

Prisustvo rezidua ohratoksina A u tkivima svinja i živine – značaj u analizi rizika*

Milićević Dragan¹, Grubić Mira², Radičević Tatjana¹, Stefanović Srđan¹, Janković Saša¹, Vranić Vojin¹

S a d r ŝ a j: Cilj ovih istraživanja bio je da se, u sklopu monitoringa rizika značajnih za zdravlje potrošača, utvrdi prisustvo rezidua ohratoksina A (OTA) u tkivima redovno zaklanih tovnih svinja i brojlera, poreklom iz različitih regiona Srbije. Sadržaj rezidua OTA određivan je metodom visoko efikasne tačne hromatografije sa fluorescentnim detektorom (HPLC/FL). Zastupljenost rezidua OTA u tkivima svinja bila je gotovo identična i kretala se od 30%, koliko je utvrđeno u jetri i bubrezima (\bar{x} –0,64 ± 1,87 i 1,24 ± 5,86 ng/g, ponosob), do 31,1% (\bar{x} –3,69 ± 23,59 ng/mL), u krvnoj plazmi. Zastupljenost rezidua OTA u tkivima brojlera, kao i sadržaj rezidua OTA bio je niži u odnosu na tkiva svinja i kretao se od 16,6% (\bar{x} –0,14 ± 0,92 ng/g), u uzorcima mišićnog dela želuca, do 25,6% u uzorcima jetre (\bar{x} –0,36 ± 1,18). Rezultati naših istraživanja prisustva rezidua OTA u tkivima svinja i živine, ukazuju da je sadržaj OTA u ispitanim tkivima daleko ispod vrednosti koje predstavljaju opasnost po zdravlje potrošača.

Ključne reči: ohratoksin A, rezidue, tkiva svinja i živine, procena izloženosti.

Uvod

Globalizacija i međunarodni promet, kao i sve veće potrebe u ishrani stanovništva sveta, nameću stalno aktuelni problem i temu unapređenja proizvodnje namirnica animalnog porekla, kako bi se osigurala adekvatna zaštita zdravlja potrošača. Iako su se u stočarskoj proizvodnji, u svetu i Evropskoj uniji (EU), tokom poslednje decenije, pod uticajem zahteva potrošača, desile zapažene promene (Grunert i dr., 2004; Rimal, 2005; Demeyer i dr., 2008), bezbednost hrane je i dalje u žiži interesovanja javnosti, zbog slučajeva bolesti prenosivih hranom (Food-borne diseases) (McCarthy i Henson, 2005). Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (WHO, 2002), hemijski hazardi, kao što su mikotoksini, fiktoksini (toksini algi) i biljni toksini, predstavljaju značajan uzročnik oboljenja ljudi i životinja izazvanih hranom. U odnosu na toksine iz ove grupe, mikotoksini predstavljaju najveći problem u lancu dobijanja bezbedne hrane, naročito u zemaljama u razvoju (Wu, 2006). Stoga je njihovo

prisustvo u hrani predmet stalnih evaluacija mnogih nacionalnih i internacionalnih agencija.

Iako je, do sada, poznato preko 300 mikotoksina, po svojoj toksičnosti i zastupljenosti ohratoksin A (OTA) spada u grupu najznačajnijih mikotoksina. Ohratoksin A se prirodno javlja kao kontaminant različitih vrsta biljnih proizvoda, kao što su: žitarice, brašno, kafa, čajevi, začini, mahunarke i sušeno voće (Milićević, 2009a; Capriotti i dr., 2010; Duarte i dr., 2010), kao rezultat loše poljoprivredne, higijenske, i skladišne prakse (Scudamore, 2005). Takođe, utvrđen je u vinu, pivu i voćnim sokovima, kao rezultat upotrebe kontaminiranih sirovina za njihovu proizvodnju (Magnoli i dr., 2007). Analizom ovih namirnica utvrđeno je da ohratoksin A sintetišu plesni *Penicillium verrucosum*, *Penicillium viridicatum*, *Aspergillus niger* i *Aspergillus carbonarius* (Cabañas i dr., 2008; JECFA, 2008). Rezidue OTA utvrđene su u bubrezima, jetri, mesu i mleku sisara hranjenih kontaminiranom hranom (Pozo i dr., 2010; Milićević i dr., 2008; Stoev, 2008). Veoma visoka učestalost kontaminacije hrane OTA zabeležena

*Kratak sadržaj rada je objavljen u „Zborniku kratkih sadržaja“ sa Međunarodnog 56. savetovanja industrije mesa, održanog na Tari, od 12. do 15. juna 2011. godine.

Napomena: Rezultati su proistekli iz rada na realizaciji projekta „Razvoj brzih metoda za determinaciju ohratoksogenih plesni, njihovih metabolita i analiza rizika od ohratoksina A u lancu ishrane ljudi“, ev. br. 20207A, u okviru Programa istraživanja u oblasti tehnološkog razvoja, koji je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11 000 Beograd, Republika Srbija;

²Kompanija AGROŽIV AD, Topolovački put bb, 23210 Žitište, Republika Srbija.

je u zemljama Balkanskog poluostrva, i to u područjima gde je zabeležena endemska nefropatija ljudi (*Milićević*, 2009b; *Pfohl-Leszkowicz i dr.*, 2002).

Analiza rizika od OTA ima višestruki značaj. OTA je nefrotoksičan i nefrokancerogeni mikotoksin (*IARC*, 1993), koji, kao kontaminant hrane za životinje, uzrokuje značajne gubitke u stočarskoj proizvodnji. U našoj zemlji, OTA predstavlja poseban problem zbog povezanosti sa oboljenjem ljudi poznatim kao balkanska endemska nefropatija (BEN), često udruženo sa tumorima urinarnog trakta. Novija istraživanja ukazuju na moguću ulogu OTA u razvoju kancera testisa kod ljudi (*Schwartz*, 2002). Step en pojavljivanja kancera testisa u 20 zemalja bio je u signifikantnoj korelaciji sa konzumiranjem kafe i svinjskog mesa po stanovniku.

U cilju unapređenja bezbednosti hrane i postizanja visokog nivoa zaštite zdravlja ljudi, Republika Srbija je donela novi pravni okvir, koji integralno reguliše sve aspekte proizvodnje, prometa, kontrole i potrošnje hrane (*Zakon o bezbednosti hrane RS*, 2009). U skadu sa Zakonom o bezbednosti hrane (2009), sve mere koje se preduzimaju moraju se zasnivati na analizi rizika, odnosno na naučnim saznanjima o poznatim i potencijalnim negativnim uticajima na zdravlje ljudi. Iako je potrošnja mesa u Srbiji, u poređenju sa zemljama EU mala, svinjsko, a pogotovu pileće meso, predstavljaju važan deo ishrane stanovništva Srbije. Stoga je cilj ovih preliminarnih istraživanja bio da se, u sklopu monitoringa rizika značajnih za zdravlje potrošača, utvrdi prisustvo rezidua OTA u tkivima redovno zaklanih tovnih svinja i brojlera, poreklom iz različitih regiona Srbije. Rezultati istraživanja predstavljaju dobar osnov za procenu izloženosti stanovništva OTA putem namirnica animalnog porekla i uspostavljanje sistema kontrole, koji treba da prati i unapredi primenu regulative iz oblasti bezbednosti hrane.

Materijal i metode

Uzimanje uzoraka

Za ovu vrstu istraživanja odabrane su farme poreklom sa regiona gde je razvijena intenzivna stočarska proizvodnja. Životinje su odgajane na komercijalnim farmama, pri čemu su se poštovala zootehničke preporuke vezane za intenzivan odgoj. Za ishranu su korišćene kompletne smeše standardnog sirovinskog sastava, shodno normativima za vrstu i kategoriju životinja. Nakon tova, životinje su zaklane i, prilikom veterinarsko-sanitarnog pregleda na liniji klanja, metodom slučajnog uzorkovanja uzimano je po pet uzoraka krvi svinja (*Hult i dr.*, 1984), a zatim pripadajuća jetra i bubrezi, odgovarajuće ži-

votinje. Po istom principu uzimani su uzorci jetre, bubrega i mišićnog dela želuca brojlera.

Krv je sakupljana direktno, otvorenim postupkom, u momentu kada je mlaz bio najjači, u plastične sudove u kojima se nalazio antikoagulans. Kao antikoagulans korišćen je 1% vodeni rastvor trinatrijum-citrata (TNC) ($C_6H_5Na_3O_7 \times 2H_2O$), (*Matekalo-Sverak*, 1994). Svaki uzorak krvi sastojao se od 9 delova krvi i 1 dela vodenog rastvora TNC (10%). Uzorci plazme koji su analizirani, dobijeni su centrifugiranjem krvi u laboratorijskoj centrifugi (*Tehnica Železniki, CL 320*), na 5000 o/min u toku 20 minuta. Plazma je iz supernatanta pažljivo odvajana Pasterovom pipetom i prenošena u polietilenske tube, koje su dobro zatvarane i zamrzavane na $-18^\circ C$, do momenta analize.

Posle donošenja u laboratoriju, uzorci su homogenizovani na ultraturrax-u i čuvani do momenta analize na $-18^\circ C$.

Metode ispitivanja

Određivanje prisustva rezidua OTA u uzorcima krvne plazme izvršeno je po metodi *Curtuia i Gareisa* (2001a), dok je u uzorcima jetre, bubrega i mišićnog dela želuca, određivanje prisustva rezidua ohratoksina izvršeno po metodi *Matrella i dr.* (2006). Primenjena je tehnikom visoko efikasne tečne hromatografije sa fluorescentnim detektorom (*HPLC-FD*), na aparatu *HPLC Waters Alliance pumpa Waters Alliance 2695, Quaternary pump separation*, modul sa autosemplerom, fluorescentni detektor, model: *Waters 2475 multi λ* , kolona *Waters Symmetry Shield RP 18, 150 \times 4,6 mm, 5 μm* . Metoda je „in-house“ validovana u skladu sa odlukom EU (*Commission Decision 2002/657/EC*, 2003). Limit detekcije (LOD) *HPLC-FI* metode, navedene u ovom radu, bio je 0,14 i 0,2 ng/g za tkiva svinja i živine, ponaosob, dok je LOD za krvnu plazmu iznosio 0,1 ng/mL.

Na ovaj način ukupno je analizirano 90 uzoraka krvne plazme svinja i po 90 uzoraka tkiva svinja i brojlera.

Statistička obrada podataka

Dobijeni rezultati oglada obrađeni su korišćenjem programa *OriginLab 7*, *Anova*, *MS Excel 2003*. U radu su prikazani parametri deskriptivne statistike i to: srednja vrednost, standardna devijacija, interval varijacije, kao i analiza varijanse sa odgovarajućim testom. Naknadne analize značajnosti statističkih razlika između pojedinih tretmana izvršene su *Tukey* testom. Svi testovi su korišćeni na nivou verovatnoće 95 i 99%.

Rezultati i diskusija

Rezultati ispitivanja prisustva rezidua ohratoksina A u tkivima svinja i živine prikazani su u tabeli 1 i na grafikonima 1 i 2. Iz prikazane tabele se može uočiti da je u tkivima svinja utvrđena veća zastupljenost i prosečne vrednosti sadržaja OTA, u odnosu na tkiva živine. Iz tabele 1 se može uočiti da je u 68,8% (62) uzoraka krvne plazme i 70% (63) uzoraka jetre i bubrega, sadržaj OTA bio ispod LOD. U pogledu sadržaja OTA u ispi-

tanim tkivima, najveći prosečan sadržaj OTA utvrđen je u krvnoj plazmi (\bar{x} – 3,69 ± 23,59 ng/mL), dok su u jetri i bubrezima utvrđene niže prosečne koncentracije (\bar{x} – 0,64 ± 1,87 i 1,24 ± 5,86 ng/g, ponaosob). Visoka vrednost standardne devijacije u uzorcima kvne plazme ukazuje da se sadržaj OTA u ispitanim uzorcima kretao u veoma širokom intervalu (0,24–220,8 ng/mL). Slična pojava, ali u manjem stepenu zabeležena je u uzorcima bubrega, gde se sadržaj OTA kretao u rasponu od 0,17 do 52,5 ng/g (grafikon 1).

Tabela 1. Zastupljenost rezidua ohratoksina A u tkivima svinja i brojlera

Table 1. Presence of ochratoxin A residua in pig and broiler tissues

Mere varijacije / Variation	Tkiva svinja (N = 90) / Pig tissues (N = 90)			Tkiva brojlera (N = 90) / Broiler tissues (N = 90)		
	Krvna plazma / Blood plasma	Jetra / Liver	Bubrezi / Kidneys	Jetra / Liver	Bubrezi / Kidneys	Mišićni deo želuca / Stomach muscles
	ng/mL	ng/g		ng/g		
<LOD n (%)	62 (68,8)	63 (70)	63 (70)	67 (74,4)	73 (81,1)	75 (83,3)
$\bar{x} \pm Sd^a$	3,69 ± 23,59	0,64 ± 1,87	1,24 ± 5,86	0,41 ± 0,92	0,36 ± 1,18	0,36 ± 1,49
$\bar{x} \pm Sd^b$	11,87 ± 41,64	2,14 ± 2,93	4,14 ± 10,24	1,62 ± 1,16	1,19 ± 2,16	2,18 ± 3,13
Iv	0,24 – 220,8	0,18 – 14,5	0,17 – 52,5	0,14 – 3,90	0,1 – 7,02	0,25 – 9,94
CV (%)*	6,39	2,92	4,72	2,24	3,27	4,14

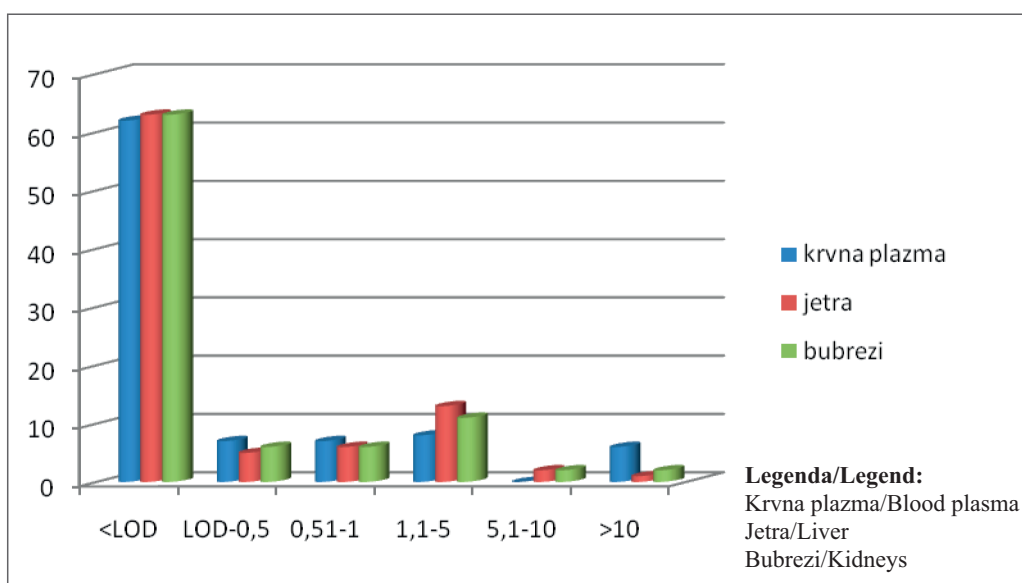
<LOD – limit detekcije metode/<LOD – limit of detection, CV–koeficijent varijacije* (x100)/ variation coefficient, Sd–standardna devijacija/standard deviation, Iv–interval varijacije/variation interval,

N – ukupan broj analiziranih uzoraka/total number of analyzed samples,

n – broj uzoraka ispod LOD/number of samples below LOD,

^a – zbirno u svim uzorcima/collective in all samples,

^b – u uzorcima u kojima je utvrđeno prisustvo OTA/in samples where the presence of OTA has been detected.



Grafikon 1. Distribucija sadržaja OTA u tkivima svinja (ng/mL, ng/g)

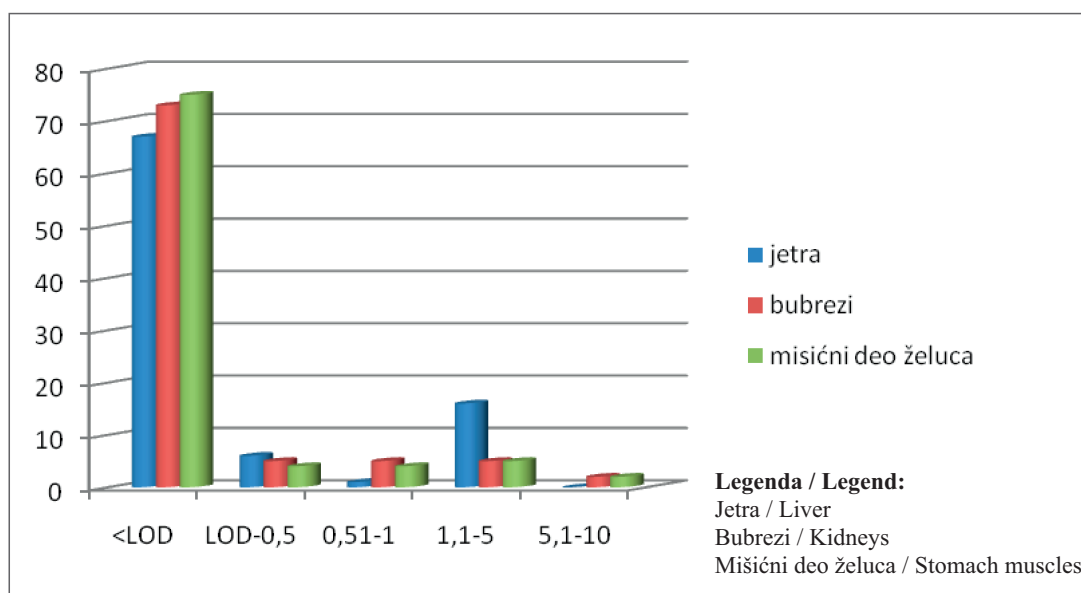
Graph 1. Distribution of OTA content in pig tissue (ng/mL, ng/g)

Tabela 2. Korelacija (r) između koncentracije OTA u krvnom serumu i rezidua u pojedinim tkivima i organima svinja (Mortensen i dr.,1983).**Table 2.** Correlation (r) between OTA concentration in blood serum and residua in individual pig tissues and organs

Krvni serum/ Blood serum	Tkivo / Tissue			
	Bubrezi / Kidneys	Jetra / Liver	Mišićno tkivo / Muscle tissue	Masno tkivo / Fat tissue
	0,89	0,89	0,88	0,84

U pogledu zastupljenost rezidua OTA u tkivima brojlera, u 74,4% (67) uzorka jetre, 81,1% (73) uzorka bubrega i 83,3% (75) uzorka mišićnog dela želuca, sadržaj OTA bio je ispod LOD. Međutim, najniže prosečne vrednosti sadržaja OTA utvrđene su u jetri (\bar{x} –0,14 ± 0,92 ng/g), dok su u uzorcima bubrega i jetre prosečne koncentracije bile identične (\bar{x} –0,36 ± 1,18 i 0,36 ± 1,49 ng/g, ponaosob). Relativno niske vrednosti standardne devijacije ukazuju da je sadržaj OTA u ispitanim tkivima bio u uskom intervalu. Sadržaj OTA u uzorcima bubrega kretao se do 7,02 ng/g, dok je u mišićnom delu želuca zabeležen najveći sadržaj OTA (9,9 ng/g) (grafikon 2).

zabeležene su u krvi (zbog visokog afiniteta za proteine krvne plazme) i bubrezima (zbog selektivnog transportnog mehanizma i reapsorpcije u proksimalnim tubulima), što se potvrdilo i u rezultatima naših istraživanja. Visoka koncentracija u krvnoj plazmi svinja objašnjava se relativno dugim vremenom polueliminacije iz organizma svinja (72–120 h), zbog visokog afiniteta OTA za proteine krvne plazme. Primenom regresione jednačine moguće je izračunati nivo rezidua OTA u jestivim tkivima, na bazi poznate koncentracije OTA u krvi (tabela 2). Takođe, analiza krvi se može uspešno koristiti kao sredstvo u dijagnostici ohratoksikoza, naročito supkliničkih

**Grafikon 2.** Distribucija sadržaja OTA u tkivima živine (ng/g)**Graph 2.** Distribution of OTA content in poultry tissues (ng/g)

Dobijeni rezultati zastupljenosti i sadržaja rezidua OTA u tkivima svinja, približno su jednaki rezultatima dobijenim u prethodnim istraživanjima (Milićević, 2006), dok su u odnosu na podatke autora iz zemalja u okruženju (Bugarska i Rumunija) znatno niži (Curtui i dr., 2001b; Stoev i dr., 2002). Međutim, kao i u većini istraživanja najveće količine OTA

(Harvey i dr., 1992; Gremmels i dr., 1995), koje su najčešće zabeležene na našim prostorima. Prisustvo rezidua OTA u bubrezima predstavlja rezultat selektivne akumulacije (glomerularna filtracija) u bubrežnom tkivu i spore eliminacije (reapsorpcija u proksimalnim tubulima bubrega). Prisustvo rezidua OTA u bubrezima, prvenstveno, zavisi od fiziološkog sta-

tusa bubrega i dužine trajanja ishrane kontaminiranom hranom.

Nalaz OTA u jetri ukazuje na pretežno alimentarnu izloženost životinja toksinu. Nakon resorpcije, najveći deo ohratoksina se nalazi u jetri gde se vrši njegova detoksifikacija, a u znatno manjoj meri u bubrezima i muskulaturi. Veliki broj mikotoksina izaziva promene na jetri, koja je zbog svog topografskog položaja, izložena tzv. „prvom prolazu“ celokupne količine mikotoksina nakon ingestije (Fusch, 1988). Za OTA je karakteristično da se, nakon faze detoksifikacije, formirani polarni produkti konjuguju sa amino-kiselinama, glukuronskom kiselinom, sulfatom ili žučnim kiselinama i putem žuči se izlučuju u creva. Izlučeni konjugati u lumenu creva podležu hidrolizi od strane intestinalne mikroflore, a zatim ponovnoj resorpciji – enterohepatičnoj resorpciji, što predstavlja osnovu rezidualnog efekta OTA.

Prilikom donošenja relevantnih zaključaka o razlikama u zastupljenosti OTA u tkivima svinja i živine, treba imati u vidu da prisustvo rezidua OTA uključuje sve faze, od resorpcije do ekskrecije i zavisi, prvenstveno, od fizioloških, nutritivnih i ostalih faktora. Apsorpcija OTA iz gastrointestinalnog trakta živine iznosi oko 40%, dok je kod svinja oko 66% (Galtier i dr., 1981). Maksimalna koncentracija OTA u krvnom serumu svinja utvrđena je u periodu od 10 do 48 časova, dok je kod živine utvrđena nakon 30 minuta. Vreme polueliminacije OTA iz krvi živine je 4 sata (NNT, 1991), tako da se u odnosu na ostale životinjske vrste OTA najbrže eliminiše iz organizma živine. Upotrebom, u završnoj fazi tova, hrane koja nije kontaminirana mikotoksinima, ili pravilnom primenom veterinarsko-sanitarnih propisa pre klanja, može se sprečiti prisustvo rezidua OTA u tkivima živine.

osob, utvrđene su značajne promene u metabolizmu i ekskreciji OTA (Lusky i dr., 2001).

Analiza rizika – procena izloženosti

Za donošenje odgovarajuće zakonske regulative u pogledu prisustva mikotoksina u hrani, neophodno je poznavanje određenih faktora, među kojima su najznačajniji (Hans van Egmond i dr., 2007):

- dostupnost toksikoloških podataka o mikotoksinima;
- dostupnost podataka o izloženosti ljudi i životinja mikotoksinima;
- poznavanje distribucije mikotoksina u namirnicama i/ili proizvodima;
- dostupnost analitičkih metoda za dokazivanje prisustva mikotoksina;
- zakonska regulativa u ostalim zemljama, kako se ne bi kočio slobodan promet robe i kapitala i
- potrebe u snabdevanju stanovništva hranom.

Procenu izloženosti stanovništva mikotoksinima putem hrane sprovode nacionalne i internacionalne agencije. U obzir se uzimaju socio-ekonomski i kulturološki faktori, koji se ogledaju u različitostima određene populacije, zatim njenoj starosti kao i regionalnim različitostima i potrošačkim sklonostima. Prikupljanje i analizu podataka o načinu ishrane, izloženosti i druga saznanja koja se odnose na bilo koji mogući rizik koji je potrebno da se prati u prehrambenom lancu, u Evropskoj zajednici, koordinira Naučni komitet za hranu (Scientific Committee-SC, CONTAM Panel), naučno savetodavno telo Evropske agencije za bezbednost hrane (EFSA), dok na svetskom nivou mehanizme za ispitivanje toksičnosti aditiva, rezidua i kontaminanata u hrani postav-

Tabela 3. Korelacija (r) između prisustva OTA u bubrezima i ostalim tkivima (Krogh i dr., 1976).

Table 3. Correlation (r) between OTA presence in kidneys and other tissues (Krogh i dr., 1976)

		r	
Bubrezi / Kidneys	Jetra / Liver	Mišićno tkivo / Muscle tissue	Masno tkivo / Fat tissue
	0,937	0,888	0,739

Toksikokinetika OTA zavisi od prisustva drugih ksenobiotika, uključujući druge mikotoksine i veterinarske lekove koji imaju veći afinitet za albumine krvne plazme (Galtier i Alvinerie, 1981). Ishranom svinja hranom kontaminiranom OTA, zearalenonom i DON-om u količini od 0,1, 0,25 i 1,0 mg/kg, pona-

lja Svetska zdravstvena organizacija, odnosno njeno udruženje za hranu i aditive (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA).

Procena alimentarne izloženosti stanovništva OTA sprovodi se u tri faze. U prvoj fazi procenjuje se prosečan sadržaj OTA u sedam osnovnih namir-

nica na osnovu podataka dobijenih od organizacija kao što su EFSA (European Food Safety Authority) i SCOOP (Food Safety and Scientific cooperation). U narednoj fazi procenjuje se ukupna izloženost „prosečnog konzumenta“, sumirajući prosečan sadržaj OTA u namirnicama koje će se konzumirati sa verovatnoćom od 97,5%. Ukupna izloženost izražava se u ng/kg/TM/dnevno, gde se uzima da je telesna masa (TM) „prosečnog konzumenta“ 60 kg. U trećoj fazi se, koristeći dobijene podatke, simulira izloženost konzumenata na nivou verovatnoće 97,5 i 99,0%. U skladu sa novijim podacima, smatra se da prosečna izloženost odraslog konzumenta varira između 2 i 3 ng/kg/TM/dnevno.

Analizom rezultata dobijenih u našim istraživanjima, kao i podataka o prosečnoj potrošnji svinjskog mesa u Srbiji po glavi stanovnika (16 kg/godišnje ili 43,8 g/dnevno), odnosno pilećeg mesa (17,5 kg/godišnje ili 47,94 g/dnevno), mogu se izvesti preliminarni zaključci vezani za procenu izloženosti stanovništva OTA putem svinjskog i pilećeg mesa. Na bazi prosečnog sadržaja OTA u tkivima svinja, može se izvesti procena da se izloženost stanovništva OTA putem svinjskog mesa kreće od 0,467 do 0,905 ng/kg/TM/dnevno, dok je izloženost stanovništva OTA putem pilećeg mesa daleko manja i kreće se od 0,287 do 0,327 ng/kg/TM/dnevno. Rezultati naših ispitivanja su u skladu sa rezultatima ispitivanja internacionalnih agencija, koji ukazuju da su žitarice glavni izvor unosa OTA u ljudskoj ishrani (FAO, 2002), dok namirnice animalnog porekla spadaju u minorne izvore unosa OTA (EFSA, 2004). Takođe, dobijeni rezultati u skladu su sa preporukama Naučnog komiteta za hranu da prihvatljiv dnevni unos OTA putem hrane (Tolerable Daily Intakes–TDI), treba da bude ispod 5 ng/kg/TM (SCF, 1998). Ovakav vid procene izloženosti stanovništva OTA putem hrane, na bazi sadržaja OTA u hrani i analizom „prosečnog konzumenta“, ima svoje nedostatke, te se u

ovoj vrsti procene rizika sve više koriste biomarkeri, kao što su krv i urin (Gilbert i dr., 2001; Fazekas i dr., 2005). Naša istraživanja prisustva rezidua OTA u krvnoj plazmi svinja potvrdila su činjenicu da nivo OTA u krvi veoma pouzdano reflektuje prisustvo ovog toksina u hrani. Zbog visoke konstante asocijacije OTA za proteine krvne plazme i relativno dugog vremena polueliminacije iz organizma svinja (3,7–6 dana), heterogena distribucija OTA, često zabeležena u hrani, pojaviće se u homogenoj formi u krvi, čak i u slučajevima ingestije vrlo malih količina OTA. Metoda analize krvi u dijagnostici ohratoksikoza nije pogodna kod životinja sa visokim klirensom krvne plazme, kao što su živina i ribe ili kod preživara, zbog niskog stepena resorpcije iz digestivnog trakta.

Zaključak

Rezultati istraživanja monitoringa rizika značajnih za zdravlje potrošača ukazuju na prisustva rezidua OTA u tkivima svinja i živine. Iako je sadržaj OTA u ispitanim tkivima daleko niži u odnosu na preporuke međunarodnih organizacija o tolerantnom dnevnom unosu (TDI) OTA, treba imati u vidu da je prisustvo mikotoksina u hrani nepredvidljivo jer se uslovi za infekciju, razvoj plesni i sintezu toksina menjaju u zavisnosti od klimatskih i drugih faktora. Primena analize rizika u prevenciji kontaminacije plesnima i mikotoksinima je najefikasnija ukoliko se primenjuje duž celog lanca proizvodnje hrane i ukoliko u tome učestvuju sve odgovorne strukture, odnosno proizvođači, distributeri, lokalni i državni organi uprave kao i potrošači. Sve ovo, spojeno u integrisan sistem, efikasno dovodi do isporuke potrošačima zdravstveno ispravnih proizvoda. EU je usvojila filozofiju integrisanog sistema za zdravstvenu ispravnost hrane i njeno zakonodavstvo zasniva se na ovim konceptima.

Literatura

- Cabañas R., Bragulat M. R., Abarca M. L., Castellá G., Cabañas F. J., 2008. Occurrence of *Penicillium verrucosum* in retail wheat flours from the Spanish market. *Food Microbiology*, 25, 642–647.
- Capriotti A. L., Foglia P., Gubbiotti R., Rocca C., Samperi R., Laganà A., 2010. Development and validation of a liquid chromatography/atmospheric pressure photoionization-tandem mass spectrometric method for the analysis

of mycotoxins subjected to commission regulation (EC) No. 1881/2006 In cereals. *Journal of Chromatography A*, 1217, 6044–6051.

- COMMISSION DECISION 2002/657/EC, 2003. COMMISSION DECISION of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of the European Communities*, L 221/8.

- Curtui V. G., Gareis M., 2001a.** A simple HPLC method for the determination of the mycotoxins ochratoxin A and B in blood serum of swine. *Food Additives and Contaminants*, 18, 7, 635–43.
- Curtui V. G., Gareis M., Usleber E., Martlbauer E. 2001b.** Survey of Romanian slaughtered pigs for the occurrence of mycotoxins ochratoxins A and B, and zearalenone. *Food Additives and Contaminants*, 18, 730–738.
- Demeyer D., Honikel K., De Smet S., 2008.** The World Cancer Fund report 2007: A challenge for the meat processing industry. *Meat Science*, 80, 953–959.
- Duarte S. C., Pena A., Lino C. M., 2010.** A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiology*, 27, 187–198.
- Fazekas B., Tar A., Kovacs M., 2005.** Ochratoxin A content of urine samples of healthy humans in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 53, 35–44.
- Food and Agriculture Organization (FAO), 2002.** Bread wheat: Improvement and production no. 30. Curtis BC. In: Rajaram S, Gomez Macpherson M, editors. *FAO Plant Production and Protection Series*. Rome: FAO.
- Fuchs R., 1988.** Distribution and fate of ochratoxin A in experimental animals. Doctorial thesis, faculty of Veterinary Medicine, Uppsala, Sweden.
- Galtier P., Alvinerie M., 1981.** The pharmacokinetic profiles of ochratoxin A in pigs, rabbits and chickens. *Food and Cosmetics Toxicology*, 19, 735–738.
- Gilbert J., Brereton P., MacDonald S., 2001.** Assessment of dietary exposure to ochratoxin A in the UK using duplicate diet approach and analysis of urine and plasma samples. *Food Additives and Contaminants* 18, 1008–1093.
- Gremmels J. F., Jahn, A., Blom M. J., 1995.** Toxicity and metabolism of ochratoxin A. *Natural Toxins*, 3, 214–220.
- Grunert K., Bredahl G. L., Brunso K., 2004.** Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector – A review. *Meat Science*, 66, 22, 259–272.
- Hans P. van Egmond, 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.
- Harvey R. B., Elissalde M. H., Kubena L. F., Weaver E. A., Corner D. E., Clement B. A., 1992.** Immunotoxicity of ochratoxin A in growing gilts. *American Journal of Veterinary Research*, 53, 1966–970.
- Hult T. K., Rutqvist L., Holmberg T., Thafvelin B., Gatenbeck S., 1984.** Ochratoxin in blood of slaughter pigs. *Nordisk Veterinärmedicin*, 36, 314–316.
- IARC, 1993.** Ochratoxin A. In *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Human*, 56, Lyon: IARC Press, 489–521.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), 2008.** Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additives Series 59. Retrieved November 18, 2009 from. http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241660594_eng.pdf.
- Karan D., Vukojević J. B., Milićević D., Ljajević-Grbić M., Janković V. 2005.** Kontrola prisustva plesni i mikotoksina i pojedinim začimima koji se koriste i industriji mesa. *Tehnologija mesa*, vol. 46, 5–6, 306–310.
- Lusky K., Goebel R., Tesch D., Doberschuetz K. D., Lusky K., Haider W., 2001.** Sole and combined administration of the mycotoxins OTA, ZEA and DON. Investigations on animal health and residue behavior. *Fleischwirtschaft*, 81, 98–102.
- Magnoli C., Astoreca A., Chiacchiera S., Dalcero A., 2007.** Occurrence of ochratoxin A and ochratoxigenic mycoflora in corn and corn based foods and feeds in some South America countries. *Mycopathology*, 163, 249–260.
- Matekalo-Sverak V., 1994.** Optimizacija uslova proizvodnje prehrambenih proteina iz krvi animalnog porekla. Doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Matrella R., Monaci L., Milillo M. A., Palmisano F., Tantillo M. G., 2006.** Ochratoxin A determination in paired kidneys and muscle samples from swines slaughtered in southern Italy. *Food Control*, 17, 114–117.
- McCarthy M., Henson S., 2005.** Perceived risk and risk reduction strategies in the of beef by Irish consumers. *Food Quality and Preference*, 16, 5, 435–445.
- Milićević D., 2006.** Prisustvo rezidua ohratoksina A u krvnoj plazmi, jetri i bubrezima zaklanih svinja. Magistarska teza.
- Milićević D., Juric V., Stefanovic S., Jovanovic M., Jankovic S., 2008.** Survey of slaughtered pigs for occurrence of ochratoxin A and porcine nephropathy in Serbia. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 2169–2183.
- Milićević D., 2009a.** Mycotoxins in the food chain – old problems and new solutions. *Tehnologija mesa*, 50, 1–2, 99–111.
- Milićević D., Nikšić M., Baltić Tatjana, Stefanović S., Janković S., 2009b.** Prisustvo plesni i mikotoksina u hrani za ishranu svinja – značaj u proceni rizika. *Tehnologija mesa*, 50, 5–6, 261–270.
- Mortensen H. P., Hald B., Madsen A., 1983.** Feeding experiment with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. 5. Ochratoxin A in pigs blood. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 33, 235–239.
- Pfohl-Leszkowicz A., Petkova-Bocharova T., Chernozemsky I. N., Castegnaro M., 2002.** Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: A review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food Additives and Contaminants*, 19, 282–302.
- Pozzo L., Cavallarini L., Nucera S., Antoniazzi D., Schiavone A., 2010.** A survey of ochratoxin A contamination in feeds and sera from organic and standard swine farms in north-west Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 1467–1472.
- Rimal A., 2005.** Meat labels: Consumer attitude and meat consumption pattern. *International Journal of Consumer Studies*, 29, 47–54.
- Schwartz G. G., 2002.** Hypothesis: Does ochratoxin A cause testicular cancer. *Cancer Causes and Control*, 13, 91–100.
- Scientific Committee on Food (SCF), 1998.** EC report, Opinion on ochratoxin A, expressed on 17 September 1998. Scientific Committee on Food.
- Scudamore K. A., 2005.** Prevention of ochratoxin A in commodities and likely effects of processing fractionation and animal feeds. *Food Additives and Contaminants, Part A* 22, 17–25.
- Sinovec Z. J., Resanović R. D., 2005.** Mikotoksini u hrani za životinje – rizik po zdravlje ljudi. *Tehnologija mesa*, 46, 1–2, 39–44.

- Stoev D. S., Daskalov H., Radic B., Domijan A. M., Perica M., 2002.** Spontaneous mycotoxic nephropathy in Bulgarian chickens with unclarified mycotoxin aetiology. *Veterinary Research*, 33, 83–93.
- Stoev D. S., 2008.** Complex Etiology, Prophylaxis and Hygiene Control in Mycotoxic Nephropathies in Farm Animals and Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 578–605.
- The Nordic Working Group on Food Toxicology and Risk Evaluation (NNT), 1991.** Nordiske Seminar-og Arbejdsrapporter, Health Evaluation of ochratoxin A in Food Products, 545, 5–26.
- WHO, 2002.** WHO Global Strategy for Food Safety: safer food for better health. Food Safety Programme 2002. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland.
- Wu F., 2006.** Mycotoxin reduction in Bt corn: potential economic, health, and regulatory impacts. ISB News Report, September 2006. Miraglia, M., and Brera, C. 2002. Reports on tasks for scientific cooperation, Task 3.2.7: Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states, Rome: Istituto Superiore di Sanita, 1–153.
- Zakon o bezbednosti hrane, 2009.** Službeni glasnik RS, br. 41/2009.

Ochratoxin A residue in broiler tissues – risk assessment

Miličević Dragan, Grubić Mira, Radičević Tatjana, Stefanović Srđan, Janković Saša, Vranić Vojin

S u m m a r y: Based on a data of the Global monitoring of environment protection, food contamination and program of the mycotoxins risk assessment (GEMS/food, FAO, WHO), and also on data from national agencies for mycotoxins, we may say that their presence in food chain is very serious problem, especially in developing countries. Special risk for consumer health is possibility of mycotoxin residue presence in form of its metabolites in foodstuffs of animal origin. Poultry meat consumption in Serbia is very important (17 kg/per capita/year), but in comparison to EU states, it is small. Considering that, the goal of this preliminary investigation is ascertainment of ochratoxin A residues (OTA) in regularly slaughtered broilers originating from different parts of Serbia, under the monitoring programme. Farms were selected from the regions with intensive poultry production, broilers were reared commercially, under the zootechnical recommendations for intensive breeding. Broilers were fed with normative based complete food mixtures of standard feed composition. Uzorkovano je ukupno po 90 uzoraka jetre, bubrega i mišićnog dela želuca brojlera. During slaughtering procedure, following the random pattern, total of 90 samples of liver, gizzard and kidney were taken. OTA residues were determined by using the high efficient method of liquid chromatography with fluorescent detection (HPLC-FD). Presence of OTA residues in broiler tissues ranged from: 16,6% (\bar{x} –0,14 ± 0,92 ng/g) in gizzard, up to 25,6% in liver (\bar{x} –0,36 ± 1,18 ng/g) and kidneys 25,6% (0,36 ± 1,49 ng/g). Average concentrations in liver and kidney samples were identical. Relatively low values of standard deviation point the narrow interval in which OTA is present in tissues. The preliminary study results of OTA presence in broiler tissues points that actual concentration is generally very low, bellow recommended values of Scientific Committee of European Food Safety Authority (SC, EFSA) where tolerable daily intake (TDI) for OTA is BELLOW 5 ng/kg/body weight.

Key words: mycotoxins, ochratoxin A, monitoring.

Rad primljen: 5.05.2011.

Rad prihvaćen: 25.07.2011.