től 7-es skálán pontozhattak aszerint, hogy mennyire szeretik a rákhúst, ahol az 1-es a semennyire és a 7-es a nagyon opciókat jelentették: a válaszadók többsége kedveli a rákhúst (1. Ábra). A fogyasztás gyakorisága kérdésre adott válaszok alapján, a kitöltők 0,1%-a naponta, 0,7%-a heti 2-4 alkalommal, 1,9%-a hetente egyszer, 8%-a 2-3 hetente, 15,7%-a havonta egyszer, 51,8%-a ritkábban, míg 21,8%-a egyáltalán nem fogyaszt ilyen húst.



1. Ábra – A rákhús kedveltsége

Az ábra a kérdőív kitöltői által adott válaszok alapján készült. Az „1”: egyáltalán nem kedveli és a „7”: nagyon kedveli végpontok között lehetett választani.

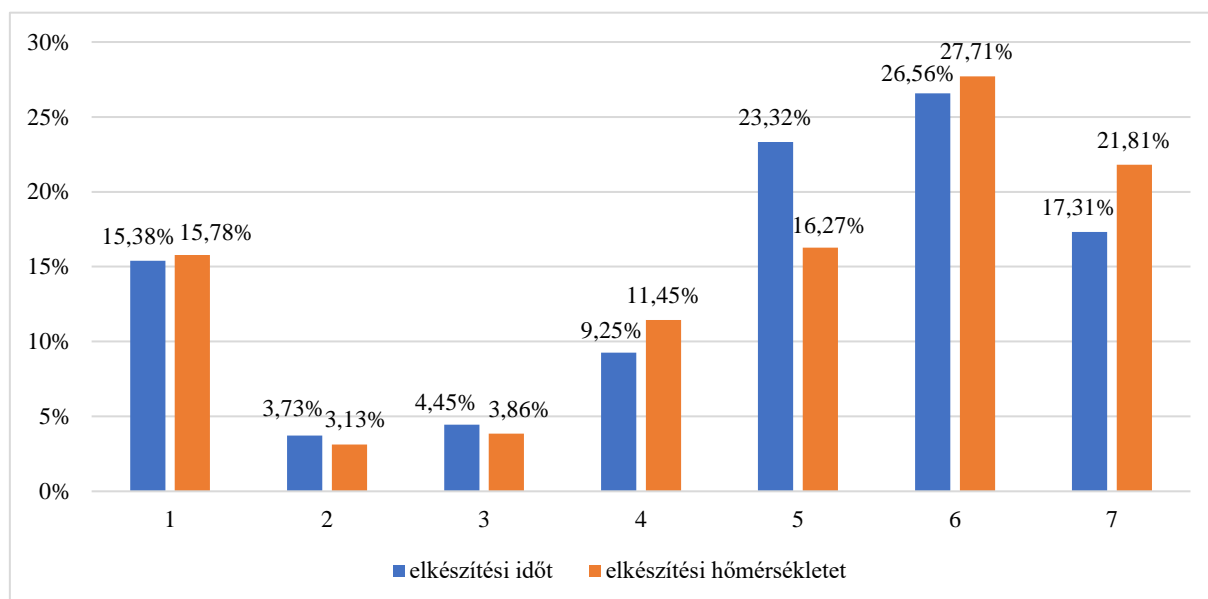
A következő kérdések a vásárlási szokásokra irányultak: gyakoriság szempontjából a legtöbben havi rendszerességnél ritkábban vásárolnak rákhúst, ezt 48% jelölte be. A többi lehetőség eloszlása: heti rendszerességgel 1,5%, 2-3 hetente 6,3%, havonta 11,5% vásárol rákhúst, míg 32,6% egyáltalán nem vásárol ilyen típusú húst. A rákhúst vásárlók többsége, 70 %-a mélyfagyasztott formában veszi meg, míg frissen, előrecsomagolt formában 19,8% és frissen, kimérten 9,9% vásárolja meg a rákhúst. A vásárlás helye szerint, a friss rákhúst főleg hipermarketben (47,5%) szerzik be a válaszadók, míg piacon/vásárcsarnokban 22,8%, élelmiszerboltban 19,9% és hentesnél/szakosodott húsboltban 9,8% vásárolja meg az árut. Mélyfagyasztott formában leginkább hipermarketben és élelmiszerboltban vásárolják meg a rákhúst a válaszadók, a felmérés alapján 92,3%.

A válaszadók, ha nem otthon, sajátkezüleg készítik el, hanem éttermi környezetben vagy házhoz szállítás útján rendelnek rákhúst is tartalmazó ételt akkor az alábbi elkészítési módok a leggyakoribbak: tésztában/tészta körettel 21,3%, padthai vagy egyéb wok ételben 17,2%, salátában 17%, tenger gyümölcsei pizzán 14,1%, rizottóban 11,8%, levesben 8,4%, snack-ként 4,1%, szendvicsben 3,2%, tortillában 2,1%.

Az otthoni elkészítési módok közül, a kitöltők legtöbbször a serpenyőben zsiradék hozzáadásával (69,6%) és főzve (49,2%) esetleg még tepsiben sütőbe rakva (39,3%) készítik el a rákot, míg legritkábban mikrohullámú sütőben (12,3%). Többek között arra is kíváncsiak voltunk, hogy az otthoni főzés/sütés során, a válaszadók mennyire veszik figyelembe a recept kiválasztásakor az elkészítési időt, az elkészítés költségét, a hús milyenségét, illetve az étel

egészségességét. **Elkészítési idő** figyelembevétele: mindig (16,6%), nagyon gyakran (10,9%), gyakran (21,1%), időnként (10,6%), néha (8,3%), nagyon ritkán (3,7%), soha (28,7%). **Elkészítési költség:** mindig (10,4%), nagyon gyakran (10,7%), gyakran (21,7%), időnként (13,1%), néha (6,8%), nagyon ritkán (8,5%), soha (28,9%). **Hús milyensége:** mindig (21%), nagyon gyakran (15,4%), gyakran (19,1%), időnként (8,9%), néha (6,8%), nagyon ritkán (4,5%), soha (24,2%). **Az étel egészségessége:** mindig (18,2%), nagyon gyakran (20,2%), gyakran (19,2%), időnként (9,4%), néha (5,4%), nagyon ritkán (4,4%), soha (23,3%).

A kérdőív arra is rákérdezett, hogy a fogyasztók mennyire tartják be a csomagoláson jelzett elkészítési időt és hőmérsékletet: 1 – egyáltalán nem figyelem, 7 – pontosan mérem (2. Ábra).

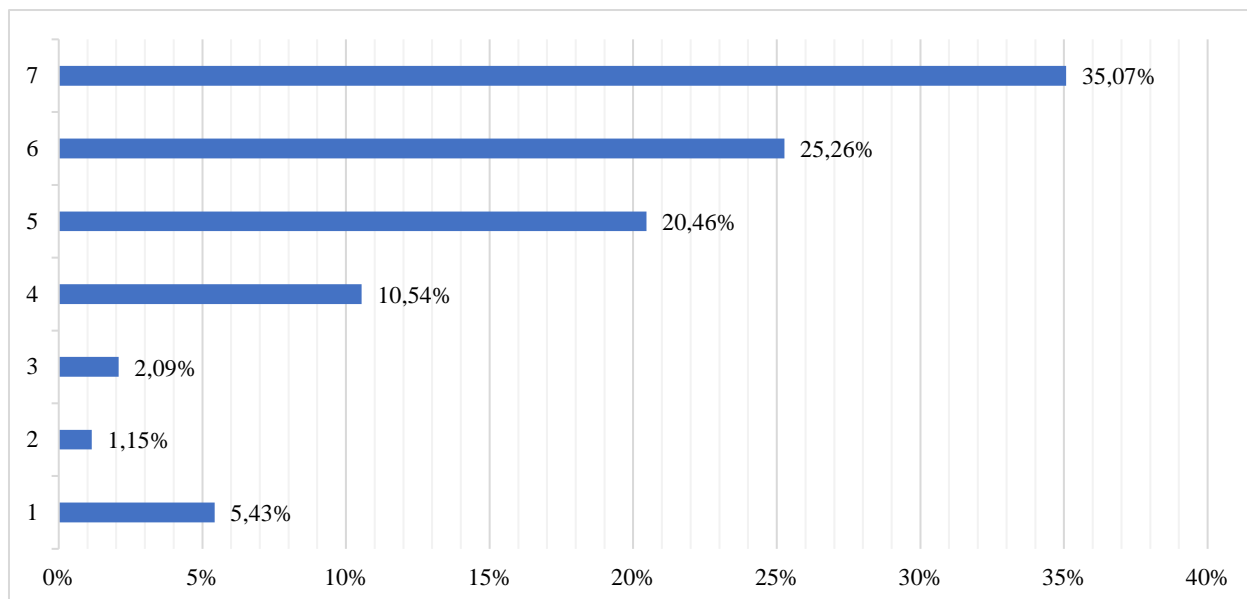


2. Ábra – Elkészítési javaslat betartása

Az „1” – egyáltalán nem figyelem és a „7” – pontosan mérem végpontok között lehetett bejelölni a kitöltőre jellemző értéket.

Az elkészítés során a fogyasztók nagy hányada olívaolajat (60,1%), extraszűz olívaolajat (56,6%) vagy napraforgó olajat (54,3%) használ. Megfigyelhető, hogy azok közül, akik rákhúst sütnek, a túlnyomó többség figyel rá, milyen olajat/zsiradékot használ hozzá. Az elkészítés során leggyakrabban felhasznált fűszerek a következők: fokhagyma (70,7%), bors (68,6%), chili (57,3%), előre gyártott fűszerkeverék (50,7%), bazsalikom (50%).

Végezetül a felmérésben kíváncsiak voltunk, hogy a kitöltők, akár fogyasztanak rákhúst, akár nem, mennyire gondolják, hogy a rákhús fogyasztása egészséges: a válaszadók 1-től 7-ig terjedő skálán pontozhattak, ahol az 1-es a nem egészségest, míg a 7-es a nagyon egészségest jelöli (3. Ábra).



3. Ábra – Vélekedés a rákhús fogyasztásának egészségességéről

Az „1” – nem tartom egészségesnek a rákhús fogyasztását és a „7” – nagyon egészségesnek tartom a rákhús fogyasztását

6.2. Az LC-MS/MS mérések eredményei

A többlépéses, összetett mintaelőkészítés visszanyerési arányai túl széles sávban ingadoztak a nem teljesen egyforma mátrixok miatt, ezért minden egyes mátrixra (koktélrák, garnéla, tigrisrák) saját visszanyerési százalékokat állapítottunk meg, mesterségesen elszennyezett rákhús extrahálásával és mérésével, így az egyes mátrixoknál eltérő LOQ (limit of quantitation) értékeket állapítottunk meg. A sütésre használt olajban, felhasználás előtt egyik vegyület sem volt jelen a mérési határ fölötti mennyiségben. A párhuzamos mintákban kapott koncentrációkból számolt RSD értékek 15%-nál nagyobb eltérést mutattak, ez a sütési szórásból, a mintaelőkészítés folyamatából és a műszeres mérés szórásából tevődik össze, azonban a kapott RSD értékeket elemezve, az elfogadható tartományon belül mozog. A párhuzamos mérések eredményeit az egyes rákoknál kétszélű, kétmintás, egyenlő varianciájú (homoscedasztikus) T-próbával vizsgáltam, hogy megállapítsam, az adatok között van-e szignifikáns különbség. Mind a három mérési sorozat összes párhuzamos mérése $p > 0,05$, így nincs szignifikáns különbség a három párhuzamos kísérlet adatsorai között.

6.2.1. A koktélrákok mérési eredményei

A fél, egy, illetve két percig (tigrisrák esetén 1, 2, 3 perc), 180 °C-os olajban elkészített rákhúsokban (4. Ábra, 6. Ábra, 8. Ábra (29-31. o.)) és a sütéshez használt olajokban (5. Ábra, 7. Ábra, 9. Ábra (29-31. o.)), a tanszék által kidolgozott metodika alapján mértük a harman,

norharman, AaC, Trp, IQ, MeIQ, MeIQx, diMeIQx, PhIP mennyiségeit. A mérés során az egyes vegyületek minimális mérhető mennyiségei: AaC 0,850 ng/g rákhús, harman 0,352 ng/g rákhús, norharman 0,363 ng/g rákhús, Trp 0,385 ng/g rákhús, IQ 1,208 ng/g rákhús, MeIQ 1,223 ng/g rákhús, MeIQx 1,194 ng/g rákhús, diMeIQx 1,146 ng/g rákhús, PhIP 1,111 ng/g rákhús.

A koktélrákok mérési eredményei alapján, a sütés során, a sütési idő hosszától függetlenül nem volt jelen kimutatható mennyiségben sem a húsmintában, sem az olajban: AaC, MeIQ vegyületek. Voltak olyan vegyületek, amelyek a sütést követően, a húsmintákban nem voltak jelen kimutatható mennyiségben, azonban a sütéshez felhasznált olajban megjelentek, ilyen vegyületek a harman, a MeIQx és a PhIP. A diMeIQx viszont, a rákhúsban kimutatható volt, ellenben az olajban nem jelent meg kimutatható mennyiségben a sütési folyamat végeztével.

A kizárólag az olajban mérhető mennyiségben jelen lévő harman, MeIQx és PhIP vegyületek esetében megállapítható, hogy a sütési idő növelésével, a vegyületek mennyisége is növekedett. Érdekesség, hogy a nyers olajból vett mintákban N. Q. mennyiségben volt megtalálható PhIP és MeIQx. A koktélrákok esetében a keletkező karcinogén vagy kokarcinogén vegyületek közül a MeIQx mennyisége volt a legnagyobb a jelen kísérletben mérték közül (2. Táblázat).

2. táblázat – A harman, a MeIQx és a PhIP koncentrációi (ng/g rákhús) koktélrákokban

	HAR	MeIQx	PhIP
nyers olaj	N.D.	N.Q.	N.Q.
olaj; 0,5 perc; 1. kísérlet	N.Q.	5,30	N.Q.
olaj; 0,5 perc; 2. kísérlet	N.Q.	5,38	N.Q.
olaj; 0,5 perc; 3. kísérlet	N.Q.	5,48	N.Q.
olaj; 1 perc; 1. kísérlet	N.Q.	6,07	N.Q.
olaj; 1 perc; 2. kísérlet	N.Q.	6,1	N.Q.
olaj; 1 perc; 3. kísérlet	N.Q.	5,59	1,26
olaj; 2 perc; 1. kísérlet	0,53	6,20	1,40
olaj; 2 perc; 2. kísérlet	0,62	6,66	2,40
olaj; 2 perc; 3. kísérlet	0,40	6,57	1,95
N.Q. = not quantifiable, nem mérhető			
N.D. = not detectable, nem detektálható			

A diMeIQx vegyület az olajban nem, azonban a húsból megjelent a kettő percig sült minta esetében. A három párhuzamos mérés átlagai a következők lettek: 1,661 ng/g rákhús, 1,858 ng/g rákhús, 1,636 ng/g rákhús. A többi olaj és húsminta eredménye N. Q. (nem mérhető).

A norharman, a Trp és az IQ vegyületek mindegyike mérhető mennyiségben jelen volt mind a rákhúsban és a sütéshez felhasznált olajban is. A norharman a rákhúsban először a három párhuzamos mérésből csak egyben jelent meg mérhető mennyiségben egy perc sütési időnél, azonban az összes párhuzamos mintában megjelent kettő perc sütést követően. A Trp esetén a rákhúsban minden sütési időnél megjelent, az olajban viszont csak az 1 perc vagy afeletti sütési időnél volt mérhető.

Összehasonlítva a Trp-t és a norharman-t, a norharman-nál jelen volt kis mennyiség fél perc sütés után az olajban, azonban a Trp esetében N. D. (nem detektálható) értéket kaptunk, azaz nem volt jelen még az olajban, azonban a rákhúsban már keletkezett. Az IQ HCA vegyület minden sütési időtartamon mérhető volt az olajban és a rákhúsban egyaránt, továbbá megállapítható róla, hogy a sütés kezdetétől keletkezik, a sütési idő növelésével enyhén emelkedő tendenciát mutat és a rákhúsban ez a vegyület keletkezik a legnagyobb mennyiségben a jelen kísérletben mérték közül (3. Táblázat).

3. Táblázat – A norharman, a Trp és az IQ koncentrációi (ng/g rákhús) kóktélrákban

rákhús	NOR	Trp	IQ
0,5 perc; 1. kísérlet	N.Q.	0,631	1,459
0,5 perc; 2. kísérlet	N.Q.	0,729	1,607
0,5 perc; 3. kísérlet	N.Q.	0,636	1,652
1 perc; 1. kísérlet	N.Q.	0,965	1,705
1 perc; 2. kísérlet	N.Q.	0,987	1,68
1 perc; 3. kísérlet	0,413	0,873	1,711
2 perc; 1. kísérlet	0,426	1,118	1,843
2 perc; 2. kísérlet	0,431	1,143	1,783
2 perc; 3. kísérlet	0,49	1,313	1,867
nyers olaj	N.D.	N.D.	N.D.
olaj; 0,5 perc; 1. kísérlet	N.Q.	N.D.	1,325
olaj; 0,5 perc; 2. kísérlet	N.Q.	N.D.	1,535
olaj; 0,5 perc; 3. kísérlet	N.Q.	N.Q.	1,357
olaj; 1 perc; 1. kísérlet	0,452	0,866	1,69
olaj; 1 perc; 2. kísérlet	0,447	0,677	1,63
olaj; 1 perc; 3. kísérlet	0,511	0,714	1,613
olaj; 2 perc; 1. kísérlet	0,756	1,148	1,757
olaj; 2 perc; 2. kísérlet	0,616	1,129	2,116
olaj; 2 perc; 3. kísérlet	0,609	1,519	1,796
N.Q. = not quantifiable, nem mérhető			
N.D. = not detectable, nem detektálható			

6.2.2. A garnélarákok mérési eredményei

A mérés során az egyes vegyületek minimális mérhető mennyiségei az alábbiak voltak: AaC 0,929 ng/g rákhús, harman 0,369 ng/g rákhús, norharman 0,381 ng/g rákhús, Trp 0,452 ng/g rákhús, IQ 0,775 ng/g rákhús, MeIQ 0,795 ng/g rákhús, MeIQx 0,838 ng/g rákhús, diMeIQx 0,830 ng/g rákhús, PhIP 0,890 ng/g rákhús.

A garnélarákok mérési eredményei alapján a sütés során, a sütési időtől függetlenül nem voltak jelen kimutatható mennyiségben sem a húsmintában, sem az olajban: az AaC és a Trp vegyületek. Voltak olyan vegyületek, amelyek a húsmintákban nem voltak jelen kimutatható mennyiségben, azonban a sütéshez felhasznált olajban megjelentek, ilyen vegyületek a harman és a norharman. A diMeIQx és a MeIQ HCA-k viszont, a rákhúsban kimutathatóak voltak, ellenben az olajban nem jelentek meg kimutatható mennyiségben.

A harman és a norharman vegyületek csak a sütés során felhasznált olajban jelentek meg mérhető mennyiségben, míg a rákhúsban csak N. Q. értékeket kaptunk a mérési eredményösszesítőben. Mindkét vegyületről elmondható, hogy képződésük a sütési idő növekedésével fokozódik, valamint a sütés elején is jelen vannak számszerűsíthető mennyiségben (4. Táblázat).

4. Táblázat – A harman és a norharman koncentrációi (ng/g olaj) garnélarákban

	HAR	NOR
nyers olaj	N.Q.	N.Q.
olaj; 0,5 perc; 1. kísérlet	0,43	0,43
olaj; 0,5 perc; 2. kísérlet	0,45	0,45
olaj; 0,5 perc; 3. kísérlet	0,42	0,49
olaj; 1 perc; 1. kísérlet	0,75	0,70
olaj; 1 perc; 2. kísérlet	0,84	0,81
olaj; 1 perc; 3. kísérlet	0,81	0,72
olaj; 2 perc; 1. kísérlet	1,01	1,30
olaj; 2 perc; 2. kísérlet	1,18	1,03
olaj; 2 perc; 3. kísérlet	0,97	1,02
N.Q. = nem mérhető		
N.D. = nem detektálható		

A MeIQ és a diMeIQx csak a húsból voltak kimutathatóak, az olajban sütés után nem jelentek meg az LOQ érték fölött, így N. Q. értéket tudunk csak meghatározni. A MeIQ vegyület esetében a fél perces sütési időnél még nem, azonban az egy és a két perces sütésnél már számszerűsíthető mennyiségben keletkezett a hús állományában. Az egyperces értékekhez

képest szinte dupla akkora mértékű HCA vegyület keletkezést figyelhetünk meg a MeIQ értékeit tekintve, valamint hasonló tendencia mutatkozik a diMeIQx tekintetében is (5. Táblázat).

5. Táblázat – a MeIQ és a diMeIQx koncentrációi (ng/g rákhús) garnélarákban

rákhús	MeIQ	diMeIQx
0,5 perc; 1. kísérlet	N.Q.	1,30
0,5 perc; 2. kísérlet	N.Q.	1,20
0,5 perc; 3. kísérlet	N.Q.	1,38
1 perc; 1. kísérlet	1,09	1,50
1 perc; 2. kísérlet	0,93	1,49
1 perc; 3. kísérlet	1,05	1,58
2 perc; 1. kísérlet	2,34	3,11
2 perc; 2. kísérlet	2,29	2,97
2 perc; 3. kísérlet	2,17	3,44
N.Q. = nem mérhető		
N.D. = nem detektálható		

A koktélráknál mért értékekhez hasonlóan, a garnéla esetében is megjelenik mind az olajban, mind a rákhúsban az IQ, azonban a két másik vegyület melyek az előző méréssorozatban kimutathatóak voltak (norharman, Trp) ebben az esetben, a PhIP és a MeIQx voltak. Az IQ-nál elmondható, hogy minden sütési időpontban az LOQ érték fölötti mennyiség mérhető a húsban és az olajban egyaránt. A húsban mért értékek az idő függvényében lassú lineáris emelkedést mutatnak, azonban az olajban mért értékeknél sokkal nagyobb mértékű a keletkezett karcinogén vegyület mennyisége időarányosan tekintve: az olaj esetében exponenciális növekedés figyelhető meg. Összehasonlítva, sokkal nagyobb mennyiségű karcinogén IQ található a sütési olajban, mint a kisütött húsban. Ezzel ellentétes eloszlást látunk a MeIQx esetében. Ennél a vegyületnél a húsban található sokkalta nagyobb mennyiségben a mért vegyület, mint az olajban, azonban hasonlóan az IQ-hoz, ebben az esetben is pontosan mérhető mennyiségben van jelen az anyag az összes mérési időpontban. A PhIP a húsban a fél perces sütési időtől a két perces időtartamig mérhető, azonban az olajban csak az egy perces sütési időtől jeleníthető meg kimutatható mennyiségben. Ebben az esetben a vegyület nem mutat eloszlásában jelentős eltérést a hús és az olaj között (6. Táblázat).

6. Táblázat – Az IQ, a MeIQx és a PhIP koncentrációi (ng/g rákhús, ng/g olaj) garnélarákban

	IQ	MeIQx	PhIP
0,5 perc; 1. kísérlet	1,12	3,47	N.Q.
0,5 perc; 2. kísérlet	1,16	3,29	1,13
0,5 perc; 3. kísérlet	1,12	4,03	1,23
1 perc; 1. kísérlet	1,31	5,67	1,32
1 perc; 2. kísérlet	1,55	5,20	1,26
1 perc; 3. kísérlet	1,55	5,29	1,27
2 perc; 1. kísérlet	1,92	8,15	1,44
2 perc; 2. kísérlet	1,84	8,40	1,45
2 perc; 3. kísérlet	1,89	9,02	1,68
olaj; 0,5 perc; 1. kísérlet	1,41	0,99	N.Q.
olaj; 0,5 perc; 2. kísérlet	1,50	1,01	N.Q.
olaj; 0,5 perc; 3. kísérlet	1,18	1,10	N.Q.
olaj; 1 perc; 1. kísérlet	4,10	1,47	0,93
olaj; 1 perc; 2. kísérlet	4,18	1,60	1,07
olaj; 1 perc; 3. kísérlet	4,78	1,77	1,03
olaj; 2 perc; 1. kísérlet	23,31	2,96	2,36
olaj; 2 perc; 2. kísérlet	22,75	3,13	2,28
olaj; 2 perc; 3. kísérlet	25,00	4,04	2,24
N.Q. = not quantifiable, nem mérhető			
N.D. = not detectable, nem detektálható			

6.2.3. A tigrisrákok mérési eredményei

A mérés során az egyes vegyületek minimális mérhető mennyiségei az alábbiak voltak: AaC 1,044 ng/g rákhús, harman 0,971 ng/g rákhús, norharman 1,171 ng/g rákhús, Trp 0,948 ng/g rákhús, IQ 0,914 ng/g rákhús, MeIQ 1,088 ng/g rákhús, MeIQx 1,163 ng/g rákhús, diMeIQx 0,938 ng/g rákhús, PhIP 0,984 ng/g rákhús.

A tigrisrákok mérési eredményei alapján, a sütés során, a sütési időtől függetlenül nem volt jelen kimutatható mennyiségben sem a húsmintában, sem az olajban: AaC, harman, norharman, Trp, IQ, MeIQ, PhIP. A diMeIQx HCA vegyület viszont, a rákhúsban kimutatható volt, ellenben az olajban nem jelent meg kimutatható mennyiségben.

Kizárólag a rákhúsban mértünk LOQ feletti értékeket diMeIQx-nál. Az idővel arányosan kismértékű növekedés volt megfigyelhető a fél perces sütési időtől a két perces ideig számítva.

A rákhúsban és az olajban is mérhető volt LOQ feletti mértékű MeIQx: a húsrészben a sütési idővel növekedett a mérhető karcinogén anyag mennyisége, azonban az olaj frakcióban csak a két perces sütés esetén jelent meg az azonos időtartamban összevetve töredék mértékű HCA vegyület, mint ami a húsban volt mérhető (7. Táblázat).

7. Táblázat – A MeIQx és a diMeIQx koncentrációi (ng/g rákhús, ng/g olaj) tigrisrákban

rákhús	MeIQx	diMeIQx
1 perc; 1. kísérlet	3,16	1,41
1 perc; 2. kísérlet	3,42	1,42
1 perc; 3. kísérlet	3,06	1,46
2 perc; 1. kísérlet	4,23	1,72
2 perc; 2. kísérlet	4,34	1,97
2 perc; 3. kísérlet	4,42	1,98
3 perc; 1. kísérlet	8,49	2,67
3 perc; 2. kísérlet	7,74	3,71
3 perc; 3. kísérlet	7,16	2,75
olaj; 1 perc; 1. kísérlet	N.Q.	N.Q.
olaj; 1 perc; 2. kísérlet	N.Q.	N.Q.
olaj; 1 perc; 3. kísérlet	N.Q.	N.Q.
olaj; 2 perc; 1. kísérlet	N.Q.	N.Q.
olaj; 2 perc; 2. kísérlet	N.Q.	N.Q.
olaj; 2 perc; 3. kísérlet	N.Q.	N.Q.
olaj; 3 perc; 1. kísérlet	1,41	N.Q.
olaj; 3 perc; 2. kísérlet	1,58	N.Q.
olaj; 3 perc; 3. kísérlet	1,54	N.Q.
N.Q. = nem mérhető		
N.D. = nem detektálható		

6.2.4. A mérési eredmények értékelése

A különböző időkhöz tartozó koncentrációkat összevetve kétszélű, kétmintás, egyenlő varianciájú (homoscedasztikus) T-próbával, megállapítható, hogy az idő faktor befolyásolja-e a vizsgált anyagok keletkezésének mértékét. A **koktélrák** esetében megállapítottam a p-értékek elemzésével, hogy a sütési idő hossza nem befolyásolja jelentősen a norharman, az IQ, a diMeIQx keletkezésének mértékét a rákhúsban, valamint az IQ, a MeIQx és a PhIP megjelenését az olajban ($p > 0,05$). Azonban a sütési idő növelése jelentős változásokat okozott a Trp húsban, valamint a norharman olajban mérhető koncentrációiban ($p < 0,05$). A

garnélarákok adatait vizsgálva, kimutattam, hogy az IQ, MeIQx, diMeIQx keletkezésének mértékét a húspan, továbbá a harman, a norharman, az IQ és a MeIQx megjelenését olajban jelentősen befolyásolja a sütési idő ($p < 0,05$). A PhIP vegyület koncentrációinak vizsgálatával a 0,5 percnél és az 1 percnél mért koncentrációk esetében nem ($p > 0,05$), azonban az 1 perc fölötti sütési időnél jelentős faktor a vizsgált anyagok képződésében az idő ($p < 0,05$). A **tigrisrákok** mérési eredményeit elemezve, azt a következtetést vontam le, hogy a diMeIQx keletkezésének mértékében a sütési idő nem befolyásol jelentősen ($p > 0,05$), azonban a MeIQx keletkezésének mértékében jelentős szerepet játszik 1 perc sütési idő fölött ($p < 0,05$).

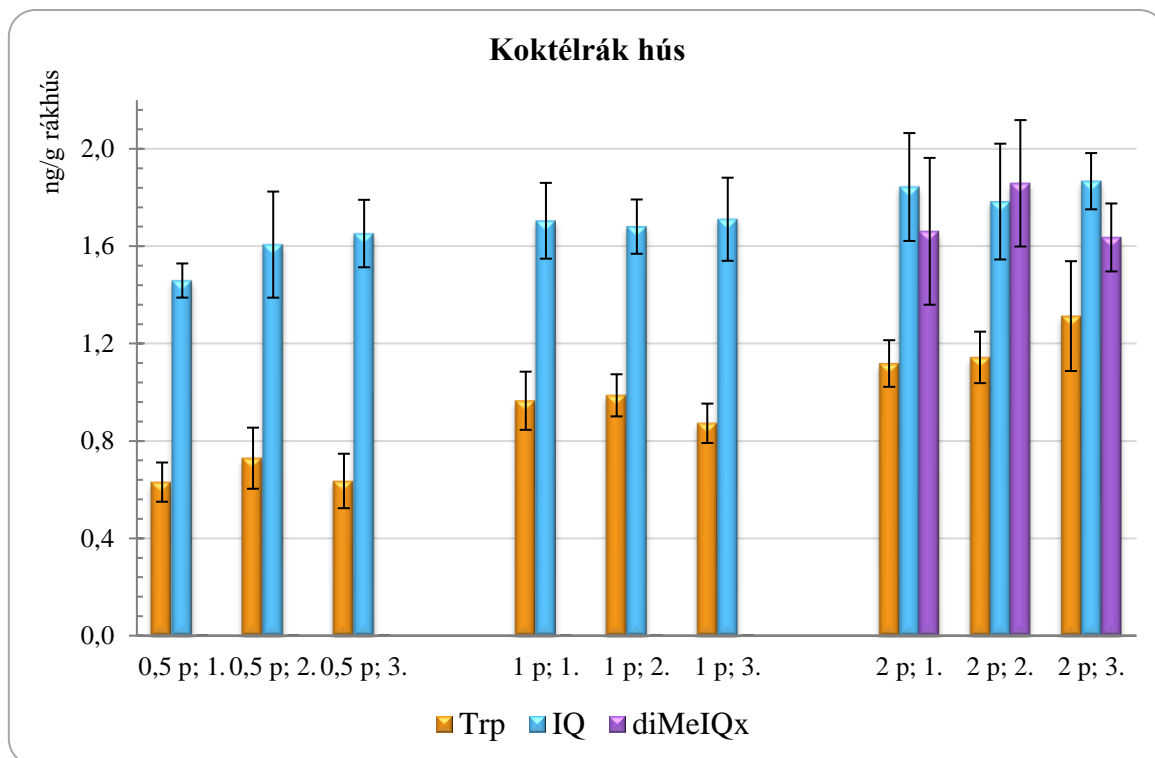
A különböző rákokban eltérő koncentrációkban keletkezik az általunk vizsgált kilenc vegyület, azonban közös a mért eredményekben, hogy nem volt jelen kimutatható mennyiségben a rákhúspan AaC és harman, az olajban pedig MeIQ. A koktélrák és garnélarák sütése során nagyobb mennyiségben voltak jelen karcinogén és kokarcinogén anyagok az olajban, mint a húspan, azonban a tigrisráknál, a húspan voltak mérhetőek nagyobb koncentrációk.

Az egyes vegyületeknél az alábbi tendenciák voltak megfigyelhetőek:

1. Harman: A vegyület megjelenése a mérési határérték felett, csak olajban történt. A legnagyobb mennyiségben a garnélában keletkezett mindhárom sütési időtartamnál és a koktélrákban mértünk még LOQ feletti értéket 2 perces sütési időnél. A tigrisrákban a vegyület nem volt jelen kimutatható mennyiségben.
2. Norharman: A vegyületből a rákhúspan egyedül a koktélrákból tudtunk kimutatható mennyiséget mérni, azonban az olajban a garnéla és a koktélrák sütése során is megjelent LOQ feletti koncentrációban. Mennyiségi összehasonlítás alapján, nagyobb koncentrációban volt jelen a garnélaráknál felhasznált olajban, mint a koktélrák esetében.
3. Trp: A vegyület LOQ feletti koncentrációban koktélrák sütése során jelent meg. A húspan minden sütési időnél jelen volt, míg az olajban fél perces sütési időnél nem jelent meg.
4. IQ: Ez a HCA vegyület tigrisrák sütése során nem képződött LOQ feletti koncentrációban. A koktélráknál mért értékek azt mutatják, hogy közel azonos mértékben volt jelen, mindhárom sütési időnél a vegyület a hús és az olaj frakcióban is. A garnélaráknál, az előzőhöz képest eltérően, az olajban a fél percnél hosszabb sütési idők esetében, többszörös mennyiségben volt jelen az IQ, mint a húspan. A három

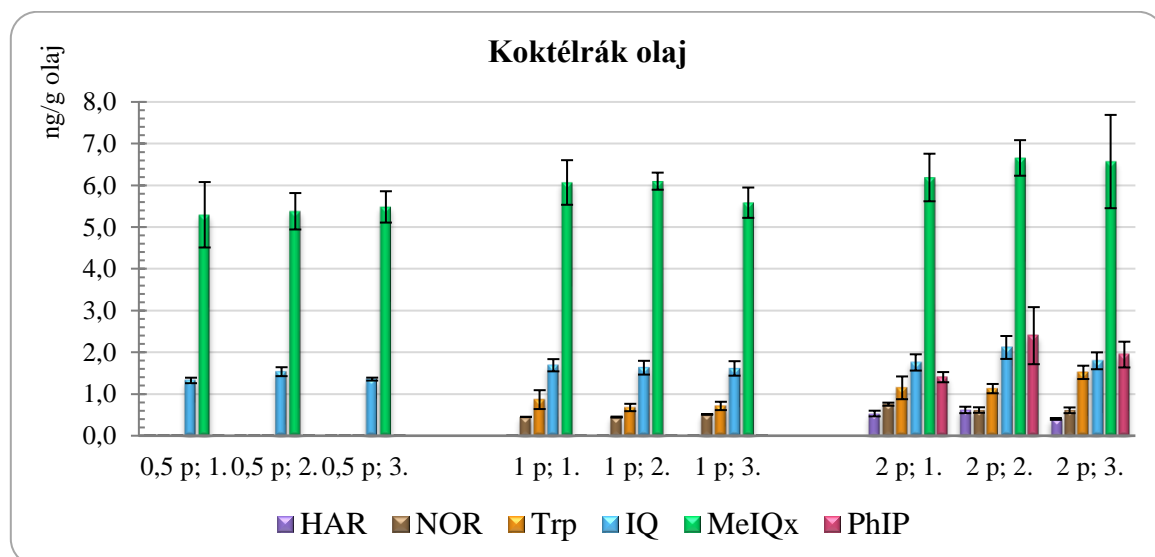
rákfélében mért értékek közül, ennél a vegyületnél tapasztaltuk a legnagyobb koncentrációkat.

5. MeIQ: Koktérák és tigrisrák sütése során nem jelent meg mérhető koncentrációban a vegyület, azonban a garnélánál a rákhúsban LOQ feletti értéket tudunk mérni. Garnélarákban az 1 és a 2 perces sütési időknél jelent meg.
6. MeIQx: Koktélrák esetén csak a sütési olajban jelent meg, a húsban viszont nem. Garnélarák sütése során a húsban és az olajban is megjelent, továbbá elmondható, hogy a rákhúsban jóval nagyobb koncentrációkat mértünk. Tigrisráknál a húsban minden sütési időtartamnál mérhető volt LOQ feletti koncentráció, azonban az olajban csak 3 perc után volt mérhető feletti érték.
7. diMeIQx: A vegyület koktélrák sütése során egyedül a húsban, 2 perc sütés után volt jelen mérhető koncentrációban, míg garnéla esetében szintén csak a rákhúsban volt mérhető, azonban mindhárom sütési időtartamnál keletkezett kimutatható koncentrációban, a tigrisrákhoz hasonlóan.
8. PhIP: Koktélrákban 2 perc sütés után az olajból tudunk LOQ feletti koncentrációt mérni. Garnélarákban a sütés során a húsban mindhárom sütési időnél keletkezett LOQ feletti koncentrációban a vegyület, míg az olajban csak az 1 perc vagy annál hosszabb sütési időnél volt jelen kimutatható koncentrációban. Tigrisrák sütése során a vegyület nem keletkezett kimutatható koncentrációban.



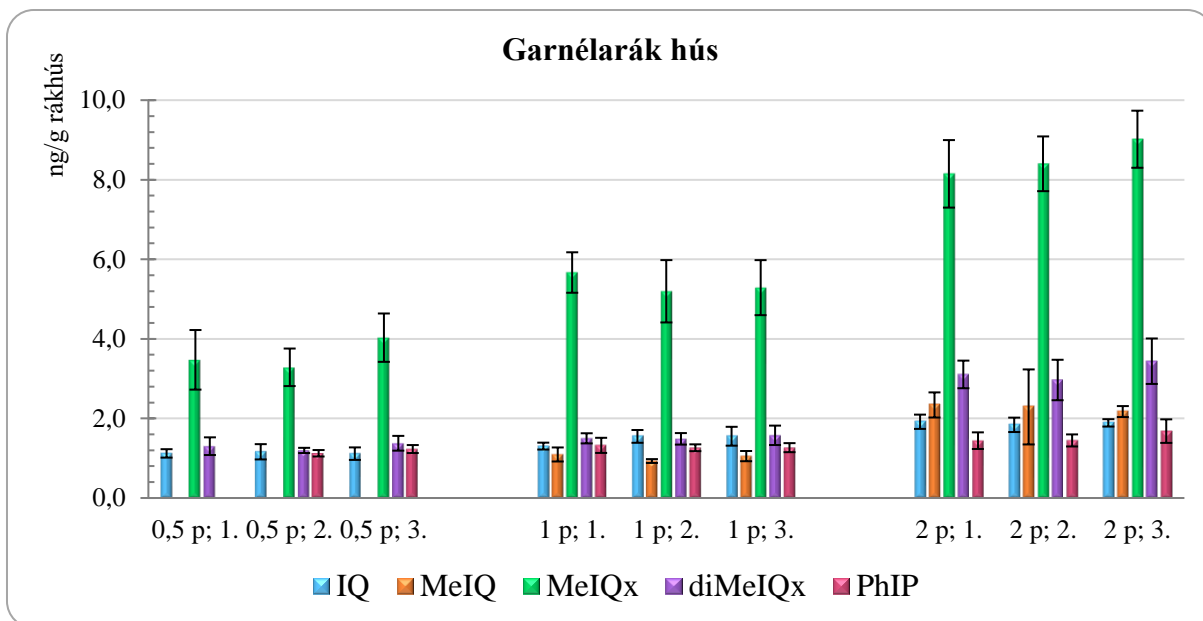
4. Ábra – Sütés után a koktérlák húsmintáinak HCA koncentrációi

Az ábra a koktérlákok húzában, a három párhuzamos sütési folyamat során mért HCA koncentrációkat (ng/g) szemlélteti 0,5, 1, illetve 2 perc sütést követően.



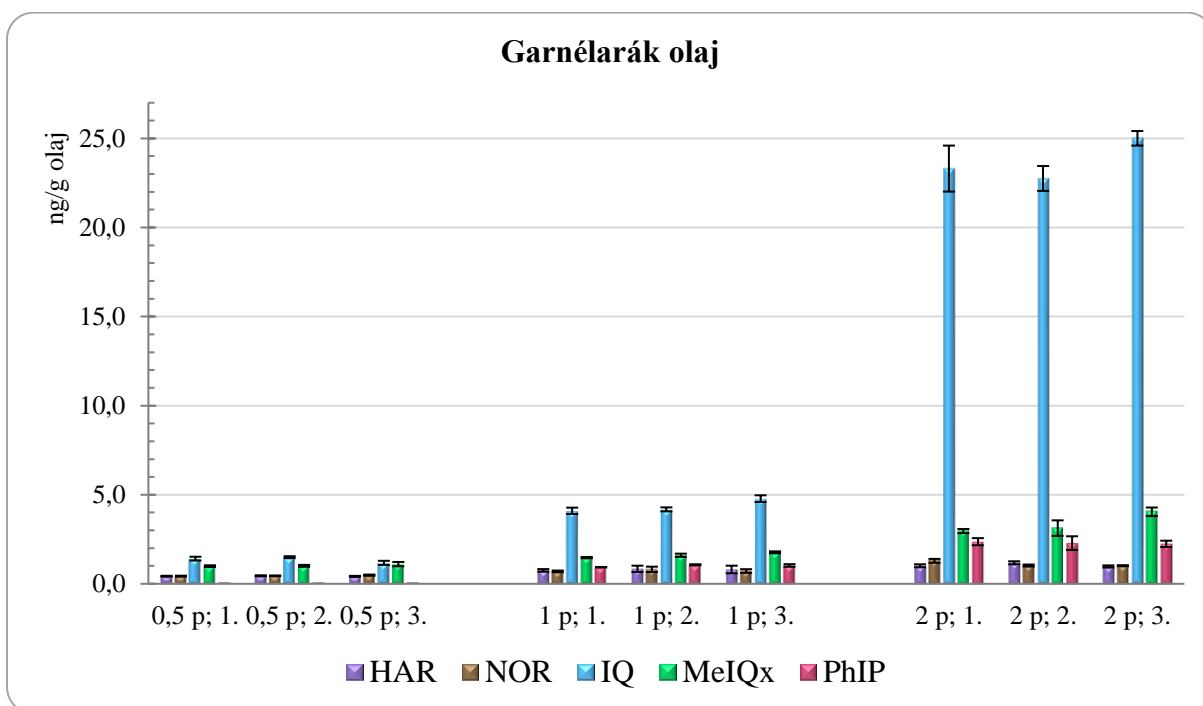
5. Ábra – A koktérlák sütéséhez felhasznált olaj sütés utáni HCA koncentrációi

Az ábra a koktérlákok sütéséhez használt olajban, a három párhuzamos sütési folyamat során mért HCA koncentrációkat (ng/g) szemlélteti 0,5, 1, illetve 2 perc sütést követően.



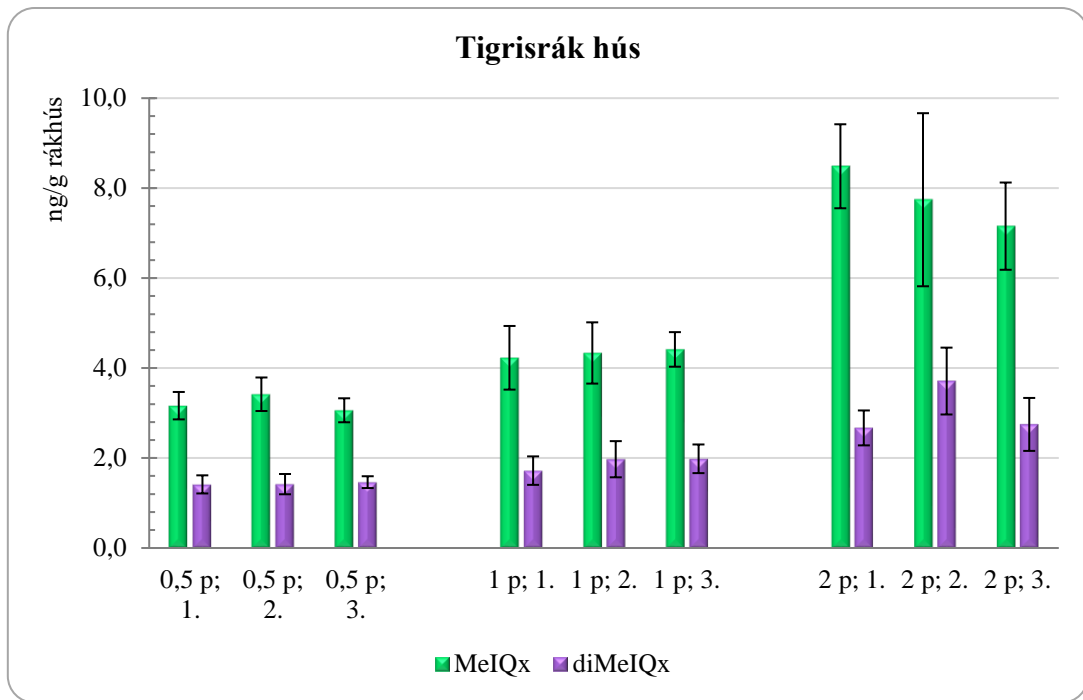
6. Ábra – Sütés után a garnélarák húsmintáinak HCA koncentrációi

Az ábra a kocktélrákok húsaiban, a három párhuzamos sütési folyamat során mért HCA koncentrációkat (ng/g) szemlélteti 0,5, 1, illetve 2 perc sütést követően.



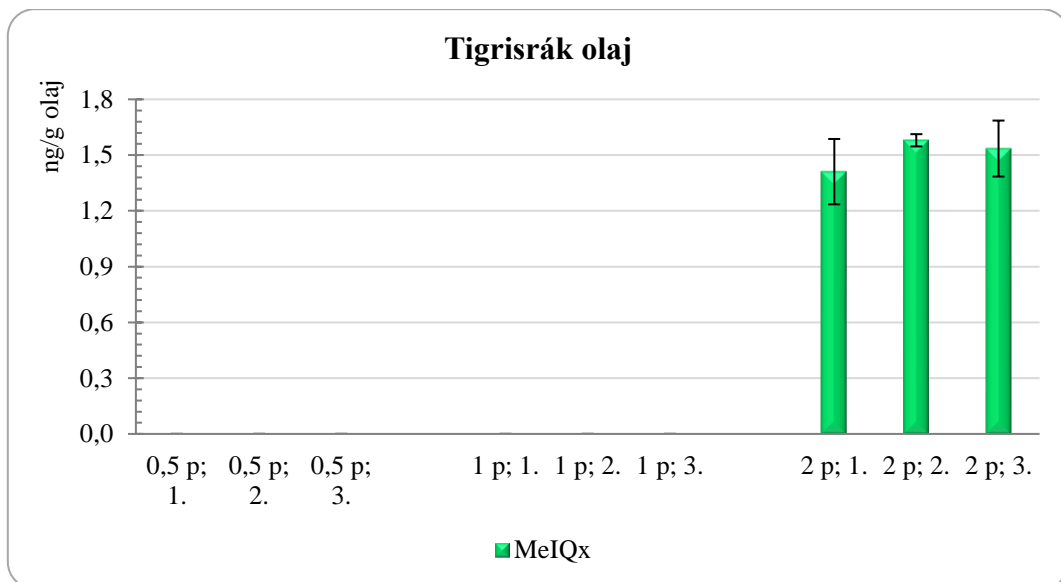
7. Ábra – A garnélarák sütéshez felhasznált olaj sütés utáni HCA koncentrációi

Az ábra a kocktélrákok sütéséhez használt olajban, a három párhuzamos sütési folyamat során mért HCA koncentrációkat (ng/g) szemlélteti 0,5, 1, illetve 2 perc sütést követően.



8. Ábra – Sütés után a tigrisrák húsmintáinak HCA koncentrációi

Az ábra a koktélrákok húsában, a három párhuzamos sütési folyamat során mért HCA koncentrációkat (ng/g) szemlélteti 1, 2, illetve 3 perc sütést követően.



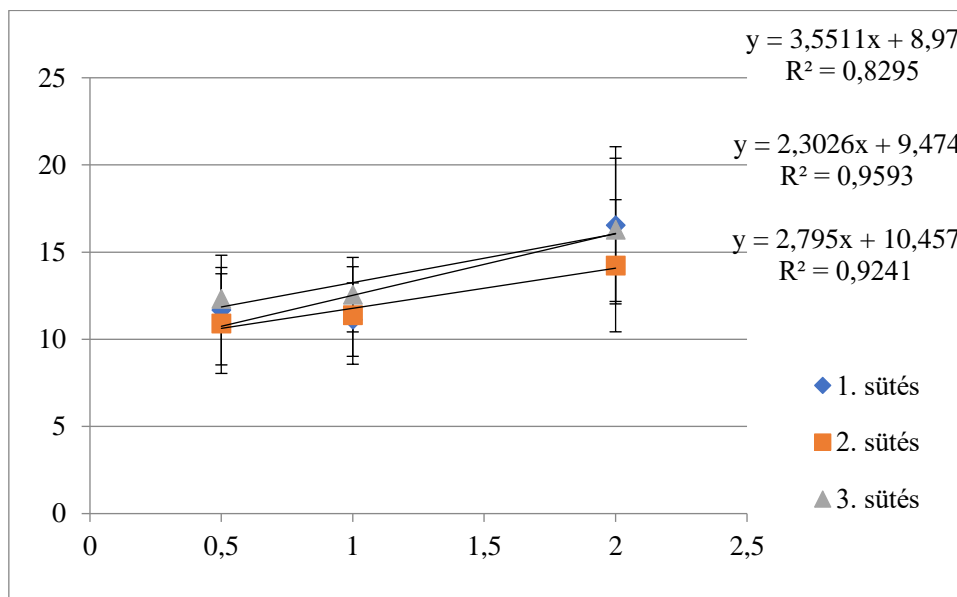
9. Ábra – A tigrisrák sütéshez felhasznált olaj sütés utáni HCA koncentrációi

Az ábra a koktélrákok sütéséhez használt olajban, a három párhuzamos sütési folyamat során mért HCA koncentrációkat (ng/g) szemlélteti 1, 2, illetve 3 perc sütést követően.

6.3. A kolorimetriás mérések eredményei

A kolorimetriás mérési eredmények értékelésénél megállapítottam, hogy nem figyelhető meg összefüggés a rákhús elkészültsége, sütési ideje, valamint a sütés hatására bekövetkező színváltozás között. Ennek oka feltehetőleg a rákhús külső felületének pigmentáltsága bizonyos részeken, melyek a sütés hatására nem változtak. Az egyedüli összefüggést a koktélrákok sütése során tapasztaltam, amikor is a sütési idő hosszának növelése a sárga szín erősödését vonta maga után (10. ábra).

10. Ábra – A koktélrákok b^* értékei a sütési idő hosszának függvényében



Az ábráról leolvasható, hogy sütési idő növelésének hatására a sárga szín (b^* érték) növekvő tendenciát mutat, tehát a sárga szín mélyül. Az x tengely a sütési időt jelöli percekben, az y tengelyen a b^* értéke látható. Az R^2 pedig azt jelöli, hogy mennyire illeszkednek a kapott értékek egy egyenesre.

7. Következtetések

Az LC-MS/MS rendszer által lemért 9 HCA vegyület ng/g koncentrációit önállóan értékelve megállapítottam, a sütési idők hossza, valamint az egyes rákhúsok közötti eltéréseket, hasonlóságokat, tendenciákat. Azonban, hogy kontextusba helyezzem a kapott koncentrációkat, valamint, hogy az alapfeltevés, miszerint a rákhúsok fogyasztása egészségesebb a kutatás tárgyát tekintve, megvizsgáltam, más húsfélék sütése során mekkora koncentrációkban mérhetőek a jelen kísérletben vizsgált heterociklusos aromás aminok. Pleva és mtsai. csirkemellen végzet kísérletét és HCA méréseit (szintén LC-MS/MS rendszerben) alapul véve megállapítható, hogy a rákokban – az erre az ételre használatos elkészítési mód mellett – a sütés során jelentősen kevesebb HCA keletkezik, mint a csirkemellbenc (8. Táblázat) (Pleva et al., 2020).

8. Táblázat – Csirkehús és rákhúsok összehasonlítása (ng/g hús) saját összeállítás

	csirkemell				kocktélrák	garnéla		tigrisrák
	sütés	bőrrel	bőr nélkül					
190 °C	5 perc	41,23	21,2	0,5 perc	N. Q.	6,07	1 perc	4,65
	10 perc	76,28	100,61	1 perc	N. Q.	8,19	2 perc	6,22
	15 perc	192,46	131,93	2 perc	1,72	13,22	3 perc	10,84

A táblázat az egyes húsoknál a sütés után mért, majd összesített harman, norharman, MeIQx, diMeIQx, PhIP koncentrációinak értékét mutatja. N.Q. = nem mérhető; N.D. = nem detektálható

Összehasonlítottam továbbá, Smith és mtsai. által, grillezett marha steak-ben mért HCA koncentrációkat, a jelen kísérletben mért értékekkel. Hasonlóan a csirkehúshoz, a marhahús elkészítése során is magasabb heterociklusos aromás amin koncentrációk mérhetőek, mint a rákhúsban (9. Táblázat) (Smith et al., 2008).

9. Táblázat – Marha steak és rákhúsok összehasonlítása (ng/g hús) saját összeállítás

	steak	kocktélrák	garnéla	tigrisrák
Harman	2,26	N. Q.	N. Q.	N. Q.
Norharman	2,2	0,45	N. Q.	N. Q.
MeIQx	30,2	N. D.	8,52	7,80
PhIP	17,4	N. Q.	1,52	N. Q.
Total HCA	52,06	0,45	10,04	7,80

A táblázat az egyes húsoknál a sütés után mért koncentrációkat jelöli. Jelen táblázatban a rákhúsoknál szereplő értékek, a kísérlet során leghosszabb sütési időnél mért, három párhuzamos mérés átlagát jelöli. N.Q. = nem mérhető; N.D. = nem detektálható

A kolorimetriás mérések eredményeiből levonható a következtetés, hogy a különböző ideig sütött rákok nem különíthetők el ránézésre, a hús színét értékelve. Amennyiben nem lehetséges megítélni a hús sültségének mértékét a színe alapján, fokozottan figyelni kell a rákhúsok csomagolásán feltüntetett javasolt elkészítési időt. A kutatásunk részeként végzett kérdőív eredményei alapján a válaszadók 51,3 %-a általában nem veszi figyelembe a rákhús elkészítésére tett javaslatokat. Ez a fogyasztói magatartás ahhoz vezet, hogy az egyes HCA-k – melyek képződését szignifikánsan befolyásolja a sütési idő – feldúsulnak az alapvetően alacsony HCA koncentrációkkal bíró rákhús állományában.

A kutatásunk során külön mértük a rákhúsokban, valamint a sütéshez felhasznált olajban jelen lévő heterociklusos aromás aminok koncentrációit. Megállapítható, hogy a koktélrák esetében a sütéshez használt olajban számottevően magasabb koncentrációkban volt mérhető a harman, a MeIQx és a PhIP, mint a rákhúsban. A garnéla sütése során hasonlóan magasabb koncentrációban volt jelen az olajban, mint a húsban, a harman és a norharman. A legszemléletesebb példa azonban, a garnélarák húsában és az olajban mérhető IQ koncentrációk közötti eltérés volt 2 perces sütési időnél: az IQ 12,6-szer magasabb koncentrációban mérhető az olajban, mint a húsban. A fentiekben leírtak alapján, nem javasolt a sütéshez használt olajat alkalmazni, annak magasabb HCA tartalma miatt, mely az ételbe is bekerülhet.

Az eredményeink alapján elmondható, hogy a rákhús sütése során alacsonyabb koncentrációkban keletkeznek HCA-k, mint a csirke vagy a marhahús esetében. Az elkészített rákhús fogyasztása - alacsonyabb HCA tartalma miatt - egészségesebb, mint a csirke vagy a marhahús.

8. Összefoglalás

A vörös és fehér húsok hőkezeléssel történő feldolgozása nem kívánt kémiai anyagok képződéshez vezethet: ilyenek például az 1977-ben Takeshi Sugimura által felfedezett heterociklikus aromás aminok. A japán kutató megfigyelései, valamint az azóta lefolyt kísérletek segítségével egyre nagyobb tudásbázist sikerült kiépíteni ezen anyagok tulajdonságairól és káros hatásairól.

A húsokban 150 °C felett létrejövő 25 ilyen vegyület karcinogén és mutagén hatással is rendelkezik és hosszú távú expozíció esetén már ng/g koncentrációban kifejtik hatásukat. Az egyes húsokban keletkező HCA-k mennyiségét számos tényező befolyásolja: a sütési hőmérséklet és idő, a hőközlés technikája, a húsokban megtalálható aminosavak és más prekursor vegyületek jelenléte stb. Jelenleg is több kísérlet foglalkozik a HCA-k emberi szervezetre kifejtett hatásaival, mindazonáltal az eddigi eredmények alapján, ezek a vegyületek összefüggésbe hozhatóak a gasztrointesztinális rendszer különféle rákos megbetegedéseivel (US FDA, ENSZ WHO Nemzetközi Rákkutató Ügynöksége). Az aktuális irodalomban nem szerepel rákhúsokkal végzett kísérlet ebben a témában, így munkánk az elsőnek fog számítani ezen a területen.

Kísérleteink célja az volt, hogy megvizsgáljuk, keletkeznek-e a világszerte egyre gyakrabban fogyasztott rákhúsban, a vörös és fehér húsokhoz hasonlóan HCA vegyületek, és ha igen, mekkora mértékben. Tanulmányunk során a háromféle rákhúst (tigrisrák, garnéla, koktélrák) vettünk alapul, melyekben a harman, norharman, Trp, AaC, IQ, MeIQ, MeIQx, 4,8-diMeIQx, PhIP. A mélyhűtött állapotban megvásárolt rákokat 180 °C-os olajban sütöttük három különböző időtartamig, majd a rákhús homogenizátumból és a sütéshez felhasznált olajból LC-MS/MS-sel mértük a HCA-k mennyiségét. Műszeresen mértük a sült rákok színét és szárazanyag tartalmát, valamint érzékszervi bírálatot is végeztünk.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a rákhúsban az alkalmazott hőkezelések hatására nagyságrendekkel kevesebb HCA keletkezett, mint a fehér vagy vörös húsokban. A kokarcinogén harman és norharman egyáltalán nem voltak kimutathatóak. Az olajban mért HCA koncentrációk is alacsonyabbak voltak, mint más húsféleségeknél történő felhasználás során.

A témához kapcsolódóan kérdőívvel mértem fel, hogy a válaszadók mennyire kedvelik a rákhúst, otthon vagy étteremben milyen formában fogyasztják, milyen helye van a magyar gasztronómiában, valamint mennyire gondolják egészségesnek a rákhús fogyasztását. A válaszok alapján a többség egészségesnek gondolja a rákhúsokat. Ezt a fogyasztói vélekedést a sütés során keletkezett nagyon alacsony HCA mennyiség is megerősítheti.

9. Abstract

Thermal processing of meat may lead to the formation of unintentional and undesired chemical substances, for example heterocyclic aromatic amines (HCAs) discovered by Takeshi Sugimura in 1977. The observations of the Japanese researcher, as well as the experiments conducted since then, resulted in a growing knowledge-base on the harmful effects of these substances.

HCAs are formed in meat above 150 °C. Around two-dozen of them is carcinogenic and mutagenic during long-term exposure and is active already at ng/g concentrations levels. The amount of HCAs produced in meat is influenced by a number of factors: frying temperature and time, heat transfer technique, the presence of amino acids and other precursor compounds in the meat and so on. Several experiments are currently investigating the effects of HCAs on the human body, however, based on the results so far, these compounds may be associated with various types of cancer of the gastrointestinal tract (US FDA, UN WHO International Agency for Research on Cancer). No published experiment could be found with crab in the current literature, so our work will be the first in this area.

The aim of our research was to investigate whether and to what extent HCA compounds are produced in crab - as it was seen in red meat and poultry - as crab is increasingly consumed worldwide. In our study, we used three types of crabs (tiger prawn, shrimp, cocktail shrimp) and examined the formation of harman, norharman, Trp, AaC, IQ, MeIQ, MeIQx, 4,8-diMeIQx, PhIP. Crabs purchased in frozen state were fried in oil at 180 °C for three different periods of time and then the amount of HCAs was measured by LC-MS/MS from the crab meat homogenate and the frying oil. The colour and the dry matter content of the fried crabs were measured instrumentally and sensory evaluation was also performed.

Based on the results, it can be seen that the heat treatments applied on the crab meat produced orders of magnitude less HCA than in poultry or red meat. Co-carcinogenic harman and norharman were not detectable at all. HCA concentrations measured in the oil were also lower in this case compared to the concentrations measured when other kind of meats were used. In connection with the topic, a questionnaire survey was carried out for studying the acceptance of crab by the respondents, forms and venues of consuming it its place in the Hungarian gastronomy, and how healthy crab is considered to be. Based on the responses it can be said that crab is considered to be a healthy food. This consumer perception may also be confirmed by the very low amount of HCA measured in our trials.

10. Irodalomjegyzék

- Alaejos, M. S., Pino, V., & Afonso, A. M. (2008). Metabolism and toxicology of heterocyclic aromatic amines when consumed in diet: Influence of the genetic susceptibility to develop human cancer. A review. *Food Research International*, *41*(4), 327–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.02.001>
- Aquaculture, E. T. D. E. L. (2017). *Statistics Fishery and Aquaculture Statistics Statistiques Des Pêches*. <https://search.proquest.com/docview/2292033886/C988274784D54153PQ/2?accountid=27804>
- Bernard, E., & Bolatito, A. Y. (2016). Comparative study on the nutritional composition of the pink shrimp (*Penaeus notialis*) and tiger shrimp (*Penaeus monodon*) from Lagos lagoon, Southwest Nigeria. *Cogent Food & Agriculture*, *2*(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1201891>
- Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K. Z., Grosse, Y., Ghissassi, F. El, Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H., Straif, K., Stewart, B. W., Smet, S. D., Corpet, D., Meurillon, M., Caderni, G., Rohrmann, S., Verger, P., Sasazuki, S., Wakabayashi, K., Weijenberg, M. P., ... Wu, K. (2015a). Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology*, *16*(December), 1599–1600. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00444-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00444-1)
- Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K. Z., Grosse, Y., Ghissassi, F. El, Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Mattock, H., Straif, K., Stewart, B. W., Smet, S. D., Corpet, D., Meurillon, M., Caderni, G., Rohrmann, S., Verger, P., Sasazuki, S., Wakabayashi, K., Weijenberg, M. P., ... Wu, K. (2015b). Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology*, *2045*(15), 1599–1600. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00444-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00444-1)
- Cantwell, M., Mittl, B., Curtin, J., Carroll, R., Potischman, N., Caporaso, N., & Sinha, R. (2004). Relative Validity of a Food Frequency Questionnaire with a Meat-Cooking and Heterocyclic Amine Module. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, *13*(2), 293–298. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-270-2>
- Chiu, C. P., Yang, D. Y., & Chen, B. H. (1998). Formation of heterocyclic amines in cooked chicken legs. *Journal of Food Protection*, *61*(6), 712–719. <https://doi.org/10.4315/0362->

- Commoner, B., Vithayathil, A. J., Dolara, P., Nair, S., Madyastha, P., & Cuca, G. C. (1978). Formation of mutagens in beef and beef extract during cooking. *Science*, *201*(4359), 913–916. <https://doi.org/10.1126/science.567374>
- Cuparencu, C., Praticó, G., Hemeryck, L. Y., Sri Harsha, P. S. C., Noerman, S., Rombouts, C., Xi, M., Vanhaecke, L., Hanhineva, K., Brennan, L., & Dragsted, L. O. (2019). Biomarkers of meat and seafood intake: An extensive literature review. *Genes and Nutrition*, *14*(1), 1–30. <https://doi.org/10.1186/s12263-019-0656-4>
- Delfino, R. J., Sinha, R., Smith, C., West, J., White, E., Lin, H. J., Liao, S. Y., Gim, J. S. Y., Ma, H. L., Butler, J., & Anton-Culver, H. (2000). Breast cancer, heterocyclic aromatic amines from meat and N-acetyltransferase 2 genotype. *Carcinogenesis*, *21*(4), 607–615. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.4.607>
- eurostat. (2004). *Food: from farm to fork statistics. Pocketbook*.
- eurostat. (2008). *Food: from farm to fork statistics. Pocketbook*.
- eurostat. (2011). *Food: from farm to fork statistics. Pocketbook*.
- Jägerstad, M., Skog, K., Arvidsson, P., & Solyakov, A. (1998). Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic amines identified in model systems and cooked foods. *European Food Research and Technology*, *207*(6), 419–427.
- Johansson, M. A. E., Fay, L. B., Gross, G. A., Olsson, K., & Jägerstad, M. (1995). Influence of amino acids on the formation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in a model system. *Carcinogenesis*, *16*(10), 2553–2560. <https://doi.org/10.1093/carcin/16.10.2553>
- Khasim, D. I., Chakrabarti, R., & Panduranga Rao, C. C. (1990). *NATIONAL SYMPOSIUM ON RESEARCH AND DEVELOPMENT IN MARINE FISHERIES*.
- Kizil, M., Oz, F., & Besler, H. T. (2011). A Review on the Formation of Carcinogenic/Mutagenic Heterocyclic Aromatic Amines. *Journal of Food Processing & Technology*, *02*(05). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000120>
- Pfau, W., & Skog, K. (2004). Exposure to β -carbolines norharman and harman. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*,

802(1), 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2003.10.044>

Pleva, D., Lányi, K., Darnay, L., & Laczay, P. (2020). Predictive correlation between apparent sensory properties and the formation of heterocyclic amines in chicken breast as a function of grilling temperature and time. *Foods*, 9(4).

<https://doi.org/10.3390/foods9040412>

Puga-lopez, D., Ponce-palafox, J. T., Barba-quintero, G., Torres-herrera, M. R., Romero-beltran, E., Arredondo-figueroa, J. L., & Gomez, M. G. (2013). Physicochemical, Proximate Composition, Microbiological and Sensory Analysis of Farmed and Wild Harvested White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) Tissues. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 5(3), 130–125.

<https://doi.org/10.19026/crjbs.5.5454>

Sinha, R., Deborah, R., Kulldorff, M., Wen, W., & Cerhan, J. R. (2000a). *BRIEF and Breast Cancer Risk*. 92(16), 1–3.

Sinha, R., Kulldorff, M., Chow, W. H., Denobile, J., & Rothman, N. (2001). Dietary intake of heterocyclic amines, meat-derived mutagenic activity, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 10(5), 559–562.

Sinha, R., Kulldorff, M., Swanson, C. A., Curtin, J., Brownson, R. C., & Alavanja, M. C. R. (2000b). Dietary heterocyclic amines and the risk of lung cancer among Missouri women. *Cancer Research*, 60(14), 3753–3756.

Skog, K. I., Johansson, M. A. E., & Jägerstad, M. I. (1998). Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food and Chemical Toxicology*, 36(9–10), 879–896. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(98\)00061-1](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(98)00061-1)

Smith, J. S., Ameri, F., & Gadgil, P. (2008). Effect of marinades on the formation of heterocyclic amines in grilled beef steaks. *Journal of Food Science*, 73(6).

<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00856.x>

Soglia, F., Mudalal, S., Babini, E., Di Nunzio, M., Mazzoni, M., Sirri, F., Cavani, C., & Petracci, M. (2016). Histology, composition, and quality traits of chicken Pectoralis major muscle affected by wooden breast abnormality. *Poultry Science*, 95(3), 651–659.

<https://doi.org/10.3382/ps/pev353>

- Soladoye, O. P., Shand, P., Dugan, M. E. R., Gariépy, C., Aalhus, J. L., Estévez, M., & Juárez, M. (2017). Influence of cooking methods and storage time on lipid and protein oxidation and heterocyclic aromatic amines production in bacon. *Food Research International*, 99(June), 660–669. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.029>
- Sugimura, T. (1997). Overview of carcinogenic heterocyclic amines. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 376(1–2), 211–219. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(97\)00045-6](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(97)00045-6)
- Sugimura, T., Wakabayashi, K., Nakagama, H., & Nagao, M. (2004). Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Gann Monographs on Cancer Research*, 52, 71–96.
- The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. (2020). In *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020*. FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- U.S. Department of Health and Human Services. (2016). *14th Report on carcinogens*. 1–8. <http://ntp.niehs.nih.gov/go/roc>
- Zamora, R., & Hidalgo, F. J. (2020). Formation of heterocyclic aromatic amines with the structure of aminoimidazoarenes in food products. *Food Chemistry*, 313(October 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126128>

11. Köszönetnyilvánítás, egyéb nyilatkozatok

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Lányi Katalinnak, a dolgozat megírása és a kísérlet kivitelezésében nyújtott hatalmas segítségéért. Köszönöm Dr. Darnay Líviának, Dr. Pleva Dánielnek és Lucsányi Georgina Rebekának, valamint az Élelmiszerhigiéniai Tanszék minden munkatársának a segítséget és tanácsait.

Szeretném megköszönni Szemere Tibornak, az online kérdőívben nyújtott segítségét, továbbá támogatását a dolgozat megírásában. Köszönöm Gitidisz Nikosz séfnek, a rákhús elkészítésére vonatkozó tanácsait, receptjeit.

Köszönöm páromnak és szüleimnek a munka elkészítésében és a tanulmányaim során kapott rengeteg támogatást és segítséget. Nélkülük nem jöhetett volna létre ez a dolgozat.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: AZ EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005, címe: Tudományos utánpótlás erősítése a hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatásával, a mentorálás folyamatának kidolgozásával)

The Project is supported by the European Union and co-financed by the European Social Fund (grant agreement no. EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005, project title: „Strengthening the scientific replacement by supporting the academic workshops and programs of students, developing a mentoring process)

~ HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: MONG BALÁZS
Elérhetőség (e-mail cím): balazsmong@gmail.com
A feltöltendő mű címe: Rákkeltő anyag, annak feltöltése nyilvánosban
A mű megjelenési adatai: 2020
Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül), a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyag rész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg **(egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel)**:

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),


Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elkelyezett jellel a helyben használatról is:**

Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

Budapest, 2020. év ...¹⁰.....hó ...²³.....nap


aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

*A **HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – HungarianVeterinaryArchive** az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgálta, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impaktfaktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **dr. Lányi Katalin** tudományos főmunkatárs, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Mong Balázs** állatorvostan-hallgató „*Rákkeltő aromás aminok keletkezése rákhúsban*” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 2020. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 2020. X. 22.





témavezető

Nyilatkozat a TDK és a diplomamunka azonosságáról

Alulírott MONG BALÁZS nyilatkozom, hogy diplomamunkám,
melynek címe Röböltő avomás szimulációk vizsgálata
.....
tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik az azonos című, a 2020
évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2020. 11. 18.

..... MONG BALÁZS
..... 
a hallgató neve és aláírása