

HRVATSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI

**ZAVOD ZA ZNANSTVENOISTRAŽIVAČKI I UMJETNIČKI RAD
VELIKA GORICA**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET**



**SIGURNOST HRANE I
ZAŠTITA POTROŠAČA**

**ZBORNIK RADOVA
Velika Gorica, 8. ožujka 2024.**

HRVATSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI

**ZAVOD ZA ZNANSTVENOISTRAŽIVAČKI I UMJETNIČKI RAD
VELIKA GORICA**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET**



ZBORNIK RADOVA

**SIGURNOST HRANE I
ZAŠTITA POTROŠAČA**

**Velika Gorica,
8. ožujka 2024.**

Organizator

**Zavod za znanstvenoistraživački i
umjetnički rada HAZU,
Velika Gorica**

Organizacijski odbor

**Željko Cvetnić, Mirjana Hruškar,
Katica Matković Mikulčić, Matija Kos**

Urednici

Željko Cvetnić, Mirjana Hruškar

CIP zapis je dostupan u računalnome katalogu Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu pod brojem 001218005.
ISBN 978-953-347-557-8

PROGRAM

11.00–11.15

Pozdravna riječ

akademik Željko Cvetnić, voditelj Zavoda
Zavod za znanstvenoistraživački i umjetnički rad Hrvatske akademije znanosti
i umjetnosti Velika Gorica

prof. dr. sc. Branka Levaj, o. d. dekana
Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet

akademik Dario Vretenar, glavni tajnik
Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti

Krešimir Ačkar, mag. theol., gradonačelnik
Grad Velika Gorica

Uvod u simpozij

prof. dr. sc. Mirjana Hruškar
Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet

11.15–11.35

Senzorska procjena hrane kao dio koncepta sigurnosti hrane

prof. dr. sc. Nada Vahčić
Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet

11.35–11.55

Glifosat oko nas

dr. sc. Marija Denžić Lugomer
Hrvatski veterinarski institut – Veterinarski zavod Križevci

11.55–12.15

Pojavnost toksikotvornih plijesni i mikotoksina u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima

dr. sc. Tina Lešić
Hrvatski veterinarski institut, Zagreb

12.15–12.35

Što radi tehnolog osiguranja kvalitete?

Ivana Žepić, univ. mag. ing. techn. aliment.
Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet

12.35–13.00

Diskusija

13.00

Domjenak

Moderatori: prof. dr. sc. Mirjana Hruškar i akademik Željko Cvetnić





PREDGOVOR

Sigurnost hrane, jedno je od strateških pitanja u svijetu. Opasnosti koje potječu od hrane, mogu imati izravan utjecaj na zdravlje ljudi, a mogu biti biološkog, kemijskog ili fizikalnog podrijetla.

Identificiraju se i kvantificiraju kemijskim, mikrobiološkim i senzorskim analizama. Sigurnost i kvaliteta hrane, dva su najvažnija aspekta svakog okruženja u kojem se ručuje hranom.

Veliku zabrinutost potrošača izaziva prisutnost kemijskih kontaminanata u hrani koji su prepoznati kao jedan od najistaknutijih problema koji utječe na sigurnost hrane.

Hrana svojim hranjivim sastojcima predstavlja idealnu podlogu za rast mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje hrane te je čine neprikladnom za prehranu, a patogene vrste ili njihovi toksini čine hranu opasnu po zdravlje.

Djelotvorna kontrola zdravstvene ispravnosti i sigurnosti hrane zbog toga je od izuzetne važnosti kako bi se izbjegli nepovoljni utjecaji zdravstveno neispravne hrane na zdravlje ljudi, a koji se očituju zdravstvenim, socijalnim i ekonomskim posljedicama koje izazivaju bolesti prenosive hranom.

Sustavi upravljanja sigurnošću hrane Europske unije se konstantno unaprjeđuju i maksimalno su usmjereni na zaštitu potrošača, sve u svrhu povećanja kvalitete hrane.

Na ovom simpoziju kroz predavanja o senzorskoj procjeni hrane kao dio koncepta sigurnosti hrane (prof. dr. sc. Nada Vahčić), o glifosatu oko nas (dr. sc. Marija Denžić Lugomer), o pojavnosti toksikotvornih plijesni i mikotoksina u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima (dr. sc. Tina Lešić) te o zaduženjima tehnologa osiguranja kvalitete (Ivana Žepić, univ. mag. ing. techn. aliment.) pronaći ćemo odgovore na pitanja vezana uz sigurnost i kvalitetu hrane, opasnosti koje potječu od hrane pa samim time kako zaštititi potrošače znanjima tehnologa osiguranja hrane i u ovim nepredvidivim vremenima razmišljati o boljoj, sigurnijoj i zdravijoj budućnosti.

prof. dr. sc. Mirjana Hruškar

Senzorska procjena hrane kao dio koncepta sigurnosti hrane

prof. dr. sc. Nada Vahčić*, prof. dr. sc. Ksenija Marković, prof. dr. sc. Mirjana Hruškar

* Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 10000 Zagreb, Pierottijeva 6, Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda, Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

E-mail: nvahcic@pbf.hr

Sigurnost hrane

Ne postoji dosljedna ili prihvaćena definicija "sigurnosti hrane", a čini se da ovaj izraz ima različita značenja kako u javnosti tako i među stručnjacima za sigurnost hrane. Kad koristimo sigurnost hrane pod navodnicima ili kurzivom, mislimo na izraz; u suprotnom, mislimo na koncept sigurnosti hrane.

Sigurnost hrane definirana je kao "biološki, kemijski ili fizički status hrane koji će omogućiti njezinu konzumaciju bez izlaganja pretjeranom riziku od ozljeda, pobolijevanja ili smrtnosti".

Sigurnost hrane koristi se kao znanstvena metoda/disciplina koja opisuje rukovanje, pripremu, skladištenje i transport hrane na načine koji smanjuju rizik te sprječavaju bolesti koje se prenose hranom, a mogli bi utjecati na zdravlje onih koji je konzumiraju.

Sigurnost hrane je metoda koja čuva hranu bez kontaminacije koja može uzrokovati bolest. Mikroorganizmi u hrani uzrokuju njeno kvarenje, a pone-

kad i bolest, čineći hranu nesigurnom. Uz mikroorganizme koji predstavljaju biološku opasnost tu su još kemijske i fizičke opasnosti čija prisutnost može hranu učiniti nesigurnom.

Sigurnost hrane odnosi se na uvjete i postupke koji čuvaju kvalitetu hrane kako bi se spriječila kontaminacija i bolesti koje se prenose hranom.

Sigurnost hrane može se osigurati slijedeći smjernice koje pomažu u sprječavanju bolesti koje se prenose hranom, također poznate kao trovanje hranom. Neke od njih su: pravilno čišćenje i dezinfekcija svih površina, opreme i posuđa, održavanje visoke razine osobne higijene, posebice pranje ruku, pravilno skladištenje, hlađenje i zagrijavanje hrane s obzirom na temperaturu, okoliš i opremu, provedba učinkovite kontrole štetočina, razumijevanje alergija na hranu, trovanja hranom i intolerancije na hranu (AIFS, 2019; AIFS, 2022; WHO, 2022; CDC, 2023; FoodSafeti.gov, 2023; USDA, 2023; EC, 2023).

Hrana nikada ne može biti potpuno sigurna. Sigurnost hrane je ugrožena brojnim patogenima koji uzrokuju razne bolesti koje se prenose hranom, toksinima iz algi koji uzrokuju uglavnom akutne bolesti i toksinima iz gljiva koji mogu biti akutno toksični, ali također mogu imati kronične posljedice, poput teratogenih, imunotoksičnih, nefrotoksičnih i estrogenih učinaka. Razvoj industrije uglavnom rezultira golemim porastom izloženosti toksičnim metalima kao što su olovo, kadmij, živa i arsen, koji su sada prisutni u cijelom prehrambenom lancu i pokazuju različite toksičnosti. Industrijski i poljoprivredni procesi također ispuštaju kemikalije koje ostaju u okolišu i zagađuju hranu (razni pesticidi, dioksini i dioksinima slični spojevi). Brojni kemijski kontaminanti nastaju tijekom obrade i kuhanja hrane i zna se da neki jesu, a za neke se sumnja da su kancerogeni. U kontaminante u hrani ubrajaju se i hormoni, ostaci veterinarskih lijekova u sirovinama životinjskog podrijetla kao i ostaci pesticida u žitaricama. Ostali kontaminanti hrane dopijevaju u nju iz pakiranja ili spremnika za čuvanje hrane (ftalati, bisfenol A). Genetski modificirana hrana predstavlja nove izazove jer se potrošači boje da mogući zdravstveni rizici od konzumiranja takve hrane nisu dovoljno istraženi. Na pomolu je i nova prijetnja sigurnosti hrane od sve veće upotrebe nanomaterijala, koji se koriste u materijalima za pakiranje, usprkos činjenici da je njihova toksičnost nedovoljno istražena (Borchers i sur., 2010; QAssurance 2022a; QAssurance 2022b; QAssurance 2022c).

Kvaliteta hrane

Kao što nema jedinstvene definicije o sigurnosti hrane tako mnogi misle da su sigurnost hrane i kvaliteta hrane ista stvar. Iako su usko povezani, postoji razlika između zahtjeva za sigurnost hrane i kvalitetu hrane u okruženju u kojem se rukuje hranom. Jedno štiti potrošače, a drugo ih čini sretnima, a oboje zajedno proizvođače štite od mogućih problema.

Kvaliteta hrane odnosi se na značajke i karakteristike prehrambenog proizvoda koji je: prihvatljiv potrošačima i ispunjava njihova očekivanja, odgovara traženim specifikacijama, daje im određenu vrijednost za novac, a tvrtki profitabilnost.

Sigurnost i kvaliteta hrane, dva su najvažnija aspekta svakog okruženja u kojem se rukuje hranom. Važno je znati razliku i imati odgovarajući sustav upravljanja sigurnošću hrane i kvalitetom hrane.

Kvaliteta prehrambenih proizvoda kao jedan od elemenata koncepta sigurnosti hrane određena je njihovim fizikalnim svojstvima (oblik i veličina, tekstura, boja, viskoznost, providnost, čvrstoća) kemijskim sastavom, razinom mikrobioloških i kemijskih kontaminanata te senzorskim svojstvima. Stoga da bi se osigurala kvaliteta i prihvatljivost nekog prehrambenog proizvoda objektivni analitički testovi u rangu su sa senzorskom procjenom (ACS, 2018; Anonymus, 2023; Mihafu i sur., 2020; Cardello, 1995).

Senzorska procjena hrane

Senzorska procjena je znanstvena disciplina koja potiče, mjeri, analizira i interpretira reakcije na one karakteristike hrane i tvari koje se zapažaju putem osjetila vida, njuha, okusa, dodira i sluha (IFS, 1981).

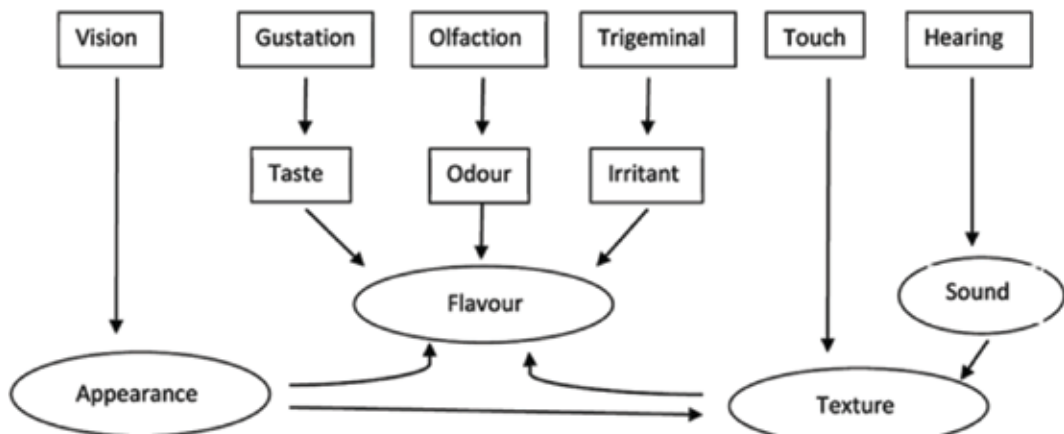
Definicija ukazuje da senzorska procjena proizlazi iz nekoliko različitih disciplina što može pomoći objasniti poteškoće senzorske procjene u industrijskom i akademskom okruženju. One uključuju psihologiju, statistiku, ekonomiju, znanost o hrani, prehrambeno inženjerstvo. Kao što definicija navodi, senzorska procjena uključuje mjerenja i procjenu senzorskih svojstava hrane te analizu i interpretaciju podataka od strane senzorskog stručnjaka što povezuje internu praksu tehnologije i razvoja proizvoda sa vanjskim tržištem i marketingom.

Preduvjete za znanstveni pristup senzorskim analizama predstavljaju školovani panel senzorskih analitičara, korištenje standardnih metoda u senzorskoj procjeni te tehnički zahtjevi (prostor za senzorsku procjenu, protokol testiranja, vrijeme testiranja, postupci serviranja i pribor).

Prostor za senzorsku procjenu karakteriziraju temperatura i vlažnost prostorija, odgovarajuće osvjetljenje, lokacija, prostor za pripremu uzoraka, komunikacija između sudionika te udobnost tijekom testiranja. U većini slučajeva, prostor je idealno opisan kao tih i bez utjecaja koji bi odvlačili pažnju, s kontroliranim osvjetljenjem, pregradama između sudi-

onika kako bi se minimizirao vizualni kontakt, neutralnim bojama zidova i namještaja, te bez mirisa. Kao najbolje vrijeme testiranja preporuča se termin od 9:00 do 11:00 sati, ali može i do sat vremena prije jela te dva sata nakon jela. Posebna pažnja mora biti posvećena vizualnom izgledu uzorka, veličini i obliku uzorka te temperaturi serviranja. Općenito vrijedi pravilo da temperatura serviranja uzoraka treba biti kao kod konzumiranja. Pribor za serviranje uzoraka treba biti čist, bez mirisa i prilagođen hrani koja se servira. Sredstava za čišćenje nepca pomoći će u uklanjanju ostataka prijašnjih uzoraka iz usne šupljine te odmaranju osjetilnih stanica. U tu svrhu često se koristi pecivo ili kruh i voda (pri sobnoj temperaturi). U većini analitičkih senzorskih testova, gutanje se izbjegava te se uzorci izbacuju iz usne šupljine. Smatra se da to omogućuje manji utjecaj jednog proizvoda na drugi. Naravno, kod testiranja potrošača, gdje se mjeri i prihvatljivost proizvoda, učinci gutanja utječu na mišljenje potrošača o proizvodu. U tom slučaju, poželjno je imati ispitivače koji će progutati proizvod. Panelistima je prije početka rada potrebno dati jasne i koncizne verbalne upute uz one u pisanom ili elektronskom obliku na odgovarajućem obrascu za ocjenjivanje. Uzorci moraju biti randomizirani, odnosno moraju imati kodirane oznake s randomiziranim troznamenkastim kodovima.

Senzorska svojstva uzoraka hrane obično se zapažaju sljedećim redoslijedom: izgled, miris/aroma, konzistencija i tekstura, "flavour" (aroma, kemijski inducirani doživljaji, okus).



SLIKA 1. Ljudska osjetila i percepcija hrane (Rekha, 2011)

Tijekom gledanja, elektromagnetsko zračenje detektira se kroz kemijske promjene u stanicama. Snimljeni signal se pretvara putem signalne kaskade ovisne o G proteinu, što dovodi do hiperpolarizacije sekundarne osjetne stanice. To je rezultat smanjenja unutarstaničnih razina natrija i kalcija. Ovaj signal se prenosi do osjetnih aferentnih vlakana pomoću transmittera glutamata. Vid je jedino osjetilo u kojem se stanica hiperpolarizira kao odgovor na podražaj.

Tijekom slušanja, zvučni val se pretvara u električni signal kroz mehaničko kretanje sekundarnih osjetnih stanica. Otvaranje mehanosjetljivih ionskih kanala uzrokuje depolarizaciju stanica, uglavnom kroz priliv iona kalija u stanicu. Signal se zatim prenosi kao potencijal do neurona preko prijenosnika glutamata.

Miris je posredovan molekulama mirisa, koje predstavljaju kemijski signal. Ti se mirisi vežu na specifične receptore na

primarnim osjetilnim stanicama i pretvaraju podražaje u staničnu depolarizaciju putem signalne kaskade ovisne o G proteinu. Depolarizacija nastaje prilikom natrijevih i kalcijevih iona i odljevom kloridnih iona. Signal se prenosi kao akcijski potencijal do neurona.

Kada je riječ o okusu, okusi djeluju kao kemijski signali na sekundarne osjetne stanice. Postoje dva različita puta prijenosa signala. Aktivacija ionotropnih receptora dovodi do otvaranja kationskih kanala i povećava razinu iona u stanicama, uzrokujući depolarizaciju stanice. Aktivacija metabotropnih receptora uzrokovana je vezanjem molekula okusa i aktivira pridružene G proteine. Oni pokreću signalnu kaskadu koja rezultira povećanjem razine kalcija u stanici, uzrokujući njezinu depolarizaciju. Receptori okusa prenose svoj signal do aferentnih živčanih vlakana pomoću prijenosnika glutamata.

Osjetilo dodira otkriva mehaničke podražaje pomoću primarnih osjetnih stanica, koje imaju mehanoosjetljive kationske kanale. Njihovo otvaranje pozitivno polarizira unutrašnjost stanice, što dovodi do otvaranja naponskih ionskih kanala. To rezultira priljevom uglavnom iona natrija i kalcija u stanicu, uzrokujući depolarizaciju stanice. Stvara se akcijski potencijal koji se prenosi na neurone.

Međutim, tijekom procesa percepcije većina ili sva svojstva se preklapaju te osoba percipira niz simultanih senzorskih impresija koje bez odgovarajućeg treninga nije u mogućnosti neovisno procijeniti. Lanac senzorskog opažanja započinje kad neki stimulans podražuje osjetilni organ i podražaj se prevodi u živčani impuls koji putuje do centara u mozgu. S prijašnjim iskustvima u pamćenju, mozak tada interpretira, organizira i integrira pristizuću podražaje u percepcije. Konačno, formira se odgovor obzirom na percepcije ocjenjivača. Suočavajući se s činjenicom da ocjenjivači često bilježe različite odgovore na iste stimulanse, senzorski stručnjaci moraju razumjeti da razlike u zaključcima između dvoje ljudi mogu biti uzrokovane bilo razlikom u senzaciji koju zaprimaju zato što se njihovi osjetilni organi razlikuju obzirom na osjetljivost bilo razlikom u mentalnom procesiranju senzacije, na primjer zbog nedostatka znanja o dotičnom okusu, mirisu ili zbog nedostatka treninga u izražavanju onoga što osjećaju putem riječi ili numeričkih vrijednosti. Kroz trening i uporabu primjera, senzorski stručnjaci mogu pokušati oblikovati mentalni proces kako bi ocje-

njivači bilježili isti odgovor na dati stimulans.

Osnove odabira i treninga članova za senzorskog analitičara nalaze se u standardima Međunarodne organizacije za standardizaciju (*International Organization for Standardization - ISO*) te nacionalnih kao što su Američko društvo za testiranje i materijale (*American Society for Testing and Materials - ASTM*), Njemački institut za normizaciju (*Deutsches Institut für Normung - DIN*) i Britanski institut za standarde (*British Standards Institution - BSI*) pri čemu je uvijek potrebno voditi računa o novim inačicama standarda. Uvođenje panel grupe u organizaciju ovisi o potrebama za tim profilom u dotičnoj organizaciji, poslovođstvu organizacije, mogućnostima koje organizacija može pružiti (uvjeti u kojima se moraju provoditi senzorske analize). Pri tome kriteriji za odabir i trening panelista ovise o cilju istraživanja. Radna grupa iz područja razvoja i primjene, kontrole kvalitete i osiguranja kvalitete treba odlučiti je li je potreban panel za utvrđivanje sveukupnih razlika ili razlika u obilježjima, panel za potpun opis proizvoda ili prepoznavanje promjena u proizvodu tijekom vremena, panel za prepoznavanje promjena sastojaka ili prepoznavanje promjena tehnološke operacije ili pak panel za konstrukciju i interpretaciju anketa potrošača.

Odabir i trening za testove razlika započinje odabirom na koji se javljaju svi zainteresirani za taj posao, znajući što se očekuje od njih te osobe bez zdravstvenih ili drugih problema koji ih optereću-

ju. Seleksijski testovi se provode na uzorcima koje će kasnije panel grupa ocjenjivati, a pri tome se koriste senzorske metode koje će se kasnije koristiti tijekom rada.

Cilj testova je odrediti razliku između kandidata prema njihovoj sposobnosti prepoznavanja razlike između uzoraka (opisivanja razlika ako se koriste testovi razlika u obilježjima između uzoraka) i razlikovanja (i opisivanja s ljestvicom razlika u testovima razlika u obilježjima) razlike u intenzitetu ili jačini nekog obilježja. Selekcija se provodi kroz tri faze/stupnja pri čemu se koriste:

- testovi odabiranja/usporidivanja (*Matching tests*) za određivanje sposobnosti kandidata razlikovanja (opisivanje ako se to traži od njega) razlike između nekoliko podražaja prezentiranih prema intenzitetu kao razina osjetljivosti
- testovi prepoznavanja/razlikovanja (*Detection/discrimination tests*) koji se koriste za određivanje kandidatove sposobnosti prepoznavanja razlike između sličnih proizvoda (razlika u sastojcima ili parametrima procesa)
- testovi nizanja/svrstavanja (*Ranking/rating tests*) za određivanje sposobnosti kandidata razlikovanja svrstane razine intenziteta određenog obilježja. Primjenjuje se svrstavanje (položaj) na ljestvici ili nizanje.

Tijekom školovanja, a obavezno nakon, potrebno je periodički provođenje treninga sa senzorskim analitičarima. U sklopu treninga kandidatima se daju in-

strukcije o ponašanju (na primjer; upotreba parfema, jelo), ukazuje im se na psihičke predispozicije (hladnoća, glavobolja, pospanost), upoznaje ih se s pravilnim rukovanjem s uzorcima prije i tijekom procjene. Potrebno je voditi računa o njihovoj koncentraciji i razumijevanju cilja. Ponavljanja je potrebno provoditi s manjim razlikama, a kod razlika u obilježjima dobro ih terminološki opisati kao i ljestvicu po kojoj se radi. Potrebno je promatrati ponašanje kandidata kako bi se uočio eventualan gubitak interesa ili vanjski negativni utjecaji.

Odabir i trening kandidata za deskriptivne testove započinje vođa panela (preliminarne ankete) koji treba odrediti sposobnost svakog kandidata, razmotriti kandidatov interes, mogućnost prisustvovanja i zdravstvenu sposobnost, sposobnost prepoznavanja i opisivanja razlike te sposobnost prihvaćanja apstraktnog koncepta i stupnja pozitivnog mišljenja. Ciljevi i zadaci odabira/selekcije uključuju određivanje sposobnosti svakog kandidata na tri područja:

- za svako senzorsko svojstvo koje se ispituje (miris, okus, tekstura...) sposobnost prepoznavanja razlike u prezentiranom obilježju
- sposobnost opisivanja te značajke koristeći verbalne opise značajki ili metode ljestvice za razlike u intenzitetu
- kapacitet za apstraktno zaključivanje jer deskriptivna analiza uglavnom ovisi o korištenju referenci kad se značajka mora prizvati i primijeniti na druge proizvode.

Slijedi selekcija putem testova točnosti kojim pristupaju kandidati koji su u prethodnim testovima točno odgovorili na više od 80 % odgovora. Kandidati moraju pokazati sposobnost prepoznavanja i opisivanja značajki u kvalitativnom smislu te prepoznavanja i opisivanja intenziteta razlika u kvantitativnom smislu. Samo prepoznavanje nije dovoljno za deskriptivnog panelistu. Nastavak selekcije ide korištenjem testova nizanja/svrstavanja za deskriptivnu analizu koji predstavljaju eliminirajuće testove s proizvodima ili vrstama proizvoda i/ili senzorskim obilježjem za koje se senzorski analitičar obučava. Kandidati nižu ili svrstavaju brojne uzorke koristeći tehnike koje će i ubuduće koristiti kao panelisti. Osobni intervjui donose konačnu odluku o pogodnosti kandidata za grupni, dinamični, analitički pristup od strane vođe panela ili trenera. Trening uključuje razvoj terminologije, uvođenje u ljestvice, praksu/vježbe, uočavanje malih razlika među uzorcima, konačnu fazu treninga, a nakon svake faze treninga kandidat se upoznaje i diskutira o rezultatima, rješava probleme i nedoumice, pita za dodatne kvalitativne i kvantitativne reference, postupke procjene, tehnike nizanja (Stone i Sidel, 2004; Meilgaard i sur., 2007; Lawless i Heyman, 2010).

Pri izboru tehnike u senzorskim analizama potrebno je definirati cilj istraživanja i odabrati tip problema te između ponuđenih mogućnosti vidjeti koja je vrsta testa pogodna. Određeni problem uvijek zahtjeva temeljiti pristup prije nego se test uistinu realizira budući da

su testovi skupi i ne mogu se svi statistički interpretirati što može dovesti do neuspjeha u istraživanju.

Tipovi (vrste) problema koji se mogu susresti u senzorskim analizama uključuju razvoj novog proizvoda, takmičenje uzoraka, poboljšanje proizvoda, promjene u procesu i/ili proizvodnji, smanjenje cijene i/ili odabir novog dobavljača sirovina, kontrolu kakvoće, stabilnost tijekom skladištenja, stupnjevanje ili rangiranje uzoraka, potrošačko prihvaćanje i/ili mišljenje, potrošačku preferenciju, selekciju i trening panelista, korelaciju senzorskih i fizikalno-kemijskih testova. Sve navedeno može se riješiti korištenjem nekog od brojnih testova iz skupine testova razlika, opisnih testova i testova sklonosti.

Područje primjene testova razlika uključuje određivanja kojima se utvrđuje je li su se razlike u proizvodu pojavile uslijed promjene sastojaka, procesa proizvodnje, pakiranja ili skladištenja, te također određivanja kojima se utvrđuje je li sveopća razlika postoji kada nije određen parametar po kojem će se promatrati razlika, kao i testiranja kojima se provodi selekcija i trening panelista te promatra njihova sposobnost uočavanja razlike između uzoraka.

Test u trokutu (*triangle test*) primjenjuje se kada dva uzorka nisu vidljivo različita. Predstavlja jedan od najčešće korištenih testova razlika. Statistički je djelotvoran, međutim ponekad je pod utjecajem senzorskog zamora ili utjecaja pamćenja. U ispitivanju općenito sudjeluje 20 do 40 ispitivača, ali može i 5 do 8. Potreban je kratki trening.

TABLICA 1. Podjela metoda u senzorskoj procjeni (Lawless i Heymann, 2010)

Skupina testova	Test	Pitanje od interesa	Tip testa	Karakteristike panela
testovi razlika	test u trokutu duo-trio test test upoređenja u paru	da li su proizvodi različiti	“analitički”	provjereni na senzorsku oštrinu, orijentiran na ispitnu metodu, ponekad treniran
opisni testovi	kvantitativna deskriptivna analiza analiza profila teksture analiza profila arome/flavour	kako se proizvodi razlikuju u određenim senzorskim svojstvima	“analitički”	provjereni na senzorsku oštrinu i motivaciju, uvježbani i visoko uvježbani
testovi sklonosti	testovi preferencije testovi dopadanja	koliko se proizvodi sviđaju ili koji proizvodi se preferiraju	“hedonistički”	provjereni na proizvode, neuvježbani

Test “*dva od pet*” primjenjuje se kada se dva uzoraka očito vizualno ne razlikuju. Statistički je visoko djelotvoran. Test je dosta pod utjecajem senzorskog zamora i zbog toga mu je primjena ograničena na vizualne, zvukovne i taktilne primjene, a u njemu sudjeluje općenito 8 do 12 ispitivača, iako ih može biti i 5 te je potreban kratki trening.

Duo - trio test koristi se kada dva uzorka nisu vidljivo različita. Test je statistički slabo djelotvoran ali zato manje podložan senzorskom zamoru za razliku od trianga. Koristan je kada je proizvod dobro poznat ispitivačima pa može služiti kao referentni. U ispitivanju sudjeluje općenito 30 i više ispitivača, može i 12 do 15. Potreban je kratki trening.

Jednostavni test razlika primjenjuje se kada dva uzorka nisu vidljivo različita. Test je statistički slabo djelotvoran, ali

pogodan za uzorke koji su jakog ili dugotrajnog okusa, uzorke koji se primjenjuju na koži i uzorke koji vrlo složeno djeluju na osjetila zbunjujući ispitivača. U ispitivanju sudjeluje općenito 30 i više ispitivača, može i 12 do 15, a potreban je kratki trening.

Testovi razlika u obilježjima koriste se za određivanje je li ima ili nema razlike ili stupnja po kojem se dva ili više uzoraka međusobno razlikuju u jednoj određenoj karakteristici. To može biti jedna karakteristika poput slatkoće ili kombinacija nekoliko sličnih svojstava poput svježine, ili opće procjene poput preferencije. S izuzetkom preferencije, panelisti moraju biti pažljivo trenirani kako bi prepoznali odabrano svojstvo, a valjanost rezultata ovisi o razumijevanju i poštovanju pravila od strane panelista. Nepostojanje razlike u odabranom obi-

lježu ne znači da ne postoji sveukupna razlika. Ne zahtjeva se da se uzorci vizualno ne razlikuju već samo u odabranom obilježju koje se procjenjuje.

Test upoređivanja u paru predstavlja jedan od najčešće korištenih testova razlika obzirom na senzorsko obilježje. Pokazuje koji od dva uzorka ima izraženiju karakteristiku unutar testa (direktni test razlika) ili koji se od dva uzorka preferira (test preferencije u paru). Tijekom ispitivanja potrebno je 30 i više ispitivača, ali može i 15.

Jednostavan test nizanja kao i *rangiranje* koristi se za nizanje/rangiranje 3 do 6 uzoraka, ne više od 8 prema jednom svojstvu. Oba testa jednostavna su za izvođenje ali su rezultati djelotvorniji kod rangiranja. Dva uzorka male ili velike razlike u obilježju pokazat će istu razliku u nizu (npr. jedna jedinica niza). Nizanje je korisno kod preslagivanja ili promatranja uzoraka za neki detaljniji test. U ispitivanju sudjeluje općenito 16 i više ispitivača, ali može i 8. Rangiranje nekoliko uzoraka koristi se za rangiranje 3 do 6 uzoraka, ne više od 8 na brojačnoj skali intenziteta prema jednom obilježju. Zahtjev je da svi uzorci budu uspoređeni u jednom setu. Tijekom ispitivanja sudjeluje općenito 16 i više ispitivača, ali može i 8.

Područje primjene testova sklonosti uključuje testove preferenci u kojima je zadatak posložiti proizvode po preferenciji i testove prihvatanja u kojima je zadatak svrstati proizvod ili proizvode na ljestvici poželjnosti, te također testove otkrivanja obilježja u kojima je zadatak ni-

zati ili svrstati osnovna obilježja koja određuju preferenciju ili poželjnost proizvoda. Također, obzirom na statističku analizu, testovi preferenci i prihvatanja mogu se promatrati kao poseban slučaj testova razlika u obilježjima u kojima je obilježje interesa bilo preferencija ili stupanj prihvatanja. U praksi, ispitivači u testovima sklonosti imaju manje iskustva i složeni testovi tipa uravnoteženog nepotpunog bloka nisu pogodni. Testovi su jednako pogodni za prezentaciju u laboratoriju, kao testovi prihvatanja od strane zaposlenika ili za testiranje potrošača na centralnoj lokaciji ili u kući osim ako nisu na drugi način naznačeni.

Od testova preferencije najčešće se koristi *preferencija u paru* i daje odgovore na pitanja: "Koji uzorak preferirate?" te "Koji uzorak volite više?". Uključuje usporedbu 2 proizvoda.

Preferencija nizanjem zahtijeva poredak uzoraka po preferenciji. Uspoređuje se 3 do 6 proizvoda.

Hedonističko rangiranje predstavlja razne primjere hedonističkih skala (s 5, 7 ili 9 mogućih odgovora) i daje odgovore o stupnju dopadanja odnosno sviđanja nekog proizvoda.

Područje primjene *opisnih (deskriptivnih) testova* specifično je obzirom da su opisni testovi vrlo raznoliki, često dizajnirani ili modificirani za svaku pojedinu primjenu. *Metoda profila okusa* primjenjuje se u situacijama gdje se mora ocijeniti mnogo različitih uzoraka od strane nekoliko visoko uvježbanih ocjenjivača.

Profil teksture koristi se u situacijama gdje se mora ocijeniti po teksturi mnogo različitih uzoraka također od strane nekoliko visoko uvježbanih ocjenjivača.

Kvantitativna deskriptivna analiza (*Quantitative Descriptive Analysis - QDA*) primjenjuje se u situacijama kao što je osiguranje kvalitete u velikim kompanijama gdje se veliki broj uzoraka iste vrste mora ocijeniti dan za danom od strane dobro uvježbanog panela.

Vrijeme - intenzitet opisna analiza korisna je za uzorke u kojima se opaženi intenzitet okusa mijenja tijekom vremena nakon što je proizvod stavljen u usta (npr. gorčina piva, slatkoća umjetnih slatila).

Smatra se kako bi najprihvatljivija znanstvena strategija za senzorsku procjenu kvalitete trebala biti ona koja uzima u obzir dvije skupine podataka; rezultate

testova s potrošačima te rezultate treniranog panela senzorskih analitičara. Njihova povezanost može omogućiti određivanje senzorskih profila koji su na najbolji način prilagođeni konceptu kvalitete proizvoda na ciljanom tržištu, omogućujući velikim kompanijama uspostavu kontrolne aktivnosti, poboljšanje kvalitete i razvoj novih proizvoda (Stone i Sidel, 2004; Meilgaard i sur., 2007; Lawless i Heymann, 2010; Marković i sur., 2017).

Poznavajući senzorska svojstva hrane i osjetila kojim ih doživljavamo postavlja se pitanje mogu li potrošači percipirati potencijalne opasnosti u hrani te izbjeći konzumaciju hrane koja bi mogla naškoditi njihovom zdravlju?

Ranije navedene opasnosti u hrani mogu se jednostavnije prikazati i tablično.

TABLICA 2. Pregled opasnosti u hrani (Borchers i sur., 2010)

Podrijetlo	Skupina	Pojedinačne vrste/spojevi	Vrsta hrane
mikroorganizmi uzročnici bolesti koje se prenose hranom	bakterije	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>E. coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Vibrio</i> i <i>Yersinia</i>	sva hrana
	paraziti	<i>Cryptosporidium</i> , <i>Cyclospora</i> i <i>Giardia</i>	
	virusi	norovirus, rotavirus	
	toksini	paralitička (PSP), dijairetička (DSP), neurotoksična (NSP) i amnezijska trovanja školjkama (ASP)	dagnje, kamenice, rakovi, ostale vodene vrste
	mikotoksini	aflatoksini, ohratoksini, fusarijski toksini, patulin	kikiriki, kukuruz, pistacije, orašasti plodovi, žitarice uljarice, zrna kave, mahunarke, vino, meso peradi, voće (jabuke i sok jabuke)

Podrijetlo	Skupina	Pojedinačne vrste/spojevi	Vrsta hrane
tvari iz okoliša	teški metali	Pb, As, Hg, Cd	
	organoklorni spojevi	razni pesticidi (DDT, DDE) iz skupine organoklornih spojeva	
	dioksini i njima slični spojevi	poliklorirani dibenzofurani (PCDF) i dibenzodioksini (PCDD), PCB i polibromirani bifenili (PBB) i poliklorirani naftaleni	meso, perad, riba, povrće, masti/ulja, jaja, mliječni proizvodi
tvari iz proizvodnog procesa	hormoni		meso, mlijeko, jaja
	ostatci antibiotika i vet. lijekova		
ostatci pesticida	organofostafni pesticidi		
tvari nastale tijekom proizvodnje i kuhanja hrane	policiklički aromatski ugljikovodici	benzo(a)piren	dimljeno meso, meso s roštilja
	heterociklički aromatski amini		grijani mesni proizvodi
	nitrozo spojevi	N-nitrozamin, N-nitrozamid	reakcije nitrata i nitrita u hrani sa sekundarnim aminima
	akrilamid		kruh, keksi, krekeri, žitarice, kava...
	akrolein		ulje zagrijano iznad 180°C
	furan		toplinski obrađena hrana, kava, čili, žitarice, slane grickalice, mesne juhe...
	kloropropanoli	3-MCPD	soja umak, tostirani kruh, sir na žaru, pržena tijesta
tvari iz ambalaže	ftalati		sva upakirana hrana
	bisfenol A		
	semikarbazid		
alergeni iz hrane	proteini	imunološke reakcije na proteine najčešće IgE-posredovane	kravlje mlijeko, kokošja jaja, kikiriki, soja, pšenica, orašasti plodovi, ribe, školjke
GMO	GM usjevi, GM životinje		kukuruz, soja, repica, krumpir, šećerna repa, krušna pšenica
nanomaterijali			

Kao što je vidljivo iz tablice, opasnosti su brojne, ali nažalost samo se mikrobiološka kontaminacija odnosno kvarenje hrane uzrokovano bakterijama, kvascima i plijesnima može senzorski

detektirati te time spasiti potrošača od bolesti uzrokovanih pokvarenom hranom koje mogu biti na razini probavnih smetnji, ali i sa smrtnim ishodom (Doyle, 2007).

TABLICA 3. Senzorska detekcija kvarenja nekih sirovina i prehrambenih proizvoda

Vrsta namirnica	Senzorsko svojstvo	Opis
sirovo meso	boja	blijeda, tamno smeđa, crvene, plave, zelene, smeđe-crne točke
	tekstura	ljepljiva, sluzava, ljigava, raspada se
	miris	neugodan miris, miris na kiselo (od ogranskih kiselina), ranketljiv (lipidna oksidacija)
	okus	nepoželjan okus, kiseo
trajni suhomesnati proizvodi	izgled	površinske nakupine plijesni različitih boja, bijele, sive, crne, zelene...
	miris	na trulež
	tekstura	mekana, gnjecava
	okus	kiseo, ranketljiv
mlijeko	okus	kiseo, gorak
sir	boja	tamnija, diskoloracija, plave, crvene, bijele točkice
	miris	na amonijak, oštar, ranketljiv, na maslačnu kiselinu, pljesniv, miris na zemlju
	okus	kiseo, ranketljiv, gorak, na trulež, neugodan
	tekstura	mrvičasta, kašasta, suha, ljigava, masna, zrnata na kori, pucanje kore
riba	boja	koža mat boje, pojava diskoloracije, oči mutne, škrge tamnocrvene do smeđe, mutna sluz na koži
	izgled	oči upale, nepravilnog oblika, škrge sluzave, ljuske otpadaju
	tekstura	meso mekano, neelastično, unutarnji organi se raspadaju
	miris	nema više mirisa na morske trave i ribu
voće, povrće	boja/izgled	prozirna opna, mrlje na površini, dimne mrlje
	tekstura	degradacijom pektina tkivo mekša do stadija ljigave mase
	miris	razgradnjom šećera i škroba razvija se neugodan miris
	okus	neugodan, kiseo, na etanol
kruh, pekarski proizvodi	boja	točkaste crne, zelene, bijele ili ružičaste mrlje
	miris	neprijatan, na kiselo, na ocat, na pivo
	okus	stran, neugodan
	tekstura	tvrda ili vlažna, nitasta

Vrsta namirnica	Senzorsko svojstvo	Opis
jaja	izgled	mrlice, trulež
	boja	zeleno, bezbojna, crna, ružičasta, crvena
	miris	nedostaje miris, voćni ili slatkasti, na sumporov dioksid, na amonijak
orašasti plodovi	izgled	vidljive plijesni
	okus	ranketljiv (lipidna oksidacija)
	miris	ranketljiv

Senzorska procjena potrošača u otkrivanju kvarenja u hrani

Senzorska svojstva pri procjeni pokvarene hrane uglavnom su boja, okus, miris i tekstura pri čemu se naravno mora voditi računa treba li uopće nešto što već vizualno izgleda pokvareno i probati, a neka kvarenja kod kojih se razvijaju i spore nije poželjno čak niti mirisati.

Slijedi tabelarni prikaz senzorskih svojstava koja upućuju na kvarenje različitih skupina namirnica te samih sirovina biljnog i životinjskog podrijetla, na temelju brojnih podataka iz literature (Brar i Danyluk, 2018; Alegbeleye i sur, 2022; Thapa Magar, 2021a; Thapa Magar, 2021b; Thapa Magar, 2021c; Thapa Magar, 2021d; Thapa Magar, 2022; QAssurance, 2022d; QAssurance, 2022e; QAssurance, 2022f; QAssurance, 2022g; QAssurance, 2022h; QAssurance, 2022i).

Sve navedeno može percipirati svaki potrošač bez obzira što ne zna uzrok uočenih promjena na hrani.

Umjesto zaključka

Sigurnost hrane i kvaliteta hrane, dva su najvažnija aspekta svakog okruženja u kojem se rukuje hranom pri čemu sigurnost štiti potrošače, kvaliteta ih čini sretnima, a oboje zajedno proizvođače štite od mogućih problema.

Da bi se osigurala kvaliteta i prihvatljivost nekog prehrambenog proizvoda objektivni analitički testovi u rangu su sa senzorskom procjenom, znanstvenom disciplinom koja daje objektivne i pouzdane rezultate samo ako je provedena od strane školovanog panela, pod odgovarajućim tehničkim uvjetima i uz korištenje standardnih metoda.

Literatura

1. ACS (2018) *The Difference between Food Safety and Food Quality Explained*. <https://ascconsultants.co.za/the-difference-between-food-safety-and-food-quality-explained>. Pristupljeno 23. siječnja 2024.
2. ALEGBELEYE, O., ODEYEMI, O. A., B C, STRATEVA, M., STRATEV, D. (2022) Microbial spoilage of vegetables, fruits and cereals. *Applied Food Research* 2, 100-122.
3. ANONYMUS (2023) *FOOD QUALITY VS FOOD SAFETY*. <https://www.olanabconsults.com/articles/food-quality-vs-food-safety>. Pristupljeno 23. siječnja 2024.
4. Australian Institute of Food Safety (2019) *What is Food Safety?* <https://blog.foodsafety.com.au/what-is-food-safety>. Pristupljeno 19. siječnja 2024.
5. Australian Institute of Food Safety (2022) *Perishable Food Spoilage and How to Spot It*. <https://blog.foodsafety.com.au/perishable-food-spoilage>. Pristupljeno 23. siječnja 2024.
6. BORCHERS, A., TEUBER, S. S., KEEN, K. L., GERSHWIN, E. (2010) Food Safety. *Clinic Rev Allerg Immunol* 39, 95–141.
7. BRAR, P. K., DANYLUK, M. D. (2018) Nuts and grains: microbiology and preharvest contamination risks. *Microbiology Spectrum* 6, 1-12.
8. CARDELLO, A. V., (1995) Food quality: Relativity, context and consumer expectations. *Food Quality and Preference* 6, 163-170.
9. CDC (2023) *Four Steps to Food Safety: Clean, Separate, Cook, Chill*. <https://www.cdc.gov/foodsafety/keep-food-safe.html>. Pristupljeno 19. siječnja 2024.
10. DOYLE, M. E. (2007) *Microbial Food Spoilage – Losses and Control Strategies*. FRI BRIEFINGS University of Wisconsin-Madison, July, 1-16.
11. EC (2023) *Food Safety*. https://food.ec.europa.eu/safety_en. Pristupljeno 19. siječnja 2024.
12. FoodSafety.gov (2023) *4 Steps to Food Safety*. <https://www.foodsafety.gov/keep-food-safe/4-steps-to-food-safety>. Pristupljeno 19. siječnja 2024.
13. INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS “Sensory Evaluation Guide for Testing Food and Beverage Products,” *Journal of Food Science*, 1981, pp. 50-59.
14. LAWLESS, H.T., HEYMANN, H. (2010) *Sensory evaluation of food: principles and practices* (2. izd.), Springer, New York, Dordrecht, Heidelberg, London.
15. MARKOVIĆ, K., VAHČIĆ, N., HRUŠKAR M. (2017) *Senzorske analize hrane*. Interna skriptu Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.
16. MEILGAARD, M., CIVILLE, G. V., CARR, B. T. (2007) *Sensory Evaluation Techniques* (4. izd.), CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton/London/New York.
17. MIHAFU, F. D., ISSA, J. Y., KAMIYANGO, M. W. (2020) Implication of Sensory Evaluation and Quality Assessment in Food Product Development: A Review. *Curr. Res. Nutr Food Sci Jour.*, Vol. 8, 690-702.
18. QAssurance (2022a) *Pathogenic bacteria: HACCP hazard table overview*. <https://www.qassurance.com/haccp-hazard-table-pathogenic-bacteria/>. Pristupljeno 23. siječnja 2024.
19. QAssurance (2022b) *Parasites Information Sheets*. <https://www.qassurance.com/parasites-information-sheets/>. Pristupljeno 23. siječnja 2024.
20. QAssurance (2022c) *Biotoxin information sheets*. <https://www.qassurance.com/biotoxin-information-sheet/>. Pristupljeno 23. siječnja 2024.
21. QAssurance (2022d) *Meat, wild and poultry products: Hazard overview*. <https://www.qassurance.com/meat-wild-poultry-hazards-haccp/>. Pristupljeno 26. siječnja 2024.
22. QAssurance (2022e) *Milk and Dairy products: Hazard overview*. <https://www.qassurance.com/dairy/>. Pristupljeno 26. siječnja 2024.
23. QAssurance (2022f) *Fish, crustaceans and molluscs: Hazard overview*. <https://www.qassurance.com/fish-crustaceans-molluscs/>. Pristupljeno 26. siječnja 2024.
24. QAssurance (2022g) *Potatoes, vegetables and fruit: Hazard overview*. <https://www.qassurance.com/potatoes-vegetables-fruit/>. Pristupljeno 26. siječnja 2024.

-
25. QAssurance (2022h) *Cereals, Nuts and Seeds: Hazard overview*. <https://www.qassurance.com/cereals-and-nuts/>. Pristupljeno 26. siječnja 2024.
 26. QAssurance (2022i) *Egg & Egg products: Hazard overview*. <https://www.qassurance.com/egg-egg-products/>. Pristupljeno 26. siječnja 2024.
 27. REKHA R., DHARAIYA C.N. *Relationship between Sensory and Instrumental Measurement of Texture*. National Seminar on Paradigm shift in Indian Dairy Industry, Anand, India, May 2011.
 28. STONE, H., SIDEL, J.L. (2004) *Sensory Evaluation Practices* (3. izd.), Elsevier Academic Press, San Diego, California, SAD.
 29. THAPA MAGAR, S. (2021a) *Microbial spoilage of meat and meat products*. <https://microbenotes.com/microbial-spoilage-of-meat-and-meat-products/>. Pristupljeno 29. siječnja 2024.
 30. THAPA MAGAR, S. (2021b) *Microbial spoilage of fish and fish products and its preservation*. <https://microbenotes.com/microbial-spoilage-of-fish-preservation/>. Pristupljeno 29. siječnja 2024.
 31. THAPA MAGAR, S. (2021c) *Microbial spoilage and preservation of cereal and cereal products*. <https://microbenotes.com/spoilage-cereal-products/>. Pristupljeno 29. siječnja 2024.
 32. THAPA MAGAR, S. (2021d) *Microbial spoilage of egg and egg products*. <https://microbenotes.com/microbial-spoilage-of-egg-and-egg-products/>. Pristupljeno 29. siječnja 2024.
 33. THAPA MAGAR, S. (2022) *Microbial Spoilage of Milk and Milk Products (Cream, Butter, Cheese, Yoghurt, Ice-cream)*. <https://microbenotes.com/spoilage-of-milk-and-milk-products/>. Pristupljeno 29. siječnja 2024.
 34. USDA (2023) *Food Safety*. <https://www.fsis.usda.gov/food-safety/>. Pristupljeno 19. siječnja 2024.
 35. WHO (2022) *Food safety*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Pristupljeno 19. siječnja 2024.

Glifosat oko nas

Marija Denžić Lugomer*

*dr. sc. Marija Denžić Lugomer, dipl.ing.kemije, Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci, Laboratorij za analitičku kemiju i rezidue

E-mail: denzic.vzk@veinst.hr

Uvod

Većina se poljoprivrednih kultura tijekom uzgoja, po nekoliko puta, tretira različitim vrstama pesticida, te je stoga vrlo vjerojatno da će ostatci pesticida zaostati na tretiranim poljoprivrednim kulturama. Široka uporaba pesticida na poljoprivrednim kulturama uzrokuje ostajanje pesticida u hrani čak po nekoliko mjeseci nakon uporabe, kao i kontaminaciju okoliša (zraka, površinskih voda, izvorskih voda i tla) (Knežević i sur., 2010.). Broj pesticida, odnosno aktivnih tvari koje se mogu primjenjivati u proizvodnji hrane, sve je veći te se procjenjuje da je u uporabi više od 1000 vrsta pesticida koji se mogu svrstati u 126 različitih kemijskih skupina. Prema biološkom djelovanju dijele se na: algicide, akaricide, fungicide, herbicide, insekticide, nematocide, regulatore rasta, rodenticide i dr., a najviše upotrebljavan herbicid je glifosat.

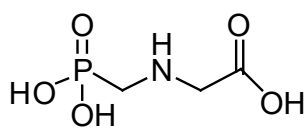
Eksponencijski porast upotrebe glifosata kroz godine također je donio povećanu zabrinutost zbog njegove moguće toksičnosti i mogućih posljedica za ljudsko zdravlje. Glifosat se intenzivno primjenjuje na usjevima, a njegovi se osta-

ci često detektiraju u okolišu, posebice u biljkama, tlu, vodi, prehrambenim proizvodima te također u ljudskom urinu. Posljedično, porasla je zabrinutost unutar znanstvene zajednice o potencijalnom utjecaju koji ovaj herbicid i njegovi metaboliti mogu imati na okoliš i ljude.

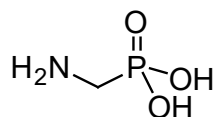
Ovaj pregledni rad ima za cilj predložiti podatke o ostacima glifosata iz regulatornih tijela i izvješća mnogih grupa, kako recenziranih tako i iz medija, uključujući njegove ostatke u okolišu, hrani, ali i ljudima, te njegovu utjecaju na ljudsko zdravlje.

Herbicid glifosat

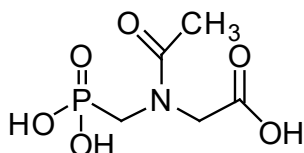
Glifosat, odnosno N-(fosfonometil)-glicin, je najprodavaniji herbicid diljem svijeta koji se koristi kao arboricid za suzbijanje jednogodišnjih i višegodišnjih uskolisnih i širokolisnih korova, višegodišnjih zeljastih te drvenastih korova s dubokim korijenom u vinogradima, voćnjacima, šumskim nasadima, na strništima i nepoljoprivrednim površinama (Slika 1).



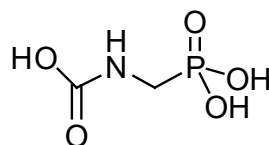
Glifosat



AMPA



N-acetil-glifosat



N-acetil-AMPA

SLIKA 1. Kemijska struktura glifosata i njegovih metabolita

Kemijski spoj koji spada u skupinu amino kiselinskih pesticida prvi je puta sintetiziran u maloj švicarskoj farmaceutskoj tvrtki, međutim prvi puta je testiran kao herbicid od strane John E Franza iz Monsanto grupe u 1970-tima (Duke i Powels, 2008.). Njegova popularnost kao neselektivnog herbicida raste te prema podacima iz 2018. g. zauzima više od 60 % na globalnom tržištu pružajući širok spektar djelovanja (Melo i sur., 2018.). U Velikoj Britaniji glifosat je najkorišteniji herbicid u uzgoju žitarica i u proizvodnji voća. U Danskoj 35 % svih korištenih herbicida otpada na glifosat (Šajina, 2013.). Procjenjuje se da se 39 % poljoprivrednih površina u Njemačkoj tretira glifosatom, a najviše u poljima uljane repice, pšenice i ječma. Francuska, Mađarska i Rumunjska tretiraju 50-60 % suncokreta glifosatom prije žetve. Podatci pokazuju da je diljem svijeta u 2011. godini potrošeno preko 650 000

tona glifosata, a potrošnja je u kontinuiranom porastu (Benbrook, 2016.). Upotreba glifosata na globalnoj razini povećana je za gotovo 15 puta od kada su 1996. g. uvedeni genetski modificirani usjevi otporni na glifosat. Procjenjuje se da je u razdoblju od 1974. do 2014. g. u Sjedinjenim Američkim Državama, samo unatrag zadnjih deset godina raspršeno dvije trećine ukupne količine glifosata. Prema analizi podataka Fitosanitarnog informacijskog sustava glifosat je najprodavaniji pesticid u Hrvatskoj (Ostojić i sur., 2018.). U razdoblju 2012.-2017. u Hrvatskoj je prodano 217-300 t glifosata, što čini 12-15 % svih pesticida ili 27-37 % svih herbicida. Na popisu Ministarstva poljoprivrede u Republici Hrvatskoj sa datumom 19.12.2023. registrirano je 27 sredstva za zaštitu bilja sa glifosatom kao aktivnom tvari: Boom efekt, Cidokor plus, Roundup rapid, Satellite, Glifokor 360 TF, Her-

kules, Karda, Gallup super 480, Barbarian Xtra 610, Resolva 24H, Glyfoon 480, Galaxia max, Total up, Glyphogan, Rodeo Plus, Coctel gold, Singlif, Glister ultra, Nasa, Barbarian xtra 610, Gallup super 480, Catamaran 360, Roundup bioactive, Ouragan system 4, Roundup future, tartan super 360, Clinic xtreme (FIS, 2023.).

Nakon što je Europska komisija 20. rujna 2023. predložila produljenje odobrenja za korištenje glifosata za 10 godina, o tom je prijedlogu 13. listopada 2023. glasalo 27 država članica Europske unije, a dogovor nije postignut. Austrija, Hrvatska i Luksemburg glasale su protiv, Njemačka, Francuska, Belgija, Nizozemska, Bugarska i Malta suzdržale su se, a sve ostale zemlje članice glasale su za obnavljanje dozvole za korištenje glifosatu. Komisija je uputila Uredbu Odboru za žalbe koji se sastao 16. studenog 2023. Odbor za žalbe nije dao mišljenje (tj. nije bilo kvalificirane većine ni za ni protiv prijedloga Komisije). Dana 28. studenog 2023. Europska komisija donijela je Provedbenu uredbu za obnavljanje, na 10 godina, odobrenja glifosata. To je u skladu sa zakonodavstvom EU-a koje obvezuje Komisiju da usvoji provedbenu uredbu kada se u Stalnom odboru i Odboru za žalbe ne postigne kvalificirana većina, bilo za ili protiv, kao u slučaju glifosata. Provedbena uredba objavljena je u Službenom listu EU 29. studenog 2023. pod oznakom 2023/2660 (Provedbena uredba, 2023.).

Kod životinja i biljaka, glifosat je vrlo slabo metaboliziran sa glavnim metaboli-

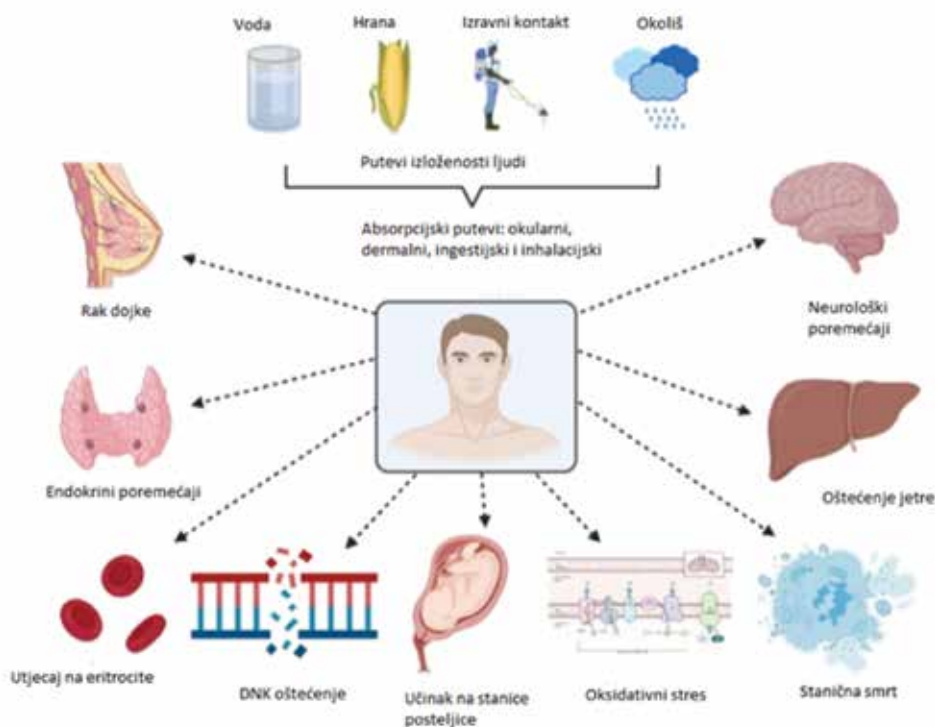
tom aminometilfosfonskom kiselinom (AMPA) (EFSA, 2017.). Ostali mogući metaboliti su acetamidometilfosfonska kiselina (N-acetil-AMPA) i N-acetil-(fosfonometil)glicin (N-acetil- glifosat). Na slici 1. prikazane su kemijske strukture glifosata i njegovih metabolita. Kod konvencionalnih biljaka i genetski modificiranih (GM) usjeva koji sadrže CP4-EPSPS (eng. 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) Synthase) modifikaciju, glavna komponenta ostataka je nepromijenjen glifosat, dok u usjevima koji sadrže glukoza oksidazu (eng. Glucose oxidase, GOX) AMPA je prisutna u jednakim ili većim količinama u usporedbi s glifosatom. Za GM biljke koje sadrže glicin N-fenilacetiltransferazu (akronim GAT) modifikaciju, glavninu ostataka čini metabolit N-acetil-glifosat nastao djelovanjem GAT enzima. Osim toga, metabolit N-acetil-AMPA, koji nije uočen u konvencionalnim kulturama, također je identificiran kao značajan metabolit. U Europskoj uniji glifosat je odobren za primjenu na širokom rasponu konvencionalnih usjeva, odobreno je svega nekoliko uvezenih GM kultura otpornih na glifosat, dok GAT-modificirane kulture trenutno nisu prisutne na tržištu Europske Unije.

Glifosat kod ljudi

Glifosat djeluje sprečavanjem metaboličkog puta šikiminske kiseline koja je dio procesa važnoga za opstanak biljaka. Smatralo se da ovaj mehanizam ne postoji kod ljudi (Samsel i Seneff, 2013.). Međutim, sada je poznato da šikimatski

put postoji kod ljudi u regulaciji bakterija u crijevima, a ove crijevne bakterije su od vitalnog značaja za ljudski imunološki sustav. Istraživanja pokazuju povezanost glifosata s velikim brojem rakova kod ljudi, uključujući i ne-Hodgkinovog limfom i multipli mijelom (Eriksson i sur., 2008.). Pokazalo se da također da utječe na ljudske receptore estrogena, te da uzrokuje proliferaciju hormonski ovi-

snog raka dojke kod ljudi (Thongprakaisang i sur., 2013.). Osim potrošača ili potencijalnih potrošača, postoji posebna zabrinutost za one koji rukuju pesticidima. Istraživanje triju generacija vodenih puževa pokazalo je da kod treće generacije glifosat imao štetne učinke na reprodukciju i razvoj, što bi također moglo imati implikacije i za ljude (Tate i sur., 1997.).



SLIKA 2. Učinci na ljudsko zdravlje nakon konzumacije vode i hrane, izravnog kontakta i izloženosti okolišu, a posljedično i absorpcije (Slika preuzeta iz rada Rivas-Garcia i sur., 2022.).

Javlja se sve veća zabrinutost u vezi sigurnosti herbicida na bazi glifosata od strane znanstvenika i ekologa. Novija

istraživanja govore, naime, kako je glifosat sveprisutan oko nas te ga je moguće pronaći u krvi, mlijeku dojilja, urinu,

vodi, okolišu..(Krüger i sur., nepoznata godina i 2014., Bus, 2015., Honeycutt i Rowlands, Steinborn i sur., 2016., Hosseini Bai i Ogbourne, 2016., Conrad i sur., 2017.) Proučavan je utjecaj glifosata i herbicida na bazi glifosata na ljudsko zdravlje što je ukratko sažeto na Slici 2. (Rivas-Garcia i sur., 2022). Dostupna literatura iz laboratorijskih studija ukazuje

na neslaganje oko utjecaja glifosata i herbicida na bazi glifosata na ljudsko zdravlje, a varijacije u rezultatima vezane su uz mnoge varijable kao što su metodologija, doza i vrijeme izlaganja, formulaciji glifosata i tipu stanice. Tablica 1 prikazuje učinke glifosata i herbicida na bazi glifosata na ljudske *in vitro* stanične kulture.

TABLICA 1. Učinci glifosata i herbicida na bazi glifosata na ljudske *in vitro* stanične kulture (preuzeto iz rada Rivas-Garcia i sur., 2022.)

Vrsta ljudske stanice	Doza glifosata ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Vrijeme izlaganja (h)	Procijenjeni učinci
Krvne	0,500	52	Mutagenost, citotoksičnost, DNK oštećenje, hemoliza, aktivnost acetil kolinesteraze
Epitelne	0,300	18	Oksidativni stres, oštećenje stanice, genotoksičnost
Embrionalne	0,450	24	Oštećenje stanice, toksičnost, ednokrina disrupcija
Pluripotentne matične stanice	0,100	48	Krvno-moždana barijera
Bubrežne	0,600	24	Vitalnost stanica, apoptoza
Jetrene	0,540	24	Transkriptomske promjene, genotoksičnost, oksidativni stres, DNK oštećenje
Dojke	0,100	48	Endokrina disrupcija, toksičnost, DNK oštećenje
Jajnici	0,500	72	Abnormalni rast
Plućne	0,540	24	Vitalnost stanice
Neuorološke	0,540	24	Toksičnost, DNK oštećenje
Sperma	0,36	1	Vitalnost stanice, DNK fragmentacija

U istraživanju Krüger i sur. (2014) pronađena je srednja koncentracija glifosata u urinu, od oko 1 ppb, kod ljudi koji konzumiraju pretežno organsku hranu koncentracija je bila značajno niža nego u

urinu ljudi koji konzumiraju konvencionalnu hranu. Također, glifosat u mokraći općenito zdrave populacije bio je značajno niži nego u urinu kronično oboljele populacije. Koliko je sveprisutan,

možda najzornije dočarava nedavno istraživanje grupacije Zelenih/ESS-a među zastupnicima u Europskom parlamentu. Testiranjem uzoraka urina na prisutnost glifosata dokazali su njegovu prisutnost u mokraći svih 48 zastupnika iz 13 država članica EU, koji su dobrovoljno sudjelovali u provedenom istraživanju, među kojima je bio i hrvatski zastupnik (Krüger i sur., nepoznata godina). Kao četvrti na toj listi i jedini iz RH koji se testirao, on je imao $2,46 \mu\text{g L}^{-1}$, četiri Talijana najviše – u prosjeku 2,84, dok je najniža razina zabilježena kod zastupnika iz Češke Republike, Finske, Irske i Velike Britanije – manje od 1.

U prosjeku, svih 48 eurozastupnika u testiranom je urinu imalo $1,7 \mu\text{g L}^{-1}$ što je 17 puta viša razina od europske norme za pitku vodu ($0,1 \mu\text{g L}^{-1}$) što je vjerojatno posljedica nekontrolirane primjene glifosata.

Na temelju nezavisnog istraživanja ostataka glifosata u mlijeku dojilja u SAD-u koje je ukazalo na prisutnost glifosata u koncentracijama od 76 do $166 \mu\text{g L}^{-1}$ u 3 od 10 uzoraka (Bus, 2015., Honeycutt i Rowlands, nepoznata godina) provedeno detaljnije istraživanje u Njemačkoj na čak 114 uzoraka mlijeka dojilja, a niti u jednom uzorku nije detektiran glifosat (Steinborn i sur., 2016.).



SLIKA 3. Putevi izloženosti ljudi glifosatu (slika preuzeta iz rada Reynoso i sur., 2020.).

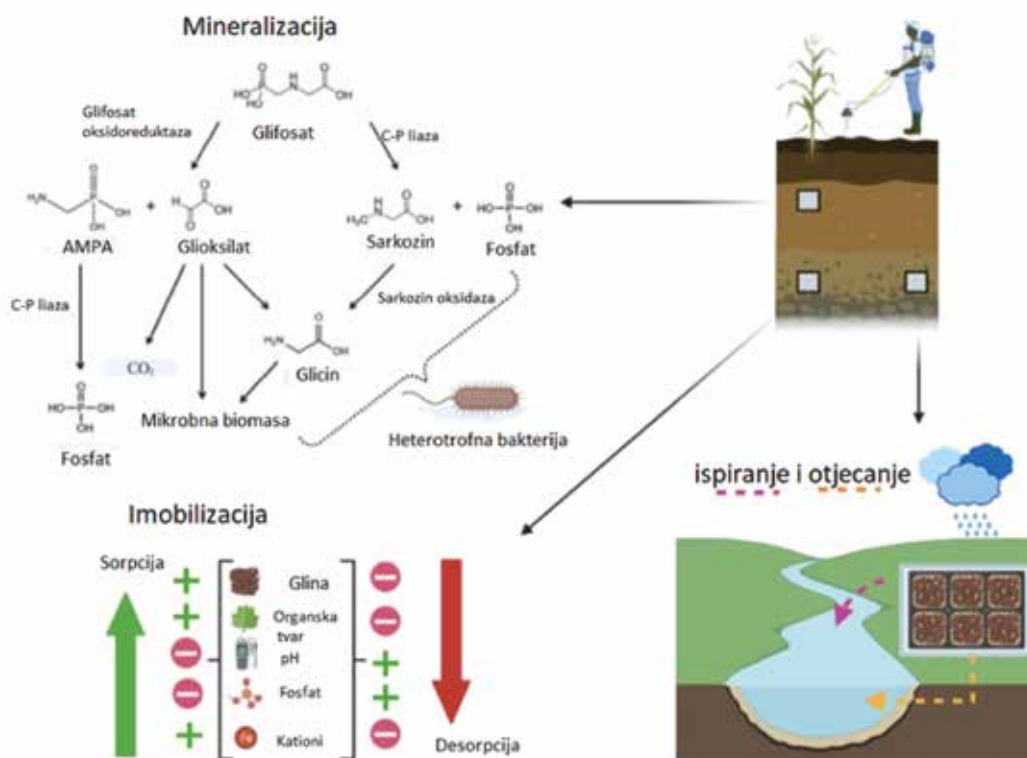
Iz koncentracija glifosata u ostacima hrane, monitoringu okoliša i bioloških tekućina, poput urina ili majčinog mlijeka, moguće je procijeniti izloženost ljudi zagađivalima prisutnih u okolišu. Putevi izlaganja različiti su ovisno o čovjekovoj aktivnosti i dijelovima okoliša (Slika 3), te stoga primjerice kod ljudi koji nisu poljoprivrednici, glavni put izloženosti je konzumacija kontaminirane hrane i vode. Na slici 3. prikazani su putevi izloženosti ljudi glifosatu. Od primjene glifosata (1) kod biljaka (2), glifosat može prijeći u različita okruženja i izložiti stanovništvo unosom kontaminirane biljne hrane i životinja za prehranu ljudi koje jedu biljke s glifosatom. Udio primijenog glifosata dopijeva u tlo (3) i kroz otjecanje i ispiranje (4) može dospjeti u površinske vode (5), kao npr. rijeke i jezera, te podzemne vode (6). Površinska voda (5) koristi se za navodnjavanje usjeva (2), ishranu stoke i kućanske aktivnosti, stoga je izloženost putem konzumacije životinja i biljaka te uzimanjem hrane i dermalnom absorpcijom. Infiltracijom (7) onečišćena površinska voda dopijeva u podzemnu vodu (6) pri čemu dolazi do izloženosti ljudi konzumacijom takve vode, (8), konzumacijom hrane oprane vodom (9) i dermalnom absorpcijom kupanjem. Konačno, aerosoli glifosata (10) također mogu predstavljati potencijalni zdravstveni rizik inhalacijom ili dermalnom absorpcijom nakon taloženja (11) ili sedimentacije (Reynoso i sur., 2020.).

Glifosat u okolišu

Glifosat se obično nanosi prskanjem tako da se visok postotak taloži izravno na tlo. Raspršivanje u druge dijelove okoliša (vodu, biljke i atmosferu) i konačno odredište ovisit će uglavnom o njegovoj interakciji s komponentama tla.

Nakon primjene, glifosat se može biotransformirati u tlu mineralizacijom, imobilizacijom ili ispiranjem; međutim, ne može se značajno ispariti zbog svog visokog tlaka pare (Slika 4) (Rivas-Garcia i sur., 2022.). Mineralizacija je glavni mehanizam razgradnje koji uključuje biotičke i abiotičke puteve, s AMPA-om kao glavnim metabolitom ali i drugim metabolitima kao što su metil fosfonska kiselina $[\text{CH}_3\text{P}(\text{OH})_2]$, sarkozin ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$), glicin, fosfat (PO_4^{3-}), ugljikov dioksid (CO_2) i amonijak (NH_3). Mikrobijalna aktivnost koja potiče mineralizaciju glifosata ovisi o čimbenicima kao što su fizikalno-kemijske karakteristike tla, temperatura, pH i sadržaj organske tvari. Tako, visoke razine organskog ugljika i organske tvari imaju tendenciju da budu korisne za okoliš tako što odgađaju ispiranja i potiču njihovu sporu razgradnju i otpuštanje u tlo. Međutim usprkos tome, prekomjerno taloženje glifosata moglo bi zadesiti kapacitet tla i odgoditi ispiranje i njegovu postupnu mineralizaciju. Neki spojevi u tlu, kao što je manganov oksid (MnO_2), potiču abiotsku razgradnju glifosata.

Glifosat se može biotransformirati u tlu imobilizacijom i ispiranjem. Imobilizaci-



SLIKA 4. Ponašanje i sudbina glifosata u okolišu (Slika preuzeta iz rada Rivas-Garcia i sur., 2022.).

ja glifosata događa se prirodno brzo, a na nju utječu organska tvar, dostupnost minerala, glina i koncentracija fosfata. Unatoč tome što je glifosat imobiliziran visokim afinitetom tla, čimbenici poput koncentracije, prevalencije i brzine mineralizacije su odrednice za njegovo ispiranje. Količina oborina i struktura tla također su odlučujuće za ispiranje. Glifosat može doseći vodeni sediment ili vodenu površinu bilo u otopljenom obliku ili u obliku čestica. Ispiranje je rastuća zabrinutost jer zagađuje vodu. Glifosat ulazi u vodena tijela i otjecanjem, ali rijetko izravnom primjenom.

Budući da je AMPA pokretljivija, nalazi se u višim koncentracijama ispiranjem.

Zbog velike uporabe i lošeg zbrinjavanja otpada, ovaj herbicid je široko rasprostranjen u vodenom okolišu poput podzemnih i površinskih voda diljem svijeta; količine u tragovima zabilježene su u Australiji (1,1 $\mu\text{g L}^{-1}$), Kanadi (0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$), Francuskoj (5,9 $\mu\text{g L}^{-1}$) i Argentini (2 $\mu\text{g L}^{-1}$) (Reynoso i sur., 2020). U Meksiku prisutnost glifosata u vodi prijavljena je za 2 grada- Campeche (1,7 $\mu\text{g L}^{-1}$) i Chiapas (18,4 $\mu\text{g L}^{-1}$). U pitkoj vodi najveća zakonski dopuštena granica ovisi o za-

konodavstvu svake zemlje. Tako primjerice u Kanadi i Argentini iznosi $280 \mu\text{g L}^{-1}$, u Australiji $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, u Europskoj uniji $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, $700 \mu\text{g L}^{-1}$ u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) i Kini, a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ u Meksiku. Ovaj nesrazmjer među različitim zemalja je zbog zakonodavstva o korištenju genetski modificiranih organizama (GMO), a također i zbog broja hektara tla na kojima se herbicid primjenjuje.

Glifosat u hrani

FAO (eng. Food and Agriculture Organisation of the United Nations) je 2005. g. izvijestio da su glifosat i njegov glavni metabolit, aminometilfosfonska kiselina (AMPA) potencijalno toksično opasni, uglavnom kao rezultat nakupljanja u prehrambenom lancu (FAO, 2005.). Studije koje je objavila EFSA (eng. European Food Safety Authority) pokazale su da su ostatci glifosata i AMPA stabilni najmanje 2 godine do više od 3 godina u različitim vrstama uzoraka (EFSA, 2015.). N-acetil-glifosat, također jedan od metabolita glifosata, stabilan je najmanje godinu dana u jako kiselim uzorcima te u uzorcima s visokim udjelom vode, proteina i škroba, dok još jedan značajan metabolit, N-acetil-AMPA je stabilan najmanje godinu dana u uzorcima s visokima udjelom vode, škroba i proteina i jedan mjesec u uljnim uzorcima. Glifosat i AMPA stabilni su u hrani životinjskog podrijetla između 14 i više od 26 mjeseci. Budući da su životinje indirektno izložene herbicidima kroz konzumaciju hrane, javlja se zabrinutost

zbog mogućih ostataka u hrani životinjskog podrijetla i potencijalnoj štetnosti na zdravlje potrošača. S obzirom na kontrolu ostataka glifosata u hrani prema trenutnoj važećoj Uredbi komisije br. 293/2013 o maksimalnim razinama ostataka u hrani životinjskog podrijetla postavljene su maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) (Uredba Komisije, 2013.). Kod hrane biljnog podrijetla MDK se kreće od $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ za većinu uzoraka, sa izuzecima od $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ za naranče, mandarine, stolno i vinsko grožđe, krumpir, 1 mg kg^{-1} za stolne masline, 2 mg kg^{-1} za čaj, 3 mg kg^{-1} za slatki kukuruz, 10 mg kg^{-1} za leću, grašak, sjeme repice, gorušice, pamuka i lana, raž, pšenicu, 20 mg kg^{-1} za sjemenke suncokreta, soju, ječam, zob, sirak i 50 mg kg^{-1} za divlje gljive. MDK za hranu životinjskog podrijetla prikazane su u Tablici 2., a dopuštene koncentracije su znatno niže u odnosu na hranu biljnog podrijetla. Pri tome se uzima u obzir isključivo koncentracija glifosata, dok EFSA u svom izvješću preporučuje prilikom monitoringa procjenu na temelju sume glifosata, AMPA i N-acetil-glifosata izraženo kao glifosat, a kod procjene rizika zbroj glifosata, AMPA, N-acetilglifosata i N-acetil-AMPA izraženo kao glifosat (EFSA, 2019a.). Budući da su acetilni spojevi specifični samo za GAT-modificirane kulture koje trenutno nisu prisutne na tržištu EU-a, uključivanje N-acetil-glifosata u definiciju ostatka potrebno je ponovno razmotriti. Preporučene MDK vrijednosti također su prikazane u Tablici 2.

TABLICA 2. Maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) ostataka glifosata u hrani životinjskog podrijetla prema važećoj Uredbi 293/2013 i predložene vrijednosti MDK (zbroj masenih koncentracija glifosata i njegovih metabolita)

Vrsta	Životinjska vrsta	Postojeći MDK prema Uredbi 293/2013 (mg kg ⁻¹)	Predloženi MDK prema EFSA (mg kg ⁻¹)
Mišić	svinja, govedo, ovca, koza, konj, perad	0,05	0,2
Masno tkivo	svinja, govedo, konj, perad	0,05	0,2
	ovca, koza	0,05	0,3
Jetra	svinja	0,05	0,4
	govedo	0,2	0,7
	ovca, koza	0,05	0,9
	konj	0,05	0,7
	perad	0,05	0,2
Bubreg	svinja	0,5	3
	govedo	2	7
	ovca, koza	0,05	10
	konj	0,05	7
Mlijeko	govedo, ovca, koza, kobilica	0,05	0,1
Jaja	perad	0,05	0,1
Med		0,05	bez preporuka

Primjena glifosata na poljoprivrednim poljima gdje rastu žitarice može dovesti do akumulacije ostataka navedenog herbicida u tlu i žitaricama. Provedeno je nekoliko studija o prisutnosti glifosata u žitaricama i proizvodima na bazi žitarica (Soaers i sur., 2021.). Studija provedena u Švicarskoj otkrila je prisutnost ostataka glifosata u nekoliko uzoraka, pri čemu je oko 90% uzoraka pšenice, 80% uzoraka žitarica za doručak i 70% uzoraka kruha imalo ostatke glifosata. Neki uzorci sadržavali su vrijednosti gli-

fosata iznad MDK-a, i to jedan uzorak kruha s vrijednostima četiri puta većim od zakonski dopuštenih i tri uzorka žitarica za doručak s vrijednostima do 29 puta višim od MDK-a od 10 µg kg⁻¹ definiranog od strane Europske komisije. Uzorci žitarica za doručak analizirani u francuskoj studiji također su sadržavali više razine od zakonski dopuštenih, do 34 µg kg⁻¹. Studija provedena u Italiji otkrila je razine glifosata oko 25 puta veće od zakonski dopuštene vrijednosti u jednom uzorku sjemena pšenice.

Budući da je Španjolska jedan od najvećih svjetskih proizvođača maslina i maslinovog ulja, studija je provedena u Almeriji, na jugu Španjolske, kako bi se procijenila koncentracija glifosata u različitim vrstama maslinovog ulja koja je potvrdila da su razine glifosata u skladu s MDK od $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Chiarello i sur., 2019.).

Provedene su i studije ostataka glifosata u voću i orašastim proizvodima. U Francuskoj je analizirano šest uzoraka i ni u jednom uzorku nisu pronađeni ostaci glifosata. Druga studija, provedena u Kini, otkrila je prisutnost glifosata u uzorku kruške, ali u vrijednostima ispod MDK od $100 \mu\text{g kg}^{-1}$. U švicarskom istraživanju svi analizirani uzorci voćnih sokova sadržavali su glifosat do $3,5 \mu\text{g kg}^{-1}$, ali niti jedan uzorak nije premašio dopušteni MDK.

Premda Europska komisija ne definira MDK za vino i pivo, provedeno je nekoliko studija za procjenu ostataka glifosata u alkoholnim pićima. Studija provedena u Švicarskoj otkrila je prisutnost ostataka glifosata u svim analiziranim uzorcima vina, do najviše $18,9 \mu\text{g L}^{-1}$, te prisutnost glifosata u 2 od 15 uzoraka piva (Soares i sur., 2021.). Iako ne postoji MDK u vinu, za potrebe analize podataka, za referencu je uzet MDK za vodu, koji iznosi $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ čime je utvrđeno da svi pozitivni uzorci premašuju tu vrijednost. Drugo istraživanje provedeno u Latviji analiziralo je razine glifosata u 100 uzoraka piva. Rezultatima je utvrđena prisutnost rezidua ovog herbicida u 92 uzorka, pri čemu je u jednom uzorku

utvrđena razina glifosata od $150 \mu\text{g L}^{-1}$. Uzimajući u obzir MDK vode, ustanovljeno je da svi pozitivni uzorci značajno premašuju ovu vrijednost.

Primjena glifosata na poljoprivrednim poljima može dovesti do taloženja ostataka ovog herbicida u okolišu, posebice u cvijeću. Osim što su pčele oprašivači, kukci su i proizvođači meda skupljanjem nektara s cvijeća. Stoga je provedeno nekoliko studija za procjenu glifosata u uzorcima meda. U istraživanju provedenom na medovima iz različitih država svijeta koncentracije glifosata iznad granice kvantifikacije (LOQ, engl. Limit of Quantification) metode ($0,015 \text{ mg kg}^{-1}$) pronađene su u 59 % uzoraka obuhvaćajući koncentracijski raspon od $0,017$ do $0,063 \text{ mg kg}^{-1}$ (Rubio i sur., 2014.). Koncentracije glifosata u medu određivane su u medovima Havajskog otočja pri čemu je u 27,1 % analiziranih medova pronađena koncentracija glifosata iznad LOQ od $0,15 \text{ mg kg}^{-1}$, sa najvećom izmjerenom koncentracijom od $0,342 \text{ mg kg}^{-1}$ (Berg i sur., 2018.). U estonskoj studiji, iako je glifosat nađen u malom broju uzoraka, dva su uzorka sadržavala razine glifosata iznad MDK do $0,062 \text{ mg kg}^{-1}$ (Soares i sur., 2021.). Zoller i suradnici objavili su rad o ostacima glifosata na švicarskom tržištu hrane (Zoller i sur., 2017.). Pri tome su, među ostalim, obuhvatili uzorke mlijeka (3), meda (16), jaja (1), te mesa i ribe (13). Kod meda, čak 15 uzoraka bilo je iznad granice kvantifikacije od $0,001 \text{ mg kg}^{-1}$ za glifosat, sa najvećom izmjerenom koncentracijom od $0,0159 \text{ mg kg}^{-1}$, dok su 23 % pretražena uzoraka mesa i ribe

imala koncentraciju iznad LOQ. U svim navedenim uzorcima izmjerene koncentracije za metabolit AMPA bile su ispod LOQ od 0,0025 mg kg⁻¹. Istraživanja provedena na kravljem mlijeku i hrani za djecu koja uključuje mlijeko nisu pokazala nikakvu prisutnost glifosata i njegovog metabolita AMPA. Od 200 analiziranih uzoraka meda, glifosat je detektiran u 197 uzoraka sa koncentracijom jednakom ili većom od LOQ od 1 µg kg⁻¹, sa najvećim masenim udjelom od 49,8 µg kg⁻¹, dok je analit AMPA detektiran u 198 uzorka sa najvećim masenim udjelom od 50,1 µg kg⁻¹ (Thompson i sur., 2019.). Unatoč velikom postotku uzoraka meda sa detekiranim glifosatom, vrlo velik broj tih uzoraka je znatno ispod trenutno postavljene MDK od 0,05 mg kg⁻¹. U preglednom radu Rampazzo i sur. (2023.) obuhvaćeno je 1965 uzoraka meda iz raznih radova iz raznih područja svijeta, od čega u 625 uzoraka odnosno 32% je detektiran glifosat, sa koncentracijama od 2,0 µg kg⁻¹ do maksimalnih 3500 µg kg⁻¹ u Pakistanu i 5500 µg kg⁻¹ u Europi.

EFSA svake godine izdaje izvješće koje daje pregled aktivnosti službenih kontrola ostataka pesticida koje su provedene u državama članicama Europske unije (EU), Islandu i Norveškoj. U njemu su sažeti rezultati programa kontrole koji koordinira Europska unija i nacionalnih programa kontrole (NP).

Prema EFSA izvješću, u 2017. godini sveukupno je analizirano 8672, a u 2018. godini 9573 različitih prehrambenih proizvoda (uključujući prerađene proi-

zvide) na glifosat; od toga 306 odnosno 192 bili su uzorci hrane životinjskog podrijetla (uključujući med) (EFSA, 2019b, 2020.). Rezultati iz 2018. g. pokazali su da glifosat nije kvantificiran u 98 % uzoraka, a u 2017.g. u 97,5 %. U 1,9 % uzoraka (179 uzoraka) glifosat je kvantificiran iznad LOQ, ali ispod MDK, a u 12 uzoraka (0,1 %) razina ostataka premašila je MDK. Postotak prekoračenja smanjen je u odnosu na 2017. g. (0,2 %). Ostaci glifosata u medu u 2017. i 2018. g. detektirani su u 162 odnosno 148 uzorka ispod LOQ, a iznad LOD. Ispod MDK bilo je 16 odnosno 4, a iznad MDK 8 odnosno 5 uzoraka. U ostaloj vrsti hrane životinjskog podrijetla glifosat nije detektiran, te se upravo med pokazao kao matrica u kojem je glifosat najčešće detektiran.

U 2019. glifosat je analiziralo 26 zemalja izvjestiteljica (EFSA, 2021.). Sveukupno je 13 336 uzoraka različitih prehrambenih proizvoda (uključujući prerađene proizvode) analizirano na ostatke glifosata, od kojih su 165 bili uzorci dječje hrane, a 1 028 bili su uzorci hrane životinjskog podrijetla (uključujući med). Rezultati su pokazali da u 97% uzoraka glifosat nije kvantificiran. U 2,7% uzoraka (364 uzorka) glifosat je kvantificiran na razinama iznad LOQ-a, ali ispod MDK, a u 12 uzoraka (0,1%) razine ostataka premašile su MDK. Stopa prekoračenja (0,1%) bila je ista u usporedbi s rezultatima iz 2018., iako je stopa kvantifikacije (2,7%) povećana u usporedbi s 2018. (1,9%). Ostaci glifosata nisu kvantificirani ni u jednom uzorku dječje hrane. Prekoračenja MDK utvrđena su u europ-

skim uzorcima uzgojenim u Poljskoj (6 uzoraka) i po 1 uzorak u svakoj od sljedećih zemalja: Hrvatska, Francuska, Njemačka, Litva, Nizozemska i Španjolska.

U EFSA izvješću za 2020.g. prvi puta se spominje analiza metabolita glifosata, AMPA, koja je analizirana u 4534 uzoraka hrane i 242 hrane za životinje (EFSA, 2022.). U hrani za životinje AMPA je kvantificirana u 31 uzorku (12,8%), dok u

hrani je kvantificirana u 0,2% uzoraka-4 uzoraka pulse, 5 uzoraka žitarica, 1 uzorku naranče i 1 uzorku luka. Izvješće za 2021.g. prvi puta spominje ostale metabolite glifosata (EFSA, 2023.). Tako je te godine analizirano 3875 uzoraka za metabolit AMPA, 954 za metabolit N-acetil-AMPA i 2669 uzoraka za N-acetil-glifosat. Jedino je metabolit AMPA kvantificiran u 44 uzorka, odnosno 1,2%, većinom u uzgojenim gljivama.

TABLICA 3. Pregled godišnjih izvještaja o broju uzoraka hrane analiziranih na glifosat i vrsti pozitivnih uzoraka

Godina	Broj uzoraka hrane	Broj uzoraka hrane živ. podrijetla, uključujući med	Broj uzoraka iznad LOQ, manje od MDK	Broj uzoraka iznad MDK	Vrsta pozitivnih uzoraka
2017	8672	306	191 (2,2%)	21 (0,2%)	8 medova, 1 šparoga, 6 raž, 4 heljda, 1 kruška, 1 riža,
2018	9573	192	179 (1,9%)	12 (0,1%)	5 medova, 1 suhi grašak, 1 jabuka, 1 suha leća, 2 heljde
2019	13336	1028	364 (2,7%)	12 (0,1%)	2 meda, Suhi grašak, proso, 1 breskva, 1 špinat, 1 glavati kupus, 4 heljde i pseudožitarice
2020	14125	474	283 (2%)	82 (0,6%)	Nema podataka
2021	14904	459	209(1,4%)	23 (0,15%)	Nema podataka

Zaključak

U ovom radu sažeti su podaci o ostacima glifosata iz regulatornih tijela i izvješća mnogih grupa, kako recenziranih tako i iz medija. Medijska izvješća i nerazumijevanja stvorili su očekivanje ili želju da hrana i piće trebaju imati „nula“ ostataka. Ostaci koji se mogu pronaći nalaze se u mnogim namirnicama bez

obzira na poljoprivrednu praksu, uključujući i organsku i konvencionalnu poljoprivredu, te se prisutnost ostataka ne izjednačava izravno sa štetnošću. Potrebno je pružiti objašnjenje o tome što prijavljena prisutnost herbicida znači u smislu trenutnih sigurnosnih smjernica. Znanstveno utemeljena procjena rizika

od ostataka oslanja se na izvješćivanje o točnim koncentracijama ostataka od interesa u hrani i usporedbu tih vrijednosti sa sigurnosnim standardom koji proizlazi iz propisa. Maksimalne dopuštene koncentracije (MDK) izvedene su iz regulatornih studija o ostacima dobivenim kada se pesticidi, uključujući i glifosat, primjenjuju prema predloženoj oznaci na poljoprivredne proizvode u skladu s dobrom poljoprivrednom praksom.

Glifosat je najviše upotrebljavan neselektivni herbicid širokog spektra djelovanja diljem svijeta. Kao posljedica prekomjernog korištenja, ostatke glifosata moguće je pronaći u tlu, vodi, biljkama i hrani. Prisutnost ostataka pesticida pa tako i glifosata u hrani reguliraju globalne vlasti kako bi se osigurala sigurnost hrane uspostavljanjem realnih razina izloženosti ljudi. Europska Komisija od-

govorna je za određivanje maksimalno dopuštenih koncentracija u hrani u Europi, a te se granice povremeno preispituju. Tako je EFSA 2019. godine na zahtjev Europske Komisije izvršila reviziju MDK-a za glifosat, no za sada su te vrijednosti i dalje u razmatranju.

Nekoliko je studija provedeno u nekoliko zemalja kako bi se procijenila izloženost ljudi glifosatu putem hrane. U velikom broju uzoraka otkriveni su ostaci glifosata, ponekad u vrijednostima koje prelaze zakonski dopuštene granice, što može ugroziti najugroženije populacije, poput djece i starijih osoba. S obzirom na rezultate istraživanja, zaključuje se da je potrebno uspostaviti MDK za alkoholna pića. Također je neophodno povećati broj studija kao i broj uzoraka analiziranih u svakoj studiji kako bismo imali točnu sliku o ostacima glifosata u hrani.

LITERATURA

1. BENBROOK, M. C. (2016): *Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally*. *Environ. Sci. Eur.* 28 (3) 1-15.
2. BERG, C.J., H.P. KING, G. DELENSTARR, R. KUMAR, F. RUBIO, T. GLAZE (2018): *Glyphosate residue concentrations in honey attributed through geospatial analysis to proximity of large-scale agriculture and transfer off-site by bees*. *PLoS ONE* 13 (7) 1-18.
3. BUS, J. S. (2015): *Analysis of Moms Across America report suggesting bioaccumulation of glyphosate in U.S. mother's breast milk: Implausibility based on inconsistency with available body of glyphosate animal toxicokinetic, human biomonitoring, and physico-chemical data*. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 73, 758-764.
4. CHIARELLO, M., M. L. JIMENEZ-MEDINA, J. M. SAEZ, S. MOURA, A. GARRIDO FRENICH, R. ROMERO-GONZALEZ (2019): *Fast analysis of glufosinate, glyphosate and its main metabolite, aminomethylphosphonic acid, in edible oils, by liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry*. *Food Addit. Contam. Part A* 36 (9), 1376-1384.
5. CONRAD, A., C. SCHRÖTER-KERMANI, H. - W. HOPPE, M. RÜTHER, S. PIEPER i M. KOLOSS-GEHRING (2017): *Glyphosate in German adults - Time trend (2001 to 2015) of human exposure to a widely used herbicide*. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 220, 8-16.
6. DUKE, S., i S.B. POWELS (2008): *Glyphosate: a once-in-a-century herbicide*. *Pest. Manag. Sci.* 64, 319-325.

7. EFSA (2015): Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. *EFSA Journal* 13(11), 4302.
8. EFSA (2017): Peer review of the pesticide risk assessment of the potential endocrine activity of glyphosate. *EFSA Journal* 15 (9), 4979.
9. EFSA (2019a): Review of the existing maximum residue levels for glyphosate according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005—revised version to take into account omitted data. *EFSA J.* 17(10) 5862.
10. EFSA(2019b): The 2017 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J.* 17 (6), 5743.
11. EFSA(2020): The 2018 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J.* 18 (4), 6057.
12. EFSA (2021): The 2019 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J.* 19 (4), 6491.
13. EFSA (2022): The 2020 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J.* 20 (3), 7215.
14. EFSA (2023): The 2021 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J.* 21 (4), 7939.
15. ERIKSSON, M., L. HARDELL, M. CARLBERG i M. AKERMAN (2008): Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis. *Int. J. Cancer.* 123, 1657–1663.
16. FAO (2005): Glyphosate (158) and metabolites, dostupno na http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation11/Glyphosate.pdf (pristupljeno 25.10.2023.)
17. FIS (2023): Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja na dan 19.12.2023. <https://fis.mps.hr/trazilicaszb> (Pristupljeno 19.12.2023.)
18. HONEYCUTT, Z. i H. ROWLANDS (nepoznata godina): Glyphosate testing report: Findings in American mothers' breast milk, urine and water. Neobjavljen izvještaj, dostupno na https://d3n8a8pro7vhmx.cloudfront.net/yesmaam/pages/774/attachments/original/1396803706/Glyphosate_Final_in_the_breast_milk_of_American_women_Draft6_.pdf?1396803706 .(pristupljeno 25.10.2023.)
19. HOSSEINI BAI, S. i S. M. OGBOURNE (2016): Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23 (19) 18988-19001.
20. KNEŽEVIĆ, Z. , N. BILANDŽIĆ, M. ĐOKIĆ i M. SEDAK (2010): Sigurnost hrane i pesticidi. *Vet. stn.* 41, 303–309.
21. KRÜGER, M., A. LINDER i J. HEIMRATH (nepoznata godina): Members of the EU parliament excrete glyphosate with their urines, dostupno na https://www.greens-efa.eu/legacy/fileadmin/dam/Documents/Studies/Environment_health/EUMP-results.pdf (pristupljeno 25.10.2023.)
22. KRÜGER, M., P. SCHLEDORN, W. SCHRÖDL, H.-W. HOPPE, W. LUTZ i A. A. SHEHATA (2014): Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans. *J Environ Anal Toxicol* 4 (2), 1-5.
23. MELO, K. G., G. DE NUCCI, A.Z. TRAPE, S.R.F. JACOBUCI, C.R. GARLIPP i P.C.P. ROSA (2018): Brief review analytical methods for the determination of glyphosate. *MOJ Toxicol.* 4 (1) 39-42.
24. OSTOJIĆ, Z., D. BRZOJA i K. BARIĆ (2018): Status, namjena i potrošnja glifosata u Hrvatskoj i svijetu. *Glasilo zaštite bilja* 18 (6) 531-541.
25. PROVEDBENA UREDBA (2023) o produljenju odobrenja aktivne tvari glifosat u skladu s Uredbom (EZ) br. 1107/2009 Europskog parlamenta i Vijeća i o izmjeni Provedbene uredbe Komisije (EU) br. 540/2011. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/2660/oj
26. RAMPAZZO, G., T. GAZZOTTI, E. ZIRONI i G. PAGLIUCA (2023): Glyphosate and glufosinate residues in honey and other hive products. *Food* 12, 1155.
27. RIVAS-GARCIA, T., A. ESPINOSA-CALDERON, B. HERNANDEZ-VASQUEZ AND R. SCHWENTESIUS-RINDERMAN (2022): Overview of environmental and health effects relates to glyphosate usage. *Sustainability* 14, 6868.
28. REYNOSO, C. E., R. D. PEÑA, D. REYES, Y. CHAVARIN-PINEDA, I. PALCHETTI i E. TORRES (2020): Determination of glyphosate in water from a rural locality in Mexico and its implications for the population based on water con-

-
- sumption and use habits. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17, 7102.
29. RUBIO, F., E. GUO i L. KAMP (2014): Survey of glyphosate residues in honey, corn and soy products. *J. Environ. Anal. Toxicol.* 5 1-8.
30. SAMSEL, A. i S. SENEFF (2013): Glyphosate's Suppression of Cytochrome P450 Enzymes and Amino Acid Biosynthesis by the Gut Microbiome: Pathways to Modern Diseases *Entropy* 15, 1416-1463.
31. SOARES, D., L. SILVA, S. DUARTE, A. PENA i A. PEREIRA (2021): Glyphosate use, toxicity and occurrence in food. *Foods* 10, 2785.
32. STEINBORN, A., L. ALDER, B. MICHALSKI, P. ZOMER, P. BENDING, S. ALESOM MARTINEZ, H. G. J. MOL, T. CLASS i N. COSTA-PINHEIRO (2016): Determination of Glyphosate Levels in Breast Milk Samples from Germany by LC-MS/MS and GC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* 64 (6), 1414-1421.
33. ŠAJINA, M. (2013.): Glifosat u nama, 7. studeni 2013., <https://nutricionizam.com/glifosat-u-nama> (pristupljeno 25.10.2023.)
34. TATE, T. M., J. O. SPURLOCK i F. A. CHRISTIAN (1997): Effect of Glyphosate on the Development of *Pseudosuccinea columella* Snails. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33, 286-289.
35. THONGPRAKAISANG, S., A. THIANANAEAT, N. RANGKADILOK, T. SURIYO i J. SATAYAVIVAD (2013): Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food Chem Toxicol.* 59, 129-136.
36. THOMPSON, T. S., J. P. VAN DEN HEEVER i R. E. LIMANOWKA (2019): Determination of glyphosate, AMPA, and glufosinate in honey by online solid-phase extraction-liquid chromatography- tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam. Part A* 36 (2) 1-13.
37. UREDBA KOMISIJE (2013): Uredba komisije br. 293/2013 od 20.ožujka 2013. o izmjeni priloga II. i III. Uredbi (EZ) br. 396/2005 Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu maksimalnih razina ostataka za emamektin benzoat, etofenproks, etoksazol, flutriafol, glifosat, fosmet, piraklostrobin, spinosad i spiro-tetramat u ili na određenim proizvodima. *Sl. l. EU* L96/1, 252-281.
38. ZOLLER, O., P. RHYN, H. RUPP, J. A. ZARN, C. GEISER (2017): Glyphosate residues in Swiss market foods: monitoring and risk evaluation. *Food Addit Contam B* 11 (2) 83-91.

Pojavnost toksikotvornih plijesni i mikotoksina u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima

Tina Lešić*, Jelka Pleadin

* dr. sc. Tina Lešić, Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za analitičku kemiju, Savska cesta 143, 10000 Zagreb

e-mail: lesic@veinst.hr

Uvod

Proizvodnja trajnih mesnih proizvoda, poput trajnih kobasica i trajnih suhomesnatih proizvoda, ima dugu tradiciju u Republici Hrvatskoj. Ovakvi proizvodi sve više dobivaju na vrijednosti, budući da je danas značajan trend povećanja potražnje za hranom koja se proizvodi na tradicionalni način. Tradicionalna proizvodnja trajnih mesnih proizvoda odvija se pod utjecajem kulturološke prakse, na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima (OPG) ili domaćinstvima koja se razlikuju po tradicionalnoj recepturi, ali i higijenskim te okolišnim uvjetima proizvodnje, što utječe na specifičnost mikroflore te razlike u kvaliteti i sigurnosti trajnih mesnih proizvoda. Tijekom procesa zrenja, površinu ovih proizvoda obrastaju plijesni, čijem intenzitetu doprinose nekontrolirani i promjenjivi uvjeti proizvodnje, ujedno sezonski uvjetovani (Asefa i sur., 2010.; Kovačević, 2017.).

Plijesni s površine ovakvih proizvoda dominantno čine rodovi *Penicillium* i *Aspergillus*, koje doprinose razvoju senzori-

skih svojstava gotovog proizvoda (Lešić i sur., 2020.). Međutim, plijesni mogu producirati toksične spojeve, mikotoksine, te na taj način kontaminirati proizvod. Pojavnost mikotoksina u značajnijoj mjeri je posljedica produkcije plijesni koje obrastaju površinu ovih proizvoda pod određenim fizikalno-kemijskim uvjetima te uvjetima nedostatnog pranja i četkanja površine proizvoda, odnosno nekontroliranog rasta plijesni (Iacumin i sur., 2009.; Asefa i sur., 2010.; Iacumin i sur., 2011.; Rodríguez i sur., 2012.; Zadravec i sur., 2020.). Međutim, mikotoksini u mesnim proizvodima mogu biti podrijetlom i iz stočne hrane, kao posljedica hranidbe farmske životinje kontaminiranim krmivom ili krmnom smjesom (*carry-over effect*) te iz začina koji se koriste u njihovoj proizvodnji (Pleadin i sur., 2013.; Perši i sur., 2014.). Najznačajniji mikotoksini s obzirom na moguću pojavnost i toksičnost u poveznici sa mesnim proizvodima bili bi aflatoxin B₁ (AFB₁), okratoksin A (OTA), citrinin (CIT), ciklopiazonična kiselina (CPA) i

sterigmatocistin (STC) (Pleadin i sur., 2021.). AFB₁ je jedan od najprisutnijih prirodnih karcinogena sa izrazito visokom toksičnošću te je prema IARC-u svrstan u skupinu 1-spojeva sa dokazanim karcinogenim učinkom (IARC, 2002.). OTA i STC su svrstani u skupinu 2B potencijalnih karcinogena za ljude (IARC, 2002.; IARC, 1993.), CIT je svrstan u skupinu 3 kao spoj koji se ne može okarakterizirati kao ljudski karcinogen (IARC, 1986.), dok za CPA nema procjene o karcinogenosti, što je posljedica nedostatnosti tokikoloških istraživanja o ovom mikotoksinu.

Toksikotvorne plijesni i mikotoksini u trajnim mesnim proizvodima

Mikotoksini pronađeni u tradicionalnim mesnim proizvodima su prema brojnim istraživanjima u najvećoj mjeri posljedica proizvodnje toksikotvornih vrsta površinskih plijesni rodova *Penicillium* i *Aspergillus* (Comi i sur., 2004.; Iacumin i sur., 2009.; Asefa i sur., 2010.; Iacumin i sur., 2011.). Međutim, rast toksikotvornih plijesni ne znači nužno da su mikotoksini prisutni u namirnici, a isto tako, odsutnost vidljivih plijesni ne znači da nema prisutnih mikotoksina. Na proizvodnju mikotoksina u mesnim proizvodima utječu različiti biološki i okolišni čimbenici. Uvjeti proizvodnje mogu utjecati izravno ili neizravno na nastanak mikotoksina, ili utječući na sam rast i razvoj plijesni, na dostupnost prekur-

sora potrebnih u biosintezi ili na ekspresiju i aktivnost enzima uključenih u biosintetski put (Sørensen i sur., 2009.). Produkcija mikotoksina ovisi o klimatskim čimbenicima koji su karakteristični za određeno geografsko područje, a variraju na godišnjoj razini. Interakcija klimatskih promjena, kao što je porast temperature te ekstremne izmjene kišnih i sušnih razdoblja, imaju značajan utjecaj na rast plijesni i pojavu mikotoksina (Pleadin i sur., 2020.). Optimalna temperatura za proizvodnju većine mikotoksina je između 20 – 30 °C, a a_w iznad 0,65 (Pitt i Hocking, 2009.).

CIT mogu sintetizirati plijesni iz roda *Penicillium*, od kojih uz najznačajniji *P. citrinum* mogu i *P. verrucosum*, *P. expansum* te *P. notatum*, ali i plijesni roda *Monascus*, poput *M. ruber* i *M. purpureus* te pojedine vrste roda *Aspergillus* (Pitt i Hocking, 2009.). Pokazalo se da je *P. citrinum* producirala CIT nakon 4 dana inkubacije pri 20 °C na šunkama, pri čemu je njegova koncentracija nakon 16 dana iznosila 1330 mg/kg, dok se standard ovog mikotoksina nije pokazao stabilnim na površini trajnih šunki (Bailly i sur., 2005.).

AFB₁ proizvode uglavnom *Aspergillus* vrste, poput najznačajnije *A. flavus* te *A. parasiticus* ili *A. nomius* te se stoga u većim koncentracijama nalaze u tropskim i suptropskim područjima. Također, duga sušna razdoblja tijekom godine pogoduju produkciji aflatoksina (Pitt i Hocking, 2009.).

STC, poput njegovog prekursora AFB₁, također najčešće sintetiziraju plijesni

roda *Aspergillus*, a uz najznačajnijeg producenta *A. versicolor* mogu ga producirati i *A. flavus*, *A. parasiticus* te *A. nidulans*. Plijesni koje imaju sposobnost biosinteze STC broje oko 55 vrsta, a u njih uz *Aspergillus* spadaju i rodovi *Emmericella*, *Chaetomium*, *Botryotrichum* i *Humicola* (Pitt i Hocking, 2009.).

CPA uglavnom sintetiziraju plijesni iz roda *Penicillium* kao što su *P. griseofulvum*, *P. camemberti*, *P. commune*, *P. dipodomyicola* te *Aspergillus* poput *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. tamarii*. Utvrđeno je da se izolati *A. flavus* razlikuju s obzirom na sposobnost proizvodnje CPA (Kiš i sur., 2019.). Alapont i sur. (2014.) su u istraživanju prirodne mikroflore tradicionalnog španjolskog pršuta izolirali 33,7 % sojeva plijesni koje produciraju CPA, od čega su 66,6 % činili sojevi *P. commune*. Inokulacijom *P. griseofulvum* na trajnim kobasicama došlo je do značajne proizvodnje CPA pri nižim temperaturama (npr. 12 °C). Smanjenjem a_w ispod 0,85 u trajnim šunkama reducirala se proizvodnja CPA kod *P. griseofulvum* (Peromingo i sur., 2019.).

OTA najznačajnije produciraju plijesni poput *P. nordicum*, *P. verrucosum* te *A. ochraceus* i *A. niger*. Za *P. nordicum* je poznato da producira OTA i raste na trajnim mesnim proizvodima sa visokim udjelom bjelanjčevina i soli, pri niskim temperaturama. Produkcija OTA zabilježena je pri a_w 0,85, ali optimalnom za njegovu produkciju pokazala se temperatura od 15 °C i a_w od 0,90. Istraživanja pokazuju da *A. westerdijkiae* također može producirati OTA (Pitt i Hocking,

2009.). Za *A. tubingensis* iz sekcije *A. Nigri* u koju spadaju OTA-producirajuće vrste *A. niger* i *A. carbonarius* postoje oprečni rezultati o mogućnosti produkcije OTA objavljeni tijekom prethodnih godina. U istraživanju Storari i sur. (2012.) OTA nije bio detektiran u niti jednom ekstraktu *A. tubingensis* iako je bio lako detektiran kod OTA-producirajućih sojeva *A. niger*. Podaci upućuju na potrebe daljnjih istraživanja i točnost u identifikaciji toksikotvornih sojeva plijesni te detekciji mikotoksin-biosintetskih gena.

Detekcija toksikotvornih plijesni

U identifikaciji toksikotvornih plijesni najbolje je koristiti kombinaciju tradicionalnih i molekularnih metoda identifikacije odnosno tradicionalni opis makro- i mikro- morfoloških karakteristika te molekularne metode identifikacije analizom karakterističnih genskih markera DNA (Frisvald, 2011.).

U tradicionalnoj identifikaciji plijesni koriste se morfologija, makromorfologija koja podrazumijeva izgled kolonije na hranjivoj podlozi te mikromorfologija za fenotipske karakteristike kao što su strukture spora. *Penicillium* i *Aspergillus* izolati uglavnom se naciepljuju na hranjive podloge, kao što su Czapekov agar (engl. *Czapek Yeast Extract Agar*, CYA), maltozni agar (engl. *Malt Extract Agar*, MEA), kreatinin saharozni agar (engl. *Creatine Sucrose Agar*, CREA) te zobeni agar (engl. *Oat Meal Agar*, OAT) (Frisvald, 2011., Samson i sur., 2019.). Izolati plijesni se potom mogu morfološki identifi-

cirati do razine vrste uz pomoć atlasa (Pitt i Hocking, 2009.; Samson i sur., 2019.).

Molekularne metode identifikacije plijesni nastavljaju se na tradicionalne metode. Ove metode obuhvaćaju izolaciju i umnažanje DNA lančanom reakcijom polimerazom (engl. Polymerase Chain Reaction, PCR), vizualizaciju PCR produkata, sekvencioniranje te obradu i usporedbu dobivenih sekvenci s bazama podataka. PCR strategija može biti provedena ciljajući konzervirane funkcionalne gene ili regije od taksonomskog interesa, poput ITS regije (unutarnji transkribirani razmaknik, engl. Internal Transcribed Spacer), koja se ipak pokazala nedovoljno informativnom za točnu identifikaciju vrsta unutar velikih rodova plijesni, poput *Aspergillus* i *Penicillium* te geni koji kodiraju za proteine poput elongacijskog faktora 1- α (TEF1 α), kalmodulina (CaM, engl. *CALcium ModulAted proteIN*), β -tubulina (BenA, tub2), aktina (Act) te druge najveće podjedinice RNA polimeraze (RPB2). Odabir gena ovisi o samom organizmu, odnosno rodu plijesni, pa se tako za identifikaciju *Penicillium* vrste preporuča regija β -tubulina, a za *Aspergillus* vrste regija kalmodulina ili obje (Samson i sur., 2019.). Druga je opcija usmjeravanje na gene ili regulatorne faktore koji sudjeluju u proizvodnji mikotoksina. Međutim, za većinu mikotoksina biosintetski putevi nisu potpuno okarakterizirani pa su tako i geni koji kodiraju za proteine uključene u biosintezu ovih sekundarnih metabolita slabije

poznati što zahtjeva daljnja istraživanja (Frisvald, 2011.).

Detekcija mikotoksina

Za procjenu izloženosti mikotoksinima i rizika koje predstavljaju za zdravlje ljudi i životinja pri njihovom određivanju neophodna je primjena brzih, točnih i dovoljno osjetljivih analitičkih metoda. Analitika mikotoksina općenito je složen proces koji uključuje pravilno uzorkovanje i homogenizaciju, pripremu uzorka te detekciju i kvantifikaciju odgovarajućim analitičkim metodama. Za određivanje mikotoksina dostupne su brojne metode koje se mogu podijeliti na kvalitativne i kvantitativne te na potvrdne i orijentacijske (*screening*) metode. Priprema uzorka za analizu podrazumijeva ekstrakciju mikotoksina iz uzorka prikladnim ekstrakcijskim otapalom, pročišćavanje dobivenog ekstrakta s ciljem eliminacije mogućih interferencija iz matrice i koncentriranje ekstrakta. Za određivanje mikotoksina u TMP treba uzeti u obzir činjenicu da mikotoksini uobičajeno hranu kontaminiraju pri vrlo niskim koncentracijama te da ovi proizvodi predstavljaju kompleksnu matriču čije komponente mogu interferirati sa analitom (Rahmani i sur., 2009.; Razzazi-Fazeli i Reiter, 2011.).

Analitička metoda koja se koristi od najranijih faza otkrića mikotoksina, pa sve do danas, je imunoenzimska ELISA (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) jer omogućuje brzi *screening* niskih koncentracija mikotoksina na veli-

kom broju uzoraka (Rahmani i sur., 2009.). Od kromatografskih metoda, koristi se tankoslojna kromatografija (engl. *Thin-Layer Chromatography*, TLC), tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High-Performance Liquid Chromatography*, HPLC) u kombinaciji sa različitim detektorima, kao što su fluorescentni (engl. *Fluorescence Detector*, FLD), detektor s nizom dioda (engl. *Diode Array*, DAD) ili UV (engl. *Ultraviolet*), tekućinska kromatografija u sprezi s masenom spektrometrijom (engl. *Liquid Chromatography Mass Spectrometry*, LC-MS) te tekućinska ili plinska kromatografija sa tandemskom spektrometrijom masa (engl. *Liquid/Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry*, LC-MS/MS i GC-MS/MS). U većini slučajeva ekstrahirani uzorci analiziraju se LC-MS metodom za analizu mikotoksina na vrlo niskim razinama, dok se u novije vrijeme razvijaju multimikotoksinske LC-MS/MS metode za simultanu detekciju više različitih mikotoksina (Agriopolou i sur., 2020.; Tittlemier i sur., 2021.). LC-MS metode omogućavaju značajno veću selektivnost i osjetljivost te pouzdanost identifikacije analita u usporedbi s konvencionalnim detektorima. Nedostaci ovakvih tehnika su što zahtijevaju prethodnu dužu obradu uzoraka, upotrebu sofisticirane laboratorijske opreme i provedbu složenih analitičkih postupaka (Rahmani i sur., 2009.).

Rezultati

Istraživanje pojavnosti toksikotvornih vrsta plijesni roda *Penicillium* i *Asper-*

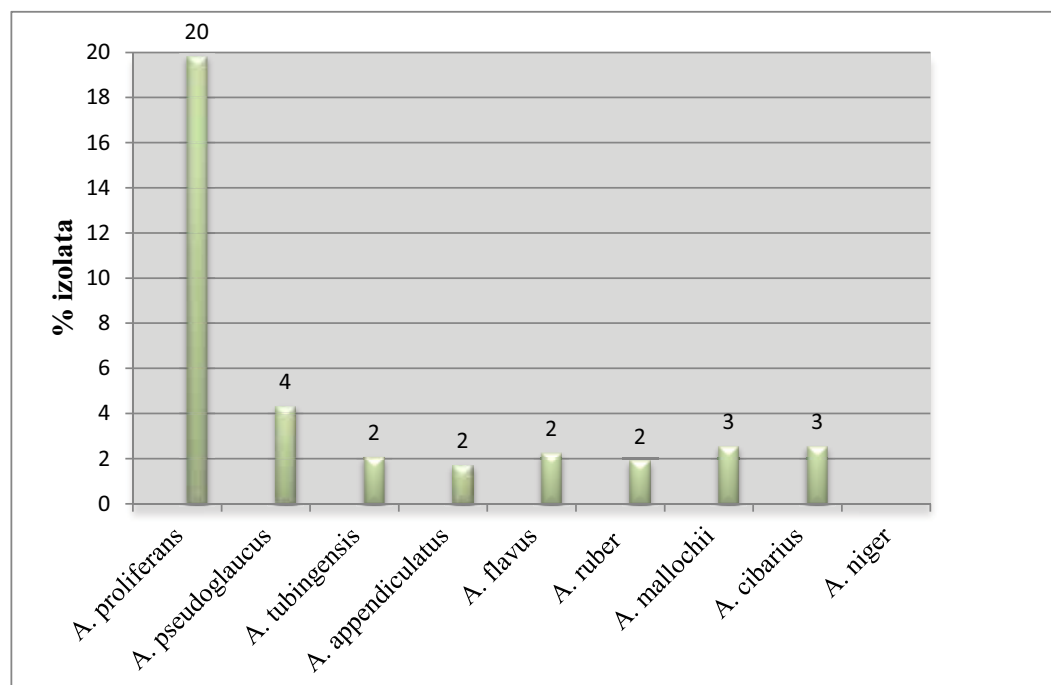
gillus te njihovih mikotoksina koji se mogu pojaviti u mesnim proizvodima (AFB₁, OTA, STC, CIT i CPA) provedeno je na 250 uzoraka hrvatskih tradicionalnih mesnih proizvoda, od toga 107 uzoraka trajnih kobasica te 143 uzorka trajnih suhomesnatih proizvoda. Proizvodi su uzorkovani na sajmovima ili izravno na OPG-ovima u razdoblju 2020.-2021. u okviru projekta naziva „Mikotoksini u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima: molekularna identifikacija plijesni producenata i procjena izloženosti potrošača“ (HRZZ IP-2018-01-9017).

Pojavnost plijesni u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima

S površine analiziranih uzoraka, ukupno je izolirano 535 izolata plijesni. Podjednak broj vrsta, njih 18, bio je roda *Penicillium*, a 20 roda *Aspergillus*. Dominantnost roda *Penicillium* u broju izolata bila je u skladu s ranijim istraživanjima provedenim na trajnim mesnim proizvodima, posebice na trajnim kobasicama i u skladu je s činjenicom da je veći na *Penicillium* vrsta psihrotolerantana i psihrofilna te da se veći dio zrenja ovih proizvoda odvija tijekom zimskih mjeseci (Asefa i sur., 2009.; Rodrigues i sur., 2019.; Zadravec i sur., 2020.). Na slikama 1. i 2. prikazane su najzastupljenije vrste plijesni izolirane s površine analiziranih mesnih proizvoda. Od *Penicillium* vrsta najdominantnije bile su *P. commune* (14 %), *P. solitum* (10 %), *P. citrinum* (9 %) i *P. nalgiovense* (7 %). S nešto većim postot-

kom izolacije određene su još i *P. corylophilum* (6 %) i *P. chrysogenum* (4 %). Ranija istraživanja pokazuju da u većini slučajeva *P. commune* i *P. solitum* uvelike predstavljaju površinsku mikofloru trajnih mesnih proizvoda, odmah uz *P. nalgiovense* te *P. chrysogenum* (Paggianni i sur., 2007.; Alapont i sur.,

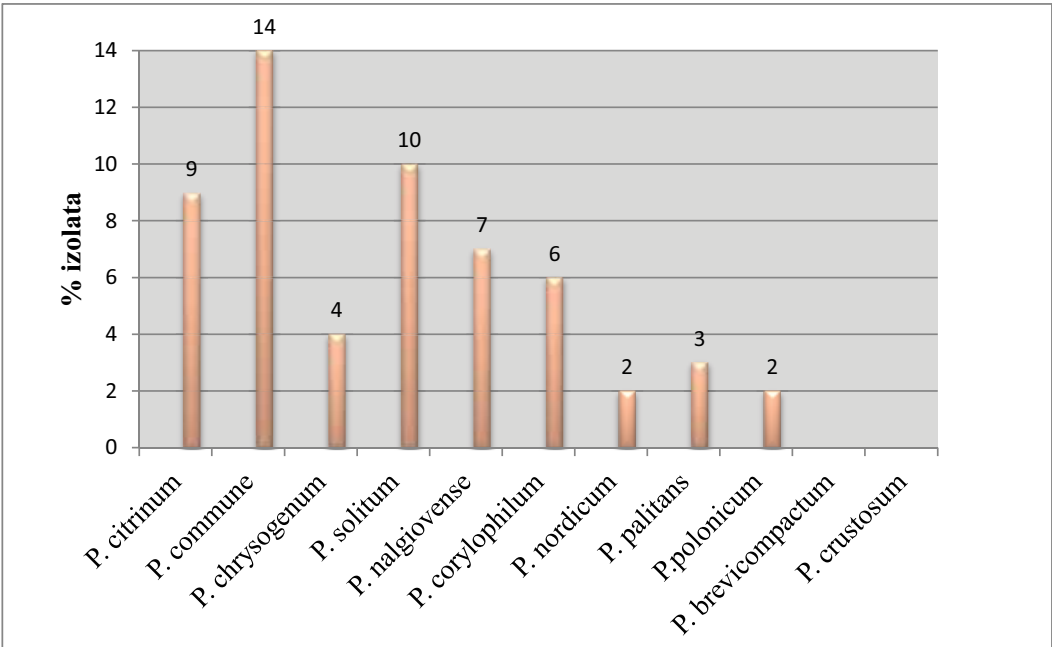
2014.; Zadravec i sur., 2020.). *P. nalgiovense*, *P. solitum* i *P. chrysogenum* predstavljaju komercijalne starter kulture (Bourdichon i sur., 2012.). *P. citrinum* se općenito smatra jednom od najčešćih vrsta plijesni na zemlji dok su konidiospore CIT najčešće nađene spore u zraku (Pitt i Hocking, 2009.).



SLIKA 1. Najzastupljenije vrste plijesni (%) roda *Aspergillus* sa površine hrvatskih tradicionalnih mesnih proizvoda

Što se tiče *Aspergillus* vrsta, dominantna vrsta bila je *A. proliferans* (20 %), sa značajno većim brojem izolata u odnosu na druge *Aspergillus* vrste, primjerice *A. pseudoglaucus* (4 %), koja je iduća po zastupljenosti *Aspergillus* vrsta. Visoka prevalencija *A. proliferans* može se obja-

sniti činjenicom da askospore mogu preživjeti širok raspon temperatura (4 – 43 °C), te vrlo niske a_w vrijednosti (0,71) do 120 dana, kao i da duži proces zrenja, posebice pršuta, dovodi do rasta kserofilniji vrsta kao što je *A. proliferans* (Pitt i Hocking, 2009.).



SLIKA 2. Najzastupljenije vrste plijesni (%) roda *Penicillium* sa površine hrvatskih tradicionalnih mesnih proizvoda

S površine analiziranih uzoraka identificirano je ukupno šest toksikotvornih vrsta plijesni koje produciraju neke od istraživanih mikotoksina, od čega tri *Penicillium*: *P. commune*, *P. nordicum* i *P. citrinum* te tri *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. niger* i *A. westerdijkiae*. U tablici 1. prikazane su navedene vrste plijesni obzirom na mikotoksin kojeg produciraju. Kod navedenih vrsta detektirani su geni koji sudjeluju u biosintezi mikotoksina.

TABLICA 1. Identificirane toksikotvorne vrste plijesni u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima prema mikotoksinu kojeg produciraju

Mikotoksin	Identificirana plijesan producent
CIT	<i>P. citrinum</i>
AFB1 i STC	<i>A. flavus</i>
OTA	<i>P. nordicum</i> , <i>A. westerdijkiae</i> , <i>A. niger</i>
CPA	<i>P. commune</i> , <i>A. flavus</i>

Pojavnost mikotoksina u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima

Podaci o pojavnosti mikotoksina AFB₁, OTA, STC, CIT i CPA u uzorcima hrvatskih tradicionalnih mesnih proizvoda prema vrsti proizvoda prikazani su u tablici 2.

Mikotoksini AFB₁ i CIT nisu detektirani ni u jednom analiziranom uzorku, iako su identificirane vrste producenti *A. flavus* te *P. citrinum* sa dokazanim biosintetskim genima. To potvrđuje činjenicu da rast toksikotvornih vrsta plijesni ne znači nužno da su mikotoksini prisutni u namirnici, budući da njihova proizvodnja, između ostalog, ovisi o brojnim okolišnim čimbenicima (Sorensen i sur., 2009.).

Iako nije utvrđena značajna razlika u koncentraciji pojedinih mikotoksina s obzirom na vrstu proizvoda, 3 puta je veći broj uzoraka u kojima je detektiran

OTA, a koji pripadaju skupini trajnih kobasica u odnosu na trajne suhomesnate proizvode, dok je prosječna OTA koncentracija bila veća u suhomesnatim proizvodima (1,57±1,82 µg/kg) u odnosu na kobasice (0,84±0,70 µg/kg), iako ne statistički značajno (p > 0,05). Za razliku od OTA, prosječna koncentracija CPA i STC veća je u kobasicama (35,18±81,22 µg/kg; 0,78±1,40 µg/kg) u odnosu na trajne suhomesnate proizvode, iako također ne statistički značajno (p > 0,05). Pojavnost CPA i STC podjednaka je u kobasicama i suhomesnatim proizvodima. Općenito je veći broj uzoraka iz skupine trajnih kobasica kontaminiran mikotoksinima (59 %) u odnosu na skupinu trajnih suhomesnatih proizvoda (41 %).

Dosadašnja istraživanja o pojavnosti CPA u trajnim mesnim proizvodima govore o većoj koncentraciji u pršutima u

TABLICA 2. Statistika pojavnosti mikotoksina u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima s obzirom na vrstu proizvoda

Mikotoksin	Vrsta proizvoda					
	Trajne kobasice			Suhomesnati proizvodi		
	n %	Sred.konc.±SD (µg/kg)	Min-max (µg/kg)	n %	Sred.konc.±SD (µg/kg)	Min-max (µg/kg)
AFB ₁	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
OTA	13	0,84±0,70	0,24-3,02	6	1,57±1,82	0,27-4,21
CIT	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
STC	5	0,78±1,40	0,10-3,93	4	0,23±0,18	0,12-0,49
CPA	11	35,18±81,22	0,21-335,90	17	22,11±27,64	3,20-108,50

< LOD ispod limita detekcije; n % postotak uzoraka; Sred.konc. srednja koncentracija uzoraka; SD standardna devijacija;
 LOD: OTA - 0,18 µg/kg; STC - 0,02 µg/kg; CPA µg/kg 0,43/ 2,17 µg/kg u matrici; CIT - 0,60 µg/kg; AFB₁ - 0,03 µg/kg

odnosu na kobasice pretpostavljajući kao uzrok puno duži period zrenja (Peromingo i sur., 2018.; Vulić i sur., 2020.; Lešić i sur., 2021.). Kontaminacija OTA iznad preporučene razine za mikotoksine u mesnim proizvodima, koja je definirana nacionalnim zakonodavstvom u pojedinim zemljama Europske unije (npr. u Italiji < 1 µg/kg), dok to nije slučaj za Republiku Hrvatsku, podjednako se javlja u kobasicama i pršutima (14 % i 13 %) (Perrone i sur., 2019.). Relativno niske OTA razine u kobasicama mogu se objasniti i prisutnošću ovitaka, koji netaknuti mogu djelovati kao zaštitni sustav za kobasice. U istraživanju Rocanda i sur. (2020.) OTA je detektiran u 25 % analiziranih ovitaka u koncentracijama do 98,52 µg/kg, dok su jestivi dijelovi bili kontaminirani samo u 3 uzorka u koncentraciji većoj od 1 µg/kg.

Zaključci

Identifikacija plijesni s površine trajnih mesnih proizvoda važna je u eliminaciji rasta toksikotvornih i nepoželjnih vrsta.

To je jedan od prvih koraka u sprječavanju kontaminacije mesnih proizvoda mikotoksinima, osiguravajući na taj način zdravstvenu ispravnost proizvoda. Međutim, obzirom da mikotoksini mogu biti prisutni u proizvodu i bez vidljivog rasta plijesni, ujedno i putem drugih puteva kontaminacije, neophodna je primjena preciznih i dovoljno osjetljivih analitičkih metoda u istraživanju njihove pojavnosti u svrhu procjene izloženosti mikotoksinima putem mesnih proizvoda i rizika koje predstavljaju za zdravlje ljudi i životinja te za uspostavu najvećih dopuštenih količina mikotoksina u mesnim proizvodima razini zakonodavstva Europske unije.

Zahvala

Ovaj rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom „Mikotoksini u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima: molekularna identifikacija plijesni producenata i procjena izloženosti potrošača“ (IP-2018-01-9017).

LITERATURA

1. AGRIOPOULOU, S., E. STAMATELOPOULOU, T. VARZAKAS (2020): *Advances in analysis and detection of major mycotoxins in foods*. *Food* 9, 3-23.
2. ALAPONT, C., M.C. LOPEZ-MENDOZA, J.V. GIL, P.V. MARTINEZ-CULEBRAS (2014): *Mycobiota and toxigenic Penicillium species on two Spanish dry-cured ham manufacturing plants*. *Food Addit. Contam. A* 31, 93-104.
3. ASEFA, D.T., R.O. GJERDE, M.S. SIDHU, S. LANGSRUD, C.F. KURE, T. NESBAKKEN, I. SKAAR (2009): *Moulds contaminants on Norwegian dry – cured meat products*. *Int. J. Food Microbiol.* 128, 435 – 439.
4. ASEFA, D.T., C.F. KURE, R.O. GJERDE, M.K. OMER, S. LANGSRUD, T. NESBAKKEN, I. SKAAR (2010): *Fungal growth pattern, sources and factors of mould contamination in a dry-cured meat production facility*. *Int. J. Food Microbiol.* 140, 131-135.
5. BAILLY, J.D., C. TABUC, A. QUERIN, P. GUERRE (2005): *Production and stability of patulin*, (2009): *Moulds contaminants on Norwegian dry – cured meat products*. *Int. J. Food Microbiol.* 128, 435 – 439.

- ochratoxin A, citrinin, and cyclopiazonic acid on dry cured ham. *J. Food Prot.* 68, 1516–1520.
6. BOURDICHON, F., S. CASAREGOLA, C. FARROKH, J.C. FRISVALD, M.L. GERDS, W.P. HAMMES, J. HARNETT, G. HUYS, S. LAULUND, A. OUWEHAND i sur. (2012): Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *Int. J. Food Microbiol.* 154, 87–97.
 7. COMI, G., S. ORLIĆ, S. REDŽEPOVIĆ, R. URSO, L. IACUMIN (2004): Moulds isolated from Istrian dried ham at the pre-ripening and ripening level. *Int. J. Food Microbiol.* 96, 29–34.
 8. FRISVALD, J.C. (2011): Rationale for a polyphasic approach in the identification of mycotoxigenic fungi. U: *Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed* (De Saeger, S., ured.), Woodhead Publishing limited, Cambridge, str. 280–296.
 9. IACUMIN, L., L. CHISEA, D. BOSCOLO, M. MANZANO, C. CANTONI, S. ORLIĆ, G. COMI (2009): Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. *Food Microbiol.* 26, 65–70.
 10. IACUMIN, L., S. MILESI, S. PIRANI, G. COMI, L.M. CHISEA (2011): Ochratoxigenic mold and ochratoxin A in fermented sausages from different areas in Northern Italy: Occurrence, reduction or prevention with ozonated air. *J. Food Saf.* 31, 538–545.
 11. IARC, International Agency for Research on Cancer (1986): Citrinin. Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components, Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC - International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
 12. IARC, International Agency for Research on Cancer (1993): Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks 56. IARC - International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
 13. IARC, International Agency for Research on Cancer (2002): Aflatoxins. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC - International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
 14. KIŠ, M., A. VULIĆ, I. KMETIČ, T. LEŠIĆ, T. MURATI, J. PLEADUN (2019): Ciklopiazonična kiselina: toksičnost i pojavnost nedovoljno istražene mikotoksina. *CJFST* 14, 33–38.
 15. KOVAČEVIĆ, D. (2017): Kemija i tehnologija šunki i pršuta, Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek, Hrvatska.
 16. LEŠIĆ, T., N. VAHČIĆ, I. KOS, M. ZADRAVEC, B. SINČIĆ PULIĆ, T. BOGDANOVIĆ, S. PETRIČEVIĆ, E. LISTEŠ, M. ŠKRIVANKO, J. PLEADIN (2020): Characterization of Traditional Croatian Household- Produced Dry- Fermented Sausages. *Foods* 9, 990.
 17. LEŠIĆ, T., M. ZADRAVEC, N. ZDOLEC, A. VULIĆ, I. PERKOVIĆ, M. ŠKRIVANKO, N. KUDUMIJA, Ž. JAKOPOVIĆ, J. PLEADIN (2021): Mycobiota and Mycotoxin Contamination of Traditional and Industrial Dry-Fermented Sausage Kulen. *Toxins* 13, 1–13.
 18. PAPAGIANNI, M., I. AMBROSIADIS, G. FILIOUSIS (2007): Mould growth on traditional Greek sausages and penicillin production by *Penicillium* isolates. *Meat Sci.* 76, 653–657.
 19. PEROMINGO, B., M. RODRIGUEZ, F. NUNEZ, A. SILVA, A. RODRIGUEZ (2018): Sensitive determination of cyclopiazonic acid in dry-cured ham using a QuEChERS method and UHPLC–MS/MS. *Food Chem.* 263, 275–282.
 20. PEROMINGO, B., A. RODRIGUEZ, J. DELGADO, J.J. CORDOBA, M. RODRIGUEZ (2019): Relationship between cyclopiazonic acid production and gene expression in *Penicillium griseofulvum* under dry-cured ham processing environmental conditions. *Mycotoxin Res.* 35, 353–361.
 21. PERRONE, A. RODRIGUEZ, D. MAGISTA, N. MAGAN (2019): Insights into existing and future fungal and mycotoxin contamination of cured meats. *Curr. Opin. Food Sci.* 29, 20–27.
 22. PITT, J.I., A.D. HOCKING (2009): *Fungi and Food Spoilage*, 3. izd., Springer, New York.
 23. PLEADIN, J., N. PERŠI, D. KOVAČEVIĆ, N. VAHČIĆ, G. SCORTICHINI, S. MILONE (2013): Ochratoxin A in traditional dry-cured meat products produced from subchronic-exposed pigs. *Food Addit. Contam. Part A* 30, 1827–1836.

24. PLEADIN, J., M. ZADRAVEC, T. LEŠIĆ, J. FRECE, V. VASILJ, K. MARKOV (2020): Klimatske promjene - Potencijalna prijetnja još znatnijoj pojavnosti mikotoksina. *Veterinarska stanica* 51, 659-671.
25. PLEADIN, J., T. LEŠIĆ, D. MILIČEVIĆ, K. MARKOV, B. ŠARKANJ, N. VAHČIĆ, I. KMETIČ, M. ZADRAVEC (2021): Pathways of Mycotoxin Occurrence in Meat Products: A Review. *Processes* 9, 1-14.
26. PERŠI, N., J. PLEADIN, D. KOVAČEVIĆ, G. SCORTICHINI, S. MILONE (2014): Ochratoxin A in raw materials and cooked meat products made from OTA-treated pigs. *Meat Sci.* 96, 203-210.
27. RAHMANI, A., S. JINAP, F. SOLEIMANY (2009). Qualitative and Quantitative Analysis of Mycotoxins. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 8, 202-251.
28. RAZAZZI-FAZELI, E., E.V. REITER (2011): *Sample preparation and clean up in mycotoxin analysis: principles, applications and recent developments*. U: *Determining Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi in Food and Feed* (De Saeger, S., ured.), Woodhead Publishing Series, Cambridge, str. 37-70.
29. RODRIGUES, P., D. SILVA, P. COSTA, L. ABRUNHOSA, A. VANANCIO, A. TEIXEIRA (2019): Mycobiota and mycotoxins in Portuguese pork, goat and sheep dry-cured hams. *Mycotoxin Res.* 35, 405-412.
30. RODRIGUEZ, A., M. RODRIGUEZ, A. MARTIN, F. NUNEZ, J.J. CORDOBA (2012): Evaluation of hazard of aflatoxin B1, ochratoxin A and patulin production in dry-cured ham and early detection of producing moulds by qPCR. *Food Control* 27, 118-126.
31. RONCANDA, P., A. ALTAFINI, G. FEDRIZZI, A. GUERRINI, G.I. POLONINI, E. CAPRAI (2020): Ochratoxin A contamination of the casing and the edible portion of artisan salamis produced in two Italian regions. *World Mycotoxin J.* 13, 553-562.
32. SAMSON, R.A., J. HOUBRAKEN, U. THRANE, J.C. FRISVALD, B. ANDERSEN (2019): *Food and Indoor Fungi*, 2. izd., Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht.
33. SORENSEN, L.M., J.C. FRISVLAD, P.V. NIELSEN, R. LAMETSCH, A.G. KOCH, T. JACOBSEN (2009): Filamentous fungi on meat products, their ability to produce mycotoxins and a proteome approach to study mycotoxin production. *Doktorska disertacija*. <<http://orbit.dtu.dk/files/5022914/Marie%20S%C3%B8rensen%20til%20tryk.pdf>>. Pristupljeno 13.travnja 2021.
34. STORARI, M., L. BIGLER, C. GESSLER, G.A.L. BROGGINI (2012): Assessment of the ochratoxin A production ability of *Aspergillus tubingensis*. *Food Addit. Contam. A* 29, 1450-1454.
35. TITTELMIER, S., J. BRUNKHORST, B. CRAMER, M.C. DEROSA, V.M.T. LATTANZIO, R. MALONE, C. MARAGOS, M. STRANSKA (2021): Developments in mycotoxin analysis: An update for 2019 - 2020. *World Mycotoxin J.* 14, 3-26.
36. VULIĆ, A., T. LEŠIĆ, N. KUDUMIJA, M. ZADRAVEC, M. KIŠ, N. VAHČIĆ, J. PLEADIN (2020): The development of LC-MS/MS method of determination of cyclopiazonic acid in dry-fermented meat products. *Food Control* 123, 107814.
37. ZADRAVEC, M., N. VAHČIĆ, D. BRNIĆ, K. MARKOV, J. FRECE, R. BECK, T. LEŠIĆ, PLEADIN, J. (2020): A study of surface moulds and mycotoxins in Croatian traditional dry-cured meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 317, 108459.

Što radi tehnolog osiguranja kvalitete?

Ivana Žepić*, univ. mag. ing. techn. aliment.

*Zagrebačke pekarnice Klara d.d.

Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet

e-mail: zepicivana@gmail.com

Pojam kvalitete ne predstavlja „moderan“ pojam, već seže od drevnih civilizacija i vremena. Kao takav koristio se u raznim civilizacijama i kulturama poput grčke, egipatske i rimske. Stari Egipćani koristili su kvalitetu kao pojam za „znak savršenstva“ kojom su definirali gradnju i arhitekturu piramida (Elassy, 2015). Nadalje, lovci su također pojmom kvalitete razlikovali jestivu hranu od nejestive, kao i prikladnost alata za lov.

Nagli razvoj industrijske proizvodnje hrane, sve veći zahtjevi potrošača, ali i svih sudionika u prehrambenom lancu rezultirali su poboljšanjem kvalitete i sigurnosti hrane na razini tvrtke implementacijom sustava osiguranja kvalitete i sigurnosti hrane. Sustavi upravljanja kvalitetom postali su neophodni u svakom sektoru prehrambene industrije kako bi se osigurala sigurna i kvalitetna hrana krajnjim potrošačima (Orris i Whitehead, 2000). Osiguranje kvalitete predstavlja opsežan proces kojem je cilj spriječiti „neispravnost“ prehrambenog proizvoda prilikom svake etape proizvodnog procesa.

Obzirom na različite zahtjeve kupaca, ali i tržišta na koje se izvozi ili prodaje hra-

na postoji nekoliko standarda vezanih uz osiguranje kvalitete i sigurnost hrane. Neki od tih su BRC (*British Retail Consortium*), IFS (*International Food Standards*) i FSSC (*Food Safety System Certification*). Navedeni standardi priznati su od strane GFSI (*Global Food Safety Initiative*), a cilj im je učiniti hranu sigurnijom i osigurati povjerenje potrošača (Filipović i sur., 2008).

Zagrebačke pekarnice Klara d.d. posjeduju IFS certifikat visoke razine. IFS certifikat sadrži određene zahtjeve koji su vezani uz sigurnost prehrambenih proizvoda. Zahtjevi sežu od samih sirovina, proizvodnog procesa, gotovog proizvoda i transporta krajnjem kupcu.

Tehnolog osiguranja kvalitete u ZP Klara d.d. član je nekoliko timova (Tim za kvalitetu i sigurnost hrane, Tim za procesnu kontrolu, Tim za patvorenje, HACCP tim) koji svaki zahtjev IFS certifikata realizira u suradnji s kolegama. Vrlo je važno da tehnolog osiguranja kvalitete prati sve zakonske propise koje primjenjuje u svom području kao i da ažurira dokumentaciju prilikom promjene Zakona. Također, dužnost tehnologa osiguranja kvalitete jest vođenje dokumentacije

vezano uz dobavljače. Navedeno uključuje adekvatnu specifikaciju sirovine/proizvoda, analitičko izvješće o zdravstvenoj ispravnosti te poželjno GFSI priznat certifikat, ukoliko ih dobavljač posjeduje. Jedna od dužnosti jest definirati kriterije prema kojima se prihvaća dokumentacija dobavljača za pojedinu sirovinu i/ili proizvod. U suradnji s Odjelom nabave izrađuje se Ocjena dobavljača po definiranim kriterijima najmanje jednom u 12 mjeseci. Nadalje, tehnolog osiguranja kvalitete dužan je provoditi validaciju HACCP plana prilikom promjene sirovine u nekom od tehnoloških procesa. Validacija HACCP plana provodi se uvođenjem nove sirovine u tehnološki proces u suradnji s tehnolozima u proizvodnji, pri čemu je važno da nova sirovina ne utječe na kontrolne točke i kritične kontrolne točke. U suradnji s tehnolozima u proizvodnji, osigurava se procesna kontrola kojom se utvrđuje prikladnost krajnjeg proizvoda prije isporuke. Procesna kontrola provodi se prema unaprijed definiranim parametrima za pojedini proizvod. Prilikom provedbe procesne kontrole vodi se računa o masi, volumenu, izgledu te ambalaži proizvoda za isporuku. Tehnolog osiguranja kvalitete odgovoran je za izradu i provedbu Planova za kontrolu zdravstvene ispravnosti gotovih proizvoda i sirovina, kao i mikrobiološku čistoću pogona i vode. Planovi se izrađuju na temelju analize rizika te se ovisno o pro-

cjeni rizika (nizak, srednji, visoki rizik) definira učestalost uzorkovanja uzevši u obzir zakonsku regulativu i dobru proizvođačku i higijensku praksu. Upravljanje reklamacijama, u suradnji s menadžerom kvalitete, predstavlja još jednu od mnogih dužnosti tehnologa osiguranja kvalitete. Prilikom obrade reklamacijskog zapisnika provjerava se sljedivost proizvoda kako bi se utvrdila ili otklonila moguća pogreška tijekom proizvodnog ili transportnog procesa. Također, sljedivost se dokazuje prilikom svakog audita. Provodi se uzlazna (od sirovine prema proizvodu) i silazna sljedivost (od proizvoda prema sirovini) s pripadajućim bilancama mase koja se mora dokazati unutar četiri sata. Finalno, tehnolog osiguranja kvalitete dužan je educirati osoblje o pravilnoj manipulaciji prilikom proizvodnje hrane u svrhu očuvanja sigurnosti i kvalitete hrane.

Cilj ovog rada jest približiti mnoge dužnosti i odgovornosti radnog mjesta tehnologa osiguranja kvalitete studentima diplomskog studija Upravljanje sigurnošću hrane. Radno mjesto tehnologa osiguranja kvalitete predstavlja izrazito odgovorno radno mjesto jer mu je primarni cilj osigurati zdravstveno ispravan proizvod s izvrsnim organoleptičkim svojstvima za krajnjeg potrošača, kao i utjecati na svijest radne okoline o svim mjerama koje je potrebno poduzeti i provoditi kako bi se osigurala sigurna i kvalitetna hrana za ljudsku konzumaciju.

Literatura

1. ELASSY, N. (2015). *The concepts of quality, quality assurance and quality enhancement. Quality assurance in education*, 23(3), 250-261. <https://doi.org/10.1108/QAE-11-2012-0046>
2. FILIPOVIĆ, I., NJARI, B., KOZAČINSKI, L., CVR-TILA FLECK, Ž., MIOKOVIĆ, B., ZDOLEC, N., DOBRANIĆ, V. (2008). *Quality management systems in the food industry. Meso*, 10(6), 465-468.
3. ORRISS, G.D., WHITEHEAD, A.J. (2000). *Hazard analysis and critical control point (HACCP) as a part of an overall quality assurance system in international food trade. Food control*, 11(5), 345-351. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(99\)00094-8](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(99)00094-8)

ZBORNIK RADOVA *Sigurnost hrane i zaštita potrošača (2024; Velika Gorica)*

Nakladnik

Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti
Trg Nikole Šubića Zrinskog 11, 10000 Zagreb

Za nakladnika

Akademik Dario Vretenar, glavni tajnik

Grafička obrada

Maja Mravec

Naklada

100 primjeraka

Tisak

Stega tisak

ISBN 978-953-347-557-8

