

**UTICAJ PRISUSTVA REZIDUA OHRATOKSINA A I  
TOKSIČNIH ELEMENATA U TKIVIMA NA BEZBEDNOST  
SVINJSKOG MESA\***

***PRESENCE OF OCHRATOXIN A AND TOXIC ELEMENTS RESIDUE IN  
TISSUES AND THEIR IMPACT ON SAFETY OF PORK***

**D. Milićević, M. Jovanović, Verica Jurić, Aleksandra Daković,  
S. Stefanović, Z. Petrović\*\***

*Cilj ovog rada je bio da se utvrdi prisustvo rezidua ohratoksina A (OTA) i toksičnih elemenata (kadmijum, olovo, živa i arsen) u tkivima zaklanih, tovnih svinja, poreklom iz različitih regiona Srbije. Tokom veterinarsko-sanitarnog pregleda zaklanih svinja, na liniji klanja, metodom slučajnog uzorkovanja uzimani su uzorci krvi, a zatim pripadajuća jetra i bubrezi, odgovarajuće životinje (n=90). Prisustvo rezidua OTA utvrđeno je u 26,6% uzoraka jetre u količini od 0,22 do 14,5 ng/g, dok je zastupljenost rezidua OTA u uzorcima krvne plazme i bubrega bila skoro identična (31,1 i 33,3%, ponaosob). Sadržaj OTA u uzorcima krvne plazme kretao se od 0,22 do 220,8 ng/mL, dok se u uzorcima bubrega kretao od 0,17 do 52,5 ng/g. Distribucija OTA u ispitanim tkivima (u %) u odnosu na sadržaj kretala se sledećim redosledom: krvna plazma > bubrezi > jetra (100 > 34 > 17), dok se u odnosu na zastupljenost rezidua kretala sledećim redosledom bubrezi > krvna plazma > jetra (100 > 93,4 > 79,9). Rezultati naših istraživanja ukazuju na to da je u 2,2% ispitanih uzoraka bubrega utvrđen sadržaj OTA iznad maksimalno dozvoljene granice (10 ng/g). Nizak stepen pozitivne korelacije utvrđen je između sadržaja OTA u krvnoj plazmi i jetri (r=0,319), kao i između sadržaja OTA u jetri i bubrezima (r=0,341). Vrlo visok stepen pozitivne korelacije utvrđen je između sadržaja OTA u krvnoj plazmi i bubrezima (r=0,973).*

\* Rad saopšten na simpozijumu "Bezbednost namirnica animalnog porekla", Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Beograd 16 i 17. oktobar 2008. godine

\*\* Dr sci. med. vet. Dragan Milićević, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd; dr sci. med. vet. Milijan Jovanović, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Katedra za patološku morfologiju, Beograd; dr. sci. med. vet. Verica Jurić, profesor, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za stočarstvo, Novi Sad; Aleksandra Daković, Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina, Beograd; Srđan Stefanović, dr vet. med., Zoran Petrović, dr vet. med., Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

*Prisustvo rezidua žive utvrđeno je u 33,3% uzoraka bubrega, u odnosu na učestalost nalaza rezidua kadmijuma koja je bila nešto manja (27,7%). Sadržaj žive kretao se u granicama predviđenim pravilnikom (0,005-0,055 mg/kg), dok je sadržaj kadmijuma u jednom uzorku bio iznad maksimalno dozvoljene granice (1,23 mg/kg). Prisustvo arsena utvrđeno je samo u jednom uzorku, dok prisustvo olova nije utvrđeno.*

*Ključne reči: svinje, ohratoksin A, toksični elementi, rezidue*

## **Uvod / Introduction**

Ohratoksin A je nefrotoksičan mikotoksin, proizvod sekundarnog metabolizma relativno malog broja plesni iz roda *Aspergillus* i *Penicillium*, prvenstveno *P. verrucosum* u hladnim područjima i *A. ochraceus* u tropskim i suptropskim krajevima (Frisvad i Thrane, 2000; Larsen i sar., 2001), poseduje teratogeno, imunotoksično (Creppy, 1999; WHO/IPCS, 2001), genotoksično i verovatno neurotoksično dejstvo (Bruinink i Sidler, 1985), kod različitih životinjskih vrsta, a naročito kod svinja.

Posebnu opasnost predstavlja mogućnost da se u organizmu životinja koje su uzimale kontaminiranu hranu mogu naći rezidue (mikotoksini i/ili njihovi metaboliti) u različitim koncentracijama, pa može doći do ispoljavanja štetnih efekata i kod ljudi. Na taj način preko namirnica animalnog porekla, OTA ulazi u lanac ishrane. Na bazi velikog broja podataka o kancerogenom dejstvu OTA na različite životinjske vrste i za sada nedovoljnom broju podataka na ljude, Internacionalna agencija za izučavanje raka (IARC) je 1993. klasifikovala OTA kao mogući kancerogeni agens za ljude i svrstala ga u grupu 2B (IARC, 1993).

U našem regionu OTA predstavlja poseban problem zbog povezanosti sa oboljenjem ljudi poznatim kao balkanska endemska nefropatija (BEN) (Krogh, 1979). Balkanska endemska nefropatija (BEN) je degenerativno, ireverzibilno oboljenje bubrega, terminalnog stadijuma, sa smrtnim ishodom, zastupljeno u određenim delovima Evrope i severne Afrike. Novija istraživanja ukazuju na mogućnost uloge OTA u razvoju kancera testisa kod ljudi (Schwartz, 2002). Učestalost pojave kancera testisa u 20 zemalja bio je u signifikantnoj korelaciji sa konzumiranjem kafe i svinjskog mesa po stanovniku ( $r=0,49$  i  $r=0,54$ ). Ohratoksin A se smatra primarnim uzročnikom BEN-a, međutim nefrotoksično dejstvo ispoljavaju čitav niz bioloških i hemijskih agenasa.

Zagađenje životne sredine i prisustvo toksičnih elemenata u lancu ishrane predstavlja globalan, sve veći problem u svetu. Po svojoj toksičnosti najznačajniji su olovo (Pb), kadmijum (Cd), živa (Hg) i metaloid arsen (As). To su stabilni elementi, ne metabolišu se, imaju jako dugo vreme polueliminacije, poseduju bioakumulativno svojstvo i ispoljavaju opštu toksičnost za sve ćelije organizma. Procenjuje se da se svake godine u životnu sredinu oslobodi od 25.000 do 30.000 tona kadmijuma (ATSDR, 1999) i oko 10.000 tona žive (UNEP/GEMS,

1992). Kadmijum je kao pulmonalni kancerogen svrstan u grupu 1 (*human carcinogen*) (IARC, 1993).

Uzimajući u obzir da bezbednost hrane predstavlja jedan od državnih prioriteta, kako u pogledu unapređenja javnog zdravlja tako i u pogledu harmonizacije nacionalnih propisa sa regulativama EU, cilj naših istraživanja je bio da se stekne detaljniji uvid u prisustvo rezidua OTA i toksičnih elemenata u tkivima zaklanih, tovnih svinja, poreklom iz Vojvodine i dela zapadne Srbije.

#### **Materijal i metode / *Materials and methods***

Za ispitivanja prisustva rezidua OTA i toksičnih elemenata u tkivima zaklanih svinja poreklom sa farmi iz Vojvodine i dela zapadne Srbije, na liniji klanja metodom slučajnog uzorkovanja uzimani su uzorci krvi (Hult i sar., 1980), a zatim pripadajuća jetra i bubrezi, odgovarajuće životinje. Tokom šestomesečnog perioda ispitivanja (septembar 2006 – februar 2007) ukupno je zaklano 762 svinje iz regiona Vladimirci, 363 svinje iz regiona Senta i 322 svinje iz regiona Bogatić, a za analizu je uzeto po 90 uzoraka krvi, jetre i bubrega svinja iz svakog regiona.

Ispitivanje prisustva rezidua OTA izvršeno je tehnikom visoko efikasne tačne hromatografije sa fluorescentnim detektorom (*HPLC-FL, Waters Alliance*, kolona *Waters Symmetry Shield RP 18, 150x4,6 mm, 5 µm*). Uzorci krvne plazme analizirani su po metodi *Curtui i Gareis* (2001) (Curtui i Gareis, 2001a), a uzorci jetre i bubrega po metodi *Matrella i sar.*, (2006) (Matrella, 2006). U uzorcima u kojima je utvrđeno prisustvo rezidua OTA iznad maksimalno dozvoljene količine (10 ng/g), izvršena je konfirmacija metodom tačne hromatografije sa masenom detekcijom (*LC-MS/MS*).

Određivanje prisustva rezidua toksičnih elemenata izvršeno je tehnikom atomske apsorpcione spektrometrije, uz prethodnu pripremu uzorka po metodi proizvođača uređaja za mikrotalasnu digestiju *Milestone TC (Touch Control)*. Detektovanje kadmijuma i olova izvršeno je plamenom tehnikom (acetilenskim plamenom). Detektovanje žive izvršeno je hidridnom tehnikom hladne pare, a arsena hidridnom tehnikom u plamenu uz korišćenje uređaja za generisanje hidridnih para sa kontinuiranim protokom *Varian VGA-77*. Očitavanje apsorbaneci vršeno je na uređaju *Varian SpectrAA 220*, a svi rezultati izraženi su na vlažnu masu (mg/kg). Za proveru kvaliteta ispitivanja korišćen je liofilizovan bubreg svinje u formi homogenizovanog praha, registrovan kao sertifikovani referentni materijal BCR No. 186.

#### **Statistička obrada podataka / *Statistical analysis***

Rezultati ispitivanja grupisani su u odgovarajuće statističke serije i obrađeni korišćenjem standardnih programa i to OriginLab 7 i MS Excel 2003. Analiza statističke značajnosti sadržaja OTA i toksičnih elemenata između praće-

nih regiona, izvršena je one-way ANOVA ( $p < 0,05$ ), a naknadne analize statističkih razlika između pojedinih regiona izvršene su Studentovim *t*-testom ( $p < 0,05$ ).

### **Rezultati i diskusija / Results and disussion**

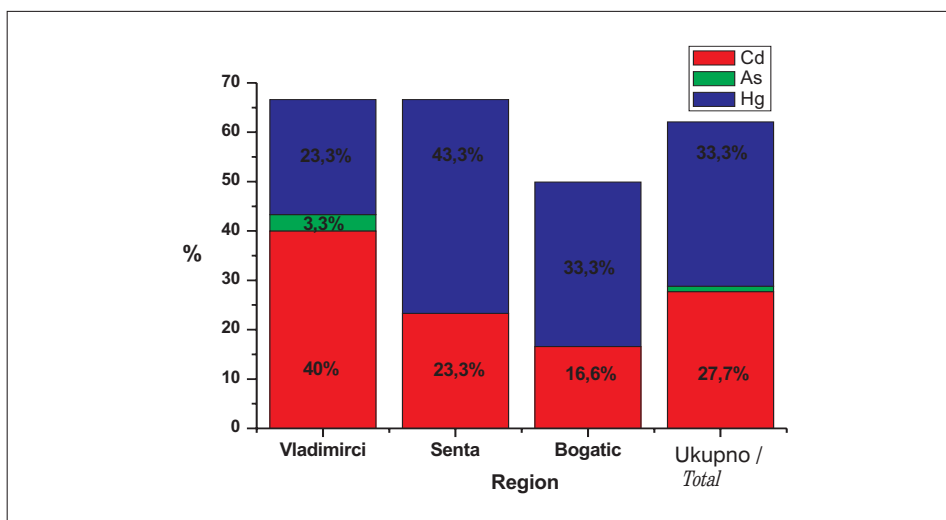
Zastupljenost rezidua OTA i toksičnih elemenata u tkivima zaklanih svinja poreklom sa praćenih regiona prikazana je u tabeli 1 i slikom 1. Dobijeni rezultati analize uzoraka krvne plazme i organa klinički zdravih, zaklanih, tovnih svinja, poreklom iz različitih lokaliteta Vojvodine i Srbije, ukazuju na prisustvo rezidua OTA i toksičnih elemenata. O nalazu rezidua OTA u krvnoj plazmi i jestivim tkivima svinja postoje obimni podaci (Curtui i sar., 2001; Gareis i Scheuer, 1999; Jorgensen and Vahl, 1999; Lusky i sar., 1997; Milićević i sar., 2007; Stoev i sar., 1998). Rezultati ovih istraživanja približno su jednaki rezultatima dobijenim u našim ispitivanjima.

U tabeli 1 prikazana je zastupljenost rezidua ohratoksina A u uzorcima krvne plazme, bubrega i jetre poreklom iz praćenih regiona. Iz prikazane tabele se može uočiti da je najveća zastupljenost rezidua OTA utvrđena u uzorcima bubrega (33,3%), dok je zastupljenost rezidua OTA u uzorcima krvne plazme bila neznatno niža (31,1%), ali su zato prosečne vrednosti bile daleko više. U pogledu zastupljenosti i sadržaja rezidua OTA u ispitanim tkivima, najmanja zastupljenost i prosečan sadržaj rezidua OTA utvrđen je u uzorcima jetre (26,6%). Analizirajući rezultate ispitivanja prisustva rezidua OTA u tkivima po regionima, može se uočiti da je zastupljenost rezidua OTA u uzorcima bubrega poreklom iz lokaliteta Senta i Bogatić bila podjednaka (36,6%), dok je u uzorcima poreklom iz lokaliteta Vladimirci prisustvo rezidua OTA utvrđeno u 26,6% uzoraka. Posmatrajući zbirno za ceo period ispitivanja, sadržaj OTA u ispitanim uzorcima kretao od 0,17 do 52,5 ng/g. Najveći sadržaj rezidua OTA (52,5 ng/g) utvrđen je u uzorku poreklom iz lokaliteta Bogatić. Analizom uzoraka krvne plazme utvrđene su dosta velike varijacije kako u zastupljenosti tako i u sadržaju OTA između regiona sa kojih su uzorci uzimani za analizu. Najveća zastupljenost rezidua OTA utvrđena je u uzorcima poreklom iz lokaliteta Senta (43,3%), u odnosu na uzorke poreklom iz lokaliteta Vladimirci gde je utvrđena najmanja zastupljenost (16,6%) rezidua OTA. Sadržaj OTA u uzorcima krvne plazme kretao se od 0,22 do 220,8 ng/mL, a najveći sadržaj rezidua OTA (220,8 ng/mL) utvrđen je u uzorku poreklom iz regiona Bogatić. Kao i u prethodnom slučaju, analizom uzoraka jetre zabeležene su dosta velike varijacije u zastupljenosti rezidua OTA između praćenih regiona, ali su zato prosečne vrednosti sadržaja OTA bile dosta slične. Najveća zastupljenost rezidua OTA utvrđena je u uzorcima jetre poreklom iz regiona Vladimirci (36,6%), dok je najmanja zastupljenost rezidua OTA utvrđena u uzorcima poreklom iz regiona Senta (13,3%). Međutim, najveći sadržaj rezidua OTA utvrđen je u uzorku poreklom iz lokaliteta Senta (14,5 ng/g).

Tabela 1. Zastupljenost rezidua ohratoksina A u uzorcima krvne plazme, bubrega i jetre poreklom sa praćenih regiona /  
Table 1. Presence of OTA residue in samples of blood plasma, kidneys and liver originating from monitored regions

Region / Region	N	Krvna plazma / Blood plasma (ng/mL)				Bubrezi / Kidneys				Jetra / Liver			
		n (%)				n (%)				n (%)			
		<LD	0.1 <sup>a</sup> -1	1,1-5	>5	<LD	0.14 <sup>a</sup> -1	1,1-5	>5	<LD	0.14 <sup>a</sup> -1	1,1-5	>5
Vladimirci	30	25 (83,4)	3 (10)	2 (6,6)	/	22 (73,3)	5 (16,6)	2 (6,6)	1 (3,3)	19 (63,3)	5 (16,6)	6 (20)	/
Senta	30	17 (56,7)	6 (20)	4 (13,3)	3 (9,9)	19 (63,3)	5 (16,6)	4 (13,3)	2 (6,6)	26 (86,6)	1 (3,3)	2 (6,6)	1 (3,3)
Bogatić	30	20 (66,7)	5 (16,6)	2 (6,6)	3 (9,9)	19 (63,3)	5 (16,6)	4 (13,3)	1 (3,3)	21 (70)	2 (6,6)	6 (20)	1 (3,3)
Ukupno / Total	90	62 (68,9)	14 (15,5)	8 (8,8)	6 (6,6)	60 (66,6)	15 (16,6)	10 (11,1)	4 (4,4)	66 (73,3)	8 (8,8)	14 (15,5)	2 (2,2)

N – ukupan broj analiziranih uzoraka; n – broj uzoraka u opsegu koncentracija, <sup>a</sup>LD – limit detekcije /  
N – total number of analyzed samples; n – number of samples within concentration range, <sup>a</sup>LD – limit of detection



Slika 1. Zastupljenost rezidua toksičnih elemenata u uzorcima bubrega poreklom sa praćenih regiona /  
Figure 1. Representation of toxic elements residue in kidney samples originating from monitored regions

Analizirajući rezultate ispitivanja sadržaja OTA, može se konstatovati da je u najvećem broju ispitanih uzoraka (66,6-73,3%), sadržaj OTA bio ispod limita detekcije. U uzorcima tkiva u kojima je utvrđeno prisustvo rezidua OTA, sadržaj OTA kretao se u veoma širokom opsegu. U uzorcima krvne plazme sadržaj OTA kretao se od 0,22 do 220,8 ng/mL, što je i uticalo da prosečne vrednosti sadržaja budu visoke, dok je u bubrezima utvrđen sadržaj od 0,17 do 52,5 ng/g. Iako je opseg koncentracija bio veoma širok, najveća zastupljenost rezidua OTA utvrđena je u količini do 1 ppb. Sadržaj OTA u uzorcima jetre kretao se od 0,22 do 14,5 ng/g, a u najvećem broju ispitanih uzoraka (15,5%) utvrđen je sadržaj između 1 i 5 ng/g. Rezultati naših istraživanja pokazuju da je u 2,2% ispitanih uzoraka bubrega utvrđen sadržaj OTA iznad maksimalno dozvoljene granice (10 ng/g). I pored postojanja izraženih razlika, sadržaj rezidua OTA u uzorcima poreklom sa ispitanih regiona nije se statistički značajno razlikovao ( $p > 0,05$ ).

Relativno nizak sadržaj OTA u krvnoj plazmi potvrđuje činjenicu da nivo OTA u krvi veoma pouzdano reflektuje prisustvo ovog toksina u hrani kojom su životinje bile hranjene. Zbog visoke konstante asocijacije OTA za proteine krvne plazme (Hagelberg i sar., 1989) i relativno dugog vremena polueliminacije iz organizma životinja (do 6 dana) (Kühn i sar., 1993), heterogena distribucija OTA, često zabeležena u hrani, pojaviće se u homogenoj formi u krvi, čak i u slučajevima ingestije vrlo malih količina OTA. Primenom regresione jednačine moguće je izračunati nivo rezidua OTA u bubrezima, jetri, mišićima i masnom tkivu na bazi poznate koncentracije OTA u krvi (Mortensen, 1983). Krvni serum i urin su se po-

kazali kao odlični biomarkeri izloženosti ljudi i životinja ovom toksinu putem hrane, te se analiza krvi može uspešno koristiti kao sredstvo u dijagnostici ohratoksikoza, naročito supkliničkih (Gremmels i sar., 1995) koje su najčešće za beležene na našim prostorima.

Prisustvo rezidua OTA u bubrežima svinja predstavlja rezultat selektivne akumulacije (glomerularna filtracija) u bubrežnom tkivu i spore eliminacije (reapsorpcija u proksimalnim tubulima bubrega). Nalaz OTA u jetri ukazuje na pretežno alimentarnu izloženost životinja toksinu. Nakon resorpcije, najveći deo ohratoksina se nalazi u jetri, gde se vrši njegova detoksifikacija, a u znatno manjoj meri u bubrežima i muskulaturi. Veliki broj mikotoksina izaziva promene na jetri, koja je zbog svog topografskog položaja, izložena tzv. prvom prolazu celokupne količine mikotoksina nakon ingestije (Sinovec Snežana, 1996). Analizirajući rezultate ispitivanja međusobne zavisnosti između sadržaja OTA u ispitanim tkivima, nizak stepen pozitivne korelacije utvrđen je između sadržaja OTA u krvnoj plazmi i jetri ( $r=0,319$ ), kao i između sadržaja OTA u jetri i bubrežima ( $r=0,341$ ), dok je vrlo visok stepen pozitivne korelacije utvrđen između sadržaja OTA u krvnoj plazmi i bubrežima ( $r=0,973$ ).

Distribucija OTA u ispitivanim tkivima u odnosu na sadržaj kretala se sledećim redosledom: krvna plazma > bubrezi > jetra ( $100 > 34 > 17$ ), dok se u odnosu na zastupljenost rezidua, kretala sledećim redosledom: bubrezi > krvna plazma > jetra ( $100 > 93,4 > 79,9$ ). Rezultati naših ispitivanja distribucije OTA u ispitanim tkivima u skladu su sa rezultatima dobijenim u istraživanjima drugih autora (Curtui i sar., 2001; Kühn, 1993; Mortensen i sar., 1983).

Odnos između sadržaja OTA u mišićnom tkivu i bubrežima bio je predmet istraživanja mnogih autora (WHO/IPCS, 2001; Curtui i sar., 2001; Madsen i sar., 1982). Rezultati ovih istraživanja pokazuju da se odnos između sadržaja OTA u bubrežima i mišićnom tkivu kretao u širokom opsegu, od 10:1 do 10:9. Sadržaj OTA u mišićnom tkivu i bubrežima, kao i njihov odnos, zavisi od više faktora od kojih su najznačajniji: sadržaj OTA u hrani, period ishrane kontaminiranom hranom, način na koji je hrana kontaminirana (prirodno ili veštački), kao i poštovanje karence. Na osnovu poznate količine OTA u bubrežima primenom regresione jednačine može se odrediti sadržaj OTA u tkivima (Tabela 2).

Tabela 2. Regresiona jednačina za izračunavanje sadržaja OTA u tkivima (Krogh i sar., 1976)  
Table 2. Regression equation for calculating OTA content in tissues (Krogh et al., 1976)

Tkivo / Tissue	Regresiona jednačina / Regression equation
Jetra / Liver	$y = -0,7 + 0,7x$
Mišićno tkivo / Muscle tissue	$y = -0,6 + 0,4x$
Masno tkivo / Fatty tissue	$y = -0,8 + 0,3x$

y – rezidue OTA u tkivima (ng/g), x – sadržaj OTA u bubrežima (ng/g)  $X \geq 2$  /  
y – residue of OTA in tissues (ng/g). x – content of OTA in kidneys (ng/g)  $X \geq 2$



Danski sistem kontrole prisustva rezidua OTA u mesu uspostavljen 1978. zasniva se na analizi makroskopski promenjenih bubrega ("bledi, mekani i uvećani") i prediktivnom modelu odnosa sadržaja OTA u mišićnom tkivu/bubreg oko 40% (Büchmann i Hald, 1985). Prema tom modelu, pri nalazu OTA u bubrezima od 25 ng/g, sadržaj OTA u mesu bi trebao da bude oko 10 ng/g. Međutim, uzimajući u obzir preporuke organizacija kao što su Naučni komitet za hranu (SCF- *Scientific Committee on Food*) i JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) o tolerantnom dnevnom unosu (TDI) OTA ( $1,5-14 \text{ ng/kg}^{-1} \text{ TM dnevno}^{-1}$ ), sa stanovišta zaštite zdravlja ljudi, sadržaj OTA u mesu od 10 ng/g ne zadovoljava pomenute preporuke (JECFA, 2001; SCF, 1998).

Rezultati ispitivanja prisustva rezidua toksičnih elemenata u bubrezima svinja poreklom sa ispitanih regiona ukazuju na to da je tokom naših ispitivanja najčešće utvrđeno prisustvo rezidua žive (33,3%), dok je učestalost nalaza rezidua kadmijuma bila nešto manja (27,7%) (Slika 1). Prisustvo rezidua žive najčešće je utvrđeno u uzorcima poreklom iz regiona Senta (43,3%), u odnosu na rezultate analize uzoraka iz regiona Vladimirci, gde je utvrđena najmanja zastupljenost rezidua žive (23,3%). Međutim, prosečan sadržaj žive u uzorcima poreklom iz ova dva regiona bio je isti (0,003 mg/kg). Rezultati ispitivanja pokazuju da je prisustvo rezidua kadmijuma najčešće utvrđeno u uzorcima bubrega poreklom iz regiona Vladimirci (40%), dok je najmanja učestalost pojave rezidua kadmijuma zabeležena u uzorcima poreklom iz regiona Bogatić (16,6%). Sadržaj žive u ispitanim uzorcima kretao se u granicama predviđenim Pravilnikom (Pravilnik o količinama..., "Sl. list SRJ", br. 5/92) (0,005-0,055 mg/kg), dok je sadržaj kadmijuma u jednom uzorku poreklom iz regiona Vladimirci bio iznad maksimalno dozvoljene granice (1,23 mg/kg). Osim numeričkih, razlike u sadržaju Cd u ispitanim uzorcima poreklom iz regiona Vladimirci i Senta, kao i razlike u sadržaju Cd u uzorcima poreklom iz regiona Vladimirci i Bogatić, pokazale su se statistički visoko značajne ( $p < 0,001$ ).

Dobijeni rezultati u skladu su sa rezultatima istraživanja drugih autora (Gillian i sar., 1997; Karavoltos i sar., 2002) i potvrđuju činjenicu da živa predstavlja jedan od najznačajnijih kontaminanata životne sredine (Storelli i Marcotrigiano, 1999). Nizak sadržaj žive i kadmijuma ukazuju na pretežno alimentarnu izloženost životinja, odnosno upotrebu kontaminirane hrane. Živa je često prisutna u ribljem brašnu, dok se kadmijum pojavljuje kao strukturni kontaminant mineralnih hrana. Kadmijum je pored žive najznačajniji i najčešće zastupljeni nefrotoksični metal (Friber i sar., 1986; Goyer i Cherian, 1995). Pored zagađene vode i mulja, glavni izvori Cd su industrijski otpad i fosfatna đubriva (Menzer, 1991). U našim ispitivanjima prisustvo olova nije utvrđeno i to se može smatrati rezultatom globalne redukcije njegove primene u industriji. Zbog svoje ekskretorne funkcije i dobre vaskularizovanosti bubrezi predstavljaju ciljno tkivo hronične izloženosti teškim metalima (Friberg i sar., 1986; Goering i sar., 1995). U bubrežnom korteksu i jetri se vezuju za protein metalotionin. Vezivanje toksičnih elemenata za ovaj protein predstavlja ključ njihovog dugog vremena polueliminacije (10 do 30 godina) (Ja-



rup i sar., 1998). Sadržaj toksičnih elemenata u mišićnom tkivu je daleko niži u odnosu na sadržaj u bubrezima i jetri (Kostal, 1986). Hronična trovanja Cd, osim što dovode do oštećenja bubrega, oštećuju jetru, dovode do plućnog emfizema, koštanih oboljenja (osteomalacija i osteoporoza) i kancera različitih organa, posebno bubrega (Waalkes i Misra, 1996).

### **Zaključak / Conclusion**

Rezultati ispitivanja prisustva rezidua OTA i toksičnih elemenata u tkivima zaklanih, tovni svinja poreklom sa različitih lokaliteta Srbije i Vojvodine, potvrđuju prisustvo rezidua OTA i toksičnih elemenata. Najveća zastupljenost rezidua OTA utvrđena je u uzorcima bubrega (33,3%), dok je u uzorcima krvne plazme zastupljenost rezidua OTA bila neznatno niža (31,1%). U pogledu zastupljenosti i sadržaja rezidua OTA u ispitanim tkivima, najmanja zastupljenost i prosečan sadržaj rezidua OTA utvrđen je u uzorcima jetre, gde je prisustvo rezidua OTA utvrđeno u 26,6% uzoraka u količini od 0,22 do 14,5 ng/g. Sadržaj OTA u uzorcima krvne plazme kretao se od 0,22 do 220,8 ng/mL, u odnosu na bubrege gde se sadržaj OTA kretao od 0,17 do 52,5 ng/g. Rezultati naših istraživanja ukazuju da je u 2,2% ispitanih uzoraka bubrega utvrđen sadržaj OTA iznad maksimalno dozvoljene granice (10 ng/g). Prisustvo rezidua žive utvrđeno je u 33,3% uzoraka bubrega, a učestalost nalaza rezidua kadmijuma bila nešto manja (27,7%). Sadržaj žive kretao se u granicama predviđenim pravilnikom (0,005-0,055 mg/kg), dok je sadržaj kadmijuma u jednom uzorku bio iznad predviđene granice. Prisustvo arsena utvrđeno je samo u jednom uzorku, dok prisustvo olova nije utvrđeno.

Iako su dobijene vrednosti sadržaja OTA i toksičnih metala u tkivima niske i u skladu su sa preporukama internacionalnih agencija (SCF, JECFA) o tolerantnom dnevnom unosu, treba napomenuti da analiza rizika od mikotoksina i upravljanje ovom vrstom hemijske opasnosti još uvek nije dovoljno razvijeno u našoj zemlji. Sinergističko dejstvo pojedinih kontaminenata životne sredine na zdravlje ljudi i životinja predstavlja nedovoljno istraženu oblast, naročito u uslovima prisustva kontaminenata u niskim koncentracijama zabeleženih u našim ispitivanjima. Iako naša zemlja pripada malobrojnim zemaljama koje regulišu maksimalno dozvoljeni sadržaj OTA u hrani za životinje i životnim namirnicama, neophodno je da se postojeća zakonska regulativa uskladi sa regulativama EU i novim naučnim saznanjima i preporukama međunarodnih organizacija (JECFA, IARK) u pogledu MDK i TDI. Primena integrisanih sistema menadžmenta bezbednosti hrane zasnovanih na standardima serije ISO 22000 predstavljaju osnovne preduslove za bezbednost hrane.

### Literatura / References

1. Agency for Toxic Substances and Disease (ATSDR), Toxicological profile for cadmium. Registry, Atlanta, GA, 1999.
2. Bruinink A, Sidler C. The neurotoxic effects of ochratoxin A are produced by protein binding but are not affected by/phenylalanine. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 146: 173-9.
3. Büchmann NB, Hald B. Analysis, occurrence and control of ochratoxin A residues in Danish pig kidneys. *Food Addit Contam* 1985; 2: 193-9.
4. Creppy EE. Human ochratoxicosis. *J Toxicol Toxin Rev* 1999; 18: 277-93.
5. Curtui VG, Gareis M. A simple HPLC method for the determination of the mycotoxins ochratoxin A and B in blood serum of swine. *Food Addit Contam* 2001a; 18(7): 635-43.
6. Curtui VG, Gareis M, Usleber E, Martlbauer E. Survey of Romanian slaughtered pigs for the occurrence of mycotoxins ochratoxins A and B, and zearalenone. *Food Addit Contam* 2001; 18: 730-8.
7. Friberg L, Elinder C-G, Kjellstrom T, Nordberg GF (Eds.). *Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal*, 1986. CRC Press, Boca Raton, FL, 1: 103-78.
8. Frisvad JC, Thrane U. Mycotoxin production by common filamentous fungi. In: *Introduction to food-and airborne fungi*. R.A. Samson, E.S. Hoekstra, J. C. Frisvad and O. Filtenborg (eds.). Sixth Edition. Centraalbureau vooon Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. ISBN 90-70351-42-0. 2000.
9. Gareis M, Scheuer R. Prevention of mycotoxin contamination of meat and meat products. *Proceedings of International Symposium of Mycotoxicology '99 Mycotoxin Contamination: Health Risk and Prevention Project (Chiba, Japan) Mycotoxins Supplement '99* 1999; 101-7.
10. Goering PL, Waalkes MP, Klaassen CD. Toxicology of cadmium. In: Goyer, R.A., Cherian, M.G. (Eds.), *Toxicology of Metals: Biochemical Aspects. Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer, New York, 1995; 115: 189-213.
11. Goyer RA, Cherian MG. Renal effects of metals. In: Goyer RA, Klaassen CD, Waalkes MP (Eds.). *Metal Toxicology*. Academic Press, San Diego, 389-412, 1995.
12. Gremmels JF, Jahn A, Bloom MJ. Toxicity and metabolism of ochratoxin A. *Natural Toxins* 1995; 3: 214-20.
13. Hagelberg S, Hult K, Fuchs R. Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties. *J Appl Toxicol* 1989; 9: 91-6.
14. Hult K, Hokby E, Gatenbeck S, Rutquist L. Ochratoxin A in blood from slaughter pigs in Sweden: use in evaluation of toxin content in consumed feed. *Appl and Environ Microbiol* 1980; 39: 822-30.
15. IARC. Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufact Industry. IARC, Lyon Monograph. 58, 1993.
16. IARC: Ochratoxin A. In *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenetic Risk to Human*, Lyon: IARC Press, 1993; 56: 489-521.
17. Jarup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium a review of the literature and a risk estimate. *Scandinavian Journal of Environmental Health* 1998; 24(1): 1-51.
18. JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Fifty-sixth Meeting, Geneva, Switzerland, 6-15 February, 2001.

19. Jorgensen K, Vahl M. Analysis of ochratoxin A in pig kidney and rye flour using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). *Food Addit Contam* 1999; 16: 451-6.
20. Karavoltos S, Sakellari A, Dimopoulos M, Dasenakis M and Scoullou M. Cadmium content in foodstuffs from the Greek market. *Food Addit Contam* 2002; 19(10): 954-62.
21. Kostal K. Cadmium. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 5<sup>th</sup> edn. Vol. 2 edited by W. Mertz (San Diego: Academic Press) 1986; 319-45.
22. Krogh P, Elling F, Hald B, Larsen AE, Lillehoj EB, Madsen A, Mortensen HP. Time-dependent disappearance of ochratoxin A residues in tissues of bacon pigs. *Toxicology* 1976; 6: 235-42.
23. Krogh P. Environmental ochratoxin A and Balkan (endemic) nephropathy: Evidence for support of causal relationship. In: Strahinjic S, Stefanovic V, ed. Endemic (Balkan) nephropathy, Niš, Jugoslavija, Grafika, 1979; 35-43.
24. Kühn I. Quantitative Untersuchungen zum Transfer und zur Elimination von Ochratoxin A bei wachsenden Schweinen nach langfristiger oraler Applikation. *Landbau-forschung völknerode, Sonderheft* 1993; 137.
25. Larsen TO, Svendsen A, Smedsgaard J. Biochemical characterisation of ochratoxin A producing strains of the genus *Penicillium*. *Appl And Environ Microbiol* 2001; 67: 3630-5.
26. Lusky K, Tesch D, Göbel R, Haider W. Gleichzeitige Verabreichung der Mykotoxine Ochratoxin A und Zearalenon über das Futter an Schweine- Einfluß auf, 1997.
27. Madsen A, Mortensen HP, Hald B. Feeding experiments with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs Part 2: Naturally contaminated barley given for 6 weeks from 20 kg compared with normal barley supplemented with crystalline ochratoxin A and/or citrinin. *Acta Agriculture Scandinavica* 1982; 32: 369-72.
28. Matrella R, Monaci L, Milillo MA, Palmisano F, Tantillo MG. Ochratoxin A determination in paired kidneys and muscle samples from swines slaughtered in southern Italy. *Food control* 2006; 17: 114-7.
29. Menzer RE. The basic Science of Poisons. 4th ed. Mc Graw – Hill, New York 1991.
30. Milićević D, Jurić V, Mandić M, Đorđević M. The presence of ochratoxin A residue in blood plasma of slaughtered swine. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, Novi Sad* 2007; 113: 55-62.
31. Mortensen HP, Hald B, Madsen A. Feeding experiments with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. 5. Ochratoxin A in pigs blood. *Acta Agric Scand* 1983; 33: 235-9.
32. Pravilnik o količinama pesticide, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemoterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama ("Sl. list SRJ", br. 5/92, 11/92 - ispr. i 32/2002).
33. Schwartz GG. Hypotesis: Does ochratoxin A cause testicular cancer? *Cancer cause and Control* 2002; 19: 91.
34. Scientific Committee on Food (SCF). Opinion on Ochratoxin A. CS/CNTM/MYC/14 final (September), 1998.
35. Sinovec Snežana. Patohistološke i ultrastrukturne promene u jetri i srcu pacova triranih T-2 toksinom i procena mogućnosti njihove restitucije. *Doktorska disertacija, Veterinarski fakultet, Beograd*, 1996.
36. Stoev SD, Grozeva N, Hald B. Ultrastructural and toxicological investigations in spontaneous cases of porcine nephropathy in Bulgaria. *Vet Arhiv* 1998; 68: 39-49.

37. Storelli MM, Marcotrigiano GO. Cadmium and total mercury in some cephalopods from the South Adriatic Sea (Italy). *Food Addit Contam* 1999; 16(6): 261-5.
38. UNEP/GEMS, The contamination of food. Mercury. *Environmental Library*, 1992; 5: 22-4.
39. Waalkes MP, Misra RR. Cadmium carcinogenicity and genotoxicity. In: Chang, L. (Ed.), *Toxicology of Metals*. CRC Press, Boca Raton, 1996; 231-44.
40. WHO/IPCS, Safety evaluation of certain mycotoxins in food. 2001.
41. Ysart G, Miller P, Croasdale M, Crews H, Robb P, Baxter M, de L'Argy C, Harrison N. 1997 UK Total Diet Study dietary exposures to aluminum, arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, mercury, nickel, selenium, tin and zinc. *Food Addit Contam* 2000; 17(9): 775-86.

ENGLISH

**PRESENCE OF OCHRATOXIN A AND TOXIC ELEMENTS RESIDUE IN TISSUES AND THEIR IMPACT ON SAFETY OF PORK**

**D. Milićević, M. Jovanović, Verica Jurić, Aleksandra Daković, S. Stefanović, Z. Petrović**

The aim and task of this study was to determine the presence of ochratoxin A (OTA) in blood serum, liver and kidneys of fattening swine, slaughtered regularly, originating from different areas of Serbia. During meat inspection on the slaughterhouse line samples of blood, kidney and liver per animal were randomly sampled (n=90) and analyzed by HPLC for ochratoxin A. Also, the presence of nephrotoxic (cadmium, lead, mercury and arsenic) elements in kidneys was carried out. Of the 90 liver samples, 26.6% contained OTA in the range of 0.22-14.5 ng/g, while the incidence of OTA in serum and kidney samples were very similar (31 and 33.3%, respectively). The analyses showed that serum samples were positive in the range of 0.22-221 ng/mL, while ochratoxin A concentrations in the kidney were between 0.17 and 52.5 ng/g. The mean distribution of OTA residue followed the pattern: serum>kidneys>liver (100>34>17), while in respect to occurrence it followed the pattern: kidneys>serum>liver (100>93.4>79.9). The results of this study showed that 2.2% of kidney sample had a content of ochratoxin A above the maximum permitted limit in Serbia of 10 ng/g. The results from this survey indicated that there was a low correlation between the OTA level in serum and liver as well as in the OTA level in kidney and liver ( $r=0.319$  and  $0.341$ , respectively) while the strongest correlation was found between the OTA level in serum and in kidney ( $r=0.973$ ).

The presence of mercury was found in 33.3% of kidney samples in the range of 0.005-0.055 mg/kg, while the presence of cadmium was found to a lesser degree (27.7%). The Hg concentrations in the kidney samples were lower than 0.10 mg/kg and did not exceed the guideline level established in Serbia, while concentration of cadmium in only one kidney sample was greater than 1.0 mg/kg, and exceeded the limit proposed by the Serbian Rule Book. The presence of arsenic was found only in one sample, while the presence of lead was not established. This study shows the presence of OTA in Serbian slaughtered pigs at levels comparable to those reported in other countries.

Key words: swine, ochratoxin A, toxic elements, residue

**ВЛИЯНИЕ ПРИСУТСТВИЯ ОСТАТКОВ ОХРАТОКСИНА А И ТОКСИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ НА БОЗОПАСНОСТЬ СВИНОГО МЯСА**

**Д. Миличевич, М. Йованович, Верица Юрич, Александра Дакович, С. Стефанович, З. Петрович**

Цель этой работы была утвердить присутствие остатков охратоксина А (ОТА) и токсических элементов (кадмий, свинец, ртуть и мышьяк в тканях убитых, откормочных свиней, происхождением из различных регионов Сербии. В течение ветеринарно-санитарного осмотра убитых свиней на линии убоя, методом случайного образчикования браны образчики крови, а затем принадлежащая печень и почки, отвечающего животного (n=90). Присутствие остатков ОТА утверждено нами в 26,6% образчиков печени в количестве от 0,22 до 14,5 нг/г, пока представленность остатков ОТА в образчиках кровяной плазмы и почек была почти идентичная (31,1 и 33,3%, по отдельности). Содержание ОТА в образчиках кровяной плазмы двигалось от 0,22-220,8 нг/мл, пока в образчиках почек двигалось от 0,17-52,2 нг/г. Дистрибуция ОТА в испытанных тканях в отношении содержания двигалась следующей очередностью: кровяная плазма>почки>печень (100>34>17), пока в отношении представленности остатков двигалась следующей очередностью почки>кровяная плазма>печень (100>93,4>79,9). Результаты наших исследований указывают, что в 2,2% испытанных образчиков почек утверждено нами содержание ОТА сверх максимально разрешенной границы (10 нг/г). Низкая степень положительной корреляции утверждена нами между содержанием ОТА в кровяной плазме и печени ( $r=0,319$ ), словно и между содержанием ОТА в печени и почках ( $r=0,314$ ). Очень высокая степень положительной корреляции утверждена нами между содержанием ОТА в кровяной плазме и почках ( $r=0,973$ ).

Присутствие остатков ртути утверждено нами в 33,3% образчиков почек, в отношении частоты результатов остатков кадмия, которая была немного меньше (27,7%). Содержание ртути двигалось в границах, предвиденных регламентом (0,005-0,055 мг/кг), пока содержание кадмия в одном образчике было сверх максимально разрешенной границы (1,23 мг/кг). Присутствие мышьяка утверждено нами только в одном образчике, пока присутствие свинца не утверждено.

Ключевые слова: свиньи, охратоксин А, токсические элементы, остатки