

BOLDOG HALAK ÉS BOLDOG FOGYASZTÓK? - AVAGY A HAPPYFISH PROJEKT ÖSSZEFOGLALÓ EREDMÉNYEI

URBÁNYI BÉLA - KRISZT BALÁZS - SZOBOSZLAY SÁNDOR - KASZAB EDIT -
HÁHN JUDIT - BERNÁTH GERGELY - CSENKI-BAKOS ZSOLT - CZIMMERER ZSOLT -
BOCK ILLÉS - JÓNÁS GÁBOR - FRIEDRICH LÁSZLÓ - KASZA GYULA -
CSENKI ESZTER - IZSÓ TEKLA - PALOTÁS PÉTER - RÁKÓCZI KATALIN -
NYÍRŐ-FEKETE BRIGITTA - MICSINAI ADRIENN - ZANATHY LÁSZLÓ

ÖSSZEFOGLALÁS

Az Európai Unió tagországainak lakossága által elfogyasztott akvakultúrából és halászatból származó termékek 60%-a import áru. E nagyfokú kereskedelmi kitettség csökkentése érdekében az EU Tengerügyi és Halászati biztosa 2010-ben kijelentette, hogy az import függőséget csökkenteni kell, melynek egyik alapja a tógazdasági, édesvízi haltenyésztés fejlesztése. A tógazdasági haltenyésztés központja a Közép-Kelet-Európai térség, tradicionálisan ez a gazdálkodási módszer termeli meg a térség akvakultúrák termékeinek a 85%-át. Ahhoz, hogy kontrollált, biztonságos és jó minőségű haltermékeket állítson elő a szektor, két kritérium együttes teljesülésére van szükség:

- 1) ellenőrzött termelési és feldolgozási technológia kidolgozása;
- 2) olyan halászati termékek előállítása, melyek beltartalmi értéke minősített és lehetőség szerint standardizált.

Hazánkban a tógazdasági haltenyésztés földmedrű tavakban folyik. A tenyésztő minimális információval rendelkezik a tótalaj (iszap, üledék, termőtalaj) minőségéről és annak komplexitásáról, valamint a termelőközeg, a víz minőségi jellemzőiről. A megtermelt hal jelentős hányada (közel 85%-a) ponty, melynek húsmínősége (állaga, íze) nagymértékben a termelés technológiától, így a termelési alapok (tómeder és vízminőség) milyenségétől függ. Napjainkig nem volt olyan átfogó elemzés, mely tómeder-vízminőség-halhús relációban vizsgálta volna meg a termelés technológia elemeinek hatását a fogyasztó elé kerülő haltermékek vonatkozásában. A projekt lehetőséget nyújt ezen összefüggések feltárására, a termelés során érintett közegek szerves (peszticidek, gyógyszermaradványok) és szervetlen (As, Se, I) szennyezőinek megismerésére, kockázataik kivédésére. A halhús feldolgozási technológiájának (vágás, csomagolás) optimalizálásával, a késztermék tanúsításával (védjegy) olyan modellrendszer jönne létre, mely egyértelműen jelezne az áru élelmiszerbiztonsági követelményeknek való magas szintű megfelelését és kiváló beltartalmi értékét a fogyasztók felé.

SUMMARY

Urbányi, B. - Kriszt, B. - Szoboszlai, S. - Kaszab, E. - Háhn, J. - Bernáth, G. - Csenki-Bakos, Zs. - Czimmerer, Zs. - Bock, I. - Jónás, G. - Friedrich, L. - Kasza, Gy. - Csenki, E. - Izsó, T. - Palotás, P. - Rákóczi, K. - Nyíró-Fekete, B. - Micsinai, A. - Zanathy, L.: HAPPY FISH AND HAPPY CONSUMERS? - THE SUMMARY RESULTS OF THE HAPPY FISH PROJECT

60% of the fish products originating from aquacultures and fisheries and consumed by the population of European Union member states are imported goods. To reduce this high level of exposure, the Commissioner for Maritime Affairs and Fisheries declared in 2010 that import dependence should be reduced by the development of pond-based and freshwater aquacultures. The Central and Eastern European region is the traditional center of pond-based fish farming. This farming method produces 85% of the region's aquaculture products. To ensure the controlled, safe, and high-quality fish products of this sector, two conditions should meet:

- 1) the development of controlled production and processing technologies,
- 2) the production of fish products with a certified and, where it is possible, standardized nutritional value.

In Hungary, pond-based aquacultures are using earthen ponds. Fish farmers usually have

minimal information about the quality and the complexity of the bed (sludge, sediment, topsoil) or about the quality of water, the production medium. A significant proportion of the produced fish (almost 85%) is carp. The meat quality (texture, taste) of this species is strongly depending on the production technology, thus the quality of the production environment (earth and water quality). Until recently, there has been no comprehensive analysis to evaluate the impact of production technology elements in the context of lakebed - water quality - fish meat relationship to evaluate the effects of these parameters on final, consumed fish products. The Happy Fish project provides an opportunity to explore these relationships, to reveal the organic (pesticides, drug residues) and inorganic (As, Se, I) contaminants in the production media and to prevent their risks. By optimizing the fish meat processing technology (slaughtering, packaging), and certifying the final product (trademark), a model system would be created indicating the high level of compliance of the goods with food safety requirements and their excellent nutritional value for customers.

BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Magyarországon a halhús-fogyasztás elmarad az európai átlagtól, míg hazánkban évente és fejenként mindössze 6, addig az Európai Unióban átlagosan 20 kilogrammnyi halat fogyasztanak. Ennek egyik oka az alacsony fogyasztói bizalom, hiszen számos más termékcsoporttal (zöldség-gyümölcs, sertés, baromfi) ellentétben, a magyar halhús minőségéről igen keveset tudunk. A vázolt probléma megoldására alakult a több hazai laboratóriumot, kutatóhelyet és egyéb szakmai partnereket tömörítő „HappyFish” kezdeményezés, amely a tótól az asztalig kísérte végig a haltermék minőségét befolyásoló tényezőket a hazai halhús-fogyasztás növelése érdekében.

Az ökotoxikológia különböző vegyi anyagok ökoszisztémákra gyakorolt káros hatásainak mérésével foglalkozó tudományterület, melynek egyik alapvető célja, hogy meghatározza azokat az egyénekre gyakorolt hatásokat, melyek populáció szintjén is megjelennek (Walker, 2014). Az ökotoxikológia tárgyát a bioszférában előforduló vegyületek és ezeknek a bioszféra elemeire, köztük az emberre gyakorolt hatásai adják (Newman, 2015). Ökotoxikusnak számít minden olyan hatás és anyag a 44/2000. (XII. 27.) EüM rendelet szerint, amely „az élő szervezeteket, azok utódait vagy populációit közvetlenül vagy a táplálékláncon át, azonnal vagy meghatározott idő elteltével károsítja”. Az ökotoxikológiai vizsgálatokat általában az adott trofikus szint szempontjából leginkább reprezentatív fajok egyedein végzik ellenőrzött laboratóriumi körülmények között, mely során a vizsgált végpontok általában a növekedés, fejlődés, reprodukció és mortalitás, melyek mind olyan tényezők, amik befolyásolják az adott populáció méretét és egészségi állapotát (Robinson és Thorn, 2005). További mérési végpontok lehetnek a stressz-fehérvér megjelenései, enzimek aktivitásának változásai, a vizsgált egyedek mozgásképessége, vagy pusztulása, a vizsgált fajok kölcsönhatásai, stb. (Gruiz, 2001). Fontos kiemelni továbbá az elővigyázatosság elvét, ami azon a konzervatív megközelítésen alapul, hogy minden környezeti veszélyre úgy kell tekintenünk, még elegendő tudományos bizonyíték hiányában is, hogy az kárt okozhat az élővilágra nézve. Ezért ez az elv alapvető az ökotoxikológusok számára, hiszen kiemelt feladatuk olyan módszerek kidolgozása, melyek lehetővé teszik a toxikológiai ártalmak előrejelzését még bekövetkezésük előtt (Hoffman és mtsai, 2003). A tesztszervezetek kiválasztása során további fontos szempont az adott

ökológiai rendszerre nézve legérzékenyebb modellszervezet meghatározása és alkalmazása, mely lehetővé teszi a potenciális káros biológiai hatás legpontosabb kimutatását, kiegészítve a műszeres analitikai vizsgálatokat.

Ezek alapján a munkánk egyik célja az volt, hogy 7 magyarországi halastavi gazdaságban vett víz és üledékmintákat kémiai analitikai és ökotoxikológiai módszerekkel mikroszenyező anyagok jelenlétét vizsgáljunk és azok összegzett biológiai hatásait biológiai módszerekkel mérjük.

A miRNS-ek rövid, ~22 nukleotid hosszúságú, fehérjét nem kódoló, egyszálú RNS molekulák, melyek a génkifejeződés poszt-transzkripció szabályozásában vesznek részt a célpont mRNS-ek degradációjának kiváltásán, vagy a róluk történő fehérjeszintézis gátlásán keresztül (Bartel, 2004, Huntzinger és Izaurralde, 2011). Diagnosztikai és prognosztikai markerként történő felhasználási lehetőségeik feltérképezése az orvostudomány egy intenzíven kutatott területe (Ojha és mtsai, 2018, Fyfe, 2020). Számos irodalmi adat áll rendelkezésre arról, hogy több xenobiotikum képes egyes miRNS-ek kifejeződését befolyásolni különböző sejtsejtszövetekben és modellszervezetekben (Schraml és mtsai, 2017). Annak ellenére, hogy a miRNS mintázatban bekövetkező változások már jóval korábban előrejelezhetik egy vegyület káros hatását, mint a patológiás tünetek, a toxikológiai biomarkerként történő alkalmazásukban rejlő lehetőségek jelenleg még kiaknázatlanok.

A tógazdasági pontyállományokat érintő toxikus stressz vizsgálata céljából a miRNS-ek toxikológiai és élelmezésbiztonsági biomarkerként történő alkalmazási lehetőségeit is tanulmányozni kívántuk a munka során ponty modellszervezeten toxikológiai és globális miRNS kifejeződési mintázat meghatározására alkalmas vizsgálmódszerek integrált alkalmazásával.

A tárolt ponty szélsőségesen gyorsan romló élelmiszer, melynek következtében a hűtött pontytermékek szavatossági ideje igen rövid (Gram és Huss, 1996). Óriási piaci igény mutatkozik a tárolhatóság javítására, melynek kulcskérdése a romlásban szerepet játszó mikroszervezetek minél hatékonyabb azonosítása, megismerése. A romlási folyamatok ugyanis az instabil kémiai összetétel mellett döntően a mikrobiális tevékenységnek tudhatók be (Sterniša és mtsai, 2016). A kifogás és lehalászás pillanatában az egészséges hal húsa szinte steril (Mahmoud és mtsai, 2004), a terméket szennyező mikroszervezetek elsősorban a bőr és a belsőségek mikrobiótájából, vagy a környezetből származnak. A szakirodalmi adatok alapján a kiindulási összes telepképző egység szám (CFU – colony forming units) tekintetében nyers halnál elvárás a 10^6 CFU/g alatti érték (Odeyemi és mtsai, 2020). A tárolási paraméterek beállítása nagyban befolyásolja a formálódó, romlásban esetlegesen szerepet játszó mikrobaközösség számát és összetételét, ezáltal létfontosságú, hogy a tárolási folyamat kezdeti szakaszában minél jobban kontrolláljuk a mikrobiális növekedés folyamatát. A környezet-mikrobiológiai mérések a hazai halastavak mikrobiológiai állapotának feltárása mellett annak tisztázását tűzték ki célul, hogy megvizsgálják, milyen szerepet játszanak a halastavi mikrobiális ökoszisztéma képviselői a hűtve tárolt haltermék romlásának kezdeti, kritikus szakaszában. Ennek megvalósításához nyomon követtük egy választott halastavi gazdaságból származó haltermék teljes termékpályáját. Távolati célunk volt a pontytermék állapotának javítását célzó beavatkozások előkészítése, mely során tárolási kísérleteket állítottunk be a haltermék romlásában szerepet játszó mikroszervezetek számának és összetételének megállapítása érdekében.

Mivel az élő hal kezelése alapvetően meghatározza a halhús minőségét, ízét, állományát és technofunkcionális tulajdonságait, a halat érő kémiai és fizikai stresszhatások kedvezőtlen ízváltozáshoz és rendellenes húsérési folyamatokhoz vezethetnek. Az ilyen alapanyagból készült élelmiszerek negatív hatást fejthetnek ki a halételek megítélésére és fogyasztására egyaránt. Ennek szellemében a halastavi környezet és a feldolgozás egyes lépéseinek hatását is vizsgáltuk a halhús élelmiszerbiztonsági szempontból fontos paraméterei nézve.

A projekt egyik fontos eleme a hazai halfogyasztási szokások primer információinak megszerzése volt a fogyasztói kockázatok becslése céljából, hiszen az egy főre eső halhús-fogyasztás kívánatos növekedését (Popp és mtsai, 2018) célzó programok egyik alapfeltétele, hogy a fogyasztás növekedése ne okozzon egészségügyi kockázatot a társadalom számára. Annak érdekében tehát, hogy fényt derítsünk az említett kockázatokra a fogyasztáskutatási alapelveknek megfelelően három különböző területen végeztünk felméréseket a területet érintő élelmiszerbiztonsági tényezők és a különböző fogyasztói csoportok tekintetében.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Mikroszennyező-terheltség és ökotoxikológiai állapotfelmérés

A 7 tógazdaságban vett 36-36 víz- és üledékminta kémiai analitikai vizsgálatát a Wessling Hungary Kft végezte. A mintákból általános vízkémiai paramétereket, oldott elemtartalmat, összes alifás szénhidrogént, benzolt és alkilbenzolokat (BTX), poliaromás szénhidrogéneket (PAH), poliklórozott bifenileket (PCB), illékony halogénezett alifás szénhidrogéneket, klórbenzolt, nonil- és oktilfenolt, gyógyszer- és peszticidmaradványokat, ftalátokat, perfluorooktánsavat és perfluorooktán-szulfonátot mértek.

Az ökotoxikológiai vizsgálatok során vizsgáltuk az üledék és vízminták akut és krónikus citotoxicitását, valamint direkt hormonhatását. A tesztekhez az üledékmintákból vizes kivonatot készítettünk, majd a szuszpenziók centrifugálása után a felülúszót, valamint a vízmintákat 0,45 µm pórusátmérőjű szűrőn szűrtük.

A citotoxicitást a fénykibocsátás-csökkenésen alapuló *Aliivibrio fischeri* (AVF) teszttel mértük. Az akut citotoxikus hatás detektálására a 30 perces szabványos Microtox® tesztet alkalmaztuk Microtox® Model 500 Toxicity Analyzer System (Azur Environmental, Carlsbad, CA) segítségével. Tesztszervezetként a Gram-negatív, pálcika alakú, fakultatív aerob biolumineszcens tengeri baktériumot, az *A. fischeri*-t használtuk (DSM 7151, NRRL B-11177). Az *A. fischeri* baktériumban a *luxCDABEG* gének felelősek a biolumineszcenciáért, amit a luciferáz enzim katalizál molekuláris oxigén, hosszú szénláncú alifás aldehidek, valamint redukált flavin-mononukleotidok (FMNH₂), mint szubsztrátok felhasználása során (Miyashiro és Ruby, 2012). A metabolikus energia konvertálás látható fény kibocsátásával jár, amennyiben tehát a normális metabolikus aktivitás sérül a baktériumban, a fénykibocsátás csökken. A minták toxicitásának meghatározása tehát a lumineszcencia gátlása révén mérhető, melyet az ISO 11348-1 (1998) szabvány alapján végeztünk el.

A mintákban potenciálisan krónikus citotoxicitást okozó anyagok biológiai hatását az akut AVF teszt meghosszabbított kontaktidejű (25 óra), mikrotiter lemezre

adaptált verziójával vizsgáltuk. A mérés során mintákból 100 μ L-t pipettáztunk fekete, lapos-aljú PS mikrotiter lemezre, majd 100 μ L frissen előkészített *A. fischeri* inokulumot mértünk rá (Háhn és mtsai, 2017 alapján). A biolumineszcencia értékeket (fotonbecsapódás/másodperc, CPS) Victor™ X Light 2030 Luminescence Reader (Perkin Elmer, Egyesült Államok) segítségével mértük 3,5, 10, 15 és 25 órás kontaktidő után. A minták biolumineszcenciára gyakorolt hatását a kontroll értékeivel összevetve állapítottuk meg, hogy mérhető-e krónikus toxicitás.

A citotoxikus hatás mellett vizsgáltuk azt is, hogy a minták mutatnak-e ösztrogén-, illetve androgénhatást, melyhez a Tennessee Egyetem kutatói által kifejlesztett és rendelkezésünkre bocsátott *Saccharomyces cerevisiae* alapú bioripporter tesztek használtuk. A *Saccharomyces cerevisiae* törzsek BLYES és BLYAS konstrukcióit úgy alkották meg, hogy azok kromoszómájába humán ösztrogén és androgén receptorokat kódoló géneket integráltak, továbbá a sejtbe olyan plazmidokat, melyek ösztrogén és androgén válaszlelemeket, ill. a prokarióta *Photobacterium luminescens lux*-génjeit hordozzák. Imennyiben olyan anyaggal exponáljuk a *S. cerevisiae* BLYES és BLYAS sejteket, melyek képesek közvetlenül humán ösztrogén- vagy androgén-receptorhoz, majd komplexként a válaszlelemekhez kötődni, aktiválódnak a *lux*-gének, biolumineszcenciát eredményezve. A biolumineszcens bioripporterek tehát alkalmasak ösztrogén és androgén hatás mérésére (Eldridge és mtsai, 2007; Sanseverino és mtsai, 2005, 2009). A szűrt mintákból 20-20 μ L-t fehér, lapos-aljú PS mikrotiter lemezre mértük, majd 180 μ L, frissen előkészített élesztő-inokulumot mértünk rá. Pozitív kontrollként 17 β -ösztradiolt és dihidrotesztoszteront használtunk. A biolumineszcenciát Victor™ X Light 2030 Luminescence Reader (Perkin Elmer, Egyesült Államok) készülékkel mértük 5 óra inkubáció (30 °C) után.

Toxikus stressz kimutatására alkalmas miRNS markerek keresése

A tógazdaságokat érintő analitikai vizsgálatok eredményei alapján 15 tógazdasági mikroszennyező (fluorantén, 4,4-DDE, terbutilazin, trifloxystrobin, buprofezin, difenilamin, tebukonazol, permetrin, spiromezifen, perfluorooktánsav, glifozát, AMPA, propamokarb, piridilil, dietiltoluamid) került kiválasztásra, melyet az OECD 203 (OECD, 2019) szabvány alapján vizsgáltunk első körben, a Halgazdálkodási Tanszék saját szaporítású, toxikus stressztől mentes pontyállományán. A toxikus stresszt az akut vizsgálat eredményeiből meghatározott dózis-hatás görbék alapján számított LC50*1/50-es koncentrációk segítségével váltottuk ki minden egyes mikroszennyező esetében. Az expozíciós idő 14 nap volt, a vizsgálati koncentrációkat félstatikus beállításban kétnaponkénti teljes vízcserével tartottunk fenn a kezeléseket alatt. Az expozíciókat minden anyag esetében 3 ismétlésben, ismétlésenként 15, 3 $\pm$ 0,2 standard testhosszúságú pontyon végeztük el. A kezeléseket végén minden egyedből 3-3- hús és májminta került begyűjtésre Trizol reagensben (MRC), melyekből RNS izolálás történt a gyártó protokollja alapján. Az RNS minták integritásának ellenőrzése Agilent BioAnalyzeren Total Eukaryota RNA Nano reagenssel történt. A kis RNS könyvtár készítése során 1 μ g totál RNS került felhasználásra, a könyvtárak elkészítése a NEBNext Small RNA Library Prep Set for Illumina (New England BioLabs) reagenssel történt a gyártó protokollja alapján. A könyvtárak az Illumina NextSeq 500-as készülékkel kerültek megszekvenálásra. Az újgenerációs szekvenálás során kapott szekvenciák a

ponty referencia genomra (NCBI GENOME ID: 10839) kerültek visszatérképezésre a *NovoAlign* illesztőprogram alapbeállításainak segítségével. A visszatérképezés után, első lépésben meghatározásra kerültek azok a régiók a ponty genomban, ahol legalább 100 illesztett szekvencia volt található, valamint a régiók mérete 17-26 bázispár közé esett. Az így definiált genomi régiók a miRbase adatbázisban elérhető érett mikroRNS szekvenciák alapján voltak annotálhatók szekvencia azonosság alapján. Az annotált régiók kvantifikálása és a szignifikánsan differenciális expresszáldó miRNSek meghatározása a *featureCounts* és *DESeq2* R csomagok alkalmazásával történt. A potenciális markerek validálása stem-loop RT-qPCR módszerrel történt független mintasorozatokon.

Környezeti mikrobiológiai vizsgálatok

A pontytermék tárolhatóságát esetlegesen befolyásoló, környezeti eredetű mikroszervezetek megismerése érdekében hagyományos, tenyésztéses mikrobiológiai vizsgálatokat hajtottunk végre a szakirodalomban ajánlott általános (tripton-glükóz-élesztőkivonat agar), szelektív és differenciáló táptalajok felhasználásával (*Dalgaard és mtsai*, 1996; *Urbanová*, 1999). A környezeti mintákban releváns opportunista mikroszervezetek azonosítása érdekében *Acinetobacter* CHROMagar™ (Franciaország), és *Aeromonas* (LabM, Neogen, Egyesült Királyság) táptalajokat alkalmaztunk, valamint az MSZ 21470-77:1988 szabvány alapján meghatározott protokoll szerint vizsgáltuk a *Pseudomonas aeruginosa* jelenlétét. A lemezöntések 96-120 órás, megfelelő hőmérsékleten történő inkubáció után kerültek leolvasásra. A telepszám leolvasások mellett a típusos telepekből tisztatenyészeteket készítettünk, majd 16S rDNS szekvenáláson alapuló módszerrel (*Radó és mtsai*, 2019) az izolátumokat faj szinten azonosítottuk.

A mikrobióta tenyésztéses eljárással nem elkülöníthető tagjainak detektálása érdekében közösségi, 16S rDNS alapú ujjlenyomat módszert (T-RFLP) alkalmaztunk az intézetünkben adaptált protokoll szerint (*Farkas*, 2017), a hűtve tárolás folyamatának megismerése érdekében pedig 16S rDNS amplikonszekvenálás módszerével azonosítottuk a mikrobaközösséget domináló OTU-kat (operative taxonomic unit – operatív taxonómiai egység).

A halhús eltarthatóságát befolyásoló tényezők vizsgálata

Az arzén és szelén mikroelem vizsgálatokat ponty húskban végeztük, MSZ EN 15763: 2010 és MSZ EN 13805:2002 minta-előkészítési eljárással, EPA Method 6020A:2007 mérési módszerrel. A vizsgált pontyokat élő állapotban, a vizsgálatba bevont hazai halgazdaságokból szereztük be. A mintavételezésekre március-május (tavasz) és szeptember-november (ősz) időszakokban került sor.

A szállítás okozta stresszhatás vizsgálatához a lehalásztást követően hal vágásokat végeztünk az alábbiak szerint:

1. A lehalásztást követő 10 percen belül,
2. 15 perc szállítást követően pihentetés nélkül,
3. 15 perc szállítást és 30 perc pihentetést követően,
4. 120 perc szállítást követően,
5. 120 perc szállítást és 3 óra pihentetést követően.

A szállítás minden esetben tartálykocsiban történt, az élő állatok szállítására vonatkozó előírások betartása mellett. A glikogén, kortizol és kortizon meghatározáshoz a halak mechanikus kábítását követően a testből a törzstájék középső részéből 100 g húst metszettünk ki. A kimetszett mintákat vákuumcsomagoltuk, majd maghőmérsékletüket Nortech QCF 103 (Normann Srl., Fontanafredda, Olaszország) sokkoló/mikrokristályos gyorsfagyasztóban 3 perc alatt -30°C alá csökkentettük és a mérések megkezdéséig fagyasztva tároltuk. A glikogéntartalom meghatározását abcam Glycogen Assay kit II v4 ab169558:2016 (Abcam Plc., Cambridge, Egyesült Királyság) kittel, a kortizol és kortizon meghatározást pedig HPLC-MS/MS mérés technikával végeztük.

A kábítási kísérleteket műanyag kádban végeztük, amelyben egymással párhuzamosan, 65 x 45 cm méretű alumínium lapok kerültek elhelyezésre. A lapok közötti távolság 45 cm. Az egyik lap felületét vékony polietilén fólia borította, abból a célból, hogy elkerüljük az áramkör állat általi rövidre zárását. A lapok potenciometromos ellátott 230 V, 50 Hz transzformátorhoz kapcsolódtak. A kábítást szinuszos váltóárammal, a potenciométerrel beállított 45, 65 és 85 V feszültség értékekkel végeztük 30 másodpercig. Az áramerősség értéke a kábított hal testének ellenállásától függően 20-30 mA között alakult. Egy kábítási művelet alkalmával egy darab hal került a kábítókádba.

A nyers halhúsok mosását, tisztítását 100, 200, 300 ppm szabad klór tartalmú aktív vízben, 0,5, 1,0 és 1,5 %-os H_2O_2 oldatban végeztük 2 és 5 perc időtartamig. Kontroll mintaként a hálózati csapvízben mosott halhúsok szolgáltak. A mosások mikrobiológiai hatásának vizsgálatára a mosásokat követően összcsíraszám meghatározást (MSZ EN ISO 4833-1:2014) végeztünk. A mosást követően a halhúsok klorát és perklorát szermaradvány tartalmát WBSE-103:2015 módszerrel határoztuk meg.

A termékgyártás műveletében pontyfiléket füstöltünk bükk, tölgy és akác fahasábok felhasználásával CS 350 Korax (Kerres Anlagenbau GmbH, Backnang, Németország) kombinált füstölő-hőkezelő berendezésben, hideg (20°C) és meleg (50°C) füstölési technikával, 30, 60, 90, 120, 180 és 360 perc ideig. A füstöléseket követően a halhúsokban a policiklikus aromás szénhidrogén (PAH) vegyületek mennyiségét WBSE-130:2018 mérési módszerrel határoztuk meg. A mérési eredményeket a 835/2011/EU rendelet alapján a benzo(a)antracén, benzo(a)pirén, benzo(b)fluorantén, krizén összes mennyiségére megadott határérték (max. 12 $\mu\text{g/kg}$) értékeltük.

A hosszabb eltarthatósági idő elérését célzó csomagolási kísérlet során az anti-oxidáns hatású alfa-tokoferol hatását vizsgáltuk. Az alfa-tokoferol csomagolóanyagból termékbe történő migrációját ún. tasakos módszerrel vizsgáltuk. Ennek során 150 g (± 15 g) tömegű halfilét, illetve darált és formázott halhús terméket („pontyburger”) vákuumcsomagoltunk 10 μm vastagságú, béta-ciklodextrin-komplexált alfa-tokoferol (Cyclolab Kft., Budapest) tartalmú HDPE csomagolóanyagba (Kalle Hungária Kft., Budapest). A HDPE csomagolóanyag DL-alfa-tokoferol tartalmát kromatográfiás módszerrel, származékképzési eljárással határoztuk meg (67 800 mg/kg). A kísérletben használt HDPE csomagolóanyagból kioldódó nem illékony anyagok összes mennyiségét, valamint a műanyag különböző összetevőinek kioldódását 10%-os etanol élelmiszer-utánzó modellanyaggal vizsgáltuk. A pontyburger-termék esetében 180°C , 10 perc készre sütést követően ASU L

00.00-17, GC/TEA mérési módszer alapján nitrozamin-tartalom meghatározást végeztünk.

Fogyasztói felmérések

A kutatás módszertani megalapozását a fogyasztókutatási alapelveknek megfelelően végeztük (Lakner és mtsai, 2007, Pieniak és mtsai, 2008, Olsen és mtsai, 2014). Első lépésként a fogyasztók otthonában feltártuk a gyakorlatban előforduló, jellegzetes élelmiszerbiztonsági kockázatokat. Tíz háztartásban folytattunk le felmérést, amely során végigkövettük a vásárlás, a hazaszállítás, majd az ételkészítés folyamatát egészen az ételmaradékok kezeléséig. A kiértékelést a Geppert és mtsai (2019) által is alkalmazott kockázat-megfigyelési rendszer halétel készítésére adaptált változatával végeztük. A vizsgálat második eleme reprezentatív (nem, kor, NUTS-2) kérdőíves felmérés (n=1002) keretében tárta fel a pontyhús-fogyasztás mértékét és demográfiai csoportonkénti eloszlását annak érdekében, hogy beazonosíthatók legyenek a kockázati csoportok a mikrobiológiai és kémiai szennyezők viszonylatában. A kutatássorozat harmadik elemeként a pontyot nagy mennyiségben fogyasztó csoport célzott felmérését végeztük el. Ebben a kutatásban 1004 olyan fogyasztót kérdeztünk meg, akik kifejezetten a kockázati csoportba tartoznak a második kutatás eredménye alapján. Klaszteranalízissel szegmentáltuk a mintát a pontyfogyasztás gyakorisága és az egy alkalommal elfogyasztott mennyiség alapján, majd a kitett csoportok esetében kockázatbecslést végeztünk DDT-re, propamokarbra, triadimenolra és linuronra vonatkozóan.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Toxikus stressz kimutatására alkalmas miRNS markerek keresése

Összehasonlítva a vizsgált mikroszennyezők által a májban szabályozott miRNS-eket megállapítható volt, hogy vannak átfedések az egyes mikroszennyezők között az általuk szabályozott miRNS-ekben. A fluorantén és trifloxistrobin egyaránt szignifikáns változást indukált az oldószer kontrollhoz képest 59 miRNS, köztük a miR-9, miR-125a és miR-199 esetében. A permetrin, a fluorantén és a trifloxistrobin mikroszennyezők esetén sikerült olyan miRNS-eket is azonosítanunk, amelyek kizárólag egy mikroszennyező által voltak szabályozottak a vizsgált pontyok májmintáiban. A permetrin indukált NW.017539588.1_58042_58065, a fluorantén által gátolt miR-122-3p, a trifloxistrobin indukált miR-181a kifejeződés stem-loop RT-qPCR módszerrel egyaránt validálható volt független mintasorozaton. Így annak ellenére, hogy nem sikerült a májban olyan miRNS markert azonosítanunk, amelyet minden általunk alkalmazott mikroszennyező szabályozott volna, valamint az egyes mikroszennyezők miRNS kifejeződési mintázatra gyakorolt hatása is jelentős különbségeket mutatott, a permetrin, a fluorantén és a trifloxistrobin esetén sikerült azonosítanunk több olyan miRNS-t, amelyek specifikusan válaszolnak az adott mikroszennyezőre és ezért a későbbiekben potenciálisan mikroszennyező-biomarkerként alkalmazhatóak.

Az izomszövetben sem sikerült olyan miRNS markert azonosítanunk, amelyet

minden általunk alkalmazott mikroszennyező szabályozott volna, valamint az egyes mikroszennyezők miRNS kifejeződési mintázatra gyakorolt hatása ezekben a biológiai mintákban is jelentős különbségeket mutatott. Azonban öt vizsgált mikroszennyező, köztük a difenilamin, a fluorantén, a spiromezifen, a tebukonazol és a trifloxistrobín esetén sikerült olyan miRNS-t azonosítani, amelyek csak egy mikroszennyező esetén mutattak szignifikáns eltérést az oldószer DMSO kontrollal kezelt pontyokból származó izomszövethez viszonyítva. Ezen miRNS-ek közt található a trifloxistrobín indukált miR-181 és az általa gátolt miR-34a, valamint a tebukonazol indukált NC.031707.1_13481756_13481779, melyek kifejeződése stem-loop RT-qPCR módszerrel egyaránt validálható volt független mintasorozaton.

Környezeti mikrobiológiai vizsgálatok

Eredményeink alapján a vizsgálatba vont akvakultúrák mikrobiológiai állapota kiváló volt. Az összes élősejtszám a hazai felszíni vizekre jellemző értékek körül mozgott (10^4 - 10^5 CFU/ml). A célzott tenyésztéses vizsgálatokkal keresett oportunisták mikroorganizmusok közül a kiemelt környezetbiztonsági aggályt keltő mikroszervezetek (*Aeromonas*, *Acinetobacter* nemzetségek képviselői) jellemzően az összes élősejtszám alatt két nagyságrenddel voltak detektálhatók. A humán-egészségügyi szempontból kiemelkedő jelentőségű *P. aeruginosa* mindössze két esetben volt kimutatható elenyésző (10^1 CFU/ml) sejtszámban, míg *Acinetobacter baumannii* nem volt azonosítható.

A haltermék termékpályájának vizsgálata alapján a pontyfelület és a haltenyésztésre szolgáló felszíni víz élősejtszámai között nagyságrendi különbség nem volt, ám a ponty nyálkahártyáján mérhető sejtszám a szállítást követően a tárolótartályban 24 óra alatt két nagyságrendet emelkedett. A halfeldolgozás folyamatában az *Aeromonas* és *Acinetobacter* szelektív táptalajokon növekvő mikroszervezetek végig kimutathatók voltak (1. ábra).

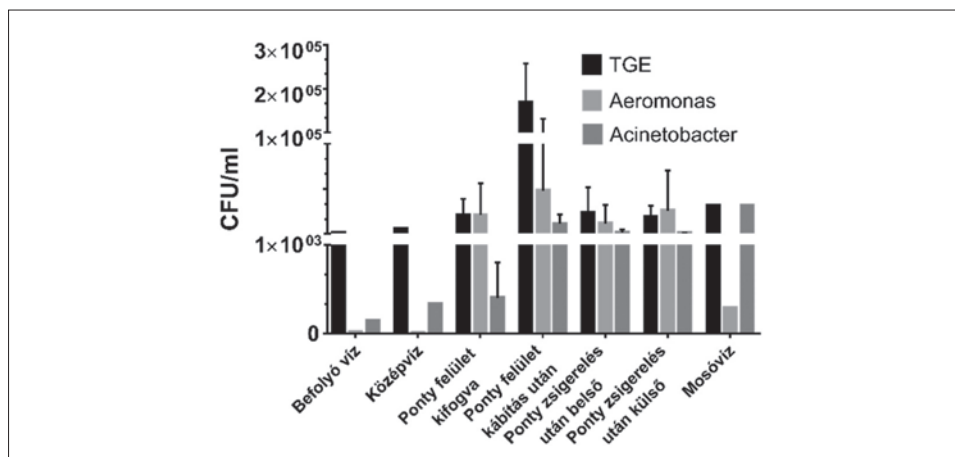
A tárolási folyamat során a 2-4°C-on tárolt filénél és a vákuumcsomagolt halszeletnél tapasztaltuk a legalacsonyabb élősejtszámokat. A vizsgált kezelések (EO víz, hidrogén-peroxid, lizozim, tejsav és ezek kombinációi) környezeti mikrobiológiai szempontból nem befolyásolták szignifikáns mértékben sem a halszeleteken mérhető, környezeti eredetű mikrobaszámot, sem a tenyészthető mikrobaközösség összetételét. A mért eltérések a hagyományos mikrobiológiai vizsgálatok hibahatárán belül voltak.

Az T-RFLP vizsgálatok eredményei alapján a tárolt pontyszelet mikrobaközössége 6-8°C-on a második napra, 2-4°C-on a harmadik napra állandósul és diverzitása lecsökken. A tárolási folyamat végére az *Enterobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Aeromonas*, *Brochothrix*, *Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Shewanella* és a *Pseudomonas* nemzetségek dominanciája figyelhető meg (2. ábra).

Az amplikonszekvenálás eredményei alapján, a T-RFLP és tenyésztéses mikrobiológiai vizsgálatok eredményeivel összhangban megállapítottuk, hogy a hűtve tárolás folyamatának végén (3. nap) a tárolási hőmérséklettől és vákuumcsomagolástól függetlenül a *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Psychrobacter* és *Brochothrix* nemzetségek dominanciája figyelhető meg (3. ábra).

A tenyésztéses mikrobiológiai vizsgálatok alapján a 16S rDNS molekuláris biológiai vizsgálatok feltárták a haltermék romlásában feltételezhetően szerepet

1. ábra A tógazdasági felszíni víz minták és a ponty feldolgozása folyamán mérhető élősejtszámok változása



TGE: tripton-glükóz-élesztőkivonat táptalaj; CFU: telepkepző egység

Figure 1. Changes in surface water samples of aquacultures and the viable cell counts during carp processing

TGE: tryptone glucose yeast extract medium; CFU: colony-forming unit

2. ábra A hűtve tárolt ponty mikrobaközösségének idősoros változása különböző hőmérsékleten történő tárolás során, T-RFLP ujjlenyomatmódszer alapján

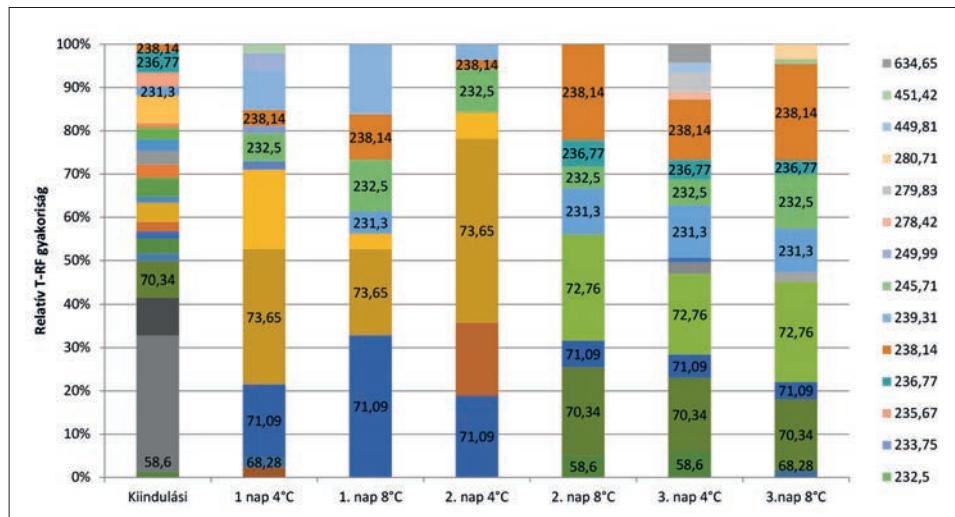


Figure 2. Time-series change of the microbial community of common carp during chilled storage at different temperatures, based on the T-RFLP fingerprinting method

3. ábra A pontyfilé tárolási folyamatának 3. napján, amplikonszekvenálással azonosított, domináns baktériumnemzetségek

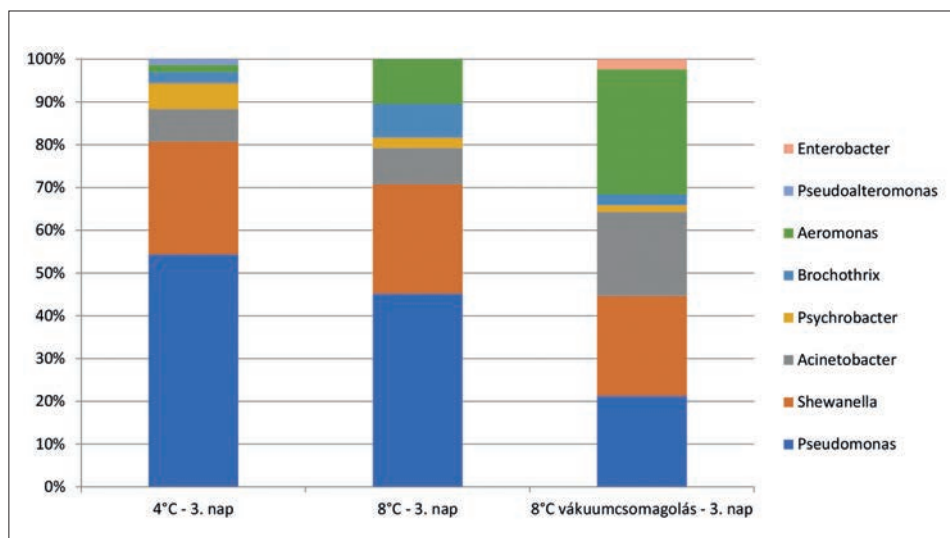


Figure 3. The dominant bacterial genera identified by amplicon sequencing on the 3rd day of chilled storage of carp fillet

játszó nemzetségeket, melynek képviselői az alábbi fajok: *Aeromonas* – *A. veronii*/*ichthiosmia*, *A. salmonicida*; *Acinetobacter* – *A. oryzae*; *Shewanella* – *S. baltica*, *S. putrefaciens*; *Pseudomonas* – *P. azotoformans*, *P. lactis*, *P. psychrophila*. A humánegészségügyi jelentőséggel is bíró *Acinetobacter baumannii* és *Pseudomonas aeruginosa* célzott kimutatására irányuló elemzések alapján a két opportunistá patogén baktérium faj előfordulása a vizsgált tavi környezetben és a pontyból készült filé tárolásának folyamatában elhanyagolható.

A halhús eltarthatóságát befolyásoló tényezők vizsgálata

A vizsgált hazai halastavakból származó halak húzában az arzén tartalom 0,04-0,20 mg/kg, a szelén tartalom pedig 0,08-0,20 mg/kg közötti értékeket mutatott (1. táblázat). Halhúsokra vonatkozóan jelenleg nincs szabályozás ezen elemek tekintetében. Összehasonlításként: a hatályban lévő 1881/2006/EK rendeletet módosító 2015/1006/EK rendeletben az előfőzött, hántolt rizs maximálisan megengedhető arzén tartalma 0,20 mg/kg. Az eredményekkel kapcsolatban fontos megjegyezni, hogy az élelmiszerekben az arzén szerves vegyületek formájában fordul elő, amelyek sokkal kevésbé veszélyesek, mint a szervetlen formák és nem halmozódnak fel a szervezetben.-

A halhúsban a vágás után 24 órával mért végső pH értékek negatív korrelációt mutattak a glikogén mennyiségével (4. ábra). A pH szerepe a halhúsok eltarthatósága szempontjából nagy jelentőséggel bír: a kisebb pH érték hosszabb és biztonságosabb eltarthatóságot jelent. A legkisebb pH értékeket (pH 6,60) két esetben tapasztaltuk: a) amikor a halak a lehalásztást követően 10 percen belül

vágásra kerültek, b) amikor 120 perc szállítást 3 óra pihentetést követően kerültek vágásra. A szállítási időtartam és a stresszhatást jelző kortizol mennyiségét vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a 120 percig tartó szállítás hatására a kortizolszint a nyugalmi érték (26,6 µg/kg) több mint négyszeresére nőtt (124,7 µg/kg). A kábítóáram feszültségét (U) vizsgálva a nagyobb kábító feszültség (85 V) és a vágást megelőző pihentetés együttesen vörösebb, friss húsról jellemzőbb színt eredményezett, mint a kisebb feszültség és pihentetés nélküli kombinációban vágott halak húsa (5. ábra).

Az üzemi gyakorlatban alkalmazott csapvizet mosáshoz képest mind az aktív vizes, mind a H₂O₂ mosóoldatok esetében 1,0-2,0 CFU/g nagyságrendnyi összcsíraszám-csökkenés mutatkozott. Az aktív vizes mosási kísérletben a halhúson maradó klorát mennyisége 0,014-0,236 mg/kg között alakult, míg a perklorát mennyisége kimutathatósági szint (< 0,01ppm) alatt maradt.

A füstből a halhúsról jutó PAH vegyületek (benzo(a)antracén, benzo(a)pirén, benzo(b)fluorantén, krizén) mennyisége a pontyfiléken a bűk és tölgyfával történő füstölések esetén a leghosszabb, 360 percen (6 óra) át tartó füstölés esetén is a 835/2011/EU rendeletben meghatározott egészségügyi határérték (<12 µg/kg) alatt alakult. Az akáccal történő füstölés során azonban a PAH vegyületek mennyisége már a füstölés 90. percében közel kétszeres mennyiségben (23,3 µg/kg) meghaladta a határértéket. A meleg füstölések esetében a 30 perctől a halhúsokban fehérjedenaturáció volt megfigyelhető.

A hosszabb eltarthatósági idő elérését célzó csomagolási kísérlet során azt tapasztaltuk, hogy a halhús és darált halhús DL-alfa-tokoferol-tartalma telítési görbével leírhatóan, a kiindulási 9-16 mg/kg értékről az 1 hétig tartó tárolás végére 116-164 mg/kg-ra nőtt. Az avasodás mértékét jelző tiobarbitursav (TBA) szám ezzel fordított arányban változott, ami a termékekbe migrált DL-alfa-tokoferol antioxidáns hatásának eredménye.

A kísérletben használt α-tokoferol-tartalmú csomagolóanyagból kioldódó nem illékony anyagok, fémek és rákkeltő primer aromás aminok mennyisége kimutat-

1. táblázat

Hazai halgazdaságokból, tavaszi és őszi időszakban lehalászott pontyhúsok arzén- (As) és szelén- (Se) tartalma

Mintavételezési időszak (1):		Tavaszi (2)				
	Csongrád	Hajdú-Bihar	Nógrád	Somogy 1.	Somogy 2.	Tolna
As (mg/kg)	0,06	0,06	0,04	0,11	0,08	0,04
Se (mg/kg)	0,15	0,15	0,10	0,11	0,12	0,12
Mintavételezési időszak (1):		Ősz (3)				
	Csongrád	Hajdú-Bihar	Nógrád	Somogy 1.	Somogy 2.	Tolna
As (mg/kg)	0,20	0,12	0,05	0,10	0,05	0,10
Se (mg/kg)	0,19	0,16	0,18	0,08	0,09	0,20

Table 1. Arsenic (As) and selenium (Se) content of carp meat harvested from domestic fish farms in spring and autumn

sampling period (1); spring (2); autumn (3)

4. ábra A pontyhús glikogéntartalmának (mg/kg) és a kialakuló végső pH értékének összefüggése

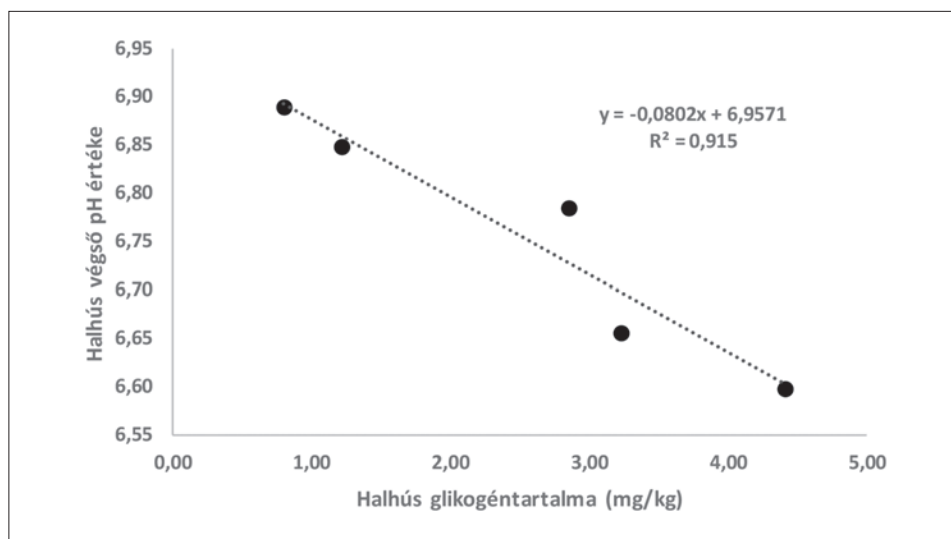


Figure 4. Correlation between the glycogen content (mg/kg) of carp meat and the final pH

hatósági szint alatt volt, így az élelmiszerbiztonsági szempontól biztonságosnak tekinthető. A készre sült pontyburgerekben az N-nitrozo-dibutil-amin, N-nitrozo-dietil-amin, N-nitrozo-dimetil-amin, N-nitrozo-di-n-propil-amin mennyisége kimutathatósági határ alatt volt ($<0,5 \mu\text{g/kg}$).

Fogyasztói felmérések

A háztartási felmérések eredményei alapján azonosítottuk a leggyakrabban előforduló helytelen élelmiszerbiztonsági gyakorlatokat, melyek az alábbiak voltak:

- A háztartások mindegyikében problémát okozott a meleg vízzel és szappannal történő kézmosás elmaradása, rendszertelensége.

- A háztartások 90%-ánál helytelenül történt a lefagyasztott ponty és más élelmiszerek felengedtetése.

- Az interjúalanyok 80%-a megmosta a halat az ételkészítés kezdetén, mely az egyik legjelentősebb, keresztszennyeződéshez köthető kockázat.

Az 1000 fős, reprezentatív kérdőíves felmérés legfőbb eredményei a következőképpen alakultak:

- Egy átlagos magyar felnőtt 2,49 kg pontyhúst fogyaszt évente.

- A fogyasztási szokásokban szélsőséges eloszlás figyelhető meg: a legtöbb pontyot fogyasztó klaszter („Ponty fanatikuskok”, 26,86 kg/fő/év) a legkevesebb pontyot fogyasztó klaszter („Finnyás fiatalok”, 0,19 kg/fő/év) által elfogyasztott pontyhús mennyiségének több mint 140-szeresét fogyasztja évente.

- Az általunk becsült pontyfogyasztási alkalmak száma évi 10,96 alkalom/fő (leggyakoribb válaszok: évente 1-2 alkalommal), az egy alkalommal elfogyasztott ponty mennyisége 210,68 g (175-232 g/alkalom).

5. ábra Pontyfilék vizuális megjelenése különböző feszültséggel végzett elektromos kábítás és pihentetés kombinációk esetén

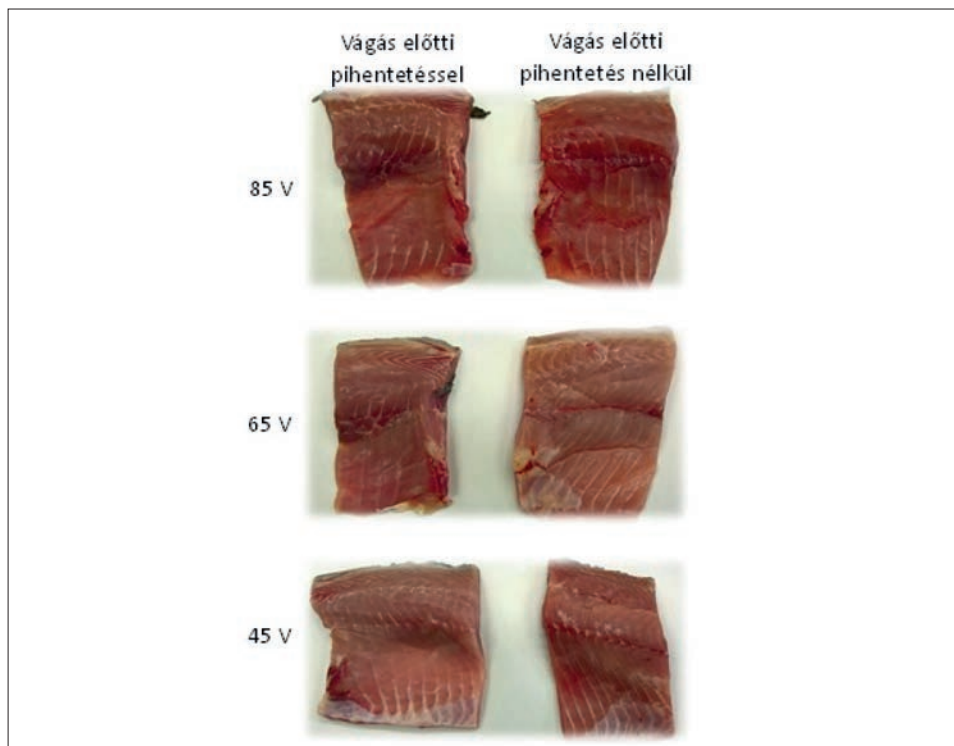


Figure 5. The visual appearance of carp fillets in combinations of electrical stunning at different voltages and different resting times

- Három beazonosított klaszter esetében fordulhat elő nagyobb kitettség („Horgászok”, „Jó étvágyúak”, „Ponty fanatikusok”) a pontyfogyasztással összefüggő élelmiszerbiztonsági kockázatokat illetően, így az ő további vizsgálatukat szükségesnek tartottuk, és el is végeztük.

A nagyobb kitettségű csoportokba tartozó, „extrém” halfogyasztókat célzó 1000 fős kérdőíves felmérés főbb megállapításai:

- Az extrém halfogyasztók körében az átlagos éves pontyfogyasztás 4,81 kg/fő/év.

- E válaszadók átlagosan évi 19,93 alkalommal fogyasztanak pontyot (leggyakoribb válaszok: évente 6-8 alkalommal), alkalmanként átlagosan 241,77 g (módusz: 298 g) mennyiségben.

- A klaszteranalízis eredményeképp a magyar extrém fogyasztók 4 alcsoportját tudtuk elkülöníteni a fogyasztási gyakoriság és az alkalmanként elfogyasztott mennyiség szerint: „Jó étvágyúak”, „Az átlagos pontykedvelő”, „Fiatal pontykedvelők” és „Ponty fanatikusok.”

- A kémiai kockázatbecslés alapján elmondható, hogy az élelmiszerekkel bevitt DDT mennyisége lehetséges kockázatot jelent minden alcsoport számára, de a

rákos megbetegedések kialakulásának kockázatát nagyon nagy valószínűséggel nem emeli a bevitt mennyiség.

- A többi vizsgált növényvédőszer-maradék esetében nincsen kockázat.

A kémiai analitikai mérések közel 700 paraméter vizsgálatára terjedtek ki, ezek között egyedülállóan több, mint 450 peszticid hatóanyagra és metabolitra, valamint 110 gyógyszer hatóanyagra történtek mérések. Összességében a 7 tó vizében 12 peszticidet (tebukonazol, ciprokonazol, boszkalid, dimoxistrobin, epoxikonazol, klórtoluron, izoproturon, glifozát, terbutilazin, metolaklór, metazaklór, metszulfuron-metil), 1 rovar repellens anyagot (DEET) és 3 peszticid-bomlásterméket (deizopropil-atrazin, 4'-DDE, AMPA) detektáltunk. A vízből kimutatható volt 6 gyógyszermaradvány (acetaminofén, jopromid, jopamidol, flumekvin, karbamazepin, szulfametoxazol). Az üledékben csupán a glifozát peszticidet és bomlástermékét (AMPA) mutattuk ki, gyógyszereket nem.

Az akut és krónikus *Allivibrio fischeri* biolumineszcencia gátlási teszt eredményei alapján a vizsgált víz és iszapminták egyike sem bizonyult citotoxikus hatásúnak. A minták továbbá egy esetben sem gyakoroltak induktív hatást a BLYES és BLYAS tesztszervezetek fénykibocsátására, azaz ösztrogén, ill. androgénhatás nem volt kimutatható.

A detektált peszticidek és gyógyszerhatóanyagok koncentrációja minden esetben csak az igen alacsony kimutatási határ körül alakult, egészségügyi kockázatokról tehát nem beszélhetünk. A vizsgált halastavak vízszennyezettségi paraméterei a peszticidek tekintetében a legtöbb esetben még az ivóvíz határértékeket is kielégítik, a halastavi környezetben folytatott ökototoxicitási vizsgálatok nem tártak fel ökológiailag káros hatásokat.

KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Mikroszennyező-terheltség és ökotoxikológiai állapotfelmérés

A halastavak vizéből detektált gyógyszermaradványok és növényvédő szerek forrását feltételezhetően az azokat tápláló vízfolyások diffúz terhelései, illetve a termelési technológiákhoz köthető anyagbevitelük jelentik. Az üledékekből gyógyszerhatóanyagokat egyáltalán nem, a peszticidek közül pedig csak a Magyarországon legnagyobb mennyiségben forgalmazott és felhasznált glifozátot és metabolitját (AMPA) lehetett kimutatni. Eredményeink is utalnak a vegyület hazai túlhasználatára, amit a szabad forgalmi kategóriába sorolás, ill. az állományszáritásra való alkalmazás szigorításával lehetne ellensúlyozni. A jövőben javasolható a rendszeres halastavi monitoring folytatása, az értékelésbe vonható mintaszámok növelése.

Toxikus stressz kimutatására alkalmas miRNS markerek keresése

Vizsgálataink során sem a májban, sem az izomszövetben nem találtunk olyan miRNS-t, amely általános biomarkerként lenne alkalmazható a vizsgált xenobiotikum csoport esetén. Azonban több olyan miRNS-t is azonosítottunk, amely a májban és/vagy az izomszövetben szignifikáns különbséget mutatott egy-egy mikroszennyező kezelést követően. Mivel ezek a markerek specifikusan

válaszolnak az adott mikroszennyezőre, ezért a későbbiekben potenciálisan mikroszennyező-biomarkerként alkalmazhatóak lesznek, azonban ehhez még további tesztek szükségeltetnek.

Környezeti mikrobiológiai vizsgálatok

Eredményeink összhangban állnak a szakirodalomban fellelhető információkkal, miszerint a mikrobaközösség a ponty hűtve tárolásának első napjaiban intenzív változáson megy keresztül. A hazai ponty mikrobiológiai állapotának stabilizálódása eredményeink alapján 72 óra elteltével történik meg. A már ismert pszichrofil, élelmiszerekben szerepet játszó mikroorganizmusok, mint a *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter* és a *Shewanella* (Gram és Huss, 1996) jelentősége a hazai tárolt pontyfilé esetében is megfigyelhető, kiegészülve a *Brochothrix*, *Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas* és *Aeromonas* nemzetségekkel. Az érzékelhető romlás és ezzel a termék elutasítása általában 10^7 - 10^9 CFU/g sejtszám mellett következik be (Mikš-Krajnik és mtsai, 2016), mely alapján a vizsgált termék eltarthatósága eredményeink alapján jelentősen hosszabb vákuumcsomagolt formában és ideális (2-4°C) tárolási hőmérsékleten. A jövőben a projekt keretében létrehozott törzsgyűjtemény további, célzott vizsgálatokra nyújt lehetőséget a pontyfilé eltarthatóságát célzó tárolási paraméterek optimalizálása érdekében.

A halhús eltarthatóságát befolyásoló tényezők vizsgálata

A kutató munka során vizsgált pontyfeldolgozás folyamatában a szállítás okozta stressz és kábítás paraméterei a halhús glikogéntartalmán keresztül hatással vannak a friss halhús eltarthatóságára, minőségére és élvezeti értékére egyaránt. Ezért a feldolgozás során nagy jelentősége van mind a vágás előtti pihentetésnek, mind a kábítási módjának és paramétereinek.

A klorát és perklorát szermaradványokra tekintettel, valamint a halhús érzékszervi tulajdonságai alapján a halhúsok és testek tisztítására használt oldatok közül a legkisebb koncentrációkat javasoljuk. Az aktív víz esetében kimutatható mennyiségű klorát szermaradvány jelenlétével kell számolni, ezért alkalmazása esetén ennek eltávolításáról, pl. plusz öblítés beiktatásával gondoskodni kell.

A policiklikus aromás szénhidrogén vegyületekre vonatkozó 835/2011/EU rendelet alapján a füstölési időtartamot a használt fajok esetében 60 percben maximalizáljuk és a nyers, füstölt pontyfilétermék szempontjából a hideg (20°C) füstölési technikát javasoljuk. A vágott haltestek és filék mosására használt oldatok mikrobiológiai szempontból hatásosnak bizonyultak a csapvizet mosáshoz képest.

A pontyfilé- és pontyburgertermékek csomagolására használt alfa-tokoferol- (E vitamin) tartalmú csomagolóanyag a migrációs teszt alapján hatásosnak bizonyult, ami jellemzően a nagyobb zsírtartalmú pontyburgertermék esetében az egyik jellemző fizikai romlási folyamat, az avasodás megelőzésében játszik szerepet.

Fogyasztói felmérések

Hazánkban a halfogyasztás mértéke az Európai Unió átlag alatti, ennek ellenére jelen vannak olyan fogyasztói csoportok, amelyek tagjai extrém pontyfogyasztók.

Az elvégzett kockázatbecslés alapján megállapítható, hogy a pontyhús-fogyasztás még extrém esetben sem okozza az egészségügyi kockázatokszignifikáns növekedését. Az esetlegesen előforduló alacsony kockázatot pedig messzemenőig ellensúlyozzák a pontyfogyasztás szakirodalomból ismert pozitív élettani hatásai (Rödler, 2004). Az empirikus kutatás során feltárt helytelen háztartási gyakorlatokat célzott kockázatkommunikációval lehet jó irányba terelni (Kasza és mtsai, 2013). E tekintetben különösen fontos a gyermekkori szemléletformálás, valamint a kiemelt halfogyasztók és a horgászok célzott elérése.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Munkánkat a Nemzeti Versenyképességi és Kiválósági Program (NVKP_16-1-2016-0023, HappyFish) projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg. A kutatómunka megvalósításához az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt és az NKFIH-831-10/2019 Tudományterületi Kiválósági Program is hozzájárult.

IRODALOMJEGYZÉK

- 1881/2006/EK rendelet az élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékeinek meghatározásáról
- 2015/1006/EK rendelet az 1881/2006/EK rendeletnek az élelmiszerekben előforduló szervesetlen arzén mennyiségének felső határértékei tekintetében történő módosításáról
- 44/2000. (XII. 27.) EüM rendelet a veszélyes anyagokkal és a veszélyes készítményekkel kapcsolatos egyes eljárások, illetve tevékenységek részletes szabályairól
- 835/2011/EU rendelet az 1881/2006/EK rendeletnek az élelmiszerekben előforduló policiklikus aromás szénhidrogének felső határértékei tekintetében történő módosításáról
- Bartel, D. P. (2004): MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116. 281–297.
- Dalgaard, P. – Mejholm, P. – Huss, H. H. (1996): Conductance method for quantitative determination of Photobacterium phosphoreum in fish products. *J. Appl. Bacteriol.*, 81. 57–64.
- Eldridge, M. L. – Sanseverino, J. – Layton, A. C. – Easter, J. P. – Schultz, T. W. – Saylor, G. S. (2007): *Saccharomyces cerevisiae* BLYAS, a new bioluminescent bioreporter for detection of androgenic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73. 6012–6018.
- Farkas, M. (2017): Monoaromás szénhidrogének mikrobiális lebontása oxigénlimitált közegekben. Disszertáció, Szent István Egyetem, Gödöllő 119.
- Fyfe, I. (2020): MicroRNAs - diagnostic markers in Parkinson disease? *Nat. Rev. Neurol.*, 16., 65.
- Geppert, J. – Struchtrup, S. S. – Stamminger, R. – Haarhoff, C. – Ebert, V. – Kock, S. – Lohmann, M. – Böhl, G. F. (2019): Food safety behaviour observed in German TV cooking shows. *Food Control*, 96. 205–211.
- Gram, L. – Huss, H. H. (1996): Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.*, 33. 121–137.
- Griz, K. (2001): Környezettoxikológia. Műgyetemi Kiadó, Budapest, 158.
- Háhn, J. – Szoboszlai, S. – Tóth, G. – Kriszt, B. (2017). Assessment of bacterial biodegradation of herbicide atrazine using *Alivibrio fischeri* cytotoxicity assay with prolonged contact time. *Ecotoxicology*, 26. 648–657.
- Hoffman, D. – Rattner, B. – Burton, A. – Cairns, J. (2003): Handbook of Ecotoxicology. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1290.
- Huntzinger, E. – Izaurralde, E. (2011): Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Nat. Rev. Genet.*, 12. 99–110.

- Kasza, Gy. – Józwiak, Á. – Bódi, B. – Zsoldos, L. – Lakner, Z. (2013): Élelmiszerlánc-biztonsági stratégia: kihívások és elvárások. A stratégia megalapozását szolgáló felmérések legfontosabb tapasztalatai. *Magy. Állatorvosok*, 135. 481–493.
- Lakner, Z. – Hajdú, I. – Bánáti, D. – Szabó, E. – Kasza, Gy. (2007): The application of multivariate statistical methods for understanding food consumer behaviour. *Studies in Agricultural Economics*, 105. 59–70.
- Mahmoud, B. S. M. – Yamazaki, K. – Miyashita, K. – Il-Shik, S. – Dong-Suk, C. – Suzuki, T. (2004): Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiol.*, 21. 657–666.
- Mikš-Krajník, M. – Yoon, Y. J. – Ukuku, D. O. – Yuk, H. G. (2016): Volatile chemical spoilage indexes of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) stored under aerobic condition in relation to microbiological and sensory shelf lives. *Food Microbiol.*, 53. 182–191.
- Miyashiro, T. – Ruby, E. G. (2012): Shedding light on bioluminescence regulation in *Vibrio fischeri*. *Mol. Microbiol.*, 84. 795–806.
- MSZ 21470-77 (1988): Környezetvédelmi talajvizsgálatok. Mikrobiológiai vizsgálatok.
- Newman, M. C. (2015): *Fundamentals of Ecotoxicology*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 633.
- Odeyemi, O. A. – Alegbeleye, O. O. – Strateva, M. – Stratev, D. (2020): Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety*, 19. 311–331.
- OECD (2019): Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OECD Publishing, Paris, France.
- Ojha, R. – Nandani, R. – Chatterjee, N. – Prajapati, V. K. (2018): Emerging role of circular RNAs as potential biomarkers for the diagnosis of human diseases. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1087. 141–157.
- Olsen, N. V. – Røssvoll, E. – Langsrud, S. – Scholderer, J. (2014): Hamburger hazards and emotions. *Appetite*, 78. 95–101.
- Pieniak, Z. – Verbeke, W. – Scholderer, J. – Brunsø, K. – Olsen, S. O. (2008): Impact of consumers' health beliefs, health involvement and risk perception on fish consumption. *Brit. Food J.*, 110.
- Popp, J. – Váradi, L. – Békefi, E. – Péteri, A. – Gyalog, G. – Lakner, Z. – Oláh, J. (2018): Evolution of integrated open aquaculture systems in Hungary: results from a case study. *Sustainability*, 10. 177.
- Radó, J. – Kaszab, E. – Benedek, T. – Kriszt, B. – Szoboszlai, S. (2019): First isolation of carbapenem-resistant *Acinetobacter beijerinckii* from an environmental sample. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, 66. 113–130.
- Robinson, L. – Thorn, I. (2005): *Toxicology and Ecotoxicology in Chemical Safety Assessment*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, 157.
- Ródlér, I. (2004): *Táplálkozási ajánlások a magyarországi felnőtt lakosság számára. Országos Egészségfejlesztési Intézet, Budapest.*
- Sanseverino, J. – Eldridge, M. L. – Layton, A. C. – Easter, J. P. – Yarbrough, J. – Schultz, T. W. – Sayler, G. S. (2009): Screening of potentially hormonally active chemicals using bioluminescent yeast bioreporters. *Toxicol. Sci.*, 107. 122–134.
- Sanseverino, J. – Gupta, R. K. – Layton, A. C. – Patterson, S. S. – Ripp, S. A. – Saidak, L. – Simpson, M. L. – Schultz, T. W. – Sayler, G. S. (2005): Use of *Saccharomyces cerevisiae* BLYES expressing bacterial bioluminescence for rapid, sensitive detection of estrogenic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71. 4455–4460.
- Schraml, E. – Hackl, M. – Grillari, J. (2017): MicroRNAs and toxicology: A love marriage *Toxicol. Rep.*, 4. 634–636.
- Sterniša, M. – Mraz, J. – Možina, S. (2016): Microbiological aspects of common carp (*Cyprinus carpio*) and its processing – relevance for final product quality: a review. *Aquacult. Int.*, 24. 1569–1590.
- Urbanová, E. (1999): Selective medium for primary isolation of members of the tribe Proteaceae. *Folia Microbiol.*, 44. 629–634.
- Walker, C. (2014): *Ecotoxicology - Effects of pollutants on the Natural Environment*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 209.

Érkezett: 2020. szeptember

Szerzők címe: Urbányi B. - Bernáth G. - Csenki-Bakos Zs. - Bock I.

Szent István Egyetem, Halgazdálkodási Tanszék

Authors' address: Szent István University, Department of Aquaculture

H-2100 Gödöllő, Páter K. 1.

Urbanyi.Bela@szie.hu

Kriszt B. - Szoboszlai S. - Kaszab E. - Háhn J.

Szent István Egyetem, Környezetbiztonsági és Környezettoxicológiai Tanszék

Szent István University, Department of Environmental Safety and Ecotoxicology

H-2100 Gödöllő, Páter K. 1.

Czimmerer Zs.

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

University of Debrecen, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry and Molecular Biology

H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

Jónás G. - Friedrich L.

Szent István Egyetem, Hűtő és Állattermék Technológiai Tanszék

Szent István University, Department of Refrigeration and Livestock Product Technology

H-1118 Budapest, Villányi út 29-43.

Kasza Gy. - Csenki E. - Izsó T.

Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal

National Food Chain Safety Office

H-1024 Budapest, Keleti Károly út 24.

Palotás P.

Fishmarket Kft.

Fishmarket Ltd.

H-2040 Budaörs, Törökbálinti út 23.

Rákóczi K.

Innoprofit Kft.

Innoprofit Ltd.

H-2030 Érd, Budai út 3.

Nyíró-Fekete B. - Micsinai A. - Zanathy L.

Wessling Hungary Kft.

Wessling Hungary Ltd.

H-1045 Budapest, Anonymus u. 6.