

ISSN 0494-9846
UDK 664.9:614.31: 637.5(05)

tehnologija mesa

meat technology

God.

Br.

Beograd,

55

1

2014

Vol.

No.

Belgrade,

Osnivač i izdavač – FOUNDER AND PUBLISHER
INSTITUT ZA HIGIJENU I TEHNOLOGIJU MESA, BEOGRAD
INSTITUTE OF MEAT HYGIENE AND TECHNOLOGY

TEHNOLOGIJA MESA je naučni časopis koji objavljuje rezultate osnovnih i primenjenih istraživanja u oblasti biotehničkih nauka, odnosno grana: veterinarstvo, prehrambeno inženjerstvo i biotehnologija.

Meat Technology is the scientific journal that publishes results of basic and applied research in the field of biotechnical sciences i.e. the following subcategories: veterinary sciences, food engineering and biotechnology.

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD

Prof. dr Milan Ž. Baltić

Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Republika Srbija
Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, Republic of Serbia

Dr Andrzej Borys

Institut za istraživanje mesa i masti, Varšava, Poljska
Meat and Fat Research Institute, Warszawa, Poland

Prof. dr Sava Bunčić

Poljoprivredni fakultet, Department za veterinarsku medicinu,
Novi Sad, Republika Srbija
Faculty of Agriculture, Department for Veterinary Medicine, Novi Sad,
Republic of Serbia

Prof. dr Luca Cocolin

Poljoprivredni fakultet, Katedra za eksploataciju i zaštitu agrikulturalnih i
šumskih resursa, Sektor za mikrobiologiju, Torino, Italija
Faculty of Agriculture, DIVAPRA, Torin, Italy

Prof. dr Radoslav Grujić

Tehnološki fakultet, Banja Luka, Bosna i Hercegovina
Faculty of Technology, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

Prof. dr Andrej B. Lisicin

Sveruski istraživački institut za meso, Moskva, Rusija
The All-Russian Meat Research Institute, Moscow, Russia

Dr Vesna Matekalo-Sverak

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Republika Srbija
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Republic of Serbia

Prof. dr Milica Petrović

Poljoprivredni fakultet, Beograd, Republika Srbija
Faculty of Agricultural Science, Belgrade, Republic of Serbia

Dr Zlatica Pavlovski

Institut za stočarstvo, Beograd, Republika Srbija
Institute of Animal Husbandry, Belgrade, Republic of Serbia

Prof. dr Radomir Radovanović

Poljoprivredni fakultet, Katedra za tehnologiju animalnih proizvoda,
Beograd, Republika Srbija
Faculty of Agriculture, Department for Technology of Animal Products,
Belgrade, Republic of Serbia

Prof. dr Ilija K. Vuković

Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Republika Srbija
Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, Republic of Serbia

Dr Milan Ristić

Penzionisan, Max Rubner Institut, Savezni istraživački zavod za ishranu i
životne namirnice, Kulmbach, Nemačka
Retired, Max Rubner Institute, Federal Research Centre for Food and
Nutrition, Kulmbach, Germany

Dr Vesna Đorđević

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Republika Srbija
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Republic of Serbia

Dr Dragan Rogan

Univerzitet Guelph, Katedra za patobiologiju, Ontario, Kanada
University of Guelph, Department of Pathobiology, Ontario, Canada

Dr Galia Zamaratskia

Švedski univerzitet za poljoprivredne nauke, Department za nauku o hrani,
Upsala, Švedska
Swedish University of Agricultural Science, Department of Food Science,
Uppsala, Sweden

Dr Aurelija Spirić

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Republika Srbija
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Republic of Serbia

Dr Slobodan Lilić

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Republika Srbija
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Republic of Serbia

Prof. dr Mitre Stojanovski

Fakultet za biotehničke nauke, Bitolj, Republika Makedonija
Faculty of Biotechnical Sciences, Bitola, Republic of Macedonia

Prof. dr Zlatko Pejkovski

Fakultet za poljoprivredne nauke i hranu, Skoplje, Republika Makedonija
Faculty of Agricultural Science and Food, Skopje, Republic of Macedonia

Dr Jasna Đinović-Stojanović

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Republika Srbija
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Republic of Serbia

Prof. dr Klaus Troeger

Max Rubner Institut, Savezni istraživački zavod za ishranu i životne
namirnice, Kulmbach, Nemačka
Max Rubner Institute, Federal Research Centre for Food and Nutrition,
Kulmbach, Germany

Dr Dragan Miličević

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Republika Srbija
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Republic of Serbia

Prof. dr Fredie Schwägele

Max Rubner Institut, Savezni istraživački zavod za ishranu i životne
namirnice, Kulmbach, Nemačka
Max Rubner Institute, Federal Research Centre for Food and Nutrition,
Kulmbach, Germany

Prof. dr Božidar Žlender

Biotehnički fakultet, Katedra za hranu, istraživanja i tehnologiju, Ljubljana,
Republika Slovenija
Faculty of Biotechnology, Department of Food, Science and Technology,
Ljubljana, Republic of Slovenia

Prof. dr Miloš Pavlović

Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Republika Srbija
Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, Republic of Serbia

Dr Irina Černuha

Sveruski istraživački institut za meso, Moskva, Rusija
The All-Russian Meat Research Institute, Moscow, Russia

Dr Branko Velebit

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Republika Srbija
Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Republic of Serbia

Dr Dragojlo Obradović

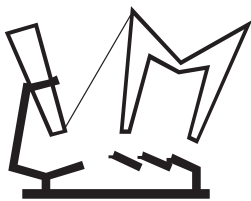
Poljoprivredni fakultet, Katedra za tehnološku mikrobiologiju, Beograd,
Republika Srbija
Faculty of Agriculture, Department for Technological Microbiology,
Belgrade, Republic of Serbia

Rukopisi prispeli za štampanje obavezno podležu recenziji. Redakcija časopisa „Tehnologija mesa“ zadržava pravo da rukopise prilagodi usvojenom stilu časopisa ili da ih vrati autorima radi ispravke. Institut ne preuzima bilo kakvu odgovornost za postavke navedene u člancima „Tehnologije mesa“. Rukopisi se ne vraćaju. Časopis se objavljuje u dva broja godišnje. Reprodukovanje časopisa nije dozvoljeno.

Manuscripts submitted for publishing are subject to reviewing. The Editorial staff of the journal „Tehnologija mesa“ reserves the right of editing manuscripts in order to conform with the adopted style of the journal or to return them to authors for revision. The Institute is not responsible for the statements and opinions expressed in the articles published in the „Tehnologija mesa“ journal. The manuscripts are not sent back. Journal is published two times a year. Reprinting of the Journal is not permitted.

Časopis „Tehnologija mesa“ je u vidu apstrakta dat u FSTA (Food Science and Technology Abstracts), SCIndeksu i na www.inmesbgd.com, a u celini u CABI bazi podataka, EBSCO Publishing i AGRIS bazi podataka.

Journal „Tehnologija Mesa“ is abstracted in FSTA (Food Science and Technology Abstracts), SCIndexs (Serbian Citation Index) and www.inmesbgd.com. Full text is available in CABI Database, EBSCO Publishing and AGRIS Database.



ISSN 0494-9846
UDK: 664.9:614.31:637.5(05)

tehnologija mesa

naučni časopis

OSNIVAČ I IZDAVAČ

**Institut za higijenu i
tehnologiju mesa**

11000 Beograd, Kačanskog 13
P. fah 33-49
Tel. 011/ 2650-655
Telefax 011/ 2651-825
e-mail: institut@inmesbgd.com
www.inmesbgd.com

DIREKTOR
Dr Vesna Matekalo-Sverak

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK
Dr Aurelija Spirić

UREDNICI TEMATSKIH OBLASTI

Dr Slobodan Lilić – tehnologija, kvalitet
i bezbednost mesa, proizvoda od mesa

Dr Branko Velebit – mikrobiologija

Dr Vesna Matekalo-Sverak – aditivi,
začini, dodatni sastojci i sl.

Dr Aurelija Spirić – hemijske metode
ispitivanja

LEKTOR ZA SRPSKI JEZIK
Branka Marković

LEKTOR ZA ENGLJSKI JEZIK
Olga Devečerski

TEHNIČKO UREĐENJE
Dr Danijela Šarčević
Slaviša Šobot

Na osnovu mišljenja Ministarstva za
nauku i tehnologiju Republike Srbije (br.
413-00-00416/2000-01), ova publikacija
je od posebnog interesa za nauku.

Cena godišnje pretplate za časopis za
Republiku Srbiju iznosi 5000,00 din.
Uplate se mogu vršiti na tekući
račun Instituta broj 205-7803-56 kod
Komercijalne banke AD Beograd, sa
naznakom „pretplata na časopis“.

Cena godišnje pretplate za časopis za
inostranstvo iznosi: 100 eura. Naručuje
se kod: Institut za higijenu i tehnologiju
mesa, P.O. Box 33-49, Kačanskog 13,
11000 Beograd, Republika Srbija.

Kompjuterska obrada i štampa
„Naučna KMD“, Beograd
www.naucnakmd.com
Tiraž 100 primeraka

Tehnologija mesa

God. 55

Br. 1

Str. 1–91

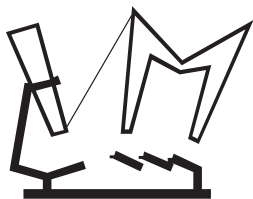
Beograd 2014

SADRŽAJ

- **Polinezasićene masne kiseline u mesu ribe i njihov značaj za zdravlje ljudi**
*Pavličević Nataša, Baltić Ž. Milan, Dimitrijević Mirjana, Karabasil Neđeljko,
Đorđević Vesna, Marković Radmila, Grbić Slaven* 1
- **Bioaktivni peptidi iz mesa i njihov uticaj na zdravlje ljudi**
*Baltić Ž. Milan, Bošković Marija, Ivanović Jelena, Janjić Jelena,
Dokmanović Marija, Marković Radmila, Baltić Tatjana* 8
- **Mikotoksini u lancu ishrane – analiza rizika i značaj za javno zdravstvo**
Milićević Dragan, Nedeljković-Trailović Jelena, Mašić Zoran 22
- **Uticaj upotrebe tritikalea na prinos i kvalitet mesa brojlerskih pilića**
*Đekić Vera, Mitrović Sreten, Radović Vera, Obradović Saša,
Đermanović Vladan, Mitrović Marko, Pandurević Tatjana* 39
- **Uticaj sezone transporta na dobrobit brojlera i odabrane parametre
kvaliteta mesa brojlera**
*Babić Jelena, Milićević Dragan, Vranić Danijela, Lukić Mirjana,
Petrović Zoran* 46
- **Higijena procesa proizvodnje trupova brojlera**
*Rašeta Mladen, Vranić Vojin, Branković Lazić Ivana, Teodorović Vlado,
Bunčić Olivera, Grbić Zoranka, Lakićević Brankica* 54
- **Taq Man Real Time PCR detekcija *Listeria monocytogenes*: uticaj perioda
inkubacije na osetljivost metode kod eksperimentalno kontaminiranih
suvih fermentisanih kobasica**
*Lakićević Brankica, Velebit Branko, Janković Vesna, Spirić Danka,
Baltić Tatjana, Mitrović Radmila, Babić Jelena* 60
- **Ispitivanje sadržaja olova u divljim zečevima sakupljenih u blizini
autoputa E70 na području Sremskog okruga**
*Petrović Zoran, Milićević Dragan, Vranić Danijela, Đinović-Stojanović Jasna,
Nikolić Dragica, Lukić Mirjana, Milijašević Milan* 66
- **Analiza obima proizvodnje goveđeg mesa u Srbiji od 1985. do 2011. godine**
*Dokmanović Marija, Lukić Mirjana, Baltić Ž. Milan, Ivanović Jelena,
Marković Radmila, Grbić Slaven, Glamočlija Nataša* 73
- **Ispitivanje senzorske percepcije slanosti vodenih rastvora hloridnih soli
različitih pH vrednosti**
*Lilić Slobodan, Milanović-Stevanović Mirjana, Karan Dragica,
Lukić Mirjana, Petronijević Radivoj, Velebit Branko, Lakićević Brankica* 81
- Uputstvo autorima** 88

U FINANSIRANJU ČASOPISA UČESTVUJE:

Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije



meat technology scientific journal

FOUNDER AND PUBLISHER

**Institute of Meat Hygiene and
Technology**

11000 Belgrade, Kačanskog 13
P.O. Box 33-49
Phone 011/ 2650-655
Fax 011/ 2651-825
e-mail: institut@inmesbgd.com
www.inmesbgd.com

DIRECTOR
Vesna Matekalo-Sverak, PhD

EDITOR IN CHIEF
Aurelija Spirić, PhD

EDITORS OF SCIENTIFIC FIELDS

Slobodan Lilić PhD – technology,
quality and safety of meat, meat products

Branko Velebit PhD – microbiology

Vesna Matekalo-Sverak PhD – food
additives, spices, food components

Aurelija Spirić PhD – analytical
methodology

**PROOFREADER FOR
SERBIAN LANGUAGE**
Branka Marković

**PROOFREADER FOR
ENGLISH LANGUAGE**
Olga Devečerski

TECHNICAL EDITION
Danijela Šarčević PhD
Slaviša Šobot

Based on the opinion issued by Ministry
of Science and Technology Republic of
Serbia (No. 413-00-00416/2000-01), this
publication is of special interest for the
science.

Subscription

Annual subscription rate is: 100 EUR.
Orders should be sent to Institute for
Meat Hygiene and Technology, P.O. Box
33-49, Kačanskog 13, 11000 Belgrade,
R. Serbia.

Meat Technology

Vol. 55

No. 1

P. 1–91

Belgrade 2014

CONTENTS

▪ Polyunsaturated fatty acids in the fish meat and their significance for human health

Pavličević Nataša, Baltić Ž. Milan, Dimitrijević Mirjana, Karabasil Neđeljko, Dorđević Vesna, Marković Radmila, Grbić Slaven 1

▪ Bioactive peptides from meat and their influence on human health

Baltić Ž. Milan, Bošković Marija, Ivanović Jelena, Janjić Jelena, Dokmanović Marija, Marković Radmila, Baltić Tatjana 8

▪ Mycotoxins in food chain – risk assessment and importance for public health

Miličević Dragan, Nedeljković-Trailović Jelena, Mašić Zoran 22

▪ The effect of triticales on the yield and meat quality of broilers

Đekić Vera, Mitrović Sreten, Radović Vera, Obradović Saša, Đermanović Vladan, Mitrović Marko, Pandurević Tatjana 39

▪ The effect of season of transportation on the welfare of broilers and selected parameters of broiler meat quality

Babić Jelena, Miličević Dragan, Vranić Danijela, Lukić Mirjana, Petrović Zoran 46

▪ Hygiene in the production of broiler carcasses

Rašeta Mladen, Vranić Vojin, Branković Lazić Ivana, Teodorović Vlado, Bunčić Olivera, Grbić Zoranka, Lakičević Brankica 54

▪ Taq Man Real Time PCR detection of *Listeria monocytogenes*: a study of enrichment incubation time affecting sensitivity in experimental dry fermented sausages

Lakičević Brankica, Velebit Branko, Janković Vesna, Spirić Danko, Baltić Tatjana, Mitrović Radmila, Babić Jelena 60

▪ Investigation of lead content in hare organs collected from the areas near by highway E70 – Srem county

Petrović Zoran, Miličević Dragan, Vranić Danijela, Dinović-Stojanović Jasna, Nikolić Dragica, Lukić Mirjana, Milijašević Milan 66

▪ Analysis of beef production volume in Serbia from 1985 to 2011.

Dokmanović Marija, Lukić Mirjana, Baltić Ž. Milan, Ivanović Jelena, Marković Radmila, Grbić Slaven, Glamočlija Nataša 73

▪ Examination of sensory perceived saltiness of chloride salts' aqueous solutions with different pH values

Lilić Slobodan, Milanović-Stevanović Mirjana, Karan Dragica, Lukić Mirjana, Petronijević Radivoj, Velebit Branko, Lakičević Brankica 81

Guidelines for the authors 90

Polinezasićene masne kiseline u mesu ribe i njihov značaj za zdravlje ljudi

Pavličević Nataša¹, Baltić Ž. Milan², Dimitrijević Mirjana², Karabasil Neđeljko², Đorđević Vesna³, Marković Radmila², Grbić Slaven⁴

S a d r ž a j: Pravilna ishrana ima veliki značaj u kvalitetu života ljudi. Nutritivni i zdravstveni značaj koji se postiže upotrebom ribe i proizvoda od ribe u ishrani je jedan od razloga za neprestani rast potražnje za tim proizvodima na tržištu. Ono što ribu, kao namirnicu, čini posebno privlačnom za potrošača jeste, pored povoljnog sadržaja proteina, minerala i vitamina i to što je veoma bogat izvor masnih kiselina, od kojih se pojedine smatraju esencijalnim, jer se ne mogu sintetisati u samom organizmu. Utvrđeno je da masti riba sadrže 17–21% zasićenih i 79–83% nezasićenih masnih kiselina. Od nezasićenih masnih kiselina, u mesu ribe, značajne su količine linolne, linoleinske, arahidonske kiseline, EPA (eicosapentaenoic acid; EPK, eikozapentaenska kiselina) i DHA (docosahexaenoic acid; DHK, dokozaheksaenska kiselina), koje se smatraju esencijalnim, jer, kao kofaktori metabolizma, imaju funkciju u održavanju povoljnog zdravstvenog stanja organizma ljudi.

Ključne reči: meso ribe, polinezasićene masne kiseline, zdravlje ljudi.

Uvod

Pravilna ishrana ima veliki značaj u kvalitetu života ljudi. Iz tog razloga, zbog svoje hranljive vrednosti, riblje meso zauzima značajno mesto u ishrani ljudi. Sve veći deo stanovništva i u našim krajevima uviđa da je ishrana ribom nužna potreba, da konzumiranje mesa ribe nije uzrok nijedne zoonoze i da je meso ribe manje opterećeno različitim aditivima koji se, u savremenoj proizvodnji, koriste u svinjarstvu i živinarstvu. Zbog svojih karakteristika, riblje meso je jedna od nutritivno najvrednijih namirnica. Ono što ribu, kao namirnicu, čini posebno privlačnom za potrošača, jeste, pored povoljnog sadržaja proteina, minerala i vitamina i to što je veoma bogat izvor esencijalnih masnih kiselina koje imaju ulogu u prevenciji brojnih oboljenja (Ćirković, 2002).

Od osnovnih sastojaka mesa ribe, najviše varira količina masti, koja je različita kod različitih vrsta riba, a pokazuje značajna odstupanja i unutar iste vrste, što zavisi od sezone izlova, polnog ciklusa, ishrane, starosti i pola ribe. Masti ribe se razlikuju od masti sisara po odnosu zasićenih i nezasićenih masnih kiselina. U mastima ribe ima više mono-

polinezasićenih masnih kiselina nego u mastima sisara. Koeficijent svarljivosti masti (procenat masti ribe koji se može resorbovati u digestivnom traktu) sveže, zamrznute i dimljene ribe iznosi i do 91% (Baltić i Tadić, 2001), a energetska vrednost mesa ribe zavisi od količine masti (Vranić i dr., 2010).

Sadržaj masti u mesu različitih vrsta riba kreće se od 0,5 do 22% (Tarr, 1954), pa je prema sadržaju masti izvršena podela riba na posne ribe, sa manje od 5% masti (oslić, škarpa, zubatac, iverak, smud, linjak, grgeč, štika, pastrmka), polumasne ribe, sa 5–10% masti (sardela, bakalar, incun, cipal, ugor, sitna bela riba, beli amur, tolstolobik, deverika, mre-na, jesetra, klen) i masne ribe, sa više od 10% masti (papalina, skuša, haringa, losos, tuna, šaran, som), (Baltić i Teodorović, 1997). Prema Lambaši i dr. (2005), na osnovu sadržaja masti, izdvaja se još jedna kategorija riba, a to su visokomasne vrste riba, koje gomilaju mast u potkožno masno tkivo, gde spadaju jegulja, kečiga, tovljeni šaran. Riba se, takođe, na osnovu raspodele masti u telu, deli na plavu i belu. Plava riba deponuje masti u masnim ćelijama, po celom telu, a bela riba deponuje masti u jetri i, donekle, u trbušnoj šupljini. Udeo masti u mesu bele ribe je nizak i čini samo oko 1% (Ackman, 1980).

¹Veterinarski specijalistički institut „Subotica“, Segedinski put 88, 24000 Subotica, Republika Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Republika Srbija;

³Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija;

⁴Veterinarski zavod „Slaven d.o.o“, 51000 Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina.

Polinezasićene masne kiseline u mesu ribe

Ustanovljeno je da masti riba sadrže 17–21% zasićenih i 79–83% nezasićenih masnih kiselina. Od nezasićenih masnih kiselina, u mesu ribe su značajne velike količine oleinske, kao i linolne, linoleinske i arahidonske kiseline, koje se smatraju esencijalnim, jer, kao kofaktori metabolizma, imaju funkciju u održavanju povoljnog zdravstvenog stanja organizma ljudi. Ukupna količina polinezasićenih masnih kiselina, sa četiri, pet ili šest dvostrukih veza, je nešto niža u slatkovodnim ribama (oko 70%), u odnosu na njihovu zastupljenost u lipidima morskih riba (oko 88%), (Huss, 1988).

Masne kiseline koje učestvuju u izgradnji masti sastoje se od ugljovodoničnog niza. Ovaj lanac čine atomi ugljenika za koje su vezani vodonikovi atomi, na čijem ω , ili n -kraju, je metil grupa, a na drugom, delta (Δ), kraju je karboksilna grupa (Lunn i Theobald, 2006). Ugljovodonični lanci, koji čine građu masnih kiselina, mogu da imaju od dva do 80 ugljenikovih atoma, ali je za masne kiseline koje su sastavni deo masti u namirnicama ljudi utvrđeno da su to lanci koji imaju 14, 16, 18, 20 i 22 ugljenikova atoma. Nezasićene masne kiseline mogu da sadrže jednu (mononezasićene) ili više nezasićenih veza u ugljovodoničnom lancu (polinezasićene). Na ugljenikovim atomima koji obrazuju dvostruku vezu, pored vodonika, vezuju se i različite funkcionalne grupe. U zavisnosti od položaja koji vodonikovi atomi, pri tome, zauzimaju razlikuju se *cis* i *trans* konfiguracije nezasićenih masnih kiselina. *Cis* konfiguraciju nezasićenih masnih kiselina karakteriše to da se vodonikovi atomi nalaze na istoj strani u lancu, dok se u *trans* konfiguracijama masnih kiselina, vodonikovi atomi nalaze na suprotnim stranama (Lunn i Theobald, 2006). Oblik *cis* veze uslovljava da se molekuli uvijaju. Što je veći broj dvostrukih veza i *cis* položaja vodonika, to će i uvijenost biti veća, pa će se molekuli nalaziti na međusobno većim rastojanjima. U uljima dominiraju *cis* masne kiseline. Nasuprot tome, *trans* konfiguracija omogućava gusto pakovanje molekula, koji su pretežno linearni, ili slabo uvijeni, pa su ove kiseline zastupljenije u čvrstim mastima (Šumić, 2008). Nezasićene masne kiseline dalje se mogu podeliti na dve klase: *n-3* i *n-6* polinezasićene masne kiseline. Riblje masti su bogat izvor *n-3* polinezasićenih masnih kiselina. Obe klase nezasićenih masnih kiselina su bitne i neophodne za zdravlje ljudi, a razlikuju se u hemijskoj strukturi, odnosno u položaju dvostruke veze u lancu. Kod *n-3* masnih kiselina dvostruka veza se nalazi na trećem C atomu od terminalne grupe, dok se kod *n-6* masnih kiselina ona nalazi na šestom C atomu od terminalne grupe (Mason, 2000).

Većina nezasićenih masnih kiselina se može sintetisati u organizmu čoveka tokom procesa elongacije i desaturacije masnih kiselina. Taj proces katalizuje enzimski kompleks, masno-kiselinska sinteza. Dok, desaturaza kod biljaka ima mogućnost da umetne dvostruku vezu na trećem, šestom i devetom ugljenikovom atomu, počevši od metil grupe, desaturaza kod životinja i čoveka je sposobna da umetne dvostruku vezu samo iza šestog C atoma. Otuda, postoji nekoliko masnih kiselina, koje se smatraju esencijalnim, jer se ne mogu sintetisati u samom organizmu. Postoje dve specifične esencijalne masne kiseline: *cis n-6* polinezasićena masna kiselina, linoleinska ($18:2n-6$) i *cis n-3* polinezasićena masna kiselina, alfa (α)-linoleinska ($18:3n-3$). Od ove dve vrste „roditeljskih“ esencijalnih masnih kiselina nastaju *n-3* i *n-6* „familije“ masnih kiselina kroz seriju enzimski katalizovanih reakcija desaturacije i elongacije, što se odvija u citosolu mitohondrija (Lunn i Theobald, 2006; Hunter i Roberts, 2000).

Klasa *n-3* polinezasićenih masnih kiselina je derivat alfa-linoleinske kiseline (ALK), esencijalne masne kiseline čiji je glavni izvor riblje ulje, dok klasa *n-6* polinezasićenih masnih kiselina vodi poreklo od linoleinske kiseline (LK), takođe esencijalne masne kiseline koja se, uglavnom, nalazi u biljnim uljima (Zatsick i Mayket, 2007). Alfa-linoleinska masna kiselina metaboliše se do dokozahexaenske kiseline ($22:6n-3$), (DHK) preko eikozapentaenske kiseline ($20:5n-3$), (EHK), dok se linoleinska kiselina ($18:2n-6$) metaboliše do arahidonske ($20:4n-6$), (AK), preko gama-linoleinske ($18:3n-6$), ili eikosaoidne kiseline ($20:2n-6$), Lunn i Theobald (2006). Reakciju desaturacije i elongacije lanca alfa-linoleinske i linoleinske kiseline, u kojoj nastaju njihovi derivati, polinezasićene masne kiseline, katalizuje isti enzim (desaturaza enzim). S obzirom da reakciju katalizuje isti enzim, između ovih esencijalnih masnih kiselina postoji kompeticija za taj enzim, pa povećanje koncentracije linoleinske kiseline može inhibirati pretvaranje alfa-linoleinske kiseline u njene derivate, i obrnuto. Ishrana bogata alfa-linoleinskom kiselinom i EPK može smanjiti produkciju derivata linoleinske, odnosno arahidonske kiseline, što može narušiti odnos omega-3 i omega-6 masnih kiselina u organizmu (Kris-Etherton i Hill, 2008; Mason, 2000). Iz tih razloga, pored značaja unosa optimalnih količina esencijalnih masnih kiselina putem ishrane bitan je i odnos u kom se one unose (Olsen i Secher, 2002). Odnos *n-3* i *n-6* masnih kiselina je optimalan ako se nalazi u opsegu od 1 : 4 do 1 : 5 (Baltić i dr., 2003).

Masti ribe karakteriše nizak sadržaj *n-6* masnih kiselina i visok sadržaj *n-3* masnih kiselina. Zbog niskog sadržaja *n-6* masnih kiselina, u mastima

morske ribe odnos $n-3$ na $n-6$ je visok i nalazi se u opsegu od 5 : 1 do 10 : 1. U poređenju sa morskom, kod slatkovodne ribe je taj odnos drugačiji, jer slatkovodna riba sadrži veće količine $n-6$ masnih kiselina, pre svega linolne i arahidonske kiseline, pa se odnos $n-3$ i $n-6$ masnih kiselina kod ovih vrsta riba nalazi u opsegu manjim od 4 : 1 (Valfre i dr., 2003). Brojni autori (Kris-Etherton i Hill, 2008; Spirić i dr., 2009; Trbović i dr., 2013; Ljubojević i dr., 2013) ističu da ribe iz akvakulture imaju nešto niži sadržaj $n-3$ masnih kiselina u poređenju sa ribama iz otvorenih voda.

Polinezasićene masne kiseline i zdravlje ljudi

Nutritivni i zdravstveni značaj koji se postiže upotrebom ribe i proizvoda od ribe u ishrani je jedan od razloga za neprestani rast potražnje za tim proizvodima na tržištu (Burger i Gochfeld, 2009; Sveinsdóttir i dr., 2009). Interesovanje za sprovođenje istraživanja o potencijalno pozitivnom efektu po zdravlje ljudi koji prati korišćenje ribe u ishrani, javilo se pedesetih godina prošlog veka, kada je uočeno da riblje ulje povoljno utiče na ublažavanje simptoma atipičnog ekcema i artritisa, kao i da snižava nivo holesterola u krvi (Riediger i dr., 2009). Prva, pionirska istraživanja u ovoj oblasti, osamdesetih godina prošlog veka, sprovedi su danski naučnici, vođeni zapaženom činjenicom da je kod Eskima sa Grenlanda uočena deset puta niža stopa srčanih oboljenja u odnosu na druge narode (König i dr., 2005; Sidhu, 2003). Takvo zapažanje je odmah dovedeno u vezu sa ishranom. Naime, u ishrani Eskima sa Grenlanda u velikoj meri je zastupljeno meso foka, kitova i raznih vrsta riba, koje je i glavni izvor polinezasićenih masnih kiselina, EPK i DHK (Connor, 2000). Takođe je, prilikom istraživanja u Japanu, uočeno da, kao posledica ishrane bogate ribom, familije ribara koji žive duž obale mora imaju manju stopu kardiovaskularnih oboljenja i, posledično, manju smrtnost nego što je to slučaj sa porodicama farmera na kopnu (Valfre i dr., 2003).

Smatra se da postoje dve osnovne funkcije koje esencijalne masne kiseline obavljaju u organizmu. Esencijalne masne kiseline su prekursori za sintezu molekula, hormonima sličnih supstanci, koji se sastoje od 20 C atoma i nazivaju se **eikosanoidi**. Postoji nekoliko različitih familija eikosanoida: *prostaglandini* (regulišu kontrakcije muskulature, imuni odgovor i zapaljenja), *prostaciklini* (inhibiraju agregaciju trombocita) i *tromboksani* (stimulišu agregaciju trombocita). Ove tri familije eikosanoida nastaju u reakcijama koje katalizuje enzim ciklo-oksigenaza. *Leukotrijeni*, koji utiču na (mikro)

vaskularnu i bronhijalnu konstrikciju, ili dilataciju i hidroksimasne kiseline, koje regulišu ćelijsku adheziju, formiraju se delovanjem enzima lipo-oksigenaze. Eikosanoidi koji se sintetišu od dve različite klase esencijalnih masnih kiselina ($n-3$ i $n-6$) imaju različite puteve stvaranja, međutim, prilikom sinteze, dele iste grupe enzima. Rezultat toga jeste taj što će količina i odnos $n-3$ i $n-6$ masnih kiselina unetih putem hrane, u stvari, odrediti koji će put biti aktivniji, koja će se familija eikosanoida sintetisati i kakav će efekat oni imati na organizam. U osnovi, eikosanoidi koji nastaju od alfa-linoleinske kiseline, preko EPK i prekursora DHK imaju, pre svega, antiinflamatorni, antitrombotični, antiaritmični efekat i izazivaju vazodilataciju. Dok, sa druge strane, eikosanoidi koji nastaju od linoleinske, odnosno, arahidonske kiseline, imaju suprotan efekat jer izazivaju zapaljenja, trombozu, vazokonstrikciju i ćelijsku proliferaciju (Riediger i dr., 2009). Postoji i podatak da eikosanoidi, koji nastaju od $n-6$ masnih kiselina imaju snažniji efekat (Lunn i Theobald, 2006; Hunter i Roberts, 2000).

Druga važna funkcija $n-3$ i $n-6$ esencijalnih masnih kiselina je ta što se one, odnosno njihovi metaboliti, pre svega, DHK i arahidonska kiselina, ugrađuju u fosfolipidni sloj ćelijskih membrana, gde imaju značajnu strukturnu i funkcionalnu ulogu (Anon., 2003; Hunter i Roberts, 2000). DHK je glavni sastojak fosfolipida u membranama retine i mozga, dok je arahidonska kiselina glavni sastojak fosfolipidnog sloja u membranama trombocita (Lunn i Theobald, 2006). Iz tih razloga svaka promena, u smislu smanjenja nivoa $n-3$ masnih kiselina u organizmu, može izazvati promene u fluidnosti membrane, što može imati uticaja na aktivnost enzima, receptor-ligand veze, ćelija-ćelija interakcije, kao i na transport nutritijenata kroz ćelijsku membranu (Hunter i Roberts, 2000).

S obzirom na važnost funkcija koje imaju u organizmu, razumljiv je uticaj polinezasićenih masnih kiselina, a pre svega $n-3$ masnih kiselina, na prevenciju razvoja određenih bolesti, kao što su kardiovaskularna oboljenja, nepravilan razvoj mozga i vida, zatim neurološki poremećaji, zapaljenski procesi i autoimuna oboljenja (reumatoidni artritis, psorijaza, ulcerativni kolitis, astma) itd. (Valfre i dr., 2003).

Ispitivanjem upotrebe ribe bogate $n-3$ masnim kiselinama utvrđen je njihov uticaj na koronarne bolesti, arterosklerozu, trombozu i krvni pritisak (Hunter i Roberts, 2000). U prevenciji nastanka srčanih oboljenja, omega-3 polinezasićene masne kiseline deluju na više načina. Imajući u vidu mogućí, opisani „scenario“ nastanka aterosklerotičnih promena u kardiovaskularnom sistemu, postoji više mogućih mehanizama kojima $n-3$ masne kiseline

sprečavaju razvoj takvog procesa i ostvaruju svoj pozitivan efekat. Jedan od mehanizama delovanja jeste taj što *n-3* masne kiseline sprečavaju stvaranje trombova, tako što dovode do promene metabolizma (smanjuju količinu) adhezionih molekula, kao što su vaskularni ćelijski adhezioni molekul-1 (VCAM-1), E-selektin i intercelularni adhezioni molekul-1 (ICAM-1), ali i tako što smanjuju endotelnu ekspresiju na ove molekule u stimulisanim ćelijama, kao i proliferaciju glatkomišićnih ćelija (Holub i Holub, 2004; Kris-Etherton i dr., 2002). Drugi mogući mehanizam na osnovu kojeg *n-3* masne kiseline postižu antiaterogeni efekat je taj što DHK, iako nije direktan inhibitor arahidonske kiseline, kao što je to EPK (kompetitivni inhibitor ciklooksigenaze, koji može zameniti arahidonsku kiselinu iz dvostrukog fosfolipidnog sloja) ipak može inhibirati trombocitnu agregaciju, smanjujući afinitet trombocitnog receptora $\text{TxA}_2/\text{PGH}_2$ za njegov ligand (Kris-Etherton i dr., 2002). Zatim, utvrđeno je da *n-3* masne kiseline, smanjuju stvaranje trombocitnog faktora rasta, koji je ključni hemoatraktant i mitogen za glatke mišićne ćelije i makrofage, koji su ključni u razvoju aterosklerotičnih trombocitnih naslaga. Derivati ovih kiselina se ugrađuju u te trombocitne naslage, menjajući strukturu trombocitnih plakova, u smislu stvaranja veće količine fibroznog omotača, a manje zapaljenskog infiltrata. Trombocitnim plakovima se, na taj način, povećava stabilnost i manje su osetljivi na pucanje. Takođe, EPK inhibiše sintezu tromboksana A_2 iz arahidonske kiseline i prostaglandina, koji uzrokuje agregaciju trombocita i vazokonstrikciju (Zatsick i Mayket, 2007), zatim umanjuje viskozitet krvi i doprinosi produženju vremena krvarenja (Holub i Holub, 2004).

Dokazano je i da *n-3* masne kiseline smanjuju sadržaj holesterola i triglicerida u krvnom serumu ljudi (Stolyhwo i dr., 2006), kao i da riblje ulje nema uticaj na koncentraciju LDL (low-density lipoprotein, „loš holesterol“) u serumu, ali, što je bitno, povećava sadržaj HDL (high-density lipoprotein, „dobar holesterol“) u serumu. HDL je lipoprotein koji ima zaštitnu funkciju s obzirom da smanjuje holesterol u krvi, vraća ga u jetru i na taj način sprečava njegovo taloženje u krvnim sudovima (Holub i Holub, 2004; Sidhu, 2003; Anon., 2003). Studija Zatsick-a i Mayket-a (2007) je pokazala da 3 grama *n-3* masnih kiselina smanjuje za 25 do 30% koncentraciju triglicerida u serumu, a povećava HDL za 1 do 3%. Prema istraživanjima Kang-a i Leaf-a (2000), povećanje količine ribljeg ulja u ishrani smanjuje pojavu srčanih aritmija, a, takođe, smanjuje i krvni pritisak (sistolni i dijastolni) kada se redovno koristi u ishrani (barem deset puta nedeljno), (Sidhu, 2003). Ispitivanja su, kod pacijenata

sa hiperholesteremijom, pokazala da je unos *n-3* masnih kiselina putem ishrane izazvao stimulaciju oslobađanja acetil-holina iz malih arterija. To je posledično dovelo do poboljšanja funkcije endotela, kao i povećene propustljivosti arterija, čime se i objašnjava efekat *n-3* masnih kiselina na snižavanje krvnog pritiska (Kris-Etherton i dr., 2002).

Mehanizam kojim *n-3* masne kiseline sprečavaju nastanak srčanih aritmija objašnjavaju Kris-Etherton i dr. (2002). Naime, polinezasićene masne kiseline *n-3* klase stabilizuju električnu aktivnost kardijalnih miocita, obogaćivanjem kardijalnih lipida sa EPK i DHK, inhibirajući, na taj način, L-tip kalcijumove kanale i sprečavajući nastanak aritmija izazvanim prekomernim otpuštanjem kalcijuma iz citosola. To rezultuje produženjem perioda refrakcije, čime se smanjuje rizik od nastanka ventrikularne fibrilacije (König i dr., 2005; Holub i Holub, 2004).

Lipidi su važni sastojci mozga i, u velikom procentu, učestvuju u njegovoj građi. Najviše su zastupljene arahidonska kiselina i DHK, koje se nalaze u sinaptozonalnim membranama (Innis, 2007). DHK je osnovna komponenta membranskih fosfolipida u mozgu i u znatnoj meri je zastupljena u velikom broju metaboličkih aktivnih regija u cerebralnom korteksu, mitohondrijama, sinaptozama i sinaptičkim vezikulama (Morris, 2007). Prema Connor-u (2000), DHK čini 36,4% od ukupne količine masnih kiselina koje učestvuju u izgradnji mozga i predstavlja osnovnu masnu kiselinu koja učestvuje u građi atanolamin fosfoglicerida i fosfatidilserina u svojoj masi mozga i retini. Nervi i membrane fotoreceptora u retini bogate su sa DHK. To ukazuje na važnu ulogu ovih sastojaka u neuronskoj transmisiji i procesu vida. Takođe, nedostatak *n-3* esencijalnih masnih kiselina može dovesti do promene funkcije ćelijske membrane u nervnom sistemu i može uticati na pojedine elektrofiziološke parametre, kao što je sposobnost učenja (Hunter i Roberts, 2000). Takođe, nedostatak ovih masnih kiselina u ishrani doveden je u vezu sa problemom smanjene pažnje kod hiperaktivne dece (Kris-Etherton i Hill, 2008).

Brojne studije su dokazale da su *n-3* masne kiseline esencijalne za rast i razvoj dece. Pre rođenja deteta razvijeno je 75% ćelija mozga, a nakon rođenja, u prvoj godini života, razvija se ostatak ćelija. Iz tih razloga je jako bitno da fetus, ali i dojenčad u prvoj godini života dobijaju dovoljnu količinu *omega-3* masnih kiselina, posebno DHK, kako bi im se omogućio normalan razvoj nervnog sistema (Sidhu, 2003). Mozak ploda raste rapidno tokom trećeg trimestra i procenjeno je da je u tom periodu fetusu neophodno obezbediti 70 mg/dnevno DHK i istu količinu AA. Iako ćelije mozga, kao što su glija ćelije, astrociti i cerebralni endotelijum, mogu vršiti

elongaciju i desaturaciju esencijalnih masnih kiselina, smatra se da je majka, odnosno njena ishrana, glavni izvor AA i DHK (*Kris-Etherton i Hill, 2008; Hunter i Roberts, 2000*). Adekvatan unos ovih masnih kiselina u toku trudnoće i laktacije, kod dece utiče na smanjenje pojava alergija, poboljšava koordinaciju očiju i ruku, poboljšava urođene i stečene funkcije, ponašanje u toku sna i umanjuje rizik od metaboličkih poremećaja, kao što je *diabetes melitus* tipa 1, smanjuje rizik od pojave cerebralne paralize i povećava koeficijent inteligencije, tvrdi *Genuis (2008)*.

Danski naučnici su, pregledom 12.000 trudnica, utvrdili da masa placente, obim glave i masa rođene bebe rastu sa povećanjem korišćenja ribe u ishrani (*Sidhu, 2003*). Nedovoljan unos *n-3* masnih kiselina može povećati stopu prevremenih porođaja. Incidenca prevremenog porođaja kod žena koje su izbegavale u svojoj ishrani riblje meso bila je 7,1%, a kod onih koje su jednom nedeljno konzumirale riblje meso bila je 1,9%. Preklampsija se 7,6 puta češće javlja kod trudnica koje u toku trudnoće ne konzumiraju ribu (*McGregor i dr., 2001*).

Istraživanja *Kremer-a (2000)* govore da u prevenciji osteoartritisa i reumatoidnog artritisa, dva najčešća oblika artritisa, značajnu ulogu mogu imati *n-3* polinezasićene masne kiseline iz riblje masti. Naime, ove masne kiseline smanjuju procenat razgradnje hrskavice, a, takođe, uklanjaju medijatore zapaljenja i smanjuju bol kod pacijenata sa ovim oboljenjima (*Genuis, 2008; Sidhu, 2003*). Kod Japanaca, koji, kao što je već istaknuto, koriste znatne količine mesa ribe u ishrani, zapažena je niža stopa pojave artritisa (*Lunn i Theobald, 2006*). Takođe, uspeh u lečenju pacijenata koji boluju od reumatoidnog artritisa, kako navode *Hunter i Roberts (2000)*, postiže se terapijom sa *n-3* masnim kiselinama u trajanju od 12 nedelja.

Takođe je brojnim istraživanjima dokazano da nedostatak nezasićenih masnih kiselina ima značajnu ulogu u etiologiji depresije, disleksije, šizofrenije i Alchajmerove bolesti (*Morris, 2007; Lunn i Theobald, 2006; Anon., 2003; Sidhu, 2003*), kao i da se uvođenjem veće količine *n-3* masnih kiselina u ishranu obolelih od psorijaze smanjuju psorijatične lezije, svrab i perutanje, karakteristične za ovo oboljenje.

Procena je da je oko 30% ljudskih malignih oboljenja posledica ishrane i načina života, a ishrana se smatra jednim od najvažnijih uzročnika pojave pojedinih malignih oboljenja, naročito digestivnog trakta. Za rak prostate, grudi i kolona je utvrđeno da je način ishrane jedan od glavnih uzroka njihovog. Ispitivanjem na laboratorijskim životinjama došlo se do podataka da riblje ulje, koje je bogat izvor

n-3 masnih kiselina, smanjuje ćelijsku proliferaciju i prekancerogene promene u ćeliji (*Mason, 2000*). Tako je daljim ispitivanjima, za neke masne kiseline, utvrđeno da imaju sposobnost da spreče formaciju, ili inhibišu progresiju, ili da direktno ubiju tumor ćeliju *in vitro* (*Lunn i Theobald, 2006*).

Smrtnost od kardiovaskularnih oboljenja je veliki problem kod pacijenata obolelih od dijabetesa, što je, verovatno, posledica usko povezanog metabolizma šećera i masti (*Lunn i Theobald, 2006*). Studije su pokazale i da se kod dijabetes zavisnih i dijabetes nezavisnih pacijenata, upotrebom *n-3* masnih kiselina u ishrani, smanjuje rizik od pojave srčanih oboljenja (*Sidhu, 2003; Hunter i Roberts, 2000*).

Kod pojedinih zapaljenskih procesa, kao što su astma, Kronova bolest – ulcerativni kolitis, *n-3* masne kiseline pomažu u terapiji (*Riedeger i dr., 2009; Lunn i Theobald, 2006*). Njihovo antiinflamatorno delovanje zasniva se, pre svega, na promeni produkcije leukotrijena i smanjenju produkcije citokina (interleukini, tumor nekroza faktor) i mitogena, koji, kao što je poznato, imaju značajnu ulogu u nastanku inflamacije (*Holub i Holub, 2004; Hunter i Roberts 2000*). Ispitivanja pokazuju i da pušači imaju manji rizik u razviću hronične pulmonalne opstruktivne bolesti ukoliko je u ishrani zastupljena veća količina *n-3* masnih kiselina (*Anon., 2003*).

Preporuke o optimalnom unosu polinezasićenih masnih kiselina

Zbog velikog značaja polinezasićenih masnih kiselina *n-3* klase, u Evropi i svetu su date i preporuke o optimalnom dnevnom unosu.

American Heart Association (AHA, Američka asocijacija za srce) sugerise da bi pacijenti, bez obzira da li su srčani bolesnici ili ne, trebalo da konzumiraju najmanje dva puta nedeljno masnu ribu. Za osobe koje nemaju dijagnostikovana srčana oboljenja preporuka AHA je da uzimaju 500 mg EPK i DHK dnevno, a za srčane bolesnike, 1 g EPK i DHK dnevno. Za osobe sa povišenim sadržajem triglicerida u krvi preporuka ove asocijacije je da konzumiraju 2 do 4 grama EPK i DHK dnevno, dok je za trudnice i novorođenčad preporuka dva obroka nedeljno masne ribe (*Domingo, 2007; Zatsick i Mayket, 2007*). *American Diabetes Association* (Američka asocijacija za dijabetes) preporučuje dve ili više porcije masne ribe nedeljno. *Australia and New Zealand National Health and Medical Research Council* (Nacionalni savet Australije i Novog Zelanda za zdravlje i medicinska istraživanja) preporučuje da žene i muškarci iznad 19, a ispod 70 godina starosti unose 610 i 430 mg DHK i EPK dnevno,

respektivno. *International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids* (Međunarodno društvo za proučavanje masnih kiselina i lipida) za dobro stanje kardiovaskularnog sistema preporučuje minimum 500 mg EPK i DHK dnevno. *National Heart Foundation of Australia* i *United Kingdom Scientific Advisory Committee on Nutrition* (Nacionalna fondacija Australije za zdravlje i Savetodavni naučni komitet Velike Britanije za ishranu), takođe, dele mišljenje da bi, zdravlja radi, trebalo ribu, i to masniju, jesti najmanje dva puta nedeljno. *World Health Organization* (Svetska zdravstvena organizacija) smatra da pravilna ishrana podrazumeva konzumiranje ribe jedanput, ili dva puta nedeljno, čime se obezbeđuje količina od 200 do 500 mg EPK i DHK (Kris-Etherton i Hill, 2008). Naučni savetodavni komitet o ishrani (Scientific Advisory Committee on Nutrition, SACN) i Komitet o toksikologiji (The Committee on Toxicology, COT) iz Velike Britanije mišljenja su da bi nezasićene masne kiseline trebalo unostiti u količini od 3,15 grama nedeljno, što bi odgovaralo količini od dva obroka ribe nedeljno, pri čemu bi u jednom bila zastupljena bela riba, a u drugom masna riba (Lunn i Theobald, 2006). Stručnjaci

u Velikoj Britaniji predlažu da se doze polinezasićenih masnih kiselina kreću od 200 do 1.250 mg dnevno. U Danskoj preporučena doza iznosi 300 mg dnevno, dok u Nemačkoj optimalni unos polinezasićenih masnih kiselina iznosi 1.500 mg dnevno (Mason, 2000).

Zaključak

Veća zabrinutost i bolja informisanost, po pitanju bezbednosti i nutritivne vrednosti hrane koju konzumira, karakteriše današnjeg potrošača. Želja savremenog potrošača da se „zdravo“ hrani doprinela je sve većoj potražnji i potrošnji mesa ribe. Činjenice da meso ribe u našim krajevima nije uzrok nijedne zoonoze kao i da je manje opterećeno različitim aditivima, koji se u savremenoj proizvodnji u mnogo većoj meri koriste u svinjarstvu i živinjarstvu, doprinele su da se meso ribe „približi“ potrošačima i na našem području. Termin „zdrava hrana“, kada je u pitanju riba, opravdava se upravo brojnim studijama u kojima je dokazan pozitivan uticaj unosa polinezasićenih masnih kiselina iz mesa ribe na zdravlje ljudi.

Literatura

- Ackman R. G., 1980. Fish lipids. Part 1. In: J. J. Connell (ed.) *Advances in fish science and technology*, Fishing News (Books) Ltd., Farnham, Surrey, 86–103.
- Anon., 2003. Nutritional aspects of fish, Bord Iascaigh Mhara/Irish Sea Fisheries Board P.O. Box No. 12, Crofton Road, Dun Laoghaire, Co. Dublin. www.bim.ie
- Baltić Ž. M., Teodorović V., 1997. Higijena mesa, riba, rakova i školjki, udžbenik, Veterinarski fakultet, Beograd.
- Baltić Ž. M., Tadić R., 2001. Proizvodnja i potrošnja mesa riba u svetu i kod nas, *Tehnologija mesa*, 42, 5–6, 345–357.
- Baltić Ž. M., Nedić D., Dragičević O., 2003. Meso i zdravlje ljudi, *Veterinarski žurnal Republike Srpske*, 3, 3–4, 131–138.
- Burger J., Gochfeld M., 2009. Perceptions of the risks and benefits of fish consumption: Individual choices to reduce risk and increase health benefits. *Environmental Research*, 109, 343–349.
- Connor E. W., 2000. Importance of *n*-3 fatty acids in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 171S–175S.
- Ćirković M., Jovanović B., Maletin S., 2002. Ribarstvo. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Domingo J. L., 2007. Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: Is all that glitters gold? *Environment International*, 33, 993–998.
- Genuis S. J., 2008. To sea or not to sea: Benefits and risks of gestational fish consumption. *Reproductive Toxicology*, 26, 81–85.
- Holub J. D., Holub J. B., 2004. Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 263, 217–225.
- Hunter B. J., Roberts D. C. K., 2000. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. *Nutrition Research*, 20, 7, 1047–1058.
- Huss H. H., 1988. Fresh fish quality and quality changes. *FAO Fisheries Series*, No.29.
- Innis S., 2007. Omega-3 Fatty Acid Deficiency Among Consumption Pregnant Women. Section II-E – Health Benefits of Fish, *Proceedings of the National Forum on Contaminants in Fish*. Environmental Protection Agency.
- Kang X. J., Leaf A., 2000. Prevention of fatal cardiac arrhythmias by polyunsaturated fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 202S–7S.
- König A., Bouzan C., Cohen J. T., Connor W. E., Kris-Etherton P. M., Gray, G. M., Lawrence R. S., Savitz D. A., Teutsch S. M., 2005. A Quantitative Analysis of Fish Consumption and Coronary Heart Disease Mortality. *American Journal of Preventive Medicine*, 29, 4, 335–346.
- Kremer J. M., 2000. *n*-3 fatty acid supplements in rheumatoid arthritis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 349S–351S.
- Kris-Etherton P. M., Harris W. S., Lawrence J., 2002. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *J. Appl. and for the Nutrition Committee, Circulation*, 106, 2747–2757.

- Kris-Etherton, P. M., Hill A. M., 2008.** n-3 fatty Acids: Food or Supplements? Journal of the American Dietetic Association, 108, 7, 1125–1130.
- Lambaša B., Ž., Gačina N., Radić T., 2005.** Tehnologija hrane. Visoka škola za turistički menadžment, Šibenik.
- Lunn J., Theobald H. E., 2006.** The health effects of dietary unsaturated fatty acids. British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin, 31, 178–224.
- Ljubojević D., Čirković M., Đorđević V., Trbović D., Vranić D., Novakov N., Mašić Z., 2013.** Hemijski sastav, sadržaj holesterola i sastav masnih kiselina šarana (*Cyprinus carpio*) iz slobodnog izlova, poluintenzivnog i kaveznog sistema gajenja. Tehnologija mesa, 54, 1, 48–56.
- Mason P., 2000.** Fish oils- an update. The Pharmaceutical Journal, 265, 720–724.
- McGregor J. A., Allen K. G., Harris M. A., 2001.** The omega-3 story: nutritional prevention of preterm birth and other adverse pregnancy outcomes. Obstetrical Gynecological Survey, 56 1, 1–13.
- Morris M. C., 2007.** Fish, n-3 Fatty Acids and Dementia. Section II-E – Health Benefits of Fish, Proceedings of the National Forum on Contaminants in Fish. Environmental Protection Agency.
- Olsen S. F., Secher N. J., 2002.** Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. Engaging, informative and influential journals for healthcare professionals and researchers, 324–447.
- Riediger N. D., Othman R. A., Suh M., Moghadasian M. H., 2009.** A Systemic Review of the Roles of n-3 Fatty Acids in Health and Disease. Journal of the American Dietetic Association, 109, 668–679.
- Sidhu K. S., 2003.** Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 38, 336–344.
- Spirić A., Trbović D., Vranić D., Đinović J., Petronijević R., Miličević M., Janković S., Radićević T., 2009.** Utičaj masnih kiselina u hrani na sastav masnih kiselina i količinu holesterola kod kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*). Tehnologija mesa, 50, 3–4, 179–188.
- Stolyhwo A., Kolodziejska I., Sikorski Y. E., 2006.** Long chain polyunsaturated fatty acid in smoked Atlantic mackerel and Baltic sprats. Food Chemistry, 94, 585–595.
- Sveinsdóttir K., Martinsdóttir E., Green-Petersen D., Hyl-dig G., Schelvis R., Delahunty C., 2009.** Sensory characteristics of different cod products related to consumer preferences and attitudes. Food Quality and Preference, 20, 120–132.
- Šumić Z., 2008.** Masne kiseline. Tehnologija hrane, Internet magazin. <http://www.tehnologijahrane.com/hemija-hrane/masne-kiseline>
- Tarr H. L. A., 1954.** Microbiological deterioration of fish post mortem, its detection and control. Bacteriol Review, 18, 1, 1–15.
- Trbović D., Marković Z., Petronijević R., Miličević M., Spirić D., Vranić D., Spirić A., 2013.** Promene hemijskog i masnokiselinskog sastava mesa šarana u toku poluintenzivnog uzgoja. Tehnologija mesa, 1, 39–47.
- Valfre F., Caprino F., Turchini G. M., 2003.** The Health Benefit of Seafood. Veterinary Research Communications, 27,1, 507–512.
- Vranić D., Trbović D., Đinović J., Mašić Z., Spirić D., Miličević D., Spirić D., 2010.** Nutritivna vrednost kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*) i šarana (*Cyprinus carpio*) iz akvakulture. Tehnologija mesa, 52, 2, 159–168.
- Zatsick N. M., Mayket P., 2007.** Fish oil – Getting to the heart of it. The Journal for Nurse Practitioners, 104–109.

Polyunsaturated fatty acids in the fish meat and their significance for human health

Pavličević Nataša, Baltić Ž. Milan, Dimitrijević Mirjana, Karabasil Neđeljko, Đorđević Vesna, Marković Radmila, Grbić Slaven

Summary: Proper nutrition is very important for the quality of life. Nutritional and health significance of the use of fish and fish products in the diet is one of the reasons for the continuous increase in demand for such products in the market. What makes fish as a food stuff, particularly attractive for the consumer is, in addition to favourable contents of protein, minerals and vitamins, the fact that it is a very rich source of fatty acids, of which some are considered essential because they can not be synthesized in the body. It has been found that fish fat contains 17–21% of saturated and 79–83% of unsaturated fatty acids. Significant quantities of following unsaturated fatty acids are present in fish meat: linoleic, linolenic, arachidonic acids, EPA (eicosapentaenoic acid; EPA) and DHA (docosahexaenoic acid; DHA), which are considered to be essential, because, as cofactors of metabolism, they have a function in maintaining a favorable health status of the human organism.

Key words: fish meat, polyunsaturated fatty acids, human health.

Rad primljen: 26.03.2014.

Rad prihvaćen: 4.04.2014.

Bioactive peptides from meat and their influence on human health

Baltić Ž. Milan¹, Bošković Marija¹, Ivanović Jelena¹, Janjić Jelena¹, Dokmanović Marija¹, Marković Radmila¹, Tatjana Baltić²

A b s t r a c t: Bioactive peptides are functional components, encrypted in the proteins and can be derived from food of plant and animal origin, including meat. After releasing during gastrointestinal digestion or food processing, these peptides exhibit many different effects on human body such as antioxidative, antimicrobial, antihypertensive, antithrombotic, cytomodulatory, immunomodulatory, anticancer, hypocholesterolemic and anti-obesity effects, which mainly depends on their structure and other properties. Considering bioactive activities of these peptides and their beneficial influence on health on one side, and millions of deaths caused by cancer, cardiovascular and other diseases associated with lifestyle on the other side, it is obvious that these peptides can be used for health promotion and disease risk reduction, especially because they have some advantages compared to synthetic drugs.

Key words: functional food, ACE inhibitory peptides, muscle proteins, antioxidant and antibacterial activity.

Introduction

Cardiovascular diseases, cancer, diabetes and obesity are responsible for millions of deaths worldwide annually, and present increasing health and economic problem as well (Murray and Lopez, 1997; CDC, 2005; Ahhmed and Muguruma, 2010; DHHS, 2010; Weiss et al., 2010). These diseases and related conditions are also called chronic lifestyle-related diseases, because they are associated not only with heredity, but also with changes in lifestyle where diet plays important and in some cases crucial role (Murray and Lopez, 1997; Anand et al., 2008; Ahhmed and Muguruma, 2010; Decker and Park, 2010; Cam and de Mejia, 2012). This fact implies that food also may be used in the prevention, control or in some cases treatment of these diseases and this approach may present preventive health care strategy (Decker and Park, 2010). Consequently, as a response to this challenge food industry presented a new class of foods, so-called "functional foods", and in Europe, these new food products have been labeled as "novel" foods and food ingredients (Diplock et al., 1999; Weiss et al., 2010; Olmedilla-Alonso et al., 2013). This food contains

components which exhibit a beneficial physiological effects on human health (Diplock et al., 1999; Weiss et al., 2010; Olmedilla-Alonso et al., 2013). New trend of promoting human health by using bioactive compounds is particularly interesting and presents a great challenge but at the same time opportunity for the meat industry, to improve the quality and image of meat (Jiménez Colmenero et al., 2010; Jiménez-Colmenero et al., 2012; Olmedilla-Alonso et al., 2013). Meat is important in human diet and had a great role in human evolution, especially in brain and intellectual development (Higgs, 2000; Baltić et al., 2002; Pereira and Vicente, 2013). Also, meat presents a valuable source of proteins, conjugated linoleic acid, antioxidants, vitamins such as riboflavin, niacin, vitamin B₆, pantothenic and folic acid and numbers of minerals including iron, zinc, selenium and phosphorus (Jimenez-Colmenero et al., 2001; Baltić et al., 2002; Chan, 2004; Mulvihill, 2004; Biesalski, 2005; Arihara and Ohata, 2006; Descalzo and Sancho, 2008; Ahhmed and Muguruma, 2010; Decker and Park, 2010; Marković et al., 2010; Weiss et al., 2010; Toldra and Reig, 2011; Baltić et al., 2013; Pereira and Vicente, 2013). Meat proteins are not only important source of essential amino

Acknowledgments: This paper was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Project TR 31034.

¹University of Belgrade, Faculty of Veterinary Medicine, Bulevar Oslobođenja 18, 11000 Belgrade, Republic of Serbia.

²Institute of Meat Hygiene and Technology, Kačanskog 13, 11000 Belgrade, Republic of Serbia.

Corresponding author: Baltić Ž. Milan, baltic@vet.bg.ac.rs

acids, but of bioactive peptides as well, and number of studies are focusing on the development of functional biopeptides from this source (Udenigwe and Ashton, 2013; Weiss et al., 2010; Young et al., 2013).

Peptides - sources and production

Bioactive peptides are short, approximately 2–20 (in some cases this range can be extended) amino acids sequences with molecular masses of less than 6 kDa (Möller et al., 2008; Shahidi and Zhong, 2008; Di Bernardini et al., 2011). They are food derived components, and can be obtained from different plant and animal sources (Ryan et al., 2011). A great number of bioactive peptides are derived from plants such as soy, pulses (lentil, chickpea, pea and beans), oat, wheat, rice, maize, sunflower, hemp seed, pumpkin, canola, flaxseed and many others including mushrooms (Hartmann and Meisel, 2007; Möller et al., 2008; Rutherfurd-Markwick, 2012; Udenigwe and Aluko, 2012; Saavedra et al., 2013). Although most peptides derived from animal sources are generated from milk and milk-based products proteins, peptides also were isolated from eggs, bovine blood, collagen, gelatin, various fish species including tuna, sardine, herring, salmon, bonito and from marine organisms (Möller et al., 2008; Shahidi and Zhong, 2008; Ryan et al., 2011; Di Bernardini et al., 2011; Najafian and Babji, 2012; Ngo et al., 2012; Rutherfurd-Markwick, 2012; Udenigwe and Aluko, 2012; Saavedra et al., 2013). Being a major source of high quality proteins, meat presents one of the most investigated sources for isolation of bioactive peptides in recent number of years (Ryan et al., 2011). In addition, it's not only myosin and actin which are used for peptides generation, but other proteins from thick and thin filaments, and connective tissue proteins like fibrillar collagen, as well (Udenigwe and Ashton, 2013).

Bioactive peptides can be generated from protein precursors by different methods including digestive proteolysis in the gastrointestinal tract, chemical or enzymatic hydrolysis *in vitro* during food processing, and microbial fermentation (Korhonen and Pihlanto, 2006; Möller et al., 2008; Shahidi and Zhong, 2008; Ryan et al., 2011; Agyei and Danquah, 2012; Rutherfurd-Markwick, 2012). In recent years a new method based on molecular genetic engineering, has been reported and it is also possible to synthesize the peptide by chemical or enzymatic synthesis if amino acid sequence is known (Korhonen and Pihlanto, 2006; Shahidi and Zhong, 2008; Hernández-Ledesma et al., 2011; Agyei and Danquah, 2012). Each of these

methods has some advantages or disadvantages, which should be considered when selecting one or several combined methods for a certain purpose (Shahidi and Zhong, 2008). Use of acid hydrolysis in order to release some peptides is economic, relatively simple to perform, but at the same time difficult to control and can damage certain amino acids. Moreover, selectivity and specificity of this chemical hydrolysis is low, which is why this method is rarely used (Shahidi and Zhong, 2008; Rutherfurd-Markwick, 2012). Methods based on enzymatic hydrolysis have an advantage because they are more predictable with respect to the end products, and the process conditions can be controlled. Because of that, these are commonly used methods for peptide production in laboratories and industry. Enzymes which are used in this technique can be obtained from plants, microorganisms or animals, and can be used alone or in combination with other enzymes, in order to simulate the fate of a protein in *in vitro* condition (Shahidi and Zhong, 2008; Agyei and Danquah, 2012). There are a number of proteinases including trypsin, subtilisin, chymotrypsin, thermolysin, pepsin, proteinase K, papain, alcalase, pronase, papain, carboxypeptidase A, pancreatin and commercial products such as Alcalase Flavourzyme and Neutrase which are used for peptide preparation (Korhonen and Pihlanto, 2006; Shahidi and Zhong, 2008; Agyei and Danquah, 2012; Udenigwe and Ashton, 2013). It is important that isolation of peptides by enzymatic hydrolysis is performed under respective optimal conditions of enzyme (temperature, pH, time course, etc.) for better results (Shahidi and Zhong, 2008; Agyei and Danquah, 2012).

Enzymatic hydrolysis of protein is the technique mostly used for isolation of peptides from meat sources, and the digestive enzymes which are most commonly used are pepsin, trypsin and chymotrypsin (Ryan et al., 2011). Although bacterial fermentation presents valuable method for isolation of bioactive peptides from milk proteins, it wasn't successful in obtaining peptides from meat source, probably because of poor proteolytic activity of the *Lactobacillus* spp. used in meat fermentations (Ryan et al., 2011).

Hydrolysate obtained after the application of one of the previously mentioned methods, presents a mixture mainly composed of peptides and amino acids. Several methods can be used for separation of bioactive peptides from hydrolysate (Ryan et al., 2011; Agyei and Danquah, 2012; Najafian and Babji, 2012). Ultrafiltration membrane system is a method which can be used in order to fractionate hydrolysates based on peptide size and obtained

peptides with desired molecular weights (Ryan *et al.*, 2011; Najafian and Babji, 2012). More precise method is nanofiltration (Najafian and Babji, 2012). For the same purpose, ion exchange, gel filtration technologies, liquid chromatography (HPLC), reversed-phase liquid chromatography (RP-HPLC), and gel permeation chromatography could be used (Pedroche *et al.*, 2007; Chabeaud *et al.*, 2009; Agyei and Danquah, 2012). For strongly charged biomolecules electro-membrane filtration (EMF) can be beneficial technique (Agyei and Danquah, 2012). Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometric analysis is also utile method (Najafian and Babji, 2012). These methods can be used separately, but combination of two or more methods for production and isolation of peptides may be required (Agyei and Danquah, 2012). It has been reported that HPLC is commonly used with a UV detector or mass spectrometer (Najafian and Babji, 2012). Individual peptide fractions can be identified by using the combined techniques of mass spectrometry and protein sequencing, while liquid chromatography followed by tandem mass spectrometry detection (LC-MS/MS) or conventional membrane filtration with electrophoresis also can be applied (Ryan *et al.*, 2011; Agyei and Danquah, 2012; Najafian and Babji, 2012).

Although, inactive within the sequence of the protein, after the releasing described above, bioactive peptides may induce many beneficial effects on human body (Möller *et al.*, 2008; Korhonen and Pihlanto, 2006; Di Bernardini *et al.*, 2011; Agyei and Danquah, 2012). Their properties were investigated under *in vitro* and *in vivo* conditions, and it has been reported that food derived bioactive peptides have antioxidative, antimicrobial, antihypertensive, antithrombotic, cytomodulatory, anticancer, immunomodulatory, opioid agonistic, mineral binding, hypocholesterolemic and anti-obesity effects. In addition, many of bioactive peptides possess multifunctional properties (Korhonen and Pihlanto, 2006; Möller *et al.*, 2008; Shahidi and Zhong, 2008; Di Bernardini *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2011; Agyei and Danquah, 2012; Udenigwe and Ashton, 2013). The activity of bioactive peptides depends on amino acid composition and sequence (Shahidi and Zhong, 2008). Moreover, compared to conventional small molecules, these peptides have high bioactivity, act on specific targets inside the body, have low levels of toxicity and they don't accumulate in small amounts in the tissues, which is why many researchers investigate their functional properties and potential applications (Marx, 2005; Agyei and Danquah, 2012).

Antihypertensive properties

Hypertension is an increasing health problem which affects one third of the worldwide adult population, both men and women, especially in developed countries, and presents the most common type of cardiovascular disease (Ahhmed and Muguruma, 2010; Hong *et al.*, 2008; Shahidi and Zhong, 2008; Hernández-Ledesma *et al.*, 2011; He *et al.*, 2013). High blood pressure is predominant factor which contributes to cardiovascular diseases including myocardial infarction, heart failure, coronary heart disease, peripheral artery disease, stroke kidney failure, blindness, end-stage diabetes and even dementia (Hong *et al.*, 2008; Ahhmed and Muguruma, 2010; Hernández-Ledesma *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2011; Sharp *et al.*, 2011; Rutherford-Markwick, 2012; He *et al.*, 2013). It is one of the main causes of the premature death, and WHO estimates that by 2020, heart disease and stroke will become the leading causes of death and disability worldwide (Erdmann *et al.*, 2008; Onuh *et al.*, 2013). There are a number of antihypertensive medications like captopril and analapril on the market, but apart from their advantages, their use may cause some side effects including coughing, taste disturbances, skin rashes, angio-oedema and many other disfunctions of human organs (Wu *et al.*, 2008; Ahhmed and Muguruma, 2010; Ryan *et al.*, 2011). Also, these drugs are expensive, and only in the USA, cost of antihypertensive drug annually is approximately \$15 billion (Hong *et al.*, 2008). As a results, over the last two decades, numerous researchers have investigated some effective natural alternatives which would be less expensive for production and cause no side-effects. One of such possibility is the use of food derived bioactive peptides which exhibit antihypertensive effect (Shahidi and Zhong, 2008; Wu *et al.*, 2008; Ahhmed and Muguruma, 2010; Hernández-Ledesma *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2011).

Bioactive peptides act differently then hypotensive drugs. Synthetic substances directly block action of ACE (angiotensin-converting enzyme) responsible for converting angiotensin-I into angiotensin-II, major product of the renin-angiotensin system which presents a powerful vasoconstrictor. ACE hydrolyze bradykinin, a potent vasodilator, also induces the release of aldosterone in the adrenal cortex, which results in increasing of sodium concentration and blood pressure (Wu *et al.*, 2008; Ahhmed and Muguruma, 2010; Hernández-Ledesma *et al.*, 2011; Cam and de Mejia, 2012; Escudero *et al.*, 2012; He *et al.*, 2013; Udenigwe and Ashton, 2013). Mechanism of action of ACE inhibitory peptides is based on competing with ACE and preventing the

production of angiotensin-II, causing relaxation of the arterial walls and reduction of fluid volume, in which way these bioactive peptides improve heart function and increase blood and oxygen flow to the heart, liver, and kidneys (Ahhmed and Muguruma, 2010; Ryan *et al.*, 2011; He *et al.*, 2013). ACE inhibitory peptides may bind to the active site of the ACE enzyme, or to an inhibitor site located on the ACE enzyme, and in this way change the protein confirmation and prevent the angiotensin-I from binding to the enzyme active site (Wijesekara and Kim, 2010; Ryan *et al.*, 2011). Furthermore, some studies show that food-derived bioactive peptides can also inhibit the activity of renin, and in that way induce a reduction of blood pressure (Udenigwe and Aluko, 2012). There are three groups of ACE inhibitory peptides: true inhibitor type, substrate type and pro-drug type, and their classification is based on their inhibitory activity following preincubation with ACE (Iroyukifujita *et al.*, 2000; Arihara and Ohata, 2006; Ryan *et al.*, 2011).

Structure characteristics of peptides are associated with their antihypertensive properties. ACE-inhibitory peptides are mostly peptides with short amino acid sequences containing from 2 to 12 amino acids. Saiga *et al.*, (2003) found that presence of hydroxyproline is crucial for binding of peptides and ACE in cases when peptides contain more than three amino acids in length. Many studies showed that C-terminal of ACE-inhibitory peptides usually contains hydrophobic amino acids residues and that these residues have a crucial role in competitive binding to the active site of ACE (Hernández-Ledesma *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2011). It has been reported that ACE-inhibitory peptides with the highest antihypertensive activity contain aliphatic, basic and aromatic residues, at the penultimate positions, and aromatic, proline and aliphatic residues at the end of C-terminal. This is explained by interaction of these residues with the three hydrophobic sub-sites located on the active site of ACE (Matsufuji *et al.*, 1994; Iroyukifujita *et al.*, 2000; Ono *et al.*, 2003; Hayes *et al.*, 2007; Qian *et al.*, 2007; Hernández-Ledesma *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2011). For the same reason, hydrophilic peptides are incompatible with the active sites of ACE, and exhibit none or a weak ACE inhibitory activity (Li *et al.*, 2004; Matsui and Matsumoto, 2006; Ryan *et al.*, 2011). Studies found that N-terminal end of the peptides with ACE-inhibitory activity is hydrophobic (Hayes *et al.*, 2007; Rho *et al.*, 2009; Ryan *et al.*, 2011). Moreover, it has been found that amino acid at the position three from the C-terminal requires the L-configuration (Hernández-Ledesma *et al.*, 2011).

Numbers of peptides with ACE-inhibitory activity were isolated from porcine, beef and chicken muscles. Commonly used methods for the evaluation of ACE-inhibitory effects of bioactive peptides in *in vitro* conditions are those based on spectrophotometric and high-performance liquid chromatography (HPLC) assays (Vermeirssen *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2005; Shalaby *et al.*, 2006; Siemerink *et al.*, 2010; Hernández-Ledesma *et al.*, 2011). Studies conducted in *in vivo* systems, are generally based on oral or intravenous application of purified peptides to spontaneously hypertensive rats and measuring of blood pressure immediately after application or after a certain time (Ahhmed and Muguruma, 2010; Hernández-Ledesma *et al.*, 2011). Also, in some experiments for investigation of antihypertensive peptides properties normotensive Wistar-Kyoto rats were used (Hernández-Ledesma *et al.*, 2011). Arihara *et al.* (2001) generated two ACE-inhibitory peptides with amino acid sequence MNPPK, and ITTNP known as from porcine myosin. These peptides were orally applied to spontaneously hypertensive rats (SHR) in order to investigate their effect on systolic blood pressure (SBP). 24 h after oral administration, the SBP of both test groups was still significantly lower than that of the control group, which proved that peptides exhibit antihypertensive effect *in vivo* (Nakashima *et al.*, 2002; Ryan *et al.*, 2011). MNPPK known as myopentapeptide A, is a precursor to tripeptide MNP which exhibited greater antihypertensive activity (Udenigwe and Ashton, 2013). Moreover, M6 peptide with amino acid sequence KRVITY, derived from porcine myosin B by pepsin treatment, showed antihypertensive effect after oral administration to SHR. Maximum decrease of 23 mmHg was noted 6 h after application, and this peptide retained his ACE-inhibitory activity even after thermal process (98 °C for 10 min), (Muguruma *et al.*, 2009; Ryan *et al.*, 2011). In other study, octapeptide with amino acid sequence VKKVLGNP also exhibited ACE-inhibitory effect and caused decrease of SBP in *in vivo* conditions after oral application to SHR (Katayama *et al.*, 2007). Katayama *et al.* (2007) derived two bioactive peptides from porcine troponin. From troponin C they isolated nine amino acids peptide with sequence RMLGQTPTK, and from crude porcine troponin, peptide with the amino acid sequence KRQKYDI. These antihypertensive peptides are categorized as a non-competitive inhibitor and substrate type inhibitor, respectively (Katayama *et al.*, 2003; Katayama *et al.*, 2004; Katayama *et al.*, 2008; Ryan *et al.*, 2011).

Apart from peptides isolated from myosin and troponin, other meat proteins also present valuable sources for generating peptides with

antihypertensive activity. One anti-hypertensive peptide with amino acid sequence RPR was isolated from pork nebulin, while two antihypertensive peptides with amino acid sequences KAPVA and PTPVP were isolated from pork titin protein by Escudero et al. (2010). Although some of these peptides did not seem to have high ACE-inhibitory activity *in vitro*, they exhibited antihypertensive activity *in vivo*, which was explained by the bioconversion of ACE-inhibitory peptides or by antihypertensive mechanism which could be influenced by these peptides (Lopez-Fandino et al., 2006; Escudero et al., 2012).

In addition, Castellano et al. (2013) used a method of lactic acid bacterial (*L. sakei* CRL1862 and *L. curvatus* CRL705) fermentation in order to generate ACE-inhibitory peptides from porcine proteins. In a study conducted by Terashima et al. (2010), decapeptide with amino acid sequence VTVNPYKWLP was isolated from the myosin heavy chain of chicken leg meat, and its antihypertensive properties were determined (Udenigwe and Ashton, 2013). From three peptides isolated from the chicken breast muscle protein hydrolysates by Saiga et al. (2003) peptide P4, with amino acid sequence GFXGTXLXGF exhibited the strongest ACE inhibiting activity with IC value of 42.4 μ M, which was higher compared to IC value of 26 μ M what was later reported for the peptide by the same authors (Saiga et al., 2006), P4 was categorized as a non-competitive inhibitor of ACE. In the study P4 were administrated intravenous to SHR in doses of 30 mg per kilogram of body weight, and although it caused an immediate decrease in blood pressure it returned to base pressure 60 minutes post administration, which showed that this peptide does not act as a long-term vasodepressor *in vivo* (Saiga et al., 2006; Ryan et al., 2011; Udenigwe and Ashton, 2013). Jang and Lee (2005) generated a peptide with amino acid sequence VLAQYK, from beef sarcoplasmic proteins with ACE-inhibiting IC 23.1 μ g/mL. Furthermore, from dry-cured ham it was derived seven dipeptides (RP, KA, AA, GP, AR, GR and RR) which exhibited ACE inhibitory activity with IC₅₀ values of 15.2, 31.5, 51.4, 66.0, 95.5, 162.2 and 267 μ M, respectively (Udenigwe and Ashton, 2013).

Connective tissue also can be a source for obtaining bioactive peptides with hypotensive effects. For example, Kim et al. (2001) isolated two ACE-inhibitory peptides, EIHCIII (GPV) and EIHCIV (GPL), from the hydrolysate of bovine skin gelatin which was treated with five proteases (Alcalase, chymotrypsin, Neutrase, Pronase E, and trypsin) in specific order. EIHCIII peptide had an IC₅₀ value of 4.7 μ M, while the peptide EIHCIV had an IC₅₀ value

of 2.55 μ M (Kim et al., 2001; Ryan et al., 2011). ACE-inhibitory peptides were derived from hydrolysis of chicken collagen as well. At first, collagen was treated by an *Aspergillus oryzae* protease, and then hydrolyzed by treatment with four proteases more (protease FP, protease A, amino G and protease N), after which four oligopeptides were isolated with ACE-inhibitory IC₅₀ values of 29,4–60,8 μ M. They were administrated to SHR at dose of 3 g/kg body weight and SPB were measured. The greatest reduction occurred 6 h after administration (maximum value of -50 mm Hg), but peptide product showed long-term hypotensive effects *in vivo* (4-week) (Saiga et al., 2006; Ryan et al., 2011; Udenigwe and Ashton, 2013). Protein hydrolysates derived by Onuh et al. (2013) from chicken skin through alcalase or simulated gastrointestinal digestion showed to possess inhibitory activities against ACE and renin in *in vitro* tests.

Bioactive peptides with ACE-inhibitory activity were isolated and identified from many fish species such as shellfish, tuna, bonito, salmon and sardine (Yokoyama et al., 1992; Matsufuji et al., 1994; Ono et al., 2003; Qian et al., 2007; Hong et al., 2008; Ahmmed and Muguruma, 2010; Ryan, 2011). Moreover, Wu et al. (2008) isolated and identified four peptides (CF, EY, MF and FE) with high ACE-inhibitory activity from shark meat and two of them (EY and FE) have never been reported before.

Antithrombotic properties

Arterial thrombosis often presents a cause or complicate some vascular diseases and conditions like myocardial infarction and stroke. Some peptides obtained from meat sources showed antithrombotic properties and it is considered that their use in the future can be beneficial in the prevention or control of such conditions. (Udenigwe and Ashton, 2013). Shimizu et al. (2009) isolated a peptide with molecular weight of 2.5 kDa from defatted porcine *musculus longissimus dorsi* and investigated its effect on thrombosis. Pork meat was treated by papain protease and hydrolyzed peptide was implicated orally to mice in doses 210 mg/kg of body weight. After that a carotid artery thrombosis was induced with helium-neon laser and total thrombus size were calculated. Results of this study showed that peptide can significantly inhibit thrombus formation by decreasing platelet activity and have same effect as aspirin administration at 50 mg/kg body weight (Shimizu et al. 2009; Cam and de Mejia, 2012; Udenigwe and Ashton, 2013).

Antioxidant properties

Reactive oxygen species (ROS) and free radicals attack and interact with membrane lipids, protein and DNA in the cell. They can be endogenous or exogenous origin, but in both case have influence on human health and play a great role in ethiology and progression of several diseases including cardiovascular diseases, atherosclerosis, arthritis, diabetes, inflammation, cancer, neuropathies, Alzheimer's and other degenerative diseases as well (Ames, 1983; Esterbauer, 1993; Cai *et al.*, 2002; Gimenez *et al.*, 2009; Ryan *et al.*, 2011; Jomova *et al.*, 2012; Udenigwe and Ashton, 2013). Oxidation by free radicals is also one of the primary mechanisms of quality deterioration in foods and especially in meat products, which also limits shelf-life and makes meat potentially dangerous for consumer's health (Simitzis *et al.*, 2009; Bošković *et al.*, 2013; Udenigwe and Ashton, 2013). In order to prevent or to retard lipid oxidation, a number of synthetic antioxidants, such as butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tert-butyl hydroquinone (TBHQ) and propyl gallate (PG) are added to food (Saiga *et al.*, 2003a; Di Bernardini *et al.*, 2011; Ngo *et al.*, 2012). Their use may have negative influence on human health which is why food industry tends to find natural alternatives to synthetic antioxidants. (Saiga *et al.*, 2003a; Sakanaka and Tachibana, 2006; Kim *et al.*, 2001; Di Bernardini *et al.*, 2011). One of such possibilities is use of peptides from food sources, which have some advantages, compared to synthetic antioxidants. They are considered to be safe for consumers, economic for production, have high activity, they are easy to absorb, also have nutritional value and do not cause immunoreactions like enzymatic antioxidants. The antioxidant effect of peptides was firstly reported by Marcuse in 1960 (Gómez-Guillén *et al.*, 2011). Since then, in order to confirm their antioxidant properties numbers of studies were conducted on peptides from mostly plant and animal sources such as milk, milk-kefir and soymilk-kefir, casein, egg-yolk protein, soybean protein, wheat, potato, rice bran, sunflower protein, leaf protein, peanut kernels, corn gluten meal, frog skin, medicinal mushroom and fungi (Suetsuna *et al.*, 2000; Peña-Ramos *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2004; Wachtel-Galor *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2005; Zhu *et al.*, 2006; Sakanaka and Tachibana, 2006; Li *et al.*, 2008; Megias *et al.*, 2008; Pihlanto *et al.*, 2008; Qian *et al.*, 2008; Xie *et al.*, 2008; Revilla *et al.*, 2009; Hwang *et al.*, 2010; Gómez-Guillén *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2011). In recent years, interest of scientists for peptides from

meat, especially fish sources, has increased (Ryan *et al.*, 2011).

In spite of all the research, the exact mechanism of antioxidant activity of peptides still has not been fully understood. Based on current knowledge, it is supposed that peptides are scavengers of free radicals and ROS, they inhibit lipid peroxidation and chelate transition metal ions (Suetsuna *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2003; Rajapakset *et al.*, 2005; Gómez-Guillén *et al.*, 2011; Young *et al.*, 2013). In addition, it has been proved that the antioxidant properties of peptides, and especially peptide composition and structure may be affected by a method used to isolate proteins, degree of hydrolysis, type of used protease, peptide concentration and hydrophobicity (Suetsuna *et al.*, 2000; Saiga *et al.*, 2003b; Peña-Ramos *et al.*, 2004; Erdmann *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2010). Type of amino acid, their number in the peptide, as well as the arrangements of amino acid sequence play an important role in antioxidant activity (Suetsuna *et al.*, 2000; Saito *et al.*, 2003a; Rajapakset *et al.*, 2005; Erdmann *et al.*, 2008). Tyr, Trp, Met, Lys, Cys, and His are those amino acids which contribute to antioxidant activity (Peña-Ramos *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2005; Sarmadi and Ismail, 2010; Di Bernardini *et al.*, 2011). Histidine-containing peptides possess imidazole group which is considered to be in relation with the hydrogen-donating, lipid peroxy radical trapping and the metal chelating, while SH group in cysteine has a main role in interaction with free radicals (Chan *et al.*, 1994; Erdmann *et al.*, 2008; Qian *et al.*, 2008; Sarmadi and Ismail, 2010). Moreover, it has been found that substitution of L-His by D-His in a peptide leads to reduction of the antioxidative activity, which proves that configuration of amino acids also has influence on antioxidant activity (Chen *et al.*, 1996; Sarmadi and Ismail, 2010). Some researchers have found that certain amino acids exhibit higher antioxidative activity when they are incorporated in dipeptides (Alabovsky *et al.*, 1997; Takenaka *et al.*, 2003; Erdmann *et al.*, 2008; Sarmadi and Ismail, 2010).

The most studied hydrophilic antioxidants from meat are histidine-containing dipeptides, carnosine (β -alanyl-L-histidine) and anserine (N- β -alanyl-1-methyl-L-histidine), (Decker *et al.*, 2000; Guiotto *et al.*, 2005; Arihara and Ohata, 2006; Di Bernardini *et al.*, 2011; Young *et al.*, 2013). They are found only in meat, poultry and in some fish (Young *et al.*, 2013). The concentration of carnosine in meat depends on type of meat, and ranges from 500 mg/kg in chicken to 2700 mg/kg in pork, while anserine is present in higher amounts in chicken muscle (Purchas and Busboom, 2005; Purchas *et*

al., 2004; Young et al., 2013). The antioxidant activity of these dipeptides is attributed mainly to their ability to chelate prooxidative metals such as copper, zinc and cobalt, but it has been found that carnosine is able to scavenge free radicals and form conjugates with potentially toxic aldehydic products from lipid oxidation as well (Brown, 1981; Decker et al., 2000; Young et al., 2013). It has been reported the ability of radioprotection of DNA by carnosine and anserine and protection of DNA by carnosine, against L-3, 4-dihydroxyphenylalanine Fe (III) induced damage. Some data showed that oral administration of L-carnosine has the same effect on increase of total antioxidant capacity of human serum as a consumption of beefsteaks (Di Bernardini et al., 2011).

Apart from carnosine and anserine, there are many antioxidative peptides from meat sources, which are generated from proteins by different methods. In one study, Saiga et al. (2003b) treated porcine myofibrillar proteins with two proteases, papain and actinase E, and found that hydrolyzates derived in this way exhibit high levels of antioxidant activity in a linolenic acid peroxidation system. Compared to five isolated peptides from papain hydrolysate (DSGVT-actin, IEAEGE-unknown, DAQEKLE-tropomyosin, EELDNLN-tropomyosin, VPSIDDQEELM-myosin heavy chain) DAQEKLE showed the highest level of activity, which was very similar to the activity of α -tocopherol at pH 7. Also, it was reported that peptides which were obtained from myofibrillar proteins by actinase E treatment showed higher antioxidant activity, which proves that type of used proteolytic enzymes play an important role in determining the antioxidative properties of peptides (Arihara and Ohata, 2006; Di Bernardini et al., 2011; Ryan et al., 2011; Udenigwe and Ashton, 2013). In other study Arihara et al. (2005) found that peptides ALTA, SLTA, and VT, obtained from papain treated porcine skeletal muscle actomyosin exhibit antioxidative activity not only *in vitro*, but *in vivo* system, as well (Arihara and Ohata, 2006). Numerous studies were carried out on peptides derived from collagen (Gómez-Guillén et al., 2011). Li et al. (2007) treated porcine collagen with pepsin and then derived hydrolysate was treated with papain, protease from bovine pancreas (PP) and a cocktail of three enzymes (PP, bacterial proteases from *Streptomyces* and *Bacillus polymyxa*). The hydrolysate of collagen which was treated with cocktail of three enzymes showed the highest level of antioxidant activity, and four antioxidant peptides were isolated from this hydrolysate (QGAR, LQGM, LQGMH and HC) (Li et al., 2007; Di Bernardini et al., 2011; Ryan et al., 2011). A 36-amino acid residue

peptide GETGPAGPAGPIPVGARGPAGPQGPR GDKGETGEQ, which showed ability of free radical scavenging and metal chelating were isolated from bovine tendon collagen $\alpha 1$ by Banerjee et al. (2012), (Udenigwe and Ashton, 2013). Result of other studies showed that peptides obtained from papain-hydrolyzed beef sarcoplasmic proteins, and antihypertensive peptides from dry-cured ham also exhibited antioxidant activities (Di Bernardini et al., 2012; Escudero et al., 2012; Udenigwe and Ashton, 2013).

Anticancer properties

It has been proved that some peptides isolated from meat and marine organisms, especially fish, exhibit anti-cancer activity, inhibit cell proliferation and have cytotoxic effect against tumor cells (Shahidi and Zhong, 2008; Ryan et al., 2011; Najafian and Babji, 2012; Udenigwe and Aluko, 2012).

Peptides with antibacterial activity isolated from beef sarcoplasmic proteins were investigated by Jang et al. (2008) in order to prove their cytotoxic effect against human breast adenocarcinoma (MCF-7), gastric adenocarcinoma (AGS) and lung carcinoma (A549) cell lines. GFHI showed the strongest cytotoxic effect on MCF-7 cells and decreased the cell viability of AGS cells. GLSDGEWQ strongly inhibited the proliferation of AGS cells, while none of tested peptides had a cytotoxic effect on A549 cells (Jang et al., 2008; Ryan et al., 2011; Udenigwe and Ashton, 2013). Hsu et al. (2011) isolated two peptides from tuna dark muscle which was treated with two proteases, papain and protease XXII. Amino acid sequences of these peptides were LPHVLTPEAGAT from papain hydrolysate and PTAEGVYMVT, from protease XXIII and both of them exhibited dose-dependent antiproliferative activities against human breast adenocarcinoma (MCF-7) cells, (Hsu et al., 2011; Ryan et al., 2011; Udenigwe and Aluko, 2012). Picot et al. (2006) reported 18 protein hydrolysates isolated from blue whiting, cod, plaice, and salmon to have antiproliferative activity against 2 human breast cancer cell lines (MCF-7/6 and MDA-MB-231) (Picot et al., 2006; Shahidi and Zhong, 2008; Ryan et al., 2011). In addition, it has been shown that hydrophobic peptide isolated from anchovy sauce, with molecular weight of 440.9 Da, induced apoptosis in a human lymphoma cell line (U937), (Lee et al., 2003; Lee et al., 2004; Ryan et al., 2011).

These peptides, which showed to possess anticancer properties *in vivo*, could be further used to investigate their possibility to prevent the development of different types of cancer or even more, in their treatment.

Antibacterial properties

Antimicrobial peptides are usually composed of less than 50 amino acids, and about a half of them are hydrophobic (Shahidi and Zhong, 2008; Najafian and Babji, 2012). Their antibacterial activity is different and varies depending on origin of the peptides, amino acid composition, peptide size, charge, hydrophobicity, and secondary structure of peptides (Shahidi and Zhong, 2008). In recent number of years the overuse of antibiotics in human and veterinary medicine in order to reduce pathogens has led to phenomenon of multi-drug-resistance bacteria (Sofos, 2008; Tohidpour et al., 2010; Bošković et al., 2013). One possible unconventional solution to this increasing problem could be the use of antimicrobial peptides in medical proposes (Najafian and Babji, 2012).

Antibacterial properties of peptides can be tested by several methods. The most commonly used method is agar diffusion. This method is based on measuring of the inhibition zone diameter formed on agar, but in order to determinate the exact antibacterial activity, the minimal inhibitory concentration (MIC) of peptides should be determined (Di Bernardini et al., 2011; Najafian and Babji, 2012).

Although a number of peptides with antimicrobial activity have been isolated from milk proteins, there is no much data on the antimicrobial peptides from meat sources in the available literature (Pihlanto, 2002; McCann et al., 2005; Hayes et al., 2006; McCann et al., 2006; Minervini et al., 2003; Di Bernardini et al., 2011; Ryan et al., 2011; Agyei and Danquah, 2012).

In one study, Jang et al., (2008) evaluated the antimicrobial effects of four peptides (GLSDGEWQ, GFHI, DFHING and FHG) isolated from beef sarcoplasmic proteins, which were previously determined to have ACE-I-inhibitory activity. Antimicrobial activity of these peptides was evaluated against three Gram-positive (*Bacillus cereus*; *Staphylococcus aureus* - KFRI00188; and *Listeria monocytogenes* -KFRI00719) and Gram-negative (*Salmonella typhimurium*-KFRI0025; *Escherichia coli*- ATCC43894 and *Pseudomonas aeruginosa*-KFRI00100) pathogenic bacteria. For this purpose the paper disc diffusion method was used, and peptides were applied at three different concentrations. All four tested peptides exhibited antimicrobial activities against one or more bacteria. Results showed that GLSDGEWQ had the highest level of antimicrobial activity, and was the only peptide that inhibited growth of both Gram-negative and Gram-positive bacteria at all three used concentrations. FHG inhibited *P. aeruginosa*, DFHING inhibited

E. coli at all tested concentrations and GFHI exhibited antibacterial activity against *E. coli* and *P. aeruginosa*, but neither one of them inhibited the growth of *L. monocytogenes* (Di Bernardini et al., 2011; Ryan et al., 2011; Udenigwe and Ashton, 2013). Numbers of peptides with antimicrobial activity have been isolated from fish sources. Liu et al. (2008) isolated a cysteine rich antimicrobial peptide (CgPep33) from oyster muscle by using a combination of alcalase and bromelin. This peptide showed antimicrobial activity against pathogenic bacteria, such as *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* and *S. aureus*, and also some fungi (*Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*), (Ryan et al., 2011). In a study conducted by Gómez-Guillén et al. (2010) it has been found that peptides obtained from tuna and squid skin gelatins showed high level of antimicrobial activity against *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Shewanella putrefaciens* and *Photobacterium phosphoreum* (Gómez-Guillén et al., 2011). Protein from skin homogenate of *Epinephelus fario* by trypsin digestion, which showed activity against Gram-positive bacteria (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Pasteurella multocida*, *E. coli*, *Aeromonas hydrophila* and *P. aeruginosa*) (Najafian and Babji, 2012).

Other properties

In recent years, obesity, hyperlipidemia and especially hypercholesterolemia became serious public health problems, which contribute mainly to cardiovascular diseases, but also to diabetes type 2, hypertension and stroke, certain forms of cancer and sleep-breathing disorder, as well. There is a great number of synthetic drugs with cholesterol-lowering effect, but nowadays researches are looking for natural alternatives which can be used in prevention and treatment of hypercholesterolemia (Shahidi and Zhong, 2008; Ngo et al., 2012). One of such possibilities is the use of food derived peptides. Although mainly soy and milk derived proteins showed lipid-lowering effect, researchers investigate and explore other possibilities among other peptides derived from meat. One study showed that protein hydrolysate isolated from pork with papain exhibit a hypocholesterolemic effect in cholesterol-fed rats (Morimatsu and Kimura, 1992; Morimatsu et al., 1996; Shahidi and Zhong, 2008).

There are some evidences that dipeptide carnosine exhibits significant pharmacological effects and could play a role in preventing or treating some pathological conditions, such as neurodegeneration,

diabetes and cataract (Guiotto et al., 2005; Lee et al., 2005). These effects of carnosine were mainly related to its antioxidant or antiglycating properties (Aldini et al., 2005; Fu et al., 2009). Baran (2000) found that carnosine zinc complex alleviates injuries of gastric mucosa, acts against stomach ulcers and inhibits growth of the main gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Some studies found that this antioxidative peptide also plays role in injury healing, recovery from fatigue and prevention of diseases related to stress (Baran, 2000; Matsukura and Tanaka, 2000; Young et al., 2013). Arihara et al. (2005) isolated two peptides (ALTA and SLTA) from pork actomyosin by papain protease treatment. *In vitro* it has been found that these peptides showed antioxidative activity. In a study *in vivo* these peptides showed antifatigue effects after being orally applicated to mice which were running on treadmill (Arihara and Ohata, 2006).

In addition, it has been reported by Nakatani et al. (2009) that dipeptide PX isolated from porcine meat contributes to reparation and maintenance of cartilage by preventing mature chondrocytes from

becoming mineralized and stimulating production of other protective peptides, while Iwai et al. (2005) found that peptides derived from collagen exhibit some immune-modulating activities by stimulating proliferation of fibroblasts, neutrophils, and monocytes (Iwai et al., 2005; Nakatani et al., 2009; Udenigwe and Ashton, 2013). Some peptides, such as commercial fish protein hydrolysate exhibits immunomodulatory activities by increasing the number of IgA+ cells and IL-4, IL-6 and IL-10 in the lamina propria of the small intestine in mice (Duarte et al., 2006; Möller et al., 2008).

Conclusion

Although, there is still a small number of studies, especially *in vivo* studies, which should be conducted in order to confirm safety and beneficial effects of bioactive peptides, scientific, technological and consumer interest for these peptides and their potential use in controlling and promoting health increases, and results remains to be seen.

References

- Agvei D., Danquah M. K., 2012. Rethinking food-derived bioactive peptides for antimicrobial and immunomodulatory activities. *Trends in Food Science & Technology*, 23, 2, 62–69.
- Ahhmed A. M., Muguruma M., 2010. A review of meat protein hydrolysates and hypertension. *Meat Science*, 86, 1, 110–118.
- Alabovsky V. V., Boldyrev A. A., Vinokurov A. A., Shchavratsky V., 1997. Effect of histidine-containing dipeptides on isolated heart under ischemia/reperfusion. *Biochemistry (Moscow)*, 62, 77–87.
- Aldini G., Facino R. M., Beretta G., Carini M., 2005. Carnosine and related dipeptides as quenchers of reactive carbonyl species: From structural studies to therapeutic perspectives. *Biofactors* 24, 77–87.
- Ames B. N., 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221, 1256–1264.
- Anand P., Kunnumakara B. A., Sundaram C., Harikumar H. K., Tharakan T. S., Lai S. O., Sung B., Aggarwal B. B., 2008. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical Research*, 25, 2097–2116.
- Arihara K., Nakashima Y., Mukai T. Ishikawa S., Itoh M., 2001. Peptide inhibitors for angiotensin I-converting enzyme from enzymatic hydrolysates of porcine skeletal muscle proteins. *Meat Science*, 57, 319–324.
- Arihara K., Tomita K., Ishikawa S., Itoh M., Akimoto M., Sameshima T., 2005. Anti-fatigue peptides derived from meat proteins. Japan patent, submitted to government.
- Arihara K., 2006. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science* 74, 219–229.
- Arihara K., Ohata M., 2006. Functional Properties of Bioactive Peptides Derived from meat Proteins. In *Advanced Technologies for Meat Processing*; Toldra, F., Ed.; Springer: New York, NY, USA, 245–274.
- Babizhayev M. A., 2005. Analysis of lipid peroxidation and electron microscopic survey of maturation stages during human cataractogenesis: pharmacokinetic assay of Can-C(TM) N-acetylcarnosine prodrug lubricant eye drops for cataract prevention. *Drugs R & D* 6, 345–369.
- Baltić Ž. M., Dragičević O., Karabasil N., 2002. Trends in meat consumption, Zbornik radova i kratkih sadržaja. 14. Savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor, 10–14. septembar 2002.
- Baltić Ž. M., Bošković M., Mitrović R., 2013. In Vitro Meat: Possibility of the Impossible, International 57th Meat Industry Conference, Belgrade, 10th–12th June, 2013.
- Banerjee P., Suseela G., Shanthi C., 2012. Isolation and identification of cryptic bioactive regions in bovine Achilles tendon collagen. *The Protein Journal*, 31, 374–386.
- Baran E. J., 2000. Metal complexes of carnosine. *Biochemistry (Moscow)*, 65, 789–797.
- Biesalski, H. K., 2005. Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat Science*, 70, 509–524.
- Bošković M., Baltić Ž. M., Ivanović J., Đurić J., Lončina J., Dokmanović M., Marković R., 2013. Use of essential oils in order to prevent food borne illness caused by pathogens in meat, *Meat Technology*, 54, 1, 14–21.

- Brown C. E., 1981.** Interactions among carnosine, anserine, ophidine and copper in biochemical adaptation. *Journal of Theoretical Biology*, 88, 245–256.
- Cai W., Gao Q. D., Zhu L., Peppas M., He C., Vlassara H. 2002.** Oxidative stress-inducing carbonyl compounds from common foods: Novel mediators of cellular dysfunction. *Molecular Medicine*, 8, 337–346.
- Cam A., de Mejia E. G., 2012.** Role of dietary proteins and peptides in cardiovascular disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56, 1, 53–66.
- Castellano P., Aristoy M. C., Sentandreu M. Á., Vignolo, G., Toldrá, F., 2013.** Peptides with angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity generated from porcine skeletal muscle proteins by the action of meat-borne *Lactobacillus*. *Journal of Proteomics*, 89, 183–190.
- CDC National Center for Chronic Disease Prevention., 2005.** Number of Americans with Diabetes Continues to Increase. In O. o. Communication (Ed.), (Vol. CDC).
- Chabeaud A., Vandanjon L., Bourseau P., Jaouen P., Chaplain-Derouiniot M., Guerard F., 2009.** Performances of ultrafiltration membranes for fractionating a fish protein hydrolysate: application to the refining of bioactive peptidic fractions. *Separation and Purification Technology*, 66, 3, 463–471.
- Chan K. M., Decker E. A., Feustman C., 1994.** Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 34, 4, 403–426.
- Chan W., 2004.** Macronutrients in meat. In W. K. Jensen, C. Devine, & M. Dikeman (Eds.), *Encyclopedia of meat sciences*, 614–618. Oxford: Elsevier
- Chen H. M., Muramoto K., Yamauchi F., Nokihara K. 1996.** Antioxidant activity of design peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44, 2619–23.
- Decker A. E., Livisay S. A., Zhou S., 2000.** A Re-evaluation of the Antioxidant Activity of Purified Carnosine. *Biochemistry, (Moscow)*, 65, 7, 901–906.
- Decker E. A., Livisay S. A., Zhou S., 2000.** Mechanisms of endogenous skeletal muscle antioxidants: Chemical and physical aspects. In E. A. Decker, C. Faustman, & C. L. Lopez-Bote (Eds.), *Antioxidants in muscle foods*, 25–60. New York: WileyInterscience.
- Decker E. A., Park Y., 2010.** Healthier meat products as functional foods. *Meat Science*, 86, 1, 49–55.
- Descalzo A. M., Sancho A. M., 2008.** A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79, 423–436.
- DHHS, 2010.** Chronic disease cost. http://health.nv.gov/CD_ChronicDisease_Costs.htm.
- Di Bernardini R., Harnedy P., Bolton D., Kerry J., O'Neill E., Mullen A. M., Hayes M., 2011.** Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chemistry*, 124, 4, 1296–1307.
- Di Bernardini R., Mullen A. M., Bolton D., Jerry J., O'Neill E., Hayes M., 2012.** Assessment of the angiotensin-I-converting enzyme (ACE-I) inhibitory and antioxidant activities of hydrolysates of bovine brisket sarcoplasmic proteins produced by papain and characterization of associated bioactive peptidic fractions. *Meat Science*, 90, 226–235.
- Diplock A. T., Aggett P. J., Ashwell M., Bornet F., Fern E. B., Roberfroid M. B., 1999.** Scientific concept of functional foods in Europe Consensus document. *The British Journal of Nutrition*, 81, 1–27.
- Duarte J., Vinderola G., Ritz B., Perdigon G., Matar C., 2006.** Immunomodulating capacity of commercial fish protein hydrolysate for diet supplementation. *Immunobiology* 211, 341–350.
- Erdmann K., Cheung B. W., Schröder H., 2008.** The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 19, 10, 643–654.
- Escudero E., Sentandreu M. A., Arihara K., Toldrá F., 2010.** Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides generated from in vitro gastrointestinal digestion of pork meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 5, 2895–2901.
- Escudero E., Aristoy M. C., Nishimura H., Arihara K., Toldrá F., 2012.** Antihypertensive effect and antioxidant activity of peptide fractions isolated from Spanish dry-cured ham. *Meat Science*, 91, 306–311.
- Esterbauer H., 1993.** Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 5, 779–785.
- Fu H., Katsumura Y., Lin M., Muroya Y., Hata K., Fujii K., Hatano Y., 2009.** Free radical scavenging and radioprotective effects of carnosine and anserine. *Radiation Physics and Chemistry*, 78, 12, 1192–1197.
- Giménez B., Alemán A., Montero P., Gómez-Guillén M. C., 2009.** Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. *Food Chemistry*, 114, 3, 976–983.
- Gómez-Guillén M. C., López-Caballero M. E., López de Lacey A., Alemán A., Giménez B., Montero P., 2010.** Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. In E. Le Bihan, N. Koueta (Eds.), *Sea by-products as a real material: New ways of application*, 89–115. Kerala, India: Transworld Research Network Signpost, Chapter 7.
- Gómez-Guillén C. M., Giménez B., López-Caballero M. E., Montero M. P., 2011.** Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review, *Food Hydrocolloids* 25, 1813–1827.
- Guiotto A., Calderan A., Ruzza P., Borin G., 2005.** Carnosine and carnosine-related antioxidants: A review. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 2293–2315.
- Hartmann R., Meisel H., 2007.** Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18, 2, 163–169.
- Hayes M., Ross R. P., Fitzgerald G. F., Hill C., Stanton C., 2006.** Casein-derived antimicrobial peptides generated by *Lactobacillus acidophilus* DPC6026. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 3, 2260–2264.
- Hayes M., Stanton C., Fitzgerald G. F., Ross R. P., 2007.** Putting microbes to work: dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: bioactive peptide functions. *Biotechnology journal*, 2, 4, 435–449.
- Hayes M., Stanton C., Slattery H., O'Sullivan O., Hill, C., Fitzgerald G. F., Ross R. P., 2007.** Casein fermentate of *Lactobacillus animalis* DPC6134 contains a range of novel propeptide angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Applied and environmental microbiology*, 73, 14, 4658–4667.

- He R., Alashi A., Malomo S. A., Girgih A. T., Chao D., Ju X., Aluko R. E., 2013. Antihypertensive and free radical scavenging properties of enzymatic rapeseed protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 141, 1, 153–159.
- Hernández-Ledesma B., del Mar Contreras M., Recio I., 2011. Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into foods. *Advances in Colloid and Interface Science*, 165, 1, 23–35.
- Higgs J. D., 2000. The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 3, 85–95.
- Hong F., Ming L., Yi S., Zhanxia L., Yongquan W., Chi L., 2008. The antihypertensive effect of peptides: a novel alternative to drugs? *Peptides*, 29, 6, 1062–1071.
- Hsu K. C., Li-Chan E. C., Jao C. L., 2011. Antiproliferative activity of peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle on human breast cancer cell line MCF-7. *Food Chemistry*, 126, 2, 617–622.
- Hwang J. Y., Shyu Y. S., Wang Y. T., Hsu C. K., 2010. Antioxidative properties of protein hydrolysate from defatted peanut kernels treated with esperase. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 2, 285–290.
- Iroyukifujita H., Eiichiyokoyama K., Yoshikawa M., 2000. Classification and Antihypertensive Activity of Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Food Proteins. *Journal of Food Science*, 65, 4, 564–569.
- Jang, A., Lee, M., 2005. Purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from beef hydrolysates. *Meat Science*, 69, 653–661.
- Jang A., Jo C., Kang K. S., Lee M., 2008. Antimicrobial and human cancer cell cytotoxic effect of synthetic angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides. *Food Chemistry*, 107, 327–336.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., Cofrades, S., 2001. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59, 1, 5–13.
- Jiménez-Colmenero F., Sanchez-Muniz F., Olmedilla-Alonso B., 2010. Design and development of meat-based functional foods with walnut: Technological, nutritional and health impact. *Food Chemistry*, 123, 959–967.
- Jiménez Colmenero F., Herrero A., Cofrades S., Ruiz-Capillas C., 2012. Meat and functional foods. In Y. H. Hui (Ed.), *Handbook of meat and meat processing* (225–248) (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press. Taylor & Francis Group.
- Jomova K., Baros S., Valko M., 2012. Redox active metal-induced oxidative stress in biological systems. *Transition Metal Chemistry*, 37, 127–134.
- Katayama, K., Tomatsu, M., Fuchu, H., Sugiyama, M., Kawahara, S., Yamauchi, K., Kawamura, Y., Muguruma, M., 2003. Purification and characterization of an angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide derived from porcine troponin C. *Animal Science Journal*, 74, 53–58.
- Katayama K., Makoto T., Satoshi K., Kiyoshi Y., Hidetaka F., Yoshiro K., Yukio K., Michio M., 2004. Inhibitory profile of nonapeptide derived from porcine troponin C against angiotensin I-converting enzyme. *Journal of agricultural and food chemistry* 52, 4, 771–775.
- Katayama K., Mori T., Kawahara S., Miake K., Kodama Y., Sugiyama M., Kawamura Y., Nakayama T., Maruyama M., Muguruma M., 2007. Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitory Peptide Derived from Porcine Skeletal Muscle Myosin and Its Antihypertensive Activity in Spontaneously Hypertensive Rats. *Journal of Food Science*, 72, 9, 702–706.
- Katayama, K., Anggraeni, H. E., Mori, T., Ahhmed, A. M., Kawahara, S., Sugiyama, M., Muguruma, M., 2008. Porcine skeletal muscle troponin is a good source of peptides with angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity and antihypertensive effects in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2, 355–360.
- Kim S. K., Byun H. G., Park P. J., Shahidi F., 2001. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 6, 2992–2997.
- Korhonen H., Pihlanto A., 2006. Bioactive peptides: production and functionality. *International Dairy Journal*, 16, 9, 945–960.
- Lee Y. T., Hsu C. C., Lin M. H., Liu K. S., Yin M. C., 2005. Histidine and carnosine delay diabetic deterioration in mice and protect human low density lipoprotein against oxidation and glycation. *European Journal of Pharmacology*, 513, 145–150.
- Lee Y. G., Lee K. W., Kim J. Y., Kim K. H., Lee H. J., 2004. Induction of apoptosis in a human lymphoma cell line by hydrophobic peptide fraction separated from anchovy sauce. *Biofactors*, 21, 1, 63–67.
- Lee Y., Kim J. I. Y., Lee K., Kim K. H., Lee H., 2003. Peptides from Anchovy Sauce Induce Apoptosis in a Human Lymphoma Cell (U937) through the Increase of Caspase-3 and -8 Activities. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1010, 1, 399–404.
- Li B., Chen F., Wang X., Ji B., Wu Y., 2007. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization–mass spectrometry. *Food Chemistry*, 102, 4, 1135–1143.
- Li G. H., Le G. W., Shi Y. H., Shrestha S., 2004. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutrition Research*, 24, 469–486.
- Li G. H., Liu H., Shi Y. H., Le G. W., 2005. Direct spectrophotometric measurement of angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity for screening bioactive peptides. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37, 2, 219–224.
- Li X. X., Han L. J., Chen L. J., 2008. In vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from corn gluten meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 9, 1660–1666.
- Liu J. R., Chen M. J., Lin C. W., 2005. Antimutagenic and antioxidant properties of milk-kefir and soymilk-kefir. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7, 2467–2474.
- Liu Q., Kong B., Xiong Y. L., Xia X., 2010. Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. *Food Chemistry*, 118, 403–410.
- Liu Z.Y., Dong S. Y., Xu J., Zeng M. Y., Song H. X., Zhao Y.H., 2008. Production of cysteine-rich antimicrobial peptide by digestion of oyster (*Crassostrea gigas*) with alcalase and bromelain. *Food Control*, 19, 231–235.
- Lopez-Fandino R., Otte J., Van Camp J., 2006. Physiological, chemical and technological aspects of milk-protein-

- derived peptides with antihypertensive and ACE inhibitory activity. *International Dairy Journal*, 16, 1277–1293.
- Marković R., Baltić M. Ž., Šefer D., Radulović S., Drljačić A., Đorđević V., Ristić M., 2010.** Einfluss der Fütterung auf die Qualität von Broilern: Einfluss erhöhter Mengen an organischem Selen und Vitamin E in der Broile, *Fleischwirtschaft*, 10, 132–136.
- Marx V., 2005.** Watching peptides grow up. *Chemical and Engineering News*, 83, 11, 17–24.
- Matsufuji H., Matsui T., Seki E., Osajima K., Nakashima M., Osajima Y., 1994.** Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in an alkaline protease hydrolyzate derived from sardine muscle. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 58, 12, 2244–2245.
- Matsui T., Matsumoto K., 2006.** Antihypertensive peptides from natural resources. *Advances in Phytomedicine*, 2, 255–271.
- Matsukura T., Tanaka, H., 2000.** Applicability of zinc complex of L-carnosine for medical use. *Biochemistry (Moscow)*, 65, 817–823.
- McCann K. B., Shiell B. J., Michalski W. P., Lee A., Wan J., Roginski H., Coventry M. J., 2005.** Isolation and characterisation of antibacterial peptides derived from the f (164–207) region of bovine α i subS2 sub-casein. *International Dairy Journal*, 15, 2, 133–143.
- McCann K. B., Shiell B. J., Michalski W. P., Lee A., Wan Roginski H., Coventry M. J., 2006.** Isolation and characterization of a novel antibacterial peptide from bovine α s1-casein. *International Dairy Journal*, 16, 316–323.
- Megías C., Pedroche J., Yust M. M., Girón-Calle J., Alaiz M., Millán F., 2008.** Production of copper-chelating peptides after hydrolysis of sunflower proteins with pepsin and pancreatin. *Food Science and Technology*, 41, 1973–1977.
- Minervini F., Algaron F., Rizzello C. G., Fox P. F., Monnet V., Gobetti M., 2003.** Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinase-hydrolysed casein of milk from six species. *Applied and Environmental Microbiology*, 5297, 5305.
- Möller N. P., Scholz-Ahrens K. E., Roos N., Schrezenmeir J., 2008.** Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *European Journal of Nutrition*, 47, 4, 171–182.
- Morimatsu F., Kimura S., 1992.** *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology* 39, 770–777.
- Morimatsu F., Ito M., Budijanto S., Watanabe I., Furukawa Y., Kimura S., 1996.** Plasma cholesterol-suppressing effect of papain-hydrolyzed pork meat in rats fed hypercholesterolemic diet. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 42, 2, 145–153.
- Muguruma M., Ahmed A. M., Katayama K., Kawahara S., Maruyama M., Nakamura T., 2009.** Identification of pro-drug type ACE inhibitory peptide sourced from porcine myosin B: Evaluation of its antihypertensive effects in vivo. *Food Chemistry*, 114, 2, 516–522.
- Mulvihill B., 2004.** Micronutrients in meat. In W. K. Jensen, C. Devine, M. Dikeman (Eds.), *Encyclopedia of meat sciences*, 618–623. Oxford: Elsevier.
- Murray C. J., Lopez A. D., 1997.** Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet*, 349, 1436–1442.
- Najafian L., Babji A. S., 2012.** A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: their production, assessment, and applications. *Peptides*, 33, 1, 178–185.
- Nakashima Y., Arihara K., Sasaki A., Mio H., Ishikawa S., Itoh M., 2002.** Antihypertensive activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Food Science*, 67, 1, 434–437.
- Nakatani S., Mano H., Sampei C., Shimizu J., Wada M., 2009.** Chondroprotective effect of the bioactive peptide prolyl-hydroxyproline in mouse articular cartilage in vitro and in vivo. *Osteoarthritis and Cartilage*, 17, 1620–1627.
- Ngo D. H., Vo T. S., Ngo D. N., Wijesekara I., Kim S. K., 2012.** Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51, 4, 378–383.
- Olmedilla-Alonso, B., Jiménez-Colmenero, F., Sánchez-Muniz, F. J., 2013.** Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Science*, 95, 4, 919–930.
- Ono S., Hosokawa M., Miyashita K., Takahashi K., 2003.** Isolation of Peptides with Angiotensin I-converting Enzyme Inhibitory Effect Derived from Hydrolysate of Upstream Chum Salmon Muscle. *Journal of Food Science*, 68, 5, 1611–1614.
- Onuh J. O., Girgih A. T., Aluko R. E., Aliani, M., 2013.** Inhibitions of renin and angiotensin converting enzyme activities by enzymatic chicken skin protein hydrolysates. *Food Research International*, 53, 1, 260–267.
- Pedroche J., Yust M. M., Lqari H., Megias C., Giron-Calle J., Alaiz M., 2007.** Obtaining of *Brassica carinata* protein hydrolysates enriched in bioactive peptides using immobilized digestive proteases. *Food Research International*, 40, 7, 931–938.
- Peña-Ramos E. A., Xiong Y. L., Arteaga G. E., 2004.** Fractionation and characterisation for antioxidant activity of hydrolysed whey protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 14, 1908–1918.
- Pereira P. M. D. C. C., Vicente A. F. D. R. B., 2013.** Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science*, 93, 3, 586–592.
- Picot L., Bordenave S., Didelot S., Fruitier-Arnaudin I., Sannier F., Thorkelsson G., Piot J. M., 2006.** Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. *Process Biochemistry*, 41, 5, 1217–1222.
- Pihlanto A., Akkanen S., Korhonen H. J., 2008.** ACE-inhibitory and antioxidant properties of potato (*Solanum tuberosum*). *Food Chemistry*, 109, 104–112.
- Pihlanto-Leppala A., 2002.** Milk proteins j bioactive peptides. In R. Hubert (Ed.), *Encyclopedia of dairy sciences*, 1960. Oxford: Elsevier.
- Pownall T. L., Udenigwe C. C., Aluko R. E., 2010.** Amino acid composition and antioxidant properties of pea seed (*Pisum sativum* L.) enzymatic protein hydrolysate fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4712–4718.
- Purchas R. W., Rutherford S. M., Pearce P. D., Vather R., Wilkinson B. H. P., 2004.** Concentrations in beef and lamb of taurine, carnosine, coenzyme Q(10), and creatine. *Meat Science*, 66, 629–637.
- Purchas R. W., Busboom J., 2005.** The effect of production system and age on levels of iron, taurine, carnosine, coenzyme Q(10), and creatine in beef muscles and liver. *Meat Science*, 70, 589–596.

- Qian Z. J., Je J. Y., Kim S. K., 2007.** Antihypertensive effect of angiotensin I converting enzyme-inhibitory peptide from hydrolysates of bigeye tuna dark muscle, *Thunnus obesus*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55, 21, 8398–8403.
- Qian Z. J., Jung W. K., Kim S. K., 2008.** Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, *Rana catesbeiana* Shaw. *Bioresour Technology*, 99, 1690–1698.
- Rajapakse N., Mendis E., Jung W. K., Je J. Y., Kim S. K., 2005.** Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. *Food Research International*, 38, 175–82.
- Revilla E., Maria, C. S., Miramontes E., Bautista J., García-Martínez A., Cremades O., 2009.** Nutraceutical composition, antioxidant activity and hypocholesterolemic effect of a water-soluble enzymatic extract from rice bran. *Food Research International*, 42, 387–393.
- Rho S. J., Lee J. S., Chung Y. I., Kim Y. W., Lee H. G., 2009.** Purification and identification of an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from fermented soybean extract. *Process Biochemistry*, 44, 490–493.
- Rutherford-Markwick, K. J., 2012.** Food proteins as a source of bioactive peptides with diverse functions. *British Journal of Nutrition*, 108, 2, 149–157.
- Ryan J. T., Ross R. P., Bolton D., Fitzgerald G. F., Stanton C., 2011.** Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients*, 3, 9, 765–791.
- Saavedra L., Hebert E. M., Minahk C., Ferranti P., 2013.** An overview of omic analytical methods applied in bioactive peptide studies. *Food Research International*, 54, 1, 925–934.
- Saiga A., Okumura T., Makiyara T., Katsuta S., Shimizu T., Yamada R., Nishimura, T., 2003a.** Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in a hydrolyzed chicken breast muscle extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6, 1741–1745.
- Saiga A., Tanabe S., Nishimura T., 2003b.** Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3661–3667.
- Saiga A., Okumura T., Makiyara T., Katsuda S. I., Morimatsu F., Nishimura T., 2006.** Action mechanism of an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from chicken breast muscle. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 54, 942–945.
- Saito K., Jin D. H., Ogawa T., Muramoto K., Hatakeyama E., Yasuhara T., 2003.** Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 51, 3668–3674.
- Sakanaka S., Tachibana Y., 2006.** Active oxygen scavenging activity of egg-yolk protein hydrolysates and their effects on lipid oxidation in beef and tuna homogenates. *Food Chemistry*, 95, 243–249.
- Sarmadi B. H., Ismail A., 2010.** Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Pepdies*, 31, 10, 1949–1956.
- Shahidi F., Zhong Y., 2008.** Bioactive peptides. *Journal of AOAC International*, 91, 4, 914–931.
- Shalaby S. M., Zakora M., Otte J., 2006.** Performance of two commonly used angiotensin-converting enzyme inhibition assays using FA-PGG and HHL as substrates. *Journal of Dairy Research*, 73, 2, 178–186.
- Sharp S. I., Aarsland D., Day S., Sonnesyn H., Ballard C., Syst A., 2011.** Hypertension is a potential risk factor for vascular dementia: systematic review. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 26, 661–669.
- Shimizu M., Sawashita N., Morimatsu F., Ichikawa J., Taguchi Y., Ijiri Y., 2009.** Antithrombotic papain-hydrolyzed peptides isolated from pork meat. *Thrombosis Research*, 123, 753–757.
- Siemerink M., Schebb N. H., Liesener A., Perchuc A. M., Schöni, R., Wilmer, M., Vogel, M., 2010.** Development of a fast liquid chromatography/mass spectrometry screening method for angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors in complex natural mixtures like snake venom. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24, 5, 687–697.
- Simitzis P. E., Symeon G. K., Charismiadiou M. A., Bizelis J. A., Deligeorgis S. G., 2010.** The effects of dietary oregano oil supplementation on pig meat characteristics. *Meat Science*, 84, 670–676.
- Sofos J. N., 2008.** Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, 78, 3–13.
- Suetsuna K., Ukeda H., Ochi H., 2000.** Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11, 128–131.
- Sun J., He H., Xie B. J., 2004.** Novel antioxidant peptides from fermented mushroom *Ganoderma lucidum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 21, 6646–6652.
- Takenaka A., Annaka H., Kimura Y., Aoki H., Igarashi K., 2003.** Reduction of paraquat-induced oxidative stress in rats by dietary soy peptide. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67, 2, 278–283.
- Terashima M., Baba T., Ikemoto N., Katayama M., Morimoto T., Matsumura S., 2010.** Novel angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from boneless chicken leg meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7432–7436.
- Tohidpour A., Sattari M., Omidbaigi R., Yadegar A., Nazemi J., 2010.** Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17, 142–145.
- Toldra F., Reig M., 2011.** Innovations for healthier processed meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 9, 517–522.
- Udenigwe C. C., Aluko, R. E., 2012.** Food Protein-Derived Bioactive Peptides: Production, Processing, and Potential Health Benefits. *Journal of Food Science*, 77, 1, R11–R24.
- Udenigwe C. C., Ashton H., 2013.** Meat proteome as source of functional biopeptides. *Food Research International* 54, 1021–1032.
- Vermeirssen V., Van Camp J., Verstraete W., 2002.** Optimisation and validation of an angiotensin-converting enzyme inhibition assay for the screening of bioactive peptides. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 51, 1, 75–87.
- Wachtel-Galor S., Szeto Y. T., Tomlinson B., Benzie I. F., 2004.** *Ganoderma lucidum* ('Lingzhi'); acute and short-term biomarker response to supplementation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 55, 1, 75–83.
- Wang W., Mejia D., Gonzalez E., 2005.** A New Frontier in Soy Bioactive Peptides that May Prevent Age-related Chronic Diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4, 4, 63–78.

- Weiss J., Gibis M., Schuh V., Salminen H., 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 86, 1, 196–213.
- Wijesekara I., Kim S. K., 2010. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitors from marine resources: prospects in the pharmaceutical industry. *Marine Drugs*, 8, 4, 1080–1093.
- Wu H. C., Chen, H. M., Shiau, C. Y., 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36, 9, 949–957.
- Wu H., He, H. L., Chen, X. L., Sun, C. Y., Zhang, Y. Z., Zhou, B. C., 2008. Purification and identification of novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides from shark meat hydrolysate. *Process Biochemistry*, 43, 4, 457–461.
- Xie Z., Huang J., Xu X., Jin Z., 2008. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 111, 370–376.
- Yokoyama K., Chiba H., Yoshikawa M., 1992. Peptide inhibitors for angiotensin I-converting enzyme from thermolysin digest of dried bonito. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56, 10, 1541–1545.
- Young F. J., Therkildsen M., Ekstrand B., Che B. N., Larsen M. K., Oksbjerg N., Stagsted J., 2013. Novel aspects of health promoting compounds in meat, *Meat Science* 95, 904–911.
- Zhu K., Zhou H., Qian H., 2006. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. *Process Biochemistry*, 41, 6, 1296–1302.

Bioaktivni peptidi iz mesa i njihov uticaj na zdravlje ljudi

Baltić Ž. Milan, Bošković Marija, Ivanović Jelena, Janjić Jelena, Dokmanović Marija, Marković Radmila, Baltić Tatjana

Rezime: Bioaktivni peptidi predstavljaju funkcionalne komponente unutar proteina i mogu se izolovati iz hrane biljnog i animalnog porekla, uključujući i meso. Nakon oslobađanja iz proteina tokom digestije u gastrointestinalnom traktu, ili nekom od metoda koje se koriste u proizvodnji hrane, ovi peptidi ispoljavaju različite biološke efekte i poseduju različite aktivnosti poput antioksidativne, antimikrobne, antihipertenzivne, antitrombotične, citomodulatorne i imunomodulatorne aktivnosti, a imaju ulogu i u snižavanju nivoa holesterola i borbi protiv kancera i gojaznosti. Aktivnost bioaktivnih peptida zavisi od njihove strukture, ali i drugih karakteristika. Uzimajući u obzir njihove biološke aktivnosti i pozitivan uticaj na ljudsko zdravlje, sa jedne strane, kao i milione smrtnih slučajeva uzrokovanih kancerom, kardiovaskularnim bolestima, kao i drugim bolestima povezanim sa načinom života, sa druge strane, očigledno je da ovi peptidi mogu naći primenu u unapređivanju ljudskog zdravlja i smanjenju rizika od pojave različitih oboljenja. Takođe, bioaktivni peptidi pokazuju određene prednosti u odnosu na sintetičke lekove.

Ključne reči: funkcionalna hrana, ACE inhibitorni peptidi, proteini mišića, antioksidativne i antibakterijske osobine.

Paper received: 5.03.2014.

Paper accepted: 14.03.2014.

Mikotoksini u lancu ishrane – analiza rizika i značaj za javno zdravstvo

Milićević Dragan¹, Nedeljković-Trailović Jelena², Mašić Zoran³

S a d r ž a j: Oboljenja ljudi prouzrokovana kontaminiranom hranom predstavljaju jedan od najvećih problema sa kojim se suočava savremeno čovečanstvo. Glavni uzročnici kontaminacije su mikroorganizmi, naročito plesni, koje sintetišu jedinjenja male molekulske mase sa izrazitim toksičnim efektom na žive organizme. Mikotoksini su sekundarni metaboliti pretežno *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Claviceps* vrsta plesni, koje mogu kontaminirati hranu na polju (preharvest) i/ili tokom skladištenja (postharvest). Iako je do sada poznato preko 400 mikotoksina zbog svoje zastupljenosti i toksičnosti, aflatoksini (AFT), ohratoksin A (OTA), trihoteceni (TCT), zearalenon (ZEA), fumonizini (FB), tremorgeni mikotoksini i ergotalkaloidi, predstavljaju najveći medicinski, nutritivni, ekološki i ekonomski problem. Specifičnost mikotoksina u odnosu na druge toksine ogleda se u tome da pojedini rodovi plesni mogu da sintetišu nekoliko mikotoksina, kao i to da pojedini mikotoksini mogu biti proizvod sekundarnog metabolizma nekoliko rodova i vrsta plesni. Stoga je kozastupljenost mikotoksina u kontaminiranoj hrani veoma česta pojava. Faktori koji utiču na kolonizaciju plesni i sintezu mikotoksina odnose se na faktore spoljašnje sredine (ekstrinsik) u koje spadaju skladišni uslovi i koji se mogu kontrolisati, dok ostale faktore spoljašnje sredine kao što su klimatske promene ili unutrašnje (intrinsik) faktore, u koje spadaju specifičnost i varijacije pojedinih vrsta plesni i nestabilnost toksigenih svojstava plesni, je veoma teško kontrolisati. Mikotoksini u organizam ljudi i životinja najčešće dospevaju putem kontaminirane hrane, ali su inhalacioni i dermalni put, takođe mogući. Oboljenja ljudi i životinja izazvana mikotoksinima se nazivaju mikotoksikoze. Mikotoksini izazivaju različite akutne i hronične biološke efekte u organizmu ljudi i životinja. Smatra se da su monogastrične životinje daleko osetljivije na dejstvo mikotoksina u odnosu na preživare. Ekonomski značaj mikotoksina odražava se kroz povećane troškove lečenja ljudi i životinja, smanjenje produktivnih rezultata životinja uključujući i uginuća, direktne i indirektne štete koje nastaju usled uklanjanja kontaminirane hrane, investiranje u istraživanja i primenu preventivnih mera u sprečavanju negativnog efekta prisustva mikotoksina u hrani na zdravlje ljudi i životinja. Ovaj rad ima za cilj da sagleda ne samo zdravlje ljudi, već i da bude informativan za stručnjake u ovoj oblasti kako bi se otklonile određene nejasanoće vezane za prisustvo ove vrste hemijskog hazarda biološkog porekla u lancu ishrane. Stoga je u ovom radu prikazana zastupljenost i toksičnost najznačajnijih mikotoksina i način donošenja zakonske regulative. Takođe, opisane su analitičke metode za dokazivanje mikotoksina i mere koje se preduzimaju u prevenciji i kontroli mikotoksina.

ključne reči: analiza rizika, bezbednost hrane, javno zdravstvo, mikotoksini.

Uvod

Bazirano na podacima Globalnog monitorin-ga zaštite životne sredine – monitoringu kontaminacije hrane i programu procene rizika od mikotoksina (Global Environment Monitoring System – Food Contamination Monitoring and Assessment Programme – GEMS/Food, Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization – FAO/WHO) kao i podacima drugih nacionalnih agencija, mikotoksini po učestalosti pojavljivanja, nutritivnim, zdravstvenim (reproduktivnim) poremećajima i ekonomskim štetama predstavljaju veoma ozbiljan problem u sistemu snabdevanja stanovništva hranom, naročito

u zemljama u razvoju (Shephard, 2008). Negativan uticaj mikotoksina ogleda se kako na bezbednost hrane, zdravlje ljudi i produktivnost životinja (Scudamore, 2005), tako na nacionalnu ekonomiju i na međunarodnu trgovinsku razmenu. Prema godišnjem izveštaju Evropske komisije za 2011. godinu, mikotoksini su bili najzastupljeniji hazard za obaveštenje o odbijanju na granici i aktiviranje Sistema za brzo alarmiranje potrošača koji se odnosi na hranu za ljude i životinje (RASFF, 2011).

Danas je poznato na hiljade sekundarnih metabolita plesni, od kojih neki poseduju izrazitu aktivnost protiv živih organizama. Sekundarni metaboliti nemaju biohemijski značaj za rast plesni i uglavnom služe da plesnima daju kompetitivnu

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Republika Srbija;

³Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad, Rumenički put 20, 21000 Novi Sad, Republika Srbija.

prednost u odnosu na druge organizme. U zavisnosti od toga na koje organizme deluju, sekundarni metaboliti su podeljeni na antibiotike (bakterije), fitotoksine (biljke) i mikotoksine (vertebrate i ostale životinjske vrste). Smatra se da se broj sekundarnih metabolita kreće i do 3000 od kojih je oko 400 hemijski identifikovano i smatra se mikotoksinima (Riley, 1998). Mikotoksini su po hemijskoj strukturi raznorodna, relativno stabilna organska jedinjenja, male molekulske težine (200–700 Da), koja po strukturi, variraju od prostih C₄ jedinjenja (moniliformin), do kompleksnih jedinjenja kao što su fomopsin i tremorgenin mikotoksini (Brase i dr., 2009). Većina mikotoksina je liposolubilna te se akumuliraju u masnim depoima biljaka i životinja, dok su u vodi nerastvorljivi (izuzev fumonizina). Mada su skoro svi mikotoksini citotoksični, jer oštećuju različite ćelijske strukture i interferiraju sa vitalnim ćelijskim procesima, kao što su sinteza RNK, DNK, proteina, blokada respiratornog lanca, brojnim istraživanjima utvrđeno je da samo 20–30 prema svojoj toksičnosti i zastupljenosti imaju medicinski, nutritivni, ekološki i ekonomski značaj (Wild i Gong, 2010). To su toksini uglavnom produkti plesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Claviceps* (Herebian i dr., 2009). Prirodno se javljaju kao kontaminanti različitih vrsta namirnica biljnog porekla kao što su: žitarice, susam, kikiriki, pistači, badem, lešnik, suvo voće i povrće, kafa, uljarice i dr. (Bryden, 2012), koje čine osnovu u ishrani stanovništva, naročito zemalja u razvoju. Mogu se naći u vinu, pivu i voćnim sokovima, kao rezultat upotrebe kontaminirane sirovine za njihovo spravljanje. Posebnu opasnost predstavlja mogućnost da se u organizmu životinja koje su uzimale kontaminiranu hranu mogu naći rezidue (mikotoksini i/ili njihovi metaboliti) u različitim koncentracijama (Miličević i dr., 2009). Na ovaj, indirektan način preko primarnih proizvoda animalnog porekla mikotoksini ulaze u lanac ishrane (Soriano, 2007).

Na ispoljavanje toksičnih efekata mikotoksina na organizam ljudi i životinja utiče prvenstveno životinjska vrsta, mehanizam dejstva mikotoksina (toksikodinamika), metaboličkih specifičnosti organizma (toksikokinetika) i odbrambeni mehanizmi organizma. Ove specifičnosti najbolje su opisane u razlikama u osetljivosti preživara i nepreživara na mikotoksine. Buražna mikroflora preživara ima sposobnost detoksikacije mikotoksina, te su preživari daleko rezistentniji na prisustvo mikotoksina u hrani u odnosu na nepreživare. Određena istraživanja ukazuju da rase pripadnost i genetske razlike pa čak i unutar iste rase mogu imati uticaj na ispoljavanje bioloških efekata mikotoksina na organizam ljudi (Kuiper-Goodman, 2004).

Mikotoksini hemijski hazard

Globalni značaj mikotoksina, a time i njihova identifikacija kao hazarda, bazira se na sporadičnim epidemijama koje se još uvek javljaju u pojedinim delovima sveta, kao i njihovo dovodenje u vezu sa pojavom određenih oboljenja kod ljudi i životinja u pojedinim delovima sveta (Richard, 2007). Definisanje i klasifikacija mikotoksina je veoma složen postupak. Zbog razlika u hemijskoj strukturi i biosintetskom poreklu, kao i različitim biološkim efektima, klasifikacione šeme uglavnom odražavaju naučnu oblast kojima istraživanja pripadaju. Uglavnom najprihvatljivije su one podele koje zastupaju kliničari u zavisnosti od toga na koje organe mikotoksini deluju (hepatotoksini, nefrotoksini, neurotoksini, imunotoksini), molekularni biolozi prema biološkim efektima koje mikotoksini izazivaju (teratogeni, mutageni, kancerogeni i alergeni agensi) i na kraju mikolozi prema rodovima plesni koje ih sintetišu (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Claviceps* toksini). Mikotoksikoze ljudi i životinja karakterišu se kao oboljenja uzrokovana kontaminiranom hranom (alimentarne intoksikacije), toksine sintetišu isključivo plesni (biotoksini), oboljenja nisu infektivna i kontagiozna, a klinički simptomi bolesti najčešće nestaju nakon zamenjen kontaminirane hrane. Smatra se da su ljudi i životinje konstantno izloženi istovremenom dejstvu nekoliko mikotoksina i to najčešće u niskim koncentracijama. Podaci o potencijalnim interakcijama i štetnim efektima nastalim istovremenim dejstvom nekoliko mikotoksina na organizam ljudi i životinja su još uvek nedovoljni.

Internacionalna agencija za izučavanje raka (International Agency for Research on Cancer (IARC, 1993), evaluirala je kancerogena svojstva AFT, OTA, TCT, ZEA i FB. Aflatoksini su svrstani u grupu kancerogenih jedinjenja (Grupa 1), OTA i FB su svrstani u Grupu 2B (mogući kancerogeni), dok su TCT i ZEA svrstani u Grupu 3 kao nekancerogena jedinjenja, ali sa štetnim efektom po zdravlje ljudi. Pored navedenih mikotoksina, patulin, sterigmatocistin, ergotalkaloidi i *Alternaria* toksini predmet su evaluacije od strane međunarodnih organizacija.

Aflatoksini (AFT) su heterociklični metaboliti, produkti sekundarnog metabolizma plesni *Aspergillus flavus* Link, *A. parasiticus* Speare, *A. nominus*, *A. pseudotamarii* i *A. bombzicis* (Peterson i dr., 2001). Hemijski, aflatoksini (AFT) su difurkumarolaktoni. U svojoj strukturi aflatoksini sadrže bifuranski prsten, koji se sastoji od kumarinskog jezgra i pentanskog prstena (AFTB₁, B₂, M₁) ili šestočlanog laktonskog prstena (AFTG₁, AFTG₂). Do sada je identifikovano 18 aflatoksina, međutim

po svojoj toksičnosti i zastupljenosti, najznačajniji je AFTB₁ (IARC, 1993), dok su ostali aflatoksinini (AFTG₁, AFTB₂, AFTG₂), manje toksični ili se javljaju u prirodi samo kao produkti metabolizma (AFTM₁, AFTM₂, AFTP₁, AFTQ₁, aflatoksikol). Kukuruz, kikiriki, začini i ostale žitarice poreklom iz tropskih i suptropskih regiona predstavljaju dominantan izvor aflatoksina u ishrani ljudi i životinja (EFSA, 2004a). Izloženost ljudi aflatoksинима može biti i preko namirnica animalnog porekla konzumiranjem namirnica dobijenih od životinja hranjenih kontaminiranom hranom (meso, mleko, jaja) (Herzallah, 2009). Aflatoxin je utvrđen i u proizvodima od mesa, kao rezultat upotrebe začina kontaminiranih AFT (Azis i dr., 1991). Posebnu opasnost, naročito za decu, predstavlja mogućnost da se AFTB₁ kod životinja u laktaciji i žena izlučuje mlekom u obliku svog hidroksilisanog metabolita AFTM₁ (EFSA, 2004a), koji je svrstan u grupu 1 kancerogena (IARC, 2002). Zbog dokazanog kancerogenog i citotoksičnog svojstva aflatoksina i uloge AFTB₁ u razvoju primarnog kancera jetre (PLC) kod ljudi, aflatoksinini od svog otkrića pa do danas predstavljaju predmet obimnih istraživanja. Ciljno tkivo aflatoksina je jetra, međutim postoje podaci koji ukazuju da AFT može uzrokovati tumore i u drugim organima, kao što su kolon i bubrezi (Williams i dr., 2004). Veza između pojave PLC i izloženosti ljudi aflatoksинима jasno je dokazana kod individua obolelih od hepatitisa B i/ili C virusa u delovima Afrike i Azije (Wu i Santella, 2012). Obimna istraživanja sprovedena u Sudanu, Gani, Keniji i Nigeriji, ukazuju da aflatoksinini i njihovi metaboliti prolaze kroz placentu (Maxwell i dr., 1998). Rezidue AFT utvrđene su u tkivima dece obolele od Kwashiorkor i Reyesovog sindroma. Mehanizam dejstva AFTB₁ zasniva se na kovalentnom vezivanju AFTB₁ metabolita (AFB1-8,9-epoksida) za DNK u ciljnim ćelijama, stvarajući AFB1-N7-guanin addukte (Bailey, 1994), što za posledicu ima oštećenje DNK, mutacije i tumorozne promene. U pogledu citotoksičnog efekta, AFTB₁ dovodi do lipidne peroksidacije i oksidativnog stresa u hepatocitima i inhibiše cikličnu aktivnost nukleotid fosfodiesteraze u mozgu, jetri, srcu i bubrežima (Bonsi i dr., 1999). Od strane WHO klasifikovani su kao jedinjenja za koja ne postoji tolerantan dnevni unos (TDI). Stoga su maksimalno dozvoljene količine (MDK) u hrani postavljene po principu ALARA (as low as reasonably achievable).

Ohratoksini (OTA) predstavljaju grupu od sedam strukturnih jedinjenja derivata izokumarina vezanih amidnom vezom preko 7 karboksilne grupe za aminokiselinu L β-fenilalanin. Klasifikovani su u skladu sa biosintetskim poreklom kao pentaketidi unutar grupe poliketida. Iako grupu ohratoksina čine

sedam jedinjenja, po svojoj toksičnosti i zastupljenosti najznačajniji je ohratoxin A (OTA). Hemijsku strukturu OTA definisali su Van der Merwe i dr. (1965), koji su ekstrahovali i prečistili toksin iz kulture plesni *Aspergillus ochraceus* po kojoj je toksin i dobio ime. Ohratoxin A se prirodno javlja kao kontaminant različitih vrsta biljnih proizvoda kao što su: žitarice, brašno, kafa, čajevi, začini, mahunarke i sušeno voće (IARC, 1993), kao rezultat loše higijenske, poljoprivredne i skladišne prakse (Moss, 1996). Takođe, utvrđen je u vinu, pivu i voćnim sokovima kao rezultat upotrebe kontaminiranih sirovina za njihovu proizvodnju (Rubert i dr., 2011). Analizom ovih namirnica utvrđeno je da ohratoxin A sintetišu plesni *Penicillium verrucosum*, *Penicillium viridicatum*, *Aspergillus niger* i *Aspergillus carbonarius* (EFSA, 2004b; Duarte, i dr., 2011). Veoma visoka učestalost kontaminacije hrane OTA zabeležena je u zemljama Balkanskog poluostrva i to u područjima gde je zabeležena endemska nefropatija ljudi. Rezidue OTA utvrđene su u bubrežima, jetri, mesu i mleku životinja hranjenih kontaminiranom hranom (Milićević i dr., 2011; Nedeljkovic-Trailovic i dr., 2013). Procenjuje se da svinjsko meso i meso živine učestvuje sa oko 3–10% od ukupne izloženosti ljudi OTA (EFSA, 2004b).

Saznanja do kojih se došlo poslednjih godina, ukazuju na korelaciju između pojave hroničnog intersticijskog nefritisa i visoke izloženosti stanovništva OTA putem hrane (Pfohl-Leschkowicz i Manderville, 2007). Istraživanja sprovedena u 20 zemalja ukazuju na mogućnost uloge OTA u razvoju kancera testisa kod ljudi (Schwartz, 2002). Step pojavi kancera bio je u signifikantnoj korelaciji sa konzumiranjem kafe i svinjskog mesa po glavi stanovnika. Na osnovu istraživanja sprovedenih u Danskoj, Mađarskoj, Poljskoj i skandinavskim zemljama, OTA se smatra važnim etiološkim faktorom mikotoksične nefropatije svinja (Duarte i dr., 2011). Mehanizam toksičnosti OTA zasniva se na kompetitivnoj inhibiciji mitohondrijalnih enzima (ATP-aza, sukcinat dehidrogenaza i citohrom C oksidaza), stvaranju hidroksil radikala i lipidne peroksidacije (Wei i dr., 1985). Na bazi velikog broja podataka o kancerogenom dejstvu OTA na različitim životinjskim vrstama i za sada nedovoljnom broju podataka na ljudima, IARC klasifikovala je OTA kao mogući kancerogeni agens za ljude i svrstala ga u grupu 2B (IARC, 1993). Ohratoxin A osim nefrotoksičnog, poseduje teratogeno, imunotoksično i genotoksično dejstvo (Mantle i dr., 2010), kod različitih životinjskih vrsta. Novija istraživanja ukazuju da se OTA može smatrati i uzročnikom neurodegenerativnih oboljenja kao što su Parkinsonova i Alzheimerova bolest (Pfohl-Leschkowicz i Manderville, 2007). Od strane Naučnog

komieta za hranu (Scientific Committee on Food – SCF) i Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) propisan je tolerantni nedeljni unos (tolerable weekly intake – TWI) od 120 ng/kg telesne težine OTA (EFSA, 2006a).

Patulin (PT) je poliketidni lakton (4-hidroxy-4H-furo[3,2-c]pyran-2(6H)-one), proizvod sekundarnog metabolizma plesni *Aspergillus clavatus*, *Penicillium patulum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium equinum*, *Penicillium claviforme*. Patulin sintetišuće plesni izolovane su sa žitarica, njihovih proizvoda, kobasica, sireva, voća, ali najčešće sa jabuka i njihovih proizvoda (Soriano, 2007). Međutim, PT je izuzetno nestabilan na supstratima sa visokim sadržajem sulfhidrilnih grupa, kao što su žitarice, meso i sirevi, a temperatura pasteurizacije neznatno redukuje sadržaj patulina u proizvodima podvrgnutim ovim vidom termičke obrade (McKinley i Carlton, 1991). Iako je IARC PAT svrstala u grupu 3 kao nekancerogena jedinjenja, ali sa štetnim efektom po zdravlje ljudi (IARC, 1993), značaj PT zasniva se na eksperimentalnim podacima o njegovom neurotoksičnom, imunotoksičnom, genotoksičnom teratogenom i kancerogenom dejstvu (Mahfoud i dr., 2002). JECFA je za PT uspostavila tolerantni dnevni unos (tolerable daily intake – TDI) od 0.4 µg/kg TM/dnevno (WHO, 1995), koji je potvrđen i od strane SCF.

Trihoteceni (TCT) obuhvataju grupu od 200–300 različitih, ali strukturno sličnih mikotoksina (*seskviterpenoida*), proizvoda sekundarnog metabolizma plesni iz roda *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Myrothecium*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Cylindrocarpon*, *Verticimonosporium*, *Cephalosporium* i *Phomopsis*. TCT su podeljeni u dve grupe u zavisnosti od prisustva makrocikličnog prstena između C-4 i C-15 atoma, na nemakrociklične i makrociklične (He i dr., 2010). Nemakrociklični TCT su podeljeni na grupu A i B. Grupa A se karakteriše funkcionalnom grupom različitom od ketona na poziciji C-8 i predstavlja najznačajniju grupu u koju spadaju T-2, HT-2 toksin i diacetoksiscirpenol (DAS). TCT grupe B poseduju karbonilnu grupu na poziciji C-8, a najznačajniji predstavnici ove grupe su fusarenone-X, deoxinivalenol (DON) i nivalenol. Makrociklični TCT sadrže prsten između C-4 i C-15 sa dve estarske veze, a predstavnici ove grupe su verukarini, roridini, satratoksini i bašarini. Makrociklični TCT su daleko toksičniji u odnosu na nemakrociklične, međutim, za sada su još nedovoljno izučeni. Najznačajniji predstavnik iz grupe A je T-2 toksin koji se smatra najtoksičnijim, dok je najznačajniji predstavnik iz grupe B DON, koji se smatra najzastupljenijim trihotecenom (Krska i dr., 2007). Citotoksični efekat TCT-a zasniva se na inhibiciji sinteze proteina,

DNK, RNK sinteze, inhibiciji mitohondrijalne funkcije, oštećenjima na ćelijskoj membrani i imunopresijom (Rocha i dr., 2005). Žitarice su dominantan izvor TCT-a, dok je izloženost ljudi putem hrane animalnog porekla minornog značaja i ne predstavlja opasnost po zdravlje ljudi (Valenta i Dänicke, 2005; Seeling i dr., 2006; Goyarts i dr., 2007).

DON se prvenstveno javlja kao kontaminant žitarica kao što je pšenica, ječam i kukuruz (EFSA, 2004c) i njihovim proizvodima, dok je nešto ređe utvrđen u ovsu, pirinču, raži i tritikelijama. Hladna i vlažna klima, sa čestim izmenama temperature, pogoduje sintezi DON-a. U stočarskoj proizvodnji DON je poznat kao vomitoksin i faktor odbijanja hrane, prvenstveno kod svinja (Bryden, 2012). Živina je relativno rezistentna na prisustvo DON-a u hrani i odbijanje hrane je zabeleženo samo u uslovima visoke koncentracije (16–20 mg/kg hrane) (EFSA, 2004c). Simptomi akutnog trovanja su nervni poremećaji, hemoragije, iritacije kože, povraćanje, dijareja, oralne lezije (Pestka, 2010). DON se smatra uzročnikom mikotoksikoza ljudi u Rusiji, Japanu, Kini i Indiji. Zbog nedovoljnog broja podataka o njegovom kancerogenom svojstvu IARC je DON svrstala u grupu 3 kao nekancerogena jedinjenja, ali sa štetnim efektom po zdravlje ljudi (IARC, 1993). Od strane SCF i JECFA propisan je TDI od 1 µg/kg TM/dnevno (SCF, 2002).

T-2 i HT-2 spadaju u najtoksičnije toksine iz grupe trihotecena. Utvrđen je kao kontaminant pšenice, kukuruza, ovasa, ječma, pirinča, leguminoza i njihovih proizvoda (EFSA, 2011a). T-2 toksin je izraziti inhibitor sinteze DNK i proteina i ispoljava snažan imunotoksični, hematotoksični i mijelotoksični efekat (EFSA, 2011a). Imuni sistem je primarni target sistem T-2 toksina kod svinja (Meissonnier i dr., 2008), dok su kod živine zabeležene oralne lezije. Značajno smanjenje otpornosti na uzročnike Gram negativnih bakterija i herpes simpleks virusa zabeleženo je kod eksperimentalnih životinja u slučaju njihove izloženosti T-2 toksinu i DON-u. Na bazi raspoloživih podataka o zastupljenosti T-2 i HT-2 toksina EFSA (CONTAM panel) je u svom mišljenju, zaključila da je izloženost životinja T-2 i HT-2 toksinima putem hrane niska, a time i rizik po zdravlje životinja (EFSA, 2011a). JECFA i CONTAM grupa EFSA-e propisali su TDI od 0,1 µg/kg TM/dnevno, pojedinačno ili zbirno za ova dva toksina (EFSA, 2011a).

Zearalenon (ZEA) (F-2 toksin) ZEA je nesterooidni metabolit plesni iz roda *Fusarium*, prvenstveno *F. culmorum*, *F. graminearum* i *F. heterosporum* (Bottalico, 1998). Pripada grupi fitoestrogena i do sada je identifikovano 15 različitih derivata koji poseduju različitu biološku aktivnost. Hemijski, ZEA

je lakton 6- β -rezorcinolne kiseline i u osnovi ima sličnu konfiguraciju (fenolno jezgro) kao estrogene supstance (estradiol, estriol i stilbestrol) (Hagler i dr., 2001). Osim što je toksičan za ljude i životinje, ZEA je neophodan plesnima u polnom razmnožavanju. Prisustvo ZEA je najčešće utvrđeno u kukuruзу i ostalim žitaricama, a utvrđen je i u soji (Bhat i dr., 2010). Zastupljenost i koncentracija ZEA varira od godine do godine i od regiona, u zavisnosti od klimatskih faktora koji pogoduju sintezi ZEA. Zearalenon se u organizmu metaboliše u zearalenol (α -zearalenol i β -zearalenol) i zearalanol. Izomerna forma ZEA, (α -zearalenol) ispoljava tri puta veći estrogenski efekat od ZEA, dok β -zearalenol ima manji estrogenski efekat. Hiperestrogenizam je najznačajniji biološki efekat ZEA. Kao i estrogenski hormoni mehanizam dejstva ZEA se zasniva na vezivanju za estrogene receptore proteinske prirode u citosolu, a zatim se kompleks mikotoksin-receptor transportuje u jedro ćelije (Fink-Gremmels i Malekinejad, 2007). Relativna sposobnost vezivanja ZEA i njegovih metabolita za citoplazmatske receptore uterusa pacova kreće se sledećim redosledom α -zearalanol > α -zearalenol > β -zearalanol > β -zearalenol. Na dejstvo ZEA najosetljivije su svinje, dok su preživali i naročito određene vrste živine (ćurke, guske, patke) manje osetljive na prisustvo ZEA u hrani (Müller, 1978). Iako je kancerogeno dejstvo ZEA dokazano na eksperimentalnim životinjama, za sada još ne postoje jasni podaci o njegovom kancerogenom i/ili mutagenom dejstvu na ljudima (IARC, 1993). Prisustvo ZEA u namirnicama povezano je sa pojavom prevremenog puberteta kod dece (Maragos, 2010). Slobodne i konjugovane forme ZEA utvrđene su u kravljem mleku, međutim za sada ne postoje jasni podaci da li rezidue ZEA u mleku predstavljaju potencijalni rizik po zdravlje ljudi. Procenom rizika od ZEA sprovedene od strane SCF JECFA i tolerantni dnevni unos ZEA se kreće od 250 do 500 ng/kg TM (JECFA, 2000; EFSA, 2011b). U prirodnim uslovima često se susreću supstance koje su po strukturi vrlo slične ZEA, ali poseduju različitu biološku aktivnost kao curvularin (*P. expansum*) i radicicol (*Nectaria radicularis*).

Fumonizini (FBs) predstavljaju grupu od šest toksina izolovanih iz kulture plesni *Fusarium moniliforme* (Gelderblom i dr., 1988). Fumonizini serije A (A_1 i A_2) su amidi, dok iz serije B (B_1 , B_2 , B_3 i B_4) poseduju slobodne amine. Fumonizini su strukturno slični sfingolipidu sfingozinu, koji je u visokoj koncentraciji zastupljen u nervnom tkivu. Toksičnost fumonizina ispoljava se kroz blokadu sinteze sfingolipida (Steyn i dr., 2009). Po svojoj toksičnosti, najznačajniji je FB_1 (EFSA, 2005a). Fumonizine sintetisuje plesni iz roda *Fusarium* i to *F. moniliforme*, *F.*

proliferatum, *F. nygamai*, *F. anthophilum*, *F. dlamini* i *F. napiforme* i njegovo prisustvo najčešće je utvrđeno u kukuruзу i proizvodima od kukuruza (EFSA, 2005a). Prisustvo plesni *Fusarium moniliforme* u hrani već više od dve decenije dovodi se u vezu sa pojavom oboljenja kod ljudi i životinja sa fatalnim ishodom. Fumonizin B_1 izolovan je tokom istraživanja u Južnoj Africi gde je prisustvo plesni *F. moniliforme* u hrani dovelo do ozbiljnih zdravstvenih poremećaja kod životinja (Gelderblom i dr., 1988). Naknadna istraživanja potvrdiće ovu tezu, tako da se danas sa sigurnošću zna da su leukoencefalomalacija kod konja, edem pluća kod svinja (Morgavi i Riley, 2007) i pojava ezofagealnog kancera kod ljudi (Lerda i dr., 2005) vezane za prisustvo sekundarnih metabolita plesni *F. verticilloides* (ex *F. moniliforme*) i *F. proliferatum* u hrani. Fumonizini serije A (A_1 i A_2) i serije B (B_1 , B_2 , B_3 i B_4) strukturno su slični sfingolipidu sfingozinu, koji su u visokoj koncentraciji zastupljeni u nervnom tkivu. Studije sa radioobeleženim FB_1 ukazuju na prisustvo rezidua FB_1 u jetri i bubrezima svinja. Postoje jasni dokazi o citotoksičnom i kancerogenom dejstvu FB_1 na životinjama (Gelderblom i dr., 2001). Klasifikovan je kao mogući kancerogeni agens za ljude i svrstan je u grupu 2B (IARC, 2002). JECFA je evaluirala toksično dejstvo FBs i uspostavila provizorni tolerantni dnevni unos (provisional tolerable weekly intake – PTWI) od 2 μ g/kg TM/dnevno (WHO, 2001), koji je potvrđen i od strane Naučnog komiteta (SCF, 2003).

I pored toga što relativno mali broj radova ukazuje da prisustvo rezidua i/ili metabolita zearalenona, fumonizina i deoksinivalenola ne predstavlja opasnost po zdravlje ljudi (Pettersson, 2004), smatra se da fuzariotoksini dovode do najvećih ekonomskih gubitaka, kako direktnih zbog kontaminacije žitarica (Wu, 2007), tako i indirektnih nastalih poremećajima zdravstvenog stanja kod životinja (Yazar i Omurtag, 2008). Vrlo često je utvrđena kozastupljenost fuzariumtoksina u kontaminiranim uzorcima (EFSA, 2004c). U većini slučajeva toksični efekti mogu rezultirati aditivnim i/ili sinergističkim efektom više mikotoksina (Grenier i Oswald, 2011).

Ergotalk aloidi (EAs) predstavljaju proizvod sekundarnog metabolizma plesni roda *Claviceps* (*C. purpurea* i *C. sclerotia*). Ergokornin, ergokristin, ergokriptin i ergotamin predstavljaju farmakološki najaktivnije peptide i glavne alkaloidne *C. purpurea*. *C. sclerotia* sintetisuje preko 100 raznorodnih hemijskih jedinjenja (Lacey, 1991), od kojih su sa toksikološke tačke gledišta najznačajniji alkaloidi poreklom od lizergične kiseline i klavin alkaloidi poreklom od dimetilergolina. Derivati lizergične kiseline su podeljeni u dve grupe i to na proste kisele amide (ergomitrin) i peptide koji su dalje podeljeni na ergotamin,

ergotiksin i ergoksin grupu (EFSA, 2012). Ergotalk aloidi su vrlo slični biogenim aminima stoga deluju na neurotransmitterske receptore, prevashodno na adrenergičke, dopaminergičke i seronergičke receptore. Njihov efekat na receptore dovodi do ishemije, naročito u ekstremitetima i promenama u hormonalnom statusu (EFSA, 2012). Za sada nema dovoljno relevantnih podataka koji ukazuju da se ergotalkaloidi akumuliraju u tkivima životinja i primarnim proizvodima (EFSA, 2005b).

Za pojedine mikotoksine CONTAM Panel je izradio naučno mišljenje i očekuje se stupanje na snagu zakonske regulative.

Sterigmatocistin (STC) je proizvod sekundarnog metabolizma plesni *Aspergillus nidulans* i *A. versicolor*. Strukturno je sličan aflatoksinima, sadrži ksantonsko jezgro vezano za bifuransku strukturu, te su i toksični efekti STC slični efektima AFT (Yaling i dr., 2012). Dovodi do oštećenje jetre i renalne nekroze kod pacova. Smatra se da je uključen u etiologiju hronične bolesti jetre kod ljudi u Africi (Wyatt, 2005). Zabeleženi su i toksikološki, mutageni i karcinogeni efekti kod životinja (Versilovskis i De Saeger, 2010). Mada podaci iz literature ukazuju da je STC manje zastupljen u odnosu na aflatoksine, smatra se da analitičke tehnike za njegovo dokazivanje nisu još dovoljno razvijene, tako da male količine sterigmatocistina u hrani još uvek ostaju nedetektovane. IARC je svrstala STC u 2B grupu kancerogena kao mogući karcinogeni agens za ljude (IARC, 1993). Opisana je toksičnost i derivata STC. Istraživanja ukazuju da je dimetilsterigmatocistin karcinogen, a da dihidrosterigmatocistin inhibira mitozu i spajanje markiranih timidina i uridina, što upućuje na inhibiciju sinteze DNK i RNK. Suprotno tome, dihidro-O-metilsterigmatocistin ispoljava slab inhibitorni uticaj na mitozu i sintezu DNK i RNK. Lipidna peroksidacija se javlja kao sekundarni mehanizam toksičnosti STC (Sivakumar i dr., 2001).

Alternaria toksini su sekundarni metaboliti plesni roda *Alternaria*, prvenstveno *A. alternata*. Pretpostavlja se da grupu alternaria toksine čine oko 30 mikotoksina. Među najznačajnije alternaria toksine spadaju alternariol, arternariol metil etar, altenuen, altertoxin (ATX I, II i III) i tenuazonska kiselina (Ostry, 2008). Prisustvo alternaria toksina najčešće je utvrđeno u voću i povrću, međutim podaci o zastupljenosti i koncentraciji alternaria toksina u žitaricama su nedovoljni (Asam i dr., 2011). Podaci o toksikološkim efektima ukazuju da alternaria toksini ispoljavaju citotoksični, fetotoksični i/ili teratogeni efekat (Logrieco i dr., 2009). Pojava ezofagealnog kancera kod ljudi u pojedinim regionima Kine dovodi se u vezu sa prisustvom alternaria toksina u žitaricama (Liu i dr., 1992). Iako je potencijalni rizik

po zdravlje ljudi kao i zastupljenost ove vrste toksina dokazana, još nisu uspostavljene maksimalno dozvoljene količine za alternaria toksine.

Ciklopiazonska kiselina (CPA) je indol-traminska kiselina. CPA je prvenstveno izolovana iz kulture plesni *Penicillium cyclopium* Westling, ali naknadnim istraživanjima utvrđeno je da i plesni *Aspergillus* vrste, kao što su *A. flavus*, *A. tamarii* i *A. versicolor*, mogu biti producenti CPA. Ciklopiazonska kiselina je utvrđena kao kontaminant kikirikija (Fernandez i dr., 2001), kukuruza (Lee i Hagler, 2001), sira i mleka (Oliveira i dr., 2006). S obzirom da se radi o proizvodu sekundarnog metabolizma plesni *Penicillium* i *Aspergillus* vrsta, vrlo često se susreće kozastupljenost CPA sa ostalim aspergilo i penicilinotoksinima (Oliveira i dr., 2006). Toksični efekti CPA su opisani kod živine, svinja i ovaca i to prvenstveno na organima digestivnog trakta (Bryden, 1991).

Citrinin (CT) je žuta, kristalna, optički aktivna supstanca, stabilna u organskim rastvaračima, ali ne i u kiseloj i alkalnoj sredini. Hemijski, citrinin je biciklični derivat fenola izolovan iz kulture plesni *Penicillium citrinum* i *P. viridicatum*, s toga je često kozastupljen sa OTA (Bennett i Klich, 2003). Naknadnim istraživanjima utvrđeno je da citrinin mogu sintetisati i *P. expansum*, *P. lanosum*, *P. verrucosum*, kao i *Aspergillus candidus* i *A. terreus*. Citrinin je nefrotoksičan mikotoksin (Singh i dr., 2008) koji ispoljava sinergističko dejstvo sa OTA pa se smatra i mogućim uzročnikom BEN-a (Vrabcheva i dr., 2000).

Tremorogeni mikotoksini pripadaju grupi proizvoda sekundarnog metabolizma saprofitskih plesni uglavnom iz roda *Aspergillus* i *Penicillium*, kao i plesni iz roda *Claviceps* i *Neotyphodium* (*Acremonium*) (Betina, 1994). Tremorogeni mikotoksini u svom sastavu sadrže modifikovani indolski prsten, koji predstavlja njihovu strukturnu i biološku karakteristiku. U zavisnosti od broja atoma azota u molekulu, tremorogeni mikotoksini su podeljeni u četiri grupe: 1. bez atoma azota (verrucosidin), 2. sa jednim atomom azota (paspalitremit, penitremit, jantitremit i lolitremit), 3. sa tri atoma azota (fumitremorgin-verukulogeni) i 4. tremorogeni mikotoksini sa četiri atoma azota (triptokivalini). Tremorogeni mikotoksini prvenstveno deluju na centralni nervni sistem i dovode do tremora, konvulzija i smrti. Mehanizam dejstva tremorogenih mikotoksina zasniva se na interferiranju sa neurotransmiterima na sinapsama (Weiser i Fink-Gremmels, 1991). Tremorogeni mikotoksini su utvrđeni kako u hrani za životinje, tako i u hrani za ljude kontaminiranim plesnima (Tournas, 1994). Naročito opasnost predstavljaju tradicionalno proizvedeni fermentisani proizvodi od mesa na

kojima se može spontano razviti toksogena mikroflora (Andersen, 1995).

Sredinom 1980. prvi put pojavila se teza o tzv. maskiranim i/ili konjugovanim mikotoksinima, na bazi pojave slučajeva klinički manifestne slike mikotoksikoza kod životinja koja nije bila u korelaciji sa niskim sadržajem mikotoksina u hrani. Ova pojava pripisana je neidentifikovanim, konjugovanim formama mikotoksina i pigmentima plesni *Fusarium graminearum*, kao što je aurofusarin, koji podležu hidrolizi u digestivnom traktu životinja (Berthiller i dr., 2011). Tokom svog metabolizma, biljke mogu da transformišu mikotoksine u konjugovane forme, tako da su prirodne pojave zearalenone glucozida (Berthiller i dr., 2009a) i deoxynivalenol 3-glucozida (Berthiller dr., 2009b) već opisane.

Smatra se da hemijska struktura mikotoksina igra značajnu ulogu u toksičnosti pojedinih mikotoksina (Uraguchi i Yamazaki, 1978) s obzirom da se promenom strukture (otvaranje laktonskog ili epoksidnog prstena) stvaraju manje toksična ili netoksična jedinjenja, a u nekim slučajevima i toksičniji metaboliti (aflatoksikol, zearalenol). Mikotoksini spadaju u relativno termostabilna jedinjenja koje konvencionalni načini pripreme hrane ne uništavaju (Soriano, 2007).

Identifikacija hazarda

Sumiranje toksikoloških ispitivanja u odnosu na uticaj supstanci na zdravlje ljudi i životinja, kao i uticaja na spoljašnju okolinu, zasniva se na međusobnoj saradnji tri organizacije koje su u sastavu Svetske zdravstvene organizacije (WHO) i to: Internacionalnog programa za hemijsku bezbednost (IPCS – *International Programme on Chemical Safety*), Internacionalne agencije za izučavanje raka (IARC) i Zajedničkog FAO/WHO ekspertskog komiteta za aditive hrane i kontaminante (JECFA – *Joint FAO/WHO Committee on Food Additives and Contaminants*). Unutar Evropske unije (EU), od 2002. god. za ovaj deo aktivnosti formirana je EFSA, koja preko Naučnih panela obezbeđuje naučne savete i tehničku pomoć zakonodavstvu EU u svim segmentima koji imaju direktan ili indirektan uticaj na bezbednost hrane za ljude i životinje.

Primenjujući paradigmu „Jedno zdravlje“ zajedničku inicijativu WHO i Svetske organizacije za zaštitu zdravlja životinja (OIE), longitudinalni i integrisani pristup bezbednosti hrane („od farme do trpeze“) uključuje zdravlje i dobrobiti životinja. U tom integrisanom pristupu, hrana za životinje predstavlja prvu kariku u lancu bezbednosti hrane (EC, 2002/32). Monitoring hrane za životinje i postavljanje MDK za prisustvo hemijskih kontaminanata u

hrani pored toga što treba da zaštiti zdravlje životinja ima za cilj i da spreči pojavu rezidua u tkivima životinja i njihov ulazak u lanac ishrane. Iako se procena rizika značajnih za ljude i životinje odvi-ja nezavisno, principi i metode su isti (WHO, 2009).

Procena izloženosti

Rizik vezan za mikotoksine zavisi od toksikoloških efekata i stepena izloženosti ljudi i životinja mikotoksinima. Toksikološki efekti su manje-više poznati i jednaki su za celokupnu svetsku populaciju, ali stepen kontaminacije (koncentracija) mikotoksina u pojedinim vrstama hrane se razlikuje od regiona do regiona. JECFA je na svojoj 56. sednici (JECFA, 2001) detaljno evaluirala toksikološke efekte mikotoksina (toksikokinetiku i toksikodinamiku). Pored toga, predmet razmatranja su bile i analitičke metode za njihovo dokazivanje, uzorkovanje, način procene izloženosti i mere prevencije i kontrole mikotoksina.

Procena izloženosti je veoma složen proces koji zahteva multidisciplinarni pristup i u rešenje ovog problema uključene su naučne discipline kao što je: toksikologija, analitička hemija, nutricionizam i matematičko-statističke discipline. U osnovi postoje dva koncepta procene izloženosti stanovništva mikotoksinima. To su *deterministički* i *probabilistički* model. Klasičan *deterministički* pristup procene izloženosti stanovništva mikotoksinima se zasniva na zastupljenosti mikotoksina u pojedinim vrstama hrane i njihovom stepenu konzumiranja. Međutim, na konzumiranje hrane utiču brojni faktori od kojih su najznačajniji: individualne varijacije, starost, sezonske i geografske varijacije, kulturološke, verske i ekonomske razlike, stoga je deterministički model predmet osporavanja i kao alternativa ovom modelu nameće se probabilistički metod koji tokom proračuna uzima u obzir gore navedene faktore koji utiču na konzumiranje hrane. Veoma važno telo Evropske komisije je SCOOP (Scientific Cooperation on Questions relating to Food), formirano sa ciljem da na naučnim principima pruži podatke o stepenu konzumiranja određenih vrsta namirnica (EFSA, 2011c).

Za pravilnu procenu izloženosti ljudi mikotoksinima neophodni su podaci o stepenu kontaminacije (koncentracija) mikotoksina u pojedinim vrstama hrane. Ovi podaci dobijaju se sistemskim praćenjem (monitoring), a za čije sprovođenje su neophodni preduslovi od kojih su najznačajniji plan uzorkovanja, pravilno uzorkovanje i primena priznatih i poznatih analitičkih procedura za dokazivanje mikotoksina. Analitička procedura se sastoji od tri različita, ali integralno povezana dela i to:

uzorkovanje, priprema uzorka i metode analize. Cilj uzorkovanja je dobiti uzorak koji će u potpunosti reprezentovati sve osobine koje ima odgovarajući kontigent hrane u celini, s toga uzorkovanje predstavlja jednu od najkritičnijih tačaka u analitici mikotoksina. Zbog neravnomerne distribucije mikotoksina u uskladištenim žitaricama (*Casado i dr.*, 2009), greške u analitici mikotoksina koje nastaju zbog nepravilnog uzorkovanja kreću se i do 90% (*Van Egmond i dr.*, 2007). Prilikom uspostavljanja kriterijuma za uzorkovanje treba uzeti u obzir dva značajna faktora, a to su: zaštita zdravlja potrošača (lažno negativan – *consumer's risk*) i zaštita proizvođača (lažno pozitivan – *producer's risk*). Izrada procedure za pravilno uzorkovanje predstavlja internacionalni problem i predmet stalnih istraživanja (*EC*, 2006). U osnovi princip se zasniva na uzimanju od 3–100 inicijalnih uzoraka u zavisnosti od ukupne količine lota, do količine od 10 kg, od koje se nakon homogenizacije uzima uzorak za laboratorijsku analizu (*EC*, 2010). Uzorak se nakon toga homogenizuje i od homogenizovanog uzorka se uzima uzorak za laboratorijsku analizu. Priprema uzorka predstavlja drugu kritičnu tačku.

Prema utvrđenoj sistemske toksikološkoj analizi (STA) metod koji se primenjuje za detekciju nepoznate, kao i poznate, supstance u biološkom materijalu mora biti jednostavan, pouzdan, ponovljiv, dovoljno specifičan i brz da istovremeno obuhvati veći broj toksikološki relevantnih jedinjenja. Od tehnika koje se koriste u analitici mikotoksina najzastupljenije su hromatografske metode (TLC, HPLC, GC, LC-UV/MS, LC-MS/MS) i imunoenzimske (*ELISA*). Primena biosenzora i NIR u analitici mikotoksina nisu još naišle na širu primenu. Internacionalne organizacije kao što su AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) i Evropski komitet za standardizaciju (*Comité Européen de Normalisation – CEN*), evropski ekvivalent ISO (*International Organization for Standardization*), propisale su metode za analizu mikotoksina, koje se stalno inoviraju i unapređuju kroz interlaboratorijske validacione studije u skladu sa savremenim dostignućima struke i nauke. Poslednje izdanje AOAC International (*AOAC*, 2005) sadrži oko 45 validovanih metoda za određivanje mikotoksina. CEN priprema dokumenta koja obezbeđuju specifične kriterijume za različite analitičke metode koje će se koristiti u svrhe službene kontrole (*EC*, 2006). Dobra analitička tehnika i primena osiguranja kvaliteta analitičke procedure (*Analytical quality assurance – AQA*) su osnovni preduslovi za primenu odgovarajuće zakonske regulative. U pogledu pouzdanosti i tačnosti analitičke metode, osiguranje kvaliteta analitičke procedure

obezbeđuje se upotrebom sertifikovanog referentnog materijala mikotoksina (*Emons*, 2006), koji se mogu obezbediti preko Instituta za referentne materijale i merenja (*Joint Research Centre/Institute for Reference Materials and Measurements – JRC/IRMM*). Sastavni deo izveštaja o ispitivanju, pored dobijenog rezultata je i podatak o mernoj nesigurnosti ($X \pm U$) (*Stroka i Van Egmont.*, 2006). Merna nesigurnost je interval u okviru koga se nalazi merna veličina sa određenom verovatnoćom.

Osim primene sertifikovanog referentnog materijala, osiguranje kvaliteta analitičke procedure obezbeđuje se i kroz interlaboratorijsku komparaciju primenom *proficiency* testova. *Proficiency* testovi organizuju se na internacionalnom nivou i mogu biti u organizaciji evropskih (*Food Analysis Performance Assessment Scheme – FAPAS*) i severnoameričkih organizacija (*American Oil Chemists' Society – AOCS*).

Metod „probabilističkog“ načina procene izloženosti stanovništva mikotoksinima, uključuje i podatke dobijene o prisustvu mikotoksina i/ili njihovih metabolita u biomarkerima (krv i urin). Na ovaj način mogu se dobiti pouzdaniji podaci o akutnoj i hroničnoj izloženosti ljudi i životinja mikotoksinima. DON i njegov detoksifikacioni metabolit DON-3-glucuronid (DON-3Glu) često su utvrđeni u urinu ljudi koji su konzumirali hranu kontaminiranu DON-om (*Turner i dr.*, 2008), te se prisustvo ovih metabolita u urinu preporučuje kao biomarker za procenu izloženosti ljudi DON. Odnos između sfingafanina (Sa) i sfingozina (So) (Sa/So) u urinu životinja može se smatrati pouzdanim biomarkerom za procenu izloženosti životinja fumonizinom (*Shephard i dr.*, 2007). Međutim, zbog određenih metaboličkih specifičnosti ova vrsta analize ne pruža pouzdane podatke za procenu izloženosti FBs kod ljudi te se kao biomarker preporučuje FB₁ u urinu (*Silva i dr.*, 2010). Primena biomarkera u proceni izloženosti ljudi i životinja OTA je dosta izučavana. Veoma visoka korelacija utvrđena je između sadržaja OTA i njegovih metabolita u urinu i sadržaja OTA u hrani. *Jonsyn-Ellis* (2000) je utvrdio prisustvo OTa u 96% analiziranih uzoraka urina kod dece iz Sijera Leone, mlađih od pet godina u količini od 0,04–21 ng/mL. Po pitanju mogućnosti upotrebe biomarkera u proceni izloženosti ljudi ZEA do sada nema dovoljno naučnih saznanja da se α -ZOL-glucuronide i β -ZOL-glucuronid mogu naći u urinu ljudi. Ispitivanja toksikokinetike AFT na životinjama ukazuju da se nakon oralnog unošenja, pod normalnim uslovima 50% AFT veoma brzo resorbuj u duodenalnoj regiji i preko portalnog krvotoka dospeva u jetru gde se metaboliše. Od preko 20 metabolita koliko je utvrđeno, u urinu ljudi najčešće su utvrđeni aflatoxin

P1 (AFP1), aflatoksin Q1 (AFQ1), aflatoksin M1 (AFM1) i DNA-adduct (AFB1-N7Guanine). *In vitro* studije na mikrozomalnim ćelijama primata ukazuju da je AFQ1 glavni metabolit AFB1, dok hidrok-silisani metabolit AFM1 predstavlja manje od 10% od ukupnog AFB1 (Neal i dr., 1998). Istraživanja sprovedena u Kini ukazuju da je nivo AFQ1 u urinu 60 puta viši od AFM1. Stoga se AFQ1 preporučuje kao biomarker za procenu izloženosti ljudi AFTB1 (Mykkanen i dr., 2005). Međutim, nedostatak komercijalnog standarda AFQ1 predstavlja ozbiljnu poteškoću u ovim vrstama istraživanja.

T-2 toksin se nakon unošenja u organizam veoma brzo metaboliše. Spektr metabolita i njihov odnos u mnogome zavisi od vrste životinja na kojima su vršena ispitivanja. Glavni metabolički put T-2 toksina je diacetilacija C-4 acetil grupe što dovodi do stvaranja HT-2 toksina (EC, 2009). Ostali metaboliti T-2 triol i T-2 tetraol, su manjeg značaja. Podaci o toksikokinetici i metabolizmu CIT su vema oskudni. Dunn i dr. (1983) identifikovali su u urinu pacova dihidrocitron. Niske količine (2–5 ng/mL) CIT utvrđene u mokraći ljudi, ukazuju na iako nizak ali mogući način ekskrecije CIT (Phillips i dr., 1980). Međutim, nedostatak komercijalnih standarda mikotoksina i analitičkih metoda za dokazivanje mikotoksina i/ili njihovih metabolita u različitim materijalima, za sada predstavlja poteškoću u izučavanju procene izloženosti i procene štetnog dejstva mikotoksina.

Podaci o proceni izloženosti treba da pruže podatke relevantne za karakterizaciju rizika, odnosno poređenje dobijenih podataka sa tolerantnim dnevnim unosom (TDI) mikotoksina propisanim od strane JECFA i EFSA i vezan je prevashodno za zastupljenost mikotoksina u hrani s jedne strane i socioloških, ekonomskih i kulturoloških navika u ishrani stanovništva, sa druge strane.

Regulatorni aspekt

Zbog dokazane toksičnosti i kancerogenih svojstava pojedinih mikotoksina sadržaj mikotoksina u hrani je zakonski propisan. Prema podacima FAO (2004), Van Egmond i dr. (2007) najmanje 100 zemalja u svetu ima zakonske propise kojima je regulisano prisustvo mikotoksina u hrani za ljude i životinje, što je u odnosu na 1995. povećanje za oko 30%. Ukupna ljudska populacija u zemljama u kojima postoje MDK (maksimalno dozvoljene količine) za mikotoksine, reprezentuje 87% svetske populacije. Zakonska regulativa u zemljama EU se stalno evaluira i unapređuje, shodno naučnim saznanjima i tehnološkim dostignućima.

Veoma restriktivna zakonska regulativa u visoko razvijenim zemljama, dovodi do sprečavanja slobodne trgovinske razmene naročito sa zemljama u razvoju, tako da velike količine hrane kontaminirane mikotoksinima ostaju za lokalnu upotrebu (Wu i Munkvold, 2008).

Na donošenje zakonske regulative koja propisuju MDK mikotoksina u hrani za ljude i životinje utiče više faktora kako naučne i stručne, tako i socio-ekonomske prirode. U najznačajnije faktore spadaju: 1) dostupnost toksikoloških podataka o mikotoksinima, 2) saznanja o zastupljenosti, odnosno izloženosti ljudi i životinja mikotoksinima, 3) poznavanje distribucije mikotoksina u uzorku, 4) razvijenost analitičkih metoda za njihovo dokazivanje, 5) usklađenost sa međunarodnim zakonodavstvom koje treba da je u funkciji slobodnog protoka robe i kapitala i 6) snabdevanje stanovništva dovoljnim količinama hrane. Prva dva faktora pružaju informacije neophodne za analizu rizika u delu koji se odnosi na identifikaciju hazarda i procenu izloženosti, dok su treći i četvrti faktor bitni za sprovođenje zakonske regulative, kroz pravilno uzorkovanje i primenu odgovarajuće analitičke procedure. Poslednja dva faktora su socio-ekonomske prirode, ali su jednako značajni prilikom uspostavljanja maksimalno dozvoljenih količina mikotoksina u hrani.

Važan činilac u svetskoj ekonomiji predstavlja Svetska trgovinska organizacija (World Trade Organization – WTO), čije članice su vezane Sporazumom o primeni sanitarnih i fitosanitarnih mera (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures – SPS Agreement) koje, direktno ili indirektno, mogu da utiču na međunarodnu trgovinu. Članice su dužne da osiguraju da se svaaka sanitarna ili fitosanitarna mera primenjuje samo u obimu koji je neophodan da se zaštiti život i zdravlje ljudi, životinja i biljaka, da je zasnovana na naučnim principima procene rizika i da se ne održava na snazi bez dovoljno naučnog dokaza – ALOP koncept (*Appropriate Level Of Protection*) (FAO, 2006).

Kao važna karika u evropskom zakonodavstvu je Sistem brzog obaveštavanja i uzbunjivanja RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) kao mreža za izveštavanje o direktnom i indirektnom riziku po zdravlje čiji je uzrok hrana i hrana za životinje. RASFF predstavlja efikasan sistem brzog uzbunjivanja, odnosno obaveštavanja o zdravstveno neispravnoj hrani i hrani za životinje koja se detektuje na tržištu. U nastojanjima da se unapredi postojeći sistem bezbednost hrane i sledstveno utiče na smanjenje bolesti prouzrokovanih ili prenesenih hranom, naša zemlja je donela set propisa koji proističu iz Zakona o bezbednosti hrane, kojima je regulisano sistemsko praćenje rezidua štetnih

materija kod životinja, hrane životinjskog porekla i hrane za životinje (*Pravilnik*, 2009), odgovornost proizvođača za bezbednost i kvalitet hrane (*Pravilnik*, 2010) i MDK za mikotoksine u hrani (*Pravilnik*, 2010. i 2013). Međutim i pored određenih nedostataka i neusaglašenosti sa Direktivama i Preporukama EU naša zemlja pripada grupi malobrojnih zemalja koje imaju uspostavljene MDK za različite mikotoksine, što može predstavljati značajnu prednost pri harmonizaciji nacionalne regulative sa regulativama EU.

Ekonomski faktor

Ekonoske štete nastale usled kontaminacije hrane mikotoksinima je veoma teško proceniti iz više razloga. Prisustvo mikotoksina u hrani je nepredvidljivo jer se uslovi za infekciju, razvoj plesni i sintezu toksina menjaju u zavisnosti od klimatskih i drugih faktora. Smatra se da su ljudi i životinje konstantno izloženi istovremenom delovanju nekoliko mikotoksina i to najčešće u niskim koncentracijama. Podaci o potencijalnim interakcijama i štetnim efektima nastalim istovremenim delovanjem nekoliko mikotoksina na organizam ljudi i životinja su još uvek nedovoljni. Ishrana životinja hranom kontaminiranom mikotoksinima može dovesti do velikih ekonomskih gubitaka i ozbiljnih zdravstvenih poremećaja koji se ogledaju u povećanom mortalitetu i morbiditetu, poremećaju produktivnih i reproduktivnih sposobnosti i povećanim troškovima lečenja (*Bryden*, 2004). Stoga u proceni ekonomske štete moraju se uzeti u obzir epidemiološki podaci, uključujući klinička i laboratorijska istraživanja, direktne i indirektne štete nastale kontaminacijom hrane, upotreba aditiva u cilju smanjenja štetnih efekata mikotoksina, a kao jedan od vrlo bitnih ekonomskih gubitaka je gubitak poverenja kod potrošača u bezbednost hrane (*Vardon i dr.*, 2003).

U skladu sa procenama Organizacije za hranu i poljoprivredu (FAO), 25% od ukupne godišnje svetske proizvodnje biljnih kultura je kontaminirano mikotoksinima (*CAST*, 1989), dok je verovatno veliki deo kontaminiran sa još neidentifikovanim mikotoksinima, te se svetski gubici hrane usled prisustva mikotoksina procenjuju u milijardama dolara. Samo u SAD se godišnji gubici zbog kontaminacije useva aflatoksinima, fumonizinom i DON procenjuju na milijardu dolara na godišnjem nivou (*Wu*, 2004). Štete u proizvodnji i izvozu hrane za životinje i mlečnih proizvoda iz Srbije koje su nastale zbog kontaminacije mleka i kukuruza aflatoksinima tokom 2012–2013. godine procenjuju se na oko 100 i 125 miliona eura.

Mere za sprečavanje štetnih efekata mikotoksina

Iako su za sprečavanje ili redukciju štetnih efekata mikotoksina na zdravlje ljudi i životinja razvijene mnoge strategije, za sada još nije razvijen jedinstven metod koji bi bio podjednako efikasan za sve mikotoksine u različitim supstratima (*Shapira i Paster*, 2004). Uopšteno, postoje mere koje se sprovode u cilju prevencije kontaminacije hrane plesnima i mikotoksinima i tretmani koji se sprovode u cilju smanjenja toksičnih efekata nastalih kontaminacijom hrane mikotoksinima.

Sama produkcija toksina je pre svega uslovljena genetskim faktorima, ali značajno zavisi od uslova sredine u kojoj plesni rastu kao što su: sastav supstrata, vlažnost, aktivnost slobodne vode (a_w), temperatura, stepen oštećenja zrna, koncentracija O_2 i CO_2 , pH sredine, ukupan broj plesni, udeo toksogenih sojeva u mikopopulaciji, opterećenost sporama, prisustvo kompetitivne mikroflore, strukture skladišnog prostora i dr. (*Bhat i dr.*, 2010).

Prevencija

Prevencija kontaminacije hrane mikotoksinima odvija se još na polju pre žetve (*Pre-harvest strategies*) i tokom skladištenja (*Post-harvest strategies*). Teoretski, pristup prevenciji kontaminacije na polju sastoji se u primeni „dobre poljoprivredne prakse“ (*GAP*). *GAP* se sprovodi kroz selekciju useva otpornih na stres, a time i infestaciju parazitima, pravilnu irigaciju, pravilno prehranjivanje biljaka, kontrolu štetočina, primenu pesticida, rotaciju useva (*Bryden*, 2009). U Nemačkoj (*Medianer*, 1997) je preko 25% useva pod pšenicom poreklom od rezistentnih varijeteta. Nažalost selekcija u pogledu dobijanja apsolutno mikotoksin rezistentnih useva, dala je samo delimičan uspeh i to kod GMO kukuruza (*Bryden*, 2012). U skladištu, preventivne mere u cilju smanjenja kolonizacije plesni i sinteze mikotoksina zasnivaju se na korišćenju fizičkih i hemijskih metoda. Održavanje niske temperature u skladištu i kontrola vlažnosti osnovni su principi fizičkih metoda (*EMAN*, 2004). U uslovima kada je primena fizičkih metoda onemogućena, primenjuju se hemijske metode. Utvrđeno je da preko 100 hemijskih jedinjenja inhibira rast plesni i sintezu mikotoksina. U zavisnosti od supstrata koriste se fungicidi (*Varga i Kozakievicz*, 2006), natrijum-sorbat ili kalcijum-propionat (*Arroyo i dr.*, 2005). Nove strategije, izučavaju mogućnost primene antioksidanata kao što su vanilinska i 4-hidroksi benzoeva kiselina (*Palumbo i dr.*, 2007) ili esencijalnih ulja ekstrahovanih iz biljaka, prvenstveno *Thymus vulgaris* ili *Aframomum danielli* (*Aroyeun i Adegoke*,

2007). Dobra skladišna praksa (GSP), dobra higijenska praksa (GHP) i dobra proizvođačka praksa implementiranih u integrisani sistem kontrole bezbednosti hrane u svim fazama proizvodnje i distribucije (HACCP) predstavljaju pouzdane metode u prevenciji sinteze mikotoksina (Akkerman i dr., 2010).

Tretman

U slučajevima kada se kontaminacija mikotoksinima ne može sprečiti, primenjuju se mere detoksikacije koje podrazumevanju primenu fizičkih, hemijskih ili mikrobioloških postupaka sa ciljem eliminacije ili degradacije mikotoksina u manje toksična ili netoksična jedinjenja (Kabak i dr., 2006) i inhibicija apsorpcije mikotoksina iz kontaminirane hrane primenom adsorbenata (detoksifikacija). Od fizičkih metoda najčešće se primenjuje tretiranje toplotom i zračenje (gama, X zraci, UV svetlost) (Aziz i dr., 2004), a može da se koristi mikronizacija, tostiranje, ekstrudiranje i fizička separacija. Većina mikotoksina je termostabilna, tako da temperaturni režimi koji se uobičajeno koriste u prehrambenoj industriji samo delimično dovode do njihovog razaranja (Scudamore i dr., 2004), a ostali tretmani imaju vrlo malu praktičnu primenu.

Veliki naponi su učinjeni kako bi se pronašle ekonomski prihvatljive mere za destrukciju mikotoksina u netoksične produkte upotrebom različitih hemijskih sredstava. Hemijske metode degradacije mikotoksina zasnivaju se na korišćenju kiselina, baza, aldehida, oksidirajućih supstanci i nekih gasova. Alkalna sredstva kao što je amonijak, natrijum i kalcijum hidroksid se koriste prvenstveno za destrukciju aflatoksina, međutim ona nisu prihvaćena od strane FDA (Food and Drug Administration) (Park i Price, 2001). Takođe, jedna od hemijskih metoda je ozonizacija. Razvojem elektrohemijskih tehnika, omogućena je primena ozona u svrhe detoksifikacije (Young i dr., 2006). Iako se primenom hemijskih sredstava skoro kompletno razaraju mikotoksini, pojedina sredstva dovode do značajnih nutritivnih gubitaka i negativnog uticaja na palatabilitet (Huwig i dr., 2001).

Biološki metodi dekontaminacije zasnivaju se na mogućnosti da različiti mikroorganizmi (bakterije, aktinomicete, kvasci, gljivice, alge) poseduju enzimsku sposobnost da razgrade mikotoksine. Dekontaminacija biodegradacijom se postiže fermentativnim i bakterijskim procesima. Mehanizam fermentativne biodegradacije zasniva se na sposobnosti određenih mikroorganizama (*Saccharomyces cerevisiae*) da enzimatskim aktivnostima (epihidroksilaza, ligaza, keto-enol-tautomeraza) stvaraju manje toksična ili netoksična jedinjenja (Schatzmayer i dr., 2006). Od mikroorganizama, za biodegradaciju

mikotoksina najčešće se koristi *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Butyrivibrio*, *Phenyllobacterium*, *Pleurotus*, *Saccharomyces*, *Bacillus* i *Acinetobacter* vrste (Varga i dr., 2005; Fuchs i dr., 2008). S obzirom da se biološka degradacija mikotoksina zasniva na enzimskom delovanju, postoje pokušaji da se enzimi mikroorganizama ekstrahuju i primene u praksi (Pasteiner, 1998).

Treći vid i verovatno najprihvatljivija strategija za smanjenje toksičnih efekata mikotoksina (detoksifikacija) je inhibicija apsorpcije mikotoksina iz kontaminirane hrane, odnosno korišćenje adsorbenata. Različite grupe supstanci se primenjuju u te svrhe (Huwig i dr., 2001; Jouany, 2007). Aluminosilikati, gline i zeolitski minerali spadaju u najčešće primenjene grupe adsorbenata. Najveći broj adsorbenata neorganskog porekla deluje po principu izmene katjona odnosno „molekulskog sita“. Adsorbenti poseduju veliku površinu koja je naelektrisana čime se obezbeđuje čvrsta veza sa mikotoksinima. Od svih aluminosilikata najviše izučavan je hidratizirani natrijum kalcijum aluminosilikat – HSCAS. HSCAS ima veliki afinitet za aflatoksine i gradi veoma stabilan kompleks, dok je manje efikasan za ostale mikotoksine (Phillips i dr., 2002). Negativna strana primene mineralnih adsorbenata je mogućnost apsorpcije važnih nutritijenata i opisani toksični efekti na životinjama čija je hrana sadržala ovu vrstu aditiva (Huwig i dr., 2001).

U poslednje vreme u upotrebi su adsorbenti organskog porekla, tj. modifikovani manan oligosaharidi, složeni ugljeni hidrati izolovani iz unutrašnjeg sloja ćelijskog zida kvasca. Jedan od osnovnih kriterijuma za primenu adsorbenata je stabilnost veze između sorbenta i toksina, a kao nedostatak njihove primene navodi se mogućnost resorpcije važnih nutritijenata.

Kako je najčešće utvrđena kozastupljenost mikotoksina u hrani, ili preciznije rečeno jedinjenja koja se razlikuju po hemijskim karakteristikama, termostabilnosti, rastvorljivosti i afinitetu za određene adsorbente, detoksifikaciona procedura koja uspešno funkcioniše u uslovima pojedinačne kontaminacije, verovatno neće biti uspešna u uslovima kozastupljenosti mikotoksina (Park i Price, 2001).

Zaključak

Za naučnu procenu rizika u oblasti mikotoksina na području Republike Srbije (RS) za sada nema dovoljno validnih, pouzdanih i na naučnim istraživanjima zasnovanih podataka. Deo razloga za to leži u činjenici da je u proteklih dvadesetak godina došlo do drastičnih promena u strukturi stanovništva i navikama u ishrani, a deo da nisu vršena sistematska istraživanja u oblasti zastupljenosti mikotoksina. Postojeći

podaci su parcijalni, nesistematizovani i ne pokrivaju dovoljan vremenski period za procenu rizika.

U Republici Srbiji posle potpisivanja Sporazuma o stabilizaciji i pridruživanju, došlo je do usklađivanja propisa sa zakonodavstvom EU. Međutim, to nije dovoljno. Radi uspostavljanja i funkcionisanja integrisanog sistema lanca hrane „od njive do trpeze“ potrebno je razviti i samokontrolu proizvođača, uspostaviti sveobuhvatan, integrisan i koordinirajući sistem za pribavljanje informacija o nacionalnim incidentima, uključujući unutrašnju i

međunarodnu distribuciju kontaminirane hrane, definisan sistem kontaktnih tačaka, kao i brzu reakciju na informacije u slučaju pojave kontaminirane hrane i njenog porekla.

Unapređenjem postojećeg sistema obezbediće se podela odgovornosti svih učesnika u lancu bezbednosti hrane (proizvođači, prerađivači, distributeri, potrošači i organi uprave nadležni za nadzor, kao i kontrola i nadzor), koji će biti prepoznati i upoznati sa svojim pravima, obavezama, ovlašćenjima i odgovornostima uz uvažavanje politike održivog razvoja.

Literatura

- Akkerman R., Farahani P., Grunow M., 2010. Quality, safety and sustainability in food distribution: a review of quantitative operations management approaches and challenges. *OR Spectrum*, 32, 4, 863–904.
- Andersen S. J., 1995. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. *Journal of Food Protection*, 58, 426–429.
- AOAC International 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th edn. AOAC International, Gaithersburg, USA.
- Aroeyun S. O., Adegoke G. O., 2007. Reduction of ochratoxin A (OTA) in spiked cocoa powder and beverage using aqueous extracts and essential oils of *Aframomum danii*. *African Journal of Biotechnology* 6, 612–616.
- Arroyo M., Aldred D., Magan N., 2005. Environmental factors and weak organic acid interactions have differential effects on control of growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* isolates in bread. *International Journal of Food Microbiology*, 98, 223–231.
- Asam S., Konitzer K., Rychlik M., 2011. Precise determination of the *Alternaria* mycotoxins alternariol and alternariol monomethyl ether in cereal, fruit and vegetable products using stable isotope dilution assays. *Mycotoxin Research*, 27, 23–28.
- Azis N. H., Youssef A. Y., 1991. Occurrence of aflatoxin and aflatoxin-producing moulds in fresh and processed meat in Egypt. *Food Additives and Contaminants*, 8, 321–331.
- Aziz N. H., Moussa L. A. A., Far F. M. E., 2004. Reduction of fungi and mycotoxins formation in seeds by gamma-radiation. *Journal of Food Safety* 24, 109–127.
- Bailey G. S., 1994. Role of aflatoxin-DNA adducts in the cancer process. In: Eaton, D.L., Groopman, J.D. (Eds.), *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, San Diego, CA, 137–148.
- Bennett J. W., Klich M., 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 497–516.
- Berthiller F., Hametner C., Krenn P., Schweiger W., Ludwig R., Adam G., Krska R., Schuhmacher R., 2009a. Preparation and characterization of the masked Fusarium mycotoxins zearalenone-4O- β -D-glucopyranoside, α -zearalenol-4O- β -D-glucopyranoside and β -zearalenol-4O- β -D-glucopyranoside by MS/MS and 2D-NMR. *Food Additives and Contaminants* 26, 207–213.
- Berthiller F., Corradini R., Dall'Asta C., Marchelli R., Suliyok M., Krska R., Adam G., Schuhmacher R., 2009b. Occurrence of deoxynivalenol and its 3- β -D-glucoside in wheat and maize. *Food Additives and Contaminants* 26, 507–511.
- Berthiller F., Krska R., Domig K. J., Kneifel W., Juge N., Schuhmacher R., Adam G., 2011. Hydrolytic fate of deoxynivalenol-3-glucoside during digestion. *Toxicology Letters* 30, 206, 3, 264–267.
- Betina V., 1994. Bioactive secondary metabolites of microorganisms. *Progress in industrial biology*, 30. Elsevier and Ister Science Press, Bratislava, Slovak Republic.
- Bhat R., Rai R. V., Karim A. A., 2010. Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 1, 57–81.
- Bonsi P., Agusti-Tocco G., Palmery M., Giorgi M., 1999. Aflatoxin B1 is an inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase activity. *General Pharmacology* 32, 615–619.
- Bottalico A., 1998. Fusarium Diseases of Cereals: Species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *Journal of Plant Pathology*, 80, 85–103.
- Brase S., Encinas A., Keck J., Nising C. F., 2009. Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chemical Reviews*, 109, 3903–4399.
- Bryden W. L., 1991. Occurrence and biological effects of cyclopiazonic acid, 127–147. In: Mixe, K. and Richard, J.L. (Eds.) *Emerging problem resulting from microbiological contamination*. National Institute of Hygienic Science, Tokyo.
- Bryden W. L., 2004. Mycotoxins and Animal Production: Insidious Problems Associated with Contaminated Feedstuffs. In: *Proceedings of the International Symposium on Recent Advances in Animal Nutrition*, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Bryden W. L., 2009. Mycotoxins and mycotoxicoses: significance, occurrence and mitigation in the food chain. In: Ballantyne, B., Marrs, T., Syversen, T. (Eds.), *General and Applied Toxicology*, third ed. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 3529–3553.
- Bryden W. L., 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology* 173, 134–158.

- Casado M. R., Parsons D. J., Weightman R. M., Magan N., Origi S., 2009.** Geostatistical analysis of the spatial distribution of mycotoxin concentration in bulk cereals. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 26, 6, 867–873.
- CAST, 1989.** Mycotoxins: Economics and health risks. Task Force Report No. 116. Ames, Iowa.
- Duarte S. C., Lino C. M., Pena A., 2011.** Ochratoxin A in feed of food-producing animals: An undesirable mycotoxin with health and performance effects. *Veterinary Microbiology* 154, 1–13.
- Dunn B. B., Stack M. E., Park D. L., Joshi A., Friedman L., King R. L., 1983.** Isolation and identification of dihydrocitrinone, a urinary metabolite of citrinin in rats, *Journal of Toxicology and Environmental Health* 12, 283–289.
- EC, 2002.** Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed. *Off. J. Eur. Commun. L* 140,
- EC, 2006.** Commission Regulation No. 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union L70*:12–34.
- EC, 2009.** Opinion of the Scientific Committee On Food on Fusarium Toxins Part 5: T-2 Toxin and HT-2 Toxin, Scientific Committee On Food (SCF), 1983, 2001, 2009.
- EC, 2010.** Commission regulation (EC) 178/2010. *Official Journal of the European Union, L* 52, 32.
- EFSA, 2004a.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal*, 39, 1–27.
- EFSA, 2004b.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*, 101, 1–36.
- EFSA, 2004c.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*, 73, 1–42.
- EFSA, 2005a.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. *EFSA Journal*, 235, 1–32.
- EFSA, 2005b.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ergot as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*, 225, 1–27.
- EFSA, 2006a.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to OCHRATOXIN A in food. *EFSA Journal*, 365, 1–56.
- EFSA, 2011a.** Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *EFSA Journal* 2011, 9, 12, 2481.
- EFSA, 2011b.** Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food. *The EFSA Journal* 9, 6, 2197.
- EFSA, 2011c.** Use of the EFSA comprehensive European food consumption database in exposure assessment. *The EFSA Journal* 9, 3, 2097.
- EFSA, 2012.** Scientific opinion on ergot alkaloids in food and feed. *EFSA Journal*, 10, 2798.
- EMAN, 2004.** Fact sheets on HACCP – Prevention and control. Available at: <http://193.132.193.215/eman2/fsheet3_1.asp> (accession date: 2008/03/10).
- Emons H., 2006.** Use of certified reference materials to achieve reliable analytical results. Abstracts of lectures and posters, The World Mycotoxin Forum, The Fourth Conference, Cincinnati, USA, November 6–8, 2006, 63.
- FAO, 2004.** Worldwide Regulation for Mycotoxins in Food and Feed in 2003. *FAO Food and Nutrition Paper* 81. FAO, UN.
- FAO, 2006.** Food safety risk analysis. A guide for national food safety authorities.
- Fernandez P. V., Patriarca A., Locani O., Vaamonde G., 2001.** Natural cooccurrence of aflatoxin and cyclopiazonic acid in peanuts grown in Argentina. *Food Additives and Contaminants*, 18, 1017–1020.
- Fink-Gremmels J., Malekinejad H., 2007.** Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. *Animal Feed and Sciences and Technology*, 137, 326–341.
- Fuchs S., Sontag G., Stidl R., Ehrlich V., Kundi M., Knasmüller S., 2008.** Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food and Chemical Toxicology* 46, 1398–1407.
- Gelderblom W. C. A., Jaskiewicz K., Marasas W. F. O., 1988.** Fumonisin: Novel mycotoxins with cancerpromoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 1806–1811.
- Gelderblom W. C. A., Abel S., Smuts C. M., Marnewick J., Marasas W. F., Lemmer E. R., Ramljak D., 2001.** Fumonisin-induced hepatocarcinogenesis: Mechanisms related to cancer initiation and promotion. *Environmental Health Perspectives*, 109, 2, 291–300.
- Goyarts T., Dänicke S., Valenta H., Ueberschär K. H., 2007.** Carry-over of Fusarium toxins (deoxynivalenol and zearalenone) from naturally contaminated wheat to pigs. *Food Additives and Contaminants* 24, 369–380.
- Grenier B., Oswald I. P., 2011.** Mycotoxin co-contamination of food and feed: Meta-analysis of publications describing toxicological interactions. *World Mycotoxin Journal*, 4, 285–313.
- Hagler JR W. M., Towers N. R., Mirocha C. J., Eppley R. M., Bryden W. L., 2001.** Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen?, pp 321–331. In: *Fusarium*, eds.: Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden, W.L., Burgess L.W., American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, USA.
- He J., Zhou T., Young J. C., Boland G. J., Scott P. M., 2010.** Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 67–76.
- Herebian D., Zühlke S., Lamshöft M., Spiteller M., 2009.** Multi-mycotoxin analysis in complex biological matrices using LC-ESI/MS: experimental study using triple stage quadrupole and LTQ-Orbitrap. *Journal of Separation Science*, 32, 939–948.
- Herzallah S. M., 2009.** Determination of aflatoxins in eggs, milk, meat and meat products using HPLC fluorescent and UV detectors. *Food Chemistry*, 114, 1141–1146.
- Huwig A., Freimund S., Käppeli O., Dutler H., 2001.** Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*, 122, 179–188.

- IARC, 1993.** Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Geneva. 1993, 56.
- IARC, 2002.** Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. IARC In IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 82, 301–366. Lyon, France: WHO.
- JECFA, 2000.** Safety evaluation of certain food additives and contaminants., WHO food additive series 44, zearalenone, 393–482, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- JECFA, 2001.** Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Fifty-sixth Meeting, Geneva, Switzerland, 6–15 February.
- Jonsyn-Ellis F. E., 2000.** Seasonal variation in exposure frequency and concentration levels of aflatoxins and ochratoxins in urine samples of boys and girls. *Mycopathologia*, 152, 35.
- Jouany J. P., 2007.** Methods for preventing decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Sciences and Technology*, 137, 342–362.
- Kabak B., Dobson A. D. W., Var I., 2006.** Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 593–619.
- Krska R., Welzig E., Boudra H., 2007.** Analysis of Fusarium toxins in feed. *Animal Feed Science and Technology*, 137, 241–264.
- Kuiper-Goodman T., 2004.** Risk assessment and risk management of mycotoxins in food. In: Mogan, N., Olsen, M. (Eds.), *Mycotoxins in Food, Detection and Control*. CRC Press, New York; Wood head Publishing Limited, Cambridge, England, 3–31 (Chapter 1).
- Lacey J., 1991.** Natural occurrence of mycotoxins in growing and conserved forage crops. In: J.E. Smith and R.E. Henderson (Eds.), *Mycotoxins and Animal Foods*. CRC Press, Boca Raton, Fla., 363–397.
- Lee Y. J., Hagler W. M., 2001.** Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* isolated from contaminated maize. *Journal of Food Science*, 56, 871–872.
- Lerda D., Bistoni M. B., Peralta N., Ychari S., Vasquez M., Bosio G., 2005.** Fumonisin in foods from Córdoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 691–698.
- Liu G., Qian Y., Zhang P., Dong W., Qi Y., Guo H., 1992.** Etiological role of *Alternaria alternata* in human esophageal cancer. *Chinese Medical Journal*, 105, 394–400.
- Logrieco A., Moretti A., Solfrizzo M., 2009.** *Alternaria* toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal*, 2, 129–140.
- Mahfoud R., Maresca M., Garmy N., Fantini J., 2002.** The mycotoxin patulin alters the barrier function of the intestinal epithelium, mechanism of action of the toxin and protective effects of glutathione. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 181, 209–218.
- Mantle P., Faucet-Marquis V., Manderville R., Sciqualli B., Pfohl-Leskowicz A., 2010.** Structures of covalent adducts between DNA and ochratoxin A: a new factor in debate about genotoxicity and human risk assessment. *Chemical Research in Toxicology*, 23, 89–98.
- Maragos C. M., 2010.** Zearalenone occurrence and human exposure. *World Mycotoxin Journal*, 3, 369–383.
- Maxwell S. M., Apeagyei F., de Vries H. R., Mwanmut D. D., Hendrickse R. G., 1998.** Aflatoxins in breast milk, neonatal cord blood and sera of pregnant women. *Journal of Toxicology and Toxin Reviews*, 8, 19–29.
- McKinley E. R., Carlton W. W., 1991.** In P. Sharma, D. K. Salunkhe (Eds.), *Mycotoxins and phytoalexins*, patulin. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Medianer T., 1997.** Breeding Wheat and Rye for Resistance to Fusarium Diseases. *Plant Breeding*, 116, 201–220.
- Meissonnier G. M., Laffitte J., Raymond I., Benoit E., Cosalter A. M., Pinton P., Bertin G., Oswald I. P., Galtier P., 2008.** Subclinical doses of T-2 toxin impair acquired immune response and liver cytochrome P450 in pigs. *Toxicology*, 247, 46–54.
- Milićević D., Nikšić M., Baltić T., Stefanović S., Janković S., 2009.** Prisustvo plesni i mikotoksina u hrani za ishranu svinja – značaj u proceni rizika. *Tehnologija mesa* 50, 5–6, 261–270.
- Milićević D., Grubić M., Radičević T., Sefanović S., Janković S., Vranić V., 2011.** Prisustvo rezidua ohratoksina A u tkivima svinja i živine. – značaj u analizi rizika. *Tehnologija mesa*, 52, 2, 268.
- Morgavi D. P., Riley R. T., 2007.** An historical overview of field disease outbreaks known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with *Fusarium* toxins. *Animal Feed Sciences and Technology*, 137, 201–212.
- Moss M. O., 1996.** Mode of formation of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants Supplement*, 13, 5–9.
- Müller H. M., 1978.** Zearalenon-Ein östrogen wirksames Mycotoxin. *Übers Tierernähr* 6, 265–300.
- Mykkanen H., Zhu H., Salminen E., Juvonen R. O., Ling W., Ma J., Polychronaki N., Kemilainen H., Mykkanen O., Salminen S., El-Nezami H., 2005.** Fecal and urinary excretion of aflatoxin B1 metabolites (AFQ1, AFM1 and AFB-N7-guanine) in young Chinese males. *International Journal of Cancer*, 115, 879.
- Neal G. E., Eaton D. L., Judah D. J., Verma A., 1998.** Metabolism and toxicity of aflatoxins M1 and B1 in human-derived in vitro systems. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 151–152.
- Nedeljkovic-Trailovic J., Trailovic S., Dimitrijevic M., Ilic V., 2013.** Blood Serum Protein Status in Broilers Fed with Increasing Concentrations of Ochratoxin A. *Acta veterinaria-Beograd*, 63, 1, 77–88.
- Oliveira C. A., Rosmaninho J., Rosim R., 2006.** Aflatoxin M1 and cyclopiazonic acid in milk traded in São Paulo, Brazil. *Food Additives and Contaminants*, 23, 196–201.
- Ostry V., 2008.** *Alternaria* mycotoxins: on overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal*, 1, 175–188.
- Palumbo J. D., O’Keeffe T. L., Mahoney N. E., 2007.** Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. *Mycopathologia*, 164, 241–248.
- Park D. L., Price W. D., 2001.** Reduction of aflatoxin hazards using ammoniation. *Review of Environmental Contamination and Toxicology*, 171, 139–175.
- Pasteiner S., 1998.** Mycotoxins in animal husbandry. *Wien: Biomin Gesunde Tierernährung Int. GesmbH.*
- Pestka J. J., 2010.** Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Archives of Toxicology*, 84, 663–679.

- Peterson S. W., Ito Y., Horn B. W., Goto T., 2001.** *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. *Mycologia*, 93, 689–703.
- Petterson H., 2004.** Controlling mycotoxins in animal feeds. In: Magan, N., Olsen, M. (Eds.), *Mycotoxins in Food*. Woodhead Publishing, Cambridge, 262–304.
- Pfohl-Leschkowicz A., Manderville R. A., 2007.** Ochratoxin A: an overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51, 61–99.
- Phillips R. D., Hayes A. W., Berndt W. O., 1980.** High-performance liquid chromatographic analysis of the mycotoxin citrinin and its application to biological fluids. *Journal of Chromatography*, 190–419.
- Phillips T. D., Lemke S. L., Grant P. G., 2002.** Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxicosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 504, 157–171.
- RASFF, 2011.** Annual reports 2011. European Commission.
- Richard J. L., 2007.** Some major mycotoxins and their mycotoxicoses e an overview. *International Journal of Food Microbiology* 119, 3–10.
- Riley R. T., 1998.** Mechanistic interactions of mycotoxins: Theoretical considerations. In: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. Ed. By K.K. Sinha & D. Bhatnagar Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Honh Kong, 227–253.
- Rocha O., Ansari K., Doohan F. M., 2005.** Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Additives and Contaminants* 22, 369–378.
- Rubert J., Sebastià N., Soriano J. M., Soler C., Mañes J., 2011.** One-year monitoring of aflatoxins and ochratoxin A in tiger-nuts and their beverages. *Food Chemistry* 127, 2, 822–826.
- SCF, 2002.** Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6, Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol. Scientific Committee on Food SCF/CS/CNTM/MYC/27 Final. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf Accessed 7th February 2013.
- SCF, 2003.** Updated opinion of the Scientific Committee on Food on Fumonisin B1, B2 and B3. Scientific Committee on Food SCF/CS/CNTM/MYC/28 Final European Food Safety Authority (EFSA), 2004b. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to zearalenone as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal*, 43, 1–41.
- Schatzmayer G., Zehner F., Taubel M., Schatzmayer D., Klimitsch A., Loibner A. P., Binder E. M., 2006.** Microbiologicals for deactivating mycotoxins. *Molecular Nutrition Food Research*, 50, 543–551.
- Schwartz G. G., 2002.** Hypothesis: Does ochratoxin A cause testicular cancer? *Cancer cause and Control* 19, 91.
- Scudamore K. A., 2005.** Principles and Applications of Mycotoxin Analysis. The Mycotoxin Blue Book, Edited by Duarte Diaz, 157–185, Nottingham University Press.
- Scudamore K. A., Banks J. N., Guy R. C. E., 2004.** Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grain during extrusion. *Food Additives and Contaminants*, 21, 488–497.
- Seeling K., Dänicke S., Valenta H., van Egmond H. P., Schorchthorst R. C., Jekel A. A., 2006.** Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and feed intake level on the bio-transformation and carry-over of deoxynivalenol in dairy cows. *Food Additives and Contaminants*, 23, 1008–1020.
- Shapira R., Paster N., 2004.** Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination. Woodhead Publishing Ltd. England, ISBN 1 855737337, 190–223.
- Shephard G. S., Marasas W. F., Burger H. M., Somdya N. I., Rheeder J. P., Van der Westhuizen L., Gatyeni P., Van Schalkwyk D. J., 2007.** Exposure assessment for fumonisins in the former Transkei region of South Africa. *Food Additives and Contaminants*, 24, 1196.
- Shephard G. S., 2008.** Impact of mycotoxins on human health in developing countries. *Food Additives and Contaminants*, 25, 146–151.
- Silva L. J., Pena A., Lino C. M., Fernández M. F., Mañes J., 2010.** Fumonisin determination in urine by LC-MS-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, 809–816.
- Singh N. D., Sharma A. K., Dwivedi P., Patil R. D., Kumar M., 2008.** Experimentally induced citrinin and endosulfan toxicity in pregnant Wistar rats: histopathological alterations in liver and kidneys of fetuses. *Journal of Applied Toxicology*, 28, 901–907.
- Sivakumar V., Thanislass J., Niranjali S., Devaraj H., 2001.** Lipid peroxidation as a possible secondary mechanism of sterigmatocystin toxicity. *Human & Experimental Toxicology*, 20, 8, 398–403.
- Službeni glasnik RS, br 78/10.** Pravilnik o opštim i posebnim uslovima higijene hrane za životinje.
- Službeni glasnik RS, br. 91/2009.** Pravilnik o utvrđivanju programa sistematskog praćenja rezidua farmakoloških, hormonskih i drugih štetnih materija kod životinja, proizvoda životinjskog porekla, hrane životinjskog porekla i hrane za životinje.
- Službeni glasnik RS, br. 25/2010 i br. 20/13.** Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i o hrani i hrani za životinje za koju se utvrđuju maksimalno dozvoljene količine ostataka sredstava za zaštitu bilja.
- Soriano M. J., 2007.** *Micotoxinas en Alimentos* (1st ed.). España: Ediciones Díaz de Santos. (Chapter 12).
- Steyn P. S., Gelderbloom W. C. A., Shephard G. S., van Heerden F. R., 2009.** Mycotoxins with a special focus on aflatoxins, ochratoxins and fumonisins. In: Ballantyne, B., Marrs, T., Syversen, T. (Eds.), *General and Applied Toxicology*. third ed. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 3467–3527.
- Stroka J., Van Egmond H. P., 2006.** How to deal with measurement uncertainty in routine mycotoxin determination. In: Barug D, Bhatnagar D, Van Egmond HP, Van der Kamp JW, Van Osenbruggen WA, Visconti A (eds) *The mycotoxin factbook*. Food and feed topics. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 295–310.
- Tournas V., 1994.** Heat-resistant fungi of importance to the food and beverage industry. *Critical Reviews in Microbiology*, 20, 243–263.
- Turner P. C., Rothwell J. A., White K., Gong Y. Y., Cade J. E., Wild C. P., 2008.** Urinary Deoxynivalenol is Correlated with cereal intake in individuals from the United Kingdom. *Environmental Health Perspectives*, 116, 21–25.
- Uraguchi K., Yamazaki M., 1978.** Toxicology, biochemistry and pathology of mycotoxins. Halsted Press, New York, USA.
- Valenta H., Dänicke S., 2005.** Study on the transmission of deoxynivalenol and deepoxy-deoxynivalenol into eggs of laying hens using a high-performance liquid chromatography-ultraviolet method with clean-up by immunoaffinity columns. *Molecular Nutrition and Food Research* 49, 779–785.

- Van der Merwe K. J., Steyn P. S., Fourie L., 1965.** Mycotoxins. II. The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 7083–7088.
- Van Egmond H. P., Schothorst R. C., Jonker M. A., 2007.** Regulations relating to mycotoxins in food Perspectives in a global and European context. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 147–157.
- Vardon P., McLaughlin C., Nardinelli C., 2003.** Potential economic costs of mycotoxins in the United States. In: Council for Agricultural Science and Technology (CAST) (Ed.), *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems*. Task Force Report No. 139. CAST, Ames, IA.
- Varga J., Peteri Z., Tabori K., Teren J., Vagvolgyi C., 2005.** Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by *Rhizopus* isolates. *International Journal of Food Microbiology* 99, 321–328.
- Varga J., Kozakiewicz Z., 2006.** Ochratoxin A in grapes and grape-derived products. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 72–81.
- Versilovskis A., De Saeger S., 2010.** Sterigmatocystin: occurrence in foodstuffs and analytical methods – an overview. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54, 136–147.
- Vrabcheva T., Usleber E., Dietrich R., Martlbauer E., 2000.** Co-occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2483–2488.
- Wei Y. H., Lu C. Y., Lin T. N., Wei R. D., 1985.** Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Toxicology*, 36, 119–130.
- Weiser J. M., Fink-Gremmels J., 1991.** Effects of verruculogen and fumitremorgen B on neurotransmitter release in vivo. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 87, 193–195.
- WHO, 1995.** 44th Report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. Technical report series 859, 36.
- WHO, 2001.** Safety evaluation of certain mycotoxins in food. WHO Food Additive Series 47, Geneva.
- WHO, 2009.** Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. *Environmental Health Criteria*, 240.
- Wild C. P., Gong Y. Y., 2010.** Mycotoxins and human disease: A largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, 31, 71–82.
- Williams J. H., Philips T. D., Jolly P. E., Stiles J. K., Jolly C. M., Aggarwal D., 2004.** Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 1106–1122.
- Wu F., 2004.** Mycotoxin risk assessment for the purpose of setting international regulatory standards. *Environmental Science & Technology*, 38, 4049–4055.
- Wu F., 2007.** Measuring the economic impacts of *Fusarium* toxins in animal feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 137, 363–374.
- Wu F., Munkvold G. P., 2008.** Mycotoxin in ethanol co-products: modelling economic impacts on the livestock industry and management strategies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3900–3911.
- Wu H. C., Santella R., 2012.** The role of aflatoxins in hepatocellular carcinoma. *Hepatitis Monthly*, 12, 8–16.
- Wyatt D. R., 2005.** (Ed.), *The Mycotoxin Blue Book: Mycotoxin Interactions*, Nottingham University Press, Nottingham, 269–278.
- Yaling L., Xin X., Juan W., Lingxiao X., Yanling S., Zhigang Y., Xia Y., Junling W., Xianghong Z., 2012.** Sterigmatocystin alters the number of FoxP3⁺ regulatory T cells and plasmacytoid dendritic cells in BALB/c mice. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 6, 1920–1926.
- Yazar S., Omurtag G. Z., 2008.** Fumonizins, trichothecenes and zearalenone in cereals. *International Journal of Molecular Sciences* 9, 2062–2090.
- Young J. C., Honghui Zhu, Ting Zhou., 2006.** Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 3, 417–424.

Mycotoxins in food chain – risk assessment and importance for public health

Milićević Dragan, Nedeljković-Trailović Jelena, Mašić Zoran

S u m m a r y: Disease outbreaks due to the consumption of contaminated food and feedstuff are a recurring problem world-wide. The major factor contributing to contamination are microorganisms, especially fungi, which produce low-molecular-weight compounds as secondary metabolites, with confirmed toxic properties referred to as mycotoxins. Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by fungi that invade crops at the field level and may grow on foods during storage under favorable conditions. The toxigenic fungi of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternari* and *Claviceps* have genera are of the greatest consequence to food safety. Mycotoxins, of over 400 that are known, which have the most food safety, nutritive, ecologic and economic significance include the aflatoxins, ochratoxins, trichothecenes, zearalenone, fumonisins, tremorgenic mycotoxins and ergot alkaloids. Some molds are capable of producing more than one mycotoxin and some mycotoxins are produced by more than one fungal species. Often more than one mycotoxin is found on a contaminated substrate. Factors influencing the presence of mycotoxins in foods or feeds include environmental conditions related to storage that can be controlled. Other extrinsic factors such as climate or intrinsic factors such as fungal strain specificity, strain variation, and instability of toxigenic properties are more difficult to control. Exposure to mycotoxins is mostly by ingestion, but also occurs by the dermal and inhalation routes. The diseases caused by exposure to mycotoxins are known as mycotoxicoses. Mycotoxins have various acute and chronic effects on humans and animals (especially monogastrics) depending on species and susceptibility of an animal within a species. Ruminants, however, are generally more resistant to the adverse effects of mycotoxins. This is because the rumen microbiota is capable of degrading mycotoxins. The economic impact of mycotoxins include loss of human and animal life, increased health care and veterinary care costs, reduced livestock production, disposal of contaminated foods and feeds, and investment in research and applications to reduce severity of the mycotoxin problem. This review is meant to be informative not only for health-conscious consumers but also for experts in the field to pave the way for future research to fill the existing gaps in our knowledge in regard to mycotoxins and food safety. In this review, the focus is on the occurrence of various types of mycotoxins in food and feed associated with risks to humans and livestock, as well as legislation put forth by various authorities. Brief descriptions on recent developments in mycotoxin detection methodology and on presently practiced detoxification methods are also included.

Key words: mycotoxins, food safety, risk assessment, public health.

Rad primljen: 18.11.2013.

Rad prihvaćen: 26.03.2014.

Uticaj upotrebe tritikalea na prinos i kvalitet mesa brojerskih pilića

Đekić Vera¹, Mitrović Sreten², Radović Vera³, Obradović Saša⁴, Đermanović Vladan², Mitrović Marko², Pandurević Tatjana⁵

S a d r Ź a j: U radu je ispitivan uticaj tritikalea kao hraniva na proizvodne i klanične osobine brojerskih pilića. Istraživanje je sprovedeno na 200 pilića za tov, hibrida Ross 308. Tom prilikom, formirane su dve grupe brojerskih pilića, ili tretmana, sa po 100 brojerskih pilića u svakoj grupi, odnosno kontrolna K-grupa (klasična smeša za tov brojlera) i ogledna O-grupa (smeša sa tritikaleom genotip Kg 20). U toku tova kod ispitivanih grupa je praćeno zdravstveno stanje i vršila se kontrola tovnih osobina: prirast (individualnim merenjem svih pilića jednom nedeljno), utrošak hrane i mortalitet. Ogled ishrane trajao je 42 dana. Pilići su uzgajani u podnom sistemu držanja i hranjeni su ad libitum.

Pošto je prinos trupova, kao i prinos i udeo pojedinih kategorija mesa obrađenih trupova pilića bitan činilac kvaliteta, praćen je uticaj tretmana ishrane na navedene osobine.

Rezultati su pokazali da su brojerski pilići kontrolne grupe (K) koji su hranjeni standardnom smešom imali nešto bolje proizvodne rezultate od brojerskih pilića ogledne grupe (O), koji su hranjeni smešom sa tritikaleom. Prosečna telesna masa ispitivanih brojerskih pilića 42. dana tova bila je veća kod pilića K-grupe i iznosila je (1896,875 g), a nešto manja kod brojerskih pilića hranjenih tritikaleom (1846,684 g). Nešto veći utrošak hrane po piletu do kraja oglednog perioda (42. dana) imali su brojerski pilići kontrolne grupe (4,332 kg). Međutim, ogledna grupa pilića koji su hranjeni smešom sa tritikaleom imali su manji mortalitet tokom celog eksperimentalnog perioda.

Ključne reči: brojleri, hrana, rast, tritikale.

Uvod

Tritikale je prikladno hranivo za sve vrste životinja, jer predstavlja visok izvor energije. Veoma bitan pokazatelj ekonomskog značaja je i prinos proteina po jedinici površine. Navedena svojstva su značajna za biološku vrednost i tehnološki kvalitet proizvoda namenjenih kako za ishranu ljudi, tako i za ishranu domaćih životinja. Od sadržaja proteina u zrnju zavisi hranljiva vrednost zrna, a samim tim i proizvoda. Belančevine sa većim sadržajem nezamenljivih amino-kiselina imaju veću nutritivnu vrednost, pri čemu najvažniju ulogu ima sadržaj lizina, kao prve deficitarne amino-kiseline kod žita (Ristić i Damme, 2002). Tritikale ima veći procenat proteina i lizina u odnosu na roditeljske vrste i nižu

energetsku vrednost u odnosu na pšenicu i kukuruz (Đekić i dr., 2011).

Tritikale se već naširoko koristi za ishranu živine (brojlera, nosilja) širom sveta. Kvalitet živinskih proizvoda može se modifikovati ili obogatiti dodavanjem tritikalea kao hraniva obrocima za ishranu životinja, te poslednjih godina postoji znatan naučni interes za iskorišćavanje tritikalea u stočnoj hrani, mada su podaci o publikovanim istraživanjima u oblasti produktivnosti živine i kvaliteta mesa i jaja oskudniji u odnosu na one o pozitivnom uticaju ove vrste strnih žita na preživare i svinje.

U brojerskoj proizvodnji ispitivanja obuhvataju utvrđivanje uticaja ishrane smešama sa različitim učešćem tritikalea, na proizvodne rezultate i kvantitativne i kvalitativne osobine mesa brojlera.

Napomena: Rezultati prikazani u radu su deo istraživanja Projekta br. TP 31054, finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (2011–2014).

¹Centar za strna žita, Kragujevac, Save Kovačevića 31, 34000 Kragujevac, Republika Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Beograd–Zemun, Republika Srbija;

³Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, Cara Dušana 34, 32000 Čačak, Republika Srbija;

⁴Univerzitet u Novom Pazaru, Departman za hemijsko-tehnološke nauke, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Republika Srbija;

⁵Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Poljoprivredni fakultet, Vuka Karadžića 30, 71123 Istočno Novo Sarajevo, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina.

Ispitivanjem hranljive vrednosti tritikalea na proizvodne osobine teških linijskih hibrida u svetu proučavao je veći broj istraživača (Ruiz i dr., 1987; Vieira i dr., 1995; De Brum i dr., 2000; Camiruaga i dr., 2001), dok sličnih istraživanja kod nas nije bilo.

Barneveld i Cooper (2002), su ispitivali šest varijeteta tritikalea u krmnim smešama za tov brojlera. Ukupan utrošak hrane za jedan kilogram telesne mase pilića varirao je od 1,75 do 2,24 kg. Oni ističu da je zrno tritikalea imalo veći sadržaj proteina, lizina i metionina, dok je svarljivost bila ista kao i zrna pšenice i kukuruza. Savage i dr. (1987), ističu da se primenom tritikalea u ishrani pilića, poboljšavaju fizička i senzorska svojstva kovanog

mesa. Zamenom pšenice sa tritikaleom u smeši za tov brojlera, ne dolazi do bitnih promena u proizvodnim i klaničnim osobinama pilića. Vohra i dr. (1991), ističu da bi se primenom tritikalea u smešama za tov brojlera i smešama za nosilje rešio problem dodavanja komercijalnih enzima u krmnim smešama, čime bi se smanjili ukupni troškovi proizvodnje hrane. Korver i dr. (2004), daju prednost tritikaleu zbog većeg prosečnog nedeljnog prirasta pilića, pri istoj količini unete hrane. Hermes i Johanson (2004), tvrde da tritikale u ishrani teških linijskih hibrida, koji je učestvovao u različitim količinama u smeši za tov brojlera, nije pokazao negativne efekte na proizvodne osobine pilića.

Tabela 1. Sirovinski sastav (%) i parametri kvaliteta smeša korišćenih u eksperimentu

Table 1. Composition (%) and the quality parameters of the mixtures used in the experiment

Hraniva/Feeds (%)	Starter		Grower I		Grower II		Finišer	
	K	O	K	O	K	O	K	O
Pšenica/Wheat	40,0	31,2	42,0	28,8	43,6	27,1	48,8	28,6
Kukuruz/Corn	21,0	21,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Tritikale/Triticale		7,5		12,0		15,0		18,0
Sojina sačma /Soybean meal	29,7	30,9	27,1	28,1	24,7	25,4	20,9	22,0
Suncokretova sačma/ Sunflower meal	2,5	2,5	3,0	3,0	3,5	4,0	3,5	4,0
Sojino ulje/Soybean oil	3,15	3,25	4,55	4,7	5,05	5,25	4,15	4,7
Kreda/Lime	1,2	1,2	1,0	1,1	1,0	1,1	0,7	0,8
Monokalcijum fosfat/ Mono-calcium phosphate	1,0	1,0	0,9	0,85	0,75	0,7	0,5	0,45
Premiks/Premix	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45	1,45
Ukupno/Total:	100	100	100	100	100	100	100	100
Hemijski sastav/Chemical composition:								
Sirovi ptoteini/Crude protein, %	22,37	22,38	20,17	20,20	19,70	19,64	18,42	18,44
Mast/Fat, %	6,36	6,37	9,51	9,67	9,90	9,78	8,47	8,68
Sirova vlakna/Crude fibre, %	3,17	3,17	3,43	3,42	3,58	3,57	3,23	3,18
Pepeo/Ash, %	6,88	6,79	5,89	6,18	5,99	6,05	5,64	5,98
Azot (ekstrah.)/Nitrogen (extr.), %	45,61	45,81	46,78	46,25	46,40	46,50	48,79	49,07
Metabolička energija/ Metabolizable energy, MJ/kg	12,59	12,63	13,39	13,39	12,86	12,85	13,39	13,39
Ca, %	1,29	1,20	0,79	0,77	0,79	0,77	0,88	0,89
P (usvojiv/available), %	0,53	0,47	0,42	0,42	0,42	0,42	0,64	0,64

Legenda/Legend:*Sastav premiksa (sadržaj u 1 kg smeše): vitamin A–9000 IJ; vitamin D₃–3300 IJ; vitamin E–30,0 IJ; vitamin K–2,2 mg; tiamin (B₁)–2,2 mg; riboflomin (B₂)–8,0 mg; pantotenska kiselina–12 mg; niacin–66,0 mg; piridoksin (B₆)–4,4 mg; folna kiselina 1,0 mg; holin–550 mg; vitamin B₁₂–0,022 mg; biotin–0,20 mg; so–0,30–0,45%; Mn–100 mg; Zn–75 mg; J–0,45 mg; Cu–8 mg; Se–0,10 mg; Fe–100 mg./*Composition of the pre-mix (content in 1 kg of mixture): vitamin A–9000 IJ; vitamin D₃–3300 IJ; vitamin E–30,0 IJ; vitamin K–2,2 mg; tiamin (B₁)–2,2 mg; riboflamine (B₂)–8,0 mg; pantothenic acid–12 mg; niacin–66,0 mg; pyridoxin (B₆)–4,4 mg; folic acid 1,0 mg; choline–550 mg; vitamin B₁₂–0,022 mg; biotine–0,20 mg; so–0,30–0,45%; Mn–100 mg; Zn–75 mg; J–0,45 mg; Cu–8 mg; Se–0,10 mg; Fe–100 mg

Najveća telesna masa ispitivanih pilića postignuta je sa 10% učešća tritikalea u smešama za tov brojlera, dok je veća konverzija hrane bila kod formulacije sa 15% učešća tritikalea. Različite formulacije, odnosno učešće tritikalea i pšenice u krmnim smešama za tov brojlera ispitivali su *Sarker i dr.* (2006). Isti su zaključili da najveću telesnu masu na kraju oglednog perioda, postižu pilići hranjeni sledećim formulacijama: $W_{40}T_{60}$ i $W_{60}T_{40}$. Najmanji mortalitet utvrđen je kod grupe koja je hranjena smešom bez tritikalea. Upoređujući tritikale i pšenicu u ishrani brojlera *Savage i dr.* (1987), ističu da je uvođenjem tritikalea u ishranu ćurana, dobiven bolji kvalitet mesa u odnosu na druge načine ishrane.

Zbog svega gore navedenog, cilj ovih istraživanja, bio je da se utvrde efekti uvođenja tritikaalea na brzinu porasta, konzumaciju i konverziju hrane, odnosno na proizvodne i klanične osobine pilića u tovu.

Materijal i metode

Ispitivanja, u okviru ovog rada, obavljena su na brojlerima hibrida Ross 308. Pilići su raspoređeni u dve grupe od po 100 komada. Kontrolna grupa (K) je hranjena standardnom smešom, dok je ogledna grupa (O) hranjena smešom sa tritikaleom (sorta tritikalea Kg 20), koja je proizvedena u Centru za strna žita, Kragujevac.

U zavisnosti od faze tova, za ishranu brojlera, korišćene su četiri smeše hraniva: starter, grower I, grower II i finišer. Prva, kontrolna grupa, hranjena je smešom bez dodatka, a druga, ogledna grupa, je u smeši istog sastava dobijala i po 7,5%, 12%, 15% i 18% tritikalea. Sastav i kvalitet smeša prikazan je u tabeli 1.

Osnovni hemijski sastav (vlaga, sirovi proteini, sirova mast i mineralne materije) kompletnih smeša za ishranu pilića određen je po metodama *AOAC* (1984). Sadržaj kalcijuma i fosfora određen je po metodama datih u Pravilniku o metodama uzimanja uzoraka i metodama vršenja fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane (*Službeni list SFRJ*, 1987).

Tov pilića trajao je 42 dana. Odgajivanje pilića bilo je obavljeno u okviru istog objekta, na podu sa dubokom prostirkom. Tokom tova, pilići su dobijali hranu i vodu *ad libitum*. U toku tova, kod ispitanih grupa, praćeno je zdravstveno stanje i kontrolisane su tovnе osobine: prirast (individualnim merenjem svih pilića jednom nedeljno), utrošak hrane i mortalitet. Nakon završnog tova i 12-satnog gladovanja, pilići su zaklani i izmerene su mase trupova. Na kraju eksperimenta, za potrebe ispitivanja

kvaliteta trupova, žrtvovano je po 6 pilića oba pola, iz svake grupe. Pilići su ručno zaklani i oćerupani. Pri tome su registrovani sledeći podaci: mase grla pre klanja, mase trupova i mase jestivih i nejestivih delova trupa.

Na osnovu ostvarenih rezultata istraživanja izračunati su uobičajeni statistički pokazatelji, i to: prosečne vrednosti, greška aritmetičke sredine, standardna devijacija i koeficijent varijacije. Za statističku obradu podataka korišćen je modul Analyst programa SAS/STAT (*SAS Institute*, 2000).

Rezultati i diskusija

Prosečne telesne mase ispitanih tovnih pilića provenijence Ross 308, po danima, odnosno pojedinim nedeljama uzrasta i grupama prikazane su u tabeli 2.

Iz podataka prikazanih u tabeli 2 može se uočiti da su jednodnevni pilići ispitanih grupa imali sličnu prosečnu telesnu masu. Međutim, kontrolom porasta telesne mase 7, 14, 21. i 28. dana uzrasta ustanovljeno je da su pilići ogledne grupe imali različite telesne mase u odnosu na piliće kontrolne grupe, a ustanovljene razlike nisu bile statistički značajne ($P > 0,05$). Kao što se iz prikazanih rezultata može videti, u prvom periodu tova (na kraju druge nedelje), nakon završene ishrane starter smešom, veću telesnu masu ostvarila je kontrolna grupa (398,265 g). Tokom 35. i 42. dana tova, telesne mase pilića iz oglednih grupa, koji su hranjeni tritikaleom u smešama, bile su za 4,30% ($P < 0,01$), odnosno 2,65% ($P < 0,05$) manje, u odnosu na kontrolnu grupu. Iz rezultata prikazanih u tabeli 2 očigledno je da ishrana pilića tritikaleom daje bolje rezultate na početku tova (prve dve nedelje), čime se potvrđuje povoljno delovanje tritikalea na mlađe kategorije živine, dok pri kraju tova (poslednje dve nedelje) uticaj tritikalea opada.

Dobijeni rezultati pokazuju da tritikale imaju veliki potencijal kao hranivo za ishranu pilića i da bi, u smešama za tov, mogle da zamene pšenicu, a da, pri tome, ne dođe do bitnijih promena u njihovim proizvodnim i klaničnim osobinama. Brojni podaci iz literature ukazuju da se telesne mase pilića hranjenih tritikaleom ne razlikuju bitno od telesnih masa pilića hranjenih pšenicom (*Korver i dr.*, 2004; *Sarker i dr.*, 2006; *Đekić i dr.*, 2011; 2012b). Rezultati istraživanja *Hermes i Johanson* (2004) su pokazali da tritikale u hrani za piliće nisu imale negativne efekte na proizvodne osobine ispitanih pilića.

U tabeli 3 prikazani su osnovni proizvodni pokazatelji tova pilića. Dobijeni rezultati pokazuju da je utrošak hrane u obe posmatrane grupe skoro isti.

Tabela 2. Telesna masa ispitivanih pilića po danima uzrasta (g)**Table 2.** Body weight of chickens by days of age (g)

Uzrast (dana)/ Days of age	Grupa/ Group	n	$\bar{x}$	Sd	$S_{\bar{x}}$	Cv	F_e
1	K	100	41,250	3,852	0,385	9,337	0,033 ^{ns}
	O	100	41,350	4,760	0,476	11,510	
7	K	99	146,869	19,738	1,984	13,439	3,427 ^{ns}
	O	98	141,633	24,450	2,470	17,263	
14	K	98	398,265	57,397	5,798	14,412	1,174 ^{ns}
	O	96	390,365	59,570	6,080	15,260	
21	K	97	730,619	101,554	10,311	13,900	0,440 ^{ns}
	O	95	722,684	93,016	9,543	12,871	
28	K	97	987,629	96,031	9,750	9,723	0,674 ^{ns}
	O	95	978,211	90,029	9,237	9,203	
35	K	95	1415,260	132,368	13,510	9,353	14,546 ^{**}
	O	95	1353,421	128,353	13,169	9,484	
42	K	93	1896,875	207,462	21,174	10,937	4,618 [*]
	O	95	1846,684	175,503	18,006	9,504	

Legenda/Legend: $\bar{x}$ – srednja vrednost; Sd – standardna devijacija; $S_{\bar{x}}$ – standardna greška; Cv – koeficijent varijacije; F_e – ANOVA rezultati; ns – statistički nije značajno ($P > 0,05$); * – statistički značajno ($P < 0,05$); ** – statistički vrlo značajno ($P < 0,01$) / $\bar{x}$ – Average; Sd – standard deviation; $S_{\bar{x}}$ – standard error; Cv – Coefficient of variation; F_e – ANOVA results; ns – statistically non significant ($P > 0,05$); * – statistically significant ($P < 0,05$); ** – statistically very significant ($P < 0,01$).

Pri tome, grupa koja je hranjena klasičnom smešom za tov brojlera imala je veći broj pilića na kraju tova i manji utrošak hrane po jedinki, čime se ostvaruje veća ekonomičnost proizvodnje. Prosečan utrošak hrane po piletu kod ogledne grupe tokom početnog i završnog perioda ogleda bio je manji za 0,68%, odnosno 1,33%, u poređenju sa kontrolnom grupom. I pored smanjenih mogućnosti za poređenje sa podacima iz dostupne literature može se konstatovati da su rezultati ovog istraživanja u saglasnosti sa podacima

koje navode Barneveld i Cooper (2002), Korver i dr. (2004), Hermes i Johanson (2004), kao i Đekić i dr. (2011; 2012a).

U slučaju ishrane sa smešom u koju nisu do date tritikale (kontrolna grupa), ukupno je uginulo 4 pileta. Ako se ova vrednost stavi u odnos sa uginućem pri ishrani pilića smešom koja je sadržavala tritikale (5 pilića) može se konstatovati da se tritikale, ipak, mogu uspešno koristiti u smešama za tov pilića (tabela 3).

Tabela 3. Osnovni proizvodni pokazatelji tova pilića**Table 3.** The main production indicators of chicken fattening

Period, dan / Period, day	Kontrolna grupa (K) /Control group (K)			Ogledna grupa (O)/Experimental group (O)		
	Utrošak hrane, kg/ Total feed Intake, kg	Uginuća, kom. / Animal deaths	Brojnost jata u tovu, kom./ Number of fattening birds	Utrošak hrane / Total feed Intake, kg	Uginuća, kom. / Animal deaths	Brojnost jata u tovu, kom./ Number of fattening birds
0	–	–	100	–	–	100
7	149	1	99	148	2	98
14	453	1	98	442	2	96
21	1050	1	97	998	1	95
28	1937	–	97	1876	–	95
35	3030	2	95	2958	–	95
42	4332	2	93	4275	–	95

U tabeli 4 dati su rezultati kvaliteta trupova (mase ohlađenih trupova) i osnovnih delova dobijenih rasecanjem trupova pilića ispitanih grupa.

Kod pilića muškog pola iz kontrolne grupe masa karabataka (259,717 g) je bila neznatno veća od mase karabataka pilića istog pola iz ogledne grupe (243,250 g; $P>0,05$), dok su pilići ženskog pola iz ogledne grupe (237,100 g) imali značajno veću masu karabataka u odnosu na piliće istog pola iz kontrolne grupe (198,273 g; $P<0,01$). Pored mase, značajno je i da je kod ispitanih grupa pilića oba pola koji su hranjeni hranom sa tritikaleom udeo abdominalne masti manji, a te razlike nisu statistički značajne ($P>0,05$). *Ljubojević i dr.* (2011) su, takođe, utvrdili veći udeo abdominalne masti kod ženskih pilića, u poređenju sa muškim, ali utvrđena razlika nije bila statistički značajna.

Vrlo su značajni i podaci prikazani u tabeli 5, gde su predstavljeni rezultati otkoštavanja grudi i bataka na osnovna tkiva (meso, kosti i kožica).

Masa mesa grudi pilića muškog pola koji su hranjeni tritikaleom (361,000 g) bila je veća od mase mesa grudi pilića iz kontrolne grupe (351,500 g), ali utvrđena razlika nije statistički značajna ($P>0,05$). Ustanovljene razlike za masu mesa grudi kod pilića ženskog pola bile su značajno veće kod kontrolne grupe (336,633 g), u odnosu na masu mesa grudi pilića istog pola koji su hranjeni tritikaleom (269,150 g; $P<0,01$). Masa mesa bataka pilića muškog, ženskog i oba pola iz ogledne grupe (173,933; 165,917 i 169,925 g) bila je veća od mase mesa bataka pilića iz kontrolne grupe (172,400; 159,617 i 166,008 g), s tim što je kod uzoraka mesa bataka pilića ženskog pola razlika bila statistički značajna ($P<0,05$).

Tabela 4. Masa trupova i osnovnih anatomskih delova trupova ispitanih pilića

Table 4. Carcass weight and basic anatomical parts of the chicken carcasses

Grupa/Group			Masa trupa/ Carcass Mass (g)	Grudi/ Breast (g)	Batak/ Drumstick (g)	Karabatak/ Thigh (g)	Krila/ Wings (g)	Abdominalna mast/ Abdominal fat (g)
Muški pilići/ Male, n=6	K	$\bar{x}$	1695,00 ^{ns}	511,383 ^{ns}	231,950 ^{ns}	259,717 ^{ns}	181,900 ^{ns}	26,483 ^{ns}
		Sd	126,055	45,808	13,328	22,823	18,988	1,402
		Cv	7,437	8,958	5,746	8,788	10,439	5,294
	O	$\bar{x}$	1635,00	502,333	228,383	243,250	178,067	26,033
		Sd	160,281	71,646	19,768	17,430	13,895	2,745
		Cv	9,803	14,263	8,656	7,166	7,803	10,544
Ženski pilići/ Female, n=6	K	$\bar{x}$	1368,33 ^{ns}	432,033 ^{**}	175,317 [*]	198,283 ^{**}	144,067 ^{ns}	29,267 ^{ns}
		Sd	110,574	50,997	13,117	15,398	12,060	5,773
		Cv	8,081	11,804	7,482	7,766	8,371	21,315
	O	$\bar{x}$	1355,00	346,967	198,750	237,100	130,917	27,083
		Sd	63,482	13,422	13,564	19,105	13,206	3,603
		Cv	4,685	3,868	6,825	8,058	10,087	12,311
Ispitivani pilići/ Chickens, n=12	K	$\bar{x}$	1531,67 ^{ns}	471,708 ^{ns}	203,633 ^{ns}	229,000 ^{ns}	162,983 ^{ns}	27,650 ^{ns}
		Sd	204,654	62,073	32,151	37,065	24,907	4,017
		Cv	13,361	13,159	15,789	16,186	15,282	15,000
	O	$\bar{x}$	1495,00	424,650	213,567	240,175	154,492	26,783
		Sd	182,685	92,775	21,886	17,339	27,198	3,413
		Cv	12,220	21,847	10,248	7,219	17,604	12,343

Legenda/Legend: $\bar{x}$ – srednja vrednost; Sd – standardna devijacija; Cv – koeficijent varijacije; ns – statistički nije značajno ($P>0,05$); * – statistički značajno ($P<0,05$); ** – statistički vrlo značajno ($P<0,01$) / $\bar{x}$ – Average; Sd – standard deviation; Cv – Coefficient of variation; ns – statistically non significant ($P>0,05$); * – statistically significant ($P<0,05$); ** – statistically very significant ($P<0,01$).

Tabela 5. Rezultati otkoštavanja grudi i bataka pilića na osnovna tkiva
Table 5. Results of deboned chicken breast and drumsticks main tissues

Grupa/Group			Grudi/Breast				Batak/Drumstick			
			Masa grudi/ Breast mass(g)	Meso/ Meat (g)	Kosti/ Bones (g)	Kožica/ Skin (g)	Masa bataka/ Thigh mass(g)	Meso/ Meat (g)	Kosti/ Bones (g)	Kožica/ Skin (g)
Muški pilići/ Male, n=6	K	$\bar{x}$	511,383 ^{ns}	351,500 ^{ns}	71,983 ^{ns}	69,567 ^{ns}	231,950 ^{ns}	172,400 ^{ns}	28,000 ^{ns}	15,917 ^{ns}
		Sd	45,808	67,204	7,412	7,901	13,328	4,855	2,783	2,043
		Cv	8,958	19,119	10,298	11,358	5,746	6,706	9,939	12,835
	O	$\bar{x}$	502,333	361,000	69,917	62,300	228,383	173,933	26,150	14,533
		Sd	71,646	52,074	10,504	5,414	19,768	6,526	4,845	2,246
		Cv	14,263	14,425	15,023	8,690	8,656	8,827	18,527	15,458
Ženski pilići/ Female, n=6	K	$\bar{x}$	432,033 ^{**}	336,633 ^{**}	48,983 ^{ns}	46,417 [*]	175,317 [*]	159,617 [*]	18,167 ^{**}	10,167 [*]
		Sd	50,997	35,829	7,901	8,042	13,117	4,323	1,384	1,095
		Cv	11,804	10,643	16,129	17,325	7,482	7,252	7,617	10,768
	O	$\bar{x}$	346,967	269,150	42,183	35,633	198,750	165,917	21,067	13,033
		Sd	13,422	12,554	4,577	6,512	13,564	3,978	1,296	2,421
		Cv	3,868	4,664	10,850	18,276	6,825	6,034	6,150	18,578
Ispitivani pilići/ Chickens, n=12	K	$\bar{x}$	471,708 ^{ns}	344,067 ^{ns}	60,483 ^{ns}	57,992 ^{ns}	203,633 ^{ns}	166,008 ^{ns}	23,083 ^{ns}	13,042 ^{ns}
		Sd	62,073	51,930	14,058	14,280	32,151	7,986	5,546	3,385
		Cv	13,159	15,093	23,243	24,625	15,789	12,099	24,028	25,955
	O	$\bar{x}$	424,650	315,075	56,050	48,967	213,567	169,925	23,608	13,783
		Sd	92,775	58,722	16,054	14,720	21,886	6,493	4,204	2,309
		Cv	21,847	18,638	28,642	30,062	10,248	9,286	17,808	16,750

Legenda/Legend: $\bar{x}$ – srednja vrednost; Sd – standardna devijacija; Cv – koeficijent varijacije; ns – statistički nije značajno ($P > 0,05$); * – statistički značajno ($P < 0,05$); ** – statistički vrlo značajno ($P < 0,01$) / $\bar{x}$ – Average; Sd – standard deviation; Cv – Coefficient of variation; ns – statistically non significant ($P > 0.05$); * – statistically significant ($P < 0.05$); ** – statistically very significant ($P < 0.01$).

Zaključak

Dobijeni podaci pokazuju da tritikale imaju veliki potencijal kao hranivo za ishranu pilića, jer bi mogle, veoma uspešno, da zamene pšenicu u smešama za tov pilića, čime bi se, dodatno, smanjili troškovi proizvodnje hrane. Zamenom pšenice sa tritikaleom ne dolazi se do bitnih promena

u proizvodnim i klaničnim osobinama pilića, jer se telesna masa pilića hranjenih tritikaleom, kao i mortalitet i utrošak hrane, bitno ne razlikuju od istih osobina kod pilića koji su hranjeni pšenicom. Korišćenje tritikalea u smešama za tov pilića obećava, ali su potrebna dalja istraživanja da bi se predvidele nutritivne karakteristike različitih sorti tritikalea.

Literatura

- Association of official analytical chemistry (A.O.A.C.), 1984. Official methods of Analysis, 14th ed., Washington, D.C.
- Barneveld R. J., Cooper K. V., 2002. Nutritional quality of triticale for pigs and poultry. Proceedings of the 5th International Triticale Symposium, Poland, 1, 277–282.
- Camiruaga M., Garcia F., Elera R., Simonetti C., 2001. Respuesta Productiva de Pollos Broilers a la Adición de Enzimas Exógenas a Dietas Basadas en Maíz o Triticale. Enero-Marzo, 28, 1, 1–59.
- De Brum P. A. R., Zannoto D. L., Gvidoni A. L., Rosa P. S., De Lima G. J. M. M., Viola E. S., 2000. Triticale in diets for broilers. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 35, 2, 229–239.
- Dekić V., Mitrović S., Milovanović M., Đurić N., Kresović B., Tapanarova A., Đermanović V., Mitrović M., 2011. Implementation of triticale in nutrition of non-ruminant animals. African Journal of Biotechnology. 27 June, ISSN 1684-5315, 10, 30, 5697–5704.

- Dekić V., Mitrović S., Radović V., Đorđević N., Pandurević T., 2011.** The effect of different triticales on the body weight and weight gain in fattening chickens. International Scientific Symposium of Agriculture „Agrosym Jahorina 2011”, 10–12. November, Jahorina, 356–362.
- Dekić V., Milovanović M., Staletić M., Perišić V., 2012a.** Triticale implementation in nonruminant animal's nutrition. Proceedings of IV International Symposium of Livestock Production, 9–12 September, Struga, Republic of Macedonia, Macedonian Journal of Animal Science, 2, 1, 41–48.
- Dekić V., Mitrović S., Staletić M., Obradović S., 2012b.** The effect of different triticales on the production data in fattening chickens. Abstract book of 6th Central European Congress on Food. 23rd–26th May 2012, Novi Sad, Serbia, 558.
- Hermes J. C., Johanson R. C., 2004.** Effects of Feeding Various Levels of Triticale var. Bogo in the Diet of Broiler and Layer Chickens. Journal of Applied Poultry Research, 13, 4 ProQuest Agriculture Journals, 667–672.
- Korver D. R., Zuidhof M. J., Lawes K. R., 2004.** Performance Characteristics and Economic Comparison of Broiler Chickens Fed Wheat and Triticale-Based Diets. Poultry Science 83, 5, 716–725.
- Ljubojević D., Božić A., Bjedov S., Milošević N., Stanačev V., 2011.** Efekat ekstrudiranog zrna kukuruza u ishrani na konfirmaciju trupova brojlera, Tehnologija mesa, 52, 2, 205–211.
- Ristić M., Damme K., 2002.** Kvalitet trupova i mesa spororastućih linija brojlera hranjenih prema ekološkim zahtevima, Tehnologija mesa, 43, 3–6, 260–268.
- Ruiz N., Marion E., Miles R. D., Barnes R. B., 1987.** Nutritive value of new cultivars of triticales and wheat for broiler chick diets. Poultry Science 66, 90–97.
- Sarker N. R., Haque M. E., Haque K. S., Haque Q. M. S., Waddington S. R., 2006.** Triticale fodder and grain utilization by dairy cattle and poultry in Bangladesh. International Maize and Wheat improvement Center (CIMMYT), Uttara, Dhaka-1230, Proceedings of the 6th International Triticale Symposium, 108–113.
- SAS Institute, 2000.** SAS (Statistical Analysis System). User's guide: Statistics. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Savage T. F., Holmes Z. A., Nilipour A. H., Nakaue H. S., 1987.** Evaluation of cooked breast meat from male breeder turkeys fed diets containing varying amounts of triticales, variety Flora. Poultry Science 66, 450–452.
- Službeni list SFRJ, 1987.** Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i metodama vršenja fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane, 15.
- Vieira S. L., Penz A. M., Kessler A. M., Catellan E. V., 1995.** A nutritional evaluation of triticales in broiler diets. Journal of Apply Poultry Research 4, 352–355.
- Vohra P., Bersch C., Qualset Q., Baker R., 1991.** Triticales: Alternative cereal grain in broiler starter diets. California Agriculture 45, 34–37.

The effect of triticales on the yield and meat quality of broilers

Dekić Vera, Mitrović Sreten, Radović Vera, Obradović Saša, Đermanović Vladan, Mitrović Marko, Pandurević Tatjana

S u m m a r y: The influence of triticales as feed on the production and carcass traits of chickens is investigated in this paper. The study was conducted on 200 chickens for fattening, hybrid Ross 308. In the experiment, two groups, or treatments, were formed, with 100 chickens in each group. One group was the control group K, with the classical mixture fed to broilers, and the other one was the experimental O-group of chickens fed diets containing triticales genotypes Kg 20. The first diet was the standard starter, grower I, grower II and finisher and served as control. The other rations contained 7.5%, 12%, 15% and 18% triticales as graded replacement for wheat. During the fattening period, health conditions of broilers were periodically monitored, and the following fattening traits as well: weight gain (individual measurements of all the chickens once a week), feed intake and mortality. The feeding trial lasted for 42 days. Feed and water supply for chickens was ad libitum applying floor housing system.

Since the yield of carcass as well as the yield and share of some meat categories of cold carcass dressing are very important factors of quality, the influence of feeding treatments on some mentioned traits was monitored.

The results showed that the chickens in the control group (K), which were fed a mixture of standard feed, had slightly better productive results compared to chickens in the experimental groups (O), which were fed diets containing triticales. The average body weight of broiler chickens at 42 days of fattening was higher in chickens of K-group - 1896.875 g, and slightly lower in broiler chickens fed triticales - 1846.684 g. By the end of the experimental period (42 days) the highest feed consumption per chicken was recorded in the control group of chickens (4.332 kg). The experimental group of chickens which were fed classical diets had lower mortality throughout the experimental period.

Key words: broiler, growth, feeding, triticales.

Rad primljen: 24.12.2014.

Rad prihvaćen: 11.02.2014.

Uticaj sezone transporta na dobrobit brojlera i odabrane parametre kvaliteta mesa brojlera

Babić Jelena¹, Milićević Dragan¹, Vranić Danijela¹, Lukić Mirjana¹, Petrović Zoran¹

S a d r Ź a j: Tokom uzgoja, a naročito tokom transporta od farme do klanice, živina je izložena različitim stresogenim faktorima koji utiču na postmortalni metabolizam mišića i, posledično, na kvalitet mišićnog tkiva. Cilj rada bio je da se ispita uticaj sezone transporta na dobrobit brojlera i parametre kvaliteta mesa brojlera: pH vrednost, boja i kalo termičke obrade. Za potrebe eksperimenta, u letnjem (juli) i zimskom periodu (novembar), ispitano je po dvanaest brojlera, koji su odgajeni na istoj farmi i pripadali su istom jatu linijskog hibrida Ross 308. Udaljenost farme od klanice bila je 130 km, a transport je trajao od 3 do 5 sati. Prosečne vrednosti temperature i relativne vlažnosti vazduha tokom transporta u letnjem periodu bile su 20,60°C i 65,64%, respektivno, dok su u zimskom periodu iznosile 14,42°C i 69,14%, respektivno. Ustanovljeno je da su uzorci grudnih mišića i mišića bataka brojlera koji su transportovani u letnjem periodu imali veće prosečne L*(lightness) vrednosti. Kada se na rezultate naših ispitivanja kao granica za PSE (pale, soft, exudative) mesa primeni L* vrednost od 56 L* jedinica, može se zaključiti da je udeo bledega mesa u letnjem periodu za uzorke grudi i bataka bio 75%, dok je u zimskom periodu za uzorke grudi iznosio 33,34%, a za uzorke bataka 16,67%. Nakon transporta, u letnjem periodu pH vrednosti mišića grudi i bataka ($5,40 \pm 0,20$ i $5,71 \pm 0,30$, respektivno) bile su značajno manje u odnosu na pH vrednosti izmerene nakon transporta u zimskom periodu ($5,90 \pm 0,18$ i $6,46 \pm 0,25$, respektivno). Manje vrednosti kala pečenja kod uzoraka grudnog mišića i uzoraka bataka ($29,06 \pm 2,80$ i $29,69 \pm 3,47$, respektivno) konstatovane su kod brojlera koji su tokom transporta u novembru mesecu bili izloženi nižim temperaturama. Između pH vrednosti i kala pečenja, kao i pH i L* vrednosti uzoraka grudnog mišića i mišića bataka ispitanih nakon transporta u letnjem i zimskom periodu utvrđena je negativna korelacija.

Ključne reči: boja mesa, pH vrednost, kalo termičke obrade, grudni mišić, mišić bataka, sezona transporta.

Uvod

Transport životinja za dobijanje mesa od farme do klanice je sve više u sferi interesovanja, kako stručne i naučne, tako i šire javnosti. Ovome je posebno doprinela činjenica da je Svetska organizacija za zaštitu zdravlja životinja (OIE, Office International des Epizooties, The World Organization for Animal Health) prepoznala značaj uticaja transporta na dobrobit životinja i kvalitet mesa (OIE, 2004). S obzirom da transport menja celokupan ambijent na koji je životinja bila prilagođena (Karabasil i dr., 2013), to može da ima za posledicu različite nivoe stresa, koji se mogu manifestovati promenama, od blage uznemirenosti do izrazitih simptoma stresa, koji mogu da imaju za posledicu uginuće životinja. Faktori, kao što su zdravstveno stanje jata, manipulacija tokom utovara i istovara, dizajn kaveza, broj jedinki u kavezu,

mikroklimatski uslovi tokom transporta, dužina transporta i period gladovanja određuju stepen uticaja transporta na kvalitet mesa i dobrobit živine.

Dužina transporta živine od farme do klanice može imati negativan uticaj na dobrobit i kvalitet mesa, što potvrđuje većina objavljenih studija, koje ukazuju na povećanje mortaliteta živine sa povećanjem dužine transporta (Vecerek i dr., 2006; Warriss i dr., 1990). Sa druge strane, Vosmerova i dr. (2010), u svojim istraživanjima, konstatuju da i kraći transport može uzrokovati promene kvaliteta mesa, usled nemogućnosti živine da za kratko vreme prevaziđe stres koji je izazvan manipulacijom tokom prebacivanja u kaveze za transport. Manipulacija živinom prilikom utovara u transportno sredstvo se smatra većim izvorom stresa čak i od samog transporta. Ritz i dr. (2005) su ustanovili da povećanje temperature okolne sredine tokom utovara predstavlja veći rizik za živinu u odnosu na situaciju kada je prevozno

Napomena: Prezentovani rezultati proistekli su iz rada na realizaciji Projekta bilateralne saradnje između Republike Srbije i Republike Slovenije TR-31008 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija.

sredstvo u pokretu i kada dolazi do strujanja vazduha unutar prikolice.

Smatra se da prevoz kraći od 4 sata ima neznatan uticaj na pH vrednost mesa 24 sata posle klanja, ako su uslovi tokom transporta bili zadovoljavajući (Grandin, 2000). Villarroela i dr. (2003) su, ispitujući efekat uslova i dužine trajanja transporta (30 minuta, 3 i 6 sati) na senzorna svojstva mesa (miris, nežnost, sočnost, intenzitet arome, opšti utisak), zaključili da trajanje transporta utiče na senzorne osobine mesa, pre svega na nežnost i opšti utisak.

U svojim istraživanjima, Bianchi i dr. (2006) su konstatovali da se sa povećanjem dužine transporta udeo crvene boje (a^* , red) grudnog mišića brojlera smanjuje. Debut i dr. (2003) su ustanovili da je kod živine koja je transportovana 2 sata meso bataka imalo veću pH vrednost, tamniju boju i veći kalo termičke obrade.

Ispitujući uticaj ambijentalne temperature i godišnjeg doba na boju ćurećeg grudnog mišića McCurdy i dr. (1996) su došli do rezultata da meso u letnjim mesecima ima svetliju boju, dok je u zimskim mesecima tamnije. Visoke ambijentalne temperature tokom transporta živine su uzrokovala pad pH vrednosti i svetliju boju grudnog mišića, dok je tamnija boja mišićnog tkiva, koja je nastala usled veće pH vrednosti i, posledično, veće sposobnosti vezivanja vode, objašnjena nižim temperaturama tokom transporta (Dadgar i dr., 2010). Nežniju strukturu mesa grudi i bataka kod živine koja je gajena u hladnijim mesecima ustanovili su, u svojim istraživanjima, Simpson i Goodwin (1975).

Značajan ekonomski problem u procesu prerađivanja mesa predstavlja pouzdano otkivanje sirovine/mesa lošijih tehnoloških svojstava. Meso koje karakteriše promena boje, meka tekstura i veliki gubitak mesnog soka se ne može smatrati potpuno vrednom kulinarском namirnicom, a njegova upotreba ograničena je i u preradi (Lesiow i Kijowski, 2003).

Cilj ovog rada bio je da se ispita uticaj sezone transporta na dobrobit brojlera i parametre kvaliteta grudnog mišića (*m. pectoralis major*) i mišića bataka (*m. peroneus longus*) brojlera, kao što su boja, pH vrednost, kalo prilikom termičke obrade, kao i da se ispita međusobna zavisnost navedenih svojstava.

Materijal i metode

Za potrebe eksperimenta, u letnjem (juli) i zimskom periodu (novembar), ispitano je po dvanaest brojlera, koji su poticali sa iste farme na kojoj je primenjen intenzivni podni sistem uzgoja. Brojleri su pripadali istom jatu linijskog hibrida Ross 308. Tokom toga, u ishrani brojlera su korišćene tri standardne

smeše (starter, finiše I i finiše II), a voda je bila dostupna *ad libitum*. Proizvodni parametri na farmi, u letnjem i zimskom periodu, iznosili su: prosečan dnevni prirast (57 g, odnosno 57 g), prosečno dnevno konzumiranje hrane (103,90 g, odnosno 100,51 g), konverzija hrane (1,83 kg, odnosno 1,75 kg), mortalitet (5,34%, odnosno 3,19%), prosečna starost pilića (38,5, odnosno 39 dana) i prosečna masa pilića pre klanja (2,19 kg, odnosno 2,24 kg). Nakon završetka tova, brojleri su, u plastičnim kavezima, otpremljeni drumskim saobraćajem do klanice, koja je bila udaljena 130 km od farme, a transport je trajao od 3 do 5 sati. Veličina plastičnih kaveza bila je 99x58x26 cm i u svakom kavezu transportovano je po šest tovnih pilića. Tokom transporta, temperatura i relativna vlažnost vazduha mereni su uređajem Data loggerom Trotec GmbH&Co.KG, na svakih pet minuta. Uređaji su bili postavljeni u kavezima smeštenim u zadnjem donjem i prednjem gornjem delu prikolice.

Nakon kratkog odmora u prostoriji za prijem i privremeni smeštaj živine, brojleri su omamljeni strujom niskog napona (2,71 A, 45 V, vreme omamljivanja 4 s), zaklani, obrađeni na liniji klanja i ohlađeni uobičajenim tehnološkim postupkom. Ohlađeni trupovi su transportovani vozilom sa termokingom do laboratorije Instituta za higijenu i tehnologiju mesa u Beogradu, gde su obavljena ispitivanja.

Za određivanje pH vrednosti, boje i kala pečenja od svakog trupa brojlera uzeti su *Mm. pectoralis* i *Mm. peroneus longus*. Boja mesa određena je CIE $L^*a^*b^*$ metodom, definisanom od strane CIE organizacije (International Commission of Illumination), pri čemu L^* označava intenzitet svetlosti, a^* udeo crvene boje, b^* udeo žute boje. Za merenje je korišćen aparat Minolta (Chroma Meter RC-400, Osaka, Japan), pri izvoru osvetljenja D65 (CIE standard illuminant D65). Boja mesa merena je na ventralnoj strani *m. pectoralis major*-a i *m. peroneus longus*-a, u oblasti bez diskoloracija i modrica. Za kalibraciju kolorimetra korišćena je bela kalibraciona pločica. Vrednost pH je određena 24 sata post mortem, pH-metrom (Testo 205, AG, Lenzkirch, Nemačka).

Kalo pečenja određivan je iz razlike mase grudnog mišića i mišića bataka, pre i nakon termičke obrade koja je podrazumevala pečenje u rerni na 200°C u trajanju od 30 minuta i izražen je u procentima.

Statistička analiza

Statistička obrada rezultata je obavljena korišćenjem softverskog paketa MINITAB verzija 16.1.0.0, Minitab Inc.© USA. Za određivanje statističke značajnosti razlika na nivou značajnosti od 95% ($p < 0,05$), između srednjih vrednosti za ispitane parametre, korišćen je t test za nezavisne uzorke

(two sample t-test). Značajnost korelacionih povezanosti između ispitanih parametara određena je računanjem Pirsonovog (Pearson) korelacionog koeficijenta.

Rezultati i diskusija

Vrednosti temperature i relativne vlažnosti vazduha tokom transporta u letnjem i zimskom prirodu prikazane su na grafikonu 1.

Temperatura i relativna vlažnost vazduha tokom transporta u letnjem periodu nalazile se u opsegu od 14,60°C do 26,60°C i od 51,80% do 83,40%, respektivno, dok su prosečne vrednosti za navedene parametre iznosile 20,60°C i 65,64%, respektivno. U zimskom periodu, temperatura i relativna vlažnost vazduha tokom transporta nalazile se u opsegu od 12,60°C do 16,70°C i od 52,40% do 89,50%, respektivno, dok su prosečne vrednosti za navedene parametre iznosile 14,42°C i 69,14%, respektivno.

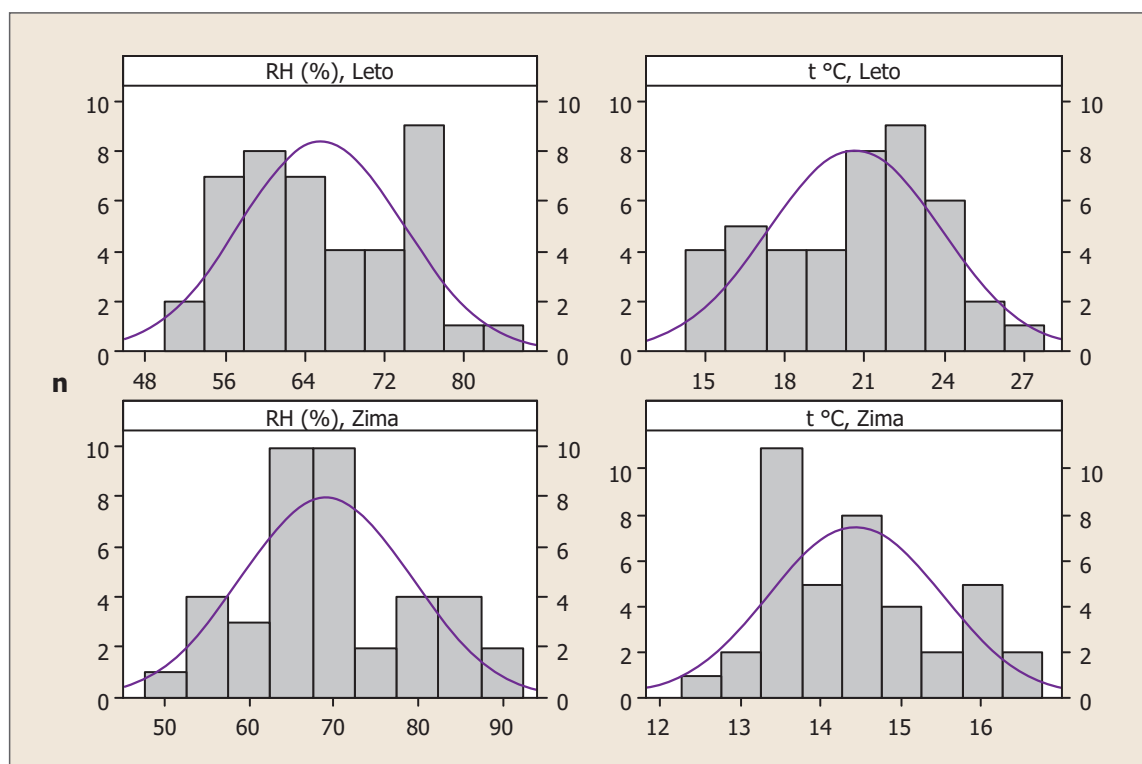
Mikroklimatski uslovi u transportnom sredstvu su značajan faktor koji utiče na dobrobit brojlera (Mitchell i Kettlewell, 1998). U idealnim uslovima, ambijentalna temperatura u prevoznom sredstvu treba da omogući živini da održava telesnu temperaturu, bez promene metabolizma. Meltzer (1983) je predložio da temperatura u objektu za tov brojlera

bude u opsegu od 23°C do 29°C, dok su Nicole i Scott (1990), kao donju granicu za ambijentalnu temperaturu, predložili vrednosti od 19°C do 22°C. Optimalna vrednost relativne vlažnosti u objektu za tov živine treba da bude u opsegu od 60% do 65% (Maslić-Strižak i dr., 2012).

Rezultati instrumentalnog određivanja boje ($L^*a^*b^*$) grudnog mišića i mišića bataka brojlera, u letnjem i zimskom periodu, prikazani su na grafikonima 2 i 3.

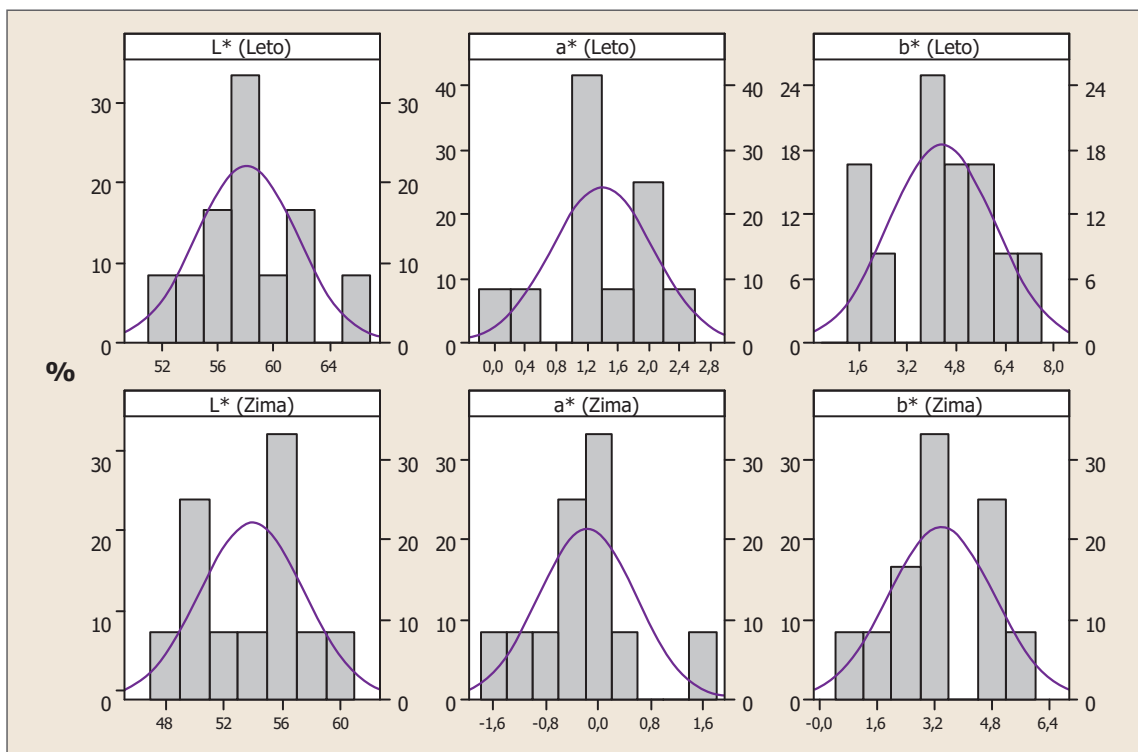
U našem istraživanju, ustanovljena je statistički značajna razlika ($p < 0,01$) između prosečnih L^* vrednosti kod grudnog mišića izmerenih tokom letnjeg i zimskog perioda ($58,08 \pm 3,71$ i $53,96 \pm 3,70$, respektivno). Intenzitet crvene boje (a^*) kod grudnog mišića, u letnjem periodu ($1,40 \pm 0,67$), bio je statistički značajno veći ($p < 0,001$) od intenziteta crvene boje (a^*) izmerenog u zimskom periodu ($-0,17 \pm 0,76$). Između prosečnih vrednosti intenziteta žute boje (b^*), u letnjem i zimskom periodu, ($4,31 \pm 1,77$ i $3,40 \pm 1,51$) nije ustanovljena statistički značajna razlika ($p > 0,05$).

Prosečna L^* vrednost kod bataka brojlera koja je izmerena u letnjem periodu ($57,19 \pm 1,86$) bila je statistički značajno veća ($p < 0,001$) u odnosu na prosečnu L^* vrednost koja je izmerena u zimskom periodu ($52,93 \pm 2,58$). Razlika između prosečnih vrednosti udela crvene boje (a^*) ($2,83 \pm 1,67$



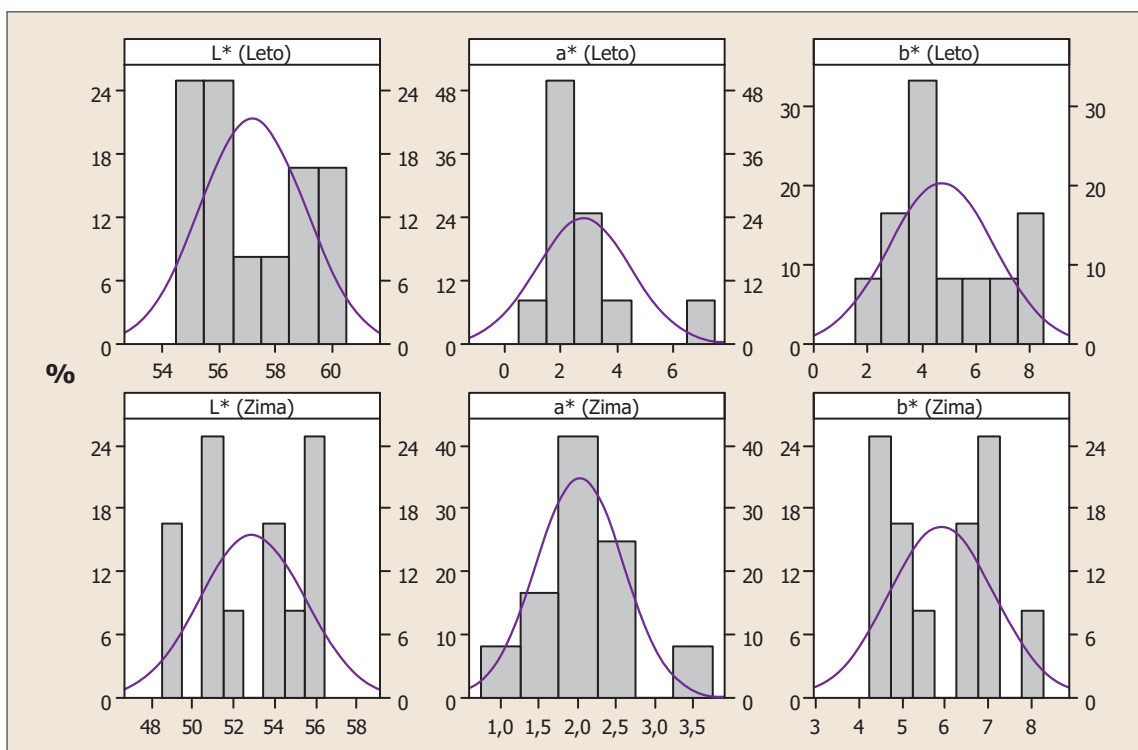
Grafikon 1. Temperatura i relativna vlažnost vazduha tokom transporta brojlera u letnjem i zimskom prirodu

Graph 1. Temperature and relative humidity during transportation of broilers in summer and winter period



Grafikon 2. Boja ($L^*a^*b^*$) grudnog mišića brojlera koji su transportovani na klanje u letnjem i zimskom periodu

Graph 2. Colour parameters ($L^*a^*b^*$) of breast muscle of broilers transported to slaughter in summer and winter



Grafikon 3. Boja ($L^*a^*b^*$) bataka brojlera koji su transportovani na klanje u letnjem i zimskom periodu

Graph 3. Colour parameters ($L^*a^*b^*$) of drumstick of broilers transported to slaughter in summer and winter

i $2,03 \pm 0,57$), kao i razlika između prosečnih vrednosti udela žute boje (b^*) mišića bataka ($4,71 \pm 1,95$ i $5,91 \pm 1,22$), u letnjem i zimskom periodu, nije bila statistički značajna ($p > 0,05$).

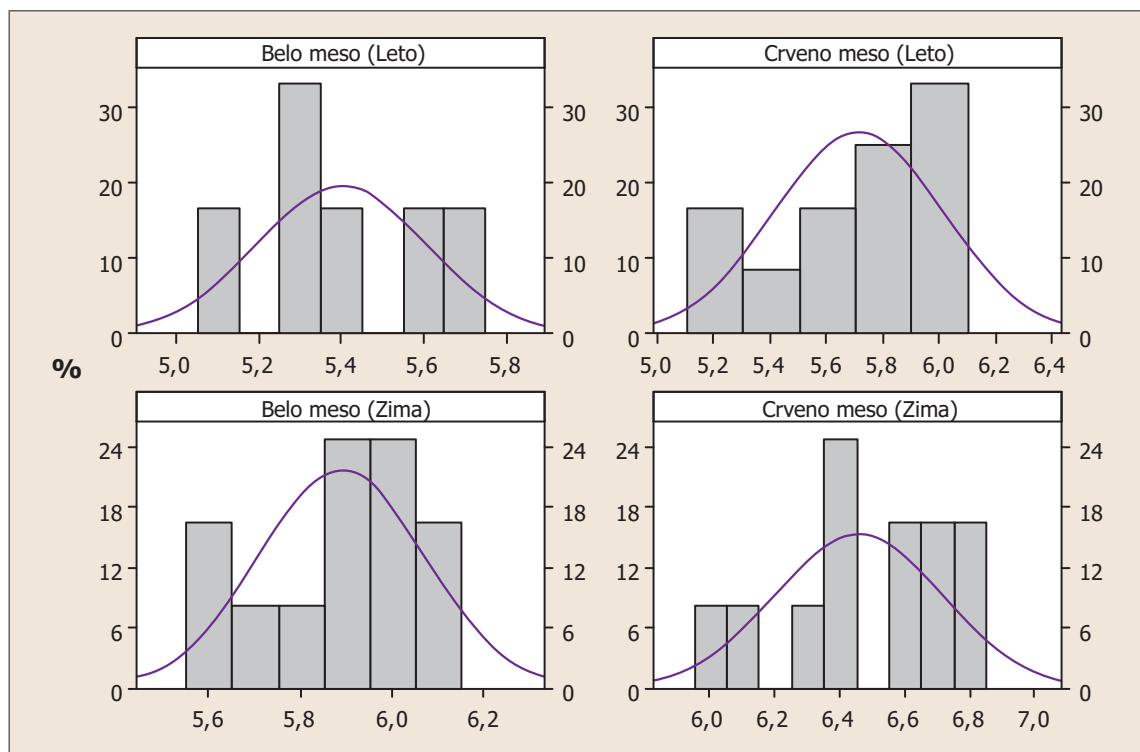
Naši rezultati ispitivanja L^* vrednosti su u saglasnosti sa rezultatima istraživanja *McCurdy i dr.* (1996), koji su ustanovili veće prosečne L^* vrednosti grudnog mišića ćurki u letnjem periodu i objašnjavaju ih većom incidencom bledog, mekog i vodnjikavog mesa (PSE) u toplijim mesecima godine. Takođe, ispitivanja *Petraccia i dr.* (2004) su pokazala da su grudni mišići brojlera u letnjem periodu bili bleđi, sa manjim udelom crvene i žute boje u odnosu na grudne mišiće ispitane u zimskim mesecima. Za razliku od navedenih istraživanja, rezultati *Woelfela i dr.* (2002) ukazuju da ne postoje razlike između L^* vrednosti grudnog mišića brojlera izmerenih u različitim godišnjim dobima. Ispitujući uticaj ambijentalne temperature na boju grudnog mišića brojlera, *Holm i Fletcher* (1997) su zaključili da temperatura ne utiče na L^* i a^* vrednosti, dok se b^* vrednost povećavala sa povećanjem temperature. U našem istraživanju, uzorci grudnog mišića ispitani u julu mesecu imali su veću a^* vrednost, za 1,23 a^* jedinica, u odnosu na uzorke ispitane u novembru, što se može objasniti slabijim iskrvarenjem brojlera u

letnjim mesecima, dok uzorci bataka nisu pokazivali razliku u udelu crvene boje.

Ako se na rezultate našeg istraživanja kao granica za PSE meso primeni L^* vrednost od 56 L^* jedinica (*Petracci i dr.*, 2004) može se zaključiti da je udeo bledog mesa u letnjem periodu za uzorke grudi i uzorke bataka bio 75%, dok je u zimskom periodu udeo bledog mesa za uzorke grudi iznosio 33,34%, a za uzorke bataka 16,67%. Pored toga, dobijeni rezultati ukazuju da je učestalost pojave bledog mesa kod uzoraka grudnog mišića i bataka tokom leta znatno veća i da boja mišića brojlera više varira u letnjim mesecima. Efikasnost prerade u industriji mesa zavisi od ujednačenosti kvaliteta sirovine, tako da varijacije mogu doprineti smanjenju kvaliteta finalnog proizvoda (*Fletcher*, 2002).

Na attribute kvaliteta mesa, kao što su boja, nežnost, sposobnost vezivanja vode, kalo kuvanja, sočnost i mikrobiološki status može uticati i pH vrednost mišićnog tkiva. Uticaj pH na boju mesa se ogleda u promeni sposobnosti proteina mesa da vežu vodu, što direktno utiče na strukturu i sposobnost refleksije svetlosti (*Allen i dr.*, 1998).

Koeficijenti korelacije (r) između boje mesa, pH vrednosti i kala pečenja kod grudnog mišića i



Grafikon 4. pH vrednosti grudnog mišića i mišića bataka brojlera koji su transportovani na klanje u letnjem i zimskom periodu

Graph 4. pH values of breast and drumstick muscles of broilers transported to slaughter in summer and winter

Tabela 1. Vrednosti Pirsonovog koeficijenta korelacije (r) između boje mesa (L^* , a^* , b^*), pH vrednosti i kala pečenja kod uzoraka grudnog mišića i bataka brojlera

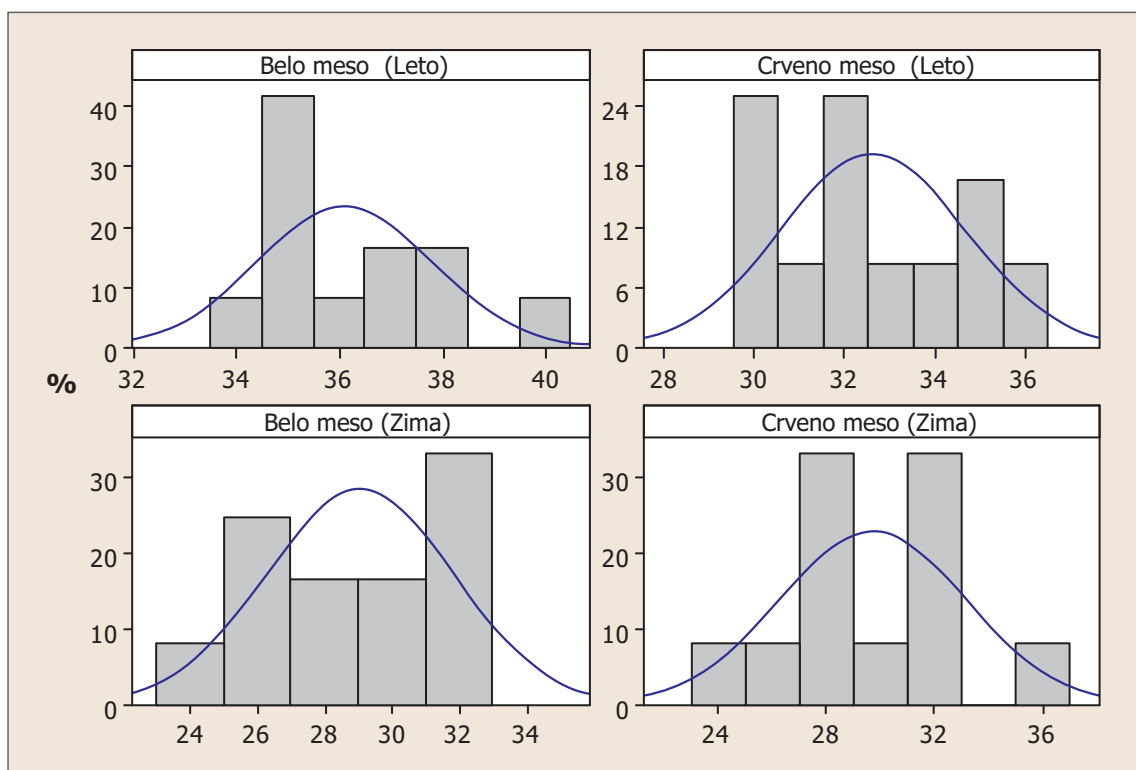
Table 1. Values of Pearson correlation coefficient for colour parameters (L^* , a^* , b^*), pH values and cooking loss of broiler breast muscle and drumstick

Parametar/ Parameter	Belo meso/White meat				Crveno meso/Red meat			
	Kalo pečenja/ Cooking loss		pH		Kalo pečenja/ Cooking loss		pH	
	Leto/ Summer	Zima/ Winter	Leto/ Summer	Zima/ Winter	Leto/ Summer	Zima/ Winter	Leto/ Summer	Zima/ Winter
L^*	0,28	0,040	-0,73	-0,28	0,42	0,43	-0,44	-0,25
a^*	0,03	-0,23	0,32	-0,18	0,26	-0,05	-0,04	-0,16
b^*	0,29	-0,35	-0,51	0,66	0,14	-0,09	-0,39	-0,09
pH	-0,23	-0,60	–	–	-0,35	-0,46	–	–

bataka brojlera, u zavisnosti od sezone transporta, prikazani su u tabeli 1.

Utvrđena je slaba negativna korelacija između pH vrednosti i kala pečenja kod grudi u letnjem periodu transporta živine ($-0,23$), kao i umerena negativna korelacija između pomenutih vrednosti u zimskom periodu ispitivanja ($-0,60$). Između L^* vrednosti i pH vrednosti mesa grudnog mišića, u

letnjem i zimskom periodu ispitivanja, ustanovljena je umerena i slaba negativna korelacija ($-0,73$ i $-0,28$, respektivno). Između pH vrednosti i kala pečenja kod bataka je utvrđena slaba negativna korelacija, kako u letnjem, tako i u zimskom periodu transporta živine ($-0,35$ i $-0,46$, respektivno). Slaba korelacija ustanovljena je, takođe, i između L^* vrednosti i pH vrednosti mesa bataka u letnjem



Grafikon 5. Vrednosti kala pečenja grudnog mišića i mišića bataka brojlera koji su transportovani na klanje u letnjem i zimskom periodu

Graph 5. Cooking loss of breast and drumstick muscles of broiler transported to slaughter in summer and winter

i zimskom periodu ispitivanja ($-0,44$ i $-0,25$, respektivno).

Rezultati pH vrednosti grudnog mišića i mišića bataka brojlera u letnjem i zimskom periodu prikazani su na grafikonu 4.

U našem ispitivanju, pH vrednosti grudnog mišića i mišića bataka brojlera u letnjem periodu ($5,40 \pm 0,20$ i $5,71 \pm 0,30$, respektivno) bile su statistički značajno niže ($p < 0,001$) u odnosu na pH vrednosti koje su izmerene u zimskom periodu ($5,90 \pm 0,18$ i $6,46 \pm 0,25$, respektivno). Naši rezultati su u saglasnosti sa brojnim rezultatima iz literature (Holm i Fletcher, 1997; Petracci i dr., 2001), koji se odnose na niske pH vrednosti mesa koje su nastale kao posledica visokih ambijentalnih temperatura. Poznato je da toplotni stres koji nastaje pre klanja utiče na boju mesa živine, tako što dovodi do pada pH vrednosti mesa, smanjenja sposobnosti vezivanja vode, kao i povećanja L^* vrednosti. Istraživanja McKee i Sams-a (1998) ukazuju da toplotni stres ubrzava postmortalni metabolizam i biokemijske promene u mišićima, što ima za posledicu pojavu bledeg, mekog i vodnjikavog mesa kod ćurki. Dadgar i dr. (2010) su ustanovili da niske temperature tokom transporta dovode do razgradnje glikogena mišića u cilju zadovoljenja energetskih potreba organizma, što utiče na pH vrednost i, kasnije, na kvalitet mesa brojlera, pošto takvo meso ima veću pH vrednost i tamniju boju.

Rezultati kala pečenja kod grudnog mišića i mišića bataka brojlera u letnjem i zimskom periodu prikazani su na grafikonu 5.

U okviru naših istraživanja došli smo do podataka da je temperatura prilikom transporta živine statistički značajno ($p < 0,01$) uticala na kalo pečenja. Uzorci grudnog mišića i bataka brojlera koji su transportovani u julu mesecu imali su veće vrednosti kala pečenja ($36,11 \pm 1,70$ i $32,60 \pm 2,08$, respektivno). Niže vrednosti kala pečenja kod uzoraka grudnog

mišića i uzoraka bataka ($29,06 \pm 2,80$ i $29,69 \pm 3,47$, respektivno) konstatovane su kod brojlera koji su tokom transporta u novembru mesecu bili izloženi nižim temperaturama. Kod uzoraka koji su imali manje vrednosti kala pečenja izmerena je veća pH vrednost. Meso sa većom pH vrednošću ima veću sposobnost vezivanja vode, jer udaljšavanje pH vrednosti od izoelektrične tačke kontraktilnih proteina ima za posledicu povećanje kapilarnih prostora u proteinskim molekulima, a time i poboljšanje sposobnosti vezivanja vode mesa (Van Laack i dr., 2000). Ispitujuću grudni mišić brojlera, Petracci i dr. (2004) su saopštili da blede meso ($L^* > 56$) ima nižu pH vrednost i da je gubitak mase prilikom kuvanja takvog mesa veći. Rezultati ispitivanja Holma i Fletchera (1997) ukazuju da je gubitak mase prilikom termičke obrade mesa brojlera koji su pre klanja bili izloženi visokim ambijentalnim temperaturama (29°C) bio veći u odnosu na meso brojlera koji su pre klanja bili izloženi niskim (7°C) i srednjim temperaturama (18°C).

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja može da se konstatuje da je sezona transporta od farme do klanice imala značajan uticaj na kvalitet mesa brojlera. U uzorcima grudnog mišića i mišića bataka brojlera transportovanih u letnjim mesecima ustanovljen je veći procenat bledeg mesa, manja pH vrednost i veći kalo termičke obrade. Slaba, do umerena, negativna korelacija između ispitanih parametara kvaliteta mišića grudi i bataka brojlera ustanovljena je, kako u letnjem, tako i u zimskom periodu transporta. S obzirom na značajan uticaj ispitanih svojstava na tehnološki aspekt kvaliteta mesa nameće se neophodnost daljih ispitivanja primene aktivne ventilacije tokom transporta kao neophodnog preduslova za poboljšanje kvaliteta mesa i dobrobiti živine.

Literatura

- Allen C. D., Fletcher D. L., Northcutt J. K., Russell S. M., 1998. The relationship of broiler breast color to meat quality and shelf-life. *Poultry Science*, 76, 1042–1046.
- Bianchi M., Petracci M., Cavani C., 2006. The influence of genotype, market live weight, transportation, and holding conditions prior to slaughter on broilers breast meat color. *Poultry Science*, 85, 123–128.
- Dadgar S., Lee E. S., Leer T. L. V., Burlingnette N., Classen H. L., Crowe T. G., Shand P. J., 2010. Effect of microclimate temperature during transportation of broiler chickens on quality of the pectoralis major muscle. *Poultry Science*, 89, 1033–1041.
- Debut M., Berri C., Baeza E., Selier N., Arnould C., Guemene D., Hehl N., Boutten B., Jegu Y., Beaumont C., Le Bihan-Duval E., 2003. Variation of chicken technological meat quality in relation to genotype and pre-slaughter stress conditions. *Poultry Science*, 82, 1829–1838.
- Fletcher D. L., 2002. Poultry meat quality. *Worlds Poultry Science Journal*, 58, 131–144.
- Grandin T., 2000. *Livestock handling and transport* (2nd ed.). Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishi.
- Holm C. G. P., Fletcher D. L., 1997. Antemortem holding temperatures and broiler breast meat quality. *Journal of Applied Poultry Research*, 6, 180–184.

- Karabasil N., Vasiljević M., Dimitrijević M., Vučinić M., Đorđević V., Ivanović J., Kureljušić J., 2013. Ispitivanja uslova transporta svinja do klanice. Tehnologija mesa, 54, 1–7.
- Lesiow T., Kijowski J., 2003. Impact of PSE and DFD meat on poultry processing – a review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 12, 2, 3–8.
- Maslić-Strižak D., Spalević Lj., Rašeta M., Branković Lazić I., 2012. Uzgoj brojlerskih pilića u industrijskom živilarstvu. Tehnologija mesa, 53, 1, 1–7.
- McCurdy R.D., Barbut S., Quinton M., 1996. Seasonal effect on pale soft exudative (PSE) occurrence in young turkey breast meat. Food Research International, 29, 363–366.
- McKee S. R., Sams A. R., 1998. Rigor mortis development at elevated temperatures induces pale exudative turkey meat characteristics. Poultry Science, 77, 169–174.
- Meltzer A., 1983. Thermoneutral zone and resting metabolic rate of broilers. British Poultry Science, 24, 471–476.
- Mitchell M. A., Kettlewell P. J., 1998. Physiological stress and welfare of broiler chickens in transit: solutions not problems! Poultry Science, 77, 1803–1814.
- Nicole C. J., Scott G. B., 1990. Pre-slaughter handling and transport of broiler chickens. Applied Animal Behaviour Science, 28, 57–73.
- OIE. World Organization for Animal Health, 2004. Global Conference on animal welfare: an OIE initiative. Paris. 23–25 February. http://www.oie.int/eng/Welfare_2004/home.htm
- Petracci M., Fletcher D. L., Northcutt J. K., 2001. The effect of holding temperature on live shrink, yield and breast meat quality of broiler chicken. Poultry Science, 80, 670–675.
- Petracci M., Betti M., Bianchi M., Cavani C., 2004. Color variation and characterization of broiler breast meat during processing in Italy. Poultry Science, 83, 2086–2092.
- Ritz C. W., Webster A. B., Czarick M., 2005. Evaluation of hot weather thermal environment and incidence of mortality associated with broiler livehaul. Journal of Applied Poultry Research, 14, 594–602.
- Simpson M. D., Goodwin T. L., 1975. Tenderness of broilers as affected by processing plants and seasons of the year. Poultry science, 54, 275–279.
- Van Laack R. L. J. M., Liu C. H., Smith M. O., Loveday H. D., 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. Poultry Science, 79, 1057–1061.
- Vecerek V., Grbalova S., Voslarova E., Janackova B., Malena M., 2006. Effect of travel distance and season of the year on death rates of broilers transported to poultry processing plants. Poultry Science, 85, 1881–1884.
- Villarroela G. A. M., Marí'a C., Sanudoa J. L., Olleta G., Gebresenbetb, 2003. Effect of transport time on sensorial aspects of beef meat quality. Meat Science, 63, 353–357.
- Vosmerova P., Chloupek J., Bedanova I., Chloupek P., Krizikova K., Blahova J., Vecerek V., 2010. Changes in selected bio-chemical indices related to transport of broilers to slaughterhouse under different ambient temperatures. Poultry Science, 89, 2719–2725.
- Warriss P. D., Bevis E.A., Brown S. N., 1990. Time spent by broiler chickens in transit to processing plants. Veterinary Record, 127, 617–619.
- Woelfel R. L., Owens C. M., Hirschler E.M., Martinez-Dawson R., Sams A. R., 2002. The characterization and incidence of pale, soft and exudative broiler meat in a commercial processing plant. Poultry Science, 81, 579–584.

The effect of season of transportation on the welfare of broilers and selected parameters of broiler meat quality

Babić Jelena, Milićević Dragan, Vranić Danijela, Lukić Mirjana, Petrović Zoran

Abstract: During breeding, especially during transportation from the farm to the slaughterhouse, poultry is exposed to various stressful factors that influence post-mortem muscle metabolism and, consequently, the meat quality. The aim of this study was to investigate the effect of season of transportation on broiler welfare and broiler meat quality parameters: pH, colour and cooking loss. For the purpose of the experiment, during the summer (July) and winter (November), twelve broilers were tested, reared on the same farm and belonged to the same flock of line hybrid Ross 308. Distance from the farm to the slaughterhouse was 130 km, and transport lasted 3 to 5 hours. Average values of temperature and relative humidity during transport in summer period were 20.60°C and 65.64%, respectively, and in the winter period 14.42 °C and 69.14%, respectively. It was established that the samples of breast muscle and drumstick muscles of broiler chickens transported in summer had higher average L^* (lightness) values. When the L^* value of 56L* units, as the limit of PSE (pale, soft, exudative) meat, are applied on the results of the present study, it can be concluded that, in the summer, the share of pale meat in samples of breast and drumsticks was 75%, while in winter it was 33.34% for breasts and 16.67% for drumsticks. After transport, in the summer, pH values of breast and drumstick muscles (5.40 ± 0.20 and 5.71 ± 0.30 , respectively) were significantly lower than the pH values measured after transport in winter (5.90 ± 0.18 and 6.46 ± 0.25 , respectively). Lower values of cooking loss in the samples of breast muscle and drumstick samples (29.06 ± 2.80 and 29.69 ± 3.47 , respectively) were found in broiler chickens transported in November, when exposed to lower temperatures. Between pH and cooking loss, and pH and L^* values of samples of breast muscles and drumstick muscles studied after transport in summer and winter periods, negative correlation was determined.

Key words: meat colour, pH value, cooking loss, breast muscle, drumstick muscle, the season of transportation.

Rad primljen: 27.1.2014.

Rad prihvaćen: 28.03.2014.

Higijena procesa proizvodnje trupova brojlera

Rašeta Mladen¹, Vranić Vojin¹, Branković Lazić Ivana¹, Teodorović Vlado², Bunčić Olivera²,
Grbić Zoranka³, Lakićević Brankica¹

S a d r ŝ a j: Pri konzumaciji mesa brojlera, *Salmonella* spp. predstavlja glavni potencijalni hazard, jer dovodi do akutnog oboljenja ljudi sa simptomima dijareje, groznice i abdominalnih grčeva. S obzirom na činjenicu da je proizvodnja mesa brojlera izuzetno industrijalizovana (na jednoj liniji za sat vremena može da se proizvede i do 13.500 trupova), hazard od kontaminacije salmonelama je veliki. Po važećoj zakonskoj regulativi, prisustvo *Salmonella* spp. na trupovima brojlera je uzeto kao referentni kriterijum za procenu sveukupne higijene procesa proizvodnje. Tokom četiri godine, u periodu od 2008–2011. godine, praćeno je prisustvo *Salmonella* spp. na liniji klanja, nakon hlađenja. Pravilnik o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa („Sl. glasnik RS“, br. 72/10) kao limit prihvatljivosti higijene procesa proizvodnje trupova brojlera propisuje ≤ 7 pozitivnih uzoraka na prisustvo *Salmonella* spp. na 50 ispitanih uzoraka kože sa vrata trupa.

Ispitivanja su izvršena u industrijskom objektu za klanje brojlera, kapaciteta do 4.000 na sat. Pri kontinuiranom praćenju, broj utvrđenih pozitivnih uzoraka je bio 2008. godine $5,65 \pm 0,85$; 2009. godine $5,46 \pm 0,95$; 2010. godine $6,04 \pm 0,87$ i 2011. godine $2,27 \pm 1,19$. Sličan nivo prisutnosti *Salmonella* spp. u prve tri godine praćenja ukazuje na ujednačen nivo kontaminacije, dok je četvrte godine došlo do značajnog smanjenja. Četvrta godina kontrole bila je godina primene mikrobioloških kriterijuma za ocenu prihvatljivosti higijene procesa proizvodnje po novom Pravilniku. Od presudnog značaja je da se pozitivni rezultati primenjenih mera očuvaju i da primenjene mere nađu svoje mesto u svakodnevnom radnim postupcima svih zaposlenih u klanici.

KLjučne reči: procesna higijena, *Salmonella* spp., živinsko meso, mikrobiološki kriterijumi.

Uvod

Uredba (EU) 2160/2003 o kontroli salmonele i drugih specifičnih zoonotskih agenasa prenosivih hranom ima za cilj da obezbedi adekvatne i odgovarajuće mere koje se preduzimaju sa ciljem utvrđivanja salmonele i ostalih zoonotskih agenasa u svim fazama proizvodnje, prerade i prometa, kako bi se redukovao rizik koji predstavljaju po javno zdravlje. Upotreba ovih mera u lancu hrane ima pozitivan uticaj na bezbednost hrane i javno zdravlje.

Sa aspekta javnog zdravlja, salmonela, kao hranom prenosivi zoonotski agens, ima poseban značaj i svrstana je u mnoge lokalne, nacionalne i internacionalne programe praćenja (Yan i dr., 2004). Salmoneloza prenosiva hranom predstavlja značajan rizik po zdravlje ljudi (Taskila i dr., 2012). Salmonela, u svetu, je bila uzročnik infektivnih crevnih oboljenja ljudi u 25–30% od svih prijavljenih slučajeva (Report, 1996). Na osnovu izveštaja Evropske agencije za bezbednost hrane (European Food Safety Authority – EFSA), u 2010. godini dve najfrekventnije zoonoze kod ljudi u Evropskoj uniji (EU) su bile salmoneloza

i kampilobakterioza. Tokom proteklih šest godina zabeležen je statistički značajan trend opadanja slučajeva salmoneloze. Praćenje prisustva salmonele je pokazalo opadajući trend u Evropskoj uniji od 1997. godine, kada je utvrđeno 100.267 slučajeva obolelih ljudi, dok je 2001. godine taj broj smanjen na 73.006 (O'Brien, De Valk, 2003). U izveštaju EFSA, koji se odnosi na 27 zemalja, članica EU, u 2010. godini je zabeleženo 99.020 slučajeva salmoneloze kod ljudi (EFSA, 2012). U hrani animalnog porekla, salmonela je najviše prisutna na trupovima brojlera i ćuraka, kao i u usitnjenom mesu i poluproizvodima od mesa (EFSA, 2010; Makela i dr., 2012).

EFSA je, u izveštaju objavljenom 2013. godine o stanju i trendovima zoonoza, zoonotskih agenasa i agenasa prenosivih hranom u zemljama članicama EU, navela da je tokom 2011. godine zabeleženo 95.548 potvrđenih slučajeva salmoneloze kod ljudi. Prevalencija salmoneloze kod ljudi beleži konstantan pad, za 5,4% u odnosu na 2010. godinu i za 37,9% u odnosu na 2007. godinu, a u periodu 2008–2011. godine prisutan je opadajući trend pojave salmoneloznih oboljenja. Mnoge zemlje članice

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar Oslobođenja 18, 11000 Beograd, Republika Srbija;

³Kompanija „Agroživ“, Topolovački put bb, 23210 Žitište, Republika Srbija.

EU su ispunile ciljeve nacionalnih programa redukcije prisustva salmonela u životinjama i u namirnicama animalnog porekla (EFSA, 2013).

Ljudi se inficiraju salmonelama preko kontaminirane hrane (živalsko meso, proizvodi od živalskog mesa i jaja). Živina je jedan od najvećih rezervoara salmonela u prirodi i najčešći je izvor infekcije kod ljudi. Salmonela može da se izoluje iz brojnih animalnih vrsta. Intestinalni trakt je primarni rezervoar ove patogene bakterije, pri čemu je proces kolonizacije olakšan intenzivnim načinom proizvodnje. Meso brojlera je frekventni prenosnik salmonela i potencijalni je izvor kontaminacije ljudi; tako je u godišnjem izveštaju EFSA, objavljenim 2013. godine, za 2011. godinu navedeno da je u EU utvrđeno prisustvo salmonela u 5,9% uzoraka mesa brojlera.

Na liniji klanja potvrđuju se sve prethodno preduzete higijenske mere na farmi, u transportu i tokom samog procesa klanja i obrade. Utvrđivanjem stepena prisustva salmonela na liniji klanja donosi se sud ne samo o higijeni procesa proizvodnje, već i o efikasnosti svih ranije preduzetih mera u primarnoj proizvodnji.

Kod ljudi, u našoj zemlji, najzastupljeniji je serovar *Salmonella enterica*, subspecies *enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis* 90,05%), zatim slede *S. Typhimurium* (3,21%), *S. Hadar* (1,91%), *S. Infantis* (1,33%), dok nalaz *S. Stanleyville*, *S. Agona*, *S. Thompson* i *S. Virchow* ne prelazi 0,5%. (Stošić i dr., 2007).

Zaključeno je da je mnogo svrsishodnija primena praksi koje postoje doprinose smanjenju uvek prisutnog hazarda. Termin, kao što su „nulta tolerancija“ ili „odsustvo mikroorganizama“ bi trebalo izbegavati, sem ukoliko ih ne definiše međunarodni sporazum. Princip procene rizika u proizvodnji je mnogo prihvatljiviji pristup od principa „nulte tolerancije“. Svi raspoloživi podaci od značaja u lancu proizvodnje hrane treba da se upotrebljavaju u analizi rizika, kako bi se definisao rizik i primenile adekvatne mere (Mead dr., 2010).

Cilj našeg rada je bio da se utvrdi nivo higijene procesa proizvodnje trupova brojlera u klanici na osnovu nalaza salmonela u skladu sa uslovima propisanim u Pravilniku o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa (*Sl. glasnik RS*, 72/10).

Materijal i metode

Kontinuirano, u periodu od četiri godine (2008–2011 godina), vršena su planska ispitivanja prisustva bakterija roda *Salmonella* spp. na liniji klanja. Ukupno je izvršeno 26 serija ispitivanja godišnje.

Uzorci su uzimani na liniji klanja, sa trupova živine, nakon hlađenja. Uzorkovanje je izvršeno na poluatوماتskoj liniji za klanje, u industrijskom objektu kapaciteta 4.000 brojlera na sat. Na liniji klanja trupovi su vertikalno nogama zakačeni za lince konvejera. Uzimanje kože vrata i formiranje uzoraka je rađeno metodom propisanom u prilogu Pravilnika o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa (*Sl. glasnik RS*, 72/10). Uzorci kože vrata su uzimani jednom nedeljno sa 15 slučajno odabranih trupova brojlera na liniji klanja. Od svakog trupa je uzeto 10 g kože vrata nakon hlađenja. Od 15 uzoraka kože vrata formirano je 5 zbirnih uzoraka. Jedan uzorak je formiran od kože vrata sa tri trupa (30 g). Uzorci su transportovani pod termičkim režimom od +4°C i istog dana su započeta ispitivanja. Za izolovanje *Salmonella* spp. iz uzoraka kože vrata korišćena je metoda SRPS EN ISO 6579:2008, „Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za otkrivanje *Salmonella* spp.“

Higijena procesa proizvodnje trupova živine je procenjena u odnosu na zahteve propisane u Pravilniku (*Sl. glasnik RS*, 72/10), primenom pomičnog okvira. Uzorci su ispitani akreditovanom metodom SRPS EN ISO 6579:2008, „Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za otkrivanje *Salmonella* spp.“

Rezultati i diskusija

Rezultati ispitivanja *Salmonella* spp. na koži vrata brojlera, za period 2008–2011. godine, prikazani su u tabeli 1.

Na grafikonu 1 grafički su prikazani rezultati ocene higijene u procesu proizvodnje trupova brojlera u periodu 2008–2011 godine.

Na osnovu rezultata prikazanih na grafikonu 1 može da se konstatuje da Pravilnikom propisani limit za ocenu higijene procesa proizvodnje trupova brojlera (≤ 7 pozitivnih uzoraka) ni u jednoj seriji procene rezultata nije prekoračen, te, stoga, nije bilo potrebe za pokretanjem korektivnih mera. Ipak, evidentno je da je ustanovljeno prisustvo salmonela na kožama trupova brojlera. Primetno je da je u periodu 2008–2010. godine prisutna ujednačena slika kontaminacije salmonelom na liniji klanja. U 2008. godini ustanovljeno je $5,65 \pm 0,85$ pozitivnih slučajeva; u 2009. godini $5,46 \pm 0,95$, a u 2010. godini $6,04 \pm 0,87$. Nezadovoljavajuća higijena procesa proizvodnje zahteva od subjekta u poslovanju hranom da primeni korektivne mere iz HACCP plana.

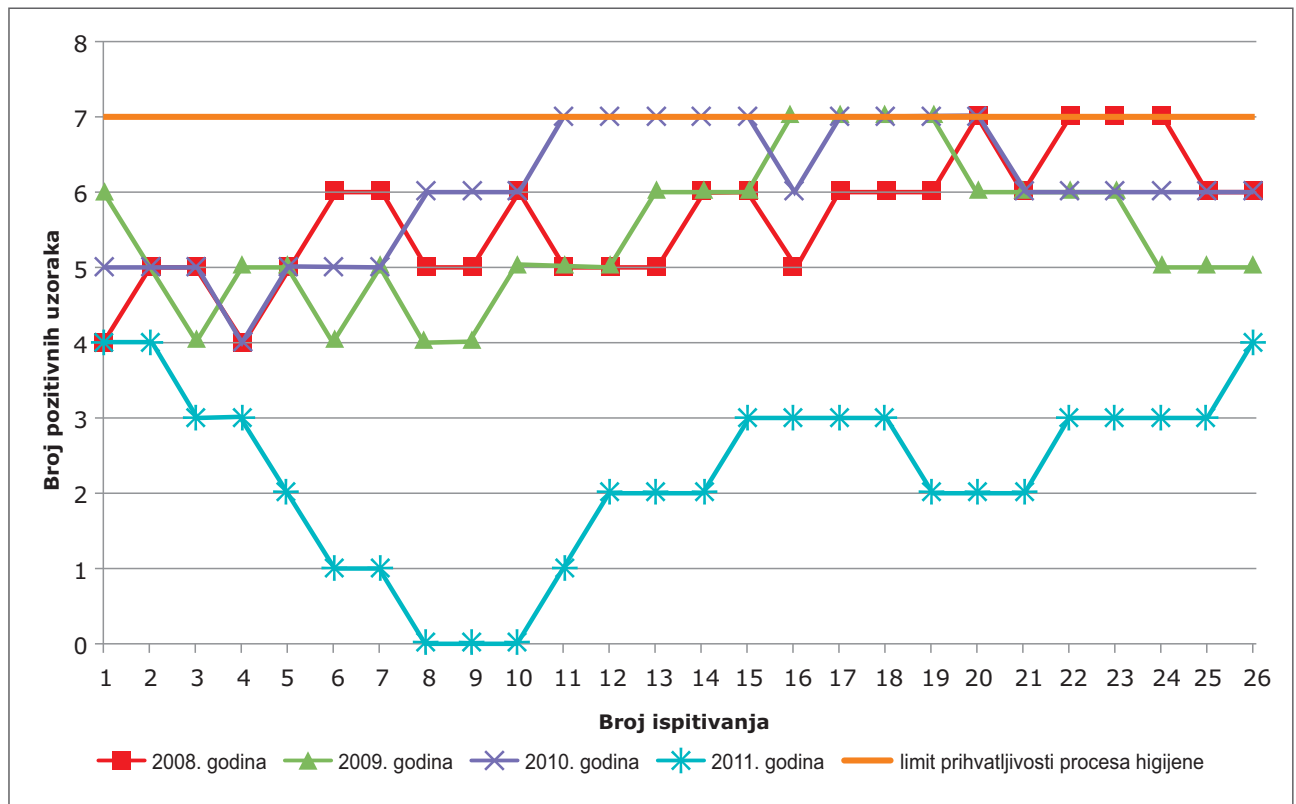
Tabela 1. Broj uzoraka kože vrata (n = 50) u kojima je dokazano prisustvo *Salmonella spp.* u periodu 2008–2011. godina**Table 1.** Number of neck skin samples (n = 50) in which *Salmonella spp.* was present in the period 2008–2011.

Redni broj ispitivanja/ Test number	Broja uzoraka kože vrata (n = 50) u kojima je dokazano prisustvo <i>Salmonella spp.</i> / Number of neck skin samples (n = 50) in which <i>Salmonella spp.</i> was present			
	2008. godina/ Year 2008	2009. godina/ Year 2009	2010. godina/ Year 2010	2011. godina/ Year 2011
1	4	6	5	4
2	5	5	5	4
3	5	4	5	3
4	4	5	4	3
5	5	5	5	2
6	6	4	5	1
7	6	5	5	1
8	5	4	6	0
9	5	4	6	0
10	6	5	6	0
11	5	5	7	1
12	5	5	7	2
13	5	6	7	2
14	6	6	7	2
15	6	6	7	3
16	5	7	6	3
17	6	7	7	3
18	6	7	7	3
19	6	7	7	2
20	7	6	7	2
21	6	6	6	2
22	7	6	6	3
23	7	6	6	3
24	7	5	6	3
25	6	5	6	3
26	6	5	6	4
Srednja vrednost/ Mean value	5.65	5.46	6.04	2.27
SD	0.85	0.95	0.87	1.19
Max	7	7	7	4
Min	4	4	4	0

Rezultati kontrole higijene procesa proizvodnje trupova brojlera iz 2011. godine su pokazali značajno poboljšanje u odnosu na prethodne godine. Posmatranjem trenda proizvodnje na grafikonu 1 vidi se da je u 2011. godini, tokom prva tri meseca, došlo do osetnog pada prisustva salmonele na liniji klanja.

U Australiji je tokom 1990-ih godina uveden novi set propisa iz oblasti kontrole higijene proizvodnje i prometa mesa brojlera. Izolovani serovarijeteti iz perioda pre i nakon primene novih propisa

su se razlikovali, dok je u oba slučaja utvrđena veza između salmonela nađenih na trupovima brojlera i kod ljudi obolelih od salmoneloze (*Sumner i dr.*, 2004). U Južnoj Africi je sprovedeno ispitivanje stepena mikrobiološke kontaminacije trupova brojlera u maloprodaji, pri čemu je u 19,2% uzorka utvrđeno prisustvo salmonela (*van Nierop i dr.*, 2005). Slični podaci su dobijeni u istraživanju u Italiji, kada je utvrđen stepen kontaminacije mesa brojlera od 17,9% (*Capita i dr.*, 2007), dok je u Španiji utvrđeno 22,7% (*Álvarez-Fernández i dr.*, 2013).



Grafikon 1. Grafički prikaz rezultata ocene higijene u procesu proizvodnje trupova brojlera

Graph 1. Graphical representation of the results of the evaluation of hygiene in the production of broiler chickens

Antunes i dr. (2003) su u Portugaliji ispitivali prisustvo salmonele na 60 trupova živine iz prometa (54 trupa brojlera i 6 trupova ćuraka), pri čemu je u 60% uzoraka utvrđeno prisustvo salmonele, i to 10 različitih serovarijeteta. Najčešće utvrđeni serovarijeteti su bili *S. Enteritidis* i *S. Hadar*.

U ispitivanju Capita i dr. (2007), iz 336 uzoraka trupova brojlera sa linije klanja izolovano je 60 izolata salmonela (17,9%). Nalaz, po zastupljenosti serovarijeteta, bio je sledeći: *S. Enteritidis* (60%), *S. Infantis* (10%), *S. Poona* (8,3%), *S. Typhimurium* (5%), *S. Agona* (5%), *S. Virchow*, *S. Newport*, *S. Paratyphi* (3,3%) i *S. Derby* (1,7%).

Ispitivanje prisustva salmonele u mesu brojlera u prometu u Španiji sprovedli su Dominguez i dr. (1999). Od ukupno ispitanih 198 uzoraka, prisustvo *Salmonella* spp. je utvrđeno u 71 uzorku (35,83%). Dominantni serovarijeteti su bili *S. Enteritidis* (47,88%) i *S. Hadar* (25,35%).

Tokom prometa živinskog mesa na tržištu SAD, u periodu 1994–2002. godine, glavni razlog povlačenja je bila bakterijska kontaminacija. Četiri

glavna patogena mikroorganizma, odgovorna za povlačenje mesa, su bili *Campylobacter jejuni/coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes* (FSIS, 1998).

Zaključak

- Higijena procesa proizvodnje mesa brojlera u periodu 2008–2011. godine je bila zadovoljavajuća (broj pozitivnih uzoraka nije prelazio limit od 7).
- Primenjene mere, prema gore navedenom Pravilniku, pokazale su pozitivne efekte tokom perioda ispitivanja.
- Rezultati dobijeni ispitivanjem higijene u procesu proizvodnje trupova živine, u slučaju dobijanja nezadovoljavajućih rezultata, treba da se proslede na farmu porekla brojlera. Na farmi porekla je potrebno da se sprovedu sve biosigurnosne mere, kako bi se smanjila incidencija salmonela na farmi.

Literatura

- Álvarez-Fernández E., Alonso-Calleja C., García-Fernández C., Capita R., 2012. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from poultry in Spain: Comparison between 1993 and 2006. *International Journal of Food Microbiology*, 153, 3, 281–287.
- Antunes P., Reu C., Carlos Sousa J., Peixe L., Pestana N., 2003. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, 82, 2, 97–103.
- Bunčić O., Katić V., 2011. Food safety and microbiological criteria. *Tehnologija mesa*, 52, 1, 47–52.
- Capita R., Alonso Calleja A., Prieto M., 2007. Prevalence of *Salmonella* Enterica serovars and genovars in slaughterhouses in Spain. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 5, 1366–1375.
- COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L 338/1–25.
- Dominguez C., Gomez I., Zumalacarregui J., 2002. Prevalence of salmonella and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 72, 1–2, 165–168.
- EFSA, 2010. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010, *The EFSA Journal*, 2597, 442.
- EFSA, 2012. Scientific report of EFSA and ECDC, The European Union Summary Report on Trends and sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010, *EFSA journal*, 2, 10, 3, 2579.
- EFSA, 2013. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011, *EFSA Journal*, 11, 4, 3129.
- FSIS, 1998. Pathogen reduction and HACCP systems and beyond. The new regulatory approach for meat and poultry safety. Backgrounders. USDA. Available: <http://www.fsis.usda.gov/oa/background/bkbeyond.htm>.
- Hamada K., Oshima K., Tsuji H., 2003. Drug resistance genes encoded in integrons and in extra-integrins: their distribution and lateral transfer among pathogenic enterobacteriaceae including enterohemorrhagic *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovars *Typhimurium* and *Infantis*. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 56, 3, 123–126.
- Makela P., Boelaert F., Beloeil P. A., Rizzi V., Takkinen J., 2012. Monitoring of biological hazards in animals and food in the EU. *Biological Food Safety & Quality*, Proceedings of the International Conference, 4–5 october 2012, BFSQ Belgrade, Serbia, 6–8.
- Mead G. C., Lammerding M. A., Cox N., Doyle P. M., Humbert F., Kulikovskiy A., Panin A., Pinheiro do Nascimento V., Wierup M., 2010. Scientific and Technical Factors Affecting the Setting of *Salmonella* Criteria for Raw Poultry: A Global Perspective. *Journal of Food Protection*, 73, 8, 1566–1590.
- Montville T. J., Matthews K. R., 2005. *Food Microbiology: an introduction*. ASM Press, 65–81.
- O'Brien S. J., De Valk H., 2003. *Salmonella* – 'old' organism, continued challenges. *Eurosurveillance*, 8, 1, 29–31.
- Pravilnik o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa, 2010 (Sl. glasnik Republike Srbije, br. 72/10).
- Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.
- Report, 1996. Report on Poultry Meat, Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food, HMSO, London.
- Resanović R., Rašić Z., Kureljušić B., Vučićević I., 2008. *Salmoneloza u živinarstvu*, *Živinarstvo*, 43, 8–9, 2–24.
- Stošić Z., Karabasil N., Mitrić M., Teodorović V., Špegar V., 2007. *Salmonela* – putevi kontaminacije i kontrola u lancu proizvodnje mesa brojlera. *Živinarstvo*, 42, 2–13.
- Sumner J., Raven G., Givney R., 2004. Have changes to meat and poultry food safety regulation in Australia affected the prevalence of salmonellosis? *International Journal of Food Microbiology*, 92, 2, 199–205.
- Taskila S., Tuomola M., Ojamo H., 2012. Enrichment cultivation in detection of food-borne *Salmonell*. *Food Control*, 26, 2, 369–377.
- van Nierop W., Duse A. G., Marais E., Aithma N., Thothobolo N., Kassel M., Stewart R., Potgieter A., Fernandes B., Galpin J. S., Bloomfield S. F., 2005. Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. *International Journal of Food Microbiology*, 99, 1, 1–6.
- Velebit B., Lilić S., Borović B., 2010. Ispitivanje rezistentnosti bakterija *Salmonella* spp. izolovanih sa trupova goveda prema antimikrobnim supstancama. *Tehnologija mesa*, 51, 2, 154–158.
- Veljić Z., Vranić V., Nedeljković Lj., 1996. Kontaminacija živinskog mesa salmonelama – aktuelni zdravstveni problem. *Tehnologija mesa*, 37, 1, 22–30.
- Vodić za primenu mikrobioloških kriterijuma za hranu, 2011. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, prvo izdanje, jul 2011. godine.
- Yan S. S., Pendrak L. M., Abela-Riddeer B., Punderson W. J., Fedorko P. D., Foley L. S., 2004. An overview of *Salmonella* typing: Public health perspectives. *Clinical and Applied Immunology Reviews*, 4, 3, 189–204.

Hygiene in the production of broiler carcasses

Rašeta Mladen, Vranić Vojin, Branković Lazić Ivana, Teodorović Vlado, Bunčić Olivera, Grbić Zoranka, Lakićević Brankica

S u m m a r y: *Salmonella* spp. is the main potential hazard in consumption of broiler meat, because it leads to an acute infection of people, with symptoms of diarrhea, fever and abdominal cramps. Production of broiler meat is very industrialized nowadays, and during one hour up to 12,000 carcasses can be produced on the slaughterline. Thus, the hazard arising from *Salmonella* spp. contamination is high. According to current legislation, the presence of *Salmonella* spp. on broiler carcasses is taken as the reference value for the assessment of the overall hygiene of the production process.

During the four year period, from 2008 – 2011, the presence of *Salmonella* spp. was monitored on slaughterline, on the poultry carcasses, after cooling. Regulation on the general and specific food hygiene requirements at any stage of production, processing and trade ("Off. Gazette of RS", no. 72/10), sets ≤ 7 *Salmonella* spp. positive samples in 50 tested chicken neck skin samples, as an eligibility limit for the hygiene of the production process of broiler chickens. Results of the continuous tracking of positive samples were as follows: In 2008 – 5.65 ± 0.85 positive; in 2009 – 5.46 ± 0.95 positive; in 2010 – 6.04 ± 0.87 positive, and in 2011 – 2.27 ± 1.19 positive. Similar level of the presence of *Salmonella* spp. in the first three years of monitoring indicates a constant level of contamination, while in the fourth year of surveillance a significant decrease was established. The fourth year of testing was the year of application of the new ways of control, and regulations. It is essential that the positive results of the implemented measures find their place in the everyday actions of all employees in the slaughterhouse.

Key words: process hygiene, *Salmonella* spp., poultry meat, microbiological criteria.

Rad primljen: 15.08.2013.

Rad ispravljen: 2.04.2014.

Rad prihvaćen: 3.04.2014.

Taq Man Real Time PCR detection of *Listeria monocytogenes*: a study of enrichment incubation time affecting sensitivity in experimental dry fermented sausages

Lakićević Brankica¹, Velebit Branko¹, Janković Vesna¹, Spirić Danka¹, Baltić Tatjana¹, Mitrović Radmila¹, Babić Jelena¹

A b s t r a c t: *Listeria monocytogenes* is a facultative intracellular Gram positive, catalase positive bacterium, ubiquitous in nature and capable of causing listeriosis in humans and animals. Conventional microbiological techniques and modern molecular approaches are currently used for the isolation and detection of *Listeria monocytogenes* in food samples. The aim of this study was to investigate the influence of enrichment incubation time on the sensitivity of Taq Man Real Time PCR method. For that purpose, dry fermented sausages were artificially inoculated with serial dilutions of *L. monocytogenes* ATCC 19111. The obtained results indicated that incubation time is an important factor affecting the sensitivity of Real-Time PCR detection. The best results were obtained after 24 h of pre-enrichment, with primers and probe complementary to the listeriolysin (*hlyA*) gene, when it was possible to detect less than 10 CFU/g of *L. monocytogenes*.

Key words: detection, *L. monocytogenes*, Real-Time PCR, sensitivity, DNA extraction.

Introduction

Listeria monocytogenes, an opportunistic bacteria, is recognized worldwide as one of the most important foodborne pathogens of concern for the food industries. *Listeria monocytogenes* is a ubiquitous microorganism and it is commonly isolated from foods of animal origin, mainly meat and milk products (Schuchat *et al.*, 1991), but it can also be found in fresh products, such as salads (Berrada *et al.*, 2006). However, human listeriosis outbreaks are most often associated with ready-to-eat food that is consumed without prior cooking (Ryser, 1999). Ingestion of foods contaminated with *L. monocytogenes* can result in listeriosis, a severe infectious disease characterized by meningoencephalitis, abortion, septicemia, and a high fatality rate (30%). Listeriosis predominantly affects certain risk groups, including neonates, young children, seniors over the age of 65, pregnant women, or people with compromised immune systems (Kathariou, 2002; McLaughlin *et al.*, 2004). The main route of transmission of *L. monocytogenes* to humans is the consumption of contaminated minimally processed food

(Schlech, 2000; Kathariou, 2002; Shen *et al.*, 2006). However, other modes of transmission can occur, including transplacental mother-to-child transmission. Several large outbreaks of listeriosis have been associated with contaminated commercial foodstuffs, such as vegetables, milk and meat products, in which these bacteria can multiply even at low temperatures (Schuchat *et al.*, 1991). Usually, the presence of any *Listeria* species in food is an indicator of poor hygiene (McLaughlin, 1997). Increased public awareness of the health-related and economic impacts of food contamination and foodborne illnesses has resulted in greater efforts to develop sensitive methods for pathogen detection and identification (Lakićević *et al.*, 2011). The specific identification of *L. monocytogenes*, based on culture and biochemical methods, is laborious and time consuming, and according to the International Organization for Standardization, requires up to a week for species identification in food products (ISO 11290-2, Anon. 1998). Culture methods have also been reported to show poor sensitivity for low-level contamination in samples (D'Aoust, 1992).

¹Institute of Meat Hygiene and Tehnology, Kačanskog 13, Belgrade, Republic of Serbia.

Therefore, the food industry needs faster techniques to trace sources of contamination and assess whether cleaning procedures are adequate. Recent developments in molecular diagnostics of *L. monocytogenes* include rapid, accurate and reliable methods for the detection of low concentrations of *L. monocytogenes* from a variety of food and environmental samples (Aznar and Alarcón, 2003; Cocolin *et al.*, 2002; Kaur *et al.*, 2007). Also, molecular techniques allow the identification of the cultivable and non-cultivable fraction of microorganisms present in one sample. The aim of this work was to investigate the influence of enrichment incubation time on the sensitivity of the method.

Materials and methods

Preparation of sausages

The traditional dry fermented sausages were manufactured from a mixture of lean minced pork (80%) and pig fat (20%) obtained from carcasses of Large White crossbreed animals. After grinding the meat and the fat to the size of about 10 mm (with adjustable plate holder diameter set), raw materials were mixed with seasonings (2.50% red hot paprika powder, 1.80% salt, 0.20% raw garlic paste, 0.20% caraway and 0.15% sucrose) for about 10 min. A well-mixed filling, which was prepared within 15-30 minutes by using a unique technique of manual mixing with kneading and overturning, was stuffed into natural casings consisting of the rear part of pig intestines (rectum), and afterwards sausage units of 35-45 cm long and 4.5-5.0 cm in diameter were shaped. The sausages were left to drain for a while and then they were periodically cold smoked for about 10-15 days, using specific kinds of wood (cherry wood, in particular). When the smoking process was finished, the sausages were kept in a dry and well ventilated place to dry and ripen, until an optimum quality was achieved, which lasted for about four months.

Bacterial strain and growth conditions

The standard strain of *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 was obtained from The American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, Va., USA). Standard strain was grown on brain-heart agar (BHA), (Merck, GmbH Darmstadt, Germany), at 37°C, during 24 h. Fraser broth (Merck) was used for the enrichment step.

Sample preparation for sensitivity assay

Sensitivity assays were carried out on artificially inoculated samples prepared as follows: 40 g of dry fermented sausage, previously cut into ca. 2 g pieces, were added to 360 mL of half-concentrated Fraser broth (half content of selective components, as recommended by the manufacturer) in a sterile plastic bag with lateral filter, and homogenized in a stomacher (MIX 2, AES Chemunex, France) for 1 min. The resulting mixture was distributed in 40 mL aliquots, and inoculated with 400 µL of 10-fold serial dilutions of standard *L. monocytogenes* ATCC 19111 strain in sterile saline (0.9% NaCl), covering the range from 1 to 1×10^7 CFU mL⁻¹ (determined by plate count on BHA). The negative control contained no inoculum. Afterwards, samples were incubated at 37°C, and ten millilitre aliquots were used for DNA extraction at 0, 2 and 6 h of incubation, and 1 mL aliquots after 24 h incubation.

DNA extraction

Two methods for DNA extraction from dry fermented sausages were evaluated. One method was based on DNA purification through chromatography columns (DNeasy Tissue Kit, Qiagen GmbH, Germany), according to the manufacturer's protocol for Gram positive bacteria, and the other one was heat treatment-based method by using PrepMan® Ultra Sample Preparation Reagent (Applied Biosystems, USA).

Table 1. The oligonucleotides used for Real Time PCR detection of *Listeria monocytogenes*

Tabela 1. Oligonukleotidi korišćeni za Real Time PCR detekciju *Listeria monocytogenes*

Primer and probe sequence orientation 5'→3'	Target gene	PCR product
hlyQF: 5'- CATGGCACCACCAGCATCT -3'	hly	64 bp
hlyQR: 5'- ATCCGCGTGTTTCTTTTCGA -3'		
hlyQP: 5'- FAM - CGCCTGCAAGTCCTAAGACGCCA -TAMRA -3'		

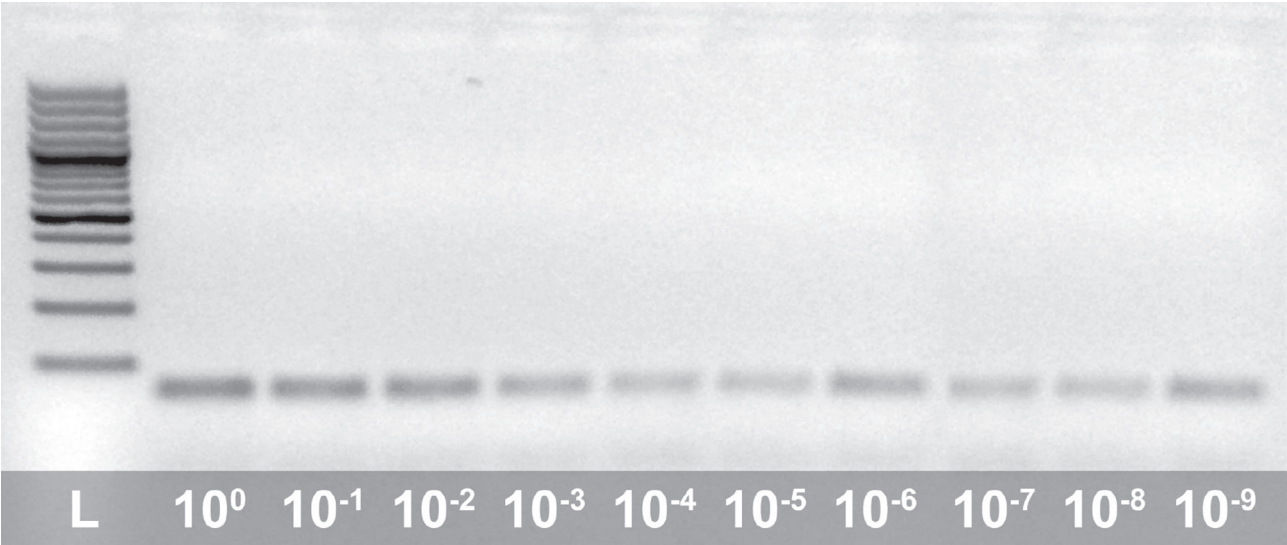


Figure 1. Agarose gel electrophoresis of decimal dilutions: MassRuler™ DNA Ladder, 10⁰–10⁻⁹ – serial dilutions of *L. monocytogenes* 4b ATCC 19111.

Slika 1. Rezultati elektroforeze PCR proizvoda: Marker - MassRuler™ DNA Ladder, 10⁰–10⁻⁹ – serijska razblaženja referentnog soja *L. monocytogenes* 4b ATCC 19111.

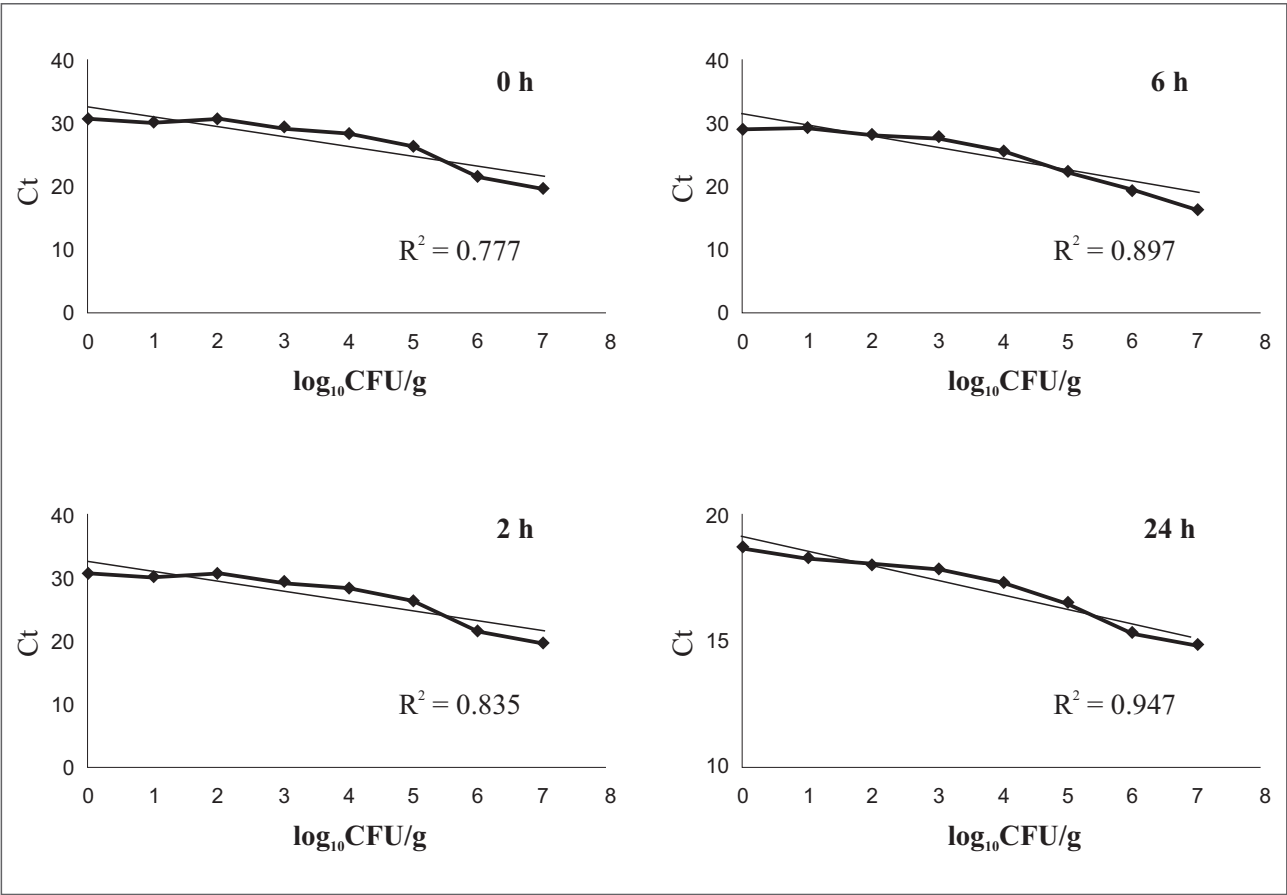


Figure 2. DNA standard curve of *L. monocytogenes* cell dilutions in fermented sausages after 0, 2, 6 and 24 h of incubation.

Slika 2. Standardna prava DNK serijskih razblaženja *L. monocytogenes* u fermentisanim kobasicama nakon 0, 2, 6 i 24 h inkubacije.

Real Time PCR conditions

Real Time PCR was performed in a final volume of 25 μ L containing Maxima® Probe / Rox qPCR Master Mix (Maxima® Hot Start DNK polymerase, Maxima® qPCR buffer, dNTPs, ROX passive reference dye), (Fermentas, UAB, Lithuania), 0.3 μ M of each primer (hlyQF, hlyQR), 0.2 μ M of probe (hlyQP) and 0.1–1 μ g of DNA template. Samples were amplified in a Stratagene Mx3005P QPCR System (Agilent Technologies, USA), for 10 min at 95°C, 50 cycles of 15 s at 95°C, and 1 min at 63°C.

List of primers and the probe used in this study are given in Table 1.

Results and discussion

Assay design

The assay was designed to identify *L. monocytogenes* from dry fermented sausages with a set of Real-Time PCR primers used to amplify *hlyA* target gene with expected 64 bp amplicon. Two commercially available methods for DNA extraction from dry fermented sausages were evaluated: one convenient format method using silica – membrane spin columns, and the other one using PrepMan® Ultra Sample Preparation Reagent, homogenous solution for lysis. Both methods were simple, fast, easy and effective for the extraction of DNA, yielding similar amounts of bacterial DNA. The PrepMan® Ultra Sample Preparation Reagent, low cost heat treatment-based method, proved to be faster and easier to implement for the extraction of DNA from artificially inoculated samples.

Validation with standard strains

The assay was initially validated with standard strain of *L. monocytogenes* ATCC 19111. Amplification patterns of respective 10-fold dilutions are presented in Figure 1. PCR fragments were analysed on gel electrophoresis carried out by applying 10 μ L of sample to 1% (wt/vol) agarose gels. A molecular weight marker DNA Ladder was analysed along with samples. Gels were electrophoresed in a 1 x TBE buffer (10 x TBE: 89 mM Tris, 89 mM boric acid, 2 mM EDTA), (Fermentas), at a constant voltage of 80 V, for 1 h, and visualized by CCD camera Bio Doc Analyze Darkhood (Biometra, Gottingen, Germany).

Moreover, when DNA from non-*Listeria* strains, such as *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Bacillus*

subtilis, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus plantarum*, was used in the Real Time PCR, no amplicon of any size was obtained. Therefore, using primers and probe directly on DNA extracted from microbial mixtures containing *L. monocytogenes* facilitates specific detection of *Listeria* by Real Time PCR amplification.

Detection limit of Real – Time PCR assay for *L. monocytogenes*

Different pre-enrichment incubation times (0 h, 2 h, 6 h, and 24 h) affecting sensitivity of the Real Time PCR method for detection *L. monocytogenes* were investigated on artificially inoculated dry fermented sausages. Two and six hours of pre-enrichment incubation were selected having in mind that 2 and 6 h are the incubation times that would allow the analysis to be completed on the same working day. Dry fermented sausages were inoculated with an overnight culture of strain *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, covering the range from 1 to 10⁷ CFU mL⁻¹ (determined by plate count on BHA). The method was based on the amplification of the *hlyA* gene using hlyQF / R primers, and hlyQP probe as indicated above. Oligonucleotide primers targeted to the *L. monocytogenes hlyA* gene were highly species specific, and provided means for easily differentiating *L. monocytogenes* from other hemolytic species of *Listeria* (Deneer and Boychuk, 1991).

Signals produced (threshold cycle, Ct) by the serial dilutions of *L. monocytogenes* were plotted against the log₁₀ CFU per gram of inoculated sausage, and the standard curves were constructed (Figure 2). The results obtained in the direct Real-Time PCR reaction (0 h), without incubation, indicated that it could not be quantified less than 10⁴ CFU/g. The highest sensitivity level achieved by direct detection was 10² CFU/mL, but it was not reproducible (Aznar and Alarcón, 2003).

The correlation coefficient (R²) of log₁₀CFU/Ct value increased over time. The highest correlation coefficient (R² > 0.930), and the best sensitivity of Real Time PCR method were achieved after 24 h incubation, detecting less than 10 CFU/g. This is in concordance with the limit of detection reported by Aznar and Alarcón, 1 CFU/mL (2003). The mentioned authors demonstrated that an enrichment step is necessary to detect *L. monocytogenes* and to get reproducible results as well. Pre enrichment guarantees the presence of viable cells in the sample, so that helps avoiding false positive results. They underlined that for longer incubation time the volume of sample has to be 1 mL, and that the DNA purification improves sensitivity of the PCR method.

The direct detection of *L. monocytogenes* in food is associated with problems such as inhibition of PCR by food components and amplification of DNA from dead *L. monocytogenes* cells. To solve these problems several reports dealing with enrichment of food sample prior to PCR detection of *L. monocytogenes* have been published (Bansal et al., 1996; Manzano et al., 1997; Agersborg et al., 1997; O'Connor et al., 2000). Finally, conventional microbiological techniques for detection of pathogens use suitable media necessary for the pre enrichment and enrichment, pathogen isolation on selective media, as well as their confirmation by determination of their morphological features, and by employment of biochemical and/or serological tests (Stjepanovic et al., 2007). The time necessary for the final identification and determination of antimicrobial susceptibility is generally 1 to 3 days (Tang et al, 1998), but the obtained results may be false. In contrast, the PCR assay, including DNA extraction, PCR amplification and data analysis, can be completed in less than 8 h.

References

- Agersborg A., Dahl R., Martinez I., 1997. Sample preparation and DNA extraction procedures for polymerase chain reaction identification of *L. monocytogenes* in seafood. *International Journal of Food Microbiology* 35, 275–280.
- Aznar R., Alarcón B., 2003. PCR detection of *Listeria monocytogenes*: a study of multiple factors affecting sensitivity. *Journal of Applied Microbiology* 95, 958–966.
- Bansal N. S., McDonell F. H. Y., Smith A., Arnold G., Ibrahim G. F., 1996. Multiplex PCR assay for the routine detection of *Listeria* in food. *International Journal of Food Microbiology* 33, 293–300.
- Berrada H., Soriano J. M., Pico Y., Manes J., 2006. Quantification of *Listeria monocytogenes* in salads by real time quantitative PCR. *International Journal of Food Microbiology* 107, 202–206.
- Cocolin L., Rantsiou K., Iacumin L., Cantoni C., Comi G., 2002. Direct identification in food samples of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* by molecular methods. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 6273–6282.
- D'Aoust J. Y., 1992. Commercial diagnostic kits for the detection of foodborne *Salmonella*. In: Congress Report *Salmonella and salmonellosis*, Ploufragan, France 9–19.
- Deneer H. G., Boychuk I., 1991. Species specific detection of *Listeria monocytogenes* by DNA amplification. *Applied and Environmental Microbiology* 57, 606 – 609.
- ISO 11290-2, 1998. Microbiology of food and animal feed – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species – Part 2: Enumeration method.
- Kathariou S., 2002. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *Journal of Food Protection* 65, 1811–1829.
- Kaur S., Malik S. V. S., Vaidya V. M., Barbuddhe S. B., 2007. *Listeria monocytogenes* in spontaneous abortions in humans and its detection by multiplex PCR. *Journal of Applied Microbiology* 103, 1889–1896.
- Lakićević B., Stjepanovic, A., Tolinacki M., Golic N., Topisirovic Lj., 2011. Improved sensitivity and reproducibility of the PCR method for detection of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in milk. *Acta Veterinaria* 61, 239–245.
- Manzano M., Cocolin L., Ferroni P., Cantoni C., Comi G., 1997. A simple and fast PCR protocol to detect *L. monocytogenes* from meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 74, 25–30.
- McLaughlin J., Mitchell R. T., Smerdon W. J., Jewell K., 2004. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Microbiology*, 92, 15–33.
- McLaughlin J., 1997. Animal and human listeriosis: a shared problem?, *Veterinary Journal*, 153, 3–5.
- O'Connor L., Joy J., Kane M., Maher M., 2000. Rapid polymerase chain reaction/DNA probe membrane-based assay for the detection of *Listeria* and *Listeria monocytogenes* in food. *Journal of Food Protection*, 63, 337–342.
- Pan Y., Breidt Jr. F., Kathariou S., 2006. Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms to sanitizing agents in a simulated food processing environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 7711–7717.
- Ryser E. T., 1999. Foodborne listeriosis. In: Ryser, E.T., Marth, E.H. (Eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety*, 2nd ed. Marcel Dekker Inc., New York, NY, 299–358.
- Schlech W. F., 2000. Foodborne listeriosis, *Clin Infect Dis*, 31, 770–775.

Conclusion

The proposed Real Time PCR method for detection of *L. monocytogenes* in dry fermented sausages is specific, non-tedious, and it is simpler and quicker than the standard detection procedure according to the standard ISO method. Also, the application of PCR-based methods is closely linked to the selection of suitable methods for DNA extraction. Namely, the PrepMan® Ultra Sample Preparation Reagent proved to be faster and easier to implement for the extraction of DNA from artificially inoculated samples.

The obtained results indicate that the incubation time has influence on the sensitivity of the Real Time PCR detection method. The best results were obtained after 24 h of pre-enrichment, with primers and probe complementary to the listeriolysin gene, when it was possible to detect less than 10 CFU/g *L. monocytogenes*. This assay can be adopted by small public health and food testing laboratories, and food industries, which cannot afford expensive methods and equipment.

- Schuchat A., Swaminathan, B., Broome, C. V., 1991. Epidemiology of human listeriosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 4, 169–183.
- Shen Y., Liu Y., Zhang Y., Cripe J., Conway W., Meng J., Hall G., Bhagwat A. A., 2006. Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from ready-to-eat foods in Florida. *Applied Environmental Microbiology* 72, 5073–5076.
- Stjepanović A., Marković B., Vesković-Moračanin S., 2007. Molekularno-biološke metode u mikrobiološkoj kontroli mesa i proizvoda od mesa. *Tehnologija mesa* 48, 123–130.
- Tang Y. W., Ellis N. M., Hopkins M. K., Smith D. H., Dodge D. E., Persing D. H., 1998. Comparison of phenotypic techniques for identification of unusual aerobic pathogenic gram-negative bacilli. *Journal of Clinical Microbiology*, 36, 3674–3679.

Taq Man Real Time PCR detekcija *Listeria monocytogenes*: uticaj perioda inkubacije na osetljivost metode kod eksperimentalno kontaminiranih suvih fermentisanih kobasica

Lakićević Brankica, Velebit Branko, Janković Vesna, Spirić Danka, Baltić Tatjana, Mitrović Radmila, Babić Jelena

R e z i m e: *Listeria monocytogenes*, prouzročivač listerioze kod ljudi i životinja, je fakultativni Gram pozitivni, katalaza pozitivan intraćelijski mikroorganizam, široko rasprostranjen u različitim staništima. U cilju izolacije i detekcije *L. monocytogenes* u uzorcima hrane, koriste se klasične mikrobiološke tehnike i moderne molekularnobiološke metode. Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj perioda inkubacije na osetljivost TaqMan Real – Time PCR metode. U tu svrhu, suve fermentisane kobasice su eksperimentalno kontaminirane serijskim razblaženjima *L. monocytogenes* ATCC 19111. Dobijeni rezultati su pokazali da je period inkubacije važan faktor koji utiče na osetljivost Real-Time PCR metode. Najbolji rezultati su dobijeni nakon 24 h predobogaćenja, korišćenjem prajmera i probe komplementarnih listeriozin (*hlyA*) genu, kad je moguće detektovati manje od 10 CFU/g.

Ključne reči: detekcija, *L. monocytogenes*, PCR u realnom vremenu, osetljivost, izolacija DNK.

Rad primljen: 9.12.2014.

Rad ispravljen: 14.03.2014.

Ispitivanje sadržaja olova u divljim zečevima sakupljenih u blizini autoputa E70 na području Sremskog okruga

Petrović Zoran¹, Milićević Dragan¹, Vranić Danijela¹, Đinović-Stojanović Jasna¹, Nikolić Dragica¹,
Lukić Mirjana¹, Milijašević Milan¹

S a d r ž a j: Ukupno je analizirano 66 uzoraka (33 bubrega i 33 jetre) tkiva divljeg zeca (*Lepus europaeus*) ekstrahovanih iz trupova 33 odstreljene jedinke iz pretežno poljoprivrednih područja Srema, u neposrednoj blizini Autoputa E70. Neparametrijskom statističkom analizom (Kruskal-Wallis i Post hoc Man-Whitney test) nisu registrovane statistički značajne razlike medijan vrednosti ($p > 0,05$) izmerenih koncentracija olova između bubrega i jetre, kako po starosnim grupama, tako i između lokaliteta. Zabeleženo je, brojčano i procentualno, smanjenje slučajeva registrovanog olova u bubrezima i jetri sa porastom vazdušne distance od Autoputa E70. U bubrezima, olovo nije registrovano u 23% ispitana uzorka (limit detekcije metode 0,05 mg/kg) dok u jetri olovo nije registrovano u 45% uzoraka. Analizom dobijenih podataka ustanovljena je bioindikacija prisustva olova koje potiče iz životne sredine, kao i da su registrovane vrednosti u ispitanim tkivima na niskom nivou. Samo u jednom uzorku jetre izmerena vrednost za olovo (0,63 mg/kg) premašila je maksimalno dozvoljenu količinu za iznutrice životinja.

Ključne reči: olovo, divlji zec, bubrezi, jetra.

Uvod

U životnoj sredini, u atmosferi, hidrosferi, litoferi i biosferi, se pojavljuje različiti broj toksičnih supstanci, što zavisi od izvora zagađenja (industrija, energetika, saobraćaj, poljoprivreda itd.). Često dolazi do međureakcija i stvaranja sekundarnih zagađivača u životnoj sredini (Đurić i Petrović, 1996). Prisustvo teških metala u životnoj sredini je veoma zastupljeno. Ono potiče iz prirodnih i antropogenih resursa. Neki metali su veoma značajni za rast biljaka, zdravlje životinja i ljudi. Ukoliko su prisutni u povećanim koncentracijama, tada imaju toksičan efekat na biljni i životinjski svet i, posledično, na ljude. U određenim slučajevima, teški metali, pored svoje stabilnosti, imaju potencijal da se akumuliraju u kopnenim i vodenim ekosistemima, u visokim koncentracijama i da izazivaju narušavanje zdravlja životinja i ljudi, preko zemljišta (aerodepozicija), unošenjem hrane, udisanjem prašine i zagađenog vazduha, ili preko kože (Adriano, 2001).

Akumulacija olova u zemljištu i površinskim vodama zavisi od mnogih faktora, od kojih su najvažniji pH, kompozicija minerala i količina i tip organske materije. Olovo u zemljištu se transferiše u

useve. Korenov sistem biljke sadrži više olova u odnosu na stabljiku i lišće, dok semenke i voće sadrže najmanje koncentracije (Davies i dr., 1987).

Ingestija zemljišta, odnosno zelene mase, je glavni izvor ovog metala unetog u organizam životinja. Ono se unosi kontaminiranom hranom i vodom, pogotovu kada se pašnjaci ili njive za proizvodnju drugih hraniva nalaze uz velike saobraćajnice i tranzitne puteve. Smatra se da pašnjaci moraju biti udaljeni od saobraćajnica minimalno 50 m vazdušne linije (Teodorović i Dimitrijević, 2011).

U prošlosti su transportne aktivnosti u kojima su učestvovala motorna vozila bili glavni izvor emisije olova u vazduh. Veći deo antropogenih izvora olova je tokom godina eliminisan gašenjem industrije ili tehničko-tehnološkim zahvatima. Ovo se odnosi, pre svega, na eliminaciju olova iz motornih benzina, boja, pesticida, municije (De Jonghe i dr., 1981).

Imajući u vidu perzistenciju olova, njegovu bioakumulativnu prirodu i toksičnost, kao cilj ovog rada postavljeno je da se utvrdi sadržaj olova iz životne sredine u bubrezima i jetri divljeg zeca sa lokalnih poljoprivrednih područja, u neposrednoj blizini autoputa E70. Zatim je predviđeno da se utvrdi

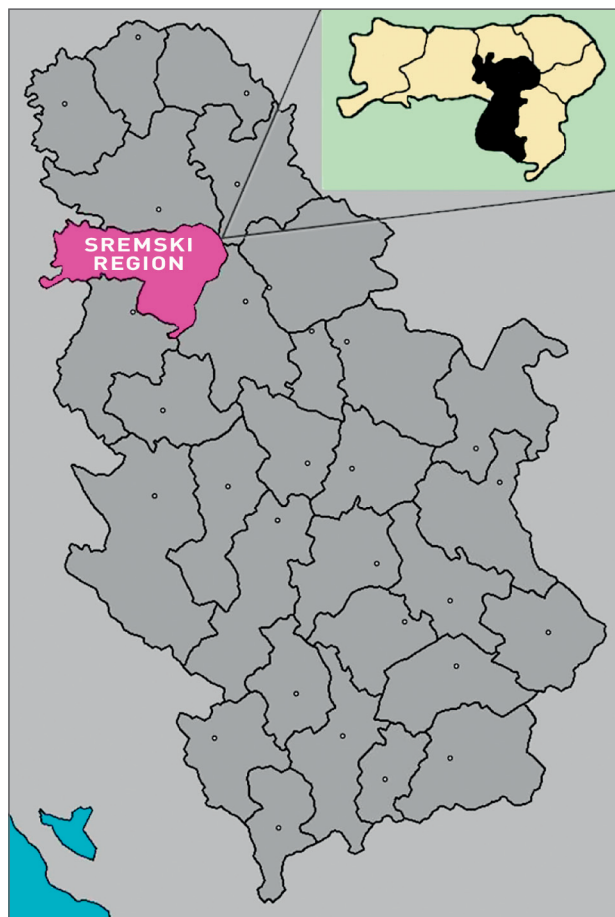
¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija.

postojanje eventualnih razlika u koncentracijama olova u oba organa, u zavisnosti od starosti životinja, i korelira sa udaljenjem od autoputa. Takođe, projektovani cilj je bio i da se, na osnovu dobijenih rezultata, na posredan način, korišćenjem uzoraka tkiva tokom regularne lovne sezone, preko dozimetrije ciljnih tkiva, utvrdi da li postoji bioindikacija prisustva olova na područjima sa kojih su uzorci sakupljeni.

Materijal i metode

Sakupljanje uzoraka

Uzorci tkiva divljeg zeca (*Lepus europaeus*) su sakupljeni tokom regularne lovne sezone jesen-zima 2010/2011. godine sa teritorija lovačkih udruženja (LU) Voganj, Mali Radinci, Putinci, Buđanovci i Nikinci. Ukupno je bilo sakupljeno 33 uzorka bubrega i 33 uzorka jetre, što ukupno čini 66 uzoraka tkiva.



Slika 1. Područje Sremskog okruga sa kojeg su sakupljeni uzorci tkiva divljeg zeca

Figure 1. Srem district from which hare samples were collected

Određivanje starosti jedinki divljeg zeca

Starost sakupljenih zečeva određena je merenjem mase očnog sočiva (*Lens cristallina*). Kriterijumi za svrstavanje u starosne grupe su bili: starost 3–6 meseci (100–200 mg), 12 meseci (200–280 mg), 12–24 meseci (280–310 mg), 24–36 meseci (310–370 mg) i stariji od 36 meseci (>370 mg).

Priprema uzoraka za instrumentalno određivanje olova

Za ispitivanje su korišćeni uzorci jetre i bubrega zečeva, koji su do ispitivanja čuvani u zamrzivaču na temperaturi od -18°C , u komadu, upakovani u polietilenske kese i jasno označeni. Nakon vađenja iz zamrzivača, uzorci su defrostovani na sobnoj temperaturi, na oko 20°C , do temperature „namrznutog“ stanja (-4°C do -6°C), a zatim su pripremljeni za instrumentalno određivanje teških metala. Uzorci tkiva su nakon defrostracije, mleveni u miniblenderu PHILIPS HR 2860 (220W), a zatim homogenizovani u Ultraturax homogenizatoru. Nakon ove faze pripreme, kompletan homogenat svakog uzorka prenošen je u vegetalas sa šlifovanim poklopcem. Na analitičkoj vagi, model DENVER INSTRUMENTS 215D–USA, obavljeno je prethodno tariranje sa teflonskom kivetom, u koju je, sa tačnošću od $\pm 0,0001\text{g}$, odmeravano oko 1 g uzorka.

U teflonske kivete sa odmerenim uzorcima, zasebnim klipnim pipetama, dodavano je, najpre, po 8 ml koncentrovane azotne kiseline (HNO_3 , 65%, Analytical grade, JT Baker, Center Valley, USA), a zatim 2 ml vodonik-peroksida (H_2O_2 , 30% Analytical grade, Kemika, Zagreb, Hrvatska), (odnos azotna kiselina/vodonik-peroksid je bio 4:1). Azotna kiselina rastvara većinu metala, prevođenjem u rastvorne nitrata, a dodatak vodonik-peroksida sprečava stvaranje azotnih para i ubrzava digestiju uzoraka organskog porekla sa povećanjem temperature. Teflonske kivete su zatim zatvarane kompletno specijalnih zatvarača, plastičnih prstenova i opruga, ubacivani u pripadajuće rotorske segmente, koji su pritezani specijalnim ključem sa podešenim momentom zatvaranja.

Uzorci za ispitivanje su razarani u uređaju MILESTONE TC (Touch Control, EVISA, EU), sa referentnom sondom za kontrolu temperature, uz korišćenje segmentnog rotora HPR-1000/10S. Program spaljivanja u uređaju bio je podešen u dva koraka, prema uputstvu proizvođača MILESTONE Application Note HPR-CL-02 – Animal Tissue. Spaljivanje uzoraka je obavljano metodom kisele mikrotalasne digestije, u zatvorenim teflonskim kivetama, pod pritiskom, uz korišćenje temperature kontrole

mikrotalasnog zagrevanja sa automatskim podešavanjem snage i pritiska (US EPA METOD 3052).

Nakon razaranja uzoraka obavljeno je kvantitativno prenošenje sadržaja iz kivete u normalne sudove od 50 ml, koji su dopunjavani do crte dejonizovanom vodom. Dejonizovana voda je pripremana na uređaju ELGA Purelaboption DV 35, sa provodljivošću 0,067 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Instrumentalno određivanje olova

Za određivanje sadržaja olova (Pb) korišćena je atomska apsorpciona spektrometrija, grafitna tehnika – GFAAS (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry), interna šifra metode 02R.01.033, uz upotrebu autosemplera, na aparatu VARIAN SpectrAA 220 i grafitne peći, model VARIAN GTA 110. Olovo je očitavano na 283,3 nm, LOD (Limit of determination) = 0,05 mg/kg.

Instrumentalna metoda određivanja teških metala je akreditovana od strane Akreditacionog tela Srbije (ATS).

Kalibracioni standardi za ispitivane elemente su pripremani od komercijalnih matičnih standarda (Merck KGaA, Germany), sledljivih do SRM materijala po NIST-u, koncentracije 1,000 mg/l u 0,2% rastvoru azotne kiseline. Matični standardi su čuvani u frižideru na 5–7°C. Radni rastvori standarda su, nakon pripreme, čuvani na temperaturi frižidera do 5 dana, a kalibracioni standardi su pripremani od njih, neposredno pred određivanje, korišćenjem klipne mikropipete BRAND, zapreminskog opsega 100–1000 μl . Tačnost merenja je proveravana korišćenjem standardnog referentnog materijala i „rikaveri“ (*recovery*) testa, uz primenu fortifikovanih (spajkovanih) uzoraka.

Kvantifikacija je vršena korišćenjem kalibracionih standarda različitih koncentracija, odabranih na način da kalibraciona prava pokriva opseg koncentracija toksičnih metala u uzorcima koji su normalno ispitivani (linearni opseg registrovanih koncentracija). Kontaminacija instrumenta je kontrolisana analizom slepe probe u svakoj seriji ispitivanih uzoraka (20). Slepe probe su sadržavale iste količine reagensa, odnosno prolazile su ceo analitički postupak, na isti način, kao i uzorci.

Prinos pojedinačnih ispitanih metala je određen dodavanjem poznate količine standarda u slepe probe (analitički „spajk“) radi provere interferencije matriksa sa merenim signalom ispitnog jedinjenja u uzorku. Obogaćeni uzorci su pripremani na dan ispitivanja, uz dodatak poznate količine standarda, u prethodno ispitane uzorke za koje je ustanovljeno da ne sadrže jedinjenje od interesa („matriks spajk“). Obogaćeni uzorak je analiziran u svakoj

seriji uzoraka sličnog matriksa (bubreg i jetra). Pri-nos za olovo je iznosio 83–89%, u jetri i 98–112%, u bubregu.

Dobijeni rezultati prinosa za analizirane metale su bili u okviru preporučenih vrednosti (80–120%) za teške metale u analizi tkiva divljači, prema uputstvu kanadske službe za divljač i konzervaciju prirode (*Neugebauer i dr.*, 2000).

Plan kontrole kvaliteta je predvideo i upotrebu sertifikovanog referentnog materijala (liofilizovan bubreg svinje u formi homogenizovanog praha, BCR No.186), sa sertifikovanim vrednostima za koncentracije toksičnih elemenata. Očitane vrednosti teških metala u referentnom materijalu su iznosile $\pm 10\%$ od sertifikovanih srednjih vrednosti. Čuvanje i postupanje sa sertifikovanim referentnim materijalom je bilo u skladu sa uputstvom za rukovanje. Za pripremu kontrolnih standarda odmeravano je 200 mg sertifikovanog referentnog materijala. Očitavanje standarda u okviru analize pojedinačnih metala vršeno je na kraju svake serije od 20 uzoraka. RSD vrednosti (%) tri očitavanja za sve uzorke iznad limita detekcije korišćene metode za olovo su iznosile 3,2%.

Merna nesigurnost metode je procenjena u skladu sa uputstvom U-034-00, dokumentovanog sistema kvaliteta Laboratorije za biotehnoška istraživanja i kontrolu bezbednosti i kvaliteta hrane, Instituta za higijenu i tehnologiju mesa, koja je akreditovana prema zahtevima SRPS ISO/IEC 17025:2006 i sertifikovana prema zahtevima standarda SRPS ISO 9001:2008. Proširena merna nesigurnost za ispitani element (Pb) je iznosila 6,6%

Statistička obrada

Statistička obrada rezultata je obavljena korišćenjem softverskog paketa MINITAB, verzija 16.1.0.0, Minitab Inc. © USA.

Podaci za sadržaj olova su grupisani u skladu sa vrstom tkiva i teritorija sa kojih su uzorci sakupljeni. Pre izbora odgovarajućeg statističkog testa, vršeno je određivanje individualne distribucije dobijenih vrednosti, korišćenjem *Anderson-Darling*-testa ispitivanja normaliteta raspodele.

Nakon određivanja distribucije podataka, analizom *Anderson-Darling*ovih koeficijenata, izabran je neparametrijski test (*Kruskal Wallis test*) analize varijanse sa *Post hoc Mann-Whitney* testom, koji je korišćen u drugom stepenu za utvrđivanje postojanja razlika između pojedinih vrsta tkiva po lokalitetima. Značajnost korelacionih povezanosti između ispitanih metala u okviru istog ili različitog tkiva je određena računanjem *Pirsonovog* (*Pearson*) korelacionog koeficijenta (*Ps*). Statistička značajnost je podeljena za p vrednost manju od 0,05 (nivo poverenja

od 95%). Izmerene koncentracije olova su prikazane preko medijan i srednjih vrednosti, minimalnih i maksimalnih vrednosti. Za grafički prikaz dobijenih podataka, za sve ispitane uzorke po lokalitetima, korišćeni su pravougaoni (*box-plot*) dijagrami.

Rezultati i diskusija

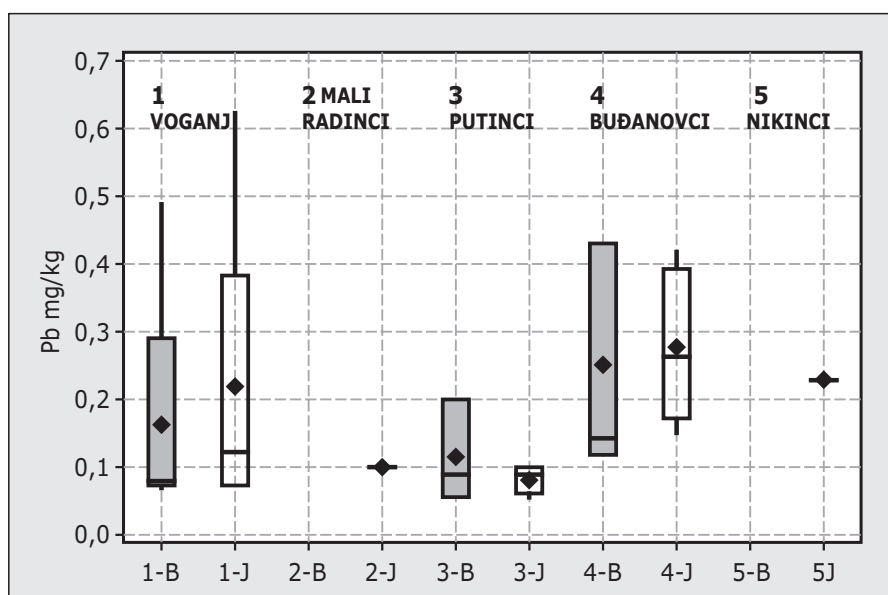
Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji olova u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni uzorci ustanovljeno je da nisu registrovane statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u pogledu sadržaja olova u bubrezima i jetri između pojedinih lokaliteta. Posmatrano na sve ispitane uzorke, utvrđena je statistički značajna srednja pozitivna korelaciona povezanost između sadržaja olova u bubregu i jetri ($P_s = 0,65$; $p = 0,001$; P_s – Pearson-ov korelacioni koeficijent).

U pregledanim radovima koji su razmatrali sadržaj olova u tkivu divljeg zeca (*Tataruch i Kierdorf*, 1984; *Kleiminger i Holm*, 1985) utvrđen je veći sadržaj olova u jetri, uglavnom kod starijih jedinki, i data je procena da nema razlike između sadržaja olova u bubrezima između mlađih i starijih životinja, što je u saglasnosti sa dobijenim rezultatima u okviru naših ispitivanja, posmatrajući starosnu strukturu prikupljenih jedinki divljeg zeca.

U istraživanju nivoa toksičnih metala u organima divljeg zeca sa teritorije zapadne, ravničarske, Slovačke *Massányi i dr.* (2003) su prikazali sezonske varijacije sadržaja olova u bubrezima i jetri. Takođe je izvršeno poređenje sadržaja olova u

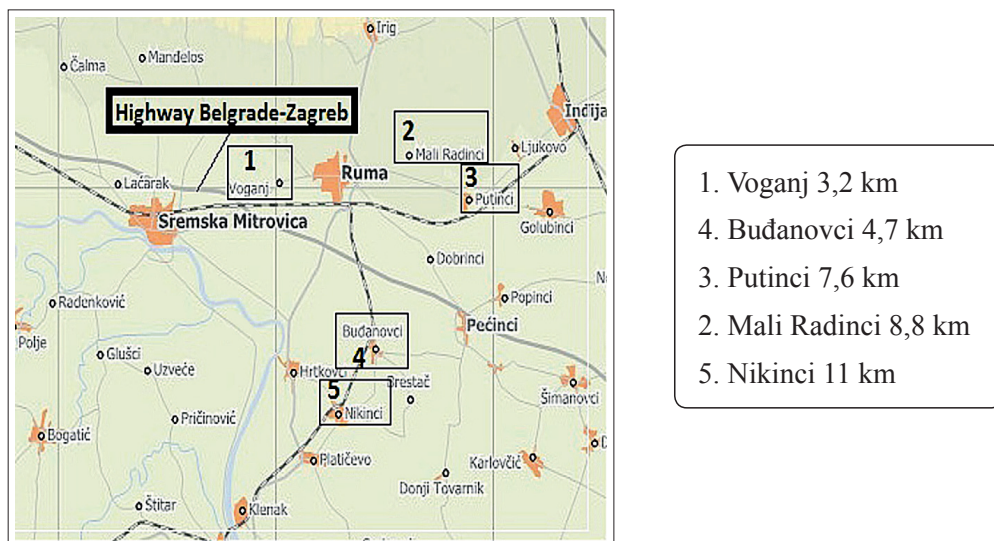
zavisnosti od starosne dobi i saopšteno je da su koncentracije olova u jetri i bubrezima bile slične, bez statistički značajnih razlika, što je u saglasnosti sa našim rezultatima. Nivo srednjih vrednosti akumuliranog olova u odnosu na pol jedinki koje su ovi autori saopštili iznosio je, u jetri mužjaka, 0,22 mg/kg i bio viši u odnosu na jetru ženki (0,13 mg/kg). Druga grupa autora iz Slovačke (*Kramárová i dr.*, 2005) saopštila je podatke za olovo u tkivu divljači i poredila bioakumulaciju olova u jetri evropskog divljeg zeca (0,221 mg/kg) i jelenske divljači (1,904 mg/kg), odnosno u bubrezima divljeg zeca (0,115 mg/kg) i jelenske divljači (0,561 mg/kg). Saopšteni rezultati koji se odnose na divlje zečeve iz Slovačke su u saglasnosti sa srednjom vrednošću za olovo u bubrezima zečeva sa teritorije Srbije, Sremski okrug, dok su srednje vrednosti olova u jetri evropskog divljeg zeca sa teritorije Srbije skoro duplo veće.

Gledano na sve ispitane uzorke, u bubrezima olovo nije registrovano u 23% ispitana uzorka, dok je procenat uzoraka jetri u kojima olovo nije detektovano iznosio 45%. Iz dobijenih rezultata može da se stekne utisak da je njihov nalaz posledica lokalne izloženosti olovu na pojedinim područjima. Ilustracija ovog zapažanja može se sagledati razmatranjem rezultata izmerenih vrednosti za olovo u bubrezima i jetri zečeva sakupljenih u Sremskom regionu – Voganj, Mali Radinci, Putinci, Buđanovci i Nikinci (dijagram 1), u neposrednoj blizini autoputa E70 (Beograd–Zagreb), kao i gradova Sremska Mitrovica i Ruma (slika 2). Prikazane vazdušne distance od autoputa su izračunate pomoću Google Earth



Dijagram 1. Sadržaj olova u organima divljih zečeva – Sremski okrug

Diagram 1. Lead content in hare organs – Srem district



Slika 2. Lokaliteti (1–5) u zoni Autoputa E70 i vazdušna udaljenja (km) sa kojih su sakupljeni uzorci

Figure 2. Sampling localities (1–5) nearby highway E 70, with air distances

aplikacije. Područje najbliže autoputu, LU Voganj, je u vazdušnoj liniji udaljeno oko 7,3 km od industrijske zone Sremske Mitrovice.

Pregledom rezultata prikazanih u tabeli 1 može da se konstatuje da je procenat registrovanog olova u bubrezima i jetri najveći u organima divljih zečeva sakupljenih u rejonu Vognja, a, takođe, i maksimalne izmerene vrednosti za olovo u oba organa, ali bez registrovanih statistički značajnih razlika između lokaliteta ($p > 0,05$).

Sa povećanjem vazdušne udaljenosti od autoputa (slika 2) primećuje se trend smanjenja broja uzoraka u kojima je registrovano olovo kao i sniženje vrednosti maksimalno izmerenih količina, izuzev u slučaju LU Putinci (3), gde je olovo registrovano u svim uzorcima jetri, ali su srednja i maksimalna izmerena vrednost u oba organa sa teritorije ovog lovnog područja manje u odnosu na lokacije 1 (LU Voganj) i 4 (LU Budanovci), koje su u vazdušnoj liniji najbliže autoputu. U tkivima zečeva

Tabela 1. Sadržaj olova i distribucija registrovanih vrednosti u tkivima zečeva sakupljenih sa područja lovačkih udruženja uz Autoput E70

Table 1. Lead content and distribution of registered values in hare tissues from hunting grounds

	n=33	N	N _{reg}	N*	%	sr. vred.	Min	Max
1	Pb B	6	5	1	83.3	0.16	0.07	0.49
1	Pb J	6	6	0	100	0.22	0.07	0.63
4	Pb B	6	3	3	50.0	0.25	0.12	0.43
4	Pb J	6	4	2	66.7	0.28	0.15	0.43
3	Pb B	6	3	3	50.0	0.12	0.06	0.20
3	Pb J	6	6	0	100.0	0.08	0.06	0.10
2	Pb B	6	nije registrovano u bubrezima/not registered in lead					
2	Pb J	6	1	5	16.7	0.10	0.10	0.10
5	Pb B	9	nije registrovano u bubrezima/not registered in lead					
5	Pb J	9	1	8	11.1	0.23	0.23	0.23

Legenda/Legend: n – ukupan broj uzoraka/total samples; N – broj uzoraka po lokalitetu/number of samples per location;

N_{reg} – broj uzoraka sa registrovanim olovom na lokalitetu/Number of samples with registered lead content on a location;

N* – broj uzoraka u kojima nije registrovano olovo/Number of samples with no registered lead;

% – procenat uzoraka sa registrovanim olovom/Percentage of samples with registered lead;

sakupljenih sa područja označenih lokacijskim brojevima 2 (LU Mali Radinci) i 5 LU Nikinci), koja su najudaljenija od autoputa, od ukupno 6, odnosno 9, ispitanih uzoraka tkiva, olovo je registrovano samo u po jednom uzorku jetre, dok u bubrezima nije registrovano (tabela 1).

Herbivore, konzumacijom biljaka koje su kontaminirane olovom, u organizam unose olovo preko probavnog trakta, pri čemu se resorbuje 5–10% neorganskih jedinjenja olova prisutnih u hrani biljnog porekla. Olovo prisutno u obliku sitnih čestica i aerosola u vazduhu se unosi u disajni trakt, gde je moguća resorpcija i do 40% (Đurić i Petrović, 1996). Dobijeni rezultati iz regiona Srema, se mogu dovesti u vezu sa aerodepozicijom olova na biljke koje zečevi koriste za ishranu i zemljište na kome one rastu, kao rezultat atmosferskog transporta, što predstavlja glavni izvor unosa olova za herbivornu divljač (Kalas i dr., 2000). Većina biljnih vrsta kojima se herbivore hrane akumuliraju veoma malu količinu olova iz zemljišta (Kabata-Pendias i Pendias, 1984; Sheppard i Sheppard, 1991; Manninen i Tanskanen, 1993; Underwood i Suttle, 1999; Rous i Jelinek, 2000; Saičić i Janković, 2004; Kalinova i dr., 2007).

Incidentni unos olova prisutnog u zemljištu ingestijom je malo verovatan, odnosno postoji očekivanje da u područjima u kojima nema značajnije aerodepozicije olova herbivore pokazuju nizak nivo akumulacije u tkivima (Mulvey i Diamond, 1991), što je i bio slučaj, uglavnom, neregistrovanja olova u tkivima zečeva sa područja LU Nikinci (5). Do sličnih saznanja došli su i Krelowska i dr. (1994), koji su poredili sadržaj olova u bubrezima i jetri divljih zečeva poreklom iz industrijskih i nezagađenih oblasti, pri čemu je uočeno da je sadržaj olova nekoliko

puta veći u tkivima zečeva prikupljenih u blizini industrijskih zagađivača.

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata za olovo i pregledanih podataka iz literature može da se konstatuje da, bez obzira na nepostojanje statističkih razlika u sadržaju olova u organima zečeva između lovnih terena sa kojih su sakupljeni uzorci, postoji određena bioindikacija njegovog prisustva na pojedinim područjima.

Viši procenat prisustva olova je zabeležen u bubrezima (77%), dok je u jetri olovo registrovano u 55% uzoraka.

Ako se posmatraju svi ispitani uzorci bubrega i jetre, nisu registrovane statistički značajne razlike između izmerenih koncentracija olova u bubrezima u odnosu na jetru ($p > 0,05$).

Generalno, nivo olova u ispitanim uzorcima bubrega divljeg zeca sa područja Srema je na niskom, ili sličnom nivou kao i u drugim evropskim regionima, za koje postoje raspoloživi podaci. Blizina autoputa ima određeni uticaj na procentualni udeo i srednje vrednosti registrovanog, odnosno neregistrovanog, sadržaja olova u oba organa. Sa povećanjem vazdušne udaljenosti od autoputa opada procenat uzoraka u kojima je registrovano olovo kao i koncentracije olova u ispitanim uzorcima.

Količine olova, u ispitanim organima divljih zečeva, veće od maksimalno dozvoljene vrednosti od 0,5 mg/kg su registrovane samo u jednom uzorku jetre (područje LU Voganj), u odnosu na ukupan broj ispitanih uzoraka (33), dok, u svim ispitanim uzorcima bubrega, tamo gde je olovo registrovano, izmerene količine nisu premašivale maksimalno dozvoljenu vrednost.

Literatura

- Adriano D. C., 2001. Trace Elements in the Terrestrial Environment, 2nd edition, Springer-Verlag, New York.
- Davies D. J., Watt J. M., Thornton I., 1987. Lead levels in Birmingham dusts and soils. Science of Total Environment 67, 177–185.
- De Jonghe W. R. A., Chakraborti D., Adams F. C., 1981. Identification and determination of individual tetra-alkyl lead species in air. Environ Sci Technol 15, 1217–1222.
- Đurić B. D., Petrović Lj. J., 1996. Zagađenje životne sredine i zdravlje čoveka – Ekotoksikologija. Velarta, Beograd, 312–324.
- <http://publications.gc.ca/collections/Collection/CW69-5-337E.pdf>
- Kabata-Pendias, A., Pendias H., 1984. Trace Elements in Soil and Plants. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kalas J. A., Steinnes E., Lierhagen S., 2000. Lead exposure of small herbivorous vertebrates from atmospheric pollution. Environment Pollution 107, 21–29.
- Kalinova J. E., Černuha I. M., Vostrikova N. L., Iljina T. V., Orlova O. N., 2007. Monitoring toksičnih elemenata (kadmijum, olovo) u tkivima i organima svinja iz regiona Rostov i Lipec Ruske Federacije. Tehnologija mesa 49, 183–190.
- Kleiminger J., Holm J., 1985. Constructing a cause-oriented system for monitoring the contamination of game by harmful substances. 4. Choosing a suitable bioindicator of harmful substances. Fleischwirtschaft 65, 394–399.

- Kramárová M., Massányi P., Slamečka J., Tataruch F., Jančová A., Gasparik J., Fabis M., Kovacik J., Toman R., Galová J., Jurcik R., 2005. Distribution of Cadmium and Lead in Liver and Kidney of Some Wild Animals in Slovakia. *J Environment Science Healthy* 40, 593–600.
- Krelowska-Kulas M., Kudelka W., Stalinski Z., Bieniek J., 1994. Content of metals in rabbit tissues. *Nahrung* 38, 393–396.
- Manninen S., Tanskanen N., 1993. Transfer of lead from shotgun pellets to humus and three plant species in a Finnish shooting range. *Archive Environmental Contamination and Toxicology* 24, 410–414.
- Massányi P., Tataruch F., Slamečka J., Toman R., Jurčík R., 2003. Accumulation of lead, cadmium, and mercury in liver and kidney of the brown hare (*Lepus europaeus*) in relation to the season, age, and sex in the West Slovakian Lowland. *Journal of Environment Science Health A*, 38, 1299–1309.
- Mulvey M., Diamond S. A., 1991. Genetic factors and tolerance acquisition in populations exposed to metal and metalloids. In: Newman, M.C., McIntosh, A.W. (Eds.), *Metal Ecotoxicology: Concepts and Applications*. Lewis Publishers, Chelsea, MI, 301–321.
- Neugebauer E. A., Sans Cartier G. L., Wakeford B. J., 2000. Methods for the Determination of Metals in Wildlife Tissues Using Various Atomic Absorption Spectrophotometry Techniques. Technical Report Series No. 337E. Canadian Wildlife Service, Headquarters, Hull, Québec, Canada.
- Rous P., Jelinek P., 2000. The effect of increased soil contamination with heavy metals on their content in some rabbit tissues. *Czech Journal of Animal Science*, 45, 319–324.
- Saičić S., Janković S., 2004. Sadržaj toksičnih elemenata u ciljnim tkivima svinja i goveda u periodu 1982–2001. *Tehnologija mesa* 45, 1–2, 33–37.
- Sheppard S. C., Sheppard M. I., 1991. Lead in boreal soils and food plants. *Water Air Soil Pollution*, 57–58, 79–91.
- Tataruch F., Kierdorf H., 2003. Trace Metals and other Contaminants in the Environment. In: *Bioindicators & Biomonitoring – Principles, Concepts and Applications*, Chapter 20, Volume 6, 737–772.
- Teodorović V., Dimitrijević M., 2011. Hemijski i fizički zagadjuvači namirnica animalnog porekla, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Naučna KMD, d.o.o., Beograd.
- Underwood E. J., Suttle N. F., 1999. The mineral nutrition of livestock. 3rd ed. New York: CABI Publishing. NY.

Investigation of lead content in hare organs collected from the areas near by highway E70 – Srem county

Petrović Zoran, Milićević Dragan, Vranić Danijela, Đinović-Stojanović Jasna, Nikolić Dragica, Lukić Mirjana, Milijašević Milan

S u m m a r y: The total of 66 samples of hare tissue (33 kidney and 33 liver) were extracted from 33 carcasses of individual animals shot in predominately agricultural terrains of Srem county, nearby Highway E70, passing through the area from which samples were collected. Non parametric statistical analysis (Kruskal-Wallis and Post hoc Man-Whitney test) used for data processing showed no statistically significant differences between median values ($p > 0.05$) of lead levels in kidney and liver collected from different locations as well as between different age groups of hares. There was obvious decrease in the number of cases where lead in kidney and liver was detected with air-distance increase from the highway path. In kidney, lead was not registered in 23%, of the total examined samples, while in liver it was not registered in 45% of the examined samples. The data analysis showed a bioindication of lead presence with origin from the surrounding environment. The registered levels of lead were low. The measured concentration of lead exceeding MRL for animal organs (0.5mg/kg) was registered only in one singular liver sample (0.63 mg/kg).

Key words: lead, hare, kidney, liver.

Rad je primljen: 18.03.2014.

Rad prihvaćen: 25.03.2014.

Analiza obima proizvodnje goveđeg mesa u Srbiji od 1985. do 2011. godine

Dokmanović Marija¹, Lukić Mirjana², Baltić Ž. Milan¹, Ivanović Jelena¹, Marković Radmila¹, Grbić Slaven³, Glamočlija Nataša¹

S a d r ž a j: Cilj ovog rada je bio da se ispita i uporedi obim proizvodnje goveđeg mesa u Srbiji u tri šestogodišnja perioda: od 1985. do 1990. godine, od 1995. do 2000. godine i od 2006. do 2011. godine. Broj goveda, kao i ukupan broj zaklanih goveda u periodu od 2006. do 2011. godine je bio statistički značajno manji ($p < 0,01$) u poređenju sa prethodnim periodima (1985–1990 i 1995–2000). Prosečna masa goveda pre klanja svih starosnih kategorija je u periodu od 1985. do 1990. godine bila statistički značajno manja ($p < 0,01$) od prosečne mase goveda pred klanje u periodu od 1995. do 2000. godine, odnosno u periodu od 2006. do 2011. godine. Prosečna masa trupova goveda nije se statistički značajno razlikovala za period od 1995. do 2000. godine i za period od 2006. do 2011. godine. Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnih randmana trupova goveda u periodu od 1995. do 2000. godine u odnosu na period od 2006. do 2011. godine. U odnosu na period od 1985. do 1990. godine proizvodnja goveđeg mesa je u periodu od 1995. do 2000. godine smanjena za 24,60%, a u periodu od 2006. do 2011. godine za 29,20%. Ovakve promene u proizvodnji goveđeg mesa u Srbiji posledica su stalnog smanjenja broja goveda u proteklih dvadeset pet godina.

Ključne reči: goveda, proizvodnja mesa, masa trupa, randman, Srbija.

Uvod

Značaj mesa u ishrani ljudi je dobro poznat i smatra se da je meso nezamenljiva i najkvalitetnija komponenta pravilne i dobro izbalansirane ishrane (Biesalski, 2005). Goveđe meso odlikuje izuzetna nutritivna vrednost, koja ga izdvaja u odnosu na druge vrste mesa i čini veoma cenjenom hranom (Petrović i dr., 2002). Meso goveda je dragocen izvor proteina visoke biološke vrednosti, vitamina B12 i drugih vitamina B kompleksa, kao i mineralnih materija, posebno magnezijuma, gvožđa, cinka, fosfora, kalijuma i selen.

Krto goveđe meso sadrži oko 23% proteina, 2,8% masti, 73% vode i 1,2% mineralnih materija, a energetska vrednost mu je 494 KJ (116 kcal) na 100 g (Williams, 2007). Brojni faktori, kao što su rasa, pol, starost, ishrana, način proizvodnje i dr., utiču na variranja u hemijskom sastavu goveđeg mesa.

Potrošnja mesa u svetu beleži blagu tendenciju rasta i trenutno je svetski prosek oko 43 kg po

stanovniku, za 2012. godinu, pri čemu je ona značajno veća u razvijenim zemljama, gde iznosi 79 kg, dok je u zemljama u razvoju 33,1 kg. Najčešće konzumirano meso u svetu je svinjsko meso, koje čini preko 36% ukupne potrošnje mesa, slede živinsko meso, sa 33% i goveđe meso, sa učešćem od 24% u ukupnoj potrošnji mesa (Anonym, 2011c).

Kupovna moć potrošača je ključna determinanta nivoa potrošnje mesa po stanovniku. Ovo, posebno dolazi do izražaja kod goveđeg mesa čija je cena, generalno, veća od cene drugih vrsta mesa. Niska konkurentnost goveđeg mesa je uslovljena, pre svega, dugim proizvodnim ciklusom i većim utroškom hrane za kilogram prirasta. Nedavni porast potrošnje goveđeg mesa u azijskim zemljama, koje beleže jak ekonomski rast, potvrđuje značaj ovog ekonomskog kriterijuma. Sa druge strane, na nivo potrošnje goveđeg mesa značajan uticaj imaju religijski faktor, zdravstveni aspekti, pojava novih i ponovljenih zoonoznih bolesti, sve razvijenija svest potrošača o zaštiti životne sredine i dobrobiti životinja, kao i veća

Napomena: Rad je finansiran sredstvima projekta broj TR 31034 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

¹Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Republika Srbija;

²Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija;

³Slaven d. o.o, 51000 Banja Luka, Bosna i Hercegovina.

dostupnost goveđeg mesa u pojedinim zemljama (Hocquette i Chatellier, 2011).

Prema podacima FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Organizacija Ujedinjenih nacija za hranu i poljoprivredu), prosečna godišnja potrošnja goveđeg mesa u svetu, za 2010. godinu, iznosila je 9,4 kilograma po stanovniku. Najveću potrošnju goveđeg mesa po stanovniku za 2010. godinu imala je Argentina (55,7 kg), zatim slede Brazil, sa 39,8 kg i SAD, sa 38,2 kg po stanovniku. U zemljama EU godišnja potrošnja goveđeg mesa za 2010. godinu iznosila je, prosečno, 16,4 kg po stanovniku, a najveći potrošači su bili Luksemburg sa 43,8 kg, Francuska sa 25 kg, Italija, sa 23 kg i Danska sa 20 kg po stanovniku (Anonym, 2012).

Prognoza FAO je da će do 2020. godine ukupna svetska potrošnja goveđeg mesa rasti po stopi od 1,5% godišnje, a ovaj rast će, primarno, biti uslovljen porastom svetske populacije i povećanjem potrošnje goveđeg mesa u zemljama u razvoju (Anonym, 2011c).

U Srbiji je prosečna potrošnja mesa po stanovniku za 2010. godinu bila 64,7 kg, a od toga je najveća potrošnja po stanovniku bila svinjskog mesa 36,9 kg (57%), zatim goveđeg 13,2 kg (20,4%), živinskog 11,5 kg (17,8%) i ovčijeg 3,2 kg (4,9%), (Anonym, 2011b).

Cilj ispitivanja u okviru ovog rada bio je analiza obima proizvodnje goveđeg mesa u Srbiji od 1985. do 2011. godine, s tim što su posmatrana tri šestogodišnja perioda: A (1985–1990), B (1995–2000) i C (2006–2011).

Materijal i metode

Za obradu podataka korišćeni su podaci iz Statističkih godišnjaka Srbije, od 1985. do 2011. godine, o ukupnom broju goveda u Srbiji; ukupnom broju zaklanih goveda; ukupnoj proizvodnji mesa i

proizvodnji goveđeg mesa; prosečnoj masi goveda pre klanja i prosečnoj masi trupa zaklanih goveda (Anonym, 1990, 2000, 2011b). Iz dobijenih podataka izračunato je učešće teladi u ukupnom broju zaklanih goveda i randman trupova teladi i goveda.

Statistička analiza dobijenih rezultata urađena je u statističkom paketu GraphPad Prism 5.00 (GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com). Za statističku obradu podataka korišćeni su deskriptivni statistički parametri. Za ispitivanje značajnih razlika između tri posmatrana perioda korišćen je grupni test ANOVA. Važnost razlika utvrđena je na nivoima značajnosti od 5% i 1%. Dobijeni rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

Rezultati i diskusija

U Srbiji se broj goveda u proteklih dvadeset pet godina stalno smanjivao. U periodu od 1985. do 1990. godine, broj goveda je u proseku bio $1707,50 \pm 106,60$ hiljada grla, da bi u periodu od 1995. do 2000. godine bio statistički značajno manji ($p < 0,01$), odnosno iznosio je $1302,67 \pm 40,07$ hiljada grla. U periodu od 2006. do 2011. godine prosečan broj goveda u Srbiji bio je $1021,17 \pm 73,73$ hiljada grla, što je statistički značajno manje ($p < 0,01$) u odnosu na prethodne periode (tabela 1).

Ako se broj goveda u periodu od 1985. do 1990. godine indeksira sa 100, tada se uočava da je u periodu od 1995. do 2000. godine u Srbiji, u odnosu na prethodni period, došlo do smanjenja broja goveda za 23,71%. Broj goveda u periodu od 2006. do 2011. godine smanjen je u odnosu na period od 1985. do 1990. godine za čak 40,23%. Prikaz promene broja goveda u sva tri poređena perioda (A, B, C) dat je u grafikonu 1.

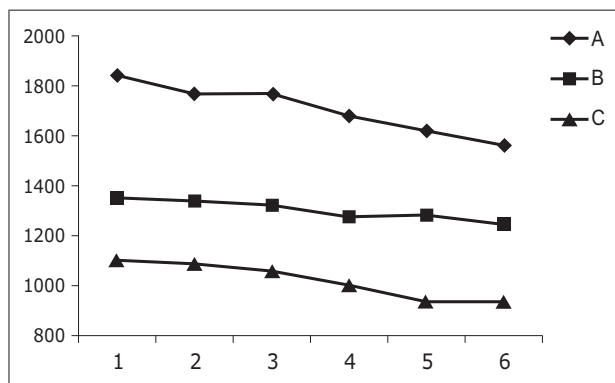
U poslednjih deset godina ukupan broj goveda je smanjen za 18%, broj krava za 14,3%, broj junadi starosti 1–2 godine za 24,5%, dok je broj teladi

Tabela 1. Ukupan broj goveda u Srbiji od 1985. do 2011. godine (000 grla)

Table 1. The total number of cattle in Serbia from 1985 to 2011 (000 heads)

Period/Period	Ukupan broj goveda/ The total number of cattle	Indeks/Index
	$\bar{X} \pm Sd$	
A (1985–1990)	$1707,50^{AB} \pm 106,60$	100,00
B (1995–2000)	$1302,67^{AC} \pm 40,07$	76,29
C (2006–2011)	$1021,17^{BC} \pm 73,73$	59,77

Legenda/Legend: ista slova A, B, C – $p < 0,01$ / the same letters A, B, C – $p < 0.01$.

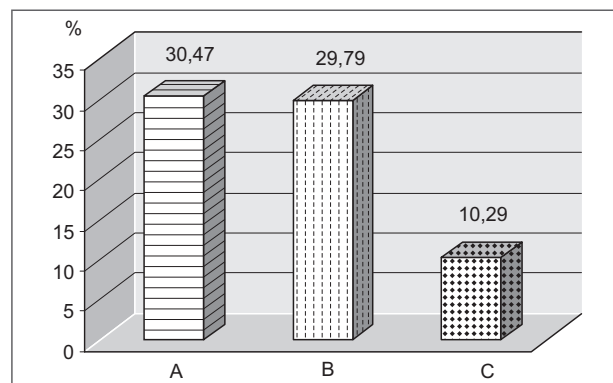


Grafikon 1. Promena broja goveda u posmatranom periodu (000 grla)

Graph 1. Changes in the number of cattle in the evaluated period (000 heads)

Legenda/Legend: A – period od 1985. do 1990. godine; B – period od 1995. do 2000. godine; C – period od 2006. do 2011. godine/A – period from 1985 to 1990; B – period from 1995 to 2000; C – period from 2006 to 2011.

smanjen za 29,2%. U rasnom sastavu je bilo dominantno domaće šareno goveče u tipu simentalca, sa učešćem od oko 70% u ukupnom broju goveda; mezezi domaće šarene i simentalke rase i buša goveda učestvuju sa oko 25%, a sa 5% u ukupnom broju goveda učestvuju crno-bela goveda i crveno-bela goveda evropskih crno-belih i holštajn rasa. Rapidno smanjenje broja goveda, pad kvaliteta tovnog materijala, mala profitabilnost govedarske proizvodnje, nestimulativan odnos države prema proizvođačima, kao i nedovoljan broj klanica koje imaju EU sertifikat, glavni su faktori kojima se objašnjava ozbiljna kriza proizvodnje govedeg mesa u Srbiji (Aleksić i dr., 2007). Mora se istaći činjenica da je govedarska proizvodnja, u inače složenoj i zahtevnoj stočarskoj proizvodnji, najsloženija i najzahtevnija. Ona zahteva najveće angažovanje radne snage, proizvodni ciklus je dug, a uložena sredstva u proizvodnju se sporo vraćaju (Lazarević, 2006). Jedan od uzroka



Grafikon 2. Učešće teladi u ukupnom broju zaklanih goveda

Graph 2. Proportion of calves in the total number of cattle

Legenda/Legend: A – period od 1985. do 1990. godine; B – period od 1995. do 2000. godine; C – period od 2006. do 2011. godine; AB – nije statistički značajno; AC – $p < 0,01$; BC – $p < 0,01$ /A – period from 1985 to 1990; B – period from 1995 to 2000; C – period from 2006 to 2011; AB – no significant difference; AC – $p < 0,01$; BC – $p < 0,01$.

smanjenja broja goveda u Srbiji je promena vlasničke strukture farmi za gajenje goveda, odnosno tovnog junadi. Manji proizvođači junećeg mesa, kako oni koji su se već bavili tovom junadi, tako i oni koji su osnovali nove farme, nisu bili u mogućnosti da u novonastalim uslovima uspešnije posluju (Baltić i dr., 2002).

Ukupan broj zaklanih goveda od 1985. do 1990. godine bio je prosečno $732,70 \pm 53,18$ hiljada grla, a u periodu od 1995. do 2000. godine $698,80 \pm 29,21$ hiljada grla. Razlika nije bila statistički značajna. U odnosu na ova dva perioda ukupan broj zaklanih grla goveda od 2006. do 2011. godine (prosečno $443,80 \pm 43,13$ hiljada grla) bio je statistički značajno manji ($p < 0,01$). I prosečan broj zaklane teladi i odraslih goveda (junad, krave, volovi) bio je statistički značajno manji ($p < 0,01$) u

Tabela 2. Broj zaklanih goveda u Srbiji od 1985. do 2011. godine (000 grla)

Table 2. The number of slaughtered cattle in Serbia from 1985 to 2011 (000 heads)

Period/Period	Zaklana goveda/Slaughtered cattle		
	Ukupno/Total	Telad/Calves	Ostalo/Other
	$\bar{X} \pm Sd$	$\bar{X} \pm Sd$	$\bar{X} \pm Sd$
A (1985–1990)	$732,70^A \pm 53,18$	$223,30^A \pm 22,20$	$509,30^A \pm 41,05$
B (1995–2000)	$698,80^B \pm 29,21$	$208,20^B \pm 11,18$	$490,50^B \pm 22,04$
C (2006–2011)	$443,80^{AB} \pm 43,13$	$45,67^{AB} \pm 13,00$	$398,20^{AB} \pm 42,79$

Legenda/Legend: ista slova A, B – $p < 0,01$ / the same letters A, B – $p < 0,01$.

periodu od 2006. do 2011. godine, u odnosu na period od 1985. do 1990. godine, odnosno na period od 1995. do 2000. godine (tabela 2). U ukupnom broju zaklanih goveda učešće teladi bilo je, u periodu od 1985. do 1990. godine, 30,47%, od 1995. do 2000. godine 29,79%, a od 2006. do 2011. godine 10,29% (grafikon 2). Smanjen ukupan broj zaklanih goveda rezultat je smanjenja ukupnog broja goveda u Srbiji. Ohrabruje činjenica da je broj zaklanih teladi značajno smanjen u periodu od 2006. do 2011. godine (grafikon 2). Međutim, činjenica je da se statistički podaci odnose na broj zaklanih goveda, odnosno teladi u klanicama, a ne na ukupan broj zaklanih grla. Naime, još uvek se goveda, naročito telad, kolju u domaćinstvima ili neregistrovanim objektima.

U Srbiji, ukupna proizvodnja mesa se u proteklih 25 godina smanjivala. Tako je ukupna proizvodnja mesa u periodu od 1985. do 1990. godine, u proseku, bila $699,30 \pm 8,29$ hiljada tona, da bi u periodu od 1995. do 2000. godine bila statistički značajno manja ($p < 0,01$) i iznosila $576,00 \pm 5,05$ hiljada tona. U odnosu na navedene periode statistički značajno manja ($p < 0,01$) proizvodnja mesa zabeležena je u periodu od 2006. do 2011. godine, kada je iznosila $535,00 \pm 8,49$ hiljada tona. Prosečna ukupna proizvodnja mesa smanjena je u periodu od 1995. do 2000. godine za 17,63% u odnosu na period 1985–1990. godine. U odnosu na ovaj period prosečna proizvodnja mesa u periodu od 2006. do 2011. godine smanjena je, u Srbiji, za 23,50% (tabela 3). Prosečna proizvodnja govedeg mesa u periodu od 1985. do 1990. godine ($137,00 \pm 8,29$ hiljada tona) bila je statistički značajno veća ($p < 0,01$) od proizvodnje govedeg mesa u periodu od 1995. do 2000. godine (prosečno $103,30 \pm 5,05$ hiljada tona), odnosno od proizvodnje govedeg mesa u periodu od 2006. do 2011. godine ($97,00 \pm 8,49$ hiljada tona). U periodu od 1995. do 2000. godine proizvodnja govedeg mesa je u odnosu na period od 1985. do 1990. godine smanjena za 24,60%, a u periodu od 2006. do 2011. godine u odnosu na period od 1985. do 1990. godine za 29,20% (tabela 3). Kao

što i smanjenje broja goveda ima svoje uzroke, tako i smanjenje proizvodnje govedeg mesa ima brojne uzroke, kao što su promena vlasničke strukture, ratovi, sankcije, nemogućnost izvoza, smanjena kupovna moć stanovništva i dr. (Baltić i dr., 2002; Aleksić i dr., 2002). Za razliku od Srbije, ukupna proizvodnja mesa u svetu je u stalnom porastu.

Naša zemlja je bila poznata kao tradicionalni izvoznik veoma cenjenog junećeg mesa „baby beef“ u mnoge zemlje, a posebno u Italiju i Grčku. Izvoz junećeg mesa je bio, posebno, u ekspanziji pre ulaska Italije (1974) i Grčke (1980) u EU. Tako je 1974. godine izvezeno 50.500 t, a 1980. godine 51.310 t junećeg mesa na italijansko tržište, a u Srbiji su postojale 24 registrovane klanice sa EU sertifikatom. Na zahtevno italijansko tržište izvoženo je juneće meso vrhunskog kvaliteta, poreklom od junadi starosti do jedne godine i prosečne telesne mase 450 kg, za muška grla i 400, kg za junice, a posebno je bilo cenjeno „baby beef“ meso poreklom od kvalitetnih ženskih grla. Zahtev grčkog tržišta, kao tradicionalnog uvoznika našeg junećeg mesa, se odnosio na meso dobijeno klanjem bikova preko 500 kg telesne mase, sa masom trupa preko 250 kg nakon klanja (Aleksić i dr., 2012). Naša zemlja je izgubila status značajnog izvoznika junećeg mesa koji je imala sredinom osamdesetih godina. Trenutno je obim proizvodnje junećeg mesa u toj meri smanjen da Srbija ne ispunjava ni četvrtinu preferencijalne kvote od 8700 kg za izvoz junećeg mesa na tržište EU. Od 2003. godine, od kada je ovaj izvoz obnovljen, najveći izvoz je ostvaren 2007. godine (2.289 t) i svih ostalih godina nije prešao 2000 t. Da bi se ostvario izvoz od 8700 kg junećeg mesa, potrebno je 100.000 junadi u tovu, a u Srbiji je trenutno u tovu samo 15–20.000 junadi (Paraušić i dr., 2010).

Promene ukupne proizvodnje mesa i proizvodnje govedeg mesa u Srbiji u poređenim periodima prikazane su na grafikonima 3 i 4.

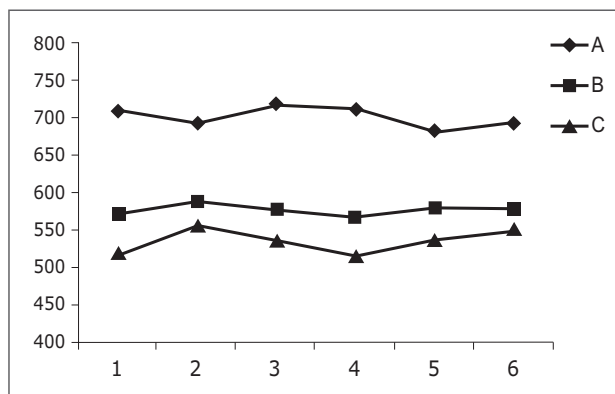
U ukupnoj proizvodnji mesa, goveđe meso je u periodu od 1985. do 1990. učestvovalo sa blizu jednom petinom ($19,59 \pm 1,26\%$). Ovo učešće je

Tabela 3. Proizvodnja mesa u Srbiji (000 tona)

Table 3. Meat production in Serbia (000 tons)

Period/Period	Ukupno/Total	Indeks/ Index	Govede meso/Beef	Indeks/ Index
	$\bar{X} \pm Sd$		$\bar{X} \pm Sd$	
A (1985–1990)	$699,30^{AB} \pm 8,29$	100,00	$137,00^{AB} \pm 8,29$	100,00
B (1995–2000)	$576,00^{AC} \pm 5,05$	82,36	$103,30^A \pm 5,05$	75,40
C (2006–2011)	$535,00^{BC} \pm 8,49$	76,50	$97,00^B \pm 8,49$	70,80

Legenda/Legend: ista slova A, B, C - $p < 0,01$ / the same letters A, B, C - $p < 0,01$.

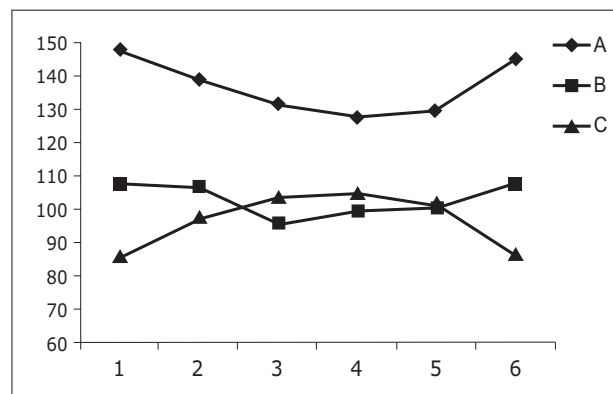


Grafikon 3. Promena ukupne proizvodnje mesa u posmatranim periodima (000 tona)

Graph 3. Changes in the total meat production in observed periods (000 tons)

Legenda/Legend: A – period od 1985. do 1990. godine; B – period od 1995. do 2000. godine; C – period od 2006. do 2011. godine/
A – period from 1985 to 1990; B – period from 1995 to 2000; C – period from 2006 to 2011.

smanjeno, tako da je u periodima od 1996. do 2000. godine bilo $17,94 \pm 0,84\%$, a u periodu od 2006. do 2011. godine bilo je $18,51 \pm 1,75\%$ (grafikon 5). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnog učešća proizvodnje goveđeg mesa u ukupnoj proizvodnji mesa u poređenim periodima. Za Srbiju, karakteristično je da se u poslednjih 25 godina u ukupnoj proizvodnji mesa smanjila proizvodnja živinskog mesa, a proizvodnja svinjskog mesa je ostala na približno istom nivou. Zbog smanjene proizvodnje goveđeg i živinskog mesa u ukupnoj proizvodnji mesa povećano je učešće mesa svinja u ukupnoj proizvodnji. Posmatrano na nivou država, proizvodnja goveđeg mesa je 2010. godine bila najveća u SAD i iznosila je 11.781 hiljada tona, zatim slede Brazil (9.789 hiljada tona), Kina (5.500 hiljada tona), Indija (2.850 hiljada tona) i Argentina (2.600 hiljada tona). U zemljama EU proizvedeno je 2010. godine 7.870 hiljada tona goveđeg mesa, od toga 65% u Francuskoj, Nemačkoj, Italiji i Velikoj Britaniji (FAPRI, 2011). Prema prognozama FAO, do 2020. godine očekuje se porast proizvodnje goveđeg mesa od 6,7% u zemljama u razvoju i 1,97% u razvijenim zemljama (Anonym, 2011a). Prosečna masa goveda pre klanja (žive životinje), svih starosnih kategorija ($426,80 \pm 9,81$ kg), u periodu od 1985. do 1990. godine bila je statistički značajno manja ($p < 0,01$) od prosečne mase goveda pre klanja u periodu od 1995. do 2000. godine ($461,30 \pm 11,94$ kg), odnosno u periodu od 2006. do 2011. godine ($477,00 \pm 17,47$ kg). Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnih masa teladi pre klanja u periodu od 1985. do 1990. godine ($144,30 \pm 8,82$ kg), u periodu



Grafikon 4. Promene proizvodnje goveđeg mesa u posmatranim periodima (000 tona)

Graph 4. Changes in beef production in observed periods (000 tons)

Legenda/Legend: A – period od 1985. do 1990. godine; B – period od 1995. do 2000. godine; C – period od 2006. do 2011. godine/
A – period from 1985 to 1990; B – period from 1995 to 2000; C – period from 2006 to 2011.

od 1995. do 2000. godine ($135,70 \pm 3,14$ kg) i u periodu od 2006. do 2011. godine ($136,20 \pm 6,68$ kg). Prosečna masa odraslih goveda ($504,30 \pm 11,06$ kg) pre klanja u periodu od 2006. do 2011. godine bila je statistički značajno veća ($p < 0,05$) od prosečne mase goveda pre klanja ($478,50 \pm 20,44$ kg) u periodu od 1995. do 2000. godine. Ne postoje podaci o masi odraslih goveda pre klanja za period od 1985. do 1990. godine (tabela 4). Masa goveda pre klanja zavisi od zahteva i potreba tržišta. Naime, tržište postaje sve više odlučujući faktor koji određuje proizvodnju goveđeg mesa, naročito u pogledu količine i kvaliteta. Ono utiče na pravac proizvodnje izrazito kvalitetnog mesa, određenog ukusa i ujednačene strukture, i, uopšteno, traži proizvod tačno određenog kvaliteta, klasifikovan standardima pojedinih zemalja. U tom smislu, veća telesna masa tovljenika zadovoljila bi količinski veće potrebe na tržištu. Međutim, pitanje je da li bi zadovoljila zahteve potrošača u pogledu kvaliteta mesa. Potrošači sa visokim standardom sve više traže kvalitetno meso teladi, pa proizvođači u postojećim prilikama visokog standarda tove telad do težine 200–250 kg. Meso starije junadi, telesne mase preko 500 kg, za evropske potrošače je premasno i slabijeg kvaliteta (Ferizbegović i dr., 2009). Međutim, za pojedine proizvode od goveđeg mesa, poput goveđe užičke pršute, poželjno je više mramorirano meso koje se dobija od dobro uhranjenih odraslih goveda mase preko 500 kg (Radovanović i dr., 2005). Takođe, ukoliko je ponuda veća od potražnje, cena goveđeg mesa opada, što svakako ne odgovara proizvođačima, koji se u ovako nepovoljnim uslovima odlučuju na produženi tov goveda.

Tabela 4. Prosečna masa goveda pre klanja (kg)**Table 4.** The average live weight of cattle (kg)

Period/Period	Ukupno/Total	Telad/Calves	Ostalo/Other
	$\bar{X} \pm Sd$	$\bar{X} \pm Sd$	$\bar{X} \pm Sd$
A (1985–1990)	426,80 ^{AB} ± 9,81	144,30 ± 8,82	*
B (1995–2000)	461,30 ^A ± 11,94	135,70 ± 3,14	478,50 ^a ± 20,44
C (2006–2011)	477,00 ^B ± 17,47	136,20 ± 6,68	504,30 ^a ± 11,06

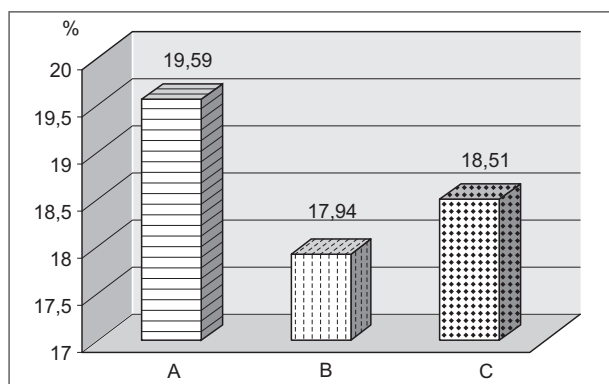
Legenda/Legend: * – za ovaj period nema podataka; ista slova A, B – $p < 0,01$; a – $p < 0,05$ / * – no data for this period; the same letters A, B – $p < 0.01$; a – $p < 0.05$.

Prosečna masa trupova obe starosne kategorije goveda bila je za period od 1995. do 2000. godine $238,30 \pm 5,13$ kg, a za period od 2006. do 2011. godine $250,30 \pm 8,85$ kg. Razlika nije bila statistički značajna. Utvrđeno je da je prosečna masa trupova teladi zaklanih u periodu od 1995. do 2000. godine ($73,00 \pm 1,55$ kg) bila statistički značajno manja ($p < 0,05$) od prosečne mase trupova teladi ($76,50 \pm 3,27$ kg) zaklanih u periodu od 2006. do 2011. godine. I prosečna masa trupova odraslih goveda ($240,00 \pm 8,85$ kg) zaklanih u periodu od 1995. do 2000. godine bila je statistički značajno manja ($p < 0,01$) od prosečne mase trupova goveda ($264,20 \pm 5,60$ kg) zaklanih u periodu od 2006. do 2011. godine (tabela 5).

Prosečni randman ($56,20 \pm 1,17\%$) trupova teladi u periodu od 2006. do 2011. godine bio je statistički značajno veći ($p < 0,05$) od prosečnog randmana ($53,31 \pm 0,54\%$) trupova teladi zaklanih u periodu od 1995. do 2000. godine. Nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnih randmana trupova goveda u periodu od 1995. do 2000. godine ($52,38 \pm 0,16\%$) u odnosu na period od 2006. do 2011. godine ($50,23 \pm 2,81\%$), (grafikon 6).

Uspešna proizvodnja kvalitetnog govedeg mesa ostvaruje se sadejstvom genetskih faktora i proizvodnog okruženja. Na randman klanja, kao jedan od parametara kvaliteta trupa koji indirektno ukazuje na komercijalnu vrednost žive životinje, utiče niz faktora (rasa, pol, starost, hranjenje i pojenje pre klanja, trajanje transporta pre klanja, način omamljivanja, iskrvarenja i obrade trupa), (Aleksić i dr., 2002). Od

genetskih faktora u velikoj meri zavise osobine trupa, kao i kvalitet proizvedenog govedeg mesa, koji se mogu poboljšati kod tovnih rasa goveda selekcijom najboljih grla u okviru rase, a kod mlečnih rasa i rasa dvostruke namene osemenjavanjem krava bikovima tovnih rasa. Kao rezultat selekcije, rase se međusobno razlikuju u pogledu potrošnje i konverzije hrane, intenziteta porasta, sposobnosti za proizvodnju mesa, odnosno u kvalitetu trupa (Čepin i Čepin, 2001).

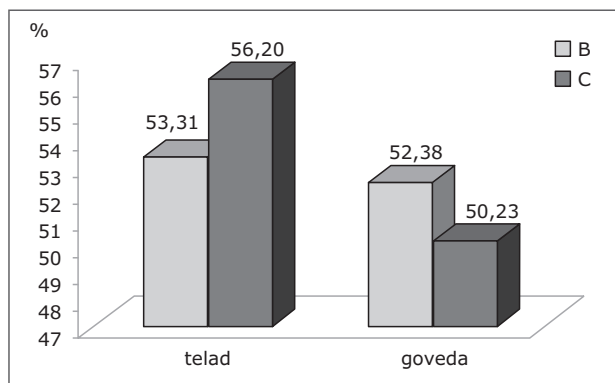
**Grafikon 5.** Učešće govedeg mesa u ukupnoj proizvodnji mesa u posmatranim periodima**Grarf 5.** The proportion of beef in total meat production in observed periods

Legenda/Legend: A – period od 1985. do 1990. godine; B – period od 1995. do 2000. godine; C – period od 2006. do 2011. godine; AB, AC, BC, – nije statistički značajno/A – period from 1985 to 1990; B – period from 1995 to 2000; C – period from 2006 to 2011; AB, AC, BC, – no significant difference.

Tabela 5. Prosečna masa trupova zaklanih goveda (kg)**Table 5.** The average carcass weight (kg)

Period/Period	Ukupno/Total	Telad/Calves	Ostalo/Other
	$\bar{X} \pm Sd$	$\bar{X} \pm Sd$	$\bar{X} \pm Sd$
B (1995–2000)	238,30 ± 5,13	73,00 ^a ± 1,55	240,00 ^A ± 8,85
C (2006–2011)	250,30 ± 8,85	76,50 ^a ± 3,27	264,20 ^A ± 5,60

Legenda/Legend: za period od 1985. do 1990. godine nema podataka; isto slovo A – $p < 0,01$; a – $p < 0,05$ / no data for period from 1985 to 1990; the same letters A – $p < 0.01$; a – $p < 0.05$.



Grafikon 6. Randman trupova teladi i goveda

Graph 6. Dressing percentage of calves and cattle carcasses

Legenda/Legenda: A – period nema podataka; B – period od 1995. do 2000. godine; C – period od 2006. do 2011. godine/
A – no data in this period; B – period from 1995 to 2000; C – period from 2006 to 2011.

Tako, melezi limuzina i šarole imaju statistički značajno veći prirast, veću telesnu masu na kraju tova, a kraće se drže u tovu u odnosu na domaće simentalno goveće (*Ostojić-Andrić i dr.*, 2007). Ispitivanja *Aleksića i dr.* (2002) su pokazala da su muška junad meleza domaće simentalne rase sa limuzinom ostvarila za 4,55% veći randman u odnosu na mušku junad domaće simentalne rase. Pored rase, za klanični kvalitet i kvalitet mesa, značajan je i pol životinje. Kod bikova je pokrivenost masnim tkivom manja nego kod ženki, što znači da u okviru iste rase i sličnih sistema ishrane bikovi sadrže manje masti u trupovima nego junice. Kastrirani mužjaci, obično, imaju srednje vrednosti pokrivenosti masnim tkivom. Ovi podaci potvrđeni su u istraživanjima *Čepina i Čepona* (2001), gde su kastrati imali 29%, a junice 73% više masnog tkiva (loja) nego bikovi iste rase, sa istim sistemom ishrane. Pored toga, junice imaju za 1–2% niži randman u odnosu na volove sa istim sadržajem masti u trupu. To se objašnjava deponovanjem masti kod junica, pretežno, u vimenu i oko unutrašnjih organa, koji se prilikom klanja odbacuju. Volovi imaju manji randman u odnosu na bikove iste mase jer

imaju više masnog tkiva koje se deponuje u grudnoj i trbušnoj duplji. Starost životinje na klanju predstavlja još jedan važan faktor koji utiče na randman. Naime, kod tovnih životinja sa starošću, tj. sa povećanjem telesne mase raste i randman pri klanju, što je posledica nagomilavanja masnog tkiva u mišićima (mramoriranost), koje ostaje u trupu nakon klanja. Istraživanja *Simoesa i dr.* (2005) su pokazala da je randman bio, u proseku, za 5% viši kod životinja sa telesnom masom na klanju od 650 kg (teške rase) i 550 kg (lake rase), u odnosu na životinje sa nižom telesnom masom (400 kg, za teške rase i 300 kg, za lake rase). Do sličnih zaključaka došli su *Sami i dr.* (2004), čija istraživanja su potvrdila statistički značajno viši randman kod bikova hranjenih 38 dana duže od ostalih. Pored toga, način ishrane predstavlja jedan od važnijih faktora koji utiču na proizvodnju mesa, pa je tako zapažen veći randman kod bikova hranjenih koncentratom u odnosu na ekstenzivan način ishrane (*Sami i dr.*, 2004).

Zaključak

Broj goveda, kao i ukupan broj zaklanih goveda, u periodu od 2006. do 2011. godine je bio statistički značajno manji ($p < 0,01$) u poređenju sa prethodnim periodima (1985–1990. i 1995–2000). Prosečna masa goveda pre klanja svih starosnih kategorija je u periodu od 1985. do 1990. godine bila statistički značajno manja ($p < 0,01$) u odnosu na period od 1995. do 2000. godine i od 2006. do 2011. godine. Prosečna masa trupova goveda nije se statistički značajno razlikovala za period od 1995. do 2000. godine i za period od 2006. do 2011. godine. Takođe, nije utvrđena statistički značajna razlika između prosečnih randmana trupova goveda u periodu od 1995. do 2000. godine u odnosu na period od 2006. do 2011. godine. U odnosu na period od 1985. do 1990. godine, proizvodnja govedeg mesa je u periodu od 1995. do 2000. godine smanjena za 24,60%, a u periodu od 2006. do 2011. godine za 29,20%. Ovakve promene u proizvodnji govedeg mesa u Srbiji posledica su stalnog smanjenja broja goveda u proteklih dvadeset pet godina.

Literature

- Aleksić S., Mišević B., Petrović M., Pavlovski Z., Josipović S., Tomašević D., 2002. Ispitivanje faktora značajnih za rezultate vrednosti randmana klanja muške tovnje junadi domaće simentalne rase i meleza domaće simentalne rase sa limuzinom. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 18, 3–4, 9–14.
- Aleksić S., Petrović M. M., Sretenović Lj., Pantelić V., Tomašević D., Ostojić-Andrić D., 2007. Govedarska

proizvodnja – stanje i budući pravci razvoja u Republici Srbiji. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 23, 5–6, 1–10.

- Aleksić S., Sunfang Z., Jingming Q., Meiyu W., Jiabo L., Petrović M. M., Ostojić-Andrić D., Nikšić D., 2012. Cattle production – PR China and Republic of Serbia. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 28, 4, 635–648.

- Anonym, 1990.** Statistički godišnjak SFRJ 1985–1990, Beograd.
- Anonym, 2000.** Statistički godišnjak SFRJ 1996–2000, Beograd.
- Anonym, 2011a.** <http://www.oecd.org/site/oecd-faoagriculturaloutlook/48184304.pdf>.
- Anonym, 2011b.** Statistički godišnjak RS 2006–2011, Beograd.
- Anonym, 2011c.** FAO-OECD. Agricultural Outlook. 2011–2020. Report, OECD Paris, France, OECD bookshop online.
- Anonym, 2012.** <http://www.slideshare.net/Roppa/global-meat-production-jan-2012>.
- Baltić Ž. M., Dragičević O., Karabasil, N., 2002.** Trendovi u potrošnji mesa, Zbornik radova i kratkih sadržaja, 14. Savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor 10–14. septembra 2002, 123–132.
- Biesalski H. K., 2005.** Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat Science*, 70, 3, 509–524.
- Čepin S., M. Čepin, 2001.** Uticaji genetike i sredine na kvalitet junećeg trupa i mesa. *Tehnologija mesa*, 42, 5–6, 283–294.
- FAPRI, 2011.** US and World Agricultural Outlook. Iowa State University and University of Missouri, Columbia, USA.
- Ferizbegović J., Šakić V., Katica V., Crnkić Č., 2009.** Osnove uzgoja tovnih goveda. Sarajevo: Promocult, 1–118.
- Hocquette J. F., Chatellier V., 2011.** Prospects for the European beef sector over the next 30 years. *Animal Frontiers*, 1, 2, 20–28.
- Lazarević R., 2006.** Kako brže do profitabilnog stočarstva. Vizart, Beograd.
- Ostojić-Andrić D., Bogdanović V., Aleksić S., Petrović M. M., Mišćević B., Pantelić V., Josipović S., 2007.** Uticaj genotipa na toвне sposobnosti i telesnu razvijenost junadi. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 23, 3–4, 31–39.
- Paraušić V., Cvijanović D., Hamović V., 2010.** Klasterski pristup unapređenju konkurentnosti stočarske proizvodnje u Republici Srbiji. *Zbornik Matice srpske za društvene nauke*, 130, 61–72.
- Petrović M. M., Bogdanović V., Petrović M. P., Ružić -Muslić D., Ostojić D., 2002.** Mogućnosti unapređenja stočarstva brdsko-planinskog područja Srbije. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 18, 5–6, 1–8.
- Radovanović R., Tomić N., Tomašević I., Rajković A., 2005.** Prinos mišićne mase namenjene proizvodnji „Goveđe užice pršute“. *Tehnologija mesa*, 46, 5–6, 250–260.
- Sami A. S., Augustini C., Schwarz F. J., 2004.** Effects of Feeding Intensity and Time on Feed on Performance, Carcass Characteristics and Meat Quality of Simmental Bulls. *Meat Science*, 67, 195–201.
- Simoes J. A., Mira J. F F., Lemos J. P C., Mendes I. A., 2005.** Dressing Percentage and its Relationship with some Components of the Fifth Quarter in Portuguese Cattle Breeds. *Livestock Production Science*, 96, 157–63.
- Williams P. 2007.** Nutritional composition of red meat, *Nutrition & Dietetics*, 64, 113–119.

Analysis of beef production volume in Serbia from 1985 to 2011.

Dokmanović Marija, Lukić Mirjana, Baltić Ž. Milan, Ivanović Jelena, Marković Radmila, Grbić Slaven, Glamočlija Nataša

S u m m a r y: The aim of this study was to examine and compare the volume of beef production in Serbia in three six-year periods: from 1985 to 1990, from 1995 to 2000, and from 2006 to 2011. The number of cattle, as well as the number of slaughtered cattle from 2006 to 2011 was significantly lower ($p < 0.01$) compared to previous periods (1985–1990 and 1995–2000). The average live weight of cattle in the period from 1985 to 1990 was significantly lower ($p < 0.01$) than the average live weight of cattle from later periods (from 1995 to 2000, and from 2006 to 2011). The average carcass weight of cattle was not significantly different between periods from 1995 to 2000 and from 2006 to 2011. No significant difference was established in dressing percentage of cattle between periods from 1995 to 2000 and from 2006 to 2011. In comparison to the period from 1985 to 1990, the production of beef decreased by 24.60% from 1995 to 2000, and by 29.20% in the period from 2006 to 2011. Such a decrease in beef production in Serbia is a result of permanent reduction in the number of cattle in the past twenty-five years.

Key words: cattle, meat production, carcass weight, dressing percentage, Serbia.

Rad primljen: 19.03.2014.

Rad prihvaćen: 26.03.2014.

Ispitivanje senzorske percepcije slanosti vodenih rastvora hloridnih soli različitih pH vrednosti

Lilić Slobodan¹, Milanović-Stevanović Mirjana¹, Karan Dragica¹, Lukić Mirjana¹, Petronijević Radivoj¹, Velebit Branko¹, Lakićević Brankica¹

S a d r ž a j: U radu su prikazani rezultati ispitivanja senzorske percepcije slanosti 0,2% rastvora natrijum-hlorida i kalijum-hlorida i njihovih smeša, pri različitim pH vrednostima. Pripremljeni su rastvori sa tri inicijalne pH vrednosti dejonizovane vode, i to: 4,60, 5,80 i 3,60. Da bi se utvrdile potencijalne razlike u slanosti različitih rastvora organizovan je rang test u tri seta i test trougla u devet setova. U sva tri seta rang testa, pet ocenjivača (62,5%) je prepoznalo rastući stepen slanosti i tačno rangiralo sva tri rastvora, dok je tri ocenjivača (37,5%) pogrešno rangiralo rastvore prema stepenu slanosti. Potpuno prepoznavanje slanosti različitih uzoraka od strane ocenjivača bilo je u slučaju rastvora pripremljenih od dejonizovane vode sa početnim pH vrednostima od 5,80 i 3,60, dok je najmanji stepen prepoznavanja slanosti bio kod rastvora pripremljenih od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 4,60. Na osnovu rezultata ispitivanja, može se zaključiti da se najveći stepen prepoznavanja razlika u slanosti rastvora pojavljuje u slučaju kada su rastvori pripremljeni od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 5,80. U jednom setu rastvora, pri pH vrednostima bliskim 5,80, svi ocenjivači (100%) su prepoznali uzorak rastvora koji je bio različit od druga dva, dok je u dva seta različit uzorak prepoznat od strane sedam od osam ocenjivača (87,50%). Potpuno prepoznavanje razlike (100%) utvrđeno je i u setu sa rastvorima pripremljenim od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 3,60.

Ključne reči: senzorska percepcija slanosti, vodeni rastvori, hloridne soli, pH vrednosti.

Uvod

Prekomeran unos soli, odnosno natrijuma, već decenijama predstavlja veliki problem, jer je jedan od najvažnijih faktora za razvoj esencijalne hipertenzije. Iako i drugi faktori, kao što su genetski faktori, starost, hronična oboljenja, šećerna bolest i hronična oboljenja bubrega, dovode do rizika od pojave kardiovaskularnih oboljenja, jedan od zadataka institucija koje se bave javnim zdravljem i prehrambene industrije je da budu uključeni u strategiju smanjivanja sadržaja soli/natrijuma u hrani.

Najveći deo natrijuma u ishrani ljudi potiče iz industrijski proizvedene hrane, a izvori natrijuma su, uglavnom, natrijum-hlorid (kuhinjska so), kao i ostali nosioci natrijuma, kao što su neki aditivi.

Natrijum-hlorid ima veoma važnu ulogu u izradi proizvoda od mesa i povoljno utiče na teksturu, miris, ukus, kao i održivost. Percepcija slanosti natrijum-hlorida potiče od kombinacije jona natrijuma

i hlora (Miller i Bartoshuk, 1991) i jedino ova kombinacija daje čisto slan ukus u receptorskim telašcima usne šupljine.

Prosečan Evropljanin unosi 8–11 g soli dnevno, što prevazilazi dnevnu dozu od 5 g koju preporučuje Svetska zdravstvena organizacija (World Health Organization – Regional Office for Europe. Mapping salt reduction initiatives in the WHO European Region, 2013). U proizvodima od mesa, sadržaj natrijum-hlorida može da se smanji na više načina (Sofos, 1983): parcijalnom supstitucijom natrijum-hlorida drugim solima (Sofos, 1983; Terrel, 1983; Lilić i dr., 2008); korišćenjem pojačivača arome i maskirajućih agenasa (Desmond, 2006); dodavanjem začina i začinskih ekstrakata (Lilić i Matekalo-Sverak, 2007; Matekalo-Sverak i dr., 2007); optimizacijom fizičke forme kuhinjske soli (Angus i dr., 2005); alternativnim procesnim tehnikama (Claus i Sørheim, 2006) i kombinacijom navedenih postupaka.

Napomena: Rezultati istraživanja proistekli su iz rada na realizaciji projekata, evidencioni broj TR 31083 i III 46009, koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, za projektni ciklus 2011–2014. godina.

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija.

Mnogi potrošači percipiraju proizvod sa manje soli kao „neukusan“, odnosno „prazan“ (*De Jong*, 2010). Ova činjenica predstavlja i najveći problem za smanjivanje sadržaja natrijum-hlorida u hrani, jer se kao najčešći supstituenti natrijum-hlorida koriste druge hloridne soli, u prvom redu kalijum-hlorid. Upotreba kalijum-hlorida ograničena je zbog gorkog, odnosno metalnog ukusa, koji se javlja u hrani kada se njime zameni polovina dodate kuhinjske soli. Smatra se da ishrana bogata kalijumom smanjuje negativne efekte natrijuma na krvni pritisak, a preporučeni dnevni unos kalijuma je 4,7 g (*US Department of Health and Human Services. Dietary guidelines for Americans. www.health.gov/dietaryguidelines/dga2005/document*, 2005).

Poznato je da je percepcija slanosti u direktnoj korelaciji sa sadržajem masti i proteina, kao i sa pH vrednošću. Osećaj slanosti raste sa povećanjem sadržaja masti, sa smanjenjem sadržaja proteina i sa smanjenjem pH vrednosti (*Puolanne i Ruusunen*, 2009). Iz tih razloga je cilj ovog rada bio da se ispita

percepcija slanog ukusa rastvora soli natrijum-hlorida, kalijum-hlorida i njihovih smeša, pri različitim pH vrednostima rastvora.

Materijal i metode

U eksperimentima su korišćeni rastvori soli, natrijum-hlorida (NaCl) i kalijum-hlorida (KCl), odnosno njihovih smeša, u dejonizovanoj vodi. Pijaća voda nije korišćena za pripremu rastvora da bi se izbegao uticaj minerala koji se prirodno nalaze u vodi, a koji se ne gube njenim prečišćavanjem. Da bi se procenio uticaj različitih pH vrednosti na percepciju slanosti, dejonizovanoj vodi je pH vrednost smanjena sa 4,60 na 3,60, dodavanjem limunske kiseline. Rastvori natrijum-hlorida, kalijum-hlorida i njihovih smeša, pripremljeni su prema planu prikazanom u tabelama od 1 do 3. Inicijalne pH vrednosti dejonizovane vode su se menjale sa promenom procentualnih udela korišćenih soli, što je takođe prikazano u tabelama od 1 do 3.

Tabela 1. Rastvori soli u dejonizovanoj vodi pH vrednosti 4,60

Table 1. Salt solutions in deionised water with pH value 4.60

Rastvor/ Solution	Koncentracija soli, %/ Salt concentration, %	Udeo NaCl, %/ Share of NaCl, %	Udeo KCl, %/ Share of KCl, %	pH vrednost/ pH value
1.1	0,2	100	–	4,30
1.2	0,2	75	25	4,60
1.3	0,2	50	50	4,91
1.4	0,2	0	100	4,81

Tabela 2. Rastvori soli u dejonizovanoj vodi pH vrednosti 5,80

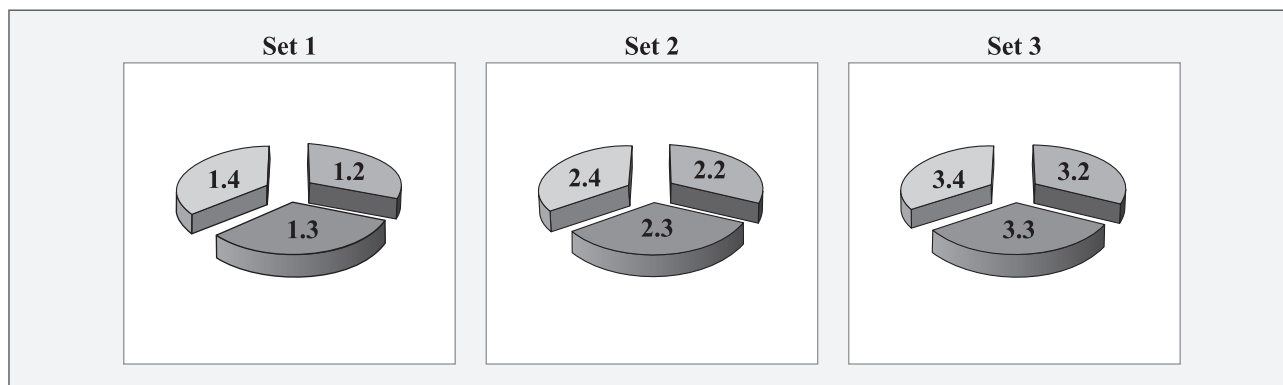
Table 2. Salt solutions in deionised water with pH value 5.80

Rastvor/ Solution	Koncentracija soli, %/ Salt concentration, %	Udeo NaCl, %/ Share of NaCl, %	Udeo KCl, %/ Share of KCl, %	pH vrednost/ pH value
2.1	0,2	100	–	4,53
2.2	0,2	75	25	5,97
2.3	0,2	50	50	5,67
2.4	0,2	0	100	5,73

Tabela 3. Rastvori soli u dejonizovanoj vodi pH vrednosti 3,60

Table 3. Salt solutions in deionised water with pH value 3.60

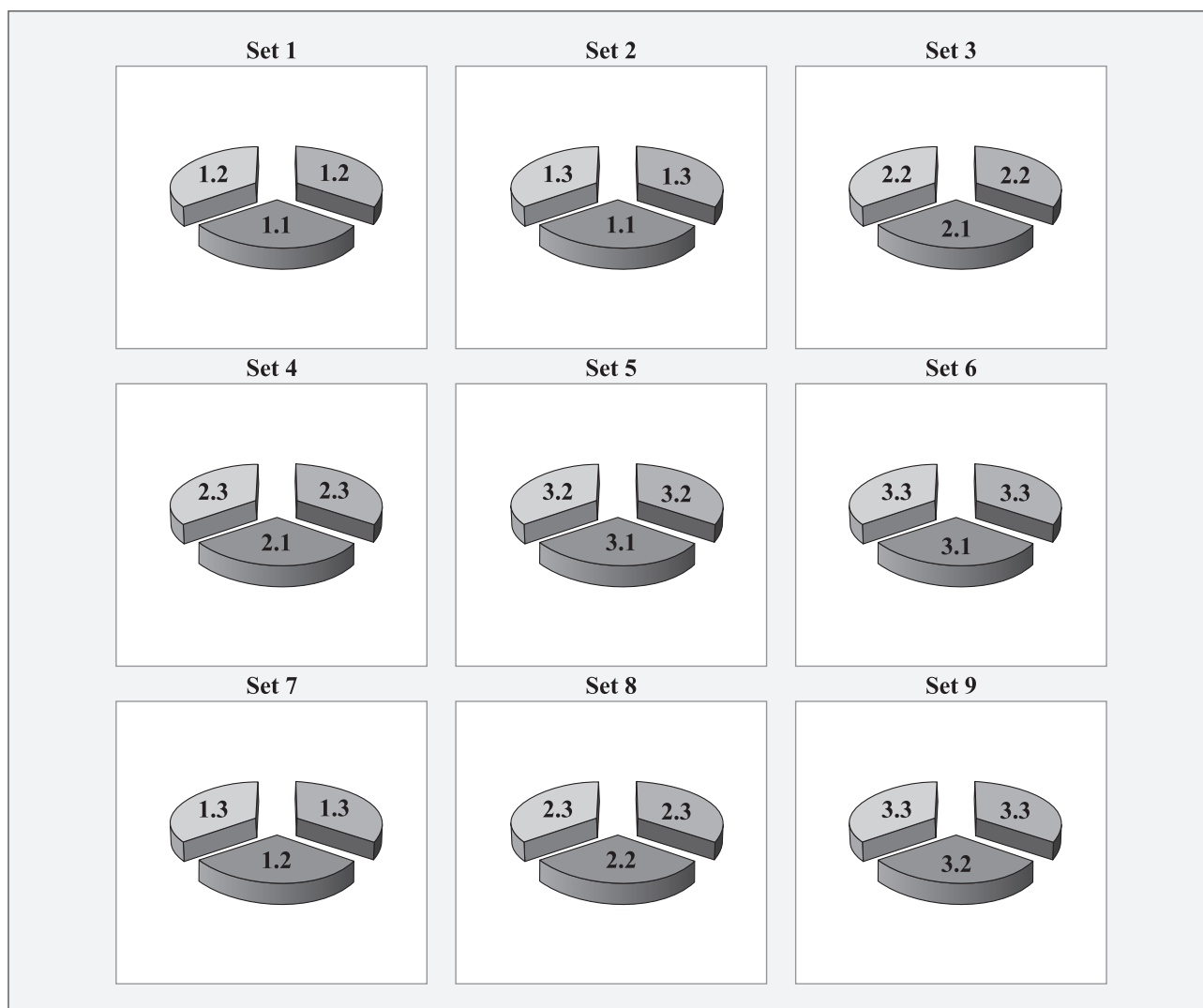
Rastvor/ Solution	Koncentracija soli, %/ Salt concentration, %	Udeo NaCl, %/ Share of NaCl, %	Udeo KCl, %/ Share of KCl, %	pH vrednost/ pH value
3.1	0,2	100	–	3,63
3.2	0,2	75	25	3,66
3.3	0,2	50	50	3,78
3.4	0,2	0	100	3,76



Šema 1. Rang test
Sheme 1. Ranking test

Rang test (*SRPS ISO 8587:2001*) organizovan je u tri seta, prema šemi 1.

Test trougla (*SRPS EN ISO 4120:2012*) organizovan je u devet setova, prema planu prikazanom u šemi 2.



Šema 2. Plan testa trougla
Sheme 2. Plan of triangle test

U rang testu i testu trougla, učestvovalo je osam obučanih ocenjivača (SRPS ISO 5496:2002).

Rezultati i diskusija

U tabeli 4 prikazani su rezultati rang testa za 0,2% rastvor smeša natrijum-hlorida i kalijum-hlorida sa različitim udelom natrijum- i kalijum-hlorida (75% NaCl : 25% KCl i 50% NaCl : 50% KCl) i rastvora kalijum-hlorida. U sva tri seta rastvora, sa početnim pH vrednostima dejonizovane vode 4,60, 5,80 i 3,60, pet ocenjivača (62,5%) je prepoznalo rastući stepen slanosti i tačno rangiralo sva tri rastvora, dok je tri ocenjivača (37,5%) pogrešno rangiralo rastvore prema stepenu slanosti. Ocenjivač pod rednim brojem 2 pogrešno je rangirao rastvore u sva tri seta, uz napomenu da je najmanji stepen slanosti prepoznao kod rastvora 1.2 u prvom setu rastvora (pH vrednost rastvora 4,60), zatim kod rastvora 2.2 u drugom setu (pH vrednost rastvora 5,97) i kod rastvora 3.2 u trećem setu (pH vrednost rastvora 3,66), kod kojih je udeo natrijum-hlorida bio 75%, a udeo kalijum-hlorida 25%, odnosno kod rastvora kod kojih je očekivani stepen slanosti bio najveći usled najvećeg udela natrijum-hlorida. Ocenjivač pod rednim brojem 7, pogrešno je rangirao rastvore u sva tri seta, označavajući najveći stepen slanosti kod rastvora 1.4, 2.4 i 3.4, sa pH vrednostima 4,81, 5,73 i 3,76, odnosno kod rastvora koji su sadržali samo kalijum-hlorid.

Četvrti ocenjivač je uspešno rangirao rastvore samo u prvom setu. U drugom i u trećem setu, najmanji stepen slanosti zabeležio je kod 0,2% rastvora sa 50% udela kalijum-hlorida (pH vrednosti rastvora 5,67 i 3,78, respektivno).

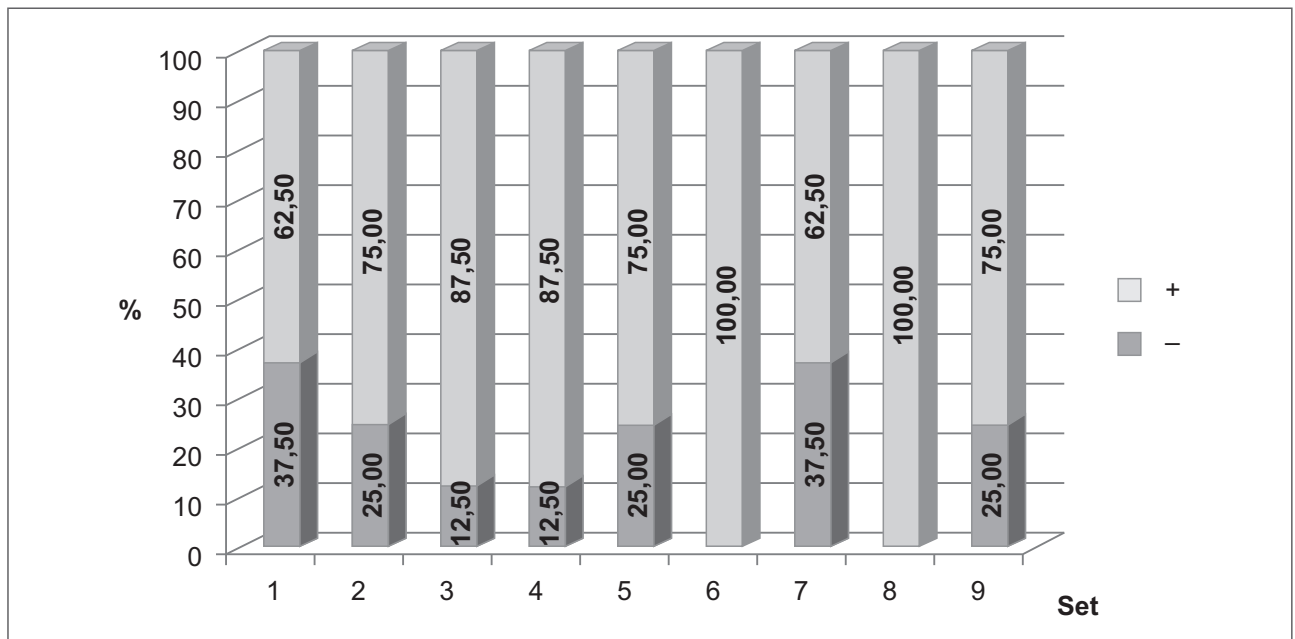
Ocenjivač pod rednim brojem pet uspešno je rangirao rastvore u drugom i trećem setu, međutim u prvom setu je kao rastvor sa najvećim stepenom slanosti označio rastvor 1.3, sa 50% udela kalijum-hlorida (pH vrednost rastvora 4,91).

U grafikonu 1 prikazani su rezultati testa trougla, u kome je osam obučanih ocenjivača trebalo da od tri rastvora prepozna rastvor koji se razlikuje od druga dva identična rastvora. U šestom i osmom setu rastvora, svi ocenjivači (100%) su prepoznali rastvor koji je bio različit od druga dva. U trećem i četvrtom setu, sedam od osam ocenjivača (87,50%) prepoznalo je različit uzorak, dok je u drugom, petom i devetom setu šest od osam ocenjivača (75,00%) prepoznalo uzorak koji se razlikuje. Najmanja uspešnost ocenjivača, odnosno najveći stepen neprepoznavanja uzorka koji se razlikuje, bio je u prvom i sedmom setu, gde je samo pet od osam ocenjivača (62,50%) prepoznalo rastvor koji je bio različit od druga dva. Potpuno prepoznavanje različitih uzoraka od strane ocenjivača bilo je u slučaju rastvora pripremljenih od dejonizovane vode sa početnim pH vrednostima 5,80 i 3,60, dok je najmanji stepen prepoznavanja bio kod rastvora pripremljenih od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 4,60.

Tabela 4. Rang test

Table 4. Ranking test

Ocenjivači Assessors	Set		
	1	2	3
1	+	+	+
2	– (*)	– (*)	– (*)
3	+	+	+
4	+	– (**)	– (**)
5	– (***)	+	+
6	+	+	+
7	– (****)	– (****)	– (****)
8	+	+	+
*Najmanja slanost prepoznata je pri udelu KCl od 25%/ *The minimum salinity was recognized when the share of KCl was 25% **Najmanja slanost prepoznata je pri udelu KCl od 50%/ ** The minimum salinity was recognized when the share of KCl was 50% ***Najveća slanost prepoznata je pri udelu KCl od 50%/ ***The highest salinity was recognized when the share of KCl was 50% ****Najveća slanost prepoznata je pri udelu KCl od 100%/ **** The highest salinity was recognized when the share of KCl was 100%			



Grafikon 1. Test trougla

Graph 1. Triangle test

Na osnovu rezultata ispitivanja može se konstatovati da se najveći stepen prepoznavanja razlika u intenzitetu slanosti rastvora pojavljuje u slučaju kada su rastvori pripremljeni od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 5,80. U jednom setu rastvora, pri pH vrednostima bliskim 5,80, svi ocenjivači (100%) su prepoznali različiti uzorak, dok je u dva seta različiti uzorak prepoznat od strane sedam od osam ocenjivača (87,50%). Potpuno prepoznavanje uzorka koji je bio različit od druga dva istovetna uzorka (100%) utvrđeno je i u setu sa rastvorima pripremljenim od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 3,60, što se može objasniti činjenicom da je pri nižim pH vrednostima osećaj slanosti veći (Puolanne i Ruusunen, 2009).

Najmanji stepen prepoznavanja slanosti različitih rastvora pripremljenih od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 4,60 mogao bi da posluži kao početna hipoteza, na osnovu koje bi se umerena redukcija natrijum-hlorida i njegova supstitucija kalijum-hloridom mogla koristiti kod proizvoda od mesa koji imaju pH vrednost blisku navedenoj vrednosti rastvora, a to su, u prvom redu, fermentisane kobasice. Kod ove vrste kobasica, u velikoj meri su u upotrebi starter kulture različitih mikroorganizama, koje svojom metaboličkom aktivnošću, odnosno razlaganjem ugljenih hidrata koji se dodaju prilikom proizvodnje (npr. reduktivni šećeri, kao što je dekstroza), ili su sastojak smeša začina, ili crvene paprike, dovode do snižavanja pH vrednosti nadeva. Pored starter kultura, u ove kobasice se dodaje i glukono- γ -lakton,

koji, u dodiru sa vodenom fazom nadeva, momentalno, obara inicijalnu pH vrednost kobasice. Čak i u slučaju tradicionalne proizvodnje, kada se ne dodaju starter kulture i glukono- γ -lakton, u nadevu kobasica postoji epifitna mikroflora, koja svojim metaboličkim aktivnostima dovodi do snižavanja pH vrednosti.

Suve fermentisane kobasice predstavljaju veoma kompleksan sistem. U ovim proizvodima, sadržaj proteina se tokom sušenja i zrenja povećava usled gubitka vode, što dovodi do smanjenja osećaja slanosti. Takođe se, usled navedenih procesa, povećava i sadržaj masti u kobasici, što dovodi do povećanja osećaja slanosti. I pored toga, na osnovu iznetih rezultata ispitivanja, može da se zaključi da postoji realna mogućnost da se u fermentisanim kobasicama smanji sadržaj natrijum-hlorida, odnosno natrijuma, parcijalnom supstitucijom kalijum-hloridom.

Zaključci

1. Obučeni ocenjivači su uspešno rangirali uzorke rastvora istih procentnih koncentracija natrijum-hlorida, kalijum-hlorida i njihovih smeša, u 62,5% slučajeva, odnosno pet od osam ocenjivača ispravno je rangiralo uzorke rastvora prema rastućem stepenu slanosti.
2. Povećanje udela kalijum-hlorida u rastvorima nije uticalo na prepoznavanje, odnosno rangiranje uzoraka rastvora prema rastućoj slanosti, kod ocenjivača koji nisu dobro rangirali uzorke.

3. Potpuno prepoznavanje različitih uzoraka od strane ocenjivača bilo je u slučaju rastvora pripremljenih od dejonizovane vode sa početnim pH vrednostima 5,80 i 3,60, dok je najmanji stepen prepoznavanja bio kod rastvora pripremljenih od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 4,60.
4. Na osnovu rezultata ispitivanja, može se zaključiti da se najveći stepen prepoznavanja razlika u slanosti rastvora pojavljuje u slučaju

kada su rastvori pripremljeni od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 5,80. U jednom setu rastvora, pri pH vrednostima bliskim 5,80, svi ocenjivači (100%) su prepoznali različiti uzorak, dok je u dva seta različiti uzorak prepoznat od strane sedam od osam ocenjivača (87,50%). Potpuno prepoznavanje različitog uzorka (100%) utvrđeno je i u setu sa rastvorima pripremljenim od dejonizovane vode inicijalne pH vrednosti 3,60.

Literatura

- Angus F., Phelps T., Clegg S., Narain C., den Ridder C., Kilcast D., 2005. Salt in processed foods: Collaborative Research Project. Leatherhead Food International.
- Claus J. R., Sørheim O., 2006. Preserving pre-rigor meat functionality for beef patty production. *Meat Science*, 73, 287–294.
- De Jong S., 2010. Stepping Back on Sodium, *The World of Food Ingredients*, 64–65.
- Desmond E., 2006. Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science* 74, 188–196. Guàrdia M. D., Guerrero L., Gelabert J., Gou P., Arnau J., 2006. Consumer attitude towards sodium reduction in meat products and acceptability of fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Science* 73, 484–490.
- Lilić S., Matekalo-Sverak V., 2007. Influence of partial replacement of sodium chloride by potassium chloride and adding of rosemary extract on flavour acceptability of ground meat. *Proceedings, „I International congress „Food technology, quality and safety“*, Symposium of Biotechnology and Food Microbiology, Novi Sad, 61–66.
- Lilić S., Matekalo-Sverak, V. Borovic, B., 2008. Possibility of replacement of sodium chloride by potassium chloride in cooked sausages – sensory characteristics and health aspects. *Biotechnology in Animal Husbandry* 24: 1–2, 133–138.
- Matekalo-Sverak V., Turubatović L., Baras J., 2007. Biotechnological achievements in the application of ingredients in meat industry, *Tehnologija mesa*, 49, 3–4, 141–146.
- Miller I. J., Bartoshuk L. M., 1991. Taste perception, taste bud distribution, and spatial relationship. In T. V. Getchell, R. L. Doty, L. M. Bartoshuk, & J. B. Snow (Eds.), *Smell and taste in health disease*, 205–233. New York, Raven Press.
- Puolanne E., Ruusunen M., 2009. Reducing salt in meat products. *Food Safety Authority of Ireland, Dublin*, September 3, 2009.
- Sofos J. N., 1983. Effects of reduced salt levels on sensory and instrumental evaluation of frankfurters. *Journal of Food Science*, 48, 1691–1692.
- SRPS ISO 8587:2001. Senzorske analize – Metodologija – Klasiranje u nizu.
- SRPS ISO 5496:2002. Initiation and training of assessors in the detection and recognition of odors, *Sensory analysis*
- SRPS EN ISO 4120:2012. Senzorske analize – Metodologija – Test trougla.
- Terrell R. N., 1983. Reducing the sodium content of processed meats. *Food Technology*, 37, 7, 66–71. **US Department of Health and Human Services**, 2005. *Dietary guidelines for Americans*. www.health.gov/dietaryguidelines/dga2005/document.
- World Health Organization – Regional Office for Europe**, 2013. Mapping salt reduction initiatives in the WHO European Region.

Examination of sensory perceived saltiness of chloride salts' aqueous solutions with different pH values

Lilić Slobodan, Milanović-Stevanović Mirjana, Karan Dragica, Lukić Mirjana, Petronijević Radivoj, Velebit Branko, Lakićević Brankica

S u m m a r y: The paper presents the results of sensory perception of saltiness of various 0.2% aqueous solutions of sodium-chloride, potassium-chloride and their mixtures, at different pH values. Water solutions were prepared with deionised water at three pH values: 4.60, 5.80 and 3.60. To identify potential differences in the salinity of different solutions, ranking test in three sets as well as triangle test in nine sets were organized with eight trained assessors. In all three sets of ranking test, five assessors (62.50%) recognized the increasing level of salinity and correctly ranked the three solutions, while three assessors (37.50%) incorrectly ranked the solutions according to the level of salinity. Completely recognizing of different samples by assessors was established in the case of solutions prepared with deionized water with initial pH values of 5.80 and 3.60, while the least level of recognizing was established in solutions prepared from water with pH value of 4.60. According to the obtained results, it can be concluded that the highest recognition of the differences in the level of salinity was in solutions prepared with water of pH value 5.80 and 3.60. In one solution set, at pH values close to 5.80, all of the assessors (100 %) recognized the sample solution, which was different from the other two, while in two sets different sample was recognized by seven of the eight assessors (87.50 %). Full recognition of the difference (100 %) was recorded in the set of solutions prepared with deionised water of an initial pH value of 3.60.

Key words: sensory perceived saltiness, chloride salts, aqueous solutions, pH values

Rad primljen: 20.04.2014.

Rad prihvaćen: 28.04.2014.

UPUTSTVO AUTORIMA

„Tehnologija mesa“ je naučni časopis u kome se objavljuju:

1. Originalni naučni radovi (radovi u kojima se navode neobjavljivani rezultati sopstvenih istraživanja naučnom metodom);
2. Pregledni radovi (radovi koji sadrže originalan, detaljan i kritički prikaz istraživačkog problema ili područja u kome je autor ostvario određeni doprinos, uočljiv na osnovu autocitata);
3. Kratka ili prethodna saopštenja (originalni naučni radovi punog formata, ali manjeg obima ili preliminarog karaktera);
4. Prikazi (knjige, naučni skupovi i slično).

Uže naučne discipline iz kojih se objavljuju radovi su: tehnologija i higijena mesa, tehnologija sporednih proizvoda u industriji mesa, higijena i tehnologija namirnica životinjskog porekla, tehnološka mikrobiologija, metode konzervisanja, mikrobiologija namirnica životinjskog porekla, hemija proizvoda životinjskog porekla, kvalitet i bezbednost hrane životinjskog porekla, kvalitet i bezbednost hrane za životinje i drugo.

Objavljuju se originalni radovi koji prethodno nisu nigde publikovani, saopšteni ili uzeti u razmatranje za objavljivanje u drugoj publikaciji, osim u formi kratkih sadržaja na skupovima. Odgovornost za ispunjenje navedenih uslova snosi glavni autor, koji, takođe, treba da obezbedi saglasnost svih koautora za publikovanje rada.

Postupak

Radovi podležu anonimnoj recenziji (najmanje dve), a odluku o prihvatanju radova za štampanje donosi glavni i odgovorni urednik, zajedno sa članovima Uređivačkog odbora.

Prihvaćeni radovi za štampanje se lektorišu. Redakcija časopisa zadržava pravo na manje korekcije rukopisa. U slučaju da su potrebne veće izmene, o tome se obaveštava glavni autor, a rad se dostavlja na doradu, sa naznačenim rokom.

Jezik

Radovi se štampaju na srpskom jeziku (ekavski dijalekt) ili dvojezično – na srpskom i jednom od stranih jezika (engleski, nemački, ruski ili francuski). Ukoliko se radovi štampaju na srpskom jeziku, njihovi rezime (1/10 dužine članka) objavljuju se na engleskom jeziku. Ukoliko se radovi štampaju na engleskom ili nekom drugom stranom jeziku, njihovi kratki sadržaji se štampaju na srpskom i engleskom jeziku.

Priprema rukopisa

Rad treba da bude otkucan u programu za obradu teksta Word, font Times New Roman, veličina slova 12, sa proredom 1,5 i marginama od 2 cm, a dostavlja se na CD-u ili u elektronskoj formi. Rad treba da bude napisan jasno, koncizno i gramatički ispravno i treba da sadrži:

Naslov rada (mala slova, bold, veličina slova 14). Ispod naslova rada navode se prezimena i imena autora (mala slova, italik, veličina slova 12). Brojčanim oznakom, u superskriptu, iza imena autora, označava se institucija. Na kraju prve strane, u fusnoti, navode se, prema brojčanoj oznaci, naziv i adresa institucije u kojoj su autori zaposleni (italik, veličina slova 10). U novom redu navodi se prezime i ime autora za kontakt i njegova e-mail adresa.

Sadržaj, koji daje kratak prikaz rada, treba da ima 150 do 250 reči, sa ključnim rečima na srpskom jeziku ili na jeziku na kome je rad napisan, i nalazi se ispod naslova rada i prezimena autora.

Rezime (eng. summary) je kratak, informativan prikaz, sadržaja članka na srpskom i/ili engleskom jeziku, u zavisnosti od jezika na kome je rad napisan, koji omogućava uvid u cilj istraživanja, metode, rezultate i zaključak. Rezime treba da ima do 500 reči (italik, veličina slova 12) i nalazi se na kraju rada, iza literature.

Ključne reči su termini koji najbolje opisuju sadržaj članka. Ključnih reči ne može da bude više od 10. Ključne reči se daju na svim jezicima na kojima postoje rezimea, neposredno ispod teksta rezimea (italik, veličina slova 12).

Sadržaj i rezime ne smeju da sadrže skraćenice. U tekstualnom delu rada, svakoj skraćenici koja se prvi put navodi, treba da se da i pun naziv, a u daljem tekstu može da se koristi samo skraćenica.

Originalni naučni rad treba da sadrži navedena poglavlja: uvod, materijal i metode, rezultate i diskusiju (zajedno ili odvojeno), zaključak, napomenu (opcionarno) i literaturu. Poglavlja se kucaju malim slovima, veličine 12, bold.

1. Uvod: treba da sadrži jasan opis problematike i cilja istraživanja, uz kratak prikaz relevantne literature, ne starije od deset godina;
2. Materijal i metode: ovo poglavlje opisuje materijal i metode koji su korišćeni i način na koji su postavljeni ogledi;
3. Rezultati i diskusija: rezultati treba da budu obrađeni odgovarajućim statističkim metodama za izvedena ispitivanja, prikazani jasno i koncizno, u vidu tabela, grafikona, fotografija, crteža i dru-

go, a isti rezultat ne treba prikazati dvojako, i u vidu tabele i u vidu grafikona. Diskusija treba da se odnosi na prezentovane rezultate, bez ponavljanja ranije navedenih činjenica, uz poređenje dobijenih rezultata i relevantnih podataka iz literature koji se odnose na srodnu grupu proizvoda, sličnu analitičku metodu i drugo.

- U tekstu, citirana literatura označava se prezimenom autora, prezimenom i veznikom „i“ ako su dva autora, ili, ako je više od dva autora, prezimenom prvog autora i dodatkom „i dr.“ (italik) i godinom objavljivanja (sve u zagradi);
 - Slike i crteži se obeležavaju brojem kojim se navode u radu. Nazivi tabele se pišu iznad, a nazivi grafikona i slika ispod (mala slova). Nazive tabele i tekst u tabelama, grafikonima i slikama treba pisati dvojezično, pri čemu je drugi jezik engleski. Tabele, grafikone i slike treba dati u prilogu rada;
 - Pri preuzimanju tabele, grafikona i slika iz literature autor je obavezan da navede izvor (na primer autor, godina objavljivanja, časopis i drugo).
 - Autor treba da se pridržava Međunarodnog sistema jedinica (SI) i važećih zakona o mernim jedinicama i merilima.
4. Zaključak: daje pregled najbitnijih činjenica do kojih se došlo u toku istraživanja.
 5. Napomena (zahvalnica): sadrži naziv i broj projekta, odnosno naziv programa u okviru koga je članak nastao, kao i naziv institucije koja je finansirala projekat ili program. Navodi se na dnu prve strane članka.
 6. Literatura: treba da se složi po abecednom i hronološkom redu objavljivanja, i to: prezime autora, prvo slovo imena, godina objavljenog rada (mala slova veličine 12, bold), a u nastavku, naziv rada u celosti, naziv časopisa ili drugog izvora, volumen i broj časopisa, početna i završna strana rada.

Primer:

Đinović J., Popović A., Spirić A., Turubatović L., Jira W., 2008. 16 EU prioriternih policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH jedinjenja)

u dimu drveta i dimljenoj pršuti. Tehnologija mesa, 49, 5–6, 181–184.

JECFA, 2005. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary and Conclusion. Sixty-Fourth Meeting, Rome, 8-17 February, JECFA/64/SC. <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/en/>.

Morgan S. K., Daly C. C., Simmons N. J., Johnson N. V., Cummings T. L., 2008. The effect of pre-slaughter events on the expression of small heat shock proteins in the muscle. 54th International Congress of Meat Science & Technology, Proceedings, General Speakers Session, Electronic Copy, Cape Town, South Africa, 10th–15th August.

Mottram S., 1994. Some aspects of the chemistry of meat flavour, in: The flavour of meat and meat products. Shahidi F., Ed. Blackie. Glasgow, 210–230.

Sekse C., O'Sullivan K., Granum P. E., Rørvik L. M., Wasteson Y., Jørgensen H. J., 2009. An outbreak of *Escherichia coli* O103:H25 – bacteriological investigations and genotyping of isolates from food. International Journal of Food Microbiology, 133, 3, 259–264.

Sinonott M., 2008. Carbohydrate chemistry and biochemistry, structure and mechanism. RSC Publishing, UK, 23–28.

Zakon o bezbednosti hrane, 2009. Službeni glasnik RS, br. 41/2009, 77–99.

Radovi drugih kategorija, osim originalnih naučnih radova, mogu da se pišu sa podnaslovima po izboru autora.

Radovi se dostavljaju na CD-u, poštom ili u elektronskoj formi, na e-mail adresu:

1. Institut za higijenu i tehnologiju mesa
– za časopis „Tehnologija mesa“ –
Kačanskog 13, P. fah 33–49
11000 Beograd
Republika Srbija
2. e-mail: institut@inmesbgd.com
aurelija@inmesbgd.com

REDAKCIJA ČASOPISA

GUIDELINES FOR THE AUTHORS

„Meat Technology” is a scientific journal which publishes:

1. Original scientific papers (papers which present previously unpublished results of authors' own investigations using scientific methodology);
2. Review papers (papers which include original, detailed and critical overview of a research problem or an area to which the author has significantly contributed, as evidenced by auto citations);
3. Brief or preliminary papers (full-format original scientific papers or of preliminary character);
4. Reviews (of books, scientific conferences etc.)

Papers will be published from the following scientific disciplines: meat hygiene and technology, technology of by-products in meat industry, hygiene and technology of animal originating foodstuffs, technological microbiology, methods of food preservation, microbiology of animal originating foodstuffs, chemistry of animal originating foodstuffs, quality and safety of animal originating foodstuffs, quality and safety of feedingstuffs, et sim.

Eligible for publishing are those papers, which have not been previously published, presented or considered for publication in another journal, except as abstracts presented at scientific conferences. The first author is both responsible for meeting these criteria and for obtaining agreement to publish from all of the co-authors.

Procedure

Papers are subject to anonymous reviews (two at least), while the decision to accept the paper for publishing is reached by the editor-in-chief, together with the members of the editorial board.

Accepted papers are subject to proofreading. The editorial board reserves the right to minor corrections of the manuscript. Where major corrections are necessary, the first author will be notified, and the paper sent for revision, with a set deadline.

Language

Papers are published in Serbian or bilingually – in Serbian and in one of the second languages (English, German, Russian or French). If the papers are printed in Serbian, their summaries (1/10 of the paper length) are published in English. If the papers are printed in English or another language other than Serbian, their abstracts are printed in Serbian and English.

Editing of the manuscripts

The paper should be edited in Microsoft Word software, using Times New Roman font, size 12 pt, paragraph spacing 1.5 and margins of 2cm. Papers are submitted on CD or in other electronic form. The text should be clear, concise, grammatically correct and should contain the following sections:

The title (lowercase, bold, font size 14 pt). Below the title, names of the authors (last, first, lowercase, italic, font size 12 pt). Numbers following names in superscript refer to the authors' institution. At the bottom of the first page, according to the number in superscript, name and address of the institutions authors are employed in should be given (italic, font size 10 pt). In the new line, the name and e-mail of the corresponding author should be provided.

Abstract, which gives short review of paper, should contain 150-250 words with key words in Serbian or the language of the paper. The abstract should be typed below the title and names of the authors.

Summary represents short, informative description of the paper content written in Serbian and/or English, depending on the language of the paper. Summary enables insight in the aim of the investigations, methods, results and conclusion. It should contain up to 500 words (italic, font size 12 pt) and should be placed at the end of the paper, after references.

Key words are terms that best describe the content of the paper. Maximal number of key words is 10. They should be given in the same languages as summaries, below the summary text (italic, font size 12 pt).

Abstract and summary must not contain abbreviations. If the abbreviation is used for the first time in the text, full name should also be provided. In the latter text, the abbreviation can be used alone.

The original scientific paper should contain the following chapters: introduction, material and methods, results and discussion (combined or separate), conclusion, notes (optional) and references. Chapter names are typed in lowercase, font size 12, bold.

1. Introduction: should contain clear description of the investigated subject and aim of the research with the short citations of the relevant literature (not more than 10 years old);
2. Material and methods: this chapter describes material and methods used and outlines the design of the experiment;

3. Results and discussion: The results should be processed by statistical methods appropriate to the experiment; they should be clear and concise using tables, graphs, photographs, illustrations and other. The same result should not be presented through both, table and graph. Discussion should be related to presented results avoiding repetitions of already stated facts, using comparison of obtained results and relevant literature data related to similar group of products, comparable analytical method et sim.

- When in the text, literature is cited by giving author's last name, last name with "and", if the cited literature is published by two authors, or, in the case of more than two authors, by "et al." abbreviation after the surname of the first author (*italic*). Cited literature with the year of publishing should be in brackets.
- Figures and illustrations are numerated with the same number as given in the text of the paper. Titles of the tables are written above the tables; titles of the graphs and illustrations are printed below (in lowercase). Table titles and content should be written bilingually (the other language is always English). Tables, graphs and figures are submitted separately, in the appendix.
- If tables, graphs or figures originate from other sources, the author is required to state the source of such data (author, year of publishing, journal etc.).
- The author should apply the International System of Units (SI system) and current regulation on measuring units and measuring instruments.

4. Conclusion: provides the review of the most important facts obtained during the research.

5. Note (acknowledgement): should contain title and number of the project i.e. title of the program from which is the research carried out and described in the paper, as well as the name of the institution that funded the project or program. All this is stated at the bottom of the first page of the paper.

6. References: should be given in alphabetical and chronological order as follows: last name of the author, first name initial, year of publication (lowercase, font size 12 pt, bold), following by the full title of the reference, name of the journal or other source, journal's volume, number, and pagination of the paper.

Example:

Dinović J., Popović A., Spirić A., Turubatović L., Jira W., 2008. 16 EU prioritetnih policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH jedinjenja) u dimu drveta i dimljenoj pršuti. *Tehnologija mesa*, 49, 5-6, 181–184.

JECFA, 2005. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary and Conclusion. Sixty-Fourth Meeting, Rome, 8-17 February, JECFA/64/SC. <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/en/>.

Morgan S. K., Daly C. C., Simmons N. J., Johnson N. V., Cummings T. L., 2008. The effect of pre-slaughter events on the expression of small heat shock proteins in the muscle. 54th International Congress of Meat Science & Technology, Proceedings, General Speakers Session, Electronic Copy, Cape Town, South Africa, 10th-15th August.

Mottram S., 1994. Some aspects of the chemistry of meat flavour, in: The flavour of meat and meat products. Shahidi F., Ed. Blackie. Glasgow, 210–230.

Sekse C., O'Sullivan K., Granum P. E., Rørvik L. M., Wasteson Y., Jørgensen H. J., 2009. An outbreak of *Escherichia coli* O103:H25 – bacteriological investigations and genotyping of isolates from food. *International Journal of Food Microbiology*, 133, 3, 259–264.

Sinonott M., 2008. Carbohydrate chemistry and biochemistry, structure and mechanism. RSC Publishing, UK, 23–28.

Zakon o bezbednosti hrane, 2009. Službeni glasnik RS, br. 41/2009, 77–99.

Papers belonging to the category other than original scientific papers can contain chapters titled by choice of the author.

Papers are submitted by mail (on CD-ROM) or by e-mail:

1. Institut za higijenu i tehnologiju mesa
– za časopis „Tehnologija mesa“ –
Kačanskog 13, P. fah 33–49
11000 Beograd
Republika Srbija
2. e-mail: institut@inmesbgd.com
aurelija@inmesbgd.com

EDITORIAL BOARD

CIP – Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

664.9

TEHNOLOGIJA mesa : naučni časopis =
Meat technology : scientific journal / glavni i
odgovorni urednik Aurelija Spirić. - God. 1, br.
1 (1960)- . - Beograd : Institut za higijenu
i tehnologiju mesa, 1960- (Beograd : Naučna
KMD). - 30 cm

Dva puta godišnje
ISSN 0494-9846 = Tehnologija mesa
COBISS.SR-ID 2948098

