

Kemijska ocjena kakvoće mesa podrijetlom od svinja cijepljenih pokusnim dvovaljanim cjepivom protiv kolidijareje i kolienterotoksemije

Cvrtila Fleck, Ž¹, A. M. Večkovec², D. Špoljarić³, G. Mršić⁴, S. Srećec⁵, K. Špiranec⁶, D. Mihelić⁶, B. Njari¹, L. Kozačinski¹, M. Popović³

znanstveni rad

Sažetak

U svinjogojskoj proizvodnji, veliki i tvrdokorni problem predstavljaju gubici među sisajućom, a napose odbijenom prasadi, uzrokovani infekcijama najčešće F4ac⁺ i/ili F18ac⁺ enterotoksigenim sojevima bakterije *Escherichia coli* (ETEC). U istraživanjima u okviru projekta 053-0532265-2255 utvrđen je zadovoljavajući imunoprolaktički učinak pokusnih oralnih F4ac⁺ i/ili F18ac⁺ ne-ETEC cjepiva protiv kolidijareje i kolienterotoksemije odbijenika. Međutim, u *m. longissimus dorsi* svinja koje su peroralno cijepjene s dvovaljanim cjepivom (sadrži dva soja bakterije *E. coli* /F4ac⁺ ne ETEC soj 2407 i F18ac⁺ ne ETEC soj 2143) kemijskom analizom je utvrđena statistički neznčajna promjena u odnosu na kemijski sastav *m. longissimus dorsi* porijeklom od necijepljenih svinja.

Ključne riječi: svinja, pokusno ne-ETEC cjepivo, kvaliteta mesa, *m. longissimus dorsi*

Uvod

U svinjogojskoj proizvodnji, veliki i tvrdokorni problem predstavljaju gubici među sisajućom, a napose odbijenom prasadi, uzrokovani infekcijama najčešće F4ac⁺ i/ili F18ac⁺ enterotoksigenim sojevima bakterije *Escherichia coli* (ETEC). Stresni uvjeti intenzivnog uzgoja, koji nastupaju u prvih nekoliko dana (najčešće između 3. i 7. dana života) po prasnju ili odmah nakon odbića (najčešće između 21. i 28. dana života), predstavljaju okidač za invaziju imunosno nezrele i nekompetentne mlade prasadi ETEC sojevima koji se naglo i višestruko umnažaju te naseljavaju sluznicu tankoga crijeva, stvarajući i do 10 puta više bakterijskih stanica od ukupnog broja stanica tijela domaćina. S pomoću F4ac i/ili F18ac fimbrijskih adhezina vežu se na specifične receptore na enterocitima, luče enterotoksine, koji izazivaju oštećenja crijevnog epitela, poremetnje u apsorpcijskoj i sekrecijskoj funkciji sluznice, s posljedičnom diarejom, dehidracijom i acidozom, kao u slučaju kolidijareje, ili pak izazivaju lokalne edeme, sustavnu toksemijom i upalne lezije na mozgu, kao u slučaju enterotoksemije odbijene prasadi, s posljedičnim gubitkom tjelesne mase i/ili uginućem kao ishodima ovih bolesnih stanja. Unatoč središnjoj ulozi ETEC sojeva u etiopatogenezi kolidijareje/kolienterotoksemije odbijene prasadi, tim bolestima predisponiraju, osim nasljednih činitelja (recesivni homozigoti imaju receptore za fimbri-

ske adhezine) i imunosni činitelji (prasad stječe adultnu imunosnu kompetenciju između 7. i 9. tjedna života), koji zbog funkcionalne nezrelosti sustavne i lokalne (crijevne) imunosti proizvode tolerogene, a ne zaštitne imunosne odgovore na intraluminalne antigene (Izvor: projekt: 053-0532265-2255). Na osnovi literaturnih podataka poznato je da se u svrhu nadzora kolibaciloze i kolienterotoksemije u odbijene prasadi najčešće koriste jednovaljana cjepiva koje sadrže F4⁺ ili F18⁺ ne-ETEC sojeva pri čemu Tiels i sur. (2008.) smatraju da bi se postigla zadovoljavajuća zaštita odbijene prasadi od kolibaciloze i kolienterotoksemije oralnom primjenom dvovaljenog cjepiva koje sadrži F4⁺ i F18⁺ živog sojeva *E. coli*. Iako danas još uvijek na tržištu nema djelotvornog cjepiva protiv kolidijareje i kolienterotoksemije odbijene prasadi, poznato je da je pokusno dvovaljano F4ac⁺ i F18ac⁺ ne-ETEC cjepivo (VAK; soj 2407, odnosno 2143), primijenjeno peroralno u odbijene prasadi na dan odbića (10x10¹⁰ CFU/60 ml TSB) učinkovito u preventivi i kontroli prirodnih crijevnih infekcija, napose izazvanih patogenim sojevima bakterije *E. coli*. Stoga, cilj ovog rada bio je prikazati kemijsku ocjenu kakvoće svinjskog mesa podrijetlom od prasadi cijepljenih pokusnim dvovaljanim cjepivom (sadrži dva soja bakterije *E. coli* / F4ac⁺ ne ETEC soj 2407 i F18ac⁺ ne ETEC soj 2143)/ protiv kolidijareje i kolienterotoksemije.

1 izv. prof. dr. sc. Željka Cvrtila Fleck; prof. dr. sc. Bela Njari; prof. dr. sc. Lidija Kozačinski, Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska
2 dr. sc. Ana Marija Večkovec, Braće Radića 6, 10 432 Bregana, Hrvatska
3 dr. sc. Daniel Špoljarić; prof. dr. sc. Maja Popović, Zavod za biologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska
4 doc. dr. sc. Gordan Mršić, Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja, Ilica 335, 10000 Zagreb, Hrvatska
5 dr. sc. Siniša Srećec, Visoko gospodarsko učilište Križevci, Mislava Demerca 1, Križevci, Hrvatska
6 Katarina Špiranec, dr. med. vet.; prof. dr. sc. Damir Mihelić, Zavod za anatomiju, histologiju i embriologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska

Materijal i metode

Istraživanje je provedeno u okviru MZOŠ projekta: 053-0532265-2255. Istraživanje je 42 dana provedeno na svinjogojskoj farmi u istočnom dijelu R. Hrvatske. U istraživanju je korišteno 40 prasadi (tropasminski križanci Landracea, Yorkshirea i Pietraina), podjednako broja ženki i kastrata, odbijenih u dobi od 26 dana, ujednačene tjelesne mase (prosječno 6 kg) i dobrog zdravstvenog stanja. Prasad je podijeljena u dvije skupine sa po 20 životinja. Prasadi pokusne skupine C (kontrolna skupina) 0. dana pokusa peroralno je aplicirano 60 mL triptoza soja bujonu (TSB, Trypticase soya broth). Prasadi pokusne skupine A 0. dana pokusa peroralno je apliciralo dvovaljano cjepivo (sadrži dva soja bakterije *E. coli* /F4ac+ ne ETEC soj 2407 i F18ac+ ne ETEC soj 2143) u dozi od 10×10^{10} u 60 mL triptoza soja bujonu. Na kraju istraživanja, 42. dana životinje su privedene klaoničkoj obradi. Od obje pokusne skupine uzeti su uzorci mišića u količini od 100 g (*m. longissimus dorsi*) kako bi se ispitao učinak cjepiva na kemijsku kakvoću svinjskog mesa. Pri izvođenju pokusa sa životinjama postupano je prema Zakonu o dobrobiti životinja i u skladu sa preporukama Europske zajednice (86/609/EEC). Na Zavodu za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u određeni su udjeli: vode (metoda po ISO 1442 standardu), masti (metoda po ISO 1443 standardu), bjelančevina (metodom ISO 937 standardu) te pepela (metoda po ISO 936 standardu). Statistička provjera dobivenih analitičkih rezultata u udjelu masti i bjelančevina u mesu kontrolne (C) skupina i tretirane skupine (A) svinja, provedena je uporabom t-testa za vezane uzorke.

Rezultati i rasprava

Budući da dosadašnja istraživanja brojnih istraživačkih skupina nisu u potpunosti definirala sigurnu i djelotvornu imunoprofilaksu protiv kolidijareje i kolienterotoksemije nužna su daljnja istraživanja atenuiranih oralnih cjepiva, radi poznatog fenomena oralne tolerancije, kao i zbog paradoksalne fiziološke uloge sluznice crijeva da apsorbira intraluminalni sadržaj (nutriente/nutriceutike) i da istovremeno diskriminira između neškodljivih antigena iz hrane i škodljivih antigena crijevnih patogena i njihovih proizvoda. Tako je u našim višegodišnjim istraživanjima u okviru projekta 053-0532265-2255 temeljem proizvodnih, imunskih i zdravstvenih pokazatelja utvrđen zadovoljavajući imunoprofilaktički učinak pokusnih oralnih F4ac+ i/ili F18ac+ ne-ETEC cjepiva protiv kolidijareje i kolinterotoksemije odbijenika, odnosno potvrđena je teza o imunogenoj i zaštitnoj sposobnosti cjepnih sojeva (Kovšca i sur., 2008; 09; 10; Popović i sur., 2008.; Valpotić i sur., 2010). Uzevši u obzir navedeno stanje spoznaja, naša su istraživanja bila usmjerena prema utvrđivanju utjecaja pokusnog dvovaljanog ne-ETEC cjepiva na kemijsku kvalitetu mesa porijeklom od cijepljenih svinja. Tomu pridonose i rezultati istraživanja Siugzdaite i sur. (2003) o utjecaju *Mycoplasma hyopneumoniae* cjepiva (Respisure, Pfizer AH) na promjenu kvalitete mesa cijepljenih svinja. Naime, u mesu cijepljenih životinja *Mycoplasma hyopneumoniae* cjepivom (Respisure, Pfizer AH) značajno je smanjena količina masti (-0.63%) i triptofan/hidroksiprolina (-23,57%) u odnosu na necijepljene životinje. Uz to, u *m. longissimus dorsi* cijepljenih životinja u odnosu na necijepljene životinje zabilježena je i za 0.35% viša količina bjelančevina, za 0,78% povišene vrijednosti za sposobnost vezanja vode, za 1.65% viša količina poli-

Tablica 1. Deskriptivna statistika za parametre kemijskog sastava 100 g uzorka *m. longissimus dorsi* porijeklom od necijepljenih (C skupina) i cijepljenih (A) svinja

Varijabla	Srednja vrijednost (%)	St. Dev.	Var.	SEM
C- <i>m. longissimus dorsi</i> voda	72,29	0,398968	0,159176	0,106629
C- <i>m. longissimus dorsi</i> pepeo	1,28	0,219890	0,048352	0,058768
C- <i>m. longissimus dorsi</i> mast	2,14	0,388644	0,151044	0,103869
C- <i>m. longissimus dorsi</i> bjelančevine	24,19	0,310706	0,096538	0,083040
A- <i>m. longissimus dorsi</i> voda	71,41	0,392232	0,153846	0,104828
A- <i>m. longissimus dorsi</i> pepeo	1,03	0,329585	0,108626	0,088085
A- <i>m. longissimus dorsi</i> mast	2,20	0,360403	0,129890	0,096322
A- <i>m. longissimus dorsi</i> bjelančevine	23,88	0,429413	0,184396	0,114765

zasićenih masnih kiselina, te za 2.97% niža količina monozasićenih masnih kiselina (Siugzdaite i sur., 2003). U okviru naših istraživanja, iz Tablice 1 na osnovi Tablice 2 razvidno da je sadržaj vode, pepela, masti i bjelančevina u skupnom uzorku *m. longissimus dorsi* porijeklom od

kivani s obzirom na različiti anatomske položaj uzoraka u pokusu. Svi rezultati ipak upućuju na potrebu daljnjih istraživanja utjecaja peroralno apliciranog dvovaljanog cjepiva (sadrži dva soja bakterije *E. coli* /F4ac+ ne ETEC soj 2407 i F18ac+ ne ETEC soj 2143) na kemijski sastav

Tablica 2. Kemijski sastav mišićnog tkiva (%) (prilagođeno Petričević i sur., 2001.)

Pokazatelj		Srednja vrijednost (%)
Mišićno tkivo	voda	72,63-73,01
	bjelančevine	23,53-23,62
	mast	2,25-2,69
	pepeo	17,80-19,74

necijepljenih životinja (C skupina) u suglasju s rezultatima koje su u svojim istraživanjima dobili Petričević i sur. (2001.; Tablica 2.). Nadalje, u uzorku *m. longissimus dorsi* cijepljenih životinja (skupina A) zabilježene su statistički neznčajne promjene s obzirom na sadržaj vode, pepela, masti i bjelančevina (vjerojatnost pogreške veća od 0,05)

svinjskog mesa.

Nadalje, iako statistički neznčajno promijenjeni, kemijski sastav *m. longissimus dorsi* svinja cijepljenih dvovaljanim cjepivom (sadrži dva soja bakterije *E. coli* /F4ac+ ne ETEC soj 2407 i F18ac+ ne ETEC soj 2143), neovisno o utvrđenim povoljnim učincima cjepiva na zdravstvene,

Tablica 3. Sadržaj osnovnih kemijskih sastojaka u *m. longissimus dorsi* (Rahelić, 1984.; cit. Kralik, 2007)

Svinja	Sastojci (%)					
	Voda	Bjelančevine	Mast	Pepeo	Vezivno tkivo	UP (ppm)
C. slavonska	71,43	21,28	5,93	1,20	0,28	14,34
V. jorkšir	74,17	22,09	1,69	1,25	0,38	17,62
Š. landras	73,52	22,49	1,99	1,18	0,37	18,62

u odnosu na necijepljenu skupinu životinja (C skupina). Tako i Rahelić (1984., cit. Kralik, 2007.) navodi da pasmina i stupanj oplemenjenosti mogu imati značajan utjecaj na sadržaj osnovnih sastojaka (posebice masti) mišića svinja (Tablica 3). Rezultati prikazani u Tablici 1 nisu potpuno u suglasju s rezultatima istraživanja Večkovec (2012.), koja je u kemijskoj analizi mišićnog i masnog tkiva svinja u istovrsnom pokusu utvrdila količinu bjelančevina od 16 – 19,4 % do i masti od 12,9 – 22,5 %. Takvi su rezultati i oče-

imunodne i proizvodne pokazatelje cijepljenih životinja, indikativni je pokazatelji opravdanosti daljnjeg istraživanja alternativnih strategija za kontrolu i prevenciju infekcija konzumnih životinja u intenzivnom uzgoju (VIP projekta: 2012-11-17), u odnosu na specifičnu profilaksu (Mršić i sur., 2013; Špoljarić i sur., 2013; Špiranec i sur., 2013).

Zaključak

Smatramo da smo kroz višegodišnje vrednovanje našeg model sustava za preventivu i kontrolu crijevnih infekcija odbijene prasadi, utvrdili relevantan znanstveni pristup ovim zdravstvenim problemima u intenzivnim uzgojima svinja.

Zahvala

Ovaj rad je sufinanciran od strane Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta (053-0532265-2255) i VIP projekta: 2012-11-17.

Chemische Bewertung der Fleischqualität stammend von Schweinen, geimpft mit experimentalen bivalenten Impfstoff gegen Coli Diarrhea und Coli Enterotoxemia

Zusammenfassung

In der Schweinezuchtherstellung stellen ein großes und hartnäckiges Problem Verluste unter säugenden und abgewiesenen Schweine dar, die durch Infektionen verursacht sind, am häufigsten mit F4ac+ und/oder F18ac+ enterotoxigener Sorten der Bakterie *Escherichia coli* (ETEC). Im Rahmen der Untersuchung 053-0532265-2255 wurde eine zufriedenstellende immunoprophylaktische Wirkung der experimentalen oralen Impfstoffe F4ac+ und/oder F18ac+ ne-ETEC gegen Coli Diarrhea und Coli Enterotoxemia der Abgewiesenen festgestellt. Jedoch wurde im *m. longissimus dorsi* bei Schweinen, die peroral mit dem bivalenten Impfstoff (enthält zwei Sorten der Bakterie *E. coli* /F4ac+ ne ETEC Sorte 2407 und F18ac+ ne ETEC Sorte 2143) geimpft wurden, durch chemische Analyse eine statistisch unbedeutende Veränderung in Bezug auf chemische Zusammensetzung *m. longissimus dorsi* stammend von ungeimpften Schweinen, festgestellt.

Schlüsselwörter: Schwein, experimentaler ne-ETEC Impfstoff, Fleischqualität, *m. longissimus dorsi*

Evaluación química de calidad de la carne procedente de cerdos vacunados con vacuna bivalente experimental contra colidiarrea y colienterotoxemia

Resumen

En la producción porcina la pérdida de los cochinitos que todavía maman y los gorrinos representa un problema tenaz, causado por infecciones en mayores casos causadas por la F4ac+ y/o F18+, cepas de bacteria *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET). Dentro del proyecto 053-0532265-2255 se ha establecido un efecto inmunoproláctico satisfactorio de vacunas orales experimentales F4ac+ y/o F18ac+ no-ECET contra colidiarrea y colienterotoxemia de gorrinos. No obstante, por la evaluación química de *m. longissimus dorsi* de los cerdos vacunados con la vacuna peroral bivalente (contiene dos cepas de *E. coli*/F4ac+ no-ECET cepa 2407 y F18ac+ no-ECET cepa 2143) se ha definido una diferencia estadísticamente insignificante con respecto a la composición química de *m. longissimus dorsi* procedente de los cerdos no vacunados.

Palabras claves: cerdo, vacuna no-ECET experimental, calidad de carne, *m. longissimus dorsi*

La valutazione chimica della qualità della carne derivata dai suini vaccinati con vaccini sperimentali bivalenti contro la colidiarrea e colienterotossemia

Riassunto

Nella produzione suina, un problema rilevante e radicato è rappresentato dalle perdite tra i lattanti, e tra i suini svezzati, causato dalle infezioni F4ac+ e/o F18ac+ degli strati enterotossigeni dei batteri dell'*Escherichia coli* (ETEC). Dalle ricerche eseguite nel progetto 053-0532265-2255 è stato confermato un effetto immuno-profilattico soddisfacente dei vaccini sperimentali orali F4ac+ e/o F18ac+ ne-ETEC contro la colidiarrea e colienterotossemia dei maialini svezzati. Però, nel muscolo *longissimus dorsi* dei suini vaccinati peroralmente con vaccino bivalente (che contiene due ceppi di batteri di *E. coli* /F4ac+ ne ETEC ceppo 2407 e F18ac+ ne ETEC ceppo 2143) è stato confermato tramite analisi chimica un cambiamento statisticamente insignificante in confronto alla composizione chimica del muscolo *longissimus dorsi* proveniente da suini non vaccinati.

Parole chiave: maiale, vaccino sperimentale ne-ETEC, qualità della carne, muscolo *longissimus dorsi*

Literatura

Kovšca Janjatović, A., G. Lacković, F. Božić, M. Popović, I. Valpotić (2008): Levamisole synergizes proliferation of intestinal IgA(+) cells in weaned pigs immunized with vaccine candidate F4ac(+) nonenterotoxigenic *Escherichia coli* strain. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 31, 328-333.

Kovšca Janjatović, A., G. Lacković, F. Božić, D. Špoljarić, M. Popović, H. Valpotić, N. Vijtiuk, Ž. Pavičić, I. Valpotić (2009): Histomorphometric characteristics of immune cells in small intestine of pigs perorally immunized with F18ac+ nonenterotoxigenic *E. coli* vaccinal strain. *European journal of histochemistry*. 53, 189-198.

Kovšca Janjatović, A., G. Lacković, F. Božić, D. Kezić, M. Popović, H. Valpotić, I. Harapin, Ž. Pavičić, B. Njari, I. Valpotić (2010): Histomorphometric evaluation of intestinale cellular immune responses in pigs immunized with live oral F4ac+ non-enterotoxigenic vaccine *E. coli* against postweaning colibacillosis. *European journal of histochemistry*. 54, 18-24.

Kralik, G. (2007.): Porijeklo, pasmine i proizvodnost svinja. Poglavlje u sveučilišnom udžbeniku Svinjogojstvo – biološki i zootehnički principi (autori: Kralik G., Kušec, G., Kralik, D., Margeta, V.), Grafika d.o.o., Osijek.

Mršić, G., B. Njari, S. Srećec, M.J. Petek, Ž. Cvrtila Fleck, M. Živković, K. Špiranec, D. Špoljarić, D. Mihe- lić, L. Kozračinski, M. Popović (2013): Kemijska ocjena kakvoće pilećeg mesa podrijetlom od tovnih pilića hranjenih uz dodatak pripravka plemenite pečurke *Agaricus bisporus*. *Meso : prvi hrvatski časopis o mesu*. 15, 300-306.

Popović, M., H. Valpotić, M. Kardum Paro, Ž. Pavičić, N. Vijtiuk, I. Popović, R. Resanović, I. Valpotić (2008): Qualitative and quantitative parameters of swine cell immunity. *Acta veterinaria (Beograd)*. 58, 149-158.

Petričević, A., G. Kralik, D. Gutzmirtl, T. Crnjac, V. Margeta (2001.): Utjecaj hranidbe na kakvoću svinjskih polovica u obiteljskim gospodarstvima. *Poljoprivreda* 7, 1, 47-51.

Siugzdaite J., K. Garlaite, D. Urbsiene (2003.): Evaluation of antibody formation, daily weight gain and meat quality after vaccination of piglets against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Acta Vet Hung.* 51 (3): 273-81.

Špiranec, K., D. Špoljarić, G. Mršić, I. Špoljarić, S. Srćec, Ž. Cvrtila Fleck, D. Mihelić, L. Kozračinski, M. Popović (2013): Kemijska ocjena kakvoće pilećeg mesa podrijetlom od tovnih pilića hranjenih uz dodatak zeolit klinoptilolita. *Meso : prvi hrvatski časopis o mesu*. 15, 464-466.

Špoljarić, D., G. Mršić, M. J. Petek, I. Špoljarić, S. Srćec, Ž. Cvrtila Fleck, K. Špiranec, Katarina; D. Mihelić, L. Kozračinski, M. Popović (2013): Kakvoća pilećeg mesa podrijetlom od tovnih pilića hranjenih uz dodatak prirodnog propolisa. *Meso : prvi hrvatski časopis o mesu*. 15, 380-383.

Tiels P., F. Verdonck, A. Coddens, B. Goddeeris, E. Cox (2008.): The excretion of F18+ *E. Coli* is reduced after oral immunisation of pigs with a FedF and F4 fimbriae conjugate. *Vaccine*, 2154-2163.

Valpotić, H., A. Kovšca Janjatovića, G. Lacković, F. Božić, V. Dobranić, I. Valpotić, M. Popović (2010): Increased number of intestinal villous M cells in levamisole - pretreated weaned pigs experimentally infected with F4ac+ enterotoxigenic *Escherichia coli* strain. *European journal of histochemistry*. 54, 88-91.

Večkovec, A. (2012.): Učinci zeolit klinoptilolita i pokusnog dvovaljanog cjepiva protiv kolidijareje i kolienterotoksemije na proizvodnost i imunski odgovor odbijene prasadi. *Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*. Str. 180.

Dostavljeno: 7.1.2014.

Prihvaćeno: 17.2.2014.

LABORMED
Laboratory & medical equipment

30 godina u kontroli proizvodnje mesa i mesnih prerađevina

Nova linija instrumenata za pomoć u kontroli kvalitete prema Vašim mogućnostima: Termometri: TFX410-TTX 110- TTX 100-TLC730-TPE510 • Data loggeri: EBI 20T1-EBI 25-EBI300-pHmetar ST1000- solmetar SSX210

Kao i mnogi drugi modeli za pomoć pri preradi, kod skladištenja, transporta mesa i mesnih prerađevina. Više informacija na: www.labormed.hr ili www.ebro.hr

EBRO
MEASUREMENTS FOR LIFE

**"EBRO" 40 godina
Vaš i naš glavni
partner za
kontrolu prema
propisima HACCP**

Teški metali u mesu divljači

Vukšić¹, N., M. Šperanda¹, A. Gross Bošković², M. Pavić¹, M. Đidara¹

pregledni rad

Sažetak

Zbog sve većeg onečišćenja prirode, prisutna je povećana koncentracija teških metala (olovo, kadmij, arsen, živa) u prirodi. Poznati su mehanizmi djelovanja teških metala, no nisu svi do kraja istraženi. Divljač obitava u prirodi i ondje se hrani, stoga je izložena povećanim koncentracijama teških metala, koji putem lanca ishrane, ulaze u njihov organizam i talože se u različitim tkivima, što u konačnici ima utjecaj na kvalitetu mesa i zdravlje samoga čovjeka. Kako bi se povećala kvaliteta mesa divljači, koje je izuzetnih nutritivnih vrijednosti, potrebno je usmjeriti daljnja istraživanja prema pojedinoj vrsti divljači kako bi se eliminirali teški metali iz organizma i tako povećala sigurnost i kvaliteta mesa namijenjenog ljudskoj uporabi.

Ključne riječi: teški metali, divljač, meso

Teški metali

Prisutnost teških metala još je uvijek najvažniji problem u prirodi (Nordberg i sur., 2007). Iako podaci biomonitoringa pokazuju pad razine teških metala u zraku tijekom razdoblja od 20 godina (1975-1995; Grodzińska i Szarek – Łukaszevska, 2001), ostaju mnogi drugi izvori koji su potencijalno otrovni, kao što su industrijski otpad, kemikalije ili otpadne vode. Zbog upotrebe u industriji i visoke postojanosti u prirodi, neki teški metali mogu biti odgovorni za onečišćenje prirode, a mogu se apsorbirati putem zraka, vode i hrane, tako da su dostupni za nakupljanje u organizmu. Neki metali su neophodni za život u malim količinama, ali su toksični u većim dozama (tzv. esencijalni elementi), drugi (toksični metali), kao što su olovo, živa i kadmij, nemaju poznatu fiziološku funkciju u kralježnjaka (Zaccaroni i sur., 2008). Metali se nalaze u svim živim organizmima u malim koncentracijama (Fe, Cu, Mg, Co, Zn) i bitni su za organizam, a kronični metabolički poremećaji mogu se pojaviti zbog manjka ili viška tih metala (Martz, 1981). Neesencijalni elementi, kao što su Pb, Cd, Cr, Ni i As, smatraju se otrovnima, a njihova prisutnost može dovesti do biokemijskih i neuroloških promjena u organizmima (Nielsen, 1982). Teški metali mogu utjecati na pojavu čitavog niza negativnih posljedica u životinja, odnosno mogu izazvati ireverzibilne mutagene, teratogene i kancerogene učinke (Goyer, 1996).

Toksičnost teških metala

Poznata je toksičnost teških metala; jedan je od glavnih prirodnih problema za zdravlje, a opasnost se krije u bioakumulaciji putem hranidbenog lanca (Aycicek i sur., 2008) što ima opasne posljedice na zdravlje ljudi i životinja (Aschner, 2002). Opasne posljedice toksičnosti ovise o koncentraciji elemenata u hrani, apsorpciji, homeostatskoj kontroli za element i o vrsti životinje (Underwood, 1977). Zagađenje teškim metalima postalo je ozbiljan problem posljednjih godina, zbog razvoja industrije i poljoprivrede. Teški metali iz industrijskog bio-otpada kontaminiraju vodu, hranu i zrak. Pojavnost Cd, Pb i Hg imaju štetni učinak na ljude i životinje. Djeluju na biološke funkcije, hormonski sustav i različita tkiva (Teresa i sur., 1997).

Olovo

Olovo je jedan od glavnih onečišćivača prirode. Djeluje na središnji i periferni živčani sustav životinja te uzrokuje encefalopatiju, nemir, akutnu ili kroničnu nefropatiju, gastroenteritis i degeneraciju perifernih živaca, posebno u slučajevima dugoročne ingestije malih količina (Van Oostdam i sur., 1999). Neurološki simptomi trovanja olovom povezani su sa sposobnosti 5-aminolevulinske kiseline da inhibira ili K⁺-stimulirano otpuštanje γ-aminomaslačne kiseline (GABA) s moždanih sinapsa ili vezanje GABA za sinaptičke membrane (Brennan i sur.,

1 Neška Vukšić, mag.ing.agr., prof. dr. sc. Marcela Šperanda, Mirela Pavić, dr. vet. med., dr. Mislav Đidara, dr. vet. med., Poljoprivredni Fakultet u Osijeku, Kralja P. Svačića 1d, 31000 Osijek
2 Andrea Gross Bošković, dipl. ing. preh. teh. i bioteh., HAH-Hrvatska agencija za hranu, Ivana Gundulića 36 B, 31000 Osijek

1995). Uz poznato kancerogeno djelovanje olovnih spojeva kod pokusnih životinja, dokazano je da velike količine olova imaju toksični učinak na reproduktivne organe, djeluju teratogeno, pa i letalno na fetus (Lu, 1991). Olovo je metabolički otrov i neurotoksin koji se veže na esencijalne enzime i druge stanične komponente te ih deaktivira (Cunningham i Saigo 1997). Poznato je da olovo može imati značajne posljedice za domaće i divlje životinje kao i ljude jer se akumulira u gotovo svim tkivima (Satarug i sur., 2003). Olovo također može utjecati na mnoge organe i sustave, uzrokovati anemiju, visoki tlak, oštećenje bubrega, te mentalnu retardaciju (Wagner, 1995). Jedan od glavnih ciljeva toksičnosti olova je sinteza hema. Olovo utječe na ovaj sustav tako što inhibira sintezu hema i hemoglobina, te mijenja morfologiju i preživljavanje crvenih krvnih stanica (Flora i sur., 2008). Oksidativni stres induciran olovom djeluje na sustav antioksidacije. Nekoliko studija pokazalo je da olovo mijenja aktivnost antioksidativnih enzima kao što su superoksid dismutaza (SOD), katalaza, glutation peroksidaza (GPx), glukoza-6-fosfat dehidrogenaza i antioksidativnih molekula, kao što je glutation kod životinja (Hsu, 1981). Antioksidacijski enzimi SOD, katalaza i GPx potencijalna su meta olovu.

Kadmij

Zbog svoje visoke toksičnosti, loših potencijala prirodnih detoksikacijskih procesa i tendencije akumulacije, uloga kadmija kao zagađivača prirode izuzetno je važna. Glavni izvori kadmija u prirodi odnose se na ljudske aktivnosti, proizvodnju boja, plastike, suhih baterija, porculana itd. Drugi značajan izvor su sirovi fosfati koji sadrže kadmij do 300 mg/kg, koji se koriste u proizvodnji fosfatnih gnojiva i izravno importiraju kadmij u tlo (Srebočan, 1989). Vegetacija može biti zagađena taloženjem iz zraka ili apsorpcijom kadmija iz tla. Nakon što je ušao u biljku, kadmij se transportira do gornjih dijelova, pogotovo listova (Chaney, 1985). Ovaj tijek događaja rezultira visokim koncentracijama kadmija u organima i tkivima biljke (Frosly i sur., 1986; Crete i sur., 1987). Hrana je jedan od glavnih izvora kadmija u prirodi (Baykov i sur. 1996). Prolazeći lancem ishrane, postaje koncentriraniji, a u karnivorim koncentracija mu se povećava približno 50 do 60 puta (Daniel i Edward, 1995). Kadmij ima toksični učinak, a očituje se u funkciji bubrega, pluća i jetre (John i Jeanne 1994). Kadmij je pronađen kod divljih životinja čak i u fetalnoj fazi. Kod divljih životinja, kao što su divlja svinja, smeđi medvjed, jelen obični i divlja patka, koncentrira se u jetri (Mitranescu i sur., 2011). Biljojedi pokazuju veće renalne koncentracije kadmija od mesoždera jer je vegetacija kontaminirana i iz zraka i apsorpcijom iz tla (Peterson i Alloway, 1979). Utvrđeno je da su srne prikladni bioin-

dikatori zagađenja teškim metalima zbog toga što se srneća divljač često pojavljuje, ima jedinstvenu geografsku distribuciju i stacionarnost (Frank, 1986). Kadmij, za razliku od drugih teških metala ne može generirati slobodne radikale sam po sebi, ali mnoga su istraživanja pokazala da superoksid radikal, hidroksi radikal i dušikov oksid radikal mogu nastati indirektno (Galan i sur., 2001). Kadmij može zamijeniti željezo i bakar iz brojnih citoplazmatskih i membranskih proteina poput feritina, čime se oslobađa i povećava koncentracija nevezanog iona željeza i bakra. Ovi slobodni ioni sudjeluju u oksidativnom stresu putem Fenton reakcija (Casalino i sur., 1997). Brojna istraživanja na životinjama pokazala su da intoksikacija kadmijem značajno povećava razinu malondialdehida i GPx (Yang i sur., 2003; Ćosić i sur., 2007). Akutna intoksikacija životinja kadmijem pokazuje povećanu aktivnost antioksidacijskih enzima poput SOD, katalaze, GPx, glutation reduktaze i glutation-S-transferaze (Ognjanović i sur., 2003).

Arsen

Arsen je prisutan u prirodi, a najčešće se transportira u vodi. Može biti trovalentan i peterovalentan, a prisutan je u mnogo oblika. Arsen je akumulirani otrov i pohranjuje se uglavnom u jetri, bubrezima, koži i kosi (Selby i sur., 1974; Arnmerman i sur., 1977). Proizvodnju ATP arsen narušava putem nekoliko mehanizama. Na razini ciklusa limunske kiseline, arsen inhibira lipoičnu kiselinu, koja je kofaktor za piruvat dehidrogenazu. Osim toga, natječući se s fosfatom, arsenat uklanja vezu oksidativne fosforilacije, čime se sprječava energetski povezano smanjenje NAD⁺, mitohondrijska respiracija i sinteza ATP-a. Proizvodnja vodikova peroksida također je povećana, što može dovesti do stvaranja reaktivnih vrsta kisika i oksidativnoga stresa. Ove metaboličke smetnje dovode do nekroze stanica, što dovodi do otkazivanja organa (Hughes, 2002). Akumulacija arsena varira jer to ovisi o vrsti hrane koju životinje konzumiraju (John i Jeanne, 1994). U akutnom trovanju javlja se glavobolja, mučnina i teška iritacija probavnoga sustava (Allan i sur., 1995). Anorganski arsen i njegovi spojevi (nakon ulaska u hranidbeni lanac) postupno se metaboliziraju procesom metilacije (Sakurai, 2003; Reimer i sur., 2010). Osim oksidativnoga stresa, kadmij negativno djeluje na sposobnost popravka DNA (McMurray i Tainer, 2003).

Živa

Živa je kemijski element koji pripada teškim metalima, te je jedini metal koji se na sobnoj temperaturi nalazi u tekućem stanju (Risher i Amler, 2005). U prirodi je široko rasprostranjena, a prisutna je u elementarnom, anorganskom i organskom obliku (Pacyna i sur., 2010). Prisutnost žive ukazuje na onečišćenje prirode od prirodnih i an-

tropogenih izvora. Glavni antropogeni izvori su taljenje metala, spaljivanje otpada, izgaranje ugljena, poljoprivreda (Burger i sur., 1994). Prema tome, živa se nakuplja u različitim životinjskim tkivima i organizmima i uzrokuje kontaminaciju u lancu ishrane (Dietz i sur., 1996). Pri izlaganju živinim spojevima u akutnom trovanju, najteži su toksični učinci na bubrege s popratnom oligurijom ili potpunom anurijom. Kronično izlaganje najčešće napada bubrege uz oštećenje tubula i funkcionalne poremećaje (Morris i sur., 2005). Svi oblici žive i živinih spojeva su potencionalno toksični, perzistentni i bioakumulativni, a njihova toksičnost ovisi o koncentracijama u pojedinom organizmu. Organska živa se u organizam unosi isključivo hranom i to kao spoj metil-živa (CH_3Hg). Živa u elementarnom i anorganskom obliku rijetko se pojavljuje u namirnicama, a uglavnom zbog slučajnih kontaminacija, kada je prisutna u vrlo malim koncentracijama (5-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (Srebočan i sur., 2007). Jednom unesena u organizam, živa se lako veže za $-\text{SH}$ i $-\text{NH}_2$ skupine, te na taj način inhibira enzimsku aktivnosti i stvara stabilne spojeve s dugim poluvremenom zadržavanja u tkivima pa se lako akumulira u organizmima.

Prisutnost u prirodi

Emisija teških metala u prirodi događa se putem različitih procesa i putova, uključujući zrak, površinske vode i tlo (Järup, 2003). Prirodni i antropogeni izvori kadmija, uključujući industrijske emisije i primjenu gnojiva u poljoprivredi, može dovesti do kontaminacije tla, te povećati razinu kadmija u biljkama. Proces ulaska kadmija iz tla u biljke povezan je s niskim pH (Järup, 1998). Visoka razina olova u zraku, u blizini industrijskih postrojenja, dovodi do odlaganja olova u tlo i vodu, te tako ulazi u prehrambeni lanac. Sadržaj olova i kadmija u jetri i bubrezima u zagađenim područjima iznosila je 20 i 16, te 30 i 100 mg/kg . Sadržaj olova u bubrezima iznosio je 4 do 10 mg/kg (Strauch, 1983).

Drozd i sur. (2003) određivali su razinu Cd, Pb i Hg u skeletnim mišićima, srčanom mišiću, jetri i bubrezima kod jelena običnog (*Cervus elaphus L.*) u Poljskoj. Rezultati su pokazali da je najveća koncentracija Cd i Pb pronađena u skeletnom i srčanom mišiću. Prirodni izvori ispuštanja žive su prvenstveno erupcije vulkana, erozije tla, oslobađanje iz stijena koje sadrže živu i bakterijska razgradnja organskih živinih spojeva. U antropogene izvore spadaju rudarenje i dobivanje žive iz živine rude, izgaranje fosilnih goriva, industrije koje koriste živu u tehnološkim procesima, termoelektrane, spaljivanje otpada, rudnici i rafinerije, proizvodnja cementa, prerada sulfidnih ruda itd. (Pacyna i sur., 2010; Pirrone i sur., 2010). Arsen se pri-

rodno javlja u tlu kao posljedica trošenja stijena. Ljudske djelatnosti, kao što su sagorijevanje ugljena, taljenje obojenih metala, primjena gnojiva u poljoprivredi, rezultat su taloženja arsena u prirodi (O'Neill, 1995). Iako se arsen nalazi u većini biljaka, malo se zna o njegovoj biokemijskoj ulozi, smatra se da pretjerano upijanje arsena stvara poremećaj u funkcioniranju enzima i protoku fosfata u biljnom sustavu (Farago i sur., 2003; Kabata-Pendias i Mukherjee, 2007). Dva oblika anorganskog arsena, arsenat i arsenit, lako se prenose stanicama iz korijena biljke. Jednom kada je u stanici, arsenat se lako može prevesti u arsenit, koji je toksičniji. Arsenat i arsenit stvaraju poremećaje u biljkama kroz različite mehanizme. Arsenat je kemijski analog fosfata koji može poremetiti neke aspekte fosfata, ovisno o metabolizmu. Arsenat se može premještati kroz stanične membrane pomoću transportnih proteina, što dovodi do nejednake opskrbe fosfatima. To može imati negativan utjecaj tijekom oksidativne fosforilacije, smanjuje se sposobnost stanice da proizvodi ATP i provodi normalan metabolizam. Arsenit je reaktivni spoj koji se veže na enzime i potencijalno deaktivira enzime koji sadrže ostatke cisteina ili ditiol kofaktore. Izloženost arsenu također utječe na oksidativni metabolizam ugljika, aminokiselina i proteina, te na putove asimilacije dušika i sumpora (Finnegan i Chen, 2012).

Teški metali u divljači

Srna obična (*Capreolus capreolus L.*) često je proučavana radi akumulacije teških metala. Kako je osjetljiva na promjene u prirodi, može se koristiti kao bioindikator onečišćenja prirode (Sawicka-Kapusta 1978; Bobek i Perzanowski 1981). Ranija istraživanja pokazala su da se visoka razina Mn i Fe u tlu odražava na razinu Mn i Fe u biljkama koje su pokazale tencenciju akumulacije u svojim tkivima (Faber, 1977). Količina teških metala u biljkama utječe na njihovu količinu kod biljojeda. Teški metali akumuliraju se samo u nekim organima, a preostali dio izlučuje se kroz probavni sustav (Friberg i sur., 1979). Jetra je jedan od organa u kojemu se akumuliraju teški metali. Kosti, zubi i rogovlje cervida također su pouzdan pokazatelj zagađenja (Karstad, 1967; Mankovska, 1980; Sileo i Beyer, 1985) i odražavaju geografske varijacije u onečišćenju kopnenih ekosustava (Sawicka-Kapusta, 1978). Također, pogodni bioindikator su i jelen obični (*Cervus elaphus L.*) i svinja divlja (*Sus scrofa L.*) s obzirom na njihovu veliku zemljopisnu distribuciju, način života, prehrambene navike i relativno dugi životni vijek (Kottferova i Korenekova, 1998; Pokorny, 2000; Falandsyz i sur., 2005). Prema istraživanjima provedenim u Španjolskoj, olovo i kadmij dva su najčešća toksična metala koji su pronađeni u jetri i bubrezima divlje svinje i jelena običnog (Swier-

gosz i sur., 1993; Falandysz, 1994; Garcia-Fernández i sur., 1995; Santiago i sur., 1998; Karamarova i sur., 2005). Studija u Španjolskoj pokazala je da se olovo akumulira u većoj stopi kod divljih svinja, a kadmij kod jelena običnog (Santiago i sur., 1998). Veće koncentracije kadmija promatrane u starijih životinja objašnjavaju se kroničnom izloženosti ovome metalu, njegovoj tendenciji nakupljanja i niskoj stopi izlučivanja, ova pojava proučavana je kod različitih vrsta porodice Cervidae tj, kod losa (*Alces alces* L., Frosly i sur., 1984), sjevernog jelena (*Rangifer tarandus* L., Frank, 1986), srne obične (Pompe-Gotal i Prevendar Crnić, 2002). Srna je biljojed, a divlja svinja dodatno se hrani životinjskom hranom (uključujući glodavce i male insekte). Glavne komponente u hranidbi divljači su kultivirane biljke, trave, stabljike, lišće i grmlje. Mineralni sastav hrane kod divljači karakterizira sezonska promjenljivost, općenito, čimbenici kao što su stanište, hrana, stanje, dob, spol životinje, sezona lova može utjecati na koncentraciju teških metala u tkivima životinja (Ramírez i sur., 1996; Pokorny i Ribarić-Lasnik, 2002; Pokorny i sur., 2004; Sobańska, 2005).

Teški metali u mesu

Proširivanje područja znanja analitičkim podacima o nutritivnoj kvaliteti mesa divljači, rezultiralo je dobivanjem informacija o sadržaju minerala u mesu divljači radi popunjavanja prehrambeno-biološkog koncepta kvalitete mesa. Zbog nedostataka podataka koji se odnose na količinu teških metala u mesu divljači, s obzirom na ograničene mogućnosti kontroliranja iskoristive hrane u prirodnom okruženju, kao i faktore zagađenja prirode, postoji potreba za saznanjima o tehnološkoj kvaliteti mesa divljači i stoga je potrebna za proces obrade, kako bi se povećala ekonomičnost, a uz to je važna i korelacija fizičkih, kemijskih i tehnoloških pokazatelja sa senzorskim osobinama mesa divljači, radi što učinkovitije kulinarne pripreme (Postolache, 2011). Godišnja potrošnja svježega mesa u Hrvatskoj po kućanstvu u 2003. godini iznosila je 51, 24 kg, od čega je najviše konzumirana perad (19,30 kg), svinjetina (18,14 kg), govedina (8,55 kg), dok je potrošnja mesa divljači rangirana na dnu ljestvice i iznosila je samo 0,55 kg (Tolušić i sur., 2006). Različiti čimbenici kao što su okoliš, kontaminacija, postupci rukovanja, promjene nakon smrti u mesu divljači, utječu na sigurnost i kvalitetu mesa kako kod uzgojenih, tako i kod divljih životinja. Kadmij je važan kao zagađivač prirode, a s toksičnim i teratogenim učinkom za čovjeka i životinje (Srebočan i sur., 2006). Uglavnom se akumulira u jetri i bubrezima, ali također i u mišićima (Kimáková, 2000). Prema hrvatskim propisima, maksimalna dopuštena koncentracija Cd, Pb i Hg u mesu i bubrezima namjenjeni ljudskoj prehrani iznosi za kadmij 0,05 mg/kg u mišićima i 1,0 mg/kg u

bubrezima, za olovo 0,1 mg/kg u mišićima i 0,5 mg/kg u bubregu, koncentracije za živu u tkivima životinja nisu određene (NN 146/2012). Poznavanje kemijskih interakcija između toksičnih elemenata kao što su Cd, Pb, Hg i esencijalnih elemenata Cu i Zn vrlo je važno. Toksičnost jednog metala može se značajno izmijeniti istodobnom ingestijom drugog (Skalická i Nad, 2006). Tako su poznati mnogi toksični učinci Cd u interakciji sa esencijalnim elementima kao što je Zn. Ova interakcija može se odvijati na različitim stupnjevima apsorpcije, distribucije u organizmu i izlučivanje obaju metala. Izloženost Cd dovodi do poremećaja Zn u organizmu s jedne strane, dok unos Zn hranom ima važan utjecaj na apsorpciju i akumulaciju Cd u organizmu. Brojni podaci pokazuju da povećan unos Zn može smanjiti apsorpciju i akumulaciju Cd i spriječiti njegov štetni utjecaj na organizam (Brozóska i Moniuszko-Jakoniuk, 2001). Lazarus i sur. (2005) promatrali su razinu toksičnih i esencijalnih metala u bubregu jelena običnog na području Istočne Hrvatske. Masa toksičnog udjela Cd, Hg, i Pb u bubrezima, iznosila je 0,099, 0,362 i 0,578 mg/kg, a srednja vrijednost esencijalnih elemenata, Zn iznosila je 35,1, Cu 5,2 i Fe 108,0 mg/kg u bubrezima. Studija je pokazala veće koncentracije Cd, Pb, Zn i Fe u bubregu starijih životinja. Pompe-Gotal i Crnić (2002) pronašli su u tkivima srneće divljači, prikupljenih u razdoblju od pet godina, u 43% uzoraka jetre i 90% uzoraka bubrega premašene maksimalne dopuštene vrijednosti za kadmij utvrđene hrvatskim propisima (NN 46/94 i NN 11/01). Karamárová i sur. (2005) utvrdili su da je koncentracija kadmija u jetri i bubregu preživača slična koncentracijama ispitanih kod drugih životinja. To znači da su bubrezi organi u kojima je zabilježena najveća koncentracija kadmija. Najveće razine kadmija u bubregu zabilježene su kod jelena običnog 2,39±0,91 mg/kg i jelena lopatara 0,35±0,05 mg/kg, a s obzirom na jetru, zabilježena koncentracija kadmija iznosila je kod jelena običnog 0,26±0,10 mg/kg, a kod jelena lopatara 0,06±0,03 mg/kg (glavne prijetnje ljudskom zdravlju od strane teških metala povezane su s izlaganjem olovu, kadmiju, živi i arsenu). Unos olova u ljudski organizam, osim inhalaciono, može biti putem biljne i životinjske hrane. Kod ljudi, 20 do 50% olova unesenog inhalaciono i 5 do 15% unesenog putem hrane apsorbira se u organizmu. Jednom kada uđe u krvotok, distribuira se putem krvi, mekog i mineraliziranog tkiva (Ming-Ho, 2005). Olovo može utjecati na svaki organ i sustav u tijelu. Dugotrajna izloženost može imati utjecaja na smanjenje funkcije živčanoga sustava, slabost u prstima, zapešćima ili gležnjevima, povećanje krvnoga tlaka, može uzrokovati anemiju. U trudnica, visoka razina olova uzrokuje pobačaj, a kod muškaraca može oštetiti organe odgovorne za proizvodnju sperme (Martin i Griswold, 2009). Kadmij je zagađivač prirode koji ima ozbiljni toksični učinak na ljude i životinje, uzrokuje Itai-itai sindrom sa proteinurijom, glikolizurijom, osteomalacijom i/ili osteoporozom (Friberg i sur., 1979). Dovodi do disfunkci-

je bubrežnih tubula, negativno djeluje na reproduktivne organe uzrokujući degenerativne promjene u testisima (Massányi i sur., 2002; Toman i Massányi, 2002), smanjen molalitet spermatozoida (Lukač i sur., 2003; Massányi i sur., 2004). Kadmij može biti etiološki čimbenik u različitim patološkim procesima, poput visokog krvnog tlaka, ateroskleroze, inhibicije rasta, promjenama u središnjem živčanom sustavu, disfunkciji jetre, bronhitisu i teratogenom učinku (Fribiger i sur., 1979; Oishi i sur., 2000). Kadmij se akumulira u životinjskom mlijeku i masnome tkivu (Figuerola, 2008). Prilikom unosa hranom, kadmij se akumulira u ljudskome tijelu i utječe negativno na jetru, bubrege, pluća, kosti, posteljicu, mozak i središnji živčani sustav (Castro-González i Méndez Armenta, 2008). Ostala oštećenja uključuju reproduktivni razvoj, jetrene, hematološke i imunološke učinke (Apostoli i Catalani, 2011). Kod ingestije visokih razina, kadmij uzrokuje iritaciju želudca i dovodi do povraćanja i proljeva. Kod dugotrajne izloženosti nižim razinama kadmija dolazi do nakupljanja u bubrežima što dovodi do bolesti bubrega, oštećenja pluća i lomljivosti kostiju (Martin i Griswold, 2009). Do 90% organskih spojeva žive apsorbira se iz hrane, može se detektirati u hrani već na razinama od 1 do 50 µg/kg (Reilly, 2007). Utvrđeno je da su metil živa i živin klorid kancerogeni za ljude. Živčani sustav je osjetljiv na sve oblike žive. Izloženost visokim razinama može trajno oštetiti mozak, bubrege i fetus u razvoju. Prilikom utjecaja na mozak

dolazi do razdražljivosti, drhtanja, promjena vida i sluha, kao i problema s pamćenjem (Martin i Griswold, 2009). Anorganski arsen je izrazito otrovan i unos velikih količina dovodi do gastrointestinalnih simptoma, ozbiljnih kardiovaskularnih poremećaja, poremećaja u živčanom sustavu, pa i do smrti. Odnosi između izloženosti arsenu i zdravstvenih utjecaja manje su jasni. Postoje dokazi za hipertenziju i kardiovaskularne bolesti, ali su dokazi samo sugestivni za dijabetes i utjecaj na reprodukciju i vrlo slabi za cerebrovaskularne bolesti, dugoročne neurološke poremećaje (WHO, 2001).

Zaključak

Prisutnost teških metala sve je veća u prirodi zbog suvremenog načina života. Divljač, koja se hrani i obitava u prirodi, izložena je različitim koncentracijama tih metala. Dosadašnja saznanja o teškim metalima trebala bi primijeniti na istraživanja za pojedine vrste divljači kako bi se osiguralo kvalitetno meso koje je vrijedna prehrambena namirnica s visokom nutritivnom vrijednošću. Daljnja istraživanja trebala bi dati odgovore o sposobnosti eliminacije teških metala iz organizma divljači, kao i načine povećanja kvalitete mesa namijenjenog za ljudsku upotrebu.

Schwere Metalle im Wildfleisch

Zusammenfassung

Wegen der wachsenden Naturverschmutzung ist die Konzentration von Schwermetallen (Blei, Kadmium, Arsen, Quecksilber) in der Natur größer geworden. Die Wirkungsmechanismen der Schwermetalle sind bekannt, jedoch sind bis heutzutage nicht alle untersucht worden. Das Wild lebt in der Natur und ernährt sich dort. Deshalb ist es einer höheren Konzentration der Schwermetalle ausgesetzt, die durch die Ernährungskette in ihren Organismus gelangen, wo sie sich im verschiedenen Gewebe ablagern. Am Ende hat das einen Einfluss auf die Fleischqualität des Wildes und die Gesundheit der Menschen. Um die Qualität des Wildfleisches zu erhöhen, welches einen hohen nutritiven Wert hat, ist es nötig, weitere Untersuchungen auf einzelnen Wildsorten gezielt durchzuführen, damit die schweren Metalle aus dem Organismus eliminiert werden und so die Sicherheit und die Fleischqualität, bestimmt für die menschliche Nahrung, erhöht werden.

Schlüsselwörter: Schwermetalle, Wild, Fleisch

Metales pesados en la carne de caza

Resumen

A causa del aumento de polución de la naturaleza, se ve cada vez más crecida la concentración de los metales pesados (plomo, cadmio, arsénico, mercurio) en la naturaleza. Los mecanismos de acción de los metales pasados son conocidos, pero no todos están completamente investigados. La caza habita en la naturaleza y allí es donde consigue la comida, por lo tanto está expuesta en mayor proporción a los metales pesados, que entran en su organismo a través de la cadena trófica y reposa en diferentes tejidos del organismo, lo que como consecuencia tiene la baja calidad de la carne y efectos negativos a la salud de los seres humanos. En concepto de incrementar la calidad de la carne de caza, la cual tiene el valor nutritivo excepcional, es imprescindible dirigir subsiguientes investigaciones hacia especies particulares de caza a fin de eliminar metales pesados del organismo y de tal modo aumentar la seguridad nutritiva y calidad de la carne destinada al uso humano.

Palabras claves: metales pesados, carne de caza, carne

I metali pesanti nella carne di selvaggina

Riassunto

A causa dell'inquinamento della natura, costantemente in aumento, è presente un'alta concentrazione di metalli pesanti (piombo, cadmio, arsenio, mercurio) in natura. I meccanismi di azione dei metalli pesanti sono già noti, ma non sono stati studiati del tutto. La selvaggina vive e mangia in natura, perciò è sottoposta a concentrazioni più elevate di metalli pesanti, i quali tramite la catena alimentare, entrano nel loro organismo e si depositano in vari tessuti, e questo in definitiva influisce sulla qualità della carne e sulla salute dell'uomo. Per aumentare la qualità della carne di selvaggina, che ha valori nutritivi eccezionali, è necessario indirizzare ulteriori ricerche verso le singole specie di selvaggina onde eliminare i metalli pesanti dall'organismo e far aumentare in questo modo la sicurezza e la qualità della carne destinata all'alimentazione umana.

Parole chiave: metalli pesanti, selvaggina, carne

Literatura

Allan, G., A. C. Robert, D. S. J. O'Reilly, M. J. Stewart, S. James (1995): Clinical Biochemistry. 2nd Edn., Harcourt Brace and Company Ltd., pp. 114-115.

Apostoli, P., S. Catalani (2011): Metal ions affecting reproduction and development. Metal Ions in Life Sci. 8, 263-303.

Arnmerman, C. B., S. M. Miller, K. R. Fick, S. L. Hansard II. (1977): Contaminating elements in mineral supplements and their potential toxicity: A Review. J. Anim. Sci. 44:485.

Aschner, M. (2002): Neurotoxic mechanism of fish-bone methylmetry. Environ. Toxicol. Pharmacol., 12: 101-102.

Aycicek, M., O. Kaplan, M. Yaman (2008): Effect of cadmium on germination, seedling growth and metal contents of sunflower (*Helianthus annuus L.*). Asian J. Chem., 20: 2663-2672.

Bobek, B., K. Morow, K. Perzanowski (1984): Ekologiczne podstawy łowiectwa. PW RiL: 1-314, Warszawa.

Brennan, P. A., K. M. Kendrick, E. B. Keverne (1995): Neurotransmitter release in the accessory olfactory bulb during and after the formation of an olfactory memory in mice, Neuroscience 69: 1075-86.

Brozóska, M. M., J. Moniuszko-Jakoniuk(2001): Interactions between cadmium and zinc in the organism, Food Chem. Toxicol. 39 (10): 967-80.

Burger, J., M. Marquez, M. Gochfeld (1994): Heavy metals in the hair of opossum from Palo Verde, Costa Rica, Environ. Contam. and Toxicol., Vol. 27, Number 4, pp. 472-476.

Casalino, E., C. Sblano, C. Landriscina (1997): Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys, 346, 171-9.

Castro-González, M. I., M. Méndez-Armenta (2008): Heavy metals: Implications associated to fish consumption. Environ. Toxicol. & Pharmacol., 26, 263-271.

Chaney, R. L. (1985): Potential effects of sludge-borne heavy metals and toxic organics on soils, plants, and animals, and related regulatory guidelines. Annex 3, Workshop Paper pp. 9. 1-56. In: Final Report of the Workshop on the International Transportation, Utilization or Disposal of Sewage Sludge Including Recommendations. PNSP/85-01. Pan American Health Organization, Washington, D.C.

Crete, M., F. Potvin, P. Walsh, J. L. Benedetti, M. A. Lefebvre, J. P. Weber, G. Paillard, J. Gagnon (1987): Pattern of cadmium contamination in the liver and kidneys of moose and white-tailed deer in Quebec. Sci. Total Environ. 66, 45-53.

Ćosić, D. D, Z. P. Bulat, M. Ninković, Z. Maličević, V. Matović (2007): Effect of subacute cadmium intoxication on iron and lipid peroxidation in mouse liver. Toxicol. Lett., 172, S209.

Daniel, B., A. K. Edward (1995): Environmental Science, Earth as a Living Planet. John Wiley and Sons, Inc. New York, pp. 278-279.

Dietz, R., F. Riget, P. Johansen (1996): Lead, cadmium, mercury and selenium in Greenland marine animals, Science of The Total Environ., 186, 67-93.

Drozd, L., M. Krapinski, M. Goleman, P. Czyzowski (2003): Content of heavy metals in tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from Lubin region. Vet. Bull., 21, 45-50.

- Faber, A.** (1971): Wstępna ocena oddziaływania pyłowych zanieczyszczeń zawierających ołów, kadmi cynk na przyrodnicze warunki produkcji rolnej. *Wiad. ekol.*, 23, 35-47.
- Falandysz, J.** (1994): Some toxic and trace metals in big game hunted in the northern part of Poland in 1987-1991, *Science of The Total Environ.*, 141, 59-73.
- Falandysz, J., K. Szymczyk-Kobrzyńska, A. Brzostowski, K. Zalewski, A. Zasadowski** (2005): Concentration of heavy metals in the tissue of red deer (*Cervus elaphus*) from the region of Warmia and Mazury, Poland. *Food Additive and Contaminants*, 22, 141-149.
- Farago, M. E., P. J. Kavanagh, M. J. Leite, J. Mossom, G. Sawbridge, I. Thornton** (2003): Uptake of arsenic by plants in southwest England. *Biogeochemistry of Environmentally Important Trace Elements*, 835, 115-127.
- Figueroa, E.** (2008): Are more restrictive food cadmium standards justifiable health safety measures or opportunistic barriers to trade? An answer from economics and public health. *Science of the Total Environ.*, 389, 1-9.
- Finnegan, P. M., W. Chen** (2012): Arsenic toxicity: the effects on plant metabolism, *Frontiers in phys.* 3, 182.
- Flora, S. J. S., M. Mittal, A. Mehta** (2008): Heavy metal oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy, *Indian J. Med. Res.*, 128, 501-523.
- Frank, A.** (1986): In search of biomonitors for cadmium: cadmium content of wild Swedish fauna during 1973-1976. *Sci. Total Environ.* 57, 57-65.
- Friberg, L., G. F. Norberg, J. Vouk** (1979): Handbook on the toxicology of metals. Elsevier, North Holland Biomedical Press: 1-709.
- Frosly, A., A. Haugen, G. Holt, C. Norheim** (1986): Levels of cadmium in livers and kidneys from Norwegian cervides. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 37, 453-460.
- Frosly, A., C. Norheim, J. P. Rambaek, E. Steinnes** (1984): Levels of trace elements in liver from Norwegian moose, reindeer and red deer in relation to atmospheric deposition. *Acta Vet. Scand.* 25, 333-345.
- Galan, C., B. L. Garcia, A. Troyano, N. E. Vilaboia, C. Fernandez, D. E. Blas** (2001): The role of intracellular oxidation in death induction (apoptosis and necrosis) in human promonocytic cells treated with stress inducers (cadmium, heat, X-rays). *Eur. J. Cell Biol.* 80, 312-20.
- García-Fernández, A. J., J. A. Sánchez-García, P. Jiménez, A. Luna** (1995): Lead and cadmium in wild birds in southeastern Spain, *Environ. Toxicol. and Chem.*, 14, 2049-2058.
- Goyer, R.A.** (1996): Toxic effects of metals. U: C.D. Klaassen, Editor, Casarett & Doull's toxicology. McGraw-Hill, New York, pp. 811-867.
- Groździńska, K., G. Szarek-Łukaszewska** (2001): Response of mosses to the heavy metal deposition in Poland-an overview. In *Environ. Pollution*, 114, 443-451.
- Hsu, J. M.** (1981): Lead toxicity related to glutathione metabolism. *J. Nutr.* 111, 26-33.
- Hughes, M. F.** (2002): Arsenic toxicity and potential mechanisms of action, *Toxicology Letters* 133 (1), 1-16.
- Järup, L.** (2003): Hazards of heavy metal contamination, *British Med. Bull.*, 68, 167-182.
- Järup L, M. Berglund, C. G. Elinder, G. Nordberg, M. Vahter** (1998): Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scand. J. Work Environ. Health*, 24 (Suppl 1), 1-51.
- John, H. H., I.R. Jeanne** (1994): Food Additives, Contaminants and Natural Toxins. In: Maurice, E. S., A. O. James, S. L. Moshe, Febiger, (Eds.), *Modern Nutrition in Health and Disease*. 8th Edn., Part II, pp. 1597-1598.
- Kabata-Pendias, A., A. B. Mukherjee** (2007): Trace Elements from Soil to Human. Berlin: Springer-Verlag.
- Karstad, L.** (1967): Fluorosis in deer (*Odocoileus virginianus*). *Bull. Wild. Disease Assoc.* 3, 42-46.
- Kamárová, M., P. Massányi, A. Jančová, R. Toman, J. Slamečka, F. Tataruch, J. Kováčik, J. Gašparik, P. Nad, M. Skalická, B. Koréneková, R. Juričik, J. Čubon, P. Haščik** (2005): Concentration of cadmium in the liver and kidney of some wild and farm animals, *Bull. Vet. Ins. Pulawy* 49, 465-469.
- Kimáková, T.** (2000): Mercury content in muscle of various species of animals. *Slovak Vet. J.* 25, 213-216.
- Kottferova J., B. Korenekova** (1998): Distribution of Cd and Pb in the tissues and organs of free living animals in the territory of Slovakia. *Bull. of Environ. Contam. and Toxicol.*, 60, 171-176.
- Kramarova, M., P. Massanyi, J. Slamecka, F. Tataruch, A. Jancova, J. Gasparik, M. Fabis, J. Kovacik, R. Toman, J. Galova, R. Jurick** (2005): Distribution of cadmium and lead in liver and kidney of some wild animals in Slovakia, *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Subst. and Environ. Eng.* Vol. 40, 593-600.

- Lazarus, M., I. Vicković, B. Šoštarić, M. Blanuša** (2005): Heavy metal levels in tissues of Red deer (*Cervus elaphus*) from eastern Croatia, Arh. Hig. Rada Toksikol, 56, 233-240.
- Lu, F.C.** (1991): In: Basic toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment. Taylor and Francis, New York, pp. 248.
- Lukáč N., P. Massányi, R. Toman, J. Trandžik** (2003): Effect of cadmium on spermatozoa motility. Savremena Poljoprivreda, 3-4, 215-217.
- Mankovska, B.** (1980): The concentration of four toxic elements in the teeth of roe deer from the area of an aluminium plant. Biologia (Bratislava) 35, 819-822.
- Martin, S., W. Griswold** (2009): Human Health Effects of Heavy Metals, Env. Sci. and Tech. Briefs for Citizens.
- Martz, W.** (1981): The essential trace elements, Sci., 213, 1332-37.
- Massányi P., R. Toman, J. Trandžik** (2004): Concentration of copper, zinc, iron, cadmium, lead and nickel in bull, ram, boar, stallion and fox semen. Trace Elem. Electrol. 21, 45-49.
- Massányi P., Z. Kiss, R. Toman, L. Bardos** (2002): Effect of acute cadmium exposure on testicular tissue and testicular retinoid and beta-carotene content. Magyar Allatorvosok 469 Lapja. 124, 688-692.
- McMurray, C. T, J. A. Tainer** (2003): Cancer, cadmium and genome integrity. Nat. Genet., 34, 239-41.
- Ming-Ho, Y.** (2005): Environmental Toxicology: Biological and Health Effects of Pollutants, Chap. 12, CRC Press LLC, ISBN 1-56670-670-2, 2nd Edition, BocaRaton, USA.
- Mitrancescu, E., A. Butaru, L.Tudor, A. Lataretu, F. Furnaris, O. M. Ghimpeteanu, S. Matei** (2011): Researches Concerning The Occurrence of Cadmium and Lead Residues in Gama Meat, Vet. Med., 68, 1843-5270.
- Morris, M. C., D. A. Evans, C. C. Tangney, J. L. Bienias, R. S. Wilson** (2005): Fish consumption and cognitive decline with age in a large community study. Archives of Neurology 62, 1849-1853.
- Nielsen, F. H.** (1982): Ultra traces elements in human nutrition A.R. Diss., Inc., New York, pp. 379-404.
- Nordberg, G. F., B. A. Fowler, M. Nordberg, L. T. Friberg** (2007): Handbook on the Toxicology of Metals. London: Elsevier.
- Ognjanović, B. I., S. Z. Pavlović, S. D. Maletić, R. V. Žikić, A. S. Stajn, R. M. Radojičić** (2003): Protective influence of vitamin E on antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium. Physiol. Res., 52, 563-70.
- Oishi S., J. Nakagava, M. Ando** (2000): Effect of cadmium administration on the endogenous metal balance in rats. Biol. Trace. Elem. Res. 31, 257-278.
- O'Neill, P.** (1995): Mercury. In Heavy Metals in Soils 2nd edn. ed. B.J. Alloway. London: Blackie Academic & Professional.
- Pacyna, E. G., J. M. Pacyna, K. Sundseth, J. Munthe, K. Kindbom, S. Wilson, F. Steenhuisen, P. Maxon** (2010): Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. Atmospheric Environ., 44, 2487-2499.
- Peterson, P. J., B. J. Alloway** (1979): Cadmium in soils and vegetation. In: The Chemistry, Biochemistry and Biology of Cadmium M. Webb Ed., vol. 2. Elsevier, North Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford, pp. 45-92.
- Pirrone, N., S. Cinnirella, X. Feng, R. B. Finkelman, H. R. Friedli, J. Leaner, R. Manson, A. B. Mukherjee, G. B. Stracher, D. G. Streets, K. Telmer** (2010): Global mercury emissions to the atmosphere from antropogenic and natural sources. Atmos. Chem. Phys., 10, 5951-5964.
- Pokorny, B.** (2000): Roe deer (*Capreolus capreolus*) as an accumulative bioindicator of heavy metals in Slovenia. Web Ecology, 1, 54-62.
- Pokorny, B., C. Ribariè-Lasnik** (2002): Seasonal variability of mercury and heavy metals in roe deer (*Capreolus capreolus*) kidney. Sci. Total Environ., 117, 35- 46.
- Pokorny, B., S. Al Sayegh-Petkovšek, C. Ribariè-Lasnik, J. Vrtaènik, D. Z. Doganoc, M. Adamiè** (2004): Fungi ingestion as an important factor influencing heavy metal intake in roe deer: evidence from faeces. Sci. Total Environ., 324, 223-234.
- Pompe-Gotal, J., A. Prevendar Crnić** (2002): Cadmium in tissues of roe deer (*Capreolus capreolus*) in Croatia. Vet. arh. 72, 303-310.
- Postolache, A. N.** (2011): Research on the knowledge of quality parameters that characterize the meat of certain game species used in human consumption, Doctoral thesis.
- Ramírez, R. G., G. F. W. Haenlein, A. Treviño, J. Reyna** (1996): Nutrient and mineral profile of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus, texanus*) diets in northe-

astern Mexico. Small Rumin. Res., 23, 7-16.

Reilly, C. (2007): Pollutants in Food —Metals and Metalloids, In: Mineral Components in Foods, Szefer P. And Nriagu J.O. (Eds), pp. 363-388, Taylor & Francis Group, ISBN978-0-8493-2234-1, Boca Raton, FL.

Reimer, K. J., I. Koch, W. R. Cullen (2010): Organo-arsenicals. Distribution and transformation in the environment. Metal ions in life sci., 7, 165-229.

Risher, J. F., S. N. Amler (2005): Mercury Exposure: Evaluation and Intervention The Inappropriate Use of Chelating Agents in the Diagnosis and Treatment of Putative Mercury Poisoning. Neuro. Tox., 26, 691-699.

Satarug, S., J. R. Baker, S. Urbenjapol, M. Haswell-Elkins, P. E. Reilly, D. J. Williams, M.R. Moore (2003): A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population, Toxicol. Lett., Vol. 137, 65-83.

Sakurai, T. S. (2003): Biomethylation of Arsenic is Essentially Detoxicating Event. Journal of Health Science 49, 171-178.

Santiago, D., M. Motas-Guzmán, A. Reja, P. María-Mojica, B. Rodero, A. J. García-Fernández (1998): Lead and cadmium in red deer and wild boar from Sierra Morena Mountains (Andalusia, Spain), Bull. of Environ. Contamin. and Toxicol., 61, 730-737.

Sawicka-Kapusta, K. (1978): Ocena zawartości metali ciężkich w porożach sarn z lasów śląskich. Arch. Ochr. Srod., 1, 107-121.

Sileo, L., W. N. Beyer (1985): Heavy metals in white-tailed deer living near a zinc smelter in Pennsylvania. J. Wild. Diseases 21, 289-296.

Skalická, M., P. Nad' (2006): Effect of sorbed additives on changes of Zn and Cu levels in poultry tissues. Nutrition days and veterinary dietetic. VII., Košice, pp. 182-184.

Sobańska, M. A. (2005): Wild boar hair (*Sus scrofa*) as a non-invasive indicator of mercury pollution. Sci. Total Environ., 339, 81-88.

Srebočan, E., J. Pompe-Gotal, A. Prevendar-Crnić, E. Ofner (2007): Mercury concentrations in captive Atlantic bluefin tuna (*Thunnus Thynnus*) farmed in the Adriatic Sea. Vet. Med., 52, 175-177.

Srebočan, E. (1989): Istraživanja veličine, proširenosti i izvora kontaminacije životinja kadmijem na području SR Hrvatske. Doktorska disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.

Srebočan, E., J. Pompe-Gotal, D. Konjević, A. Prevendar –Crnić, N. Popović, E. Kolić, (2006):Cadmium in fallow deer tissue, Vet. arhiv 76, 143-150.

Strauch, D. (1983): Animal production and environmental health. World Anim. Ser., 9, 435-435.

Swiergosz, R., K. Perzanowski, U. Makosz, I. Birek (1993): The incidence of heavy metals and other toxic elements in big game tissues, Scien. of The Total Environ., Supplement 1, pp. 225-231.

Teresa, M., S. D. Vasconcelos, H. M.Tavares (1997): Trace element concentrations in blood and hair of young apprentices of a technical-professional school. Sci. Total Environ., 205: 189-199.

Tolušić, Z., T. Florijančić, I. Kralik, M. Sesar, M. Tolušić (2006): Game meat market in Eastern Croatia, ISSN 1330-7142.

Toman R., P. Massányi (2000): Changes in the testis and epididymis of rabbits after an intra peritoneal and per oral administration of cadmium. Trace Elem Electrolytes. 19, 114-117.

Underwood, E. J. (1977): Trace Elements in Human Nutrition. 4th Edn., Academic Press, New York, pp. 545.

Van Oostdam J., A. Gilman, E. Dewailly, P. Usher, B. Wheatley, H. Kuhnlein, S. Neve, J. Walker, B. Tracyh, M. Feeley, V. Jerome, B. Kwavnick (1999): Human health implications of environmental contaminants in Arctic Canada: a review. Sci. of the Total Environ. 230, pp. 1-82.

Wagner, H. P. (1995): Determination of lead in beer using Zeeman background corrected graphite furnace atomic absorption spectrometry. J. Am. Soc. Brew Chem. 53, pp. 141-144.

WHO (2001): Arsenic and Arsenic Compounds. Environ. Health Criteria, Vol. 224. Geneva: World Health Organization.

Yang, J. M., M. Arnush, Q. Y. Chen, X. D. Wu, B. Pang, X. Z. Jiang (2003): Cadmium induced damage to primary cultures of rat Leydig cells. Reprod. Toxicol., 17, 553-60.

Zaccaroni, A., D. Scaravelli, R. De Battisti, A. Zanello, D. Gelli (2008): Toxicological survey of free ranging population of roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*) by teeth examination. Nat. Croat., 17,

Dostavljeno: 11.2.2014. Prihvaćeno 18.2.2014.