

# Alergeni u mesnim proizvodima s hrvatskog tržišta

Poljanec, I.<sup>1</sup>, N. Vahčić<sup>1</sup>, G. Krešić<sup>2</sup>, S. Kolarić Kravar<sup>3</sup>, N. Kudumija<sup>4</sup>, J. Pleadin<sup>4\*</sup>

Originalni znanstveni rad

## SAŽETAK

Cilj ovog rada je utvrditi prisutnost sljedećih alergena: glutena, soje, mlijeka i gorušice u različitim vrstama mesnih proizvoda te istražiti sukladnost sa oznakama na proizvodu odnosno udovoljavanje zahtjevima zakonodavstva s obzirom na utvrđene količine. Ispitivanje je provedeno na 51 uzorku mesnih proizvoda proizvedenih od strane različitih mesnih industrija i zastupljenih na hrvatskom tržištu. Količina alergena (mg/kg) određivana je primjenom validiranih ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) metoda. Rezultati istraživanja pokazuju da je najveća količina glutena prisutna u hrenovkama (63,7 mg/kg), proteina mlijeka (380,4 mg/kg) i soje (25,7 mg/kg) u paštetama te gorušice (14,0 mg/kg) u kobasicama za pečenje. U šest mesnih proizvoda (11,8%) određeni su alergeni veći od limita kvantifikacije (LOQ) primjenjenih analitičkih metoda, a da njihova prisutnost nije bila označena. Rezultati istraživanja upućuju na važnost sustavne kontrole alergena u mesnim proizvodima u svrhu zaštite zdravlja i interesa potrošača.

**Cljučne riječi:** alergeni, mesni proizvodi, označavanje proizvoda, ELISA metoda

## UVOD

Alergije na hranu predstavljaju važan javnozdravstveni problem u razvijenim zemljama. Pretpostavlja se kako promjene u načinu života, a samim time i promjene prehrambenih navika i načina pripreme hrane, te složen sastav prehrambenih proizvoda, vjerojatno imaju utjecaja na porast učestalosti i ozbiljnosti alergijskih reakcija u posljednjem desetljeću. Istraživanja pokazuju da 4-8 % djece i 2-4 % odraslih u razvijenim zemljama pati od alergija na hranu, što značajno umanjuje njihovu kvalitetu života (Ward, 2015). Alergije se manifestiraju širokim spektrom simptoma koji mogu varirati od kroničnih gastrointestinalnih problema do ozbiljnih, po život opasnih, anafilaktičkih reakcija. Češće su u prvim godinama života zbog još nedovoljne zrelosti imunološkog

sustava, iako se mogu javiti u svakoj životnoj dobi (HAH, 2009). Alergeni iz hrane su uglavnom tipa I, proteini ili glikoproteini topljivi u vodi, iako postoji mogućnost da se drugi sastojci hrane ponašaju kao hapteni, male molekule koje ulaze u interakciju s proteinima iz hrane ili proteinima tijela i izazovu da isti postanu alergeni (FAO, 2001; Alves i sur., 2016).

S obzirom da ne postoji sigurna i učinkovita terapija u liječenju alergija na hranu, jedina prevencija neželjenih imunoloških reakcija u alergičnih osoba je potpuno izbjegavanje hrane na koju su osjetljivi. Stoga je pravilno označavanje hrane te davanje potpunih, točnih i lako razumljivih informacija nužno kako bi alergične osobe odabir hrane mogle prilagoditi svojim prehrambenim potrebama. Prema važećem zakonodavstvu Eu-

1 Ivana Poljanec, mag. ing. upravljanja sigurnošću hrane; prof. dr. sc. Nada Vahčić, redoviti profesor u trajnom zvanju, Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb;

2 prof. dr. sc. Greta Krešić, redoviti profesor, Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu Opatija, Sveučilište u Rijeci, Primorska 42, 51410 Opatija;

3 dr. sc. Sanja Kolarić Kravar, Ministarstvo poljoprivrede, Ulica grada Vukovara 78, 10000 Zagreb;

4 dr. sc. Nina Kudumija, stručni suradnik; izv. prof. dr. sc. Jelka Pleadin, znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10000 Zagreb.

Autor za korespondenciju: [pleadin@veinst.hr](mailto:pleadin@veinst.hr)

ropske unije, svi sastojci prehrambenih proizvoda moraju biti označeni, s posebnim naglaskom na alergene (Uredba (EU) br. 1169/2011). Osim što alergeni mogu biti prisutni kao sastojak proizvoda, u proizvodu se mogu naći i kao posljedica križne kontaminacije tijekom postupka proizvodnje. Unatoč tome što je poznato otprilike 170 sastojaka koji uzrokuju alergijske reakcije (iako u teoriji svaka hrana može izazvati alergiju ukoliko je osoba na nju osjetljiva), većina alergijskih reakcija posljedica je konzumacije alergena iz skupine „osnovnih alergena“ (Burks i sur., 2012). Zakonodavstvo Europske unije naglašava četrnaest specifičnih alergena koji se koriste kao sastojci ili pomoćne tvari u proizvodnji ili pripremi hrane (uključujući i pića) i mogu biti prisutni u gotovom proizvodu, a o čijoj prisutnosti informacije moraju biti pružene potrošaču. Popis tvari ili proizvoda koji uzrokuju alergije ili intolerancije naveden je u Prilogu II. Uredbe (EU) br. 1169/2011 o informiranju potrošača o hrani. Prema navedenoj Uredbi, tvari ili proizvodi koji uzrokuju alergije ili intolerancije su: žitarice koje sadrže gluten te proizvodi od tih žitarica, rakovi i proizvodi od rakova, jaja i proizvodi od jaja, riba i riblji proizvodi, kikiriki i proizvodi od kikirikija, zrna soje i proizvodi od soje, mlijeko i mliječni proizvodi (uključujući laktozu), orašasto voće te njihovi proizvodi, celer i njegovi proizvodi, gorušica i proizvodi od gorušice, sjeme sezama i proizvodi od sjemena sezama, sumporni dioksid i sulfiti pri koncentracijama većim od 10 mg/kg ili 10 mg/L, lupina i proizvodi od lupine te mekušci i proizvodi od mekušaca. Slična regulativa postoji primjerice i u SAD-u, Kanadi, Australiji i Novom Zelandu.

Prilikom proizvodnje mesnih proizvoda koriste se različiti aditivi biljnog i životinjskog podrijetla u cilju poboljšanja tehnoloških i organoleptičkih svojstava mesnih proizvoda, niže cijene i povećanja profitabilnosti proizvodnje. Najčešći dodaci biljnog podrijetla uključuju različite vrste brašna, škroba, vlakana i biljnih proteina (poput proteina soje i pšenice), dok su od dodataka životinjskog podrijetla najčešće koriste plazma, kolagen i mlijeko (kazeinat, sirutke, mlijeko u prahu i sl.) (Petrášová i sur., 2015). Proteini se vrlo često dodaju u mesne proizvode iz niza razloga. Imaju sposobnost stabilizacije emulzija, jer otopljeni proteini imaju hidrofилnu i lipofilnu grupu u molekuli te stoga djeluju kao emulgatori i stabiliziraju dvije faze koje se ne miješaju tijekom termičke obrade. Također, povećavaju sposobnost vezanja vode pomoću vodikovih veza čime povećavaju čvrstoću i sočnost proizvoda. Neki proteini djeluju pozitivno na okus finalnog proizvoda ili se dodaju radi povećanja ukupnog udjela proteina u proizvodu s ciljem zadovoljavanja zakonske regulative (Feiner, 2006).

Gluten, soja, mlijeko i gorušica pritom se najčešće koriste u proizvodnji mesnih proizvoda, a ujedno pripadaju skupini tvari koje mogu uzrokovati alergije. Njihova

prisutnost u mesnim proizvodima, ukoliko nisu jasno istaknuti na deklaraciji proizvoda, može predstavljati potencijalnu opasnost po zdravlje potrošača alergičnih na te sastojke. Stoga je u svrhu detekcije prisutnosti alergena u mesnim proizvodima, te provjere ispravnosti podataka označenih na proizvodu, nužno provoditi analize ovih tvari i to uz primjenu pouzdanih analitičkih metoda. Trenutno je najčešće korištena metoda za detekciju alergena u različitim vrstama hrane, ujedno i mesnim proizvodima, ELISA metoda (enzyme-linked immunosorbent assay) čije su prednosti jednostavnost, osjetljivost i specifičnost.

U ovom radu ispitivana je prisutnost sljedećih alergena: glutena, soje, mlijeka i gorušice, u različitim vrstama mesnih proizvoda proizvedenih od većeg broja mesnih industrija te dostupnih na tržištu Republike Hrvatske. U tu svrhu primjenjene su validirane ELISA metode, a rezultati analiza interpretirani su uzimajući u obzir podatke označene na proizvodu te važeće zakonodavstvo u ovom području.

## MATERIJALI I METODE

### Uzorci

Određivanje alergena provedeno je na 51 uzorku mesnih proizvoda proizvedenih od različitih proizvođača te zastupljenih na tržištu Republike Hrvatske. Proizvodi su uzorkovani nabavkom po supermarketima na području Grada Zagreba. Od svakog pojedinog uzorka uzorkovano je najmanje 300 grama. Proizvodi su razvrstani u pet kategorija sukladno Pravilniku o mesnim proizvodima (Narodne novine, br. 131/12): proizvodi od cijelih ili izrezanih komada ili mljevenog mesa (n=5), kobasice (n=35), mesni proizvodi u komadima (n=3), proizvodi od usitnjenog mesa (n=4) i čvarci (n=4).

Reprezentativni uzorci za analizu pripremljeni su u skladu sa normom ISO 3100-1:1991. Homogenizirani su 15 sekundi pri 5000-6000 rpm pomoću homogenizatora Grindomix GM 200 (Retch, Njemačka). Pohranjeni su u plastične posudice napunjene do vrha na + 4 °C do provedbe analiza unutar 24 h.

### Reagensi i kemikalije

U analitičkim postupcima korišteni su sljedeći ELISA kitovi: RIDASCREEN®GLIADIN (Art. No. R7001), RIDASCREEN®FAST Soja (Art. No. R7102), RIDASCREEN®FAST Milk (Art. No. R4652), RIDASCREEN®FAST Senf/Mustard (Art. No. R6152), proizvedeni od R-Biopharm (Darmstadt, Njemačka). Za određivanje količine glutena korištena je koktel otopina RIDA® Cocktail-Solution (Art. No. 3033P01) istog proizvođača.

Svi ostali reagensi korišteni tijekom ekstrakcije/pročišćavanja te određivanja količine alergena bili su HPLC čistoće (J.T.Baker, Deventer, Nizozemska) ili analitičke čis-

stoće (Kemika, Zagreb, Hrvatska). Ultra čista voda elektrolitičke provodljivosti  $\leq 0.05$  S/cm dobivena je koristeći Milipore Direct-Q 3UV (Merck, Darmstadt, Njemačka).

### Određivanje količine alergena

Kvantitativno određivanje alergena provedeno je prema uputama proizvođača ELISA kita. Princip se temelji na imunoenzimskim reakcijama karakterističnim za „sendvič“ ELISA tehnike, a uključuje vezanje antigena iz uzorka sa specifičnim antitijelom imobiliziranim u suvišku na čvrstoj podlozi. Nakon pripreme uzoraka, provedene u skladu sa uputama proizvođača kitova, količine alergena određivane su prema propisanom ELISA testu. Test procedura provedena je uz uporabu automatiziranog kemijskog analizatora ChemWell 2910 (Awareness Technology Inc. 2910, Palm City, SAD). Nakon ukapavanja standardnih otopina i pripremljenih uzoraka te svih komponenti iz kita, reakcija je zaustavljena dodatkom stop otopine (1M sulfatna kiselina). Potom je apsorbancija u jažicama izmjerena pri valnoj duljini od 450 nm, a iz standardnih otopina, pomoću programa uređaja, izrađene su baždarnе krivulje za svaki alergen pojedinačno. Dobivene količine alergena (mg/kg) korigirane su za vrijednosti faktora razrijeđenja uzoraka te iskorištenja primjenjenih analitičkih metoda utvrđenih tijekom postupka validacije.

Statistička analiza provedena je korištenjem programa Statistica Ver. 10.0 Software (StatSoft Inc. 1984-2011, Tulsa, OK, SAD).

### Validacija ELISA metoda

U postupku validacije metoda, za svaki pojedini alergen, određivanje limita detekcije (limit of detection, LOD) (mg/kg) provedeno je na način da su odabrani materijali koji ne sadrže predmetni alergen (blank), ekstrahirani 10 puta te je mjerenje provedeno u duplikatima. Nakon provedenog postupka, određena je srednja vrijednost količine alergena te standardna devijacija. LOD (mg/kg) je jednak sumi srednje vrijednosti količine i vrijednosti tri standardne devijacije istih određivanja. Limit kvantifikacije (limit of quantification, LOQ) (mg/kg) je jednak sumi srednje vrijednosti količine alergena i vrijednosti šest standardnih devijacija istih određivanja. Iskorištenje (%) je utvrđeno obogaćivanjem po šest uzoraka blank materijala za svaki alergen na definiranu razinu. Potom su tako pripremljeni uzorci analizirani prema uputama proizvođača ELISA kita te je utvrđen omjer teoretske i dobivene količine alergena.

### REZULTATI I RASPRAVA

U postupku proizvodnje mesnih proizvoda koriste se različiti proteini biljnog i životinjskog podrijetla s ciljem postizanja željenih tehnoloških i organoleptičkih svojstava proizvoda, povoljnije nutritivne vrijednosti te povećanja

proizvodnih prinosa. S obzirom da se dio proteina mesa u procesu proizvodnje može zamijeniti nekim drugim proteinima, što može utjecati na kvalitetu proizvoda, njihova primjena je zakonski regulirana radi zaštite interesa potrošača, ali i mogućeg štetnog utjecaja po zdravlje, budući da dodani izvori proteina mogu uzrokovati alergijske reakcije. S obzirom na navedeno, prisutnost alergena u mesnim proizvodima, ukoliko nije jasno istaknuta na deklaraciji proizvoda, može predstavljati potencijalnu opasnost po zdravlje potrošača osjetljivih na te sastojke (Petrášová i sur., 2015). U ovom istraživanju analizirana je količina sljedećih alergena: glutena, soje, mlijeka i gorušice, koji se prema iskustvu najčešće nalaze u mesnim proizvodima, te je provjerena sukladnost dobivenih rezultata sa podacima označenim na proizvodu.

Prije analize uzoraka mesnih proizvoda provedena je validacija ELISA metoda ispitivanjem LOD i LOQ te iskorištenja analitičkih postupaka. Vrijednosti specifičnosti (selektivnosti) metoda određene su od strane proizvođača ELISA kitova te su navedene u uputama svakog pojedinog kita. Rezultati dobiveni u validacijskom postupku prikazani su u tablici 1. Dobiveni rezultati validacije analitičkih metoda u skladu su sa odredbama odnosno validacijskim kriterijima definiranim Pravilnikom o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (Narodne novine, br. 2/05) te se primijenjene metode mogu smatrati prikladnim za određivanje glutena, soje, mlijeka i gorušice u mesnim proizvodima.

**Tablica 1.** Rezultati validacije ELISA metoda za određivanje alergena u mesnim proizvodima

Alergen	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	Iskorištenje (%)
Gluten	3,00	5,00	100,4
Soja	0,31	2,50	92,0
Mlijeko	0,70	2,50	104,2
Gorušica	0,22	0,50	101,7

LOD – limit detekcije; LOQ – limit kvantifikacije

Broj pozitivnih (>LOQ) i označenih uzoraka te raspon količine alergena (min-max) po vrstama mesnih proizvoda prikazan je u tablici 2.

Od 51 analiziranog proizvoda iz ovog istraživanja, u ukupno šest proizvoda (11,8%) alergeni su određeni u količinama većim od LOQ, a da njihova prisutnost nije bila označena. Od tri uzorka hrenovki na kojima nisu označeni alergeni, u jednom uzorku je određeno prisustvo glutena (22,4 mg/kg), u drugom uzorku proteina mlijeka (211,1 mg/kg) dok u trećem uzorku gorušica (12,2 mg/kg). Nadalje, jednom uzorku kranjske kobasice bili su prisutni neoznačeni proteini mlijeka (4,0 mg/kg), soja (20,5 mg/kg) i gorušica (4,4 mg/kg). U jednom uzorku kobasice za pečenje određeno je prisustvo glutena (29,0 mg/kg), dok u drugom proteini mlijeka (27,5

Tablica 1. Prisutnost i označenost alergena po vrstama mesnih proizvoda

Mesni proizvod		Gluten	Soja	Mlijeko	Gorušica
Ćevapčići	poz./uk.	0/5	0/5	0/5	0/5
	min-max	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	označeno	0/0	0/0	0/0	0/0
Hrenovka	poz./uk.	2/8	5/8	1/8	1/8
	min-max	22,4 - 105,1	20,0 - 23,0	/ - 211,1	/ - 12,2
	označeno	1/2	5/5	0/1	0/1
Pariška kobasica	poz./uk.	0/3	0/3	0/3	0/3
	min-max	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	označeno	0/0	0/0	0/0	0/0
Kranjska kobasica	poz./uk.	1/6	1/6	1/6	1/6
	min-max	/ - 9,3	/ - 20,5	/ - 4,0	/ - 4,4
	označeno	0/1	0/1	0/1	0/1
Tirolska kobasica	poz./uk.	1/4	0/4	0/4	0/4
	min-max	/ - 10,0	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	označeno	0/1	0/0	0/0	0/0
Šunka u ovitku	poz./uk.	0/3	0/3	0/3	0/3
	min-max	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	označeno	0/0	0/0	0/0	0/0
Pašteta	poz./uk.	0/6	5/6	5/6	0/6
	min-max	< LOQ	24,1-28,0	305,1-446,1	< LOQ
	označeno	0/0	5/5	5/5	0/0
Kobasica za pečenje	poz./uk.	1/5	1/5	1/5	1/5
	min-max	/ - 29,0	/ - 18,2	/ - 27,5	/ - 14,0
	označeno	0/1	0/1	0/1	1/1
Kuhana šunka	poz./uk.	0/3	0/3	0/3	0/3
	min-max	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	označeno	0/0	0/0	0/0	0/0
Mesni doručak	poz./uk.	0/4	3/4	0/4	0/4
	min-max	< LOQ	9,60 - 27,2	< LOQ	< LOQ
	označeno	0/0	3/3	0/0	0/0
Čvarci	poz./uk.	0/4	0/4	4/4	0/4
	min-max	< LOQ	< LOQ	29,0 - 41,0	< LOQ
	označeno	0/0	0/0	4/4	0/0

poz./uk. – udio uzoraka sa količinom alergena većom od LOQ analitičke metode u odnosu na ukupni broj analiziranih uzoraka

min-max – najmanja i najveća količina alergena (mg/kg)

označeno – broj uzoraka koji na etiketi imaju označenu prisutnost alergena u odnosu na ukupan broj pozitivnih uzoraka (> LOQ)

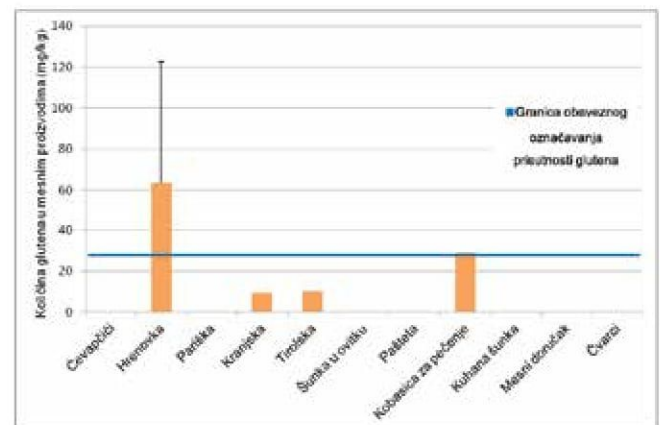
< LOQ – manje od limita kvantifikacije analitičke metode

mg/kg) i soja (18,2 mg/kg). U skladu sa dobivenim rezultatima, prisustvo alergena bi trebalo biti označeno na navedenim proizvodima, budući su utvrđene količine bile veće od LOQ metode. Ostali uzorci mesnih proizvoda (88,2%) bili su označeni u skladu s rezultatima ovog istraživanja te sukladno Uredbi (EU) br. 1169/2011.

Gluten predstavlja smjesu prolinskih i glutelinskih proteina prisutnih u pšenici, raži i ječmu. „Gluten“ znači proteinska frakcija pšenice, raži, ječma, zobi ili njihovih hibridnih vrsta i derivata na koju su neke osobe intolerantne, a koji su netopljivi u vodi i u 0,5 M otopini natrijeva klorida (Uredba komisije (EU) br. 828/2014). Ovaj alergen predstavlja najjeftiniji izvor proteina te se stoga široko primjenjuje u proizvodnji mesnih proizvoda poput kobasica zahvaljujući izvrsnoj sposobnosti vezanja vode

(SVV) i emulgiranja masti. Pšenični gluten često se dodaje prilikom proizvodnje kobasica radi povećanja ukupnog udjela proteina i smanjenja troškova proizvodnje, a da se pritom ostvaruje željena odnosno povećana količina ukupnih proteina u finalnom proizvodu (Feiner, 2006).

Na slici 1. prikazane su količine glutena određene u mesnim proizvodima iz ovog istraživanja. Najveća prosječna količina glutena određena je u hrenovka (63,7±58,5 mg/kg), zatim u kobasicama za pečenje (29,0 mg/kg) te u tirolskoj (10,9 mg/kg) i kranjskoj (9,3 mg/kg) kobasici.



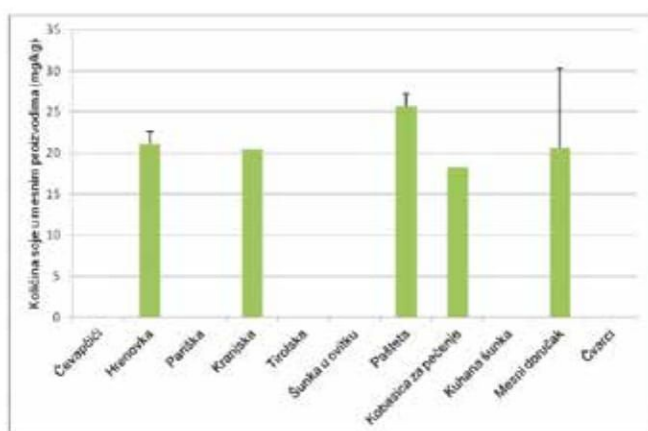
Slika 1. Količina glutena (srednja vrijednost ± SD) određena u mesnim proizvodima

Soja sadrži oko 35% proteina te se smatra jednom od rijetkih biljaka sa vrijednim izvorom proteina. Stoga se široko koristi kao zamjena za proteine životinjskog podrijetla. Osim visokog proteinskog sadržaja, također je bogata i mastima (oko 20%). Upotreba soje u proizvodnji hrane značajno se povećala zadnjih desetljeća, a što je dovelo i do povećanja učestalosti alergijskih reakcija. Od svih proteina koji se koriste u mesnoj industriji, proteini soje se najviše primjenjuju zbog njihove izvrsne sposobnosti vezanja vode, povećanja stabilnosti emulzija i ostvarivanja najvećih proizvodnih prinosa u mesnoj industriji. Također, proteini soje imaju visoku biološku vrijednost i lako su probavljivi, a njihov utjecaj na boju i okus finalnog proizvoda je minimalan odnosno teže zamjetljiv (Feiner, 2006).

Zbog navedenih pozitivnih svojstava, proteini soje često se koriste i prilikom proizvodnje funkcionalnih proizvoda od mesa (Grujić i sur., 2012). U proizvodnji mesnih proizvoda proteini soje dodaju se u obliku sojinog brašna, teksturiranih biljnih proteina te sojinih koncentrata ili izolata (Feiner, 2006). Svaki od tih sojinih proizvoda ima drugačija funkcionalna svojstva te se stoga svaki od njih primjenjuje u proizvodnji za različite mesne proizvode (Belloque i sur., 2002). Primjerice, sojini proteinski preparati (koncentrati i izolati) imaju sposobnost vezanja i zadržavanja prirodne arome i vlage u proizvodima

i nakon smrzavanja, odmrzavanja i ponovne toplinske obrade. Teksturirani sojini proteini imaju neutralan okus i utječu na formiranje karakteristične strukture, koja doprinosi poboljšanju nutritivnog profila standardnih prehrambenih proizvoda i ponudi alternativnih mogućnosti za razvoj novih proizvoda (Grujić i sur., 2012).

Količina soje određena u mesnim proizvodima iz ovog istraživanja prikazana je na slici 2. Najveća prosječna količina soje određena je u paštetama (25,7±1,6 mg/kg), nakon čega slijede hrenovke (21,2±1,5 mg/kg), mesni doručak (20,7±9,6 mg/kg), kranjske kobasice (20,5 mg/kg) i kobasice za pečenje (18,2 mg/kg). Iz rezultata je vidljivo kako je soja prisutna u različitim mesnim proizvodima u otprilike podjednakim količinama.

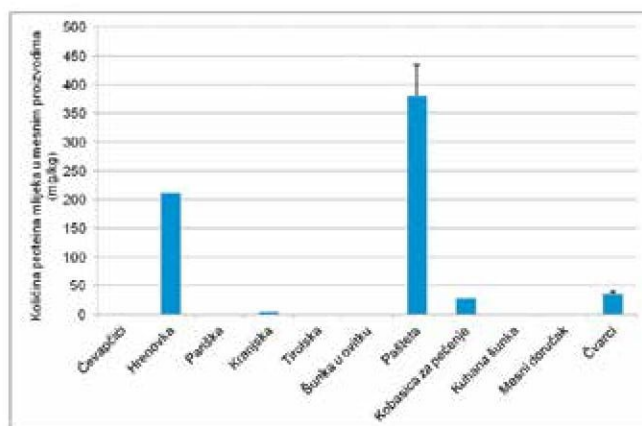


Slika 2. Količina soje (srednja vrijednost ± SD) u mesnim proizvodima

Proteini mlijeka pozitivno utječu na sočnost, sposobnost stvaranja gela i okus mesnih proizvoda. Najčešće se dodaju u obliku kazeinata, sirutke, mlijeka u prahu i sl. (Petrášová i sur., 2015). Kazein je najzastupljeniji protein mlijeka i čini oko 80 % ukupnih proteina mlijeka. Najčešće se u mesne proizvode dodaje u obliku kazeinata, koji se proizvodi izdvajanjem kazeina iz obranog mlijeka pomoću kiseline. Ima odličnu sposobnost emulgiranja masti koje su stabilne čak i prilikom toplinskih tretmana pri visokim temperaturama (sterilizacija). Nedostaci kazeinata su mala sposobnost zadržavanja vode i visoka cijena (Feiner, 2006). Pritom proteini sirutke čine oko 20% od ukupnih proteina mlijeka, značajno su jeftiniji od kazeinata i često se koriste u mesnoj industriji (Petrášová i sur., 2015). Najčešće se dodaju u obliku koncentrata proteina sirutke čija je upotreba vrlo raširena u proizvodnji mesnih proizvoda. Lako su topljivi, stabilni pri promjenama pH, imaju veliku sposobnost stvaranja gela (pri nižim temperaturama) i djeluju pozitivno na okus mesnih proizvoda (Feiner, 2006).

Slika 3. prikazuje utvrđene količine proteina mlijeka (srednja vrijednost ± SD) u mesnim proizvodima. Iz grafičkog prikaza vidljivo je kako se najviše proteina mlijeka

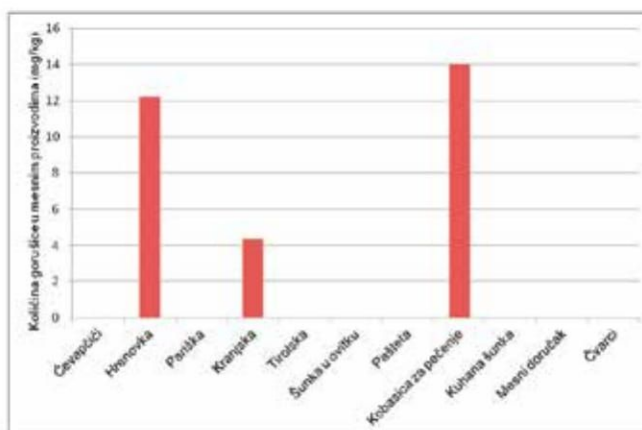
nalazi u paštetama (380,4±54,1 mg/kg) te potom u hrenovkama (211,1 mg/kg), čvarcima (34,5±5,0 mg/kg), kobasicama za pečenje (27,5 mg/kg) i kranjskim kobasicama (4,0 mg/kg).



Slika 3. Količina proteina mlijeka (srednja vrijednost ± SD) u mesnim proizvodima

Gorušica se u mesne proizvode dodaje kao začin, a sadrži i više od 20% proteina. Može biti prisutna i kao posljedica križne kontaminacije u proizvodnom procesu. Istraživanja su pokazala da se gorušica može koristiti kao prirodni antioksidans u svrhu sprječavanja lipidne oksidacije mesnih proizvoda odnosno produžetka stabilnosti i kvalitete proizvoda (Karwowska i sur., 2013). Također je razmatrana mogućnost uporabe ovog začina kao alternativa uporabi nitrita i nitrata u mesnim proizvodima, ali su u tom području potrebna daljnja istraživanja (Gassara i sur., 2016).

Količina gorušice određena u ovom istraživanju prikazana je na slici 4. Najveće prosječne količine gorušice sadržavale su kobasice za pečenje (14,0 mg/kg), potom hrenovke (12,2 mg/kg) te kranjska kobasica (4,4 mg/kg), dok u ostalim vrstama mesnih proizvoda nije utvrđena prisutnost ovog alergena.



Slika 4. Količina gorušice (srednja vrijednost) u mesnim proizvodima

Od 13. prosinca 2014. godine primjenjuju se nova pravila o označavanju hrane, koja donose i novitete u označavanju alergena. Tako Uredba (EU) br. 1169/2011 o informiranju potrošača o hrani harmonizira način navođenja prisutnosti tvari ili proizvoda koji uzrokuju alergije ili intolerancije na način da alergeni moraju biti navedeni u popisu sastojaka te moraju biti naglašeni uporabom vrste pisma koje se jasno razlikuje od vrste pisma kojim je pisan ostatak popisa sastojaka, npr. različitim slovima, stilovima ili bojama u pozadini. Cilj ovakvog načina označavanja je osigurati potrošačima koje pate od alergije ili intolerancije na hranu da u popisu sastojaka lako uoče tvari na koje su alergični ili intolerantni te na taj način budu pravilno informirani.

Važeće zakonodavstvo nalaže obavezno označavanje prisutnosti alergena, no, osim u slučaju sumpornog dioksida i sulfita, još uvijek nisu definirane granične vrijednosti alergena u proizvodima pri kojima većina osjetljive populacije potrošača nema rizik od pojave alergijskih reakcija (EFSA, 2014). Postoje različiti pristupi i istraživanja, no još uvijek nije postignut dogovor kako interpretirati vrijednosti alergena u kontekstu javnog zdravstva s obzirom da reakcija na alergen ovisi o brojnim različitim faktorima, osobito o osjetljivosti pojedinca (FDE, 2013). Razmatrane su različite granične vrijednosti, no zasad još uvijek nisu zakonski određene, osim za sulfite iznad 10 mg/kg i gluten iznad 20 mg/kg (Immer i Lacorn, 2015). Njemačko društvo za alergologiju i kliničku imunologiju te Udruženje njemačkih alergologa predlažu granicu od 10–100 mg/kg za alergene u hrani ili 1–10 mg/kg za proteinske frakcije alergena u hrani (ovisno o alergenošću), kako bi se osjetljivi potrošači zaštitili od ozbiljnih alergijskih reakcija. Niže granice trebale bi se primjenjivati za hranu koja izaziva jake alergijske reakcije, poput kikirikija (Alves i sur., 2015).

Trenutno ne postoji standardna analitička metoda za određivanje alergena u hrani, a proizvođači imaju mogućnost izbora koje će metode koristiti za njihovo određivanje. Analitičke metode pritom mogu biti samo kvalitativne ili kvantitativne, no ne i dovoljno osjetljive u slučaju prisutnosti niskih koncentracija alergena. Također, alergeni mogu biti prisutni u hrani uslijed križne kontaminacije. Proizvođači u slučaju nenamjerne prisutnosti alergena, kako bi iz predostrožnosti upozorili potrošače koriste različite navode na hrani, poput „može sadržavati“, „sadrži tragove“, „proizvedeno na proizvodnoj liniji gdje i (alergen)“. Međutim, takvi navodi ne smiju biti zamjena za dobru higijensku praksu. Različitost upotrijebljenih navoda kojima se upozorava potrošače na moguću i nenamjernu prisutnost alergena dovodi do zbunjivanja potrošača. Potrošači ih često pogrešno interpretiraju, što ih dovodi do rizika za vlastito zdravlje ukoliko ne uvažavaju napisano ili ih s druge strane ogra-

ničava u kupnji sigurnog proizvoda (Daly, 2015). Navod na hrani „može sadržavati (naziv alergena)“ potrošači doživljavaju s najviše opreza pri odabiru hrane.

Znajući kako alergeni mogu uzrokovati reakcije u vrlo malim količinama i vrlo široku upotrebu navoda „može sadržavati“ od strane mnogih proizvođača, neki autori predlažu razmatranje same Uredbe (EU) br. 1169/2011 te strože definiranje granica za označavanje alergena u hrani (Reese i sur., 2015). Ujedno, Uredba predviđa donošenje provedbenog akta kojim će se osigurati da informacije o mogućoj i nenamjernoj prisutnosti alergena u hrani ne dovode potrošače u zabludu i nisu zbunjujući ili dvosmisleni.

## ZAKLJUČAK

Rezultati ispitivanja pokazali su da se najveća razina glutena nalazi u hrenovkama, soje i proteina mlijeka u paštetama te gorušice u kobasicama za pečenje. Proizvođači hrane obavezni su pravilno označavati prisutnost alergena u hrani, budući se time osobama alergičnim i/ili preosjetljivim na određene sastojke hrane omogućava informiranje i donošenje odluke o kupnji hrane koja je za njih sigurna. Obzirom da su u pojedinim uzorcima utvrđene količine alergena bile veće od limita kvantifikacije analitičkih metoda, a da njihova prisutnost nije bila označena na mesnom proizvodu, u cilju zaštite zdravlja i interesa potrošača jasna je nužnost sustavnih kontrola u ovom području. Također, potrebno je čim skorije definiranje granica pri kojima pojedini alergen treba biti označen na proizvodu, što će ujedno definirati i kvalitetu analitičkih metoda koje se mogu primjenjivati u njihovoj detekciji. Potrebno je donijeti zajednička pravila koja će određivati kada se primjenjuje navod o nenamjernoj prisutnosti alergena u hrani i definirati točan navod što bi pomoglo potrošačima u donošenju sigurnije i bolje odluke pri nabavci prehrambenih proizvoda.

## LITERATURA

- Alves, R.C., M. Fátima Barroso, M.B. González-García, M.B. Oliveira, C. Delerue-Matos (2016): New Trends in Food Allergens Detection: Toward Biosensing Strategies. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56 (14), 2304-2319.
- Anonimno (2005): Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata. Ministarstvo poljoprivrede. Narodne novine 2/2005.
- Anonimno (2012): Pravilnik o mesnim proizvodima. Ministarstvo poljoprivrede. Narodne novine 131/2012.
- Belloque, J., M.C. García, M. Torre, M.L. Marina (2002): Analysis of soyabean proteins in meat products: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42, 507-532.
- Burks, A.W., M. Tang, S. Sicherer, A. Muraro, P.A. Eigenmann, M. Ebisawa, A. Fiocchi, W. Chiang, K. Beyer, R. Wood, J. Hourihane, S.M. Jones, G. Lack, H.A. Sampson (2012): ICON: food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 129(4), 906-920.
- Chen, Y., Y.J. Wu, T.T. Deng (2015): Detection and control of mustard and sesame as food allergens. U: *Handbook of Food Allergen Detection and Control*, (Flanagan,

S., ured.), Woodhead Publishing, Cambridge/Waltham/Kidlington, str. 391-408.

**Daly, E. (2015):** Improving the use of „may contain“ allergen labelling. *Int. Food Hyg.* 26, 7-9.

**Europaen Food Safety Authority (EFSA) (2014):** Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes. *EFSA Journal.* 3894, 1-286.

**Europska komisija (2011):** Uredba (EU) br. 1169/2011 o informiranju potrošača o hrani. Službeni list Europske Unije 304, Strasbourg.

**Europska komisija (2014):** Provedbena uredba (EU) br. 828/2014 o zahtjevima za informiranje potrošača o odsutnosti ili smanjenoj prisutnosti glutena u hrani. Službeni list Europske Unije 228, Strasbourg.

**Feiner, G. (2006):** Meat products handbook: Practical science and technology, CRC Press Boca Ranton, Boston, New York, Washington.

**Food and Agricultural Organization (FAO) (2001):** Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods, Rim, Italija.

**Food Drink Europe (FDE) (2013):** Guidance on Food Allergen Management for Food Manufacturers, Bruxelles, Belgija.

**Gassara, F., A.P. Kouassi, S.K. Brar, K. Belkacemi (2016):** Green Alternatives to Nitrates and Nitrites in Meat-based Products-A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56, 2133-2148.

**Grujić, R., S. Grujić, D. Vujadinović (2012):** Funkcionalni proizvodi od mesa.

Hrana u zdravlju i bolesti 1, 44-54.

**Hrvatska agencija za hranu (HAH) (2009):** Alergije podrijetlom iz hrane, Hrvatska agencija za hranu, Osijek.

**Hrvatski sabor (2013):** Zakon o informiranju potrošača o hrani. Narodne novine 56/2013.

**Immer, U., M. Lacorn (2015):** Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for detecting allergens in food. U: Handbook of Food Allergen Detection and Control, (Flanagan, S., ured.), Woodhead Publishing, Cambridge/Waltham/Kidlington, str.199-217.

**Karwowska, M., Z.J. Dolatowski (2013):** Antioxidant Effects of Ground Mustard Seed in Model Sausage Type Product. *Food Sci. Technol. Res.* 19, 23-28.

**Petrášová, M., M. Pospiech, B. Tremlová, Z. Javůrková (2015):** Immuno-flourescence detection of milk protein in meat products. *Potravinarstvo* 9, 101-105.

**Reese, I., T. Holzhauser, S. Schnadt, S. Dölle, J. Kleine-Tebbe, M. Raithel, M. Worm, T. Zuberbier, S. Vieths (2015):** Allergen and allergy risk assessment, allergen management, and gaps in the European Food Information Regulation (FIR). *Allergo J. Int.* 24, 180-184.

**Ward, R.K. (2015):** Introduction to food allergy. U: Handbook of Food Allergen Detection and Control, (Flanagan, S., ured.), Woodhead Publishing, Cambridge/Waltham/Kidlington, str. 1-15.

Dostavljeno: 25.8.2017.

Prihvaćeno: 11.9.2017.

## Allergens in meat products from the Croatian market

### SUMMARY

*The goal of this paper is to establish the presence of the following allergens: gluten, soy, milk and mustard in various types of meat products and research their compliance with the product labels, i.e. meeting the legal requirements with regard to the established quantities. The test was conducted on 51 meat product samples produced by different meat industries represented on the Croatian market. The quantity of the allergens (mg/kg) was defined by applying validated ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) methods. The research results show that the largest amount of gluten is present in frankfurters (63.7 mg/kg), milk protein (380.4 mg/kg) and soy (25.7 mg/kg) in pates and mustard (14.0 mg/kg) in grill sausages. In six meat products (11.8%), allergens have been established above the quantification limit (LOQ) of the applied analytical methods, while their presence was not indicated on the label. The research results point to the importance of systemic control of allergens in meat products in order to protect consumer interests and health.*

**Key words:** allergens, meat products, labelling products, ELISA method

## Allergene in Fleischprodukten vom kroatischen Markt

### ZUSAMMENFASSUNG

*Ziel dieser Arbeit ist es, die Anwesenheit der Allergene Gluten, Soja, Milch und Senf in diversen Fleischprodukten festzustellen und die Übereinstimmung mit der Produktkennzeichnung bzw. mit den gesetzlichen Anforderungen in Abhängigkeit von den festgelegten Mengen zu überprüfen. Die Untersuchung wurde an 51 Fleischproben durchgeführt, die aus diversen Fleischbetrieben stammen und auf dem kroatischen Markt vertreten sind. Die Allergenen-Menge (mg/kg) wurde mittels validierter ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) Methoden festgelegt. Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen, dass der höchste Gehalt von Gluten in Würstchen (63,7 mg/kg), von Milchproteinen (380,4 mg/kg) und Soja (25,7 mg/kg) in Leberpasteten und von Senf (14,0 mg/kg) in Bratwürsten festgestellt wurde. Bei sechs Fleischprodukten (11,8%) wurde ein Anteil von Allergenen ermittelt, der das Quantifikationslimit (LOQ) der angewandten analytischen Methoden übersteigt, ohne dass deren Gehalt ausgewiesen wurde. Die Untersuchungsergebnisse weisen auf die Bedeutung einer systematischen Kontrolle der Allergene in Fleischprodukten zum Schutz der Gesundheit und der Interessen der Verbraucher hin.*

**Schlüsselwörter:** Allergene, Fleischprodukte, Produktkennzeichnung, ELISA-Methode

## Los alérgenos en los productos cárnicos del mercado croata

### RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo es determinar la presencia de los siguientes alérgenos: gluten, soya y sinapis en diferentes tipos de productos cárnicos e investigar su correspondencia con los datos en las etiquetas de los productos, en otras palabras, el cumplimiento de los requisitos de la legislación con respecto a las cantidades determinadas. La investigación fue realizada en 51 muestras de productos cárnicos de varios productores de la industria cárnica presentes en el mercado croata. La cantidad de alérgenos (mg/kg) se determinó usando la validación de método ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Los resultados demuestran que la mayor cantidad de gluten está presente en salchichas de tipo Frankfurt (63,7 mg/kg); la de proteínas lácteas (380,4 mg/kg) y soya (25,7 mg/kg) en patés; y la de sinapis, (14,0 mg/kg) en salchichas para freír. En seis productos cárnicos (11,8) ciertos alérgenos sobrepasan el límite de cuantificación (LOQ) de los métodos analíticos usados, mientras que su presencia no se especificaba en la etiqueta. Los resultados de investigación destacan la importancia del control sistemático de alérgenos en los productos cárnicos con el fin de proteger la salud y los intereses de los consumidores.

**Palabras claves:** alérgenos, productos cárnicos, etiquetación de productos, método ELISA

## Allergeni presenti nei prodotti di carne provenienti dal mercato croato

### SUNTO

Obiettivo di questo studio è accertare la presenza dei seguenti allergeni: glutine, soia, latte e senape in vari tipi di prodotti di carne e fare luce sulla conformità delle etichette sul prodotto, ossia la soddisfazione dei requisiti di legge rispetto alle quantità accertate. Il test ha interessato 51 campioni di prodotti di carne provenienti da diverse industrie alimentari e presenti sul mercato croato. La quantità di allergeni (mg/kg) è stata determinata applicando i metodi verificati ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). I risultati del test hanno dimostrato che il glutine è presente in maggior quantità nei wurstel (63,7 mg/kg), le proteine del latte (380,4 mg/kg) e della soia (25,7 mg/kg) nei pâté di carne e la senape (14,0 mg/kg) nelle salsicce da cuocere alla piastra. In sei prodotti di carne (11,8%) è stata accertata una presenza di allergeni superiore al limite di quantificazione (LOQ) dei metodi analitici applicati e che la loro presenza non era stata indicata nell'etichetta. I risultati della ricerca rimandano all'importanza dei controlli sistematici per individuare la presenza di allergeni nei prodotti di carne al fine di tutelare la salute e gli interessi dei consumatori.

**Parole chiave:** allergeni, prodotti di carne, etichettatura dei prodotti, metodo ELISA

### PREHRAMBENI ADITIVI: EFSA-ina radionica i otvorena plenarna sjednica u studenom

— Jeste li zainteresirani za ponovnu procjenu aditiva u hrani? Postoje dva dobra razloga za dolazak u Parmu ove jeseni.

— Dana 24. studenog, EFSA će biti domaćin jednodnevne radionice o statusu EU programa re-evaluacije prehrambenih aditiva. Dan prije, 23. studenog, promatrači će imati priliku prisustvovati otvorenoj plenarnoj sjednici EFSA-inog Znanstvenog odbora o

prehrambenim aditivima i izvorima hranjivih tvari koji su dodani hrani (ANS).

— Predstavnici tijela Europske unije, međunarodnih organizacija, nacionalnih vlasti, nevladinih organizacija, industrije, istraživanja i akademske zajednice su dobrodošli te se mogu pridružiti jednom ili oba događaja. Također, svi su pozvani da pomognu EFSA-i oblikovati radionicu, slanjem svojih prijedloga na:

**FIP@efsa.europa.eu.**

**Daljnje informacije o događajima te kako se prijaviti, bit će pravodobno objavljene na EFSA web stranici.**