

in cardiovascular care. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 166, (5), 608-615.

Holub, B. J. (2006): Conversion efficiency of ALA to DHA in humans. DHA-EPA Omega-3 Institute, dostupno na: <http://dha-omega3.org/>.

Howell, W. H. (2000): Food Cholesterol and its Plasma Lipid and Lipoprotein Response: Is Food Cholesterol Still a Problem or Overstated? In: *Egg Nutrition and Biotechnology*. Eds J.S. Sim, S. Nakai and W Gunter. CAB International, 15 - 24.

Kralik, G., Margeta, V. (2002): Utjecaj sastava obroka na sadržaj masnih kiselina u mišićnom i masnom tkivu svinja. IX Međunarodno savjetovanje Krmiva 2002. Opatija - Hrvatska, 29. - 31. svibnja 2002. Zbornik radova, 162 - 168.

Lacey, R. W. (1992): Disease Transfer. In: *Farm Animals and the Environment*. Edited by Clive Phillips and David Piggins. CAB International. Wallingford, UK, 359-383.

MacRae, J., O'Reilly, L., Morgan, P. (2005): Desirable characteristics of animal products from human health perspective. *Livestock Production Science*, 94, 95-103.

Needelman, P., Raz, A., Minkes, M. S., Ferrendelli, J. A., Sprecher, H. (1979): Triene prostaglandins: Prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties. *Proceedings of the National Academy of Science*, 76, 944-948.

Newton, I. S. (2001): Long-chain fatty acids in health and nutrition. In: *Omega -3 Fatty Acids: Chemistry, Nutrition and Health Effects*. Edited by: F. Shahidi and J. W. Finley, ACS Symposium Series 788, American Chemical Society, Washington, DC, 14-27.

Okuyama, H. Ikemoto, A. (1999): Needs to modify the fatty acid composition of meats for human health. *Proceedings of 45 ICoMST, Yokohama, Japan*, 638-640.

Pereira, S. L., Leonard, A. E., Mukerji, P. (2002): Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 68, 97-106.

Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D. (2004): Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a

review. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 199-221.

Rose, D. P., Connolly, J. M. (1999): Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology & Therapeutics*, 83, 217-244.

Sardesai, V. M. (1992b): Biochemical and nutritional aspects of eicosanoids. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 3, 562-479.

Sardesai, V. M. (1992a): Nutritional role of polyunsaturated fatty acids. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 3, 154-166.

Simopoulos, A. P. (1991): Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54, 438-463.

Simopoulos, A. P. (1999): Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 560-569.

Simopoulos, A. P. (2002): Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 11, 163-173.

Van Vilet, T., Katan, M. B. (1990): Lower ratio of n-3 to n-6 fatty acids in cultured than in wild fish. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 51, 1-2.

Wan, J. M. F., Haw, M. P., Blackburn, G. L. (1988): Nutrition, immune function, and inflammation: an overview. *Proceedings of the Nutrition Society*, 48, 315-335.

WHO/FAO (2003): Diet, nutrition and prevention of chronic diseases (p. 148). Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva, World Health Organization.

Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M. (2003): Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.

Zhao, G., Etherton, T. D., Martin, K. R., West, S. G., Giles, P. J., Kris-Etherton, P. M. (2004): Dietary alpha-linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic man and women. *Journal of Nutrition*, 137, 2991-2997.

Prispjelo / Received: 15.3.2007.

Prihvaćeno / Accepted: 3.5.2007. ■

AKTIVNOST PROTEOLITIČKIH I LIPOLITIČKIH ENZIMA TIJEKOM PROIZVODNJE PRŠUTA

Krvavica¹, M., A. Lukić¹, M. Vrdoljak²

SAŽETAK

Biokemijske promjene u tkivima buta tijekom prerade pršuta rezultat su brojnih i složenih biokemijskih reakcija

čiji tijek i obim ovise uglavnom o aktivnosti endogenog enzimskog sustava. Najznačajnije biokemijske promjene tkiva buta u proizvodnji pršuta uglavnom se odnose se

¹ Mr.sc. Marina Krvavica; Andrijana Lukić; Veleučilište „Marko Marulić“ Knin, Petra Krešimira IV 30, 22300 Knin, Hrvatska; E-mail: mkravica@net.hr ili mkravica@veleknin.hr

² Marija Vrdoljak, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva, Av. Vukovar 78, 10000 Zagreb

na proteolizu i lipolizu. Stoga se i enzimski sustavi odgovorni za odvijanje ovih promjena sastoje od proteaza, odgovornih za razgradnju proteina i lipaza, odgovornih za razgradnju masti. Mišićni enzimski sustav čine proteaze i mišićne lipaze odgovorne za razgradnju lipida mišićnog tkiva, dok su za razgradnju lipida adipoznog tkiva odgovorne lipaze masnog tkiva. Osiguranje povoljnih uvjeta za aktivnost ovih enzimskih sustava u preradi pršuta može biti presudan čimbenik kvalitete finalnog proizvoda.

Ključne riječi: mišićni enzimi, proteaze, lipaze

UVOD

Većina fizikalno-kemijskih promjena nastalih tijekom preradbenog procesa u tkivima pršuta, posljedica su gubitka vode i penetracije soli. Biokemijske promjene proteina i masti rezultat su proteazne i lipazne enzimске aktivnosti u tkivima buta, koji rezultiraju stvaranjem i nagomilavanjem produkata proteinske i masne razgradnje. Mišići sadrže velik broj enzima koji sudjeluju u većini biokemijskih promjena tijekom tehnološke prerade mesa i mesnih proizvoda. Aktivnosti najvažnijih mišićnih enzima povezane su s razgradnjom proteina (proteinaze), stvaranjem malih peptida (peptidaze) ili slobodnih aminokiselina (aminopeptidaze i karboksipeptidaze), te razgradnjom lipida (lipaze), a svaki od ovih enzima lociran je na različitom mjestu (Toldrá, 2002).

MIŠIĆNI ENZIMSKI SUSTAV

Lizosomske proteinaze: Lizosomi sadrže veliki broj enzima uključujući i proteinaze. Glavne lizosomske proteinaze su katepsini B, H i L (cisteinske proteinaze) i katepsin D (aspartatna proteinaza). To su mali enzimi, 20 – 40 tisuća M_r , a jednom oslobođeni u stanju su prodirjeti unutar miofibrilarne strukture. Oni su optimalno aktivni u kiseloj sredini (3.0-5.0 za katepsin D), slabo kiseloj (oko 6.0. za katepsine B i L) i čak prema neutralnoj sredini (6.8 za katepsin H), te kod temperature 30 – 40°C (Toldrá i sur., 1990). Anaerobna glikoliza u mišićima postmortem, stvara adekvatne uvjete za katepsinsku aktivnost (Toldrá, 2002). Katepsini B, D H i L imaju dobru sposobnost razlaganja različitih miofibrilarnih proteina. Tako su katepsini D i L osobito aktivni u razgradnji miozinskih teških lanaca, titina, M i C proteina, tropomiozina i troponina T i I (Zeece i Katoh, 1989). Katepsin L je ekstremno aktivan u razgradnji titina i nebulina.

Međutim, razlaganje aktina je sporo i postupno. Katepsin B je u stanju razložiti miozinski teški lanac i aktin, ali uopće ne djeluje na miozinski laki lanac i troponin C (Toldrá, 2002). Katepsin H posjeduje endo- i aminopeptidaznu aktivnost zbog čega se i svrstava u aminoendopeptidaze. Nasuprot tomu, katepsin H razlaže miozin i njegova glavna uloga je najvjerojatnije aminopeptidazna. (Toldrá, 2002).

Neutralne proteinaze: Kalpains spadaju u grupu cisteinskih endopeptidaza smještenih u citosolu i u području Z-crte, usko specijaliziranog djelovanja. U znanstvenoj literaturi korišteni su razni nazivi kao kalcij-aktivne neutralne proteinaze, kalcij-ovisne proteaze, kalcijem-aktiviran faktor. Aktiviranje i postizanje maksimalne aktivnosti kalpaina moguće je jedino u uvjetima neutralnog pH (oko 7.5), slabu aktivnost postižu kod pH 6.0, a najvjerojatnije su neaktivni kod pH 5.5 – 6.0. Uz to, kalpain I (μ CANP) je aktivan u prisutnosti 50 – 70 μ M Ca^{2+} , a kalpain II (mCANP) u prisutnosti 1-5 mM Ca^{2+} (Toldrá, 2002). Kalpains su heterodimeri molekulske mase 110 tisuća, sastavljeni od jedne katalitičke podjedinice 80 tisuća M_r i jedne podjedinice 30 tisuća M_r , nepoznatih funkcija (Toldrá, 2002). Kalpains su u stanju razlagati strukturu Z-membrane i regulatorne proteine (titin, nebulin, troponine T i I, tropomiozin, C-protein, filamin, dezmin i vinkulin) koji vode porijeklo od dugačkih peptida, ali su neaktivni u odnosu na miofibrilarne proteine (miozin, aktin, α -aktinin i troponin C) (Koohmaraie, 1994). Stabilnost kalpaina je prilično slaba, odnosno gube aktivnost nakon 10 – 14 dana, *postmortem*, tj. nakon prve faze salamurenja (Toldrá, 2002). Kalpain I je izrazito nestabilan u mišićima, *postmortem*. Može se autolizirati u prisustvu Ca^{2+} iona u posebnim uvjetima, kao što je npr. porast temperature, s obzirom da njegova aktivnost značajno ovisi o temperaturi. U tom slučaju može doći do potpune i trajne deaktivacije ovog enzima (Koohmaraie, 1994). Kalpain II je stabilniji prvih nekoliko tjedana (Koohmaraie i sur. 1987). Zbog ove izrazite nestabilnosti, neki znanstvenici pretpostavljaju da uloga kalpaina u proizvodnji pršuta nije osobito značajna (Koohmaraie, 1994; Toldrá, 2002). Što više, kiseli pH nekih suhomesnatih proizvoda čini svaku kalpainsku aktivnost još nevjerojatnijom. Prisustvo kalpastatina, endogenog inhibitora, regulira aktivnost kalpaina u postmortalnim mišićima.

Mišići svinja imaju najniži nivo kalpastatina u usporedbi s drugim vrstama (Ouali i Talmant, 1990), koji se ujedno autolizira za nekoliko dana nakon klanja (Koochmaraie i sur., 1987).

Mišićne tripeptidilpeptidaze (TPP) su enzimi koji hidroliziraju različite tripeptide peptidnih amino ostataka. TPP I je locirana na lizozomima u optimalno kiseloj sredini (pH 4.0) i hidrolizira tripeptide Gly-Pro-X, gdje je X aminokiselina, uglavnom hidrofobne prirode. TPP II je relativno veliki enzim (1 milijun M) s optimalnim neutralnim pH (6.5-7.5), a aktivan je u širem rasponu uvjeta supstrata, osim kada se prolin nalazi na jednom od dvaju hidroliziranih krajeva.

Mišićne dipeptidilpeptidaze (DPP) su enzimi koji hidroliziraju različite dipeptidne sekvence peptidnih amino ostataka. Postoje 4 tipa aktivnosti DPP, i to DPP I, II, III i IV. DPP I i II su locirani na lizozomima, DPP III u citozolu, a DPP IV je smješten u membrani plazme. Njihova je molekulska masa relativno visoka, između 100 i 200 tisuća, a optimalni pH je kiseli za DPP I i II (5.5) i bazni za DPP III i IV (7.5-8.0). Ova 4 enzima su u cijelosti istražena kod skeletnih mišića svinje (Sentandreu i Toldra, 1998, 2000, 2001a, 2001b). DPP I je najaktivniji enzim u postmortalnim mišićima i u znatnom je postotku aktivan i pri niskim temperaturama, pa tako može biti vrlo aktivan u fazi soljenja i nakon soljenja (Sentandreu i Toldra, 2001b). DPP djeluju u različitim supstratima. Tako DPP I ima osobitu sklonost za hidrolizu dipeptida Ala-Arg i Gly-Arg, DPP II i DPP IV za dipeptide Gly-Pro, a DPP III za dipeptide Arg-Arg i Ala-Arg. Isto tako, ovi su enzimi u stanju hidrolizirati i druge peptide s različitim sekvencama, ali sporije i postupno, te su na taj način uključeni u stvaranje i akumuliranje široke palete dipeptida tijekom preradbenog procesa.

Mišićne dipeptidaze spadaju u grupu mišićnih enzima čija uloga nije još u potpunosti ispitana. Poznato je da kataliziraju hidrolizu dipeptida, a nazvani su zavisno od sklonosti prema određenim aminokiselinama. Glicilglicin dipeptidaza razgrađuje dipeptide koji sadrže glicin, cisteinilglicin dipeptidaza je specijalizirana za dipeptide Cys-Gly, a arginin dipeptidaza ima osobitu sklonost za bazne aminokiseline (Toldrá, 2002). Veoma je malo informacija o važnosti i ulozi ovih enzima u mesu i preradi mesa.

Mišićne aminopeptidaze spadaju u metalo-proteine visoke molekulske mase i kompleksne stru-

kture. Istraženo je i opisano pet odvojenih tipova aminopeptidazne aktivnosti: leucil, arginil, alanil, piroglutamil i metionil aminopeptidaze. Najvažnije aminopeptidaze skeletnih mišića svinje su također istražene i opisane. Sve su aminopeptidaze aktivne u neutralnoj i baznoj sredini, a nazive su dobile na osnovu sklonosti prema specifičnom N-ostatku aminokiselnog lanca. Tako npr. alanil aminopeptidaza ima najveću sklonost prema alaninu ali je u stanju hidrolizirati širok spektar aminokiselina kao što su aromatski, alifatski i bazni aminoacil lanci (Flores i sur. 1996). Alanil aminopeptidaza je najvažnija aminopeptidaza u mišićima postmortem i aktivna je u odnosu na sve slobodne aminokiseline. Arginil aminopeptidaza hidrolizira bazne aminokiseline, kao što su arginin ili lizin i zbog toga se još naziva i aminopeptidaza B (Toldrá, 2002). Metionil aminopeptidazu aktiviraju kalcijevi ioni, a ima širok spektar aktivnosti sa sklonošću prema metioninu, alaninu, lizinu i leucinu (Flores i sur. 1996). Uloga egzopeptidaza u razgradnji proteina i peptida je slabo istražena. Ovi su enzimi uključeni u kasnije stadije proteolitičke razgradnje i odgovorni su za akumulaciju slobodnih aminokiselina tijekom tehnološkog procesa prerade mesa.

Mišićne karboksipeptidaze su locirane na lizozomima, a optimalnu aktivnost postižu u kiseloj sredini. Ovi enzimi stvaraju slobodne aminokiseline od karboksi ostataka peptida i proteina. Karboksipeptidaza A ima sklonost prema hidrofobnim aminokiselinama, dok karboksipeptidaza B ima širok spektar aktivnosti (Toldrá, 2002).

Mišićne lipaze se nalaze u lizozomima, membranama, citozolu i adipoznom tkivu, a optimalnu aktivnost postižu kod pH 5,0 – 7,5 i temperature 37 – 45 °C. Lizozomska kisela lipaza i fosfolipaza A locirane su na lizozomima i glavni su lipolitički enzimi mišića koji oslobađaju dugolančane masne kiseline u mišićima *postmortem*. Lizozomska kisela lipaza ima izraženu sklonost za hidrolizu primarnih esterskih veza triacilglicerola u kiseloj sredini (pH 4.5-5.5), a u manjoj mjeri hidrolizira i di- i monoacilglicerole (Toldrá, 2002). Nedostatak ovih enzima dovodi do nakupljanja nerazgrađenih triacilglicerola u mišićima (Toldrá, 2002). Fosfolipaza A regulira hidrolizu fosfolipida na mjestu 1 ili 2, u području dodira vodalipidi. Ovaj enzim je vrlo važan u ciklusu biokemijske

razgradnje fosfolipida. Kisele i neutralne esteraze također su identificirane na lizozomima i u citozolu (Toldrá, 2002). Ovi su enzimi dosta stabilni i u stanju su hidrolizirati kratkolančane masne kiseline tri-, di- i monoacilglicerola, iako je njihova aktivnost ograničena zahvaljujući kratkom trajanju povoljnih uvjeta.

ENZIMI ADIPOZNOG TKIVA

Lipaze masnog tkiva: Lipidi i ugljikohidrati kao rezerva energije pokrivaju većinu energetske potreba organizma u vrijeme gladovanja, mobilizirajući veće količine (više od 150 g/dan) masnih kiselina (Toldrá, 2002). Adipozno tkivo sadrži 3 važna lipolitička enzima: hormon-osjetljivu lipazu, monoacilglicerol lipazu i lipoprotein lipazu (Toldrá, 2002). Ovi enzimi, čija je optimalna pH sredina u rasponu od neutralne do bazne, igraju važnu ulogu u regulaciji sveukupne energetske ravnoteže kod svinja. Hormon-osjetljiva lipaza (HSL) hidrolizira skladištene lipide u masnim stanicama, prije njihove mobilizacije u vidu slobodnih masnih kiselina (FFA). Ovi enzimi su visoko specijalizirani i kataliziraju kidanje prvih esterskih veza u triacilglicerolima, te nastaju diacilgliceroli. Prva 3-esterska veza acilglicerola se hidrolizira 4 puta brže nego 2-esterska veza (Toldrá, 2002). Tri-, di- i monooleilglicerole hidroliziraju u odnosu 1:10:4. Iako se hormon-osjetljive lipaze aktiviraju fosforilacijom, triacilglicerolska hidroliza je kontrolirana reakcija (Toldrá, 2002). Monoacilglicerol lipaza (MGL) hidrolizira monoacilglicerol (nema specifičnih mjesta hidrolize), a uglavnom je lociran u masnim stanicama, iako je manja količina nađena u stromalnim i vaskularnim stanicama, a aktivan je prema srednjim i dugim lancima monoacilglicerola (Toldrá, 2002). Lipoproteinska lipaza je acilglicerol hidrolaza, koja je locirana u kapilarnom endotelu i hidrolizira acilglicerolne komponente na površini endotela, a imaju sklonost ka masnim kiselinama na poziciji 1 i preko njih na poziciju 3 (Toldrá, 2002). Hidrolizira tri-, di- i monogliceride u odnosu 2:4:1, pokazujući vrlo nizak afinitet za monogliceride s nekoliko hidroliziranih 2-monoglicerida. Nezasićeni monoacilgliceroli se brže hidroliziraju nego zasićene komponente (Toldrá, 2002). Lipoliza u adipoznom tkivu na početku procesa odvija se pod kontrolom hormon-osjetljive lipaze (HSL), a proizvodi ove

reakcije, odnosno produkti nastali razgradnjom triacilglicerola koju katalizira lipoproteinska lipaza su monoacilgliceroli, koji se ne akumuliraju zahvaljujući djelovanju monoacilglicerol lipaze (Toldrá, 2002). Kisele i neutralne esteraze su također prisutne u adipoznom tkivu i mogu sudjelovati u mobilizaciji deponiranih kolesterol estera tijekom mobilizacije uskladištenih lipida i u razgradnji lipoprotein kolesterol estera oslobođenog iz plazme (Toldrá, 2002).

SUMMARY

ACTIVITY OF PROTEOLYTIC AND LIPOLYTIC ENZYMES DURING THE DRY-CURED HAM PRODUCTION

The biochemical changes in ham tissues during the dry-cured ham production are made as a result of numerous and complex biochemical reactions which course and range are mostly depend on endogenous enzyme system activities. The most important changes in ham tissues are mostly related with proteolysis and lipolysis. Therefore the enzyme systems responsible for these types of reactions are made of proteases and lipases, responsible for proteins and lipids breakdown, respectively. The muscle enzyme system is constituted by proteases and muscle lipases which are responsible for degradation of muscle tissue lipids. The lipids of adipose tissue degradation are performed by the adipose tissue lipases. Assurance of adequate activity conditions for these enzyme systems during the dry-cured ham production can be a key influence factor on final products quality.

Key words: muscle enzymes, proteases, lipases

LITERATURA

- Flores, M., M.C. Aristoy, F. Toldrá (1996): HPLC purification and characterisation of soluble alanyl aminopeptidase from porcine skeletal muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 2578-2583.
- Koohmaraie, M., S. C. Seidman, J. E. Schollmayer, T. R. Dutson, J. D. Grouse, (1987): Effect of postmortem storage on Ca²⁺ dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. *Meat Science* 19, 187-196.
- Koohmaraie, M. (1994): Muscle proteinases and meat ageing. *Meat Science* 36, 93-104.
- Ouali, A., A. Talmant (1990): Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Science* 28, 331-348.
- Sentandreu, M.A., F. Toldrá (1998): Biochemical properties of dipeptidylpeptidase III purified from porcine skeletal muscle. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46, 3977-3984.
- Sentandreu, M.A., F. Toldrá (2000): Purification and biochemical properties of dipeptidylpeptidase I from porcine skeletal

muscle". *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48, 5014-5022.

Sentandreu, M.A., F. Toldrá (2001a): Importance of dipeptidylpeptidase II in postmortem pork muscle. *Meat Science* 57, 93-103.

Sentandreu, M.A., F. Toldrá (2001b): Dipeptidylpeptidase IV from porcine skeletal muscle: purification and biochemical properties. *Food Chemistry* 75, 159-168.

Toldrá, F. (2002): Dry-cured meat products. Food and Nutrition press, inc. Trumbull, Connecticut, USA.

Toldrá, F., J. Flores, C.A. Voyle (1990): Study of the white film developed on cut surfaces of vacuum-packed dry-cured ham. *Journal of Food Science* 55, 1189-1191.

Zeece, M. G., K. Kato (1989): Cathepsin D and its effects on myofibrillar proteins. A review. *Journal of Food Biochemistry* 13, 157-178.

Prispjelo / Received: 21.3.2007.

Prihvaćeno / Accepted: 7.5.2007. ■

AUDITING THE FOOD BUSINESS ESTABLISHMENTS BY THE CONTROLLING AUTHORITIES

Bystrický¹, P., I. Mráz², D. Máté¹

SUMMARY

From the side of the controlling authorities the most serious challenge will be the auditing system. Especially, as regards the preparation of the necessary forms and training of the auditors with the goal to introduce objectivity and transparency.

The audited will have to cope with the production of evidence, as they will have to support their claims of safe food production not only at the time of an audit, but also when no controlling authority is present.

Communication is the basis of success. All the parties involved will have to reason and their reasoning must be within the objectives given by the food law (and animal welfare laws, when appropriate).

INTRODUCTION

With the new hygienic legislation a new duty for both controlling authorities and food business operators was set – audits. Many small and medium establishments have no direct experience with audits so far. What audits are and how to cope with the new tasks is for some of the involved still not completely

clear, and thus potentially frightening. In principle, however, an audit is quite simple procedure, if properly trained personnel in a cooperating environment do the task. Most problems are expected in evidence gathering by the food business operators and non-compliance definitions by auditors. Discussion and proper feedback between auditors and the audited party will be necessary to make the audits a useful controlling tool.

LEGISLATIVE BACKGROUND

The duty to do audits for the controlling authorities and to submit themselves to audit is given by the Regulation 882/2004 [1] (on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules) and consequently by the Regulation 854/2004 [2] (laying down of specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption), stating that the

¹ Doc. MVDr. Pavel Bystrický, PhD. – Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine, Košice, Slovakia

² Eng. Igor Mráz, PhD. – Dept. of Food Technology & Processing, LIKO Bratislava a. s., Bratislava, Slovakia