

Količina aflatoksina B1 i okratoksina A u hrvatskim i slovenskim tradicionalnim mesnim proizvodima

Pleadin, J.¹, L. Demšar², T. Polak², D. Kovačević³

Znanstveni rad

Sažetak

Mikotoksini aflatoxin B1 (AFB₁) i okratoksin A (OTA) predstavljaju česti izvor kontaminacije mesnih proizvoda. U ovom istraživanju analizirane su po tri vrste hrvatskih i slovenskih tradicionalnih mesnih proizvoda (n = 18), iz kategorije trajnih suhomesnatih proizvoda, trajnih kobasica i slanina, na količinu mikotoksina AFB₁ i OTA. Nakon određivanja osnovnog kemijskog sastava proizvoda, primjenom validiranih kvantitativnih ELISA metoda, utvrđena je količina mikotoksina. Najveća količina OTA, približno jednake koncentracije, određena je u Dalmatinskom (2,75 µg/kg) i Kraškom (2,86 µg/kg) pršutu. U istim proizvodima određena je količina AFB₁ od 1,16 µg/kg i 1,39 µg/kg, što ne predstavlja količine značajno veće (p < 0,05) od limita detekcije primijenjene analitičke metode. AFB₁ u ostalim proizvodima nije detektiran. Rezultati ukazuju na nižu razinu kontaminacije tradicionalnih mesnih proizvoda sa AFB₁ u odnosu na OTA, koji nije detektiran samo u slovenskom proizvodu Zgornjesavinjski želodec. Utvrđena prisutnost AFB₁ i OTA u tradicionalnim mesnim proizvodima može biti podrijetlom od kontaminiranih sirovina odnosno mišićnog i masnog tkiva te začina korištenih u njihovoj proizvodnji, ali i posljedica izravne kontaminacije proizvoda uslijed produkcije ovih mikotoksina od plijesni koje spontano obrastaju površinu fermentiranih mesnih proizvoda tijekom njihova zrenja.

Ključne riječi: kontaminacija, aflatoxin B1, okratoksin A, hrvatski i slovenski tradicionalni mesni proizvodi

Uvod

Mikotoksini kao toksični sekundarni metaboliti plijesni predstavljaju opasnost za sigurnost hrane svugdje u svijetu. Zbog moguće prirodne kontaminacije žitarica koje se koriste u proizvodnji hrane i hrane za životinje, postoji velika mogućnost ulaska mikotoksina u ljudski prehrambeni lanac (Walker i Larsen, 2005; Khoury i Atoui, 2010). Literaturni podaci pokazuju da proizvodi životinjskog podrijetla, kao što su meso i mesni proizvodi, također mogu pridonijeti unosu mikotoksina u organizam potrošača, bilo kao rezultat neizravnog prijenosa od domaćih životinja, koje se koriste za proizvodnju hrane životinjskog podrijetla, izloženih kontaminiranim krmivima i krmnim smjesama (*carryover effect*), ali i putem mješavina začina koji se koriste u njihovoj proizvodnji (Pleadin i sur., 2013; Perši i sur., 2014) ili izravne kontaminacije proizvoda plijesnima koje pod određenim uvjetima mogu producirati mikotoksine (Gareis i Wolff, 2000; Duarte i sur., 2010).

Pritom aflatoxin B₁ (AFB₁) i okratoksin A (OTA) predstavljaju česte kontaminante mesnih proizvoda, a literaturni podaci pokazuju da tehnološke operacije pri proizvodnji ove vrste hrane, kao što su termička obrada, soljenje, sušenje i zrenje, te skladištenje, nemaju značajan utjecaj na smanjenje količine ovih izrazitih toksina u gotovom mesnom proizvodu (Bullerman i Bianchini, 2007; Amézqueta i sur., 2009; Kovačević i sur., 2014a; Pleadin i sur., 2014a). Naime, AFB₁ predstavlja najpotentniji karcinogen jetre u sisavaca te je klasificiran od strane Međunarodne agencije za istraživanje raka (IARC) u grupu 1, dokazanih ljudskih karcinogena (IARC, 2002). Prisutnost AFB₁ u ishrani životinja može uzrokovati smanjenu proi-

zvodnju hrane životinjskog podrijetla, uzrokujući brojne toksične efekte u različitim životinjskim vrstama (Richard, 2007). S obzirom da su istraživanja ukazala na široku distribuciju OTA, te s obzirom na njegova nefrotoksična svojstva i ostale toksične učinke u ljudi i životinja (Creppy, 1999; JECFA, 2001), ovaj toksin je uključen u skupinu 2B, mogućih ljudskih karcinogena (IARC, 1993). Među domaćim životinjama, svinje su osobito osjetljive na toksične učinke mikotoksina (Gareis i Wolf, 2000; Lusky i sur., 1993; Pietri i sur., 2006), dok su preživači manje osjetljivi, s obzirom da u buragu provode njihovu enzimatsku degradaciju u manje toksične metabolite (EFSA, 2004; Duarte i sur., 2010).

OTA je određen u povišenim količinama u mesnim proizvodima proizvedenim od kontaminiranih sirovina (Gareis i Scheuer, 2000; Pleadin i sur., 2013; Perši i sur., 2014), a značajna količina utvrđena je i u trajnim mesnim proizvodima sa tržišta (Pfohl-Leszkowicz i Manderville, 2007; Dall'Asta i sur., 2010). Poznato je i da AFB₁ može biti prisutan u mesu, a posljedično i u mesnim proizvodima, ukoliko su životinje hranidbom dobivale značajnije količine AFB₁ (Richard, 2007; Herzallah, 2009). Nekoliko studija je pokazalo da plijesni rodova *Penicillium* i *Aspergillus*, izolirane sa površine mesnih proizvoda iz kategorije fermentiranih kobasica i pršuta, pod određenim uvjetima proizvodnje, i to temperature, aktiviteta vode, oštećenja ovitka, prisutnosti ili nepresutnosti kože (pršuti) ili pukotina, kao i pohrane proizvoda, produciraju ove mikotoksine (Iacumin i sur., 2009; Asefa i sur., 2011; Rodríguez i sur., 2012).

¹ Doc. dr. sc. Jelka Pleadin, znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za analitičku kemiju, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb;

² prof. dr. sc. Lea Demšar, izvanredni profesor; doc. dr. sc. Tomaž Polak, docent, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana;

³ prof. dr. sc. Dragan Kovačević, redoviti profesor, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Zavod za prehrambene tehnologije, Kuhačeva 20, 31 000 Osijek

Markov i sur. (2013) utvrdili su kontaminiranost mesnih proizvoda sa hrvatskog tržišta sa OTA i vrlo niske razine AFB₁ u fermentiranim mesnim proizvodima. Međutim, kasnije je u Hrvatskoj određena izrazito visoka AFB₁-kontaminacija kukuruza i krmnih smjesa proizvedenih iz takvog kukuruza te korištenih u uzgoju životinja (Pleadin i sur., 2014b; Pleadin i sur., 2015), a što je zasigurno moglo pridonijeti i značajnoj kontaminaciji mesnih proizvoda. Rezultati brojnih ranijih istraživanja ukazali su na moguću visoku razinu kontaminacije hrane i hrane za životinje sa AFB₁ i OTA u brojnim zemljama svijeta, kao posljedice neadekvatne kontrole proizvodnje i uvjeta pohrane, ukazujući na neophodnost prevencije i sustavne kontrole ovih izrazito toksičnih mikotoksina.

U ovom radu istraživana je kontaminacija mikotoksinima AFB₁ i OTA različitih vrsta hrvatskih i slovenskih mesnih proizvoda iz kategorije trajnih suhomesnatih proizvoda, trajnih kobasica i trajnih slanina, proizvedenih tradicionalnim tehnologijama koje uključuju i proces dugotrajnog zrenja pri temperaturama i relativnim vlažnostima pogodnima za rast plijesni na površini proizvoda.

Materijali i metode Uzorci i priprema uzoraka

Istraživanje je provedeno na šest vrsta tradicionalnih mesnih proizvoda (tri podrijetlom iz Hrvatske i tri iz Slovenije) iz kategorije trajnih suhomesnatih proizvoda (Dalmatinski pršut, Kraški pršut, Kraški zašink), trajnih kobasica (istarska kobasica, Zgornjesavinjski želodec) i trajnih slanina (slavonska slanina). Od svake vrste uzoraka istog proizvođača, uzeta su tri paralelna uzorka za analizu (ukupno 18 uzoraka) te su analizirani na osnovni kemijski sastav i mikotoksine AFB₁ i OTA.

Svi navedeni uzorci/proizvodi proizvedeni su od prve i druge kategorije mesa (bez iznutrica), prema tradicionalnim recepturama i tehnologijama koje su za Dalmatinski pršut i Kraški pršut, kao proizvode zaštićene oznakom zemljopisnog podrijetla na nacionalnoj, odnosno za Kraški zašink i Zgornjesavinjski želodec kao proizvode zaštićene oznakom zemljopisnog podrijetla na razini EU, detaljno opisane u Specifikacijama (2012a,b; 2013a,b), a za istarsku kobasicu i slavonsku slaninu u literaturi (Kovačević, 2001; Kovačević, 2014b; Bratulić i sur., 2011). Sirovi proizvodi se podvrgavaju procesima fermentacije, sušenja te dugotrajnog zrenja u zamračenim komorama (dime se samo Dalmatinski pršut i slavonska slanina). Zrenje se vrši pri prosječnim temperaturama 12 - 18 °C i relativnoj vlažnosti 70 - 80%, uz sporo strujanje zraka, u trajanju dužem od 12 mjeseci (Dalmatinski i Kraški pršuti), dužem od 3 mjeseca (Kraški zašink, Zgornjesavinjski želodec, istarska kobasica) i 1 - 2 mjeseca (slavonska slanina).

Reprezentativni uzorci mesnih proizvoda za analizu pripremljeni su u skladu sa normom ISO 3100-1:1991. Homogenizirani su pri brzini od 5000-6000 rpm, tijekom 20 s, pomoću homogenizatora Grindomix GM 200 (Retch, Njemačka) te pohranjeni u plastične posudice na +4 °C do određivanja parametara kemijskog sastava i količine mikotoksina.

Kemikalije i reagensi

Standardne otopine AFB₁ (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Njemačka) i OTA (Acros Organics, Geel, Belgija) korištene u validacijskom postupku pripremljene su kao *stock* i radne otopine koncentracije 10,000 µg/L i 10 µg/L, pojedinačno za oba analita, te su pohranjene na +4 °C do provedbe validacijskog postupka.

ELISA kitovi korišteni za određivanje AFB₁ (Aflatoxin B1; kat. br. R1211) i OTA (Ochratoxin A; kat. br. R1311) nabavljeni su od R-Biopharm (Darmstadt, Njemačka). Svaki kit sadrži mikrotitracijsku ploču sa 96 jažica obloženu sa AFB₁/OTA antitijelima, AFB₁ metanol/voda standardne otopine (0, 1, 5, 10, 20, and 50 µg/L) ili OTA vodene standardne otopine (0, 50, 100, 300, 900, and 1,800 ng/L), peroksidaza-konjugat AFB₁/OTA, substrat/kromogen otopine, stop otopine te pufere za razrjeđivanje i ispiranje.

Sve ostale kemikalije korištene u analizama bile su analitičke čistoće (Kemika, Zagreb, Hrvatska). Ultra čista voda dobivena je pomoću uređaja Direct-Q 3 UV (Merck, Darmstadt, Njemačka).

Validacija analitičkih metoda

U svrhu validacije analitičkih metoda za određivanje osnovnog kemijskog sastava određena je ponovljivost, unutarlaboratorijska obnovljivost i istinitost, prema smjericama Pravilnika o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (N.N. 2/2005). Pritom je korišten referentni materijal konzerviranog mesa T 0149 canned meat (Fapas, Engleska) sa označenim vrijednostima udjela vode, ukupnih masti i bjelančevina.

ELISA metode za određivanje AFB₁ i OTA validirane su kroz određivanje limita detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ), dobivenih dodavanjem tri odnosno deset vrijednosti standardne devijacije srednjoj vrijednosti deset analiziranih uzoraka domaćih trajnih kobasica (AFB₁, OTA < LOD). Iskorištenje metode utvrđeno je obogaćivanjem uzoraka na tri različite razine sa po šest replika. Za određivanje ponovljivosti, ponovljeni su isti koraci kao i za određivanje iskorištenja, u istim uvjetima analitičkog postupka i najkraćem mogućem vremenskom razdoblju, uz ponavljanje postupka još dva puta.

Analize osnovnog kemijskog sastava

Maseni udio vode određivan je gravimetrijski (ISO 1442:1997) pomoću termostata Epsa 2000 (Ba-Ri, Hrvatska) pri 103 °C. Udio ukupnih bjelančevina određivan je metodom po Kjeldahl-u (HRN ISO 937:1999) uz uporabu bloka za razaranje Unit 8 Basic (Foss, Švedska) i automatiziranog uređaja za destilaciju i titraciju Kjeltex 8400 (Foss, Švedska). Ukupne masti određene su metodom po Soxhlet-u (HRN ISO 1443:1999), razlaganjem uzorka kiselinom hidrolizom te ekstrakcijom masti petroleterom pomoću uređaja za ekstrakciju Soxtherm 2000 Automatic (Gerhardt, Njemačka) i sušenje u sušioniku Epsa 2000 (Ba-Ri, Hrvatska). Udio pepela određen je prema ISO 936:1998, spaljivanjem uzoraka pri 550 °C u mufolnoj peći LV9/11/P320 (Nobetherm, Njemačka).

Rezultati analiza izraženi su kao srednja vrijednost tri paralelna određivanja po uzorku, u postotku (%) mase, sa preciznošću od 0,01%.

Postupci ekstrakcije AFB₁ i OTA

AFB₁: Tri grama uzoraka mesnog proizvoda i 20 mL acetonitrila (50%) mučkano je na *head-over-head* tresilici tijekom 90 min. Nakon centrifugiranja (15 min, 5000 rpm, 10 °C), 3 mL supernatanta razrijeđeno je sa 12 mL deionizirane vode i pročišćavano uporabom ISOLUTE Myco kolonice (60 mg/ 3 mL, Biotage, Švedska). Kolonice su prvotno uravnotežene korištenjem po 2 mL acetonitrila i vode. Zatim je na kolonice aplicirano po 3 mL uzorka i isprano sa 6 mL vode i 10%-tnog acetonitrila. Kolonice su potom sušene tijekom 10 min pod maksimalnim vakuumom i ispirane sa 2 mL 0,1%-tnom mravlje kiseline u acetonitrilu i 2 mL metanola. Dobiveni eluat otparen je u struji dušika i otopljen u 0,5 mL otopine metanol/voda (35/65), a otopina je aplicirana u jažice ELISA kita.

OTA: U 1 g uzorka dodano je 6 mL etilacetata i 0,5 mL 1 M H₃PO₄, dobro izmučkano na *minishaker*-u te centrifugirano pri 3000 o/min na sobnoj temperaturi. Zatim je sloj etilacetata prebačen dekantiranjem i postupak ekstrakcije je ponovljen daljnjim dodatkom 6 mL etilacetata. Nakon centrifugiranja, supernatant je pripojen prvom etilacetatnom dijelu te je dodano 3 mL 0,26 M NaHCO₃. Slojevi su dobro promiješani i centrifugirani te je 0,8 mL donje vodene faze prebačeno u epruvetu i zagrijavano u vodenoj kupelji na 100 °C tijekom 5 min. Uzorak je lagano promućkan, ohlađen na sobnu temperaturu te razrijeđen sa 0,2 mL 0,225 M HCl i 1 mL 0,13 M NaHCO₃. Dobivena otopina je ukapavana u jažice ELISA kita.

Određivanje količine AFB₁ i OTA

ELISA testovi za oba analizirana mikotoksina provedeni su potpuno prema uputama proizvođača kitova, uz uporabu automatiziranog analizatora ChemWell 2910 (Awareness Technologies, Inc, SAD). Standardi i uzorci analizirani su u duplikatu. Nakon dodavanja svih komponenti kita reakcija je zaustavljena dodatkom 100 µL stop otopine te je apsorbancija u jažicama izmjerena na 450 nm. Kod izračuna količine AFB₁ i OTA u mesnim proizvodima, rezultati dobiveni iz baždarne krivulje pomnoženi su s odgovarajućim faktorom razrjeđivanja i uvećani za vrijednost iskorištenja analitičkog postupka određenog validacijskim postupkom.

Rezultati i diskusija

Istraživanja ukazuju na vrlo čestu kontaminaciju mikotoksinima svinjskog mesa te posljedično i gotovih mesnih proizvoda, navodeći da je u cilju prevencije i osiguranja ispravnosti potreban kontinuirani nadzor ovih kontaminanata i u mesnim proizvodima (Chiavaro i sur., 2002; Pietri i sur., 2006; Pleadin i sur., 2013). Dok se mikotoksini u mesu javljaju prvenstveno kao rezultat neizravnog prijenosa putem prirodno kontaminiranih krmnih smjesa, kontaminacija gotovih mesnih proizvoda često je posljedica korištene recepture, osobito podrijetla mesa i uporabe jestivih tkiva, krvi i začina u njihovoj proizvodnji, a koji mogu biti kontaminirani mikotoksinima (Gareis i Scheuer, 2000). Također, istraživanja pokazuju da su za tvorbu mikotoksina značajni i drugi uvjeti proizvodnje i pohrane proizvoda (Dall'Asta i sur., 2010; Asefa i sur., 2011; Rodríguez i sur., 2012).

U ovom dijelu Europe tradicionalni mesni proizvodi proizvode se uglavnom od svinjskog mesa, bilo da su industrijskog podrijetla ili sa seoskih domaćinstava i obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava. Isti se široko konzumiraju od strane potrošača i nude na tržištu, a o kontaminaciji ovih proizvoda sa mikotoksinima objavljeno je vrlo malo podataka. Ujedno, podaci govore o kontaminaciji žitarica i krmiva iz ovih područja sa OTA u posljednjim desetljećima (Pepeljnjak i sur., 2008), a noviji podaci ukazuju i na značajnu kontaminaciju sa AFB₁ kukuruza te krmnih smjesa (Pleadin i sur., 2014b; Pleadin i sur., 2014c; Pleadin i sur., 2015). Objavljeni rezultati ovih istraživanja upućuju na činjenicu da takva razina kontaminacije krmiva i krmnih smjesa može posljedično rezultirati i značajnijom kontaminacijom mesnih proizvoda, ukoliko se proizvedu od životinja u čijoj su ishrani korišteni.

U ovom radu istraživana je kontaminacija mikotoksinima AFB₁ i OTA odabranih tradicionalnih hrvatskih i slovenskih mesnih proizvoda od svinjskog mesa. Analiziran je pritom i osnovni kemijski sastav ovih proizvoda. Korištene analitičke metode prethodno su validirane, a rezultati validacijskog postupka prikazani su u tablicama 1. i 2.

Vrijednosti utvrđene validacijom metoda uspoređivane su sa kriterijima definiranim Pravilnikom (N.N. 2/2005) te kriterijima ponovljivosti definiranim u korištenim ISO

Tablica 1. Rezultati validacije analitičkih metoda za određivanje osnovnog kemijskog sastava

Validacijski parametar	Srednja vrijednost ± SD (%)		
	Voda (n=6)	Uk. mast (n=6)	Uk. bjelančevine (n=6)
Označena vrijednost	69,5±0,98	2,50±0,37	18,22±0,66
Ponovljivost	69,2±0,25	2,51±0,11	18,37±0,16
Unutarlab. obnovljivost	69,4±0,10	2,52±0,08	18,42±0,14
Istinitost	69,4±0,08	2,52±0,13	18,35±0,10

Statistička obrada podataka

Statistička analiza provedena je korištenjem programa Statistica Ver. 10 software (StatSoft Inc. Tulsa, OK, 1984-2011, USA). Statistički značajne razlike analizirane su na razini vjerojatnosti od 95% (p=0,05).

normama. Usporedbom dobivenih rezultata sa označenim vrijednostima odnosno zadanim kriterijima iz Normi, primijenjene metode mogu se smatrati prihvatljivim za određivanje osnovnih kemijskih parametara u mesnim proizvodima.

Tablica 2. Validacija ELISA metoda za određivanje AFB₁ i OTA u mesnim proizvodima

Analit	LOD	LOQ	Razina obogaćenja (µg/kg)	Iskorištenje (%)	CV (%)	Ponovljivost (%)	CV (%)
AFB ₁	1,04	1,90	2,0	83,4	6,5	81,6	9,2
			5,0	91,3	8,1	90,4	11,2
OTA	0,95	1,77	2,0	89,5	7,9	88,2	10,5
			5,0	93,1	8,8	92,4	12,8

^a validacija je provedena na kontrolnim uzorcima trajnih domaćih kobasica (AFB₁, OTA < LOD)

Rezultati validacije ELISA metoda, korištenih za određivanje mikotoksina u različitim mesnim proizvodima, rezultirali su srednjim vrijednostima iskorištenja od 87,4% za AFB₁ i 91,3% za OTA te ponovljivošću od 86,0% za AFB₁ i 90,3% za OTA. Srednje vrijednosti koeficijentata varijacije (CV) dobivene pri određivanju iskorištenja bile su manje od 10% te ponovljivosti manje od 15%. Rezultati validacije su u skladu s rezultatima ranijih istraživanja, koja su također pokazala da se ELISA metoda može koristiti kao učinkovita analitička metoda za određivanje količine mikotoksina u mesu i mesnim proizvodima (Matrella i sur., 2006), uz visoku korelaciju rezultata sa HPLC-FLD metodom kao potvrđnom metodom, ujedno korištenom u našim ranijim istraživanjima (Pleadin i sur., 2013; Perši i sur., 2014).

ovom istraživanju prvotno određen osnovni kemijski sastav odabranih hrvatskih i slovenskih tradicionalnih mesnih proizvoda (tablica 3) te potom količine mikotoksina AFB₁ i OTA (tablica 4).

Vrijednosti kemijskog sastava karakteristične su za ove vrste hrvatskih i slovenskih mesnih proizvoda i usporedive sa objavljenim literaturnim podacima (Kovačević, 2001; Kovačević, 2014b; Prevolnik i sur., 2012; Andronikov i sur., 2013) te Specifikacijama (2012a,b; 2013a,b) ovih proizvoda za registraciju oznake zaštite zemljopisnog podrijetla. Udio ukupnih masti kretao se od najmanje količine u Dalmatinskom (11,38%) te Kraškom (15,80%) pršutu do najveće u slavonskoj slanini (55,63%) te istarskoj kobasici (39,28%). Visoki udio ukupnih bjelančevina (> 20%) u svim tradicionalnim proizvodima pokazuje da

Tablica 3. Prosječne vrijednosti osnovnog kemijskog sastava analiziranih hrvatskih i slovenskih tradicionalnih mesnih proizvoda

Mesni proizvod	Maseni udio (%)			
	Voda (n=3)	Uk. mast (n=3)	Uk. bjelančevine (n=3)	Pepeo (n=3)
Dalmatinski pršut	44,49	11,38	35,72	8,35
Istarska kobasica	23,85	39,28	31,95	4,96
Slavonska slanina	15,12	55,63	23,14	6,07
Kraški pršut	45,13	15,80	32,63	6,48
Kraški zašink	47,81	18,41	27,93	5,90
Zgornjesavinjski želodec	35,39	26,20	32,46	6,01

Tablica 4. Količine AFB₁ i OTA određene u hrvatskim i slovenskim tradicionalnim mesnim proizvodima

Mesni proizvod ^a	Količina mikotoksina (µg/kg)					
	AFB ₁			OTA		
	Mean ^b	SD	Max	Mean ^b	SD	Max
Dalmatinski pršut	1,09	0,10	1,16	2,04	0,45	2,75
Istarska kobasica	n.d.	n.d.	n.d.	1,48	0,37	1,81
Slavonska slanina	n.d.	n.d.	n.d.	1,07	0,08	1,12
Kraški pršut	1,12	0,12	1,39	2,30	0,34	2,86
Kraški zašink	n.d.	n.d.	n.d.	1,54	0,12	1,79
Zgornjesavinjski želodec	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

^a po vrsti proizvoda analizirana su tri uzorka; ^b srednja vrijednost pozitivnih uzoraka (>LOD); n.d. – nije detektirano

Istraživanja pokazuju da u farmskih životinja, nakon unosa mikotoksina ishranom, postoje razlike u kumulaciji AFB₁ i OTA u tkivima, ujedno i u mišićnom i masnom tkivu (Gareis i Scheuer, 2000; Pleadin i sur., 2013). Stoga je u

je riječ o visoko kvalitetnim mesnim proizvodima sa značajnim razlikama ($p < 0,05$) u njihovom sastavu odnosno korištenoj recepturi.

Najveća količina OTA određena je u Dalmatinskom pr-

šutu (2,75 µg/kg) i bila je podjednaka količini određenoj u Kraškom pršutu (2,86 µg/kg). Određene vrijednosti su dva do tri puta veće od najvećih preporučenih količina definiranim u nekim zemljama EU, kao npr. u Italiji, gdje je najveća preporučena vrijednost, propisana od strane talijanskog Ministarstva zdravlja, za OTA u mesu i mesnim proizvodima 1 µg/kg (Duarte i sur., 2010). Vrijednosti najvećih dopuštenih, a ni najvećih preporučenih količina, nisu definirane regulativom ni u Hrvatskoj, a niti u Sloveniji. OTA je detektiran u svim proizvodima, osim u slovenskom proizvodu Zgornjesavinjski želodec.

Međutim, s obzirom da u proizvodima u kojima je OTA određen nije riječ o značajnijoj razini kontaminacije, sa vrijednostima OTA većim i od 10 µg/kg, opisanim u pojedinim istraživanjima (Iacumin i sur., 2009), ovakva razina kontaminacije, određena u našem istraživanju, može se pripisati kontaminiranim sirovinama korištenim u proizvodnji odnosno *carryover* efektu u jestivim tkivima svinja. Usporedbom sa utvrđenim kemijskim sastavom, upravo te vrste proizvoda iz kategorije pršuta, imale su najniži udio masnog tkiva, a najveći udio mišićnog tkiva, što je također u skladu sa literaturnim podacima koji govore o značajnijoj kumulaciji OTA u mišićnom u odnosu na masno tkivo (Gareis i Scheuer, 2000; Pleadin i sur., 2013).

U čak 56% različitih mesnih proizvoda uzorkovanih sa talijanskog tržišta, Zannotti i sur. (2001) odredili su količine OTA iznad 1 µg/kg. Chiavaro i sur. (2002) izvjestili su o prisustvu OTA u 42 uzorka pršuta, kako u sredini tako i na kraju razdoblja zrenja, sa OTA razinama većim od preporučenih u 15 uzoraka i najvećom količinom od 2,3 µg/kg. Pojava OTA u mesu i mesnim proizvodima, u rasponu 0,1 do 3,4 µg/kg, srodna vrijednostima iz našeg istraživanja, povezana je sa korištenjem kontaminiranih sirovina, i to krvi svinja te bubrega i jetre te kontaminiranih začina (Gareis i Scheuer, 2000). Razina OTA u pršutima bila je veća od 1 µg/kg u 5 uzoraka (17%), a od 10 µg/kg u 2 uzorka (7%) te su autori zaključili da prisutnost OTA u ovim proizvodima treba biti nadzirana (Pietri i sur., 2006). U Hrvatskoj, najveća koncentracija OTA određena je u zimskoj salami (7,83 µg/kg), dok je u pršutu nepoznatog podrijetla najveća količina iznosila 1,03 µg/kg (Markov i sur., 2013).

Pojava plijesni koje pod određenim optimalnim uvjetima mogu producirati AFB₁ i OTA općenito je karakteristična za trajne mesne proizvode tijekom proizvodnih faza sušenja i zrenja (Asefa i sur., 2010). Plijesni koje obrastaju površinu pršuta obuhvaćaju nekoliko vrsta, uglavnom iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium* (Dall'Asta i sur., 2010). Pojedini autori navode da samo izravna kontaminacija plijesnima tijekom zrenja pršuta može objasniti visoke razine OTA određene u pojedinim uzorcima. Nastanak OTA na površini mesnog proizvoda u provedenim studijama bio je posljedica produkcije *Penicillium nordicum* (Battilani i sur., 2007; Sorensen i sur., 2008) i *Penicillium verrucosum* tijekom zrenja pršuta (Spotti i sur., 2001; Iacumin i sur., 2009).

Plijesni roda *Penicillium* koriste se kao tipične starter kulture za proizvodnju trajnih kobasica u Europi, također u Hrvatskoj i Sloveniji. Te kulture se površinski inokuliraju pri proizvodnji trajnih kobasica zbog njihovog utjecaja na unaprijeđenje arome, teksture i izgleda. Međutim, u

Hrvatskoj su Frece i sur. (2010) izolirali *Aspergillus* sp. i *Penicillium* sp. sa površine domaćeg kulena te ih povezali sa produkcijom OTA. U ovom istraživanju količina OTA određena u proizvodima sa većim udjelom masnog tkiva, kao što su istarske kobasice, može se upravo pripisati kontaminaciji ove vrste.

U proizvodima sa najvećom količinom OTA, određen je i AFB₁ u količini od 1,16 µg/kg u Dalmatinskom pršutu i 1,39 µg/kg u Kraškom pršutu. Međutim određene količine ne predstavljaju značajno veće ($p < 0,05$) vrijednosti od limita detekcije primijenjene analitičke metode. AFB₁ u ostalim proizvodima nije detektiran, ukazujući na nižu razinu kontaminacije tradicionalnih mesnih proizvoda ovim mikotoksinom u odnosu na OTA. Objavljeni literaturni podaci pokazuju da je rizik od kontaminacije suhomesnatih proizvoda i trajnih kobasica sa AFB₁ minimalan, uglavnom zbog niske stope *carryover* efekta ovog mikotoksina na jestiva tkiva, s obzirom da je primarni odnosno ciljni organ AFB₁, jetra. U mišićnom tkivu se može naći samo niska razina AFB₁, često ispod limita detekcije korištene analitičke metode (Beaver i sur., 1990; Bintvihok i sur., 2002), ukazujući na vrlo intenzivan metabolizam AFB₁ u jetri.

Ranije objavljeni podaci ukazali su i na moguću "difuziju" mikotoksina sa površine u unutrašnjost mesnih proizvoda, kao posljedice oštećenja ovitka, te povećani rizik od kontaminacije mikotoksinima kod proizvoda koji uslijed nepravilnog nadijevanja sadrže pukotine ili imaju prekomjernu pljesnivost ovitka (Kovačević, 2014b; Kovačević i sur., 2014c). Autori navode značaj kontroliranih uvjeta proizvodnje, kao što je optimalna, temperatura, pH vrijednost, aktivitet vode, dodatak soli i ostalih značajnih parametara proizvodnje i pohrane mesnih proizvoda, koji ukoliko nisu kontrolirani mogu pogodovati produkciji plijesni i posljedičnoj tvorbi mikotoksina (Asefa i sur., 2010; Asefa sur. 2011). Stoga, kako bi se spriječile moguće posljedice za ljudsko zdravlje, proizvodnja hrane i hrane za životinje nužno se treba temeljiti na načelima dobre poljoprivredne i proizvodne prakse te analizi kritičnih kontrolnih točaka (HACCP) tijekom tehnološkog procesa proizvodnje i pohrane. Isto tako, potrebno je osigurati provođenje sustavne kontrole prisutnosti ovih toksina u hrani životinjskog podrijetla te definirati nacionalne najveće preporučene količine za različite kategorije hrane, uključujući i mesne proizvode.

Zaključak

Povremena kontaminacija tradicionalnih mesnih proizvoda iz kategorije suhomesnatih proizvoda, trajnih kobasica i slanina, hrvatskog i slovenskog podrijetla, odnosi se primarno na OTA. Najveća razina OTA određena u pršutima, bila je čak 2 - 3 puta veća od najveće preporučene količine od 1 µg/kg propisane u pojedinim zemljama EU. Razine AFB₁ nisu bile statistički značajno veće od limita detekcije korištene analitičke metode i ukazuju na zanamarivu kontaminaciju proizvoda ovim mikotoksinom.

Zahvala

Autori se zahvaljuju Ministarstvu znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske i Ministarstvu visokog

škولstva, znanosti i tehnologije Republike Slovenije na financiranju projekta: "Unaprjeđenje kvalitete i sigurnosti hrvatskih i slovenskih tradicionalnih mesnih proizvoda (TMP)".

Literatura

- Amézqueta, S., G.E. Peñas, M.M. Arbizu, A.L. De Certain (2009): Ochratoxin A decontamination: A review. *Food Cont.* 20, 326-333.
- Andronikov, D., L. Gašperlin, T. Polak, B. Žlender (2013): Texture and quality parameters of Slovenian dry-cured ham Kraški pršut according to mass and salt levels. *Food Technol. Biotechnol.* 51 (1), 112-122.
- Asefa, D.T., C.F. Kure, R.O. Gjerde, M.K. Omer, S. Langsrud, T. Nesbakken, I. Skaar (2010): Fungal growth pattern, sources and factors of mould contamination in dry-cured meat production process. *Int. J. Food Microbiol.* 140 (2-3), 131-135.
- Asefa, D.T., C.F. Kure, R.O. Gjerde, S. Langsrud, M.K. Omer, T. Nesbakken, I. Skaar (2011): A HACCP plan for mycotoxigenic hazards associated with dry-cured meat production processes. *Food Cont.* 22, 831-837.
- Battilani, P., A. Pietri, P. Giorni, S. Formenti, T. Bertuzzi, T. Toscani, R. Virgili, Z. Kozakiewicz (2007): Penicillium populations in dry-cured ham manufacturing plants. *J. Food Protect.* 70, 975-980.
- Beaver, R.W., D.M. Wilson, M.A. James, K.D. Haydon, B.M. Colvin, L.T. Sangster, A.H. Pikul, J.D. Groopman (1990): Distribution of aflatoxins in tissues of growing pigs fed an aflatoxin contaminated diet amended with a high affinity aluminosilicate sorbent. *Vet. Human Toxicol.* 32, 16-18.
- Bintvihok, A., S. Thiengninn, K. Doi, S. Kumagai (2002): Residues of aflatoxins in the liver, muscle and eggs of domestic fowls. *J. Vet. Med. Sci.* 64, 1037-1039.
- Bratulić, M., Ž. Cvrtila-Fleck, T. Mikuš, B. Njari, L. Kozaciński (2011): Proizvodnja i kakvoća domaćih istarskih kobasica. *Meso.* XIII (4), 262-264.
- Bullerman, L.B., A. Bianchini (2007): Stability of mycotoxins during food processing. *Int. J. Food Microbiol.* 119, 140-146.
- Chiavaro, E., A. Lepiani, F. Colla, P. Bettoni, E. Pari, E. Spotti (2002): Ochratoxin A determination in ham by immunoaffinity clean-up and a quick fluorometric method. *Food Addit. Contam.* 19, 575-581.
- Creppy, E. E. (1999). Human ochratoxycosis. *J. Toxicol. Toxin Reviews.* 18, 277-293.
- Dall'Asta, C., G. Galaverna, T. Bertuzzi, A. Moseriti, A. Pietri, A. Dosse, R. Marchelli (2010): Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscle, salami and dry-cured ham from pigs fed with contaminated diet. *Food Chem.* 120, 978-983.
- Duarte, S.C., A. Pena, C.M. Lino (2010): Ochratoxin A in Portugal: A Review to Assess Human Exposure. *Toxins* 2(6), 1225-1249.
- EFSA-Q-2003-039, R.N. (2004): Opinion of the scientific panel on contaminants in food chain on a request from the commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. *EFSA J.* 101, 1-36.
- Frece, J., K. Markov, D. Kovačević (2010): Determination of indigenous microbial populations, mycotoxins and characterization of potential starter cultures in Slavonian kulen. *Meso.* 2, 92-99.
- Gareis, M., R. Scheuer (2000): Ochratoxin A in meat and meat products. *Archiv. Lebensmittelhyg.* 51, 102-104.
- Gareis, M., J. Wolff (2000): Relevance of mycotoxin contaminated feed for farming animals and carry over of mycotoxins in food of animal origin. *Mycoses* 43, 79-83.
- Herzallah, S.M. (2009): Determination of aflatoxins in eggs, milk, meat and meat products using HPLC fluorescent and UV detectors. *Food Chem.* 114, 1141-1146.
- HRN ISO 937:1999 standard. Meso i mesni proizvodi - Određivanje količine dušika.
- HRN ISO 1443:1999 standard. Meso i mesni proizvodi - Određivanje ukupne količine masti.
- Iacumin, L., L. Chiesa, D. Boscolo, M. Manzano, C. Cantoni, S. Orlić, G. Comi (2009): Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. *Food Microbiol.* 26, 65-70.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993): Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans, Vol. 56. IARC, Lyon France: World Health Organization.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (2002): Aflatoxins. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol. 82: 171-300. IARC, Lyon, France: World Health Organization.
- ISO 3100-1:1991 standard. Meat and meat products - Sampling and preparation of test samples.
- ISO 1442:1997 standard. Meat and meat products - Determination of moisture content.
- ISO 936:1998 standard. Meat and meat products - Determination of total ash.
- JECFA (2001): Safety evaluation of certain mycotoxins in food. Fifty-six report. WHO Technical Report Series, Geneva, 47.
- Khoury, E.A., A. Atoui (2010): Ochratoxin A: General overview and actual molecular status. *Toxins* 2, 461-493.
- Kovačević, D. (2001): Kemija i tehnologija mesa i ribe. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Kovačević, D., J. Pleadin, K. Mastanjević, J. Frece (2014a): Utjecaj

tehnoloških operacija na smanjenje koncentracije okratoksina A tijekom proizvodnje Slavonskog kulena. *Meso.* 16 (3), 232-236.

Kovačević, D. (2014b): Tehnologija kulena i drugih fermentiranih kobasica. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

Kovačević, D., J. Pleadin, K. Mastanjević, J. Frece (2014c): Opasnosti od površinske kontaminacije plijesnima u tradicionalnoj proizvodnji kulena. *Meso* 16 (2), 162-168.

Lusky, K., D. Tesch, R. Gobel (1993): Influence of the mycotoxin ochratoxin A on animal health and formation of residues in pigs and different types of sausages derived from these animals. *Food Addit. Contam.* 44, 131-134.

Markov, K., J. Pleadin, M. Bevardi, N. Vahčić, D. Sokolić-Mihalek, J. Frece (2013): Natural occurrence of aflatoxin B1, ochratoxin A and citrinin in Croatian fermented meat products. *Food Cont.* 34, 312-317.

Matrella, R., L. Monaci, M.A. Milillo, F. Palmisano, M.G. Tantillo (2006): Ochratoxin A determination in paired kidneys and muscle samples from swines slaughtered in southern Italy. *Food Cont.* 17, 114-117.

Pepeljnjak, S., Ž. Cvetnić, M. Šegvić-Klarić (2008): Ochratoxin A and zearalenon: cereals and feed contamination in Croatia (1977-2007) and influence on animal and human health. *Krmiva* 50, 147-159.

Perši, N., J. Pleadin, D. Kovačević, G. Scortichini, S. Milone (2014): Ochratoxin A in raw materials and cooked meat products made from OTA-treated pigs. *Meat Sci.* 96, 203-210.

Pfohl-Leszkwicz, A., A.R. Manderville (2007): Review Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol. Nutr. Food Res.* 51, 61-99.

Pietri, A., T. Bertuzzi, A. Gualla, G. Piva (2006): Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscles and in pork products from Northern Italy. *Italian J. Food Sci.* 18 (1), 99-106.

Pleadin, J., N. Perši, D. Kovačević, N. Vahčić, G. Scortichini, S. Milone (2013): Ochratoxin A in traditional dry-cured meat products produced from subchronic exposed pigs *Food Addit. Contam. Part A.* 30, 1837-1848.

Pleadin, J., N. Perši, D. Kovačević, A. Vulić, J. Frece, K. Markov (2014a): Ochratoxin A reduction in meat sausages using processing methods practiced in households. *Food Addit. Contam. Part B.* DOI: 10.1080/19393210.2014.900119.

Pleadin, J., K. Markov, J. Frece, A. Vulić, N. Perši (2014c): Bio-Prevalence, Determination and Reduction of Aflatoxin B1 in Cereals In: Aflatoxins: Food Sources, Occurrence and Toxicological Effects/Adina G. Faulkner (ed.). USA: Nova Science Publishers, 1-34.

Pleadin, J., A. Vulić, N. Perši, M. Škrivanko, B. Capek, Ž. Cvetnić (2014b): Aflatoxin B1 occurrence in maize sampled from Croatian farms and feed factories during 2013. *Food Cont.* 40, 286-291.

Pleadin, J., A. Vulić, N. Perši, M. Škrivanko, B. Capek, Ž. Cvetnić (2015): Annual and regional variations of aflatoxin B1 levels seen in grains and feed coming from Croatian dairy farms over a 5-year period. *Food Cont.* 47, 221-225.

Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva (NN 2/2005).

Prevolnik, M., Z. Povse, M. Skrlep, D. Skorjanc, M. Candek-Potokar (2012): Chemical composition of dry ham "Kraški pršut" predicted by NIR spectroscopy. In: De Pedro E.J. (ed.), Cabezas A.B. (ed.). 7th International Symposium on the Mediterranean Pig. Zaragoza: CIHEAM, 2012. p. 543-549. (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéennes; n. 101). 7. International Symposium on the Mediterranean Pig, 2010/10/14-16, Córdoba (Spain).

Richard, J. L. (2007): Some major mycotoxins and their mycotoxicoses - An overview. *Int. J. Food Microbiol.* 119, 3-10.

Rodríguez, A., M. Rodríguez, A. Martín, F. Nuñez, J. J. Córdoba (2012): Evaluation of hazard of aflatoxin B1, ochratoxin A and patulin production in dry-cured ham and early detection of producing moulds by qPCR. *Food Cont.* 27, 118-126.

Sorensen, L.M., T. Jacobsen, P.V. Nielsen, J.C. Frisvad, A.G. Koch (2008): Mycobiota in the processing areas of two different meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 124, 58-64.

Specifikacija proizvoda Dalmatinski pršut za registraciju oznake zaštite zemljopisnog podrijetla (2012a): od 18. 07. 2012. URBROJ: 525-08/0497-12-4.

Specifikacija za zaštitu geografske označbe Kraški pršut (2013a): od 13. 5. 2013, št. 324-01-13/2002/66.

Specifikacija za zaštitu geografske označbe Kraški zašink (2013b): od 13. 5. 2013, št. 33203-37/2006/49.

Specifikacija za zaštitu geografske označbe Zgornjesavinjski želodec (2012b): od 6. 2. 2012, št. 324-01-6/2002/44.

Spotti, E., E. Chiavaro, A. Lepiani, F. Colla (2001): Mould and ochratoxin A contamination of pre-ripened and fully ripened hams. *Industria Cons.* 76, 341.

Zannotti, M., L. Malagutti, F. Sciaraffa, M. Corti (2001): Indagine preliminari sul contenuto di Ocratossina in salumi provenienti dalla grande distribuzione. In: Atti del 36. Simposio Internazionale di Zootecnia, 27 aprile 2001, p. 78

Walker, R., J.C. Larsen (2005): Ochratoxin A: Previous risk assessments and issues arising. *Food Addit. Contam. Supp.* 1, 6-9.

Dostavljeno: 17.11.2014. Prihvaćeno: 19.11.2014.

Aflatoxinmenge B1 und Okratoxin A in kroatischen und slowenischen Fleischerzeugnissen

Zusammenfassung

Mikrotoxine Aflatoxin B1 (AFB1) und Okratoxin A (OTA) stellen eine häufige Kontaminationsquelle der Fleischerzeugnisse dar. In dieser Arbeit wurden je drei Sorten der kroatischen und slowenischen traditionellen Fleischerzeugnisse (n=18), aus der Kategorie der dauerhaften Rauchfleischerzeugnisse, Dauerwürsten und Speck auf Mikotoxinmenge B1 (AFB1) und Okratoxin A (OTA) geprüft. Nach der Bestimmung der chemischen Grundzusammensetzung des Erzeugnisses wurde durch die Anwendung der validierten quantitativen Methoden ELISA die Mikotoxinmenge bestimmt. Die höchste OTA-Menge von ungefähr gleicher Konzentration wurde in Rauchschinkenarten Dalmatinski pršut (2,75 µg/kg) und Kraški pršut (2,86 µg/kg) festgestellt. In gleichen Erzeugnissen wurde die AFB1-Menge von 1,16 µg/kg und 1,39 µg/kg festgestellt, was keine bedeutend größere Menge (P<0,05) vom Detektionslimit der verwendeten analytischen Methode darstellt. AFB1 wurde in den restlichen Erzeugnissen nicht detektiert. Die Resultate deuten auf eine niedrigere Kontaminationsebene der traditionellen Fleischerzeugnisse mit AFB1 in Bezug auf OTA hin, was nur im slowenischen Zgornjesavinski želodec nicht detektiert wurde. Die vorgefundene Anwesenheit von AFB1 und OTA in traditionellen Fleischerzeugnissen kann ihren Ursprung in kontaminierten Rohstoffen haben, bzw. in Muskel- und Fettgewebe sowie in verwendeten Gewürzen bei ihrer Herstellung. Dies kann aber auch eine Folge der direkten Kontamination der Fleischerzeugnisse sein, u.zw. als Produktion der Mikotoxine vom Schimmel, der die Fläche der fermentierten Fleischerzeugnisse während deren Reifens überdeckt.

Schlüsselwörter: Kontamination, Aflatoxin B1, Okratoxin A, traditionelle kroatische und slowenische Fleischerzeugnisse

Las cantidades de las aflatoxinas B1 y ocratoxina A en los productos cárnicos tradicionales de Croacia y Eslovenia

Resumen

Las micotoxinas aflatoxina B1 (AFB1) i ocratoxina A (OTA) son un común fuente de la contaminación de los productos cárnicos. En esta investigación fueron analizados tres tipos de productos cárnicos tradicionales de Croacia y Eslovenia (n=18), de categorías de productos cárnicos crudo-curados, las salchichas crudo-curadas y jamónes. Fue hecho el análisis de la cantidad de las micotoxinas AFB1 i OTA. Después de especificar la composición química básica de los productos, fueron aplicados los métodos cuantitativos ELISA validados y fue determinada la cantidad de micotoxinas. La mayor porción del OTA de aproximadamente misma concentración, fue encontrada en el jamón de Dalmacia (2,75 µg/kg) y de Kras (2,86 µg/kg). Fue encontrada la misma cantidad del AFB1 de 1,16 µg/kg y 1,39 µg/kg en los mismos productos, lo que no son las porciones (p < 0,05) que significativamente superan el límite de la detección del método del análisis. La AFB1 no fue detectada en otros productos. Los resultados indican que la contaminación de los productos cárnicos tradicionales por las AFB1 está en un nivel más bajo que la contaminación por los OTA, los que no fueron detectados solamente en el producto esloveno Zgornjesavinjski želodec. La determinada presencia de los AFB1 i OTA en productos cárnicos tradicionales puede provenir de las contaminadas materias primas, es decir de los tejidos musculares y adiposos y de los condimentos usados durante la producción, pero también como la consecuencia de la directa contaminación de los productos debida a la producción de los micotoxinas por los mohos, que se forman de modo espontáneo sobre la superficie de los productos cárnicos fermentados durante el proceso de maduración.

Palabras claves: la contaminación, aflatoxina B1, ocratoxina A, los productos cárnicos tradicionales de Croacia y Eslovenia

Quantità di aflatoxina B1 e di ocratoxina A nei prodotti tipici a base di carne originari della Croazia e della Slovenia

Sunto

Le micotossine aflatoxina B1 (AFB1) e ocratoxina A (OTA) rappresentano una frequente fonte di contaminazione dei prodotti a base di carne. Questa ricerca aveva lo scopo di accertare la quantità di micotossine AFB1 e OTA presente in tre campioni per tipo di prodotto tipico a base di carne originario della Croazia e della Slovenia (n = 18), appartenenti alle categorie prodotti insaccati, salsicce e lardi fermentati. Dopo aver determinato la composizione chimica di base dei prodotti prelevati mediante l'applicazione dei metodi quantitativi validati ELISA, si è passati a stabilire la concentrazione di micotossine. La maggior quantità di OTA, di concentrazione approssimativamente identica, è stata riscontrata nei prosciutti crudi Dalmatinski pršut (2,75 µg/kg) e Kraški pršut (2,86 µg/kg). In questi stessi prodotti è stata accertata anche la presenza di AFB1 rispettivamente pari a 1,16 µg/kg e 1,39 µg/kg, il che non rappresenta quantità significativamente superiori (p < 0,05) rispetto al limite dell'accertamento del metodo analitico applicato. Negli altri prodotti analizzati non è stata riscontrata la presenza della micotossina AFB1. I risultati indicano un basso livello di contaminazione dei prodotti tipici a base di carne esaminati in rapporto alla AFB1, mentre la OTA non è stata individuata soltanto nel prodotto sloveno Zgornjesavinjski želodec. La presenza accertata di AFB1 e OTA nei prodotti tipici a base di carne può essere dovuta all'uso di materie prime contaminate (tessuti muscolari, tessuti adiposi e spezie impiegati per la loro produzione), ma anche alla contaminazione diretta dei prodotti in seguito alla produzione di muffe che si formano spontaneamente sulla superficie dei prodotti fermentati a base di carne durante la loro stagionatura.

Parole chiave: contaminazione, aflatoxina B1, ocratoxina A, prodotti tipici a base di carne originari della Croazia e della Slovenia