

11 hranom do zdravlja with food to health



Zbornik radova s 11. međunarodnog
znanstveno-stručnog skupa

Proceedings of the 11th International
Scientific and Professional Conference

<i>Faculty of Chemistry and Technology (University of Split, Croatia)</i>	/	Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu
<i>Faculty of Food Technology Osijek (University of Osijek, Croatia)</i>	/	Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Osijeku
<i>Faculty of Technology (University of Tuzla, B&H)</i>	/	Tehnološki fakultet Univerziteta u Tuzli (BiH)
<i>Faculty of Pharmacy (University of Tuzla, B&H)</i>	/	Farmaceutski fakultet Univerziteta u Tuzli (BiH)
<i>Association for Nutrition and Dietetics (B&H)</i>	/	Udruženje za nutricionizam i dijetetiku (BiH)
<i>Veterinary Institute Vinkovci</i>	/	Veterinarski zavod Vinkovci
<i>European Hygienic Engineering & Design Group – EHEDG (Germany)</i>	/	European Hygienic Engineering & Design Group – EHEDG (Njemačka)
<i>School of Medicine (University of Split, Croatia)</i>	/	Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu
<i>Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek (University of Osijek, Croatia)</i>	/	Fakultet agrobiotehničkih znanosti Sveučilišta u Osijeku
<i>Faculty of Agriculture and Food Technology (University of Mostar, B&H)</i>	/	Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Mostaru (BiH)
<i>Chamber of Pharmacists of Tuzla Canton (Tuzla, B&H)</i>	/	Komora magistara farmacije Tuzlanskog kantona (BiH)
<i>Andrija Štampar – Association of People's Health</i>	/	Udruga narodnog zdravlja Andrija Štampar
<i>Croatian Food Agency</i>	/	Hrvatska agencija za hranu
<i>The Department of Biology (University of Osijek, Croatia)</i>	/	Odjel za Biologiju Sveučilišta u Osijeku

PROCEEDINGS / ZBORNİK RADOVA

11th International Scientific and Professional Conference

WITH FOOD TO HEALTH

October 18th and 19th 2018, Split, Croatia

11. međunarodni znanstveno-stručni skup

HRANOM DO ZDRAVLJA

18. i 19. listopada 2018., Split, Hrvatska



Split, Osijek and / i Tuzla, 2019.

PROCEEDINGS	<i>11th International Scientific and Professional Conference WITH FOOD TO HEALTH</i>
ZBORNİK RADOVA	11. međunarodni znanstveno-stručni skup HRANOM DO ZDRAVLJA
Published by / Izdavači	<i>Faculty of Chemistry and Technology (University of Split), Faculty of Food Technology Osijek (University of Osijek) and Faculty of Technology (University of Tuzla)</i> Kemijско-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu, Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Osijeku i Tehnološki fakultet Univerziteta u Tuzli
Editors / Urednici	Igor Jerković, Drago Šubarić, Midhat Jašić
Executive Editor / Izvršni urednik	Antun Jozinović
Technical Editors / Tehnički urednici	Ivana Generalić Mekinić, Ante Lončarić
Cover page design / Dizajn naslovnice	Studio HS internet d.o.o., Osijek, Croatia / Hrvatska
Printing and Binding / Tisak i uvez	
Number of Copies / Naklada	100
Organising Committee / Organizacijski odbor	Igor Jerković (<i>chairman / predsjednik</i>), Drago Šubarić (<i>vice-chairman / zamjenik predsjednika</i>), Midhat Jašić (<i>vice-chairman / zamjenik predsjednika</i>), Đurđica Ačkar, Damir Alihodžić, Almir Azabagić, Jurislav Babić, Ines Banjari, Slobodan Brinić, Aneda Cipurković, Daniela Čačić Kenjerić, Matko Erceg, Ivana Flanjak, Ivana Generalić Mekinić (<i>secretary / tajnica, Split</i>), Artur Gryszkyn, Stela Jokić, Dražan Jozić, Antun Jozinović (<i>secretary / tajnik, Osijek</i>), Vlatko Kopic, Ante Lončarić, Zvonimir Marijanović, Danijela Skroza, Marizela Šabanović, Antonija Šarić, Vida Šimat
Scientific Committee / Znanstveni odbor	Krunoslav Aladić, Tea Bilušić, Mladen Boban, Brigita Dorđević, Jelena Đugum, Eva Falch, Ljubica Glavaš-Obrovac, Lidija Jakobek Barron, Snježana Jakobović, Ljiljana Krstin, Ciril Lisickov, Borislav Miličević, Tihomir Moslavac, Benjamin Muhamedbegović, Amra Odošajić, Mario Panjičko, Fuad Pašić, Jelka Pleadin, Senada Selmanović, Vineta Srebrenkoska, Aleksandra Tepić, Andrijana Včeva, Senka Vidović, Milica Vilušić, Dubravka Vitali Čepo
Honorary Committee / Počasni odbor	Vladimir Andročec, Ivan Anušić, Mensura Aščerić, Lejla Begić, Sead Čatić, Zoran Đogaš, Radoslav Grujić, Vlado Guberac, Boris Habrun, Mirsada Hukić, Dragan Ljutić, Snježana Marić, Helga Medić, Zlata Mujagić, Ivan Ostojić, Vlasta Piližota, Darja Sokolić, Mario Škrivanko, Tomislav Tolušić, Ivan Vukoja, Krunoslav Zmaić, Željko Zubčić
<i>The Conference will be credited according to the ordinance of Croatian medical chamber.</i> Skup će biti bodovan sukladno pravilnicima Hrvatske liječničke komore.	
<i>A CIP catalogue record of this publication is available from the City and University Library Osijek under the number 141202081.</i>	
CIP zapis dostupan u računalnom katalogu Gradske i sveučilišne knjižnice Osijek pod brojem 141202081.	
ISBN (Split): 978-953-7803-10-0	ISBN (Osijek): 978-953-7005-61-0
EAN (Split): 9789537803100	EAN (Osijek): 9789537005610
ISSN (Tuzla): 2232-9536	
Split, Osijek and / i Tuzla, 2019.	

Supported by:

Uz potporu:

*Ministry of Science and
Education of the Republic of
Croatia*

Ministarstvo znanosti
i obrazovanja Republike
Hrvatske



*Ministry of Agriculture of
the Republic of Croatia*

Ministarstvo poljoprivrede
Republike Hrvatske



*Ministry of Health of the
Republic of Croatia*

Ministarstvo zdravstva
Republike Hrvatske



*Ministry of Economy,
Entrepreneurship and
Crafts of the Republic of
Croatia*

Ministarstvo gospodarstva,
poduzetništva i obrta Republike
Hrvatske



University of Split

Sveučilište u Splitu



*Josip Juraj Strossmayer
University of Osijek*

Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku



*Croatian Academy of
Engineering*

Akademija tehničkih znanosti
Hrvatske



*Croatian Association of
Nutritionists*

Hrvatski zbor nutricionista



Split-Dalmatia County

Splitsko-dalmatinska županija



Osijek-Baranja County

Osječko-baranjska županija



City of Split

Grad Split



Grad Split

SUPPORTING PUBLICATIONS
Croatian Journal of Food Science and
Technology (CJFST)
Food in Health and Disease: Scientific-
Professional Journal of Nutrition and Dietetics

SPONSORS

GOLDEN

Shimadzu d.o.o., Croatia
AlphaChrom d.o.o., Croatia

SILVER

Kefo d.o.o., Croatia
Labena d.o.o., Croatia

BRONZE

Ledo d.d., Croatia
V.I.A. – lab d.o.o., Croatia
Kemolab d.o.o., Croatia
Primalab d.o.o., Croatia
CROTEH d.o.o., Croatia
Croatian Chamber of Economy, Croatia
Ljekarne srce, Croatia

SPONSOR OF CATERING

Kefo d.o.o., Croatia

OTHER SPONSORS AND DONORS

Croatian Veterinary Institute Zagreb, Croatia
Veterinary Institute Vinkovci, Croatia
Vita Lab Nova d.o.o., Croatia
Pivovara Osijek d.o.o., Croatia
Croatian Food Agency, Croatia
Pure Medica d.o.o., Croatia
Belje d.d., Croatia
Tourist Board of Osijek-Baranja County,
Croatia
Split-Dalmatia County, Croatia
City of Split, Croatia
TRS winery Ilok, Croatia
Misna vina d.o.o., Croatia
Vupik d.d., Croatia
Karolina d.o.o., Croatia
Kandit d.o.o., Croatia
Podravka d.d., Croatia
Croatia osiguranje d.d., Croatia
Polytechnic in Požega, Croatia
KLAS d.d. Sarajevo, B&H
Vispak d.d., B&H
Voćar d.o.o., B&H
ZADA Pharmaceuticals d.o.o., B&H

PODUPIRUJUĆI ČASOPISI
Croatian Journal of Food Science and
Technology (CJFST)
Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni
časopis za nutricionizam i dijetetiku

SPONZORI

ZLATNI

Shimadzu d.o.o., Hrvatska
AlphaChrom d.o.o., Hrvatska

SREBRNI

Kefo d.o.o., Hrvatska
Labena d.o.o., Hrvatska

BRONČANI

Ledo d.d., Hrvatska
V.I.A. – lab d.o.o., Hrvatska
Kemolab d.o.o., Hrvatska
Primalab d.o.o., Hrvatska
CROTEH d.o.o., Hrvatska
Hrvatska gospodarska komora, Hrvatska
Ljekarne srce, Hrvatska

SPONZOR CATERINGA

Kefo d.o.o., Hrvatska

OSTALI SPONZORI I DONATORI

Hrvatski veterinarski institut Zagreb, Hrvatska
Veterinarski zavod Vinkovci, Hrvatska
Vita Lab Nova d.o.o., Hrvatska
Pivovara Osijek d.o.o., Hrvatska
Hrvatska agencija za hranu, Hrvatska
Pure Medica d.o.o., Hrvatska
Belje d.d., Hrvatska
Turistička zajednica Osječko-baranjske županije,
Hrvatska
Splitsko-dalmatinska županija, Hrvatska
Grad Split, Hrvatska
TRS vinarija Ilok, Hrvatska
Misna vina d.o.o., Hrvatska
Vupik d.d., Hrvatska
Karolina d.o.o., Hrvatska
Kandit d.o.o., Hrvatska
Podravka d.d., Hrvatska
Croatia osiguranje d.d., Hrvatska
Veleučilište u Požegi, Hrvatska
KLAS d.d. Sarajevo, BiH
Vispak d.d., BiH
Voćar d.o.o., BiH
ZADA Pharmaceuticals d.o.o., BiH

EXHIBITORS

Shimadzu d.o.o., Croatia
AlphaChrom d.o.o., Croatia
Kefo d.o.o., Croatia
Labena d.o.o., Croatia
Ledo d.d., Croatia
V.I.A. – lab d.o.o., Croatia
Kemolab d.o.o., Croatia
Primalab d.o.o., Croatia
CROTEH d.o.o., Croatia
Croatian Chamber of Economy, Croatia
Ru-Ve d.o.o., Croatia
Kobis d.o.o., Croatia

IZLAGAČI

Shimadzu d.o.o., Hrvatska
AlphaChrom d.o.o., Hrvatska
Kefo d.o.o., Hrvatska
Labena d.o.o., Hrvatska
Ledo d.d., Hrvatska
V.I.A. – lab d.o.o., Hrvatska
Kemolab d.o.o., Hrvatska
Primalab d.o.o., Hrvatska
CROTEH d.o.o., Hrvatska
Hrvatska gospodarska komora, Hrvatska
Ru-Ve d.o.o., Hrvatska
Kobis d.o.o., Hrvatska

All pieces of information provided in this PROCEEDINGS are the sole responsibility of the authors of the manuscripts. Publishers are not responsible for any use that might be made of the data appearing in this document. Also, publishers shall not be liable for any errors that are found in the works of authors.

Sadržaj radova u ovom ZBORNIKU RADOVA isključiva je odgovornost autora. Izdavač nije odgovoran za upotrebu podataka objavljenih u cjelovitim radovima, greške i sl.

Table of Contents / Sadržaj

NUTRITION / NUTRICIONIZAM	1
Kvaliteta prehrane bolničkih medicinskih sestara / <i>Diet-quality of hospital nurses</i> <i>Anđela Jelavić Šako, Gordana Kendel Jovanović, Vanja Đurica, Sandra Pavičić Žeželj, Greta Krešić</i>	3
Održivost konzumacije hrane u Hrvatskoj procijenjena vodenim otiskom / <i>Sustainability of food consumption in Croatia estimated with the water footprint</i> <i>Karla Ferk, Matko Grujić, Greta Krešić</i>	15
DIETETICS AND DIET THERAPY / DIJETETIKA I DIJETOTERAPIJA	27
Stavovi oboljelih/izliječenih od karcinoma debelog crijeva prema prehrani u Međimurskoj županiji / <i>Attitudes towards diet of people who are suffering from/who have beat colorectal cancer in Međimurje County</i> <i>Natalija Uršulin-Trstenjak, Julija Pečet, Aleksandar Racz</i>	29
FOOD SAFETY / ZDRAVSTVENA SIGURNOST HRANE	45
Kemijska analiza ploda breskve na području Hercegovine / <i>Chemical analysis of peach fruit in Herzegovina</i> <i>Lamija Aliman, Jasmina Aliman, Alisa Hadžiabulić, Nađa Macić, Nikolina Begović</i>	47
Rezultati praćenja ostataka pesticida u i na hrani biljnog podrijetla na tržištu Bosne i Hercegovine u 2017. / <i>Results monitoring of pesticide residues in or on food of plant origin in Bosnia and Herzegovina in 2017</i> <i>Džemil Hajrić, Dragan Brenjo, Katica Arar, Dragan Tomović, Armin Čolaković, Ivana Zovko</i>	57
Antimikrobno djelovanje biljnih ekstrakata iz roda <i>Allium</i> / <i>Antimicrobial activity of plant extracts from genus Allium</i> <i>Aida Džaferović, Azra Bakrač, Subha Džafić, Vildana Jogić, Samira Dedić, Jelena Nikitović</i>	65
Karakterizacija pjenastog polistirena nakon uporabe organskim otapalom limonenom / <i>Characterization of the expanded polystyrene foams after recovery using limonene as organic solvent</i> <i>Miće Jakić, Mirna Borić, Danijela Skroza, Mario Nikola Mužek</i>	75
<i>Determination of histamine in fish and fish products using the method of ELISA</i> <i>Huska Jukić, Samira Dedić, Zlatko Jusufhodžić, Miloš Rodić, Dinko Demirović</i>	83
Mikrobiološka analiza i određivanje kvalitete vode / <i>Microbiological analysis and determination of quality of water</i> <i>Enver Karahmet, Senita Salkić, Enisa Omanović-Miklićanin, Amir Ganić, Munevera Begić, Almir Toroman, Erna Čatić</i>	93
Stavovi i znanja potrošača prema kvaliteti i sigurnosti hrane na području FBiH / <i>Attitudes and knowledge of consumers according to quality and safety food in FB&H</i> <i>Ermina Kukić, Sead Karakaš, Mateja Paklarčić</i>	99
FOOD ANALYSIS / ANALIZA HRANE	107
Utjecaj procesiranja na antioksidativnu aktivnost i sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u blitvi (<i>Beta vulgaris</i> L., subsp. <i>vulgaris</i>) / <i>Effect of processing on antioxidant activity and total phenols and flavonoids contents in chard (Beta vulgaris</i> L., subsp. <i>vulgaris</i>) <i>Zilha Ašimović, Azra Ugarak, Lejla Čengić, Selma Čorbo</i>	109

<i>Antioxidant activity of unpasteurised and thermally processed sour cherry juice</i> <i>Samira Dedić, Huska Jukić, Aida Džafirović, Ekrem Pehlić, Miloš Rodić</i>	117
<i>Microbiological and chemical qualities of polluted spring water and chlorinated drinking water from the spring of Klokot</i> <i>Samira Dedić, Huska Jukić, Aida Džafirović, Ekrem Pehlić, Miloš Rodić</i>	129
Procjena kvalitete meda u ugostiteljskim objektima Primorsko-goranske i Istarske županije ispitivanjem udjela hidroksimetilfurfurala / <i>Quality assessment of honey in coffee bars located in Primorsko-Goranska and Istra County by determining hydroxymethylfurfural concentration</i> <i>Kristina Kvrgić, Dijana Mišetić Ostojić, Natalija Džafić, Jelka Pleadin</i>	137
<i>Physicochemical and sensory characteristics of green olive pastes</i> <i>Mladenka Šarolić, Ana Ukić, Emilija Friganović, Žana Delić, Marko Šuste, Tomislav Svalina, Zvonimir Marijanović</i>	147
Određivanje sadržaja ukupnih fenola i antioksidativnog kapaciteta komercijalnih zelenih čajeva iz tuzlanskih trgovina / <i>Determination of total phenols and antioxidative capacity of commercial green tea from Tuzla supermarkets</i> <i>Emir Horozić, Jasmin Suljagić, Zahida Ademović, Amra Bratovčić, Lejla Halilčević</i>	153
PRODUCTION OF SAFE FOOD AND FOOD WITH ADDED NUTRITIONAL VALUE / PROIZVODNJA ZDRAVSTVENO SIGURNE I NUTRITIVNO VRIJEDNE HRANE	161
<i>Domestic hulless barley and malt as an easily available source of β-glucan</i> <i>Kristina Mastanjević, Maja Kotris, Krešimir Mastanjević, Daniela Horvat, Vinko Krstanović</i>	163
AUTHOR INDEX / KAZALO AUTORA	171
SPONSORS, DONORS AND EXHIBITORS / SPONZORI, DONATORI I IZLAGAČI	175

NUTRITION /
NUTRICIONIZAM

KVALITETA PREHRANE BOLNIČKIH MEDICINSKIH SESTARA

DIET-QUALITY OF HOSPITAL NURSES

**Andela Jelavić Šako¹, Gordana Kendel Jovanović², Vanja Đurica³,
Sandra Pavičić Žeželj², Greta Krešić^{4*}**

¹Terracon d.d., Gundulićeva 36, 21000 Split, Hrvatska

²Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Krešimirova 52a,
51000 Rijeka, Hrvatska

³Klinički bolnički centar, Krešimirova 42, 51000 Rijeka, Hrvatska

⁴Sveučilište u Rijeci, Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu,
Primorska 42, 51410 Opatija, Hrvatska

*greta.kresic@fthm.hr

stručni rad / professional paper

SAŽETAK

Medicinske sestre su osoblje koje najviše vremena tijekom bolničkog liječenja provede uz pacijenta što im daje mogućnost promocije zdravog stila života, ne samo brigom o zdravlju pacijenta već i vlastitim primjerom. Cilj ovog rada bio je utvrditi kvalitetu prehrane medicinskih sestara zaposlenih u KBC Rijeka. Pripadnost modelu mediteranske prehrane ispitana je među 203 medicinske sestre, korištenjem Indeksa mediteranske prehrane prema jedinicama serviranja (MDSS, engl. *Mediterranean Diet Serving Score*). Bodovanje je izvršeno na temelju količine i učestalosti konzumiranja pojedinih skupina namirnica pri čemu najveća vrijednost MDSS indeksa iznosi 24. Prosječna vrijednost MDSS indeksa među ispitanicama iznosila je $8,58 \pm 3,81$, što se može smatrati lošom pripadnošću mediteranskoj prehrani ($MDSS \leq 14$). Samo je 7 % ispitanica imalo prehranu u skladu s mediteranskom prehranom. Gotovo je trećina ispitanica imala prekomjernu tjelesnu masu (27 %) dok ih je sedmina bila pretiła (13 %). Nije uočena statistički značajna povezanost kakvoće prehrane i stupnja obrazovanja ($p=0,588$), godina radnog staža ($p=0,734$), indeksa tjelesne mase ($p=0,186$) niti stupnja tjelesne aktivnosti ($p=0,643$). Analiza kvalitete prehrane medicinskih sestara pokazala je potrebu njenog unapređenja, u skladu s mediteranskom prehranom. Nužna je kontinuirana edukacija medicinskih sestara o pravilnim prehranbenim i životnim navikama kako bi unaprijedile svoju prehranu te što vjerodostojnije svojim primjerom doprinosile dobrobiti pacijenata.

Ključne riječi: bolničke medicinske sestre, indeks tjelesne mase, kakvoća prehrane, mediteranska prehrana, tjelesna aktivnost

Keywords: body mass index, diet quality, hospital nurses, mediterranean diet, physical activity

UVOD

Medicinske sestre i medicinski tehničari kao najbrojniji članovi zdravstvenog tima s pacijentom provode najviše vremena. Tijekom posljednjih desetljeća njihova uloga i opisi poslova značajno se i stalno mijenjaju, a sestrinstvo se razvilo u disciplinu za koju su potrebna znanja i vještine u neprestanom suočavanju s novim izazovima (Kičić, 2014). Savjetodavna uloga medicinskih sestara u radu s pacijentima i njihovim obiteljima jedna je od najčešćih sestrijskih intervencija. Upravo bi prehrabena psihoterapija trebala biti važna komponenta zdravstvene njege, budući da je pokazano da edukacija pacijenata o različitim aspektima prehrane značajno smanjuje troškove zdravstvene skrbi (Bakre i sur., 2012). Pravilne prehrabene navike mogu ubrzati ozdravljenje, prevenirati nastanak bolesti ali i biti pomoć medikamentoznoj terapiji kod liječenja brojnih zdravstvenih stanja. U takvom konceptu je uloga medicinskih sestara značajna, a veliki dio njihove odgovornosti otpada upravo na savjetovanje pacijenata i njihovih bližnjih o prehrani kao važnom aspektu zdravlja i liječenja, ali i odgovornosti da svojim primjerom dodatno motiviraju pacijente.

Sestrinstvo, posebice bolničko je međutim izuzetno zahtjevna profesija sa brojnim psihičkim i fizičkim naporima i stresovima (noćne smjene, umiranje, premještanje s odjela na odjel, konflikti s liječnicima, nesuradljivi pacijenti i sl.) (Lambert i Lambert, 2008). Ovakva radna svakodnevica uvelike ometa održavanje pravilnih prehrabnenih navika, redovitu tjelesnu aktivnost ili pridržavanje zdravim životnim navikama (Malik i sur., 2011). Phiri i suradnici (2014) su uočili da medicinske sestre zbog napornog radnog tempa imaju premalo vremena i preumorne su za pripremu kvalitetnih obroka nakon posla. Neodgovarajuća prehrana, manjak tjelesne aktivnosti i općenito neodržavanje zdravih životnih navika ne samo da mogu negativno utjecati na njihovu profesionalnost u obavljanju svakodnevnih zadataka već mogu narušiti i njihov kredibilitet da u tim segmentima djeluju savjetodavno prema pacijentima (Brown i Thomson, 2007; Bjerrum i sur., 2011).

Uvažavajući savjetodavnu ulogu ali i tempo života i rada kojem su svakodnevno izložene, u okviru ovog rada procijeniti će se kvaliteta prehrane u kontekstu pripadnosti mediteranskoj prehrani kao „zlatnom standardu“ pravilne prehrane te sukladno tome prehrabneni status bolničkih medicinskih sestara u ovisnosti o stupnju obrazovanja i godinama radnog iskustva. Budući da u Republici Hrvatskoj nema provedenih istraživanja sa ovom tematikom, podaci ovog preliminarnog istraživanja mogu poslužiti za dobivanje uvida u eventualnu potrebu ciljane edukacije o prehrani ove populacije.

ISPITANICI I METODE

Ispitanici u istraživanju bile su medicinske sestre zaposlene u Kliničkom bolničkom centru Rijeka. Podijeljeno je ukupno 330 upitnika od čega se 203 upitnika popunilo u potpunosti. Rezultati prikazani u ovom radu dio su opsežnijeg ispitivanja koje je uz podatke o prehrabnenim i životnim navikama obuhvaćalo i procjenu znanja o prehrani ove specifične populacije.

Obzirom na opseg istraživanja, upitnik koji je posebno kreiran za ovo istraživanje se sastojao od pet dijelova. Prvi dio upitnika se odnosio na demografske i antropometrijske značajke ispitanica. Drugi dio upitnika sadržavao je pitanja o tjelesnoj aktivnosti (Wolf i sur., 1994). U ovom je dijelu upitnika ispitanicama bilo ponuđeno nekoliko vrsta tjelesnih aktivnosti (šetnja, jogging, tenis itd.), u okviru kojih su ispitanice morale ispuniti koliko se sati prosječno tjedno i dnevno bave svakom od ponuđenih aktivnosti. U trećem su dijelu upitnika bila pitanja kojima se provjeravalo znanje medicinskih sestara o prehrani (Park i sur., 2011). Četvrti dio upitnika sastavljen je od nekolicine tvrdnji čiji je cilj bio ispitati percepciju medicinskih sestara o vlastitoj ulozi ali i znanju (Martin i sur., 2014). Peti dio upitnika je bio upitnik o učestalosti konzumacije hrane (engl. Food frequency questionnaire), koji je u semi-kvantitativnom obliku sadržavao 50 namirnica. Za procjenu kvalitete prehrane utemeljene na učestalosti konzumacije pojedine hrane upotrijebljen je Indeks mediteranske prehrane prema jedinicama serviranja (engl. Mediterranean Diet Serving Score (MDSS)) (Kolčić i sur., 2016).

Kako je prema MDSS-u preporučeno, sve ponuđene namirnice razvrstane su u 14 kategorija: voće, povrće, žitarice, krumpir, maslinovo ulje, orašasti plodovi, mlijeko i mliječni proizvodi, grah, jaja, riba, bijelo meso, crveno meso, slatko te vino ili pivo. Za dnevnu konzumaciju maslinovog ulja, voća, povrća i žitarica dodjeljivalo se tri boda. U upitniku je navedeno nekoliko vrsta povrća pa se ispitanicama koje su prijavile dnevnu konzumaciju najmanje dvije vrste povrća dodjeljivalo 3 boda. Za dnevnu konzumaciju mlijeka, mliječnih proizvoda i orašastih plodova dodjeljivala su se dva boda. Konzumacija namirnica iz preostalih 8 kategorija bodovala se sa po jednim bodom. U slučaju da je prehrambeni unos za krumpir (≤ 3 serviranja tjedno), leguminoze (≥ 2 serviranja tjedno), jaja (2-4 serviranja tjedno), ribu (≥ 2 serviranja tjedno), bijelo meso (2 serviranja tjedno), crveno meso (< 2 serviranja tjedno), slatko (≤ 2 serviranja tjedno) i alkoholna pića (čša vina dnevno za žene, 2 čše vina dnevno za muškarce) prelazio preporučene količine dodjeljivalo se nula bodova. Nula bodova je bilo dodjeljivano i za ostale kategorije ako je unos bio manji od preporučenog.

Sve sudionice su dale pisanu suglasnost za sudjelovanje u istraživanju a provedbu istraživanja je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Rijeka i Fakulteta zdravstvenih studija, Sveučilišta u Rijeci. Istraživanje je provedeno u razdoblju od svibnja do kolovoza 2017. godine.

Statistička obrada podataka provedena je pomoću statističkog programa Statistica 13.2 (Dell Statistica software system ver. 13.2, Dell Inc., Round Rock, Texas, SAD, 2016). Kategorijske varijable prikazane su kao brojevi i udjeli izraženi u postocima, dok su numeričke varijable prikazane kao srednje vrijednosti i standardne devijacije (SD). Razina statističke značajnosti postavljena je na $p < 0,05$.

REZULTATI I RASPRAVA

U okviru rada, na uzorku od 203 bolničke medicinske sestre zaposlene u KBC Rijeka, procijenjena je kvaliteta njihove prehrane temeljem stupnja pripadnosti modelu mediteranske prehrane. Iako inicijalno ciljane skupina nisu bile samo žene, budući da je sudjelovanje u istraživanju bilo dobrovoljno, niti jedan muški medicinski tehničar se nije odazvao istraživanju. Taj podatak je i očekivan budući da je udio muškog osoblja na poslovima ovakve vrste u KBC-u Rijeka relativno nizak (<10 %). Kvaliteta prehrane i stupanj uhranjenosti procijenjeni su u ovisnosti o stupnju obrazovanja i godinama radnog iskustva budući da je pokazano da dugotrajni smjenski rad negativno utječe na kvalitetu prehrane (Wong i sur., 2010; Gifkins i sur., 2018). Struktura ispitanica prikazana je u Tablici 1.

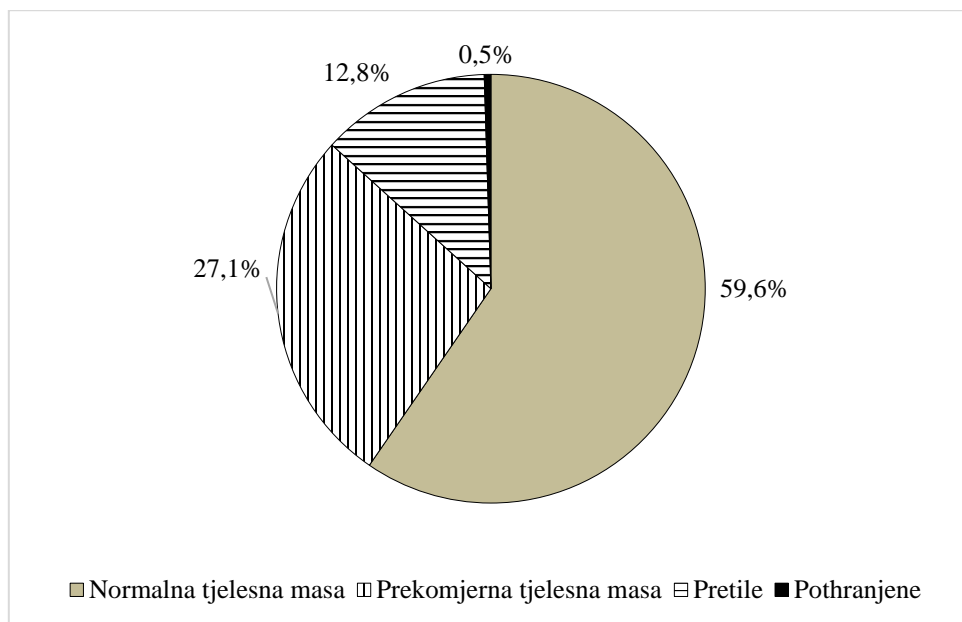
Prosječna dob ispitanica bila je $41,27 \pm 10,99$ godina. Najmlađa ispitanica imala je 18, a najstarija 61 godinu. Najveći udio ispitanica ima srednjoškolsko obrazovanje (52 %). Čak 73 % ispitanica ima više od 11 godina radnog iskustva, dok tek 3 % ispitanica imaju manje od 1 godine radnog iskustva.

Prosječan Indeks tjelesne mase ispitanica iznosio je $25,09 \pm 4,48$ kg/m², pri čemu je 55 ispitanica bilo prekomjerno uhranjeno a 26 ih je bilo pretilo (Slika 1).

Tablica 1. Struktura ispitanica (n=203)

Table 1. Structure of respondents (n=203)

Značajke	n (%)
Spol	
Žene	203 (100)
Dob (godine)	
18-30	35 (17,24)
31-40	61 (30,04)
41-50	62 (30,54)
> 51	45 (22,17)
Stupanj obrazovanja	
Srednja škola	105 (51,73)
Preddiplomski studij	77 (37,93)
Diplomski studij	21 (10,34)
Radno iskustvo (godine)	
< 1	6 (2,96)
1-5	15 (7,39)
6-10	34 (16,75)
≥ 11	148 (72,90)



Slika 1. Distribucija ispitanica prema stupnju uhranjenosti (n=203)

Figure 1. Distribution of respondents by body weight (n=203)

Udio od 40 % medicinskih sestara koje imaju prekomjernu tjelesnu masu ili su pretile je nešto manji u usporedbi sa rezultatima sličnih studija. Učestalost prekomjerne tjelesne mase i pretilosti je viša (od 50-70 %) u recentnim podacima o medicinskim sestrama u Škotskoj (Albert i sur., 2014) ili SAD-u (Kyle i sur., 2016). Zhao i Turner (2008) su u svom pregledom radu potvrdili da osobe koje rade u smjenama imaju znatno lošiju kvalitetu prehrane i posljedično veći indeks tjelesne mase.

Indeks tjelesne mase ispitanica nije se statistički značajno mijenjao ovisno o stupnju edukacije ali je bio ovisan o godinama radnog iskustva ($p=0,024$). Ispitanice s najviše radnog iskustva (≥ 11 godina) imale su značajno veći ITM u odnosu na ispitanice s manje radnog iskustva (< 5 godina) te su jedine kategorizirane kao preuhranjene (Tablica 2). Važnost adekvatne tjelesne mase medicinskih sestara potvrdilo je istraživanje Hicks i suradnika (2008) koji su zaključili da ispitanici nisu imali povjerenja u savjete vezane uz prehranu koje su dobili od medicinskih sestara sa prekomjernom tjelesnom masom.

Kvaliteta prehrane ispitanica procijenjena je stupnjem pripadnosti mediteranskoj prehrani koja se još uvijek smatra „zlatnim standardom“ pravilne prehrane, a i obzirom da su ispitanice sa područja Rijeke i Kvarnera, očekivano je da bi trebale u određenoj mjeri primjenjivati ovaj prehrambeni obrazac. Mediteransku prehranu karakterizira visoki unos cjelovitih žitarica, voća, povrća, leguminoza, orašastih plodova i maslinovog ulja, zahvaljujući kojima ima brojna blagotvorna djelovanja na zdravlje, posebice na pretilost, bolesti srca i krvnih žila, dijabetes tipa 2, metabolički sindrom i neke oblike karcinoma (Sofi i sur., 2010).

Tablica 2. Indeks tjelesne mase (ITM) u ovisnosti o značajkama ispitanica (n=203)
Table 2. The body mass index (BMI) in dependence on the characteristics of respondents (n=203)

Značajke	ITM (srednja vrijednost ± SD)	P
Stupanj obrazovanja		
Srednja škola	25,63 ± 4,96	
Preddiplomski studij	24,35 ± 3,98	0,163
Diplomski studij	25,08 ± 3,27	
Radno iskustvo (godine)		
< 1	21,75 ± 1,88 ^b	
1-5	22,73 ± 2,28 ^b	
6-10	24,71 ± 3,68 ^{ab}	0,024
≥ 11	25,55 ± 4,76 ^a	

Vrijednosti označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju.

Indeks mediteranske prehrane prema jedinicama serviranja (MDSS, engl. *Mediterranean Diet Serving Score*) je instrument usklađen sa novom piramidom mediteranske prehrane (Bach-Faig i sur., 2011). Ovaj instrument ima nekoliko specifičnosti: a) klasificira učestalost konzumacije u serviranjima po obroku, danu ili tjednu; b) preporuka za maslinovo ulje je promijenjena na jedno serviranje po obroku; c) preporuka za krumpir je smanjena na ≤ 3 puta tjedno. Dodatno, predloženi indeks uključuje gornje i donje granice preporučenih količina i time penalizira svakoga tko ima unos manji ili veći od preporuka.

Najveći mogući ukupni zbroj za MDSS je 24. Za ispitanice koje su imale vrijednost MDSS veći ili jednak 14, smatralo se da se njihov prehrambeni obrazac može opisati kao pripadanje mediteranskoj prehrani, dok se vrijednost manja od 14 klasificirala kao nepripadnost mediteranskoj prehrani (Monteagudo i sur., 2015).

Prosječna vrijednost MDSS indeksa iznosi svega 8,58±3,81 što označava vrlo slabu pripadnost modelu mediteranske prehrane. Za svega 10,83 % ispitanica (njih 22) može se reći da im je prehrana u skladu sa preporukama mediteranske prehrane, iako njihova prosječna vrijednost ostvarenog MDSS indeksa iznosi svega 15,35±1,40. U usporedbi s ispitanicima čija prehrana nije u skladu s preporukama mediteranske prehrane, ove ispitanice su konzumirale značajno više: voća, povrća, žitarica, maslinovog ulja, mlijeka i mliječnih proizvoda te riba. Studije pokazuju da iako je na području Mediterana pripadnost ovom modelu prehrane veća nego među našim ispitanicama (oko 50 %) i dalje je taj broj nedostatan uz trend konstantnog smanjenja (Tur i sur., 2004; Mariscal-Arcas, i sur., 2010).

Tablica 3. Kvaliteta prehrane ispitanica procijenjena elementima MDSS indeksa (srednja vrijednost \pm SD) na temelju kriterija pripadnosti mediteranskoj prehrani (n=203)

Table 3. Respondents' nutritional quality assessed by MDSS index elements (mean \pm SD) based on Mediterranean diet criteria (n=203)

Skupina namirnica	Pripadnost mediteranskoj prehrani (n=22)	Nepripadnost mediteranskoj prehrani (n=181)	Prosječna vrijednost	P
Voće	1,70 \pm 1,52	0,30 \pm 0,90	0,46 \pm 1,08	<0,001
Povrće	2,22 \pm 1,35	0,58 \pm 1,19	0,77 \pm 1,31	<0,001
Žitarice	2,61 \pm 1,23	1,08 \pm 1,44	1,26 \pm 1,48	<0,001
Krumpir	0,78 \pm 0,42	0,81 \pm 0,40	0,80 \pm 0,40	0,707
Maslinovo ulje	2,48 \pm 1,16	1,02 \pm 1,42	1,18 \pm 1,47	<0,001
Orašasti plodovi	0,03 \pm 0,26	0,61 \pm 0,04	0,10 \pm 0,43	<0,001
Mlijeko i mliječni proizvodi	0,46 \pm 0,84	0,06 \pm 1,02	0,51 \pm 0,88	0,009
Grah	0,61 \pm 0,29	0,74 \pm 0,45	0,63 \pm 0,49	0,234
Jaja	0,61 \pm 0,47	0,48 \pm 0,51	0,60 \pm 0,49	0,223
Riba	0,73 \pm 0,44	0,11 \pm 0,04	0,56 \pm 0,43	0,004
Bijelo meso	0,83 \pm 0,78	0,78 \pm 0,42	0,82 \pm 0,38	0,596
Crveno meso	0,41 \pm 0,49	0,65 \pm 0,42	0,44 \pm 0,50	0,028
Slatko (kolači, bomboni i sl.)	0,16 \pm 1,00	0,22 \pm 1,00	0,22 \pm 0,42	0,635
Vino/pivo	0,02 \pm 0,15	0,09 \pm 0,29	0,03 \pm 0,17	0,083
UKUPNO	15,35\pm1,40	7,71\pm3,08	8,58 \pm 3,81	0,029

Ispitanice su u prosjeku najbolje ocijenjene za unos (redosljedom): žitarica, maslinovog ulja, bijelog mesa, krumpira, povrća, graha, jaja, ribe, mlijeka, voća, crvenog mesa, slatkiša, orašastih plodova i naposljetku alkoholnih pića poput vina ili piva (Tablica 3). U Tablici 4 prikazana je procjena kvalitete prehrane ispitanica u ovisnosti o njihovim značajkama.

Ispitanice sa završenim diplomskim studijem imale su bolju kvalitetu prehrane (MDSS=9,33±3,75) u odnosu na ispitanice sa srednjom školom i preddiplomskim studijem. Ispitanice koje imaju više od 11 godina radnog iskustva imaju lošiju kvalitetu prehrane (8,68±3,92) u odnosu na ispitanice s 1 do 5 godina iskustva, a osim toga one čine više od 70 % ispitanika te imaju i veći ITM. Utjecaj ispitivanih čimbenika nije statistički značajan (Tablica 3). Istraživanja provedena u Hrvatskoj pokazala su također da ispitanici koji žive u područjima koja geografski pripadaju onima gdje se može očekivati mediteranski tip prehrane (priobalje i otoci) imaju prehrabene navike koje se ne mogu okarakterizirati kao pripadnost modelu mediteranske prehrane (Doko Jelinić i sur., 2009; Kolčić i sur., 2016).

Tablica 4. Procjena kvalitete prehrane ispitanica prema MDSS bodovima u ovisnosti o njihovim značajkama (n=203)

Table 4. Assessment of the nutritional quality of the respondents according to MDSS points depending on their characteristics (n=203)

Značajke	Kvaliteta prehrane (srednja vrijednost ± SD)	p
Dob (godine)		
18-30	8,74±4,10	0,374
31-40	7,87±3,74	
41-50	9,00±3,87	
> 51	8,82±3,57	
Stupanj obrazovanja		
Srednja škola	8,58±3,75	0,588
Preddiplomski studij	8,36±3,92	
Diplomski studij	9,33±3,75	
Radno iskustvo (godine)		
< 1	8,17±5,74	0,733
1-5	9,07±3,53	
6-10	7,97±3,05	
≥ 11	8,68±3,92	
Stupanj uhranjenosti		
Pothranjene	13,00±0,00	0,520
Normalno uhranjene	8,37±4,03	
Prekomjerno uhranjene	8,96±3,32	
Pretile	8,69±3,70	

Raspodjela ispitanica u ovisnosti o njihovim značajkama s obzirom na to pripadaju li ili ne modelu mediteranske prehrane prikazana je u Tablici 5.

Tablica 5. Raspodjela ispitanica po pripadnosti mediteranskoj prehrani (srednja vrijednost \pm SD) u ovisnosti o njihovim značajkama (n=203)

Table 5. Distribution of respondents by Mediterranean diet (mean \pm SD) according to their characteristics (n=203)

Značajke	Pripadnost mediteranskoj prehrani (n=22) n (%)	Nepripadnost mediteranskoj prehrani (n=181) n (%)	P
Dob (godine)			
18-30	5 (22,73)	30 (16,57)	0,361
31-40	3 (13,64)	58 (32,04)	
41-50	8 (36,36)	54 (29,83)	
> 51	6 (27,27)	39 (21,55)	
Stupanj obrazovanja			
Srednja škola	10 (45,45)	95 (52,49)	0,743
Preddiplomski studij	10 (45,45)	67 (37,01)	
Diplomski studij	2 (9,09)	19 (10,50)	
Radno iskustvo (godine)			
< 1	1 (4,55)	5 (2,76)	0,656
1-5	1 (4,55)	14 (7,73)	
6-10	2 (9,09)	32 (17,68)	
\geq 11	18 (81,82)	130 (71,82)	
Stupanj uhranjenosti			
Pothranjene	0	1 (0,55)	0,754
Normalno uhranjene	15 (68,18)	105 (58,01)	
Prekomjerno uhranjene	4 (18,18)	51 (28,18)	
Pretila	3 (13,64)	23 (12,71)	

Bonaccio i sur. (2013) proučavali su promjene pripadnosti obrascu mediteranske prehrane s vremenom, te uočili da se pripadnost mediteranskoj prehrani drastično smanjila u razdoblju od 2007. do 2010. godine, posebice među starijom populacijom. Kao glavni uzrok tog negativnog trenda istakli su nastupanje ekonomske krize diljem svijeta. Ipak, u jednom od istraživanja došlo se do zaključka da se ta nekadašnja teorija danas manje odnosi na populaciju koja živi na otocima, barem u pogledu srčano-žilnih oboljenja (Kolčić i sur., 2009).

Slično našim rezultatima, nekoliko radova je nedavno potvrdilo nepravilne prehrabene navike i neodgovarajuću kvalitetu prehrane bolničkih medicinskih

sestara (Han i sur., 2016; Varli i Bilici, 2016). Na uzorku bolničkih medicinskih sestara u Koreji potvrđeno je da se starenjem prehrambene navike poboljšavaju (Youn i sur., 2003). Suprotno rezultatima ovog istraživanja, Chen i suradnici (2015) su utvrdili da prekomjerno uhranjene medicinske sestre imaju bolje prehrambene navike od normalno uhranjenih.

Iako preliminarno, ovo istraživanje je prema našim saznanjima prvo u Hrvatskoj, ima i stanovita ograničenja. Prvenstveno se ona odnose na malu veličinu i nereprezentativnost uzorka zbog organizacijskih razloga i relativno kratkog raspoloživog vremena. U budućnosti, istraživanje može obuhvatiti više gradova, medicinske sestre u primarnoj zdravstvenoj zaštiti kao i one zaposlene u privatnim bolnicama.

ZAKLJUČAK

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da prehrana ispitanih medicinskih sestara nije usklađena s modelom mediteranske prehrane budući je gotovo 90 % ispitanica imalo vrijednost MDSS indeksa manju od 14. Iako nije pokazana statistički značajna povezanost kvalitete prehrane i stupnja edukacije, nužna je kontinuirana edukacija medicinskih sestara o pravilnim prehrambenim i životnim navikama kako bi unaprijedile svoju prehranu te što vjerodostojnije svojim primjerom doprinosile dobrobiti pacijenata, tim više što je čak trećina ispitanica u ovom istraživanju imala prekomjernu tjelesnu masu.

LITERATURA

- Albert, N.M., Butler, R., Sorrell, J. (2014): Factors related to healthy diet and physical activity in hospital-based clinical nurses, *Online J. Issues Nurs.* 19 (3), 5.
- Bach-Faig, A., Berry, E.M., Lairon, D., Reguant, J., Trichopoulou, A., Dernini, S. i sur. (2011): Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates, *Public Health Nutr.* 14, 2274-2284.
- Bakre, A.T., Akodu, A.K., Akodu, B.A. (2012) Examining the Nutritional Knowledge of Nurses: A Theoretical Perspective, *J. Public Health Epidemiol.* 3, 105-109.
- Bjerrum, M., Tewes, M., Pedersen, P. (2011): Nurses' self-reported knowledge about and attitude to nutrition – Before and after a training programme, *Scand. J. Caring. Sci.* 26, 81-89.
- Bonaccio, M., Di Castelnuovo, A., Costanzo, S., De Lucia, F., Olivieri, M., Donati, M. B., de Gaetano, G., Iacoviello, L., Bonanni, A. (2013): Nutrition Knowledge Is Associated with
- Higher Adherence to Mediterranean Diet and Lower Prevalence of Obesity. Results from the Moli-Sani Study, *Appetite* 68, 139-146.

- Brown, I., Thompson, J. (2007): Primary care nurses' attitudes, beliefs, and own body size in relation to obesity management, *J. Adv. Nurs.* 60, 535-543.
- Chen, Y. H., Lee, C. H., Hsiao, S. H., Lin, P. L., Tseng, C. C., Yang, T. (2015): Studies of Relationships on Nutrition Knowledge, Nutrition Attitude, and Dietary Behaviors of Staff Nurses, *Sch. J. App. Med. Sci.* 3 (6B), 2289-2298.
- Doko Jelinić, J., Pucarín-Cvetković, J., Nola, I. A., Senta, A., Milošević, M., Kern, J. (2009): Regional Differences in Dietary Habits of Adult Croatian Population, *Coll. Antropol.* 33, 31-34.
- Gifkins, J., Johnston, A., Loudoun, R. (2018): The impact of shift work on eating patterns and self-care strategies utilised by experienced and inexperienced nurses, *Chronobiology Int.* 35 (6), 811-820.
- Han, K., Choi-Kwon, S., Kim, K.S. (2016): Poor dietary behaviors among hospital nurses in Seoul, South Korea, *Appl. Nurs Res.* 30, 38-44.
- Hicks, M., McDermott, L.L., Rouhana, N., Schmidt, M., Seymour, M.W., & Sullivan, T. (2008): Nurses' body size and public confidence in ability to provide health education, *J. Nurs. Scholarsh.* 40 (4), 349-354.
- Kičić, M. (2014): E-Zdravlje - Savjetodavna Uloga Medicinskih Sestara, *Acta Med. Croatica* 68, 65-69.
- Kolčić, I., Biloglav, Z., Zgaga, L., Vorko Jović, A., Curić, I., Curić, S., Sušac, J., Velagić, V., Matec, L., Zobić, I., Žedelj, J., Strnad, M. (2009): Prevalence of Increased Body Weight and Hypertension in the Population of Croatian Mainland and Adriatic Islands – Are Islanders Really Healthier? *Coll. Antropol.* 33 (1), 135–140.
- Kolčić, I., Relja, A., Gelemanović, A., Miljković, A., Boban, K., Hayward, C., Rudan, I., Polašek, O. (2016) Mediterranean Diet in the Souther Croatia - Does It Still Exist? *Croat. Med.J.* 57, 415–424
- Kyle, R.G., Neall, R.A., Atherton, I.M. (2016): Prevalence of overweight and obesity among nurses in Scotland: A cross-sectional study using the Scottish Health Survey, *Int. J. Nurs. Stud.* 53, 126-133.
- Lambert, V.A., Lambert, C.E. (2008): Nurses' Workplace Stressors and Coping Strategies., *Indian J. Palliat. Care* 14 (1), 38-44.
- Malik, S., Blake, H., Batt, M. (2011): How healthy are our nurses? New and registered nurses compared, *Br. J. Nurs.* 20, 489-496.
- Mariscal-Arcas, M., Velasco, J., Monteagudo, C., Caballero-Plasencia, M.A., Lorenzo-Tovar, M.L., OleaSerrano, F. (2010): Comparison of methods to evaluate the quality of the Mediterranean diet in a large representative sample of young people in Southern Spain, *Nutr. Hosp.* 25, 1006-1013.

- Martin, L., Leveritt, M.D., Desbrow, B., Ball, L.E. (2014): The Self-Perceived Knowledge, Skills and Attitudes of Australian Practice Nurses in Providing Nutrition Care to Patients with Chronic Disease, *Family Practice* 31, 201-208.
- Monteagudo, C., Mariscal-Arcas, M., Rivas, A., Lorenzo-Tovar, M.L, Tur, J.A., Olea-Serrano F. (2015): Proposal of a Mediterranean Diet Serving Score. *PLoS ONE* 10, e0128594.
- Park, K.A., Cho, W.I., Song, K.J., Lee, Y.S., Sung, I.S., Choi-Kwon, S.M. (2011): Assessment of Nurses' Nutritional Knowledge Regarding Therapeutic Diet Regimens, *Nurse Educ. Today*, 31, 192-197.
- Phiri, L.P., Draper, C.E., Lambert, E.V., Kolbe-Alexander, T.L. (2014): Nurses' lifestyle behaviors, health priorities and barriers to living a healthy lifestyle: A qualitative descriptive study, *BMC Nurs.* 13, 38.
- Sofi, F., Abbate, R., Gensini, G.F., Casini, A. (2010): Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis, *Am. J. Clin. Nutr.* 92, 1189-1196.
- Tur, J.A., Romaguera, D., Pons, A. (2004): Adherence to the Mediterranean dietary pattern among the population of the Balearic Islands, *Br. J. Nutr.* 92, 341-346.
- Varli, S.N., Bilici, S. (2016): The nutritional status of nurses working shifts: A pilot study in Turkey, *Rev. Nutr. Campinas* 29, 589-596.
- Wolf, A.M., Hunter, D.J., Colditz, G.A., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Corsano, K.A., Rosner, B., Kriska, A., Willett, W., Colditz, H., Manson, G., Stampfer, J., Rosner, C., Willett, K. (1994) Reproducibility and Validity of a Self-Administered Physical Activity Questionnaire. *Int. J. Epidemiol.* 23, 991-999.
- Wong, H., Wong, M.C., Wong, S.Y., Lee, A. (2010): The association between shift duty and abnormal eating behavior among nurses working in a major hospital: a cross-sectional study, *Int. J. Nurs. Stud.* 47 (8), 1021-1027.
- Youn, H. S., Choi, Y. Y., Lee, K. H. (2003): Evaluation of Nutritions Knowledge, Dietary Attitudes and Nutrient Intakes of Nurses Working in Kyungnam Area, *Korean J. Nutr.* 36 (3), 306-318.
- Zhao, I., Turner, C. (2008): The impact of shift work on people's daily health habits and adverse health outcomes. *Aust. J. Adv. Nurs.* 25, 8-22.

ODRŽIVOST KONZUMACIJE HRANE U HRVATSKOJ PROCIJENJENA VODENIM OTISKOM

SUSTAINABILITY OF FOOD CONSUMPTION IN CROATIA ESTIMATED WITH THE WATER FOOTPRINT

Karla Ferk, Matko Grujić, Greta Krešić*

Sveučilište u Rijeci, Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu,

Primorska 42, 51410 Opatija, Hrvatska

**greta.kresic@fthm.hr*

stručni rad / professional paper

SAŽETAK

Suvremeni način prehrane postao je neodrživ kako u zdravstvenom tako i u ekološkom smislu. Sedamdeset posto pitke vode troši se u poljoprivredi, a rast populacije i zagađenje okoliša mogli bi uskoro dovesti do njenog nedostatka. Cilj ovog rada bio je procijeniti vodeni otisak potrošnje hrane kućanstva u Republici Hrvatskoj. Podaci o prosječnoj potrošnji hrane po članu kućanstva dobiveni su iz ankete o potrošnji kućanstva Državnog zavoda za statistiku, a izračun vodenog otiska pojedinih namirnica korišteni su podaci iz baza dostupnih na platformi Water Footprint Network. Prosječna osoba u Hrvatskoj samo unosom hrane potroši više od 1.218.527,3 L vode godišnje, odnosno 3.338,4 L dnevno. Najveće vodene otiske imaju skupine meso i proizvodi od mesa (39,9 %), kruh i žitarice (14,1 %), te mlijeko, sir i jaja (13,7 %), dok je utjecaj voća i povrća zastupljen u manjem udjelu (9,8 %). Istraživanje je potvrdilo da u Hrvatskoj, kao i u ostalim zapadnim zemljama, visoka konzumacija mesa i proizvoda životinjskog podrijetla zauzima veliki udio u vodenom otisku prehrane. Smanjenjem njihovog unosa osigurala bi se veća održivost prehrane u smislu potrošnje vode, ali i održanja zdravlja u nadolazećem periodu nesigurnosti globalnog prehrambenog sustava.

Ključne riječi: konzumacija hrane, Hrvatska, održivost, vodeni otisak

Keywords: food consumption, Croatia, sustainability, water footprint

UVOD

U zadnjih nekoliko desetljeća populacija na Zemlji se utrostručila, povećavši se sa 2.5 milijardi iz 1950. na trenutnih 7.8 milijardi ljudi. Vjeruje se da bi taj broj mogao dosegnuti 9.8 milijardi do 2050. godine ukoliko se trendovi rasta nastave istim intenzitetom (UN, 2017). Ta situacija dovodi u pitanje dostatnost resursa koji su ograničeni i ukazuje na potrebu za održivim raspolaganjem ne bi li bile zadovoljene potrebe sadašnjih i budućih generacija. Sve se učestalije javlja nestašica pitke vode u mnogim dijelovima svijeta čemu, osim rasta populacije, doprinose i zagađenje te

konvencionalna poljoprivreda. Dodatnom pogoršanju tog problema pridonose i klimatske promjene te globalno zatopljenje, i to svojim uplitanjem u ciklus kruženja vode u prirodi (FAO, 2012). Procjenjuje se da se 70 % pitke vode dobivene iz rijeka i jezera troši u poljoprivredne svrhe (FAO, 2011), a u nekim dijelovima svijeta taj se udio penje i do 80-90 % (FAO, 2017). Globalno gledano, gotovo jedna trećina vode utrošene u primarnoj poljoprivrednoj proizvodnji pripisuje se uzgoju životinja za prehranu ljudi, pri čemu se najviše vode troši za proizvodnju krmiva i održavanje pašnjaka (Mekonnen i Hoekstra, 2010). Barilla centar za hranu i prehranu (engl. *Barilla Center for Food and Nutrition*) je pregledom dostupne literature potrošnju vode za proizvodnju hrane prikazao u obrnutoj piramidi: na vrhu, koji je najširi, prikazane su namirnice za čiju je proizvodnju po kilogramu potrebno najviše vode, a piramida se sužuje za namirnice za čiju proizvodnju je potrebno manje vode. . Po jednom kilogramu, odnosno litri proizvoda, najviše se vode troši za govedinu (18.000 L), slijede malinovo ulje (9.650 L), svinjetinu (9.060 L) i sir (6.260 L), a najmanje za povrće (335 L), krumpir (555 L), pahuljice za doručak (920 L) i voće (930 L) (BCFN, 2016). U obrnutoj se piramidi može uočiti da namirnice koje se prema piramidi pravilne prehrane preporučuje konzumirati češće, zahtijevaju i manje vode za proizvodnju, čime se želi ukazati da postoji povezanost između dobrobiti Zemlje i zdravlja ljudi. Nažalost, danas je sve više zastupljen tzv. zapadnjački model prehrane koji obiluje proizvodima životinjskog podrijetla, mastima, šećerima i rafiniranim ugljikohidratima. Osim toga, niska je zastupljenost voća, povrća, mahunarki i proizvoda od punog zrna žitarica, a sve to vodi ka lošem nutritivnom statusu, pretilosti i posljedičnim zdravstvenim komplikacijama (Popkin i sur., 2012). Takav je način prehrane dugoročno neodrživ, ne samo sa aspekta zdravlja, već i sa aspekta potrošnje vode. Budući da je prehrane prepoznata kao jedan od važnih čimbenika utroška vode, cilj ovog rada procijeniti potrošnju vode kao rezultat konzumacije hrane i pića prosječnog člana kućanstva u Republici Hrvatskoj. Prema našim saznanjima ovo je prvo istraživanje ovakve vrste u Republici Hrvatskoj.

METODE

Prosjek konzumirane hrane i pića po članu kućanstva preuzet je iz rezultata nacionalne ankete o potrošnji kućanstva (engl. *Household budget survey*) koju je proveo Državni zavod za statistiku 2014. godine. Anketa je provedena na slučajno odabranom uzorku privatnih kućanstava, a okvir za odabir uzorka su predstavljali podaci iz popisa stanovništva iz 2011. godine. Tijekom 2014. godinu anketirano je 2029 kućanstava, a podaci o potrošnji hrane prikupljeni su putem dnevnika u trajanju od dva tjedna. Podaci o utrošenoj hrani i piću obuhvaćaju kupljene proizvode, hranu i piće iz vlastite proizvodnje, te hranu i piće koje je kućanstvu poklonjeno. Nisu uzeti u obzir hrana i piće konzumirani u ugostiteljskim objektima (restorani, kavane, hoteli, kantine, zalogajnice, dostava hrane) (Državni zavod za statistiku, 2016).

Vodeni otisci pojedinih namirnica preuzeti su iz radova dostupnih na platformi Water Footprint Network-a (www.waterfootprint.org). Glavni izvori su radovi

autora Mekonnen i Hoekstra o vodenom otisku poljoprivrednih kultura (2011) i životinjskih proizvoda (2012), a kao nadopuna za neke od nedostajućih podataka poslužili su radovi Ercin i sur. (2011) te Jefferies i sur. (2012).

Vodeni otisak je indikator utroška slatke vode za proizvodnju određenog proizvoda kroz njegov životni ciklus. Sastoji od 3 komponente: zelenog, plavog i sivog vodenog otiska. Zeleni vodeni otisak obuhvaća vodu kišnicu i vlagu u zemlji, plavi vodeni otisak obuhvaća površinsku i podzemnu vodu, a sivi vodeni otisak se odnosi na količinu vode potrebne za asimilaciju zagađivača i otpadnih tvari uzimajući u obzir kvalitetu vode i koncentraciju prirodno prisutnih tvari u vodi. Vodeni otisak izražava potrošnju L ili m³ vode za proizvodnju 1 kg ili 1 t određenog prehrambenog proizvoda (Mekonnen i Hoekstra, 2011). Podaci su obrađeni pomoću Microsoft excel 2013 računalnog programa.

REZULTATI I RASPRAVA

Konzumacija pojedinih namirnica na godišnjoj bazi, te odgovarajući vodeni otisak po skupini hane, prikazani su u Tablici 1. Prosječna osoba u Hrvatskoj unosom hrane i pića potroši više od 1.218.527,3 L vode godišnje, odnosno 3.338,4 L dnevno.

Tablica 1. Prehrambeni proizvodi i pića utrošeni u kućanstvima, prosjek po članu kućanstva u 2014. (Državni zavod za statistiku, 2016) i vodeni otisak po skupinama hrane (I. dio)

Table 1. Foods and beverages consumed in households, average per household member in 2014 (Central Bureau of Statistics, 2016) and water footprint by food groups (I. part)

Skupina hrane	Namirnice	Mjerna jedinica	Količina	Vodeni otisak (L)
Kruh i žitarice	Riža	kg	4,4	171.540,3
	Brašno	kg	20,9	
	Kruh i pecivo	kg	61,3	
	Ostali pekarski proizvodi	kg	7,8	
	Tjestenina	kg	7,8	
Meso	Govedina, teletina	kg	7,4	486.100,6
	Svinjetina	kg	15,3	
	Janjetina, jaretina	kg	0,9	
	Meso peradi	kg	18,5	
	Ostalo meso (divljač, konjetina)	kg	0,3	
	Jestive iznutrice	kg	0,7	
	Sušeno, soljeno i dimljeno meso	kg	14,7	
	Ostali pripravci od mesa (mljeveno meso, paštete)	kg	5,6	
Riba i plodovi mora	Morska i slatkovodna riba	kg	6,1*	
	Plodovi mora	kg	0,7*	
	Konzervirana i prerađena riba	kg	0,8*	

*Vrijednosti nisu uzete u izračun zbog nedostatka podataka o vodenom otisku

Tablica 1. Prehrambeni proizvodi i pića utrošeni u kućanstvima, prosjek po članu kućanstva u 2014. (Državni zavod za statistiku, 2016) i vodeni otisak po skupinama hrane (II. dio)

Table 1. Foods and beverages consumed in households, average per household member in 2014 (Central Bureau of Statistics, 2016) and water footprint by food groups (II. part)

Skupina hrane	Namirnice	Mjerna jedinica	Količina	Vodeni otisak (L)
Mlijeko, sir, jaja	Mlijeko	L	66,2	166.535,0
	Mliječni proizvodi	L	17,4	
	Sirevi svih vrsta	kg	8,2	
	Jaja	kom (kg)	152 (11,4)	
Ulja i masnoće	Maslac	kg	0,7	103.912,2
	Margarin i ostale biljne masti	kg	1,8	
	Maslinovo ulje	L	1,4	
	Ostala jestiva ulja	L	11,5	
	Ostale životinjske masti	kg	1,0	
Voće	Južno voće	kg	13,7	62.054,6
	Banane	kg	9,4	
	Jabuke	kg	14,4	
	Kruške	kg	1,5	
	Košunjicavo voće	kg	4,0	
	Bobičasto voće	kg	2,3	
	Ostalo voće	kg	7,3	
	Zamrznuto voće	kg	0,2	
	Sušeno voće i orašasti plodovi	kg	1,7	
	Konzervirano i prerađeno voće	kg	0,3	
Povrće	Lisnato povrće	kg	10,7	57.106,1
	Zeljasto povrće	kg	9,3	
	Plodovito povrće	kg	17,6	
	Korjenasto povrće	kg	15,4	
	Jestive gljive	kg	0,9*	
	Smrznuto povrće, osim krumpira	kg	2,0	
	Suho povrće	kg	3,2	
	Konzervirano i prerađeno povrće	kg	7,7	
	Krumpir, svježi i smrznuti	kg	36,9	

*Vrijednosti nisu uzete u izračun zbog nedostatka podataka o vodenom otisku

Tablica 1. Prehrambeni proizvodi i pića utrošeni u kućanstvima, prosjek po članu kućanstva u 2014. (Državni zavod za statistiku, 2016) i vodeni otisak po skupinama hrane (III. dio)

Table 1. Foods and beverages consumed in households, average per household member in 2014 (Central Bureau of Statistics, 2016) and water footprint by food groups (III. part)

Skupina hrane	Namirnice	Mjerna jedinica	Količina	Vodeni otisak (L)
	Šećer	kg	10,7	
Šećer, džem, med, čokolada, konditorski proizvodi	Džem, marmelade	kg	1,3	48.355,5
	Med	kg	1,0*	
	Čokolada	kg	2,2	
	Konditorski proizvodi	kg	1,0*	
	Sladoled	L	2,5*	
Ostali prehrambeni proizvodi	Ocat	L	1,9*	15.785,7
	Sol	kg	3,3*	
	Začini	kg	1,4	
	Umaci (senf, majoneza, kečap)	kg	2,5	
Bezalkoholna pića	Kava	kg	3,5	94.668,5
	Čaj	kg	0,3	
	Kakao	kg	0,3	
	Mineralna ili izvorska voda	L	26,5*	
	Osvježavajuća gazirana pića	L	14,0	
	Voćni sokovi	L	10,3	
	Sirup za pripremu napitaka	L	3,2	
	Koncentrati za pripremu napitaka	kg	0,7	
Alkoholna pića	Žestoka pića	kg	0,5*	12.469,8
	Vino	kg	9,0	
	Pivo	kg	15,6	
Ukupno				1.218.527,3

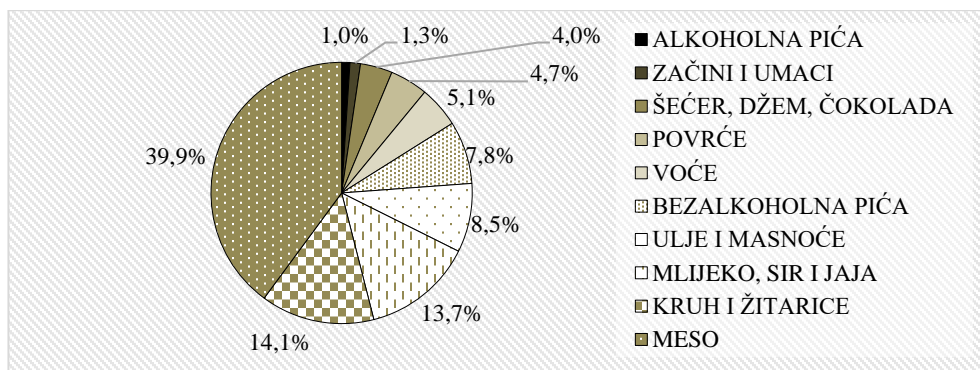
*Vrijednosti nisu uzete u izračun zbog nedostatka podataka o vodenom otisku

Capone i sur. (2013) su izračunali vodeni otisak zalihe hrane Italije, Finske i Sjedinjenih američkih država putem FAOSTAT-ove godišnje bilance hrane (engl. *Food balance sheet*) iz 2006 (FAOSTAT, 2006). Finski vodeni otisak po osobi najbliži je hrvatskom i iznosi 1.116.690 L, dok su talijanski i američki vodeni otisci veći, sa utroškom od 1.848.290 L i 2.198.660 L godišnje. Iako ti rezultati ne ukazuju na vodeni otisak konzumirane hrane, već hrane koja je bila dostupna na tržištu u toj godini, daju vrijedan podatak o vodenom otisku prehrambenih navika u svakoj od

država. Isti su autori izračunali vodeni otisak prosječne talijanske prehrane dobivene putem ankete o potrošnji hrane koju je proveo Talijanski nacionalni institut za hranu i prehranu kroz 2005. i 2006 (Leclercq i sur., 2009). Taj je vodeni otisak bio očekivano manji i iznosio je 1.638.300 L na godinu. Ipak, bio je značajno veći od vodenog otiska prehrambenog obrasca koja se u toj zemlji preporučuje (964.290 L godišnje) (Capone i sur., 2013).

Vanham i sur. (2013) su putem godišnje bilance hrane za period 1996.-2005. procijenili da je prosječni vodeni otisak po stanovniku Europske unije 4.032 L po danu, odnosno 1.471.680 L godišnje. Ako se tome dodaju i ostali neprehrambeni poljoprivredni proizvodi (npr. pamuk, koža i guma), vodeni otisak raste na 4.265 L dnevno. Alternativni scenariji koji prate unos energije i bjelančevina prosječne europske prehrane, a uključuju obrazac prehrana koji preporučuje Njemačko nutricionističko društvo, vegetarijanska prehrana i kombinirana prehrana (polovica mesa je zamijenjeno mahunarkama i uljaricama) očekivano pokazuju niži vodeni otisak u odnosu na referentnu prehranu u EU i iznose 3.291 L/ dan (1.201.215 L/godinu), 2.655 L/dan (969.075 L/godinu) i 2.973 L/dan (1.085.145 L/godinu).

Najveće vodene otiske u hrvatskoj prehrani imaju skupine meso i proizvodi od mesa (39,9 %), kruh i žitarice (14,1 %), te mlijeko, sir i jaja (13,7 %), dok je utjecaj voća i povrća zastupljen u manjem udjelu (9,8 %) (Slika 1). Sličnu zastupljenost mesa su pokazali i Capone i sur. (2013) u talijanskoj i američkoj prehrani (39,62 % i 39,61 %), dok je u finskoj prehrani ona nešto niža (32,37 %).



Slika 1. Udjeli pojedinih skupina hrane u vodenom otisku prehrane prosječne osobe u Hrvatskoj

Figure 1. Amounts of certain food groups in the water footprint of the diet of the average person in Croatia

Dosadašnja istraživanja upozoravaju na visoku „ekološku cijenu“ životinjskih proizvoda u prehrani (Aleksandrowicz i sur., 2016; Jalava i sur., 2014; Mekonnen i Hoekstra, 2012; Vanham i sur., 2013). Vodeni otisak svih proizvoda životinjskog podrijetla (meso, mlijeko, sir, jaja, maslac, životinjske masti) iznosi 686.462,7 L što je 56,3 % ukupnog vodenog otiska. Taj je udio veći nego u ranije spomenutom radu Vanham i sur. (2013) u kojem taj udio iznosio 46 % za prosječnu europsku

prehranu. Hrvati konzumiraju mnogo mesa i značajan udio bjelančevina u prehrani dolazi upravo iz životinjskih proizvoda, međutim, danas se sve više preporučuje smanjiti unos životinjskih bjelančevina na račun biljnih s ciljem prevencije kroničnih nezaraznih bolesti (Song i sur., 2016). Prosječan stanovnik Hrvatske dnevno konzumira 55,6 g mesnih prerađevina, što je zabrinjavajuće, budući da su recentna istraživanja pokazala povećani rizik oboljenja od raka debelog crijeva prilikom svakodnevne konzumacije više od 50 g mesnih prerađevina (Bouvard i sur., 2015). Nadalje, prosječan dnevni unos voća i povrća (isključujući krumpir) iznosi 330,7 g, što je niže od minimalnog preporučenog unosa od 400 g dnevno (WHO, 2008; Public Health England, 2016). Adekvatan unos voća i povrća važan je za prevenciju kardiovaskularnih bolesti, određenih vrsta raka i preuranjene smrti, a prema nekim istraživanjima izraženiji zaštitni učinak uočava se unosom voća i povrća i do 800 g (Aune i sur., 2017).

Zeleni vodeni otisak zauzima najznačajniji dio u vodenom otisku s obzirom na temeljnu važnost u opskrbi vodom u poljoprivredi (Mekonnen i Hoekstra, 2011). Čak 81,8 % ukupnog vodenog otiska proizlazi iz zelenog vodenog otiska, odnosno vode kišnice (Tablica 2).

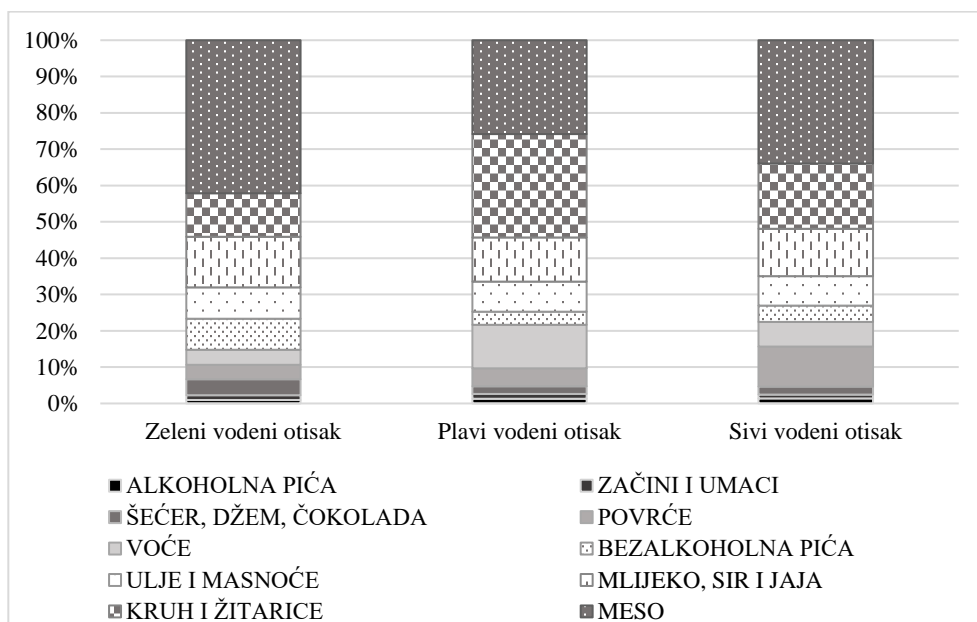
Tablica 2. Prehrambeni proizvodi i pića utrošeni u kućanstvima, prosjek po članu kućanstva u 2014. (Državni zavod za statistiku, 2016), izraženi preko zelenog, plavog i sivog vodenog otiska

Table 2. Foods and beverages consumed in households, average per household member in 2014 (Central Bureau of Statistics, 2016) expressed through the green, blue and gray water footprint

Skupina hrane	Zeleni vodeni otisak (L)	Plavi vodeni otisak (L)	Sivi vodeni otisak (L)
Kruh i žitarice	119.791,2	32.258,4	19.495,1
Meso	420.134,4	29.328,3	36.642,6
Mlijeko, sir, jaja	138.817,9	13.786,0	14.017,2
Ulje i masnoća	85.682,4	9.391,9	8.837,9
Voće	41.115,1	13.593,7	7.330,8
Povrće	39.592,2	5.596,7	11.912,5
Šećer, džem, čokolada	43.556,1	2.444,8	2.343,9
Začini i umaci	13.270,8	1.414,1	1.102,3
Bezalkoholna pića	85.682,3	4.147,9	4.844,6
Alkoholna pića	9.441,0	1.516,2	1.537,2
Ukupno (L)	997.083,4	113.478,0	108.064,1
Udio (%)	81,8	9,3	8,9

*Napomena: zbog zaokruživanja brojeva, zbroj zelenog, plavog i sivog vodenog otiska ne daje isti broj kao i ukupan vodeni otisak u Tablici 1.

Udjeli pojedinih skupina namirnica unutar svakog od vodenih otisaka prikazani su na Slici 2. Ne iznenađuje visoka zastupljenost mesa u sva tri vodena otiska, međutim valja uočiti da, kad je riječ o plavom vodenom otisku, žitarice i proizvodi od žitarica nadilaze vrijednost skupine mesa i mesnih proizvoda. Iako, izraženo po jednom kilogramu, proizvodi od žitarica imaju plavi vodeni otisak od 300-350 L/kg (Mekonnen i Hoekstra, 2011), a meso i mesni proizvodi od 400-550 L/kg (Mekonnen i Hoekstra, 2012), treba uzeti u obzir da je prosječan stanovnik Hrvatske u 2014. godini potrošio mnogo više proizvoda od žitarica: čak 102,2 kg u odnosu na 63,4 kg mesa i proizvoda od mesa.



Slika 2. Udjeli pojedinih skupina hrane u zelenom, plavom i sivom vodenom otisku prehrane prosječne osobe u Hrvatskoj

Figure 2. Amounts of certain food groups in the green, blue and gray water footprint of the diet of the average person in Croatia

Recentan pregledni rad Aleksandrowicza i sur. (2016) promatrao je vodeni otisak različitih prehrambenih obrazaca u odnosu na zapadnjački način prehrane. Imajući u vidu visoku ekološku cijenu proizvoda životinjskog podrijetla, značajni pomaci ka smanjenju vodenog otiska mogu se postići upravo limitiranjem ili potpunim izbacivanjem tih proizvoda. Najizraženiji utjecaj uočava se kod vegetarijanske prehrane čije bi usvajanje u prosjeku moglo smanjiti vodeni otisak prehrane za 37 %, a prema nekim istraživanjima čak i do 50 %. Među ostalim strategijama smanjenja vodenog otiska navode se pesketarijanska prehrana, pravilna prehrana, mediteranska prehrana te smanjena konzumacije mesa. Promjena u odabiru vrste mesa također bi mogla povećati održivost prehrane: npr. vodeni otisak piletine (~4.300 L/kg) je tri puta manji od vodenog otiska govedine (~15.400 L/kg)

(Mekonnen i Hoekstra, 2012). Ipak, ne postoje strogo određene granice vodenog otiska kojima bi se određeni prehrambeni obrasci mogli definirati kao „održivi“ ili „neodrživi“, što ostavlja otvoreno pitanje koji bi način prehrane zaista mogao primijeniti bez dugoročnih posljedica za okoliš.

Ova je studija imala nekoliko ograničenja. Nedostatak podataka o vodenom otisku pojedinih proizvoda, te grupiranje različitih namirnica pod jedan naziv unutar ankete o potrošnji kućanstva predstavljaju glavna ograničenja ove studije. Pretpostavka je da bi vodeni otisak prehrane prosječne osobe u Hrvatskoj mogao biti i veći uzimajući u obzir podatke koji nedostaju.

ZAKLJUČAK

Vodeni otisak prehrane u Hrvatskoj usporediv je s onim ostalih zapadnjačkih zemalja. Hrvatska pokazuje trend visokog unosa mesa i ostalih proizvoda životinjskog podrijetla, što se posebno uočava u velikoj zastupljenosti tih proizvoda u ukupnom vodenom otisku prehrane prosječnog Hrvata. Smanjenjem njihovog unosa, osigurala bi se veća održivost prehrane u smislu potrošnje vode u periodu nadolazeće nesigurnosti cijelog prehrambenog sustava. Istovremeno bi se povećanjem unosa namirnica biljnog podrijetla, u prvom redu voća i povrća, doprinijelo održanju zdravlja i prevenciji kroničnih nezaraznih bolesti. Buduća istraživanja trebala bi definirati maksimalnu dopuštenu razinu vodenog otiska kojom bi se jasno razlikovao održivi obrazac prehrane u odnosu na neodrživi.

LITERATURA

- Aleksandrowicz, L., Green, R., Joy, E. J. M., Smith, P., Haines, A. (2016): The Impact of Dietary Change on Greenhouse Gas Emissions, Land Use, Water Use, and Health: A Systematic Review, *PLOS ONE* 11 (11), doi: 10.1371/journal.pone.0165797.
- Aune, D., Giovannucci, E., Boffetta, P., Fadnes, L. T., Keum, N., Norat, T., Greenwood, D. C., Riboli, E., Vatten, L. J., Tonstad, S. (2017): Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and allcause mortality—a systematic review and doseresponse meta-analysis of prospective studies, *J. Int. Epidemiol.* doi: 10.1093/ije/dyw319.
- BCFN - Barilla Center for Food and Nutrition (2015): Double pyramid 2015 Recommendations for a sustainable diet, Parma, Italy: Barilla Center for Food and Nutrition, pp. 60.
- Bouvard, V., Loomis, D., Guyton, K. Z., Grosse, Y., El Ghissassi, F., Benbrahim-Talla, L., Guha, N., Mattock, H., Straif, K. (2015): Carcinogenicity of consumption of red and processed meat, *Lancet Oncol.* 16 (16), 1599-1600, doi: 10.1016/S1470-2045(15)00444-1.

- Capone, R., Iannetta, M., El Bilali, H., Colonna, N., Debs, P., Dernini, S., Maiani, G., Intorre, F., Polito, A., Turrini, A., Cardone, G., Lorusso, F., Belsani, V. (2013): A preliminary assessment of the environmental sustainability of the current Italian dietary pattern: water footprint related to food consumption, *J. Food. Nutr. Res.* 1 (4), 59-67, doi: 10.12691/jfnr-1-4-5.
- Državni zavod za statistiku. 2016. Anketa o potrošnji kućanstva. Revizija podataka o osnovnim karakteristikama potrošnje kućanstva u 2014. https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2015/14-01-04_01_2015.htm. Pristupljeno 7.3.2018.
- Ercin, A. E., Aldaya, M. M., Hoekstra, A. Y. (2011): Corporate Water Footprint Accounting and Impact Assessment: The Case of the Water Footprint of a Sugar-Containing Carbonated Beverage, *Water Resour. Manage.* 25, 721–741. doi: 10.1007/s11269-010-9723-8
- FAO – Food and Agriculture Organisation of the United Nations (2011): Summary Report: The State of the World's Land and Water Resources. Managing Systems at Risk, Rome, Italy: Food and Agriculture Organisation of the United Nations, pp. 13.
- FAO – Food and Agriculture Organisation of the United Nations (2012): Coping with water scarcity An action framework for agriculture and food security, Rome, Italy: Food and Agriculture Organisation of the United Nations, pp. 13.
- FAO – Food and Agriculture Organisation of the United Nations (2017): The future of food and agriculture – Trends and challenges, Rome, Italy: Food and Agriculture Organisation of the United Nations, pp. 5-36.
- FAOSTAT – Food and Agriculture Organisation Corporate Statistical Database. 2006. Food Balance sheet. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS> Pristupljeno 3.10.2018
- Jalava, M., Kummu, M., Porkka, M., Siebert, S., Varis, O. (2014): Diet change - a solution to reduce water use? *Environ. Res. Lett.* 9, doi: 10.1088/1748-9326/9/7/074016.
- Jefferies, D., Muñoz, I., Hodges, J., King, V. J., Aldaya, M., Ercin, A. E., Milà i Canals, L., Hoekstra, A. Y. (2012): Water Footprint and Life Cycle Assessment as approaches to assess potential impacts of products on water consumption. Key learning points from pilot studies on tea and margarine, *J. Clean. Prod.* 33, 155-166. doi: 10.1016/j.jclepro.2012.04.015
- Leclercq C, Arcella D, Piccinelli R, Sette S, Le Donne C, Turrini, A (2009): INRAN-SCAI 2005-06 Study Group. The Italian National Food Consumption Survey INRAN-SCAI 2005-06: main results in terms of food consumption, *Public Health Nutr.* 12 (12), 2504- 2532. doi: 10.1017/S1368980009005035.

- Mekonnen, M. M., Hoekstra, A. Y. (2010): The green, blue and grey water footprint of farm animals and animal products, Delft, The Netherlands: Value of Water Research Report Series 48, UNESCO-IHE, pp 30.
- Mekonnen, M. M., Hoekstra, A. Y. (2011): The green, blue and grey water footprint of crops and derived crop products, *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 15, 1577–1600.
- Mekonnen, M. M., Hoekstra, A. Y. (2012): A Global Assessment of the Water Footprint of Farm Animal Products, *Ecosystems* 15, 401–415. doi:10.5194/hess-15-1577-2011
- Popkin, B. M., Adair, L., S., Ng, S. W. (2012): Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries, *Nutr. Rev.* 70 (1), 3–21, doi: 10.1111/j.1753-4887.2011.00456.x.
- Public Health England. 2016. The Eatwell Guide: Helping you eat a health, balanced diet. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/551502/Eatwell_Guide_booklet.pdf. Pristupljeno 25.1.2018.
- Song, M., Fung, T. T., Hu, F. B., Willett, W. C., Longo, V. D., Chan, A. T., Giovannucci, E. L. (2016): Association of Animal and Plant Protein Intake With All-Cause and Cause-Specific Mortality. *JAMA Intern. Med.* 176, 1453-1463. doi: 10.1001/jamainternmed.2016.4182.
- UN – United Nations (2017): World Population Prospects: The 2017 Revision, Key Findings and Advance Tables, New York, USA: United Nations, pp. 23.
- Vanham, D., Mekonnen, M. M., Hoekstra, A. Y. (2013): The water footprint of the EU for different diets, *Ecol. Indic.* 32, 1-8, <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.02.020>.
- WHO – World Health Organisation (2008): WHO European Action Plan for Food and Nutrition 2007-2012, Copenhagen, Denmark: World Health Organisation, pp.4.

DIETETICS AND DIET THERAPY /
DIJETETIKA I DIJETOTERAPIJA

**STAVOVI OBOLJELIH/IZLIJEČENIH OD KARCINOMA DEBELOG
CRIJEVA PREMA PREHRANI U MEĐIMURSKOJ ŽUPANIJI**

**ATTITUDES TOWARDS DIET OF PEOPLE WHO ARE SUFFERING
FROM/WHO HAVE BEAT COLORECTAL CANCER IN MEĐIMURJE
COUNTY**

Natalija Uršulin-Trstenjak^{1*}, Julija Pečet², Aleksandar Racz³

¹*Sveučilište Sjever, 104 brigade 3, 42000 Varaždin, Hrvatska*

²*Klinička bolnica Merkur, Zajčeva 19, 10000 Zagreb, Hrvatska*

³*Zdravstveno veleučilište, Mlinarska cesta 3, 10000 Zagreb, Hrvatska*

**natalija.ursulin-trstenjak@unin.hr*

stručni rad / professional paper

SAŽETAK

Zbog svoje frekventnosti, karcinom debelog crijeva predstavlja velik javno zdravstveni problem koji u određenoj mjeri može biti kontroliran modifikacijom prehrane.

Cilj istraživanja bio je ispitati stavove oboljelih, odnosno izliječenih, od karcinoma debelog crijeva prema prehrani te njihove razlike s obzirom na dob, spol te trenutno zdravstveno stanje.

Istraživanje je provedeno u obliku dobrovoljne i anonimne ankete na odjelima dnevne bolnice, abdominalne kirurgije, gastroenterologije i onkologije Županijske bolnice Čakovec, ambulantom obiteljske medicine u sklopu Doma zdravlja Čakovec, udruge ILCO Čakovec te među dobrovoljnim sudionicima.

Reprezentativan uzorak činila je 61 osoba koje su odgovarale na 19 pitanja postavljenih onima oboljelim od karcinoma debelog crijeva, odnosno 20 pitanja postavljenih izliječenima od istog. Mogućnost upisivanja odgovora postojala je kod 4 pitanja, dok su pri ostalima odgovori bili ponuđeni. Podaci su obrađeni deskriptivnom statistikom.

Dobiveni rezultati pokazuju da iako svega 67,2 % ispitanih smatra kako je njihov način prehrane bio faktor rizika za nastanak bolesti, njih 88,5 % modificiralo je prehranu nakon postavljene dijagnoze. Vodeću poziciju među namirnicama izbačenim iz prehrane zauzima meso, a među onim uvedenim to je povrće.

Ispitanici provedenog istraživanja pridaju manju pozornost prevenciji nego liječenju već nastalog karcinoma debelog crijeva, a motiviranost za promjenom u prehrani pada proporcionalno prolazu vremena.

Ključne riječi: karcinoma debelog crijeva, prehrana, medicinska sestra, edukacija

Keywords: colon cancer, diet, nurse, education

UVOD

S čak 8 % ukupne incidencije svih malignih oboljenja, karcinom debelog crijeva predstavlja velik javno zdravstveni problem (Gimeno Garcia i sur., 2014). Smatra se najfrekventnijim malignitetom probanog trakta koji inače zauzimaju vodeću poziciju među svim globalno dijagnosticiranim karcinomima (Štimac i sur., 2008). Njegova veća pojavnost zabilježena je u muškaraca, no broj slučajeva i smrti u prosjeku je isti među spolovima, što je rezultat dužeg životnog vijeka žena, a spomenuto oboljenje je u najvećem postotku bolest treće životne dobi (Giovannucci, 2003; Puntarić i Uršulin-Trstenjak, 2017). U Republici Hrvatskoj, karcinom debelog crijeva drugo je po učestalosti sijelo raka u muškaraca ali i u žena (Ebling, 2016). U Međimurskoj je županiji opterećenje ovim malignitetom još i veće. Naime, incidencija za oba spola, kao i smrtnost muškaraca, nalazi se na drugom, dok je smrtnost žena na prvom mjestu, što predstavlja mortalitet viši od prosjeka u Hrvatskoj (Kutnjak Kiš, 2014). Točan uzrok ovog maligniteta još uvijek nije razjašnjen no brojna istraživanja ukazuju na značajnu povezanost s prehranbenim navikama (Vargas i Thompson, 2012). Zna se, kako se 80 % karcinoma debelog crijeva može spriječiti kroz modifikaciju životnih navika, s prehranom kao glavnim predstavnikom (Puntarić i sur., 2017). Iako poboljšanje metoda liječenja korisno utječe na prognozu bolesti, pitanja kvalitete života proizlaze iz potencijalnih nuspojava takvog agresivnog farmakološkog liječenja (Giovannucci, 2003; Stephenson i sur., 2009).

Nadalje, poznato je da prekomjerna tjelesna težina znatno povećava incidenciju ovog maligniteta (Puntarić i sur., 2017), a njeno nepovoljno djelovanje zasniva se na negativnom hiperinzulinemičnom učinku prehrane (Giovannucci, 2003).

Jedan od najznačajnijih protektivnih efekata hrane očituje se u antioksidativnom djelovanju prema slobodnim radikalima koji se kombiniraju s komponentama zdravih stanica, ometaju njihov normalan razvoj te pospješuju stvaranje pogodnog okruženja za malignu pretvorbu (Mindell, 1998).

Zbog navedenog, sve veća pažnja pridaje se prevenciji te liječenju u obliku funkcionalne hrane ili prehranbenih dodataka, a veliki dio oboljele populacije preferira kombinaciju konvencionalne i alternativne medicine (Erejuwa i sur., 2014). Naglašava se i potreba jednako trajne konzumacije različitog spektra namirnica antikancerogenog djelovanja kako bi se eventualno nastali karcinom zadržao u latentnom stanju, čime bi se povećala mogućnost njegovog izlječenja i dužeg preživljavanja pacijenta. (Béliveau i Gingras, 2006).

METODE I ISPITANICI

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati stavove oboljelih, odnosno izliječenih, od karcinoma debelog crijeva prema prehrani u Međimurskoj županiji. Jednako tako, ispitane su njihove razlike u stavovima s obzirom na dob, spol te trenutno zdravstveno stanje, odnosno trenutno bolovanje ili izliječenost od karcinoma debelog crijeva. Istraživanje o stavovima oboljelih, odnosno izliječenih od karcinoma debelog crijeva prema prehrani na području Međimurske županije provedeno je u razdoblju od 13. ožujka do 15. lipnja 2018. godine u obliku analogne

ankete. Ono je provedeno na odjelima dnevne bolnice, abdominalne kirurgije, gastroenterologije i onkologije Županijske bolnice Čakovec, ambulanta obiteljske medicine u sklopu Doma zdravlja Čakovec, udruge ILCO Čakovec te dobrovoljnih sudionika oboljelih ili izliječenih od karcinoma debelog crijeva s područja Međimurske županije. Reprezentativan uzorak čini 61 ispitanik, a svi sudionici sudjelovali su dobrovoljno i anonimno, ispunjavajući prilagođene, ankete od 19 pitanja postavljenih osobama oboljelima od karcinoma debelog crijeva, odnosno 20 pitanja postavljenih osobama izliječenim od istog. Prva tri pitanja bila su jednaka za obje skupine ispitanika te su se odnosila na dob, spol i godine života u vrijeme postavljanja dijagnoze, a četvrtim pitanjem potvrđeno je trenutno zdravstveno stanje u odnosu na spomenuti malignitet. Kroz sljedećih 12 pitanja ispitivali su se stavovi ispitanika prema načinu prehrane, izbjegavanju i preferiranju određenih namirnica u odnosu na uzrok, tijek bolesti i prognozu liječenja njihovog karcinoma. Među navedenih 12 pitanja ispitivali su se i stavovi o tretiranju karcinoma debelog crijeva hranom te način prikupljanja informacija o antikancerogenosti, odnosno kancerogenosti određenih namirnica. S nadolazećih 2, odnosno 3 pitanja, nastojala se utvrditi konzumacija dodataka prehrani, napitaka i suplemenata kroz proces liječenja karcinoma debelog crijeva. Među tom skupinom pitanja postavljeno je jedno dodatno koje se našlo samo u anketi predviđenoj grupi ljudi izliječenih od karcinoma debelog crijeva te ono govori o nastavku konzumacije spomenutih dodataka prehrani, suplementa i napitaka i nakon izlječenja. Posljednja 2 pitanja postavljena kroz ovo istraživanje omogućila su utvrđivanje stavova prema prehrani kao načinu prevencije recidiva bolesti te je jednako tako anketiranim osobama omogućeno navođenje namirnica ili dodataka prehrani koje smatraju najdjelotvornijima u liječenju ovog maligniteta.

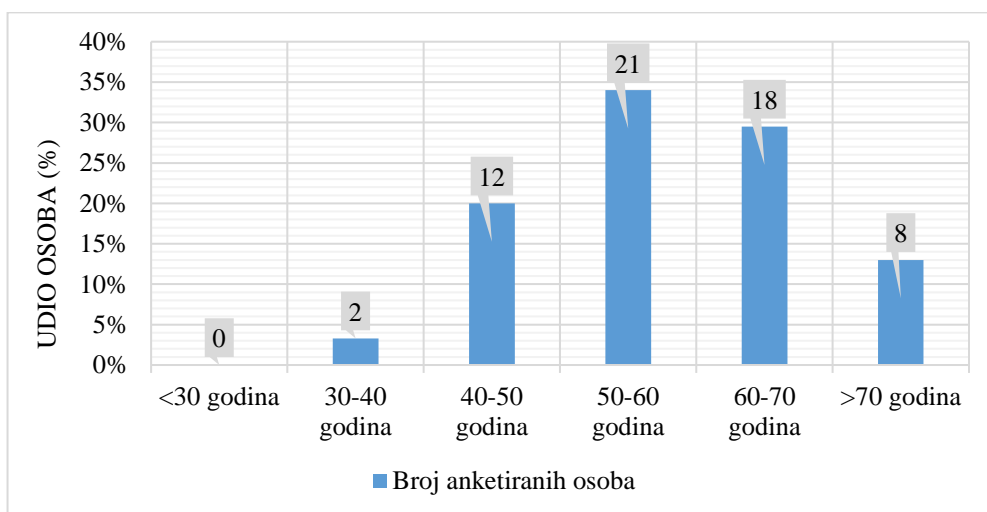
REZULTATI I RASPRAVA

Sudionici istraživanja bili su podijeljeni na izliječene od karcinoma debelog crijeva, koji se nisu trenutno nalazili u procesu liječenja te one oboljele, koji se nalaze u procesu liječenja te kojih je bilo 18 % više (Tablica 1). Ti podaci povezuju se s činjenicom da je najveći broj anketnih upitnika riješen među pacijentima smještenim na akutne odjele Županijske bolnice Čakovec.

Tablica 1. Distribucija ispitanika prema spolu i trenutnom zdravstvenom stanju
Table 1. Distribution of subjects by gender and current health status

	N	%
Oboljeli od karcinoma debelog crijeva	36	59
Izliječeni od karcinoma debelog crijeva	25	41
Muškarci	30	49,2
Žene	31	50,8

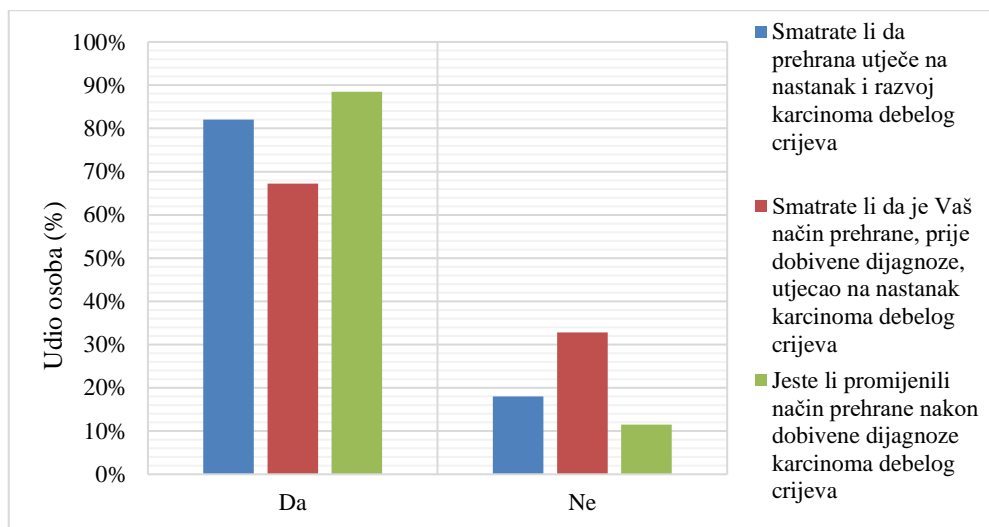
Incidencija karcinoma debelog crijeva raste s dobi s početkom rasta iznad 40. godine života, da bi se značajniji porast javio između 50. i 55. godine (Bergman Marković, 2016). To se može potvrditi i rezultatima našeg istraživanja gdje je 19,7 % (12) osoba navelo kako je od karcinoma debelog crijeva oboljelo između 40. i 50. godine života, dok je njih čak 34,4 % (21) dijagnozu ovog malignog oboljenja dobilo između njihove 50. i 60. godine (Slika 1).



Slika 1. Distribucija prema vremenu postavljanja dijagnoze karcinoma debelog crijeva

Figure 1. Distribution by time of diagnosis of colorectal cancer

Čak 82 % (50) ukupno anketiranih osoba, odnosno onih koji su oboljeli od karcinoma debelog crijeva te onih koji su od njega izliječeni, navelo je kako smatra da način prehrane utječe na razvoj ovog maligniteta, no 14,8 % osoba manje, odnosno svega njih 67,2 % (41) smatra kako je baš njihov način prehrane bio jedan od faktora rizika u nastanku spomenute bolesti (Slika 2). Iz dobivenih podataka može se vidjeti određena razina znanja o prehrani kao faktoru rizika za nastanak bolesti, no ta razina još je uvijek relativno niska uzevši u obzir da se čak do 50 % slučajeva bolesti može spriječiti adekvatnom i modificiranom prehranom (Vargas i Thompson, 2012). Iako 32,8 % (20) osoba ne vidi svoj način prehrane, prije dijagnoze, kao potencijalan faktor rizika za nastanak bolesti, čak 88,5 % (54) njih promijenilo ga je nakon dobivene dijagnoze, što ukazuje na to kako sudionici istraživanja više pozornosti pridaju tretiranju već poremećenog zdravstvenog stanja nego njegovoj prevenciji.

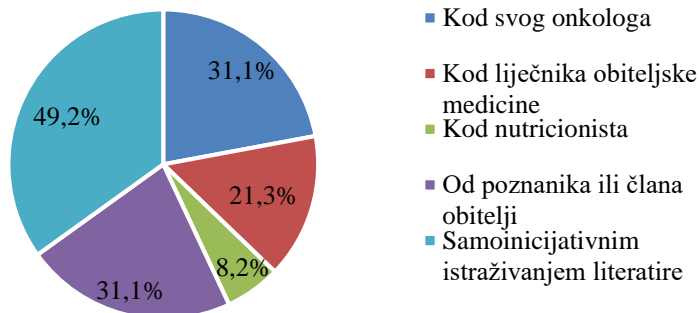


Slika 2. Stavovi o utjecaju prehrane na karcinom debelog crijeva

Figure 2. Views on the effect of nutrition on colon cancer

Prethodna istraživanja pokazuju da je većina bolesnika s malignim oboljenjem visoko motivirana za promjenu prehranbenih navika u vrijeme postavljanja dijagnoze (Henriksen i sur., 2017), no proporcionalno prolazu vremena motiviranost pada, a pridržavanje prehranbenih smjernica vrlo je slabo (Stephenson i sur., 2009). Iz toga razloga, period nakon dijagnoze mogao bi se iskoristiti za uspješnu edukaciju oboljelih od strane zdravstvenih djelatnika (Henriksen i sur., 2017). Prisutnošću spomenute povećane motivacije pacijenti uglavnom uvode promijene u svoje prehranbene navike, no često ne dobivaju dovoljno informacija od zdravstvenog osoblja, a dobiveni savjeti o prehrani vrlo su oskudni (Alegria-Lertxundi i sur., 2016). To potvrđuju i rezultati našeg istraživanja u kojem 80,3 % (33) ukupno anketiranih navodi, da je među ostalim, informacije o antikancerogenim, odnosno kancerogenim namirnicama dobilo od poznanika ili člana obitelji te samoinicijativnim istraživanjem literature. S druge strane svega 52,4 % (32) osoba te informacije dobilo je od izabranog liječnika obiteljske medicine ili onkologa (Slika 3). S obzirom da je samo 21,3 % (13) ispitanika informacije dobilo od izabranog liječnika obiteljske medicine te s obzirom na činjenicu da incidencija bolesti može biti smanjena edukacijom o adekvatnoj prehrani te informiranjem o probiru ugroženih skupina (Puntarić i Uršulin-Trstenjak, 2017), uloga spomenutih liječnika u ovom je aspektu nedovoljno iskorištena.

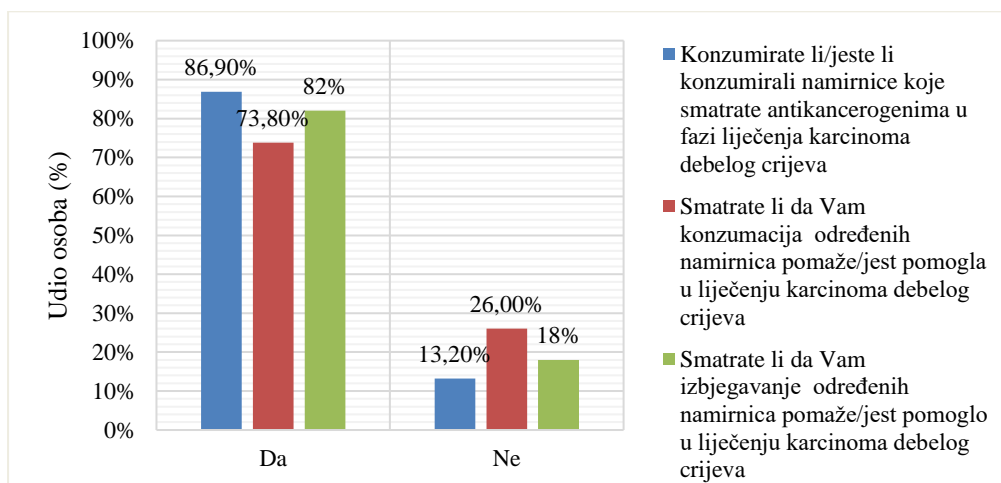
Nedostatak informacija dobivenih od zdravstvenog osoblja može utjecati na adekvatnost i kvalitetu prehrane. Štoviše, prehranbeni savjeti i edukacija imaju dokazanu učinkovitost na poboljšanje prehranbenog unosa i statusa te dugoročne prognoze karcinoma debelog crijeva (Alegria-Lertxundi i sur., 2016).



Slika 3. Prikaz odgovora o načinu dobivanja informacija o kancerogenim i antikancerogenim namirnicama

Figure 3. Display of subject's information source on cancerogenic and anticancerogenic groceries

Kroz naše istraživanje 86,9 % (53) osoba navelo je da kroz fazu liječenja karcinoma debelog crijeva konzumira, odnosno jest konzumiralo namirnice koje smatraju antikancerogenima, a nešto manji udio od 73,8 % (45) smatra da su im one pomogle, odnosno da im pomažu u liječenju (Slika 4). Uspoređujući podatke, utvrđeno je da 8,2 % više anketiranih vjeruje kako je izbjegavanje kancerogenih namirnica korisnije od konzumacije onih antikancerogenih u fazi liječenja bolesti. Mnoge studije istraživale su ulogu prehranbenih čimbenika s obzirom na rizik nastanka karcinoma debelog crijeva te se uglavnom, na temelju dokaza iz studija slučaja, smatra se kako je prehrana bogata mesom jednak prediktor nastanka crijevnih abnormalnosti kao i niske količine voća i povrća. (Haydon i sur., 2005). Time se stavlja jednak naglasak na izbjegavanje kancerogenih namirnica te povećanje unosa protektivnih odnosno terapijskih namirnica (Haydon i sur., 2005).



Slika 4. Prikaz odgovora o konzumaciji određenih namirnica

Figure 4. Display of answers regarding the consumption of specific groceries

Od anketiranih osoba, koje su prijašnjom tvrdnjom izjavile da u procesu liječenja karcinoma debelog crijeva konzumiraju, odnosno jesu konzumirale određene antikancerogene namirnice, traženo je da navedu neke od tih namirnica koje su uključile u svoju prehranu tek nakon dobivene dijagnoze (Tablica 2). Povrće se tako nalazi na prvom mjestu, a kao najfrekventnija skupina spominju se krstašice koje su iznimno bogate vitaminom C i A te su samim time snažni antioksidansi i antikancerogeni (Mindell, 1998). Njihova glavna aktivna tvar je glukozinolat koji ne djeluje izravno već ima sposobnost otpuštanja izotiocijanata i indola. Nastali indoli induciraju zaštitne enzime koji inaktiviraju estrogen dok glukorafanin dolazi u kontakt sa mirosinazom i pretvori se u sulforafan, molekulu koja pojačava djelovanje blokatora karcinogena te je sposoban potaknuti proces apoptoze u malignih stanica (Calvani i sur., 2000).

Na ljestvici, drugo mjesto zauzima voće, a prate ga zeleni čaj, maslinovo ulje, žitarice i riba. Među voćem najviše se spominju agrumi i bobičasto voće koji imaju snažna antioksidativna svojstva zbog visoke koncentracije vitamina C te kemijskih spojeva kao što su primjerice fenoli koji sprječavaju širenje karcinoma i pomažu u neutralizaciji karcinogena. Jedan od najznačajnijih flavonoida u citrusu je hesperidin čija se uloga očituje u djelovanju protiv slobodnih radikala te citrusno ulje poznato kao limonen, koje dokazano smanjuje pojavu novih i rast postojećih tumora (Tumbas i sur., 2010). Jednako tako, bobičasto voće bogato je fenolnim kiselinama, hidroksibenzojevom i hidroksicinaminskom kiselinom, flavonoidima, taninima, folatima i karotenoidima. Također sadrže i resveratrol, te širok spektar antioksidansa, koji su, barem djelomično, odgovorni za njihove preventivne aktivnosti (Afrin i sur., 2016). Kombinacija fenolnih spojeva iz bobica može imati značajan učinak na karcinom debelog crijeva. (Gill i sur., 2010) Glavni polifenol iz bobičastog voća je elagična kiselina koja sprječava aktivaciju kancerogenih supstancija i njihovo pretvaranje u stanične toksine, zbog čega one gube sposobnost regeneriranja s DNA i dovođenja do mutacija. Ona također može povećati staničnu sposobnost obrane od toksičnog napada, potičući njihov mehanizam eliminacije kancerogenih tvari te je jednako tako snažan inhibitor proteina koji imaju ključnu ulogu u procesu angiogeneze (Béliveau i Gingras, 2006).

Spomenut visok unos maslinova ulja i ribe također ima povoljan učinak na ljudsko zdravlje. Unosom masne ribe u organizam se unose omega-3 i omega-6 masne kiseline koje u pravilnom omjeru izrazito povoljno djeluju na karcinom debelog crijeva. (Mindell, 1998). Povoljnost unosa maslinovog ulja temelji se na prisutstvu triterpenoida, osobito maslininske i oleanolne kiseline (Juan i sur., 2006), koje imaju antiproliferativni učinak na stanice karcinoma debelog crijeva (Mindell, 1998). Jednako tako, inhibiraju staničnu proliferaciju kod netoksičnih koncentracija i vraćaju osjetljivost apoptoze u stanice adenokarcinoma debelog crijeva (Juan i sur., 2006). Dobiveni podaci o uvedenim namirnicama slažu se s frekvencijom unosa fitokemikalija pojedinih namirnica, najdostupnijih i najprihvaćenijih u zemalja Mediterana. Tako su glavni izvori hrane bogate polifenolima na ovom području kava, čaj i voće. Navedeni zeleni čaj sadrži epigalokatehingalat kojim pomaže u zadržavanju i iskorištavanju veće količine vitamina C (Mindell, 1998).

Tablica 2. Prikaz namirnica koje su ispitanici uveli u prehranu nakon postavljene dijagnoze karcinoma debelog crijeva

Table 2. Display of groceries added in diet after being diagnosed with colon cancer

		N	%	
Povrće	Povrće općenito	17	27,9	
	Mrkva	2	3,3	
	Cikla	2	3,3	
	Zelje	4	6,5	
	Brokula	6	9,8	
	Cvjetača	3	4,9	
	Grah	3	4,9	
	Kelj	3	4,9	
	Luk	5	8,2	
	Češnjak	4	6,5	
	Soja	3	4,9	
	Voće	Voće općenito	11	18
Crveno voće		3	4,9	
Agrumi		Agrumi općenito	2	3,3
		Nar	1	1,6
		Naranča	3	4,9
		Limun	3	4,9
Bobičasto voće		Bobičasto voće općenito	4	6,5
		Borovnica	3	4,9
		Aronija	4	6,5
Riba			10	16,4
Ulja	Maslinovo ulje	10	16,4	
	Laneno ulje	4	6,5	
	Ulje kima	1	1,6	
Mlijeko i mliječni proizvodi	Mlijeko	2	3,3	
	Mliječni proizvodi općenito	3	4,9	
	Probiotici općenito	5	8,2	
	Kefir	4	6,5	
	Jogurt	3	4,9	
	Sirevi	2	3,3	
Meso peradi		5	8,2	
Žitarice		9	14,7	
Kurkuma		6	9,8	
Đumbir		7	11,5	

Jednako tako, od osoba koje su prijašnjom tvrdnjom izjavile da u procesu liječenja izbjegavaju, odnosno jesu izbjegavale određene namirnice, traženo je da navedu one koje su isključili iz svoje prehrane tek nakon dobivene dijagnoze (Tablica 3). Među

tim namirnicama najviše se spominje meso, čime su anketirane osobe pokazale relativno visoku razinu svijesti s obzirom na to da su komponente crvenog mesa i mesnih prerađevina jedne od najjačih kancerogena, a njihova konzumacija povezuje se s povećanom incidencijom i mortalitetom karcinoma debelog crijeva (Gill i sur., 2010). Konzumacija više od 22,3 grama prerađenog mesa na ukupnih 1000 kcal povećava rizik nastanka karcinoma debelog crijeva za čak 30 %. (Cross i sur., 2010).

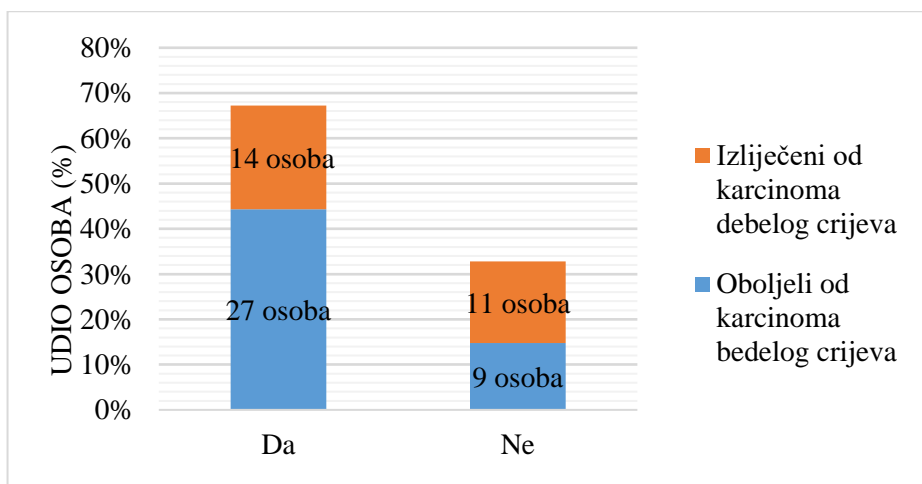
Tablica 3. Prikaz namirnica koje su ispitanici isključili iz prehrane nakon postavljene dijagnoze karcinoma debelog crijeva

Table 3. Display of groceries excluded from the diet after being diagnosed with colon cancer

		N	%	
Meso	Meso općenito	11	18	
	Crveno meso općenito	10	16,4	
	Svinjsko meso	2	3,3	
	Masno meso	5	8,2	
	Meso pečeno na roštilju	4	6,5	
	Mesne prerađevine	8	13,1	
		Suhomesnati proizvodi	5	8,2
		općenito		
		Slanina	4	6,5
		Paštete	6	9,8
		Salame	5	8,2
Šećer	Hrenovke i kobasice	4	6,5	
	Šećer općenito	10	16,4	
	Deserti / kolači	6	9,8	
	Grickalice	2	3,3	
	Sokovi	2	3,3	
Začini		5	8,2	
Kruh		6	9,8	
Masti i masni proizvodi		10	16,4	
Pržena hrana		4	6,5	
Pohana hrana		6	9,8	
Mlijeko		4	6,5	
Konzerve		6	9,8	
Grahorice		1	1,6	
Grah		5	8,2	
Mahunarke		3	4,9	
Kupus		1	1,6	
Kelj		1	1,6	

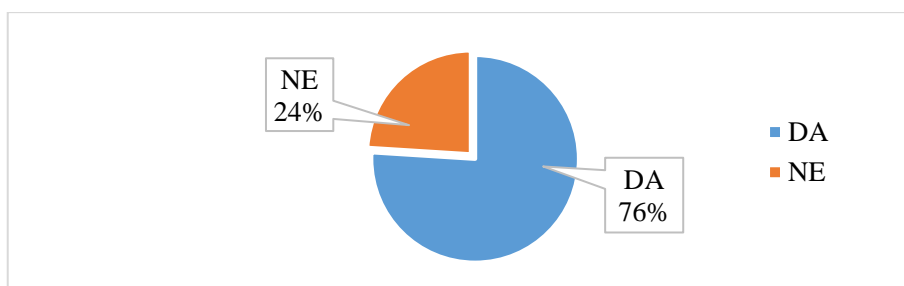
Anketirane osobe među isključene namirnice još su navele mlijeko, grahorice, grah, mahunarke, kupus i kelj. Prema tim podacima može se vidjeti određena razina znanja o namirnicama koje nepovoljno djeluju na ovo maligno oboljenje no ona je još uvijek nedovoljna s obzirom na to da osobe navode namirnice bogate fitokemikalijama koje dokazano pomažu u liječenju karcinoma debelog crijeva. Ta činjenica još jednom stavlja naglasak na prijeko potrebnu edukaciju oboljele populacije od strane zdravstvenih djelatnika.

Uzevši u obzir samo osobe izliječene od karcinoma debelog crijeva, njih 56 % (14) navodi kako je kroz proces liječenja koristilo određene suplemente, dodatke prehrani i napitke, a njih 76 % (19) koristi ih i nakon izlječenja (Slika 5). Dobiveni podaci mogu se opravdati visokim financijskim troškovima pojedinca u vrijeme liječenja malignog oboljenja koji ne ostavljaju mnogo mjesta kupovini nesufinanciranih dodataka prehrani te oni postaju dostupni tek nakon izlječenja kada se najčešće koriste u svrhu prevencije recidiva bolesti (Slika 6).



Slika 5. Prikaz odgovora o konzumaciji suplemenata tijekom liječenja

Figure 5. Display of answers on the consumption of supplements during treatment



Slika 6. Prikaz odgovora izličenih od karcinoma debelog crijeva o konzumaciji suplemenata nakon izlječenja

Figure 6. Display of answers regarding the use of supplements after a successful treatment

Od osoba koje su prijašnjom tvrdnjom izjavile da su u procesu liječenja konzumirale, odnosno konzumiraju, određene dodatke prehrani, suplemente ili napitke, traženo je da navedu neke od njih (Tablica 4). Među najkonzumiranijim dodacima prehrani, nalaze se enteralni pripravci, koji se nerijetko prepisuju onkološkim pacijentima radi poboljšanja njihovog nutritivnog statusa. Naime, nenamjerni gubitak težine onkoloških bolesnika, odnosno kaheksija, javlja se u više od 50 % slučajeva uznapredovalog karcinoma, a u 20 % osoba on izaziva ili doprinosi smrti (Šamija i Nemet, 2010). Osim toga, 6,5 % ispitanika navelo je da uzimaju vitamin D u obliku suplemenata, a prethodnim istraživanjima dokazano je kako su veće razine vitamina D u plazmi povezane sa značajnim smanjenjem ukupne stope smrtnosti oboljelih (Kato i sur., 1997).

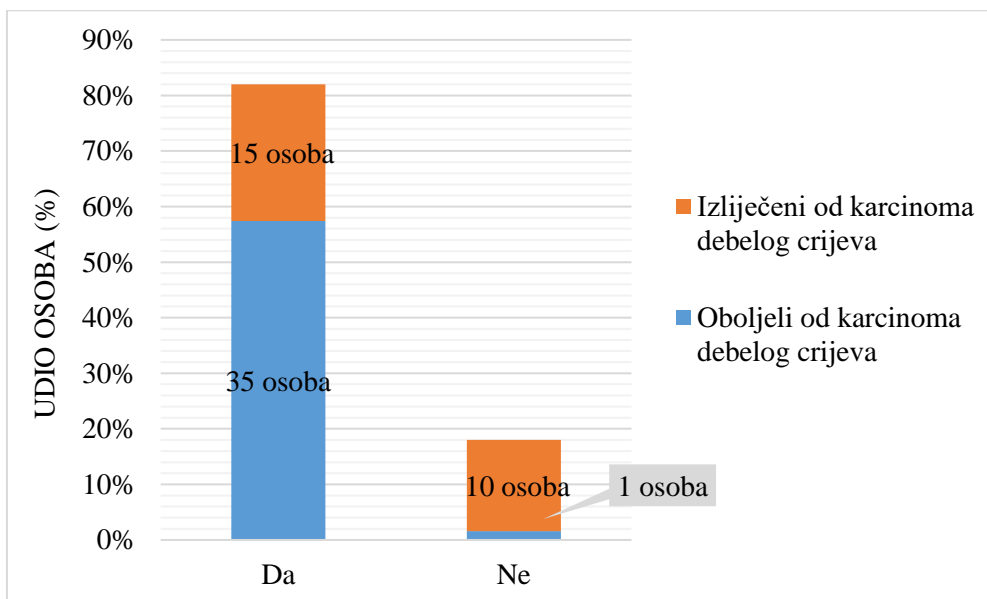
Tablica 4. Prikaz suplemenata koje su ispitanici koristili za vrijeme liječenja

Table 4. Display of supplements which the subjects used during treatment

		N	%
Enteralni pripravci	Enteralni pripravci općenito	3	4,9
	Prosure	9	14,7
	Suportane	5	8,2
	Ensure	4	6,5
	Fresubin	1	1,6
Vitamini	Multivitamini	3	4,9
	B kompleks	3	4,9
	B12	1	1,6
	Vitamin D	4	6,5
	Vitamin E	2	3,3
	Vitamin C	4	6,5
	Vitamin A	2	3,3
Minerali	Kalcij	4	6,5
	Cink	2	3,3
	Selen	1	1,6
Pripravci za jačanje imuniteta	Pripravci za jačanje imuniteta općenito	4	6,5
	Imunoglukan	3	4,9
	„Noni“ sok	2	3,3
Prirodni sokovi		9	14,7
Probiotici		11	18

Usporedbom dobivenih podataka utvrđeno je da čak 97,2 % (35) oboljelih tvrdi kako će nakon izlječenja prakticirati određeni način prehrane u svrhu prevencije recidiva bolesti, no samo 60 % (15) izlječenih navodi da to zaista i čini (Slika 7). Ti podaci još jednom dokazuju već spomenuto povećanje razine motivacije koja se kod pacijenata javlja neposredno nakon postavljanje dijagnoze karcinoma debelog crijeva, a proporcionalno prolasku vremena ona blijedi.

Slične studije potvrdile su kako se svega 16 do 47 % pacijenata izlječenih od spomenutog maligniteta pridržava konzumacije preporučenih 5 porcija voća i povrća, a taj postotak smanjuje se proporcionalno prolasku vremena od trenutka postavljanja dijagnoze (Stephenson, 2009).



Slika 7. Prikaz odgovora o namjeri prakticiranja modificirane prehrane nakon izlječenja

Figure 7. Display of willingness towards keeping the modified diet after treatment

Svi sudionici istraživanja naveli su neke od namirnica koje smatraju najdjelotvornijima u liječenju karcinoma debelog crijeva (Tablica 5). Značajnih 19,7 % (12) osoba navodi kako smatra da ne postoje najdjelotvornije namirnice u liječenju ove bolesti dok ostali ispitanici kao najdjelotvorniju hranu najčešće navode namirnice bogate biljnim vlaknima.

Tablica 5. Prikaz najučinkovitijih namirnica u liječenju karcinoma debelog crijeva
Table 5. Display of the most effective groceries in treating the colon cancer

		N	%	
Hrana bogata biljnim vlaknima	Hrana bogata biljnim vlaknima općenito	3	4,9	
	Voće	Voće općenito	9	14,7
		Grejp	1	1,6
		Aronija	6	9,8
		Jabuka	1	1,6
		Povrće	11	18
	Žitarice	Povrće općenito	6	9,8
		Cikla	4	6,5
		Brokula	3	4,9
		Mrkva	1	1,6
		Cvjetača	1	1,6
		Zelje	4	6,5
		Žitarice općenito	3	4,9
	Kaše	4	6,5	
Mlijeko i mliječni proizvodi	3	4,9		
Meso peradi	5	8,2		
Riba	4	6,5		
Đumbir	4	6,5		
Prirodni sokovi	8	13,1		
Probiotici	4	6,5		
Maslinovo ulje	2	3,3		
Ensure	5	8,2		
Kurkuma	6	9,8		
Vitamini	12	19,7		
Ne postoje takve namirnice				

ZAKLJUČAK

Kroz posljednje desetljeće sve se više govori o utjecaju prehrane na razvoj karcinoma debelog crijeva. Prihvatanjem zapadnjačkog stila života, a samim time i obrasca prehrane, incidencija karcinoma debelog crijeva raste. Istraživanjem stavova među izliječenim i oboljelim osobama od karcinoma debelog crijeva prema prehrani u Međimurskoj županiji, utvrđeno je kako spomenuti posjeduju određenu razinu svijesti i znanja o načinu utjecaja prehrane na ovo maligno oboljenje. Iako većina njih shvaća rizičnost neadekvatne prehrane u njegovom nastanku, dokazano je kako njihova motivacija za promjenom iste često pada proporcionalno prolazu vremena od trenutka postavljanja dijagnoze. Unatoč dostupnosti pojedinih namirnica s fitokemijskim komponentama njihov benefit, najvećim dijelom zbog nedostatka informacija, nije u potpunosti iskorišten. Među sudionicima istraživanja veća pozornost pridaje se izbjegavanju kancerogenih namirnica nego konzumaciji antikancerogenih što ukazuje na potrebu dodatne edukacije opće, rizične i oboljele populacije od strane zdravstvenih djelatnika. Uloga zdravstvenih djelatnika uvelike je neiskorištena u prevenciji što se očituje u činjenici da više od polovice oboljelih osoba informacije o antikancerogenim, odnosno kancerogenim namirnicama dobiva samoinicijativnim istraživanjem ili preko prijatelja i članova obitelji. Te informacije nerijetko su pogrešne što dovodi do izbjegavanja hrane korisne u prevenciji i liječenju ovog malignog oboljenja. Analiza stavova i znanja oboljele populacije o prehrani od velike je koristi pri utvrđivanju potrebe za informiranošću i promjenom intervencijskog pristupa, a rastom stope incidencije karcinoma debelog crijeva, pa čak i u mlađe populacije, raste i potreba za boljom organizacijom zdravstvene skrbi te inovativnim metodama multidisciplinarnog pristupa uz uključenost svih zdravstvenih aspekata. Rana edukacija predstavlja jedan od najznačajnijih oblika suzbijanja ovog maligniteta u mlađim osoba, a posljedično tome, smanjuje se rizik karcinoma debelog crijeva u istih osoba kad dosegnu stariju životnu dob.

LITERATURA

- Afrin, S., Giampieri, F., Gasparini, M., Forbes-Hernandez, T. Y., Varela-López, A., Quiles, J. L., Mezzetti, B., Battino, M. (2016): Chemopreventive and therapeutic effects of edible berries: A focus on colon cancer prevention and treatment. *Molecules*, 21(2), 169. doi:10.3390/molecules21020169
- Alegria-Lertxundi, I., Alvarez, M., Rocandio, A. M., de Pancorbo, M. M., Arroyo-Izaga, M. (2016): Nutritional Adequacy and Diet Quality in Colorectal Cancer Patients Postsurgery: A Pilot Study. *Nutrition and cancer*, 68(4), 577-588. <https://doi.org/10.1080/01635581.2016.1158299>
- Béliveau, R., Gingras, D. (2006.): *Foods That Fight Cancer: Preventing Cancer through Diet* Paperback – International Edition, Toronto, ON: McClelland & Stewart, 60-93.
- Bergman Marković, B. (2016): Prevencija i rano otkrivanje karcinoma debelog crijeva. *Acta medica croatica*, 69(4), 365-371.

- Calvani, M., Nicolai, R., Barbarisi, A., Reda, E., Felice, A. (2000): Carnitine system and tumor. In: *Advances in Nutrition and Cancer 2*, vol. 472, Naples, Italy, pp. 273-290.
- Cross, A.J., Ferrucci, L.M., Risch, A., Graubard, B.I., Ward, M.H., Park Y., Hollenbeck, A.R., Schatzkin, A., Sinha R. (2010): A large prospective study of meat consumption and colorectal cancer risk: an investigation of potential mechanisms underlying this association, *Cancer research*, 70(6), 2406–14. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3929
- Ebling, Z. (2016): Doprinosi obiteljske medicine prevenciji i ranom otkrivanju raka debelog crijeva 40-godišnje iskustvo obiteljske medicine doma zdravlja osijek. *Acta medica croatica*, 69(4), 373-380.
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., Wahab, M. S. A. (2014): Effects of honey and its mechanisms of action on the development and progression of cancer. *Molecules*, 19(2), 2497-2522. doi:10.3390/molecules19022497
- Gill, C. I., McDougall, G. J., Glidewell, S., Stewart, D., Shen, Q., Tuohy, K., Dobbin, A., Boyd, A., Brown, E., Haldar, S., Ian R. Rowland I.R. (2010): Profiling of phenols in human fecal water after raspberry supplementation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(19), 10389-10395. DOI: 10.1021/jf1017143
- Gimeno Garcia, A.Z., Hernandez Alvarez Buylla, N., Nicolas-Perez, D., Quintero, E. (2014): Public awareness of colorectal cancer screening: knowledge, attitudes, and interventions for increasing screening uptake, *ISRN oncology ges*. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/425787>
- Giovannucci, E. (2003): Diet, body weight, and colorectal cancer: a summary of the epidemiologic evidence. *Journal of women's health*, 12(2), 173-182. <https://doi.org/10.1089/154099903321576574>
- Haydon, A. M., Macinnis, R. J., English, D. R., Giles, G. G. (2005): Usual diet before diagnosis and survival from colorectal cancer. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*, 1(2-3), 98-104. <https://doi.org/10.1111/j.1743-7563.2005.00019.x>
- Henriksen, H. B., Ræder, H., Bøhn, S. K., Paur, I., Kværner, A. S., Billington, S. Å., Eriksen, M.T., Wiedsvang, G., Erlund, I., Færden, A., Veierød, M.B., Zucknick, Z., Smeland, S., Blomhoff, R. (2017): The Norwegian dietary guidelines and colorectal cancer survival (CRC-NORDIET) study: a food-based multicentre randomized controlled trial. *BMC cancer*, 17(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3072-4>
- Juan, M. E., Wenzel, U., Ruiz-Gutierrez, V., Daniel, H., Planas, J. M. (2006): Olive fruit extracts inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *The Journal of nutrition*, 136(10), 2553-2557. <https://doi.org/10.1093/jn/136.10.2553>

- Kato, I., Akhmedkhanov, A., Koenig, K., Toniolo, P. G., Shore, R. E., Riboli, E. (1997): Prospective study of diet and female colorectal cancer: *the New York University Women's Health Study*. *Nutrition and Cancer*, 28(3), 276-281. <https://doi.org/10.1080/01635589709514588>
- Kutnjak Kiš, R. (2014): Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva-iskustva, rezultati i poteškoće u implementaciji programa u međimurskoj županiji. *Acta medica croatica*, 64(5), 363-373.
- Mindell, E. (1998): Hrana kao lijek, Mozaik knjiga, Zagreb
- Puntarić, D., Uršulin-Trstenjak, N.: Hrana i zdravlje. (2017): Puntarić, D., Ropac, D.: Higijena i epidemiologija, Poglavlje, Medicinska naklada, Zagreb
- Puntarić, D., Stašević, I., Ropac, D. (2017): Javno zdravstvo, Medicinska naklada, Zagreb
- Stephenson, L. E., Bebb, D. G., Reimer, R. A., Culos-Reed, S. N. (2009): Physical activity and diet behaviour in colorectal cancer patients receiving chemotherapy: associations with quality of life. *BMC gastroenterology*, 9(1), 60. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-9-60>
- Šamija M., D. Nemet, D. (2010): Potporno i palijativno liječenje onkoloških bolesnika, Medicinska naklada, Zagreb
- Štimac, D., Katičić, M., Kujundžić, M., Ljubičić, N., Poropat, G., Bokun, T. (2008): Značaj ranog otkrivanja raka debelog crijeva. *Medicina*, 44(1), 7-15.
- Tumbas, V. T., Četković, G. S., Đilas, S. M., Čanadanović-Brunet, J. M., Vulić, J. J., Knez, Ž., Škerget, M. (2010): Antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata*) peel. *Acta periodica technologica*, 41, 195-203. DOI: 10.2298/APT1041195T
- Vargas, A. J., Thompson, P. A. (2012): Diet and nutrient factors in colorectal cancer risk. *Nutrition in Clinical Practice*, 27(5), 613-623. <https://doi.org/10.1177/0884533612454885>

FOOD SAFETY /
ZDRAVSTVENA SIGURNOST HRANE

KEMIJSKA ANALIZA PLODA BRESKVE NA PODRUČJU HERCEGOVINE

CHEMICAL ANALYSIS OF PEACH FRUIT IN HERZEGOVINA

Lamija Aliman^{1*}, Jasmina Aliman², Alisa Hadžiabulić², Nađa Macić¹,
Nikolina Begović¹

¹Univerzitet u Sarajevu, Farmaceutski fakultet, Zmaja od Bosne 8,
71000 Sarajevo, BiH

²Univerzitet „Džemal Bijedić” u Mostaru, Agromediterranski fakultet,
Univerzitetski Kampus, 88104 Mostar, BiH

*lamija.aliman@hotmail.com

izvorni znanstveni rad / original scientific paper

SAŽETAK

Cilj rada bio je ispitati utjecaj različitih agroekoloških uvjeta na kemijska svojstva ploda pet sorti breskve na području Hercegovine. Kao materijal za istraživanje poslužili su plodovi breskve sorti *Maycrest*, *Springcrest*, *Spring Lady*, *Rich Lady* i *Elegant Lady* uzeti sa lokaliteta: Mostar, Stolac i Čapljina, tijekom tri godine. Od parametara kemijskog sastava analizirani su: sadržaj topljive suhe tvari (%), sadržaj ukupnih šećera (%), sadržaj ukupnih kiselina (%), te indeks zrelosti. Rezultati pokazuju statistički značajne razlike u kemijskom sastavu ploda breskve u zavisnosti od sorte i lokaliteta. Najveći prosječan sadržaj topljive suhe tvari (12,22 %) izmjeren je kod sorte *Elegant Lady* (Mostar), a najmanji (11,81 %) kod sorte *Maycrest* (Čapljina). Statistički značajno veći sadržaj ukupnih šećera (10,25 %) evidentiran je kod sorte *Elegant Lady* (Stolac), a najmanji kod sorte *Rich Lady* (9,14 %) na lokalitetu Mostar. Najveći sadržaj ukupnih kiselina (0,77 %) izmjeren je kod sorte *Maycrest* (Stolac), a najmanji (0,54 %) kod sorte *Elegant Lady* (Mostar). Najveći indeks zrelosti (22,68 %) imala je sorta *Elegant Lady* (Mostar), a najmanji (15,08 %) sorta *Maycrest* u Stocu. Može se zaključiti da se ispitivane sorte na sva tri lokaliteta odlikuju odličnom kvalitetom ploda u pogledu kemijskog sastava, te se mogu preporučiti farmerima za širenje u Hercegovini.

Ključne riječi: breskva, suha tvar, šećeri, kiseline

Keywords: peach, dry matter, sugars, acids

UVOD

Bosna i Hercegovina ima izuzetno povoljne agro-ekološke uvjete za uzgoj breskve, ali te mogućnosti nisu u dovoljnoj mjeri iskorištene. Ukupna proizvodnja od 7.727 t u 2016. godini daleko zaostaje za pojedinim državama Evrope čija ukupna proizvodnja iznosi 4.373.494 t. Najveći proizvođači breskve u Evropi su Španija (1529919 t), Italija (1427573 t) i Grčka (847990 t) (FAOSTAT, 2016). Povećanje potražnje potrošača i njihovih očekivanja zahtijevaju nastavak poboljšanja prinosa i kvalitete proizvodnje breskve.

U današnje vrijeme kvaliteta plodova je od temeljne važnosti za prihvatanje sorti bresaka i nektarina od strane potrošača, zbog velike konkurencije na tržištu (Crisosto i Crisosto, 2005, Crisosto i sur., 2006, Iglesias i Echeverría, 2009). Unutrašnju kvalitetu plodova breskve određuju komponente kemijskog sastava, prehrambena vrijednost, čvrstoća, sočnost, tekstura, slatkoća, kiselost, aroma i okus. Kramer i Twigg (1966) definiraju kvalitetu kao spoj fizičkih i kemijskih svojstava koje daju potrošaču privlačan proizvod.

Kemijski sastav plodova breskve uvjetovan je nasljednom osnovom sorte i podloge, klimatskim i zemljišnim uvjetima, kao i tehnologijom primijenjenom u proizvodnji. Pri analizi kemijskog sastava ploda breskve, većina autora se bavila proučavanjem sadržaja topivih suhih tvari i sadržaja ukupnih organskih kiselina ili pH vrijednosti. Jerie i Chalmers (1976) su konstatairali da za kvalitetu ploda breskve nije bitan samo kemijski sadržaj nego i i izbalansiranost različitih komponenti, koje su proizvod metaboličkih aktivnosti i koje se mijenjaju tokom porasta i sazrijevanja ploda. Izgled pokožice (boja i bez oštećenja), tekstura, okus i sadržaj šećera i kiselina su ključni činioci koji određuju kvalitetu svježih breskve i nektarine (Badenes i sur., 2006). Svi ovi parametri ne mogu djelovati neovisno jedan od drugog, te ih zato treba proučavati kao cjelinu, i odnose među njima, kako bi se poboljšao izbor ciljeva proizvodnje.

Prethodna istraživanja provedena kod breskve (Byrne i sur., 1991, Génard i sur. 1994, Esti i sur., 1997, Génard i sur., 1999) otkrila su povezanost između nekih pomoloških osobina koje se odnose na kvalitetu plodova.

Kemijska analiza plodova breskve, prema Wills i sur. (1983), pokazala je da plodovi breskve sadrže najveće količine vode (87 - 91 %), relativno nizak sadržaj šećera (4,6 - 9,6 %), manje organskih kiselina (0,5 - 1,3 %) i proteina (0,8 - 1,7 %). Od šećera značajni su glukoza, fruktoza, saharoza i sorbitol, a prisutni su i ksilitol, ksiloza, inozitol. Saharoza, koja je prisutna u najvećem postotku u zrelih plodovima breskve, daje plodovima bolji okus, ima antioksidativno djelovanje, te je važan izvor energije (Huberlant i Anderson, 1993).

Plodovi breskve sa većim sadržajem fruktoze su čvršći i boljeg okusa. Plodovi slabije kvalitete sadrže više saharoze i sorbitola i sedam puta veću količinu fenolnih spojeva u odnosu na plodove visoke kvalitete. Takvi plodovi breskve su gorkog okusa. Okus zavisi o kiselosti, topivoj suhoj tvari, pojedinim šećerima i organskim kiselinama, kao i od polifenolnih supstancija (Robertson i Meredith, 1988, Robertson i sur., 1989; Senter i Callahan, 1990).

Prema navodima Byrne i sur. (1991) najzastupljenije organske kiseline u plodu breskve su jabučna, limunska i hinolna kiselina, s tim što jabučna kiselina čini 50 - 60 %, limunska 20 - 25 %, a hinolna 20 - 25 % sadržaja ukupnih kiselina. Kvaliteta ploda breskve zavisi od relativne koncentracije svake organske kiseline, pošto se one međusobno razlikuju po okusu (Rakonjac, 2006).

Odnos između topljivih suhih tvari i ukupne kiselosti vrlo je važan parametar pri određivanju kvalitete voća, jer pruža informacije o odnosu šećera i kiselina, te njihovoj ravnoteži u plodovima.

Crisosto i sur. (2004) izvijestili su da u slučaju sorti s sadržajem ukupnih kiselina >0,9 %, a topljive suhe tvari <12,0 °Brix, prihvatljivost od strane potrošača je bila pod kontrolom interakcije između ukupnih kiselina i topljive suhe tvari, a ne samo topljive suhe tvari. Iz svega navedenog, ukazala se potreba za ispitivanjem kemijskog sastava breskve kod pojedinih sorti na području Bosne i Hercegovine.

MATERIJAL I METODE

Istraživanja su provedena na introduciranim sortama breskve *Maycrest*, *Spring Lady*, *Rich Lady* i *Elegant Lady*, te standardnoj sorti *Springcrest* tokom trogodišnjeg perioda (2009-2011). Podloga za sve sorte je GF 677.

Ispitivanja su obavljena na tri najznačajnija lokaliteta uzgoja breskve u Hercegovini:

- u ekološkim uvjetima srednjeg toka rijeke Neretve, u okolini Mostara, u proizvodnom zasadu „Jaffa comerc“ Blagaj, na nadmorskoj visini oko 45 m,
- u ekološkim uvjetima donjeg toka rijeke Neretve, na plantažama kod Čapljinje (Nerezi), na nadmorskoj visini oko 10 m, te
- na Dubravskoj visoravni, lokalitet Aladinići kod Stoca, na nadmorskoj visini oko 350 m.

Pokus je postavljen po "Metodi slučajnog blok rasporeda", sa po 5 stabala za svaku sortu, ukupno 25 stabala. Zasad se nalazi u punoj rodnosti. Razmaci sadnje su 4 x 2,5 m, a uzgojni oblik modificirano vitko vreteno.

Uzimanje uzoraka i sve kemijske analize rađene su po Pravilniku o metodama uzimanja uzoraka i provođenja kemijskih i fizičkih analiza, u cilju kontrole kvalitete proizvoda od voća i povrća (Službeni list SFRJ br. 29/83 – preuzeto Sl. list R BiH 2/92). Sadržaj topljive suhe tvari mjeren je refraktometrom i izražava se kao postotak topljivih tvari u 100 g soka, a izražava se u postocima (%). Određivanje ukupnih šećera izvršeno je Luff-Schoorl metodom i izraženo u postocima (%). Ukupna titracijska kiselost određena je titracijom sa NaOH 0,1 N do pH 8,1 (AOAC, 1984), a izražena je kao postotak jabučne kiseline kao dominantne u 100 g svježeg ploda breskve. Indeks zrelost izračunat je kao omjer između topljive suhe tvari i ukupne kiselosti.

Svi dobiveni brojevi pokazatelji bili su podvrgnuti matematsko-statističkoj analizi i kao takvi služe kao egzaktn temelj za donošenje zaključaka upotrebljivih u neposrednoj proizvodnoj praksi. Sve statističke analize obavljene su pomoću programskih paketa Statsoft Statistika 7 i SAS program (Statistical Analysis System).

REZULTATI I RASPRAVA

Sadržaj topljive suhe tvari

Cantin i sur. (2010) ukazuju da na istom stupnju zrenja, plodovi veće čvrstoće, imaju više topljive suhe tvari. Ova povezanost je važna, jer izborom genotipova sa visokim sadržajem topljive suhe tvari nastojat će se utjecati na veću čvrstoću, a s druge strane, na manju osjetljivost na mehanička oštećenja tokom rukovanja, pakiranja i transporta (Crisosto i sur., 2001). Podaci o sadržaju topljive suhe tvari (%) u plodovima ispitivanih sorti breskve na svim lokalitetima u periodu od 2009 do 2011. godine, prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Sadržaj topljive suhe tvari (%) u plodovima ispitivanih sorti breskve
Table 1. The content of soluble solid (%) in the fruit examined varieties peach

Sorta	Mostar	Dubrave	Čapljina	Prosjeck/Average
<i>Maycrest</i>	11,13b	11,62b	10,92b	11,22b
<i>Spring Crest</i>	11,94ab	11,63b	11,19b	11,59ab
<i>Spring Lady</i>	11,84ab	11,94ab	11,19b	11,83ab
<i>Rich Lady</i>	11,35ab	11,81ab	11,47ab	11,54ab
<i>Elegant Lady</i>	12,22a	11,99a	11,81a	12,01a
Prosjeck/Average	11,69ab	11,80a	11,42b	

Najmanji prosječan sadržaj topljive suhe tvari (10,92 %) imali su plodovi sorte *Maycrest* u Čapljini, a najveći (12,22 %) kod sorte *Elegant Lady* u Mostaru. Sorte *Springcrest*, *Spring Lady* i *Rich lady* imale su približne vrijednosti ovog parametra. Zabilježen je i utjecaj lokacije, pa su najveće vrijednosti topljive suhe tvari evidentirane na području Dubrava, a najmanje na području Čapljine.

Dobiveni rezultati pokazuju da se sorte kasnije perioda zrenja odlikuju većim sadržajem topljive suhe tvari u odnosu na rane sorte.

Do sličnih rezultata su došli i Gil i sur. (2002), Herreros (2004) kod sorte *Rich Lady*, te Nenadović-Mratinić i sur. (2003) i Odalović (2002) kod sorte *Elegant Lady*.

Rezultati analize sadržaja topljive suhe tvari Odalovića (2002) kod sorte *Maycrest* i *Springcrest* imaju nešto niže vrijednosti u odnosu na rezultate ovog istraživanja.

Sadržaj ukupnih šećera

Visok udio šećera i u manjoj mjeri visok udio kiselina, su ocijenjeni kao pogodno svojstvo kvalitete ploda od strane potrošača (Crisosto i Crisosto 2005).

Engel i sur. (1988) te Byrne (2002) su ustanovili da sorte srednje i kasne epohe sazrijevanja imaju veći kapacitet za akumulaciju šećera u usporedbi sa sortama ranog zrenja zbog kontinuiranog procesa rasta ploda.

Podaci o sadržaju ukupnih šećera (%) u plodovima ispitivanih sorti breskve na svim lokalitetima u periodu od 2009 do 2011. godine prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Sadržaj ukupnih šećera (%) u plodovima ispitivanih sorti breskve
Table 2. The content of total sugars (%) in the fruit examined varieties peach

Sorta	Mostar	Dubrave	Čapljina	Prosjeak/Average
<i>Maycrest</i>	9,44ab	9,76b	9,25b	9,48b
<i>Spring Crest</i>	10,05a	9,98ab	9,61ab	9,88a
<i>Spring Lady</i>	9,99a	9,99ab	9,74a	9,91a
<i>Rich Lady</i>	9,14b	9,82ab	9,64ab	9,53b
<i>Elegant Lady</i>	9,87ab	10,25a	9,79a	9,97a
Prosjeak/Average	9,70b	9,96a	9,61ab	

Pregledom podataka iz Tablice 2 vidljivo je da je u ispitivanom periodu najmanja vrijednost sadržaja ukupnih šećera od 9,14 % izmjerena kod sorte *Rich Lady* u Mostaru, a najveća kod sorte *Elegant lady* u Dubravama (10,25 %). Najveći prosječan sadržaj ukupnih šećera u ispitivanom periodu na svim lokalitetima izmjeren je kod sorte *Elegant Lady* (9,97 %), a najmanji kod sorte *Maycrest* (9,48 %).

Pregledom podataka prezentiranih u Tablici 2 evidentno je da postoji statistički značajan utjecaj lokacije na ispitivano obilježje. Najveći sadržaj ukupnih šećera zabilježen je u plodovima dobivenim sa lokaliteta Dubrave, a najmanja vrijednost ovog parametra evidentirana je na lokalitetu Čapljina, dok je sadržaj šećera u plodovima svih sorti u Mostaru bio na prelazu između ove dvije lokacije.

Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima Engel i sur. (1988) i Byrne (2002) koji navode da se u kasnijim periodima zrenja sorte breskve odlikuju većem sadržaju ukupnih šećera.

Rezultati o sadržaju ukupnih šećera kod sorte *Elegant Lady* su u skladu sa rezultatima Nenadović-Mratinić i sur. (2003).

Sadržaj ukupnih kiselina

Hilaire (2003) ističe da je gornja granica za normalnu kiselost kod breskve 0,9 %. Bassi i Selli (1990) su izvijestili da visoka kiselost, objašnjava nezadovoljstvo potrošača okusom nekih sorti breskve.

Podaci o prosječnom sadržaju ukupnih kiselina (%) u plodovima ispitivanih sorti breskve predstavljani su Tablicom 3.

Tablica 3. Sadržaj ukupnih kiselina (%) u plodovima ispitivanih sorti breskve
Table 3. The content of total acids (%) in the fruit examined varieties peach

Sorta	Mostar	Dubrave	Čapljina	Prosjeak/Average
<i>Maycrest</i>	0,64b	0,77a	0,71a	0,71a
<i>Spring Crest</i>	0,70a	0,58c	0,66b	0,64b
<i>Spring Lady</i>	0,60b	0,58c	0,61b	0,60c
<i>Rich Lady</i>	0,72a	0,65b	0,74a	0,71a
<i>Elegant Lady</i>	0,54b	0,59c	0,62b	0,58c
Prosjeak/Average	0,64b	0,64b	0,67a	

Iz Tablice 3 vidljivo je da sadržaj ukupnih kiselina (%) u plodovima svih ispitivanih sorti breskve je u granicama kiselosti do 0,90 % (Hilaire, 2003).

Najmanji sadržaj ukupnih kiselina izmjeren je kod sorte *Elegant Lady* u Mostaru (0,54 %), a najveći u sorte *Maycrest* na lokalitetu Dubrave (0,77 %).

Najmanja prosječna vrijednost sadržaja ukupnih kiselina u plodovima svih sorti na svim lokalitetima u ispitivanom periodu registrirana je kod sorte *Elegant Lady* (0,58 %), a najveća kod sorte *Maycrest* i *Rich Lady* (0,71 %).

Značajno najveći sadržaj ukupnih kiselina izmjeren je u plodovima dobivenim sa lokaliteta Čapljina (0,67 %), dok između lokaliteta Mostar i Dubrave nisu utvrđene statistički značajne razlike (0,64 %).

Ukupne kiseline kod sorte *Maycrest* u ovom istraživanju su niže od rezultata koje opisuju Pejkić i sur. (2002) (0,74 %).

Za sortu *Springcrest*, vrijednost sadržaja ukupnih kiselina (0,64 %) takođe, je niža od onih koje navode Odalović (2002) i Taheri i Hajnajari (2010).

Sadržaj ukupnih kiselina u plodovima sorte *Spring Lady* i *Rich Lady* je bio manji u odnosu na rezultate koje navode Gil i sur. (2002).

Kod sorte *Elegant Lady* registrirana je vrijednost ukupnih kiselina približna rezultatu Nenadović i sur. (2003), a manja u odnosu na rezultate Crisosto i sur. (2006).

Iz navedenih rezultata sadržaja ukupnih kiselina, može se utvrditi da je kod svih ispitivanih sorti izmjeren manji sadržaj ukupnih kiselina u odnosu na druge navedene izvore. Iz navedenog se može zaključiti da na oglednim lokalitetima postoje povoljni agroekološki uvjeti za dobivanje kvalitetnih plodova breskve koji bi bili dobro prihvaćeni od strane potrošača (Bassi i Selli, 1990).

Indeks zrelosti (RI)

U breskve, indeks zrelosti je glavno organoleptičko kvalitativno obilježje zrelog ploda i obično se koristi kao pokazatelj kvalitete (Bassi i Selli, 1990).

Abidi i sur. (2011) su u svom istraživanju nekih genotipova nektarine došli do vrijednosti indeksa zrelosti u rasponu od 13,8 do 35,8 zavisno od genotipa, sadržaja topljive suhe tvari i sadržaja ukupnih kiselina.

Cantin i sur. (2010) ističu da indeks zrelosti varira od 6,5 do 45,7 i ovisi o sadržaju topljive suhe tvari i ukupnih kiselina. Robertson i sur. (1989) ističu da se omjer šećera i kiselina koristi kao indeks kvalitete i obično se preferiraju veće vrijednosti ovog parametra. Crisosto i sur. (1997) izvještavaju da je veća povezanost indeksa zrelosti sa kvalitetom prehrane nego sa sadržajem topljive suhe tvari i ukupnih kiselina pojedinačno.

Podaci o izračunatoj prosječnoj vrijednosti indeksa zrelosti prikazani su u Tablici 4.

Tablica 4. Prosječne vrijednosti indeksa zrelosti ispitivanih sorti breskve
Table 4. The average of ripening index (RI) of examined varieties peach

Sorta	Mostar	Dubrave	Čapljina	Prosjek/Average
<i>Maycrest</i>	17,5c	15,08d	15,75d	16,11cd
<i>Spring Crest</i>	17,37c	20,68a	17,11c	18,39b
<i>Spring Lady</i>	20,47a	20,6a	19,7b	20,26b
<i>Rich Lady</i>	15,69cd	18,1bc	15,58cd	16,46cd
<i>Elegant Lady</i>	22,68a	20,32b	19,09b	20,70a
Prosjek/Average	18,74b	18,96b	17,45c	

Uvidom u rezultate o vrijednosti indeksa zrenja prikazane u Tablici 4, evidentno je da taj odnos varira od 15,08 kod sorte *Maycrest* u Dubravama do 22,68 kod *Elegant Lady* u Mostaru. Navedeni podaci se podudaraju sa rezultatima Abidi i sur. (2011) i Cantin i sur. (2010).

Iz dobivenih pokazatelja moglo bi se zaključiti da od svih ispitivanih sorti, najbolji odnos šećera i kiselina na svim lokalitetima ima *Elegant Lady* kao sorta najkasnijeg vremena zrenja.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenih istraživanja sadržaja topljive suhe tvari, ukupnih šećera i ukupnih kiselina, te izračunatog indeksa zrelosti mogu se izvesti sljedeći zaključci: Značajno najveća vrijednost prosječnog sadržaja topljive suhe tvari evidentirana je u plodovima sorte *Elegant Lady* u Mostaru (12,22 %), a najmanji kod sorte *Maycrest* u Čapljini (10,92 %). Zabilježen je i značajan utjecaj lokacije, pa su najveće vrijednosti topljive suhe tvari evidentirane na području Dubrava, a najmanje na području Čapljine. Dobiveni rezultati pokazuju da se sorte koje kasnije zriju odlikuju većim sadržajem topljive suhe tvari u odnosu na rane sorte.

Do sličnih rezultata došlo se i mjerenjem sadržaja ukupnih šećera, pa su plodovi sorte *Elegant Lady* imali najveći prosječan sadržaj ukupnih šećera (10,25 %), a značajno najmanja vrijednost ukupnih šećera evidentirana je kod sorte *Rich Lady* u Mostaru (9,14 %). Najveći prosječan sadržaj ukupnih šećera u ispitivanom periodu na svim lokalitetima izmjeren je kod sorte *Elegant Lady* (9,97 %), a najmanji kod

sorte *Maycrest* (9,48 %). Najveći sadržaj ukupnih šećera zabilježen je u plodovima dobivenim sa lokaliteta Dubrava, a najmanja vrijednost ovog parametra evidentirana je na lokalitetu Čapljine. Najveći sadržaj ukupnih kiselina izmjeren je kod sorte *Maycrest* na lokalitetu Dubrave (0,77 %), a najmanji sadržaj ukupnih kiselina izmjeren je kod sorte *Elegant Lady* u Mostaru (0,54 %). Najmanja prosječna vrijednost sadržaja ukupnih kiselina u plodovima svih sorti na svim lokalitetima u ispitivanom periodu registrirana je kod sorte *Elegant Lady* (0,58 %), a najveća kod sorte *Maycrest* i *Rich Lady* (0,71 %). Evidentno je da je najveći sadržaj ukupnih kiselina izmjeren u plodovima dobivenim sa lokaliteta Čapljina (0,67 %), dok između lokaliteta Mostar i Dubrave nisu vidljive razlike u pogledu ovog obilježja (0,64 %). Vrijednost indeksa zrelosti pokazuje da taj odnos varira od 15,08 kod sorte *Maycrest* u Dubravama do 22,68 kod *Elegant Lady* u Mostaru. Iz dobivenih rezultata moglo bi se zaključiti da od svih ispitivanih sorti, najbolji prosječan odnos šećera i kiselina na svim lokalitetima ima *Elegant Lady* (20,70) kao sorta kasnijeg vremena zrenja, dok je najmanji prosječan indeks zrelosti na svim lokalitetima zabilježen kod sorte *Maycrest* (16,11). Na osnovu provedenih istraživanja može se zaključiti da su se ispitivane sorte u velikoj mjeri adaptirale na specifične agroklimatske uvjete submediteranske Hercegovine i po svojim kvantitativno-kvalitativnim karakteristikama zadovoljavaju moderne zahtjeve tržišta.

LITERATURA

- Abidi, W., Jiménez, S., Ángeles, M. M., Gogorcena, Y. (2011): Evaluation of Antioxidant Compounds and Total Sugar Content in a Nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] Progeny, *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 6919-6935. DOI: 10.3390/ijms12106919
- AOAC (1984): Official Methods of Analysis, Vol, Arlington, VA, p 1141
- Badenes, M.L., LLácer G., Crisosto, C.H. (2006): Mejora de la Calidad de Frutales de Hueso. In: LLácer G., Díez, M.J., Carrillo, J.M., Badenes, M.L. (eds) Mejora genética de la calidad en plantas. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética, Valencia, p 551-578
- Bassi, D., Selli, R. (1990): Evaluation of fruit quality in peach and apricot. *Adv. Hort. Sci.* 1990, 4, 107–112.
- Byrne, D.H., Nikolic, A.N., Burns, E.E. (1991): Variability in sugar, acids, firmness and color characteristics of 12 peach genotypes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 116: 1004–1006. DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS.116.6.1004>
- Byrne, D.H. (2002): Peach breeding trends. A world wide perspective. *Acta Horticulturae* 592:49-59. DOI: 10.17660/ActaHortic.2002.592.5
- Cantín, C., Gogorcena, Y., Moreno, M.A. (2010): Phenotypic diversity and relationships of fruit quality traits in peach and nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] breeding progenies. *Euphytica*.171: 211–226. DOI: 10.1007/s10681-009-0023-4

- Crisosto, C.H., Johnson, R.S., DeJong, T.M., Day, K.R. (1997): Orchard factors affecting postharvest stonefruit quality. *HortScience* 32:820–823.
- Crisosto, C.H., Slaughter, D., Garner, D., Boyd, J. (2001): Stone fruit critical bruising. *J. Am.Pomol. Soc.* 55(2), 76–81.
- Crisosto, C.H., Garner, D., Andris, H.L., Day, K.R. (2004): Controlled delayed cooling extends peach market life. *Hort. Technol.* 2004, 14, 99–104.
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M. (2005): Relationship between ripe soluble solids concentration (RSSC) and consumer acceptance of high and low acid melting flesh peach and nectarine [*P. persica* (L.) Batsch] cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 38:239-246
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., Neri, F. (2006): Understanding tree fruit quality based on consumer acceptance. *Acta Horticulturae* 712:183-189 20
- Engel, K.H., Ramming, D.W., Flath, R.A., Teranishi, R. (1988): Investigation of volatile constituents in nectarines. 2. Changes in aroma composition during nectarine maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36:1003-1006. DOI: 10.1021/jf00083a024
- Esti, M., Messia, M.C., Sinesio, F., Nicotra, A., Conte, L., Notte, E., Palleschi, G. (1997): Quality evaluation of peaches and nectarines by elektrochemical and multivariate analyses: relationships between analytical measurements and sensory attributes. *Food Chemistry*, 60: 659–666. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00306-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00306-8)
- FAOSTAT 2016. <http://www.faostat.fao.org>
- Genard, M., Souty, M., Holmes, S., Reich, M., Breuils, L. (1994): Correlations among quality parameters of peach fruit. *J. Sci. Food Agric.*, 66: 241–245. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740660220>
- Génard, M., Reich, M., Lobit, P., Besset, J. (1999): Correlations between sugar and acid content and peach growth. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 74:772-776. <https://doi.org/10.1080/14620316.1999.11511187>
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A. (2002): Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J Agric Food Chem* 50: 4976-4982. DOI: 10.1021/jf020136b
- Herrerros, A. (2001 – 2004): Agronomic evaluation of six new peach and nectarine rootstocks for Chile. Proyecto FDI-CORFO 00C7AT – 12. “Introducción, Caracterización y Evaluación Productiva de Nuevos Portainjertos de Duraznero y Nectarino en Chile (2001 – 2004)

- Hilaire, C. (2003): The Peach Industry in France: State of Art, Research and Development. In Proceeding of the First Mediterranean Peach Symposium, Agrigento, Italy
- Huberlant, J., Anderson, G.H. (1993): Sucrose. In: Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition. Macrae R., Robinson R.K., Sadler M.J. (eds.). London, Academic Press: 4431-4439.
- Iglesias, I, Echeverría, G. (2009): Differential effect of cultivar and harvest date on nectarine colour, quality and consumer acceptance. *Scientia Horticulturae* 120:41-50. DOI.10.1016/j.scienta.2008.09.011
- Jerie, P.H., Chalmers, D.J. (1976): Ethylene as a growth hormone in peach fruit. *Aust. J. Plant Physiol.*, 3:429-434. <https://doi.org/10.1071/PP9760429>
- Kramer, A., Twigg, B.A. (1966): Fundamentals of Quality Control for the Food Industry, Vol. *Avi Publishing*, Westport, CT, p 512
- Nenadović-Mratinić, E., Milatović, D., Đurović, D. (2003): Biološko-proizvodne osobine sorti breskve srednje do poznog vremena zrenja, *Zbornik naučnih radova*, 9, 169-175
- Odalović, A. (2002). Pomološke osobine novih sorti breskve (*Prunus persica* (L.) Batsch) u rejonu Čemovskog polja, Doktorska disertacija, Novi Sad
- Rakonjac, V. (2006): Genetička analiza prinosa i kvaliteta ploda sorti i hibrida breskve, *Voćarstvo*, Vol. 40. Br. 156 (4), 289-299
- Robertson, J.A., Meredith, F.I. (1988): Characteristics of fruit from high- and low-quality peach cultivars. *HortScience*, 23, 6: 1032-1034.
- Robertson, J.A., Meredith, F.I., Scorza R. (1989): Physical, chemical and sensory evaluation of high and low quality peaches. *Acta Horticulturae*, 254: 155-159.
- Senter, S.D., Callahan, A. (1990): Variability in the quantities of condensed tannins and other major phenols in peach fruit during maturation. *Journal of Food Science*, 55, 6: 1585-1587. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb03575.x>
- Taheri, G., Hajnajari, H. (2010): Evaluation of 22 peach cultivars in Moghan (Iran) climatic conditions, Международная дистанционная научная конференция «Интенсификация плодовоговодства Беларуси: Традиции, достижения, перспективы» Минский р-н, Беларусь
- Wills, R.B.H., Scriven, F.M., Greenfield, H. (1983): Nutrient composition of stone fruit (*Prunus spp.* cultivars: apricot, cherry, nectarine, peach and plum). *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 34, 12: 1383-1389. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740341211>

**REZULTATI PRAĆENJA OSTATAKA PESTICIDA U I NA HRANI
BILJNOG PODRIJETLA NA TRŽIŠTU BOSNE I HERCEGOVINE U 2017.**

**RESULTS MONITORING OF PESTICIDE RESIDUES IN OR ON FOOD OF
PLANT ORIGIN IN BOSNIA AND HERZEGOVINA IN 2017**

**Džemil Hajrić, Dragan Brenjo, Katica Arar*, Dragan Tomović,
Armin Čolaković, Ivana Zovko**

*Agencija za sigurnost hrane Bosne i Hercegovine, Kneza Višeslava bb,
88000 Mostar, BiH
arar@fsa.gov.ba

pregledni rad / review paper

SAŽETAK

Praćenje ostataka pesticida u i na hrani ima za cilj utvrditi količinu ostataka pesticida i njihovih metabolita u odabranim proizvodima, provjeriti odgovaraju li propisima koji određuju maksimalne razine ostataka (MRL) pesticida i pridržavaju li se proizvođači načela dobre poljoprivredne prakse (GAP) te na taj način doprinijeti zaštiti zdravlja potrošača. U okviru praćenja ostataka pesticida u 2017. godini ukupno je uzorkovano 195 uzoraka hrane biljnog podrijetla i analizirano na 213 različitih aktivnih tvari te je provedeno 31 486 analiza. Od ukupno uzetih 195 uzoraka, 105 uzoraka je voća, 70 uzoraka povrća i 20 uzoraka ostalih kategorija hrane (voćne kaše za djecu na bazi povrća, pšenica u zrnu/brašno pšenično i kultivirane gljive). Na osnovu obrađenih laboratorijskih izvješća utvrđeno je da je, od ukupnog broja uzoraka, kod četiri uzorka (2 %) vrijednost ostataka pesticida iznad maksimalno dopuštene količine i to kod jednog uzorka kultiviranih gljiva, dva uzorka stolnog grožđa i jednog uzorka šljive. Od ukupnog broja analiziranih uzoraka kod 60 uzoraka (31 %) su detektirani ostaci pesticida ispod propisane maksimalno dopuštene količine, dok u 131 uzorku (67 %) ostaci pesticida nisu detektirani. Ostaci pesticida nisu nađeni u uzorcima voćne kaše, suhog graha, krastavca kornišona, krumpira, mandarina i mladog luka.

Ključne riječi: pesticidi, praćenje, maksimalni nivo ostataka pesticida, voće i povrće

Keywords: pesticides, monitoring, maximum level of pesticide residues, fruits and vegetables

UVOD

Ostaci pesticida u i na hrani biljnog i životinjskog podrijetla pojavljuju se kao rezultat upotrebe kemijskih sredstava u zaštiti bilja, biocidnih preparata i u veterinarskoj medicini. Ostaci pesticida prisutni u i/ili na hrani uključuju aktivne tvari, njihove metabolite i/ili proizvode razgradnje ili proizvode reakcije aktivnih tvari koje se trenutno koriste ili su se prije koristile u sredstvima za zaštitu bilja, biocidnih preparata i u veterinarskoj medicini. Nivo ostataka pesticida zavisi od količine primijenjenog sredstva za zaštitu bilja, vremenskom roku koji je prošao od zadnjeg tretiranja kulture odnosno karenci, o broju primjena, fizikalno-kemijskim svojstvima sredstava i o poljoprivrednoj kulturi na kojoj se sredstvo primjenjuje.

Praćenje ostataka pesticida u i na hrani ima za cilj ustanoviti količinu ostataka pesticida i njihovih metabolita u hrani biljnog podrijetla, provjeriti odgovaraju li Pravilniku o maksimalno dopuštenoj količini ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla (Službeni glasnik BiH, broj 89/12) i pridržavaju li se proizvođači načela dobre poljoprivredne prakse (GAP), te na taj način zaštititi zdravlje potrošača kao i provjeriti koriste li se fitofarmaceutska sredstva (FSS) na odgovarajući način tj. u skladu sa Zakonom o fitofarmaceutskim proizvodima BiH (Službeni glasnik BiH, broj 49/04).

Praćenje ostataka pesticida obuhvaća nekoliko faza: uzorkovanje, u skladu s Pravilnikom o metodama uzorkovanja za provođenje službene kontrole ostataka pesticida u i na proizvodima biljnog i životinjskog podrijetla (Službeni glasnik BiH, broj 78/12) i Pravilnikom o provođenju plana praćenja hrane (Službeni glasnik BiH, broj 21/11), zatim obradu uzoraka, identifikaciju prisutnih pesticida i određivanje nivoa njihovih ostataka, eventualnu procjenu rizika te pisanje privremenih izvješća i godišnjeg izvješća.

Ovakvi programi kontrole ostataka pesticida prije svega pokazuju opredijeljenost institucija Bosne i Hercegovine koje su uključene u lanac sigurnosti hrane za redovitim nadzorom hrane na tržištu, u konkretnom slučaju kontrolu hrane na rezidue pesticida. Navedeni program kontrole kontinuirano se provodi već četiri godine (od 2013. godine), s tendencijom povećanja broja aktivnih tvari koje se kontroliraju u proizvodu, kao i broja proizvoda i njihovih uzoraka iz godine u godinu. Dosadašnji programi su provođeni na cca 50 % uvoznih i 50 % domaćih proizvoda, uglavnom voća i povrća, dok je za 2017. godinu planirana veća zastupljenost kontrole domaćih proizvoda u cilju poboljšanja uvjeta i spremnosti domaćih proizvođača za izvozom svojih proizvoda na tržište EU kao i trećih zemalja, Rusije, Turske i dr.

Maksimalni količina ostataka pesticida (MRL) je najviša zakonski dopuštena koncentracija ostatka pesticida u ili na hrani ili hrani za životinje uspostavljena na osnovu dobre poljoprivredne prakse i najmanje potrebne izloženosti potrošača u svrhu zaštite osjetljive populacije potrošača. Najniža granica na kojoj se ostaci izvještavaju kao apsolutni brojevi, jest granica izvještavanja (*reporting limit*) RL i uglavnom predstavlja praktičnu granicu određivanja LOQ. MRL se izražava u mg/kg proizvoda. Minimalna koncentracija za svaku aktivnu tvar je $RL/LOQ \leq MRL$. Ako nema MRL, $RL/LOQ \leq 0,01$, a za formule i hranu za dojenčad $RL/LOQ \leq 0,003$.

Granica određivanja (LOQ) je najniža koncentracija ostatka pesticida koja može biti određena i objavljena kao rezultat rutinskog praćenja uz validirane metode kontrole. Koristi se još i naziv granica kvantifikacije (LOQ), kako ne bi došlo do zamjene s granicom detekcije (također LOD), koja je uvijek manja od granice određivanja LOQ. Moguće je dakle ustanoviti prisutnost pojedine aktivne tvari u koncentraciji manjoj od granice određivanja, no nije je moguće kvantitativno odrediti s prihvatljivom točnošću i preciznošću.

Pravilnikom o maksimalnoj količini ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla (Službeni glasnik BiH, broj 89/12) propisane su najveće koncentracije ostataka pesticida koje smiju sadržavati proizvodi biljnog i životinjskog podrijetla. Proizvodima čiji je MRL pesticida iznad dopuštene količine nije dozvoljeno stavljanje na tržište Bosne i Hercegovine prije procjene rizika izloženosti potrošača od neispravne hrane biljnog podrijetla koju će provesti Agencija za sigurnost hrane Bosne i Hercegovine.

MRL vrijednosti su prvobitno bile uspostavljene radi lakše trgovine, a ne kao sigurnosne granice vezane uz zaštitu ljudskog zdravlja. Zbog toga prekoračenje MRL vrijednosti ne znači odmah i ugrožavanje ljudskog zdravlja, jer su toksikološke granice daleko iznad MRL vrijednosti. Ipak, svako prekoračenje MRL vrijednosti ukazuje na: procjenu rizika za potrošače tog proizvoda, upozorenja proizvođaču proizvoda da primjenjuje pesticid u skladu sa dobrom poljoprivrednom praksom, odnosno uputama za primjenu pesticida, preporuku inspekcijskim službama da pojačaju kontrolu uzoraka proizvoda kod kojih je analizom utvrđeno prekoračenje MRL kao i proizvođača koji tim proizvodima snabdijevaju tržište.

Ukoliko se utvrdi prekoračenje MRL, Agencija je dužna poduzeti sve propisane mjere i u skladu s procjenom rizika obavijestiti nadležne inspekcijske organe. Subjekt u poslovanju s hranom dužan je obavijestiti sva prodajna mjesta i distributere te po potrebi, ukoliko procjena rizika to zahtijeva, i javnost.

MATERIJAL I METODE RADA

Agencija za sigurnost hrane Bosne i Hercegovine u suradnji s Upravom Bosne i Hercegovine za zaštitu zdravlja bilja i Uredom za veterinarstvo Bosne i Hercegovine, izradila je navedeni Program praćenja ostataka pesticida za 2017. godinu koji je u skladu sa koordiniranim višegodišnjim programom kontrole koji se provodi u državama Europske unije za 2016.-2018. godine, odnosno u skladu s provedbenom Uredbom Komisije (EU) broj 2015/595 od 15.04.2015. godine o koordiniranom višegodišnjem programu kontrole Unije za 2016., 2017. i 2018. za osiguranje usklađenosti s maksimalnim dopuštenim ostatkom pesticida i ocjenu izloženosti potrošača ostacima pesticida u i na hrani biljnog i životinjskog podrijetla. Praćenje ostataka pesticida zasnovan je na procjeni rizika i usmjeren je posebno na procjenu izloženosti potrošača i usklađenosti s važećim zakonodavstvom koje je, u navedenoj problematici, usklađeno s relevantnom legislativom na nivou Europske unije, a prije svega s Uredbom broj 396/2005 od 23. veljače 2005. godine o maksimalno dopuštenim količinama rezidua pesticida u hrani/hrani za životinje

biljnog i životinjskog podrijetla i izmjene Direktive Vijeća 91/414/EEZ, kao i svim njenim izmjenama i dopunama.

Broj uzoraka je postavljen sukladno Uredbi Komisije EU broj 2016/662 i uzorkovano je ukupno 195 uzoraka hrane od čega je 109 ili 56 % domaćih uzoraka a uvoznih 86 ili 44 %. Praćenje je obuhvaćalo ispitivanje ostataka pesticida na ukupno 20 vrsta proizvoda biljnog podrijetla i to: kruška, jabuka, malina, šljiva, breskva (nektarina), grožđe, naranča, grah sušeni, jagoda, kultivirane gljive, mladi luk, krastavac kornišon, rajčica, paprika, krumpir, zelena salata, špinat, pšenica u zrnu/brašno pšenično, mandarina, voćna kaša za djecu na bazi povrća.

Uzimanje uzoraka je izvršeno u tri faze tijekom 2017. godine i to u periodu od 30. svibnja do 08. lipnja (I faza), od 06. do 07. srpnja i od 17. do 27. srpnja (II faza) i od 14. kolovoza do 28. rujna (III faza).

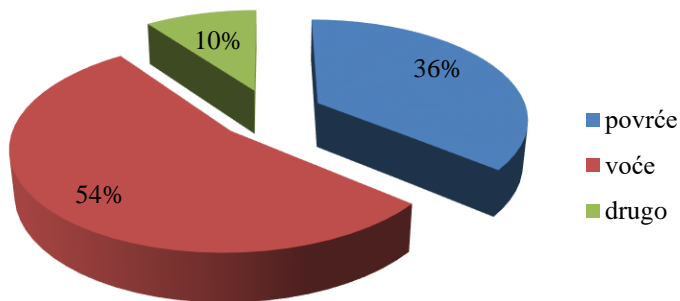
Program praćenja ostataka pesticida u i na proizvodima biljnog podrijetla u 2017. godini je pripremila i koordinirala Agencija za sigurnost hrane BiH, a proveden je u suradnji sa županijskim ministarstvima zaduženim za poljoprivredu i javno zdravstvo, županijskim upravama za inspeksijske poslove, lokalnim upravama za inspeksijske poslove gradova i općina i inspektoratom Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine.

Analizom proizvoda u referentnom laboratoriju je ustanovljena količina ostataka pesticida u hrani odnosno proizvodima biljnog podrijetla te je izvršena provjera usklađenosti propisa sa EU legislativom koja određuje maksimalno dopuštene ostatke pesticida. Praćenjem je analizirano 195 uzoraka hrane biljnog podrijetla na ukupno 213 različitih aktivnih tvari.

REZULTATI I RASPRAVA

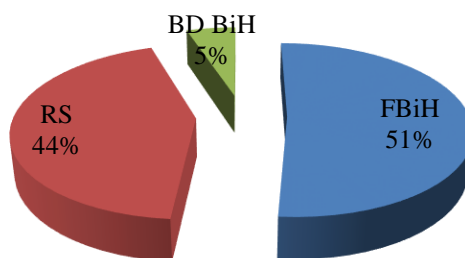
U okviru ovog praćenja ostataka pesticida ukupno je uzorkovano 195 uzoraka hrane biljnog podrijetla i analizirano na 213 različitih aktivnih tvari te je urađeno 31 486 analiza.

Od ukupno uzetih 195 uzoraka, 105 uzoraka je voća, 70 uzoraka povrća i 20 uzoraka ostalih kategorija hrane (voćne kaše za djecu na bazi povrća, pšenica u zrnu/brašno pšenično i kultivirane gljive), a zastupljenost pojedinih kategorija hrane je prikazana na Slici 1.



Slika 1. Zastupljenost pojedinih kategorija hrane izražene u %
Figure 1. Representation of certain categories of food expressed in %

Od ukupno 195 uzoraka, u Federaciji BiH je uzorkovano 100 uzoraka, u Republici Srpskoj 85 uzoraka, a u Brčko Distriktu BiH 10 uzoraka (Slika 2).



Slika 2. Teritorijalna zastupljenost uzimanja uzoraka u BiH
Figure 2. Territorial representation of sampling in B&H

Pregled vrsta proizvoda biljnog podrijetla koji su bili obuhvaćeni praćenjem ostataka pesticida u Bosni i Hercegovini za 2017. godinu prikazani su u Tablici 1.

Na osnovu obrađenih laboratorijskih izvješća utvrđeno je da od ukupnog broja uzorkovanih i analiziranih uzoraka kod četiri uzorka (2 %) je vrijednost ostataka pesticida iznad maksimalno dozvoljene količine propisane Pravilnikom i to kod jednog uzorka kultiviranih gljiva (Iprodion 0,052 mg/kg), dva uzorka stolnog grožđa (Acetamiprid 0,018 mg/kg i Acetamiprid 0,177 mg/kg), jednog uzorka šljive (Acetamiprid 0,088 mg/kg).

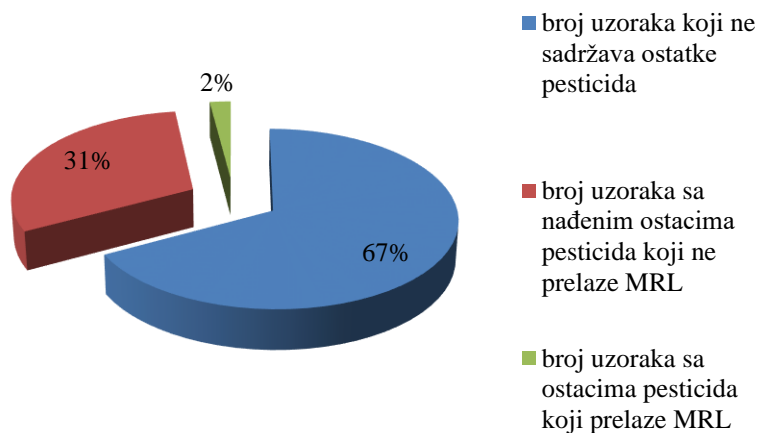
Od ukupnog broja analiziranih uzoraka kod 60 (31 %) uzoraka je detektirano prisustva ostataka pesticida ispod propisane maksimalno dozvoljene količine, dok kod 131 (67 %) uzorka ostaci pesticida nisu detektirani (Slika 3). Ostaci pesticida nisu detektirani u uzorcima voćne kaše, sušenog graha, krastavca kornišona, krumpira, mandarina i mladog luka.

Tablica 1. Vrsta proizvoda, podrijetlo proizvoda i broj uzoraka**Table 1.** Type of product, the origin of products and the number of samples

<i>Vrsta proizvoda</i>	<i>Broj uzoraka</i>		
	<i>domaće</i>	<i>uvoz</i>	<i>ukupno</i>
Kruška ⁽¹⁾	10	5	15
Jabuka ⁽¹⁾	10	5	15
Breskva/Nektarina ⁽¹⁾	5	10	15
Šljiva ⁽¹⁾	10	5	15
Grožđe ⁽¹⁾	5	5	10
Naranča ⁽¹⁾		5	5
Mandarina ⁽¹⁾		5	5
Kornišon krastavac ⁽¹⁾	10		10
Malina ⁽¹⁾	10	5	15
Grah sušeni ⁽¹⁾	5	5	10
Jagoda ⁽¹⁾	5	5	10
Kultivirane gljive ⁽¹⁾	5		5
Mladi luk ⁽¹⁾	3	2	5
Paradajz ⁽¹⁾	6	4	10
Paprika ⁽¹⁾	6	4	10
Krumpir ⁽¹⁾	10	5	15
Zelena salata ⁽¹⁾	3	2	5
Špinat ⁽¹⁾	3	2	5
Pšenica u zrnu/Brašno pšenično ⁽²⁾	3	2	5
Voćne kaše za djecu na bazi povrća		10	10
Ukupno	109	86	195

Napomena:

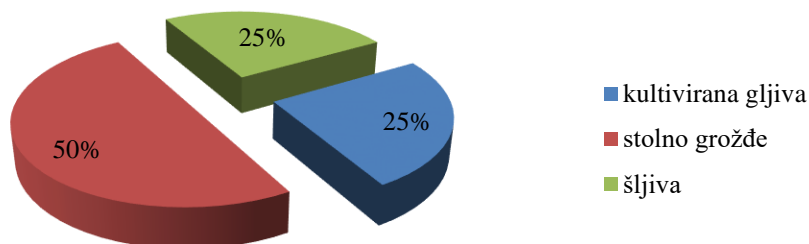
- (1) Analiziraju se neprerađeni proizvodi (uključujući zamrznute proizvode).
- (2) Ako nisu dostupni dostatni uzorci pšenice, može se analizirati i cjelovito brašno od pšenice, te se prijavljuje faktor prerade. (Ako nisu dostupni posebni faktori prerade, može se primjenjivati zadani faktor 1.)



Slika 3. Ostaci pesticida u proizvodima biljnog podrijetla prikazani u postocima

Figure 3. Pesticide residues in plant products shown as a percentage

Ostaci pesticida iznad MRL su pronađeni kod četiri uzorka i to jednog uzorka kultiviranih gljiva (aktivna materija u koncentraciji iznad propisanog MRL-a: Iprodion 0,052 mg/kg), dva uzorka stolnog grožđa (aktivne tvari u koncentraciji iznad propisanog MRL-a: Acetamiprid 0,018 mg/kg i Acetamiprid 0,177 mg/kg) i jednog uzorka šljive (aktivna materija u koncentraciji iznad propisanog MRL-a: Acetamiprid 0,088 mg/kg) kako je prikazano na Slici 4.



Slika 4. Ostaci pesticida iznad MRL vrijednosti u proizvodima biljnog porijekla

Figure 4. Pesticide residues above the MRL value in plant products

ZAKLJUČAK

Kontrolni programi određivanja MRL pesticida usklađuju se s provedbenim uredbama EU za kontrolu MRL pesticida u pogledu proizvoda koji se kontroliraju, kao i aktivnih tvari, s tim da Bosna i Hercegovina još uvijek nije u financijskoj mogućnosti za 100 %-tnu usklađenost s programom kontrole EU, ali se teži tome. Dosadašnji rezultati provedbenih programa su zadovoljavajući i ukazuju na dosljedno provođenje dobre proizvođačke prakse s aspekta primjene pesticida u procesu zaštite biljnih proizvoda koji se uzgajaju u Bosni i Hercegovini.

LITERATURA

Uredba Komisije (EU) broj 396/2005 od 23. veljače 2005. godine o maksimalno dozvoljenim količinama rezidua pesticida u hrani/hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla i izmjene Direktive Vijeća 91/414/EEZ, sa svim njenim izmjenama i dopunama.

Uredba Komisije (EU) broj 2015/595 od 15. travnja 2015. godine o koordiniranom višegodišnjem programu kontrole Unije za 2016, 2017 i 2018 za osiguranje usklađenosti s maksimalnim nivoima ostataka pesticida i ocjenu izloženosti potrošača ostacima pesticida u i na hrani biljnog i životinjskog podrijetla.

Uredba Komisije (EU) broj 2016/662 o koordiniranom višegodišnjem programu kontrole Unije za 2017, 2018 i 2019 za osiguranje usklađenosti s maksimalnim nivoima ostataka pesticida i ocjenu izloženosti potrošača ostacima pesticida u i na hrani biljnog i životinjskog podrijetla.

Službeni glasnik BiH, broj 50/04: Zakon o hrani.

Službeni glasnik BiH, broj 49/04: Zakon o fitofarmaceutskim proizvodima BiH.

Službeni glasnik BiH, broj 89/12: Pravilnik o maksimalnim nivoima ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla.

Službeni glasnik BiH, broj 78/12: Pravilnik o metodama uzorkovanja za provođenje službene kontrole ostataka pesticida u i na proizvodima biljnog i životinjskog podrijetla.

Službeni glasnik BiH, broj 21/11: Pravilnik o provođenju plana praćenja hrane.

**ANTIMIKROBNO DJELOVANJE BILJNIH EKSTRAKATA IZ RODA
*Allium***

**ANTIMICROBAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS FROM
GENUS *Allium***

**Aida Džaferović^{1*}, Azra Bakrač¹, Subha Džafić¹, Vildana Jogić¹, Samira Dedić¹,
Jelena Nikitović²**

¹*University of Bihać, Biotechnical Faculty, Luke Marjanovića bb,
77000 Bihać, B&H*

²*University of Banja Luka, Agricultural Faculty,
Bulevar vojvode Petra Bojovića 1A, 78000 Banja Luka, B&H*

**aida.btf@gmail.com*

izvorni znanstveni rad / *original scientific paper*

SAŽETAK

Cilj istraživanja ovog rada bio je ispitivanje antimikrobnog potencijala metanolnih ekstrakata biljaka iz roda *Allium*. Kao uzorci korišteni su biljni ekstrakti srijemuše - *Allium ursinum* L., bijelog luka – *Allium sativum* L. i crvenog luka – *Allium cepa* L. Antimikrobno djelovanje metanolnog ekstrakta navedenih biljaka ispitivano je primjenom disk difuzijske metode. Na ovaj način se pokušao inhibirati rast ukupnih bakterija i *Salmonelle spp.* izolirane iz uzorka redovne kontrole namirnica, koja spada pod monitoringom zdravstvene ispravnosti gotovih proizvoda, prije stavljanja istih na tržište. Rezultati djelovanja metanolnih ekstrakata pokazali su vidljivu zonu inhibicije na hranljivoj podlozi za ukupan broj mikroorganizama (Plate Count Agar) u kojoj je spriječen rast ispitivane bakterije. Ekstrakti su pokazali značajnu antimikrobnu aktivnost, u rasponu od 15,24 do 27,91 mm.

Ekstrakt *Allium sativum* L. je imao najviše izraženu zonu inhibicije koja je iznosila 27,91 mm, zatim *Allium ursinum* L. (21,13 mm), dok je najnižu antimikrobnu aktivnost pokazao je ekstrakt *Allium cepa* L. kod kojeg je zona inhibicije rasta bakterija bila 15,24 mm, što je znatno niže u odnosu na druga dva ispitivana ekstrakta. Antimikrobne aktivnosti ispitivanih ekstrakata prema *Salmonella spp.* pokazale su znatno niže vrijednosti. *Allium ursinum* L. je pokazao zonu inhibicije čiji je dijametar iznosio 14,73 mm, a *Allium sativum* L. je pokazao približnu vrijednost 14,11 mm, dok ekstrakti *Allium cepa* L. nisu pokazali antimikrobnu aktivnost na bakteriju *Salmonella spp.*

Ključne riječi: Allium ursinum L., Allium sativum L., Allium cepa L., Salmonella spp., disk difuzijska metoda, antimikrobno djelovanje

Keywords: Allium ursinum L., Allium sativum L., Allium cepa L., Salmonella spp., disc dilution method, antimicrobial activity

UVOD

Upotreba ljekovitog bilja za pripremu tradicionalnih preparata u alternativnoj medicini danas je sve veća. Iako se veliki broj biljnih vrsta od davnina koristi za liječenje brojnih bolesti, ipak njihovo djelovanje sa znanstvenog aspekta je još uvijek nedovoljno poznato (Chitme i sur., 2003). Prirodni proizvodi biljaka čine od 60 do 80 % sastojaka antibiotika koji su danas prisutni na tržištu (Taghizdah i sur., 2001), međutim bakterije razvijaju sve veću otpornost na klasične antibiotike (Cohen, 1992; Levy, 1997; Walsh, 2000; Cole i sur., 2002; Kiessling i sur., 2002). Iz tog razloga, ispitivanje i analiza biljnih ekstrakata sa znanstvenog aspekta, danas je sve više aktualna, zbog njihovog učinkovitog antimikrobnog učinka (Andrews i sur., 1980). Vrste roda *Allium* se stoljećima koriste kao začim u hrani, kao sastojak mnogih jela, ali su imale i široku primjenu u narodnoj medicini (Sapunjeva i sur., 2012). U tradicionalnoj medicini, vrste roda *Allium* se koriste za pročišćavanje krvi, kod problema sa peristaltikom, za smanjenje krvnog tlaka, kao i za liječenje glavobolje, oboljenja jetre, kod dijareja i artritisa (Ivanova i sur., 2009). *Allium sativum* L. je snažno antibakterijsko sredstvo i djeluje kao inhibitor na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije uključujući vrste bakterija *Escherichia*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus* i *Helicobacter pylori* (Ankri i Mirelman, 1999; Reuter i sur., 1996). U istraživanju koje su proveli Sapunjeva i sur. (2012), medvjedi luk ili srijemuša (*Allium ursinum* L.) je pokazao veću antimikrobnu aktivnost na Gram-pozitivne nego li na Gram-negativne bakterije. Vodeni ekstrakt i sok crvenog luka pokazali su inhibitorno djelovanje na rast vrste *Salmonella typhosa* u *in vitro* uvjetima (Bison, 1994). Zbog visokog sadržaja fenolnih spojeva i kvercetina u suhim kožastim listovima, ekstrakti crvenog luka su pokazali visoku antimikrobnu aktivnost na bakterije *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* i *Bacillus cereus* (Škerget i sur., 2009). U dosadašnjim studijama antimikrobna aktivnost vrsta iz roda *Allium* se pripisuje veoma reaktivnim sumpornim spojevima, te sukladno navedenoj činjenici u istraživanju koje su proveli Heinrich i sur. (1996) dokazano je da vrsta *Allium sativum* L. ima snažno antimikrobno djelovanje. Alicin, glavni antimikrobni sastojak vrsta roda *Allium* reagira sa slobodnim tiolnim grupama u proteinima bakterija (Ankri i Mirelman, 1999; Miron i sur., 2002). Antimikrobna aktivnost alicina je posljedica vezivanja kemijskih grupa alicina sa tiolnom skupinom ARN polimeraze i inhibiranje sinteze DNA, RNA i proteina (Rabinkov i sur., 1998; Ankri i Mirelman, 1999). Cilj ovog istraživanja je bio ispitati koja od tri vrste luka (bijeli, crveni i medvjedi luk) ima najbolju antimikrobnu aktivnost na ukupan broj bakterija i *Salmonella* spp. Kao model za ispitivanje antimikrobne aktivnosti tri vrste roda *Allium*, izabrana je Gram-negativna bakterija *Salmonella* spp, budući da je jedan od najčešćih patogena čovjeka, kao i jedan od najčešćih uzročnik trovanja ljudi hranom (Reed, 1993).

MATERIJAL I METODE

Za istraživanja koja su provedena u ovom radu kao uzorci korišteni su metanolni ekstrakti biljaka roda *Allium*, slijedećih vrsta: srijemuše - *Allium ursinum* L., bijelog luka - *Allium sativum sativum* L. i crvenog luka - *Allium cepa* L. (Tablica 1). Ekstrakti biljaka su dobiveni iz svježeg biljnog materijala.

Tablica 1. Biljke od kojih se pravio ekstrakt

Table 1. Plants used for extract preparation

	Ispitivane biljke	Dio biljke koji se ispituje
1.	<i>Allium ursinum</i> L.- srijemuša	lukovica
2.	<i>Allium sativum</i> L. - bijeli luk	lukovica
3.	<i>Allium cepa</i> L. - crveni luk	lukovica

Priprava ekstrakata

Biljni materijali (10 g) su homogenizirani i usitnjeni, te tako pripremljeni ekstrahirani su sa 100 mL 80 % metanola u trajanju od 24 h pri sobnoj temperaturi. Biljni ekstrakti su dobiveni filtriranjem na Buchner-ovom lijevku. Nakon filtriranja ekstrakata urađeno je odvajanje metanola pomoću rotacionog isparivača (Rotavapor R-210/215 BÜCHI, Buchi AG, Flawil, Švicarska) pri 40 °C. Ovako pripremljenom ekstraktu je ispitana antimikrobna aktivnost. Antibakterijska aktivnost dobivenog ekstrakta je ispitana na bakterijsku kulturu *Salmonella* spp. Korištene bakterije *Salmonella* spp. izolirane su iz uzorka redovne kontrole namirnica, koja spada pod monitoringom zdravstvene ispravnosti gotovih proizvoda prije stavljanja na tržište (Veterinarski zavoda USK-a).

Mikrobiološka ispitivanja

Nakon pripreme razrjeđenja uzorka, izvršena je izolacija *Salmonella* spp. prema direktivama BAS EN ISO 6579:2005, BAS EN ISO 6579/cor1:2010). Dodatna identifikacija urađena je zasijavanjem izoliranih bakterija na XLD agar (ksiloza lizin deoksiholatni agar; Torlak, Beograd, Srbija), kao i diferencijalnim bojenjem po Gramu.

25 g uzorka je otopljeno u 225 mL tekuće neselektivne obogaćene podloge BPW (Buferirana peptonska otopina) inkubirane pri 37 °C tijekom 24 h. Nakon toga je u 10 mL tekućeg RVS (Rappaport-Vassiliadis bujon; Torlak, Beograd, Srbija) dodano 0,1 mL ranije inkubiranog uzorka i inkubirano pri 41,5 °C tijekom 24 h. Promjena boje podloge ukazuje na prisustvo *Salmonelle* ssp. te se vrši zasijavanje na čvrstom XLD (ksiloza lizin deoksiholatni agar; Torlak, Beograd, Srbija, selektivni agar namijenjen za izolaciju i određivanje brojnosti *Salmonella* vrsta) i inkubira pri 37 °C, 24-48 h. Izrasle kolonije su smeđe boje. U 9 mL fiziološke otopine doda se par kolonija i napravi tekuća kultura *Salmonella* spp. koja se zasije na hranljivi agar (podloga namijenjena za kultiviranje širokog spektra mikroorganizama). Nakon

stajanja od 15 minuta i inicijalnog zagrijavanja na kuhlalu radi potpunog otapanja, urađeno je razlijevanje podloge i autoklaviranje u trajanju od 20 minuta pri 121 °C. Nakon izoliranja *Salmonella* spp. iz uzorka, dodatna potvrda identifikacije urađena je bojenjem po Gramu, kojom je utvrđeno da izolirani sojevi predstavljaju Gram-negativne štapiće, a kultivacija istih sojeva na XLD agaru dala je crvenkasto roze kolonije čime je potvrđeno da se radi o sojevima roda *Salmonella*. U metodi bojenja po Gramu upotrebljavaju se 4 reagensa: primarna boja - kristal (gencijana) violet koja boji Gram-pozitivne bakterije u ljubičasto; Lugolova otopina, 96 % etanol i sekundarna boja-šafiranin (fuksin) koja boji Gram-negativne bakterije crveno (Mihajilov-Krstev, 2008). Izolirana *Salmonella* spp. zasije se na *Salmonella* Chromogenic Agar (Torlak, Beograd, Srbija).

Određivanje antimikrobne aktivnosti na ukupan broj mikroorganizama urađeno je na hranljivoj podlozi za ukupan broj bakterija (UBB, Liofilchem, Italija), koja je nakon inicijalnog zagrijavanja na kuhlalu razlivena u Petrijeve zdjele i autoklavirana u trajanju od 20 minuta pri 121 °C. U 9 mL fiziološke otopine doda se par kolonija ranije izraslih na podlozi i napravi takuća kultura koja se zasije na podlogu za ukupan broj bakterija.

Disk difuzijska metoda

Metoda se zasniva na principu difuzije antimikrobnog ekstrakta u čvrstu hranljivu podlogu, pri čemu on djeluje manje ili više inhibitorno na bakterije koje su prethodno zasijane na tu podlogu. Primjenjuju se celulozni diskovi, na koje se nanosi uzorak koji je ekstrahiran iz biljaka. U Petrijevim zdjelama se vrši zasijavanje kultura mikroorganizama. Po 1 mL suspenzije bakterijske kulture nanese se ravnomjerno na podlogu štapićem po Drigalskom. Zatim se postavljaju celulozni diskovi natopljeni sa ekstraktima biljaka (*Allium ursinum* L., *Allium sativum* L. i *Allium cepa* L.). Ovako pripremljeni uzorci idu na inkubaciju (Inkubator Selecta: 2000209, Španjolska). Ekstrakt difundira sa mjesta nanošenja u podlogu u svim pravcima. Do sprječavanja rasta testiranog mikroorganizma dolazi ukoliko je on osjetljiv na djelovanje ispitivanog uzorka. Širina zone inhibicije (promjer inhibicije), razmjerna je stupnju osjetljivosti mikroorganizma na primijenjeni agens, odnosno antimikrobnom učinku ispitivanog ekstrakta. Nakon inkubacije na 37 °C, prvo očitavanje o inhibiciji je obavljeno nakon 24 h, a konačni rezultati su očitani nakon 48 h. Ako nema zone inhibicije, znači da mikroorganizam nije otporan na djelovanje ispitivane tvari (Tablica 2) Eksperiment je neophodno izvoditi u replikatu. Potrebno je koristiti dvije vrste kontrole: pozitivnu i negativnu. Negativna kontrola podrazumijeva da se na disk umjesto uzorka u određenom razrjeđenju nanosi ili voda ili otapalo u kojim je uzorak razrijeđen. Pozitivna kontrola podrazumijeva primjenu antibiotika. Antibiotik (Amoksicilin) je korišten kao kontrola za usporedbu aktivnosti ekstrakata.

Tablica 2. Otpornost bakterija prema antibioticima**Table 2.** Resistances of bacteria against antibiotics

Zona inhibicije	Oznake osjetljivosti	Tumačenje
do 10 mm	R*	otporna bakterija
10 - 17 mm	I, 2**	umjereno osjetljiva bakterija
> 17 mm	S, 3***	osjetljiva bakterija

*R – resistant, **I – intermediate, ***S - sensitive

REZULTATI I RASPRAVA

U radu je ispitivana antimikrobna aktivnost metanolnog ekstrakta u odnosu na izoliranu bakteriju *Salmonella* spp. i ukupnom broju bakterija, te je disk difuzijskom metodom određena zona inhibicije .

Rezultati dobiveni ispitivanjem utjecaja različitih ekstrakata na rast *Salmonella* spp. i ukupnog broja bakterija prikazani su u slijedećim tabelama.

Tablica 3. Rezultati antimikrobne aktivnosti ekstrakata roda *Allium* na UBB**Table 3.** Results of antimicrobial activity of extracts *Allium* on Plate Count Agar

	Ispitivane biljke	Zona inhibicije - UBB	Tumačenje
1.	<i>Allium ursinum</i> L.	21,13	osjetljiva bakterija (S)
2.	<i>Allium sativum</i> L.	27,91	osjetljiva bakterija (S)
3.	<i>Allium cepa</i> L.	15,24	umjereno osjetljiva bakterija (I)

Tablica 4. Rezultati antimikrobne aktivnosti ekstrakata roda *Allium* na *Salmonella* spp.**Table 4.** Results of antimicrobial activity of *Allium* extracts against *Salmonella* spp.

	Ispitivane biljke	Zona inhibicije - <i>Samonella</i>	Tumačenje
1.	<i>Allium ursinum</i> L.	14,73	umjereno osjetljiva bakterija (I)
2.	<i>Allium sativum</i> L.	14,11	umjereno osjetljiva bakterija (I)
3.	<i>Allium cepa</i> L.	<10 mm	otporna bakterija (R)

Tablica 5. Ukupna antimikrobna aktivnost i aktivnost na *Sallmonela* spp.
Table 5. Total antimicrobial activity and activity against *Sallmonela* spp.

Izvor varijacije	UBB	<i>Sallmonela</i> ssp.	
Minimum	15,24	10	
Maksimum	27,91	14,73	
Srednja vrijednost	21,13	14,11	
Zbir	64,28	38,84	
Aritmetička sredina	21,4266	12,9466	
Standardna devijacija	6,3402	1,4841	
Varijacija	40,198	6,6082	58987,7
Koeficijent varijacije	29,590	19,855	31,5830
ANOVA	<i>Suma kvadrata</i>	<i>Sr.vrijednost</i>	<i>Fisher test</i> <i>pr>F</i>
	107,866	4	23,4032 0,09833*

Tablica 6. Kruskal-Wallis test

Table 6. Kruskal-Wallis test

H (posmatrana vrijednost)	3,857
H (kritična vrijednost)	3,857
<i>p</i> -pojedinačno	0,04953
jednosmjerna <i>p</i> -vrijednost	< 0,0001
nivo značajnosti	0,05

Na nivou značajnosti $p=0,050$ odluka je da se odbaci nulta hipoteza o nedostatku razlika između uzoraka. Drugim riječima, razlika između uzoraka je značajna.

Pregledom rezultata eksperimentalnih istraživanja znanstvenika iz regije i šire, koji su istraživali navedenu problematiku, kao i narodnog vjerovanja i korištenja predstavnika roda *Allium* u tradicionalnoj medicini, utvrđeno je da predstavnici roda *Allium* pokazuju određenu antimikrobnu aktivnost. Nakon provođenja istraživanja i analizom prikupljenih podataka navedenih uzoraka u disk difuzijskoj metodi utvrđen je utjecaj biljnog ekstrakta u sprječavanju rasta ukupnog broja bakterija, sa zonom inhibicije od 27,91 mm kod *Allium sativum* L., statistički značajnim manjim utjecajem kod *Allium ursinum* L. sa zonom inhibicije od 21,13 mm te skoro

zanemariv utjecaj *Allium cepa* L. sa zonom inhibicije od svega 15,24 mm. Istraživanja provedena od Nath i sur. (2010) i Škerget i sur. (2009) sa ekstraktima suhih listova lukovice roda *Allium* pokazale su da oni posjeduju značajne antioksidativne i antimikrobne osobine. Benkeblia i sur. (2005) testirali su antibakterijsku aktivnost eteričnih ulja izoliranih iz različitih vrsta *Allium*, te je dokazano da eterično ulje crnog luka pokazuje slab antimikrobni učinak, između ostalih testiranih bakterija i na *Salmonella enteritidis*, dok vrste *Allium sativum* L. i *Allium ursinum* L. pokazuju značajno višu antimikrobnu aktivnost, što je u skladu i sa našim provedenim istraživanjem.

Bakht i sur. (2013) su disk difuzijskom metodom testirali antimikrobnu (antibakterijsku i antifungalnu) aktivnost 6 različitih ekstrakata (etanolni, etil-acetatni, kloroformni, petrol-eterski, *n*-butanolni i vodeni) pripremljenih od svježih lukovica roda *Allium* na 9 vrsta mikroorganizama, među kojima je i *Salmonella typhi*. Najveću efikasnost na *Salmonella typhi* pokazao je tretman kloroformnim ekstraktom *Allium ursinum* L. (i to pri koncentraciji od 1 i 2 mg/disku), dok je *Allium cepa* L. etil-acetatna subfrakcija pokazala slabu inhibiciju rasta.

Prema podacima dobivenim u ovome radu, svi ekstrakti ispitivanih biljaka pokazali su značajnu aktivnost na *Salmonella* ssp. Zone inhibicije ukazuju na visoku različitost, te se dijametar kretao manje <10 mm u slučaju *Allium cepa* L. na *Salmonella* spp., do 27,91 mm u slučaju *Allium sativum* L. na UBB. Antibiotik (Amoksicilin) je korišten kao kontrola za usporedbu aktivnosti ekstrakata.

ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata dobivenih u ovom istraživanju možemo zaključiti slijedeće:

- Zaključno, vrsta *Allium* ima dobru antimikrobnu aktivnost pri djelovanju na ukupni broj bakterija gdje se zona inhibicije kretala od 15,24 mm (umjerena osjetljivost) za ekstrakt *Allium cepa* L., porasla na 21,13 mm (osjetljiva) kod *Allium ursinum* L. i 27,91 mm (osjetljiva) kod *Allium sativum* L. Ovaj rezultat daje nam povjerenje da konvencionalni medicinski pristup može se koristiti za liječenje nekoliko bolesti.
- Provedena istraživanja su dokazala da *Allium ursinum* L. i *Allium sativum* L. pokazuju i značajno djelovanje protiv *Salmonella* ssp. gdje se zona inhibicije kretala od 14,11 do 14,73 mm, te rezultati ukazuju mogućnost korištenja navedenih biljaka za liječenje *Salmonella* ssp. infekcija.

Stoga, uzimajući u obzir rezultate dobivene iz ovog istraživanja, sve veća ograničenja za primjenu antibakterijskih kemikalija, kao što su nuspojave i otpornost bakterija u biofilmu i medicinsku otpornost, osjeća se potreba za zamjenom tih materijala prirodnim materijalima i biljnim kombinacijama.

LITERATURA

- Andrews, R.E.J., Parks, L.W., Spence, K.D. (1980): Some effects of Diuglas Fir terpenes on certain microorganisms. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 40(2), 301-340.
- Ankri, S, Mirelman, D. (1999): Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect.* 1, 125-129.
- Bakht, J., Khan, S., Shafi, M. (2013a): Antimicrobial potential of fresh *Allium cepa* L. against Gram positive and Gram negative bacteria and fungi. *Pak. J. Bot.* 45, 1-6.
- Benkeblia, N., Dahmouni, S., Onodera, S., Shiomi, N. (2005): Antimicrobial activity of phenolic compound extracts of various onions (*Allium cepa* L.) cultivars and garlic (*Allium sativum* L.). *Journals Food Tech.* 3, 30-34.
- Bison, P. S., Verma, K. (1994): Hand Book of microbiology. CBS Publications: Delhi.
- Chitme, H. R., Chandra, R., Kaushik, S. (2003): Studies on anti-diarrheal activity of *Calotropis gigantea* R.Br. in experimental animals. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 7, 70-75.
- Cohen, M. L. (1992): Epidemiology of drug resistance: Implications for a post-antimicrobial era. *Sci.* 257, 1050-1055.
- Cole, A. M., Hong, T., Nguyen, T., Zhae, C., Bristol, G., Zack, J. A., Waring, A. J., Yang, O. O. (2002): Retrocyclin: A primate peptide that protects cells from infection by T- and M-tropic stains of HIV-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 1813-1818.
- Heinrich, P., Larry, D.L. (Ed.) (1996): Garlic: The science and therapeutic application of *Allium sativum* L. and related species. 2nd ed. Translated to English by: William W.
- Ivanova, A., Mikhova, B., Najdenski, H., Tsvetkov, I., Kostova, I. (2009): Chemical composition and antimicrobial activity of wild garlic *Allium ursinum* of Bulgarian origin. *Nat. Prod. Com.* 4(8):1059-1062.
- Kiessling, C. R., Cutting, J. H.; Loftis, M., K; Kissling, V. W.; Data, A. R., Sofos, J. N. (2002): Antimicrobial resistance of food retailed *Salmonella* isolates. *J. Food Prot.* 65, 603-608.
- Levy, S. W. (1997): Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread. Chichester, Ciba Foundation Symposium pp. 1-14.
- Mihajilov-Krstev, T. (2008): Praktikum iz Mikrobiologije, Univerzitet u Nišu, Prirodno- matematički fakultet, Odsek za biologiju i ekologiju.

- Miron, T., Feigenbalt, G., Weiner, L., Mirelman, D., Wilchek, M., Rabinikov, A. A. (2002): Spectrophotometric assay for allicin, allin and alliinase (alliinlyase) with a chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfonates. *Anal. Biochim.* 307, 76-83.
- Nath, K. V. S., Rao, K. N. V., Banji, D., Sandhya, S., Sudhakar, K., Saikumar, P. i sur. (2010): A comprehensive review on *Allium cepa*. *J. Adv. Pharm. Techno. Res.* 1, 94-100.
- Rabinkov, A., Miron, T., Kongsratinovski, L., Wilchek, M., Mirelman, D., Weiner, L. (1998): The mode of action of allicin: trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins. *Biochim. Biophys. Acts.* 1379, 233-244.
- Reed, G. H. (1993): Foodborne illness (Part 2): Salmonellosis. *Dairy. Food Environ. San.* 13(12), 706.
- Reuter, H. D., Koch, H. P., Lawson, D. L. (1996): Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. In H. P. Koch and L. D. Lawson (Ed.), *Garlic: The science and therapeutic applications of Allium sativum L. and related species*, 2nd ed. William and Wilkins, Baltimore, Md. pp. 135-212.
- Sapunjieva T., Alexieva, I., Mihaylova, D., Popova, A. (2012): Antimicrobial and antioxidant activity of extracts of *Allium ursinum L.* *J. BioSci. Biotech.* 143-145.
- Škerget, M., Majhenič, L., Bezjak, M., Knez, Ž. (2009): Antioxidant, radical scavenging and antimicrobial activities of red onion (*Allium cepa L.*) skin and edible part extracts. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 23, 435-444.
- Taghizadeh, M., Pesian, M. (2001): *Methods in quality control of medicinal plants.* Nashrejahad Press. 192-200.
- Walsh, C. (2000): Molecular mechanism that confer antibacterial drug resistance. *Nature* 406, 775-781.

KARAKTERIZACIJA PJENASTOG POLISTIRENA NAKON OPORABE ORGANSKIM OTAPALOM LIMONENOM

CHARACTERIZATION OF THE EXPANDED POLYSTYRENE FOAMS AFTER RECOVERY USING LIMONENE AS ORGANIC SOLVENT

Miće Jakić*, Mirna Borić, Danijela Skroza, Mario Nikola Mužek

Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Ruđera Boškovića 35,

21000 Split, Hrvatska

**mjakic@ktf-split.hr*

izvorni znanstveni rad / original scientific paper

SAŽETAK

Polistiren (PS) je plastomer linearnih makromolekula, a dobiva se procesima polimerizacije stirena. Odlikuje ga raznolikost primjene, lagano prerađivanje, relativno niska cijena, pa se proizvodi u ogromnim količinama i spada u tzv. široko primjenjive plastomere. Pjenasti polistiren nazvan i celularni ili ekspanzirani polistiren (PS-E) je plastomerni materijal ćelijaste strukture i niske gustoće. Zahvaljujući strukturnim svojstvima PS-E pripada u najčvršće ćelijaste materijale, odličnih svojstava zvučne i toplinske izolacije, vrlo male apsorpcije vode i male propusnosti vodene pare. PS-E se najviše primjenjuje u građevinarstvu, a zatim za izradu ambalažnih materijala za hranu, elektroničku opremu, kemikalije, farmaceutske proizvode, izolaciji rashladnih uređaja i slično. Shodno tome, široka upotreba PS-E-a ujedno predstavlja i veliki problem zagađenja okoliša. Razvijeni su brojni postupci oporabe stiropora, među kojima se ističe postupak otapanja u biorazgradljivom organskom otapalu d-limonenu. U ovom radu izvršena je izolacija limonena iz kore naranči te njegova primjena kao ekološki prihvatljivog otapala u postupku oporabe pjenastog polistirena. Zaostali limonen prilikom oporabe uklonjen je postupkom precipitacije neotapalom. Karakterizacija PS-E-a nakon oporabe precipitacijom provedena je primjenom infracrvene spektroskopije i diferencijalne pretražne kalorimetrije. Rezultati analize pokazali su da precipitacija neotapalom nije dobra metoda za uklanjanje limonena iz oporabljenog pjenastog polistirena.

Ključne riječi: pjenasti polistiren, ambalaža, oporaba, limonen

Keywords: expanded polystyrene, packaging, recovery, limonene

UVOD

Polistiren (PS) je plastomer linearnih makromolekula koji se najčešće dobiva procesima polimerizacije stirena u masi, a rjeđe u otopini ili emulziji. PS je ataktan, amorfan polimer, čvrste i tvrde konzistencije, staklu sličan proziran materijal visokog indeksa loma i velike propusnosti za vidljivi dio svjetla. Odlikuje ga raznolikost primjene, lagana preradljivost, relativno niska cijena pa se polistiren, zajedno s drugim polimerima na osnovi stirena (polistiren visoke udarne žilavosti (PS-HI), akrilonitril/butadien/stirenski terpolimer (ABS), stiren/akrilonitrilni kopolimer (SAN)) proizvodi u velikim količinama i spada u tzv. široko primjenjive plastomere (Janović, 1997).

Pjenasti (celularni ili ekspanzirani) polistiren (PS-E) je prvi put proizveden 1951. godine u tvornici BASF pod trgovačkim imenom Styropor® zbog čega se proizvodi od ekspanziranog polistirena obično nazivaju stiropori. PS-E se dobiva impregniranjem polistirena pogodnim pjenilima, kemijski neutralnim plinom (npr. pentanom) ili lako hlapljivim kapljevinama koje zagrijavanjem ekspanziraju polistiren do željene gustoće i oblika. Pri tom nastaje vrlo čvrsta ćelijasta struktura, odličnih mehaničkih (pritisnih i savojnih) svojstava, dobre zvučne i toplinske izolacije, vrlo male apsorpcije vode i male propusnosti vodene pare te vrlo niske gustoće (15 - 40 kgm⁻³). PS-E se najviše primjenjuje u građevinarstvu, a zatim za izradu ambalažnih materijala za hranu, elektroničku opremu, izolaciji rashladnih uređaja i slično (Prerbeg, 2008). Nažalost, široka upotreba PS-E-a ujedno predstavlja i veliki problem zagađenja okoliša. Najveći dio PS-E otpada čini ambalažni materijal za hranu, elektroničku opremu, kemikalije, farmaceutske proizvode, gdje je vijek trajanja proizvoda od PS-E-a ujedno i najkraći. PS-E se može uporabiti mehanički, kemijski te energijski. Neovisno o postupku uporabe, cijena transporta PS-E-a do postrojenja za uporabu je visoka zbog njegove vrlo male gustoće (Kelly, 2012). Jedan od novijih postupaka uporabe PS-E-a uključuje otapanje PS-E-a u limonenu, biorazgradljivom organskom otapalu (García i sur., 2009). Limonen je bezbojna tekućina, a ime je dobio po limunu. Komercijalno se dobiva iz kore agruma centrifugalnom separacijom ili destilacijom vodenom parom (Ndubuisi Ezejiofor i sur., 2011). Limonen otapa i koncentrira PS-E u gelastu tvorevinu, značajno mu smanjujući gustoću (Hattori, 2015). Smjesu limonen/PS-E potrebno je odvojiti na sastavnice, odnosno uporabiti. Odvajanje limonena iz PS-E-a može se provesti vakuum isparavanjem ili precipitacijom s odgovarajućim neotapalom, nakon čega slijedi odvajanje, sušenje i ekstrudiranje precipitiranog PS-E-a. Navedeni proces omogućava uporabu PS-E-a bez promjene njegovih svojstava (Kampouris i sur., 1987, 1988; Maharana i sur., 2007). U ovom radu izvršena je izolacija limonena destilacijom vodenom parom iz kore naranči te je primijenjen kao ekološki prihvatljivo otapalo u postupku uporabe PS-E-a. Zaostali limonen prilikom uporabe uklonjen je postupkom precipitacije neotapalom. Karakterizacija PS-E-a nakon uporabe precipitacijom provedena je primjenom infracrvene spektroskopije i diferencijalne skenirajuće kalorimetrije.

MATERIJALI I METODE

Izolacija limonena

Budući se limonen komercijalno dobiva iz agruma, valja istaknuti da se na ovaj način iskorištava kora agruma, koja nastaje u velikoj količini tijekom procesa proizvodnje sokova i koja se uglavnom odbacuje kao otpad. Limonen je koncentriran u kori naranče i to u njenom vanjskom dijelu (Ndubuisi Ezejiofor i sur., 2011).



Slika 1. Uzorak PS-E-a tretiran s par kapi limonena
Figure 1. PS-E sample treated with few drops of limonene

Izolacija limonena iz kore naranče provedena je destilacijom vodenom parom. Destilat se sastoji od vode i limonena, koji se od vode odvaja dodatkom niskomolekulnog otapala, nemješljivog s vodom (dietileter). Konačno, dietileter se odvoji od limonena destilacijom zahvaljujući velikoj razlici u temperaturi vrelišta. Tako dobivenim limonenom tretiran je uzorak PS-E-a (Slika 1).

Precipitacija PS-E-a

Prikupljeni uzorak PS-E-a prebačen je u čašu te tretiran dobivenim limonenom, pri čemu je uzorak trenutačno prešao u gel stanje. Tako dobiveni uzorak otopljen je u metiletilketonu (otapalo za PS). Čaša je stavljena na miješalicu i uz polagano miješanje iz birete se postupno dodavao metanol (neotapalo za PS). Nastavilo se s dodavanjem metanola dok cijela otopina nije postala mliječno bijela. Nakon prestanka miješanja nastali talog PS-E-a je filtriran. Konačno je nakon sušenja 8 sati u sušioniku pri 80 °C dobiven precipitirani PS-E (PS-E^p). Sušenje je provedeno s ciljem uklanjanja metanola. Pretpostavka je da je limonen zaostao u filtriranoj otopini.

Karakterizacija

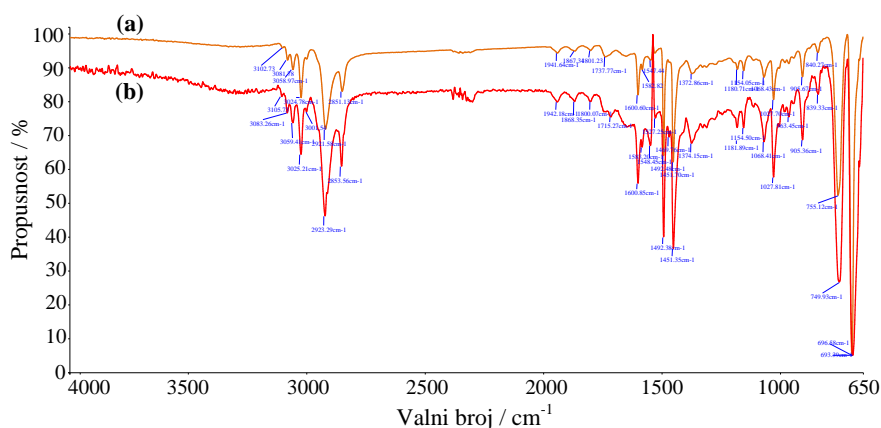
Određivanje utjecaja uporabe limonenom i precipitacije neotapalom na strukturu i toplinska svojstva PS-E-a provedena je primjenom infracrvene spektroskopije i diferencijalne skenirajuće kalorimetrije. Upotrijebljen je FTIR spektrofotometar Spectrum One (PerkinElmer, SAD) u području valnih brojeva 650 - 4000 cm⁻¹ uz rezoluciju od 4 cm⁻¹. FTIR spektrogrami uzoraka snimljeni su HATR tehnikom na ZnSe kristalu. Određivanje toplinskih svojstava pripremljenih uzoraka provedeno je u diferencijalnom skenirajućem kalorimetru DSC 823^o (Mettler Toledo, Švicarska) u struji dušika (30 cm³min⁻¹) od 25 °C do 120 °C brzinom od 20 °C min⁻¹. Aparatura je kalibrirana indijem ($T_m=156,8$ °C, $\Delta H_m=58,47$ J g⁻¹), a prije početka rada sustav je stabiliziran 1 sat. Uzorci mase oko 20 mg prešanjem su zatvoreni u aluminijske

posudice probušenih poklopaca. Određene su karakteristične temperature staklastog prijelaza prema normi HRN ISO 11357-2:2009.

REZULTATI I RASPRAVA

Infracrvena spektroskopija

Određivanje utjecaja uporabe limonenom i precipitacije neotapalom na strukturu i karakteristične vrpce PS-E-a provedeno je primjenom infracrvene spektroskopije. Shodno tome, snimljeni su FTIR spektrogrami PS-E-a i PS-E^p-a te su prikazani na Slici 2. Valni brojevi najznačajnijih apsorpcijskih vrpca istraživanih uzoraka prikazani su u Tablici 1.



Slika 2. FTIR spektrogrami PS-E-a (a) i PS-E^p-a (b).

Figure 2. FTIR spectra of the PS-E-a (a) and PS-E^p-a (b).

Karakteristični spektrogram polistirena pokazuje vrpce pri 2922 i 2850 cm^{-1} koje odgovaraju asimetričnom i simetričnom C-H istezanju iz $-\text{CH}_2$ skupine. Tipične apsorpcije aromatskog prstena prisutne su između 3100 i 3000 cm^{-1} , CH istezanje, „overtone“ i kombinacija vrpca u području 2000-1650 cm^{-1} , istezanje aromatskog prstena pri 1600, 1494 i 1450 cm^{-1} , C-H savijanje u ravnini u području 1300-1000 cm^{-1} te C-H savijanje izvan ravnine u području 900-600 cm^{-1} . Dva oštra pika pri 756 i 699 cm^{-1} upućuju na to da je riječ o monosupstituiranom prstenu (Stuart, 2004; Günzler i Gremlich, 2006). Usporedbom dobivenih spektrograma, odnosno najznačajnijih apsorpcijskih vrpca PS-E-a i PS-E^p-a (Tablica 1) nisu uočene značajne razlike između valnih brojeva vibracijskih vrpca PS-E-a i PS-E^p-a. Time se može zaključiti da uporaba limonenom i precipitacija metanolom nije značajno utjecala na karakteristični spektrogram pjenastog polistirena.

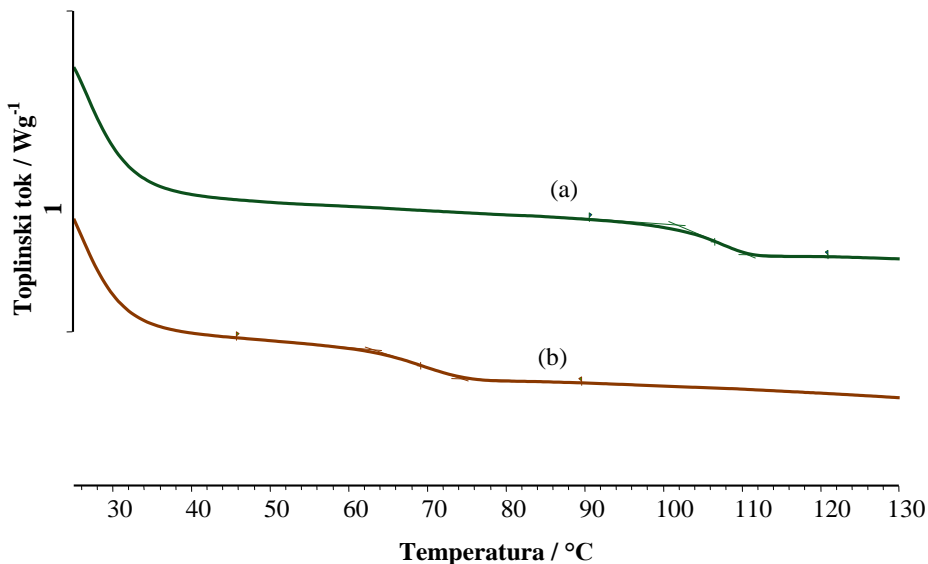
Tablica 1. Valni brojevi najznačajnijih apsorpcijskih vrpca istraživanih uzoraka PS-E i PS-E^p, izraženi u cm⁻¹

Table 1. Wave numbers of characteristic absorption peaks of investigated samples PS-E and PS-E^p, in cm⁻¹

PS-E Valni broj	PS-E ^p Valni broj	Značajka (Stuart, 2004; Günzler i Gremlich, 2006)
3103	3102	Apsorpcija aromatskog prstena
3082	3082	Apsorpcija aromatskog prstena
3059	3059	Apsorpcija aromatskog prstena
3025	3025	Apsorpcija aromatskog prstena
3001	3001	Apsorpcija aromatskog prstena
2922	2923	Asimetrično C-H istežanje iz -CH ₂ skupine
2851	2853	Simetrično C-H istežanje iz -CH ₂ skupine
1942	1943	C-H istežanje
1867	1859	C-H istežanje
1801	1804	C-H istežanje
1738	1735	C-H istežanje
1652	1719	C-H istežanje
1601	1601	Istežanje aromatskog prstena
1583	1583	Istežanje C-C veze aromatskog prstena
1547	1548	Istežanje C-C veze aromatskog prstena
1530	1528	Istežanje C-C veze aromatskog prstena
1492	1492	Istežanje aromatskog prstena
1452	1451	Istežanje aromatskog prstena
1373	1375	Simetrično savijanje u ravnini C-H veze
1328	1328	C-H savijanje
1311	1311	C-H savijanje u ravnini
1271	1261	C-H savijanje u ravnini
1181	1181	C-H savijanje u ravnini
1154	1154	C-H savijanje u ravnini
1028	1027	C-H savijanje u ravnini
964	966	C-H savijanje izvan ravnini
942	941	C-H savijanje izvan ravnine
906	906	C-H savijanje izvan ravnine
840	838	C-H savijanje izvan ravnine
755	751	C-H savijanje izvan ravnine, monosupstituirani prsten
697	694	C-H savijanje izvan ravnine, monosupstituirani prsten

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

U svrhu određivanja utjecaja uporabe limonenom i precipitacije metanolom na toplinska svojstva PS-E-a provedeno je određivanje temperature staklastog prijelaza istraživanih uzoraka primjenom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije u struji dušika. Rezultat analize su normalizirane DSC krivulje prikazane na Slici 3. Na temelju prikazanih DSC krivulja, a prema normi HRN ISO 11357-2:2009, određene su karakteristične temperature staklastog prijelaza istraživanih PS-E-a i PS-E^p-a (Tablica 2). Rieger (1996) je primjenom deset različitih DTA/DSC uređaja utvrdio da staklasti prijelaz (T_{mg}) iznosi 107 °C. DSC krivulja drugog zagrijavanja PS-E-a (Slika 3(a)) pokazuje staklasti prijelaz (T_{eig}) pri 101 °C, (T_{mg}) pri 106 °C i (T_{efg}) pri 110 °C dok je specifični toplinski kapacitet (Δc_p) 0,275 Jg⁻¹°C⁻¹. DSC krivulja drugog zagrijavanja PS-E^p-a (Slika 3(b)) pokazuje staklasti prijelaz (T_{eig}) pri 63 °C, (T_{mg}) pri 69 °C i (T_{efg}) pri 74 °C dok specifični toplinski kapacitet iznosi (Δc_p) 0,271 Jg⁻¹°C⁻¹.



Slika 3. Normalizirane DSC krivulje drugog zagrijavanja PS-E-a (a) i PS-E^p-a (b)
Figure 3. Normalized DSC curves (second heating) of PS-E-a (a) and PS-E^p-a (b)

Precipitirani PS-E^p u drugom zagrijavanju pokazuje staklasti prijelaz koji je za 38 °C (T_{eig}), 37 °C (T_{mg}) i 36 °C (T_{efg}) niži u odnosu na drugo zagrijavanje PS-E-a (Slika 3), dok je specifični toplinski kapacitet gotovo jednak, odnosno manji samo za 0,004 Jg⁻¹°C⁻¹. U postupku precipitacije kao neotapalo korišten je metanol. Obzirom da je sušenje uzorka provedeno pri 80 °C, što je značajno više od temperature vrelišta metanola (64,5 °C) (Janović, 2011), nije vjerojatno da je eventualno zaostali metanol utjecao na staklasti prijelaz polistirena. S druge strane, obzirom na znatno sniženi staklasti prijelaz PS-E^p-a može se zaključiti da je uzrok tome najvjerojatnije zaostali limonen koji u postupku precipitacije nije uklonjen u

potpunosti. Međutim, rezultati FTIR analize nisu u skladu s rezultatima DSC analize, odnosno na dobivenom spektru PS-E^p-a nisu uočene karakteristične vrpce koje bi odgovarale eventualno prisutnome limonenu. Uočene oprečnosti trebalo bi dodatno istražiti. Konačno, može se zaključiti da precipitacija u ovom slučaju nije dobra metoda za odvajanje pjenastog polistirena od limonena.

Tablica 2. Značajke DSC krivulja istraživanih uzoraka

Table 2. DSC curves parameters of the investigated samples

Značajke			Uzorak	
			PS-E	PS-E ^p
1° zagrijavanje	$T_g / ^\circ\text{C}$	T_{eig}	102	51
		T_{mg}	110	53
		T_{efg}	117	55
	$\Delta c_p / \text{Jg}^{-1}\text{C}^{-1}$		0,384	0,099
2° zagrijavanje	$T_g / ^\circ\text{C}$	T_{eig}	101	63
		T_{mg}	106	69
		T_{efg}	110	74
	$\Delta c_p / \text{Jg}^{-1}\text{C}^{-1}$		0,275	0,271

ZAKLJUČAK

Zadatak ovog rada bio je potvrditi mogućnost primjene limonena kao ekološkog, biorazgradljivog organskog otapala u procesu oporabe pjenastog polistirena. Također, primjenom infracrvene spektroskopije i diferencijalne skenirajuće kalorimetrije cilj je bio odrediti utjecaj precipitacije neotapalom na strukturu i toplinska svojstva PS-E-a nakon odvajanja limonena. Temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti da limonen doista trenutačno smanjuje početni volumen i time značajno olakšava transport otpadnog pjenastog polistirena do reciklažnih centara. Nadalje, uporaba limonenom i precipitacija metanolom nije značajno utjecala na karakteristični spektrogram pjenastog polistirena, odnosno precipitacija nije značajno utjecala na pomak apsorpcijskih vrpce PS-E-a. Međutim, precipitirani PS-E^p pokazuje staklasti prijelaz koji je za oko 37 °C niži u odnosu na staklasti prijelaz izvornog PS-E-a, temeljem čega se može zaključiti da su postupci oporabe limonenom i precipitacije metanolom značajno utjecali na staklasti prijelaz pjenastog polistirena. Konačno, precipitacija se u ovom slučaju nije pokazala učinkovitom metodom za odvajanje PS-E-a od limonena.

LITERATURA

- García, M. T., Gracia, I., Duque, G., De Lucas, A., Rodríguez, J. F. (2009.): Study of the solubility and stability of polystyrene wastes in a dissolution recycling process, *Waste Management*. 29, 1814-1818. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.01.001>
- Günzler, H., Gremlich, H. U. (2006): Uvod u infracrvenu spektroskopiju, Školska knjiga, Zagreb.
- Hattori, K. (2015): Recycling of expanded polystyrene using natural solvents, <http://dx.doi.org/10.5772/59156>
- HRN ISO 11357-2: 2009 Plastika - Diferencijalna pretražna kalorimetrija - 2. dio: Određivanje temperature staklastog prijelaza.
- Janović, Z. (1997.): Polimerizacije i polimeri, Hrvatsko društvo kemičara i kemijskih inženjera, Zagreb.
- Janović, Z. (2011.): Naftni i petrokemijski procesi i proizvodi, Hrvatsko društvo za goriva i maziva, Zagreb.
- Kampouris, E. M., Papaspyrides, C. D., Lekakou, C. N. (1987.): A model recovery process for scrap polystyrene foam by means of solvent systems, *Conservation & Recycling*. 10 (4), 315-319. [https://doi.org/10.1016/0361-3658\(87\)90062-2](https://doi.org/10.1016/0361-3658(87)90062-2)
- Kampouris, E. M., Papaspyrides, C. D., Lekakou, C. N. (1988.): A model process for the solvent recycling of polystyrene, *Polym. Eng. Sci.* 28 (8), 534-537. <https://doi.org/10.1002/pen.760280808>
- Kelly, J. (2012.): How does polystyrene recycling work?, <https://science.howstuffworks.com/environmental/green-science/polystyrene-recycling.htm>, pristupljeno 30.1.2018.
- Maharana, T., Negi, Y. S., Mohanty, B. (2007.): Review article: Recycling of polystyrene, *Polymer-Plastics Technology and Engineering*. 46, 729-736. <https://doi.org/10.1080/03602550701273963>
- Ndubuisi Ezejiofor, T. I., Eke, N. V., Okechukwu, R. I., Nwoguikpe, R. N., Duru, C. M. (2011.): Waste to wealth: Industrial raw materials potential of peels of Nigerian sweet orange (*Citrus sinensis*), *Afr. J. Biotechnol.* 10 (33), 6257-6264.
- Prerbeg, F. (2008.) Pola stoljeća stiropora, <http://www.gradimo.hr/clanak/pola-stoljeca-stiropora/24300>, pristupljeno 17.2.2018.
- Rieger, J. (1996.): The glass transition temperature of polystyrene, *J. Therm. Anal.* 46, 965-972. <https://doi.org/10.1007/BF01983614>
- Stuart, B. (2004.): Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications, John Wiley & Sons Ltd, Engleska.

DETERMINATION OF HISTAMINE IN FISH AND FISH PRODUCTS USING THE METHOD OF ELISA

**Huska Jukić¹, Samira Dedić^{2*}, Zlatko Jusufhodžić³, Miloš Rodić³,
Dinko Demirović³**

¹University of Bihać, Faculty of Health Studies, Nositelja hrvatskog trolista 4,
77000 Bihać, B&H

²University of Bihać, Faculty of Biotechnology, Kulina Bana 2, 77000 Bihać, B&H

³Public institution "Veterinary Institute" Bihać, Omera Novljanina 6,
77000 Bihać, B&H

*samira.dedic@yahoo.com

original scientific paper

ABSTRACT

Food safety standards require the detection of compounds which pose a health risk even in traces, such as biogenic amines. Histamine is one of the most studied biogenic amines, primarily due to its toxicity, and according to some authors it remains stable even at 200 °C, which means it cannot be destroyed at the sterilisation temperature. An enzyme-immunochemical method (ELISA) was used to determine the content of histamine in fish products. ELISA is a selective and sensitive method, and the software that comes with the device provides a simple and quick interpretation of the obtained results, as well as testing of a large number of samples. A total of 30 canned tuna samples were tested but the presence of histamine was not detected.

Keywords: ELISA, histamine content, fish, fish products

INTRODUCTION

Histamine (2-(4-imidazolyl) ethylamine) is a biogenic amine, which is produced by bacterial decarboxylation of histidine amino acid. The fish species which contain a high level of free histidine hence, if not manipulated correctly, may carry a possible risk of histamine poisoning are: anchovy, herring, mackerel, chub mackerel, sardine, sprat and tuna. According to the data, the dynamics of histamine formation depends primarily on the amount of free histidine in the muscle of the fish, and on the type and number of bacteria capable of forming histidine carboxylase (Moeller and Peter, 2000). The main bacteria responsible for the decarboxylation of histidine to histamine is from *Enterobacteriaceae* family of *Enterobacteriaceae*, or from the genus of *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Serratia*, *Proteus*, *Photobacterium phosphoreum*, *Morganella morganii*, and other Gram-negative bacteria: *Proteus (Morganii mirabilis)*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*. In the European Union (EU) through Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 on microbiological criteria it has been established that in fishery products from species with a naturally high

histidine content (particularly fish from the *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryphaenidae*, *Pomatomidae* and *Scomberesocidae* families), using a sampling plan of nine samples, the mean histamine value must be less than 100 mg/kg, no sample should exceed 200 mg/kg and among nine samples only two can have a histamine content between 100 and 200 mg/kg. The conditions for preventing histamine poisoning are the storage of fish at a temperature of less than or equal to 4.4 °C, at any time from catch to consumption (Nosić, 2010).

The optimal temperature for histamine formation is 20-25 °C, but numerous studies have recorded an increase in histamine concentration at temperatures up to + 4 °C over a longer storage period (3-7 days) (Kanki et al., 2004; Emborg and Dalgaard, 2006). According to some authors, it is important to point out that once formed histamine cannot be destroyed by sterilization temperature nor cooling (Bogdanović et al., 2009). Histamine fish or food poisoning depends on the histamine content in foods, on the body weight of consumers and on the amount of the consumed food (Nosić, 2010; Marinšek, 1984).

In the EU, the maximum permitted levels (MAQ) of histamine are in accordance with the microbiological criteria for food in EC No 2073/2005. For fresh fish and fishery products the limit values are 100 and 200 ppm. Also, the Guidelines is used by HPLC as an analytical reference method for the analysis of histamine, which is mandatory in cases of exceeding the limit values in samples (EC No 2073/2005). The main risk reduction strategy consists of early histamine detection, the implementation of good production and hygiene policies, and the training of fishermen and fish industry workers. A valuable contribution to increasing the flow of information related to food safety is provided by the RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) system. RASFF is an access database, ie. a kind of communication tool for exchanging information between the member states of the European Union in order to urgently respond to threats to food safety (Nosić and Krešić, 2015). According to the latest reports of RASFF since 2014, there has been a significant increase in the number of contaminated tuna cases (Kriještorac et al., 2018; Anon., 2017). According to the RASFF database for the EU, 35 cases of poisoning linked to fish and fishery products were recorded from the beginning of 1995 to the end of 2001, while 315 records were made in the period between 2002 and 2010. Related to these records, in eight fish samples histamine concentration levels were above 4,000 mg/kg (Nosić and Krešić, 2015). The RASFF system sends an Alert for the whole area it covers when food (in this case fish and fishery products) pose a high risk for the market. According to the annual reports, the "Warning" was issued 135 times in 2017, 131 times in 2016, 104 times in 2015, 117 times in 2014, 77 times in 2013, 63 times in 2012, 95 times in 2011 and 111 times in 2010 (Rapid Alert System for Food and Feed, 2010, 2011, 2012, 2015, 2106, 2017). In the period 2010-2015, 176 cases of mass poisoning linked to fish and fishery products containing excessive amounts of histamine were recorded (Kriještorac et al., 2018).

After the alleged poisoning by fish contaminated with histamine in the area of the city of Mostar in June 2007, a study on the presence of histamine in fish samples in

Bosnia and Herzegovina was conducted. A total of 35 samples were analysed. 12 samples were of frozen fish (whole hake - 2, Mediterranean sand smelt - 3, whole mackerel - 2 samples, and one sample of hake fillet, mackerel fillet, sprat, John Dory fillet, and shark fish cutlet). Twenty-three samples were of canned fish (tuna in oil - 13, tuna - 2, sardines in oil - 3 samples, and one sample of hake in oil, mackerel in oil, yellowfin tuna, Russian salad with tuna, and tuna salad in a partridge sauce). All the analysed samples contained less than 100 ppm of histamine (Smajlović et al., 2008). Thereafter, continuous monitoring of the presence of histamine in foods, and consequently prevention of poisoning continued (Kriještorac et al., 2018). The aim of our research was to determine the possible presence and histamine levels in commercial canned tuna from two companies, intended for human consumption.

MATERIALS AND METHODS

Canned tuna samples were randomly selected from two companies from the Herzegovina region and Herzegovina-Neretva Canton. Afterwards, they were transported partially chilled to the laboratory (Table 1). The analysis was carried out at the laboratory of Public Institution "Veterinary Institute" Bihać, accredited body (BAS EN ISO/IEC 17025: 2006). All the samples were analysed for the presence and the amount of histamine using: MaxSignal Histamine Enzymatic Assay, Bio Scientific Corporation (Austin, TX, USA, Cat. No. 1031-04). The test kit contains all the reagents needed for the analysis as well as detailed instructions for the analysis, Methanol - MeOH p.a. (Lachner: 20038 - ATO), ELISA reader - spectrophotometer (Tecan: Sunrise), Centrifuge (Nahit: model 2698).

Table 1. Number and type of samples analysed

	Sample	Number of samples
Company 1	canned tuna	15
Company 2	canned tuna	15

Thus prepared samples were used to prepare the extracts for further analysis. We conserved sea fish and preserved the meat portion of the filter paper that picked up the rest of the fat and homogenized the samples.

We removed the oil from canned tuna and placed the meat part on the filter paper which absorbed the excess oil and then we homogenised the samples.

MaxSignal Histamine Enzymatic Assay is a colorimetric enzymatic analysis for screening determination of histamine in fresh fish and seafood, fish flour, wine and milk. The detection limit (LOD) is 25 ppm for fresh or canned fish and 50 ppm for marinated fish. The MaxSignal enzymatic test for histamine analysis measures the chemical reduction of colour molecules using histamine-specific enzymes. The colour change caused by colour reduction (measured by absorbance at 450 nm) is in proportion to the amount of histamine present in the sample.

Before starting the application onto the enzymatic plate, add Master Mix and Enzyme Mix (1:1 v/v) into the reaction mixture (*Reaction Mix*) (Table 2). A tube to use wrapped with aluminium foil. Wrap the tube before use in an aluminium sheet (Table 2).

Table 2. An example of calculating the amount required for the reaction mixture (*Reaction Mix*)

<i>Reaction Mix</i>		Quantity per reaction	Enough for
Master Mix	Enzyme mix	100 μ L	Half plate (48)
2.6 mL	2.6 mL		

*Store the complete Reaction Mix on ice to avoid reporting of the "background signal"

Standard solutions are used: negative control, 1, 2, 4, 8, 12 and spiking options 1000 ppm. Concentrations of standard solutions 1-12 ppm correspond to concentration points in the standard curve after dilution (1:2, v/v) with 67% of methanol on the microtiter plate. The sample mass depends on the fish category and the histamine concentration. In each series, in addition to the test samples we also had at least two control samples for each category of fish.

Table 3. Sample preparation with standard supplement for sample spiking

Level of testing	Type of sample	Mass (g)	Standard supplement (ppm)	V _{MeOH}	Dilution factor
Basic	negative test spiked	1.0	- - 100	4	10
Additional	negative test spiked	1.0	- - 200	8	18

Basic testing - Homogenized sample was weighed into centrifuges, and histamine was added to the spiked sample.

Table 4. Description of Reaction mix reagents preparation

Concentration added	Standard for soldering	Added volume (µL)
100 ppm	1 mg/mL*	100

*a basic solution for sample spiking (the standard corresponding to 100 mg of pure histamine is to be weighed and dissolved with methanol)

Then, 4 mL of methanol (Table 3) was added before vortex mixing for two minutes at higher intensity. Samples were centrifuged at 3000/min for 5 minutes. 1.5 mL of supernatant was transferred to a new screw-top centrifuge, incubated at 70 ± 1 °C for 5 minutes, and then, mixed in the vortex for 5 seconds. It was centrifuged at 6000 rpm for 10 minutes. In the meantime, 0.5 ml of 1X Sample Extraction Buffer was pipetted into a new tube and 0.5 mL of supernatant was added. It was lightly mixed, taking care not to foam. Such samples were ready to be applied to the microtiter plate. Also, additional testing was done. All deposits were in duplicate 100 µl of the final extract of each sample was pipetted, 100 µl of Reaction Mix added by a single-channel pipette in each hole. The plate was covered with aluminium sheet and lightly mixed. It was incubated at room temperature for 10 minutes and the absorbance at 450 nm was read by using a microtiter plate absorbance. The obtained numerical values were calculated by BIOO MaxSignal® ELISA Analysis Program in Excel software.

RESULTS AND DISCUSSION

In this paper, a total of 30 canned tuna samples from Herzegovina and Herzegovina-Neretva region were tested for histamine. All the samples analysed contained less than 100 ppm of histamine. For fresh fish and fish products, the legal limit values are 100 and 200 ppm (Regulation on microbiological criteria for food, "Official Gazette of BiH" Ser. 11/2013, Article 1.26 and 1.27). Hungerford & Wu (2012) examined two new test kit for quantifying histamine in fish and compared to Neogen Veratox ELISA. One of the kits is based on the selective enzymatic conversion of histamine by histamine dehydrogenase (MaxSignal, BIOO Scientific, Austin, Texas) and the other is a dipstick based on lateral flow immuno-chromatography (LFIC). These new kits are compared to Veratox using spiked and naturally contaminated fresh and frozen yellowfin tuna and mahi mahi, as well as canned mackerel and broth and canned tuna in oil and in broth. Histamine levels determined using the MaxSignal enzymatic kit and spiked and naturally contaminated fish were strongly correlated with levels detected with the Veratox ELISA.

In research (Kriještorac et al., 2018), who also used the ELISA test and the MaxSignal®CIS enzymatic kit for the determination of histamine and a total of 86 samples, of which 50 were canned fish samples, 28 samples of fish pate, one sample of fresh chub mackerel and giant squid, two fresh tuna samples and four fresh-sardine samples. They found two samples of fresh tuna fillets containing

concentrations more than permitted above legal limit. For one sample, they established a value of 203 mg/kg (ppm), while for another sample, a value of 220 mg/kg of histamine was determined. In other samples, values ranged from 50 to 100 mg/kg.

In the studies (Kamkar et al., 2003), histamine levels in analysed samples of Iranian preserved tuna and sardines ranged from 10 to 178 mg/kg for canned tuna and from 5 to 47 mg/kg for samples of preserved sardines.

Bevardi et al. (2014) analysed 258 samples of canned fish during 2012 and 2013. From the total number of canned fish samples analysed, about 30% were positive for the presence of histamine, but in the 25 samples the concentration was more than the maximum allowable amount (MAA) prescribed by the Ordinance on microbiological criteria for food (74/2008). The highest recorded concentration was 223 mg/kg, which exceeds maximum allowable concentrations (MACs) according to EC No 2073/2005 on histamine levels in fish and fishery products, which are in range of 100 mg/kg (m) and 200 mg/kg (M) (Regulation 2073/2005/EC).

Knezović et al. (2013) analysed 4 samples of fresh fish, and 20 samples of fish products. By analysing the obtained results, they observed a large dispersion among the elementary units that make up a representative sample of the production series. Standard deviations among the elementary units of the samples ranged from 5.6 to even 268.5 mg/kg, and the coefficients of variation ranged from 14 to 102.5%. They explain this in a way that the range of results within the series points to the possibility of a wrong assessment of the health safety of the series if the sample does not represent a sufficient number of elementary units. A correct estimate of products associated with a high amount of histidine can only be made on the basis of a properly selected sample.

In the research (Rahimi et al., 2012) using the ELISA test for the determination of histamine in 43 samples of canned tuna from five producers in Iran. In 30 out of 43 samples of canned tuna (69.8%), the presence of histamine was detected at a concentration of 17 to 210 mg/100 g and 8 samples of preserved tuna (18.6%) from two factories were higher than the tolerance limit for histamine content. Histamine is an indicator of good manufacturing practice and the state of preservation of some foods. Demirhan et al. (2014) analysed 80 samples of preserved tuna in determining the content of histamine and found that eight (10.0%) of the canned tuna samples were positive for histamine. The levels of histamine were within the EU value.

Muscarella et al. (2005) compared the techniques of High Performance Liquid Chromatography (HPLC), capillary electrophoresis (CE) and ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) in determining the content of histamine in seafood. They stated that the coefficient of variation was higher (CV = 9.6%) for ELISA than HPLC (3.3%) and CE (5.8%). The recovery (R%) was 115% for ELISA, 80.7% for HPLC and 88.7% for CE. While there was a good agreement between HPLC and CE histamine quantification, higher results were observed with ELISA technique; so, the last method can be used correctly only for a simultaneous screening of many samples and needs HPLC and CE confirmation. This method enables a rapid and precise determination of histamine content in many samples. In spite of that, it does

not require any complicated device, it is easy and simple. The possibility of determining lower concentrations, the simplicity of the sample preparation, as well as the short time of analysis provide evidence of the benefit of the immunoenzymic method (Leszczyńska et al., 2004). The ELISA method is applicable for the screening of samples. Elisa technique presents a high sensibility (0,05 mg/kg corresponding to 2.5 mg/kg in the sample) and it is very easy but required a confirm by other technique for the sample that have a histamine content above the legal limit.

CONCLUSION

A total of 30 canned tuna samples from two companies in the Herzegovina region were analysed and no histamine was detected. According to Regulation (EC) No 2073/2005, the recommended maximum levels of histamine in fish are 100 mg/kg for the EU countries. In accordance with the aforementioned European Union Regulation, unacceptable levels of histamine were not detected in the samples, which means that they were completely safe for consumption. The results indicate that all canned tuna samples were in accordance with all national and European regulations regarding histamine levels.

REFERENCES

- Anonymous (2017): European Food Safety Authority (EFSA). Assessment of the incidents of histamine intoxication in some EU countries European Food Safety Authority 2017:EN-1301
- Bevardi, M., Bošnjir, J., Horvat, G., Serdar, S., Brkić, D. (2014): Determination of biogenic amine histamine, in samples of canned fish using high performance liquid chromatography. 19th International Symposium on Separation Science. New Achievements in Chromatography, Poreč, 25-28.09.2013.
- Bogdanović, T., Lelas S., Listeš E., Šimat V. (2009): Histamine and biogenic amines as seafood freshness indicators. *Meso* 11 (5), 291-294. (Original in Croatian)
- Commission Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal L 338, 22.12.2005, 1-26. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:EN:PDF>
- Emborg, J., Dalgaard P. (2006): Formation of histamine and biogenic amines in cold-smoked tuna: an investigation of psychrotolerant bacteria from samples implicated in cases of histamine fish poisoning. *J. Food Prot.* 69, 897-906.
- Kamkar, A., Hosseini, H., Abuhossein, G. (2003): A study of histamine contents of canned tuna and sardine of Iran. *Pajouhesh and Sazandegi*, 60, 44-50
- Kanki, M., Yoda, T., Ishibashi, M., Tsukamoto, T. (2004): Photobacterium phosphoreum caused ahistamine fish poisoning incident. *Int. J. Food Microbiol.* 92, 79-87.

- Knezović, Z., Vojković, N., Sutlović, D. (2013): Influence of proper sampling for histamine content determination in fish samples. *Proceedings from The 2nd Croatian Congress on Health Ecology with International Participation "Health Ecology at the Service of Health"*, Haberle, V., Pollak, L. (Ed.), Zagreb, 24-26.4.2013. (Original in Croatian)
- Kriještorac I., Kapo N., Smajlović A. (2018): Detection of histamine in canned and fresh sea fish samples. *Meso*, 4, 325-329. (Original in Croatian)
- Leszczyńska, J., Więdłocha M., Pytasz U. (2004): The histamine content in some samples of food products. *Czech. J. Food Sci.*, 22, 81-86.
- Marinšek, J., Doganoc, D. (1984): Correlation between the content of histamine in fish meat and the results of biological examination on rabbits. U: *Proceedings from The 6th conference dedicated to hygiene and quality of fish, crabs and molluscs meat in production, processing and trade*, 1st and 2nd October 1984, Opatija, pp. 111-117. (Original in Croatian)
- Moeller, D.R.P. (2000): Finfish Toxins. In: *Marine & Freshwater Products Handbook*. Editors: Martin, R.E., Carter, E.P., Flick, G.J.Jr, Davis, L.M.. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, Basel. p.p. 717-725.
- Muscarella, M., Iammarino, M., Centonze, D., Palermo, C. (2005): Determination of histamine in seafood by HPLC, CE and ELISA: comparison of three techniques. *Vet. Res. Commun.* 29(S2):343-346 DOI: 10.1007/s11259-005-0077-2
- Nosić, M. (2010): Histamine fish poisoning. *Croat. J. Food Sci. Technol.* 2(1), 26-31. file:///C:/Users/User/Downloads/MANUSCRIPT_NOSIC%20(7).pdf (Original in Croatian)
- Nosić, M., Krešić G. (2015): Oily fish consumption- benefits and some health risks. *Food in health and disease: Scientific-professional journal of nutrition and dietetics* 4(1), 16-27. file:///C:/Users/User/Downloads/MANUSCRIPT_NOSIC%20(6).pdf (Original in Croatian)
- Microbiological guidelines for food, „Official Gazette BiH“ No. 11/2013 and 1.26 i 1.27. (Original in Croatian)
- Rahimi, E., Nayeypour, F., Alian, F. (2012): Determination of histamine in canned tuna fish using ELISA method. *Am.-Eurasian J. Toxicol. Sci.* 4 (2), 64-66.
- Rapid Alert System for Food and Feed, Annual Report 2010 (https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2010_en.pdf; accessed: 02.03. 2019.)

- Rapid Alert System for Food and Feed, Annual Report 2011
(http://ec.europa.eu/food/safety/rasff/docs/rasff_annual_report_2011_en.pdf; accessed: 02.03. 2019.)
- Rapid Alert System for Food and Feed, Annual Report 2012
(https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2012_en.pdf accessed: 02.03. 2019.)
- Rapid Alert System for Food and Feed, Annual Report 2015
(https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2015.pdf accessed: 02.03. 2019.)
- Rapid Alert System for Food and Feed, Annual Report 2016
(https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2016.pdf accessed: 02.03. 2019.)
- Rapid Alert System for Food and Feed, Annual Report 2017
(https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2017.pdf accessed: 02.03. 2019.)
- Smajlović, A., Baković, A., Mujezinović, I., Muminović, M., Smajlović, M., Kapetanović, O., Hadžijusufović, S. (2008): Determination of histamine in fish. *Meso* 10, 212-214. (Original in Croatian).

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA I ODREĐIVANJE KVALITETE VODE

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS AND DETERMINATION OF QUALITY OF WATER

**Enver Karahmet^{1*}, Senita Salkić¹, Enisa Omanović-Miklićanin¹, Amir Ganić¹,
Munevera Begić¹, Almir Toroman¹, Erna Čatić²**

¹Univerzitet u Sarajevu, Poljoprivredno-prehrambeni fakultet,
Zmaja od Bosne 8, 71000 Sarajevo, BiH

²AC FOOD d.o.o. – AS HOLDING Velika Kladuša, Polje bb,
77230 Velika Kladuša, BiH

*enverkarahmet@yahoo.com

stručni rad / professional paper

SAŽETAK

Ljudi su svakodnevno izloženi različitim čimbenicima koji utječu na njihovo zdravlje. Među te čimbenike svakako spada i utjecaj okoliša na zdravlje čovjeka, naročito utjecaj higijensko neispravne vode koju čovjek svakodnevno konzumira. Nečista voda može biti izvor mnogih, naročito crijevnih oboljenja te ne postoji voda koja je sterilna, osim u farmaceutskoj industriji. Prirodno u vodi se nalaze mnogi mikroorganizmi, minerali i mnoge druge komponente koje je čine takvom - osnovnom tečnošću života. S tim u vezi, mnoge sastavne komponente vode u određenim koncentracijama mogu pogubno djelovati na zdravlje stanovništva.

Predmet ovog rada je upravo određivanje kvaliteta vode, koje se vršio kroz analizu mikrobioloških i kemijskih pokazatelja kvaliteta vode na području Općine Kakanj (Zeničko-dobojski kanton, Bosna i Hercegovina). Analizirano je šest izvora vode sa različitih lokaliteta kako bi se utvrdila zdravstvena ispravnost istih. Tokom ispitivanja analiziran je turbiditet, nitriti, nitrati, sulfidi, sulfati, fosfor i kalcij, parametri čije su dozvoljene vrijednosti u vodi utvrđene Pravilnikom BiH o zdravstvenoj sigurnosti vode za piće. Korištenjem spektrofotometra i titracije s EDTA otopinom, vršena je prvenstveno kemijska analiza, koja uz mikrobiološku čini ukupnu analizu ispravnosti vode. Na osnovu mikrobioloških ispitivanja uzoraka vode, koje je sprovedeno na području općine. U 12 ispitivanih uzoraka nisu pronađene veće koncentracije od zakonski navedenih nedozvoljenih kemijskih komponenti. U konačnici, s aspekta parametara koji su analizirani, možemo zaključiti da svi ispitani izvori odgovaraju kriterijima BiH pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti vode.

Ključne riječi: voda, mikrobiologija, analiza, kvaliteta, Kakanj

Keywords: water, microbiology, analysis, quality, Kakanj

UVOD

Voda je najrasprostranjenija tvar u prirodi. Nalazi se na površini Zemlje, u obliku mora, jezera, rijeka, potoka, bara, u litosferi (kao podzemna) i u atmosferi (magla, kiša, padaline). Voda prekriva 71 % površine planete Zemlje. Ona je nezamjenjiva za sve poznate oblike života. Na Zemlji 96,5 % vode se nalazi u morima i oceanima, 1,7 % u podzemnim vodama, 1,7 % u lednicima i vječnom ledu Antartika i Grenlandu, te mali postotak u većim vodenim površinama i 0,001 % u atmosferi kao vodena para. Samo 2,5 % vode na Zemlji otpada na slatke vode, a 98,8 % slatke vode nalazi se zarobljeno u ledu ili u podzemnim vodama. Manje od 0,3 % slatkih voda na Zemlji se nalazi u rijekama, slatkovodnim jezerima i atmosferi. Bosna i Hercegovina je prva u regiji, a sedma država u Europi kada govorimo o izvorima pitke vode. Usprkos tome, godinama unazad BiH uvozi enormne količine ovog prirodnog resursa. Sa 9.460 kubnih metara pitke vode po stanovniku, BiH je vodeća u regiji (Omanović-Miklićanin i sur., 2017).

Čovjek je svakodnevno izložen različitim faktorima koji utiču na njegovo zdravlje. Među te faktore svakako spada i utjecaj okoliša na zdravlje čovjeka, naročito utjecaj higijensko neispravne vode koju čovjek svakodnevno konzumira. Naime, nečista voda može biti izvor mnogih, naročito crijevnih oboljenja. Prema podacima WHO (2004) oko 2 miliona ljudi godišnje umire zbog dijareje, većina njih su djeca ispod 5 godina starosti. Također, prema podacima WHO svake godine u svijetu oko 500 miliona ljudi oboli od nepoznatih bolesti zbog upotrebe bakteriološki neispravne vode, od kojih 10 miliona umire, a od ovoga polovina pripada dječjem uzrastu (Jusupović, 2008).

Uzrok tome su također i onečišćenja vode iz industrijskog otpada, poljoprivredni otpad, otpad iz domaćinstva, kao i stalan porast broja stanovnika i povećanje njihovog životnog standarda, što zajedno dovodi do, nama već dobro poznatim, klimatskim promjenama. Kada bi prirodnu vodu definirali kao vodu koja još nije dodirnutu ljudskim utjecajem, tada na Zemlji ne bi bilo uopće prirodne vode (Spelman, 2011). Kakanj je industrijsko područje, u posljednjih nekoliko godina upitna je ispravnost otvorenih izvora vode i njihov zdravstveni aspekt. Cilj ovog rada je bio određivanje kvalitete voda na području Kakanja, točnije sa šest izvora na različitim lokacijama, na osnovu parametara definiranih Pravilnikom o zdravstvenom aspektu vode za piće u BiH.

MATERIJAL I METODE

Uzorci vode su uzeti sa šest različitih lokaliteta općine Kakanj. Uzeti uzorci, od kojih su dva u blizini industrijskih područja (u blizini termoelektrane i cementare Kakanj), a dva sa viših područja, izoliranih od gradskih zagađenja koja se već dugo vremena smatraju „zdravim“ izvorima vode. Preostala dva uzorka se odnose na gradsku mrežu vodo opskrbe, ali iz različitih tokova, jer se gradska mreža snabdijeva iz dva bazena na različitim lokacijama. Uzorci su uzeti u lipnju i srpnju 2016 godine.

Kemijski parametri koji su ispitivani za svaki uzorak su bili: turbiditet, sulfidi, sulfati, fosfor, nitrati, nitriti, kalcij i amonijak. Analiza kemijskih parametara

izvršena je na spektrofotometru HACH DR 2000 (Loveland, Colorado, SAD). Tvrdoću vode i određivanje sadržaja kalcija u uzorcima izvršeno je volumetrijskom metodom. Mikrobiološka analiza je obuhvaćala ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija, enterobakterije, ukupan broj koliformnih bakterija, prisutnost fekalnih streptokoka, prisutnost *Pseudomonas aeruginosa*, prisutnost *Salmonala* spp. i sulfitredukujućih klostridija. Sve analize su rađene u laboratorijima Poljoprivredno-prehrambenog fakulteta u Sarajevu.

REZULTATI I RASPRAVA

Mikrobiološka analiza je urađena jednokratno pri prvom uzorkovanju svi parametri su opisani zajedno sa rezultatima koji su izmjereni, te diskutirano o istim, vodeći se zakonskim regulativama u BiH. Prema prethodno opisanim metodama iz uzoraka vode. Ispitivanje mikrobiološke ispravnosti vode za piće na području općine Kakanj, koje je provedeno na istim lokacijama dalo je slijedeće rezultate: zahtjevi za mikrobiološkom ispravnosti vode nisu bili zadovoljavajući niti u jednom slučaju u potpunosti. Rezultati ovog ispitivanja pokazuju da ispitivani parametri nisu u skladu sa Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (Anonimus, 2010) jer pokazuju odstupanje po broju koliformnih bakterija kojih je više nego što to Pravilnik propisuje.

Prisutnost aerobnih mezofilnih bakterija u svim uzorcima je pokazatelj da voda ima doticaj sa nekim organskim medijem u kom se ovi mikroorganizmi mogu lako razvijati. U ispitivanim uzorcima vode I i II pronađene su koliformne bakterije (2/100 mL) što sa zdravstveno-sigurnosnog aspekta govori da ova voda nije sigurna za piće, a i Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće ne dozvoljava prisutnost niti jedne od ovih bakterija. Niti u jednom ispitivanom uzorku vode nisu pronađene bakterije iz grupa: *Enterobacteriaceae*, *Salmonela* spp., sulfitreducirajuće klostridije, fekalni streptokoki i *Pseudomonas aeruginosa*. Na kraju se potvrdilo da dva izvorišta ne odgovaraju zahtjevima Pravilnika o mikrobiološkoj ispravnosti za piće.

Kemijska analiza uzorkovane vode je pokazala da u dvanaest ispitivanih uzoraka, nisu pronađene veće koncentracije zakonski navedenih nedozvoljenih kemijskih komponenti. Osim u turbiditetu, odnosno zamućenju vode, kod dva uzorka sa lokaliteta broj šest, pokazane su malo veće vrijednosti od zakonom propisanih. Međutim, uzorci su uzeti nakon kiše i ne možemo proglasiti vodu nepodobnom za piće bez novih uzoraka i praćenja istih određeni vremenski period.

Općenito, u svim rezultatima su dokazane niske vrijednosti analiziranih parametara poput nitrita, nitrata, sulfida, sulfata, fosfora i amonijaka, što je dobro za ukupnu ispravnost analiziranih voda. U BiH pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće, nemaju točno navedene koncentracije prisutnog kalcija, prema WHO, koncentracije kalcija do, i preko 100 mg/L su uobičajene u prirodnim izvorima vode, posebice u podzemnim vodama. Na osnovu vrijednosti kalcija u istraživanim uzorcima, voda u svim uzorcima spada u meku vodu, jer sadržaj CaCO₃ je ispod 71,4 mg/L.

Tablica 1. Mikrobiološka ispravnost ispitivanih uzoraka vode**Table 1.** Microbiological quality of the tested water samples

Mikroorganizmi	Lokalitet I	Lokalitet II	Lokalitet III	Lokalitet IV	Lokalitet V	Lokalitet VI	Reference
Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (37 °C - 48 h)	15,0	10,0	2,0	4,0	7,0	9,0	300/1 mL
Enterobakterije	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0/100 mL
Ukupan broj koliformnih bakterija	1.0	2.0	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0/100 mL
Prisutnost fekalnih streptokoka	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0/100 mL
Prisutnost <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0/100 mL
Prisutnost roda <i>Salmonella</i>	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0/100 mL
Sulfitreducirajuće klostridije	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0/1 mL

*n. d. – nije detektirano

Tablica 2. Vrijednosti ispitivanih kemijskih parametara**Table 2.** Values of the tested chemical parameters

Parametar	UZORCI											
	Lokalitet 1		Lokalitet 2		Lokalitet 3		Lokalitet 4		Lokalitet 5		Lokalitet 6	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Turbiditet FTU	1	1	0	0	0	1	2	2	0	0	1	0
Sulfidi µg/mL	0,697	0,690	0,862	0,841	0,442	0,442	0,436	0,513	0,323	0,327	0,315	0,300
Sulfati mg/L	42	45	48	45	8	6	6	6	5	6	10	8
Fosfor mg/L	0,07	0,09	0,02	0,08	0,07	0,12	0,07	0,06	0,06	0,09	0,05	0,04
Nitrati mg/L	0,8	0,9	0,8	0,5	0,7	0,5	0,3	0,7	0,9	0,7	0,9	0,8
Nitriti mg/L	0,003	0,007	0	0,004	0	0,005	0,005	0	0,001	0,001	0,001	0
Kalcij mg/L	39,63	40,03	43,64	44,04	24,42	24,02	25,62	29,23	25,62	25	17,61	17,42
Amonijak mg/L	0	0,01	0,01	0	0	0,06	0	0	0	0	0	0

U područjima gdje je poljoprivredna aktivnost izraženija, sadržaj nitrata u vodi može biti povećan. Umjetna dušična gnojiva i organska gnojiva također doprinose povećanju koncentracije nitrata u vodi. Osim njih, kao izvori zagađenja su emisije iz motora na sagorijevanje i nepropisno odlaganje otpada. Prema pravilniku, maksimalne koncentracije dozvoljene u vodi su 50 mg/L, međutim preporučena vrijednost u EU za nitrata iznosi 25 mg/L NO₃. Smjernica granične vrijednost za nitrata u vodi u količini od 50 mg/L zasniva se na epidemiološkim dokazima za methemoglobinemiju kod dojenčadi a, što je rezultat kratkotrajnog izlaganja vodi sa povećanim nitratima, i mjera je zaštite za bebe hranjene hranom iz bočice, a samim tim i druge grupe stanovništva (WHO, 2011).

ZAKLJUČCI

U konačnici sa aspekta kemijskih parametara koji su analizirani, možemo zaključiti da svi ispitani izvori odgovaraju kriterijima BiH pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti vode, i da su ispravni i dozvoljeni za konzumaciju.

- Na osnovu ispitivanja kvaliteta vode, koje je sprovedeno na području općine Kakanj na šest izvorišta, može se zaključiti da mikrobiološki dva nisu odgovarala propisima.
- Sva izvorišta sadrže aerobne mezofilne bakterije ali njihov broj odgovara Pravilniku o higijenskoj ispravnosti vode za piće (Zakon o vodama, Sl. List FBiH br.70/06).
- Koliformne bakterije su identificirane na izvorištima I i II i to i u ponovljenom uzorkovanju koje je napravljeno naknadno.
- Koliformne bakterije, fekalne streptokoke, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp. i sulfitoredujuće klostridije nisu pronađena niti u jednom uzorku vode.
- Kemijska analiza uzorkovane vode je pokazala da u ispitivanim uzorcima, nisu pronađene veće koncentracije zakonski navedenih nedozvoljenih kemijskih komponenti.
- Neophodno je informirati potrošače svaki put kada analiza pokaže da voda nije u skladu za zahtjevima Pravilnika
- Neophodne su češće analize vode kako bi se mogao pratiti trend kretanja određenih parametara kvaliteta vode.

LITERATURA

Jusupović, F. (2008): Higijena pitke vode. Sarajevo, BiH: Fakultet zdravstvenih studija, pp. 7-162.

Omanović-Miklićanin, E., Velagić-Habul, E., Preočanin, T., Jakaša, I., Đapo, M., Pita-Bahto, A., Sedić, D. (2017): Fizičko-hemijske instrumentalne metode u analizi hrane i vode, Sarajevo, BiH: Univerzitet u Sarajevu, pp. 259.

Anonimus (2010): Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće. Službeni glasnik BiH, broj 40, pp. 24-31,

WHO (2004): Sulfate in drinking water, dostupno na:
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/sulfate.pdf
(18.08.2017.)

WHO (2011): Nitrate and nitrite in drinking water, dostupno na:
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/nitratenitrite2ndadd.pdf pristupljeno (20.09.2017.)

Zakon o vodama. Službeni glasnik F BiH br. 70/06.

STAVOVI I ZNANJA POTROŠAČA PREMA KVALITETI I SIGURNOSTI HRANE NA PODRUČJU FBiH

ATTITUDES AND KNOWLEDGE OF CONSUMERS ACCORDING TO QUALITY AND SAFETY FOOD IN FB&H

Ermina Kukić*, Sead Karakaš, Mateja Paklarčić

Zavod za javno zdravstvo SBK/KSB, Bolnička 1, 72270 Travnik, BiH

*kukic.ermana@gmail.com

stručni rad / professional paper

SAŽETAK

Provjerena kvaliteta i sigurnost hrane jedan je od najznačajnijih elemenata koji utječe na stvaranje pozitivne slike potrošača o proizvodu. Cilj rada je bio ispitati znanja, stavove i praksu potrošača u odnosu na kvalitetu i sigurnost dostupnih proizvoda. U istraživanje je bilo uključeno 1568 ispitanika iz četiri dobne skupine na području FBiH, koje je provedeno u 2017. godini. Kao instrument mjerenja korišten je anonimni anketni upitnik koji se sastojao od 17 pitanja (3 pitanja su se odnosila na opće informacije: dob, spol i stručna sprema, dok se 14 pitanja odnosilo na znanja i stavove potrošača o kvaliteti i sigurnosti hrane).

Na pitanje šta predstavlja najveću opasnost za zdravlje potrošača najveći udio ispitanika iz ruralne sredine smatra da je to hrana nakon isteka roka 388 (67,71 %), dok isto smatra 480 (48,24 %) iz urbane sredine. Ispitanici iz obje životne sredine bi imali više povjerenja u proizvode koji nose oznaku kvalitete mreže nezavisnih laboratorija u regiji, i to 585 (58,79 %) ispitanika iz urbane sredine te 325 (56,72 %) ispitanika iz ruralne sredine. Postoji značajna statistička razlika u stavu potrošača prema dokazu o kvaliteti proizvoda u odnosu na pojedine dobne skupine.

Zaključak je da bi potvrda kvalitete proizvoda od nezavisnih laboratorija podigla razinu povjerenja potrošača u pojedine proizvode.

Ključne riječi: potrošači, kvaliteta hrane, sigurnost hrane, stavovi potrošača

Keywords: consumers, food quality, food safety, consumer attitudes

UVOD

Sigurnost hrane je globalni problem koji utiče na stotine miliona ljudi koji pate od bolesti izazvanih kontaminiranom hranom. Svjetska zdravstvena organizacija to naziva jednim od najraširenijih zdravstvenih problema (Ortega i sur., 2014). Zdravstvena ispravnost hrane podrazumijeva sigurnost da hrana neće prouzrokovati štetne uticaje na zdravlje ljudi ako je pripremljena i upotrebljavana u skladu s njenom namjenom. Pod sigurnošću hrane podrazumijeva se zdravstveno ispravna hrana koja je proizvedena uz odgovarajuće higijenske mjere, od primarne

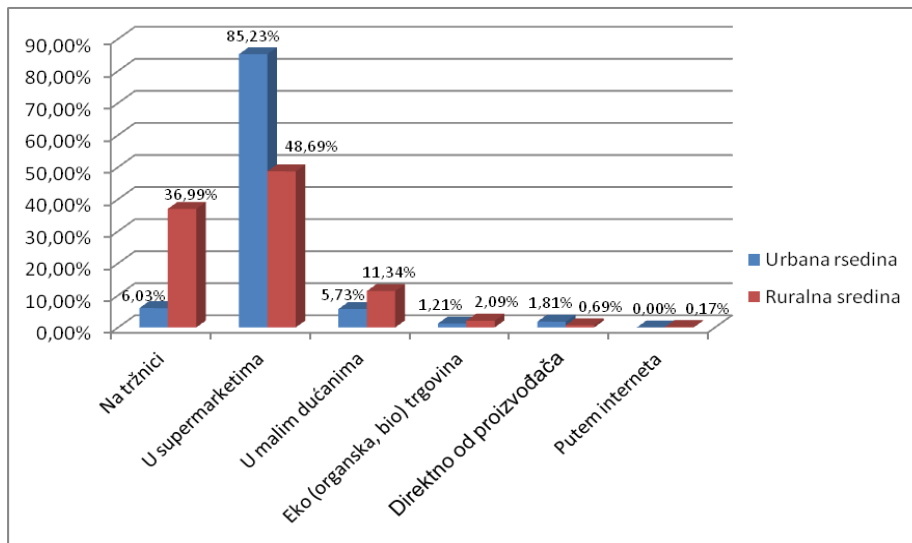
proizvodnje do gotovog proizvoda. Jedan od najznačajnijih elemenata koji utiče na stvaranje pozitivne slike potrošača o proizvodu je provjerena kvaliteta i sigurnost hrane (Hadžiosmanović i sur., 2004). Opasnost u hrani se povezuje s rizikom s obzirom na patogenost ili toksičnost neživog ili živog uzročnika i prisutnost u hrani u dovoljnoj količini da utječe na zdravlje (Katalenić, 2014).

Potrošači očekuju siguran rast kvalitete, sigurnosti i različitosti hrane (Piližota, 2012). Zato je potrebno da se poduzmu i primjene sve neophodne mjere za obezbjeđenje zdravstvene ispravnosti i kvaliteta do nivoa potrošača (Savović i sur., 2012). Stoga je velika odgovornost na proizvođačima hrane, i to u svim segmentima: od primarne proizvodnje, prerade, skladištenja pa do distribucije i prometa (Puntarić i sur., 2017). Cilj ovog rada je ispitati znanja, stavove i praksu potrošača u odnosu na kvalitet i sigurnost dostupnih proizvoda.

MATERIJALI I METODE

U istraživanje je uključeno 1568 ispitanika iz četiri dobne skupine na području FBiH, koje je provedeno u 2017. godini. Kao instrument mjerenja korišten je anonimni anketni upitnik koji se sastojao od 17 pitanja (3 pitanja su se odnosila na opće informacije: dob, spol i stručna sprema, dok se 14 pitanja odnosilo na znanja i stavove potrošača o kvaliteti i sigurnosti hrane).

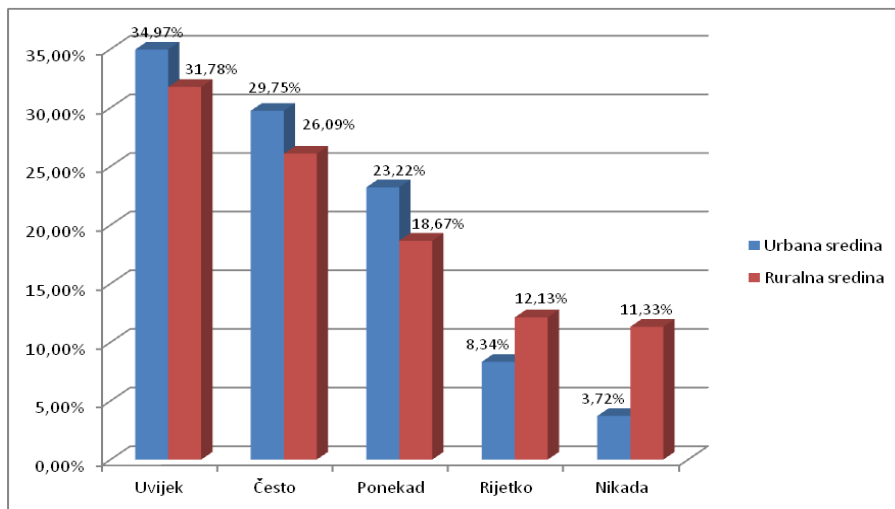
REZULTATI I RASPRAVA



Slika 1. Distribucija odgovora na pitanje "Gdje najčešće kupujete prehrambene proizvode?"

Figure 1. Distribution of answers to the question "Where do you usually buy food products?"

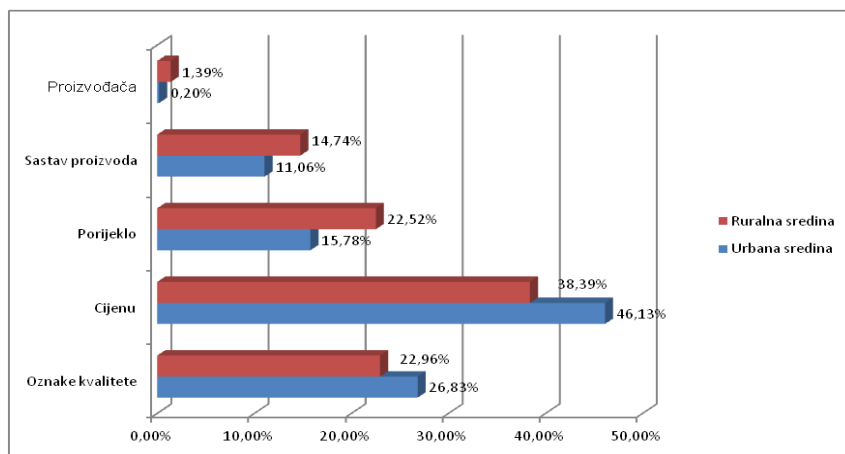
Na pitanje gdje najčešće kupuju prehrambene proizvode najveći udio ispitanika iz urbane sredine 85,23 % kupuje prehrambene proizvode u supermarketima, a iz ruralne sredine 48,69 %, dok najveći udio ispitanika iz ruralne sredine 36,99 % iste kupuje na tržnici. U malim dućanima prehrambene proizvode kupuje 11,34 % ispitanika iz ruralne sredine, a 5,73 % iz urbane sredine (Slika 1).



Slika 2. Distribucija odgovora na pitanje "Čitate li deklaraciju na proizvodima koje kupujete?"

Figure 2. Distribution of answers to the question "Are you reading a declaration on the products you're buying?"

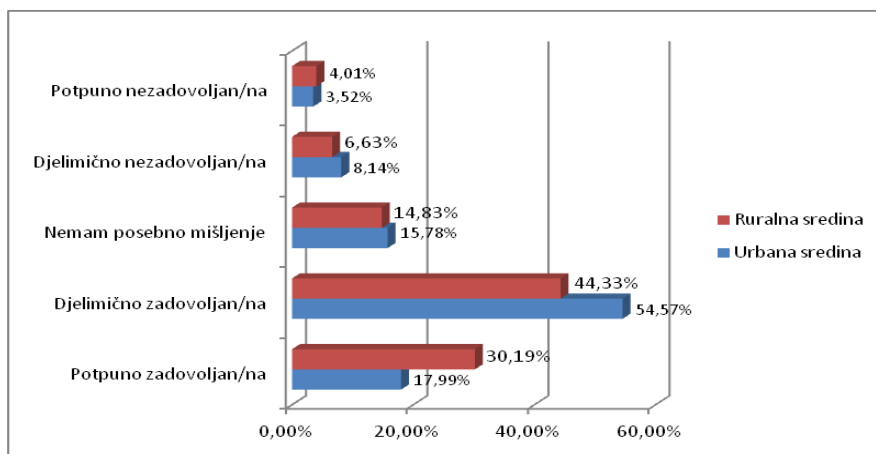
Na osnovu dobivenih rezultata veći je udio ispitanika iz urbane sredine 34,97 % koji uvijek čitaju deklaraciju na proizvodima koje kupuju u odnosu na ispitanike iz ruralne sredine 31,78 %. Deklaraciju na proizvodima često čita 29,75 % ispitanika iz urbane sredine i 26,09 % iz ruralne, dok 11,33 % ispitanika iz ruralne sredine i 3,72 % iz urbane nikada ne čita deklaraciju. (Slika 2). U istraživanju 2014. godine koje je provelo Ministarstvo poljoprivrede u saradnji sa Hrvatskom agencijom za hranu i Prehrambeno-biotehnološkim fakultetom utvrđeno je da 25 % ispitanika nikada ne čita deklaraciju, a njih 36 % rijetko (<https://www.hah.hr/doc/prezentacije/hah-katalog-printano.pdf>).



Slika 3. Distribucija odgovora na pitanje "Šta primijetite na zapakiranim namirnicama?"

Figure 3. Distribution of answers to the question "What do you notice on packaged food?"

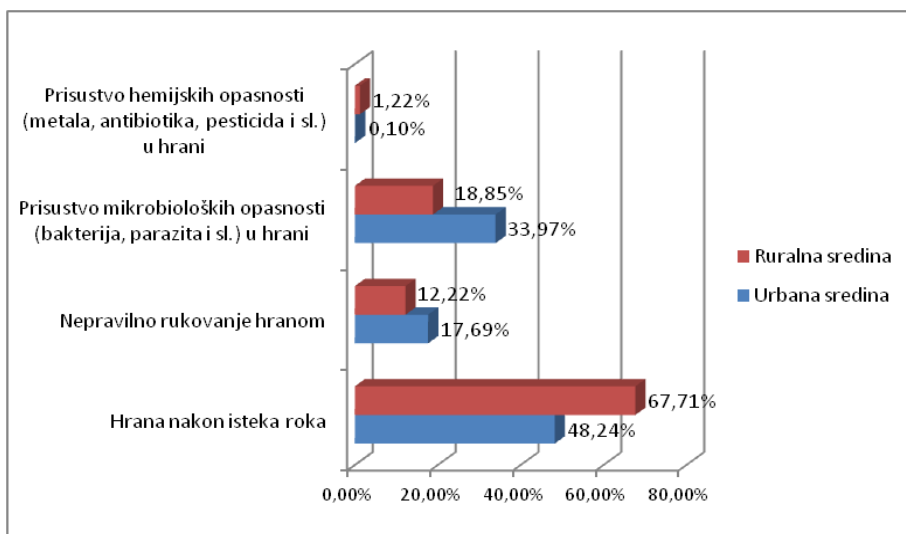
Na zapakiranim namirnicama uvijek ili često 26,83 % ispitanika iz urbane sredine primijeti oznaku kvalitete, a 22,96 % ispitanika iz ruralne. Uvijek ili često cijenu primijeti 46,13 % ispitanika iz urbane sredine, dok 38,39 % ispitanika iz ruralne sredine. Veći je udio ispitanika iz ruralne sredine 22,52 % koji na zapakiranim namirnicama uvijek ili često primijete porijeklo u odnosu na ispitanike iz urbane sredine 15,78 % (Slika 3). Istraživanje koje je provedeno u Hrvatskoj 2010. godine, na ponuđeno pitanje da ispitanici sami navedu tri asocijacije koje u njima pobuđuje pojam sigurnosti hrane, 51 % ispitanika koji su odgovorili na pitanje rekli su da je to kvaliteta (dokaz povezanosti sigurnosti i kvalitete u percepciji potrošača) (Lončarić i sur., 2011).



Slika 4. Zadovoljstvo ispitanika hranom koju kupuju

Figure 4. The satisfaction of respondents with the food they buy

Kada je u pitanju zadovoljstvo ispitanika hranom koju kupuju 30,19 % iz ruralne sredine je potpuno zadovoljno, a 17,99 % iz urbane sredine. Djelomično je zadovoljno 54,57 % ispitanika iz urbane sredine, dok iz ruralne 44,33 %. O zadovoljstvu hranom koju kupuju 15,78 % ispitanika iz urbane sredine nema posebno mišljenje, dok 14,83 % iz ruralne sredine (Slika 4).

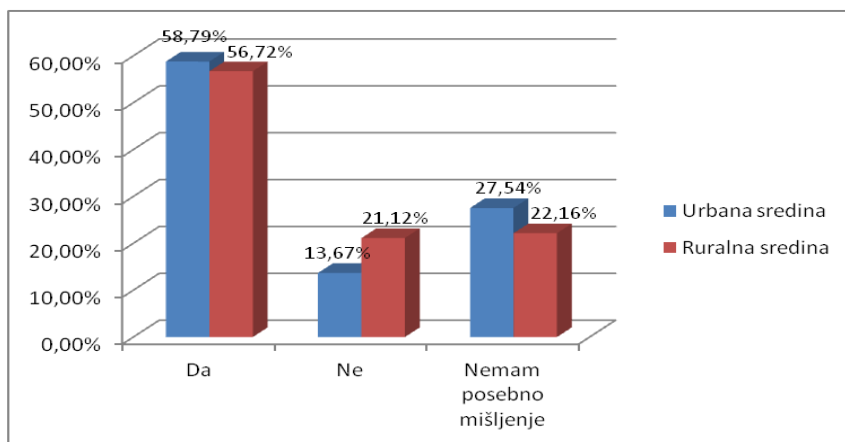


Slika 5. Distribucija odgovora na pitanje "Što predstavlja najveću opasnost za zdravlje potrošača?"

Figure 5. Distribution of answers to the question "What is the greatest danger to consumer health? "

Na ponuđeno pitanje šta predstavlja najveću opasnost za zdravlje potrošača najveći udio ispitanika iz ruralne sredine smatra da je to hrana nakon isteka roka 67,71 %, dok 48,24 % iz urbane sredine. Veći udio ispitanika iz urbane sredine 17,69 % smatra da je to nepravilno rukovanje hranom, a iz ruralne 12,22 %. Da je najveća opasnost za zdravlje potrošača prisustvo mikrobioloških opasnosti smatra 33,97 % ispitanika iz urbane sredine i 18,85 % iz ruralne sredine (Slika 5).

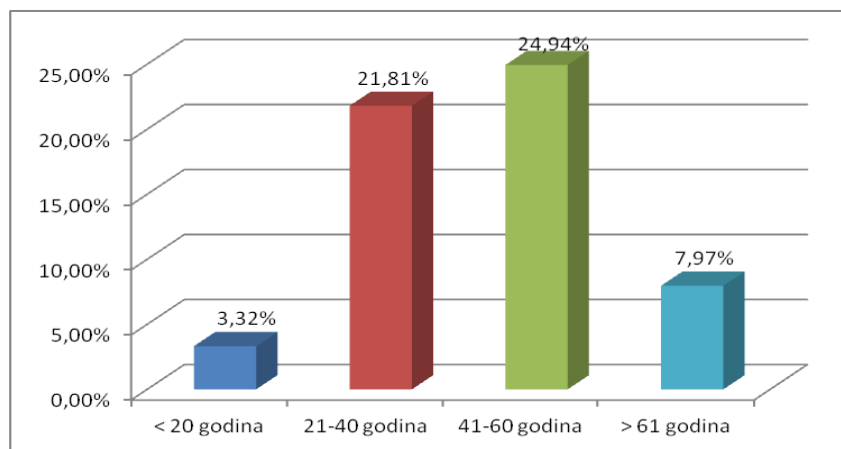
Ispitanici iz obje životne sredine bi imali više povjerenja u proizvode koji nose oznaku kvalitete mreže nezavisnih laboratorija u regiji i to 58,79 % ispitanika iz urbane sredine i 56,72 % ispitanika iz ruralne (Slika 6). Na osnovu istraživanja koje je provedeno u Hrvatskoj 2010. godine, 87 % ispitanika je odgovorilo da je spremno izdvojiti višu cijenu za proizvod dokazane kvalitete koji ima umanjen zdravstveni rizik (Lončarić i sur., 2011).



Slika 6. Distribucija odgovora na pitanje "Da li biste li imali više povjerenja u proizvode koji nose oznaku kvalitete mreže nezavisnih laboratorija u regiji?"

Figure 6. Distribution of answers to the question "Would you have more confidence in products that carry the quality label of independent laboratories in the region?"

Kada je u pitanju povjerenje u proizvode koji nose oznaku kvalitete mreže nezavisnih laboratorija u regiji, 24,94 % ispitanika dobne skupine 41-60 godina bi imali više povjerenja, 21,81 % ispitanika dobne skupine 21-40 godina i 7,97 % ispitanika dobne skupine > 61 godina.



Slika 7. Distribucija odgovora na pitanje "Da li biste li imali više povjerenja u proizvode koji nose oznaku kvalitete mreže nezavisnih laboratorija u regiji?" u odnosu na dobnu skupinu

Figure 7. Distribution of answers to the question "Would you have more confidence in products that carry the quality label of independent laboratories in the region?" in relation to the age group

ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata možemo zaključiti da je ispitanicima prilikom kupovine prehrambenih proizvoda na prvom mjestu što primijete cijena, a zatim oznaka kvaliteta proizvoda. Ispitanici najopasnijim smatraju hranu nakon isteka roka, a zatim prisustvo mikrobioloških opasnosti u hrani. Potvrda kvaliteta proizvoda od neovisnih laboratorija bi podigla nivo povjerenja potrošača u pojedine proizvode.

LITERATURA

- Hadžiosmanović, M., Kozačinski, L., Cvrtila, Ž. (2004): Zdravstvena ispravnost, sigurnost i higijena hrane (namirnica), *Meso: prvi hrvatski časopis o mesu*, vol.6 (3), 58-63. <https://hrcak.srce.hr/25926>
- Katalenić, M., (2014): Sigurnost i kvaliteta hrane, zalog zdravlja, *Hrvatski časopis za javno zdravstvo*, Vol 10, broj 40, str.12. <https://hcjz.hr/index.php/hcjz/article/view/1473/1465>
- Lončarić, R., Gurdon, J., Zmaić, K., Sudarić, T. (2011): Percepcije potrošača o sigurnosti i rizicima povezanim s hranom, *43rd Croatian and 3rd International Symposium on Agriculture, Opatija, Croatia*, 276- 280. http://sa.agr.hr/pdf/2011/sa2011_p0220.pdf
- Ortega, D.L., Brown, C.G., Waldron, S.A., Wang, H.H (2014): Agricultural marketing and food safety in China: a utility perspective, *Journal of Agribusiness in Developing and Emerging Economies*, Vol. 4 Issue: 1, 23-31. <https://www.emeraldinsight.com/doi/full/10.1108/JADEE-02-2013-0009>
- Piližota, V. (2012): Consumer needs for affordable food of good quality, *Tehničke znanosti knj.* 15, 77-92. https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=138961
- Puntarić, D., Ropac, D., i sur. (2017): Higijena i epidemiologija, Medicinska naklada, Zagreb, str.48.
- Savović, I., Kokić Arsić, A., Kanjevac Milovanović, K., Đorđević, A. (2012): Kvalitet i bezbednost hrane iz ugla korisnika, *39. Nacionalna konferencija o kvalitetu, 7. Nacionalna konferencija o kvalitetu života*, 106-112. https://www.researchgate.net/publication/321869393_KVALITET_I_BEZBEDNOST_HRANE_IZ_UGLA_KORISNIKA
- Sokolić, D., Kolarić Kravar, S., Batinić Sermek, M., Colić Barić, I. (2015): Razumijevanje informacija na hrani i stav potrošača o bacanju hrane. <https://www.hah.hr/doc/prezentacije/hah-katalog-printano.pdf> (12.06.2018.)

FOOD ANALYSIS /
ANALIZA HRANE

**UTJECAJ PROCESIRANJA NA ANTIOKSIDATIVNU AKTIVNOST I
SADRŽAJ UKUPNIH FENOLA I FLAVONOIDA U
BLITVI (*Beta vulgaris* L., *subsp. vulgaris*)**

**EFFECT OF PROCESSING ON ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL
PHENOLS AND FLAVONOIDS CONTENTS IN
CHARD (*Beta vulgaris* L., *subsp. vulgaris*)**

Zilha Ašimović*, Azra Ugarak, Lejla Čengić, Selma Čorbo

Univerzitet u Sarajevu, Poljoprivredno-prehrambeni fakultet Sarajevo,

Zmaja od Bosne 8, 71000 Sarajevo, BiH

**zilha.asimovic@gmail.com*

izvorni znanstveni rad / original scientific paper

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja je procijeniti utjecaj procesiranja na antioksidativnu aktivnost i sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u blitvi: domaća (n=5) i s tržnice (n=5). Praćen je utjecaj mikrovalnog zagrijavanja i zamrzavanja na sadržaj ispitivanih parametara, uz ekstrakciju u vodi i 30 % etanolu. Ukupni fenoli su određeni uz Folin-Ciocalteu reagens, antioksidativna aktivnost uz pFRAP, a kao standard je upotrijebljena galna kiselina. Za flavonoide je upotrijebljen katehin kao standard, a primijenjena je metoda stvaranja kompleksa s $AlCl_3$. Najveći prosječni sadržaj fenola je zabilježen kod uzoraka domaće zamrznute blitve u etanolnom ekstraktu ($161,74 \pm 5,23$ mg GAE/100 g), a najmanji u vodenom ekstraktu svježe blitve s tržnice ($112,95 \pm 22,09$ mg GAE/100 g). Najveći prosječni sadržaj flavonoida je vodenom ekstraktu domaće zamrznute blitve ($313,61 \pm 2,25$ mg CE/100 g), a najmanji kod blitve s tržnice u etanolnom ekstraktu ($165,34 \pm 26,18$ mg CE/100 g). Najveća antioksidativna aktivnost je zabilježena u etanolnom ekstraktu domaćih uzoraka blitve tretiranim mikrovalovima: $139,95 \pm 28,31$ mg GAE/100 g. Zaključeno je da je nakon mikrovalnog tretiranja uzoraka došlo do blagog povećanja flavonoida i antioksidativne aktivnosti u odnosu na svježe uzorke. Zamrzavanje je uzrokovalo blago povećanje sadržaja fenola i flavonoida, te smanjenje antioksidativne aktivnosti, pri čemu je utvrđena statistički značajna razlika pri nivou značajnosti od 95 %. Svi analizirani parametri su dominirali u blitvi iz domaćinstva u odnosu na blitvu s tržnice.

Ključne riječi: blitva, fenoli, flavonoidi, antioksidativna aktivnost

Keywords: chard, phenols, flavonoids, antioxidant activity

UVOD

Blitva (*Beta vulgaris* L. *subsp. vulgaris*) je dvogodišnje zeljasto lisnato povrće koje se uzgaja u mnogim dijelovima svijeta, jeftina i široko upotrebljiva u mnogim tradicionalnim jelima (Gao i sur., 2009). Listovi blitve se mogu koristiti u salatama ili poput špinata, a stabljike se obično sjeckaju i kuhaju poput celera. Biljka je robusnija i jednostavnija za rast od špinata i celera. Listovi blitve sadrže nutritivno značajne koncentracije vitamina A, C i B, kalcija, željeza i fosfora (Pyo i sur., 2004). Osim toga, bogata je i prehranbenim vlaknima i proteinima. Višebojne stabljike sadrže betalaine, koji imaju snažnu antioksidativnu aktivnost. Druge fenolne tvari u blitvi, poput flavonoida kaempferola, također su važni antioksidansi. Osim mnogih hranjivih tvari, blitva sadrži anti-nutritivne oksalate (Hedges i Lister, 2007). Studije su pokazale da su mnogi polifenolini spojevi dobiveni iz biljaka učinkoviti antioksidansi, te time mogu značajno doprinijeti zaštitnim učincima. Istraživanje antioksidacijskih fenolnih spojeva u jestivim biljkama provedeno je kako bi se poboljšalo razumijevanje njihove prehranbene vrijednosti i potencijalnih prednosti. Poznato je da je blitva bogata fenolnim spojevima i flavonoidima koji su, između ostalih, nosioci antioksidacijske aktivnosti. Antioksidansi su tvari koje posjeduju sposobnost zaštite tijela od oštećenja uzrokovanih slobodnim radikalima koji induciraju oksidacijski stres. Antioksidacijski spojevi poput fenolnih kiselina, polifenola i flavonoida uklanjaju slobodne radikale poput peroksida, hidroperoksida, hidroksila, te zaustavljaju oksidacioni mehanizam koji dovodi do degenerativnih bolesti. Flavonoidi su proaktivni polifenolni spojevi pronađeni u većini biljaka i ne mogu se sintetizirati ili proizvesti od strane ljudi, zato ih je potrebno unijeti u organizam putem prehrane. U usporedbi s ostalim povrćem, blitva pokazuje visok antioksidacijski učinak.

Cilj rada je utvrditi kakav utjecaj pokazuju pojedini načini procesiranja, zamrzavanje i mikrovalno zagrijavanje, u odnosu na sadržaj fenolnih spojeva i antioksidativnu aktivnost blitve u svježem stanju.

MATERIJAL I METODE

Za potrebe istraživanja su upotrebljeni uzorci svježe bijele blitve (listovi bez stabljika), od toga 5 uzoraka sa tržnice i 5 uzoraka iz domaćinstva. Uzorci su upakirani u aluminijske folije i podvrgnuti zamrzavanju (-20 °C) i čuvani zamrznuti u trajanju od 7 dana. Također, vršeno je i mikrovalno procesiranje svježih uzoraka (mikrovalna pećnica „Gorenje”), i to s jačinom prodiranja mikrovalova od 66 %, odnosno 462 W, u trajanju od 2 minute. Sve analize su obavljene tokom travnja i svibnja 2017. godine u laboratoriju za kemiju i biokemiju na Poljoprivredno-prehranbenom fakultetu u Sarajevu, uz tri ponavljanja.

Priprema ekstrakta

Ekstrakcija s destiliranom vodom

1-2 g uzorka se odvaže s točnošću $\pm 0,1$ g i homogenizira s 40 ml zagrijane destilirane vode (cca. 50 °C). Homogena smjesa se ekstrahira u tikvici sa okruglim dnom u vodenoj kupelji 15 minuta pri temperaturi od 70 °C uz povratno hladilo. Dobiveni ekstrakt se filtrira, a filtrat služi za određivanje ispitivanih parametara.

Ekstrakcija sa 30 % etanolnom otopinom

1-2 g uzorka se odvaže s točnošću $\pm 0,1$ g i homogenizira s 40 mL zagrijanog 30 %-tnog etanola (cca. 50 °C). Ekstrakcija se odvija u tikvici sa okruglim dnom u vodenoj kupelji tokom 15 minuta pri temperaturi od 70 °C uz povratno hladilo. Dobiveni ekstrakt se filtrira u odmjernu tikvicu i dopuni 30 %-tnim etanolom do oznake.

Određivanje sadržaja ukupnih fenola

Ukupni fenoli u blitvi su određeni spektrofotometrijski pomoću Folin-Ciocalteu reagensa (Singleton i sur., 1999), s modifikacijama: na 1 ml dobivenog vodenog ili etanolnog ekstrakta uzorka doda se 1,5 ml Folin-Ciocalteu reagensa (razrijeđenog 1:10), pričekava se 5 minuta, te tome doda 7,5 ml zasićene otopine Na₂CO₃. Nakon toga, se sve dobro promiješa u epruveti i termostatira u vodenoj kupelji 20 minuta na 50°C. Nakon hlađenja, vrši se očitavanje na spektrofotometru (UV/VIS Shimadzu 2200). Kao standard je upotrebljena galna kiselina (15, 30, 60 i 90 mg/l) a intenzitet obojenja je mjereno na 600 nm. Koncentracije ukupnih fenola su izračunate na osnovu baždarne krive ($y=0,0066x-0,0197$, $R^2=0,99$). Sadržaj ukupnih fenola je izražen u mg GAE/100g, pri čemu GAE predstavlja ekvivalent galne kiseline (eng. gallic acid equivalent).

Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida

Koncentracija flavonoida u ekstraktima (vodeni i etanolni) određena je primjenom AlCl₃ kao kompleksirajućeg reagensa spektrofotometrijskom metodom (Veljković i sur., 2013). Kao standard je upotrebljen katehin (CE). Intenzitet ružičastog obojenja je mjereno na 540 nm. Koncentracije ukupnih flavonoida su dobijene iz baždarne krive ($y=0,0029x-0,0031$, $R^2=0,97$). Rezultati su izraženi u mg CE/100g.

Određivanje antioksidativne aktivnosti pFRAP metodom

Antioksidativna aktivnost je određena pomoću pFRAP (potassium ferric antioxidant power) metode, prema Meng i sur. (2011) s modifikacijama. Antioksidativna aktivnost se određuje u ekstraktima blitve dobivenim korištenjem ekstrakcije s destiliranom vodom i etanolom: na 1ml ohlađenog ekstrakta (vodeni ili etanolni), doda se 1ml K₃[Fe(CN)₆], pričekava 5 minuta te doda 2ml FeCl₃, i 6 ml destilirane vode. Metoda se temelji na reakciji fenolnih spojeva s K₃[Fe(CN)₆] i FeCl₃, pri čemu nastaje željezni kompleks plavo-zelene boje, te mjerenjem nastalog intenziteta

obojenja spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 700 nm. Kao standard se koristi galna kiselina, a antioksidativna aktivnost je dobivena primjenom baždarne krive ($y=0,00369x+0,1949$, $R^2=0,97$). Rezultati antioksidativne aktivnosti su izraženi u mg GAE/100g.

Statistička analiza podataka

Dobiveni rezultati su statistički obrađeni. Statistička obrada podataka izvršena je u IBS SPSS Statistics 20, statističkom programu, a obuhvaća trifaktorsku ANOVU pri nivou značajnosti 95 %. Nakon utvrđivanja statistički značajnih razlika između ispitivanih grupa, urađena je post-hock analiza, gdje se koristio LSD test.

REZULTATI I RASPRAVA

U radu je određivan sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti u blitvi (sa tržnice i uzgojene u domaćinstvu) i to svježe, zamrznute i procesiranje djelovanjem mikrovalova. Rezultati prosječnog sadržaja fenola su prikazani u Tablici 1.

Tablica 1. Prosječni sadržaj ukupnih fenola u ispitivanim uzorcima blitve (mg GAE/100g)

Table 1. The average of total phenol content of chard samples (mg GAE/100g)

Ekstrakcijsko sredstvo	Podrijetlo	Obrada	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija
Voda	Domaća	svježa	126,28 ^{ghi}	13,28
		mikrovalovi	139,13 ^{de}	4,95
		zamrzavanje	143,71 ^{bcd}	5,74
	Kupovna	svježa	112,95 ^j	22,09
		mikrovalovi	117,41 ^{ij}	25,92
		zamrzavanje	114,62 ^j	6,99
Etanolna otopina (30 %)	Domaća	svježa	131,13 ^{efg}	27,28
		mikrovalovi	150,53 ^{bc}	11,25
		zamrzavanje	161,74 ^a	5,23
	Kupovna	svježa	127,8 ^{fgh}	21,76
		mikrovalovi	151,89 ^b	65,74
		zamrzavanje	136,74 ^{def}	20,02

*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima se statistički razlikuju ($p<0,05$)

Može se uočiti da se najveći prosječan sadržaj fenola nalazi u domaćim uzorcima blitve obrađenih zamrzavanjem i ekstrahiranim u 30 %-tnoj otopini etanola ($161,74\pm 5,23$ mg GAE/100g), dok je najmanji prosječan sadržaj fenola zabilježen u kupovnim svježim uzorcima blitve u vodi i iznosi $112,95\pm 22,09$ mg GAE/100 g. Prema Pyo i sur. (2004) sadržaj ukupnih fenola u blitvi s bijelim tkivom je 124,7 mg GAE/100 g, a u blitvi s crvenim tkivom 157,8 mg GAE/100 g, što je približno

vrijednostima dobivenim u ovom istraživanju. Slične vrijednosti našim, dobili su Trifunović i sur. (2015) koji navode da sadržaj ukupnih fenola u blitvi s bijelim tkivom je 101,5 mg GAE/100 g svježe blitve, a u blitvi s crvenim tkivom 128,1 mg GAE/100 g svježe blitve. Chandra i sur. (2014) navode da je sadržaj ukupnih fenola u blitvi je 57,73 mg GAE/g suhe tvari. Prema Zein i sur. (2015) sadržaj ukupnih fenola u blitvi u vodenom ekstraktu je 126 mg GAE/100 g, a u metanolnom ekstraktu 192 mg GAE/100 g. Utvrđena je statistički značajna razlika između ekstrakcijskih sredstva ($p < 0,05$), dok između termičkih obrada nisu uočene statistički značajne razlike pri nivou značajnosti 0,05 (Tablica 1).

Rezultati prosječnog sadržaja ukupnih flavonoida u blitvi prikazani su u Tablici 2. Iz Tablice 2 se može uočiti da se najveći prosječan sadržaj flavonoida nalazi u domaćim uzorcima blitve obrađene zamrzavanjem i ekstrahiranim u vodi, te iznosi $313,61 \pm 2,25$ mg CE/100 g, dok je najmanji prosječan sadržaj flavonoida zabilježen u kupovnim svježim uzorcima blitve ekstrahiranim u 30 %-tnom etanolu i iznosi $165,34 \pm 26,18$ mg CE/100 g.

Tablica 2. Prosječni sadržaj ukupnih flavonoida u ispitivanim uzorcima blitve (mg CE/100 g)

Table 2. The average total flavonoid content of chard samples (mg CE/100 g)

Ekstrakcijsko sredstvo	Podrijetlo	Obrada	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija
Voda	Domaća	svježa	262,58 ^{def}	34,89
		mikrovalovi	262,65 ^{de}	49,34
		zamrzavanje	313,61 ^a	2,25
	Kupovna	svježa	166,37 ^{ij}	36,51
		mikrovalovi	168,1 ^{ij}	28,13
		zamrzavanje	247,41 ^{defgh}	46,11
Etanolna otopina (30 %)	Domaća	svježa	265,68 ^d	49,47
		mikrovalovi	287,07 ^{bc}	42,91
		zamrzavanje	296,48 ^{ab}	7,52
	Kupovna	svježa	165,34 ^j	26,18
		mikrovalovi	186,66 ⁱ	16,2
		zamrzavanje	252,93 ^{defg}	45,12

*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima se statistički razlikuju ($p < 0,05$)

Utvrđeno da postoji statistički značajna razlika u sadržaju flavonoida između podrijetla blitve, te između termičkih obrada i to svježeg i zamrznutog, te zamrznutog i mikrovalnog pri nivou značajnosti 0,05, dok između svježih uzoraka blitve obrađenih mikrovalovima, te ekstrakcijskog sredstva nisu uočene statistički značajne razlike. Prema Gil i sur. (1998) sadržaj ukupnih flavonoida u blitvi se kreće od 240 do 300 mg CE/100 g svježe blitve što je približno vrijednostima dobivenim u ovom istraživanju. Prema Pyo i sur. (2004) sadržaj ukupnih flavonoida u blitvi s bijelim tkivom je 13,5 mg/100 g, a u blitvi s crvenim tkivom 28,2 mg/100 g. Prema

Chandra i sur. (2014) sadržaj ukupnih flavonoida u blitvi je 11,08 mg kvercetin ekvivalenata (QE)/g suhe tvari. Trifunović i sur. (2015) su našli da je sadržaj ukupnih flavonoida u blitvi 2,76 mg/g svježe blitve. Prema Zein i sur. (2015) prosječan sadržaj ukupnih flavonoida u vodenom ekstraktu blitve je 290 mg CE/100 g, a u metanolnom 190 mg CE/100 g, što je približno vrijednostima dobivenim u ovom istraživanju.

Prosječne vrijednosti antioksidativne aktivnosti blitve primjenom pFRAP metode su prikazane u Tablici 3.

Tablica 3. Prosječne vrijednosti antioksidativne aktivnosti u ispitivanim uzorcima blitve (mg GAE/100 g)

Table 3. The average antioxidative activity of chard samples (mg GAE/100 g)

Ekstrakcijsko sredstvo	Podrijetlo	Obrada	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija
Voda	Domaća	svježa	71,23 ^e	16,94
		mikrovalovi	127,82 ^{ab}	23,24
		zamrzavanje	47,33 ^{efgh}	20,48
	Kupovna	svježa	70,18 ^{ef}	34,89
		mikrovalovi	127,46 ^{abc}	44,29
		zamrzavanje	24,35 ^h	4,77
Etanolna otopina (30 %)	Domaća	svježa	106,03 ^{bcd}	37,66
		mikrovalovi	139,25 ^a	28,31
		zamrzavanje	43,1 ^h	13,37
	Kupovna	svježa	40,87 ^h	13,22
		mikrovalovi	68,58 ^{efg}	43,14
		zamrzavanje	23,13 ^h	2,87

*Prosječne vrijednosti označene različitim slovima se statistički razlikuju ($p < 0,05$)

Iz Tablice 3 se može uočiti da se najveći prosječan sadržaj antioksidativne aktivnosti nalazi u domaćim uzorcima blitve obrađene mikrovalovima i ekstrahiranim u 30 %-tnom etanolu ($139,25 \pm 28,31$ mg GAE/100 g), dok je najmanja prosječna vrijednost antioksidativne aktivnosti zabilježena u kupovnim uzorcima blitve zamrzavanjem i ekstrahiranim u 30 %-tnom etanolu i iznosi $23,13 \pm 2,87$ mg GAE/100 g. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između podrijetla blitve, te između termičkih obrada pri nivou značajnosti 0,05, dok primjenom ekstrakcijskog sredstva nisu uočene statistički značajne razlike pri nivou značajnosti 0,05. Pyo i sur. (2004) su našli da je sadržaj antioksidativne aktivnosti u blitvi s bijelim tkivom $65,3 \pm 0,1$ %, a u blitvi s crvenim tkivom $87,0 \pm 1,2$ %. Chandra i sur. (2014) su utvrdili da je sadržaj antioksidativne aktivnosti 68,5 % (DPPH test), te 59,18 % (CAA test). Prema Zein i sur. (2015) sadržaj antioksidativne aktivnosti u vodenom ekstraktu blitve je 73,3 %, a u metanolnom 80,37 %.

ZAKLJUČAK

Rezultati istraživanja su pokazali da je sadržaj fenola i flavonoida u blitvi bio najveći u etanolnim ekstraktima, neovisno o podrijetlu blitve i načinu obrade iz čega se može zaključiti da je etanol prikladnije ekstrakcijsko sredstvo za izdvajanje fenola i flavonoida iz uzoraka blitve od vode. Rezultati istraživanja su također pokazali da je vrijednost antioksidativne aktivnosti bile veće u onim uzorcima gdje je bio i veći sadržaj fenola i flavonoida, neovisno o načinu obrade i podrijetlu blitve, što upućuje na zaključak da su fenoli i flavonoidi jedni od glavnih nositelja antioksidativne aktivnosti u biljci. Način obrade blitve je značajno utjecao na sadržaj ispitivanih komponenti u blitvi, ali i na vrijednost antioksidativne aktivnosti uzoraka blitve. Zamrzavanje kao način obrade blitve se pokazao kao namjanje prikladan način za očuvanje antioksidativne aktivnosti uzoraka blitve, što može biti posljedica sporog zamrzavanja i formiranja većih kristala leda i oštećenja biljnog tkiva te dužeg djelovanja enzima. Uzorci blitve prije zamrzavanja su pakirani u aluminijske folije, pri čemu nije istisnut zrak, što također može biti jedan od uzroka smanjenja antioksidativne aktivnosti.

LITERATURA

- Chandra, S., Khan, S., Avula, B., Lata, H., Yang, MH., ElSohly MA., Khan, IA. (2014): Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: A comparative study, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2014, 253875. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/253875>
- Gao, Z.J., Han, X.H., Xiao, X.G. (2009): Purification and characterisation of polyphenol oxidase from red Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) leaves, *Food Chem.* 117 (2), 342-348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.013>
- Gil, M., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. (1998): Effect of modified atmosphere packaging on the flavonoids and vitamin C content of minimally processed swiss chard (*Beta vulgaris* subsp. *cycla*), *J. Agric. Food Chem.* 46 (5), 2007-2012. <https://doi.org/10.1021/jf970924e>
- Hedges, L.J., Lister, C.E. (2007): Nutritional attributes of spinach, silver beet and eggplant, *Crop & Food Research Confidential Report* 1928, 1-29.
- Meng, J., Fang, Y., Zhung, A., Chen, S., Xu T., Ren, Z., Han, G., Liu, J., Li, H., Zhang, Z., Wang, H. (2011): Phenolic content and antioxidant capacity of Chinese raisins produced in Xinjiang Province, *Food Res. Int.* 44, 2830-2836. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.032>
- Pyo, Y.-H., Lee, T., Logendra, L., Rosen, R.T. (2004): Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts, *Food Chem.* 85, 19-26. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00294-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00294-2)

- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods Enzymol.* 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Trifunović, S., Topalović, A., Knežević, M., Vajs, V. (2015): Free radicals and antioxidants: antioxidative and other properties of swiss chard (*Beta vulgaris* L. subsp. *cicla*). *Agricult. Forest.* 61 (2), 73-92. <http://dx.doi.org/10.17707/AgricultForest.61.2.06>
- Veljković, J., Pavlović, A., Mitić, S., Tošić, S., Stojanović, G., Kaličanin, B., Stanković, D., Stojković, M., Mitić, M., Brcanović, J. (2013): Evaluation of individual phenolic compounds and antioxidant properties of black, green, herbal and fruit tea infusions consumed in Serbia: spectrophotometric and electrochemical approaches, *J. Food Nutr. Res.* 52,12-24.
- Zein, H., Abd El-Moneim, S., Ismaiel, G. (2015): The antioxidant and anticancer activities of Swiss chard and red beetroot leaves, *Curr. Sci. Int.* 4 (4), 491-498.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF UNPASTEURISED AND THERMALLY PROCESSED SOUR CHERRY JUICE

Samira Dedić^{1*}, Huska Jukić², Aida Džaferović¹, Ekrem Pehlić², Miloš Rodić³

¹University of Bihać, Faculty of Biotechnology, Kulina Bana 2, 77000 Bihać, B&H

²University of Bihać, Faculty of Health Studies, Nositelja hrvatskog trolista 4, 77000 Bihać, B&H

³Public institution "Veterinary Institute" Bihać, Omera Novljanina 6, 77000 Bihać, BiH

*samira.dedic@yahoo.com

original scientific paper

ABSTRACT

Many scientific studies suggest that there is a positive correlation between fruit consumption and the prevention of the development of many diseases. It is known that fruit contains, in addition to nutrients, a significant amount of polyphenols, especially dark berries and soft fruit. Polyphenols possess many biological activities, such as antioxidant capacity. Polyphenols are of great interest to nutritionists, as well as food technology, due to the possibility of using them as an ingredient in functional food production. The aim of this research was to test the quality of freshly squeezed sour cherry juice with consumable sugar, and the effect of pasteurisation on antioxidant activity of the sour cherry juice. Juice was pasteurized at 80 °C. Pasteurization lowered the concentration of vitamin C, total anthocyanin, total phenol content and antioxidant activity of sour cherry juice.

Keywords: sour cherry juice, antioxidant activity, phenols

INTRODUCTION

Antioxidants are phytochemicals which, in low concentration, prevent the oxidative damage of biological materials arising as a consequence of chemical reactions involving free radicals. In a healthy organism, there is a balance between the formation of free radicals and antioxidants until the body experiences oxidative stress. The main characteristic of antioxidants is that it neutralizes free radicals, acts preventively or damaging. Antioxidants, which are absorbed from food intake, play a significant role in preventing many diseases associated with oxidative stress (Wan et al., 2012).

Antioxidant capacity is the measure of the ability to reduce and stop harmful oxidative reactions in food and in organism. Antioxidants are capable of inactivating radicals with two major mechanisms, hydrogen atom transfer (HAT) and single electron transfer (SET). Methods using HAT mechanism include: oxygen radical absorbance capacity (ORAC), total radical trapping antioxidant parameter (TRAP), total oxidant scavenging capacity (TOSC), chemical luminescence, α -carotene

bleaching, low density lipoprotein (LDL) oxidation, and methods using SET mechanism are: ferric reducing antioxidant power (FRAP), TRAP and copper reduction. Total phenolic method (Folin-Ciocalteu method = FC) is among the methods using both HAT and SET mechanisms (Prior et al., 2005).

On a global scale, there is an increasing demand for berries, since they contain a significant amount of biologically active compounds, such as phenols, flavonoids (anthocyanins, flavan-3-ols, and flavonoids), hydroxycinnamic acids (Veres et al., 2008; Gonçalves et al., 2004) as well as high concentration of vitamin C (Manganaris et al., 2014), which need to be incorporated into functional foods and pharmaceutical products (Kårlund et al., 2014). Various factors can affect vitamin C content and other compounds in fruit: genotypic differences, climatic conditions, maturity, harvesting method, processing and postharvest procedures (Golding et al., 2015). Vitamin C content decreases during storage, and its intensity depends on storage conditions such as oxygen levels, temperature and light. In addition, most phenolic compounds are responsible for organoleptic properties of fruits and their products, such as colour (e.g. anthocyanin) and aroma of berries (e.g. tannins) (Cheynier, 2005).

Identification and quantification of these compounds can give vital information related to their antioxidant function, food quality, and potential health benefits (Tumbas Šaponjac et al., 2016). Berry extracts have the biggest potential of removing free radicals, and their antioxidant activity is proportional to the anthocyanin content. Anthocyanins show instability to light and heat and an ability towards degenerative reactions. (Ćujić et al., 2013)

The need for unpasteurised antioxidant sources has increased because synthetic antioxidants, despite their efficiency, have shown some negative effects on health. During juice production, the bioactive compounds content can be decreased by the process of enzymatic depectinization or pasteurisation, leaving high amounts of these compounds in by-products, e.g. marc (Jurgoński et al., 2014).

Sour cherries contain high amounts of anthocyanins, which are responsible for a specific colour and contribute to the antioxidant activity of fruits and their products. Sour cherry juice is characterized by its high acidity. It was determined that sour cherry juice has four types of anthocyanin compounds: cyanidin-3-glucosylrutinoside, cyanidin-3-sophoroside, cyanidin-3-rutinoside and cyanidin-3-glucoside (Havva Nilgun Budak et al., 2017). The technological process of fruit juice production usually includes the addition of other ingredients, especially sweeteners. Researchers have reported that the occurring interactions between anthocyanins and other compounds influence the product characteristics: colour parameters, monomeric anthocyanin content, browning index, antioxidant activity and others (Patrasl and Niculaua, 2017).

MATERIALS AND METHODS

Sour cherry fruit (*Prunus cerasus* L.) was used as a starter plant material. Only completely healthy and undamaged fruit was used. After cleaning, a half of water was added. For 1 kilogram cherries it takes 0.5 liters of water. Fruits were grinded

until each stone was separated from flesh and left overnight for 24 hours. Then they were strained through a gauze. The same amount of sugar (for 1 liter sour cherry juice 1 kilogram of sugar) was added to the obtained amount and left for another 24 hours, with occasional mixing so that the sugar melts. With thermally processed juice, it was heated in a water bath at 80 °C. The juice was separated into four sample groups. Each group contained 16 small 250 mL bottles. The first group („JUICE 1”) was freshly squeezed sour cherry juice with sugar. The second group („JUICE 2”) was sour cherry juice with sugar which was thermally processed for 10 minutes at 80 °C. The third group („JUICE 3”) was sour cherry juice with sugar which was thermally processed for 15 minutes at 80 °C. The fourth group („JUICE 4”) was sour cherry juice with sugar which was thermally processed for 30 minutes at 80 °C. Afterwards, glass bottles, which were heated beforehand, were filled with sour cherry juice, and gradually cooled. Finished product has rested for 3 – 5 days had been incubated at 4 °C. Total phenol content, flavonoids, anthocyanin, vitamin C and antioxidant activity (DPPH test) in sour cherry juice were determined during the storage period every thirty days, for four months.

Total phenol content in prepared juices was determined with Folin-Ciocalteu method (Dewanto et al., 2002), and the results were calculated from the calibration curve of gallic acid (Figure 1). Total phenol content is expressed as mg gallic acid equivalents (GAE)/L of sample. 0.2 mL of sample, 1.8 mL of distilled water, 10 mL of Folin-Ciocalteu reagent and 8 mL of sodium carbonate solution was transferred with a pipette into a test tube. After the sample had been allowed to stand for 2 hours at room temperature, photo Lab 6600 UV-VIS WTW Spectrophotometer was used at 765 nm to measure the absorbance. A modified colorimetric method with AlCl₃ was used to estimate total flavonoid content (Khlifi et al., 2011), and standard quercetine solution was used to make the calibration curve (Figure 2). Iodometric titration was used to determine the amount of vitamin C according to (Helmenstine, 2007). Total anthocyanin concentration was determined by the pH differential method (Wrolstad et al., 2001), which is based on the anthocyanin structural transformation that occurs with a change in pH. Anthocyanin concentration is calculated using equation 1:

$$\text{Anthocyanin (mg/kg)} = \frac{(A \times M \times FR \times 1000)}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

where:

$$A = (A_{513} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{513} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad (2)$$

- A – Absorbance of a sample, which is calculated thus
- M – 449.2 (molecular weight of cyanidin-3-glucoside equivalents 449.2 g/mol)
- FR – dilution factor (DF)
- ϵ – Molar absorptivity, 26 900
- l – the length of the cuvette, 1 cm
- (M and ϵ were taken as a dominant type of anthocyanin, namely for cyanidin-3-glucoside)

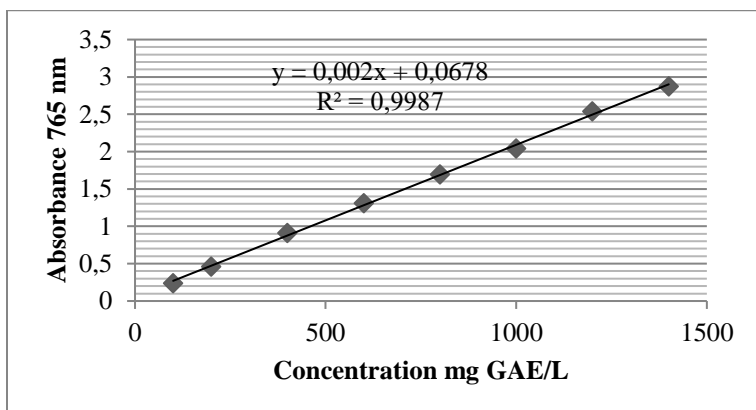


Figure 1. Standard curve for total phenol content determination

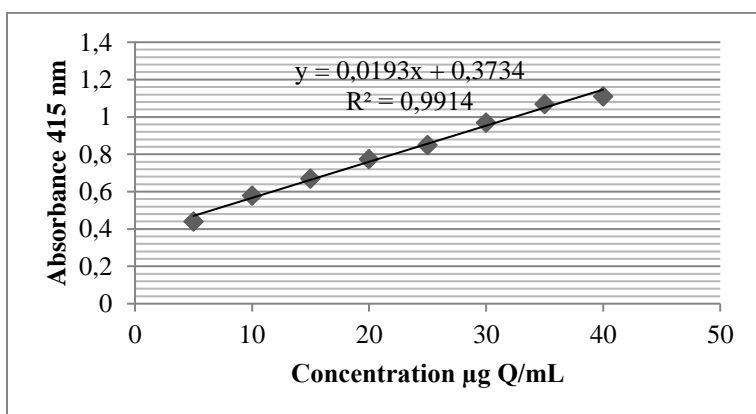


Figure 2. Standard curve for flavonoid content determination

Antioxidant activity was tested by modified DPPH assay (Molyneux, 2004). Standard Trolox solution (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) in methanol was used to make the calibration curve (Figure 3). DPPH radical is a stable nitrogen radical with dark purple colour and adding antioxidants induces discolouration because the free radical is reduced into light yellow diphenylpicrylhydrazyl. The decrease in the absorption is measured spectrometrically at 517 nm. The results are expressed as Trolox equivalent (mmol TE/100 mL).

200 µl of sample, 3.8 mL of methanol, 1 mL 0.5 mM of DPPH solution was transferred into a test tube and methanol was used as blank. Test tubes were left in the dark for 20 minutes. Afterwards, absorbance was measured at 517 nm. 30 mM of Trolox was used to make the calibration curve by weighting 0.7509 g of Trolox. The weighted Trolox is dissolved in methanol and methanol is added up to the marking on the volumetric flask of 100 mL. Standard solutions are prepared in 25 mL volumetric flasks in concentrations of 12.5; 25; 50; 75; 125; 250; 375 and 500 µg/mL using 30 mM of Trolox solution.

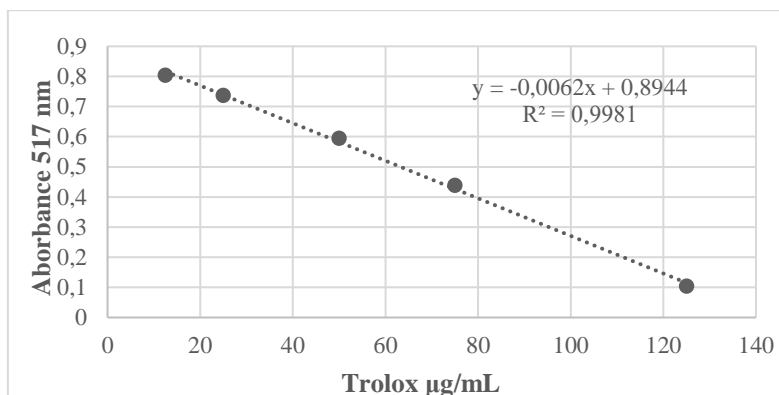


Figure 3. Trolox calibration curve in concentrations of 12.5 to 125 $\mu\text{g/mL}$

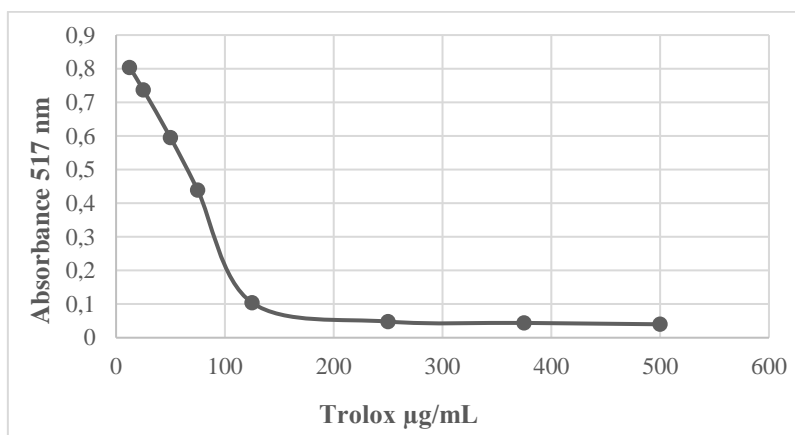


Figure 4. Trolox calibration curve in concentrations of 12.5 to 500 $\mu\text{g/mL}$

RESULTS AND DISCUSSION

There is no universal rule to make sour cherry juice, but we can say that almost every household has a traditional recipe. Table 1 shows total phenol content, flavonoids, anthocyanin, and vitamin C concentration in unpasteurised and thermally processed sour cherry juice after preparation.

Anthocyanins are natural pigments, which have increased usage because they are harmless and benefit out health, and berries are considered the main source of anthocyanin.

Total content in freshly squeezed sour cherry juice with addition sugar was 226.4 $\mu\text{g/mL}$ of juice. Although the anthocyanin content decreased during the thermal pasteurisation process, the content also decreased throughout the storage period.

Vitamin C concentration in freshly squeezed sour cherry juice with sugar was 514.2 mg/100 mL of juice. Although vitamin C concentration decreased during the thermal pasteurisation process, the concentration also decreased throughout the storage period. The largest decrease occurred during the first thirty days of storage.

Table 1. Table 1. Total phenol (TP) content, flavonoids, anthocyanin, vitamin C, and antioxidant activity using DPPH test of unpasteurised and thermally processed sour cherry juice after preparation, shown as mean of four replicates \pm standard deviation

Sample (n = 4)	TP mg GAE/L	Flavonoids μ g Q/mL	Anthocya- nin μ g/mL	Vitamin C mg/100 mL	DPPH test mmolTE/100mL
JUICE 1	2078 \pm 56.1	472.3 \pm 19.3	226.4 \pm 6.4	514.2 \pm 17.1	8.1 \pm 0.12
JUICE 2	1890 \pm 27.3	431.7 \pm 16.7	186.2 \pm 5.7	400.9 \pm 13.6	7.6 \pm 0.19
JUICE 3	1775 \pm 23.7	433.8 \pm 14.3	153.0 \pm 5.2	391.5 \pm 7.2	7.4 \pm 0.13
JUICE 4	1692 \pm 22.9	420.9 \pm 21.6	127.7 \pm 4.6	362.4 \pm 11.4	6.8 \pm 0.09

n-sample number used for analysis; JUICE 1 sour cherry juice with sugar; JUICE 2 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 10 minutes at 80 °C; JUICE 3 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 15 minutes at 80 °C; JUICE 4 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 30 minutes at 80 °C.

Different cultivars of sweet and sour cherries show a high variability of phenol compound levels. Total phenols of sweet cherries are between 60 (cultivar Brooks) and 264 (cultivar Saco) mg GAE/100g, whereas total phenols of sour cherries were between 162 (cultivar Danube) and 312 (cultivar Sumadinka) mg GAE/100 g. Total anthocyanins of sweet cherries are between 10 (cultivar Brooks) and 79 (cultivar Cristalina) mg cyanidin-3-glucoside equivalents (CGE)/100 g, whereas total anthocyanins of sour cherries were between 45 (cultivar Balaton) and 109 (cultivar Sumadinka) mg CGE/100g (Serrano et al., 2009; Kim et.al., 2004; Gonçalves et al. 2004). Jakobek et al. (2017) reported the following values for sour cherry juice: anthocyanin 369.36 ± 2.4 mg CGE/L, 2054.43 ± 140.2 mg GAE/L and antioxidant activity (DPPH test) of fruit juice 12.52μ mol TE/mL. Szalóki-Dorkó et al., (2015) investigated the sour cherry juices made from two cultivars (Érdi bőtermő and Kántorjánosi 3) were investigated to determine their total anthocyanin content and half-life of anthocyanins during heat treatment at different temperatures (70, 80 and 90 °C) for 4 h. Before the heat treatment, Érdi bőtermő juice had higher anthocyanin concentration (812 mg/L) than Kántorjánosi 3 juice (513 mg/L). The greatest heat sensitivity of anthocyanins was measured at 90 °C, while the treatments at 80 and 70 °C caused lower thermal degradation. Our values are less than the values given by the authors, perhaps due to the process of preparing sour cherry juice (of water was added, for 1 kilogram cherries was added 0.5 liters of water) prepared using household processing methods.

Table 2. Total phenol content, flavonoids, anthocyanin, vitamin C, and antioxidant activity using DPPH test of unpasteurised and thermally processed sour cherry juice after 30 days of storage, shown as mean of four replicates \pm standard deviation

Sample (n = 4)	TP mg GAE/L	Flavonoids μ g Q/mL	Anthocyanin μ g/mL	Vitamin C mg/100 mL	DPPH test mmolTE/100mL
JUICE 1	1795 \pm 34.3	453.4 \pm 19.5	169.4 \pm 6.4	463.5 \pm 11.7	7.2 \pm 0.34
JUICE 2	1643 \pm 29.1	439.2 \pm 17.3	144.2 \pm 5.7	340.1 \pm 14.2	7.4 \pm 0.16
JUICE 3	1582 \pm 37.3	438.4 \pm 10.1	139.3 \pm 2.4	361.8 \pm 12.1	6.9 \pm 0.12
JUICE 4	1472 \pm 21.4	431.1 \pm 18.2	116.5 \pm 5.9	328.1 \pm 9.7	6.6 \pm 0.38

n-sample number used for analysis; JUICE 1 sour cherry juice with sugar; JUICE 2 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 10 minutes at 80 °C; JUICE 3 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 15 minutes at 80 °C; JUICE 4 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 30 minutes at 80 °C.

Table 3. Total phenol content, flavonoids, anthocyanin, vitamin C, and antioxidant activity using DPPH test of unpasteurised and thermally processed sour cherry juice after 60 days of storage, shown as mean of four replicates \pm standard deviation

Sample (n = 4)	TP mg GAE/L	Flavonoids μ g Q/mL	Anthocyanin μ g/mL	Vitamin C mg/100 mL	DPPH test mmolTE/100mL
JUICE 1	1562 \pm 11.8	427.8 \pm 16.1	138.3 \pm 4.1	454.3 \pm 17.3	6.3 \pm 0.28
JUICE 2	1458 \pm 18.4	463.4 \pm 10.5	112.3 \pm 3.4	346.4 \pm 9.9	6.4 \pm 0.23
JUICE 3	1408 \pm 23.7	457.8 \pm 13.5	91.3 \pm 5.2	352.7 \pm 13.8	6.1 \pm 0.11
JUICE 4	1307 \pm 24.8	449.7 \pm 18.6	84.3 \pm 4.2	302.6 \pm 15.7	6.0 \pm 0.30

n-sample number used for analysis; JUICE 1 sour cherry juice with sugar; JUICE 2 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 10 minutes at 80 °C; JUICE 3 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 15 minutes at 80 °C; JUICE 4 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 30 minutes at 80 °C.

Total flavonoid content decreased after thermal pasteurisation process. However, during the 4-month storage the content increased, which is probably the result of the degradation of phenolic compounds.

Damar and Eksi (2012) investigated the antioxidant activity, total polyphenolic content and anthocyanin content of eleven types of sour cherry juice obtained from different varieties of sour cherries. Antioxidant activity was within the ranges 20.0 – 37.9 mmol/L, total phenol content was 1510 – 2550 mg/L, and anthocyanin content was 350.0 – 633.5 mg/L, respectively. These anthocyanin content values

were higher compared to our results. Values for total phenols are approximately equal than our results unpasteurised sour cherry juice after preparation. Our results for antioxidant activity for samples of unpasteurised and thermally processed sour cherry juice after preparation and storage are significantly higher compared to the results obtained by Damar and Eksi (2012).

Table 4. Total phenol content, flavonoids, anthocyanin, vitamin C, and antioxidant activity using DPPH test of unpasteurised and thermally processed sour cherry juice after 60 days of storage, shown as mean of four replicates \pm standard deviation

Sample (n = 4)	TP mg GAE/L	Flavonoids μ g Q/mL	Anthocya- nin μ g/mL	Vitamin C mg/100 mL	DPPH test mmolTE/100mL
JUICE 1	1364 \pm 31.1	420.3 \pm 14.1	94.3 \pm 2.8	427.6 \pm 12.1	4.9 \pm 0.14
JUICE 2	1324 \pm 27.4	467.5 \pm 13.9	54.4 \pm 4.2	322.5 \pm 9.8	5.2 \pm 0.27
JUICE 3	1275 \pm 19.6	465.9 \pm 11.8	70.2 \pm 3.7	326.1 \pm 13.2	5.3 \pm 0.16
JUICE 4	1145 \pm 22.2	457.4 \pm 10.4	63.7 \pm 1.9	298.2 \pm 7.5	5.4 \pm 0.15

n-sample number used for analysis; JUICE 1 sour cherry juice with sugar; JUICE 2 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 10 minutes at 80 °C; JUICE 3 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 15 minutes at 80 °C; JUICE 4 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 30 minutes at 80 °C.

Table 5. Total phenol content, flavonoids, anthocyanin, vitamin C, and antioxidant activity using DPPH test of unpasteurised and thermally processed sour cherry juice after 120 days of storage, shown as mean of four replicates \pm standard deviation

Sample (n = 4)	TP mg GAE/L	Flavonoids μ g Q/mL	Anthocya- nin μ g/mL	Vitamin C mg/100 mL	DPPH test mmolTE/100mL
JUICE 1	1364 \pm 31.1	420.3 \pm 14.1	94.3 \pm 2.8	427.6 \pm 12.1	4.9 \pm 0.14
JUICE 2	1324 \pm 27.4	467.5 \pm 13.9	54.4 \pm 4.2	322.5 \pm 9.8	5.2 \pm 0.27
JUICE 3	1275 \pm 19.6	465.9 \pm 11.8	70.2 \pm 3.7	326.1 \pm 13.2	5.3 \pm 0.16
JUICE 4	1145 \pm 22.2	457.4 \pm 10.4	63.7 \pm 1.9	298.2 \pm 7.5	5.4 \pm 0.15

n-sample number used for analysis; JUICE 1 sour cherry juice with sugar; JUICE 2 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 10 minutes at 80 °C; JUICE 3 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 15 minutes at 80 °C; JUICE 4 sour cherry juice with sugar, thermally processed for 30 minutes at 80 °C.

Havva Nilgun Budak et al. (2017) report average total titratable acidity, pH, total phenolic content, TEAC, ORAC values of sour cherry juice samples were found

1.81 g malic acid/L, 3.01, 2034.44 mg GAE/L, 0.929 mmol/L and 7.13 μ mol/L, respectively. Values for total phenols are approximately equal than our results unpasteurised sour cherry juice after preparation. Our results antioxidant activity for samples unpasteurised and thermally processed sour cherry juice after preparation and storage are within the range results mentioned authors.

Total phenol content in freshly squeezed sour cherry juice with sugar was 2078 mg GAE/L of juice. Total phenol content decreased after thermal pasteurization process at 80 °C. Total phenol content after thermal pasteurization process which lasted for 30 minutes was 1692 mg GAE/L of juice. In all four juice samples total phenol content decreased for JUICE 1 42.58%, JUICE 2 41.14%, JUICE 3 44.56% and JUICE 4 47.45% during the four month storage. Results showed that it is sugar and its concentration had, in juice samples more or less, influence investigated parameters. In their research (Zlatić et al., 2017), they report the average content of flavonoids of sour cherry juice in the control sample was 354.84 mg RE/L. Samples with the addition of sucrose and maltose had higher flavonoid contents than the control sample. The sample with the addition of maltose had the highest flavonoid content, 378.49 mg RE/L. In the case of trehalose addition, the lowest flavonoid content was observed, 330.19 g RE/L.

CONCLUSION

All sour cherry juice samples show a significant antioxidant activity in relation to data from other authors for cherry juices because, our juices are prepared using household processing methods (of water was added, for 1 kilogram cherries was added 0.5 liters of water). Phenolic compounds concentration decreased in all juices during the storage period (120 days, at 25 °C), whether the juice was heated at 80 °C or if it was bottled without thermal processing. The results confirmed that there was a significant anthocyanin (226.4 μ g/mL of juice) and vitamin C concentration (514.2 mg/100 mL of juice) in the unpasteurised sour cherry juice. Thermal pasteurisation of sour cherry juice decreased the vitamin C content and phenol compounds. Given that the samples of sour cherry juice which underwent the thermal pasteurisation process of 30 minutes had the highest decrease of the mentioned compounds, it's recommended that thermal processing is done for a short period of time.

REFERENCES

- Cheyrier, V. (2005): Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81 (1), 223S–229S.
- Ćujić, N., Kundaković, T., Šavikin, K. (2013): Antocijani – Hemijska analiza i biološka aktivnost, *Lekovite sirovine*, 33, 19-37. file:///C:/Users/User/Downloads/38-99-1-SM%20(5).pdf
- Damar, I., Eksi, A. (2012): Antioxidant capacity and anthocyanin profile of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) juice. *Food Chem.*, 135, 2910-2914.

- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Lui, R.H. (2002): Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3010-3014.
- Golding, J.B., Blades, B.L., Satyan, S., Spohr, L.J., Harris, A., Jessup, A.J., Archer, J.R., Davies, J.B., Banos, C. (2015): Low dose gamma irradiation does not affect the quality or total ascorbic acid concentration of "Sweetheart" passionfruit (*Passiflora edulis*). *Foods*, 4 (3), 376-390.
- Gonçalves, B., Landbo, A.-K., Knudsen, D., Silva, A.P., Moutinho-Pereira, J., Rosa, E., Meyer, A.S. (2004): Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of cherries (*Prunus avium* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 52, 523-530.
- Havva Nilgun, B., Ozen, M., Kok Tas, T. (2017): Antioxidant activity of sour cherry juice, wine, vinegar. *J. Food Process. Technol.*, 8 (9), 109.
- Helmenstine, A.M. (2007): Vitamin C Determination by Iodine Titration, <http://www.chemistry.about.com> (Viewed 26/02/08).
- Jakobek, L., Šeruga, M., Medvidović-Kosanović, M., Novak, I. (2017): Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Deut. Lebensm.-Rundsch.*, 103 (2), 58-64.
- Jurgoński, A., Juśkiewicz, J., Zduńczyk, Z., Matusevicius, P., Kołodziejczyk, K. (2014): Polyphenol-rich extract from blackcurrant pomace attenuates the intestinal tract and serum lipid changes induced by a high-fat diet in rabbits. *Eur. J. Nutr.*, 53(8), 1603-1613.
- Kårlund, A., Moor, U., Sandell, M., Karjalainen, R.O. (2014): The impact of harvesting, storage and processing factors on health-promoting phytochemicals in berries and fruits. *Processes*, 2(3), 596-624.
- Kim, D.O., Heo, H.J., Kim, Y.J., Yang, H.S., Lee, C.Y. (2005): Sweet and sour cherries phenolics and their protective effects on neuronal cells. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 9921-9927.
- Khelifi, D., Hamdi, M., El Hayouni, A., Cazaux, S., Souchard, J.P., Coudere, F., Bouajila, J. (2011): Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) leaves. *Molecules*, 16, 10592-10603.
- Manganaris, G.A., Goulas, V., Vicente, A.R., Terry, L.A. (2014): Berry antioxidants: small fruits providing large benefits. *J. Sci. Food Agric.*, 94 (5), 825-833.
- Molyneux P. (2004): The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26, 211-219.

- Patras, A., Niculaua, M. (2017): Colour and antioxidant activity of sour cherry juice influenced by different sweeteners and fortifying agents. *J. Nutr. Food Sci.*, 6 (7), 45.
- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005): Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4290-4302.
- Szalóki-Dorkó, L., Végvári, G., Ladányi, M., Ficzek, G., Stéger-Máté, M. (2015). Degradation of anthocyanin content in sour cherry juice during heat treatment. *Food Techn. Biotech.*, 53 (3), 354-360.
- Serrano, M., Diaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Valero, D. (2009): Maturity stage at harvest determines the fruit quality and antioxidant potential after storage of sweet cherry cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 3240-3246.
- Tumbas Šaponjac, V., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Djilas, S. (2016): Detection of bioactive compounds in plants and food products. *In: Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food*. Springer International Publishing, Springer, Cham, Switzerland, pp. 81–109.
- Veres, Z., Holb, I., Nyeki, J., Szabo, Z., Szabo, T., Remenyik, J., Fári, M.G. (2008): Antioxidant and anthocyanin contents of sour cherry cultivars. *Acta Hortic.*, 795, 787-792.
- Zlatic, E., Pichler, A., Kopjar, M. (2017): Disaccharides: Influence on volatiles and phenolics of sour cherry juice. *Molecules*, 22, 1939.
- Wan, C., Yuan, T., Cirello A.L., Seeram N.P. (2012): Antioxidant and α -glucosidase inhibitory phenolics isolated from highbush blueberry flowers. *Food Chem.*, 135 (3), 1929-1937.
- Wrolstad, E.R., Terry, E.A., Eric, A.D., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D.M. (2001): Handbook of food analytical chemistry-pigments, colorants, flavors, texture and bioactive food components. Wiley-Interscience. 784. Pages.

MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL QUALITIES OF POLLUTED SPRING WATER AND CHLORINATED DRINKING WATER FROM THE SPRING OF KLOKOT

Samira Dedić^{1*}, Huska Jukić², Aida Džaferović¹, Ekrem Pehlić², Miloš Rodić³

¹University of Bihać, Faculty of Biotechnology, Kulina Bana 2, 77000 Bihać, B&H

²University of Bihać, Faculty of Health Studies, Nositelja hrvatskog trolista 4,
77000 Bihać, B&H

³Public institution "Veterinary Institute" Bihać, Omera Novljanina 6,
77000 Bihać, BiH

*samira.dedic@yahoo.com

professional paper

ABSTRACT

The main objective of production and drinking water distribution is to ensure microbiological and chemical drinking water quality, because pathogenic bacteria and toxic chemicals in drinking water pose a significant health hazard.

Water testing was done on untreated spring water samples and chlorinated water samples from the water treatment plant Public Institution „Vodovod“ Bihać. 80 water samples were analysed from July 2017 to July 2018. 20 samples were untreated spring water and 60 samples were chlorinated water taken from the public water supply system (after disinfection).

It was found that the Klokot spring water had a presence of *entero* and *coli* microorganisms after rainfall, as well as an increased number of microorganisms which can cause stomach and intestine infection, fever, diarrhoea and vomiting. After water treatment at the water treatment plant, membrane filtration method was used, which did not show presence of coliforms and other contaminants.

The following physico-chemical parameters were determined: pH, electrical conductivity, odour, taste, turbidity, potassium permanganate demand, ammonia, nitrite, nitrate, chlorine residual, and iron. Certain analysed parameters deviated from the Maximum Allowable Concentrations (MACs) established by the *Guideline for Drinking-water Quality* (published in the "Sl. glasnik BiH", no. 40 43/10, 30/12). Three samples of chlorinated water did not give any corresponding results for turbidity, while two samples had an increased ammonia concentration.

Keywords: microbiological testing, spring water, chlorinated water, turbidity

INTRODUCTION

Natural water quality has become one of the restrictive factors of its use and of maintaining natural balance of the environment. Water quality is changeable and it depends on natural, especially anthropogenic interference on water (industry, agriculture, municipal and technological waste, urban and industrial waste water, etc.). Measures and procedures for improving and protecting drinking water quality can be achieved at urban community level through source protection and increased accessibility to simple approaches for water protection in households. Drinking water quality is one of the twelve health-related indicators of a country by WHO. WHO points out that drinking water quality plays a vital role in the protection of human health and well-being (UNICEF&WHO, 2004; WHO and New York., 2006). In terms of health, physico-chemical and microbiological water properties, which can have many negative implications, have a special place. Research, production and drinking water distribution require the involvement of financial and human resources for extended period of time. The Institute for Public Health monitors drinking water quality in Bihać for the needs of the Ministry of Health. Water-testing programme is regulated by the *Guidelines for the drinking-water quality* (Sl.glasnik BiH no. 40/10 and 43/10), which defines the minimum tests required, sampling frequency and the number of samples per water distribution system, as well as maximum allowable concentrations for the tested parameters (MAC).

Drinking water sources in Bihać are surrounded by karst area which allows easy hydraulic mechanism of groundwater flow. There are several potential pollution sources in the mentioned water source, such as ex-military facilities at Udbina airport, infiltrated waters from the karst areas in Lika and karst areas around Bihać, military and other relays at mountain tops in Croatia and Bosnia and Herzegovina, and uncontrolled waste around Bihać, especially ex-military airport Željjava. Furthermore, experts at the geological University in Varaždin tested the groundwater body of the Korana river by drilling boreholes around Drežnik in which they put fluorescein sodium to determine the direction of groundwater flow in the area, with which they could check if the compound would end up in the Klokot river, which was later confirmed. Another important source of contamination from agricultural fields are plant protection products, types of pesticides, which can have different chemical composition. Depending on their target, we can group them into insecticides, fungicides, and herbicides (Mayer, 1993).

The Klokot spring is susceptible to turbidity and the first wave occurs after snowmelt, followed by autumn when heavy rainfall occurs. Turbidity occurs when tiny suspended particles of clay, sand, organic and inorganic matter, plankton and other microscopic organisms are carried along by the water passing through surface and groundwater catchment area. The main cause of sudden turbidity of any karst water source is sudden heavy precipitation over a short period, which causes matter erosion on the surface basin and their sudden entry into the karst ground (Bonacci, 2016). Since suspended particles have a dominant role in natural water turbidity, it is logical that the water turbidity phenomenon is associated with the suspended sediment transport amount (Davies-Colley and Smith, 2001.) Water circulation

through karst conduit network of different sizes, from the micro- and meter-sized ones to even larger ones, plays a key role in water turbidity of karst water sources (Bonacci, 2016). To explain why turbidity occurs, it would be essential to have adequate continuous monitoring of numerous parameters (hydrological, hydrogeological, climate, pedological, agronomic, vegetation, etc).

Ammonia (NH₃) presence in drinking water is a sign of fecal contamination or it comes from water deep underground. Nitrite (NO₂⁻) in water is formed by ammonia oxidation, as well as by nitrate reduction (NO₃⁻), and it indicates that contamination is present, while nitrate (NO₃⁻) indicates that contamination occurred (Rajković et al., 2014).

MATERIALS AND METHODS

Water supply of the city of Bihać consists of the municipal (main) system, which uses water from the two main springs of Klokot and Privilica. Groundwater in the form of karst springs and wells occur at the Plješivica mountain slopes. Captation works at the springs were done to ensure water supply for the population of towns and villages. The Klokot spring is located in the Bihać Valley near the village of Klokot (about 2 km southwest). It is the most important drinking water source, with 3.5 L/s of discharge, which is sufficient not only for the water supply of municipal, suburban and other areas of Bihać Municipality, but for the Una-Sana Canton as well. The spring itself is open and there is a structure above the spring to protect it from precipitation and solid waste. The mentioned water supply system from the spring to the Klokot pumping station consists of eight reservoirs and four pre-pumping stations. The Klokot pumping station is located in the vicinity, and its capacity is 260 L/s.

Water testing was done on untreated spring water samples and chlorinated water samples from the water treatment plant Public Institution „Vodovod“ Bihać. 80 water samples were analysed from July 2017 to July 2018. 20 samples were untreated spring water and 60 samples were chlorinated water taken from the public water supply system (after disinfection). Sampling was performed according to water sampling regulations. Physico-chemical and microbiological water testing were done according to the *Guidelines for Drinking-water Quality* (published in "Sl. glasnik BiH", no. 40 43/10 and 30/12); *Amendments to the Guidelines for Drinking-water Quality* ("Sl. glasnik BiH", no. 62/17), and *Waters Act* (Sl. novine FBiH, 70/06).

Microbiological parameters

Microbiological parameters were determined as follows:

- *Escherichia coli* and coliform bacteria - Part 2 Most probable number method (EN ISO 9308-2 :2014, IDT;ISO 9308-2:2012,IDT)
- Intestinal enterococci (*Enterococcus faecalis*) - Part 2: Membrane filtration method (EN ISO 7899-2:2000, IDT; ISO 7899-2:2000, IDT)
- *Pseudomonas aeruginosa* - Membrane filtration method (EN ISO 16266:2008, IDT ISO 16266:2006, IDT)
- Enumeration of culturable micro-organisms– Colony count, incubation at 36 °C and 22 °C (EN ISO 6222:1999 IDT; ISO 6222:1999; IDT)
- Enumeration of *Clostridium perfringens* colonies – Membrane filtration method - (EN ISO 14189:2016, IDT; ISO 14189:2013, IDT)

The following physico-chemical parameters were determined: pH, electrical conductivity, odour, taste, turbidity, potassium permanganate demand, ammonia, nitrite, nitrate, chlorine residual, and iron.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the analysis of untreated and chlorinated water of the Klokot spring confirmed that drinking water supplied to the consumers was, according to microbiological and physico-chemical quality, not safe and it did not meet the *Guidelines for drinking-water quality* criteria. This occurred during heavy rainfall and during snowmelt, when the presence of *entero* and *coli* microorganisms was detected, as well as an increased number of other microorganisms. Furthermore, during that period water samples were with high turbidity levels, ammonia levels and KMnO₄ demand.

The presence of coliforms shows the danger of fecal pollution and consequent hazard of contracting diseases through pathogenic organisms. Nonetheless, the disease-causing organisms (pathogens) mostly transmitted via drinking water are predominantly of fecal origin (Suther et al., 2009). According to WHO guidelines (2009), the occurrence of pathogens or indicator organisms in ground and surface water sources mainly depends on intrinsic physical and chemical characteristics of the catchment area and magnitude and range of human activities and animal sources that release pathogens to the environment. Table 1 shows the results of microbiological analysis of untreated and chlorinated drinking water samples taken at the Klokot spring.

Table 1. Results of microbiological analysis of untreated and chlorinated water samples taken at the Klokot spring

Parameter	UW (n=20)	CW (n=60)
<i>Escherichia coli</i> and coliform bacteria	9	3
Intestinal enterococci (<i>Enterococcus faecalis</i>)	4	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2
Enumeration of culturable micro-organisms Colony count, incubation at 36 °C	12	23
Enumeration of culturable micro-organisms Colony count, incubation at 22 °C	8	10
Enumeration of <i>Clostridium perfringens</i> colonies	1	0

*UW – untreated water, CW – chlorinated water, n = number of samples

Table 2. Results of physico-chemical analysis of untreated and chlorinated drinking water samples taken at the Klokot spring, which exceed maximum allowable concentrations (MAC) (Sl. glasnik BiH no.40/10)

Parameter	UW (n=20)	CW (n=60)	MAC for drinking water
Electric conductivity	-	-	2500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ at 20 °C
pH	-	-	6.5 – 9.5
Odour	-	-	no
Taste	-	-	no
Turbidity	4	3	1.0 NTU
KMnO ₄ demand	2	-	5.0 mg/L O ₂
Ammonia	3	2	0.5 mg/L
Nitrite	-	-	0.1 mg/L
Nitrate	-	-	50 mg/L
Chlorine residual	-	-	0.5 mg/L
Iron	-	-	200 $\mu\text{g}/\text{L}$

Electric conductivity of the Klokot spring water samples had the interval from 284 $\mu\text{S}/\text{cm}$ to 519 $\mu\text{S}/\text{cm}$, which is permitted by the *Guidelines for drinking-water quality*. pH values were slightly basic (7.04-7.83), which corresponds to the values of natural water (Table 2). Turbidity levels during snowmelt for untreated and chlorinated water were 8.62 NTU and 5.34 NTU, respectively. This was followed by the presence of organic substances. KMnO₄ demand for two untreated water samples was 9.85 and 6.1 mg/L, respectively.

Ammonia, nitrite, and nitrate pollution is not unusual, given that villages and even towns do not have a proper waste and wastewater treatment plants (waste disposal,

fecal matter issue, etc.). Ammonia concentration during snowmelt in three untreated water samples ranged between 0.76 and 1.15 mg/L. Nitrate values were between 0.68 and 5.18 mg/L. Follett et al. (1991) stated that low levels of nitrogen (in the form of nitrate) are normal in groundwater and surface water. However, elevated nitrate caused by human activity is a pollutant in the water. Nitrate enters ground or spring water from many sources, including nitrogen-rich geologic deposits, wild-animal wastes, precipitation, septic system drainage, feedlot drainage, dairy and poultry production, municipal and industrial waste, and fertilizer. Reda (2015) reported that nitrate levels in spring water samples ranged between 18.03 and 20.17 mg/L. Nitrite was not detected.

Ivanović et al. (2017) examined nitrogenous ionic groups and compounds present in drinking water on the territory of North-Bačka District and they reported that there was a deviation for the nitrate levels in the samples taken from water supply of Subotica city. Maximum nitrate level in drinking water was 0.65 mg/L. The lowest and highest concentration of chlorine residual in samples were 0.17 mg/L and 0.38 mg/L, respectively. Maximum allowed level of free chlorine was 0.50 mg/L, which indicates that samples are safe for humans. Iron concentration in our samples were in accordance with the values in the *Guidelines*.

CONCLUSION

Microbiological analyses of untreated and chlorinated drinking water of the Klokot spring indicate that there is a bacterial contamination of the samples which were taken after snowmelt and rainfall. The presence of *entero* and *coli* microorganisms, as well as an increased number of microorganisms which are indicators of fecal contamination, were detected by microbiological analysis. Taking into account that the Klokot spring turbidity is a common occurrence in Bihać during heavy rainfall, the problem should be resolved systematically. The main issue is that we do not have daily water monitoring compared to other states which daily monitor their water quality. The way to solve the problem of the Klokot spring water quality is to build a new treatment system at the Klokot water intake, which would include the engagement of wider community, as well as cross-border cooperation projects which would lower the anthropogenic interference and environmental pressures on the water catchment area, a part of which is the Klokot spring. To approach this problem, the first thing that needs to be done is to carry out terrain evaluation and to set up a project of water intake protection.

REFERENCES

- Reda A.H., (2015): Assessment of Physicochemical Quality of Spring Water in Arbaminch, Ethiopia Amanial, *J Environ Anal Chem* 2015, 2:5 <http://dx.doi.org/10.4172/2380-2391.1000157> Bonacci Ognjen (2016.) Hidrološka analiza pojave mutnoće na izvorima u kršu: Interpretacija podataka mjerenih na izvoru Omble. *Hrvatske vode* 24, 47-57.

- Davies-Colley, R.J.; Smith, D.G. (2001): Turbidity, suspended sediment and water clarity: a review. *J. Amer. Water Res. Associ.*, 37(5), 1085-1101.
- Follett, R., Keeney, D., Cruse, R. (1991): Managing Nitrogen for groundwater quality and farm profitability, Soil Science Society of America, Inc.
- Ivanović, M., M. B. Rajković, Z. Mamužić, D. Paunović, S. Zlatanović, (2017): Azotne jonske grupe i jedinjenja prisutna u vodi za piće na teritoriji Severno-bačkog okruga. *Zastita Materijala* 58 (3) 349-361.
- Mayer, D., (1993): Kvaliteta i zaštita podzemnih voda, Hrvatsko društvo za zaštitu voda i mora, Zagreb.
- Guidelines for drinking-water quality, (Sl.glasnik BiH br.40/10 i 43/10).
- Izmjena i dopuna Pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće („Sl.glasnik BiH” broj 30/12).
- Amendments to the Guidelines for Drinking-water Quality („Službeni glasnik BiH” broj 62/17).
- Rajković, M.B., Antić, M., Milojković, S., Marjanović, T., (2014): Ispitivanje sadržaja nitrita, nitrata i amonijaka u vodi za piće, XIX savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, Zbornik radova 19 (21), s.511-515.
- Suther, S., Chhimpa, V., Singh, S. (2009): Bacterial contamination in drinking water: case study in rural area of northern Rajasthan, India; *Environ Monit Assess.* 159: 43-50.
- Zakon o vodama (Sl.novine FBiH br.70/06).
- Meeting the MDG Drinking water and Sanitation Target, UNICEF&WHO. (2004): A mid-term assesment of progress. 2004 (www.unicef.org).
- United Nations Children's Fund Meeting the MDG drinking water and sanitation targets. WHO and New York. (2006): The urban and rural challenge of the decade. Geneva.
- Guidelines for drinking water quality recommendations. WHO guidelines (2009). Geneva.

**PROCJENA KVALITETE MEDA U UGOSTITELJSKIM OBJEKTIMA
PRIMORSKO-GORANSKE I ISTARSKE ŽUPANIJE ISPITIVANJEM
UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA**

**QUALITY ASSESSMENT OF HONEY IN COFFE BARS LOCATED IN
PRIMORSKO-GORANSKA AND ISTRA COUNTY BY DETERMINING
HYDROXYMETHYLFURFURAL CONCENTRATION**

Kristina Kvirgić^{1*}, Dijana Mišetić Ostojić¹, Natalija Džafić¹, Jelka Pleadin²

¹*Hrvatski Veterinarski Institut, Veterinarski zavod Rijeka, Podmurvice 29,
51000 Rijeka, Hrvatska*

²*Hrvatski Veterinarski Institut, Laboratorij za analitičku kemiju, Savska cesta 143,
10000 Zagreb, Hrvatska*

**kvrgic.vzr@veinst.hr*

stručni rad / professional paper

SAŽETAK

Med je prirodni proizvod koji se koristi u prehrani od pamtivijeka. Medonosne pčele (*Apis mellifera*) prikupljaju nektar medonosnih biljaka, sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka, mijenjaju ga, dehidriraju i pohranjuju u saće. Zbog porasta svijesti o važnosti pravilne prehrane u očuvanju zdravlja, sve više potrošača koristi med za zaslađivanje umjesto konzumnog šećera, budući med osim velikog udjela šećera (uglavnom fruktoze i glukoze) sadrži i mnoge biološki vrijedne sastojke poput fenolnih komponenti, flavonoida, enzima, organskih kiselina, minerala i vitamina. Svrha ovog istraživanja bila je ispitati kvalitetu meda dostupnog potrošačima u ugostiteljskim objektima u Primorsko-goranskoj i Istarskoj županiji, u pogledu sadržaja hidroksimetilfurfurala (HMF) kao pokazatelja svježine i termičke obrade meda. Prisustvo HMF-a ispitano je u 30 uzoraka cvjetnog meda metodom tekućinske kromatografije visokog učinka sa detektorom sa nizom dioda. U 17 % uzoraka određeni maseni udio HMF bio je veći od najveće dopuštene količine definirane Pravilnikom o medu, što upućuje na potrebu razvoja sustava praćenja kvalitete meda na tržištu Republike Hrvatske.

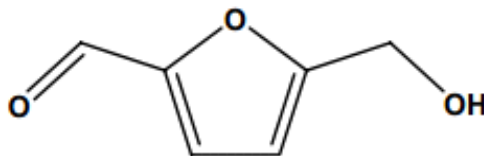
Ključne riječi: med, hidroksimetilfurfural, kvaliteta

Keywords: honey, hydroxymethylfurfural, quality

UVOD

Med je po definiciji prirodno sladak proizvod koji proizvode medonosne pčele (*Apis mellifera*), skupljajući nektar medonosnih biljaka ili sekret živih dijelova biljaka, ili izlučevine kukaca koji sišu na živim biljnim dijelovima, te mu dodaju vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja (MP, 2015). Sastoji se uglavnom od šećera, u najvećem dijelu fruktoze i glukoze, saharoze u nižem udjelu, ovisno o biljnom podrijetlu meda, vode, te drugih tvari-organskih kiselina, proteina, enzima, mineralnih tvari, vitamina, antioksidansa, flavonoida i krutih čestica koje mogu dospjeti u med tijekom njegova nastajanja (Vahčić i Matković, 2009).

Po svojoj struktornoj formuli (Slika 1), 5-hidroksimetilfurfural (HMF) je organski spoj sa šest ugljikovih atoma, ciklički aldehid koji nastaje dehidracijom glukoze i fruktoze u kiselom mediju, a koji sadrži aldehidnu i alkoholnu (hidroksimetil) funkcionalnu skupinu (Mahfuza Shapla i sur., 2018).



Slika 1. 5-hidroksimetilfurfural (EFSA, 2005)

Figure 1. 5-hydroxymethylfurfural (EFSA, 2005)

HMF može nastati i Maillard-ovom reakcijom pod utjecajem topline, odnosno zagrijavanjem, a nadalje se razlaže na levulinску i mravlju kiselinu (Vahčić i Matković, 2009).

Udio HMF-a se početno koristio kao pokazatelj patvorenja meda, odnosno kao indikacija na dodavanje sirupa od invertnog šećera tijekom nastajanja meda, međutim, daljnjim istraživanjem je ustanovljeno da se u prirodnim medovima zagrijavanjem povećava udio HMF-a, te je povećan sadržaj ove tvari postao pokazatelj zagrijavanja i neprikladnog čuvanja i skladištenja meda. U svježem, nezagrijavanom medu, tj. medu koji nije izložen temperaturi višoj od 25 °C, gotovo da nema HMF-a, odnosno udio mu je iznimno nizak i iznosi manje od 1 mg/kg. Dokazano je da grijanjem uzoraka meda na temperaturama do 50 °C, udio HMF-a sporo raste, no izlaganjem temperaturama višim od 80 °C dolazi do povećanja njegovog udjela na deset puta veće vrijednosti u odnosu na graničnu (Vahčić i Matković, 2009), koja iznosi 40 mg/kg (MP, 2015; MP, 2017).

Sadržaj HMF-a u medu također ovisi i o vrsti meda, njegovoj pH-vrijednosti, udjelu vlage, stupnju kiselosti i izloženosti svjetlosti (Vahčić i Matković, 2009).

Izloženost meda višim temperaturama, direktno utječe na aktivnost enzima dijastaze, kao i na povišen sadržaj HMF-a, te možemo reći da su ta dva parametra u međusobnoj korelaciji, tj. što je viši HMF, aktivnost enzima je niža, a može biti i inhibiran. Probavom meda, HMF se u povišenoj koncentraciji apsorbira u gastrointestinalnom traktu, biva metaboliziran kroz različite derivate te se izlučuje

urinom. Ujedno, prisutnost visokih koncentracija može u organizmu imati mutagene, genotoksične, organotoksične i enzimih inhibitorne učinke, ali je novijim istraživanjima, dokazano da može biti i koristan za ljudsko zdravlje, budući ima antioksidativne, protuupalne, antihipoksične i antihiperurikemijske učinke. Osim u medu, HMF je prisutan i u drugoj hrani, kao što su žitarice, hrana sa visokim sadržajem šećera, voćni sokovi, likeri i mliječni proizvodi (Mahfuza Shapla i sur., 2018).

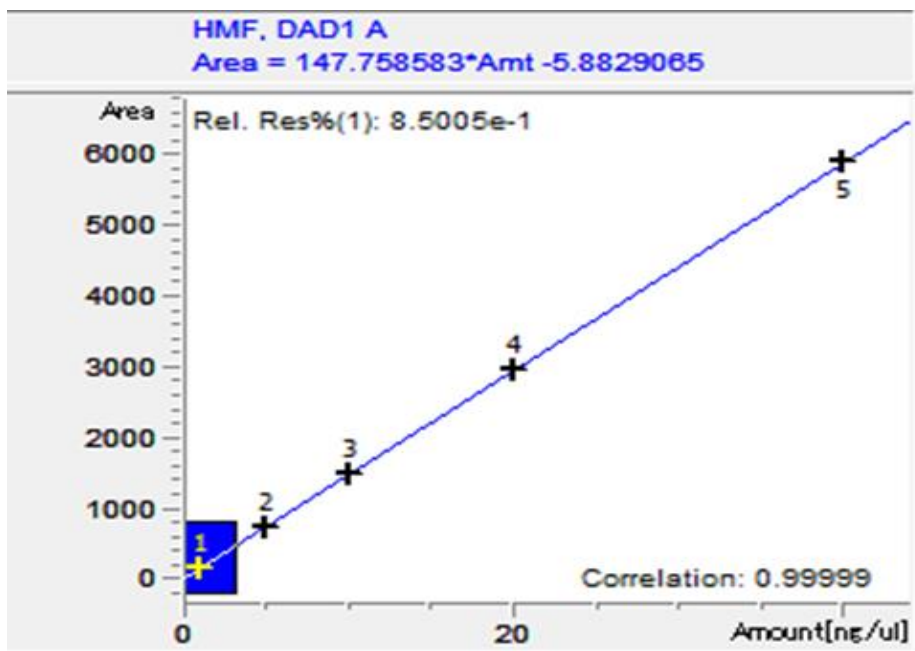
U ovom radu, istraživan je sadržaj HMF-a u uzorcima cvjetnog meda, koji se koriste u ugostiteljskim objektima Primorsko-goranske i Istarske županije kao dodatak toplim napicima (najčešće čaju).

MATERIJALI I METODE

Prisustvo HMF-a ispitano je u 30 uzoraka cvjetnog meda metodom tekućinske kromatografije visokog učinka (HPLC) sa detektorom sa nizom dioda. Uzorci su prikupljeni u razdoblju od prosinca 2017. do travnja 2018. godine u nasumično odabranim ugostiteljskim objektima Primorsko-goranske i Istarske županije. Uzorke su sačinjavala pojedinačna pakiranja meda pet različitih proizvođača, neto količine 12 g, s deklaracijom koja navodi podrijetlo meda iz Republike Hrvatske (n=6) i mješavine meda podrijetlom iz EU i onog koji nije iz EU (n=24). Ukoliko uzorci nisu bili analizirani neposredno po zaprimanju u laboratorij, do trenutka analize čuvani su u odgovarajućim uvjetima u neotvorenoj, originalnoj ambalaži. U trenutku ispitivanja uzorci su bili valjanog roka trajnosti.

Ispitivanje masenog udjela HMF provedeno je prema metodi *International Honey Commission* (IHC, 2009). Uzorci meda otopljeni su u ultra čistoj vodi (Millipore Direct-Q5 UV, Molsheim, Francuska) u omjeru 1:5 (m/m), profiltrirani kroz filtere s najlonskom membranom veličine pora 0,45 μm (Restek, Beijing, Kina). Maseni udio analita određivan je upotrebom instrumenta HPLC proizvođača Agilent Technologies 1200 sa detektorom sa nizom dioda (Agilent Technologies International Sarl, Morges, Švicarska), neposredno nakon ekstrakcije, a za kvantifikaciju je korištena kalibracijska krivulja vodene otopine HMF-a (Merck, Hohenbrunn, Njemačka) raspona od 1 do 40 mg/mL (Slika 2). Korištena je C18 kromatografska kolona (Restek, Pinnacle II 250x4.6 mm, 5 μm , Bellefonte, SAD), uz izokratni protok mobilne faze 1 mL/min (ultra čista voda i metanol u volumnom omjeru 9:1) i valnu duljinu detekcije 285 nm. Pri izračunu masenog udjela analita uzimao se u obzir faktor razrjeđenja uzorka.

Primijenjena metoda je prethodno validirana u skladu sa Pravilnikom o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (MPŠVG, 2005). Kao granica detekcije (*engl.* limit of detection, LOD) metode uzeta je najmanja koncentracija koja se mogla pouzdano odrediti u obogaćenim uzorcima i iznosi 0,3 mg/kg, dok je granica kvantifikacije (*engl.* limit of quantification, LOQ) određena računski uvećavanjem LOD za šest standardnih devijacija (σ) iskorištenja obogaćenih uzoraka, te iznosi 0,5 mg/kg.

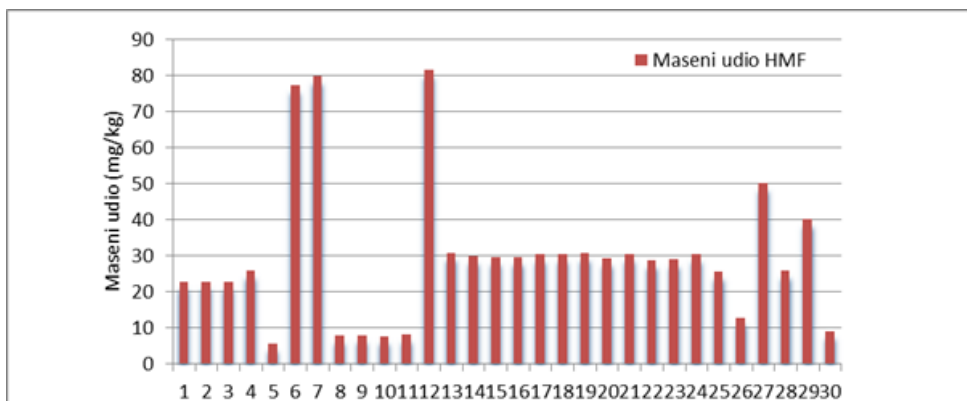


Slika 2. Kalibracijska krivulja standarda HMF

Figure 2. Calibration curve of HMF standard

REZULTATI I RASPRAVA

Određeni maseni udjeli HMF u uzorcima cvjetnog meda grafički su prikazani na Slici 3. U ispitanim uzorcima određeni su maseni udjeli HMF u rasponu od 5,7 mg/kg do 81,7 mg/kg, sa srednjom vrijednošću 29,9 mg/kg te standardnom devijacijom određenih udjela 19,8 mg/kg. U svih 30 uzoraka određeni maseni udio bio je veći od LOD metode.



Slika 3. Maseni udio HMF u uzorcima cvjetnog meda

Figure 3. Mass fraction of HMF in multifloral honey

U pet od ukupno 30 uzoraka određen je maseni udio HMF veći od 40 mg/kg, tj. veći od najveće dopuštene količine definirane Pravilnikom o medu (MP, 2015; MP, 2017), što čini 17% od ukupnog broja analiziranih uzoraka (Tablica 1).

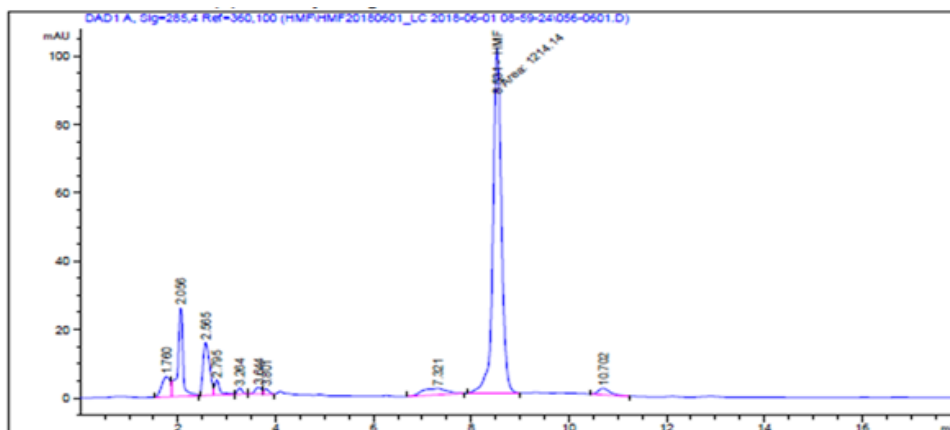
Tablica 1. Sadržaj HMF-a u uzorcima cvjetnog meda

Table 1. HMF content in multifloral honeys

Srednja vrijednost (mg/kg)	SD	Minimum (mg/kg)	Maksimum (mg/kg)	Uzorcima s masenim udjelom iznad NDK (%)
29,9	19,8	5,7	81,7	17

*SD (standardna devijacija); NDK (najveća dopuštena količina)

Na Slici 4 prikazan je kromatogram uzorka s masenim udjelom HMF-a većim od NDK (81,7 mg/kg).



Slika 4. Kromatogram uzorka s masenim udjelom HMF-a većim od najveće dopuštene količine (NDK) (81,7 mg/kg)

Figure 4. Chromatogram of sample with mass fraction of HMF above MPL (maximum permissible level) (81,7 mg/kg)

Usporedbom dobivenih rezultata sa sličnim istraživanjem koje su proveli Ali i sur. (2018) na 12 uzoraka meda kupljenih na lokalnom tržištu u Bangladešu, možemo zaključiti da je kvaliteta uzoraka meda iz našeg istraživanja značajno lošija. U navedenom istraživanju niti jedan uzorak nije imao koncentraciju HMF-a veću od NDK, dok je raspon srednjih vrijednosti koncentracija iznosio od 5,7 do 38,7 mg/kg. Vranić i sur. (2017) navode veći udio uzoraka (21 %) koji ne udovoljavaju propisima u pogledu sadržaja HMF-a u odnosu na naše istraživanje. Od 372 uzorka

prikupljenih sa tržišta u Republici Srbiji njih 79 je imalo koncentraciju HMF-a veću od NDK.

Svi uzorci s masenim udjelom HMF-a iznad NDK bili su od istog proizvođača meda, prikupljeni u ugostiteljskim objektima na različitim lokacijama, a deklarirani kao mješavina meda sa podrijetlom iz EU i zemalja koje nisu članice EU (21 % od ukupnog broja uzoraka istog podrijetla sirovine). U svim uzorcima meda s navedenim podrijetlom iz RH, maseni udio HMF-a bio je ispod NDK. Dobiveni rezultati pokazuju da uzrok povećanja masenog udjela HMF-a u ispitivanim uzorcima nije posljedica neadekvatnog skladištenja u ugostiteljskim objektima ili starosti meda, već nekog čimbenika utjecaja vezanog za tijek proizvodnje ili transporta proizvoda. Iz Nacionalnog pčelarskog programa za razdoblje od 2017. do 2019. godine razvidno je da je posljednjih godina povećan uvoz meda loše kvalitete i niske cijene iz trećih zemalja (MPRRR, 2016), te budući su svi uzorci sa udjelom HMF-a iznad NDK bili mješavine meda s podrijetlom iz EU i meda s podrijetlom izvan EU, jedan od čimbenika može biti i sirovina. Povećana koncentracija HMF-a također može biti posljedica krivotvorenja meda dodavanjem invertnog sirupa (Missio da Silva i sur., 2015). Garcia (2018) navodi Kinu kao zemlju podrijetla jeftinog meda koji se u posljednjih 15 godina sve više uvozi u EU, a s obzirom na njegovu vrlo nisku cijenu pretpostavlja se i da je veća mogućnost patvorenja. Iz istraživanja fizikalno-kemijskih parametara uzoraka meda podrijetlom iz Republike Hrvatske koje su proveli Primorac i sur. (2008), Čalopek i sur. (2016), Denžić Lugomer i sur. (2017), te usporedbom sa istraživanjima u Europi i svijetu razvidno je da se u Hrvatskoj proizvodi med dobre kvalitete (Tablica 2). U navedenim istraživanjima srednje vrijednosti koncentracija HMF-a iznosile su 3,9 mg/kg, 6,8 mg/kg odnosno 5,7 mg/kg, a samo su Denžić Lugomer i sur. (2017) utvrdili koncentraciju HMF-a veću od NDK u 1 % ispitanih uzoraka. Slične vrijednosti dobivene su u ispitivanju kvalitete meda prikupljenog od pčelara u Republici Turskoj (Turhan, 2007) i poliflornog meda u Španjolskoj (Juan-Borrás i sur., 2015), gdje su svi uzorci imali maseni udio HMF-a manji od 40 mg/kg. Srednja vrijednost koncentracija HMF-a koju autori navode iznosi 4,52 odnosno 4,50 mg/kg. U ispitivanju uzoraka livadnog meda podrijetlom iz Vojvodine (Republika Srbija), koje su proveli Sakač i sur. (2018), 7 % uzoraka je imao koncentraciju veću od 40 mg/kg, a srednja vrijednost svih mjerenja je iznosila 3,37 mg/kg, što je ujedno i najmanji prosjek koncentracija HMF-a u uspoređivanim istraživanjima. Veću srednju vrijednost od 14,8 mg/kg i 14,53 mg/kg, uz udio 4 % i 8 % uzoraka sa koncentracijom većom od 40 mg/kg, objavili su u svojim istraživanjima Finola i sur. (2007) (podrijetlo meda Argentina), te Karimov i sur. (2014) (podrijetlo meda Azerbajdžan). U spomenutim istraživanjima navedene srednje vrijednosti masenih udjela HMF-a znatno su manje od 29,9 mg/kg, koliko iznosi srednja vrijednost u ovom istraživanju, kao i udio uzoraka sa masenim udjelom većim od 40 mg/kg, što se može objasniti činjenicom da se u navedenim istraživanjima analizirao med prikupljen izravno od pčelara i na pčelarskim sajmovima, te su promjene fizikalno-kemijskih svojstava poput porasta koncentracije HMF-a kao posljedice prerade, pakiranja i skladištenja kroz duži vremenski period svedene na minimum.

Tablica 2. Usporedba koncentracija HMF-a u uzorcima meda različitog zemljopisnog podrijetla

Table 2. Comparison of HMF content in honeys of different geographical origin

	Hrvatska (Primorac i sur., 2008)	Hrvatska (Čalopek i sur., 2016)	Hrvatska (Denžić Lugomer i sur., 2017)	Srbija (Vojvodina) (Sakač i sur., 2018)	Turska (Turhan, 2007)	Španjolska (Juan- Borrás i sur., 2015)	Argentina (Finola i sur., 2007)	Azerbajdžan (Karimov i sur., 2014)
Vrsta meda	Cvjetni	RBP	RBP	Livadni	Cvjetni	Poliflorni	NBP	NBP
Broj uzoraka	55	131	227	15	40	605	23	53
Min	0	0.4	0.1	0.6	0	< 0,5	1.1	0.2
Max	27.6	38.9	62.1	69.5	19.4	39.8	44.8	160.7
AS	3.9	6.8	5.7	3.4	4.5	4.5	14.8	14.5
Broj uzoraka iznad NDK	0	0	2	1	0	0	1	4
Udio uzoraka iznad NDK (%)	0	0	1	7	0	0	4	8

*min (najmanji maseni udio); max (najveći maseni udio); AS (aritmetička sredina); NBP (nepoznato botaničko podrijetlo); NDK (najveća dopuštena količina)

ZAKLJUČAK

Značajan broj uzoraka obuhvaćenih ovim istraživanjem nije udovoljavao propisanim zahtjevima kvalitete definiranih zakonodavstvom, zbog povećanog masenog udjela HMF-a. Navedeno ukazuje da je nužno provoditi i pojačati kontrolu kvalitete i ispravnosti pčelinjih proizvoda koji se stavljaju na tržište u RH, kako bi se potrošačima ponudio nutritivno visoko vrijedni i zdravstveno ispravni proizvod. U cilju zaštite potrošača potrebno je kontinuirano ispitivati kvalitetu ovih proizvoda tijekom proizvodnje i prodaje te spriječiti uvoz i plasman meda loše kvalitete na hrvatskom tržištu.

LITERATURA

- Ali, M.S., Quader, M.F.B., Islam, M.A., Ahmed, S., Siddiqua, A., Akter, T. (2018): Qualitative evaluation of honey available in Bangladeshi markets, *Int. J. Nat. Soc. Sci.* 5 (4), 20-27.
- Čalopek, B., Marković, K., Vahčić, N., Bilandžić, N. (2016): Procjena kakvoće osam različitih vrsta meda, *Veterinarska stanica* 47(4), 317-325.
- Denžić Lugomer, M., Pavliček, D., Kiš, M., Končurat, A., Majnarić, D. (2017): Quality assessment of different types of Croatian honey between 2012 and 2016, *Veterinarska stanica* 48, 425-431.
- EFSA, European Food Safety Authority (2005): Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request from the Commission related to flavouring group evaluation 13: furfuryl and furan derivatives with and without additional side-chain substituents and heteroatoms from chemical group 14, *EFSA J.* 215, 1-73. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.215>
- Finola, M.S., Lasagno, M.C., Marioli, J.M. (2007): Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina, *Food Chem.* 100, 1649-1653. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046>
- Garcia, N.L. (2018): The current situation on the international honey market, *Bee World* 95 (3), 89-94. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2018.1483814>
- IHC, International Honey Commission (2009): Harmonised methods of the international honey commission. <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf> Pristupljeno 17. listopada, 2017.
- Juan-Borrás, M., Domenech, E., Conchado, A., Escriche, I. (2015): Physicochemical Quality Parameters at the Reception of the Honey Packaging Process: Influence of type of honey, year of harvest, and beekeeper. *J. Chem.* 2015, 1-6. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/929658>
- Karimov, E., Xalilzad, Z., Hobbi, P., Alekperov, J. (2014): Quality evaluation of honey from the different region of Azerbaijan, *J. Food Chem. Nutr.* 02 (02), 71-79.
- Mahfuza Shapla, U., Solayman, Alam N., Khalil, I., Hua Gan, S., (2018): 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health, *Chem. Cent. J.* 12 (1). <https://dx.doi.org/10.1186%2Fs13065-018-0408-3>
- Missio da Silva, P., Gauche, C., Valdemiro Gonzaga, L., Oliveira Costa, A.C., Fett, R. (2016): Honey: Chemical composition, stability and authenticity, *Food Chem.* 196, 309-323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- MP, Ministarstvo poljoprivrede RH (2015): Pravilnik o medu, *Narodne novine* 53/15.

- MP, Ministarstvo poljoprivrede RH (2017): Pravilnik o izmjenama Pravilnika o medu, Narodne novine 47/17.
- MPRRR, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (2016): Nacionalni pčelarski program za razdoblje od 2017. do 2019. godine. <http://www.mps.hr/hr/poljoprivreda-i-ruralni-razvoj/poljoprivreda/pcelarstvo>. Pristupljeno 17. listopada 2017.
- MPŠVG, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva (2005): Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata, Narodne novine 2/05.
- Primorac, L.J., Bubalo, D., Kenjerić, D., Flanjak, I., Perl Pirički, A., Mandić, M.L. (2008): Pollen spectrum and physicochemical characteristics of Croatian mediterranean multifloral honeys, *Deut. Lebensm.-Rundsch.* 104 (4), 170-175.
- Sakač, M.B., Jovanov, P.T., Marić, A.Z., Pezo, L.L., Kevrešan, Z.S., Novaković, A.R., Nedeljković, N.M. (2018): Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia), *Food Chem.* 276, 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.149>
- Turhan, K. (2007): Chemical contents and some trace metals of honeys produced in the middle Anatolia region of Turkey, *Fresen. Environ. Bull.* 16 (5), 460-465.
- Vahčić, N., Matković, D., (2009): Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda. <https://www.scribd.com/document/130527525/Kemijske-Fizikalne-i-Senzorske-Karakteristike-Meda>. (03. rujna 2018.)
- Vranić, D., Petronijević, R., Đinović Stojanović, J., Korićanac, V., Babić Milijašević, J., Milijašević, M. (2017): Physicochemical properties of honey from Serbia in the period 2014-2016, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 85, 012058. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012058>.

PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF GREEN OLIVE PASTES

Mladenka Šarolić^{1*}, Ana Ukić¹, Emilija Friganović¹, Žana Delić¹, Marko Šuste¹,
Tomislav Svalina¹, Zvonimir Marijanović²

¹„Marko Marulić” Polytechnic in Knin, Petra Krešimira IV. 30,
22300 Knin, Croatia

²University of Split, Faculty of Chemistry and Technology, Ruđera Boškovića 35,
21000 Split, Croatia

*msarolic@veleknin.hr

original scientific paper

ABSTRACT

The main ingredients of olive pastes are table olives and virgin olive oil. It is well known that olives and olive oil have beneficial effects on human health hence these effects are attributed to olive pastes. The aim of this study was to investigate the physicochemical and sensory characteristics of five commercial green olive pastes purchased in retail and one green olive paste with marinated shallots. This last sample was used as a test sample in order to evaluate the overall acceptability of green olive paste with marinated shallots by the consumers. Physicochemical analyses showed the different results in pH, titratable acidity, salt content, dry matter content and water activity. According to the results of the analyses, among the samples were established the differences by individual tested properties at the level of statistical significance which indicates the differences in the products recipes and production processes. All green olive pastes were recognized as generally acceptable by the panelists, while sample which presented green olive paste with marinated shallots was the most preferred regarding the overall sensory attributes, therefore indicating the possibility of producing and developing a wide range of olive products with different ingredients.

Keywords: green olives, pastes, physicochemical characteristics, sensory attributes

INTRODUCTION

The Olive tree (*Olea europaea* L.), a native of the Mediterranean basin and parts of Asia, is now widely cultivated in many other parts of the world for production of olive oil and table olives (Ghanbari et al., 2012). Its fruit, an oval-shaped drupe, consists of a pericarp and endocarp (kernel, pit), weighs from 2-12 g, although some varieties may weigh as much as 20 g (Boskou, 2006) and average composition includes water (50%), oil (22%), carbohydrate (19.1%), cellulose (5.8%), protein (1.6%), inorganic substances (1.5%) and phenolic compounds (1–3%). Other important compounds present in olive fruit are pectin, organic acids, and pigments (Ghanbari et al., 2012).

Olive products, mainly olive oil and table olives, are important components of the Mediterranean diet and their consumption continues to increase worldwide by health-conscious consumers (Charoenprasert et al., 2012). "Table olives" means the product: "prepared from the sound fruits of varieties of the cultivated olive tree (*Olea europaea* L.) that are chosen for their production of olives whose volume, shape, flesh-to-stone ratio, fine flesh, taste, firmness and ease of detachment from the stone make them particularly suitable for processing; treated to remove its bitterness and preserved by natural fermentation, or by heat treatment, with or without the addition of preservatives; packed with or without covering liquid" (IOOC, 2004:1). Chemical and biological treatments in producing table olives ensures that compounds accountable for the bitter taste of olive fruit are hydrolyzed and end product stabilized in order to prevail over the limitation of seasonal production (Lanza, 2012). There are numerous factors that can affect the phenolics in table olives including the cultivar, degree of ripening, and, importantly, the methods used for curing and processing table olives (Charoenprasert et al., 2012).

Olive pastes, very popular with consumers, can be made from most olive varieties and prepared from processed green-ripe (green paste) to fully black-ripe olives (black paste). The organoleptic characteristics of olive pastes depend on the quality of the processed olives used (Kailis and Harris, 2007). In green olive pastes production green table olives are the main raw material. Usually, green olives are produced in brine by Spanish or Seville-style. These are defined as olives treated in alkaline lye and then placed in brine in which they undergo a lactic fermentation. If the fermentation is complete, the olives need only appropriate physicochemical conditions to ensure their preservation (IOOC, 2004).

In order to meet consumers' demands food industry needs to change and innovate daily. During the development and marketing of a new foodstuff it is important to consider many aspects related to its quality. It is well known that there are many of producers of green olive pastes in the market but it is important to notice that there is no standard for green olive pastes and also research on olive paste production and quality is very limited (Aka-Kayguluglo et al., 2014). So in this context, this work provides physicochemical and sensory attributes of several products of green olive pastes from different producers and as well possibility of combining green olives with other plants in making new product thus expanding the olive product range.

MATERIALS AND METHODS

Samples

All of the samples were collected from retail markets in Split, Croatia in period from January till February 2017. All samples were in original glass jars from six different producers. Samples were stored at 4 °C until their attributes were analyzed.

Samples of olive pastes (A, B, C, D and E) represent samples of olive paste from different producers while sample F represent olive paste with marinated shallot. Shallot (*Allium ascalonicum* L.) is a plant species of karst and Mediterranean, whose present production is symbolic and is present only in certain areas of Dalmatia. Due to unorganized and uncontrolled production of reproductive material, shallot reproduces vegetatively with own material grown in the previous year. The bulbs are oval longitudinal shape light brown to pink color and pronounced angry taste (Ozimec et al., 2005). Traditional method of preserving those bulbs is marinating with salt and red wine vinegar.

Physicochemical analysis

Water content, dry matter, titratable acidity (%), water activity, salinity and pH were analyzed in homogenized paste samples. All these parameters were determined as described in AOAC, 1995.

Sensory analysis

Sensory analyses were performed by a panel of 12 assessors. Seven products attributes that characterize appreciation of the product by consumers were evaluated. The proof sheet contained the following sensory descriptors: colour, texture, aroma, salty taste, sourness and overall acceptability. A testing chart with 5 points was used, with 1 representing highly unpleasant and 5 representing highly pleasant attribute.

Statistical analysis

Statistical analysis was carried out with SPSS r.17.0.0. (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The mean values were compared using the Tukey's significant difference test ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the physicochemical analyses of tested green olive pastes are given in Table 1. As it can be seen from the results of green olive pastes varieties there were significant differences in almost all physicochemical parameters. Titratable acidity and salt content were significantly different in all tested samples of green olive pastes, while in other parameters those differences were lower. Probably those differences were caused by the olive type, production method and recipe of the olive paste. Titratable acidity in tested olive pastes ranged from 0.40 to 0.91%. Highest value was measured in sample F which was expected considering that mentioned paste contains marinated shallots.

Table 1. Physicochemical analysis of green olive pastes

Parameter	Paste sample					
	A	B	C	D	E	F
Dry matter (%)	37.82 ± 0.73 ^a	46.44 ± 2.14 ^b	34.02 ± 1.30 ^a	27.78 ± 1.17 ^c	34.52 ± 1.84 ^a	38.30 ± 1.02 ^a
Water activity	0.96 ± 0.00 ^a	0.97 ± 0.00 ^a	0.99 ± 0.01 ^b	0.98 ± 0.00 ^a	0.97 ± 0.00 ^a	0.97 ± 0.00 ^a
pH	3.85 ± 0.01 ^a	3.55 ± 0.01 ^b	3.84 ± 0.01 ^a	4.38 ± 0.00 ^c	3.71 ± 0.00 ^d	3.57 ± 0.00 ^c
Titrate acidity (%)	0.60 ± 0.00 ^a	0.67 ± 0.00 ^b	0.51 ± 0.00 ^c	0.65 ± 0.01 ^d	0.40 ± 0.00 ^e	0.91 ± 0.01 ^f
Salt (%)	3.82 ± 0.13 ^a	3.00 ± 0.07 ^b	1.87 ± 0.00 ^c	3.00 ± 0.13 ^d	3.23 ± 0.13 ^e	3.11 ± 0.06 ^f
Water (%)	62.18 ± 0.73 ^a	53.56 ± 2.14 ^b	65.98 ± 1.30 ^c	72.22 ± 1.17 ^d	65.48 ± 1.84 ^e	61.70 ± 1.02 ^a

*A, B, C, D and E - samples of olives pastes from different producers, F - olive paste with marinated shallots; All values are expressed as mean of triplicate determinations ± SD; values in the same column with different superscript letters differ significantly (p<0,05)

According to the Codex Standard (1981) for pasteurized green table olives the pH value should be less than 4.3 and salinity should be higher than 5%. Only sample D has pH value higher (4.38), while all tested paste samples had lower salinity than Codex Standard states (5%). Aka-Kayguluoglu et al. (2014) reported pH values (2.82 – 4.08) and salinity (3.45 – 7.16%) in several types of green olive pastes in Turkey.

The sensory evaluation of green olive pastes is given in Table 2. The correlation of the different sensory attributes indicated that the panel was positively influenced by all evaluated attributes when compared to overall acceptability. According to the results of the sensory evaluation it can be seen that there were significant differences among all evaluated attributes. Colour value in sample C was the lowest (2.64) and significantly differs to other samples where the values ranged from 3.87 to 4.13.

Texture is very important food attribute and in tested paste samples the lowest value was in sample C (2.48) while in other samples these values ranged from 3.80 to 4.96. Taste and odor values in tested samples were similar among group of samples. Salinity values ranged from the lowest (1.92%) in sample C to highest (4.65%) evaluated in sample F. The highest estimated value for sourness (4.32%) was in sample F which was expected because that paste sample consist marinated shallots.

Considering all sensory attributes, it can be seen that the lowest values of all attributes were evaluated in samples C and D, then moderate values were in samples A and B while the highest values were in samples E and F. With regard to scores for texture, colour, taste, odor salinity, sourness and the overall acceptability sample F revealed the highest values.

Table 2. Sensory analysis of green olive pastes

Sample	Colour	Odor	Taste	Salinity	Sourness	Texture	Overall
							acceptability
A	4.03 ± 0.73 ^a	3.81 ± 0.99 ^a	3.71 ± 0.81 ^a	3.83 ± 0.83 ^a	3.03 ± 0.96 ^a	4.09 ± 0.93 ^a	3.68 ± 0.63 ^a
B	3.87 ± 0.68 ^a	3.68 ± 0.95 ^a	2.98 ± 0.87 ^a	3.29 ± 0.87 ^a	3.05 ± 1.05 ^a	3.80 ± 0.57 ^a	3.33 ± 0.75 ^a
C	2.64 ± 0.65 ^b	1.93 ± 0.84 ^b	2.06 ± 0.81 ^b	1.92 ± 0.79 ^b	2.05 ± 0.45 ^a	2.48 ± 0.53 ^b	2.21 ± 0.39 ^b
D	3.20 ± 1.08 ^a	2.25 ± 1.13 ^c	1.94 ± 0.94 ^c	2.29 ± 0.96 ^c	2.13 ± 1.00 ^a	3.64 ± 1.02 ^a	2.19 ± 0.80 ^c
E	4.13 ± 0.74 ^a	4.23 ± 0.95 ^a	4.32 ± 0.78 ^a	4.04 ± 1.05 ^a	4.09 ± 1.08 ^a	4.96 ± 0.14 ^c	4.37 ± 0.62 ^a
F	4.10 ± 0.48 ^a	4.48 ± 0.92 ^a	4.28 ± 0.85 ^a	4.65 ± 0.64 ^a	4.32 ± 0.96 ^b	4.94 ± 0.15 ^c	4.66 ± 0.59 ^d

*A, B, C, D and E - samples of olives pastes from different producers, F - olive paste with marinated shallots; All values are expressed as mean of 5-point scale observations (twelve assessors) ± SD; values in the same column with different superscript letters differ significantly ($p < 0,05$)

CONCLUSIONS

Over the last few decades, consumer demands for food production have changed. Consumers believe more and more that foods have a direct impact on their health. Today foods are not intended only to satisfy the hunger but also to prevent nutrition-related diseases and improve the physical and mental well-being of the humans. Green olives pastes are traditional foods produced from olives of table olive quality and have been consumed locally or regionally for many generations.

It is important to notice that in all paste samples, beside green olives, the main ingredient is virgin olive oil. Olive oil is the main source of fat in the Mediterranean diet. It is much appreciated all over the world for its taste and aroma, as well as for its nutritional properties.

Considering the highest score of sample F which represents olive paste with marinated shallots it can be concluded that olive paste is important and interesting product.

Following the consumer tendency for functional traditional foods olive paste can be recognized not only for its excellent taste and quality but also for its potential beneficial effects on human health.

REFERENCES

- Aka-Kayguluoglu A., Akpinar-Bayizit A., Sahin-Cebeci, O. I. (2014): Evaluation of physicochemical and sensory properties of green olive pastes, *Indian J. Tradit. Know.* 13 (4), 654-658.
- Boskou, D. (2006): Olive Oil - Chemistry and Technology, 2nd Edition, Champaign, Illinois, USA: AOCS Press, pp. 16.
- Charoenprasert, S., Mitchell, A. (2012): Factors influencing phenolic compounds in table olives (*Olea europaea*), *J. Agric. Food Chem.* 60 (29), 7081-95. <https://doi.org/10.1021/jf3017699>

- CAC - Codex Alimentarius Commission (1981): Codex standard for table olives (CXS 066-1981, Rev 1987, 2013), Rome, Italy: CAC, pp. 4-5.
- Ghanbari R, Anwar F, Alkharfy KM, Gilani AH, Saari N. (2012): Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.)—A Review, *Int. J. Mol. Sci.* 13, 3291-3340. <https://doi.org/10.3390/ijms13033291>
- IOOC - International Olive Oil Council (2004): Trade Standard Applying to Table Olives, COI/OT/NC No. 1, Resolution No. RES-2/91-IV/04, Madrid, Spain: IOCC, pp. 1-17.
- Kailis S., Harris D. (2007): Producing Table Olives, Collingwood, Victoria, Australia: Landlinks Press, pp. 235-236.
- Lanza, B. (2012): Nutritional and Sensory Quality of Table Olives. In Olive Germplasm – The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy, Muzzalupo, I. (ed.), London, UK: IntechOpen Limited, pp. 343-372.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists International (1995): Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, Arlington, Virginia, USA: AOAC International.
- Ozimec, R. (2015): Kozjak. In: Tradicijske sorte i pasmine Dalmacije, Ozimec, R. and Mihinica, S. (eds.), Zagreb, RH: UNDP, pp. 349.

**ODREĐIVANJE SADRŽAJA UKUPNIH FENOĻA I ANTIOKSIDATIVNOG
KAPACITETA KOMERCIJALNIH ZELENIH ČAJEVA IZ TUZLANSKIH
TRGOVINA**

**DETERMINATION OF TOTAL FENOLS AND ANTIOXIDATIVE
CAPACITY OF COMMERCIAL GREEN TEA FROM TUZLA
SUPERMARKETS**

**Emir Horozić, Jasmin Suljagić*, Zahida Ademović, Amra Bratovčić,
Lejla Halilčević**

Univerzitet u Tuzli, Tehnološki fakultet, Univerzitetska 8, 75000 Tuzla, BiH

**jasmin.suljagic@untz.ba*

stručni rad / professional paper

SAŽETAK

Zeleni čaj, koji se proizvodi od lišća biljke *Camellia sinensis*, jedno je od najpopularnijih pića u svijetu. Proteklih desetljeća znanstvenici su proučavali ovu biljku u pogledu potencijalnih zdravstvenih prednosti. Istraživanja su pokazala da zeleni čaj pomaže u prevenciji moždanog udara, razvoja malignih bolesti i infekcija. U ovom radu ispitana je antioksidativna aktivnost i sadržaj ukupnih fenola 4 uzorka zelenog čaja iz lokalnih tuzlanskih trgovina, od kojih su dva inozemnog porijekla. Antioksidativna aktivnost uzoraka analizirana je primjenom FRAP i DPPH metode. Dobiveni rezultati pokazuju da najveći sadržaj ukupnih fenola i najveći antioksidativni kapacitet ima uzorak inozemnog porijekla. Sadržaj ukupnih fenola u uzorcima kreće se u rasponu od 3384,11 do 4474,85 mg GAE/L ekstrakta. Najveća FRAP vrijednost iznosi 9,241 $\mu\text{mol/L Fe}^{2+}$. Antioksidacijski kapacitet potvrđen je i DPPH metodom. Postotak inhibicije kreće se u rasponu od 30,19 do 75,72 $\mu\text{g/mL}$. Analizom je utvrđeno da antioksidacijska aktivnost nije povezana s cijenom čajeva.

Ključne riječi: ukupni fenoli, FRAP, DPPH, zeleni čaj

Keywords: total phenol, FRAP, DPPH, green tea

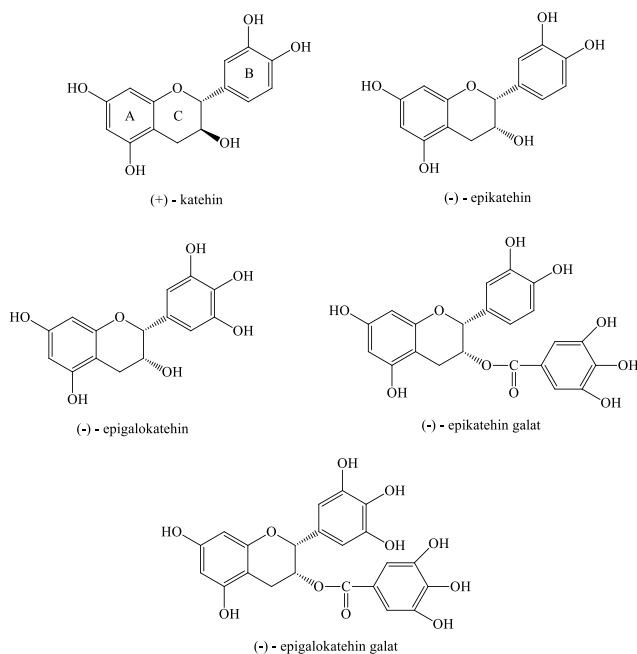
UVOD

Zeleni čaj (*Camellia sinensis*) otkriven je u Kini 3000 pr. Kr. ili ranije i poznato je da ima različite pozitivne medicinske učinke na ljudsko tijelo. Dokazano je da sastojci zelenog čaja imaju određen nivo učinkovitosti protiv karcinoma, pretilosti, bakterijskih i virusnih infekcija (Suzuki i sur., 2012). Glavni spojevi zelenog čaja su polifenoli koji su odgovorni za antioksidativne i druge zdravstvene prednosti zelenog čaja. Glavni polifenoli u zelenom čaju su flavonoidi. Pet glavnih flavonoida su katehin, epikatehin, epigalokatehin, epikatehin galat i epigalokatehin galat. Epigalokatehin galat se smatra najznačajnijom aktivnim spojem (Sinija i Mishra, 2009). Strukture ovih spojeva prikazane su na Slici 1 (Hodgson i sur., 2013). Nekoliko je studija zabilježilo pozitivne učinke ekstrakta zelenog čaja na metabolizam masti u mirovanju i tijekom vježbanja, i nakon kraćeg i dužeg unosa. Međutim, trenutno nije postignut konsenzus u vezi učinaka navedenih spojeva na metabolizam masti. Činjenica je da nisu svi učinci povezani s razlikama u dizajnu studija, biodostupnosti ekstrakta zelenog čaja i varijacijama mjerenja (oksidacija masti) (Hodgson i sur., 2013). Zeleni čaj djeluje kao inhibitor ciklooksigenaze, lipoksigenaze, čimbenika nekroze tumora i interleukinskih puteva i u konačnici kontrolira razvoj i napredovanje tumora (Rahmani i sur., 2015). Kemijski sastav zelenog čaja je složen. Proteinski udio iznosi 15-20% suhe mase, aminokiseline 1-4% suhe mase (5-N-etilglutamin, glutaminska kiselina, triptofan, glicin, serin, asparaginska kiselina, tirozin, valin, leucin, treonin, arginin i lizin) ugljikohidrati 5-7% suhe mase (celuloza, pektini, glukoza, fruktoza i saharoza), minerali i elementi u tragovima 5% suhe mase (kalcij, magnezij, krom, mangan, željezo, bakar, cink, molibden, selen, natrij, fosfor, kobalt, stroncij, nikal, kalij, fluor i aluminij) i dr. Sastav pojedinih bioloških komponenti u zelenom čaju prikazan je u Tablici 1.

Tablica 1. Udio pojedinih komponenti (%) u zelenom čaju i njegovoj otopini
Table 1. The contributions of the components (%) in green tea and its solution

Komponenta	Proteini	AK	Vlakna	UH	Lipidi	Pigmenti	Minerali	FK	OFK
Zeleni čaj	15	4	26	7	7	2	5	30	0
Otopina	tragovi	3,5	0	4	tragovi	tragovi	4,5	4,5	4,5

*AK - aminokiseline; UH - ugljikohidrati; FK - fenolne komponente; OFK - oksidirane fenolne komponente



Slika 1. Kemijske strukture katehina, (-)-epikatehina, (-)-epigalokatehina, (-)-epikatehin galata i (-)-epigalokatehin galata

Figure 1. Chemical structures of catechins. (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin gallate and (-)-epigallocatechin gallate

MATERIJAL I METODE

Materijali

Natrij karbonat, metanol i klorovodonična kiselina nabavljeni su od tvrtke Semikem. Galna kiselina, Folin-Ciocalteu reagens, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin (TPTZ), željezo (II) sulfat heptahidrat, natrij acetat trihidrat, željezo (III) klorid heksahidrat nabavljeni su od tvrtke Sigma-Aldrich.

Priprema otopine čaja

1 gram čaja maceriran je sa 100 mL vrele vode i filtriran poslije 5 minuta. Nakon toga pripremljena su odgovarajuća razrijeđena za ispitivanje sadržaja polifenola i antioksidacijske aktivnosti.

Određivanje sadržaja ukupnih fenola

Sadržaj ukupnih fenola je određen Folin-Ciocalteu metodom (FC). Reagens se sastoji od fosfovolfrahmove i fosfomolibdenske kiseline. Uzorak se priprema tako što se u epruvetu doda 0,2 mL razrijeđene otopine čaja, 2,5 mL FC reagensa i 0,42 mL Na₂CO₃. Nakon 1 sat se dodaje 910 μL destilirane vode i vrši snimanje na spektrofotometru pri valnoj duljini od 765 nm.

*Određivanje antioksidativne aktivnosti**FRAP metoda*

FRAP metoda temelji se na sposobnosti antioksidansa da doniranjem elektrona u kiselom mediju (pH 3,6) reducira žuti kompleks Fe^{3+} sa 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazinom (TPTZ) u plavo obojeni kompleks Fe^{2+} -TPTZ. Za analizu potrebno je pripremiti kalibracijsku krivulju standardne otopine $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

DPPH metoda

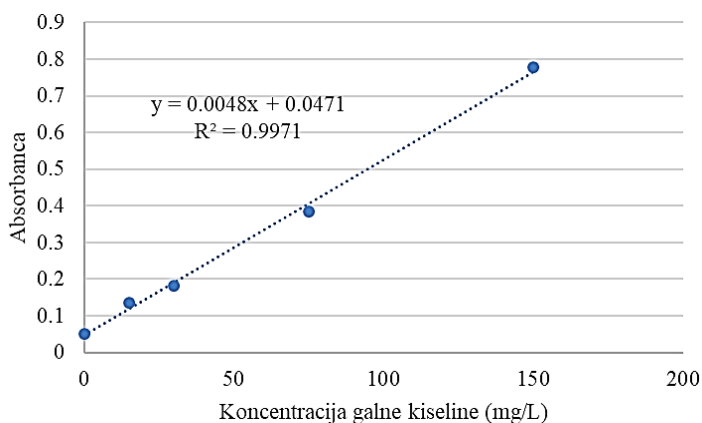
U reakciji s antioksidansima, DPPH radikal se reducira u blijedo žuti hidrazinski oblik. Za analizu pripremljena su odgovarajuća razrijeđena matične otopine zelenog čaja s metanolom. U 5 epruveta otpipetiraju se različite količine otopine čaja i dopuni se metanolom do 4 mL. Na tako pripremljene uzorke doda se 1 mL 0,5 mM DPPH reagensa. Sadržaj u epruvetama se promućka i inkubira 30 minuta u tamnom prostoru. Absorbanca se mjeri na 517 nm uz metanol kao slijepu probu. 1 mL 0,5 mM otopine DPPH razrijeđene s 4 mL metanola predstavlja kontrolu. Inhibicija DPPH radikala izračunava se prema jednadžbi (1):

$$I(\%) = \frac{A_k - A_x}{A_k} \cdot 100 \quad (1)$$

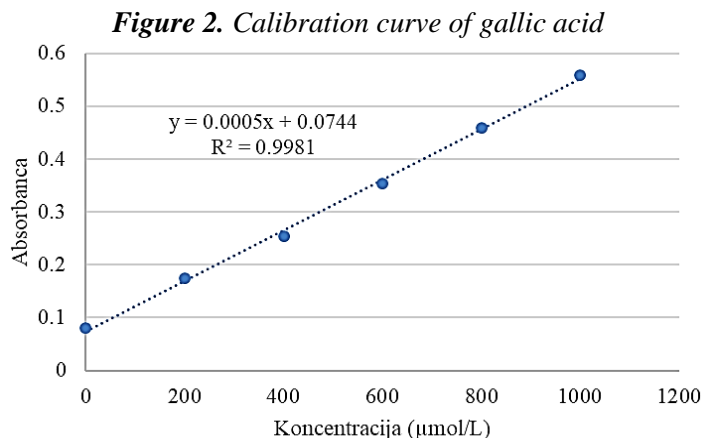
pri čemu je: A_k - absorbance kontrole a A_x - absorbance uzorka. Rezultati se mogu izraziti kao inhibicija DPPH radikala (%) i kao IC_{50} vrijednost (mg/mL), odnosno ona koncentracija koja dovodi do 50% neutralizacije DPPH radikala.

REZULTATI I RASPRAVA

Kalibracijska krivulja galne kiseline za određivanje sadržaja ukupnih fenola prikazana je na Slici 2. Na Slici 3 prikazana je kalibracijska krivulja standardnih otopina $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ za FRAP metodu.



Slika 2. Kalibracijska krivulja galne kiseline



Slika 3. Kalibracijska krivulja standardnih otopina $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Figure 3. Calibration curve of standard solutions of $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Rezultati ispitivanja sadržaja ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Sadržaj ukupnih fenola i antioksidativni kapacitet testiranih otopina zelenog čaja

Table 2. Total phenol content and antioxidant capacity of the tested solution of green tea

Broj uzorka	Polifenoli (mg GAE/L ekst.)	FRAP (µmol/L Fe^{2+})	DPPH (%)
1	3384,11	7,473	75,72
2	3497,68	8,008	65,17
3	4474,85	9,241	30,19
4	3394,85	7,756	67,94

Sadržaj polifenola u otopinama zelenog čaja kod svih uzoraka odgovara vrijednostima analize antioksidativnog kapaciteta. Istraživanjima je dokazano da u usporedbi sa ostalim vrstama poznatih čajeva iz sorte biljke *C. Sinensis* (bijeli, crni, zeleni), najveći sadržaj fenola ima zeleni čaj a bijeli čaj najniži, vjerojatno zbog činjenice što je tijekom prerade ove vrste čaja spriječena oksidacija enzima polifenol-oksidaze (Shannon i sur., 2018). Uočava se velika razlika u usporedbi vrijednosti sadržaja ukupnih fenola otopina zelenog čaja sa otopinama komercijalnih voćnih čajeva. Sadržaj polifenola u voćnim čajevima kreće se od 61,05 do 428,73 mg/L (Kopjar i sur., 2013), što je dosta manje u odnosu na sadržaj istih spojeva u uzorcima zelenog čaja. Vrijednosti dobivene FRAP metodom kreću se od 7,473 µmol/L Fe^{2+} (za uzorak najmanjeg antioksidativnog kapaciteta) do 9,241 µmol/L Fe^{2+} (za uzorak najvećeg antioksidativnog kapaciteta). Postotak inhibicije (I) kreće se u rasponu od 30,19-75,72 %. Najveći sadržaj fenola i najviši antioksidativni

kapacitet ima uzorak 3, inozemnog porijekla. U pogledu cijene, navedeni uzorak je najskuplji tako da se ovom analizom ujedno može povezati kvaliteta i cijena uzorka. Istraživanjima je dokazano da uvjeti tijekom pripreme čajeva (vrsta čaja, oblik čaja, vrijeme maceracije, temperatura maceracije, upotrijebljeno otapalo) imaju značajan utjecaj na sadržaj bioaktivnih tvari u samom napitku kao što su polifenolni spojevi i metilksantini (kofein, teofilin, teobromin). Na kvalitetu čaja veliki utjecaj imaju i drugi faktori kao što su: geografsko porijeklo, način i vrijeme branja, uvjeti obrade i skladištenja čajeva. Stupanj fermentacije je povezan sa količinom kofeina u čajevima, duže fermentirani čajevi imaju niži ukupni sadržaj polifenola, niži sadržaj katehina i niži antioksidativni kapacitet (Zhao i sur., 2014). Učinak ekstrakcije bioaktivnih tvari iz zelenog čaja prilikom pripreme čajnog napitka ovisi o uvjetima ekstrakcije. Rezultatima je potvrđeno da vodena ekstrakcija zelenog čaja na 80 °C dovodi do većeg antioksidativnog kapaciteta u usporedbi sa ekstrakcijom na sobnoj temperature (Ramírez-Aristizabal i sur., 2017). Istraživanja su pokazala da se maksimalan učinak ekstrakcije postiže tijekom maceracije vodom pri 80 °C kroz 5 minuta kada je čaj u obliku praha, kroz 15 minuta kada je čaj u vrećici i kroz 30 minuta kada se ekstrakcija provodi iz listića čaja (Kopjar i sur., 2013).

ZAKLJUČAK

Analizom komercijalnih zelenih čajeva iz tuzlanskih trgovina utvrđeno je da imaju visok sadržaj polifenola i visok antioksidativni kapacitet. Najkvalitetniji testirani uzorak je inozemnog porijekla, sa ukupnim sadržajem polifenola od 4474,85 mL GAE/L ekstrakta. Utvrđeno je da cijena svakako diktira kvalitetu u slučaju testiranih uzoraka čaja. Prikazani rezultati TPC, FRAP i DPPH za svaki uzorak čaja u ovoj analizi mogu se razlikovati od drugih objavljenih vrijednosti uslijed razlika u sorti čaja, vrsti zemljišta, visini kultivacije, skladištenja poslije berbe, uvjeta obrade i ontogenetskih faktora.

LITERATURA

- Hodgson, B. A., Randell, K. R., Jeukendrup E. A. (2013): The Effect of Green Tea Extract on Fat Oxidation at Rest and during Exercise: Evidence of Efficacy and Proposed Mechanisms, *Advances in Nutrition*. 4(2), 129-140. DOI: <https://doi.org/10.3945/an.112.003269>.
- Horozić, E., Hajdarbegović, A., Hasanbašić, A., Tučić, E., Halilčević, L., Ademović Z. (2018): Investigation of the antioxidant activity and total phenols content in commercial Sage (*Salvia Officinalis L.*). In: 26th International Conference Ecological Truth and Environmental Research - Student section, Bor, SRB, pp. 10-14.
- Kopjar, M., Knežević, I., Piližota, V. (2013): Sadržaj polifenola, antocijana i antioksidativna aktivnost voćnih čajeva, *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*. 2(2), 42-49.

- Mandić, V. (2017): Razvoj i validacija novog tipa HPLC detektora za određivanje bioaktivnih sastojaka u hrani (Diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb (2017) p. 13-14.
- Rahmani, H. A., Al Shabrmi. M. F., Allemailem, S. K., Aly, M. S., Khan, A. M. (2015): Implications of Green Tea and Its Constituents in the Prevention of Cancer via the Modulation of Cell Signalling Pathway, *BioMed Research International*. 2015, Article ID 925640. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/925640>.
- Ramírez-Aristizabal, L. S., Ortíz, A., Restrepo-Aristizabal, M. F., Salinas-Villada, J. F. (2017): Comparative study of the antioxidant capacity in green tea by extraction at different temperatures of four brands sold in Colombia, *VITAE*, 24(2), 132-145. DOI: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n1a06>.
- Shannon, E., Jaiswal, A. K., Abu-Ghannam, N. (2018): Polyphenolic content and antioxidant capacity of white, green, black, and herbal teas: a kinetic study, *Food Research*, 2(1) : 1-11. DOI: [https://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(1\).117](https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(1).117)
- Sinija, V. R., Mishra, N. H. (2009): Green tea: Health benefits, *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*. 17(4), 232-242. DOI: <https://doi.org/10.1080/13590840802518785>.
- Suzuki, Y., Miyoshi, N., Isemura, M. (2012): Health-promoting effects of green tea, *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and biological sciences*. 88(3): 88-101. DOI: 10.2183/pjab.88.88.
- Zhao, C., Li, C., Liu, S., Yang, L. (2014): The galloyl catechins contributing to main antioxidant capacity of tea made from *Camellia sinensis* in China, *ScientificWorldJournal*, 2014. DOI: 10.1155/2014/863984.

***PRODUCTION OF SAFE FOOD AND FOOD WITH ADDED
NUTRITIONAL VALUE /
PROIZVODNJA ZDRAVSTVENO SIGURNE I
NUTRITIVNO VRIJEDNE HRANE***

DOMESTIC HULLESS BARLEY AND MALT AS AN EASILY AVAILABLE SOURCE OF β -GLUCAN

Kristina Mastanjević^{1*}, Maja Kotris¹, Krešimir Mastanjević¹, Daniela Horvat², Vinko Krstanović¹

¹Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Croatia

²Agricultural Institute Osijek, Južno predgrađe 17, 31000 Osijek. Croatia

*khapschi@ptfos.hr

original scientific paper

ABSTRACT

β -Glucans are described as non-starch polysaccharides, characterized by (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4) β -D-glucose linkage. In human nutrition, they are regarded as extremely wanted because of their bioactive and medicinal properties. Since β -glucans comprise soluble fibres that have the ability to lower cholesterol, regulate blood sugar, reduce the risk of heart disease and colon cancer. Especially desirable are (1,3)- β -D-glucans because they act as immunomodulatory agents. The aim of this paper was to determine the mass fraction of β -glucans and the ratio of total and soluble β -glucans in barley and malt in domestic hulless barley varieties. Hulless barley is an accessible and cheap source of β -glucans. Four different domestic varieties of hulless barley obtained from the Agricultural Institute Osijek were examined. The results indicate that all tested varieties have higher β -glucans content than standard winter and spring varieties. Variety Matko showed close relation to the EFSA (European Food Safety Authority) recommendations of 750 mg of soluble β -glucans per serving.

Keywords: Croatian hulless barley varieties, β -glucan content, solubility of β -glucan

INTRODUCTION

β -Glucans are polysaccharides that can be found as components of the cell walls of barley, oats, wheat, rye, corn, rice, and sorghum (Polonskii and Sumina, 2013). Cereal's cell walls contain high amounts of heteroxylanes and small amounts of cellulose and pectin molecules. According to several authors, β -glucans form the inner lining of cell walls in the endosperm of barley (Bamfort and Kanauchi, 2001; Woodward et. al., 1983). The starchy endosperm in barley grain is surrounded with thin walls containing approximately 70% β -glucans, 25% arabinoxylans, 2% cellulose, and 2% glucomannans (Fincher, 1975; Wilson et al., 2006). Barley and oats have the highest β -glucan content (Gajdosova et. al. 2007; Lee et. al. 1997) with barley having an average content of β -glucans 3-9% (Zhang et. al., 2002; Henry, 1986; Aman and Newman 1986; Kalra, 2000; Xue et. al. 1997; Perez-Vendrell et al., 1995). Some barley varieties have low accumulation of starch and increased

β -glucans. That can partially or completely replace the loss of starch. Some mutants of certain barley lines can have β -glucan content as high as 20% (Polonskii and Sumina, 2013). Knutsen and Holtekjolen (2007) compared hullless and covered barley varieties (16 varieties of hullless and covered barley), and Griffey et. al., 2010 did the same thing on 14 samples of covered and 37 hullless barley. According to their findings, these two types of barley showed no significant difference in the β -glucan content and water-soluble arabinoxylans in grain. Other authors determined that hullless barley has more β -glucans than covered (Fastnaught et. al., 1996; Huth et. al., 2002). The highest content of β -glucans was recorded in the grain of Tibetan hullless barley (Zhang et. al., 2002) and Anderson et al. (1999) showed that hullless barley is extremely rich in β -glucans up to 15-18%. The research conducted by Krstanović et al. (2016a; 2016b) on domestic hullless barley varieties showed a significantly higher β -glucan content (soluble and total) than covered barley varieties. Since they are insoluble in water, different modification methods for transformation of β -D-glucan chemical structure to a soluble form have been investigated (Zeković and Kwiatkowski, 2005; Jirsa et. al., 2018). Sulfation, phosphorylation, and carboxymethylation have been applied. β -glucans exhibit bioactive and medicinal properties, (immunostimulation, anti-inflammatory, antimicrobial, antitumoral, hepatoprotective, cholesterol-lowering, antifibrotic, antidiabetic, and hypoglycemic) (Zeković and Kwiatkowski, 2005). β -glucans have also been employed to bind mycotoxins from feed (aflatoxins, ochratoxins, zearalenone, T-2 toxin, vomitoxin, and the fumonisins). The solubility of β -glucans increases with the lower degree of polymerization of the (1 \rightarrow 3)- β -glucan. This being said, it is clear that solubility increases β -glucans value in terms of being a functional food supplement. Malting is a technological procedure that simulates the natural germination process of barley grain and this actually contributes to the solubility of β -glucans. This is why malt is a topic of this research, because it represents a cheap and easily available source of β -glucans.

MATERIALS AND METHODS

Four hullless barley varieties samples were obtained from field trials of the Institute of Agriculture Osijek in 2017 (Osvit, Osk.5.119-10-12, GZ-184 and Matko). The barley varieties were grown under natural conditions on location Osijek (OS). The experiments were conducted in randomized block designs (RCBD) with six replications; plot size was 7.56 m². Sampling (5 kg per sample) was performed on cleaned and processed barley grains (according to the EBC 3.3.1. method) and the samples were kept refrigerated in sterile dry containers. Grain samples (5 kg per sample) were collected as untreated and conditioned grain, scaled and packed into in double-walled paper bags (1 kg). Until micromalting the material was stored in sterile dry containers for two months in a dry and cool place (18-20 °C) to overcome post-harvest grain dormancy. Laboratory micro-malting of barley was carried out (Table 1) in the micromalting plant Joe White Malting Systems (Pty. Limited East Melbourne, Victoria, Australia; Automatic Micro Malt Unit, 10 kg capacity). Four samples of 2 \times 1 kg of each barley variety were subjected to malting. Degermination

of dry malt was performed manually. After the micromalting, malt samples were weighed on 500 g samples and stored in paper bags for one month for the moisture content stabilization.

Table 1. Micromalting scheme of barley samples

	micromalting stage	air flow (%)	T (°C)	T (h)
STEEPING	immersion steeping	-	16	5
	dry steeping	100	17	12
	immersion steeping	-	17	6
	dry steeping	100	18	12
	immersion steeping	-	17	2
		-	-	-
	dry steeping	moisture correction to 44.5% by spraying with water		
GERMINATION	germination parameters	75	17	96
	turning over time: 2			
	number of rotation during turn over: 3			
KILNING	first phase	100	60	6
	second phase	100	65	3
	third phase	90	68	2
	fourth phase	90	70	2
	fifth phase	50	80	2
	sixth phase	50	83	2
	seventh phase	40	85	1

Determination of total β -glucan content: firstly, the barley samples were milled using a standard laboratory mill with a 1 mm sieve (MF10.2 basic, IKA Labortechnik, Germany) and after that using a kitchen coffee grinder (Braun KMM 10). The grinded samples were kept in sealed plastic bags until the enzymatic determination of total β -glucan content in barley using a commercial assay kit (Mixed linkage β -glucan assay kit, Megazyme Int., Bray, Ireland) (EBC Method 3.10.1., 1998). Assay procedure for β -glucan content in malt was carried out according (EBC Method 4.16.1., 1998), and soluble β -glucan content was determined according (EBC Method 8.13.1., 1998).

RESULTS AND DISCUSSION

When considering the results of this research, regarding to β -glucans as functional food supplements, it should be taken into an account that the recommended values for their daily intake differ from source to source. On the other hand, this is highly dependent on the age and health condition of the consumer. Some studies and researchers have established a recommended human dosage of approx. 2 mg of

β -glucans daily per kilogram of body weight (Beta Glucan Products FAQ, 2018) and some recommend dosages between 3-15 g (Nicolosi et al., 1999). Nicolosi et al. (1999) concluded that higher dosage gives better results. It is very difficult to determine the minimum and maximum doses that boost the immune system. However, Cooper (2017) claims that most manufacturers of β -glucan supplements suggest daily doses up to 1 g/day. The Food and Drug Administration (FDA, 2006) approved a health claim on the positive effect of β -glucans from barley on cholesterol reduction and risk of heart disease for soluble β -glucans in the daily consumption of 3 g. These claims may be applied to foods that contain at least 0.75 g of soluble β -glucans per serving; EFSA (European Food Safety Authority) also stated the same thing for β -glucans from oats and barley (EFSA, 2009; EFSA, 2011). The selection of tested barley varieties for this research was encouraged by the previous research result on β -glucans in barley originating from the Institute of Agriculture Osijek for three consecutive seasons (2015/2017). The results in Table 2 show that all tested varieties in this research have a higher share of β -glucans than winter or spring varieties tested in previous research (Krstanović et. al., 2016a; Krstanović et. al. 2016b).

Table 2. Mass fractions and mass difference of β -glucans in barley, malt and soluble β -glucans from malt for chosen varieties

	β -glucan				
	(g/100 g dm)		(%)	(mg/L)	
	Barley	Malt	Δm	Δm^*	Soluble
Osvit	4.83	2.78	2.12	43.9	312
Osk.5.119-10-12	4.51	2.93	1.58	35.0	280
GZ-184	3.56	2.01	1.55	43.5	320
Matko	4.05	3.59	0.46	11.6	500

Δm = Δm β -glucan (barley – malt); Δm^* = % of degraded β -glucan in malt in regards to the starting

β -glucan in barley); Soluble = soluble β -glucan

Variety Matko showed the lowest loss of β -glucan mass in malt in regards to starting β -glucans in barley, 0.46 g (11.58%). In comparison to other tested varieties, they also exhibit a lower β -glucan loss during malting. At the same time, the results regarding soluble β -glucans indicate that Matko has the highest soluble β -glucans value, 500 mg/L (Table 2). If we compare the results obtained in this study (for β -glucans in barley (4.83 g/100g dm) and soluble β -glucans (500 mg/L)) with the recommended values from other research and institutions, it can be concluded that the daily intake of 100-150 g of hulless barley could satisfy the needs for β -glucans in a healthy, average person. Of course, it should be taken into an account that the recommended values of β -glucan daily intake for persons with compromised immune system or chronic illnesses should be separately determined and adjusted.

CONCLUSIONS

It has been determined that the testes varieties of hulless barley have higher mass fractions of total β -glucans barley and malt than winter and spring varieties. The same goes for soluble β -glucans in malt. Furthermore, it has been established that Matko variety contains enough total and soluble β -glucans to satisfy the RDI values and can be declared as β -glucans source in functional food.

REFERENCES

- Aman, P., Newman, C.W. Chemical composition of some different types of barley grown in Montana, USA (1986), *J. Cereal Sci.* 4,133-141. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(86\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(86)80016-9)
- Andersson, A.A.M., Andersson, R., Autio, K., Aman, P. (1999): Chemical composition and microstructure of two naked waxy barleys, *J. Cereal Sci.* 30, 183 -191. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1999.0267>
- Bamfort, C.W., Kanauchi, M.A. (2001): A simple model for the cell wall of starchy endosperm in barley, *J. Instit. Brew.* 107, 235-240. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2001.tb00095.x>
- Beta Glucan Products FAQ (<http://www.beta-glucan-13D.com/beta%20glucan%20faq.htm> [21.08.2018])
- CFR Part 101. Food labeling, health claims (2005), FDA (2006); soluble dietary fiber from certain foods and coronary heart disease Federal Register, 70 (246) p. 76150-76162
- Cooper, K. (2017): How Much Beta Glucan Is Safe to Take Daily? (<https://www.livestrong.com/article/472959-how-much-beta-glucan-is-safe-to-take-daily/>) [21.08.2018]
- EBC-European Brewery Convention, Analytica 5. ed. (1998) Nürnberg), Fachverlag Hans Carl, D-Nürnberg, Methods 3.3.1.; 4.16.1; 8.13.1.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2009: Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta--glucans and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 754, 755, 757, 801, 1465, 2934) and maintenance or achievement of a normal body weight (ID 820, 823) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006 on request from the European Commission. *EFSA Journal*, 7(9): 1254.

- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2011: Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta-glucans from oats and barley and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1236, 1299), increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 851, 852), reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 821, 824), and “digestive function” (ID 850) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 9(6): 2207.
- Fastnaught, C.E., Berglund, P.T., Holm, E.T., Fox, G.J. (1996): Genetic and environmental variation in β -glucan content and quality parameters of barley for food, *Crop Sci.* 36, 941-946. <https://doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600040021x>
- Fincher, G.B. (1975): Morphology and chemical composition of barley endosperm cell walls, *Inst. Brew.* 81, 116-122.
- Gajdosova, A., Petrulakova, Z., Havrlentova, M., Cervena, V., Hozova, B., Sturdik, E., Kogan, G. (2007): The content of water-soluble and water-insoluble β -D-glucans in selected oats and barley varieties, *Carbohydr. Polym.* 70, 46-52.
- Griffey, C., Brooks, W., Kurantz, M., Thomason, W., Taylor, F., Obert, D., Moreau, R., Flores, R., Sohn, M., Hicks, K. (2010): Grain composition of Virginia winter barley and implications for use in feed, food, and biofuels production, *J. Cereal Sci.* 51, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.09.004>
- Henry, R.J. (1986): Genetic and environmental variation in the pentosan and β -glucan contents of barley, and their relation to malting quality. *J. Cereal Sci.* 4, 269-277.
- Huth, M., Dongowski, G., Gebhart, E., Flamme, W. (2002): Functional properties of dietary fibre enriched exudates from barley, *J. Cereal Sci.* 32, 115-117.
- Jirsa, O., Sedláčková, I., Vaculová, K. (2018): Quantification of β -glucans in barley – review, *Kvasny Prum.* 64(1), 2-5. <https://doi.org/10.18832/kp201801>
- Kalra, S., Jood, S. (2000): Effect of dietary barley β -glucan on cholesterol and lipoprotein fractions in rats, *J. Cereal Sci.* 31, 141-145. <https://doi.org/10.1006/jcers.1999.0290>
- Knutzen, S.H., Holtekjolen, A.K. (2007): Preparation and analysis of dietary fibre constituents
- In whole grain from hulled and hull-less barley, *Food Chem.* 102, 707-715. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.006>
- Krstanović, V., Lalić, A., Kosović, I., Velić, N., Mastanjević, K., Mastanjević, K. (2016a): A Survey of total β -glucan content in Croatian barley varieties. *Cereal Res. Commun.* 44(4), 650-657. <https://doi.org/10.1556/0806.44.2016.032>

- Krstanović V., Mastanjević K., Velić N., Slačanac V., Vacek K., Gagula G., Mastanjević, K. (2016b): Influence of malting procedure on the quality of hulless barley malt. In: Proceedings of the 8th International Congress flour – bread '15, pp. 168
- Lee C.J., Horsley R.D., Manthey F.A., Schwarz P.B. (1997): Comparison of β -glucan content of barley and oat, *Cereal Chem.* 74, 571-575. <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM.1997.74.5.571>
- Nicolosi, R., Bell, J.S., Bistran, B.R., Greenberg, I., Forse, R.A., Blackburn, G.R. (1999): Plasma lipid changes after supplementation with β -glucan fiber from yeast, *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 208–12. <https://doi.org/10.1093/ajcn.70.2.208>
- Perez-Vendrell, A. M, Guasch, J. Francesch, M., Molina-Cano, J. L., Brufau, J. (1995): Determination of β -(1–3), (1–4)-D-glucans in barley by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 718(2), 291–297.
- Lyons, T. P., and Jacques, K. A. Biotechnology in the Feed Industry. In: Proceedings of the 15th Annual Symposium. Nottingham University Press, Nottingham, pp. 381–399.
- Polonskii V.I., Sumina A.V. (2013): β -glucans content as a perspective trait in the barley breeding for foodstuff use (review), *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 5, 30-43. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2013.5.30eng>
- Wilson S.M., Burton R.A., Doblin M.S., Stone B.A., Newbigin E.J., Fincher G.J., Bacic A. (2006): Temporal and spatial appearance of wall polysaccharides during cellularization of barley (*Hordeum vulgare*) endosperm, *Planta* 224, 655-667. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0244-x>
- Woodward J.R., Fincher G.B., Stone B.A. (1983): Water soluble (1→3), (1→4)- β -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. II. Fine structure, *Carbohydr. Polym.* 3, 207-225. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(83\)90019-X](https://doi.org/10.1016/0144-8617(83)90019-X)
- Xue Q., Wang L., Newman C.W., Graham H. (1997): Influence of the hulless, waxy starch and short-awn genes on the composition of barley, *J. Cereal Sci.* 26, 251-257. <https://doi.org/10.1006/jcers.1996.0114>
- Zhang G., Wang J., Chen J. (2002): Analysis of β -glucan content in barley cultivars from different locations of China, *Food Chem.* 79, 251-254. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00127-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00127-9)

AUTHOR INDEX /
KAZALO AUTORA

AUTHOR INDEX / KAZALO AUTORA

A

Ademović, Zahida, 153
Aliman, Jasmina, 47
Aliman, Lamija, 47
Arar, Katica, 57
Ašimović, Zilha, 109

B

Bakrač, Azra, 65
Begić, Munevera, 93
Begović, Nikolina, 47
Borić, Mirna, 75
Bratovčić, Amra, 153
Brenjo, Dragan, 57

Č

Čatić, Erna, 93
Čengić, Lejla, 109
Čolaković, Armin, 57
Čorbo, Selma, 109

D

Dedić, Samira, 65, 83, 117, 129
Delić, Žana, 147
Demirović, Dinko, 83

Dž

Džaferović, Aida, 65, 117, 129
Džafić, Natalija, 137
Džafić, Subha, 65

Đ

Đurica, Vanja, 3

F

Ferk, Karla, 15
Frganović, Emilija, 147

G

Ganić, Amir, 93
Grujić, Matko, 15

H

Hadžiabulić, Alisa, 47
Hajrić, Džemil, 57
Halilčević, Lejla, 153
Horozić, Emir, 153
Horvat, Daniela, 163

J

Jakić, Miće, 75
Jelavić Šako, Anđela, 3
Jogić, Vildana, 65
Jukić, Huska, 83, 117, 129
Jusufhodžić, Zlatko, 83

K

Karahmet, Enver, 93
Karaklaš, Sead, 99
Kendel Jovanović, Gordana, 3
Kotris, Maja, 163
Krešić, Greta, 3, 15
Krstanović, Vinko, 163
Kukić, Ermina, 99
Kvrgić, Kristina, 137

M

Macić, Nađa, 47
Marijanović, Zvonimir, 147
Mastanjević, Krešimir, 163
Mastanjević, Kristina, 163
Mišetić Ostojić, Dijana, 137
Mužek, Mario Nikola, 75

N

Nikitović, Jelena, 65

O

Omanović-Miklićanin, Enisa, 93

P

Paklarčić, Mateja, 99

Pavičić Žeželj, Sandra, 3

Pečet, Julija, 29

Pehlić, Ekrem, 117, 129

Pleadin, Jelka, 137

R

Racz, Aleksandar, 29

Rodić, Miloš, 83, 117, 129

S

Salkić, Senita, 93

Skroza, Danijela, 75

Suljagić, Jasmin, 153

Svalina, Tomislav, 147

Š

Šarolić, Mladenka, 147

Šuste, Marko, 147

T

Tomović, Dragan, 57

Toroman, Almir, 93

U

Ugarak, Azra, 109

Ukić, Ana, 147

Uršulin-Trstenjak, Natalija, 29

Z

Zovko, Ivana, 57

***SPONSORS, DONORS AND EXHIBITORS /
SPONZORI, DONATORI I IZLAGAČI***

SPONSORS / SPONZORI

GOLDEN / ZLATNI



SILVER / SREBRNI



BRONZE / BRONČANI



SPONSOR OF CATERING / SPONZOR CATERINGA



OTHER SPONSORS AND DONORS / OSTALI SPONZORI I DONATORI



EXHIBITORS



GOLDEN SPONSOR / ZLATNI SPONZOR



Hranom do zdravlja uz Shimadzu rješenja

Kako u sigurnosti hrane, tako i u kvaliteti hrane - proizvođači, prerađivači i potrošači hrane moraju se oslanjati na sigurnost njezinih sastojaka. Kao vodeći svjetski proizvođač analitičkih instrumenata, Shimadzu-ov cjelokupan asortiman proizvoda za analizu hrane i pića pruža apsolutno povjerenje u hranu kroz:

- ✓ jednostavnu identifikaciju i kvantifikaciju zagađivača kao što su mikotoksini, dioksini, teški metali
- ✓ vrhunske analitičke sustave kao što kromatografija, masena spektrometrija, spektroskopija, ispitivanje materijala
- ✓ zadovoljavanje regulativa i osiguranje kvalitete uz asistenciju kroz najnovije analitičke metode
- ✓ tehničku podršku sa stručnim znanjem

Da bi se udovoljilo općim propisima Europske komisije (EK), europska prehrambena industrija treba velik raspon analitičkih alata neophodnih za istraživanje, razvoj i kontrolu kvalitete. Bilo da je riječ o visokim standardima QA / QC laboratorija u poljoprivredi, proizvodnji aroma i mirisa, hrane i pića ili prerade hrane i pakiranja, Shimadzu nudi instrumente i potpuna softverska rješenja za svaki analitički izazov.

Revolucionarna potpuna rješenja za cjelokupnu prehrambenu industriju, Shimadzu pruža u vidu brzih detaljnih analiza sastojaka i kontaminanata. Osigurava podršku i nadzor nad sigurnosti hrane od početka proizvodnje do same konzumacije.

Preuzmite aplikacijski priručnik besplatno



www.shimadzu.hr/hrana

Shimadzu d.o.o., Zavrtnica 17, 10000 Zagreb

GOLDEN SPONSOR / ZLATNI SPONZOR



ALPHACHROM



Agilent Technologies

Authorized Distributor

Honeywell

Authorized Distributor

ENJOY THE *Science* WITH CONFIDENCE



- Liquid Chromatography
- Gas Chromatography
- Mass Spectrometry – Q, QQQ, Q-TOF
- In Vitro Diagnostics kits for LC, LCMS, GC, GCMS
- Atomic spectroscopy – AAS, ICP-OES, MP-AES, ICP-MS, ICP-MSMS
- Molecular spectroscopy – FTIR, UV/Vis/NIR, Fluorescence, FTIR imaging
- Stable isotope analyzers and gas quantification
- Dissolution
- Consumables and supplies
- Laboratory chemicals
- Life science – PCR, Microarray, electrophoresis, microplate readers, Hi-content imaging
- Education/training programs
- Service & support
- **Partner company ASOLUTIC** – lab water, microwave technology & mercury analyzers, TOC/TN flow analysis, thermal analysis, autoclaves, climate chambers, laboratory equipment & furniture etc.



ASOLUTIC

AlphaChrom d.o.o. Karlovačka cesta 24, 10000 Zagreb

T 01 550 2200 | F 01 550 2299 | E prodaja@alphachrom.hr | www.alphachrom.hr

SILVER SPONSOR / SREBRNI SPONZOR



SILVER SPONSOR / SREBRNI SPONZOR

Thermo
SCIENTIFIC

eppendorf

FOSS

BIO-RAD

ELGA VEOLIA

Labena
25. GODINA S VAMA

VAŠ PARTNER NA PUTOVANJU KROZ SVIJET ZNANOSTI

INFO@LABENA.HR

BRONZE SPONSOR / BRONČANI SPONZOR

LEDO riba

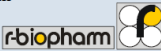


Nutricionisti smatraju ribu jednom od najpoželjnijih namirnica u našoj prehrani. Jeste li se pitali zašto? Naime, riba je izvor proteina koji doprinose održavanju normalnih kostiju te rastu mišićne mase. Upravo zbog odličnog nutritivnog sastava i uravnotežene prehrane, preporuča se konzumacija ribe barem dva puta tjedno.

Pripremljena na pravi način, riba predstavlja vrhunski gastronomski doživljaj u kojem možete uživati tijekom cijele godine uz široku ponudu Ledo smrznute ribe. Zamrzavanje svježih ribe strogo je kontrolirani proces koji tehnologijom brzog zamrzavanja omogućava Ledo ribi iz divljeg ulova zadržavanje svih vrijednih nutrijenata. Širok asortiman Ledo ribe omogućit će Vam jednostavnu i brzu pripremu jela koja će se sviđjeti svima. Sve što trebate učiniti je iz Ledo škrinje odabrati ribu po svom ukusu. Za dodatne ideje kojima možete zadiviti svoje najmilije zavirite na stranicu recepti.ledo.hr te se inspirirajte jednostavnim i ukusnim receptima.



BRONZE SPONSOR / BRONČANI SPONZOR

Tvrtka V.I.A.-lab d.o.o. sa sjedištem za R. Hrvatsku u Varaždinu, bavi se zastupanjem, uvozom i distribucijom različitim dijagnostičkim proizvodima poznatih proizvođača za kontrolu namirnica i kontrolu higijene životne sredine. To su testovi za brzu i klasičnu mikrobiološku kontrolu namirnica i ulaznih sirovina, ELISA testovi, testovi za PCR, kolonama za pročišćavanje uzoraka za HPLC i C18 te testovima za kontrolu higijene po HACCP sustavu. Opskrbljujemo laboratorije prehrambene industrije, laboratorije nacionalnih instituta i laboratorije zavoda za zaštitu zdravlja, bolnice, samoulužne restorane i restorane brze hrane na području R. Hrvatske. Svjesni smo da samo tvrtka sa vizijom uspješno raste i razvija se, zato ćemo i ubuduće tome posvetiti puno pažnje i sredstava.

R-Biopharm – Vodeći svetski proizvođač testova za kontrolu hrane, stočne hrane i higijene.	Celsis – Proizvode aparature na bazi bioluminiscencije za brzu mikrobiološku kontrolu gotovih proizvoda.	HiMedia – globalni proizvođač mikrobioloških medija i podloga, podloge u granulii.
Proizvodi:		
<ul style="list-style-type: none"> • Encimatski testovi • Alergeni • Antibiotici, Hormoni i anabolici • GMO • Mikrobiologija • Mikotoksini • Vitamini • Potvorbe • Automatizacija 	<ul style="list-style-type: none"> • Celsis Accel System • Celsis Advance II System • Celsis Innovate System 	<ul style="list-style-type: none"> • Mikrobiologija • Molekularna biologija • Laboratorijska oprema 

BRONZE SPONSOR / BRONČANI SPONZOR



25
God od 25 godina s nama

KemLab

Prodaja i servis laboratorijske opreme



CERTIFIED BY
DNV-GL
MARITIME



Osnovni mali
laboratorijski uređaji

Analitičke i precizne vage,
vlagomjeri



Sustavi za ultra čistu vodu



Pipete, nastavci,
automatizirani pipetori,
priprema uzoraka



Liofilizatori, perilice,
koncentratori, glove box



i mnogi drugi...



kemolab.hr



+385 1 660 5233



Nadinska 11, 10000 Zagreb

BRONZE SPONSOR / BRONČANI SPONZOR























Primalab d.o.o.
 Petrovaradinska 1A-1B
 HR - 10000 Zagreb

T: +385 1 7999 658
 F: +385 1 7999 698

E: info@primalab.hr
 S: www.primalab.eu

Prodajni program

Raznolikost prodajnog programa laboratorijske i procesne opreme postižemo pažljivim odabirom dobavljača.

BRONZE SPONSOR / BRONČANI SPONZOR

croteh

Centar za razvoj održivih tehnologija d.o.o. (CROTEH) je razvojno-projektantska tvrtka na području projektiranja, inženjeringa i razvoja tehnologija za obradu i energetska iskorištavanje biorazgradivih materijala i otpada te komunalnih i industrijskih otpadnih voda.

PROJEKTIRANJE



INŽENJERING



IZRADA PILOT POSTROJENJA
PO SISTEMU "KLJUČ U RUKU"



IZRADA LABORATORIJSKIH
REAKTORA



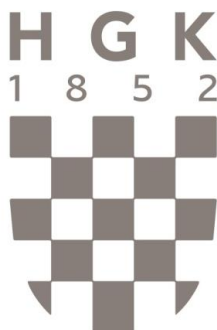
VLASTITI R&D
LABORATORIJ



creating technologies in harmony with nature !

Centar za razvoj održivih tehnologija d.o.o. | D. Golika 63, 10000 Zagreb | www.croteh.eu | info@croteh.eu | +385 1 7773 883

BRONZE SPONSOR / BRONČANI SPONZOR



**HRVATSKA
GOSPODARSKA
KOMORA**

OTHER SPONSORS AND DONORS / OSTALI SPONZORI I DONATORI



Pure Medica d.o.o.

Gospodarska zona 15, 32000 Vukovar

Tel.: ++385 (32) 534 154

www.facebook.com/puremedica/

<https://www.instagram.com/puremedica.hr/>

<http://www.puremedica.hr/index.php/hr/>

DODACI PREHRANI IZRAĐENI OD NAJČIŠĆIH I VISOKO KVALITETNIH SIROVINA
PROIZVEDENI U HRVATSKOJ PO ORIGINALNOJ RECEPTURI



OTHER SPONSORS AND DONORS / OSTALI SPONZORI I DONATORI

**Pivo od prirodnih sastojaka,
bez aditiva!**



Svijetlo pivo s 11% ekstrakta (4,5% vol). Osvježavajućeg je okusa karakterističnog za njemačka lager i pšenična piva. Njegova zlatožuta boja dobivena je korištenjem ječma i pšenice s domaćih polja, te najfinijeg hmelja.

Pažljivo odabrani prirodni sastojci temelj su punog okusa. Prirodna voda crpljena iz vlastitih bunara, bez dodatnog tretiranja, sjedinjuje se s najboljim sladom i hmeljem. Nakon toga započinje proces vrenja uz pomoć ljekovitog pivskog kvasca, koji ga obogaćuje hranjivim tvarima i vitaminima.

Zato Osječko volimo zvati – zdravom hranom!

Upravo zbog prirodnih sastojaka i tradicionalnih metoda čuvanja, pivo je nešto kraćeg roka trajanja kako bi ponudilo izvornu kakvoću.

Duša od piva.

Faculty of Chemistry and Technology (University of Split, Croatia) / Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu
Faculty of Food Technology Osijek (University of Osijek, Croatia) / Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Osijeku
Faculty of Technology (University of Tuzla, B&H) / Tehnološki fakultet Univerziteta u Tuzli (BiH)
Faculty of Pharmacy (University of Tuzla, B&H) / Farmaceutski fakultet Univerziteta u Tuzli (BiH)
Association for Nutrition and Dietetics (B&H) / Udruženje za nutricionizam i dijetetiku (BiH)

Veterinary Institute Vinkovci / Veterinarski zavod Vinkovci

European Hygienic Engineering & Design Group – EHEDG (Germany) / European Hygienic Engineering & Design Group – EHEDG (Njemačka)

School of Medicine (University of Split, Croatia) / Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek (University of Osijek, Croatia) / Fakultet agrobiotehničkih znanosti Sveučilišta u Osijeku

Faculty of Agriculture and Food Technology (University of Mostar, B&H) / Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Mostaru (BiH)

Chamber of Pharmacists of Tuzla Canton (Tuzla, B&H) / Komora magistara farmacije Tuzlanskog kantona (BiH)

Andrija Štampar – Association of People's Health / Udruga narodnog zdravlja Andrija Štampar

Croatian Food Agency / Hrvatska agencija za hranu

The Department of Biology (University of Osijek, Croatia) / Odjel za Biologiju Sveučilišta u Osijeku

