

**УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ**  
**ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**

**Бранислав Ђ. Стојановић**

**МИГРАЦИЈА ТОКСИЧНИХ  
СУПСТАНЦИ ИЗ МЕТАЛНЕ  
АМБАЛАЖЕ У КОНЗЕРВИСАНЕ  
ПРОИЗВОДЕ ОД МЕСА,  
ПРОИЗВЕДЕНЕ ЗА ПОТРЕБЕ  
ВОЈСКЕ РЕПУБЛИКЕ СРБИЈЕ**

**Докторска дисертација**

**Београд, 2019**

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Branislav Đ. Stojanović

**MIGRATION OF TOXIC SUBSTANCES  
FROM METAL PACKAGING TO  
CANNED MEAT PRODUCTS,  
MANUFACTURED FOR THE SERBIAN  
ARMED FORCES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2019

## **Ментор**

**др Весна Антић, редовни професор**  
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет  
Ужа научна област: Хемија

## **Чланови комисије:**

**др Тања Петровић, ванредни професор**  
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет  
Ужа научна област: Наука о конзервисању

**др Љубица Радовић, научни сарадник**  
Министарство одбране, Војнотехнички институт, Београд  
Ужа научна област: Металуршко инжењерство-материјали

**др Соња Радаковић, редовни професор**  
Универзитет одбране у Београду,  
Медицински факултет Војномедицинске академије  
Ужа научна област: Хигијена и дијетотерапија

**др Драган Василев, ванредни професор**  
Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине  
Ужа научна област: Хигијена и технологија меса

**др Игор Томашевић, ванредни професор**  
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет  
Ужа научна област: Технологија анималних производа

Датум одбране: \_\_\_\_\_

Захваљујем се цењеној *проф. др Весни Антић* која се прихватила менторства над овом дисертацијом, несебично надзирала цео ток њене израде и давала упутства и сугестије за њено уобличавање.

Захвалност дугујем и *проф. др Тањи Петровић* на драгоценим саветима током израде ове дисертација.

Посебну захвалност дугујем *научном сараднику др Љубици Радовић* и њеним сарадницима из Војнотехничког института Београд на несебичном залагању у креирању и спровођењу огледа који је претходио изради дисертације.

Велико хвала и директорки Института за хигијену и технологију меса из Београда *др Весни Борђевић* и њеном колективу, а посебно *др Саши Јанковићу*, на огромном доприносу да овај рад реализујемо.

Изузетну захвалност дугујем директору Центра за испитивање намирница из Београда др вет. спец. *Жељку Хуљеву*, а посебно његовим сарадницима *Гордани Враштановић Павићевић* и *Дејану Натићу* на великом залагању и несебичном труду и времену, уз чију сам стручну помоћ и подршку реализовао неопходна лабораторијска испитивања.

Са великим задовољством могу да изразим захвалност *проф. др Соњи Радаковић*, начелници Сектора за превентивну медицину Војномедицинске академије и свим запосленима на Институту за хигијену који су преданим радом и добром вољом допринели успешном окончању експерименталног дела рада.

Велику захвалност дугујем *проф. др Драгану Василеву* са Факултета ветеринарске медицине у Београду, кога познајем дужи низ година, на драгоценим сугестијама који су допринели завршном моделовању ове дисертације.

Велико хвала *проф. др Игору Томашевићу* на драгоценим саветима током израде ове дисертација.

Захвалност дугујем колективу Управе за војно здравство Министарства одбране, а посебно *Одељењу за ветеринарску заштиту* на моралној подршци током спровођења истраживања и израде дисертације.

Изражавам захвалност и *осталим сарадницима*, а било их је доста, који су допринели да овај рад угледа светлост дана.

На крају, дугујем захвалност својој *породици* на неизмерном стрпљењу, разумевању и толеранцији да истрајем на путу усавршавања.

# **МИГРАЦИЈА ТОКСИЧНИХ СУПСТАНЦИ ИЗ МЕТАЛНЕ АМБАЛАЖЕ У КОНЗЕРВИСАНЕ ПРОИЗВОДЕ ОД МЕСА, ПРОИЗВЕДЕНЕ ЗА ПОТРЕБЕ ВОЈСКЕ РЕПУБЛИКЕ СРБИЈЕ**

## **Резиме**

Конзервисани производи од меса заузимали су и заузимају значајно место у укупном асортиману хране у исхрани припадника Војске Србије (у даљем тексту: ВС), како у мирнодопским условима тако и у ванредним ситуацијама.

Конзервисани производи од меса за потребе војске у многоструком су специфични у односу на производе који су намењени цивилном становништву, од избора и квалитета амбалажног материјала, наноса калаја и органских превлака-лакова, избора и количинског односа основних и додатних састојака (адитива) и технолошког поступка производње, до хемијских параметара квалитета и сензорних особина готовог производа. Захваљујући својим специфичностима, ови производи се могу декларисати као висококвалитетни производи од меса, са очуваним нутритивним вредностима и сензорним карактеристикама са роком трајања од најмање четири године. У реалним околностима, потрошачи су преко конзервисаних производа изложени деловању бројних ксенобиотика, међу којима и токсичним супстанцама које су изабране за проучавање у овој студији.

**Предмет истраживања** ове докторске дисертације био је одређивање степена миграције токсичних супстанци из металне амбалаже у садржај конзервисаних производа, одређивање концентрације макро и микроелемената, микробиолошке исправности, хемијских параметара квалитета и сензорних карактеристика.

**Циљеви истраживања** првог дела били су да се утврди значајност утицаја периода складиштења, у редовним условима, на миграцију токсичних елемената и бисфенола А (у даљем тексту: ВРА), концентрацију макро и микроелемената.

У другом делу истраживања, циљ је био да се утврди значајност утицаја врсте конзервисаног производа од меса, степена оштећења конзерви, периода складиштења и различитих температура на концентрацију токсичних елемената и ВРА, макро и микроелемената, као и на безбедност и квалитет конзервисаних производа.

У трећем делу, циљ истраживања био је да се испита значајност утицаја дужине периода складиштења, у редовним условима, на сензорна својства конзерви.

### **Материјали**

У првом и трећем делу истраживања коришћене су следеће врсте конзерви: говеђи гулаш (у даљем тексту: ГГ), свињски паприкаш (у даљем тексту: СП), месни нарезак (у даљем тексту: МН), јетрена паштета (у даљем тексту: ЈП) и ћуфте у парадајз сосу (у даљем тексту: ЋПС), у редовним условима складиштења од 15 дана до 6 година.

У другом делу истраживања коришћене су сировине, зачини и додаци за производњу, као и произведене конзерве ГГ и ЋПС, са периодом складиштења од 11 месеци и 10 дана, односно 10 месеци и 5 дана пре постављања експеримента.

### **Методологија испитивања**

Испитивање концентрације токсичних, макро и микроелемената вршено је методом индуктивно купловане плазме са масеном спектрометријом (ICP-MS), на апарату “iCap Q”, Thermo Scientific.

Концентрација ВРА одређена је методом течне хроматографије са масеном спектрометријом (HPLC-MS) на апарату Dionex Ultimate 3000 (HPLC, Thermo Fischer Scientific) у спрези са TSQ Quantum Access MAX (масени спектрометар).

Сензорна оцена производа обављена је квантитативно дескриптивном анализом према стандардима SRPS ISO 6658:2013 и SRPS ISO 4121:2013.

Микробиолошка анализа вршена је према критеријумима препорученим у Водичу за примену микробиолошких критеријума за храну. Одређиван је укупан број аеробних бактерија и број *Clostridium perfringens*.

Анализа хемијских и физичко-хемијских параметара вршена је референтним методама. Одређиван је проценат протеина (азота), проценат слободне масти, проценат воде, проценат натријум хлорида и рН вредност.

### **Резултати истраживања**

У првом делу истраживања, резултати су показали да је дужина периода складиштења конзервисаних производа од меса, у редовним условима, утицала на: **1)** повећање концентрације појединих токсичних елемената, нарочито Sn, код

свих испитаних врста конзерви; **2)** повећање концентрације ВРА у појединим периодима складиштења; **3)** смањење концентрације макроелемената код свих врста конзерви; **4)** смањење концентрације појединих микроелемената (нарочито Se, код свих испитиваних врста конзерви), односно повећање концентрације појединих микроелемената (нарочито Fe, код свих испитиваних врста конзерви).

Највиша измерена вредност ВРА ( $64,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) била је у узорку ГГ са периодом складиштења од непуне 3 године, што је изнад границе миграције ВРА за пластичне материјале која износи  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ , Регулатива ЕУ (*No 213/2018*).

Добијене вредности Fe у конзервама ГГ биле су врло близу максимално дозвољеној граничној вредности, у узорцима МН биле су близу и изнад максималне вредности, док су у свим узорцима ЈП вредности Fe биле изнад максималне вредности од  $30,0 \text{mg kg}^{-1}$ , прописане Правилником РС (*22/2018*).

Резултати **другог дела** истраживања, показали су да су на концентрацију токсичних елемената утицали: **1)** врста конзервисаног производа од меса, (нпр. већи ниво Pb, Cd, Sn и Al детектован је код узорака конзерви ЋПС); **2)** степен оштећења конзерви, утицао је на статистички значајно повећање вредности Sn ( $p < 0,05$ ), код обе врсте конзерви; **3)** дужина периода складиштења, статистички значајно је утицала на повећање концентрације Pb и Cd ( $p < 0,05$ ), односно повећање концентрације Sn и Al, али без значајности, код узорака конзерви ГГ, а код узорака конзерви ЋПС до статистички значајног повећања концентрације Cd, Sn и Al ( $p < 0,05$ ); **4)** температура складиштења, статистички значајно било је, код узорака конзерви ГГ, повећање вредности Sn на температури од  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , као и повећање вредности Cd, Pb и Al на температури од  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ). Код узорака конзерви ЋПС измерено је статистички значајно повећање Sn на температури од  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , односно Al и Cd на температури од  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ).

Концентрација **макроелемената** зависила је од: **1)** врсте конзервисаног производа од меса, где су веће вредности Mg и K биле у узорцима ГГ, док су узорци ЋПС имали веће вредности Na и Ca; **2)** дужине периода складиштења, где је дошло до статистички значајног смањења концентрације свих макроелемената (осим Ca) код узорака конзерви ГГ и ЋПС ( $p < 0,05$ ); **3)** температуре складиштења, где је

уочено статистички значајно смањење концентрације Mg и K на 20 °C, односно смањење вредности Na на 40 °C код узорака конзерви ГГ ( $p < 0,05$ ), док је код узорака конзерви ЋПС дошло до смањења концентрације свих макроелемената на температури од 20 °C, али без статистичке значајности; **4**) степена оштећења конзерви, није имао утицаја на концентрацију макроелемената.

Концентрација **микроелемената** зависила је од: **1**) врсте конзервисаног производа од меса, где су веће вредности Fe, Zn и Se биле у узорцима ГГ, док су узорци конзерви ЋПС имали већу вредност Mn и Cu; **2**) степена оштећења конзерви, утицао је на повећање концентрација Fe код обе врсте конзерви, али без статистичке значајности, док на вредности осталих микроелемената није имао утицаја; **3**) дужине периода складиштења, утицала је на статистички значајно повећања концентрације Cr и Fe, код узорака конзерви ГГ и ЋПС ( $p < 0,05$ ), односно статистички значајног смањења концентрације свих осталих микроелемената код узорака конзерви ГГ и ЋПС, ( $p < 0,05$ ); **4**) температуре складиштења, утицала је на статистички значајно смањење концентрације Cu и Se на 20 °C, односно Cr и Zn на 40 °C, док се концентрација Fe статистички значајно повећавала на температури од 40 °C код узорака конзерви ГГ ( $p < 0,05$ ). Код узорака конзерви ЋПС уочено је статистички значајно смањење концентрације Cr, Mn, Fe и Se на 20 °C, као и Cu на 40 °C ( $p < 0,05$ ).

У оквиру **другог дела** истраживања, резултати су показали да су на концентрацију ВРА утицали: **1**) врста конзервисаног производа од меса, веће вредности детектоване су код узорака ЋПС; **2**) дужина периода складиштења, утицала је на повећање вредности ВРА код обе врсте конзерви; **3**) температура складиштења, на температури од 40 °C вредности ВРА биле су знатно више код обе врсте конзерви; **4**) степен оштећења конзерви, није имао утицаја ни код једне врсте конзерви.

Са аспекта **микробиолошке исправности и хемијских параметара** квалитета конзерви ГГ и ЋПС, може се констатовати да су конзерве биле здравствено безбедне и квалитетне у експерименталним условима. Вредност **pH** узорака ГГ била је виша у односу на узорке ЋПС. Вредност pH константно се повећавала са дужином периода складиштења.



У трећем делу истраживања, резултати су показали да је дужина периода регуларног складиштења утицала на сензорне промене, нарочито на појаве металног укуса и мириса, код свих врста конзерви након четири године складиштења.

На основу свих добијених резултата, могу се извести следећи **закључци**:

1) Дужина периода регуларног складиштења утицала је на повећање концентрације појединих токсичних елемената, нарочито Sn, али без статистичке значајности; 2) Долазило је до повећања концентрације ВРА у појединим периодима регуларног складиштења; 3) Долазило је до смањења концентрације макро и микроелемената, осим Fe, код свих врста конзервисаних производа од меса, али без статистичке значајности, током складиштења у регуларним условима; 4) Долазило је до сензорних промена, нарочито појаве металног укуса и мириса, код свих врста производа након истека рока употребе у регуларним условима; 5) 01Врста конзервисаног производа (ГГ и ЋПС), степен оштећења конзерви, као и дужина периода складиштења на различитим температурама утицали су на статистички значајно повећање концентрације токсичних елемената, нарочито Sn и Al код узорака ГГ, односно Cd, Sn и Al код узорака ЋПС; 6) Долазило је до статистички значајног смањења макро и микроелемената код ГГ и ЋПС, при различитим степенима оштећења конзерви и дужинама складиштења на температури од 40 °C (осим вредности Fe); 7) Долазило је до повећања концентрације ВРА код ГГ и ЋПС, нарочито са дужим периодом складиштења и на повишеној температури од 40 °C; 8) Микробиолошка исправност и хемијски параметри квалитета ГГ и ЋПС, а самим тим безбедност и квалитет, били су задовољавајући код свих испитаних узорака конзерви, и под свим примењеним условима у овом раду.

**Кључне речи:** конзервисани производи од меса, токсични елементи, макроелементи, микроелементи, бисфенол А, сензорна оцена.

**Научна област:** Прехрамбена технологија

**Ужа научна област:** Наука о конзервисању и врењу

**УДК број:** 615.9:664.93]:355.1(497.11) (043.3)

# **MIGRATION OF TOXIC SUBSTANCES FROM METAL PACKAGING TO CANNED MEAT PRODUCTS, MANUFACTURED FOR THE SERBIAN ARMED FORCES**

## **Summary**

Canned meat products have held and hold a significant place in the overall range of food in the Serbian Armed Forces (hereinafter: SA) members' diet, both in the time of peace and in emergency situations.

Canned meat products for the military needs are very specific in comparison to products intended for the civilian population, starting with the choice and quality of packaging material, tin and organic coatings-varnishes, choice and quantitative ratio of basic and added ingredients (additives) and technological production process, up to chemical parameters of the quality and sensory properties of the finished product. Due to their specific features, these products can be declared as high quality meat products, with preserved nutritional values and sensory characteristics with a shelf life of at least four years. In real circumstances, consumers are exposed to a number of xenobiotics through canned products, including the toxic substances selected for research in this study.

**The subject of research** of this doctoral dissertation was to determine the degree of toxic substances migration from metallic packaging into the content of preserved products, to determine the concentration of macro and microelements, microbiological integrity, chemical parameters of quality and sensory characteristics.

**The objectives** of the first part of the research were to determine the significance of the influence of storage periods, under regular conditions, on the migration of toxic elements and bisphenols A (hereinafter: BPA), the concentration of macro and microelements.

In the second part of the research, the aim was to determine the significance of the impact of the type of canned meat product, the degree of damage to the can, storage periods and different temperatures on the concentration of toxic elements and BPA, macro and microelements, as well as on the quality and safety of the canned products.

In the third part, the aim of the study was to investigate the significance of the influence of the length of the storage period, under regular conditions, on the sensory properties of the can.

### **Materials**

In the first and the third part of the study, the following types of canned food were used: beef stew (hereinafter: BS), pork stew (hereinafter: PS), luncheon meat (hereinafter: LM), liver pate (hereinafter: LP) and meatballs in tomato sauce (hereinafter: MTS) under regular storage conditions from 15 days to 6 years.

In the second part of the study we used raw materials, spices and additives for production, as well as the produced cans of BS and MTS, with a storage period of 11 months and 10 days, i.e. 10 months and 5 days before the experiment was set up.

### **Testing methodology**

The concentration of toxic, macro and microelements was tested by the method of inductively coupled plasma with mass spectrometry (ICP-MS) using “iCap Q” instrument, Thermo Scientific.

The BPA concentration was determined by the liquid chromatography mass spectrometry (HPLC-MS) method on a Dionex Ultimate 3000 instrument (HPLC, Thermo Fischer Scientific) in conjunction with the TSQ Quantum Access MAX (mass spectrometer).

Sensory evaluation of the product was performed by quantitative descriptive analysis according to the standards SRPS ISO 6658:2013 and SRPS ISO 4121:2013.

Microbiological analysis was performed according to the criteria recommended in the Guide for the application of microbiological criteria for food. The total number of aerobic bacteria and the number of *Clostridium perfringens* were determined.

The analysis of chemical and physicochemical parameters was performed by reference methods. Protein (nitrogen) content, free fat content, water content, sodium chloride content and pH were determined.

### **Test results**

In the **first part** of the study, the results showed that the length of canned meat products storage period, under regular conditions, had influence on: **1)** an increase in the

concentration of certain toxic elements, especially Sn in all tested types of cans; **2)** an increase of BPA concentration in certain storage periods; **3)** a decrease of macroelements concentration in all types of cans; **4)** a decrease in the concentration of certain microelements (especially Se, in all types of cans), that is, an increase in the concentration of certain microelements (especially Fe, in all tested types of cans).

The highest BPA value measured ( $64,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) was in the BS sample with the storage period of below 3 years, which is above the BPA migration limit for plastic materials which is  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$  (EU Regulation No 213/2018).

The obtained Fe values in the BS cans were very close to the highest permissible limit value, in the LM samples they were close to and above the maximum value, while in all LP samples the Fe values were above the maximum value of  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$ , prescribed by the Regulation of RS (22/2018).

The results of the **second part** of the study showed that the concentration of toxic elements was influenced by: **1)** the type of canned meat product (e.g. higher levels of Pb, Cd, Sn and Al were detected in the MTS canned samples); **2)** the degree of can damage affected a statistically significant increase in the Sn value ( $p < 0,05$ ), in both types of can; **3)** the length of the storage period had a statistically significant effect on the increase of the Pb and Cd concentration ( $p < 0,05$ ), that is, the increase in the Sn and Al concentration, but without significance, in the BS cans, and in the MTS samples a statistically significant increase in the Cd, Sn and Al concentration was observed ( $p < 0,05$ ); **4)** there was a statistically significant increase in the Sn value with the temperature change, as well as an increase in the Cd, Pb, and Al values in the BS samples at the temperature of  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ), while in MTS a statistically significant increase in the Sn at  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , that is Al and Cd at a temperature of  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ) was observed.

The concentration of **macroelements** depended on: **1)** the type of canned meat product, where higher Mg and K values were found in BS samples, while MTS samples had higher Na and Ca values; **2)** the length of the storage period, where there was a statistically significant decrease concentrations all macroelements (except Ca), in the BS and MTS samples ( $p < 0,05$ ); **3)** storage temperature, where a statistically significant

decrease in the concentration of Mg and K at 20 °C was observed, that is, a decrease in the Na value at 40 °C in the BS samples ( $p < 0,05$ ), while in the MTS there was a decrease in the concentration of macroelements, but without statistical significance at the temperature of 20 °C; **4)** the degree of damage to the can, had no effect on the concentration of macroelements.

The concentration of **microelements** depended on: **1)** the type of canned meat product, where higher Fe, Zn and Se values were found in the BS samples, while the MTS samples had a higher Mn and Cu value; **2)** the degree of damage to the cans, had an impact on the increase of Fe concentrations in both types of cans, but without statistical significance, while the values of other microelements were not affected by the extent of damage to the cans; **3)** the length of the storage period resulted in a statistically significant increase in Fe concentration, that is a statistically significant decrease in the concentration of all other microelements in the BS samples ( $p < 0,05$ ), while in the MTS samples, a statistically significant decrease in the Se concentration and a statistically significant increase in concentrations of all other microelements ( $p < 0,05$ ); **4)** the storage temperature influenced a statistically significant decrease in the concentration of Cu and Se at 20 °C, as well as Cr and Zn at 40 °C, while the Fe concentration increased statistically significantly at 40 °C temperatures in the BS samples ( $p < 0,05$ ). A statistically significant decrease in Cr, Mn, Fe, Se concentration at 20 °C temperatures, as well as Cu at 40 °C was observed in MTS samples ( $p < 0,05$ ).

Within the **second part** of the study, the results showed that the BPA concentration was influenced by: **1)** the type of canned meat product; higher values were detected in the MTS samples; **2)** the length of the storage period; it influenced the increase in BPA values in both types of cans; **3)** the storage temperature; at the temperature of 40 °C, the BPA values were significantly higher for both types of cans; **4)** the degree of damage to the cans did not affect either the BS or the MTS samples.

From the point of view of **microbiological integrity** and **chemical parameters** of BS and MTS cans quality, it can be stated that the cans were safe and of good quality in experimental conditions. The **pH value** of the BS samples was higher than that of the MTS samples. The pH value increased steadily with the length of the storage period.

In the **third part** of the study, the results showed that the length of the regular storage period influenced sensory changes, especially the appearance of metallic taste and odor, in all types of cans after four years of storage.

Based on all the results obtained, the following **conclusions** can be drawn:

**1)** The length of the regular storage period affected an increase in the concentration of certain toxic elements, especially Sn, but without statistical significance; **2)** There was an increase in the concentration of BPA in certain periods of regular storage; **3)** There was a decrease in the concentration of macro and microelements, except Fe, in all types of preserved meat products, but without statistical significance, during storage under regular conditions; **4)** Sensory changes, especially the appearance of metallic taste and odor, have occurred in all types of products after the expiry date; **5)** The type of canned product (BS and MTS), the degree of damage to the can, as well as the length of storage at different temperatures resulted in the statistically significant increase in the concentration of toxic elements, especially Sn and Al in BS samples, that is Cd, Sn and Al in MTS samples; **6)** There was a statistically significant decrease of macro and microelements in BS and MTS, with different degrees of damage to cans and storage lengths at temperatures of 20 and 40 °C; **7)** There was an increase in the concentration of BPA in BS and MTS, especially with a longer storage period and at an elevated temperature of 40 °C; **8)** Microbiological safety and chemical parameters of BS and MTS quality, and therefore safety and quality, were satisfactory in all tested samples of cans, and under all applied conditions in this paper.

**Key words:** canned meat products, toxic elements, macroelements, microelements, bisphenol A, sensory evaluation.

**Scientific area:** Food technology

**Narrow scientific field:** The science of canning and boiling

**UDC number:** 615.9:664.93]:355.1(497.11) (043.3)

## САДРЖАЈ

<b>1. УВОД .....</b>	<b>1</b>
<b>2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ .....</b>	<b>4</b>
2.1. Амбалажа и паковање хране .....	4
2.2. Метална амбалажа .....	5
2.2.1. Историјат металних лименки и конзерви .....	8
2.2.2. Предности и недостаци употребе металне амбалаже .....	11
2.2.3. Бели лим .....	12
2.2.4. Органска превлака - лак .....	15
2.2.5. Корозија .....	21
2.2.5.1. Корозионе промене на металној амбалажи .....	24
2.3. Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже у садржај конзерви .....	26
2.3.1. Миграција тешких - токсичних елемената .....	27
2.3.2. Миграција токсичних органских једињења .....	28
2.4. Садржај токсичних, макро и микроелемената у храни упакованој у металну амбалажу .....	29
2.4.1. Токсични елементи, механизам деловања и екотоксиколошки значај ... ..	29
2.4.1.1. Арсен .....	34
2.4.1.2. Олово .....	35
2.4.1.3. Кадмијум .....	36
2.4.1.4. Жива .....	38
2.4.1.5. Калај .....	39
2.4.2. Садржај макро и микроелемената .....	40
2.4.2.1. Макроелементи .....	40
2.4.2.2. Микроелементи .....	43
2.5. Садржај бисфенола А у храни упакованој у металну амбалажу и механизам токсичног деловања .....	48
2.6. Конзервисани производи од меса .....	57
2.6.1. Безбедност и квалитет конзервисаних производа од меса .....	61
2.6.1.1. Сензорна својства конзервисаних производа од меса .....	63
2.6.1.2. Најзначајнији микробиолошки параметри .....	63
2.6.1.3. Најзначајнији хемијски и физичко-хемијски параметри .....	64
<b>3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ .....</b>	<b>65</b>
3.1. Бели лим и лименке .....	65
3.2. Течна и умрежена епоксидна смола .....	66
3.3. Конзервисани производи од меса .....	67
3.4. Припрема узорака .....	69
3.5. Испитивање утицаја врсте конзервисаног производа од меса и услова складиштења на миграцију токсичних супстанци .....	71
3.6. Опрема, хемикалије и стандарди .....	71
3.6.1. Анализа токсичних, макро и микроелемената .....	71
3.6.2. Анализа бисфенола А .....	72
3.6.3. Микробиолошка испитивања .....	73
3.6.3.1. Испитивање укупног броја аеробних бактерија .....	73
3.6.3.2. Испитивање броја <i>Clostridium perfringens</i> .....	73
3.6.3.3. Реагенси и стандарди за микробиолошка испитивања .....	74
3.6.4. Испитивање хемијских и физичко-хемијских параметара .....	74

3.7. Методе испитивања .....	76
3.7.1. Стереомикроскопија .....	76
3.7.2. Скенирајућа електронска микроскопија са енергодисперзионом анализом X-зрака (SEM/EDS) .....	76
3.7.3. FTIR спектроскопија .....	76
3.7.4. <sup>1</sup> H NMR спектроскопија .....	76
3.7.5. Одређивање концентрације токсичних, макро и микроелемената помоћу ICP-MS .....	77
3.7.6. Одређивање концентрације бисфенола А помоћу HPLC-MS .....	80
3.7.6.1. Одређивање специфичне миграције у модел растворе - симуланте хране .....	81
3.7.7. Анализа сензорних карактеристика конзервисаних производа од меса ....	82
3.7.7.1. Поступак анализе и анализирани параметри .....	83
3.7.8. Испитивање микробиолошке исправности .....	83
3.7.8.1. Испитивање укупног броја аеробних бактерија .....	84
3.7.8.2. Хоризонтална метода за испитивање броја <i>Clostridium perfringens</i> .....	84
3.7.9. Одређивање хемијских и физичко-хемијских параметара .....	85
3.7.9.1. Одређивање протеина .....	85
3.7.9.2. Одређивање масти .....	86
3.7.9.3. Одређивање воде .....	86
3.7.9.4. Одређивање натријум хлорида .....	86
3.7.9.5. Одређивање рН вредности .....	87
3.8. Статистичка обрада података .....	87
<b>4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА .....</b>	<b>90</b>
4.1. Резултати испитивања хемијског састава и механичких карактеристика лима и лименки .....	90
4.2. Контролисана деформација лименки .....	93
4.2.1. Резултати испитивања стереомикроскопијом .....	93
4.2.2. EDS анализа оштећења .....	95
4.3. Мерење површине оштећења .....	98
4.4. Структура течне и умрежене епоксидне смоле .....	99
4.4.1. FTIR спектри .....	100
4.4.2. <sup>1</sup> H NMR спектроскопија .....	102
4.5. Резултати испитивања концентрације токсичних, макро и микроелемената у конзервисаним производима од меса складиштеним у редовним условима .....	103
4.5.1. Концентрација токсичних елемената .....	103
4.5.2. Концентрација макроелемената .....	114
4.5.3. Концентрација микроелемената .....	118
4.6. Утицај врсте конзервисаног производа од меса, степена оштећења конзерви, периода складиштења и температуре на концентрацију токсичних, макро и микроелемената у узорцима говеђег гулаша и ћуфти у парадајз сосу .....	127
4.6.1. Резултати испитивања концентрације токсичних елемената у узорцима говеђег гулаша .....	132
4.6.2. Резултати испитивања концентрације макроелемената у узорцима говеђег гулаша .....	139
4.6.3. Резултати испитивања концентрације микроелемената у узорцима говеђег гулаша .....	142
4.6.4. Резултати испитивања концентрације токсичних елемената у узорцима ћуфти у парадајз сосу .....	146
4.6.5. Резултати испитивања концентрације макроелемената у узорцима ћуфти у парадајз сосу .....	150



4.6.6. Резултати испитивања концентрације микроелемената у узорцима ћуфти у парадајз сосу .....	153
4.6.7. Резултати испитивања токсичних, макро и микроелемената у узорцима ћуфти у парадајз сосу у почетном периоду складиштења .....	157
4.6.8. Утицај токсичних елемената из конзервисане хране на здравље војника .....	159
4.7. Резултати испитивања бисфенола А у конзервисаним производима од меса ....	162
4.7.1. Поновљивост методе за одређивање бисфенола А .....	162
4.7.2. Утицај дужине периода складиштења на миграцију бисфенола А у редовним условима .....	163
4.7.3. Утицај врсте конзервисаног производа од меса, степена оштећења конзерви, дужине периода складиштења и температуре на миграцију бисфенола А у експерименталним условима .....	165
4.7.4. Миграција бисфенола А у симуланте хране и месне оброке у почетном периоду складиштења .....	168
4.7.5. Утицај бисфенола А из конзервисане хране на здравље војника .....	174
4.8. Резултати сензорне анализе .....	175
4.9. Резултати микробиолошке анализе .....	191
4.10. Резултати хемијске и физичко-хемијске анализе .....	192
<b>5. ЗАКЉУЧЦИ .....</b>	<b>194</b>
<b>6. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>201</b>
<b>7. ПРИЛОЗИ .....</b>	<b>220</b>

## 1. УВОД

Реч конзерва потиче од латинске речи „*conservare*“, што значи чувати, сачувати. Конзервисање хране се први пут спомиње у доба *Napoléona Bonaparte* (крајем XVIII и почетком XIX века), за потребе његове војске, јер му је највећи непријатељ на бојном пољу било тровање поквареном храном и недостатак хране са дужим роком одрживости.

Поступак првог конзервисања хране (1809) приписује се *Nicholasu Appertu*, париском посластичару, који је и понео титулу „отац конзервисања“.

Британац *Peter Durand* први је конструисао металну амбалажу (лименку), 1810. године и са правом је њему припала титула „отац лименки“.

У армијама широм света конзервисана храна на бази меса представља једну од стратешких намирница, захваљујући високој хранљивој вредности и доброј одрживости у дужем временском периоду.

Стерилисани конзервисани производи од меса представљају, такође, једну од стратешких намирница у Војсци Србије због високе нутритивне вредности и вишегодишње одрживости (најмање четири године).

Метална амбалажа је, захваљујући својим особинама, најчешће коришћена амбалажа у производњи конзервисане хране. Она има веома значајну улогу у осигурању безбедности и квалитета прехранбених производа, а захтеви од стране прехранбене индустрије подстичу произвођаче амбалаже на стална улагања у развој нових и побољшања квалитета постојећих врста и облика, са нагласком на високо квалитетне и здравствено безбедне амбалажне јединице.

Метална амбалажа која долази у непосредан контакт с храном мора бити произведена по високим хигијенским стандардима, у складу са захтевима прописаним законском регулативом. Она не сме реаговати са храном, отпуштати хемијске супстанце у храну или утицати на сензорна својства упаковане хране. Захваљујући својим карактеристикама, метална амбалажа је у употреби већ више од 200 година, са преко 1500 прехранбених производа који се пакују у њу.

Контаминација хране токсичним елементима представља глобални проблем, а забринутост за безбедност исте оправдано је све већа. Потрошња контаминираних хране може да доведе до све веће изложености људи токсичним супстанцама, при чему се ризик повећава пропорционално са конзумираном количином такве хране.

Конзервисана храна може бити контаминирана токсичним супстанцама из контаминираних сировина, додатака и зачина, у току поступка производње, миграцијом из амбалажног материјала и секундарном контаминацијом.

Токсичне супстанце од посебног значаја за исправност и квалитет конзервисаних производа су јони тешких метала и ВРА, које под одређеним условима могу да се нађу у концентрацијама већим од максимално дозвољених вредности.

Изложеност тешким-токсичним елементима (Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Ni, Sn, Fe), могућа је преко ваздуха, воде, земљишта и хране, а њихова акумулација у организму може да изазове несагледиве последице, чак и са смртним исходом.

Распрострањена изложеност људи ВРА, као и потенцијални ефекти ВРА на здравље, били су предмет интензивне научне и јавне контроле и дебате. Широка примена материјала за паковање хране који садрже ВРА, повећала је изложеност људске популације овом једињењу и ризик од његових токсичних ефеката. Штетни ефекти ВРА у фокусу су интересовања домаће и стране стручне јавности, обзиром да може негативно утицати на здравље људи и животиња, уколико је његова концентрација у храни већа од максимално дозвољене вредности.

Такође, штетни ефекти ВРА мономера, који се користи у производњи органских превлака за металну амбалажу, предмет су интересовања стручне јавности, обзиром да он може негативно утицати на ендокрини, нервни, имуни и репродуктивни систем људи, уколико је његова концентрација у храни која се конзумира већа од допуштене вредности. Бројне студије показују да навике у исхрани имају највећи утицај на потенцијално излагање становништва утицају ВРА, управо кроз повећано конзумирање конзервисане хране.

Из наведених података може се закључити да је одређивање концентрације токсичких супстанци у конзервисаној храни, као и праћење њихове миграције из

металне амбалаже у храну, изузетно актуелан проблем у ком увек има простора за нове научне истраживања. Праћење утицаја степена оштећења амбалаже, као и услова и периода складиштења на различитим температурама на брзину и степен миграције, нарочито је значајан, обзиром да може дати изузетно корисне податке везане за безбедност и квалитет конзервисане хране.

Одређивање степена миграције токсичних супстанци из металне амбалаже у садржај конзервисаних производа од меса, представља важан научни допринос укупном фонду знања из области безбедности хране у Србији и шире.

Одређивање концентрације токсичних супстанци у конзервама представља важан корак у процени хемијског ризика по укупну безбедност хране и здравље људи.

Добијене вредности концентрације токсичних супстанци у оквиру овог рада су статистички обрађене одређивањем мера варијације, нивоа значајности као и корелационе зависности у односу на степен оштећења конзерви, дужину периода складиштења и различите температуре.

На основу добијених вредности концентрације токсичних елемената у конзервисаним производима од меса, складиштених у редовним и експерименталним условима, може се закључити да су исте здравствено безбедне за исхрану припадника ВС у прописаном року употребе од четири године.

Такође, на основу добијених вредности концентрације ВРА, може се закључити да су конзервисани производи од меса потпуно безбедни за исхрану припадника ВС, али да је неопходно стално праћење његове вредности.

На основу анализе сензорних особина, може се закључити да су испитивани конзервисани производи од меса доброг квалитета и да су погодни за исхрану припадника ВС у гарантном року употребе, а да су након истека рока употребе (четири године) сензорне промене, нарочито укус и мирис (метални укус и мирис), биле изражене код свих врста испитиваних конзерви.

## 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 2.1. Амбалажа и паковање хране

Амбалажа представља саставни део производа и значајан је фактор на релацији производ–тржиште, односно произвођач–потрошач. Она је неодвојиви део производа и неопходно је да буде прилагођена потребама потрошача. Без обзира на природу материјала од којег је израђена, амбалажа представља све оно што се употребљава за паковање, чување, испоруку и презентацију робе (од сировина до готових производа), током њеног транспорта од произвођача до потрошача (*Vujković et al., 2007*).

Функције које свака амбалажа мора задовољити, без обзира на врсту хране су: заштитна - штити храну од механичких оштећења, расипања, утицаја спољашњих фактора (светлости, влаге, кисеоника), утицаја микроорганизама, инсеката, глодара; складишно-транспортна - огледа се у заштити хране током транспорта, складиштења и манипулације; продајна - повећање интензитета и рационализација продаје, као и паковање количине хране која одговара потребама купца; употребна - омогућава лагоднију употребу упаковане хране и даје могућност поновне употребе већ коришћене амбалаже и еколошка функција - подразумева употребу амбалаже произведене од рециклираног материјала, примену повратне амбалаже, употребу биоразградивих материјала и јестиве амбалаже (*Petrović i Rajić, 2016*).

Амбалажа се користила још од давнина за паковање и чување хране. Дрвене бачве за вино користили су стари Грци 2800 година п.н.е., Египћани стаклене боце 2000 година п.н.е. док су Кинези користили папир за паковање хране 100 година п.н.е.

Према природи материјала од којег је произведена, амбалажа се дели на металну, стаклену, пластичну, папирну, картонску, дрвену, текстилну, вишеслојну и комбиновану. Према *Закону о амбалажи (2018)*, амбалажа може бити примарна, секундарна, терцијарна (транспортна); једнократна, повратна и др.

**Паковање хране** један је од најважнијих процеса који утиче на безбедност и одрживост квалитета хране током складиштења и транспорта до малопродаје.

Готови производи се прослеђују потрошачима упаковани на један од најприкладнијих начина. Функција паковања хране је да заштити храну упаковану у амбалажи од различитих загађивача (Anon, 2004). Паковање хране је завршна фаза производње хране, која треба да омогући храни да безбедно стигне до потрошача. Избор адекватне амбалаже и поступка паковања хране значајни су у очувању безбедности и квалитета хране.

Постоји велики број литературних података везаних за употребу амбалажног материјала и амбалаже, као и начина паковања хране. Утицај врсте амбалаже на миграцију различитих супстанци у храну и њен ефекат на квалитет хране, проучавали су *İçöz i Eker* у свом истраживању током 2016. године. Према њиховим наводима, супстанце које се налазе у храни већим делом потичу из амбалаже у коју је упакована храна и утичу на њену безбедност и квалитет.

Функције и карактеристике паковања хране, као и присуство неорганских контаминената у храни, анализирао је група аутора (*Barone et al., 2015*), која наводи да се метали, као најзаступљенија група хемијских елемената у природи, налазе у скоро свакој врсти хране, да су неки од њих од суштинског значаја за исхрану, док други представљају ризик по здравље људи. Адекватан начин паковања хране у великој мери је штити од секундарне контаминације.

У 21. веку, у Европи је дошло до великог преокрета у прехранбеној индустрији. Безбедност је добила предност над интересима произвођача, а амбалажа је добила значајну улогу у осигурању квалитета и безбедности производа (*Regulation (EC) No 178/2002*). Директивом о паковању и амбалажном отпаду постављена је максимална граница од  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  за Pb, Cd, Cr и Hg у материјалима за паковање (*EU, No 12/2004*).

## 2.2. Метална амбалажа

Метали се као амбалажни материјали одликују читавим низом позитивних својстава: великом чврстоћом, добрим провођењем топлоте, непропуштањем светлости, течности, гасова, микроорганизама, електромагнетних зрака, итд.

У металне амбалажне материјале спадају: црни лим (челични лим), бели лим (челична основа превучена слојем калаја), хромирани лим (челична основа превучена слојем хрома) и алуминијумски лим (*Petrović i Rajić, 2016*).

Производња металне амбалаже мора бити у складу са законском регулативом, добром произвођачком и хигијенском праксом, захтевима НАССР система, међународно признатих ISO стандарда везаних за безбедност и квалитет, заштитом животне средине и заштитом радника. Међународне норме у највећој мери важе и за домаћу производњу, те је производња стандардизована, а контрола производа континуирана.

Захтеви које прехранбена индустрија поставља пред произвођаче металне амбалаже су све комплекснији и строжији, а неки од њих су: да лименке не смеју отпуштати у храну хемијске супстанце које могу угрозити људско здравље, изазвати сензорне промене и утицати на безбедност и квалитет хране.

Лименке су чврсте металне посуде које се израђују од различитих врста металних амбалажних материјала и дефинисане су: обликом (цилиндричне, округле, овалне, правоугаоне и др.); капацитетом (мале, до 100 g, или велике, од 1 до 10 kg); конструкцијом и попречним пресеком.

Лименке су, захваљујући својим особинама, једна од најбезбеднијих и најчешће коришћена амбалажа у производњи конзервисаних производа од меса. Најчешће су намењене за херметичко паковање хране.

Метална амбалажа има двоструку функцију: као заштита хране од спољашњег утицаја током термичке обраде, складиштења и дистрибуције, и као пакет за продају и информисање потрошача. Храна се пакује у широк спектар лименки, у хладном или топлом стању и подвргава конзервисању на високим температурама, (*ILSI, 2007*). У почетним фазама развоја производње металне амбалаже и конзерви, било је битно да се обезбеди разноврсна храна за исхрану људи и животиња, без опасности од тровања. Данас се постављају комплекснији захтеви везани за сензорне особине хране, очување нутритивних вредности, као и да конзервисана храна по атрактивности и квалитету буде што приближнија свежој храни (*Petrović, 2003*).

Основна компонента у производњи лименки је челик (Ћ.0361). Челична основа даје белом лиму добре механичке карактеристике. Челични лим поседује комбинацију особина: високу чврстоћу, велику способност обликовања (која омогућује израду лименки жељеног облика), отпорност на високим температурама, непропустљивост за светлост, гасове, паре и микроорганизме, способност спајања различитим поступцима и др.

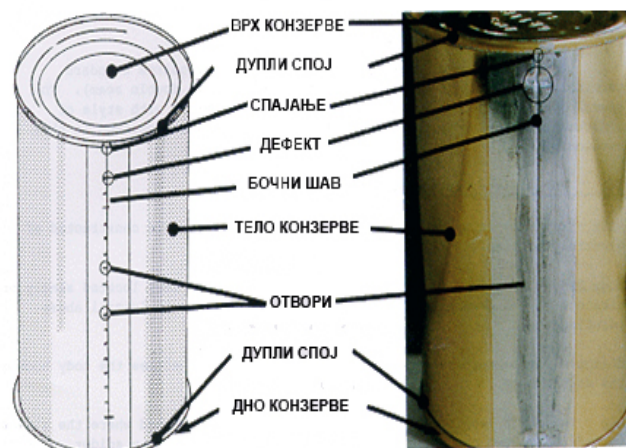
Челични лим за израду лименки нема довољну корозиону отпорност на дејство спољашњих фактора и дејство садржаја из конзерви. Из тог разлога се површина челика најчешће облаже слојем калаја, а у великој мери и слојем органске превлаке (лака). Ове превлаке немају утицаја на механичке особине челичног лима.

Постоји велики број европских регулатива које се односе на материјале који долазе у додир са храном. Европском регулативом прописане су опште одредбе које се односе на све материјале (*EV, No 1935:2004*), а највећи број директива се односи на полимерне материјале који долазе у додир са храном.

Захтеви у погледу квалитета и безбедности лимова и превлака у сталном су порасту, као и технолошка унапређења производње лименки. Данас лименке имају око 30% мању масу у односу на лименке од пре педесет година, што је резултат употребе нових, побољшаних сировина и материјала, као и нових технологија производње.

Према конструкцији, лименке могу бити дводелне, троделне и четвороделне. Дводелне лименке се састоје из: тела са дном (насталог процесом дубоког извлачења) и поклопца. Троделне лименке се састоје из: омотача–тела (добијеног електроварењем), дна и поклопца. Четвороделне лименке састоје се из: тела, дна, прстена и поклопца. Дводелне и троделне лименке се користе за паковање хране (производи од меса и рибе, готова јела, храна за кућне љубимце, масти и уља, воће и поврће), а четвороделне се користе за паковање хемијских производа. Према начину заштите, лименке могу бити са или без допунске заштите органским превлакама, са једностраном и/или обостраном заштитом (*Petrović, 2003; Petrović i Rajić, 2016*).





Слика 1. Метална амбалажа: делови лименке и потенцијални дефекти на лименци

Контрола лименки обухвата: визуелну контролу (Слика 1), контролу геометрије, одређивање масе превлаке калаја (спољашња и унутрашња страна), одређивање масе заштитне превлаке лака (спољашња и унутрашња страна), одређивање континуалности заштитних лакова (порозности), контролу степена пријањања (адхезивности) лакова, контролу термохемијске отпорности заштитних лакова према тест растворима, контролу механичког споја тела лименке и дна/тела и поклопца (херметичности) (Petrović, 2003; Petrović i Rajić, 2016).

Провера херметичности дуплих спојева (шавова), врши се у складу са домаћим стандардом (SRPS M.Z2.032:1986), којим су дефинисане минималне и максималне вредности у погледу прекрића, стиснућа и набораности дуплих спојева лименки.

### 2.2.1. Историјат металних лименки и конзерви

Француски физиолог и језуитски свештеник Lazzaro Spallanzani (1729-1790) је још давне 1770. године користио стаклене боце затворене плутаним затварачем да би продужио рок одрживости зрна грашка.

Знатно већа потреба за храном са продуженим роком трајања, појавила се у доба француског цара Napoléona Bonaparte (1769-1821), коме је глад била највећи непријатељ, јер му је од тровања небезбедном храном страдало више војника него на бојном пољу. Napoléon је због тога 1795. године обећао награду од 12.000

франака онеме ко пронађе начин да продужи одрживост хране. Пуних 14 година париски посластичар Nicholas Appert (1750-1840) је радио на решавању овог проблема, тако што је стављао поврће у стаклене боце које је затварао мешавином плуте и воска, слично као што су то радили винари у покрајини Champagne, и тако затворене боце кувао у кључалој води. Коначно, 1809. године, Appert је поставио суштинске постулате конзервисања хране, написане у материјалу под називом „Загревање конзервисаних животних намирница у херметички затвореним контејнерима којима је за дуго време обезбеђена одрживост“. Appert, који је понео титулу „отац конзервисања“, у ствари је само реализовао идеју коју је пре њега покушавао да оствари Lazzaro Spallanzani (*Vuković, 2012*). Стаклена амбалажа у којој је вршено конзервисање хране, имала је недостатак који се огледао у њеном ломљењу приликом транспорта. Тај проблем је решио Британац Peter Durand (1766-1822), који је 1810. године израдио прву лименку у којој је паковао храну и са правом му је припала титула „отац лименки“. Лименке су биле лакше за ношење и обезбеђивале су бољу херметичност, одрживост и трајност од стакленки. Durand је патент продао за 1000 фунти Bryanu Donkinu и Johnu Hallu, који су пре више од 200 година (1813) отворили прву фабрику конзерви у Енглеској, затим Француској у другим земљама Европе и у Америци (*Drummond et al., 1817*). Једна од првих европских фабрика конзерви на овим просторима саграђена је у Будимпешти 1885. године и производила је 60 конзерви на дан, док данас свака боље опремљена фабрика произведе 500 комада у минути (360.000 комада дневно). Годишња производња у свету је преко 200 милијарди конзерви хране (*Couture, 2010*).

Прве конзерве биле су затваране чистим челиком, што је узроковало тровање конзументата. Још један проблем био је и отварање конзерви. Поклопци су били тако снажни да су их војници морали отворати чекићем и длетом, или каменом. Често су се догађале повреде приликом отварања конзерви, све до 1866. године када је изумљен, а 1870. године патентиран, отварач за конзерве.

Почетком XIX века, храна у конзервама била је статусни симбол средње имућне класе у Европи. Прва америчка фабрика конзерви отворена је у Њујорку 1813. године и од тада је Америка преузела примат у производњи конзерви.

До већег напретка у технологији производње конзерви долази проналаском аутоклава 1851. године, чијом применом загревање конзерви постаје знатно ефикасније и краће. У почетку примене аутоклава, температура изнад 100 °C постигнута је кувањем конзерви у сланој води, да би 1874. године био произведен аутоклав који се загрева воденом паром. Велики напредак у производњи конзерви учињен је двадесетих година XX века, открићем биметалног термометра (термопара), који је омогућавао прецизну контролу температуре при загревању конзерви (*Vuković, 2012*).

Савремене лименке углавном се производе од белог лима, неке се изнутра лакирају, а друге не, што зависи од садржаја који се пакује. Алуминијум је почео да се користи у прехранбеној индустрији 1957. године, а прве лименке од алуминијума са пићем појавиле су се на тржишту 1963. године.

Пут до сигурне примене лименки у прехранбеној технологији није био без проблема, јер је требало наћи метале који ће бити безбедни, лагани и неће утицати на здравље потрошача. Прве лименке биле су израђене од калаја и олова, а као последица миграције ових метала у садржај конзерви, долазило је до тровања, па чак и до смрти конзумента. Средином XIX века део британске експедиције на Северном полу, која је била предвођена *Johnom Franklinom*, поумирао је због тровања оловом јер су три године јели конзервисану храну, а трагови олова су пронађени у замрзнутим телима.

Производња конзерви у нашој земљи почиње крајем XIX и почетком XX века у Станову (Крагујевац). Најпре је изграђена Фабрика пекмеца, а затим су 1907. и 1910. године подигнуте Фабрике конзерви и буради. Власник фабрике био је Илија Лицикас, који је 1909. године власништво пренео на београдског трговца Светозара Стефановића. Фабрика конзерви је постепено израсла у важан индустријски објекат, а за њене производе посебно интересовање показала је војска. Окупација Србије (1914-1918) довела је до престанка рада свих фабрика у Станову, као и до знатног оштећења њихових постројења. Након завршетка Великог рата, приступило се обнови фабрика и обнови производње. Тиме започиње ново, по много чему посебно раздобље у развоју индустријских капацитета у Станову, које је временски лоцирано између два светска рата.

Изградњи Фабрике за производњу конзерви у Станову српска влада је дала пуну подршку, а конзервисани оброци говеђег паприкаша, као првенца ове производње, нашли су се у трговинским радњама широм Србије. У војном министарству су са оптимизмом дочекали појаву конзерви на тржишту. Тадашњи министар војни, генерал Радомир Путник, потписао је први уговор са представницима фирме Лицикас-Стефановић о производњи конзервисаних производа за Српску војску. Такав поступак оцењен је као напредак у снабдевању Српске војске. Уговорена је била производња 200.000 конзерви говеђег паприкаша, масе индивидуалног паковања од 365 грама. Производња конзерви вршена је под надзором војне комисије која је пратила процес клања стоке и израду конзерви (*Spasić, 1987*).

### 2.2.2. Предности и недостаци употребе металне амбалаже

Метална амбалажа има бројне предности над другим врстама амбалаже: има добра механичка својства, лако се обликује, може се херметички затварати, добро издржава високе температуре и притисак, није пропустљива за микроорганизме, водену пару, светлост и ваздух, захтева мању употребу адитива, није скупа.

Метална амбалажа се због могућности вишеструког рециклирања све више спомиње у контексту еколошки прихватљивог начина паковања хране. Захваљујући својим својствима, она је најекономичнији тип амбалаже. Без обзира колико пута се лименка рециклира, челик не губи на квалитету и специфичним својствима. Више од 2,6 милиона тона челика годишње се рециклира и захваљујући томе спречава емисија 3,9 милиона тона CO<sub>2</sub> у животну средину (*Product catalogue, 2013*).

Поред предности, метална амбалажа има и недостатке који се односе на појаву корозије - услед лошег квалитета, недовољно или неадекватно нанетих металних превлака (калаја, хрома, алуминијума) и/или органских превлака, као и на миграцију металних јона и одређених органских једињења из амбалаже у садржај конзерве. Миграција може да доведе до промене сензорних својстава и нутритивне вредности, до хемијске реакције превлаке са садржајем конзерве, као и загађење животне средине.

### 2.2.3. Бели лим

Постоје две главне групе металних амбалажних материјала које се користе за израду лименки: нискоугљенични челични лимови са различитим површинским превлакама и алуминијумски лимови и фолије.

Најчешће коришћене превлаке које се наносе на нискоугљеничне челичне лимове су: превлака калаја (“Tinplate” – бели лим) и превлака хрома – хромирани челични лим (“Electrolytically Coated Chromium Steel” - ECCS).

Структурна грађа нискоугљеничног челичног лима, као и његова механичка својства, зависе од удела угљеника.

Бели лим представља хладно-ваљани нискоугљенични челични лим са ниским садржајем угљеника (од 0,15 mm до 0,49 mm), чије су обе површине превучене врло танком превлаком калаја високог степена чистоће (99,75%). Нанос масе калаја на челичне плоче изражава се у јединици  $g\ m^{-2}$ . Калај се због мале електропроводљивости користи за изоловање челичне основе лима и спречавање хемијских реакција које могу довести до појаве корозије.

Према начину наношења калаја на челичне плоче, бели лим може бити електролитички и диференцијални. Електролитички бели лим се добија електролитичким поступком наношења калаја на спољашњу и унутрашњу површину лима и носи ознаку Е. На основу вредности површинске масе калаја, разликује се једанаест типова електролитичког белог лима, чије су вредности од 1,00 до 15,10  $g\ m^{-2}$ . Што је количина калаја већа, то је бели лим квалитетнији и скупљи. Диференцијални бели лим (D), добија се потапањем челичних плоча у растоп Sn (поступком електродепоновања), где се на површини челичне основе наносе различите количине калаја на обе стране лима (SRPS EN 10202:2007).

Захваљујући калајној превлаци бели лим показује одлична употребна својства, међу којима су најзначајнија: добар козметички изглед (леп сјајан изглед), висока корозиона отпорност према састојцима хране и према атмосферским утицајима, висока хемијска стабилност у контакту са храном која се пакује, лако обликовање и заваривање, погодност за лакирање и штампање, довољна чврстоћа и др.

Карактеристике белог лима одређене су дебљином, ширином, дужином, тежином и начином наноса калаја и лака. Механичка својства челичних лимова изражавају се преко вредности тврдоће челичне основе белог лима, тестом по *Rockwellu*.

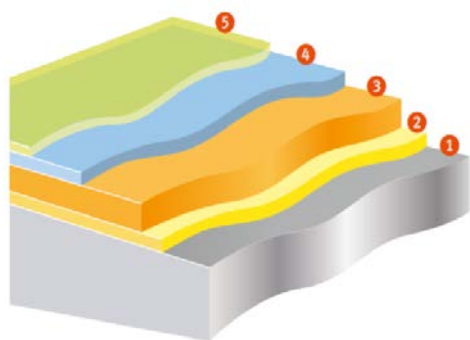
Електролитички бели лим представља вишеслојну композитну структуру, која је састављена од пет слојева микронских дебљина, а сваки од слојева има специфичну улогу и утиче на карактеристике лимене плоче (Слика 2). Слојеви белог лима су: слој уља, пасивизациони слој, калајна превлака, легура калаја и гвожђа и челична база.

Слој уља - (користи се диоктилсебацат за бели лим, или бутилстеарат за ECCS, дебљине  $\sim 0,005 \mu\text{m}$ ), налази се на површини белог лима и служи за лакше раздвајање табли. Веће дебљине слоја уља, неравномерна расподела по површини табли, оксидационе и друге промене, могу изазвати проблеме у току складиштења, као и током лакирања лима.

Пасивизациони слој - настаје наношењем хрома и хром оксида ( $\text{Cr} + \text{Cr}_2\text{O}_3$ , дебљине  $\sim 0,002 \mu\text{m}$ ) на обе површине. Функција пасивизационог слоја је у спречавању атмосферске оксидације, побољшању отпорности према термичкој дисколорацији приликом сушења органске превлаке, побољшању отпорности према мраморирању белог лима, побољшању адхезивности премаза, као и већој погодности за лакирање и штампање. За пасивизацију белог лима најчешће се користе два поступка: катодни поступак у раствору натријум-дихромата (са ознаком 311, чије су вредности за укупан хром по јединици површине од 3,5 до 9,0  $\text{mg m}^{-2}$ , најчешће је у употреби) и једноставан хемијски поступак потапања у раствор натријум-дихромата (са ознаком 300, чије су вредности за укупан хром по јединици површине од 1,0 до 3,0  $\text{mg m}^{-2}$ ) (*SRPS EN 10202:2007*). Калајна превлака представља главни покривач челичне основе (дебљине  $\sim 0,4 \mu\text{m}$ ). Она даје сјајан изглед белом лиму и штити га од корозије.

Легура гвожђа и калаја -  $\text{FeSn}_2$  - у форми је интерметалног споја дебљине  $\sim 0,1 \mu\text{m}$ . Она побољшава антикорозивно својство белог лима.

Челик је основна база белом лиму, која му обезбеђује механичка својства (тврдоћу и еластичност, могућност савијања и обликовања) и заштитна својства (*Nikčević-Grasino et al., 2010; Product catalogue, 2013*).



1. челична основа
2. слој легуре гвожђе-калај ( $0,1 \mu\text{m}$ )
3. слој калаја ( $0,4 \mu\text{m}$ )
4. пасивизациони слој 311 ( $0,002 \mu\text{m}$ )
5. слој уља ( $0,005 \mu\text{m}$ )

Слика 2. Структура (слојеви) белог лима

Бели лим се сматра једним од најбољих и најпогоднијих материјала за израду металне амбалаже и у широкој је употреби у индустрији конзервисане хране. Бели лим је, захваљујући добром изгледу (калај), комбинацији чврстоће (челик) са једне стране и корозионе отпорности (калај) са друге стране, идеалан материјал за израду лименки. Међутим, у појединим случајевима постоје и проблеми са употребом оваквих лименки, а то је појава корозије, што негативно утиче на безбедност и квалитет хране. Нови амбалажни материјали на бази алуминијума и хромираног челичног лима, све више су у употреби (*Jihui, 2013*).

Бели лим се користи у више од 80% случајева у индустрији конзервисане хране. Као и претходни аутор, и *Dahai* наводи да су алтернативни материјали, алуминијум и хромирани челични лим, све више у употреби (*Dahai, 2012*).

Хромирани лим представља челични лим чије су обе површине превучене електролитичким поступком у врло танком слоју превлаком хрома/хром-оксида. Носи назив и челик без калаја ("Tin free Steel" - TFS). Хромирани лим пре израде лименки увек мора бити лакиран са обе стране. Погодан је за адхезију лакова, али није погодан за заваривање или лемљење. Његов изглед је мање атрактиван од белог лима. Одсуство калаја чини га неподобним за киселу храну ( $\text{pH} < 4$ ), због смањене отпорности на корозију (*Product catalogue, 2013*).

Употреба алуминијумских лимова и фолија за паковање хране започела је 1920. године у Норвешкој. Производња лименки од алуминијумског лима усавршавана је током времена, тако да данас постоји већи број врста лименки: од чистог алуминијума, од челичног лима пресвучене слојем алуминијума, комбиноване од

белог и алуминијумског лима и лименке од комбиноване алуминијумске фолије (Тотаš, 1969).

Алуминијумске фолије се, захваљујућу добрим физичким својствима, великој могућности обликовања и избора димензија, атрактивном изгледу, могућности загревања и лаког отварања, такође доста користе као амбалажни материјал за паковање хране. За израду амбалаже користе се фолије које су обострано заштићене, спољашња страна превлаком лака или литографисаном етикетом, а унутрашња страна термолаком или пластичном фолијом која поседује способност стварања спојева под дејством топлоте (Јовановић, *et al.*, 1982).

#### 2.2.4. Органска превлака – лак

У циљу заштите белог лима од спољашње и унутрашње корозије, на слој калаја наноси се органска превлака, тј. органски премаз или лак, који је на бази умреженог синтетичког полимера и који има за циљ да допунски заштити металну основу амбалаже од интеракције са упакованом храном и са спољашњом средином. Полимери су једињења велике молске масе добијени међусобним повезивањем већег броја мањих молекула-мономера. Реч полимер потиче од грчке речи “*poly*” што значи много, и речи “*meros*” што значи део нечега.

Органска превлака настаје реакцијом у раствору који се састоји од: природне или вештачке смоле, адитива, средства за умрежавање и растварача/смеше растварача. Функција превлаке састоји се у спречавању миграције јона из металне амбалаже у садржај, тако што превлака делује као мембрана чија ефикасност зависи од њене континуираности и отпорности на пролаз јона, течности и гасова. Претполимери, односно неумрежене, у органским растварачима растворне компоненте будуће органске превлаке, наносе се на лимену плочу у течном стању, а загревањем на 190-210 °C у трајању од 10 до 12 минута долази до њиховог очвршћавања, односно умрежавања-полимеризације, као и до испаравања растварача и стварања нерастворне, умрежене структуре - полимерне превлаке (Петровић и Рајић, 2016).

Основна својства која превлака (лак) мора да има су: да је постојана при температурама пастеризације и стерилизације, да је постојана према састојцима упаковане хране, да не отпушта боју, да не мења сензорна својства хране, да је



еластична (отпорна на савијање) и да при обликовању и формирању лименки не пуца. Такође, превлаке морају бити континуиране (непрекидне), уједначене дебљине, без порозности (оштећења превлаке у виду пукотине или напрелина), морају имати и добру адхезивност (пријањање уз површину белог лима) и др. (*Coatings Manual, 2011*).

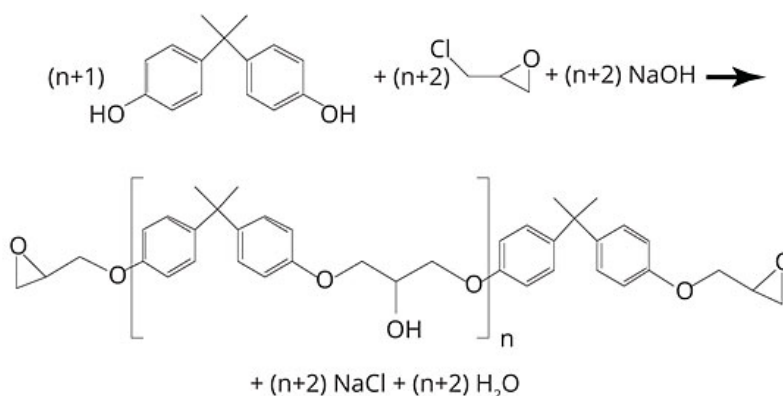
Избор врсте превлаке за унутрашњу заштиту металне амбалаже зависи од врсте амбалажног материјала, типа лименке (дводелна вучена или троделна варена), врсте производа који се пакује (кисели, слабокисели, базни), типа коришћеног поклопца (класични, лакоотварајући) и др. Избор врсте превлаке за спољашњу заштиту металне амбалаже зависи од начина и услова спровођења термичке обраде (температуре, притиска), услова складиштења конзерви (температура, влажност, струјање ваздуха) и периода складиштења конзерви. Превлаке за спољашњу заштиту истовремено се користе и у декоративне сврхе, као и за декларисање производа (литографска етикета).

Произвођачи превлака прате напредак у технологији израде лименки, као и у области амбалажног материјала који се користи за њихову израду. Непрестано усавршавају и подешавају формулације превлака у складу са овим променама.

Постоји велики број типова превлака за заштиту металне амбалаже која се користи у прехранбеној индустрији, као и велики број произвођача лакова. Главни типови превлака су: епоксидне, фенолне, епокси-фенолне, епокси-амино, епокси-акрилне, епокси-анхидридне, полиестарске, итд. Епоксидне смоле на бази ВРА и епихлорхидрина користе се за добијање епокси-фенолних лакова и они су најзаступљенији у заштити белог лима који се користи за производњу лименки за паковање хране и пића. Епокси-фенолни лакови се одликују хемијском инертношћу и еластичношћу, отпорношћу према води и воденој пари, киселинама, алкалијама, сланим растворима. Основу превлаке чине претполимери у одговарајућем растварачу, смеши растварача или смеши воде и органског ко-растварача. Епоксидне превлаке припадају класи термо-очвршћавајућих полимера, а добијају се умрежавањем претполимера са завршним епоксидним групама, и са више хидроксилних група унутар молекула. Претполимери се синтетишу реакцијом између епихлорхидрина и једињења са активним

водоником, као што су феноли, амини, аминокфеноли, алифатски диоли, итд. Преко 90% светске производње епоксидних смола се заснива на ВРА као реактанту са епихлорхидрином. Реакција се изводи у присуству натријум-хидроксида, а температура се одржава између 50 и 90 °С. Споредне реакције, као што су хидролиза епихлорхидрина и реакција епихлорхидрина са хидроксилним групама полимера, морају пажљиво да се контролишу, да би се добио претполимер жељене молске масе, предодређене молским односом реагујућих мономера. Производ реакције је бисфенол А - диглицидилетар (BADGE) олигомерних димензија, који представља смешу тримера (1 бисфенол и 2 епокси остатка) и виших олигомера (*Petrie, 2006*).

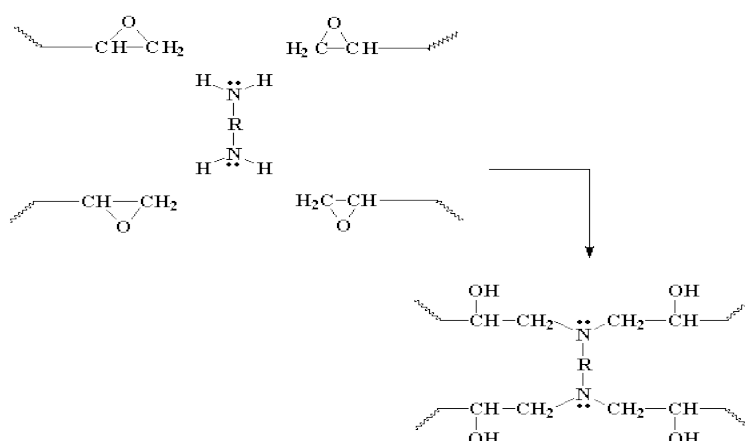
Синтеза претполимера епоксидне смоле приказана је на Слици 3. Уколико је број основних мотива од 3-30 ( $n$  на Слици 3), претполимер се налази у чврстом стању.



Слика 3. Синтеза претполимера епоксидне смоле

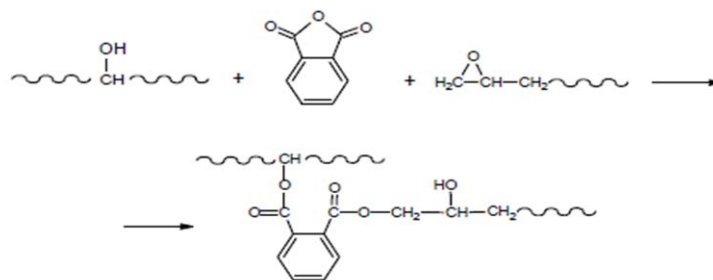
Претполимер епоксидне смоле може се умрежавати у присуству различитих вишефункционалних умреживача, или хомополимеризацијом у присуству катализатора. Резултат одигравања ових реакција је повећање молске масе претполимера и међусобно повезивање макромолекулских ланаца грађењем нових ковалентних веза, при чему настаје тродимензионална полимерна мрежа. Стварање умрежене структуре је праћено трансформацијом претполимера из течности ниске вискозности у чврст материјал, који има својства еластичног тела (*Good, 1988; May, 1988*).

Претполимери епоксидних смола се могу умрежавати преко епоксидних или хидроксилних група, при чему се као умреживачи користе алифатични, циклоалифатични и ароматични амини, полиамидоамини, диизоцијанати, фенол-формалдехидне смоле, анхидриди дикарбоксилних киселина, итд. Амини су најчешће коришћени умреживачи епоксидних смола, а реактивност амина расте са порастом нуклеофилног карактера у низу: алифатични > циклоалифатични > ароматични амини. Умрежавање претполимера примарним аминима је приказано на Слици 4. Приликом умрежавања долази до адиције примарне амино групе на епоксидни прстен, када настају секундарни амини који имају хидроксилну групу у својој структури. Активни водоник секундарне амино групе може даље да реагује са епоксидном групом, при чему као производ настаје терцијарна амино група. Обе ове реакције су катализоване хидроксилним групама, а награђени терцијарни амини могу даље да катализују реакцију између хидроксилне и епоксидне групе (хомополимеризација), у којој настају етарске везе, што такође доприноси међумолекулском умрежавању претполимера. Катализатори за реакцију хомополимеризације су, поред терцијарних амина и бор-трифлуорид комплекси. Реакција хомополимеризације се на собној температури веома споро одиграва, па је зато, уз катализатор, потребно применити и повишену температуру. Када се претполимер умрежава алифатичним аминима, процес се изводи на собној температури, док мање реактивни ароматични амини захтевају више температуре (120-150 °C).



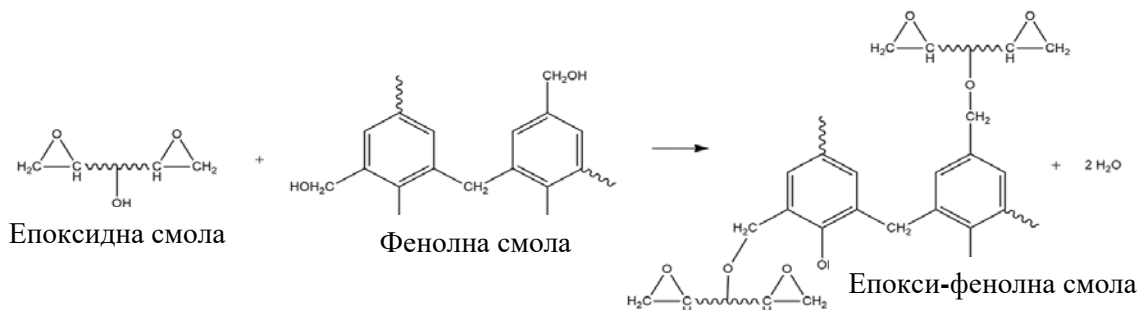
Слика 4. Умрежавање претполимера епоксидне смоле у присуству примарног амина

Анхидрид фталне киселине се користи као умреживач за претполимере са ниским садржајем епоксидних група. Тада до умрежавања долази услед реакције између хидроксилне групе претполимера и карбоксилне групе умреживача, када као производ настају естарске групе. Описани процес је приказан на Слици 5.



Слика 5. Умрежавање претполимера епоксидне смоле у присуству анхидрида фталне киселине

У производњи лименки за потребе прехранбене индустрије, најчешће се примењују епокси-фенолне превлаке (лакови), које се добијају умрежавањем претполимера епоксидне смоле фенолном смолом резолног типа. Фенолне смоле које се најчешће користе за умрежавање са епоксидним претполимерима су бутиловани резолни мале молске масе, који садрже фенолне хидроксилне групе, етерификоване и неетерификоване метилолне групе. На вишим температурама, фенолне хидроксилне групе реагују са епоксидним групама, док метилолне групе реагују са секундарним хидроксилним групама епоксидног претполимера. Обзиром да се за добијање превлака користе углавном претполимери веће молске масе, садржај епоксидних група је мали, па до умрежавања долази претежно реакцијом између метилолних и секундарних хидроксилних група (Слика 6).



Слика 6. Поједностављени приказ умрежавања претполимера епоксидне смоле у присуству фенолне смоле

Приказана реакција одиграва се на повишеној температури од око 200 °C, при чему настаје умрежена, епокси-фенолна смола, која показује одличну термичку стабилност, хемијску инертност и инертност приликом контакта са храном. У односу на друге термоочвршћавајуће полимере, епоксидне смоле имају и неке посебне предности, као што су изостанак споредних производа приликом реакција умрежавања и добра контрола степена умрежености. Умрежене епоксидне смоле показују одлична механичка својства, добру корозиону стабилност и добра адхезивна својства на металним подлогама, што је изузетно важно за производњу лименки (*Good, 1988; May, 1988*).

Према наводима Wintera, осим епоксидних превлака на бази ВРА, као превлаке за лименке за храну и пића користе се и превлаке на бази бисфенола F (BPF) и превлаке базиране на епокси-новолак смолама (*Winter, 2011*).

Употреба адекватне превлаке је од примарног значаја за очување безбедности и квалитета конзервисане хране. Праћење квалитета превлаке је изузетно значајно, како би се смањило ризик од губитка својстава производа и/или загађености производа. Свака превлака има своје карактеристике, као што су проценат суве материје, препоручени нанос по m<sup>2</sup> металне основе, врста пигмента, температура и време умрежавања („печење лака“). Превлакама се додају пигменти, пластификатори, катализатори за умрежавање, додаци за боље разливање, воскови, средства против упијања воде, итд. Пигменти имају функцију повећања заштитног ефекта превлаке. У превлаке намењене лименкама за паковање производа од меса, најчешће се додају пигменти, а у зависности од врсте додатих пигмената, лакови могу бити сиви (са додатком алуминијум оксида), бели (са додатком цинк оксида и титанијум диоксида) и златно-жути (са додатком златног пигмента). Златно-жути лакови се углавном користе за спољашњу заштиту лименки. Лакови сиве боје најчешће се користе за унутрашњу заштиту лименки намењених паковању производа од меса и они најчешће маскирају појаву мраморирања белог лима. Лакови беле боје све више се користе за унутрашњу заштиту лименки намењених паковању воћа и поврћа, хемијски су инертни када нема оштећења, док на местима оштећења долази до реакције са сумпором (ослобађа се након стерилизације конзерви од меса). Ради спречавања лепљења

садржаја за зидове лименки, у превлаке се додају воскови. Најчешће се користе за лименке намењене конзервама од уситњеног меса (*Coatings Manual, 2011*).

Употребу епоксидно-фенолних превлака у прехранбеној индустрији проучавала је група аутора из Аргентине. Користили су лименке заштићене епокси-фенолном превлаком у различитом односу епоксидне и фенолне компоненте. Помоћу метода FTIR, DFC и TGA дошли су до информација о степену сушења и саставу превлака. На основу FTIR закључили су да су превлаке састављене од високомолекуларних епоксидних смола, а однос епоксидне и фенолне компоненте одређен је DSC анализом (*Manfredi et al., 2005*).

### 2.2.5. Корозија

Реч корозија потиче од латинске речи „*corrodere*” што значи нагризати. Под корозијом се подразумева нежељено разарање материјала које настаје при физичко-хемијском или електрохемијском дејству са околном средином. Поред метала, корозионом разарању подлежу неметали (бетон, керамика, стакло) и материјали органског порекла (дрво, пластичне масе).

Под корозијом метала подразумева се његово разарање услед хемијског или електрохемијског дејства спољашње средине, при чему метална компонента легуре прелази у оксидно (јонско) стање. Као резултат одвијања овог процеса, јавља се постепени, а често и нагли губитак основне функције материјала. Корозија метала се јавља као последица физичко-хемијских процеса при додиру метала и агресивне средине метал-вода, метал-киселина, метал-ваздух и метал-земља, при додиру разнородних метала и на додирној површини два метална зрна са различитим саставом или различитим напонским стањем (*Bockris et al., 1981*).

Постоји велики број чинилаца који утичу на појаву корозије:

- 1) недовољно или неадекватно нанети заштитни слојеви на челичној основи;
- 2) неправилна манипулација након термичке обраде (када конзерве остају влажне у дужем временском периоду, или недовољно сушење након термичке обраде);
- 3) неодговарајућа температура и влажност у складишту;
- 4) незаштићеност лименки/конзерви током транспорта, или складиштења.

Корозију лименке и конзерве најчешће узрокује постојање микро пора на премазима спољашњих и унутрашњих површина. Вода која се користи за стерилизацију конзерви, такође може утицати на корозију.

Постоје различити фактори који могу да изазову унутрашњу корозију, а то су: врста и квалитет металне амбалаже, квалитет и континуитет заштитне превлаке на унутрашњим површинама, хемијски састав хране, рН вредност хране, присуство адитива у храни (кухињска со, нитрати, нитрити, полифосфати), присуство кисеоника. Најчешћи фактори који могу да изазову спољашњу корозију су амбијентални услови (температура, влажност ваздуха, услови складиштења и сл.).

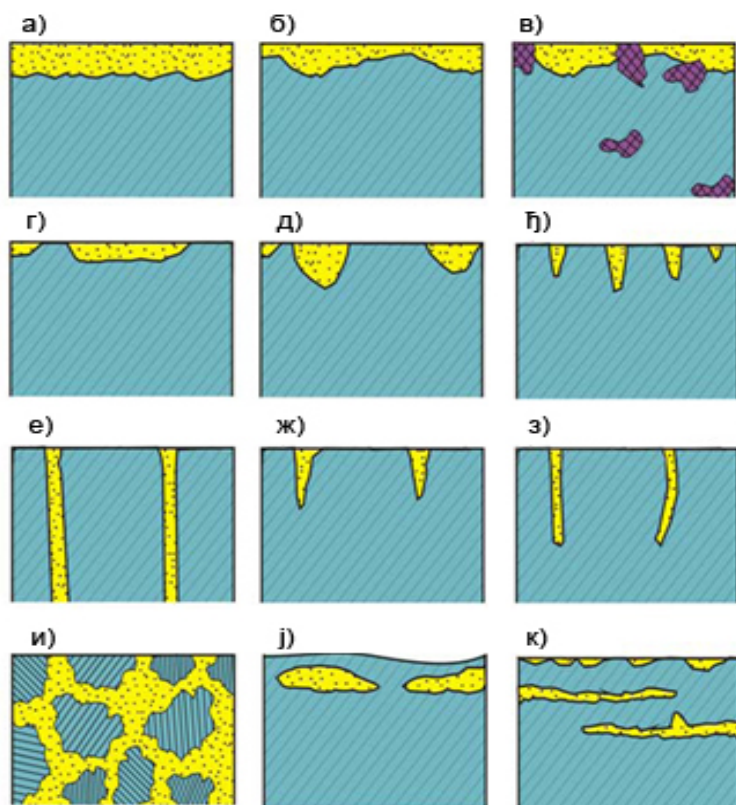
Различити појавни облици корозионих оштећења, независно од узрока и места настанка, приказани су на Сликама 7 и 8.

Према механизму и условима одвијања, корозија се дели на: хемијску (корозију у неелектролитима) и електрохемијску (корозију у електролитима). Хемијска корозија настаје као резултат реакције између метала и радне средине, када радна средина није електролит. Електрохемијска корозија - настаје као резултат стварања и деловања корозионих елемената на граници метал - радна средина, када је радна средина електролит (кисела или базна средина) (*Kaesche, 1979*).

По типу корозије, разликују се: равномерна корозија, галванска (корозија два метала), тачкаста корозија, корозија у зазору, интеркристална корозија, селективна корозија једног елемента из легуре, корозија услед поремећене рН вредности, напонска корозија, ерозиона корозија и биолошка корозија.

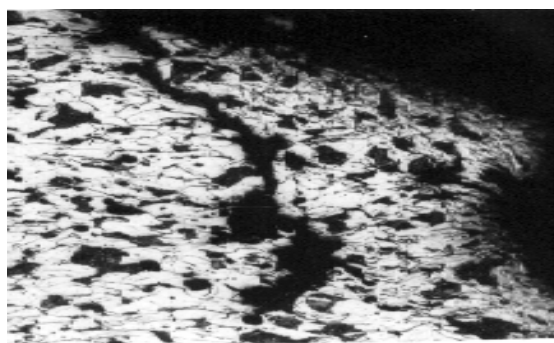
По степену распрострањености, разликује се општа и локална корозија. Општа корозија може бити пароводена, са равномерним стањењем зида, базна или киселинска. Локална корозија може бити галванска, корозија у зазорима и интеркристална (транскристална) корозија.

По појавном облику, разликује се „pitting“ корозија - у виду рупица, јамица и кратера; интеркристална корозија - у виду прслина које се простиру интеркристално; селективна корозија - настаје услед растварања структурне компоненте метала која је мање термодинамички стабилна (*Kaesche, 1979*).



Слика 7. Различити појавни облици корозионих оштећења (Kaesche, 1979)

а) равномерна корозија; б) неравномерна корозија; в) селективна корозија; г) кратерска корозија; д) јамичаста корозија; ђ) тачкаста корозија; е) продорна корозија; ж) корозија у виду оштрице; з) корозија у виду прелина; и) интеркристална корозија; ј) потповршинска корозија; к) слојевита корозија



Слика 8. Слојевита корозија нискоугљеничног челика (Kaesche, 1979)



### 2.2.5.1. Корозионе промене на металној амбалажи

Заштитне превлаке којима су обложене лименке имају функцију да спрече реакцију између металних јона и упакованог садржаја, као и да спрече штетно дејство фактора спољашње средине. Заштитна улога превлаке зависи од њеног квалитета, континуалности, адхезивности, отпорности и др.

Унутрашња корозија се јавља услед интеракције упакованог садржаја са белим лимом. Реакција се одвија по принципу електрохемијског пара где Sn има улогу катоде, а Fe улогу аноде, те јони гвожђа прелазе у раствор. Резултат ове корозије је перфорација конзерве. Овај тип корозије се може јавити код паковања изузетно „агресивне“ хране (концентрат парадајза, цвекла, вишња и сл). Ово се, пре свега може јавити, код металне амбалаже која је формирана од лимова са мањим наносом калаја и већом порозношћу. Ради тога се овакви лимови додатно штите органским превлакама, које се додају у два слоја. Прерађевине од воћа и поврћа које имају светлу боју се пакују у nelaкиране лименке (компоти од ананаса, беле трешње, кајсије, брескве), јер Sn испољава позитивно редукционо дејство које утиче на одржавање светле боје и мириса (спречава оксидацију полифенола).

Мраморираност представља унутрашњи вид корозије металне амбалаже која настаје приликом стерилизације намирница које садрже протеине у већем проценту (месо, пасуљ и сл). Под утицајем високе температуре, протеини који садрже аминокиселине са сумпором разлажу се (денатуришу) и ослобађају се веома реактивне групе у облику слободних сулфхидрилних група, меркаптана и сумпорводоника. Ослобођена једињења реагују са површином белог лима, а  $H_2S$  реагује са Sn, стварајући смеђи калајни моносулфид ( $SnS$ ), или светложути калајни дисулфид ( $SnS_2$ ), који се испољава појавом црних мрља и накупина на унутрашњим површинама конзерви. Уснапредовали степен мраморирања представља естетску ману, али ова појава се успешно маскира заштитним лаковима који су пигментисани алуминијумом у праху (*Nisançouglu, 1990*).

Спољашња корозија се јавља на спољашњој површини конзерве, а настаје као последица реакције са факторима спољашње средине (атмосферским гасовима, влага, температура). Обзиром да је лако уочљива, врло је битно да се конзерве са таквом променом пажљиво размотре и класификују.

Ако се након уклањања корозије прегледом под лупом установи да су наступиле тачкасте корозивне промене, такве конзерве се класификују као небезбедне, јер постоји опасност од перфорације. Конзерве које су незнатно зарђале, без видљиве тачкасте корозије, могу се сматрати безбедним за употребу. Формирање корозионих накупина могуће је испод етикета, када лепак или сама етикета садржи хигроскопне супстанце. Паковање конзерви у збирне картонске кутије, коришћење преградних картона који садрже висок ниво хлорида и/или сулфата, могу утицати на појаву корозије. Вода за хлађење у аутоклаву за стерилизацију треба да има рН од 7,0 до 7,5; тврдоћа воде треба да буде мања од 150 ppm, а садржај хлорида мањи од 50 ppm. Сувишно хлађење конзерви после стерилизације може да погодује појави корозије. Конзерве треба да садрже у себи довољно топлоте да би преостала вода на њима испарила. Температура од 35 °C у конзервама после хлађења, довољна је да обезбеди сушење (Nisancioglu, 1990).

Процес корозије испитиван је од стране већег броја аутора. Jihui (2013) је испитивао корозију на лименкама од белог лима са функционалним напицима, коришћењем електрохемијске импеданце у комбинацији са техникама скенирања електронским микроскопом. Његови резултати показују да лименке без додатне заштите имају слабу отпорност на корозију, док су лименке од белог лима отпорне на корозију.

Група аутора испитивала је корозивно понашање белог лима у раствору NaCl. Испитан је процес корозије белог лима у 0,5 mol l<sup>-1</sup> раствору NaCl коришћењем електрохемијске импеданце, а морфологија и структура корозионих процеса проучавана је скенирајућим електронским микроскопом. Резултати су показали да је отпорност белог лима константна, док челични лим без калаја континуирано кородира (Dahai et al., 2012).

Nikčević et al., (2010) проучавали су утицај различитих фактора на појаву корозије на лименкама од белог лима. Аутори као факторе који утичу на корозију наводе: оштећења заштитних превлака, пасивизациони слој, врсту хране, рН и садржај киселина, присуство нитрата и сумпорних једињења у храни, присуство кисеоника у конзерви, период складиштења и температуру.

### 2.3. Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже у садржај конзерви

Термин „миграција“ описује процес дифузије који најчешће настаје услед интеракције амбалажног материјала са храном (*Garcia, 2006*).

Из металне амбалаже у садржај конзерве могу мигрирати токсичне супстанце – токсични елементи и органска једињења. Метали који се природно налазе у челичној основи металне амбалаже су Fe, Cu, Al, Mn, Cr и Ni. Многи од ових метала, уколико мигрирају у храну у количини већој од максимално дозвољене, могу изазвати токсично дејство (Fe, Cu, Al). Калај (Sn), као заштитни слој који се наноси на челичну основу, такође може мигрирати у садржај конзерве и имати токсично дејство. Пасивизациони слој хрома, који се наноси преко слоја калаја, такође може да мигрира и да се нађе у садржају конзерве у повећаној количини.

Органска једињења, која се налазе у полимерној превлаци, могу да мигрирају из превлаке у садржај конзерви. Постоји велики број органских једињења која улазе у састав лакова (једињења која служе за умрежавање, као растварачи, као адитиви, као пигменти исл.). Једно од најчешће анализираних једињења које може да мигрира из металне амбалаже обложене превлаком у садржај конзерви јесте ВРА.

Као последица миграције токсичних супстанци из металне амбалаже у храну, најчешће се запајају промене у сензорним својствима садржаја (укусу и мирису), а у тежим случајевима може доћи до губитка квалитета хране, од деградације састојака хране, па чак и до потпуне небезбедности конзервисаног производа.

#### Фактори који утичу на миграцију

Миграција токсичних супстанци из амбалажног материјала у храну, врло је честа појава. У циљу смањења процеса миграције, врло је битан избор амбалажног материјала за паковање хране, избор заштите превлаке и обезбеђивање адекватних услова складиштења.

Постоји много фактора који утичу на брзину и степен миграције токсичних супстанци из материјала који су у контакту са храном у храну, а они се односе на: карактеристике самог амбалажног материјала (врсту, дебљину, пропустљивост); врсту, квалитет, масу и континуитет заштитне превлаке; хемијске особине

супстанци које мигрирају (напон паре, поларитет, молска маса и хемијска структура); иницијалну концентрацију токсичних супстанци у амбалажном материјалу; компоненте хране; и утицај разних спољашњих фактора (температуре, влажности ваздуха, притиска, услова и периода складиштења). Такође, значајан фактор за миграцију токсичних елемената представљају и механичка оштећења лименки (прекид континуитета превлаке лака и калаја), однос контактне површине амбалаже и запремине хране.

Значајно повећање степена миграције токсичних супстанци из материјала у контакту са храном у храну, до које долази са повећањем температуре и периода контакта материјала и садржаја, показао је *Barnes et al.*, 2007. године.

### 2.3.1. Миграција тешких-токсичних елемената

Тешки-токсични елементи, могу се наћи у конзервисаној храни, а извори контаминације су различити: могу бити природно присутни у сировинама, адитивина и додацима за производњу хране (из ваздуха, воде, земљишта); могу да потичу из производног процеса хране (када храна долази у контакт са металима индустријских постројења, нпр. машине, алати, примарна амбалажа); могу да потичу од изворног амбалажног материјала и могу настати секундарном контаминацијом.

Миграција токсичних елемената из металне амбалаже у садржај је честа појава, о чему постоји велики број литературних података. Разлози миграције токсичних елемената су различити, а да ли ће доћи до миграције зависи, поред напред наведених фактора, и од облика и величине амбалаже, масе заштитног слоја калаја и лака, врсте производа који се пакује, режима конзервисања, манипулације конзервама, степена оштећења и др.

Механизам проласка металних јона кроз превлаку је веома сложен, одиграва се уз растварање јона у самој превлаци, затим долази до њихове дифузије кроз филм и на крају до преласка у садржај. Пролаз јона је у директној вези са електрохемијским карактеристикама лака - селективности и отпорности према дифузији катјона и ањона, као и дебљином наноса лака, односно површинском масом ( $\text{g m}^{-2}$ ) (*Petrović*, 2003).

### 2.3.2. Миграција токсичних органских једињења

Токсична органска једињења могу се наћи у конзервисаној храни, а последица су миграције из полимерних превлака којима су обложене унутрашње површине лименки у садржај конзерве.

Постоји велики број органских једињења која се налазе у органским превлакама, а многи литературни подаци односе се на ВРА.

Ако пођемо од чињенице да је ВРА градивни мономер органских превлака које се користе као допунска заштита унутрашњих површина конзерви за храну и пића, могуће га је очекивати и у садржају. Да ли ће ВРА бити у садржају и у ком проценту, зависи од многих чинилаца. У највећем проценту зависи од квалитета превлаке (хемијског састава и степена умрежености њених мономера), од врсте хране која се пакује (највише од рН вредности), процеса конзервисања хране, температуре и периода складиштења.

Према наводима *Noonan et al., (2011)*, храна је обично контаминирана ВРА када је у контакту са епоксидном смолом на бази ВРА. Он може остати неизреагован (неумрежен) када су услови полимеризације, или поступак „печења“ неадекватни, а као последица долази до миграције резидуалног ВРА из превлаке у садржај. Аутори наводе да је миграција ВРА значајно изражена приликом топлотне обраде конзерви на високим температурама и дужем периоду складиштења.

Европска агенција за безбедност хране смањила је ниво толерабилног - прихватљивог дневног уноса (TDI) за ВРА са  $50 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , на привремену прихватљиву вредност (t-TDI) која износи  $4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  (*EFSA, 2015*).

Специфична граница миграције, која се односи на количину ВРА која може да мигрира из пластичног материјала који је у контакту са храном у храну, на основу специфичне процене ризика коју је спровела EFSA, снижена је са 600 на  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$  у фебруару 2018. године. Смањена SML је донета на основу нове вредности за t-TDI (Регулатива *EU No 10/2011* замењена је Регулативом *EU No 2018/213*).

## 2.4. Садржај токсичних, макро и микроелемената у храни упакованој у металну амбалажу

Токсичне супстанце природног порекла чести су узрочници загађења хране. Међутим, у природи је далеко веће присуство токсичних супстанци антропогеног порекла. Присуство токсичних елемената у храни последица је: загађења животне средине; присуства истих у сировинама, зачинима и додацима; контакта са апаратима, прибором и алатима у току производње и промета хране; миграције из металне амбалаже у садржај и секундарном контаминацијом.

### 2.4.1. Токсични елементи, механизам токсичног деловања и екотоксиколошки значај

Хемијски елементи су подељени у различите групе, а терминолошки се дефинишу као тешки, токсични, есенцијални, макроелементи, микроелементи и елементи у траговима. Најчешће се подела метала врши на лаке, тешке, металоиде, токсичне, елементе у траговима, есенцијалне, или према хемијским и физичким параметрима (густина, тежина, атомски број и степен токсичности).

Термин “*тешки метали*”, често се користи у научној и стручној литератури, као и законској регулативи, а односи се на хемијске елементе чија је густина већа од  $5 \text{ g cm}^{-3}$ . Најчешће се употребљава као заједничко име за метале и металоиде који имају директну повезаност са загађењем животне средине и токсичним ефектима које испољавају. Заступљени су у природи (стене, руде, земљиште, вода, ваздух, храна) и представљају озбиљан здравствени и еколошки проблем.

Тешки метали из стена и минерала процесом педогенезе доспевају у земљиште, ваздух, воду и храну. Примарни извор контаминације земљишта су природни и индустријски отпад, минерална и органска ђубрива и пестициди. Њихово присуство у ваздуху последица је испаравања тла, водених токова и индустријских постројења, док извор контаминације водених екосистема представљају отпадне воде из антропогених извора. Усвајањем преко корена, тешки метали доспевају у биљке, а преко њих у организам животиња и људи, где се укључују у ланац исхране у коме могу испољити своје негативне ефекте.

Тешки метали у појединим случајевима имају потенцијал да буду акумулирани у високим концентрацијама у копненим и воденим еко системима. Ова појава се у литератури назива „биоакумулација“ и представља повећање њихове концентрације у биолошким организмима у одређеном временском периоду у поређењу са концентрацијом у животној средини (*Adriano, 2001*).

Тешки метали су врло хетерогена група елемената са различитим хемијским особинама. Поједини немају никакве биолошке функције у организму, делују токсично, а карактеристични су по томе што их људи нити производе, нити их могу уништити, а не стварају их ни микроорганизми. За разлику од њих, поједини тешки метали су потребни за одржавање биохемијских и физиолошких функција у организму, када су присутни у ниским концентрацијама, али постају штетни када пређу одређену концентрацију.

У зависности од тога да ли су потреби организму, хемијски елементи се деле на есенцијалне и токсичне. Есенцијални елементи (Fe, Mg, Co, Cu, Zn, Mn, Se, Cr, Mo и др.), неопходни су и физиолошки значајни. Имају врло важне улоге у организму: структурна су компонента ензима, делују на активацију и дезактивацију ензима, учествују у процесу преноса O<sub>2</sub>, у регулацији метаболизма и др. Присутни су у веома ниским концентрацијама у организму, због чега се називају микроелементима или елементима у траговима. Токсични елементи, као што су As, Pb, Cd, Hg, Sn и др. су неесенцијални и немају биолошке функције у организму, већ делују искључиво токсично (*Stalović i Đorđević, 2013*).

Тешки метали су доказани у конзервисаним производима од меса (*Areej et al., 2012; AL-Rajhi, 2014; Khalafalla et al., 2016*). Ипак, највећи број објављених радова о присуству тешких метала у конзервисаним производима односи се на конзервисану рибу (*Hosseini et al., 2015; Kiri et al., 2016; Pinter et al., 2013; Stancheva et al., 2014*).

Група аутора проучавала је миграцију токсичних елемената из амбалажног материјала у садржај конзервисане хране у зависности од врсте материјала, типа лака, дебљине лака, периода складиштења, температуре складиштења, влажности, порозности и рН. Према њиховим наводима, постоји статистички значајна

корелација између нивоа концентрације тешких-токсичних елемената и температуре и периода складиштења (*Buculei et al., 2012, 2014; Korfali et al., 2013; Kassouf et al., 2013; Parkar i Rakesh, 2014*).

Тешке метале људи су користили у различитим областима живота хиљадама година уназад, али се њихова употреба мењала, као и сврха коришћења. Значајан је утицај тешких метала (нарочито антропогеног порекла) на контаминацију животне средине, а самим тим и здравље свих живих бића. Иако су штетни ефекти по здравље људи и животиња познати већ дуже време, излагање људи и животиња овим металима се и даље наставља (*Jarup, 2003*). Најчешће анализирани токсични елементи су As, Pb, Cd, Hg и Sn. Они се налазе свуда у природи и једни су од најопаснијих хемијских агенаса и узрочници многих болести. Токсично дејство тешких метала и металоида испољава се на цело екосистем, те ако дође до поремећаја у флори и фауни система, долази до ремећења целог ланца исхране (*Cerić, 2006*).

Токсично дејство токсичних елемената у организму испољава се тиме што они стимулишу формирање слободних радикала који узрокују оксидативни стрес, који последично доводи до липидне пероксидације ћелијских мембрана, нарушавања њене функционалности и селективности, оштећења ћелије (њеног генетског материјала), поремећаја функције ензима и других органа и система. Они се најчешће везују за протеине на местима која природно нису предвиђена за њих.

Велики је број објављених научних радова у којима је објашњен механизам токсичног деловања тешких метала, посебно оних који у веома малим количинама представљају опасност по здравље човека и животиња. Значајно је поменути неке од заједничких механизма.

Токсичност метала зависи од њихове количине у екосистему, од физичко-хемијских особина (хемијског облика, растворљивости, способности да реагују са биолошким лигандима), грађења комплекса са протеинима, као и електрохемијских карактеристика. На токсичност метала утичу и интеракције са есенцијалним елементима (нпр. Pb/Ca, Pb/Fe, Cd/Fe), као и стање организма - старосно доба, начин живота, стање имунолошког система (*Anon., 2009*).



Механизам токсичног деловања тешких метала и металоида је различит, врло сложен и огледа се у: везивању за протеине (најчешће за SH групе); везивању  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  за ензиме; замени кофактора ензима токсичним металом; промени структуре и функције протеина; промени активности ензима; утицају на биохемијске процесе; инхибицији респирације; нарушавању структуре и функције органела. Да би испољили своје токсично деловање, тешки метали морају проћи кроз ћелијску мембрану. Уколико се налазе у форми растворљивој у липидима (нпр. метил-жива) лако продиру кроз ћелијску мембрану и улазе у ћелију. Када су у форми везаној за протеин (нпр. Cd), механизам проласка кроз мембрану је ендоцитоза, док Pb пролази механизмом пасивне дифузије.

Тешки метали унети у организам не могу се уништити метаболички, они се најчешће вежу за органске молекуле, или уђу у конкуренцију са микроелементима. Карактеристично, заједничко токсично деловање метала на организам је ензимска инхибиција или активација, деловање на субћелијске органеле, канцерогеност (As, Hg, Cd), оштећење бубрега (Cd и Hg) (Goyer i Klarkson, 2001).

Према наводима Hodgsona, познат је штетан утицај тешких метала на ендокрини систем и репродуктивне органе (Cd изазива оштећење тестиса, акумулација Pb утиче на тестикуларну дегенерацију и инхибицију сперматогенезе) (Hodgson, 2004). Уношење метала удисањем, у виду металне прашине, оштећује респираторне органе, делујући инфламаторно и иритантно.

Токсични елементи, Cd, Pb, Hg и Al, улазе у метаболичке интеракције са есенцијалним елементима у организму. Дефицит гвожђа у организму може бити последица апсорпције Cd, Pb и Al. Олово улази у интеракцију са калцијумом у нервном систему и делује неуротоксично. Алуминијум и кадмијум у интеракцији са калцијумом у костима изазивају остеопорозу. Селен штити организам од последица токсичног деловања живе и метил-живе (Goyer, 1997).

Максимални нивои токсичних елемената As, Pb, Cd, Hg и Sn у храни утврђени су Регулативом (No 1881/2006).

Правилником о максимално дозвољеним количинама остатака средстава за заштиту биља у храни и храни за животиње и о храни и храни за животиње за коју се утврђују максимално дозвољене количине остатака средстава за заштиту биља (“*Sl. glasnik RS*”, 22/2018), прописане су максимално дозвољене количине токсичних елемената (Табела 1).

**Табела 1.** Максимално дозвољене количине ( $mg\ kg^{-1}$ ) тешких-токсичних елемената у месу, органима и различитој врсти хране

Врсте	As	Pb	Cd	Hg	Sn	Fe	Cu	Zn
свеже месо	0,10	0,10	0,050	0,03	-	-	-	-
производи од меса	0,30	-	-	0,10	-	-	-	-
месни производи у конзерви	-	-	-	-	-	-	-	100,0
изнутрице	0,50	0,50	-	0,10	-	-	-	-
јетра	-	-	0,50	-	-	-	80,0	-
бубрези	-	-	1,00	-	-	-	-	-
храна у лименој амбалажи	-	-	-	-	200	-	-	-
пића у лименој амбалажи	-	-	-	-	100	-	-	-
масти животињског порекла	-	-	0,05	0,30	-	-	0,4	-
масти и уља	0,1	0,10	-	-	-	-	-	-
јаја и производи од јаја	0,1	0,25	0,05	0,05	-	-	2,0	-
месо риба	2,0	0,30	0,10	1,0	-	-	-	-
производи рибарства у лименој амбалажи	-	-	-	-	-	30,0	30,0	100,0
поврће и производи од поврћа у лименој амбалажи	-	-	-	-	-	20,0	5,0	20,0
воће и производи од воћа у лименој амбалажи	-	-	-	-	-	30,0	10,0	20,0

#### 2.4.1.1. Арсен

Арсен је елемент који припада металоидима, изузетно је токсичан и канцероген. По присутности у природи је двадесети по реду, а његове неорганске форме су смртоносне за жива бића. Једињења арсена позната су још од античких времена, од 3. века п.н.е. У чистом облику први га је издвојио алхемичар Albert Veliki у 12. веку, а Paracelsus га је у 16. веку увео у медицину.

Људи могу доћи у контакт са арсеном из природних, индустријских или других антропогених извора. Питка вода се може контаминирати употребом пестицида на бази арсена, природних минерала, одлагања хемикалија и сл. (Jaishankar et al., 2014). У организам арсен доспева путем воде (најзначајнији извор), ваздуха и хране. Органска једињења најчешће се налазе у рибама и шкољкама (ATSDR, 2003c; Jarup, 2003). Међународна агенција за истраживање рака, класификовала је неорганска једињења арсена као канцерогена (група 1) за људе (IARC, 1987). Светска здравствена организација прописала је максимално дозвољену концентрацију (MDK) арсена у води за пиће, која износи  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  (WHO, 2008).

Најмања акутна смртоносна доза арсена код одраслог човека, процењује се на око 70 до 200 mg, или  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  дневно (Dart, 2004). Механизам токсичног деловања арсена заснива се на везивању за тиолне групе садржане у протеинима и ензимским системима (Thomas et al., 2001). У елементарном облику није отрован, али су отровна сва његова једињења растворена у води. Ресорпција у дигестивном тракту је од 10 до 40%. Слабије се везује за ткивне протеине и није кумулативан. Петовалентна једињења As мање су токсична од тровалентних (Velev et al., 2009).

Апсорпција арсена у респираторном тракту зависи од величине и растворљивости честица. Највише се излучује из организма путем урина, као смеша  $\text{As}^{3+}$  и  $\text{As}^{5+}$  јона, а мање фецесом, знојем и млеком (ATSDR, 2003c).

Тровања арсеном могу бити акутна и хронична. Симптоми акутног тровања се јављују одмах, у виду мучнине, повраћања, бола у трбуху, кржаве дијареје, јаке жеђи, хладних ногу и руку, главобоље и убрзо смрти (Jarup, 2003). Хронична тровања настају након изложености у дужем временском периоду. Симптоми су мање јасни и често их је тешко разликовати од симптома других обољења, а

јављају се у виду поремећаја органа за варење, присуства беланчевина у мокраћи, поремећаја рада срца, плућа и периферних нерава, сушења мишића, плаве боје прстију, тамне боје коже, опадање косе, итд. (Goyer i Clarksom, 2001).

FAO/WHO препоручили су толерабилни недељни унос за неоргански арсен од  $15 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , односно за органски арсен од  $50 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (FAO/WHO, 2014).

#### 2.4.1.2. Олово

Олово је сребрнастобели, токсични, биокумулативни тешки метал, без карактеристичног мириса и укуса, мекан, велике густине и ниске температуре топљења, без познате биолошке функције. Познато још од давнина, користило се при добијању сребра још 2000 година п.н.е. Hippocrate је први описао 370 године п.н.е., стомачне тегобе код особа које су копале руду. Олово је један од најчешћих токсичних елемената у природи (ATSDR, 2005). Извори загађења оловом су индустријски процеси производње метала и батерија. У организам се у највећој мери уноси инхалацијом (око 40%), посебно у крајевима са развијеном индустријом, а храном се уноси око 15% олова (ATSDR, 2007).

EFSA је привремено подношљиви недељни унос олова од  $25 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (Регулатива ЕУ, No 1881/2006), изменила (Регулатива ЕУ, No 420/2011), и поставила нижи ML од  $20 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  за бебе (EFSA, 2010).

IARC је неорганска једињења Pb класификовала као вероватно карциногене за људе (група A<sub>2</sub>), док органска једињења Pb нису класификована као карциногена за људе и животиње.

Механизам токсичног деловања Pb огледа се у томе што он делује конкурентно са есенцијалним металима (Fe, Ca, Cu и Zn) за њихове бројне функције у организму. Према физичко-хемијским особинама Pb<sup>2+</sup> јон може лако да замени Ca<sup>2+</sup> јон у костима и зубима. Ресорпција Pb из дигестивног тракта је од 10% (одрасли) до 50% (деца). Од укупно унете количине, преко 90% се акумулира у костима и зубима (полуживот је преко 20 година) (ATSDR, 2007). Олово изазива токсичност у ћелијама путем оксидативног стреса, нарушавањем равнотеже између производње слободних радикала и антиоксиданата (Flora et al., 2008).

Према наводима аутора *Jaishankar et al. (2014)*, механизам токсичности огледа се у замени моновалентног катјона  $\text{Na}^+$  и бивалентних катјона ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ) оловом, што нарушава биолошки метаболизам ћелије.

Контаминирана храна је главни извор изложености популације Pb. Најчешће се акумулира у рибама и шкољкама и у појединим органима. Извор Pb за људе може бити и амбалажа за храну (*Anon., 2009*).

Олово се складишти у костима и мањим делом у јетри, бубрезима и меким ткивима. Најизраженији ефекат токсичног дејства испољава се на нервни систем у развоју, хематолошки, кардиоваскуларни систем и на бубреге (*ATSDR, 2005*).

Симптоми акутног тровања су анемија, оштећење мозга, јетре, бубрега, губитак апетита, главобоља, раздражљивост. Хронична излагања доводе до смањења пажње, опстипације, повраћања, конвулзије, коме и смрти (*ATSDR, 2005; Jarup, 2003*). FAO/WHO прописале су привремено толерабилни недељни унос Pb од  $25 \mu\text{g} (\text{kg tm})^{-1}$ , односно  $175 \mu\text{g}$  за човека тежине  $70 \text{ kg}$  (*FAO/WHO, 2014*).

#### 2.4.1.3. Кадмијум

Кадмијум спада у врло токсичне тешке метале, нивоа токсичности живе или арсена, без карактеристичног је мириса и укуса. Открили су га 1817. године немачки хемичари Friedrich Stromeyer и Karl Samuel Leberecht Hermann, као нечистоћу у цинк-карбонату. У природи се налази у малим количинама, у Земљиној кори  $0,1-0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ , углавном као пратилац руда цинка, олова и бабра. Значајни је загађивач животне средине (пре свега воде и земљишта) (*ATSDR, 2008*). Постоје процене да се сваке године 30.000 тона кадмијума ослобађа у животну средину, а од тога је 4.000-13.000 тона резултат људске активности (*ATSDR, 2003a*).

Најважнији извор контаминације за човека представља храна, затим инхалација, дермални контакт и вода. У ланац исхране улази углавном из земљишта, тако што се преко корена преноси у биљке, затим у животиње и људе. Процењено је да су пушачи изложени концентрацији од  $1,7 \mu\text{g Cd}$  по цигарети.

Кадмијум се депонује у изнутрицама, шкољкама, гљивама и биљкама (какао, пиринач, житарице) (*ATSDR, 2008*).

Средином прошлог века, Cd је препознат као један од најтоксичнијих елемената са врло израженим токсичним ефектима при изложености људи и животиња. Међународна агенција за истраживање рака класификовала је кадмијум у прву групу доказаних карциногена за људе (EFSA, 2009, 2012).

Према наводима Patrick, (2003), механизам токсичности Cd није још увек потпуно јасан. Високо токсичан ефекат кадмијума резултат је његових интеракција са есенцијалним микро и макроелементима, посебно са Fe, Ca, Cu и Zn.

Кадмијум се у организму везује за протеине богате цистеином (металотионеин). У јетри формира комплекс и узрокује хепатотоксичност, а затим циркулише до бубрега, где се акумулира узрокујући нефротоксичност (Castagnetto et al., 2002). Хронично тровање Cd настаје као последица дуготрајне изложености (4-10 година), а симптоми су оштећење бубрега и плућа, поремећаји функције јетре и метаболизма витамина D, анемија, остеомалација, остеопороза, ометање инкорпорирања Ca у коштане ћелије и синтезе колагена у коштаним ћелијама, рак простате и плућа (Janković et al., 2013; Teodorović i Dimitrijević, 2011).

Кадмијум је неесенцијалан елемент, у организму се акумулира у јетри и бубрезима (преко 75%). Педесетих година прошлога века, у Јапану је описано обољење познато као "itai itai", са клиничком сликом обољења бубрега, плућа и ломљења костију, за које је утврђено да је настало као последица тровања кадмијумом, који је доспео у организам конзумацијом пиринча заливаног отпадним водама, (Teodorović i Dimitrijević, 2011). Ресорпција Cd износи свега 5-6%, а она је обрнуто пропорционална садржају Zn, Ca и Fe у храни. Из организма се излучује билијарним путем, а делом и преко урина (ATSDR, 2008, 2012).

EFSA је прописала просечни недељни унос Cd храном у вредности од  $2,5 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , а за изложеније потрошаче и до  $3,9 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ . Редовни потрошачи шкољки и гљива могу имати још више вредности дневог уноса Cd (до  $5,4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ ). Честом конзумацијом бубрега старијих животиња повећава се укупни дневи унос кадмијума из хране за  $0,96 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (EFSA, 2009, 2012).

FAO/WHO прописале су привремени толерабилни недељни унос Cd од  $7 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  ( $490 \mu\text{g}$  недељно за човека просечне телесне масе 70 kg), (FAO/WHO, 2014).

#### 2.4.1.4. Жива

Жива је сребрнобели, на собној температури течни, токсични метал који се често јавља у природи. Налази се у елементарном стању, или везана у облику минерала. Спада у најтоксичније метале у животној средини, а загађење настаје емисијом из природних процеса (ерозија тла, вулканска активност) и антропогених извора (емисија из рудника, индустријских постројења, употреба амалгама, сагоревање фосилних и вештачких ђубрива, фунгицида и сл.).

Најпознатији и најтоксичнији органски облик Hg у природи је метил-жива. Конверзија неорганског облика Hg у метил-живу представља важан корак у могућем штетном деловању на здравље људи (*Teodorović i Dimitrijević, 2011*).

Процену уноса живе потрошњом рибе, у Србији вршила је група аутора (*Janković et al., 2012*). Према њиховим наводима, потрошња рибе може се сматрати једним од главних извора изложености људи живом, а анализирани узорци садржали су живу испод максималног нивоа утврђеног прописима ЕУ и Србије. Процењени недељни унос за укупну живу, заснован на средњој вредности живе у риби, за човека просечне телесне масе од 70 kg, износио је  $95,0 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ .

IARC је метил-живу сврстала у групу 2Б (могуће карценогене), док елементарна жива и неорганска једињења живе нису класификовани као карциногени. Механизам акумулације живе у организмима који живе у воденој средини веома је добро познат, међутим, у доступној литератури није у потпуности разјашњен биоакумулативни ефекат у копненим ланцима исхране. У организам човека жива доспева најчешће конзумирањем рибе и морских плодова, инхалацијом живиних пара и ослобађањем елементарне живе из денталног амалгама (*ATSDR, 2003b*).

EFSA је усвојила недељну толерабилну дозу за неорганску живу од  $4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , док је иста доза за метил-живу  $1,3 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (*EFSA, 2012*).

WHO/FAO су прописале привремено толерабилни недељни унос живе од  $5 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , односно 350  $\mu\text{g}$  недељно за човека просечне тежине масе 70 kg (*FAO/WHO, 2014*).

#### 2.4.1.5. Калај

Калај је сребрнаст тешки токсични елемент са непознатим физиолошким значајем. Спада у метале мале тврдоће, а ваљањем се извлачи у танке листиће. Познат је још од 3500. године п.н.е., на шта указују предмети од бронзе нађени у јужном Кавказу. У Земљиној кори заступљен је са око 2,3 ppm.

Највећи значај у контаминацији хране имају конзерве од белог лима (калај се користи као превлака за побољшање отпорности на корозију), као и за лемљење. Калај може прећи из амбалаже у садржај конзерви, а његова количина зависи од врсте амбалажног материјала, наноса и квалитета калаја, наноса лака, рН вредности хране, манипулације, као и услова и периода складиштења. Концентрација калаја у садржају расте после отварања конзерви, јер под дејством  $O_2$  долази до његовог растварања (*Teodorović i Dimitrijević, 2011*).

Калај је релативно мање отрован од Hg, Cd и Pb. Доступни литературни подаци о токсичним ефектима неорганског калаја који потичу од конзервисане хране, доста су скромни. Доказано је да потрошња киселих производа, где је концентрација калаја изнад  $200 \text{ mg kg}^{-1}$ , доводи до акутних токсичних ефеката. Кисела храна делује агресивније на превлаку у металним конзервама, због чега конзерве морају имати веће количине калаја. Концентрација калаја у конзервисаној храни повећава се са периодом складиштења и повећањем температуре (*Anon., 2009*).

Калај је неесенцијални елемент за животиње и људе. Његови токсични ефекти у организму зависе од концентрације у храни, а не од уноса по  $\text{kg tm}^{-1}$ . Симптоми су праћени повраћањем, дајарејом, замором, јаком главобољом, смањењем апсорпције гвожђа и поремећајем синтезе хемоглобина. Токсично деловање калаја најчешће настаје због високог нивоа у конзервисаним пићима ( $> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ ), или хране у лименој амбалажи ( $> 200 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Слабо се апсорбује у дигестивном тракту, не акумулира се у ткивима и брзо се избацују путем фекалија.

WHO прописала је толерабилни недељни унос Sn од  $14 \text{ mg (kg tm)}^{-1}$  (*WHO, 1988*).

Регулативом *EU (No 1881/2006)* прописане су границе за концентрацију калаја у конзервисаној храни до  $200 \text{ mg kg}^{-1}$ , за конзервисане напитке до  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  и за конзервисану храну за бебе, малу децу и дијететску храну до  $50 \text{ mg kg}^{-1}$ .



## 2.4.2. Садржај макро и микроелемената

Минерали су микрохранљиви састојци, пасивне супстанце наше свакодневне исхране. Минерале чине макро и микроелементи, неорганске материје које имају многобројне улоге у организму. Обзиром да организам не може сам да их произведе, неопходно је да се уносе храном, водом или путем ваздуха. Сматра се да је најмање 18 макро и микроелемената потребно за функционисање организма.

Према значају у телу, минерали се деле на есенцијалне (K, Ca, Mg, Na, P, Cl, S), есенцијалне у траговима (Fe, Cu, Cr, Zn, J, Se, F, Co, Mn, Mo, Si, Ni, Vn) и неесенцијалне-токсичне (As, Pb, Cd, Hg, Sn, Al). Према количини у телу, минерали се деле на макроелементе (Na, K, Mg, Ca) и микроелементе (Fe, Zn, Cu, Mn, Se, Cr, Co, Ni и др). Извори минерала су намирнице биљног и животињског порекла, у различитим количинама, од неколико  $\mu\text{g}$  до чак неколико грама (Na).

Минерали су неопходни за нормално функционисање биохемијских и ензимских процеса и електрохемијских реакција у организму. Физиолошка улога минерала у организму је вишеструка: структурна улога - саставни су део костију, зуба, крви; регулаторна улога - регулатори осмотског притиска, у одржавању нормалне функције ћелија, формирању мембранског потенцијала и преношењу нервних импулса. Минерали су, такође, структурне компоненте многих ензима. Имају улогу у синтези протеина, хормона, у контракцији мишића, модулирају активност протеина, преносе сигнале итд. Такође, учествују у синтези витамина.

У организму су присутни у ниским концентрацијама (4-5%, односно 2,8-3,5 kg), а највише их има у костима. Минерали у ниским концентрацијама испољавају биолошке функције, а у већим концентрацијама могу деловати токсично.

### 2.4.2.1. Макроелементи

Макроелементи су елементи који су присутни у организму у количини већој од  $100 \text{ mg (kg tm)}^{-1}$ . У макроелементе спадају Na, Mg, K и Ca.

#### Натријум

Натријум је хемијски елемент који се налази у горњим слојевима Земљине коре, у количини од око 2,3%. Он је мекан, сребрно-бео, веома реактиван метал.

Открио га је енглески хемичар Humphry Davy 1807. године, електролизом масне соде. Доста је присутан у храни, највише у кухињској соли, хлебу, пекарским производима, месу и производима од меса (конзервисаним, димљеним, готовим јелима), сиру, сосевима, конзервисаној риби, морским плодовима и алгама, минералној води. Људски организам садржи око 60 грама натријума, од чега је у скелету уграђен око  $\frac{1}{3}$ , а у екстрацелуларној течности око  $\frac{2}{3}$ . Један је од најважнијих макроелемената у људском организму.

Физиолошка функција у организму је вишеструка: у регулацији крвног притиска, регулацији кисело-базне равнотеже, одржавању пермеабилитета ћелијског зида, у спровођењу нервних импулса, у мишићној контракцији и др. Недостатак у организму, због недовољног уноса путем хране, углавном није могућ, али услед неких болести (обилне дијареје, повраћање или знојење), може доћи до његовог дефицита, који доводи до хипотензије, тахикардије, спазма мишића, отказивања централног нервног система. Превелики унос Na може довести до хипертензије и едема (FAO/WHO, 2004). Прихватљиви дневни унос Na је до 1,5 g (DRIs, 2011).

### Магнезијум

Магнезијум је земноалкални метал, заступљен у Земљиној кори са око 2,74%, а у природи се често налази везан у виду силиката. Josef Blek је први потврдио да је то посебан елемент, а у чистом облику га је добио Humphry Davy 1808. године.

Физиолошка функција у организму је вишеструка: присутан је у структури костију, кофактор је многих ензимских процеса, учествује у метаболизму угљених хидрата и протеина и др. Са калцијумом учествује у регулацији контрактилности мишићних ћелија и у регулацији енергетског метаболизма, у одржавању крвног притиска и функционисању централног нервног система. Позитивно утиче на функције нерава, на рад срца, дигестивног система, делује позитивно у ситуацијама стреса и др. Присутан је у организму у количини од 20 до 28 g (око 60% се налази у костима, око 40% у мишићима, меким ткивима и еритроцитима и око 1% у екстрацелуларној течности). Просечан ниво ресорпције је око 45%.

Симптоми дефицита магнезијума су: главобоља, несаница, ноћно знојење, опадање косе, ломљење ноктију, кварење зуба, проблеми са срцем, мучнина,

повраћање, грчеви, болови и дрхтање мишића, успореност, узнемиреност, нервоза и др. Најважнији природни извори магнезијума у исхрани су коштуњаво воће, лиснато поврће, смоква, лимун, грејфрут, риба, јаја и месо (FAO/WHO, 2004).

Дневне потребе су око 300 mg (за жене) и око 400 mg (за мушкарце) (DRIs, 2011).

### Калијум

Природни извори калијума су парадајз, салате, семе сунцокрета, кромпир, банане, кикирики, бадем, лешник, суво грождје, суво воће, месо, риба, интегралне пахуљице и др. Физиолошка функција у организму је вишеструка: у регулацији мишићне активности (са Na и Ca), регулацији кисело-базне равнотеже, у метаболизму угљених хидрата, синтези протеина, преносу нервних импулса, контроли крвног притиска и баланса воде у организму, функционисању нервног система. Присутан је у организму у количини од око 140 грама.

Дефицит калијума у организму је редак и огледа се у проблемима са гастроинтестиналним трактом и бубрезима. Количина калијума коју човек уноси храном много је већа него што се може апсорбовати у цревима. Повећани садржај може довести до бубрежне инсуфицијенције, дехидратације, мишићне слабости и кардиолошких проблема. Употребом диуретика, повраћањем или дијарејом, може доћи до губитка калијума, што може проузроковати срчане сметње, мишићну слабост, поспаност и др. (FAO/WHO, 2004). Препоручени оптимални дневни унос је 3 g за децу до 3 године, односно 4,7 g за одрасле (DRIs, 2011).

### Калцијум

Калцијум је сребрно-бео, мекан и лак метал. Најраспрострањенији је земноалкални метал у природи (у Земљиној кори налази се око 3,54%). Бројни су извори калцијума у храни, највише га има у млеку и млечним производима, месу, риби, пасуљу, житарицама, орасима, кикирикију, зеленом и лиснатом поврћу.

Храном се уноси у количини од 1-1,3 g дневно (DRIs, 2011), а у организму се ресорбује око 30%. Ресорпцију калцијума повећавају: мали унос Ca, раст, витамин D, низак рН, лактоза и неке аминокиселине, док његову ресорпцију смањују: висок унос масти, суфицит фосфата, дефицит витамина D, висок рН, повећано присуство Ca у храни.

Физиолошка улога калцијума у организму је вишеструка: учествује у формирању костију и зуба, коагулацији крви, у мишићним контракцијама, у преношењу нервних импулса, пермеабилности ћелијског зида, активацији неких ензима. Важан је за одржавање густине костију и зуба. Суфицит у организму се јавља код хипертиреоидизма, туберкулозе, акутних бубрежних обољења, бенигне дисплазије дојки, при узимању појединих лекова, код суфицита витамина А и D, при конзумирању хране богате калцијумом. Дефицит калцијума у организму врло је чест, може се јавити због исхране сиромашне калцијумом, недостатка витамина D, слабе изложености сунчевој светлости, хормонских поремећаја, а последично долази до испадања зуба, до болних грчења мишића, нервне раздражљивости, болова у зглобовима, споријег раста и развоја костију (рахитис код деце), појаве остеомалације и остеопорозе код одраслих (FAO/WHO, 2004).

#### 2.4.2.2. Микроелементи

Микроелементи су минералне материје присутне у организму у малим количинама (мање од  $50 \text{ mg (kg tm)}^{-1}$ ), а то су Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Se и др. Њихова улога у организму је позната и дефинисана. Микроелементи у траговима су присутни у врло малим количинама (Co, Mo, Si, P, V, Ni), а њихова улога у организму није разјашњена и у потпуности дефинисана.

#### Хром

Хром је метал који се у природи може наћи у минералима, земљишту, вулканској прабини, гасовима, као и у ткивима биљака и животиња. Он је сјајно-бели метал, веома отпоран на корозију. Директни извори хрома су антропогене активности (индустријска постројења, сагоревање горива и др.) (ATSDR, 2008). Открио га је 1797. године Louis Nicolas Vauquelin. Користи се као заштитни слој челичних лимова-хромирање челика, поправљајући њихов изглед и штитећи га од корозије.

Хром је један од есенцијалних микроелемената и неопходан је за одржавање животних функција (метаболизам масти, протеина и угљених хидрата). Налази се у црном хлебу, млечним производима, месу (кувана јунетина), риби, жуманцу, парадајзу, пасуљу и пивском квасцу. Тривалентни хром, захваљујући интеракцији са инсулином, помаже искоришћавање глукозе (Teodorović i Dimitrijević, 2011).

Недостатак хрома може да изазове хипергликемију код одраслих особа, а суфицист се испољава као слаба токсичност тровалентним хромом. У организму се налази око 1,7 mg. Дневне потребе за хромом се крећу од 11  $\mu\text{g}$  (деца до три године), преко 35  $\mu\text{g}$  (за мушкарце), до 45  $\mu\text{g}$  (за дојиље) (*DRI*s, 2011).

### Манган

Манган је сребрнасти метал који се у природи претежно јавља у виду минерала. Основни извори неорганског мангана у природи су ерозија земљишта, индустријска постројења, као и други антропогени извори. Око 80% мангана у ваздуху потиче од индустријске производње гвожђа и челика (*EPA*, 2003). Дневни унос мангана ваздухом је испод 2  $\mu\text{g}$  дневно, док у подручјима са великим индустријским постројењима, концентрација може порасти на 4–6  $\mu\text{g}$  дневно (*Teodorović i Dimitrijević*, 2011). Манган се уноси у организам инхалацијом, или орално, док дермална изложеност није од значаја (*ATSDR*, 2012).

Манган је коензим у многим ензимским реакцијама. Потпомаже развоју и раду костију, изградњи везивног ткива, регулацији шећера у крви, у метаболизму масти, аминокиселина и угљених хидрата (*Rivera-Mancia et al.*, 2011).

Природни је састојак хране, због чега је управо храна најзначајнији извор изложености људи. Највише концентрације (до 50 ppm) утврђене су у орасима, чају, махунастим плодовима, ананасу, житарицама, док су нижи нивои установљени у млечним производима, месу, риби и јајима (*Teodorović i Dimitrijević*, 2011).

Препоручени дневни унос мангана је од 0,6 mg (за децу), 1,8 mg (за жене), до 2,3 mg (за мушкарце) (*DRI*s, 2011).

### Гвожђе

Гвожђе је један од најраспрострањенијих елемената у Земљиној кори, са масеним уделом од око 5%. У природи се не налази у слободном стању, већ у облику минерала. Гвожђе је присутно у пијаћој води, земљишту, хранљивим материјама биљног и животињског порекла - у месу (црвено месо), изнутрицама, јајима, морским плодовима, пасуљу, лиснатом поврћу, црвеној паприци, житарицама, квасцу, жуманцу, језграстим плодовима итд.

Гвожђе је човеку било познато још у праисторијско доба. У старој Грчкој се период од око 1300 година п.н.е. назива гвоздено доба, а 1200 године п.н.е. гвожђе је већ било познато у читавом “старом свету”.

Гвожђе је есенцијални микроелемент, потребан свим живим бићима. Функције у организму су му вишеструке: учествује у преносу  $O_2$  од плућа до ткива (у форми хемоглобина); саставни је део миоглобина, цитохрома и ензима мишићних ћелија; значајно је за функционисање ензима, као и у реакцијама оксидације (Guyton, 2006). Од укупне количине гвожђа у организму, између 60–70% налази се у еритроцитима (у саставу хемоглобина) и око 15% у мишићима (у миоглобину).

Сврстава се у микроелементе због физиолошке функције, а не због количине. Присутно је у организму око  $60 \text{ mg (kg tm)}^{-1}$  (3-5 грама). Тровање гвожђем се јавља најчешће приликом неконтролисаног уноса суплемената. Ресорпција гвожђа које се унесе храном је од 10 до 30%. Много ефикасније се усваја из хране животињског порекла (15-35%), у односу на храну биљног порекла (2-20%).

Препоручени дневни унос гвожђа зависи од пола, узраста и стања организма и креће се од 7 mg (за децу до 3 године), до 27 mg (за труднице) (DRIs, 2011).

Присуство малих концентрација Ca, Zn и Fe у храни појачава апсорпцију и токсичност Pb и Cd, док присуство Cd у дигестивном тракту смањује апсорпцију гвожђа. Вишак гвожђа се депонује у јетри, док се у патолошким стањима депонује у крви (хиперсидеремија) и меким ткивима (сидероза) (Guyton, 2006).

WHO/FAO су прописале привремено толерабилни недељни унос гвожђа од  $5,6 \text{ mg (kg tm)}^{-1}$ , односно 392 mg недељно за човека масе 70 kg (FAO/WHO, 2014).

## Бакар

Бакар је широко распрострањен у природи, где се најчешће налази у облику својих минерала, као и у елементарном стању. Просечна концентрација у Земљиној кори је око 50 ppm. Широко је распрострањен у води - просечан дневни унос путем воде је око 0,15 mg, док је просечан унос путем хране од 1,5 до 2 mg.

Укупна изложеност људи из ваздуха, воде и хране је око 2,75 mg дневно.

Најзначајнији извори бакра у исхрани човека су месо (посебно изнутрице), риба, житарице, ораси, махунасти плодови, чоколада, кафа, чај, авокадо, печурке и др. (Teodorović i Dimitrijević, 2011). Спада у есенцијалне микроелементе, неопходан је за правилно одвијање процеса метаболизма у организму људи и животиња, за синтезу хемоглобина, у производњи еластина и као антиоксиданс.

У организму одраслог човека налази се 100-150 mg бакра, а његов недостатак проузрокује анемију и нарушава синтезу ензима. Повећани ниво бакра имају особе које редовно конзумирају изнутрице, орахе, семење, легуминозе, а редовним конзумирањем морских плодова може се повећати унос бакра и до 100 mg дневно (Teodorović i Dimitrijević, 2011).

Препоручени дневни унос бакра је до 1 mg (дојиље до 1,3 mg), док веће количине бакра могу деловати штетно по здравље (DRIs, 2011).

WHO/FAO прописале су привремено максимални толерабилни недељни унос  $Cu$  од  $3,5 \text{ mg (kg tm)}^{-1}$ , односно 245 mg бакра за човека масе 70 kg (FAO/WHO, 2014).

### Цинк

Цинк је плавичасто-сјајан, слабо отрован метал и широко је распрострањен у природи. У Земљиној кори просечна концентрација је 70 ppm, док је у земљишту око 36 ppm. Веће количине у води могу потицати из индустрије за производњу челика и гвожђа, топионица цинка и електроиндустрије (EPA, 1980).

Спада у есенцијалне микроелементе и учествује у бројним физиолошким функцијама: синтези протеина, липида, угљених хидрата, у процесу стварања белих крвних зрнаца и сазревању Т-лимфоцита. Најзначајнији извор цинка су месо, риба, житарице, орашаста плодови. Месо и риба садрже просечно  $24,5 \text{ mg kg}^{-1}$  цинка, док житарице садрже  $8 \text{ mg kg}^{-1}$  цинка. Недостатак цинка у исхрани може довести до депресије, губитка апетита, губитка косе, запаљења коже и повећања акумулације кадмијума у неким ткивима и органима.

Цинк се у организму може наћи у крви, костима, урину, нервном ткиву и коси (ATSDR, 2005a). Цинк може бити саставни део материјала од којег се праве лименке за производе од меса (Teodorović i Dimitrijević, 2011). Препоручен унос цинка креће се од 2 до 13 mg дневно (DRIs, 2011).

## Селен

Селен је метал који се најчешће налази у природи у облику сулфидних минерала (металселениди). Открио га је 1817. године Džons Jakob Вежелјус. Спада у есенцијалне микроелементе и има значајну улогу у метаболизму сисара: кофактор је у ензимима, спречава претерану продукцију слободних радикала, учествује у синтези простагландина и Q фактора (*Teodorović i Dimitrijević, 2011*). Спада у микроелементе неопходне за живот људи, који се мора уносити храном. Значајан је за рад ензимских система, штити црвена крвна зрнца и ћелијске мембране, учествује у функционисању имуног система и раду штитне жлезде. Селен је антиоксиданс, учествује у превенцији кардиоваскуларних болести, стимулише имунитет, штити ћелије од оксидације, спречава прерано старење коже, мишића и мозга. Најновија истраживања показују да смањује опасност од рака дигестивног тракта и простате, и да штити организам од токсичних елемената (*Su et al., 2005*).

Селен је присутан у храни, највише га садрже интегралне житарице, мекиње, језгасто воће, месо, изнутрице, јаја, морски плодови и др. До недостатка селена најчешће долази због неадекватне исхране, док услед великог уноса селена може настати тровање „селеноза“ (промене на кожи и ноктима, појава каријеса и гастроинтестиналних и неуролошких поремећаја).

Сва једињења селена су токсична, елементарни селен је слабо токсичан, а селеноводоник (са мирисом на рен) је најтоксичнији (*Teodorović i Dimitrijević, 2011*). Унос селена од 20 до 70 mg дневно, сматра се довољним за функционисање организма (*DRI, 2011*).

## Алуминијум

Алуминијум је релативно мек и жилав метал. Трећи је метал по заступљености у Земљиној кори. Сребрнасто-беле је боје, мале густине, незнатно омекшава загревањем, погодан је за паковање хране која се стерилише на високој температури или се замрзава. Алуминијум и његове легуре не пропуштају воду, масноћу, водену пару и друге гасове, па су због тога погодни за паковање хидроскопних и ароматичних производа. Високе концентрације алуминијума пронађене су код пацијената са менталним поремећајима (*Alchajmerova bolest*). У организму га има око 100 mg, а дневне потребе су 10 mg.



## 2.5. Садржај бисфенола А у храни упакованој у металну амбалажу и механизам токсичног деловања

Бисфенол А (2,2-бис (4-хидроксифенил) пропан, ВРА), је хемијско једињење које има широку примену у производњи поликарбонатних пластика и епоксидних смола (FAO/WHO, 2010).

Као кључни градивни мономер поликарбоната, ВРА има велику примену у производњи боца за једнократну употребу, бочица за исхрану беба, бочица за пиће, контејнера за складиштење хране. Такође, има широку примену и као градивни мономер епоксидних смола - заштитних премаза код конзервисане хране и пића, премаза на металним поклопцима за стаклене тегле и затварачима за боце (EFSA, 2015).

Бисфенол А је први синтетизовао руски хемичар Alexander Pavlovich Dianin 1891. године, а 1936. године идентификован је као синтетички естроген. У комерцијалној употреби је од 1957. године. Један је од првих синтетичких супстанци за кога је утврђено да има ефекат сличан полном хормону естрогену. Британски биохемичари Edward Charles Dodds и Wilfrid Lawson су 1936. године утврдили да одређене синтетичке хемикалије могу да замене природни естроген у медицинској терапији.

Бисфенол А настаје кондензацијом два мола фенола са једним молем ацетона у присуству HCl као катализатора. Процес синтезе одвија се на око 75 °C. Тачка топљења ВРА је око 153 °C. На основу литературних података, који укључују тестирање производа, доказано је присуство ВРА у преко 600 врста хране. Процењено је да је просечна концентрација ВРА у лименкама око 24,6 ppb, док је у поликарбонатним бочицама за бебе присутно око 26,6 ppb (BPA in Food Packaging, 2010).

Бисфенол А је безбојна чврста супстанца која се добро раствара у органским растварачима, а слабије у води. Растворљив је у мастима, тако да лако долази до његове миграције из амбалаже у храну, о чему говоре и подаци да је највећи унос ове токсичне хемикалије код човека преко масне хране. Спонтано се може издвојити у малим дозама, а грејање на вишим температурама, прање у машинама

за судове, као и повећана киселост садржаја конзерве, повећава количину издвојеног ВРА из амбалаже у упаковану храну.

Распрострањена изложеност људи ВРА, као и потенцијални ефекти на здравље, били су предмет интензивне научне и јавне контроле и дебате. Пројекат испитивања садржаја ВРА који мигрира из органских превлака започео је 1996. године, након швајцарског случаја одбијања увоза конзерви туне са Тајланда, када је регистровано високо присуство ВРА у садржају рибе (*Newman, 2001*).

Напоменуто је већ да је храна обично контаминирана са ВРА преко контакта са материјалима за паковање хране, који садрже епоксидне превлаке. ВРА може остати непромењен (неумрежен), ако су полимеризацијски услови, или поступак „печења“ неадекватни. Такав, резидуални мономер, може мигрирати из превлаке у храну и напитке. Миграција је израженија на вишим температурама и дужем периоду складиштења (*Cao et al., 2011; Geens et al., 2010; Noonan et al., 2011*).

Бисфенол А је ендокрини дисруптор (endocrine disrupting chemicals - EDCs), хемикалија која изазива ендокрини поремећај (омета рад ендокриног и хормонског система), тако што омета синтезу, продукцију, секрецију, метаболизам, везивање, функцију и елиминацију природних хормона. Бисфенол А опонаша хормоне нашег тела, пре свега естрогена и естрадиола, опонаша њихову структуру и функцију, са способношћу да се веже и активира исти рецептор као и природни хормон (*Connor i Chapin, 2003; Gore, 2007; Rubin, 2011*). Он је, заправо, естрогенски ксенобиотик који може изазвати стерилитет код жена, умањење квалитета сперме код мушкараца, обољевање од шећерне болести, ризик од настанка рака, гојазности и др. Може утицати и на репродуктивни систем животиња, као и на пролиферацију ћелија рака дојке *in vitro* (*Rochester, 2013*). Доказано је да ВРА може да изазове алергијске реакције на кожи и иритацију респираторних органа, као и да доведе до тешког оштећења ока (*Alhem, 2017*).

Велики је број научних података који показују да је ВРА мерен у многим врстама конзервисаних производа у последњих двадесет година. Многе студије су показале да конзервисана храна обично садржи веће концентрације ВРА, него храна која се продаје у стакленој или папирној амбалажи (*Liao, 2013, 2014*).

Из нама доступне литературе, можемо запазити да је најмањи број радова који се односи на садржај ВРА у конзервисаним производима од меса, а да су чешће испитивани конзервисани морски плодови, укључујући и конзервисану рибу.

Пријављено је значајно повећање концентрације ВРА у урину код људи који интензивније конзумирају конзервисану храну (*Hartle et al., 2016*).

Прехрамбени производи у конзервама пресвученим епоксидним смолама сматрају се најзначајнијим извором изложености ВРА (*Lorber et al., 2015; Chen et al., 2016; Cunha et al., (2017)*).

Широка примена ВРА у прехранбеној индустрији повећала је изложеност и ризик од његових токсичних ефеката. Многа истраживања су показала да ВРА може мигрирати из епоксидне превлаке у садржај конзерви, у току конзервисања и у току складиштења.

Испитивања поликарбонатних боца за храну показала су да се ВРА може ослободити испирањем врућом водом. Остаци детерџента подстичу ослобађање ВРА, а количина ослобођеног ВРА зависи и од температуре, дужине контакта и тврдоће воде (*Biedermann, 2009*). Доказано је да је брзина ослобађања, као и ослобођена количина ВРА код нових и код коришћених поликарбонатних боца скоро иста. Знатно веће количине ВРА се ослобађају при излагању боца врелој течности. Резултати су показали да се пре излагања врелој води из боца ослобађало од 0,2 до 0,8  $\mu\text{g h}^{-1}$  ВРА, а након загревања, та количина је износила 8 до 32  $\mu\text{g h}^{-1}$  ВРА. У јануару 2011. године Европска комисија усвојила је Директиву (*No 8/2011*) којом се забрањује употребу ВРА за производњу поликарбонатних боца за храњење новорођенчади.

Бисфенол А тренутно је једна од најкомерцијалнијих хемикалија на глобалном нивоу, са укупном светском производњом у 2015. години од око 9 милиона тона, при чему производња током година расте око 5%, у зависности од континента на коме се производи. Азија бележи највећу производњу ВРА (46%), затим Европа (28%) и Америка (24%) (*Chemicals Weekly, 2009; ICIS Chemical Business, 2008*).

Бисфенол А је идентификован као супстанца која изазива забринутост. У ЕУ донесена је забрана његовог коришћења у термалном папиру, која ће се

примењивати од 2. јануара 2020. године. У Србији, ова забрана још увек није донешена (Alhem, 2017). Подаци Alhema у Србији показују да је око 87,5% термалног папира из приватног сектора и око 88,9% из јавног сектора садржао ВРА (Alhem, 2017). EFSA (2015) је проценила да је термални папир други по реду извор изложености ВРА после хране. При контакту долази до трансфера ВРА са термалног папира на кожу, која га делимично апсорбује. Изложеност људи путем фискалних рачуна, на радном месту и у општој популацији, изучавана је у многим студијама. Иако се резултати разликују у зависности од методологије, они показују да изложеност путем дермалног контакта игра важну улогу у укупној изложености људи ВРА. ВРА се у производњи термалног папира користи као развијач боје, који реагује са леуко бојом и формира видљиву боју након примене топлоте или притиска. Он је у термалном папиру присутан као слободни мономер који може мигрирати на површину коже (Russo, 2017).

ЕРА наводи да је широка употреба ВРА у потрошачким производима довела до загађења животне средине. Доказано је његово присуство у воденим организмима и речним седиментима. Код риба, жаба и птица активира естрогене рецепторе и доводи до феминизације и малформације репродуктивних органа (EPA, 2005).

Концентрације ВРА у животној средини крећу се од 10-628 ng l<sup>-1</sup> у речним водама (Yamazaki, 2015); 3,94x10<sup>6</sup> ng g<sup>-1</sup> (на суву масу) у седименту (Wang, 2016); 10-1080 ng l<sup>-1</sup> у ефлуентима из постројења за пречишћавање отпадних вода (Tran, 2015) и 0,42-25600 ng g<sup>-1</sup> (суве масе) отпадног муља (Lee, 2015; Song, 2014; Yu, 2015).

Истраживања која су рађена у САД доказала су присуство ВРА у урину код преко 90% популације старије од шест година. Сматра се да се излагање људи ВРА одвија пре свега *per/os*. Миграција ВРА из металне амбалаже и пластике у храну и пића, доказана је у узорцима из Јапана, Европе, Новог Зеланда и САД (Ackerman, 2010; Guart et al., 2011).

Једињења која су аналози ВРА, као бисфенол Ф (ВРФ), бисфенол Б (ВРБ), бисфенол Е (ВРЕ) и бисфенол Ц (ВРС), такође се користе у многим амбалажним материјалима, укључујући поликарбонатну пластику и смоле (Chen, 2002; Kitamura, 2005). Што се тиче токсичности, доступни су обимни подаци за ВРА, а

мање је објављених информација о другим једињењима (аналозима). ВРФ, ВРЕ и ВРВ показали су умерену до незнатну акутну токсичност и естрогенску активност, сличну ВРА (*Chen, 2002*). ВРС је показао већу естрогенску активност, вероватно због свог поларитета и присуства сумпора у структури (*Rivas, 2002*).

Постоји само неколико алтернативних материјала, када је у питању производња без ВРА, који су данас доступни на тржишту, при чему је њихова употреба прилично ограничена. Епоксиди који не садрже ВРА су смоле на бази новолака и циклоалифатичне епоксидне смоле. Осим тога, поливинилхлорид (PVC) не садржи епоксид, али већина превлака које користе PVC садрже молекуле са неком епоксидном функционалношћу (*CEPE, 2013*).

Ризици по људско здравље због изложености ВРА путем потрошње конзервисане хране, представљају разлог за забринутост широм света. Модел који је коришћен за симулацију људске дигестије и биолошке процене ВРА у конзервисаним морским плодовима, по први пут је изведен од стране аутора из Португалије (*Cunha, 2017*). Садржај ВРА у узорцима конзервисане туњевине и сардине, одређен је течном хроматографијом са масеном спектрометријом. Добијени резултати показују нивое ВРА у распону од  $< 1 \text{ mg kg}^{-1}$  (LOQ) до  $62 \text{ mg kg}^{-1}$ .

На бази резултата и објављених научних радова, EFSA је у јануару 2015. године смањила претходни толерабилни дневни унос ВРА од  $50 \text{ } \mu\text{g (kg bw)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  на  $4 \text{ } \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , и поставила га као привремену вредност (t-TDI). EFSA је донела закључак да је изложеност нижа од установљеног t-TDI, и да приликом такве изложености нема опасности по здравље људи (*EFSA, 2015*).

На основу процене ризика коју је спровела EFSA, специфична граница миграције која се односи на количину ВРА која може да мигрира из пластичног материјала у контакту са храном у храну, снижена је са 600 на  $50 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$  у фебруару 2018. године. Нова вредност ВРА постаљена је на основу вредности t-TDI из 2015. године, (Уредба ЕУ *No 10/2011*, замењена Уредбом ЕУ *No 2018/213*).

Као што је напоменуто, у јануару 2011. године Европска комисија је својом Директивом (*No 8/2011*) забранила употребу ВРА за производњу поликарбонатних боца за храњење беба. Француска је званично донела закон

којим се суспендује производња, трговина и маркетинг конзерви за паковање хране које садрже ВРА. Од 1. јануара 2013. године забранила је употребу оваквих конзерви за паковање хране за бебе, а од 1. јануара 2015. године и за све остале конзервисане производе (*Law No 2012-1442*).

Закон о предметима опште употребе („*Sl. glasnik RS*“, *broj 25/2019*) наводи да предмет опште употребе није здравствено исправан, односно безбедан ако садржи материје или састојке који нису допуштени, или ако их садржи у недозвољеној количини, а које могу неповољно утицати на здравље људи; у контакту са храном или другим предметима опште употребе садржи или ослобађа материје у количинама већим од прописаних, или материје које могу неповољно утицати на здравље људи, или материје које могу мењати сензорна својства хране или предмета опште употребе.

У домаћем законодавству не постоји регулатива којом се регулише дозвољена количина ВРА у храни и пићима, нити торелабилни дневни/недељни унос у организму, већ се користи законодавство ЕУ на које смо се и ми позивали приликом упоређивања добијених резултата у нашим истраживањима.

Објављен је велики број публикација које се односе на аналитичке методе за одређивање ВРА у храни и материјалима који се користе за паковање хране. Метода за истовремено одређивање пет бисфенола у конзервисаним енергетским напицима, помоћу UPLC са флуоресцентним детектором, након чишћења на молекуларно отиснутим полимерима, приказана је у новијем истраживању. Метода је специфична, поуздана и веома осетљива, а омогућава одређивање ВРА, ВРВ, ВРФ, диглицидил етар бисфенола А (BADGE) и диглицидил етар бисфенола F (BFDGE), до концентрације од 0,50 ng ml<sup>-1</sup> (*Gallo, 2017*).

Група аутора из САД објавила је резултате веома осетљиве, брзе, нискобуџетне и за рад једноставне методе за детекцију ВРА. Коришћен је електротермички ефекат за транспорт молекула ВРА према електроди, у циљу убрзавања процеса везивања и смањивања времена одзива сензора на чак 20 s (*Mirzajani et al., 2017*).

У раду Француских аутора, доказано је да је храна главни пут излагања ВРА, а да је скоро 20% изложености ВРА било од хране животињског порекла. Циљ

истраживања био је да се процени степен изложености француске популације и да се идентификују извори контаминације хране. Доказано је смањење контаминације узорака, нарочито узорака меса, у односу на ранија истраживања. У циљу идентификације порекла извора контаминације, развијена је посебна аналитичка метода за директно идентификовање и квантификовање присуства коњугованих ВРА (ВРА-моноглукуронид, ВРА-диглукуронид) у узорцима хране. У анализираним узорцима нису откривени никакви коњуговани облици ВРА, што показује да присуство ВРА у храни животињског порекла није услед метаболизма, већ *post mortem* у храни (Gorecki, 2017).

Новорођенчад су посебно угрожена популација, код које постоји повећан ризик од изложености јер се ВРА широко користи у бочицама за храњење и појење беба. Студија коју је спровела група аутора из Индије (Kaur et al., 2016), утврдила је количину ВРА која мигрира у узорке хране и воде из поликарбонатних боца за бебе, а ВРА је доказан помоћу HPLC са флуоресцентним детектором.

У развијеним земљама концентрација ВРА је путем законодавства смањена или је присуство ВРА потпуно забрањено у амбалажи и материјалима који долазе у контакт са храном или водом. Препорука аутора из САД (Baluka, 2016) је да истраживања везана за ВРА треба да се наставе како би се проценило излагање људи бисфенолу А, користећи урин као биолошку матрицу за његово доказивање.

Група аутора из Грчке и Италије описала је изложеност дејству ВРА у Европи (Sarigiannis et al., 2016). Анализа је обављена на основу података о присуству ВРА у храни и биомониторинга људи. Аутори су посебну пажњу посветили процени изложености током критичних развојних фаза фетуса (гестација), моделовањем токсикинетичке интеракције мајке и фетуса. Њихови налази су показали да су нивои излагања у Европи испод привременог дневног уноса (t-TDI) од  $4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , предложеног од стране EFSA.

EFSA је извршила процену ризика по јавно здравље за различите групе људске популације, на три различита начина: (1) спољашња изложеност (путем хране, воде, удисањем и дермалним контактом); (2) унутрашња изложеност (апсорбована доза, збир коњугованих и некоњугованих ВРА) и (3) депонована изложеност.

Процењени унос ВРА код новорођенчади је до  $0,875 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , код деце у узрасту до 12 година  $0,388 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , док је највећа изложеност, око  $1,449 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , процењена за адолесценте (EFSA, 2015).

Група аутора из Ирана вршила је испитивање миграције диглицидил етра - ВРА и његових деривата, из епоксидне превлаке у симуланте хране. Специфична миграција испитивана је код симуланте хране на бази воде, 3% сирћетне киселине и 15% етанола, и на различитим температурама (-6, 5, 25 и 40 °C) током 10 дана. Резултати испитивања показују да је миграција израженија у 15% етанолу у односу на 3% сирћетну киселину, док је на нижим температурама миграција мање изражена (Eskandari, 2014).

Rochester (2013) у својој студији посебно истиче ендокрине поремећаје код лабораторијских животиња услед дејства ВРА. Исти аутор наводи да се број студија из године у годину знатно повећава због оправдане сумње на штетност ВРА на организам како људи, тако и животиња.

Аутори из САД у свом раду наводе да је храна главни извор изложености људи ВРА. Мерени су нивои ВРА у 105 узорака свеже и конзервисане хране, упаковане у металну и пластичну амбалажу, која се користи за исхрану људи и животиња. Доказали су присуство ВРА у 63 од 105 узорака, укључујући свеже ћуреће месо, конзервисану боранију и конзервисану храну за бебе. Концентрација ВРА је варијала од  $0,23$  до  $65,0 \text{ ng g}^{-1}$  и није била повезана са врстом хране и врстом паковања, али се разликовала у односу на рН вредност хране (веће вредности ВРА су нађене у храни која је имала  $\text{pH} < 5$ ) (Schechter et al., 2010).

У новијем истраживању, спроведеном такође у САД, група аутора је доказала повезаност присуства ВРА у серуму паса са храњењем конзервисаном храном (Koestel, 2017).

Munguia-Lopez i Soto-Valdez, (2001), проучавали су ефекте топлотне обраде и дужине складиштења (до 70 дана) на миграцију ВРА и BADGE, из премаза у симуланте хране. Резултати су показали да врста топлотног третмана утиче на миграцију оба једињења. Ефекат дужине складиштења на степен миграције ВРА био је мање изражен код узорака конзервисане туњевине, док је био израженији



код конзервисаног поврћа. Концентрација BADGE била је нижа, или није откривена током складиштења, код обе врсте конзервисаних производа, у поређењу са концентрацијом ВРА.

*Munguia-Lopez et al., (2002)* проучавали су миграцију ВРА из епоксидних премаза у симуланте киселе хране. Испитан је утицај топлотне обраде, периода складиштења и температуре на миграцију ВРА. Конзерве су чуване на 25 и 35 °С, у периоду од 40, 70 и 160 дана. Повећана миграција ВРА забележена је са дужином периода складиштења и на вишој температури, а највећа концентрација од 15,33 µg kg<sup>-1</sup> нађена је након 160 дана на 35 °С.

Штетни ефекти ВРА у фокусу су интересовања домаће и стране стручне јавности, обзиром на то да он може негативно утицати на здравље људи и животиња, уколико је његова миграција у храну већа од дозвољене вредности. Бисфенол А се у организму брзо метаболише и излучује за свега 4 сата, али су ефекти дугорочног деловања на људски организам још увек недовољно испитани. Бројне студије показују да навике у исхрани имају највећи утицај на потенцијално излагање људи ВРА, управо кроз повећано конзумирање конзервисане хране. Такође је познато да ВРА никада, ни на какав начин, није био коришћен као лек (*Vogel, 2009*). Својство ВРА да опонаша ефекте природног естрогена, потиче од хемијске сличности фенолних група присутних на ВРА и на естрадиолу, које омогућавају овом молекулу да покрене естрогене функције у телу (*Kwon et al., 2007*). Негативни ефекти ВРА у малим количинама, на лабораторијским животињама, први пут су уочени 1997. године (*Erickson, 2008*). Модерна истраживања нашла су везу између ВРА и здравствених проблема током трудноће и развоја плода. Истраживања групе аутора из 2007. године, била су усмерена на везу између ВРА и естроген-рецептора ЕРР-γ, када је објашњен механизам деловања ВРА и нађено да се понаша као ксеноестроген (*Matsushima et al., 2007*). У даљим истраживањима нађено је да је нпр. ЕРР-γ присутан у плаценти у високим количинама, па отуда и акумулација ВРА у њој (*Takeda et al., 2009*).

Први докази о естрогеном понашању ВРА потичу од експеримената на пацовима 30-тих година XX века (*Dodds i Lawson, 1936, 1938*), а налази о негативним ефектима мале количине ВРА на лабораторијским животињама, нису изнети јавно

све до 1997. године (Erickson, 2008). ВРА може повећати ризик од гојазности. Као ендокрини дисруптор, може да утиче на неуронске мреже које регулишу исхрану, и потенцијални је узрочник повећаног ризика од гојазности (Rezg et al., 2014).

Бисфенол А испољава различите ефекте током различитих фаза развоја. Код одраслих, утиче на осетљивост на инсулин и ослобађање инсулина без утицаја на телесну масу (Alonso-Magdalena et al., 2011).

Изложеност током трудноће утиче на мајку, а на плод касније у животу. Током трудноће и лактације изазива метаболичке измене (гојење). Омета функције штитне жлезде, што посебно погађа труднице, новорођенчад и малу децу (Boas et al., 2009; Keiko et al., 2009).

Према наводима Sota i Sonnenscheuna (2010), постоји веза између ВРА и повећаног ризика од рака.

## 2.6. Конзервисани производи од меса

Према Правилнику о квалитету уситњеног меса, полупроизвода од меса и производа од меса ("Sl. glasnik", broj 94/2015, 104/2015 и 19/2017), конзерве од меса се дефинишу као производи добијени од меса, полупроизвода од меса, производа од меса, масног ткива, везивног ткива, изнутрица, крви, производа од крви и додатака, који се у херметички затвореним посудама или омотачима обрађују топлотом на температурама пастеризације, кувања или стерилизације.

Конзервисани производи од меса у производњи и промету морају да испуњавају прописане захтеве квалитета: да су херметичне (заптивене); да нису деформисане; да је спољашња површина чиста и без знакова корозије; да су дно и полопац незнатно улегнути и да под притиском не федерирају; да су дупли спојеви лименки правилно формиран; да су унутрашње површине лименке заштићене превлаком лака; да су изглед, састав, укус, мирис, боја и текстура садржаја својствени за одговарајућу врсту производа; да је укупна количина издвојеног желеа и масти највише до 5% од декларисане нето масе производа; да обезбеђују безбедност и квалитет у декларисаном року употребе (не смеју да угрозе здравље потрошача).

Конзервисани производи од меса једна су од стратешких намирница у армијама широм света, захваљујући доброј одрживости и високој хранљивој вредности (Forbes-Ewan et al., 2016; Pograjc et al., 2010).

У Војсци Србије конзервисани производи од меса заузимају велики удео у укупном асортиману хране за исхрану њених припадника.

Производња конзервисаних производа од меса врши се према Стандардима одбране (у даљем тексту: СО) и Техничком спецификацијом (у даљем тексту: ТС) или националним правилницима. Њима су, поред квалитета лименки, дефинисани и начин декларисања; врста, квалитет и количински однос основних и додатих састојака; технолошки поступак производње и квалитет готовог производа (сензорне особине, хемијски параметри и микробиолошка исправност) (SO, 1998; TS, 2012), а иду у корак и са међународним стандардима безбедности хране (Tešanović et al., 2013).

Термичка обрада је завршна операција у производњи конзервисаних производа од меса. Након пуњења месним надевом и херметичког затварања, производи се конзервирају топлотном обрадом на температури стерилизације. Стерилизација је једна од најбитнијих критичних тачака у производњи конзервисаних производа од меса. Врло је битно одредити адекватну температуру и временски период за сваку врсту конзервисаног производа од меса (Katalenić, 2004).

Стерилисане конзерве, поред здравствене безбедности, нутритивне и калоријске вредности, морају да одрже и сензорна својства у што дужем периоду складиштења под редовним условима. Да ли ће и у којој мери одговорити овим изазовима, зависи од низа фактора, и то: врсте и квалитета сировина, додатих састојака, врсте производа, технолошког поступка производње, врсте амбалаже, режима стерилизације, дужине периода складиштења и др. (Tomaš et al., 1969).

Најважнији фактор за очување безбедности, квалитета и одрживости стерилисаних конзерви је термичка обрада-стерилизација, чији је задатак постизање комерцијалне стерилности производа, односно потпуно уништавање спорогених микроорганизама, пре свега *Clostridium botulinum*. Такође, задатак стерилизације је и инактивација ензима способних да у нормалним условима

чувања изазову квар производа упакованих у херметичну амбалажу (*Gugušević-Daković, 1989*).

Поступак стерилизације се састоји из три фазе (*Vereš, 2004*):

I фаза – предгревање, (време од почетка загревања до постизања дефинисане температуре у средини у којој се изводи загревање, тј. загревање до фиксиране леталне температуре у критичној тачки);

II фаза – термостатирање на тој температури (деловање ефективне температуре) – одржавање температуре (време у којем се одржава константна задата температура);

III фаза – хлађење (време после престанка загревања, тј. до постизања собне температуре у средини у којој се изводи хлађење, односно до постизања температуре 30-35 °C у унутрашњости паковања).

Конзервисани производи од меса, због релативно слабе киселости ( $\text{pH} > 4,5$ ), представљају погодну средину за развој микроорганизама, од којих је, по људско здравље, најопаснија мезофилна, анаеробна, спорогена бактерија *Clostridium botulinum*. Због тога је неопходно установити такав режим стерилизације који ће гарантовати здравствену безбедност, такву да вероватноћа преживљавања једне споре *Cl. botulinum* буде на сваких  $10^{12}$  паковања (такозвани 12D концепт).

*Cl. botulinum* узет је као индикатор здравствене стерилности прехранбених производа, јер је међу патогеним бактеријама најотпорнији на дејство повишених температура, због чега је са здравственог аспекта стерилизација усредсређена на његово уништавање (*Gugušević-Daković, 1989*).

Ризик преживљавања микроорганизама који су подвргнути загревању је утолико мањи уколико је број почетних микроорганизама мањи (*Gugušević-Daković, 1989*). Да би се задовољио овај услов, неопходно је одржавати у свакој фази производње хране што нижи степен присуства микроорганизама, у складу са принципима добре хигијенске и добре произвођачке праксе (*Vuković, 2012*).

Теоријски је немогуће постићи апсолутну стерилност, па се у пракси говори о комерцијално-практичној стерилности која се своди на постизање степена дозвољеног квара (0,1%) (*Gugušević-Daković, 1989*).

На основу свих разматрања, може се констатовати да се топлотом не могу уништити сви микроорганизми и да се може говорити само о одређеном степену редукције броја микроорганизама. О леталном времену може се такође говорити у смислу постизања одређеног степена стерилности, тј. свођења почетног броја микроорганизама до степена дозвољеног квара (*Vereš, 2004*).

Квалитет металне амбалаже (лименке) и правилно затварање како би се постигла задовољавајућа хетметичност, такође су врло битни. Под оптималним термичким поступком подразумева се поступак којим се уништавају штетни микроорганизми, а који што мање неповољно утичу на биолошку вредност и квалитет производа. Контролом се проверава да ли термички поступак тече на планирани начин. Приликом топлотне обраде врши се контрола температуре у уређају за топлотну обраду (аутоклаву), температуре производа и стерилизациона вредност, односно дужина трајања поступка стерилизаце ( $F_0$  - вредност).

Мерење температуре представља основу контроле термичког процеса. Температура се мери помоћу термометра који ради на принципу термопара, који чине: сонда (чији врх представља крај термопара који реагује на промену температуре), и уређај за регистровање температуре (галванометар). Сонда термопара смештена је у унутрашњости аутоклава и приликом мерења се поставља у „хладну тачку“, а вредности температуре се читавају на дисплеју и термографским листама. Контролом термографских листи проверавају се температура уређаја за топлотну обраду и време њеног деловања. Приликом контроле термичког третмана, температура производа се мери у „најхладнијој тачки“ (критична тачка). Сонда термометра се поставља у „критичну тачку“ производа, место у производу у коме се постиже најнижа температура за време топлотне обраде. Код већине производа од меса, који имају чврсту конзистенцију, термални центар се налази у геометријском средишту (*Teodorović et al., 2012*).

Конзерве у којима се мери температура треба да се налазе у зони аутоклава која има најнижу температуру за време загревања. Код конзерви, место где се поставља сонда термопара мора да буде херметички обезбеђено, како би се спречио улазак загрејане воде или водене паре из аутоклава (*Vuković, 2012*).

Температуре се у мањим конзервама мере у интервалу од једног минута, а у већим конзервама у сразмерно дужим временским интервалима (5, 10, 15 минута). Модернији термометри су повезани са штампачем, који графички приказује температуру, или представљају интегрални део рачунарског система који истовремено мери температуру, графички приказује процес и израчунава  $F_0$ -вредност (Vereš, 2004).

Деценијама се топлотна обрада конзерви заснивала на емпиријским нормама, док се данас за ефекат термичке обраде користи  $F_0$ -вредност. За стерилисане конзерве које се могу чувати при температури до 25 °C, 4 године, основно је да морају постићи  $F_0$ -вредност од најмање 3,0 па до 5,0.  $F_0$ -вредност се одређује интеграцијом леталних ефеката температура које су измерене у „критичној тачки“ конзерви за време топлотне обраде. Једноставније методе за одређивање су графичка, адациона и брза метода, заснована на Гаусовој интеграцији. Увид у леталност термичког процеса добија се израчунавањем  $F_0$ -вредности која је остварена у најхладнијој тачки конзерви за време топлотне обраде. Символ  $F_0$  показује да се леталност процеса одређује према релативној терморезистентности спора *Cl. botulinum*.  $F_0$ -вредност заправо представља збир леталних ефеката температура које делују на микроорганизме у конзервама за време термичког процеса, а изражава се еквивалентом загревања у минутима, при еталонској температури (121,1 °C).

При егзактној контроли топлотне обраде, поред израчунавања  $F_0$ -вредности, одређује се и  $S_0$ -вредност. То је вредност која показује смањење биолошке вредности и квалитета хране приликом загревања (Vuković, 2012).

### **2.6.1. Безбедност и квалитет конзервисаних производа од меса**

Захтеви постављени пред металну амбалажу за производњу конзервисаних производа од меса и/или друге прехранбене производе, комплексни су и разноврсни. С једне стране амбалажа треба да обезбеди херметичност, да сачува производ од различитих спољашњих утицаја, да производ у њој буде хигијенски исправан и здравствено безбедан, а са друге стране да сачува нутритивну (хранљиву) вредност и сензорне параметре квалитета, и све то у што дужем временском периоду.

Да ли ће конзерва одолети и у којој мери захтевима, зависи поред раније наведених фактора, од квалитета и масе заштитних превлака калаја и лака, услова складиштења и манипулације од производње до потрошача.

Безбедност конзервисаних производа од меса у највећој мери зависи од поступка топлотне обраде. Он мора да уништи споре мезофилних типова *Cl. botulinum*, односно да јединица леталности поступка стерилизације (F<sub>0</sub>-вредност) буде најмање 3. Правилно изведена стерилизација и добра херметичност конзерви, гарантују добру одрживост на собној температури у току више година (*Nitsch i Vuković, 2006*).

Квалитет конзервисаних производа од меса зависи најпре од квалитета употребљених сировина од којих су добијене (*Florowski et al., 2017*), од интензитета топлотне обраде (F<sub>0</sub>-вредност не би требало да буде већа од 5 због неповољног ефекта високе температуре на хранљиве материје) (*Nitsch i Vuković, 2006*), али и од услова и дужине периода складиштења (*Buculei et al., 2014; Vafaei et al., 2018*).

Поред тога, одговарајућа амбалажа уз факторе спољашње средине, спречавају накнадну контаминацију садржаја конзерве микроорганизмима, као и оксидацију садржаја под утицајем кисеоника (*Dimitrijević et al., 2015*).

Обезбеђивање адекватних услова складиштења конзерви свакако је од велике важности, при чему је обавеза произвођача да на декларацији поред осталих података наведе и режим топлотне обраде и температуру складиштења, јер и потрошачи сnose део одговорности у очувању квалитета конзерви поштовањем дефинисаних услова складиштења (*Henderikx, 2017*).

Провера безбедности и квалитета конзервисаних производа од меса за потребе ВС, врши се у току производње у производним погонима, након производње, односно приликом квалитативног пријема у магацинима произвођача, приликом квантитативног пријема у војним објектима, у току складиштења (два пута годишње, по потреби и чешће) и непосредно пре истека рока употребе.

### 2.6.1.1. Сензорна својства конзервисаних производа од меса

Сензорна анализа хране једна је од најбитнијих анализа при оцени њеног квалитета. Она представља незаобилазну карику у ланцу анализа и кључна је у доношењу коначне одлуке приликом квалитативног пријема и контроле хране.

Појам органолептика потиче од старогрчке речи „*organon*“, што значи орган. Термин „*sensus*“, старолатинског је порекла и означава чуло, а сензорна анализа се дефинише као наука о мерењу и вредновању својстава намирница коришћењем једног или више чула (*Radovanović i Popov-Raljić, 2000*).

Сензорна својства конзервисаних производа зависе пре свега од квалитета сировина и додатих састојака, од технолошког поступка производње, термичке обраде и од услова складиштења. Међутим, у току вишегодишњег складиштења долази до промена, како на лименкама тако и у садржају конзерви, што нарушава њен квалитет. У току топлотне обраде конзервисаних производа од меса, долази до промена у сензорним својствима садржаја, при чему се најчешће запажа смањење сочности меса и лошија текстура (*Crawford et al., 2010; Moeller et al., 2010*). У доступној литератури мало је података који се односе на промене сензорних својстава конзервисаних производа од меса у току вишегодишњег складиштења. *Pinter et al. (2009)* наводе да су у току трогодишњег складиштења конзерви са месним нареском најчешће запажене промене у виду корозије лименки (поклопац и шавови), издвајања масти, као и појава шупљина. Аутор наводи да постоје разлике у квалитету исте врсте производа у зависности од произвођача, квалитета лименки и појаве корозије у већем проценту (10%).

### 2.6.1.2. Најзначајнији микробиолошки параметри

Стерилисане конзерве су конзерве које су третиране топлотном обрадом на температури преко 100 °C. Време подвргавања конзерви прописаној температури је различито и зависи од многих фактора (врсте амбалажног материјала, врсте и димензије конзерви, врсте садржаја и сл). Као што је раније напоменуто, задатак стерилизације је да обезбеди да производ буде здравствено безбедан. Једна од контрола здравствене безбедности је и контрола микробиолошке исправности, у складу са важећом законском регулативом.



Микробиолошка испитивања конзерви вршена су у складу са Правилником („*Sl. glasnik RS*“, број 72/2010 и 62/2018) и Водичем (Anon, 2011). Вршено је одређивање броја микроорганизама - аеробних бактерија у 1 граму узорка, у складу са стандардом (SRPS EN ISO 4833-1:2014), и броја *Clostridium perfringens* у 1 граму узорка, у складу са стандардом (SRPS EN ISO 7937: 2010).

### 2.6.1.3. Најзначајнији хемијски и физичко-хемијски параметри

Два главна параметра која дефинишу сваки производ, па и конзервисане производе од меса, су безбедност и квалитет. У циљу испитивања квалитета и безбедности меса и производа од меса, користе се микробиолошке, токсиколошке, серолошке, сензорне, хемијске и друге анализе.

Хемијске анализе врше се ради оцењивања квалитета производа - нутритивне (хранљиве) вредности. Овим анализама одређује се присуство појединих природно садржаних састојака хране: протеина, масти, воде, угљених хидрата, витамина, минералних материја и др.

Први подаци о испитивању хране потичу од As Libaviusа из 1606. године, који је у свом раду „*De Judico Aquarum Mineralium*“ навео методе за испитивање минералних вода (Trajković et al., 1983). Из тог периода потичу и први подаци о квалитету хране и испитивању млека, сирћета, кафе, чаја и др. Прве квантитативне анализе хране односиле су се на одређивање беланчевина, масти, угљених хидрата и воде, јер су се ови састојци сматрали једино значајним у исхрани. Откриће физиолошког значаја витамина, макро и микроелемената, довело је до усавршавања метода њиховог одређивања. У аналитици хране, избор методе и њено правилно извођење може се спровести само ако се добро познају општи принципи на којима се метода заснива, као и особине састојака анализираних хране. Која ће метода анализе бити изабрана, зависи од врсте хране и њених састојака (Trajković et al., 1983).

Хемијски параметри квалитета конзервисаних производа од меса за потребе Војске Србије дефинисани су СО и ТС (SO, 1998; TS, 2012). Од хемијских параметара контролирани су: проценат протеина, масти, воде, скроба и кухињске соли. Од физичко-хемијских параметара контролисана је рН вредност.

### 3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ

#### 3.1. Бели лим и лименке

Као амбалажа за израду конзервисаних производа од меса коришћене су лименке произведене од белог лима (хладноваљани челични лим који је превучен слојем калаја електролитичким поступком), дводелне и троделне, цилиндричног облика, чије су уздужне ивице тела спојене електроварењем (уметањем бакарне жице).

Квалитет лима за израду металних лименки одговарао је Српском стандарду (*SRPS EN 10202:2007; SRPS EN 10205/2017*), са додатним захтевима које је имала војска у делу који се односи на нанос калаја и лака. Дебљина челичног лима (домаћег порекла) била је: 0,155 mm за дно и тело лименке, односно 0,150 mm за поклопце за дводелну вучену лименку ( $\emptyset$  73x29,5 од 100 g); 0,180 mm за дно и тело лименке, односно 0,150 mm за поклопце за троделне лименке ( $\emptyset$  73/70x43 од 150 g); 0,190 mm за дно, 0,210 mm за тело и 0,180 mm за поклопце за троделне лименке ( $\emptyset$  99/96x63 од 400 g и  $\emptyset$  99/192x63 од 900 g), са двострано нанетом превлаком калаја (први нанос легура гвожђа и калаја и други нанос чист слободан калај). Бели лим за израду лименки за војне потребе имао је нанос масе калаја од  $5,6 \text{ g m}^{-2}$  на унутрашњој и спољашњој површини (ознака Е-5,6/5,6), што је дупло већа вредност у односу на лименке исте врсте за цивилно тржиште, код којих је нанос масе калаја износио  $2,8 \text{ g m}^{-2}$ .

На слој калаја је затим нанет слој полимерне превлаке у течном стању, а лакирање је вршено на ваљцима у два наноса. Све унутрашње површине лименки лакиране су епокси-фенолним алуминијум пигментираним лаком са најмањом вредношћу површинске масе од  $6 \text{ g m}^{-2}$ , а све спољашње површине лакиране су златним транспарентним лаком са најмањом вредношћу површинске масе од  $5 \text{ g m}^{-2}$ .

Хемијски састав челика за израду лименки одређен је методом оптичке емисионе спектрометрије на уређају BELEC Compact Port и приказан је у Табели 2.

Металне лименке су испуњавале и захтеве прописане Правилником о условима у погледу здравствене исправности предмета опште употребе који се могу стављати у промет ("*Sl. list SFRJ*", број 26/83, 61/84, 56/86, 50/89 и 18/91), као и

Правилником о граничној вредности укупног нивоа концентрације олова, кадмијума, живе и шестовалентног хрома у амбалажи или њеним компонентама, изузецима од примене и року за примену граничне вредности (“*Sl. glasnik RS*”, број 70/2009).

**Табела 2.** Хетијски састав челика за израду челичних ливенки (%)

C	Mn	Al	Cr	Si	Ni	P	Cu	S	Остало	Fe
0,070	0,270	0,060	0,050	0,020	0,010	0,010	0,003	0,007	0,200	99,525

Тврдоћа лима измерена је методом по *Rockwellu*. Затезне карактеристике лима одређене су на узорцима из обода ливенки, на уређају *Shimadzu servopulser*. Резултати су приказани у Табели 3.

**Табела 3.** Механичке катактеристике лима

Граница течења, МПа	Затезна чврстоћа, МПа	Издужење, %	Тврдоћа, HR30Т
430	440	4,9	74

Одређена је маса наноса калаја (тачка 7.1.2. стандарда SRPS EN 10202:2007) и маса наноса лака по m<sup>2</sup> (тачка 3.7.1. стандарда SRPS Z.M5.119:1980). Такође, контролисан је степен пријањања полимерне превлаке за тело, дно и поклопац ливенке споља и изнутра – адхезивност, континуалност превлаке (CuSO<sub>4</sub> тест) - порозност и термохемијска отпорност превлаке у чесменској води и саламури.

### 3.2. Течна и умрежена епоксидна смола

Течна, неумрежена епоксидна смола, добијена је од произвођача ливенки и њена структура је анализирана инфрацрвеном спектроскопијом са Фуријеовом трансформацијом (FTIR), као и протонском нуклеарно-магнетном резонанцом (<sup>1</sup>H NMR). FTIR спектар је снимљен одмах након отварања бочице са течним узорком смоле и поново након упаравања растварача на ваздуху („осушена смола“). <sup>1</sup>H NMR спектар је снимљен са осушеним узорком.

Узорак умрежене смоле добијен је пажљивим стругањем скапелом са унутрашње површине празне, некоришћене ливенке и анализиран IR спектроскопијом.

### 3.3. Конзервисани производи од меса

У истраживању су коришћени конзервисани производи од меса, произведени за потребе Војске Србије у индустријским објектима различитих произвођача, по стандардима одбране и техничким спецификацијама. Производи су конзервисани поступком стерилизације и складиштени у типским војним објектима који обезбеђују адекватне микроклиматске услове (температуру до мах 25 °С и влажност ваздуха до мах 75%). Оваква врста складиштења у раду је названа складиштењем под редовним условима.

Испитано је пет врста конзервисаних производа од меса, и то:

1. Говедина у сопственом соку – говеђи гулаш (у даљем тексту: ГГ), нето масе 400 и 900 грама;
2. Свињетина у сопственом соку – свињски паприкаш (у даљем тексту: СП), нето масе 400 и 900 грама;
3. Производ од уситњеног меса – месни нарезак (у даљем тексту: МН), нето масе 150 грама;
4. Јетрена паштета (у даљем тексту: ЈП), нето масе 100 грама;
5. Јело од меса у конзервама – ћуфте у парадајз сосу (у даљем тексту: ЋПС), нето масе 400 грама.

Стандардима одбране и Техничком спецификацијом за производњу наведених конзервисаних производа, дефинисани су: квалитет и количински однос полазних сировина и додатака; квалитет амбалаже; технолошки поступак производње; квалитет готовог производа; квалитативни и квантитативни пријем производа и гарантни рок. Такође, дефинисане су и сензорне особине производа, микробиолошка исправност као и важни хемијски параметри квалитета, као што су: проценат протеина као минимална вредност и проценат воде, масти, скроба и натријум хлорида као максималне вредности.

Опште карактеристике конзервисаних производа од меса и услови стерилизације дате су у Табели 4.

Такође, у истраживању су коришћене сировине, зачини и додаци који су коришћени за производњу ГГ и ЋПС.

Конзервисани производи од меса испуњавали су, поред услова прописаних у СО и ТС, и одредбе Закона о безбедности хране (*“Sl. glasnik RS”, broj 41/2009 и 17/2019*), Водича за примену микробиолошких критеријума за храну (*Anon., 2011*), одредбе из Правилника о квалитету уситњеног меса, полупроизвода од меса и производа од меса (*“Sl. glasnik RS”, broj 94/2015, 104/2015 и 19/2017*), одредбе Правилника о максимално дозвољеним количинама остатака средстава за заштиту биља у храни и храни за животиње и о храни за животиње за које се утврђују максимално дозвољене количине остатака средстава за заштиту биља (*“Sl. glasnik RS”, broj 22/2018*) и одредбе Правилника о декларисању, означавању и рекламирању хране (*“Sl. glasnik RS”, broj 19/2017 и 16/2018*).

**Табела 4.** Сировински састав, температура и време стерилизације конзервисаних производа од меса коришћених у експерименту (СО, 1998; ТС, 2012)

Назив производа	Говеђи гулаш	Свињски паприкаш	Месни нарезак	Јетрена паштета	Ћуфте у парадајз сосу
Састојци	Говеђе месо I категорије, говеђи лој топљени, суви црни лук, полуслатка млевена паприка, кухињска со.	Свињско месо I категорије, суви црни лук, полуслатка паприка млевена, слатка паприка млевена, кухињска со.	Свињско месо II категорије, говеђе месо II категорије, чврсто масно ткиво, суспензија кожица, лед, скроб, изолат соје, полифосфати, бели млевени бибер, коријандер, бели лук у праху, со за саламурење.	Свињско масно ткиво, свињска јетра, месо свињских глава, вода, изолат соје, суви црни лук, бели млевени бибер, коријандер, со за саламурење.	Јунеће месо I категорије, свињско месо II категорије, лук црни свежи, кухињска со, додатак јелу, млевена зачинска паприка - црвена слатка, бибер бели млевени, лук бели свежи, парадајз сос.
Нето маса	400 g 900 g	400 g 900 g	150 g	100 g	400 g
Т и време стерилизације	120 °C/70 min* 120 °C/120 min**	120 °C/70 min* 120 °C/120 min**	118 °C/50 min	120 °C/30 min	118 °C/105 min

\* За конзерве од 400 грама

\*\* За конзерве од 900 грама

У првом делу истраживања испитано је свих пет врста конзервисаних производа од меса, који су били складиштени до максимално шест година.

Испитан је утицај дужине периода складиштења, под редовним условима, на:

- миграцију токсичних елемената из металне амбалаже у садржај конзерви,
- миграцију ВРА из металне амбалаже у садржај конзерви,
- концентрацију макро и микроелемената.

У другом делу истраживања, испитане су сировине, зачини и додаци који су се користили за производњу ГГ и ЋПС. Такође, испитиван је и утицај врсте конзервисаног производа (ГГ и ЋПС), степена индукованог оштећења конзерви, дужине периода термостатирања и утицај различите температуре на:

- концентрацију токсичних, макро и микроелемената,
- концентрацију ВРА,
- микробиолошку исправност, и
- хемијске и физичко-хемијске параметре испитаних врста конзерви.

Конзерве ГГ произведене су 05.01.2016. године, док су конзерве ЋПС произведене 10.02.2016. године. Обе врсте конзерви имале су нето масу 400 грама.

У трећем делу истраживања извршена је сензорна анализа свих пет врста конзервисаних производа од меса (сензорне особине амбалаже и садржаја), складиштених у редовним условима.

### **3.4. Припрема узорака**

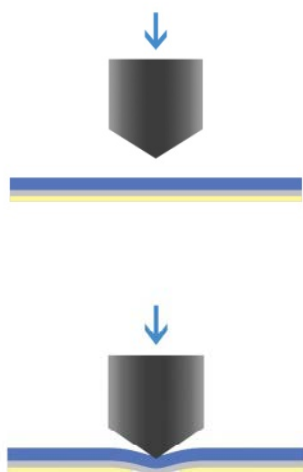
У првом и трећем делу истраживања, коришћени су узорци складиштени под уобичајеним (редовним) условима, без претходне припреме.

У другом делу истраживања, иницијална припрема узорака вршена је у Војнотехничком институту у Београду. Извршена је контролисана деформација поклопаца, дна и обода конзерви, са циљем да се оштети лак на унутрашњој површини конзерве. На тај начин су симулирана потенцијална оштећења која би могла настати услед неправилне манипулације у производним погонима, током транспорта од производње до потрошње, као и приликом манипулације и транспорта у теренским условима. На овај начин, индукованом деформацијом се убрзава контакт између метала и упакованог садржаја конзерве. Оштећења су индукована коришћењем дијамантског утискивача облика купе под углом од 120°,

на уређају за мерење тврдоће металних материјала, методом по *Rockwellu*. Оптимална дубина утискивања утискивача одређена је експериментално (најпре на празним, а затим и пуним конзервама), тако да дође до деформације лима која изазива оштећење лака, али не и до перфорације лима (Слика 9). Сила притиска (дубина утискивања) била је контролисана и истог интензитета код отисака на поклопцима и доњим површинама, а мања на ободу (телу) лименки.

Припремљене су две серије узорака конзерви са различитим степеном оштећења:

- Серија узорака са мањим степеном оштећења (у даљем тексту: МО), где су конзерве оштећене са 6 убода (3 убода на дну и 3 убода на поклопцу). Из ове серије, 16 узорака укупне површине оштећења од  $2 \text{ mm}^2$  до приближно  $6 \text{ mm}^2$ , складиштено је на температури од  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , док је 16 узорака укупне површине оштећења од  $4 \text{ mm}^2$  до  $6 \text{ mm}^2$ , складиштено на температури од  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ;
- Серија узорака са већим степеном оштећења (у даљем тексту: ВО), где су конзерве оштећене са 12 убода (6 убода на телу лименке, 3 убода на дну и 3 убода на поклопцу). Из ове серије, 16 узорака укупне површине оштећења од  $3,5 \text{ mm}^2$  до око  $10 \text{ mm}^2$ , складиштено је на температури од  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , док је 16 узорака укупне површине оштећења од  $5 \text{ mm}^2$  до  $10 \text{ mm}^2$ , складиштено на температури од  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ .



Слика 9. Шематски приказ индуковања оштећења

### 3.5. Испитивање утицаја врсте конзервисаног производа од меса и услова складиштења на миграцију токсичних супстанци

Утицај врсте конзервисаног производа од меса, степена оштећења конзерви, дужине периода складиштења и различитих температура складиштења на концентрацију токсичних, макро и микроелемената и ВРА у узорцима ГГ и ЋПС, испитан је у једногодишњем експерименту у коме су термостатиране неоштећене конзерве (у даљем тексту: НО, контролна група), као и конзерве са мањим и са већим степеном оштећења, на температури од 20 °С и 40 °С. Експеримент је изведен у термостатима марке „Mettler“ запремине 55 и 110 литара. Термостатирање узорака започето је 15.12.2016. године и тај дан је означен као „нулти дан“. Након периода од 3, 6, 9 и 12 месеци, термостатирање је прекидано, као и контакт између металне амбалаже и садржаја, конзерве су отворане и садржај испитиван на токсичне супстанце. За сваки одређени период термостатирања и температуре (20 °С и 40 °С) испитана су 24 узорка конзерви ГГ и 24 узорака конзерви ЋПС - НО, МО и ВО.

Такође, испитана је микробиолошка исправност садржаја испитаних конзерви, као и хемијске и физичко-хемијске особине садржаја конзерви.

Конзерве су према периоду термостатирања подељене у четири групе:

- I група: конзерве термостатиране 3 месеца,
- II група: конзерве термостатиране 6 месеци,
- III група: конзерве термостатиране 9 месеци,
- IV група: конзерве термостатиране 12 месеци.

### 3.6. Опрема, хемикалије и стандарди

#### 3.6.1. Анализа токсичних, макро и микроелемената

- Уређај за микроталасну дигестију Start D, Milestone (Soriso, Италија);
- Дејонизатор Elga Purelab option DV 35 (High Wycombe, UK);
- Најлонски филтери NY 0,45 µm;
- Индуктивно-куплована плазма са масеном спектрометријом (ICP-MS) “iCap Q” (Thermo Scientific, Bremen, Немачка);



- Азотна киселина ( $\text{HNO}_3$ ) 67% Trace Metal Grade, Fisher Scientific (Bishop, UK);
- Водоник-пероксид ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 30%, p.a. Sigma-Aldrich (St. Louis, MA, SAD);
- Хлороводонична киселина ( $\text{HCl}$ ) p.a. Sigma-Aldrich (St. Louis, MA, SAD);
- Дејонизована вода максималне проводљивости  $0,069 \mu\text{S/ml}$ ;
- Раствор за калибрацију TUNE B “iCap Q” (Ba, Bi, Ce, Co, In, Li,  $\text{U}^{-1} \text{mg l}^{-1}$  у 2%  $\text{HNO}_3$ + 0,5%  $\text{HCl}$ ), Thermo Scientific (Bremen, Nemačka);
- Појединачни основни стандардни раствори елемената (Na, K, Mg, Ca, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg, Pb, Al, Sn) концентрације  $1000 \pm 2 \text{mg l}^{-1}$  Reagecon (Shannon, Co. Clare, Irska). Од основних стандардних раствора направљена су разблажења у 2%  $\text{HNO}_3$  до радних калибрационих раствора (Табела 5). Калибрациона крива је садржала пет тачака (укључујући нулу) за сваки елемент;
- Основни мултиелементарни интерни стандард ( ${}^6\text{Li}$ ,  ${}^{45}\text{Sc}^{-10} \text{ng ml}^{-1}$ ;  ${}^{71}\text{Ga}$ ,  ${}^{89}\text{Y}$ ,  ${}^{209}\text{Bi}^{-2} \text{ng ml}^{-1}$ ), VHG Labs (Манчестер, САД). Од основног мултиелементарног интерног стандарда направљен је радни раствор који је увођен у систем заједно са узорцима ( ${}^6\text{Li}$ ,  ${}^{45}\text{Sc}^{-5} \text{pg ml}^{-1}$ ;  ${}^{71}\text{Ga}$ ,  ${}^{89}\text{Y}$ ,  ${}^{209}\text{Bi}^{-1} \text{pg ml}^{-1}$ );
- Сертификовани референтни материјали NIST 1577 с-говеђа јетра, Gaithersburg, MD, SAD);
- Злато (III)-хлорид ( $\text{AuCl}_3$ )  $\geq 99,99\%$  trace metal basis, Sigma-Aldrich (St. Louis, MA, SAD);
- Гас за формирање и хлађење плазме - аргон 5,0 (чистоће 99,999%) и
- Гас за KED режим рада - хелијум 5,0 (чистоће 99,999%).

Табела 5. Концентрације калибрационих раствора елемената ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )

Метал	c1	c2	c3	c4
As, Cd, Hg	0,1	0,2	1	2
Pb	1	2	10	20
	c1	c2	c3	c4
Fe, Zn, Cu, Mn, Se, Cr, Co, Ni, K, Na, Mg, Ca, Al	0,1	0,2	1	2
Sn	1	2	10	20

### 3.6.2. Анализа бисфенола А

- Dionex ultimate 3000 (HPLC, Thermo Fischer Scientific);
- TSQ Quantum Access MAX (Масени спектрометар Thermo Fischer Scientific);
- Shimadzu UV1800;

- Ацетонитрил (ACN), метанол;
  - Глацијална сирћетна киселина;
  - Амонијак (25%);
  - Дисперзивни SPE (QuEChERS);
  - Бисфенол А: стандард [IUPAC: 4,4'- (propan-2-ylidene) difenol];
  - MgSO<sub>4</sub>, NaCl, смеша MgSO<sub>4</sub>, PSA и C18;
  - 3% сирћетна киселина, 10% етанол, 50% етанол.
- SRPS CEN/TS 14235:2008. Материјали и предмети у додиру са прехранбеним производима - Полимерне превлаке на металним подлогама - Упутство за избор услова и метода испитивања за укупну миграцију.
- SRPS CEN/TS 13130-13:2008. Материјали и предмети у додиру са прехранбеним производима - Супстанције из пластичних маса које подлежу ограничењу - Део 13: Одређивање 2,2-bis (4-hidroksifenil) пропана (BPA) у симулаторима хране.
- SRPS EN 13130-23:2005. Материјали и предмети у додиру са прехранбеним производима - Супстанције из пластичних маса које подлежу ограничењу - Део 23: Одређивање формалдехида и хексметилентетрамина у симулантима хране.

### 3.6.3. Микробиолошка испитивања

#### 3.6.3.1. Испитивање укупног броја аеробних бактерија

- Стерилизатор за суву стерилизацију, или аутоклав за влажну стерилизацију;
- Инкубатор (термостат) Сутјеска, подешен на температуру (30 ± 1) °C;
- Водено купатило, које може да одржава температуру на 44 °C до 47 °C;
- рН-метар, са тачношћу од ± 0,1 рН-јединице на 25 °C;
- Петријеве плоче, израђене од пластике, пречника 90 mm;
- Градуисане пипете са потпуним пражњењем, називне запремине 1 ml;
- Епрувете, балони и боце, одговарајуће запремине;
- Опрема за бројање колонија.

#### 3.6.3.2. Испитивање броја *Clostridium perfringens*

- Уређај за хомогенизовање (Stomacher);
- Водено купатило, за термостатирање на температури између 44 °C и 47 °C;

- Mekintoš („McIntosh“) посуда за продукцију анаеробних услова, укључујући систем за проверу анаеробних услова;
- инкубатор (термостат) Сутјеска, подешен на температуру од  $37 \pm 1$  °C;
- Пертијеве плоче, пречника 90 mm;
- Епрувете, градуисане пипете са мерама 16 mm × 160 mm, и
- Балони или боце запремине 500 ml.

### 3.6.3.3. Реагенси и стандарди за микробиолошка испитивања

- подлога-плоча са агаром: агар за укупни број (Plate Count Agar, PCA);
- подлога за одређивање броја *Clostridium perfringens* (сулфит-цикloserин агар);
- тиогликолатни бујон (подлога за анаеробе);
- лактоза-сулфитна подлога;
- раствор 4% D-цикloserина;
- слани пептонски раствор за разблаживање (према ISO 6887-1:1999, 5.2.1.);
- кесице које садрже супстанцу за стварање анаеробних услова, „VICOR“;
- SRPS EN ISO 4833-1:2014. Микробиологија ланца хране - Хоризонтална метода за одређивање броја микроорганизама - Део 1: Бројање колонија на 30 °C техником наливања плоче;
- SRPS EN ISO 7937:2010. Микробиологија хране и сточне хране- Хоризонтална метода за одређивање броја *Clostridium perfringens* - Техника бројања колонија;
- SRPS EN ISO 7218:2008. Микробиологија намирница за људску исхрану и намирница за исхрану животиња - Општа правила микробиолошких испитивања.

### 3.6.4. Испитивање хемијских и физичко-хемијских параметара

- Аналитичка вага са тачношћу  $\pm 0,1$  mg;
- Апарат за брзо одређивање протеина методом по *Kjeldahl-u*;
- Апарат за екстракцију масти по *Soxhlet-u*;
- Решо и кивете за разарање узорака; Пећ за жарење;
- Диспензори од 2, 5, 10 и 25 ml;
- Ерленмајери од 100, 200 и 300 ml;
- Аутоматска бирета од 25 ml, Трбушасте пипете од 20 ml;
- Стаклени левак, пречника 10 cm;
- Посуда за сушење, сушница и ексикатор;

- Левак за екстракцију (Buchi, Switzerland); Филтер папир, наборани;
- рН метар “EUTECH” рН 700;
- Сумпорна киселина, концентрована - Fisher (Loughborough, UK);
- Водоник-пероксид, концентрован - Zorka Pharma (A.D. Šabac);
- Катализатор:  $K_2SO_4$  и  $CuSO_4$  (10:1) - Alkaloid AD (Skopje, Makedonija);
- Натријум хидроксид, 33% раствор - Merck (Darmstadt, F.R. Germany);
- 0,2 М HCl (p.a.) - Merck (Darmstadt, F.R. Germany);
- 0,2 М NaOH (p.a.) - Merck (Darmstadt, F.R. Germany);
- Метил-оранж, 0,1% раствор - Schering A.G. (Berlin, Germany);
- Петролетар или етар безводни - Carlo Erba (Rodano MI, Milano, Italy);
- Кварцни песак - Zorka Pharma (A.D. Šabac);
- Сребро нитрат, 0,1М раствор - Merck (Darmstadt, F.R. Germany);
- Калијум хромат, 10% раствор - Merck (Darmstadt, F.R. Germany);
- Сертификовани референтни материјал - American Proficiency Institute (API) - 2016 Food Chemistry -1st Event - MEAT MT-01; MT- 02 - производи од меса (сертификовани параметри: протеини, со, вода и маст);
- SRPS ISO 937:1992: Месо и производи од меса - Одређивање садржаја азота (референтна метода);
- SRPS ISO 1444:1998: Месо и производи од меса - Одређивање садржаја слободне масти (референтна метода);
- SRPS ISO 1442:1998: Месо и производи од меса - Одређивање садржаја влаге (референтна метода);
- SRPS ISO 2917:2004: Месо и производи од меса - Мерење рН (референтна метода).

### 3.7. Методе испитивања

#### 3.7.1. Стереомикроскопија

Сtereo-микроскоп Leica 2015A, опремљен камером 295 DFC, коришћен је за визуелну контролу индукованих оштећења на унутрашњој површини конзерви у фази одређивања оптималне дубине продирања утискивача и након излагања узорак повишеним температурама. Површине оштећења, односно контакта калајне превлаке са садржајем конзерве, сликане су при увећању од 8 до 160x и мерене употребом софтвера за обраду слике LAS - Leica Application Suite.

Мерене су површине оштећења на по две конзерве за сваку комбинацију параметара (период и температура), с тим што је једна група конзерви била са мањим оштећењима, по 3 убода на дну и поклопцу (МО), а друга група са већим оштећењима, по 3 убода на дну и поклопцу и 6 на ободу (ВО).

#### 3.7.2. Скенирајућа електронска микроскопија са енергодисперзионом анализом X-зрака (SEM/EDS)

Метода SEM/EDS је коришћена за идентификацију оштећења (пуцања) лака при индукованом оштећењу, односно одређивању оптималне дубине продирања утискивача. Идентификација је извршена поређењем спектра добијених EDS анализом (квалитативном анализом хемијског састава) унутрашње површине лименке са и без оштећења.

#### 3.7.3. FTIR спектроскопија

FTIR спектри су снимљени на инструменту IRAffinity<sup>-1</sup> (Shimadzu, Јапан). Спектар неумрежене, течне смоле (~10  $\mu\text{L}$ ), снимљен је на KBr плочици, док је спектар умрежене смоле снимљен на пастили добијеној пресовањем спрашеног KBr са узорком пажљиво саструганим са унутрашње површине празне лименке. Спектри су колектовани у опсегу 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ , са резолуцијом 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 3.7.4. <sup>1</sup>H NMR спектроскопија

<sup>1</sup>H NMR спектар (200 MHz) неумрежене, растворне епоксидне смоле снимљен је на Varian Gemini-200 инструменту (Varian, USA). Узорци су били растворени у деутерисаном хлороформу ( $\text{CDCl}_3$ ), а као интерни стандард коришћен је тетраметилсилан [TMS,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ ].

### 3.7.5. Одређивање концентрације токсичних, макро и микроелемената помоћу ICP-MS

Идентификација и одређивање концентрације елемената вршено је методом индуктивно купловане плазме са масеним спектрометром. Метода за припрему и анализу конзервисаних производа од меса, валидована је и акредитована у Институту за хигијену и технологију меса у Београду, под називом „Одређивање хемијских елемената (арсена, живе, олова, кадмијума, бакра, цинка, гвожђа, калаја, хрома мангана, селена, никла, кобалта, антимоно, алуминијума, натријума, калијума, калцијума и магнезијума) применом индуктивно - купловане плазме са масеном детекцијом (ICP-MS)“ (интерна шифра 02R. 01.214).

Након отварања конзерви, садржај је хомогенизован у електричном хомогенизатору. Око 0,5 g хомогенизованог садржаја одмеравано је на аналитичкој ваги у тefлонску посуду за микроталасну дигестију, а затим је додато 5 ml HNO<sub>3</sub> и 1,5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Микроталасни програм се састојао од три фазе: прва фаза - 5 минута од собне температуре до 180 °C, друга фаза - 10 минута на 180 °C, трећа фаза - 20 минута хлађења. Након тога, дигестовани узорци су процеђени кроз најлонске филтере у полипропиленске кивете за аутосамплер и коришћени за одређивање на ICP-MS. Неопходни услови за одређивање елемената приказани су у Табели 6.

**Табела 6.** Радни услови одређивања елемената методом ICP-MS

РФ снага	1550 W
Проток гаса за хлађење	14 l min <sup>-1</sup>
Проток распршивача	1 l min <sup>-1</sup>
Проток колизионог гаса	1 ml min <sup>-1</sup>
Режим рада	Kinetic Energy Discrimination (KED)
Време задржавања	10 ms
Спољашњи конус (Sampling cone)	Платински, 1 mm пречник отвора
Унутрашњи конус (Skimmer cone)	Платински, 0,75 mm пречник отвора

Раствор AuCl<sub>3</sub> ( $c=2 \text{ mg L}^{-1}$ ) се у ICP-MS систем уводио преко интерног стандарда у циљу спречавања „меморијског ефекта“ живе која адхерира на унутрашње површине система и задржава се на њима различито време, што доводи до

добиања нерепродуктивних резултата. Јони злата реагују са заосталим јонима живе амалгамишући је, те тако долази до уклањања живе из ICP-MS система. Током сваког читавања у систем се, истовремено са узорцима, уводио и радни раствор интерног стандарда. Интерни стандард је обухватао елементе ниских, средњих и високих маса. Читавање вредности испитиваних елемената и вредности елемената из интерног стандарда вршено је софтвером за аквизицију података, који их је исказивао као процентуални удео иницијалног читавања.

На основу читаних вредности интерног стандарда, кориговане су добијене концентрације елемената у узорку за проценат смањења или повећања интензитета интерног стандарда. Тиме су компензоване све евентуалне промене у спроводном и детекционом систему уређаја у току читавања сваког појединачног узорка. Софтвер је обављао израчунавање садржаја елемената у узорку на основу једначине калибрационе праве за сваки елемент, одвагу узорка и разблажење, као и корекцију на основу промене читавања интерних стандарда.

Пре сваког читавања елемената, аутоматски су подешени параметри ICP-MS уређаја коришћењем основног раствора за калибрацију (Tune B). Након аутоматског подешавања инструмента, истим раствором су проверавани интензитети елемената у раствору.

Валидација методе рађена је по „Водичу за одређивање нумеричких вредности за критеријуме аналитичких метода и њихово потврђивање“ (Guidelines for Single Laboratory Validation (SLV) of Chemical Methods for Metals in Food (AOAC)) и у складу са важећим прописима Републике Србије у погледу максимално дозвољених концентрација елемената у храни. Параметри добијени у поступку валидације методе приказани су у Табели 7.

Контрола квалитета (Табела 8) спровођена је анализом сертификованог референтног материјала NIST 1577c (говеђа јетра), у свакој партији анализираних узорака. Референтни материјал припреман је коришћењем микроталасне дигестије. Измерене концентрације, кориговане за факторе одзива интерног стандарда, биле су у опсегу прописаних вредности за све изотопе. Имајући у виду да референтни материјал не садржи Hg, Al и Sn, приноси (92-107%) су одређивани помоћу обогачених узорака ( $c=10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ).

Табела 7. Параметри одређени валидацијом методе за одређивање елемената

Елемент	Граница детекције	Граница квантификације	Прецизност
	$\mu\text{g kg}^{-1}$	$\mu\text{g kg}^{-1}$	%
As	1,2	4	3,57
Cd	0,4	1	8,99
Pb	2	3,8	3,65
Hg	0,3	0,9	6,90
	$\text{mg kg}^{-1}$	$\text{mg kg}^{-1}$	%
Cu	0,022	0,066	6,26
Fe	0,08	0,23	4,71
Zn	0,124	0,372	10,52
Mn	0,004	0,011	4,47
Cr	0,002	0,007	4,47
Co	0,004	0,013	4,24
Ni	0,050	0,145	9,19
Se	0,011	0,032	10,94
K	2,21	6,63	2,85
Na	5,58	16,76	7,02
Ca	3,08	9,24	3,64
Mg	0,13	0,40	3,03
Al	0,15	0,45	5,56
Sn	0,20	0,40	8,57

Табела 8. Резултати контроле квалитета одређивања концентрације елемената

Елемент	Сертификована вредност*	Измерена вредност**	Принос
	$\mu\text{g kg}^{-1}$	$\mu\text{g kg}^{-1}$	%
As	19,3 ± 1,4	20,5 ± 1,1	106,2
Cd	97 ± 1,4	97,9 ± 2,6	100,9
Pb	62,8 ± 1,0	63,3 ± 2,6	100,8
Hg	-	-	-
	$\text{mg kg}^{-1}$	$\text{mg kg}^{-1}$	%
Cu	275,2 ± 4,6	271,9 ± 5,7	98,8
Fe	197,94 ± 0,65	197,43 ± 5,21	99,7
Zn	181,1 ± 1,0	180,9 ± 1,8	99,9
Mn	10,46 ± 0,47	10,55 ± 0,25	100,9
Cr	53 ± 14	51 ± 2,8	96,2
Co	0,3 ± 0,018	0,31 ± 0,016	103,3
Ni	44,5 ± 9,2	52,7 ± 4,3	118,4
Se	2,031 ± 0,045	2,055 ± 0,066	101,2
K	10230 ± 640	10540 ± 300	103,0
Na	2033 ± 64	2011 ± 140	98,9
Ca	131 ± 10	125 ± 4	95,4
Mg	620 ± 42	631 ± 19	101,8

\* Сертификована вредност од стране произвођача

\*\* Вредности су представљене као средња вредност ± стандардна девијација



### 3.7.6. Одређивање концентрације бисфенола А помоћу HPLC-MS

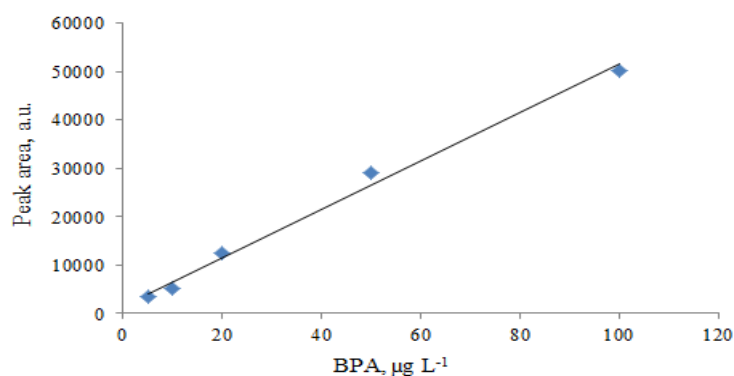
Испитивање концентрације ВРА вршено је методом у складу са стандардима SRPS CEN/TS 14235:2008, Материјали и предмети у додиру са прехранбеним производима - Полимерне превлаке на металним подлогама - Упутство за избор услова и метода испитивања за укупну миграцију и SRPS CEN/TS 13130-13:2008: Материјали и предмети у додиру са прехранбеним производима - Супстанције из пластичних маса које подлежу ограничењу-део 13: Одређивање 2,2-бис (4-хидроксифенил) пропана (ВРА) у симулаторима хране. Након прекидања контакта са лименком, узорак садржаја је екстрахован ацетонитрилом, а екстракт пречишћен QuEChERS методом. Концентрација ВРА одређивана је методом високоефикасне течне хроматографије са масеном спектрометријом (HPLC-MS), на апарату Dionex Ultimate 3000 HPLC (Thermo Fischer Scientific) у спрези са TSQ Quantum Access MAX MS (Масени спектрометар, Thermo Fischer Scientific).

Узорак је хомогенизован у блендеру и део од 10 g је узет за анализу. Затим су додати: 10 ml ацетонитрил и смеша од 4 g MgSO<sub>4</sub> и 1 g NaCl. Добијена смеша је опет хомогенизована на Vortex-у (5 минута на 3000 обртаја). Затим је 1,5 ml пребачено у кивету за центрифугирање која садржи 150 mg MgSO<sub>4</sub>, 50 mg PSA (примарни-секундарни амин) и 50 mg C18 и поново хомогенизован 5 минута на 3000 обртаја. Супернатант (1 ml) је пребачен у кивету и растварач је упарен у струји азота. Остатак је растворен у 1 ml смесе ACN и воде (1:1), профилиран и 20 µL овог раствора ињектовано је у HPLC-MS. Стаклено посуђе је пре употребе испрано метанолом и осушено на 100 °C.

Раздвајање је изведено помоћу колоне Ассисоге-С18 (честице пречника 2,6 µm). HPLC систем је спојен са масеним спектрометром преко јонског (електроспреј) извора (ESI). Аналити су идентификовани помоћу њихових хроматографских карактеристика и специфичних фрагментација. У ESI - негативном моду, мобилна фаза је била градијентна смеша 0,1% амонијака у води и метанолу. Температура пећи износила је 40 °C, а проток мобилне фазе био је 0,3 ml min<sup>-1</sup>.

Квантификација је извршена на основу калибрационе криве конструисане помоћу комерцијалног ВРА са матрицом - узорком ГГ пре стерилизације. Утврђено је да

концентрација ВРА у ГГ пре стерилизације износи мање од 2 ppb. Калибрациона крива са пет тачака: 5, 10, 20, 50 и 100 ppb ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) ВРА приказана је на Слици 10. Финални раствор ВРА од 20  $\mu\text{l}$  убризган је у HPLC-MS (три репликата). Коефицијент корелације ( $r^2$ ) био је 0,9927. Концентрације које дају висине пикова које су три, односно десет пута веће од стандардне девијације основног сигнала, дефинисане су као граница детекције (LOD) и граница квантификације (LOQ), респективно. Утврђено је да је LOD износио 2 ppb, док је LOQ износио 5 ppb.



Слика 10. Калибрациона крива за одређивање ВРА: површина HPLC пика у зависности од концентрације ВРА

Три репликата одређеног узорка ГГ, као и узорка ЋПС, анализирана су да би се испитала поновљивост примењене методе за одређивање ВРА. Затим је истим узорцима ГГ и ЋПС додат стандардни раствор ВРА, како би се постигла концентрација виша за 20  $\mu\text{g kg}^{-1}$  од претходно одређене. ВРА је поново екстрахован и квантификован и израчунат је његов „опоравак“ (енгл. *recovery*).

### 3.7.6.1. Одређивање специфичне миграције у модел растворе - симуланте хране

Тестови миграције су урађени у складу са европским законодавством. По три лименке, предвиђене за пуњење и стерилизацију, биле су испуњене са 400 ml модел раствора-симуланата хране (3% сирћетном киселином, 10% етанолом, смешом 3% сирћетне киселине и 10% етанола и 50% етанолом) и након тога херметички затворене. Након затварања, по две лименке испуњене одређеним симулантом су термостатирани у току 90 мин на 120 °C, а затим складиштене на 60 °C у току 10 дана, у складу са условима утврђеним ЕУ Регулативом (*No*

10/2011), док трећа лименка није подвргнута стерилизацији. За једну стерилизовану лименку контакт полимерне превлаке са симулантом је прекинут одмах након стерилизације, отварањем и изливањем раствора. Преостала стерилизована и нестерилизована лименка су термостатиране на 60 °C, 10 дана, у складу са европском регулативом. Након термостатирања, лименке су отворене и контакт са симулантом је прекинут. Укупна миграција и специфична миграција одређених органских једињења, одређене су из ових раствора.

Из симуланата хране је, након предвиђеног контакта са унутрашњом површином лименке, одређена специфична миграција формалдехида и ВРА. Формалдехид је одређен спектрофотометријском методом на инструменту Schimadzu UV1800 (SRPS EN 13130-23:2005 - Материјали и предмети у додиру са прехранбеним производима - Супстанције из пластичних маса које подлежу ограничењу: Део 23: Одређивање формалдехида и хексметилентетрамина у симулантима хране. Формалдехид реагује са хромотропном киселином у присуству H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Овај раствор се снима на спектрофотометру, на таласној дужини 574 nm.

Бисфеној А одређен је на начин описан у Поглављу 3.7.6., течном хроматографијом са масеним детектором.

### **3.7.7. Анализа сензорних карактеристика конзервисаних производа од меса**

Сензорно испитивање вршено је код пет врста конзервисаних производа од меса, са периодом складиштења од 3 месеца до 6 година, и то: ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС.

Конзервисани производи су произведени у шест различитих индустријских објеката за прераду меса, који су у одређеним годинама имали закључен уговор са ВС, по истим рецептурама прописаним у СО и ТС. За испитивање су коришћене и конзерве којима је истекао рок употребе (након четири године), а све у циљу утврђивања карактера и степена промена у сензорним својствима.

Испитивање сензорних параметара квалитета вршено је у просторијама које су пројектоване према захтевима стандарда SRPS EN ISO 8589:2012, од стране шест сертификованих стручних лица - експерата. Одабир, обука и праћење способности оцењивача извршено је према стандарду SRPS EN ISO 8586-2:2012.

### 3.7.7.1. Поступак анализе и анализирани параметри

Сензорно испитивање конзервисаних производа од меса вршено је у охлађеном стању, на собној температури (МН и ЈП), односно након загревања (ГГ, СП и ЋПС). Најпре је извршено испитивање спољашњих и унутрашњих површина конзерви, а затим испитивање садржаја, упоређивање сензорних параметара квалитета у току шест година складиштења, као и утицај произвођача на сензорне промене. Сензорна оцена дата је квантитативно, дескриптивном анализом, SRPS ISO 6658:2013 и SRPS ISO 4121:2013. Свака врста конзерви оцењена је у шест понављања (шест оцењивача), при чему је свако понављање рађено у дупликату.

Анализирано је пет сензорних параметара квалитета. Код ГГ, СП и ЋПС анализирани су: спољашњи изглед и/или стање амбалаже; изглед и састав пресека; боја и одрживост боје; мирис и укус (посебно меса и прилога); текстура и/или сочност (посебно меса и прилога). Код МН и ЈП анализирани су: спољашњи изглед и/или стање амбалаже; изглед и састав пресека; боја и одрживост боје; мирис и укус и текстура и/или сочност.

Свака особина је оцењена оценама од 1 до 5. У циљу добијања оцене за укупни сензорни квалитет, оцене за сваку сензорну особину помножене су са коефицијентом значајности и то: спољашњи изглед и/или стање амбалаже - 2; изглед и састав пресека - 4; боја и одрживост боје - 3; мирис и укус меса - 4; мирис и укус прилога - 3; текстура и/или сочност меса - 2; текстура и/или сочност прилога - 2. Код производа који не садрже прилог (МН и ЈП) коефицијент значајности за мирис и укус, и код једног и код другог производа је 7, док је коефицијент значајности за текстуру код МН 4, а код ЈП 5. Након сабирања коригованих оцена, добијена вредност је подељена са 20 (збир коефицијената) чиме се добија оцена за укупан сензорни квалитет, која је у опсегу од 1 до 5.

### 3.7.8. Испитивање микробиолошке исправности

Испитивање микробиолошке исправности конзервисаних производа од меса вршено је према акредитованим методама. Производи су микробиолошки испитани према критеријумима препорученим у Водичу за примену микробиолошких критеријума за храну, (Анон., 2011). У узорцима је одређиван

број микроорганизама - аеробних бактерија, и број *Clostridium perfringens* према методологији описаној у стандардима SRPS EN ISO 4833-1:2014 и SRPS EN ISO 7937:2010. Обрада резултата рађена је по стандарду SRPS EN ISO 7218:2008,2013.

Пре узорковања, вршена је дезинфекција прибора за отварање конзерви, као и самих конзерви на местима отварања. У стерилисаном хомогенизатору узорак је уситњен и од тако припремљеног узорка узето је по 10 грама секундарног узорка, у којем је доказивано присуство бактерија.

### 3.7.8.1. Испитивање укупног броја аеробних бактерија

Одређивање броја микроорганизама, вршено је по напред наведеном стандарду, хоризонталном методом за одређивање броја микроорганизама, бројањем колонија на 30 °C техником наливања плоче. Одмерена количина узорка стави се на празну Петријеву плочу и помеша са утврђеном отопљеном подлогом за културу са агаром да би се добила наливена плоча. Плоче се инкубирају у аеробним условима на 30 °C током 72 h. Припремљена подлога са агаром се загрева и подеси се рН тако да после стерилизације буде  $7,0 \pm 0,2$  на 25 °C. Подлога се подели у епрувете одговарајуће запремине, стерилише се у аутоклаву на 121 °C током 15 минута и охлади се на 44 °C до 47 °C, а пре почетка испитивања потпуно се отопи. Број микроорганизама по граму узорка израчунава се из броја колонија, добијених у плочама које садрже мање од 300 колонија.

### 3.7.8.2. Хоризонтална метода за испитивање броја *Clostridium perfringens*

*Clostridium perfringens* је бактерија која формира карактеристичне колоније (црни талог, настао услед редукције сулфита у сулфид, који боји колоније у црно), на утврђеној селективној подлози. Одређивање броја *Clostridium perfringens* у једном граму узорка, извршено је у складу са напред наведеним стандардом, одређивањем броја, хоризонталном методом, техником бројања колонија, на следећи начин: Стерилном опремом се одмери 25 грама узорка и стави у стомахер кесу у којој се налази 225 ml пуферизоване пептонске воде. Након тога се врши хомогенизација, где се добија основно разблажење. Од тако припремљеног раствора узима се по 1 ml и стави на две стерилне Петријеве плоче. Исти принцип

је поновљен са осталим разблажењима -  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Након тога се додаје селективна подлога (сулфит-циклосерин агар, SC), плоче се анаеробно инкубирају на температури од  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , током  $20 \pm 2\text{ h}$ . Затим се налије 10-15 ml SC агара, одржаваног на температури од  $44-47\text{ }^{\circ}\text{C}$  у воденом купатилу, на претходно нанесен 1 ml основног разблажења и добро измеша са инокулатом. Када слој очврсне, додаје се још 10 ml SC агара и инкубира на  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , током  $20 \pm 2\text{ h}$ . Израчунавање се врши бројањем карактеристичних црних колонија, а оне се потврђују пресејавањем у течну подлогу тиогликолатног бујона. Инкубира се у анаеробним условима на  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  током 18-24 сата. Росле тога се пренесе 5 капи тиогликолатног бујона на лактоза-сулфит подлогу и инкубира се аеробно на  $46\text{ }^{\circ}\text{C}$  током 18-24 часа у воденом купатилу. Карактеристично је стварање гаса у Дурхамовим цевчицама и присуство талога црне боје.

### 3.7.9. Одређивање хемијских и физичко-хемијских параметара

Одређивање хемијских и физичко-хемијских параметара конзервисаних производа од меса вршено је према акредитованим аналитичким методама. Хемијски параметри квалитета дефинисани су у СО и ТС. Од хемијских параметара квалитета, одређивани су: проценти протеина, масти, воде и проценат натријум хлорида. Од физичко-хемијских параметара, одређивана је рН вредност.

#### 3.7.9.1. Одређивање протеина

Одређивање протеина у узорцима вршено је референтном методом SRPS ISO 937:1992, на следећи начин: Након хомогенизације, око 1 g узорка се стави у кивету за минерализацију, пажљиво се додаје 10-12 ml концентроване  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , благо промеша и остави да стоји пар сати да би се узорак спонтано разорио на собној температури. Затим се додаје 10 ml концентрованог  $\text{H}_2\text{O}_2$ , сачека да се смири бурна реакција, дода се око 2 g катализатора и остави да стоји 5-10 минута. Кивете се ставе у пећ за разарање на температури од  $420\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Спаљивање траје од 45 до 60 минута, док раствор не постане бистар или светлозелено обојен. Када се кивете охладе, у сваку кивету се дода по 60 ml дестиловане воде уз мешање да би се избегла кристализација сулфата. Потом се узорак пренесе на уређај за дестилацију по *Kjeldahl-u* и дестилат прихвата у ерленмајер са 20 ml 0,2 M HCl.

У присуству катализатора и уз загревање узорка са концентрованој сумпорном киселином, органске материје се оксидују до угљене киселине, а азот који се том приликом ослобађа у облику амонијака гради са сумпорном киселином амонијум-сулфат. На основу одређене количине амонијака, прерачунава се количина азота и уз помоћ корективног фактора израчуна укупна количина протеина у испитиваном узорку.

### 3.7.9.2. Одређивање масти

Одређивање слободне масти вршено је референтном методом SRPS ISO 1444:1998. Екстракција масти петролетром (40 °C - 60 °C), из осушеног дела узорка, вршена је коришћењем апарата по *Soxhlet-u*, где се растварач уклања дестилацијом и сушењем, а остатак се мери. Садржај слободне масти се изражава као проценат масе и представља количник масе масти екстаховане под условима описаним у овој методи и масе дела узорка за испитивање.

### 3.7.9.3. Одређивање воде

Одређивање воде вршено је референтном методом SRPS ISO 1442:1998. Након хомогенизације, део узорка за испитивање је потпуно измешан са песком и сушен до константне масе у сушници на  $103 \pm 2$  °C.

### 3.7.9.4. Одређивање натријум хлорида

Одређивање NaCl вршено је методом по *Mohr-u*. Након минерализације узорка, остатак је растворен у води и садржај NaCl је одређен титрацијом раствором сребро-нитрата. У порцелански лончић одмерено је око 2 g припремљеног уситњеног узорка са тачношћу  $\pm 0,1$  mg. Узорак је спаљиван на решоу све док пепео није постао бео, или хомогено обојен, пазећи да се узорак не запали. Потом је жарен у пећи за жарење, прво на нижим температурама, а затим на 525 °C. Тако добијен пепео растворен је у дестилованој води и квантитавно пренешен у одмерену тиквицу од 100 ml која је затим допуњена водом. Раствор је филтриран, а 20 ml филтрата пренешено пипетом у ерленмајер од 100 ml, додато је 2 капи индикатора ( $K_2CrO_4$ ) и титрисано 0,1 M раствором  $AgNO_3$  до појаве постојане црвенкасте боје.

### 3.7.9.5. Одређивање рН вредности

Вредност рН узорака мерена је према стандарду SRPS ISO 2917:2004. Мерење је вршено на рН-метру “EUTECH” рН 700. Мерена је потенцијална разлика између стаклене и референтне електроде које су стављене у узорак меса, или одговарајућег производа од меса.

## 3.8. Статистичка обрада података

Експериментално добијени резултати мерења концентрација хемијских елемената у различитим узорцима конзервисаних производа од меса третирани су статистичким методама ради праћења тренда ових вредности у односу на степен оштећења конзерви, период складиштења, различите температуре и друге параметре од интереса.

Следеће методе су изабране као најефикасније за проверу почетних хипотеза постављених у овом истраживању, али и као подршка закључцима који су у току овог истраживања изведени.

Да би се било који статистички третман применио неопходно је утврдити расподелу података у одговарајућем скупу. У свим анализама за проверу нормалности расподеле података коришћен је *Shapiro-Wilk* тест. Скупови мерених података за које је утврђено да не подлажу нормалној расподели по *Shapiro-Wilk* тесту, надаље нису третирани статистичким методама, због различитих утицаја који су до одступања могли довести. Мерења идентификована као *outliers* нису коришћена у даљим анализама.

Вредности испод лимита детекције у статистичкој обради су коришћене као половине лимита детекције.

Скупови података који су нормално распоређени приказани су у облику  $SV \pm SD$  (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација) са распоном израженим кроз минималну и максималну вредност у датом скупу.

Статистичка значајност ( $p$ ) утврђивана је коришћењем *Studentovog t-testa* или *ANOVA* анализе, у зависности од структуре скупа. Ове методе су изабране ради



праћења утицаја одговарајућих параметара на хемијски састав хране у току периода складиштења.

Ради што боље слике о хемијском саставу узорака и њиховим међусобним односима одређене су корелације концентрација хемијских елеманата, а врста и степен ових корелација утврђена је коришћењем *Pearson's* корелационе анализе.

Поједини скупови података анализирани су и коришћењем РСА методе (*Principal component analysis*). Ова статистичка метода редукције броја променљивих у простору варијансе омогућава да се врло сликовито уочи структура унутар скупа мерења изражена кроз максималне разлике међу члановима. Ова анализа је искоришћена да се провери да ли је скуп конзерви који је коришћен у експрменту добро изабран за даља закључивања, као и да ли је период складиштења параметер који има значајан утицај у закључивању.

Све анализе извршене су коришћењем софтверског пакета *IBM SPSS Statistics 19*, док су графикони добијени коришћењем *Microsoft Excel* програмског пакета.

Статистичка анализа добијених вредности за оцену сензорних параметара квалитета обухватила је одређивање дескриптивних статистичких показатеља: меру централне тенденције, стандардну девијацију, стандардну грешку аритметичке средине, интервал поузданости, интервал варијације и коефицијент варијације.

Тестирање нормалности расподеле појединих особина конзервисаних производа од меса, на нивоу различитих узорака истих производа од меса, изведено је помоћу Колмогоров-Смирнов (*Kolmogorov-Smirnov*) теста, док је провера постојања разлика варијанси процењивана Левенсовим тестом (*Leven test*).

За поређење сигнификантних разлика између појединих сензорних особина конзервисаних производа од меса по годинама производње (периодима складиштења), коришћена је анализа варијансе (*ANOVA*) и Гамес-Ховелов Пост Хок тест (*Games-Howell Post Hoc test*).

Корелациона анализа оцена за сензорна својства конзерви у зависности од дужине складиштења урађена је одређивањем коефицијента Пирсонове (*Pearson's correlation*) линеарне корелације ( $r$ ) и статистичке значајности ( $p$ ).

Статистичка анализа изведеног експеримента урађена је у MS Excel-у 2007 и SPSS програмском пакету, верзија 20.

## 4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У оквиру овог рада одређен је садржај токсичних супстанци, токсичних елемената и ВРА, у узорцима различитих врста конзервисаних производа од меса, произведених за потребе Војске Србије. Производи од меса били су упаковани у лименке од белог лима, произведене у највећој српској фабрици металне амбалаже, а структура и својства белог лима и полимерне органске превлаке (лака) којом су лименке заштићене, детаљно су испитани.

Први део истраживања односио се на испитивање утицаја врсте конзервисаног производа и дужине периода складиштења у редовним условима на миграцију токсичних супстанци. Концентрација токсичних елемената одређена је у узорцима конзерви ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС, док је концентрација ВРА током складиштења одређена у узорцима ГГ и ЋПС.

У другом делу истраживања испитан је утицај врсте конзерви, степена оштећења конзерви и дужине периода термостатирања при различитим температурама на миграцију токсичних супстанци из металне амбалаже у упакован садржај. Концентрација токсичних елемената и ВРА одређена је у конзервама ГГ и ЋПС.

У последњем делу истраживања урађена је сензорна анализа пет врста конзервисаних производа од меса складиштених у редовним условима, и добијени резултати су корелисани са одговарајућим садржајем токсичних елемената.

### 4.1. Резултати испитивања хемијског састава и механичких карактеристика лима и лименки

Хемијски састав и механичке карактеристике челичног лима за израду металне амбалаже за конзервисане производе од меса приказани су у Табелама 2 и 3 (Материјали и методе), а добијени резултати били су у складу са прописаним стандардима. Просечне измерене вредности дебљине белог лима за израду различитих врста лименки дате су у Табели 9.

На основу добијених вредности може се констатовати да је дебљина лима на лименкама које су се користиле за производњу конзервисаних производа од меса за потребе Војске Србије била у складу са прописаним вредностима.

Табела 9. Резултати мерења дебљине лима (mm) код различитих врста лименки

Врста лименке	Део лименке	Минимална вредност	Максимална вредност	$\bar{x}$
троделне, Ø 99	тело	0,220	0,222	<b>0,221</b>
	дно	0,218	0,221	<b>0,219</b>
	поклопац	0,192	0,194	<b>0,193</b>
троделне, Ø 73	тело	0,189	0,191	<b>0,190</b>
	дно	0,183	0,187	<b>0,185</b>
	поклопац	0,154	0,157	<b>0,155</b>
дводелне вучене, Ø 73	тело	0,159	0,162	<b>0,160</b>
	дно	0,154	0,156	<b>0,155</b>
	поклопац	0,149	0,151	<b>0,150</b>

Резултати испитивања масе калаја показали су да су његове просечне вредности на унутрашњим површинама лименки износиле од 5,69 g m<sup>-2</sup> (поклопац) до 7,99 g m<sup>-2</sup> (дно), односно на спољашњим површинама лименке од 5,33 g m<sup>-2</sup> (дно) до 5,71 g m<sup>-2</sup> (дно), (Табела 10), што је у складу са захтеваном вредношћу од 5,6 g m<sup>-2</sup> коју је имала ВС, а која је била изнад вредности уобичајене код лименки за цивилну употребу (2,8 g m<sup>-2</sup>). Као што је раније поменуто, нанос масе калаја директно утиче на квалитет лименки - што је већи нанос калаја лименка је квалитетнија, обзиром да он директно утиче на одрживост и квалитет конзервисаних производа.

Табела 10. Резултати наноса масе калаја (g m<sup>-2</sup>) са додатним захтевом војске код различитих врста лименки

Врста лименке	Део лименке	Унутрашња површина			Спољашња површина		
		Минимална вредност	Максимална вредност	$\bar{x}$	Минимална вредност	Максимална вредност	$\bar{x}$
троделне, Ø 99	тело	5,78	6,77	<b>6,27</b>	5,10	5,91	<b>5,56</b>
	дно	6,29	9,70	<b>7,99</b>	5,62	5,80	<b>5,71</b>
	поклопац	5,41	9,31	<b>7,36</b>	5,36	5,85	<b>5,61</b>
троделне, Ø 73	тело	5,25	6,21	<b>5,73</b>	5,52	5,83	<b>5,68</b>
	дно	5,49	6,29	<b>5,89</b>	5,25	5,41	<b>5,33</b>
	поклопац	5,49	5,89	<b>5,69</b>	5,02	6,05	<b>5,54</b>
дводелне вучене, Ø 73	тело	5,25	6,21	<b>5,73</b>	4,86	5,97	<b>5,42</b>
	дно	5,25	6,21	<b>5,73</b>	4,86	5,97	<b>5,42</b>
	поклопац	4,94	6,92	<b>5,93</b>	4,98	6,05	<b>5,52</b>

Преко слоја калаја, лименке су допунски биле заштићене споља златним голд лаком, а изнутра сивим алуминијум пигментираним лаком. Резултати испитивања наноса лака код различитих врста лименки дати су у Табели 11. Резултати показују да су све лименке имале просечне вредности знатно више од захтева

војске (минимално  $6 \text{ g m}^{-2}$  за унутрашње површине лименки и минимално  $5 \text{ g m}^{-2}$  за спољашње површине лименки). Средње вредности су се кретале од  $7,32 \text{ g m}^{-2}$  (поклопац) до  $10,69 \text{ g m}^{-2}$  (поклопац) за унутрашњу површину лименки, односно од  $7,50 \text{ g m}^{-2}$  (тело) до  $12,74 \text{ g m}^{-2}$  (дно) за спољашњу површину лименки.

**Табела 11.** Резултати наноса органске превлаке - лака ( $\text{g m}^{-2}$ ) са додатним захтевима војске код различитих врста лименки

Врста лименке	Део лименке	Унутрашња површина			Спољашња површина		
		Минимална вредност	Максимална вредност	$\bar{x}$	Минимална вредност	Максимална вредност	$\bar{x}$
троделне, Ø 99	тело	6,18	9,71	<b>7,95</b>	5,92	9,08	<b>7,50</b>
	дно	7,80	12,19	<b>9,96</b>	6,53	14,96	<b>10,75</b>
	поклопац	10,03	11,35	<b>10,69</b>	6,62	12,49	<b>9,56</b>
троделне, Ø 73	тело	6,05	12,00	<b>9,03</b>	7,09	9,00	<b>8,05</b>
	дно	6,44	10,67	<b>8,56</b>	12,18	13,29	<b>12,74</b>
	поклопац	6,05	12,49	<b>9,27</b>	10,91	13,37	<b>12,14</b>
дводелне вучене, Ø 73	тело	6,85	11,22	<b>9,04</b>	7,48	10,91	<b>9,20</b>
	дно	6,85	11,22	<b>9,04</b>	7,48	10,91	<b>9,20</b>
	поклопац	6,52	8,12	<b>7,32</b>	6,85	11,94	<b>9,40</b>

Добијене вредности наноса масе лака знатно су више у односу на нанос лака на лименкама које се производе за цивилне потребе. Виши нанос лака са једне стране додатно је штитио лименку од нежељених утицаја челичне основе на садржај, односно спољашњих утицаја на челичну основу, али је са друге стране повећавао могућност миграције слободних молекула из епоксидне смоле у садржај конзерве.

Резултати испитивања степена пријањања превлаке лака (адхезивности) на тело, дно и поклопац код свих врста лименки, показују да су ољуштене површине мање од 5% и да је адхезивност превлаке задовољавајућа. Резултати испитивања континуалности (порозности) превлаке лака, показују да се визуелно не уочава прекид лака спољашњих и унутрашњих површина лименки, те су сви узорци су оцењени тако да задовољавају захтевани квалитет. Резултати испитивања термохемијске отпорности превлаке лака у чесменској води и саламури, код свих врста лименки су показали да су ољуштене површине мање од 5%, и да је термохемијска отпорност превлаке задовољавајућа. На основу добијених резултата испитивања карактеристика белог лима и лименки, констатовано је да су лименке намењене за пуњење производима од меса, у свему биле у складу са стандардима и додатним захтевима које је имала Војска Србије.

## 4.2. Контролисана деформација лименки

Да би се испитао утицај индукованог оштећења лименки на миграцију токсичних супстанци у садржај, извршена је контролисана деформација поклопаца, дна и обода конзерви, са циљем да се оштети лак на унутрашњој површини, али да не дође до перфорације лима. Деформација је извршена на конзервисаним производима од меса који су коришћени у експерименту са различитим периодима складиштења и на различитим температурама.

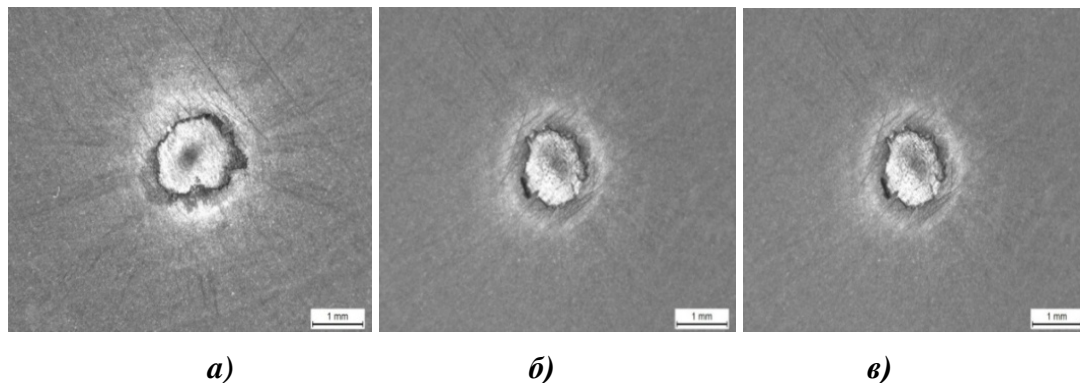
### 4.2.1. Резултати испитивања стереомикроскопијом

На Слици 11 приказан је макроскопски изглед индукованих оштећења на спољашњој и унутрашњој површини поклопца, након отварања конзерве. На унутрашњој површини уочава се деформација лима у облику утискивача (купе).



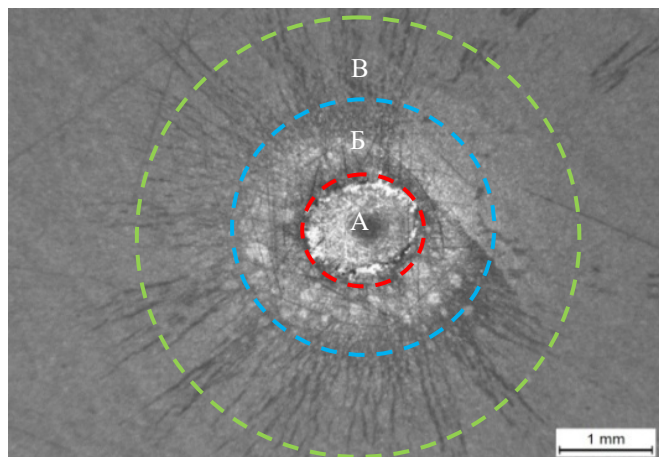
Слика 11. Индукована оштећења на поклопцу конзерве: а) спољашња површина, б) унутрашња површина

На Слици 12 приказан је изглед индукованих оштећења на унутрашњој површини поклопца, дна и обода конзерве, посматрано при увећању (7х) на стереомикроскопу. Уочено је да је у централном делу оштећења дошло до уклањања превлаке код свих узорака, али да је присутна већа деформација лима на поклопцу и дну конзерве (Слика 12а и 12б), у односу на обод (Слика 12в).



**Слика 12.** Оштећење на унутрашњој површини конзерви:  
а) поклопац, б) дно, в) обод

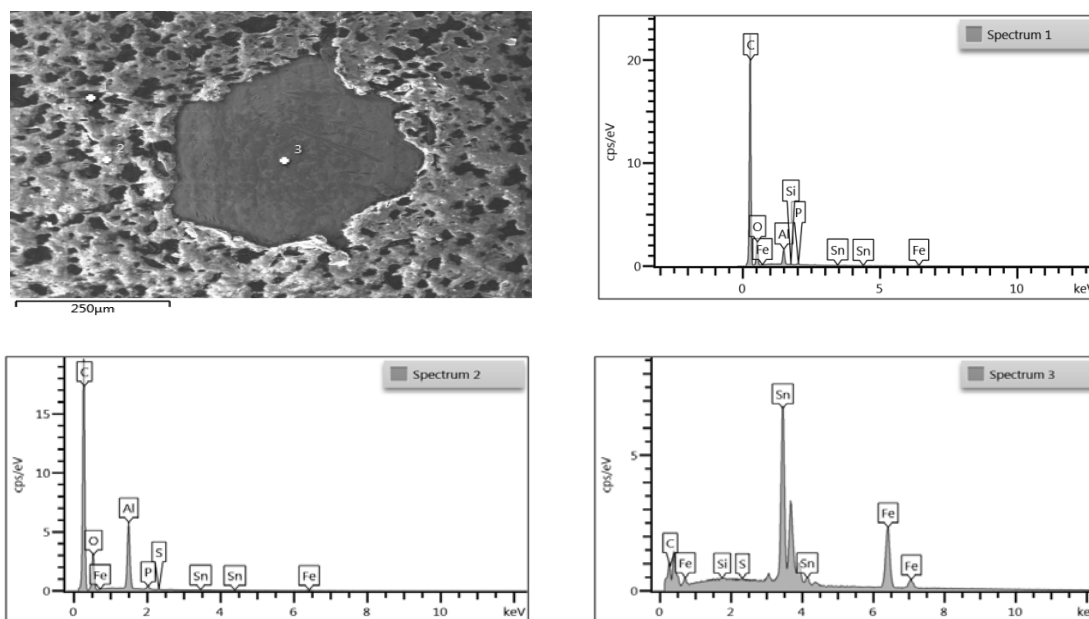
Типичан изглед оштећења и деформације лима приказан је на Слици 13. У централној, највише деформисаној зони-област А, слој лака је уклоњен. Области Б и В су такође деформисане, због чега је вероватно дошло до пуцања лака, више у области Б, али се то није могло утврдити посматрањем под стерео микроскопом, већ EDS анализом на SEM-у (4.2.2).



**Слика 13.** Оштећење и деформације лима на унутрашњој површини конзерве

## 4.2.2. EDS анализа оштећења

На Сликама 14а, 14б и 14в, приказани су резултати идентификације оштећења квалитативном EDS анализом хемијског састава, тј. поређењем хемијског састава на унутрашњој површини конзерве у областима са и без оштећења.



**Слика 14.** ЕДС анализа састава унутрашње површине конзерве: места анализе и одговарајући спектри

Извршена је анализа састава „у тачки“, „линијска анализа“ и „мапирање“ површина. Поређењем спектра 1, 2 и 3 (Слика 14), као и састава датих у Табели 13, види се да у централном делу (спектар 3, Слика 14) доминира калај (Sn), за разлику од састава у тачкама 1 и 2 (спектри 1 и 2, Слика 14), где доминира угљеник (C). Висок садржај C, као и детектовани Al и O у спектрима 1 и 2, указују да је ту присутна превлака органског порекла, тј. лак, док је у централном делу дошло до потпуног уклањања лака, па у саставу доминирају Sn и Fe из основе челичног лима (Табела 12).

Ови резултати показују да је при индуковању оштећења дошло до пуцања и уклањања лака, чиме је омогућен контакт садржаја конзерве са слојем калаја, а вероватно и са челичном основом.



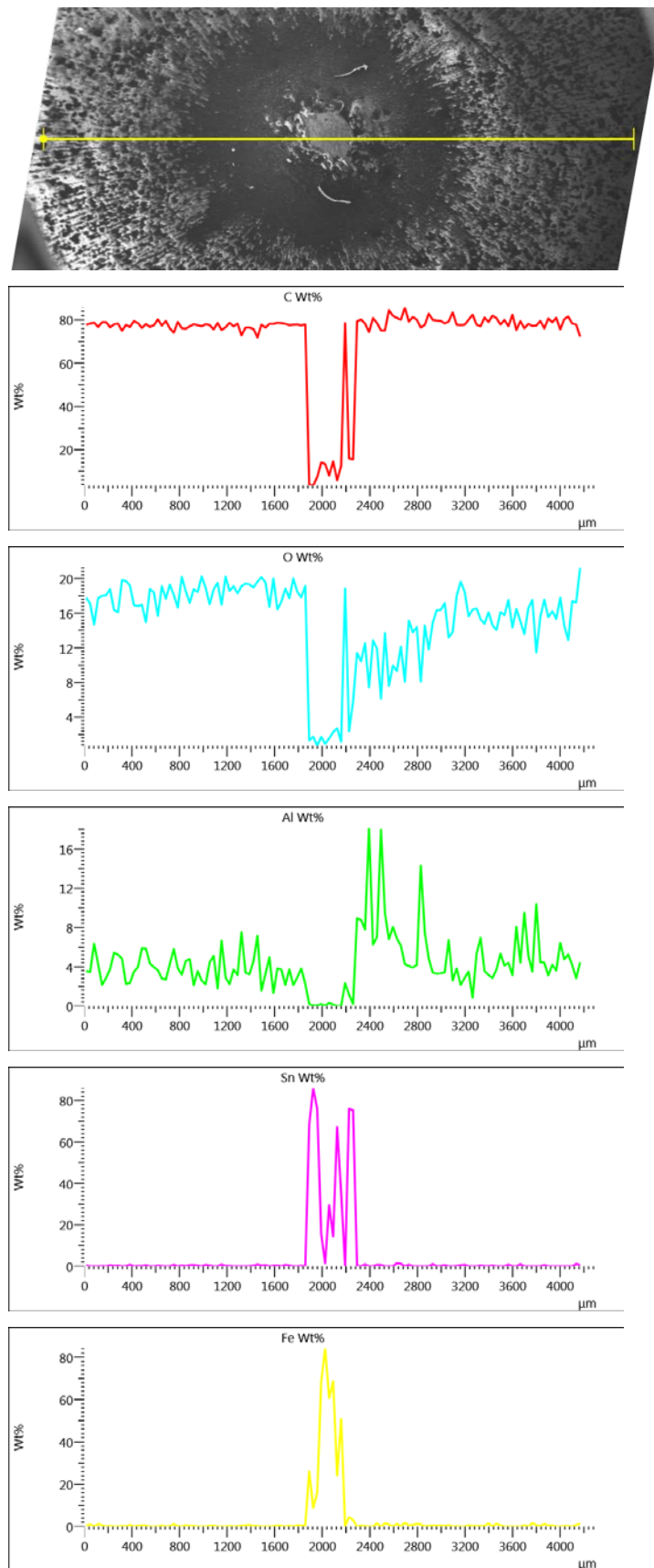
Табела 12. ЕДС анализа састава на унутрашњој површини конзерве, мас. %

Елемент	Спектар 1	Спектар 2	Спектар 3
C	78,56	73,33	3,06
O	17,89	18,06	-
Al	2,48	7,57	-
Si	0,08	-	0,06
P	0,25	0,45	-
S	-	0,05	0,07
Fe	0,52	0,43	32,61
Sn	0,22	0,12	64,19
Укупно:	100,00	100,00	100,00

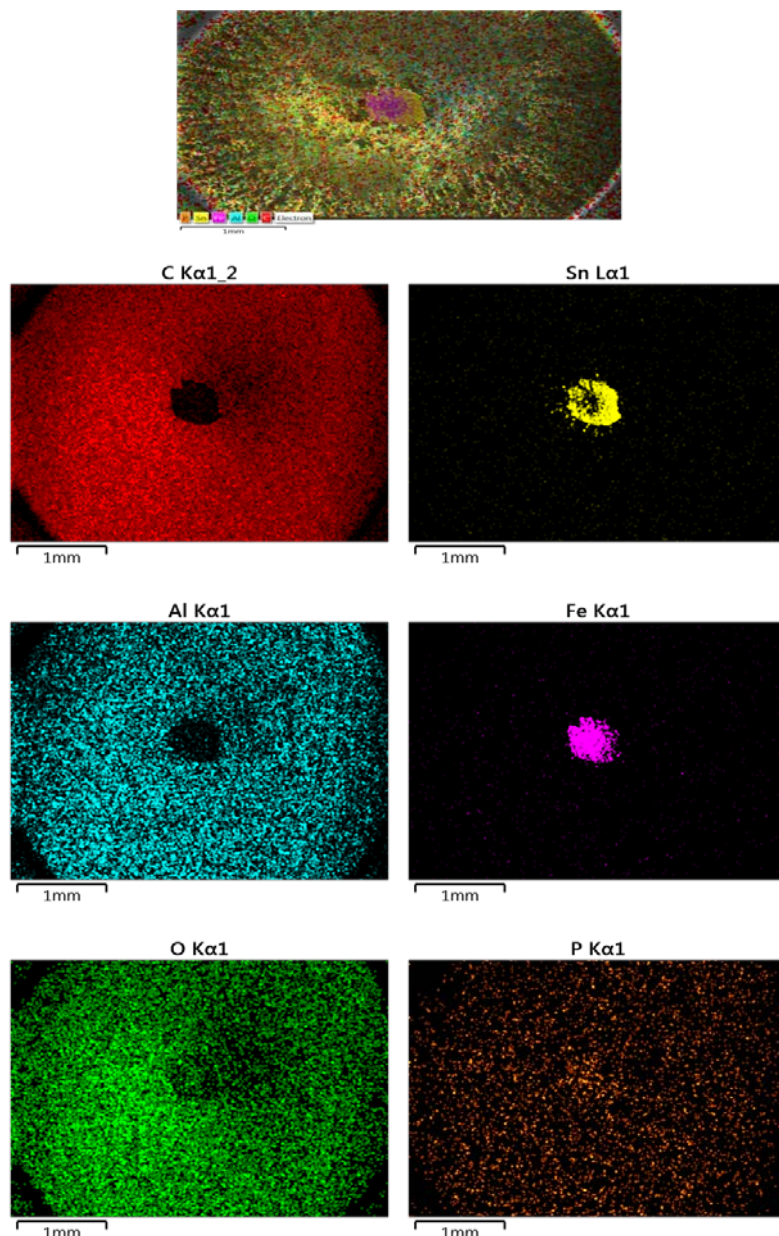
Линијска анализа састава, приказана на Слици 15, која показује расподелу елемената, потврдила је резултате добијене анализом „у тачки“. Нагли пад C, O и Al и пораст садржаја Sn и Fe у централном делу оштећења јасно показује да је дошло до уклањања лака, али не и у области означеном са Б на Слици 13. Садржај C, Fe и Sn показује да је присутан лак, без обзира на визуелну разлику ове области у односу на област В (Слика 13). Визуелна разлика је последица деформације лима, који „прати“ облик утискивача при индуковању оштећења, што је нарочито изражено на поклопцу и дну конзерве (Слика 11). Крутост поклопца и дна конзерве, тј. отпор деформацији која се јавља при дејству утискивача, већи је у односу на обод конзерве, због чега се јављају разлике у макроскопском изгледу, као што је приказано на Слици 12.

На Слици 16 приказана је EDS анализа - мапирање, где је дата појединачна расподела елемената у оштећењу и околини, при чему сваком елементу одговара једна боја. Овом анализом су, такође, потврђени резултати претходних анализа, али је на основу расподеле Fe и Sn утврђено и да је у области „Б“ (Слика 13) дошло до незнатног оштећења (пуцања) лака.

На бази ових резултата извршена је квантитативна анализа оштећене површине, тј. мерење површине која је „активна“ у контакту са садржајем конзерве. На свим узорцима је мерена површина централне области, означена са „А“ на Слици 13.



Слика 15. Линијска EDS анализа састава оштећења на ободу конзерве



Слика 16. EDS анализа састава – мапирање

### 4.3. Мерење површине оштећења

У Табели 13 дати су резултати мерења површина оштећења (области означене са „А“ на Слици 13). Резултати су показали да се укупна површина оштећења разликује од узорка до узорка. Очигледно је да је, без обзира на приближно исте услове при индуковању оштећења, отпор лима деформацији зависио од растојања убода од ивице лименке (пертлованог споја), а самим тим је утицао на величину оштећења. Осим овог фактора, који је вероватно највише утицао на разлике у

површини оштећења, остали фактори су хомогеност дебљине лака и равномерност адхезије лака.

Вредности показују да су површине оштећења - поклопаца и дна, код мање оштећених конзерви, термостатираних на 20 °С, биле од 2 mm<sup>2</sup> до приближно 6 mm<sup>2</sup>. Површине оштећења - поклопаца, дна и обода, код конзерви са већим степеном оштећења, термостатираних на 20 °С, биле од 3,5 mm<sup>2</sup> до 10 mm<sup>2</sup>.

Површине оштећења код МО конзерви, термостатираних на 40 °С, биле су од 4 mm<sup>2</sup> до око 6 mm<sup>2</sup>, односно од 5 mm<sup>2</sup> до 10 mm<sup>2</sup>, код ВО конзерви термостатираних на 40 °С.

**Табела 13.** Површина оштећења на унутрашњој површини конзерви, mm<sup>2</sup>

Температура испитивања	Позиција	Ознака узорка	3 м*	6 м*	9 м*	12 м*
20 °С	поклопац	МО	1,744	1,244	2,170	0,570
	поклопац	ВО	0,979	1,687	3,833	3,268
	дно	МО	1,587	2,398	3,478	1,435
	дно	ВО	0,114	0,690	4,139	3,586
	обод	ВО	1,306	2,686	2,184	3,204
	сума	МО	<b>3,331</b>	<b>3,642</b>	<b>5,648</b>	<b>2,005</b>
	сума	ВО	<b>3,399</b>	<b>5,063</b>	<b>10,156</b>	<b>10,058</b>
40 °С	поклопац	МО	2,395	2,661	1,882	0,652
	поклопац	ВО	0,552	0,182	1,952	0,437
	дно	МО	3,554	1,663	3,181	3,285
	дно	ВО	3,460	2,663	4,861	3,330
	обод	ВО	2,981	2,086	3,374	1,978
	сума	МО	<b>5,949</b>	<b>4,324</b>	<b>5,063</b>	<b>3,937</b>
	сума	ВО	<b>6,993</b>	<b>4,931</b>	<b>10,187</b>	<b>5,745</b>

\* месеци

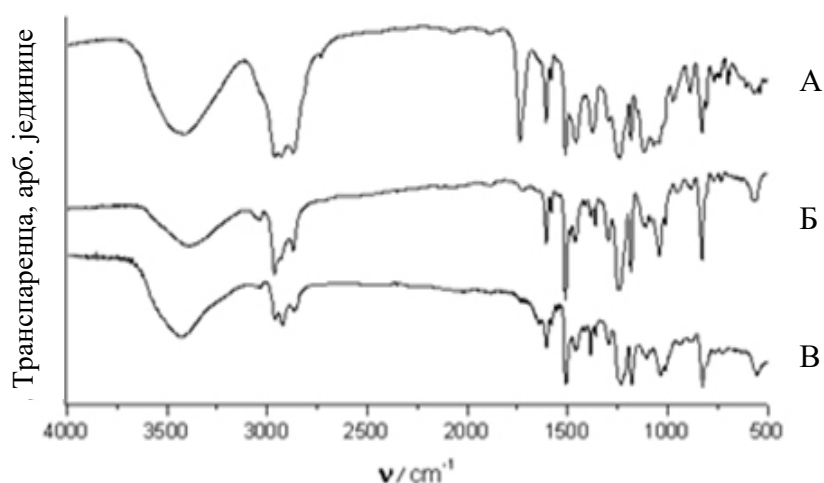
#### 4.4. Структура течне и умрежене епоксидне смоле

Узорак течне, неумрежене смоле, која је коришћена за формирање заштитног премаза на белом лиму, анализиран је FTIR и <sup>1</sup>H NMR спектроскопијом како би се детаљније одредио хемијски састав и структура полимерне превлаке - лака. Уобичајено је да је течна смола, која се користи за формирање заштитне превлаке на лименци за паковање хране, смеша две компоненте - линеарног епоксидног олигомера и умреживача, који може да буде на бази вишефункционалних алифатичних и ароматичних амина, анхидрида, имидазола и фенол-

формалдехидних смола. Веома често, што је сугерисао и произвођач лименки, као умреживач се користи фенол-формалдехидна компонента. Реакција између епоксидне и фенолне компоненте одиграва се током процеса „печења“, тј. умрежавања на температури од 200 °С. У циљу детаљнијег испитивања хемијске структуре, како линеарне, неумрежене смоле, тако и умрежене полимерне превлаке, урађена су испитивања FTIR и  $^1\text{H}$  NMR спектроскопијом.

#### 4.4.1. FTIR спектри

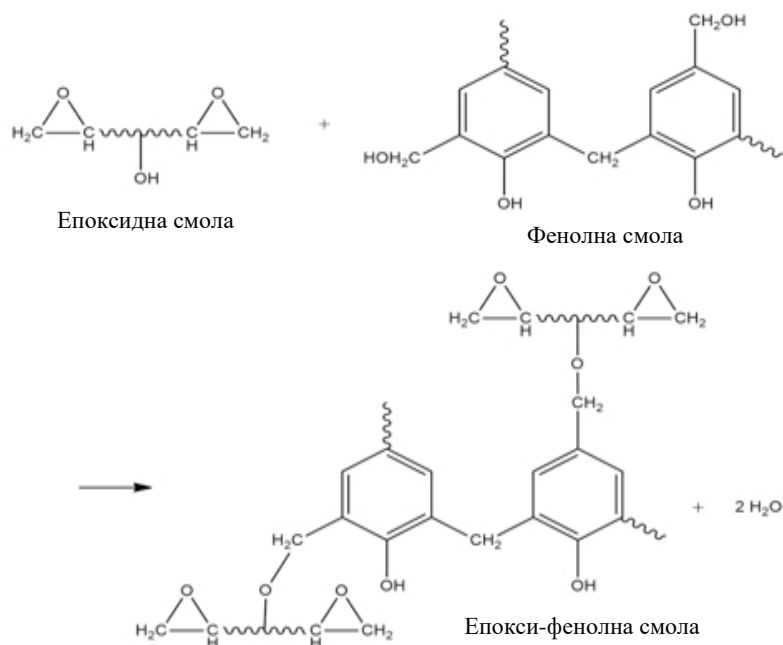
FTIR спектри течне смоле, снимљени одмах након отварања бочице и након испаравања растварача у ваздуху („осушена смола“), као и спектар умрежене смоле, састругане са унутрашње површине лименке, приказани су на Слици 17-А, Б и В.



Слика 17. IR спектри растворене течне епоксидне смоле (А), осушене смоле (Б) и умрежене смоле (В)

На Слици се може видети да FTIR спектри не показују никакву значајну разлику, са изузетком C=O траке у раствореној, течној смоли на  $1736\text{ cm}^{-1}$  (Слика 17-А), која нестаје након испаравања растварача. На основу овог налаза, очигледно је да трака карбонилне групе потиче од растварача (Maу, 1988). Широка трака на око  $3380\text{ cm}^{-1}$ , која се уочава у свим спектрима, приписује се истезању О-Н група које потичу како из епоксидне, тако и из фенолне компоненте. Траке на  $1250$  и  $1040\text{ cm}^{-1}$  одговарају асиметричним и симетричним C-O-C вибрацијама. 1,4-супституција ароматичног прстена у епоксидној компоненти може да се уочи на  $830\text{ cm}^{-1}$ . Траке које потичу од „савијања“ СН веза епоксидног прстена

(947 и 881  $\text{cm}^{-1}$ ) су такође идентификоване у свим спектрима, потврђујући присуство епоксидних група и у течnoj и у умреженоj смоли. Веома слаба трака на 915  $\text{cm}^{-1}$ , која потиче од С-О деформације у терминалним епоксидним прстеновима може се јасно видети тек када се та област увећа, што је сугерисало већу молекулску масу линеарног епоксидног олигомера, односно релативно малу концентрацију завршних епоксидних група. Симетрично истезање С-Н веза из епоксидног прстена је уочено на 3056  $\text{cm}^{-1}$ , док су траке на 1610 и 1510  $\text{cm}^{-1}$  карактеристичне за ароматични прстен, који потиче како од епоксидне, тако и од фенолне компоненте. Како се траке које потичу од епоксидног прстена на 3056, 947 и 881  $\text{cm}^{-1}$  нису изгубиле у спектру умрежене смоле, јасно је да до умрежавања долази углавном реакцијом између секундарних хидроксилних група епоксидне компоненте, са метилол групама резолне компоненте, као што је приказано на Слици 18 (Motawie et al., 1999):



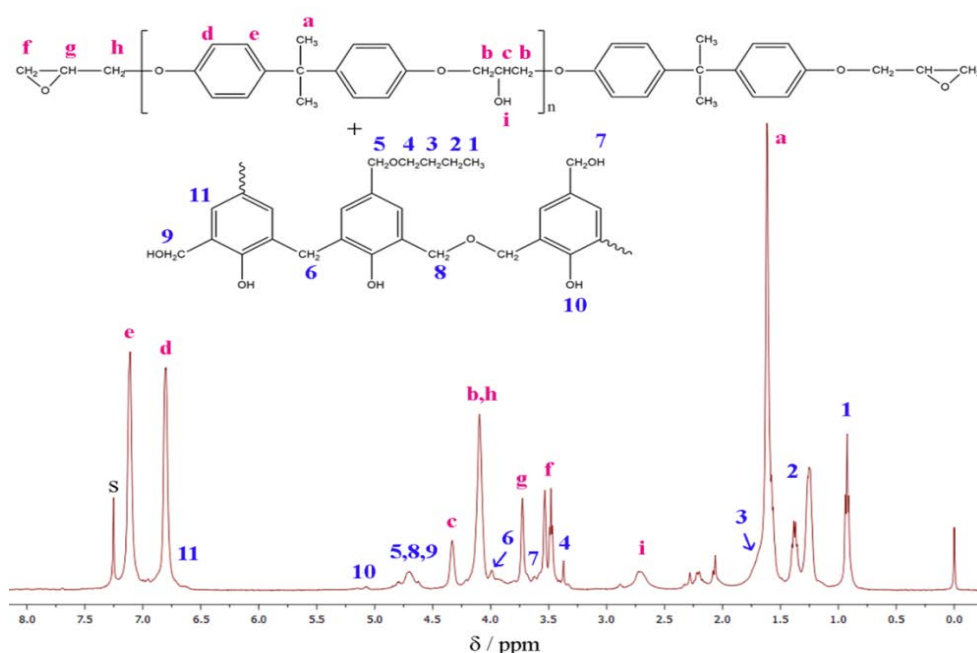
**Слика 18.** Упростићен процес умрежавања између епоксидне и фенолне смоле

Трака на 1120  $\text{cm}^{-1}$  може да се припише вибрацијама секундарне хидроксилне групе, и видљива је у Спектру 16-Б, када се слика у тој области увећа. Ова трака нестаје током процеса умрежавања, а у овој области заостаје веома мало „раме“, које је уочљиво на Спектру 16-В на 1120  $\text{cm}^{-1}$ . Умрежавање води формирању етарске везе, која већ постоји у структури линеарне епоксидне компоненте, те

услед одигравања ове реакције не долази до јављања нове траке у Спектру 16-В. Епоксидне групе не учествују у оваквој врсти умежавања, и из тог разлога се у формулацијама превлака за лименке на бази епоксида користе линеарни олигомери већих молских маса. На Слици 18 приказан је упрошћен процес умрежавања и структура умрежене епокси-фенолне смоле.

#### 4.4.2. $^1\text{H}$ NMR спектроскопија

У циљу детаљнијег испитивања структуре епокси-фенолне превлаке, урађена је  $^1\text{H}$  NMR анализа смеше линеарне епоксидне компоненте и резолата (Слика 19).



Слика 19.  $^1\text{H}$  NMR спектар смеше растворне линеарне епоксидне компоненте и разгранатог резолата

Карактеристични сигнали ароматичних протона који потичу од епоксидне компоненте уочени су на 6,81 и 7,11 ppm, и преклапали су се са ароматичним протонима резолата који су лоцирани на сличним хемијским померањима. Сигнали на 4,33 и 4,10 ppm потичу од унутрашњих метинских (CH) и метиленских протона (CH<sub>2</sub>) епоксидне компоненте, док се сигнали терминалне епоксидне групе јављају на 4,10 ppm (метиленски протони везани за епоксидни прстен), 3,70 ppm (метински протони епоксидног прстена), и 3,53 и 3,47 ppm (метиленски протони епоксидног прстена). Широки сигнал на 2,73 ppm највероватније потиче од секундарне

хидроксилне групе епоксидне компоненте. Централни метил-протони ( $\text{CH}_3$ ) из остатака ВРА јављају се као јак сигнал на 2,62 ppm. Резолна компонента даје сигнале следеће сигнале: Ar- $\text{CH}_2$ -O- и Ar- $\text{CH}_2$ -OH протоне на 4,70 ppm; бензил протоне (Ar- $\text{CH}_2$ -Ar) на 3,98 ppm; слаби сигнал Ar-OH група на 5,09 ppm и хидроксилне протоне Ar- $\text{CH}_2$ -OH група на 3,62 ppm. Ароматични прстен резолне компоненте био је делимично модификован *n*-бутил групама чији се сигнали јављају на 0,80-0,91 ppm (метил-протони), на 1,25-1,38 и 1,70 ppm (унутрашњи метиленски протони), и на 3,37 ppm (терминални метиленски протони *n*-бутил група). Пар мањих сигнала на око 2,0 ppm потичу од остатка ацетатног растварача. NMR анализа је допринела детаљнијем разумевању процеса умрежавања, и омогућила је потпуну потврду врсте умреживача и структуре епокси-фенолне превлаке, претходно претпостављене FTIR спектроскопијом.

#### **4.5. Резултати испитивања концентрације токсичних, макро и микроелемената у конзервисаним производима од меса складиштеним у редовним условима**

У овом делу истаживања испитан је утицај дужине периода складиштења на миграцију токсичних елемената из амбалажног материјала у садржај конзервисаних производа од меса, као и на концентрацију макро и микроелемената. Испитано је пет врста конзервисаних производа од меса, који су складиштени у периоду од 15 дана до 6 година. Спољашњи изглед конзерви провераван је пре отварања и установљено је да на њима није било никаквих видљивих оштећења. Приказани резултати се односе на токсичне елементе (As, Pb, Cd, Hg и Sn), макроелементе (Na, Mg, K и Ca) и микроелементе (Cr, Mn, Fe, Cu, Zn и Se) у садржају конзерви, након одређеног периода складиштења под редовним условима. Статистичка анализа добијених резултата урађена је на начин описан у поглављу Материјали и методе.

##### **4.5.1. Концентрација токсичних елемената**

Добијени резултати показали су да су токсични елементи били присутни у садржају свих испитиваних врста конзервисаних производа од меса, али не у свим периодима складиштења. Измерене вредности су се кретале у распону од није детектовано, тј. вредност је била испод границе детекције (у даљем тексту: н.д.),



до детектоване вредности, која је зависила како од дужине периода складиштења, тако и од саме врсте конзервисаног производа (Табела 14). У Табели 1 (Преглед литературе), приказане су максимално дозвољене количине токсичних елемената ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) у месу, органима и различитој врсти хране.

Код конзерви ГГ измерена вредност за Pb само је у најдуже складиштену узорку била изнад границе детекције ( $4 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), и износила је  $6 \mu\text{g kg}^{-1}$ , док су резултати за Cd код више од половине узорка били испод границе детекције од  $1 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Табела 14). Због таквих вредности, Pb и Cd нису обрађивани методама статистичке анализе, док су вредности As, Hg и Sn обрађене статистички.

Измерене вредности за As и Pb (Табела 14) биле су само у једном узорку СП изнад границе детекције ( $4 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), док су вредности за Cd биле изнад границе детекције код два узорка, и због тога нису обрађене методама статистичке анализе. Вредности за Hg (граница детекције  $< 1 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) и Sn (граница детекције  $< 0,4 \text{mg kg}^{-1}$ ) обрађене су методама статистичке анализе.

Већи број измерених вредности за As и Pb у узорцима МН био је испод границе детекције, због чега нису обрађиване методама статистичке анализе, док су вредности Cd, Hg и Sn обрађене статистички.

Значајан број измерених вредности за As и Pb у узорцима ЈП био је испод границе детекције и због тога нису обрађиване методама статистичке анализе, док су вредности Cd, Hg и Sn обрађене статистички.

Концентрације Hg и Pb биле су код свих узорка ТПС испод границе детекције, само код једног узорка вредност As била је изнад границе детекције и њихове вредности нису статистички обрађене, док су вредности Cd и Sn обрађене статистички.

Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација анализираних токсичних елемената у односу на средњу вредност, код свих пет врста конзервисаних производа од меса, у току испитиваног периода складиштења (Табела 1, Прилог 1).

Табела 14. Концентрације токсичних елемената у току периода складиштења код испитиваних врста конзервисаних производа од меса

Врста конзерве	Период складиштења г/м/д	Концентрације токсичних елемената				
		As $\mu\text{g kg}^{-1}$	Cd $\mu\text{g kg}^{-1}$	Sn $\text{mg kg}^{-1}$	Hg $\mu\text{g kg}^{-1}$	Pb $\mu\text{g kg}^{-1}$
Говеђи гулаш	0/2/13	4,00	1,00	< 0,4	< 1	< 4
	0/10/05	< 4	< 1	< 0,4	< 1	< 4
	2/1/19	10,00	1,00	< 0,4	< 1	< 4
	3/1/15	5,37	< 1	< 0,4	6,71	< 4
	3/11/12	5,22	1,55	0,41	4,58	< 4
	5/0/15	5,13	< 1	0,52	9,48	< 4
	5/8/12	5,19	< 1	0,68	8,48	6,00
Свињски паприкаш	0/2/18	< 4	1,00	< 0,4	< 1	< 4
	0/5/08	< 4	< 1	< 0,4	< 1	< 4
	2/1/21	< 4	< 1	< 0,4	< 1	< 4
	3/1/13	< 4	< 1	< 0,4	6,49	< 4
	3/11/15	< 4	< 1	0,90	11,72	< 4
	5/0/15	< 4	2,18	1,27	15,04	8,00
	5/8/23	9,33	2,03	1,57	8,29	< 4
Месни нарезак	0/7/15	< 4	< 1	< 0,4	< 1	< 4
	1/0/22	5,66	3,50	< 0,4	5,10	< 4
	2/0/01	< 4	1,16	0,53	2,12	6,00
	3/0/14	4,58	13,28	0,40	11,44	5,00
	4/3/06	< 4	1,55	0,42	< 1	< 4
	4/11/28	< 4	1,00	0,49	< 1	< 4
	5/11/09	4,96	1,49	0,81	4,56	< 4
Јетрена паштета	0/6/16	< 4	6,00	< 0,4	< 1	< 4
	1/0/22	5,47	2,48	< 0,4	1,72	< 4
	2/3/04	< 4	10,20	< 0,4	7,01	< 4
	2/11/27	4,70	35,91	3,94	6,63	4,00
	4/3/02	< 4	11,13	0,45	< 1	< 4
	4/11/00	< 4	8,00	0,40	< 1	< 4
	5/11/07	< 4	6,71	0,55	3,55	< 4
Ћуфте у парадајз сосу	0/0/15	< 4	3,00	< 0,4	< 1	< 4
	0/9/00	< 4	7,00	< 0,4	< 1	< 4
	2/7/24	5,00	4,00	4,50	< 1	< 4
	3/8/14	< 4	2,00	4,82	< 1	< 4

г/м/д – година/месец/дан

As - <sup>a</sup>месо - 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; <sup>b</sup>производи од меса - 300  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; <sup>b</sup>изнутрице - 500  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ;  
 Cd - <sup>a</sup>месо - 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; <sup>b</sup>јетра - 500  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; <sup>b</sup>бубрези - 1000  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; Sn - <sup>a</sup>храна у лименој амбалажи - 200  $\text{mg kg}^{-1}$ ; Hg - <sup>a</sup>месо - 30  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; <sup>b</sup>производи од меса - 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ;  
<sup>b</sup>изнутрице - 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; Pb - <sup>a</sup>месо - 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; <sup>b</sup>изнутрице - 500  $\mu\text{g kg}^{-1}$

У Табели 15 приказане су мере варијације: минималне (min), максималне (max) и средње вредности (SV) концентрација токсичних елемената, као и стандардне девијације (SD) и статистичка значајност ( $p$ ) у испитаним узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења.

**Табела 15.** Концентрације токсичних елемената са мерама варијације у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења

Врста конзерве	Мере варијације	Концентрације токсичних елемената			
		As, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Cd, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Hg, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$
ГГ	SV $\pm$ SD	4,99 $\pm$ 2,68	-	4,39 $\pm$ 3,95	0,35 $\pm$ 0,19
	Min	2,00	-	0,50	0,2
	Max	10,00	-	9,48	0,68
	$p$	<b>0,990</b>	-	<b>0,996</b>	<b>0,999</b>
СП	SV $\pm$ SD	-	-	6,15 $\pm$ 5,93	0,67 $\pm$ 0,58
	Min	-	-	0,50	0,2
	Max	-	-	15,04	1,57
	$p$	-	-	<b>0,949</b>	<b>0,998</b>
МН	SV $\pm$ SD	-	1,53 $\pm$ 1,04	2,21 $\pm$ 2,13	0,48 $\pm$ 0,20
	Min	-	0,50	0,50	0,2
	Max	-	3,50	5,10	0,81
	$p$	-	<b>0,940</b>	<b>0,988</b>	<b>0,998</b>
ЈП	SV $\pm$ SD	-	7,42 $\pm$ 3,12	2,23 $\pm$ 2,46	0,32 $\pm$ 0,19
	Min	-	2,48	0,50	0,2
	Max	-	11,13	7,01	0,55
	$p$	-	<b>0,988</b>	<b>0,975</b>	<b>0,999</b>
ЋПС	SV $\pm$ SD	-	4,0 $\pm$ 2,2	-	2,48 $\pm$ 2,52
	Min	-	2,00	-	0,2
	Max	-	7,00	-	4,82
	$p$	-	<b>0,999</b>	-	<b>0,999</b>

Резултати анализе статистичке значајности (*Studentov t-test*) показали су да у току периода складиштења нема статистички значајне промене концентрације токсичних елемената у односу на средњу вредност у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС, на нивоу значајности од 99% (Табела 15).

Корелација између токсичних елемената код свих испитиваних врста конзервисаних производа од меса, анализирана је *Pearson Correlation* тестом. На основу добијених резултата запажа се да у узорцима ГГ значајно позитивно корелишу Sn и Hg, а у узорцима СП доказана је јако позитивна корелација између Sn и Hg. У узорцима МН, ЈП и ЋПС нема значајних корелација између токсичних елемената, (Табела 2, Прилог 1).

Према литературним подацима, у организам човека **арсен** доспева путем воде (најзначајнији извор експозиције), затим ваздуха и хране.

Наша истраживања показују да је арсен у испитиваним узорцима ГГ највише варирао, у распону од н.д. или на граници детекције (у току прве године складиштења), до  $10,00 \mu\text{g kg}^{-1}$  код конзерви складиштених нешто више од две године. Вредности за арсен биле су код свих узорака СП испод нивоа детекције, осим код узорка са најдужим периодом складиштења (непуних шест година), чија је вредност износила  $9,33 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Код МН и ЈП највиша вредност је детектована након прве године складиштења -  $5,66 \mu\text{g kg}^{-1}$ , односно  $5,47 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Код ЋПС највиша вредност за арсен је била  $5,00 \mu\text{g kg}^{-1}$  (две године и осам месеци). Код значајног броја узорака, код свих пет врста конзервисаних производа од меса, вредности за арсен су биле испод лимита детекције.

На основу детектованих вредности може се закључити да се код испитиваних узорака конзерви корелација између дужине складиштења и концентрације арсена не може успоставити. С обзиром да су код значајног броја узорака конзерви вредности биле испод нивоа детекције, или на граници детекције, такође може се закључити да арсен као токсични елемент није параметар кога треба анализирати у укупној оцени здравствене безбедности конзервисаних производа од меса који су произведени за потребе Војске Србије. Измерене вредности арсена биле су знатно ниже од максимално дозвољене вредности за производе од меса, која је прописана Правилником РС (22/2018) и која износи  $300 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Организација Уједињених нација за храну и пољопривреду и Светска здравствена организација (FAO/WHO), препоручиле су толерабилни недељни унос за неоргански арсен од  $15,00 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  и за органски арсен од око  $50,00 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (FAO/WHO, 2014), што је знатно изнад вредности које су добијене у нашим истраживањима.

Према подацима из доступне литературе, главни извори **олова** којим је општа популација изложена, представља пиво (32,9% укупног уноса), житарице и брашно (30,6%), кромпир (7,1%), воће и поврће (Janković, 2015). У нашој студији вредности олова код свих узорака конзерви ГГ биле су испод н.д., осим код конзерви са најдужим периодом складиштења (непуних шест година), чија је вредност износила  $6,00 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Код свих узорака СП вредности за олово биле су испод н.д., осим једног узорка (пет година складиштења), чија је вредност

износила  $8,00 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Код МН, вредност олова код највећег броја узорака била је испод н.д., осим код узорака са три и две године складиштења, чије су вредности износиле  $5 \mu\text{g kg}^{-1}$  и  $6,00 \mu\text{g kg}^{-1}$ , респективно. Вредности за олово код свих узорака ЈП биле су испод н.д., осим код једног узорка ( $4,00 \mu\text{g kg}^{-1}$ , са три године складиштења). Код конзерви ЋПС, вредности за олово код свих испитиваних узорака биле су испод н.д.

Резултати наше студије показују да дужина периода складиштења није утицала на концентрацију олова код испитиваних узорака конзерви. Значајан је број узорака чије су вредности биле испод н.д., те се на основу тога може закључити да олово, слично као и код арсена, није параметар кога треба анализирати у укупној оцени здравствене безбедности конзервисаних производа од меса, који се користе за потребе ВС. Добијене вредности за олово су знатно ниже у односу на максималне вредности, за свеже месо  $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ , односно  $500 \mu\text{g kg}^{-1}$  за изнутрице, а које су прописане Правилником РС (22/2018). Такође, FAO/WHO су прописале привремени толерабилни недељни унос (PTWI) олова од  $25 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , (FAO/WHO, 2014), а прописане вредности су знатно изнад оних које се могу унети конзумирањем испитаних конзервисаних производа од меса.

На концентрацију кадмијума у храни утиче већи број фактора, као што су: врста хране, услови гајења, антропогена контаминација ваздуха, земљишта, водених система и др. Према доступној литератури, садржај Cd релативно је низак ( $< 20 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) у већини намирница, као што су: месо (са изузетком јетре и бубрега у којима се акумулира), производи од меса, јаја, млеко, риба. Високе концентрације Cd присутне су у морским плодовима (лигње и шкољке), лиснатом поврћу, кромпиру, житарицама, (EFSA, 2009; WHO, 2011). Због ниског уноса морских плодова, изложеност опште популације кадмијумом преко хране највећа је преко кромпира (39,4%), житарица (31,4%), изнутрица (16,8%) и млека (11%) (Janković, 2015).

Добијени резултати показују да је концентрација Cd код свих узорака ЈП и ЋПС, била изнад н.д. у свим периодима складиштења. Највиша вредност Cd код ГГ била је  $1,55 \mu\text{g kg}^{-1}$  (4 године); код СП била је  $2,18 \mu\text{g kg}^{-1}$  (након пет година), док је код МН била  $13,28 \mu\text{g kg}^{-1}$  (након три године). Код ЈП вредност за Cd се кретала у распону од  $2,48 \mu\text{g kg}^{-1}$  (након једне године) до  $35,91 \mu\text{g kg}^{-1}$  (након три године).

Код узорака конзерви ЋПС концентрација Cd се кретала од  $2,00 \mu\text{g kg}^{-1}$  (три године и осам месеци) до  $7,00 \mu\text{g kg}^{-1}$  (девет месеци складиштења).

Као што је напред наведено, највећа вредност кадмијума детектована је код узорака ЈП, што није изненађујуће, обзиром да је јетра циљни орган за кадмијум, што је потврдио и Акан (2010) у свом истраживању мерећи концентрацију у јетри, бубрезима и различитим врстама меса.

На основу добијених резултата у оквиру нашег истраживања, може се констатовати да не постоји повезаност између детектоване вредности за кадмијум и дужине периода складиштења. Средња вредност концентрације Cd у испитаним узорцима била је у опсегу од минималних  $1,53 \pm 1,04 \mu\text{g kg}^{-1}$  у конзервама МН,  $4,0 \pm 2,2 \mu\text{g kg}^{-1}$  у конзервама ЋПС, до максималних  $7,42 \pm 3,12 \mu\text{g kg}^{-1}$  у конзервама ЈП, (Табела 15). Приказане средње вредности (не постоји статистички значајно одступање од средње вредности јер је  $p$  у опсегу од 0,940 до 0,999) су значајно испод максималних вредности прописаних Правилником РС (22/2018) - за свеже месо  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ , јетру  $500 \mu\text{g kg}^{-1}$  и бубреге  $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$ . FAO/WHO су прописале привремени толерабилни недељни унос од  $7 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  ( $490 \mu\text{g}$  недељно за човека телесне масе  $70 \text{ kg}$ ), (FAO/WHO, 2014). С обзиром на број узорака код којих је детектован и вредности концентрација, може се закључити да је кадмијум токсични елемент кога треба анализирати у укупној оцени здравствене безбедности конзервисаних производа од меса који се користе за потребе ВС.

Према литературним подацима, највећи унос живе у организам човека је преко хране, од чега око 90% потиче из морске рибе и производа од рибе, значајан део уноса је преко житарица, брашна, млека, воћа и поврћа, док је унос месом и изнутрицама око 9,2% (Janković, 2015).

У нашем истраживању, скоро код половине узорака конзерви жива није детектована. Код свих узорака ЋПС била је испод нивоа детекције. Највиша вредност детектована код ГГ и СП била је након пет година складиштења ( $9,48 \mu\text{g kg}^{-1}$ , односно  $15,04 \mu\text{g kg}^{-1}$ ); код МН након три године ( $11,44 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), и код ЈП након две године и три месеца ( $7,01 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). На основу добијених резултата може се закључити да не постоји повезаност између дужине периода складиштења и детектоване вредности.

Добијене вредности живе знатно су ниже у односу на максималне вредности прописане Правилником РС (22/2018), а које износе, за свеже месо  $30 \mu\text{g kg}^{-1}$ , односно  $100 \mu\text{g kg}^{-1}$  за изнутрице и производе од меса.

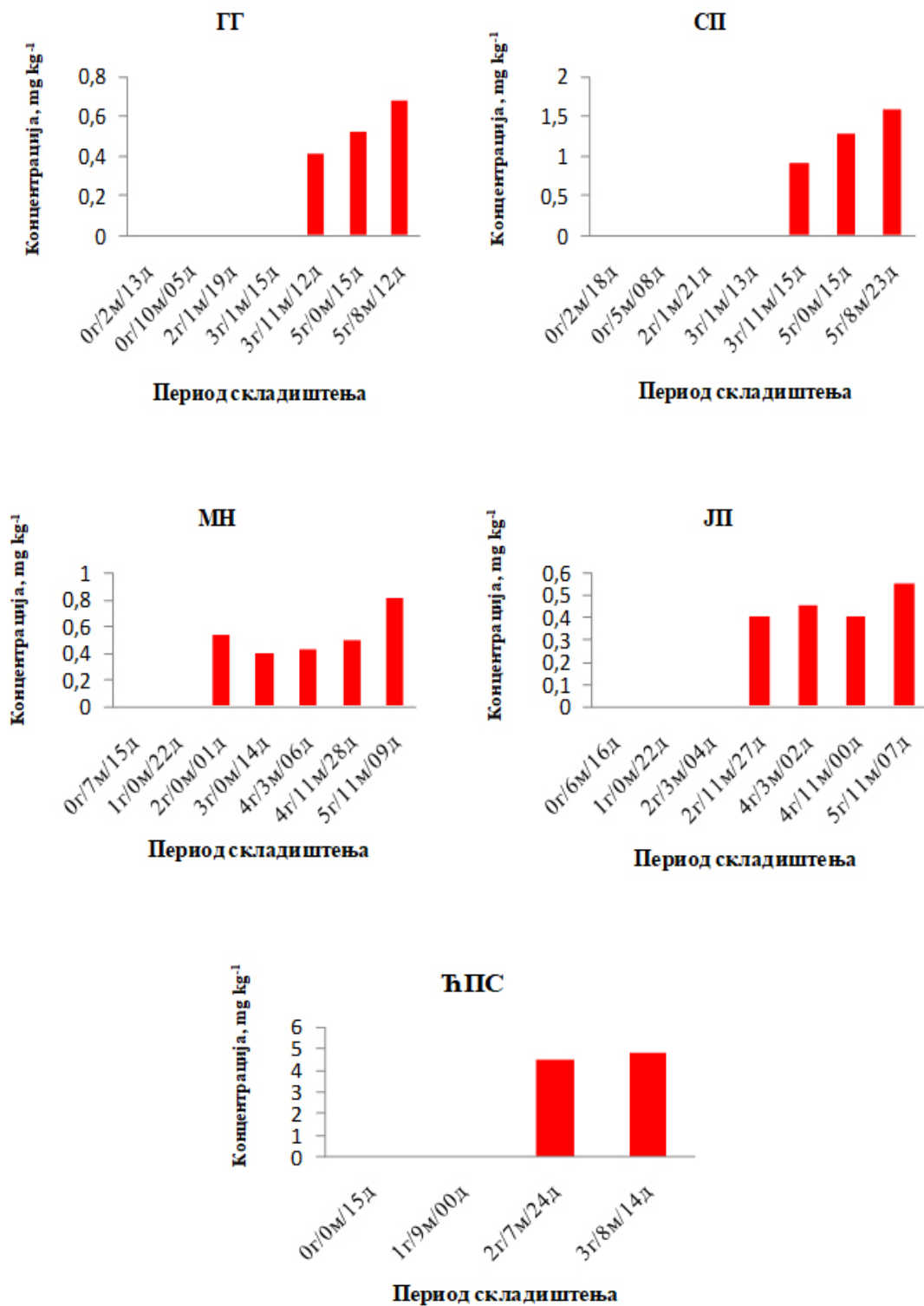
WHO/FAO су прописале привремено толерабилни недељни унос живе од  $5 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , (FAO/WHO, 2014). С обзиром на ниске вредности које су добијене из анализираних узорака, може да се закључити да жива као токсични елемент није параметар кога треба анализирати у укупној оцени здравствене безбедности конзервисаних производа од меса који се користе за потребе Војске Србије.

Добијене вредности **калаја** у нашем истраживању биле су испод нивоа детекције код: узорака ГГ и СП, складиштених три године; код узорака ЈП, складиштених преко две године и код МН и ЋПС, складиштених једну годину. Након повећања периода складиштења, повећавала се и концентрација калаја, што је било у складу са нашом претпоставком, као и са наводима других аутора (Buculei et al., 2012). Код ГГ највећа вредност калаја ( $0,68 \text{ mg kg}^{-1}$ ) детектована је код узорка са периодом складиштења од шест година. Код СП вредност је била  $1,57 \text{ mg kg}^{-1}$  (након шест година), код МН  $0,81 \text{ mg kg}^{-1}$  (након шест година), код ЈП  $3,94 \text{ mg kg}^{-1}$  (након три године) и у узорку ЋПС  $4,82 \text{ mg kg}^{-1}$  (непуне 4 године складиштења).

На основу добијених резултата може се констатовати да је период складиштења утицао на вредности калаја у узорцима свих врста конзервисане хране. Средња вредност концентрације калаја у анализираним узорцима конзерви била је у опсегу од минималних  $0,32 \pm 0,19 \text{ mg kg}^{-1}$  у узорцима ЈП, до максималних  $2,48 \pm 2,52 \text{ mg kg}^{-1}$  у узорцима ЋПС. Измерене средње вредности биле су значајно испод максималне вредности од  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  за храну у лименој амбалажи, која је прописана Правилником РС (22/2018). Регулацивом ЕУ (No 1881/2006), прописане су граничне вредности за калај у конзервисаној храни до  $200 \text{ mg kg}^{-1}$ , у конзервисаним напитама до  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  и у конзервисаној храни за бебе, малу децу и дијететску храну до  $50 \text{ mg kg}^{-1}$ .

На Слици 20 приказане су вредности калаја у узорцима конзерви у различитим периодима складиштења. На основу добијених вредности запажа се повећање

концентрације калаја са периодима складиштења (након две, три и четири године складиштења), у зависности од врсте конзервисаног производа од меса.



Слика 20. Вредности концентрације калаја у узорцима GG, SP, MN, LP и BPS у току периода складиштења



На основу вредности токсичних елемената и утицаја периода складиштења, код пет врста конзервисаних производа од меса, може се констатовати:

- 1) да су се токсични елементи налазили у садржају свих испитиваних врста конзервисаних производа од меса, али не у свим периодима складиштења;
- 2) да је период складиштења утицао на концентрацију појединих токсичних елемената у испитиваним узорцима конзерви, као што су: As, Hg и Sn у узорцима ГГ; Hg и Sn у узорцима СП; Cd, Hg и Sn у узорцима МН и ЈП; и Cd и Sn у узорцима ЋПС.
- 3) да у току периода складиштења нема статистички значајне промене концентрације токсичних елемената у односу на средњу вредност у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС на нивоу значајности од 99% ( $p > 0,01$ );
- 4) да постоји значајна корелација између појединих токсичних елемената у узорцима ГГ и СП, као што су: значајна позитивна корелација између Sn и Hg у узорцима ГГ и јака позитивна корелација између Sn и Hg у узорцима СП, док у узорцима МН, ЈП и ЋПС нема значајних корелација између токсичних елемената.

С обзиром да су поједине врсте узорака са краћим периодом складиштења имале виши ниво токсичних елемената, може се закључити да су природна контаминација ваздуха, воде, земљишта, сировина, зачина и додатака, контаминација у току поступка производње, као и секундарна контаминација, утицали на присуство токсичних елемената у појединим годинама производње.

Истраживања слична нашим, вршила је група аутора (*Buculei et al., 2012*), који су пратили миграцију токсичних метала, Fe и Sn, из металних лименки у храну током складиштења на 20 °C у периоду од 2 године. Утврђена је значајна зависност између концентрације Fe и Sn и периода складиштења у садржају конзерви након 6 и 12 месеци, а нарочито након 24 месеца, када се концентрација метала значајно повећала, што се подудара са налазима у нашим истраживањима.

Миграцију Cd, Pb, Cu, Fe, Zn и Sn из металне амбалаже у садржај производа од меса, у зависности од амбалажног материјала, типа лака, периода складиштења, температуре складиштења, влажности, дебљине лака и порозности испитивали су *Buculei et al., 2014*. године. Највећи садржај метала био је приликом складиштења на температури од 50 °C. Порозност је значајно утицала на миграцију метала, као

и влажност ваздуха, док дебљина лака није значајно утицала. Већи степен миграције метала регистрован је између 24 и 36 месеци складиштења.

*Hamasalim i Mohammed (2013)* одређивали су концентрацију тешких метала у конзервисаном говеђем месу и конзервисаном оброку од пилећег меса, методом атомске апсорпционе спектроскопије. Нађено је да је концентрација тешких метала у конзервисаној говедини била статистички значајно виша од оне у конзервисаном пилећем оброку.

Одређивањем концентрације тешких метала у јетри, бубрезима, говеђем, овчјем, козјем и пилећем месу, бавили су се Акан и сарадници (*Akan et al., 2010*). Детектована је значајна концентрација метала у испитиваним узорцима, а вредности су се кретале од  $0,23$  до  $1,22 \pm 0,21 \mu\text{g g}^{-1}$  Cr;  $0,1$  до  $1,34 \pm 0,23 \mu\text{g g}^{-1}$  Pb;  $0,10$  до  $1,44 \pm 0,06 \mu\text{g g}^{-1}$  Cu;  $0,98$  до  $4,65 \pm 0,30 \mu\text{g g}^{-1}$  Fe;  $0,01$  до  $1,09 \pm 0,26 \mu\text{g g}^{-1}$  Ni;  $0,45$  до  $4,11 \pm 0,44 \mu\text{g g}^{-1}$  Mn;  $0,07$  до  $0,76 \pm 0,15 \mu\text{g g}^{-1}$  Cd;  $0,01$  до  $0,34 \pm 0,23 \mu\text{g g}^{-1}$  As и  $1,10$  до  $6,23 \pm 0,16 \mu\text{g g}^{-1}$  Zn. У јетри и бубрезима детектовано је статистички значајно више метала у односу на свеже месо.

Група аутора из Србије, *Витошевић et al., (2007)* проучавала је присуство тешких метала у животним намирницама увозног порекла и њихове евентуалне токсиколошке импликације. Укупно је анализирано око 200 узорака хране. Резултати су показали да је садржај тешких метала у анализираним узорцима знатно испод максимално дозвољених концентрација (MDK), а да су само 3 узорка имала вредности које су биле близу максимално дозвољених вредностима, што аутори приписују пропустима у процесу производње.

*Demirezen u Uric (2006)* вршили су упоредно испитивање елемената Se, Cu, Ni, Zn, Cd, Mn, Fe и Pb у риби, месу и месним производима, методом ICP-OES. Концентрације елемената у месу, месним производима и риби у  $\mu\text{g 100g}^{-1}$  износиле су: Fe (57,7-156,4) > Zn (20-159) > Ni (8,2-24) > Pb (11,5- 13,5) > Cr (8,44-9,51) > Cu (7,18-10,01) > Cd (0,77-1,04) > Mn (3,98-10) > Se (1,32-4,6). Концентрације елемената у рибама биле су близу дозвољених вредности. Највеће концентрације елемената у траговима нађене су у пастрмци, месу и кобасицама. Концентрације Fe у свим узорцима биле су веће од препоручених вредности.

Нивое As, Cd, Pb, Hg и Sn у конзервисаном поврћу испитивали су *Fiamegos et al.*, 2016. године. Према њиховим подацима садржај токсичних елемената био је у границама дозвољеног. Они наводе да је ниво калаја био испод  $25 \text{ mg kg}^{-1}$  у узорцима пакованим у лакираним лименкама за храну, а у нелакираним може бити већи од  $100 \text{ mg kg}^{-1}$ . Концентрација калаја у конзервисаној храни повећавала се са периодом складиштења и повећањем температуре, што се подудара са нашом хипотезом и са резултатима наших истраживања, мада су у оквиру нашег истраживања вредности калаја биле значајно ниже.

#### 4.5.2. Концентрација макроелемената

У Табели 16 приказан је садржај макроелемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења. На основу добијених резултата, може се пре свега констатовати да су се макроелементи налазили у садржају свих испитиваних врста конзервисаних производа од меса и у свим периодима складиштења.

Запажа се смањење концентрације макроелемената (осим Са) код свих узорака конзерви ГГ, СП, МН и ЈП са повећањем периода складиштења. Код узорака конзерви ЋПС запажа се повећање концентрације Na и Ca, односно смањење концентрације Mg и K, али без статистичке значајности (Табела 16).

Граница детекције, односно граница квантификације ICP-MS методе била је: Na -  $16,76 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Mg -  $0,40 \text{ mg kg}^{-1}$ ; K -  $6,63 \text{ mg kg}^{-1}$  и Ca -  $9,24 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација макроелемента у односу на средњу вредност у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС током периода складиштења, (Табела 3, Прилог 1).

У Табели 17 приказане су минималне, максималне и средње вредности концентрација макроелемената, као и стандардне девијације и статистичка значајност ( $p$ ) у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења.

Табела 16. Концентрације макроелемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС током различитих периода складиштења

Врста конзерве	Период складиштења г/м/д	Концентрације макроелемената (mg kg <sup>-1</sup> )			
		Na	Mg	K	Ca
Говеђи гулаш	0/2/13	3356,81	160,83	2427,21	77,94
	0/10/05	4025,25	184,73	2862,21	104,90
	2/1/19	3303,63	162,39	2400,50	88,45
	3/1/15	3047,70	157,51	1894,55	100,44
	3/11/12	2727,88	231,60	2150,34	165,72
	5/0/15	2762,36	160,24	2038,57	104,15
	5/8/12	2449,90	150,80	1855,69	67,71
Свињски паприкаш	0/2/18	3371,20	214,52	2524,45	64,53
	0/5/08	4161,28	235,20	3103,67	106,31
	2/1/21	3360,25	152,15	2345,91	78,00
	3/1/13	3097,76	153,16	1788,70	81,53
	3/11/15	3095,80	149,76	1794,98	132,62
	5/0/15	2291,38	147,74	1629,60	162,60
	5/8/23	2363,18	131,17	1521,88	88,78
Месни нарезак	0/7/15	4913,59	152,74	2265,95	100,74
	1/0/22	5022,07	152,73	1547,88	155,81
	2/0/01	4733,33	105,12	979,27	315,92
	3/0/14	4677,47	123,94	1053,04	150,21
	4/3/06	4512,22	139,27	1979,87	210,19
	4/11/28	4284,21	133,30	1934,90	256,90
	5/11/09	3933,36	127,12	1228,49	200,76
Јетрена паштета	0/6/16	4001,22	121,42	1554,16	213,48
	1/0/22	3983,87	120,69	965,90	205,41
	2/3/04	3274,51	84,44	822,30	162,43
	2/11/27	2871,95	146,90	869,86	309,28
	4/3/02	3657,91	94,45	992,33	132,50
	4/11/00	3558,70	79,16	788,78	91,37
	5/11/7	2667,35	80,78	622,25	121,09
Ћуфте у парадајз сосу	0/0/15	4901,23	190,55	2370,28	98,02
	0/9/00	4814,57	178,55	2712,34	160,33
	2/7/24	7122,09	177,72	2293,88	87,33
	3/8/14	5699,09	128,54	1992,64	104,08

г/м/д – година/месец/дан

Резултати анализе статистичке значајности (*Studentov t-test*) показују да у току периода складиштења ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС нема статистички значајне промене концентрације макроелемената у односу на средњу вредност на нивоу значајности од 99% (Табела 16).

Табела 17. Концентрације макроелемената са мерама варијације у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења

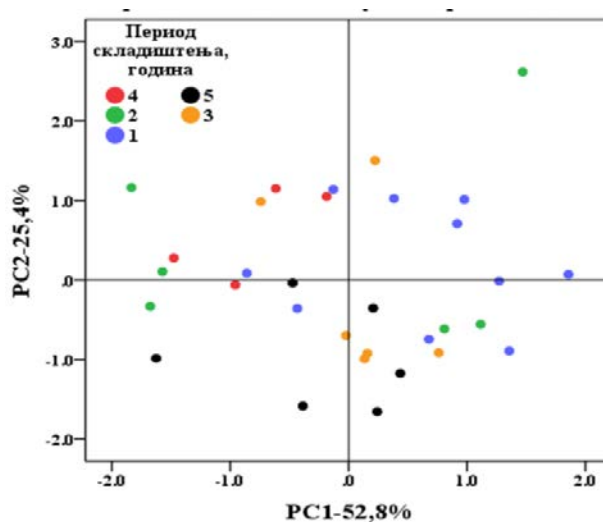
Врста конзерве	Мере варијације	Концентрације макроелемената [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]			
		Na	Mg	K	Ca
ГГ	SV $\pm$ SD	3.124,8 $\pm$ 541,4	181,2 $\pm$ 26,2	2.289,9 $\pm$ 415,2	101,3 $\pm$ 31,7
	Min	2.449,9	157,5	1.855,7	67,7
	Max	4.025,3	231,6	2.862,2	165,7
	<i>p</i>	<b>0,999</b>	<b>0,988</b>	<b>0,999</b>	<b>0,979</b>
СП	SV $\pm$ SD	3.263,0 $\pm$ 535,9	174,8 $\pm$ 37,3	2.215,6 $\pm$ 583,1	102,1 $\pm$ 34,6
	Min	2.363,2	131,2	1.521,9	64,5
	Max	4.161,3	235,2	3.103,7	162,6
	<i>p</i>	<b>0,999</b>	<b>0,990</b>	<b>0,999</b>	<b>0,997</b>
МН	SV $\pm$ SD	4.513,2 $\pm$ 438,9	134,9 $\pm$ 17,9	1.569,9 $\pm$ 503,1	190,4 $\pm$ 74,9
	Min	3.933,3	105,1	979,3	100,8
	Max	5.022,1	152,7	2.265,9	315,9
	<i>p</i>	<b>0,999</b>	<b>0,987</b>	<b>0,999</b>	<b>0,988</b>
ЈП	SV $\pm$ SD	3.430,8 $\pm$ 519,4	104,0 $\pm$ 26,0	987,9 $\pm$ 310,8	165,1 $\pm$ 73,2
	Min	2.667,3	79,2	622,3	91,4
	Max	4.001,2	146,9	1.554,2	309,3
	<i>p</i>	<b>0,999</b>	<b>0,998</b>	<b>0,999</b>	<b>0,998</b>
ЋПС	SV $\pm$ SD	5634,2 $\pm$ 1068,8	171,3 $\pm$ 29,0	2.417,3 $\pm$ 316,6	112,4 $\pm$ 32,7
	Min	4.814,57	128,54	1.992,64	87,33
	Max	7.122,09	190,55	2.712,34	160,33
	<i>p</i>	<b>0,999</b>	<b>0,984</b>	<b>0,999</b>	<b>0,980</b>

Корелација између макроелемената код свих испитиваних врста конзервисаних производа од меса анализирана је *Pearson Correlation* тестом. На основу добијених резултата запажа се да у узорцима ГГ Na и K међусобно јако позитивно корелишу, што се може закључити и за пар Mg и Ca. У узорцима СП, Na и K међусобно јако позитивно корелишу, односно значајно позитивно корелишу Na и Mg, као и Mg и K. У узорцима МН и ЋПС значајна је позитивна корелација између Mg и K, док у узорцима ЈП нема значајних корелација између макроелемената, (Табела 4, Прилог 1).

Са Сlike 21, која приказује концентрацију макроелемената у току периода складиштења, код испитаних узорка види се да се ниједна група не може недвосмислено дефинисати, тј. групна кохерентност је у овом случају изузетно ниска. Истовремено су и међугрупна растојања изузетно мала. С друге стране, укупна урачуната варијанса је 96,8% за прве три РС компоненте, због чега се

може рећи да представља изузетно добру слику структуре скупа концентрација макроелемената у узорцима одабраних конзервисаних производа од меса.

Због свега наведеног може се закључити да у току периода складиштења не долази до значајне промене у концентрацијама макроелемената у испитиваним узорцима конзервисаних производа од меса.

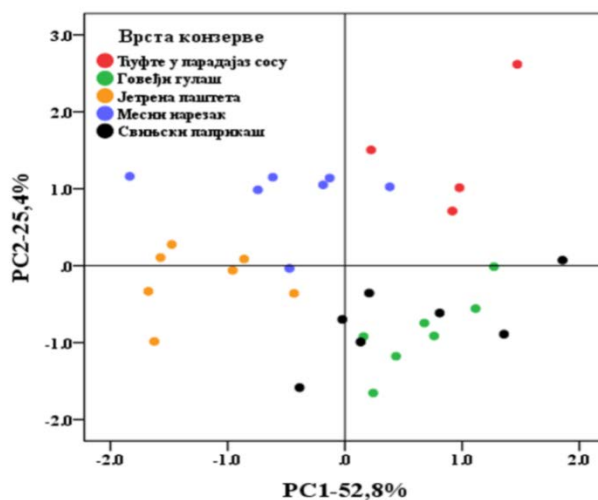


*Слика 21. Концентрација макроелемената у току периода складиштења код испитаних узорка приказана у редукованом PC1-PC2 простору*

Анализа главних компоненти (конзервисани производи) показала је да су узорци конзервисаних производа добро изабрани за студију. На Слици 22, која приказује концентрацију макроелемената у испитиваним врстама конзерви, види се да се различите врсте конзерви могу јасно разликовати у PC1-PC2 простору на основу концентрације макроелемената у њима. Овакав резултат је показатељ добро осмишљеног експеримента у коме резултати имају високу статистичку поузданост.

На основу вредности макроелемената и утицаја периода складиштења, може се констатовати: **1)** да је период складиштења утицао на смањење вредности макроелемената (осим Ca) код свих врста узорка, осим код ЋПС; **2)** да су се вредности макроелемената у узорцима ЋПС повећавале (Na и Ca), односно смањивале (Mg, K), али без статистичке значајности ( $p > 0,01$ ); **3)** да у току периода складиштења ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС нема статистички значајне промене концентрације макроелемената у односу на средњу вредност на нивоу значајности

од 99%; 4) да постоји значајна корелација и јака позитивна корелација између макроелемената у узорцима ГГ, СП, МН и ЋПС, док у узорцима ЈП нема значајних корелација.



Слика 22. Концентрација макроелемената у испитиваним врстама конзерви у току периода складиштења, приказана у редукованом PC1-PC2 простору

### 4.5.3. Концентрација микроелемената

У Табели 18 приказане су вредности микроелемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења. На основу добијених вредности, може се констатовати да су се микроелементи налазили у садржају свих испитиваних врста конзервисаних производа од меса, у свим периодима складиштења.

Добијени резултати показали су смањење концентрације свих микроелемената (осим Fe) код узорака конзерви ГГ, односно смањење концентрације Cu, Zn и Se и повећање концентрације осталих микроелемената код узорака конзерви СП. Код узорака МН запажа се смањење концентрације Zn и Se, односно повећање концентрације осталих микроелемената. Код узорака конзерви ЈП и ЋПС запажа се смањење концентрације Se, односно повећање концентрације свих осталих микроелемената, али без статистичке значајности.

Границе детекције, односно границе квантификације ICP-MS методом биле су: Cr - 0,007 mg kg<sup>-1</sup>; Mn - 0,011 mg kg<sup>-1</sup>; Fe - 0,23 mg kg<sup>-1</sup>; Cu - 0,066 mg kg<sup>-1</sup>; Zn - 0,372 mg kg<sup>-1</sup> и Se - 0,032 mg kg<sup>-1</sup>.

Табела 18. Концентрације микроелемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења

Врста конзерве	Период склад. г/м/д	Концентрације микроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]					
		Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
Говеђи гулаш	0/2/13	0,12	0,39	20,19	0,77	51,99	0,12
	0/10/05	0,04	0,46	18,43	0,88	40,43	0,18
	2/1/19	0,09	0,24	23,69	0,74	44,72	0,14
	3/1/15	0,12	0,21	22,93	0,66	47,38	0,06
	3/11/12	0,10	0,24	28,80	0,73	37,15	0,11
	5/0/15	0,05	0,18	20,50	0,62	42,36	0,08
	5/8/12	0,06	0,31	20,60	0,62	40,06	0,10
Свињски паприкаш	0/2/18	0,03	0,26	11,41	0,82	28,62	0,16
	0/5/08	0,05	0,20	11,90	1,05	28,28	0,14
	2/1/21	0,04	0,31	9,02	0,86	29,72	0,11
	3/1/13	0,03	0,52	11,20	0,82	26,34	0,14
	3/11/15	0,03	0,36	11,90	0,76	26,42	0,09
	5/0/15	0,16	0,27	11,83	0,74	24,92	0,09
	5/8/23	0,13	0,30	13,10	0,77	24,44	0,06
Месни нарезак	0/7/15	0,06	0,24	10,96	0,73	20,90	0,11
	1/0/22	0,06	0,30	8,70	1,25	24,56	0,06
	2/0/01	0,09	0,65	14,04	0,78	19,94	0,07
	3/0/14	0,23	0,61	14,38	1,54	21,99	0,09
	4/3/06	0,16	0,70	26,59	1,02	18,05	0,08
	4/11/28	0,10	1,03	42,52	0,99	19,61	0,06
	5/11/09	0,27	0,44	29,25	1,00	14,56	0,05
Јетрена пашгета	0/6/16	0,04	1,18	32,42	3,09	19,84	0,21
	1/0/22	0,05	1,01	32,45	3,95	18,67	0,17
	2/3/04	0,09	1,37	41,02	3,88	24,11	0,18
	2/11/27	0,34	1,88	46,80	4,42	27,00	0,13
	4/3/02	0,26	1,98	44,32	4,13	24,88	0,19
	4/11/00	0,05	1,19	47,59	3,67	19,92	0,13
	5/11/7	0,45	1,21	41,68	3,90	20,90	0,20
Ћуфте у парадајз сосу	0/0/15	0,02	0,38	10,54	0,51	20,18	0,12
	0/9/00	0,03	0,67	10,08	0,75	21,36	0,08
	2/7/24	0,02	0,53	14,24	0,68	23,38	0,10
	3/8/14	0,03	0,58	15,38	0,61	24,85	0,07

Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација микроелемента у односу на средњу вредност у свим узорцима, осим за вредности концентрације Cr у узорцима СП и ЋПС, (Табела 5, Прилог 1).

У Табели 19 приказане су минималне, максималне и средње вредности концентрација микроелемената, као и стандардне девијације и статистичка значајност (*p*) у испитаним узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења.



Табела 19. Концентрације микроелемената са мерама варијације у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења

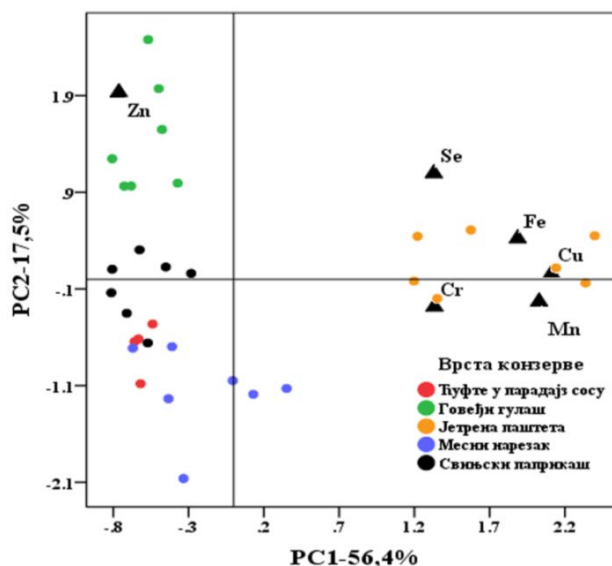
Врста конзерве	Мере варијације	Концентрације микроелемената [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]					
		Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
ГГ	SV $\pm$ SD	0,08 $\pm$ 0,03	0,29 $\pm$ 0,10	22,2 $\pm$ 3,4	0,72 $\pm$ 0,09	43,4 $\pm$ 5,0	0,11 $\pm$ 0,04
	Min	0,04	0,18	18,4	0,62	37,1	0,06
	Max	0,12	0,46	28,8	0,88	52,0	0,18
	<i>p</i>	<b>0,927</b>	<b>0,986</b>	<b>0,903</b>	<b>0,946</b>	<b>0,824</b>	<b>0,812</b>
СП	SV $\pm$ SD	-	0,301 $\pm$ 0,110	11,9 $\pm$ 1,4	0,83 $\pm$ 0,10	27,0 $\pm$ 2,0	0,12 $\pm$ 0,03
	Min	-	0,20	9,02	0,74	24,44	0,06
	Max	-	0,52	13,10	1,05	29,72	0,16
	<i>p</i>	-	<b>0,979</b>	<b>0,991</b>	<b>0,950</b>	<b>0,961</b>	<b>0,804</b>
МН	SV $\pm$ SD	0,137 $\pm$ 0,08	0,57 $\pm$ 0,27	20,9 $\pm$ 12,3	1,04 $\pm$ 0,28	19,9 $\pm$ 3,1	0,074 $\pm$ 0,02
	Min	0,059	0,24	8,70	0,73	14,56	0,055
	Max	0,265	1,03	42,52	1,54	24,56	0,106
	<i>p</i>	<b>0,929</b>	<b>0,972</b>	<b>0,987</b>	<b>0,958</b>	<b>0,964</b>	<b>0,968</b>
ЈП	SV $\pm$ SD	0,183 $\pm$ 0,165	1,38 $\pm$ 0,39	40,9 $\pm$ 6,3	3,86 $\pm$ 0,41	22,2 $\pm$ 3,2	0,171 $\pm$ 0,03
	Min	0,045	1,01	32,42	3,09	18,67	0,130
	Max	0,446	1,98	47,59	4,42	27,00	0,208
	<i>p</i>	<b>0,099</b>	<b>0,997</b>	<b>0,966</b>	<b>0,819</b>	<b>0,901</b>	<b>0,916</b>
ЋПС	SV $\pm$ SD	-	0,54 $\pm$ 0,12	12,6 $\pm$ 2,6	0,64 $\pm$ 0,10	22,4 $\pm$ 2,1	0,09 $\pm$ 0,02
	Min	-	0,38	10,08	0,51	20,18	0,07
	Max	-	0,67	15,38	0,75	24,85	0,12
	<i>p</i>	-	<b>0,999</b>	<b>0,967</b>	<b>0,815</b>	<b>0,960</b>	<b>0,929</b>

Резултати анализе статистичке значајности (*Studentov t-test*) показују да у току периода складиштења нема статистички значајне промене концентрације микроелемената у односу на средњу вредност у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС на нивоу од 99%.

Корелација између микроелемената код свих испитиваних врста конзерви анализирана је *Pearson Correlation* тестом. На основу добијених резултата запажа се да у узорцима ГГ, Мн и Cu међусобно значајно позитивно корелишу, док у узорцима СП нема значајних корелација између елемената. У узорцима МН значајно позитивно корелишу Мн и Fe, као и Cr и Cu, док се у узорцима ЈП запажа јака позитивна корелација између Мн и Zn. У узорцима ЋПС нема значајних корелација између микроелемената (Табела 6, Прилог 1).

Анализа главних компоненти (РСА анализа) може потврдити да је избор испитаних узорака добро извршен. Наиме, са Сlike 23 види се да је групна кохерентност, као и међугрупно растојање у РС1-РС2 простору, довољно велико да се са највећом прецизношћу може утврдити врста производа од меса на основу концентрација микроелемената у узорцима. Такође, може се уочити и да је

највећа варијанса (стандардна девијација) микроелемената у узорцима ЈП, али да тај тренд варијабилности остаје очуван у току времена. Такође, може се приметити значајна варијанса Zn у узорцима ГГ.



Слика 23. Концентрација микроелемената у различитим врстама конзерви приказана у редукованом PC1-PC2 простору

Концентрација **Cr** и **Mn**, у односу на период складиштења, смањивала се код узорака ГГ, односно повећавала код узорака СП, МН, ЈП и ЋПС, али без статистичке значајности. Средња вредност хрома кретала се у распону од  $0,08 \pm 0,03 \text{ mg kg}^{-1}$  код ГГ до  $0,183 \pm 0,165 \text{ mg kg}^{-1}$  код ЈП. Средња вредност мангана кретала се од  $0,29 \pm 0,10 \text{ mg kg}^{-1}$  код конзерви ГГ до  $1,38 \pm 0,39 \text{ mg kg}^{-1}$  код конзерви ЈП.

Концентрација **Cu** смањивала се са дужином периода складиштења код конзерви ГГ и СП, односно повећавала код конзерви МН, ЈП и ЋПС. Средња вредност бакра износила је: код ГГ  $0,72 \pm 0,09 \text{ mg kg}^{-1}$ ; код СП  $0,83 \pm 0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ ; код МН  $1,04 \pm 0,28 \text{ mg kg}^{-1}$ ; код ЈП  $3,86 \pm 0,41 \text{ mg kg}^{-1}$ ; код конзерви ЋПС  $0,64 \pm 0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ . То су значајно ниже вредности у односу на максимално дозвољену количину од  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$  за производе паковане у лимену амбалажу, прописане по Правилнику РС (22/2018). WHO/FAO су прописале привремено максимални толерабилни недељни унос бакра од  $3,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ tm}$ , односно  $245 \text{ mg}$  бакра за особу масе  $70 \text{ kg}$  (FAO/WHO, 2014).

Концентрација **Zn** смањивала се са дужином периода складиштења код узорака конзерви ГГ, СП и МН, односно повећавала код узорака конзерви ЈП и ЋПС. Средња вредност цинка износила је: код конзерви ГГ  $43,4 \pm 5,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ; код конзерви СП  $27,0 \pm 2,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ; код конзерви МН  $19,9 \pm 3,1 \text{ mg kg}^{-1}$ ; код конзерви ЈП  $22,2 \pm 3,2 \text{ mg kg}^{-1}$  и код конзерви ЋПС  $22,4 \pm 2,1 \text{ mg kg}^{-1}$ . То су ниже вредности у односу на прописану вредност од  $100,0 \text{ mg kg}^{-1}$  у конзервисаним производима од меса, по Правилнику РС (22/2018). Препоручен унос цинка креће се од 2 до 13 mg дневно (DRI, 2011).

Дужина периода складиштења утицала је на повећање вредности концентрације **Fe** код свих врста конзервисаних производа од меса. Највећа вредност код узорака конзерви ГГ забележена је након непуне четири године складиштења ( $28,80 \text{ mg kg}^{-1}$ ), а најмања након десет месеци складиштења ( $18,43 \text{ mg kg}^{-1}$ ), са средњом вредношћу од  $22,2 \pm 3,4 \text{ mg kg}^{-1}$ . Ово је доста близу максимално дозвољеној количини од  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$  за храну у лименој амбалажи, која је прописана Правилником РС (22/2018).

Код узорака конзерви СП, највећа вредност детектована је код узорка са најдужим периодом складиштења од пет година и девет месеци ( $13,10 \text{ mg kg}^{-1}$ ), а најмања вредност након две године складиштења ( $9,02 \text{ mg kg}^{-1}$ ), са средњом вредношћу од  $11,9 \pm 1,4 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Код конзерви МН највећа вредност је забележена након пет година складиштења ( $42,52 \text{ mg kg}^{-1}$ ), а најмања након годину дана складиштења ( $8,70 \text{ mg kg}^{-1}$ ), са средњом вредношћу од  $20,9 \pm 12,3 \text{ mg kg}^{-1}$ . Добијени резултати показују да су узорци МН са периодом складиштења од преко четири године били близу и изнад вредности од  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Код конзерви ЈП највећа вредност је измерена након непуних 5 година складиштења ( $47,59 \text{ mg kg}^{-1}$ ), а најмања након шест месеци складиштења ( $32,42 \text{ mg kg}^{-1}$ ), са средњом вредношћу од  $40,9 \pm 6,3 \text{ mg kg}^{-1}$ , што је значајно изнад максималне вредности од  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$ , прописане Правилником РС (22/2018).

Код конзерви ЋПС највећа вредност Fe забележена је након непуне 4 године складиштења ( $15,38 \text{ mg kg}^{-1}$ ), а најмања након девет месеци складиштења ( $10,08 \text{ mg kg}^{-1}$ ), са средњом вредношћу од  $12,6 \pm 2,6 \text{ mg kg}^{-1}$ .

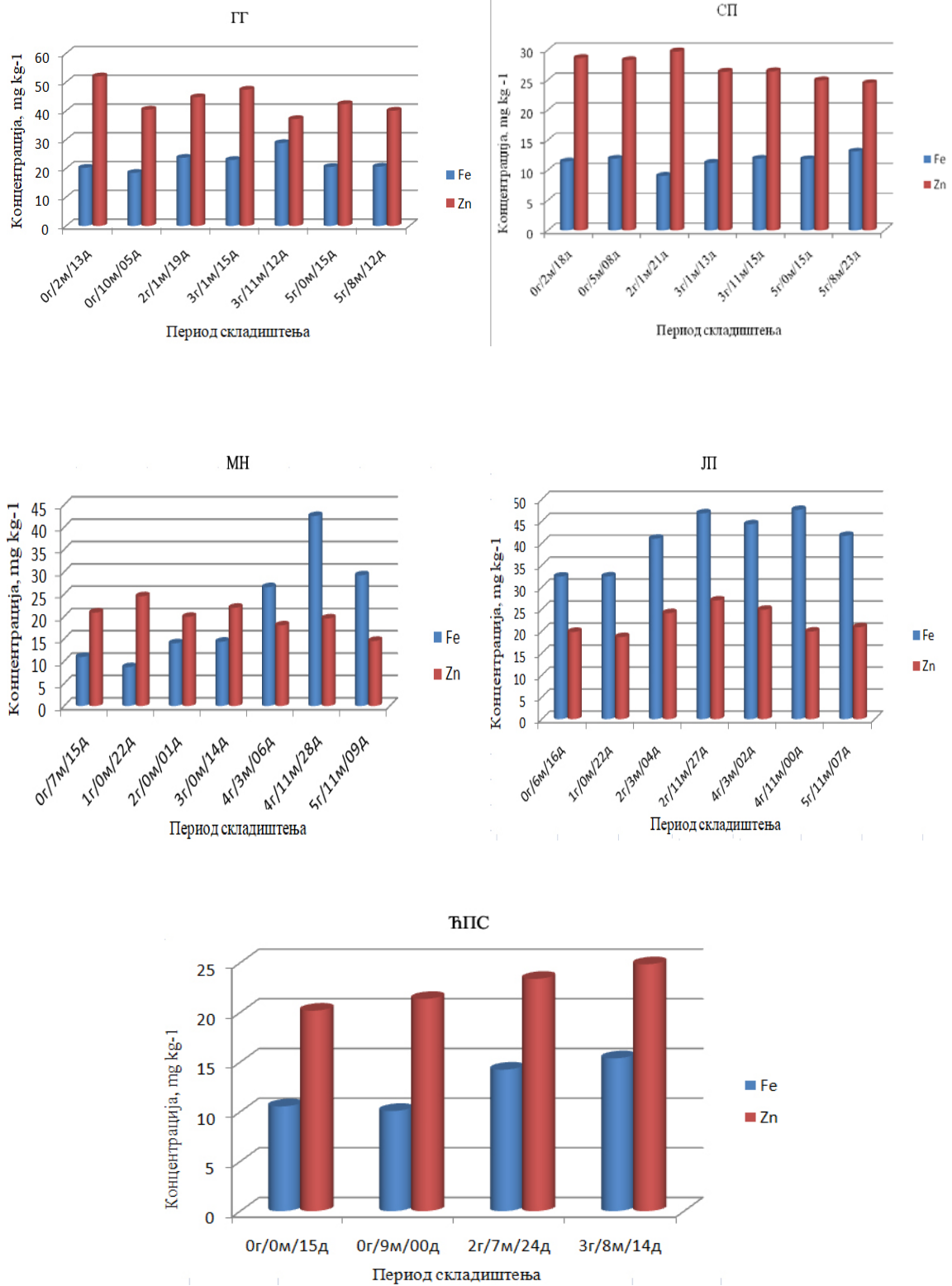
WHO/FAO су прописале привремено толерабилни недељни унос гвожђа од  $5,6 \text{ mg (kg tm)}^{-1}$ , односно 392 mg недељно за особу масе 70 kg (FAO/WHO, 2014).

Концентрација Se, код свих испитиваних врста конзервисаних производа од меса, смањивала се са повећањем периода складиштења. Најнижа средња вредност од  $0,09 \pm 0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  измерена је код узорака конзерви ЋПС, а највиша,  $0,174 \pm 0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  код узорака конзерви ЈП, али без статистичке значајности.

Добијени резултати показују да је период складиштења утицао на концентрацију микроелемената у садржају испитиваних врста конзервисаних производа, и то:

- 1) код конзерви ГГ вредности концентрације микроелемената су се смањивале (осим Fe) са повећањем периода складиштења. Вредност Fe је након складиштења од четири године била близу дозвољеној граничној вредности од  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ;
- 2) код конзерви СП вредности концентрације Cu, Zn и Se су се смањивале, односно вредности Cr, Mn и Fe повећавале са периодом складиштења;
- 3) код конзерви МН вредности концентрације Zn и Se су се смањивале, односно вредности Cr, Mn, Fe и Cu повећавале са периодом складиштења. Вредности Fe показују да су узорци са периодом складиштења преко четири године биле близу и изнад максимално дозвољене вредности од  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ;
- 4) код конзерви ЈП вредности концентрације Se су се смањивале, односно вредности Cr, Mn, Fe, Cu и Zn су се повећавале са повећањем периода складиштења. Резултати испитивања показали су да су сви узорци конзерви садржали Fe изнад максималне вредности од  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$  прописане правилником;
- 5) код конзерви ЋПС вредности концентрације Se су се смањивале, односно вредности Cr, Mn, Fe, Cu и Zn повећавале са повећањем периода складиштења;
- 6) постоји значајна и јака позитивна корелација између микроелемената у узорцима ГГ, МН, ЈП, док у узорцима СП и ЋПС нема значајних корелација.

На Слици 24 приказане су вредности гвожђа и цинка у узорцима конзервисаних производа од меса у различитим периодима складиштења. На основу приказаних вредности, запажа се повећање концентрације гвожђа са периодом складиштења, код свих пет врста конзерви, док су се вредности цинка смањивале код узорака конзерви ГГ, СП и МН, односно вредности повећавале код узорака конзерви ЈП и ЋПС.



Слика 24. Вредности концентрације гвожђа и цинка у узорцима GT, SP, MH, JPи TPC у току периода складиштења

Анализирајући утицај врсте конзервисаних производа од меса на концентрацију токсичних, макро и микроелемената, може се констатовати да врста конзервисаног производа:

- а)** имала је утицаја на концентрацију Cd. Код ГГ и СП вредност Cd била је испод нивоа детекције, или незнатно изнад, док је код МН, ЈП и ЋПС Cd детектован скоро код свих узорака, чак и са високим вредностима;
- б)** није имала утицаја на концентрације As и Pb, као и на концентрацију Hg. Код скоро половине узорака, вредност Hg била је испод нивоа детекције, а код ЋПС, у свим узорцима била је испод нивоа детекције;
- в)** имала је утицаја на концентрацију Sn. Садржај Sn је био испод нивоа детекције код: узорака ГГ и СП до три године складиштења; узорака МН и ЋПС до једне године складиштења; узорака ЈП до две године складиштења. Највише вредности Sn детектоване су код конзерви ЋПС;
- г)** није имала утицаја на концентрацију макроелемената;
- д)** имала је утицаја на концентрацију микроелемената. Код појединих узорака конзерви, вредности неких елемената су се повећавале, нпр: Fe код узорака ГГ; Cr, Mn и Fe код узорака СП; Cr, Mn, Fe и Cu код узорака МН; Cr, Mn, Fe, Cu и Zn код узорака ЈП и ЋПС. Код осталих узорака, вредности неких елемената су се смањивале, нпр: Cr, Mn, Cu, Zn и Se код узорака ГГ; Cu, Zn и Se код узорака СП; Zn и Se код узорака МН и Se код узорака ЈП и ЋПС.

На основу вредности концентрација токсичних, макро и микроелемената у испитиваним узорцима конзервисаних производа, може се закључити да су исти потпуно безбедни за исхрану припадника ВС у прописаном року употребе (четири године), а да је након истека рока употребе неопходно најпре извршити сензорну оцену конзерви, а онда и комплетну анализу токсичних, макро и микроелемената.

На основу резултата нашег истраживања не може се наћи директна веза између повећања концентрације токсичних и микроелемената (Sn и Fe) и дужине периода складиштења, али се може наћи веза између смањења концентрације макроелемената (код свих врста конзервисаних производа, осим ЋПС) и неких микроелемената (Se код свих врста конзервисаних производа) и дужине периода складиштења.

За производњу конзервисаних производа од меса за потребе војске биле су обезбеђене лименке истог квалитета. Производња конзерви вршена је по истој рецептури, али код различитих произвођача, и све су биле складиштене под истим редовним условима. С обзиром на претходно наведене чињенице, јасно је да су на миграцију токсичних елемената из лимене амбалаже у садржај конзерви утицали на првом месту квалитет и континуитет полимерне превлаке (лака), као и површинска маса и континуитет калајне превлаке на унутрашњим површинама лименки. Слична запажања у својим истраживањима наводе и други аутори (*Buculei et al., 2012, 2014*), који поред дужине периода складиштења наводе и многе друге факторе који утичу на миграцију токсичних елемената.

Полазећи од чињенице да су произведене лименке испуњавале захтеве квалитета које је имала војска по питању наноса масе калаја, као и масе и квалитета органске превлаке, варијације у концентрацији токсичних елемената у садржају конзерви зависиле су од природне контаминације ваздуха, воде, земљишта, сировина, зачина и додатака, затим од процеса производње и секундарне контаминације у годинама производње. Ово потврђује и група аутора (*Fathy et al., 2016*), која је испитивала трагове Pb, Cd, Hg и Sn у конзервисаним производима од меса (конзервисана пилетина, говедина, конзервисани франкфуртер, конзервисана слана говедина), са нагласком на изворе контаминације и дозвољене лимите.

Штетност токсичних елемената по здравље људи доказана је у многим истраживањима објављеним у домаћој и страниј литератури. Позитиван ефекат макро и микроелемената на раст, развој и нормално функционисање организма, као и штетан утицај њиховог недовољног, или прекомерног уношења у организам (*Jarup, 2003*), такође је доказан.

Други аутори су пријавили веома разноврсне резултате у погледу нивоа токсичних елемената (Cu, Fe, Mn, Zn, Sn, Cd, Cr и Pb) код конзервисане хране, као што су нпр. сардине. Детектоване су веће концентрације Fe (20,96-88,83  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), Zn (16,16-36,09  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), Cu (1,31-2,25  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), Mn (1,53-17,55  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) и Sn (2,07-4,57  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). Токсични метали Cd, Cr и Pb су имали ниже вредности (у распону од 0,19 до 0,38, од 0,46 до 1,18 и од 0,77 до 2,15  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), које су биле у границама бразилског законодавства (*Cesar et al., 2001*).

#### 4.6. Утицај врсте конзервисаног производа од меса, степена оштећења конзерви, периода складиштења и температуре на концентрацију токсичних, макро и микроелемената у узорцима говеђег гулаша и ћуфти у парадајз сосу

У другом делу истраживања мерена је концентрација токсичних, макро и микроелемената у узорцима конзерви ГГ и ЋПС, које су произведене у 2016. години, а складиштене под различитим (експерименталним) условима. Вршено је испитивање садржаја неоштећених и конзерви са различитим степеном индукваног оштећења (НО, МО и ВО), након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на температури од 20 °С и 40 °С. Конзерве су пре отварања контролисане и утврђено је да на металној амбалажи и у садржају, након отварања, није било уочљивих сензорних промена. Затим је одређена концентрација токсичних елемената (As, Pb, Cd, Hg, Sn и Al), макроелемената (Na, Mg, K и Ca) и микроелемената (Cr, Mn, Fe, Cu, Zn и Se) у упакованом садржају конзерви.

Пре почетка производње конзервисаних производа од меса који су коришћени у овом експерименту, испитане су полазне сировине, зачини и додаци на присуство токсичних, макро и микроелемената. Добијене вредности су приказане у Табелама 20 и 21.

Код конзерви ГГ (Табела 20) вршено је испитивање говеђег меса и говеђег лоја (сировине), сувог црног лука и полуслатке паприке (зачини) и кухињске соли (додатка). Концентрације токсичних елемената (As, Pb, Cd, Hg, Sn и Al) код сировина и додатака, биле су испод нивоа детекције, док су код зачина детектовани токсични елементи (Cd, Pb и Al). Нарочито се истицала висока концентрација Cd код полуслатке паприке ( $163 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Макро и микроелементи детектовани су у полазним сировинама, зачинима и додацима. Нешто већа вредност Zn детектована је у говеђем месу ( $78,75 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Fe у сувом црном луку и полуслаткој паприци ( $35,87 \text{ mg kg}^{-1}$ , односно  $65,57 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

Код конзерви ЋПС (Табела 21) вршено је испитивање јунећег меса, свињског меса и куваног парадајза (полазних сировина), сувог црног лука, полуслатке млевене паприке, млевеног белог лука, млевеног бибера, брашна, шећера, адитива (зачини), додатка јелу и кухињске соли (додатака).



Концентрације токсичних елемената (As, Pb, Cd, Hg, Sn и Al) биле су код јунећег и свињског меса испод нивоа детекције, док је у куваном парадајзу детектовано Pb ( $20,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), Cd ( $10,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) и Al ( $1,33 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Детектовани су такође поједини токсични елементи код зачина и додатака. Посебно се истиче висока концентрација As у сушеном луку и млевеној паприци (по  $40 \mu\text{g kg}^{-1}$ ); Cd ( $150 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) у млевеној паприци и адитиву ( $70 \mu\text{g kg}^{-1}$ ); Pb у додатку јелу ( $250 \mu\text{g kg}^{-1}$ ).

Макроелементи и микроелементи детектовани су у сировинама, зачинима и додацима. Детектована је нешто већа вредност Zn у говеђем и свињском месу ( $77,73 \text{ mg kg}^{-1}$ , односно  $56,30 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Fe у млевеној паприци ( $54,52 \text{ mg kg}^{-1}$ ), свежем млевеном луку ( $51,65 \text{ mg kg}^{-1}$ ) и сушеном луку ( $40,52 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

На основу добијених вредности концентрација може се закључити да сировински састав конзервисаних производа, а нарочито зачини и додаци, могу у великој мери утицати на концентрацију токсичних, макро и микроелемената у готовом производу.

Следећи корак, након испитивања полазних сировина, зачина и додатака, био је испитивање садржаја конзерви ГГ и ЋПС на присуство токсичних, макро и микроелемената непосредно пре стерилизације и одмах након стерилизације. Вредности токсичних, макро и микроелемената у узорцима конзерви ГГ и ЋПС приказане су у Табели 22.

Код узорака конзерви ГГ вредности токсичних елемената (As, Pb, Cd, Hg и Sn) биле су испод нивоа детекције и пре и после стерилизације, док су вредности Al биле незнатно веће након стерилизације ( $3,51 \text{ mg kg}^{-1}$ , односно  $4,42 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Вредности свих макроелемената и микроелемената биле су ниже након стерилизације (10 до 15%).

Вредности As и Hg у узорцима конзерви ЋПС биле су испод нивоа детекције и пре и после стерилизације, вредности Pb, Sn и Al биле су веће након стерилизације, док су вредности Cd остале исте и пре и након стерилизације. Вредности свих макроелемената и микроелеманата биле су ниже након стерилизације (10 до 15%).

Табела 20. Вредности токсичних, макро и микроелемената у сировинама, зачинима и додацима за производњу говеђеџ гулаша

Сировине, зачини, додаци	Na mg kg <sup>-1</sup>	Mg mg kg <sup>-1</sup>	K mg kg <sup>-1</sup>	Ca mg kg <sup>-1</sup>	Cr mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Zn mg kg <sup>-1</sup>	As μg kg <sup>-1</sup>	Se mg kg <sup>-1</sup>	Cd μg kg <sup>-1</sup>	Sn mg kg <sup>-1</sup>	Hg μg kg <sup>-1</sup>	Pb μg kg <sup>-1</sup>	Al mg kg <sup>-1</sup>
Говеђе месо	631,4	252,88	4089,9	58,27	0,019	0,092	20,45	0,707	78,75	< 4	0,129	< 1	< 0,2	< 1	< 4	< 0,15
Говеђи лој	16,9	8,37	52,9	24,43	0,06	0,013	0,57	0,205	9,05	< 4	0,042	< 1	< 0,2	< 1	< 4	< 0,15
Суви црни лук	1068,5	1265,7	12539,5	3668,99	0,06	12,154	35,87	6,452	21,32	< 4	0,029	19	< 0,2	< 1	18	1,43
Полуслатка паприка	260,6	2224,51	31774,4	2521,81	0,175	17,783	65,57	11,75	24,3	< 4	0,065	163	< 0,2	< 1	24	7,91
Кухињска со	389000	< 0,1	3,8	< 0,1	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 4	0,009	< 1	< 0,2	< 1	< 4	< 0,15

Табела 21. Вредности токсичних, макро и микроелемената у сировинама, зачинима и додацима за производњу *ћуфти у парадајз сосу*

Сировине, зачини, додаци	Na mg kg <sup>-1</sup>	Mg mg kg <sup>-1</sup>	K mg kg <sup>-1</sup>	Ca mg kg <sup>-1</sup>	Cr mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Zn mg kg <sup>-1</sup>	As μg kg <sup>-1</sup>	Se mg kg <sup>-1</sup>	Cd μg kg <sup>-1</sup>	Sn mg kg <sup>-1</sup>	Hg μg kg <sup>-1</sup>	Pb μg kg <sup>-1</sup>	Al mg kg <sup>-1</sup>
Јунеће месо	564,08	248,76	3471,74	59,55	0,02	0,11	21,42	0,64	77,73	< 4	0,16	< 1	< 0,2	< 1	< 4	< 0,15
Свињско месо	479,10	216,51	3477,64	65,05	0,03	0,16	15,61	0,91	56,30	< 4	0,21	< 1	< 0,2	< 1	< 4	< 0,15
Кувани парадајз	5150,78	201,52	4907,40	211,24	0,06	1,13	6,12	0,67	1,47	< 4	0,07	10,0	< 0,2	< 1	20,0	1,33
Сушени лук	1155,04	995,93	11182,70	3221,34	0,08	10,29	40,52	5,12	19,16	40,0	0,03	20,0	< 0,2	< 1	20,0	7,89
Млевена паприка	218,68	1937,82	28360,27	2082,71	0,14	15,16	54,52	10,32	18,24	40,0	0,08	150,0	< 0,2	< 1	20,0	6,72
Додатак јелу	284383,01	184,75	2214,50	539,71	0,50	4,89	24,92	< 0,01	8,72	10,0	0,36	40,0	< 0,2	< 1	250,0	6,99
Млевени лук	1316,85	112,42	28,83	2611,33	0,05	1,09	51,65	0,38	5,47	10,0	0,02	< 1	< 0,2	< 1	20,0	11,32
Млевени бибер	83831,80	74,80	621,14	155,64	0,10	0,44	3,17	0,05	1,98	< 4	0,02	< 1	< 0,2	4,0	30,0	0,38
Адитив	363004,78	< 0,1	2,85	1,92	-0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	10,0	< 0,005	70,0	< 0,2	< 1	< 4	1,38
Брашно	35,59	312,74	1560,15	235,02	0,04	6,38	8,79	1,66	6,97	10,0	0,02	10,0	< 0,2	< 1	50,0	0,35
Шећер	32,70	3,68	32,42	30,55	0,04	0,05	1,92	< 0,01	0,58	< 4	0,02	< 1	< 0,2	< 1	20,0	< 0,15
Кухињска со	391341,81	< 0,1	3,15	< 0,1	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 4	0,01	< 1	< 0,2	< 1	< 4	< 0,15

**Табела 22.** Вредности токсичних, макро и микроелемената у садржају конзерви говеђег гулаша и ћуфти у парадајз сосу пре и после стерилизације

Период	Na	Mg	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Se	Cd	Sn	Hg	Pb	Al
	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	μg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	μg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	μg kg <sup>-1</sup>	μg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>
	<b>Говеђи гулаш</b>															
Пре стерилизације	5066,97	181,29	2789,09	95,59	0,05	0,24	20,72	0,69	40,76	< 4	0,07	< 1	< 0,4	< 1	< 4	3,51
После стерилизације	4497,29	171,61	2583,31	88,08	0,04	0,21	17,14	0,64	36,67	< 4	0,06	< 1	< 0,4	< 1	< 4	4,42

**Ћуфте у парадајз сосу**

Пре стерилизације	5864,61	170,98	2755,67	92,77	0,23	0,63	20,25	0,83	21,06	< 4	0,09	3,0	1,45	< 1	14,0	3,00
После стерилизације	5710,88	163,42	2632,40	93,65	0,06	0,63	16,84	0,79	18,07	< 4	0,06	3,0	1,50	< 1	17,0	3,85

На основу добијених вредности концентрација токсичних, макро и микроелемената пре и након стерилизације, може се констатовати да је:

- а) детекција и концентрација токсичних елемената зависила од врсте конзервисаног производа. Већи број токсичних елемената детектован је у узорцима конзерви  $\text{HPC}$ , као и виша концентрација;
- б) процес стерилизације утицао на повећање концентрације појединих токсичних елемената:  $\text{Al}$  у узорцима  $\text{GG}$ , односно  $\text{Pb}$ ,  $\text{Sn}$  и  $\text{Al}$  у узорцима  $\text{HPC}$ ;
- в) концентрација свих макро и микроелемената била значајно нижа након стерилизације, код обе врсте конзервисаних производа од меса.

#### **4.6.1. Резултати испитивања концентрације токсичних елемената у узорцима говеђег гулаша**

Резултати су показали да су се токсични елементи налазили у садржају  $\text{GG}$  у распону од н.д., до детектоване вредности које су се разликовале, како од степена оштећења конзерви, тако и од периода термостатирања на различитим температурама ( $20\text{ }^\circ\text{C}$  и  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ).

Код значајног броја узорака, измерене вредности концентрације  $\text{As}$  и  $\text{Hg}$  биле су испод лимита детекције и нису коришћене у статистичким анализама, док су вредности концентрације  $\text{Sn}$ ,  $\text{Al}$ ,  $\text{Cd}$  и  $\text{Pb}$  обрађене методама статистичке анализе и приказане су у Табели 23.

У наведеној Табели приказане су средње вредности концентрација токсичних елемената (три мерења), у узорцима конзерви  $\text{GG}$  са различитим степеном оштећења конзерви и различитим периодима термостатирања на температури од  $20\text{ }^\circ\text{C}$  и температури од  $40\text{ }^\circ\text{C}$ .

Табела 23. Средње концентрације токсичних елемената у узорцима ГГ са различитим степеном оштећења, током термостатирања на 20 °C и 40 °C

Период термостатирања (месеци) Степен оштећења		Концентрације токсичних елемената			
		Sn, mg kg <sup>-1</sup>	Al, mg kg <sup>-1</sup>	Cd, µg kg <sup>-1</sup>	Pb, µg kg <sup>-1</sup>
20 °C	3/НО	0,123	1,034	н.д.	н.д.
	6/НО	0,489	0,834	н.д.	н.д.
	9/НО	0,440	0,865	2,00	17,00
	12/НО	0,621	1,237	2,00	12,00
	3/МО	0,591	0,775	н.д.	н.д.
	6/МО	0,753	1,266	н.д.	н.д.
	9/МО	1,080	1,139	2,00	20,00
	12/МО	0,801	1,238	1,00	13,00
	3/ВО	1,167	0,785	н.д.	н.д.
	6/ВО	1,342	1,525	н.д.	н.д.
	9/ВО	1,841	1,874	2,00	23,00
	12/ВО	2,665	1,387	2,00	10,00
40 °C	3/НО	0,235	1,431	н.д.	н.д.
	6/НО	0,314	0,780	н.д.	н.д.
	9/НО	0,322	2,097	3,00	14,00
	12/НО	0,265	1,553	н.д.	7,00
	3/МО	0,596	1,474	н.д.	н.д.
	6/МО	1,003	1,323	н.д.	н.д.
	9/МО	0,914	1,183	3,00	19,00
	12/МО	0,827	1,535	н.д.	6,00
	3/ВО	1,345	1,334	н.д.	н.д.
	6/ВО	1,697	1,618	н.д.	н.д.
	9/ВО	1,368	1,255	2,00	17,00
	12/ВО	1,497	1,595	2,00	8,00

н.д. – није детектовано

Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација токсичних елемената у конзервама ГГ у односу на степен оштећења током периода термостатирања на 20 °C и 40 °C, осим за Al у узорцима термостатираним 12 месеци на температури од 20 °C (Табела 7, Прилог 1).

У Табели 24 приказане су концентрације токсичних елемената са мерама варијације и то: средња вредност (SV) са стандардном девијацијом (SD), минималне (min) и максималне (max) вредности у испитаним узорцима ГГ.

Табела 24. Дескриптивни подаци концентрација токсичних елемената и мерама варијације у узорцима ГГ

Узорци		Мере варијације	Концентрације токсичних елемената			
			Sn, mg kg <sup>-1</sup>	Al, mg kg <sup>-1</sup>	Cd*, µg kg <sup>-1</sup>	Pb*, µg kg <sup>-1</sup>
20 °C	HO = 4 HO = 2*	SV ± SD	0,42 ± 0,21	0,99 ± 0,19	1,5 ± 0,4	15,0 ± 2,0
		Min	0,12	0,83	1,1	12,0
		Max	0,62	1,24	1,8	17,0
	MO = 4 MO = 2*	SV ± SD	0,81 ± 0,20	1,10 ± 0,23	1,8 ± 0,5	16,0 ± 4,0
		Min	0,59	0,77	1,3	13,0
		Max	1,08	1,27	2,3	20,0
	BO = 4 BO = 2*	SV ± SD	1,75 ± 0,67	1,39 ± 0,45	1,9 ± 0,3	16,0 ± 7,0
		Min	1,17	0,78	1,7	10,0
		Max	2,66	1,87	2,2	23,0
	Степен оштећења	<i>p</i>	<b>0,004</b>	0,311	0,737	0,947
Период термостат.	<i>p</i>	0,666	0,387	<b>0,027</b>	<b>0,016</b>	
40 °C	HO = 4 HO = 2*	SV ± SD	0,28 ± 0,04	1,45 ± 0,54	1,8 ± 0,9	11,0 ± 3,0
		Min	0,23	0,78	1,0	7,0
		Max	0,32	2,10	2,7	14,0
	MO = 4 MO = 2*	SV ± SD	0,83 ± 0,18	1,38 ± 0,16	1,8 ± 1,1	13,0 ± 7,0
		Min	0,60	1,18	0,7	6,0
		Max	1,00	1,54	2,8	19,0
	BO = 4 BO = 2*	SV ± SD	1,48 ± 0,16	1,47 ± 0,18	1,9 ± 0,1	13,0 ± 5,0
		Min	1,34	1,25	1,8	8,0
		Max	1,70	1,62	2,0	17,0
	Степен оштећења	<i>p</i>	<b>0,000</b>	0,930	0,989	0,949
Период термостат.	<i>p</i>	0,953	0,668	<b>0,036</b>	<b>0,004</b>	

\* узорци испод нивоа детекције

Резултати анализе статистичке значајности (*ANOVA*) показују да постоје статистички значајна одступања концентрације Sn од средње вредности, у односу на степен оштећења на обе температуре, односно статистички значајна одступања концентрације Cd и Pb у односу на период термостатирања на температури од 40 °C.

Корелација између токсичних елемената анализирана је *Pearson Correlation* тестом (Табела 8, Прилог 1). Из Табеле се види да на температури од 20 °C Sn и Al имају значајну позитивну корелацију, односно да на 40 °C постоји значајна позитивна корелација између Cd и Pb.

На основу измерених вредности токсичних елемената и утицаја степена оштећења конзерви, периода термостатирања и различитих температура, може се констатовати да је:

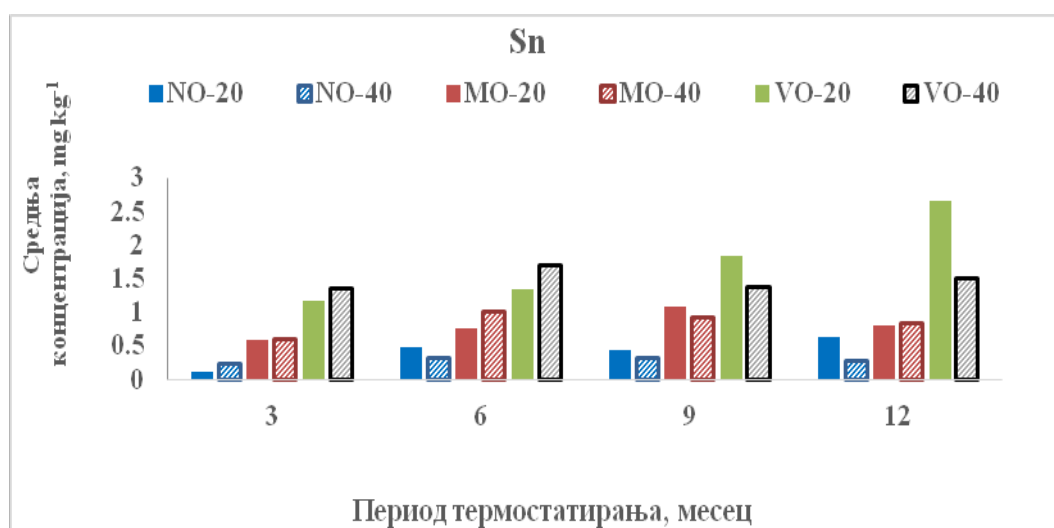
- 1) степен индукованог оштећења конзерви имао статистичког значаја на повећање вредности **Sn** на обе температуре ( $p= 0,004$  на  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , односно  $p= 0,000$  на  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Средње вредности биле су различите:  $0,42 \pm 0,21\text{ mg kg}^{-1}$  код НО;  $0,81 \pm 0,20\text{ mg kg}^{-1}$  код МО и  $1,75 \pm 0,67\text{ mg kg}^{-1}$  код ВО конзерви, на температури од  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , односно  $0,28 \pm 0,04\text{ mg kg}^{-1}$  код НО;  $0,83 \pm 0,18\text{ mg kg}^{-1}$  код МО и  $1,48 \pm 0,16\text{ mg kg}^{-1}$  код ВО конзерви, на температури од  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Средње вредности биле су знатно испод максималне вредности за храну у лименој амбалажи од  $200\text{ mg kg}^{-1}$ , по Правилнику РС (22/2018). Период термостатирања на различитим температурама није имао статистичког значаја на концентрацију калаја;
- 2) период термостатирања, као и температура од  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , утицали су на повећање концентрације **Cd** ( $p= 0,027$  и  $p= 0,036$ ). Средње вредности биле су приближно исте на температури од  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $1,5 \pm 0,4\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  код НО;  $1,8 \pm 0,5\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  код МО и  $1,9 \pm 0,3\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  код ВО конзерви) и на  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $1,8 \pm 0,9\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  код НО;  $1,8 \pm 1,1\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  код МО и  $1,9 \pm 0,1\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  код ВО конзерви). Средње вредности кадмијума значајно су испод максималне вредности прописане правилником за свеже месо -  $50\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ , јетру -  $500\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ , бубреге -  $1000\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$  (Правилник РС (22/2018)). Степен оштећења конзерви, на обе температуре, није имао утицаја на концентрацију кадмијума, што указује да он потиче из сировина за производњу ГГ, а не из амбалаже;
- 3) период термостатирања ( $p= 0,387$  и  $p= 0,668$ ) и температура од  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , утицали су на повећање концентрације **Al**, али без статистичке значајности. Степен оштећења конзерви није имао утицаја на концентрацију алуминијума.
- 4) постоји значајна корелација између концентрације **Sn** и **Al** на  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , као и између **Cd** и **Pb** на  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- 5) степен оштећења конзерви утицао је на повећање концентрације **Pb** на температурама од  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $p= 0,947$  и  $p= 0,949$ ), али без статистичке значајности. Период термостатирања имао је статистичког значаја на повећање вредности **Pb** ( $p= 0,016$  и  $p= 0,04$ ), на температурама од  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



На основу вредности концентрација токсичних елемената у узорцима конзерви ГГ и утицаја степена оштећења конзерви, периода термостатирања и различитих температура на њихову миграцију, може се закључити да су исте потпуно безбедне за исхрану припадника Војске Србије.

У сличним истраживањима, описујући миграцију елемената из металне амбалаже у садржај конзервисане хране, у зависности од температуре, рН вредности и периода складиштења, *Parkar i Rakesh (2014)* су добили знатно веће вредности концентрација токсичних елемената. Концентрација Al, Fe, Mn, Si и Sn у конзервисаним прехранбеним производима складиштеним на собној температури, у року употребе, кретала се у распону од 4,40-21,59 mg kg<sup>-1</sup>, 2,38-19,70 mg kg<sup>-1</sup>, 0,19-5,97 mg kg<sup>-1</sup>, 16,46-359,63 mg kg<sup>-1</sup> и 1,99-138,48 mg kg<sup>-1</sup>. Добијени резултати показују значајан утицај повишене температуре, ниже рН вредности и дужег периода складиштења на концентрацију токсичних елемената у конзервисаној храни. Вредности концентрације испитиваних елемената су биле изнад препоручених граница СЗО (FAO/WHO, Codex Alimentarius Commission).

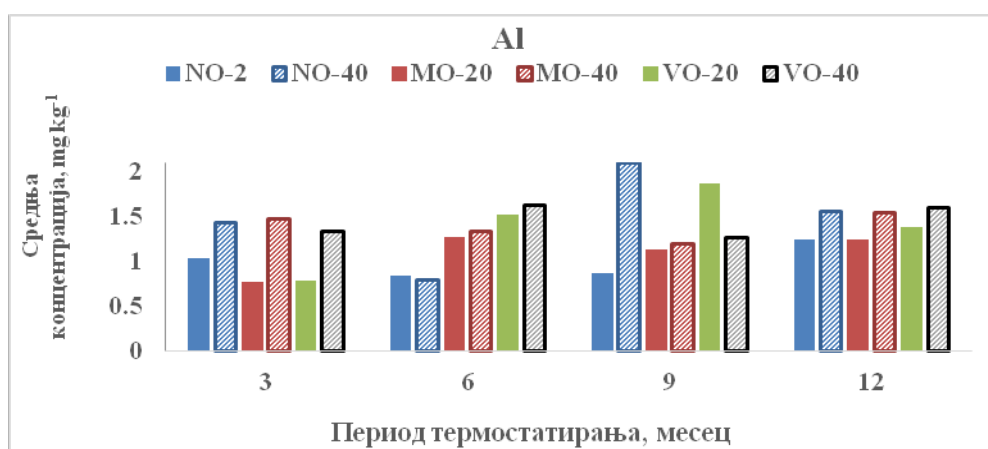
На Слици 25 и 26 приказане су средње вредности концентрације Sn и Al код неоштећених и конзерви са мањим и већим степеном оштећења, након 3, 6, 9, и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у испитиваним узорцима ГГ.



**Слика 25.** Средње вредности Sn у узорцима неоштећених и конзерви ГГ са мањим и већим степеном оштећења, након 3, 6, 9, и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C

На Слици 25 види се повећање концентрације калаја са степеном оштећења конзерви на температури од 40 °C. Период термостатирања од 3, 6, 9 и 12 месеци није имао утицаја на повећање концентрације калаја.

На слици 26 види се повећање концентрације алуминијума са периодом термостатирања на температури од 40 °C, док степен оштећења конзерви није имао значаја на повећање концентрације алуминијума. Овакво запажање је у складу са податком да је алуминијума присутан у лаку, тј. епокси-фенолној превлаци, а не у белом лиму.



**Слика 26.** Средње вредности Al у узорцима неоштећених и конзерви ГГ са мањим и већим степеном оштећења, након 3,6,9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C

Истраживања слична нашим спровео је и *Khalafalla* са сарадницима (2016), када су испитивали трагове Pb, Cd, Hg и Sn у конзервисаним производима од меса (конзервисана пилетина, конзервисана говедина, конзервисани франкфуртер, конзервисана слана говедина), са нагласком на изворе контаминације и дозвољене лимите за миграцију у храну. Средње вредности концентрације токсичних елемената биле су више од вредности добијених у нашим истраживањима. Вредности Pb у испитиваним узорцима биле су у опсегу 0,206-0,334 mg kg<sup>-1</sup>, вредности Cd 0,039-0,057 mg kg<sup>-1</sup>, вредности Hg 0,332-0,450 mg kg<sup>-1</sup>, а вредности Sn су биле 0,755-2,308 mg kg<sup>-1</sup>. Аутори наводе да се повишене вредности Pb и Cd могу приписати контаминираним животињским органима и ткивима која се користе за прераду, као и води која се користи за прераду, додацима и зачинима, посућу, а такође и паковању хране.

Одређивање концентрације тешких и есенцијалних метала Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn, As, Se, Al и V у конзервисаној пилетини вршио је *AL-Rajhi (2014)*, а добијене вредности упоређивао је са регулативом WHO/FAO. Резултати су показали да је просечна концентрација елемената ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) била 0,007 за Cu, 0,0197 за Fe, 0,0029 за Mn, 0,0018 за Ni, 0,0120 за Zn, 0,0005 за Cr, 0,001 за Cd, 0,0137 за Al, 0,0079 за As и 0,0167 за Se. Просечна концентрација свих тешких метала и есенцијалних елемената била је много нижа од референтних граница.

Упоредну студију присуства токсичних и есенцијалних елемената у конзервисаној (30 узорака) и свежој храни (25 узорака) спровео је *Al-Thagafi* са сарадницима (2014), анализирајући укупно 55 узорака. Детектовали су 27 токсичних, макро и микроелемента елемената у испитаним узорцима. Средње вредности елемената у свежој и конзервираној храни су се међусобно доста разликовале. Вредности неких елемената ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) биле су релативно ниске у свежој храни, у поређењу са вредностима у конзервисаној храни, као нпр: Fe (34,35-164,1), Al (6,6-41,14), Mn (11,73-17,95), Pb (2,31-7,11), Zn (24,14-26,76), Cu (6,22-8,03), Ca (1611-8557), Mg (1669-1206), Na (9918-23787). Поред тога што су неке од измерених вредности релативно високе у конзервама у односу на узорке свеже хране, оне увелико премашују и међународне толерабилне лимите.

Аутори из Либана вршили су испитивање концентрације есенцијалних и токсичних елемената у конзервисаној храни, као и утицај металне амбалаже на квалитет хране. Резултати су показали да је процентуално највећи удео Fe у лименкама, а затим Al (око 50% у поређењу са Fe) и Sn (до 12% у поређењу са Fe). Концентрације Fe, Zn, Cu, Al и Sn биле су испод дозвољених лимита, док је у неким узорцима хране ниво Sn био веома близу дозвољене границе ЕУ. Постојала је значајна корелација између нивоа калаја и алуминијума у конзервама, са неким врстама хране. У 45% узорака рибе ниво кадмијум био је изнад дозвољеног нивоа од  $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$  у ЕУ (*Korfali i Hamdan, 2013*).

Миграцију Fe, Pb, Cd и Sn из лименки обложених органским лаком у садржај, анализирао је група аутора, методом атомске апсорпционе спектроскопије (AAS). Оглед је спроведен у периоду од 3 месеца, а узорци су термостатирани на три различите температуре (5, 20 и 40 °C). Вредност Fe достигла је максимум

након 50 дана складиштења, док је миграција Pb била спора до 50-ог дана, а онда се брзо повећавала. Нивои Cd и Sn се нису повећавали током извођења експеримента. Ефекат температуре није примећен у случају концентрације Fe, док је Pb спорије мигрирало на температури од 5 °C (*Kassouf et al., 2013*).

Процену ризика од уноса тешких метала конзумирањем конзервисане сардине, која се користи за потребе Оружаних снага Републике Хрватске, изнео је Pinter. На основу добијених резултата, констатовано је да су сви испитани узорци били здравствено исправни и у складу са регулативом ЕУ и домаћим законодавством и да није постојао здравствени ризик за потрошаче при конзумирању анализираних производа (*Pinter, 2013*).

*Areej et al., (2012)* одређивали су концентрацију Hg, Ni и Cu у различитим врстама конзервисане рибе и конзервисаног меса. Садржај метала, изражен у ppm ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), варирао је од 0,01 до 3 у конзервисаној риби и од 0,001 до 2 у конзервисаном месу за Hg, од 0,0001 до 0,0003 у конзервисаној риби и од 0,0001 до 0,0007 ppm у конзервисаном месу за Ni, као и од 0,001 до 0,01 у конзервисаној риби и од 0,001 до 0,1 у конзервисаном месу за Cu. Добијени резултати показали су да је концентрација Hg у узорцима рибљих конзерви и меса изнад законски прописаних нивоа.

*Akan, (2010)* у свом истраживању наводи виши ниво Pb ( $0,1$  до  $1,34 \pm 0,23 \mu\text{g g}^{-1}$  у односу на граничну вредност у јетри, бубрезима и месу, док *Malakotian et al., (2011)* у својим истраживањима наводе присуство Pb ( $0,11$ - $0,3 \mu\text{g g}^{-1}$ , просечно  $0,2115 \pm 0,11$ ), Cd ( $0,05$ - $0,16 \mu\text{g g}^{-1}$ , просечно  $0,3519 \pm 0,019$ ), Ni ( $0,14$ - $0,7 \mu\text{g g}^{-1}$ , просечно  $0,4098 \pm 0,2$ ) и Zn ( $0,41$ - $1,7 \mu\text{g g}^{-1}$ , просечно  $0,77 \pm 0,1$ ) у конзервисаној риби. Ове вредности су испод дозвољених лимита које су прописале FAO/WHO.

#### **4.6.2. Резултати испитивања концентрације макроелемената у узорцима говеђег гулаша**

У Табели 25 приказане су средње вредности концентрација макроелемената у садржају конзерви ГГ. Може се констатовати да су се детектоване вредности разликовале у зависности од степена оштећења конзерви, периода термостатирања и температуре (20 °C и 40 °C).

**Табела 25.** Средње вредности концентрација макроелемената у конзервама ГГ са различитим степенима оштећења, периодима термостатирања и различитим температурама

Период термостатирања (месеци) Степен оштећења		Концентрација макроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]			
		Na	Mg	K	Ca
20 °C	3/НО	4760,98	188,01	2907,98	112,01
	6/НО	5070,66	191,54	3106,88	95,82
	9/НО	4699,14	192,43	2979,84	89,44
	12/НО	4494,13	173,74	2814,88	89,68
	3/МО	4297,30	185,78	2978,11	87,47
	6/МО	5371,29	183,76	3135,34	89,03
	9/МО	5660,04	204,68	3026,47	113,56
	12/МО	4336,92	179,79	2918,74	85,04
	3/ВО	4321,74	189,03	3075,60	83,07
	6/ВО	4761,67	189,42	3015,76	91,44
	9/ВО	4726,15	206,56	3056,53	90,86
	12/ВО	4214,10	173,69	2815,21	93,13
40 °C	3/НО	4672,70	185,04	2917,80	94,35
	6/НО	4962,59	188,48	3086,56	89,99
	9/НО	4824,97	186,34	2758,37	88,71
	12/НО	4769,89	183,97	2959,22	104,85
	3/МО	4372,18	177,14	2727,25	87,96
	6/МО	5273,12	184,97	2989,01	92,06
	9/МО	5274,60	199,38	3010,94	117,26
	12/МО	4753,89	190,79	3040,74	90,88
	3/ВО	4342,89	182,90	2767,40	93,45
	6/ВО	5048,12	184,93	2853,85	91,57
	9/ВО	4981,24	185,39	2842,59	101,44
	12/ВО	4524,25	184,33	2982,59	84,69

Резултати *Shapiro-Wilk* теста, показали су нормалну расподелу концентрација макроелемента у односу на средњу вредност у узорцима ГГ у току периода термостатирања на обе температуре, осим за вредности концентрације Са, где се запажа неправилна расподела код узорака са мањим степеном оштећења, на 20 °C и на 40 °C (Табела 9, Прилог 1).

Дескриптивни подаци о вредностима концентрација макроелемената са мерама варијације: средња вредност (SV) са стандардном девијацијом (SD), минималне (min) и максималне (max) вредности у испитаним узорцима конзерви ГГ, приказани су у Табели 26.

Табела 26. Дескриптивни подаци о концентрацији макроелемената са мерама варијације у узорцима ГГ

Узорци		Мере варијације	Концентрације макроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]			
			Na	Mg	K	Ca
20 °C	HO=24	SV ± SD	4756 ± 239	189 ± 9	2952 ± 123	97 ± 11
		Min	4494	174	2815	89
		Max	5071	192	3107	112
	MO=23	SV ± SD	4916 ± 702	186 ± 11	3015 ± 92	*
		Min	4297	180	2919	*
Max		5660	205	3135	*	
VO=24	SV ± SD	4506 ± 279	188 ± 13	2931 ± 120	90 ± 4	
	Min	4214	174	2815	83	
Max	4762	207	3076	93		
Степен оштећења	<i>p</i>	0,471	0,919	0,739	0,625	
Период термоста.	<i>p</i>	0,069	<b>0,001</b>	<b>0,011</b>	0,789	
40 °C	HO=24	SV ± SD	4808 ± 121	186 ± 2	2930 ± 135	94 ± 7
		Min	4673	184	2758	89
		Max	4963	188	3087	105
	MO=23	SV ± SD	4918 ± 439	188 ± 9	2942 ± 145	*
		Min	4372	177	2727	*
Max		5275	199	3041	*	
VO=24	SV ± SD	4724 ± 345	184 ± 1	2862 ± 89	93 ± 7	
	Min	4343	183	2767	85	
Max	5048	185	2983	101		
Степен оштећења	<i>p</i>	0,714	0,657	0,634	0,828	
Период термоста.	<i>p</i>	<b>0,008</b>	0,273	0,153	0,438	

\* Вредности елемената које нису обухваћене статистичким анализама

Резултати анализе статистичке значајности (*ANOVA*), показују да не постоје статистички значајна одступања од средње вредности концентрација макроелемената у узорцима ГГ (на нивоу значајности од 95%), у односу на степен оштећења на обе температуре. Резултати, такође, показују да у току периода термостатирања постоје статистички значајна одступања од средње вредности концентрација Mg и K на температури од 20 °C, као и Na на 40 °C (Табела 26).

Корелација између макроелемената код испитиваних производа од меса анализирана је *Pearson Correlation* тестом. На основу добијених резултата запажа се у узорцима ГГ значајна позитивна корелација на температури од 20 °C између

Na и Ca и Mg и K, односно значајна позитивна корелација између Na и Mg, Mg и K и Mg и Ca на 40 °C, (Табела 10, Прилог 1).

На основу добијених вредности концентрација макроелемената код неоштећених и конзерви са мањим и већим степеном оштећења, током термостатирања од 3, 6, 9 и 12 месеци, на температури од 20 °C и 40 °C, може се констатовати да је:

- 1) степен оштећења конзерви утицао на смањење концентрације макроелемената на обе температуре (20 °C и 40 °C), али без статистички значајног одступања концентрација од средње вредности;
- 2) дужина периода термостатирања утицала је на статистички значајно смањење концентрација Mg ( $p= 0,001$ ) и K ( $p= 0,011$ ), на 20 °C, односно на 40 °C за вредности концентрације Na ( $p= 0,008$ ). Вредности концентрације Ca смањивале су се, али без статистичке значајности;
- 3) утврђена значајна позитивна корелација између концентрације макроелемената на температури од 20 °C и на 40 °C - између Na и Mg, Mg и K, Mg и Ca.

#### **4.6.3. Резултати испитивања концентрације микроелемената у узорцима говеђег гулаша**

У Табели 27 приказане су средње вредности концентрација микроелемената у узорцима конзерви ГГ, са различитим степенима оштећења конзерви и различитим периодима термостатирања на температурама од 20 °C и 40 °C.

Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација микроелемента у односу на средњу вредност у узорцима ГГ код неоштећених конзерви, као и конзерви са различитим степеном оштећења, које су термостатирани на различитим температурама (Табела 11, Прилог 1).

У Табели 28 приказане су средње вредности концентрација микроелемената са мерама варијације: средња вредност (SV) са стандардном девијацијом (SD), минималне (min) и максималне (max) вредности у испитаним узорцима конзерви ГГ са различитим степеном оштећења, у току различитих периода термостатирања на различитим температурама.

**Табела 27.** Средње вредности концентрација микроелемената у конзервама ГГ са различитим степеном оштећења, различитим периодима термостатирања на различитим температурама

Период термостатирања (месеци)/ Степен оштећења		Концентрације микроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]					
		Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
20 °C	3/НО	0,047	0,228	19,566	0,558	44,232	0,180
	6/НО	0,030	0,236	21,036	0,574	37,540	0,125
	9/НО	0,044	0,172	22,630	0,550	43,493	0,098
	12/НО	0,038	0,167	20,512	0,490	40,860	0,129
	3/МО	0,057	0,203	18,583	0,518	45,715	0,178
	6/МО	0,032	0,237	22,784	0,554	40,346	0,145
	9/МО	0,033	0,248	22,798	0,611	42,365	0,070
	12/МО	0,063	0,192	20,985	0,459	40,292	0,138
	3/ВО	0,031	0,202	19,038	0,535	44,418	0,176
	6/ВО	0,032	0,243	22,469	0,547	38,523	0,097
	9/ВО	0,046	0,238	23,266	0,625	43,540	0,067
	12/ВО	0,073	0,204	25,656	0,495	38,883	0,113
40 °C	3/НО	0,031	0,229	19,994	0,536	42,635	0,184
	6/НО	0,022	0,225	24,289	0,557	39,745	0,132
	9/НО	0,029	0,207	21,563	0,614	41,664	0,064
	12/НО	0,083	0,215	23,895	0,454	42,857	0,122
	3/МО	0,021	0,176	20,053	0,532	48,410	0,176
	6/МО	0,032	0,243	23,624	0,530	39,568	0,103
	9/МО	0,038	0,237	22,167	0,678	42,863	0,040
	12/МО	0,116	0,210	24,450	0,470	38,264	0,083
	3/ВО	0,033	0,211	21,455	0,589	45,447	0,135
	6/ВО	0,024	0,169	20,971	0,523	36,419	0,094
	9/ВО	0,033	0,213	22,978	0,559	39,846	0,085
	12/ВО	0,087	0,197	23,602	0,470	36,030	0,234

Резултати анализе статистичке значајности (*ANOVA*) показују да не постоје статистички значајна одступања концентрација микроелемената у узорцима ГГ (на нивоу значајности од 95%) од средње вредности, у односу на степен оштећења конзерви, на обе температуре. Резултати показују да у току периода термостатирања постоје статистички значајна одступања концентрација Cu, Zn и Se на температури од 20 °C, као и Cr, Fe, Cu и Zn на температури од 40 °C.

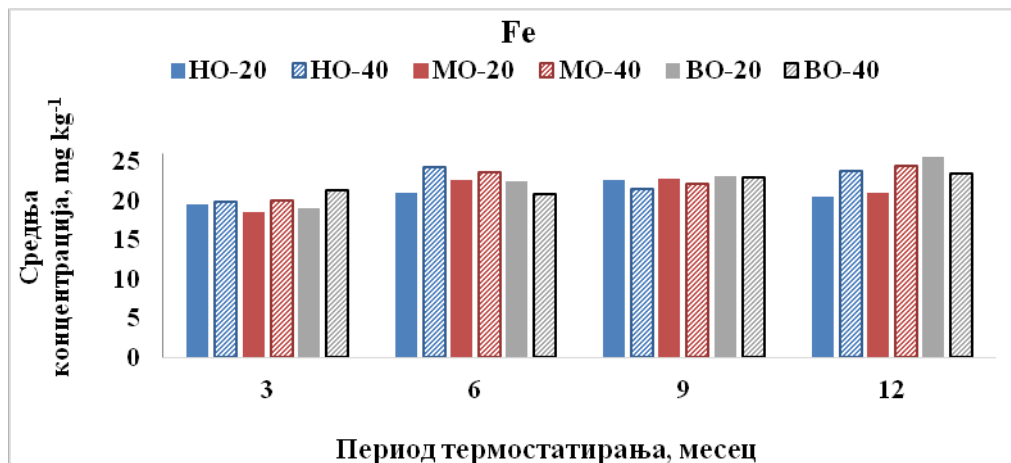
Из Табеле 12, Прилог 1, види се да на температури од 20 °C постоји значајна позитивна корелација између Mn и Cu, односно јака негативна корелација између Fe и Se, док су на температури од 40 °C у значајно позитивној корелацији Cr и Fe, а Cr и Cu су у значајно негативној корелацији.



Табела 28. Дескриптивни подаци о концентрацији микроелемената са мерама варијације у узорцима ГГ

Узорци		Мере варијације	Концентрације микроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]					
			Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
20 °C	HO = 24	SV ± SD	0,040 ± 0,007	0,20 ± 0,04	20,9 ± 1,3	0,54 ± 0,04	41,5 ± 3,0	0,13 ± 0,03
		Min	0,030	0,17	19,6	0,49	37,5	0,10
		Max	0,047	0,24	22,6	0,57	44,2	0,18
	MO=24	SV ± SD	0,046 ± 0,016	0,22 ± 0,03	21,3 ± 2,0	0,54 ± 0,06	42,2 ± 2,5	0,13 ± 0,05
		Min	0,032	0,19	18,6	0,46	40,3	0,07
		Max	0,063	0,25	22,8	0,61	45,7	0,18
	BO=24	SV ± SD	0,045 ± 0,020	0,22 ± 0,02	22,6 ± 2,7	0,55 ± 0,05	41,3 ± 3,1	0,11 ± 0,05
		Min	0,031	0,20	19,0	0,50	38,5	0,07
Max		0,073	0,24	25,7	0,63	44,4	0,18	
Степен оштећења	<i>p</i>	0,812	0,554	0,517	0,921	0,913	0,751	
Период термостат.	<i>p</i>	0,122	0,150	0,056	<b>0,004</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	
40 °C	HO = 24	SV ± SD	0,041 ± 0,028	0,22 ± 0,01	21,4 ± 2,0	0,54 ± 0,07	41,7 ± 1,4	0,14 ± 0,05
		Min	0,022	0,21	20,0	0,45	39,7	0,06
		Max	0,083	0,23	24,3	0,61	42,9	0,18
	MO=24	SV ± SD	0,052 ± 0,043	0,22 ± 0,03	22,6 ± 1,9	0,55 ± 0,09	42,3 ± 4,5	0,10 ± 0,06
		Min	0,021	0,18	20,0	0,47	38,3	0,04
		Max	0,116	0,24	24,5	0,68	48,4	0,18
	BO=24	SV ± SD	0,044 ± 0,029	0,23 ± 0,02	22,8 ± 1,2	0,54 ± 0,05	39,4 ± 4,4	0,13 ± 0,07
		Min	0,024	0,17	21,0	0,47	36,0	0,09
Max		0,087	0,21	23,6	0,59	45,4	0,23	
Степен оштећења	<i>p</i>	0,908	0,355	0,967	0,940	0,542	0,678	
Период термостат.	<i>p</i>	<b>0,000</b>	0,910	<b>0,021</b>	<b>0,005</b>	<b>0,038</b>	0,087	

На Слици 27. приказано је повећање концентрације Fe са степеном оштећења конзерви и периодом термостатирања, док температуре од 20 °C и 40 °C нису имале утицаја. На Слици се може видети јасније него у Табели 27 да су варијације у концентрацији Fe релативно мале и да се крећу од 18,58 до 25,66 mg kg<sup>-1</sup> на 20 °C и од 19,99 до 24,45 mg kg<sup>-1</sup> на 40 °C.



Слика 27. Средња концентрација *Fe* у узорцима ГГ са различитим степеном оштећења, након 3,6,9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C

На основу добијених вредности концентрација микроелемената, код конзерви ГГ са мањим и већим степеном оштећења, током термостатирања на 20 °C и 40 °C, у периоду од 3, 6, 9 и 12 месеци, може се констатовати да:

- 1) не постоје статистички значајна одступања у концентрацијама микроелемената (на нивоу значајности од 95%) од средње вредности, у односу на степен оштећења конзерви на обе температуре; 2) постоји повећање концентрације **Cr** са степеном оштећења конзерви на 20 °C и на 40 °C, али без статистичке значајности ( $p= 0,812$  и  $p= 0,908$ ), односно статистички значајно повећање концентрације **Cr** са периодом термостатирања на температури од 40 °C ( $p= 0,000$ ); 3) постоји повећање концентрације **Fe** са степеном оштећења конзерви на 20 °C и на 40 °C, али без статистичке значајности ( $p= 0,517$  и  $p= 0,967$ ), односно статистички значајно повећање концентрације **Fe** са периодом термостатирања на температури од 40 °C ( $p= 0,021$ ); 4) постоји повећање концентрације **Cu** са степеном оштећења конзерви на 20 °C и на 40 °C, али без статистичке значајности ( $p= 0,921$  и  $p= 0,940$ ), односно статистички значајно повећање концентрације **Cu** са периодом термостатирања на температури од 20 °C ( $p= 0,004$ ) и 40 °C ( $p= 0,005$ ); 5) степен оштећења конзерви на 20 °C и на 40 °C није утицао на вредности концентрације **Zn**, односно постојало је статистички значајно повећање концентрације **Zn** са периодом термостатирања на температури од 20 °C ( $p= 0,000$ ) и 40 °C ( $p= 0,038$ ); 6) постоји смањење концентрације **Se** са степеном оштећења конзерви на 20 °C и на 40 °C и периодом термостатирања на температури од 40 °C, али без статистичке

значајности ( $p= 0,751$ ,  $p= 0,678$  и  $p= 0,087$ ), односно статистички значајно смањење концентрације Se са периодом термостатирања на температури од 20 °C ( $p= 0,001$ ); 7) постоји значајна корелација између појединих микроелемената на температури од 20 °C - између Mn и Cu и Fe и Se, односно на температури од 40 °C између Cr и Fe и Cr и Cu.

На основу наведеног може се закључити да због оштећења полимерног лака, а делимично и превлаке калаја, на унутрашњој површини конзерве, садржај конзерве, тј. храна долази у контакт са калајном превлаком и касније са челиком, тј. гвожђем. Као последица оштећења долази до миграције и повећања концентрације Fe и Sn у садржају испитиваних узорака конзерви.

#### **4.6.4. Резултати испитивања концентрације токсичних елемената у узорцима ђуфти у парадајз сосу**

У Табели 29 приказане су средње вредности концентрација токсичних елемената у узорцима ЂПС, за различите степене оштећења конзерви и различите периоде термостатирања на температури од 20 °C и 40 °C.

Резултати испитивања показују да су се токсични елементи налазили у садржају конзерви у распону од н.д., до детектованих вредности које су зависиле како од степена оштећења конзерви, тако и од периода и температуре термостатирања.

Измерене вредности за As и Hg, биле су испод лимита детекције, те због тога нису обрађиване методама статистичке анализе. Вредности за Cd, Sn, Pb и Al обрађене су методама статистичке анализе и приказане у Табели 29.

Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација токсичних елемената у односу на средњу вредност у узорцима конзерви ЂПС током периода термостатирања, осим вредности за Al, код узорака након 9 месеци термостатирања на температури од 20 °C и након три месеца термостатирања на температури од 40 °C. Одступања од нормалне расподеле су, такође, примећена за вредности Al код неоштећених конзерви на 20 °C и за вредности Cd код конзерви са већим степеном оштећења, на 20 °C (Табела 13, Прилог 1).

Табела 29. Средње концентрације токсичних елемената у зависности од степена оштећења, периода термостатирања и температуре у узорцима ЋПС

Период термостастирања (месеци) Степен оштећења		Концентрације токсичних елемената			
		Cd, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$	Pb, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Al, $\text{mg kg}^{-1}$
20 °C	3/НО	8,00	4,87	н.д.	1,21
	6/НО	7,00	4,22	н.д.	1,27
	9/НО	6,00	3,75	35,00	1,22
	12/НО	7,00	4,98	17,00	1,87
	3/МО	8,00	5,76	н.д.	1,01
	6/МО	6,00	5,51	н.д.	1,66
	9/МО	7,00	4,88	22,00	1,20
	12/МО	7,00	6,74	21,00	1,96
	3/ВО	10,00	7,08	н.д.	1,10
	6/ВО	6,00	6,62	н.д.	1,21
	9/ВО	6,00	5,40	22,00	2,45
	12/ВО	7,00	10,33	17,00	1,91
40 °C	3/НО	8,00	5,40	н.д.	1,06
	6/НО	7,00	4,88	н.д.	1,19
	9/НО	5,00	4,34	14,00	1,61
	12/НО	5,00	6,08	12,00	2,05
	3/МО	8,00	7,26	н.д.	1,26
	6/МО	4,00	6,47	н.д.	1,58
	9/МО	7,00	8,49	21,00	1,69
	12/МО	7,00	10,04	9,00	2,17
	3/ВО	8,00	10,38	н.д.	1,26
	6/ВО	6,00	10,49	н.д.	2,54
	9/ВО	6,00	11,78	24,00	2,41
	12/ВО	6,00	11,34	13,00	1,95

н.д. – није детектовано

У Табели 30, приказане су концентрације токсичних елемената са мерама варијације: средња вредност са стандардном девијацијом, минималне и максималне вредности у конзервама ЋПС са различитим степеном оштећења, у току различитих периода термостатирања на различитим температурама.

Статистичка значајност је одређена коришћењем *ANOVA* теста. На основу добијених резултата, може се констатовати да код већине концентрација токсичних елемената не постоји статистички значајна разлика у односу на средњу вредност (на нивоу значајности од 95%). Значајнија статистичка разлика је примећена код концентрације Sn у односу на степен оштећења конзерви и то на обе температуре. Значајније неслагање са средњом вредношћу у концентрацији Al и Cd уочава се на температури од 20 °C у односу на период термостатирања.

Табела 30. Дескриптивни подаци о концентрацији токсичних елемената са мерама варијације у узорцима ЋПС

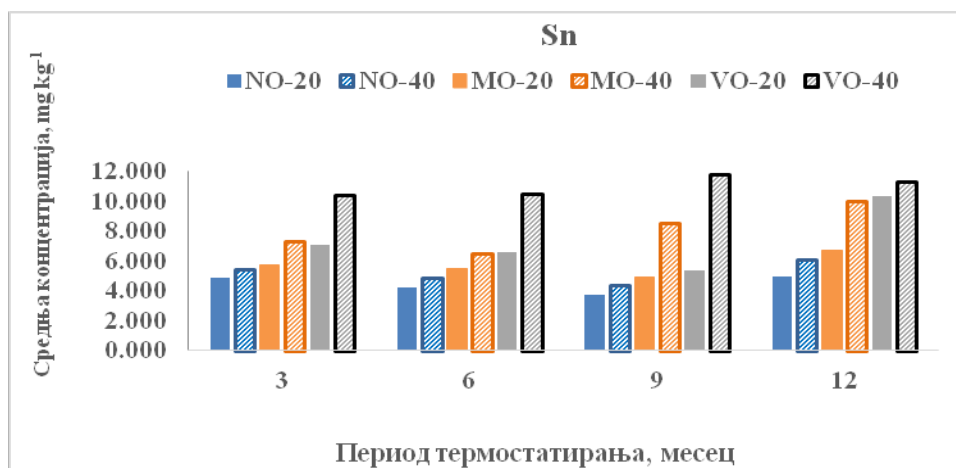
Узорци		Мере варијације	Концентрације токсичних елемената			
			Sn, mg kg <sup>-1</sup>	Al, mg kg <sup>-1</sup>	Cd, µg kg <sup>-1</sup>	Pb*, µg kg <sup>-1</sup>
20 °C	HO = 4 HO = 2*	SV ± SD	4,5 ± 0,6	*	6,8 ± 1,0	26,0 ± 9,0
		Min	3,8	*	5,8	17,0
		Max	5,0	*	8,2	35,0
	MO = 4 MO = 2*	SV ± SD	5,7 ± 0,8	1,5 ± 0,4	7,2 ± 0,7	19,4 ± 0,1
		Min	4,9	1,0	6,3	21,0
		Max	6,7	2,0	8,0	22,0
	BO = 4 BO = 2*	SV ± SD	7,4 ± 2,1	1,7 ± 0,6	*	21,0 ± 2,0
		Min	5,4	1,1	*	17,0
		Max	10,3	2,4	*	22,0
	Степен оштећења	<i>p</i>	<b>0,039</b>	0,606	0,554	0,699
Период термостат.	<i>p</i>	0,312	<b>0,002</b>	<b>0,014</b>	0,456	
40 °C	HO = 4 HO = 2*	SV ± SD	5,2 ± 0,7	1,5 ± 0,4	6,4 ± 1,5	13,0 ± 1,0
		Min	4,3	1,1	5,2	12,0
		Max	6,1	2,1	8,2	14,0
	MO = 4 MO = 2*	SV ± SD	8,1 ± 1,6	1,7 ± 0,4	6,5 ± 1,6	15,0 ± 6,0
		Min	6,5	1,3	4,3	9,0
		Max	10,0	2,2	8,3	21,0
	BO = 4 BO = 2*	SV ± SD	11,0 ± 0,7	2,0 ± 0,6	6,5 ± 0,9	18,0 ± 6,0
		Min	10,4	1,3	5,7	13,0
		Max	11,8	2,5	7,7	24,0
	Степен оштећења	<i>p</i>	<b>0,000</b>	0,290	0,989	0,738
Период термостат.	<i>p</i>	0,882	0,774	0,052	0,054	

\* Вредности елемената који нису обрађени статистичким методама

Код испитиваних врста конзервисаних производа од меса, корелација између токсичних елемената анализирана је *Pearson Correlation* тестом (Табела 14, Прилог 1). Из Табеле је видљиво да на 20 °C нема значајних корелација између елемената, док на 40 °C између Sn и Al постоји значајна позитивна корелација.

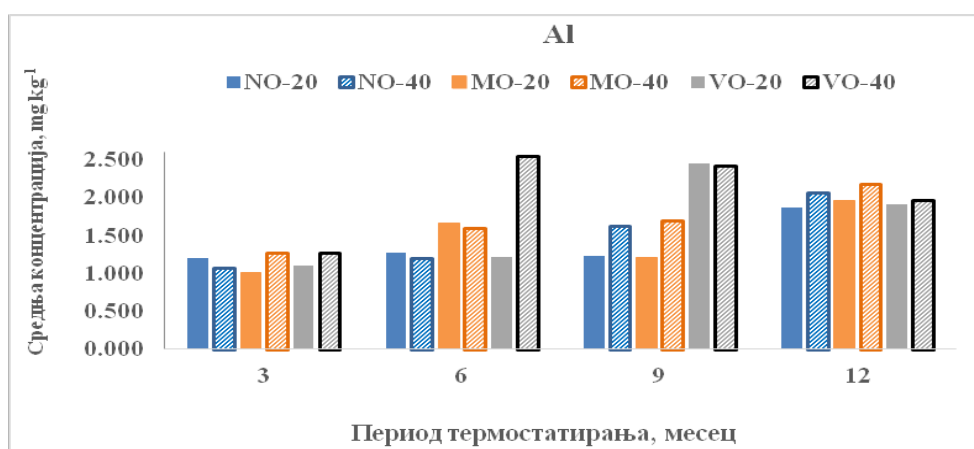
На Слици 28. приказана је зависност концентрације Sn од дужине периода термостатирања, при различитим оштећењима конзерви ЋПС и на температурама од 20 и 40 °C. На Слици се јасно види повећање вредности концентрације калаја са степеном оштећења конзерви и са повећањем температуре од 40 °C.

Период термостатирања није имао значајног утицаја на концентрацију калаја, што указује да је миграција метала релативно брз процес и да се равнотежне концентрације, на одређеној температури и са одређеним степеном оштећења конзерви, успостављају релативно брзо.



Слика 28. Вредности Sn у конзервама ЋПС са различитим степеном оштећења, након 3,6,9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C

На Сlici 29. приказана је зависност концентрације Al од дужине периода термостатирања, при различитим оштећењима конзерви и на температурама од 20 и 40 °C. Јасно се уочава повећање вредности концентрације Al са периодом термостатирања и са повећањем температуре. Степен оштећења није имао значајног утицаја на концентрацију Al, што је разумљиво, када се има у виду да он мигрира у садржај из полимерног лака.



Слика 29. Вредности Al у конзервама ЋПС са различитим степеном оштећења, након 3,6,9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C

На основу добијених вредности концентрација токсичних елемената, код конзерви са различитим степеном оштећења, током 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на температури од 20 °C и 40 °C, може се констатовати да:

- 1) степен оштећења конзерви и температуре од 20 °C и 40 °C, значајно су утицали на повећање концентрације **Sn** ( $p= 0,039$  и  $p= 0,000$ ), док је период термостатирања на 20 °C и 40 °C имао утицаја на повећање концентрације **Sn**, али без статистичке значајности ( $p= 0,312$  и  $p= 0,882$ );
- 2) Период термостатирања на 20 °C значајно је утицао на повећање концентрације **Al** ( $p= 0,002$ ), док је термостатирање на 40 °C утицало на повећање концентрације **Al** ( $p= 0,774$ ), али без статистичке значајности. Степен оштећења конзерви није утицао на повећање његове концентрације.
- 3) концентрација **Cd** повећава се са степеном оштећења конзерви, на температурама од 20 °C од 40 °C, али без статистичке значајности. Период термостатирања на 20 °C, статистички значајно је утицао на повећање концентрације **Cd** ( $p= 0,014$ ), док је период термостатирања на 40 °C имао утицаја на повећање вредности, али без статистичке значајности;
- 4) концентрација **Pb** повећава се са степеном оштећења конзерви и периодом термостатирања на 20 °C и од 40 °C, али без статистичке значајности;
- 5) не постоји значајна корелација између концентрације токсичних елемената на 20 °C, док на 40 °C постоји значајна позитивна корелација између **Sn** и **Al**.

#### 4.6.5. Резултати испитивања концентрације макроелемената у узорцима ђуфти у парадајз сосу

У Табели 31 приказане су вредности концентрација макроелемената у садржају ЂПС. Резултати показују да су се вредности разликовале у зависности од степена оштећења конзерви, периода термостатирања и различите температуре.

На основу добијених вредности, запажа се значајно повећање концентрације **Na** и **Mg** са периодом термостатирања, на обе температуре, односно на 40 °C. Такође, запажено је и значајно смањење концентрације **K** на 20 °C и значајно повећање концентрације **Ca** на 40 °C, са периодом термостатирања на обе температуре. Степен оштећења конзерви није имао значаја на вредности макроелемената.

Табела 31. Средње концентрације макроелемената у зависности од степена оштећења конзерви, периода термостатирања и температуре у узорцима ЋПС

Период термостастирања (месеци)/ Степен оштећења		Концентрације макроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]			
		Na	Mg	K	Ca
20 °C	3/НО	6004,48	156,23	2642,65	117,25
	6/НО	6966,79	159,46	2827,30	112,32
	9/НО	6486,60	166,47	2615,35	128,86
	12/НО	6156,55	160,06	2576,33	114,12
	3/МО	6122,04	158,28	2655,06	122,76
	6/МО	7098,91	165,64	2835,84	124,63
	9/МО	6765,34	173,90	2585,76	118,25
	12/МО	6140,80	172,19	2560,91	115,27
	3/ВО	5878,04	160,10	2670,89	129,36
	6/ВО	6711,19	170,97	2812,09	110,35
	9/ВО	6576,97	175,65	2616,82	115,57
	12/ВО	5968,08	145,47	2539,25	109,94
40 °C	3/НО	6496,18	159,97	2685,90	122,81
	6/НО	6633,01	149,84	2639,40	108,46
	9/НО	7006,17	176,63	2731,92	127,54
	12/НО	6294,34	162,53	2595,36	116,47
	3/МО	6227,05	168,29	2590,33	130,51
	6/МО	6870,86	162,99	2520,23	118,30
	9/МО	6868,88	182,26	2657,70	120,56
	12/МО	6475,13	171,55	2586,67	114,48
	3/ВО	5945,62	158,57	2540,26	125,40
	6/ВО	6448,02	164,55	2411,19	111,26
	9/ВО	6855,68	178,89	2702,55	120,70
	12/ВО	6335,77	162,99	2516,50	112,63

Резултати *Shapiro-Wilk* теста показали су нормалну расподелу концентрација макроелемената у узорцима конзерви ЋПС у току периода термостатирања, код конзерви са различитим степеном оштећења на температури од 20 °C и 40 °C (Табела 15, Прилог 1).

У Табели 32 приказане су вредности макроелемената са мерама варијације: средња вредност са стандардном девијацијом, минималне и максималне вредности у конзервама ЋПС са различитим степеном оштећења, у току различитих периода термостатирања на различитим температурама у зависности од степена оштећења, периода термостатирања и различитих температура.



Табела 32. Дескриптивни подаци о концентрацији макроелемената са мерама варијације у узорцима ЋПС

Узорци		Мере варијације	Концентрације макроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]			
			Na	Mg	K	Ca
20 °C	HO = 24	SV ± SD	6404 ± 426	158,0 ± 6,8	2673 ± 108	118,1 ± 7,4
		Min	6004	156,1	2576	112,3
		Max	6967	166,5	2827	128,9
	MO=24	SV ± SD	6532 ± 482	167,5 ± 7,1	2709 ± 125	118,2 ± 4,3
		Min	6122	158,3	2561	115,3
Max		7099	173,9	2836	124,6	
BO= 24	SV ± SD	6484 ± 421	158,1 ± 10,3	2660 ± 115	116,3 ± 9,1	
	Min	5878	145,5	2539	109,9	
Max	6711	175,6	2812	129,4		
Степен оштећења	<i>p</i>	0,739	0,227	0,825	0,751	
Период термостат.	<i>p</i>	<b>0,000</b>	0,681	<b>0,001</b>	0,255	
40 °C	HO = 24	SV ± SD	6407,4±300,0	159,7 ± 12,0	2663,1±58,9	118,8 ± 8,3
		Min	6294,3	149,8	2595,4	108,5
		Max	7006,2	176,6	2731,9	127,5
	MO=24	SV ± SD	6610,5±316,2	168,8 ± 9,4	2613,7±32,9	121,0 ± 6,8
		Min	6227,1	162,9	2586,7	114,5
Max		6870,9	182,3	2657,7	130,5	
BO= 24	SV ± SD	6596,3±374,4	166,3 ± 8,8	2542,6±120,5	180,0 ± 9,6	
	Min	5945,6	158,6	2411,2	111,3	
Max	6855,7	178,9	2702,6	120,7		
Степен оштећења	<i>p</i>	0,596	0,464	0,155	0,936	
Период термостат.	<i>p</i>	<b>0,008</b>	<b>0,007</b>	0,215	<b>0,006</b>	

Статистичка значајност је одређена коришћењем ANOVA теста. Из наведених резултата (Табела 32), може се констатовати да не постоји статистички значајна разлика у односу на средњу вредност у зависности од степена оштећења конзерви. Значајнија статистичка разлика постоји у односу на период термостатирања за Na и K на температури од 20 °C, односно Na, Mg и Ca на температури од 40 °C.

На основу података приказаних у Табели 16 (Прилог 1), запажа се да на 20 °C постоји јако позитивна корелација између Na и K, а на 40 °C, запажа се значајна позитивна корелација између Na и K, као и Mg и Ca.

На основу добијених вредности концентрација макроелемената код конзерви ЋПС са различитим степеном оштећења, током периода термостатирања од 3, 6, 9 и 12 месеци, на температури од 20 °С и 40 °С, може се констатовати да:

- 1) постоји значајнија статистичка разлика у односу на период термостатирања на 20 °С за Na и K ( $p= 0,000$  и  $p= 0,001$ ), односно за Na, Mg и Ca са периодом термостатирања на 40 °С ( $p= 0,008$ ,  $p= 0,007$  и  $p= 0,006$ );
- 2) не постоји статистички значајна разлика у односу на степен оштећења конзерви на температури од 20 °С и 40 °С.

#### 4.6.6. Резултати испитивања концентрације микроелемената у узорцима ђуфти у парадајз сосу

У Табели 33 приказане су средње вредности концентрација микроелемената у узорцима конзерви ЋПС, за различите степене оштећења конзерви и различите периоде термостатирања на температурама од 20 °С и 40 °С.

Резултати *Shapiro-Wilk* теста показују нормалну расподелу концентрација микроелемента у узорцима ЋПС у односу на средњу вредност, без утицаја степена оштећења, периода термостатирања и температуре, осим за Cr, код конзерви са мањим степеном оштећења на 20 °С (Табела 17, Прилог 1).

У Табели 34 приказане су вредности концентрација микроелемената са мерама варијације: средња вредност са стандардном девијацијом, минималне и максималне вредности у конзервама ЋПС са различитим степеном оштећења, у току различитих периода термостатирања на различитим температурама. Резултати показују да су се детектоване вредности разликовале са дужином периода термостатирања на температурама од 20 и 40 °С.

У Табели 18 (Прилог 1) запажа се, на 20 °С, јака позитивна корелација између Mn и Cu, односно значајна позитивна корелација између Mn и Zn. Такође, запажа се јака позитивна корелација између Cu и Zn, док су у јакој негативној корелацији Fe и Se. На температури од 40 °С, запажа се да Cr јако позитивно корелише са Cu, да Mn значајно позитивно корелише са Cu и са Fe, и јака позитивна корелација између Cu и Zn. У значајно негативној корелацији су Fe и Se.

**Табела 33.** Средње вредности концентрација микроелемената у конзервама ЋПС у зависности од степена оштећења и периода термостатирања на различитим температурама

Период термостатирања (месеци) Степен оштећења		Концентрација микроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]					
		Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
20 °C	3/НО	0,034	0,649	10,135	0,603	20,830	0,146
	6/НО	0,025	0,665	12,481	0,612	17,629	0,104
	9/НО	0,022	0,663	12,612	0,638	20,298	0,038
	12/НО	0,038	0,600	11,575	0,555	18,257	0,096
	3/МО	0,024	0,643	9,873	0,639	21,598	0,152
	6/МО	0,025	0,627	12,123	0,566	18,653	0,081
	9/МО	0,024	0,654	13,581	0,676	22,220	0,079
	12/МО	0,032	0,557	12,384	0,515	18,780	0,094
	3/ВО	0,033	0,704	11,791	0,626	23,122	0,086
	6/ВО	0,024	0,616	12,931	0,556	19,312	0,102
	9/ВО	0,027	0,626	12,333	0,614	19,981	0,044
	12/ВО	0,043	0,577	13,208	0,515	17,477	0,060
40 °C	3/НО	0,024	0,614	10,036	0,590	21,020	0,164
	6/НО	0,031	0,585	11,996	0,553	17,395	0,061
	9/НО	0,033	0,782	15,824	0,642	22,416	0,051
	12/НО	0,045	0,620	11,407	0,523	17,856	0,071
	3/МО	0,032	0,712	11,558	0,624	22,236	0,167
	6/МО	0,039	0,743	11,383	0,555	18,430	0,227
	9/МО	0,024	0,821	15,549	0,657	21,649	0,105
	12/МО	0,064	0,658	12,503	0,511	20,661	0,081
	3/ВО	0,025	0,654	11,842	0,645	21,820	0,188
	6/ВО	0,035	0,774	12,642	0,563	19,009	0,103
	9/ВО	0,036	0,785	16,084	0,638	22,144	0,064
	12/ВО	0,058	0,631	14,393	0,531	20,600	0,080

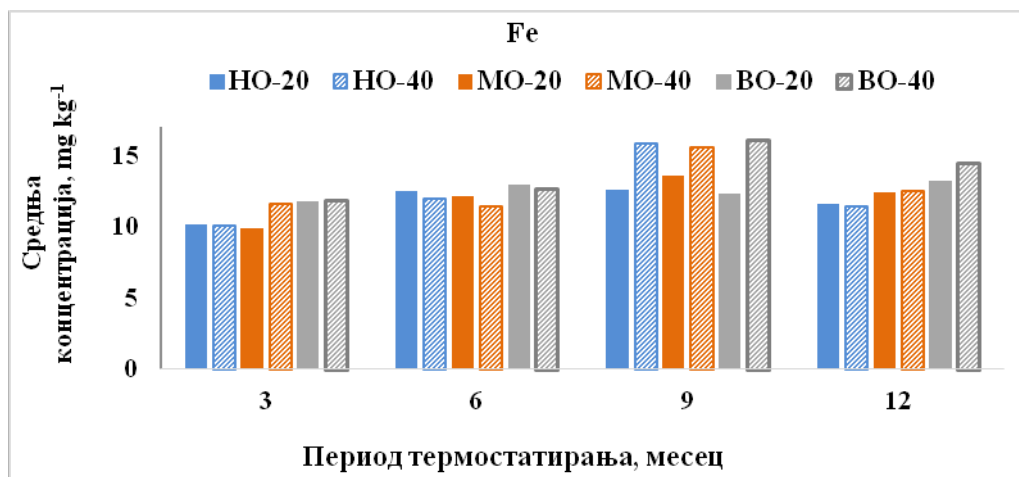
Табела 34. Дескриптивни подаци о концентрацији микроелемената са мерама варијације у узорцима ЋПС

Узорци		Мере варијације	Концентрација микроелемената [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]					
			Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
20 °C	HO = 4	SV $\pm$ SD	0,030 $\pm$ 0,008	0,64 $\pm$ 0,03	11,7 $\pm$ 11	0,60 $\pm$ 0,03	19,3 $\pm$ 1,6	0,10 $\pm$ 0,04
		Min	0,022	0,60	10,1	0,56	17,6	0,04
		Max	0,038	0,67	12,6	0,64	20,8	0,14
	MO=4	SV $\pm$ SD	*	0,65 $\pm$ 0,04	12,0 $\pm$ 1,5	0,60 $\pm$ 0,07	20,3 $\pm$ 1,9	0,10 $\pm$ 0,03
		Min	*	0,56	9,9	0,52	18,7	0,08
		Max	*	0,65	13,6	0,68	22,2	0,15
	BO=4	SV $\pm$ SD	0,032 $\pm$ 0,008	0,63 $\pm$ 0,05	12,6 $\pm$ 0,6	0,59 $\pm$ 0,05	20,0 $\pm$ 2,4	0,07 $\pm$ 0,03
		Min	0,024	0,58	11,8	0,52	17,5	0,04
		Max	0,043	0,70	13,2	0,63	23,1	0,10
	Степен оштећења	<i>p</i>	0,721	0,741	0,586	0,798	0,742	0,517
Период термостат.	<i>p</i>	<b>0,009</b>	<b>0,015</b>	<b>0,028</b>	<b>0,003</b>	<b>0,005</b>	<b>0,034</b>	
40 °C	HO = 4	SV $\pm$ SD	0,033 $\pm$ 0,009	0,65 $\pm$ 0,09	12,3 $\pm$ 2,5	0,58 $\pm$ 0,05	19,7 $\pm$ 2,4	0,11 $\pm$ 0,05
		Min	0,024	0,58	10,0	0,52	17,4	0,05
		Max	0,045	0,78	15,8	0,64	22,4	0,16
	MO = 4	SV $\pm$ SD	0,040 $\pm$ 0,02	0,73 $\pm$ 0,07	12,7 $\pm$ 1,9	0,59 $\pm$ 0,07	20,7 $\pm$ 1,7	0,15 $\pm$ 0,07
		Min	0,02	0,66	11,4	0,51	18,4	0,08
		Max	0,06	0,82	15,5	0,66	22,2	0,23
	BO = 4	SV $\pm$ SD	0,040 $\pm$ 0,01	0,71 $\pm$ 0,08	13,7 $\pm$ 1,9	0,59 $\pm$ 0,06	20,9 $\pm$ 1,4	0,10 $\pm$ 0,06
		Min	0,02	0,63	11,8	0,53	19,0	0,06
		Max	0,06	0,78	16,1	0,64	22,1	0,19
	Степен оштећења	<i>p</i>	0,783	0,354	0,636	0,918	0,625	0,393
Период термоста.	<i>p</i>	<b>0,003</b>	<b>0,042</b>	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	<b>0,004</b>	0,084	

\* Вредности елемената нису обрађени статистичким методама

Резултати ANOVA теста показују да не постоје значајна одступања концентрација микроелемената у узорцима ЋПС од средње вредности (на нивоу поверења од 95%), у односу на степен оштећења конзерви на обе температуре. У току периода термостатирања, постоје статистички значајна одступања концентрација свих микроелеманата на обе температуре, осим Se на температури од 40 °C.

На Слици 30 приказана је промена концентрације Fe у конзервама са различитим степеном оштећења и периодима термостатирања на 20 °C и 40 °C. Запажа се повећање концентрације гвожђа са степеном оштећења конзерви и са периодом термостатирања, док различите температуре нису имале значаја на концентрацију.



*Слика 30. Средња концентрација Fe у зависности од степена оштећења, периода термостатирања и температуре у конзервама ТПС*

На основу вредности концентрација микроелемената у садржају неоштећених и конзерви са различитим степеном оштећења, термостатираних током 3, 6, 9 и 12 месеци на температури од 20 °C и 40 °C, може се констатовати да:

1) степен оштећења конзерви, на 20 °C и 40 °C, утиче на повећање концентрације Cr, Mn, Fe, Cu и Zn, али без статистичке значајности; 2) долази до статистички значајног повећања концентрације Cr, Mn, Fe, Cu и Zn са периодом термостатирања на 20 °C ( $p= 0,009$ ,  $p= 0,015$ ,  $p= 0,028$ ,  $p= 0,003$  и  $p= 0,005$ ), односно на 40 °C ( $p= 0,003$ ,  $p= 0,042$ ,  $p= 0,002$ ,  $p= 0,000$  и  $p= 0,004$ ); 3) степен оштећења конзерви утицао је на смањење концентрације Se ( $p= 0,517$  и  $0,393$  на 20 °C и 40 °C), али без статистичке значајности. Период термостатирања на 20 °C утицао је на статистички значајно смањење концентрације Se ( $p= 0,034$ ), док на 40 °C није било значајног смањења ( $p= 0,084$ ); 4) постоји јака позитивна корелација између Mn и Cu, значајна позитивна корелација између Mn и Zn, као и Cu и Zn, а јака негативна корелација између Fe и Se, на 20 и 40 °C.

На основу вредности концентрација токсичних, макро и микроелемената у узорцима конзерви ТПС, може се закључити да су исте потпуно безбедне за исхрану припадника Војске Србије.

#### 4.6.7. Резултати испитивања токсичних, макро и микроелемената у узорцима ђуфти у парадајз сосу у почетном периоду складиштења

С обзиром да је испитан утицај процеса стерилизације, као и утицај дуготрајног складиштења под регуларним и експерименталним условима, на концентрацију токсичних, макро и микроелемената у конзервама ГГ и ЋПС, у овом делу истраживања испитан је утицај почетног периода складиштења на концентрацију, односно миграцију поменутих елемената у узорцима конзерви ЋПС.

Циљ истраживања био је да се испита да ли процес стерилизације има пресудан утицај на миграцију металних јона, или до миграције долази и касније.

Конзерве ЋПС су складиштене 15, 45, 75 и 105 дана од датума производње, на температури од 20 °C и 40 °C, а вредности су приказане у Табели 35.

На основу добијених вредности и утицаја почетног периода складиштења и различитих температура на концентрацију токсичних, макро и микроелемената, може се констатовати:

- 1) да се концентрација **Sn** повећавала са периодом складиштења на обе температуре, кретајући се од 0,10 mg kg<sup>-1</sup> 15-тог дана, до 1,54 mg kg<sup>-1</sup> 105-тог дана, на 20 °C, односно од 1,09 mg kg<sup>-1</sup> 45-тог дана, до 3,19 mg kg<sup>-1</sup> 105-тог дана, на 40 °C;
- 2) температура од 40 °C утицала је на повећање миграције Sn у односу на његову миграцију на 20 °C;
- 3) температура од 40 °C утицала је на повећање концентрације **Al**, чија се вредност кретала од 1,507 mg kg<sup>-1</sup> до 1,511 mg kg<sup>-1</sup>, са повећањем периода складиштења;
- 4) вредности концентрација **As**, **Pb** и **Hg** биле су испод нивоа детекције;
- 5) вредности концентрација **Cd** биле су скоро исте у свим периодима складиштења, на обе температуре и кретале су се од 1,0 µg kg<sup>-1</sup> до 3,0 µg kg<sup>-1</sup>;
- 6) почетни период складиштења и виша температура утицали су на смањење концентрације макроелемената;
- 7) вредности концентрација микроелемената су доста вариране, како са периодом складиштења, тако и са променом температуре.

На основу изнетог може се закључити да је и почетни период складиштења конзерви утицао на повећање концентрације Sn и Al, док за остале токсичне елементе није имао великог значаја. Такође, утицао је на смањење концентрације свих макроелемената и неких микроелемената.

**Табела 35.** Вредности токсичних, макро и микроелемената у конзервама ЋПС у почетном периоду складиштења (након 15, 45, 75 и 105 дана од дана производње) на температури од 20 °C и 40 °C

Дан	T	Na mg kg <sup>-1</sup>	Mg mg kg <sup>-1</sup>	K mg kg <sup>-1</sup>	Ca mg kg <sup>-1</sup>	Cr mg kg <sup>-1</sup>	Mn mg kg <sup>-1</sup>	Fe mg kg <sup>-1</sup>	Cu mg kg <sup>-1</sup>	Zn mg kg <sup>-1</sup>	As μg kg <sup>-1</sup>	Se mg kg <sup>-1</sup>	Cd μg kg <sup>-1</sup>	Sn mg kg <sup>-1</sup>	Hg μg kg <sup>-1</sup>	Pb μg kg <sup>-1</sup>	Al mg kg <sup>-1</sup>
15. дан	20 °C	4901,2	178,46	2370,3	98,02	0,021	0,379	8,54	0,51	20,18	< 4	0,117	3,0	0,10	< 1	< 4	0,636
45. дан	20 °C	4799,9	154,97	2826,8	78,85	0,013	0,383	8,98	0,61	20,89	< 4	0,110	3,0	0,32	< 1	< 4	0,984
45. дан	40 °C	5040,4	151,13	2768,2	72,98	0,009	0,344	9,43	0,588	21,63	< 4	0,075	1,0	1,09	< 1	< 4	1,507
75. дан	20 °C	3793,6	142,48	2373,7	66,44	0,008	0,369	10,23	0,442	18,81	< 4	0,098	1,0	0,90	< 1	< 4	0,705
75. дан	40 °C	4781,4	138,89	2478,3	65,62	0,007	0,391	10,94	0,457	19,30	< 4	0,039	1,0	3,09	< 1	< 4	1,298
105. дан	20 °C	4429,8	153,69	2516,2	82,58	0,004	0,338	7,98	0,361	21,91	< 4	0,092	2,0	1,54	< 1	< 4	0,685
105. дан	40 °C	5002,1	166,03	2730,6	64,12	0,004	0,413	8,99	0,377	22,70	< 4	0,081	1,0	3,19	< 1	< 4	1,511

#### 4.6.8. Утицај токсичних елемената из конзервисане хране на здравље војника

Један од најзначајнијих извора уноса токсичних елемената у организам је храна, мада ништа мање нису значајни ни други извори (ваздух, земљиште, вода и др).

У ланац исхране, токсични елементи се укључују тако што их из земљишта, воде и ваздуха, преко корена усвајају биљке, а преко њих доспевају у организам животиња и људи.

Постоји велики број литературних података о негативном деловању токсичних елемената на здравље људи и животиња. (*Anon., 2009; Goyer, 1997; Goyer i Klarkson, 2001; Hodgson, 2004; Jarup, 2003*). Најчешће анализирани токсични елементи, који се налазе у природи и храни, а који су узрочници многих болести код животиња и људи, су **As**, **Pb**, **Cd**, **Hg** и **Sn**.

Организација за пољопривреду и храну/Светска здравствена организација (FAO/WHO) и Европска агенција за безбедност хране (EFSA), процениле су изложеност дејству токсичних елемената и ограничиле дневни/недељни/месечни унос, и то:

- 1) толерабилни недељни унос за неоргански **As** од  $15 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , односно за органски арсен од  $50 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (*FAO/WHO, 2014*);
- 2) толерабилни недељни унос за **Pb** од  $25 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , (*EFSA, 2010; FAO/WHO, 2014*);
- 3) толерабилни недељни унос за **Cd** од  $7 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (*FAO/WHO, 2014*). EFSA је просечни недељни унос кадмијума храном ограничила на  $2,5 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , а за изложенију популацију и до  $3,9 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ . Редовни потрошачи шкољки и гљива имају још више вредности дневог уноса кадмијума (до  $5,4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ ). Честом конзумацијом бубрега старијих животиња повећава се унос кадмијума за  $0,96 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (*EFSA, 2009, 2012*);
- 4) толерабилни недељни унос за **Hg** од  $5 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , (*FAO/WHO, 2014*). EFSA је усвојила недељну толерабилну дозу за неорганску живу од  $4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$ , док је иста доза за метил-живу  $1,3 \mu\text{g (kg tm)}^{-1}$  (*EFSA, 2012*);
- 5) толерабилни недељни унос за **Sn** од  $14,0 \text{mg (kg tm)}^{-1}$  (*WHO, 1988*).



Максимални нивои As, Pb, Cd, Hg и Sn у храни, утврђени су Регулативом (1881/2006/EC), као и Правилником РС (*“Sl. glasnik RS”, број 22/2018*), у коме су прописане максимално дозвољене количине токсичних елемената. У циљу процене изложености припадника ВС дејству токсичних елемената кроз конзумирање конзервисаних производа од меса, средње вредности токсичних елемената из нашег рада су комбиноване са режимом исхране и средњом вредношћу телесне масе 1000 војника. Средња вредност телесне масе војника износила је 70,6 kg, са минималном вредношћу од 50,0 и максималном вредношћу од 94,0 kg. По предвиђеном режиму исхране, у регуларним условима, војници конзумирају 160 грама ГГ, 450 грама МН, 300 грама ЈП, 400 грама ТПС и 375 грама Сардине, на месечном нивоу. У ванредним условима, вредност конзумиране хране се дупло повећава. Резултати средње вредности токсичних елемената у испитиваним врстама конзерви, месечна потрошња истих (у редовним и ванредним условима), дневни и месечни унос, препоруке FAO/WHO и EFSA и Hazard indeks (HI), приказани су у Табели 36. Индекс хазарда (HI) је мерило прихватљивости ризика од штетног дејства токсичних елемената. Рачунат је за сваки токсични елемент посебно и код свих испитиваних конзервисаних производа од меса, као однос процењеног уноса елемената и препоручених/прописаних вредности уноса. Унос токсичних елемената рачунат је преко средње вредности њихове концентрације у садржају конзерви и прописаног уноса конзервисаних производа. На основу добијених вредности дневног и месечног уноса токсичних елемената и HI, може се закључити да је максимална изложеност војника, кроз испитану конзервисану храну, испод толерабилног дневног уноса који је прописан од стране FAO/WHO и EFSA. Индекс хазарда за испитиване конзервисане производе био је знатно испод граничне вредности – 1. Међутим, значајно је напоменути да се токсични елементи могу унети у организам војника конзумирањем и друге врсте хране, као и преко других извора, тако да је дневни унос токсичних елемената сигурно знатно виши. С обзиром да су токсични елементи узрочници многих болести, константан мониторинг конзервисане хране, као могућег извора токсичних елемената, неопходан је и врло битан. На основу добијених резултата у овом истраживању, може се закључити да ниво токсичних елемената у конзервисаној храни коју војници имају на менију,

тренутно не представља ризик по њихово здравље и да нема разлога да војници мењају навике у исхрани.

**Табела 36.** Дневни и месечни унос *As*, *Pb*, *Cd*, *Hg* и *Sn* ( $\mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ,  $\mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ месеч}^{-1}$ ) применом детерминистичке методе, конзумирањем конзервисаних производа од меса, препоручени дневни и месечни унос (FAO/WHO и EFSA) и *HI*

	Средња вредност, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Месечна потрошња, kg		Унос, $\mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ месечно}^{-1}$		Унос, $\mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ дневно}^{-1}$	
		Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно
<b>Арсен</b>	$\mu\text{g kg}^{-1}$	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно
ГГ	4,99	0,160	0,320	0,011	0,023	0,000371947	0,000743893
МН	2,00	0,450	0,900	0,013	0,025	0,000419279	0,000838557
ЈП	2,00	0,300	0,600	0,008	0,017	0,000279519	0,000559038
ЋПС	2,00	0,400	0,800	0,011	0,023	0,000372692	0,000745384
Сардина	1735	0,375	0,750	9,214	18,429	0,3031035	0,606207001
Укупно				9,258	18,516	0,305	0,609
Препорука						9,28	9,28
<b>HI</b>						<b>0,033</b>	<b>0,066</b>
<b>Олово</b>	$\mu\text{g kg}^{-1}$	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно
ГГ	2,00	0,160	0,320	0,005	0,009	0,0001	0,0003
МН	2,00	0,450	0,900	0,013	0,025	0,0004	0,0008
ЈП	2,00	0,300	0,600	0,008	0,017	0,0003	0,0006
ЋПС	2,00	0,400	0,800	0,011	0,023	0,0004	0,0007
Сардина	15,00	0,375	0,750	0,080	0,159	0,0026	0,0052
Укупно				0,117	0,234	0,0040	0,008
Препорука						3,571	3,571
<b>HI</b>						<b>0,001</b>	<b>0,002</b>
<b>Кадмијум</b>	$\mu\text{g kg}^{-1}$	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно
ГГ	0,50	0,160	0,320	0,001	0,002	0,000037	0,000074
МН	1,53	0,450	0,900	0,010	0,020	0,0003	0,0006
ЈП	7,42	0,300	0,600	0,032	0,063	0,0010	0,0021
ЋПС	4,00	0,400	0,800	0,023	0,045	0,0007	0,0015
Сардина	69,00	0,375	0,750	0,366	0,733	0,0121	0,0241
Укупно				0,432	0,863	0,0140	0,0280
Препорука						0,3570	0,3570
<b>HI</b>						<b>0,040</b>	<b>0,079</b>
<b>Жива</b>	$\mu\text{g kg}^{-1}$	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно
ГГ	4,39	0,160	0,320	0,010	0,020	0,0003	0,0007
МН	2,21	0,450	0,900	0,014	0,028	0,0005	0,0009
ЈП	2,23	0,300	0,600	0,009	0,019	0,0003	0,0006
ЋПС	0,50	0,400	0,800	0,003	0,006	0,0001	0,0002
Сардина	4,00	0,375	0,750	0,021	0,042	0,0007	0,0014
Укупно				0,058	0,115	0,002	0,004
Препорука						0,186	0,186
<b>HI</b>						<b>0,010</b>	<b>0,020</b>
<b>Калај</b>	$\mu\text{g kg}^{-1}$	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно	Редовно	Ванредно
ГГ	350	0,160	0,320	0,793	1,586	0,026	0,052
МН	480	0,450	0,900	3,059	6,118	0,101	0,201
ЈП	320	0,300	0,600	1,360	2,719	0,045	0,089
ЋПС	248	0,400	0,800	1,405	2,810	0,046	0,092
Сардина	84	0,375	0,750	0,446	0,892	0,015	0,029
Укупно				7,063	14,125	0,232	0,465
Препорука						2000	2000
<b>HI</b>						<b>0,0001</b>	<b>0,0002</b>

HI - hazard indeks

#### 4.7. Резултати испитивања бисфенола А у конзервисаним производима од меса

Циљ овог дела рада био је да се испита миграција бисфенола А из полимерне превлаке, којом је обложена унутрашњост металне амбалаже, у садржај говеђег гулаша и ћуфти у парадајз сосу - конзервисаних производа од меса који се користе у исхрани ВС. Према нашим сазнањима, ово је први пут да је праћена концентрација ВРА у било којој врсти хране која је произведена у Србији, а врло је мали број података објављених у свету уопште, који се односе на ВРА у производима од меса. Резултати који су најближи овом истраживању, а потичу из Србије, добијени су из кампање "Toxic Cash Receipts" (Токсични рачуни). Резултати испитивања 33 узорка термалног папира за фискалне рачуне, показали су да је ВРА присутан у испитиваним узорцима, као и у картонској амбалажи за паковање од рециклираног папира. Пластичне посуде за храну, тестиране у оквиру ове кампање, нису садржале ВРА (ALHem, 2017). По аналогији са испитивањем елемената у претходном Поглављу, у првом делу је испитан утицај дужине периода складиштења на миграцију ВРА. У другом делу истраживања, испитан је утицај врсте конзервисаног производа, степена оштећења, периода складиштења и температуре на концентрацију ВРА у садржају конзерве.

##### 4.7.1. Поновљивост методе за одређивање бисфенола А

Поновљивост примењене методе за одређивање ВРА тестирана је мерењем три репликата једног узорка ГГ, а такође и једног узорка ЋПС. Даље, узорци ГГ и ЋПС су обogaћени стандардним ВРА раствором, да би се постигла концентрација  $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ , више него што је претходно одређено за специфични узорак. Аналит је екстрахован и квантификован, а затим је израчунат опоравак (енгл. *recovery*). Резултати поновљивости, као и опоравак ВРА, са стандардном девијацијом (SD) и релативном стандардном девијацијом (RSD), дати су у Табели 37. Релативна стандардна девијација износила је 7,5% за узорке ГГ и 8,9% за узорке ЋПС (прихватљиво мање од 10%). Предложени метод био је тачан и осетљив, окарактерисан врло dobrим вредностима опоравка (82,1 за узорке ГГ и 78,7% за узорке ЋПС). Опоравак ВРА био је нешто већи код ГГ, мада су обе вредности у потпуности биле прихватљиве.

**Табела 37.** Резултати поновљивости, стандардне девијације (SD), релативне стандардне девијације (RSD) и опоравка ВРА, за узорке ГГ и ЋПС

Производ	ВРА, $\mu\text{g kg}^{-1}$			$\bar{x}$	SD, $\mu\text{g kg}^{-1}$	RSD, %	ВРА очекивано ( $\bar{x} + 20$ ), $\mu\text{g kg}^{-1}$	ВРА добијено, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Опоравак, %
	Проба 1	Проба 2	Проба 3						
Говеђи гулаш	32,0	35,0	29,0	32,0	2,4	7,5	52,0	50,9	82,1
Ћуфте у парадајз сосу	24,0	20,5	19,5	21,3	1,9	8,9	41,3	32,5	78,7

#### 4.7.2. Утицај дужине периода складиштења на миграцију бисфенола А у редовним условима

Садржај ВРА, одређен је у узорцима ГГ који су складиштени од 0г/11м до 6г/6м и у узорцима конзерви ЋПС, складиштених од 0г/4м до 3г/0м. Производи су складиштени у типским војним објектима, под редовним условима. Конзерве су контролисане пре отварања и утврђено је да на њима није било никаквих оштећења. Добијени резултати су приказани у Табели 38. Они показују да је ВРА нађен у свих 11 узорака, са концентрацијама које се крећу од 3,2 до 64,8  $\mu\text{g kg}^{-1}$  за ГГ (просечно 26,2  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) и са концентрацијама од 21,3 до 31,2  $\mu\text{g kg}^{-1}$  за ЋПС (просечно 25,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). Много веће осцилације су примећене у узорцима ГГ, у поређењу са узорцима ЋПС, са најнижом вредношћу ВРА од 3,2  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , што је испод границе квантификације (LOQ = 5 ppb). Највиша ВРА вредност од 64,8  $\mu\text{g kg}^{-1}$  пронађена је у узорку ГГ при складиштењу од непуне три године. Ова вредност је изнад специфичног лимита за миграцију (SML) ВРА из пластичних материјала који долазе у контакт са храном, који по најновијој ЕУ регулативи, од фебруара 2018. године, износи 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Нови SML је смањен 12 пута у односу на стари, који је износио 600  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Regulation (EU) No 2018/213). Према овој, најновијој уредби Комисије, „пластика која долази у контакт са храном“ и „лакирани или обложени материјали и артикли који су у контакту са храном“, а који су законито стављени на тржиште пре 6. септембра 2018. године, могу остати на тржишту док се залихе не исцрпе. Без обзира на ову Уредбу, рок употребе производа са највишом вредношћу ВРА (64,8  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) истекао је у априлу 2018. године, тако да сигурно није даље у исхрани војника Војске Србије.

Узорак ГГ са периодом складиштења 2г/2м садржао је ВРА у концентрацији од 44,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , која је близу дозвољене границе од 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , док су сви остали узорци садржали мање од 31,2  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ВРА, што их чини потпуно безбедним за употребу у исхрани војника.

**Табела 38.** Концентрације ВРА у узорцима конзерви ГГ и ЋПС, складиштених у редовним условима

Датум производње	Период складиштења г/м/д	Рок употребе	ВРА, $\mu\text{g kg}^{-1}$
<b>Говеђи гулаш</b>			
15. 09. 2010.	6/6/00	14.09.2014.	22,4
23. 09. 2011.	5/5/23	22.09.2015.	6,2
26. 10. 2012.	4/4/20	25.10.2016.	3,2
13. 04. 2013.	3/11/02	12.04.2017.	24,6
19. 04. 2014.	2/10/27	18.04.2018.	64,8
15. 09. 2015.	2/2/16	14.09.2019.	44,0
05. 01. 2016.	0/11/10	04.01.2020.	18,1
<b>Ћуфте у парадајз сосу</b>			
12. 06. 2014.	3/0/03	11.06.2018.	24,2
15. 09. 2015.	1/9/00	14.09.2019.	25,5
10. 02. 2016.	0/10/05	09.02.2020.	21,3
13. 02. 2017.	0/4/02	12.02.2021.	31,2

г/м/д – година/месец/дан

Корелација између концентрације ВРА и периода складиштења није уочена у оквиру овог истраживања. С обзиром на то да су сви узорци складиштени под истим условима, јасно је да миграција ВРА у конзервисане производе од меса зависи, на првом месту, од квалитета полимерног премаза, тј. количине заосталог ВРА мономера и степена умрежења епокси-фенолне смоле. ВРА може остати неизреагован, када су услови полимеризације или процес умрежавања неадекватни. Пошто се лименке производе са истим захтевима квалитета, варијација у својствима превлаке различитих серија је вероватно резултат разлика у квалитету почетних сировина, или процеса умрежавања. Као резултат, произведене су лименке са премазом различитог "потенцијала" за ослобађање ВРА у храну.

Као што је већ поменуто, врло је мало радова објављено на тему ВРА у конзервисаним производима од меса (углавном се односе на производе од рибе). Садржај ВРА у конзервисаној храни је у одређеном броју објављених радова сличан вредностима нађеним у оквиру нашег истраживања, док су у појединим радовима нађене много више вредности у односу на наше резултате и далеко изнад новог SML од  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ . На пример, *Thomson et al. (2005)* су нашли концентрације ВРА које су се кретале у распону од 10 до  $29 \mu\text{g kg}^{-1}$  у различитим врстама конзервисане хране, међу којом су били и производи од меса. За разлику од ових резултата, ВРА у храни и напцима са Турског тржишта, износио је до  $1858 \mu\text{g kg}^{-1}$  (*Sungur et al., 2014*). Генерално, просечни нивои ВРА у оквиру нашег истраживања су на доњем делу скале, у односу на оне дате у претходним студијама у свету, за узорке конзервисане хране.

На основу добијених резултата, може се закључити да ВРА тренутно није фактор ризика за здравље војника у Србији, мада ће, с обзиром на најновију европску регулативу, бити неопходно стално праћење његове концентрације у конзервисаним прехранбеним производима.

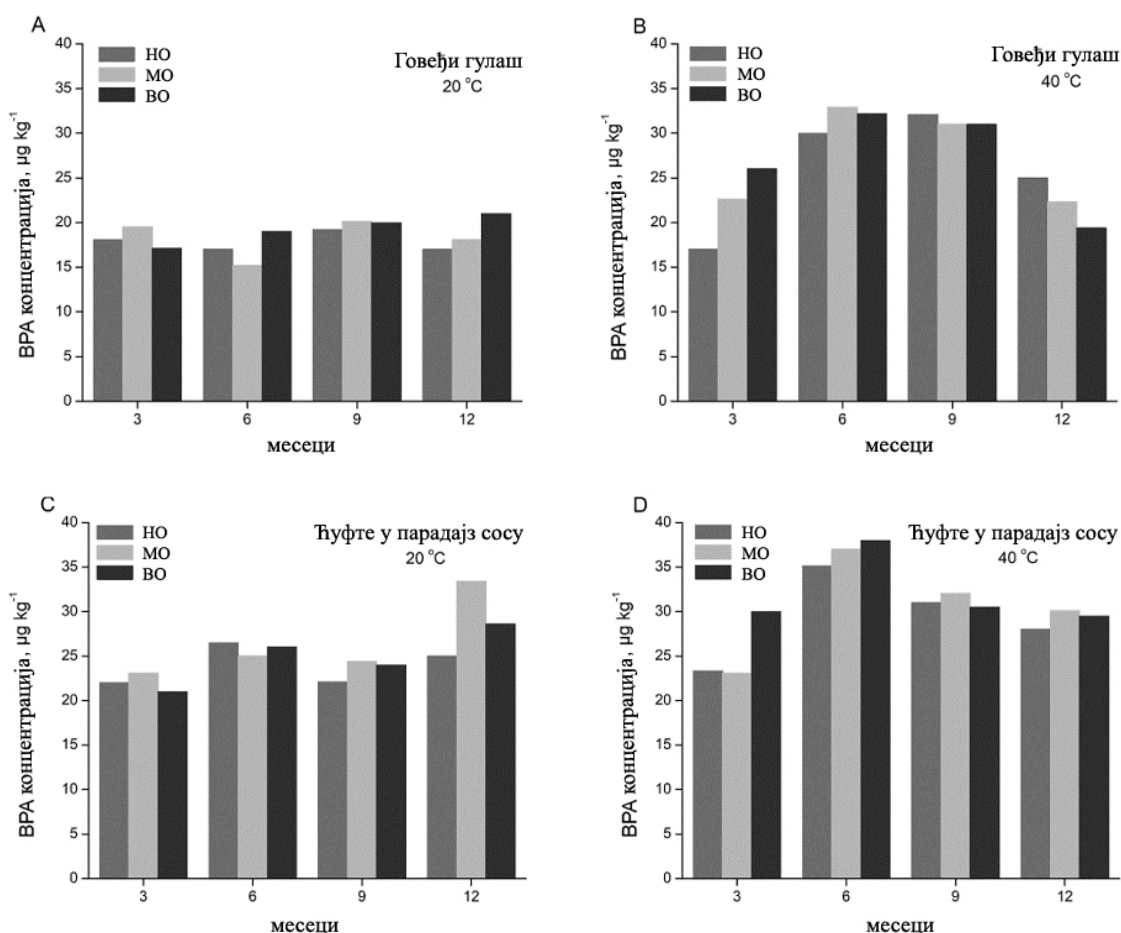
#### **4.7.3. Утицај врсте конзервисаног производа од меса, степена оштећења конзерви, дужине периода складиштења и температуре на миграцију бисфенола А у експерименталним условима**

Концентрација ВРА одређена је у узорцима ГГ (произведеног 05.01.2016. године) и ЋПС (произведених 10.02.2016. године). Узорци су термостатирани на две различите температуре, које су симулирале редовне услове складиштења ( $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) и екстремне услове складиштења ( $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), којима би могле бити изложене конзерве у летњем периоду. Термостатиране су неоштећене конзерве (НО), конзерве са мањим степеном оштећења (МО) и конзерве са већим степеном оштећења (ВО), а ВРА је одређиван у садржају након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања. Конзерве су контролисане пре отварања и утврђено је да на њима није било видљивих промена. Добијени резултати су приказани на Слици 31.

Концентрација ВРА нултог дана („0 дан“), пре постављања експеримента, износила је  $18,1 \mu\text{g kg}^{-1}$  за ГГ и  $21,3 \mu\text{g kg}^{-1}$  за ЋПС. Ове количине ВРА мигрирале су у храну из превлаке конзерви пре него што је експеримент постављен, тј. током

стерилизације и претходног периода складиштења у редовним условима у типским војним објектима. Пре постављања експеримента, конзерве ГГ су биле складиштене 11 месеци и 10 дана, док су конзерве ЋПС биле складиштене 10 месеци и 5 дана под регуларним условима складиштења.

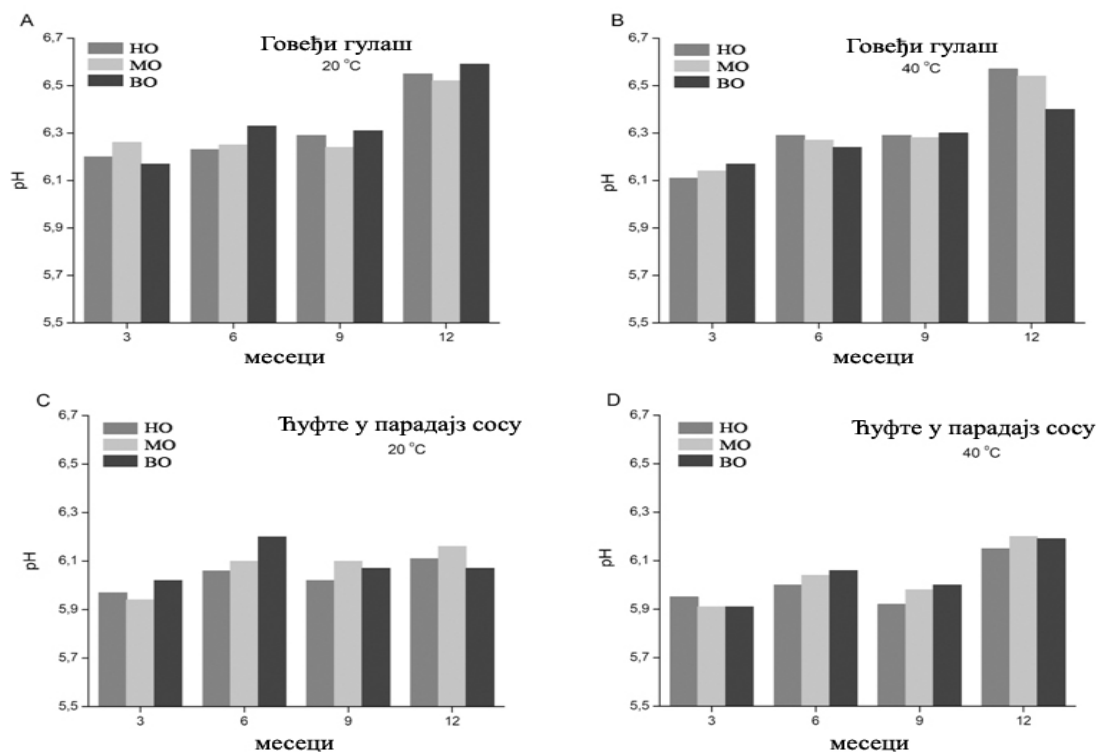
Концентрација ВРА у узорцима ГГ кретала се од  $17,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  (6 месеци на  $20^\circ\text{C}$ , МО конзерве) до  $32,9 \mu\text{g kg}^{-1}$  (6 месеци на  $40^\circ\text{C}$ , МО конзерве). Код узорака ГГ који су термостатирани на  $20^\circ\text{C}$ , примећене су веома мале варијације у концентрацији ВРА, са максималном вредношћу од  $21,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  (12 месеци, ВО конзерве). Током складиштења конзерви ГГ на  $40^\circ\text{C}$ , забележен је благи пораст нивоа ВРА у периоду од 3 до 6 месеци; затим је достигнут плато између 6 и 9 месеци, скоро без промене нивоа ВРА; на крају је забележен благи пад нивоа ВРА између 9 и 12 месеци (Слика 31).



Слика 31. Миграција ВРА код HO, MO и VO конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на  $20^\circ\text{C}$  и  $40^\circ\text{C}$  у узорцима конзерви ГГ и ЋПС

Миграција ВРА код ЋПС износила је између  $21,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  (3 месеца на  $20^\circ\text{C}$ , ВО конзерви) и  $38,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  (6 месеци на  $40^\circ\text{C}$ , ВО конзерви). Са Сlike 31 може се видети да се ниво ВРА у узорцима ЋПС повећава споро, али константно, на  $20^\circ\text{C}$ . Миграција ВРА је углавном била нижа на  $20^\circ\text{C}$ , у поређењу са миграцијом на  $40^\circ\text{C}$ , код обе врсте конзерви. Током складиштења ЋПС на  $40^\circ\text{C}$ , повећање вредности ВРА забележено је између 3 и 6 месеци, затим је умерено смањење забележено између 6 и 9 месеци и најзад је постигнут плато између 9 и 12 месеци.

Садржај ВРА био је знатно већи у узорцима ЋПС, него у узорцима ГГ, за цео период складиштења, на  $20^\circ\text{C}$  и на  $40^\circ\text{C}$ , што значи да је миграција ВРА у ЋПС израженија јер је ова храна киселија у поређењу са ГГ. Киселија средина у ЋПС делује агресивно на епокси-фенолни премаз, што доводи до брже миграције ВРА мономера у храну. Може се приметити да повећање рН вредности током дванаестомесечног складиштења доводи до благог пада нивоа ВРА, што је у складу с претходном претпоставком (Сlike 31 и 32). Sadeghi са коауторима такође сугерише да киселост хране утиче на ниво ВРА, на начин да повећање рН вредности доводи до смањења његове екстракције из хране (Sadeghi et al., 2016).



Слика 32. рН вредност код НО, МО и ВО конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на  $20^\circ\text{C}$  и  $40^\circ\text{C}$  у узорцима конзерви ГГ и ЋПС



Добијени резултати су показали да степен оштећења конзерви није значајно утицао на степен миграције ВРА. Може се закључити да ће се миграција ВРА из превлаке у храну повећавати током складиштења на топлим местима, и да ће ниво ВРА бити виши у киселијој храни. Група аутора је показала да ВРА у највећој мери мигрира током процеса стерилизације, док је период складиштења био од мањег значаја на температурама између 25 и 35 °C (*Goodson et al., 2004*).

Резултати добијени у оквиру нашег истраживања, показују недвосмислену везу између миграције ВРА и повећане температуре складиштења на 40 °C. Миграција ВРА је у испитиваној храни била испод границе новог Европског законодавства од 50 µg kg<sup>-1</sup>. Обе врсте производа од меса могу се сматрати потпуно безбедним за исхрану у погледу садржаја ВРА, тако да Војска Србије нема разлога да мења своје потрошачке навике.

#### **4.7.4. Миграција бисфенола А у симуланте хране и месне оброке у почетном периоду складиштења**

Овај део истраживања спроведен је да би се симулирала миграција ВРА из епокси-фенолне превлаке у различите симуланте хране, с циљем да се направи брза претпоставка колика би могла бити вредност концентрације ВРА у храни упакованој у одговарајућу металну амбалажу. Раствори 3% сирћетне киселине, 10% етанола, њихове смеше (3% сирћетна киселина + 10% етанол) и 50% етанола, коришћени су као симуланти различитих прехранбених производа за екстракцију ВРА из превлаке лименки од белог лима, које су произведене према специјалним захтевима Војске Србије. Такође, испитан је и утицај процеса стерилизације на концентрацију ВРА код конзерви ГГ и ЋПС, као и почетног периода складиштења (15-105 дана) на концентрацију ВРА у конзервама ЋПС.

Специфични тестови миграције ВРА урађени су према Регулативи ЕУ (*No 10/2011*) - модел раствори за конзервисану храну. Концентрација ВРА одређена је најпре у чистим симулантима, који су коришћени за експерименте миграције, а након тога у сваком од симуланата хране под следећим условима: а) након 90 мин стерилизације у херметички затвореним лименкама на 120 °C; б) након 90 мин стерилизације у херметички затвореним лименкама на 120 °C и даљег загревања на 60 °C током 10 дана и ц) након загревања на 60 °C током 10 дана у херметички

затвореним лименкама, без претходне стерилизације. Регулатива предвиђа да, загревање на 60 °C током 10 дана покрива дугорочно складиштење током 6 месеци на собној температури и испод ње. Ово укључује и загревање до 70 °C у трајању до 2 сата, или загревање до 100 °C у трајању до 15 минута. Овај сегмент регулативе је изузетно важан обзиром да је у складу са начином конзумирања конзервисане хране у ВС - кратко загревање када се оброци конзумирају на терену. Симуланти конзервисаних месних производа су, по Регулативи ЕУ (*No 10/2011*), 3% сирћетна киселина (за производе у воденом медијуму, симулант Б), и 10% етанол (за производе у масном или уљаном медијуму, симулант А). Раствор сирћетне киселине се користи за храну чија је рН вредност мања од 4,5. Смеша 3% сирћетне киселине и 10% етанола одабрана је тако да симулира реалне услове - киселу конзервисану храну са одређеним процентом масноће (као што су узорци ЋПС). Модел раствор 50% етанола у води (симулант Д), је симулант који се користи за млеко и дијететске производе, а у оквиру овог рада је изабран због одличне растворљивости ВРА у етанолу. Резултати су приказани у Табели 39.

**Табела 39.** Миграција ВРА у симуланте хране при различитим временима контакта и температурама

Симулант	Време контакта (мин) и температура (°C)	ВРА ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )
3% сирћетна киселина - слепа проба -	/	<5
3% сирћетна киселина	90 мин на 120 °C	10
	90 мин на 120 °C + 10 дана на 60 °C	12
	10 дана на 60 °C	12
10% етанол - слепа проба -	/	<5
10% етанол	90 мин на 120 °C	8
	90 мин на 120 °C + 10 дана на 60 °C	14
	10 дана на 60 °C	8
50% етанол - слепа проба -	/	<5
50% етанол	90 мин на 120 °C	15
	90 мин на 120 °C + 10 дана на 60 °C	16
	10 дана на 60 °C	16
10% етанол + 3% сирћетна киселина - слепа проба -	/	<5
10% етанол + 3% сирћетна киселина	90 мин на 120 °C	8
	90 мин на 120 °C + 10 дана на 60 °C	8
	10 дана на 60 °C	10

Као што се може видети из Табеле 39. мерења чистих симуланата (слепе пробе), показала су да је количина ВРА у свим узорцима била мања од  $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ , што је испод лимита за квантификацију примењене методе (LOQ) (Stojanović et al., 2019). Највећа количина ВРА је мигрирала у 50% етанол, али није нађена значајна разлика између стерилизованог узорка ( $15 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) и узорака који су грејани на  $60^\circ\text{C}$  током 10 дана, односно стерилизовани па затим грејани 10 дана на  $60^\circ\text{C}$  ( $16 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Изгледа да је 10-дневно грејање на  $60^\circ\text{C}$ , без претходне стерилизације, довољно да екстрахује доступни ВРА из епокси-фенолне превлаке употребом 50 % етанола. Исти тренд је примећен када је 3% сирћетна киселина коришћена као симулант хране, са нешто нижим концентрацијама ВРА:  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$  када је примећен само процес стерилизације и  $12 \mu\text{g kg}^{-1}$  када је узорак грејан 10 дана на  $60^\circ\text{C}$ , односно најпре стерилизован, па одмах потом загреван 10 дана на  $60^\circ\text{C}$ . Очигледно је да се већа количина ВРА може екстраховати 50% етанолом у поређењу са 3% сирћетном киселином. У случају када се 10% етанол користи као симулант хране, екстрахована количина ВРА је  $14 \mu\text{g kg}^{-1}$ , када се узорак стерилизује па потом греје 10 дана на  $60^\circ\text{C}$ . Овај резултат је веома сличан вредности добијеној за миграцију у 50% етанол (у све три варијанте). Међутим, када се примени само процес стерилизације на лименку напуњену 10% етанолом и херметички затворену, или када се лименка са 10% етанолом само греје 10 дана на  $60^\circ\text{C}$  (без претходне стерилизације), тада, нађене вредности ВРА у оба случаја износе  $8 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Може се закључити да ни индивидуални процес стерилизације, нити 10-дневно грејање на  $60^\circ\text{C}$ , нису довољни да екстрахују сав доступни ВРА у епокси-фенолној превлаци, већ се за потпуну екстракцију мора применити комбинација ова два процеса. Најзад, најнижа количина ВРА ( $8\text{-}10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) је екстрахована када је коришћена смеша 10% етанола и 3% сирћетне киселине као симулант хране. Овај модел раствор је требао да имитира киселу храну са одређеним уделом масноће. Међутим, веома је важно нагласити да у киселим симулантима хране (3% сирћетна киселина и смеша 3% сирћетне киселине са 10% етанола) долази до разарања превлаке унутар лименке и до појаве изражене корозије. То је показано и у раду *Paseiro-Cerrato et al.* (2017), где је миграција ВРА из епоксидних и акрилно-фенолних превлака у симуланте хране праћена у кратком и дужем временском периоду (1 дан - 1,5 година).

Аутори су користили неколико симуланата хране (вода, 3% сирћетна киселина, 50% етанол, изооктан) на 40 °C. У изооктану, миграција ВРА није детектована. У 50% етанолу, 10-дневни тест је дао ниже вредности ВРА, у поређењу са онима које се налазе након дуготрајног складиштења. Аутори су закључили да протоколи за миграцију треба да се модификују, тако да се предвиди дугорочно складиштење. Међутим, пре него што се било какве измене унесу у протоколе, треба проучити дугорочне интеракције превлаке са правом храном.

Неке од карактеристика ЋПС, оброка који су у наставку овог дела истраживања тестирани на присуство ВРА, приказане су у Табели 40. Као што се може видети из нутритивног састава, садржај масти и протеина је био 7,87% и 13,70%, респективно, док је рН вредност износила 5,95. Раствор сирћетне киселине се препоручује као симулант хране чија је рН вредност испод 4,5. На бази приказаних резултата, очигледно је да је 50% етанол симулант који екстрахује највећу количину ВРА из епокси-фенолне превлаке.

**Табела 40.** Неке карактеристике узорка ЋПС, складиштеног 15 дана на 20 °C

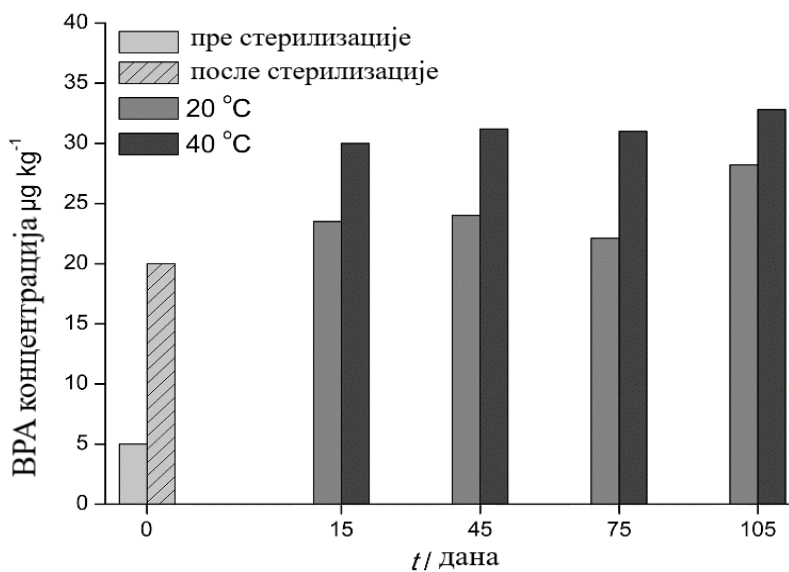
Конзерви- сани производ	Температура складиштења, °C	Период складиштења, дани	Нутритивни састав [g (100 g) <sup>-1</sup> ]			рН	ВРА, µg kg <sup>-1</sup>
			Протеини	Масти	NaCl		
ЋПС	20	15	13,70	7,87	1,71	5,95	23,5

Ефекат процеса стерилизације и почетног периода складиштења (15-105 дана), на концентрацију ВРА у узорцима ЋПС, био је у фокусу даљег истраживања у оквиру овог рада. Концентрација ВРА одређена је пре и одмах након процеса стерилизације, и износила је 5 и 20 µg kg<sup>-1</sup>, респективно. Даље, стерилисани узорци ЋПС су складиштени на две температуре (20 и 40 °C) у току 15, 45, 75, и 105 дана, а затим је одређена концентрација ВРА након одређеног времена складиштења, а резултати су приказани на Слици 33. Вредности ВРА у узорцима ЋПС поређени су са резултатима добијеним за миграцију ВРА у различите симуланте хране. На Слици 33 може се видети да се концентрација ВРА у храни повећава током иницијалног периода складиштења од 15 дана и достиже 23,5 µg kg<sup>-1</sup> (на 20 °C), односно 30,0 µg kg<sup>-1</sup> (на 40 °C). Током даљег периода складиштења, долази до благог повећања концентрације ВРА на обе температуре,

са највишим вредностима након 105 дана, од  $28,2 \mu\text{g kg}^{-1}$  (на  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) и  $32,8 \mu\text{g kg}^{-1}$  (на  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Претходни резултати, добијени приликом испитивања утицаја оштећења конзерви, температуре и дужег периода складиштења од 1 до 3 године (Поглавље 4.7.3.), такође су показали да се количина ВРА која мигрира у ЋПС креће око  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$  на  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , и око  $30 \mu\text{g kg}^{-1}$  на  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . У Поглављу 4.7.2. такође је приказано да је концентрација ВРА у узорку ЋПС након 10 месеци и 5 дана складиштења, под регуларним условима у објекту ВС, износила  $21,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ , што је такође у сагласности са вредностима ВРА у узорцима термостатираним на  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . На основу приказаних резултата може се закључити да највећи део ВРА (око  $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) мигрира у храну током процеса стерилизације, што је у сагласности са претходно публикованим радовима у овој области. Може се апроксимирати да око 80% ВРА мигрира у ЋПС током процеса стерилизације, а 20% касније, током дужег складиштења на  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , док 70% ВРА мигрира у ЋПС за време процеса стерилизације а 30% касније, када се конзерве складиште на  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Ови резултати поново потврђују наше претходне налазе да је количина ВРА нижа у храни која се складишти на  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , у поређењу са храном која се складишти на  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Такође, миграција ВРА из унутрашње епокси-фенолне превлаке у храну је израженија када је храна киселија (*Sadeghi et al., 2016*). Може се закључити да ће се миграција ВРА у ЋПС сигурно повећавати за време складиштења на топлим местима, при чему се плато достиже релативно брзо, отприлике након једног месеца на одређеној температури. Поновљивост методе је тестирана мерењем три пробе за сваки узорак на којој су дате средње вредности. На пример, вредности за узорак складиштен 45 дана на  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  биле су  $24,0$ ,  $20,0$  и  $18,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ , са средњом вредношћу од  $21,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  ВРА, стандардном девијацијом од  $2,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ , и релативном стандардном девијацијом од 10,5%. Све добијене ВРА вредности су испод новог ЕУ лимита за миграцију од  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ , за испитане узорке ЋПС. Захваљујући томе, ови оброци се могу сматрати потпуно безбедним за исхрану војника ВС, у погледу садржаја ВРА.

Ако се садржај ВРА, нађен у узорцима ЋПС, упореди са садржајем у различитим симулантима хране, може се видети да је најближа вредност од  $16 \mu\text{g kg}^{-1}$  нађена када је коришћен 50% етанол, која одговара вредности од 80% ВРА који мигрира

у ЋПС током процеса стерилизације, односно 60 и 50% ВРА који мигрира на 20 и 40 °C, респективно, током дужег периода складиштења, а након стерилизације. Очигледно је да ни један од симуланата хране који је коришћен у овом раду не одражава довољно добро испитану храну, па се не може са потпуном сигурношћу користити за предвиђање миграције ВРА у ЋПС. Било би корисно испитати нове симуланте током будућих истраживања, који би боље имитирали храну као што су оброци ЋПС.



Слика 33. Вредности ВРА у узорцима ЋПС у зависности од стерилизације, почетног периода складиштења и температуре

Други аутори су такође истраживали у овој области и нашли да процес стерилизације на 121°C током 30 минута значајно повећава миграцију ВРА у воду, која је коришћена као симулант хране. Нађено је да је вредност ВРА износила 92-125 µg kg<sup>-1</sup>, и није било значајног утицаја дужине складиштења на миграцију након процеса стерилизације. Аутори су сугерисали да је важно испитивати миграцију ВРА у реалне узорке конзервисане хране, када многи други параметри (рН вредност, или количина воде, односно масти), могу утицати на миграцију током дужег периода складиштења (*El Moussawi et al., 2018*).

#### 4.7.5. Утицај бисфенола А из конзервисане хране на здравље војника

Сматра се да је храна главни извор уноса ВРА за људе. Додатно, људи су изложени дејству ВРА кроз друге различите путеве, као што су дермални контакт са термо-папиром, или санитарним материјалом, или преко инхалације аеросолом ВРА. Светска здравствена организација (WHO) проценила је изложеност дејству ВРА за одрасле од  $0,4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , што је средња вредност, па до максималне од  $1,0 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , за изложеност у најбољем случају (енгл. “the best case exposure scenario”), што је, када одрасла особа конзумира 25% кафе, чаја и алкохолних пића, као и 25% чврсте хране у упакованом облику. За најгори случај (енгл. “the worst case exposure scenario”), када одрасла особа конзумира 100% кафе, чаја и алкохолних пића, као и 100% чврсте хране у упакованом облику, процењена изложеност дејству ВРА је између  $1,4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , што је средња вредност, па до максималних  $4,2 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  (El Moussawi et al., 2018).

Добро је познато да постоји веза између неких ендокриних поремећаја и изложености дејству ВРА, као што су нпр. болести мушког и женског репродуктивног система, смањени квалитет сперме и нижи одговор јајника током процеса вантелесне оплодње. Даље, изложеност дејству ВРА може, такође, резултовати појавом метаболичких поремећаја као што су дијабетес, гојазност и кардиоваскуларне болести (Cunha et al., 2017).

Такође је познато да веома ниске концентрације ВРА показују дејство слично хормонима, па због тога долази до нетрадиционалних реакција на ниске дозе ВРА, као резултат компликоване динамике попуњености и засићености ендокриних рецептора. Због тога, ниске дозе ВРА понекад могу имати јачи утицај на циљна ткива, него високе дозе (Mahalingaiah et al., 2008).

У циљу процене изложености припадника Војске Србије дејству ВРА кроз конзумирање конзервисаних производа од меса, средње вредности ВРА из нашег рада су комбиноване са режимом исхране и средњом вредношћу телесне масе 1000 војника. Средња вредност телесне масе војника је износила 70,6 kg, са минималном и максималном вредношћу од 50,0 и 94,0 kg. Средња изложеност дејству ВРА кроз конзервисане производе од меса, испитиване у овом раду,

износи  $0,06 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  за ГГ (1 порција од  $80 \text{ g dan}^{-1}$ , односно 2 порције од  $160 \text{ g mesec}^{-1}$ ) и  $0,15 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  ТПС (1 порција од  $400 \text{ g dan}^{-1}$ ). Највећа вредност ВРА од  $64,8 \mu\text{g kg}^{-1}$  нађена је у ГГ са периодом складиштења од непуне три године, а средња вредност изложености израчуната на основу ове вредности износи  $0,15 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  (1 порција од  $80 \text{ g dan}^{-1}$ ). У регуларним условима, војници конзумирају две порције ГГ и једну порцију ТПС на месечном нивоу, а претходно израчунавање је дато само за онај дан када је на менију војника једна порција конзервисане хране. Максимална изложеност војника кроз испитану конзервисану храну је испод толерабилног дневног уноса од  $4 \mu\text{g (kg tm)}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ , који је прописан од стране Европске Комисије у 2018. години. Међутим, треба имати на уму да ВРА може да се унесе у организам и кроз друге врсте хране коју војници конзумирају, а исто тако и преко других извора, тако да је дневни унос ВРА сигурно виши.

Резултати овог истраживања сугеришу да концентрација ВРА нађена у конзервисаној храни не утиче на здравље војника, тако да нема разлога да потрошачи мењају своје навике у исхрани.

На крају, може се закључити да садржај ВРА у конзервисаној храни коју војници имају на менију, тренутно не представља ризик по њихово здравље. Међутим, ВРА као ендокрини дисруптор интерферира са природним хормонима на начин који може бити опасан по људско здравље. Због тога је неопходан константан мониторинг конзервисане хране, као могућег извора ВРА.

#### 4.8. Резултати сензорне анализе

Циљ овог дела истраживања био је да се испитају промене сензорних својстава пет врста конзервисаних производа од меса, који су произведени код различитих произвођача, али по истој рецептури за одређену врсту производа, и који су складиштени под регуларним условима, у периоду до 6 година.

Резултати дескриптивне анализе стања амбалаже, односно најзначајнија одступања у својствима металне амбалаже која су утврђена у току одређеног периода складиштења, приказани су у Табели 41.



Табела 41. Промене на спољашњој површини конзерви током складиштења под регуларним условима

Период складиштења година/месец	Врста производа				
	Говеђи гулаш	Свињски паприкаш	Месни нарезак	Јетрена паштета	Ћуфте у сосу
0г/1м	-	-	-	-	бп
0г/3м	бп	бп	-	-	-
0г/6м	-	бп	-	-	-
0г/7м	-	-	-	бп	-
0г/8м	-	-	бп	-	-
0г/11м	бп	-	-	-	-
1г/1м	-	-	бп	бп	
1г/10м	-	-	-	-	бп
2г/1м	-	-	бп	-	-
2г/2м	бп	бп	-	-	-
2г/4м	-	-	-	корозија	-
2г/8м	-	-	-	-	корозија
3г/0м	-	-	-	бп	-
3г/1м	-	-	незнатна корозија	-	-
3г/2м	мраморираност, корозија	незнатна корозија	-	-	-
3г/9м	-	-	-	-	корозија
4г/0м	мраморираност, корозија	бп	-	-	-
4г/4м	-		корозија	корозија	-
5г/0м	-	-	корозија	корозија	-
5г/1м	бп	корозија	-	-	-
5г/9м	бп	бп	-	-	-
6г/0м	-	-	незнатна корозија	бп	-

бп = без промена

Резултати су показали да је већ у току дефинисаног рока употребе (4 године), дошло до промена на конзервама ЈП и ЋПС, и то већ у трећој години складиштења.

Код конзерви ГГ, мраморираност конзерви и корозија утврђене су у четвртој и након четврте године складиштења, док је корозија код СП запажена тек после пете година складиштења.

Интересантно је да код узорака конзерви ГГ, СП и ЈП након шест година складиштења, нису утврђене промене на металној амбалажи, што указује да је узрок корозије конзерви са краћим периодом складиштења био неки други фактор, осим дужине складиштења.

Резултати дескриптивне анализе садржаја конзерви, односно најзначајнија одступања у сензорним особинама садржаја која су утврђена у току складиштења конзерви, приказани су у Табели 42.

На основу приказаних резултата, види се да код одређених конзерви има промена у особинама садржаја већ унутар рока употребе од 4 године. Код ЋПС је већ у другој години складиштења дошло до закишељавања садржаја и згрудвавања прилога, при чему се ове промене продубљују у трећој и четвртој години. У трећој години складиштења јављају се и промене конзистенције код ЈП, у смислу појаве лепљивости, а ове промене се продубљују при крају треће и у четвртој години, када долази и до издвајања желеа и масти, што је запажено и код МН. Од четврте године складиштења, код свих производа од меса запажа се металан мирис и укус. Једино код конзерви ГГ и СП нису утврђене промене у сензорним својствима најева у току предвиђеног рока употребе (4 године), али су утврђени сензорни недостаци који одступају од захтеваног квалитета.

Појединачна оцена за свако од испитиваних сензорних својстава, као и укупна оцена сензорног квалитета конзерви ГГ у току складиштења, са одговарајућим коефицијентом корелације између оцено и дужине периода складиштења, приказани су у Табели 43.

Табела 42. Промене у садржају конзерви у току складштитења под регуларним условима

Период	Врста производа				
	Говеђи гулаш	Свињски паприкаш	Месни нарезак	Јетрена паштета	Ћуфте у парадајз сосу
0-3 м	Комади меса несвојственог облика. Везивно ткиво у мањем проценту.	Комади меса некарактеристичног облика. Присуство везивног ткива и тетива.	-	-	бп
6-12 м	Комади меса несвојственог облика и величине. Везивно ткиво у мањем проценту.	Комади меса неуједначеног облика. Преовладава укус зачинске паприке.	Већи комадићи масног ткива. Нешто мекша конзистенција.	бп	-
1-2 г	-	-	бп	бп	Арома меса и прилога киселкаста и на загорело. Текстура сува, чврста. Прилог грудваст, изразито црвене боје
2-3 г	бп	бп	бп	Конзистенција незнатно лепљива.	Арома меса и прилога метална, кисела, на загорело. Текстура сувише чврста и сува. Прилог грудваст, чврст, изразито црвене боје.
3-4 г	Метална арома меса и прилога. Тамна боја меса. Замућен прилог. Жуто-браон боја лоја.	Метална арома меса и прилога. Замућеност прилога.	Издавања желеа и масти. Неуједначен изглед пресека. Лоша одрживост боје. Мекана текстура.	Издавања желеа и масти. Шупљине веће од 2mm. Конзистенција незнатно лепљива.	Арома меса и прилога несвојствена производу, метална, киселкаста, на загорело. Текстура превише чврста и сува. Прилог густ, грудваст, чврст, изразито црвене боје.
4-5 г	Метална арома меса и прилога. Тамна боја меса и прилога. Жуто-смеђа боја лоја. Трулежан мирис.	Метална арома меса и прилога.	Мекана текстура. Устајао, киселкаст мирис. Метална арома.	Издавања течности, желеа и масти. Шупљине веће од 2 mm. Конзистенција лепљива и несвојствена. Слаба одрживост боје. Метална арома.	-
5-6 г	Метална арома меса и прилога. Тамноцрвена боја прилога.	Метална арома меса и прилога.	Пресек неуједначен. Метална арома. Мекана текстура. Метална арома.	Издавања течности, желеа и масти. Шупљине веће од 2 mm. Конзистенција мекано-мазива и лепљива. Слаба одрживост боје. Метална арома.	-

Резултати испитивања су показали, да је најбоља укупна оцена сензорног квалитета ГГ (4,88) утврђена код конзерви складиштених две године и два месеца, а нешто слабија код конзерви у првој години складиштења (4,68). Интересантно је да се укупна оцена конзерви ГГ после пете године складиштења (4,46 и 4,49 респективно), иако им је истекао рок употребе, не разликује статистички значајно од напред наведених производа и да је чак боља од узорака који су складиштени свега годину дана (4,17). Најслабије су оцењене конзерви после треће и четврте године складиштења (3,84 и 3,55 респективно), које су биле при крају и са истеклим роком употребе, при чему не постоји значајна разлика између узорака после треће и после прве године складиштења, који је у року употребе. Захваљујући томе, оцене за укупни сензорски квалитет ГГ су у слабо негативној корелацији са дужином складиштења ( $r = -0,290$ ) при чему та корелација није статистички значајна ( $p = 0,528$ ). Особине ГГ које су биле најподложније променама у току складиштења, биле су мирис и укус меса, мирис и укус прилога и текстура прилога, које су биле у средње јакој негативној корелацији са дужином периода складиштења (-0,433, -0,404 и -0,412 респективно). Ипак, та корелација није била статистички значајна, чему доприносе високе оцене за ове особине код узорака после пете и непуне шесте године складиштења, које се углавном нису статистички разликовале од оцена узорака који су били у року употребе.

Неочекивано је утврђена позитивна корелација оцена за изглед и састав пресека садржаја говеђег гулаша са дужином складиштења (0,096). Тако, узорци који су складиштени пет и непуних шест година имали су бољи изглед и састав пресека (4,58 и 4,67 респективно), од узорака после три месеца и после годину дана складиштења (4,53 и 3,75 респективно).

Појединачне оцене за свако од испитиваних сензорних својстава и укупна оцена сензорног квалитета СП у току периода складиштења, са коефицијентом корелације за оцене у односу на дужину периода складиштења, приказане су у Табели 44.

Табела 43. Оцене сензорног квалитета говеђег гулаша и коефицијент корелације оцена у односу на период складиштења

Произвођач	Период складиштења година/месец	Спољашњи изглед	Изглед и састав пресека	Боја и одрживост боје	Мирис и укус меса	Мирис и укус прилога	Текстура меса	Текстура прилога	Укупна оцена	
<b>Б</b>	У року употребе	0г/3м	5,00 ± 0,00 а	4,53 ± 0,07 а	4,67 ± 0,09 а	4,78 ± 0,06 а	4,61 ± 0,08 а,д	4,61 ± 0,09 а	4,58 ± 0,09 а	<b>4,68 ± 0,07 а</b>
		0г/11м	4,94 ± 0,04 а	3,75 ± 0,09 б	4,06 ± 0,05 б	4,17 ± 0,06 б,ц	4,22 ± 0,06 б	4,11 ± 0,05 б	4,42 ± 0,11 а	<b>4,17 ± 0,07 б</b>
		2г/2м	5,00 ± 0,00 а	4,81 ± 0,06 а	4,86 ± 0,05 а	4,86 ± 0,05 а	4,86 ± 0,05 а	5,00 ± 0,00 а	4,92 ± 0,04 б	<b>4,88 ± 0,04 а</b>
		3г/2м	4,17 ± 0,22 б	4,00 ± 0,04 б	3,89 ± 0,05 б	3,67 ± 0,05 б	3,64 ± 0,19 ц	3,78 ± 0,08 б	3,64 ± 0,19 ц	<b>3,84 ± 0,11 б,ц</b>
<b>А</b>	Истекао рок употребе	4г/0м	3,89 ± 0,33 б	3,67 ± 0,32 б	3,50 ± 0,34 б	3,56 ± 0,34 б	3,31 ± 0,31 ц	3,64 ± 0,35 б	3,39 ± 0,33 ц	<b>3,55 ± 0,05 ц</b>
		5г/1м	4,72 ± 0,08 а	4,58 ± 0,09 а	4,44 ± 0,07 а	4,36 ± 0,07 ц	4,42 ± 0,09 б,д	4,39 ± 0,08 а	4,47 ± 0,09 а	<b>4,46 ± 0,07 а</b>
		5г/9м	4,97 ± 0,03 а	4,67 ± 0,08 а	4,53 ± 0,06 а	4,31 ± 0,06 ц	4,22 ± 0,06 б	4,56 ± 0,09 а	4,28 ± 0,06 а	<b>4,49 ± 0,04 а</b>
Пирсонова корелација	г	<b>- 0,357</b>	<b>0,096</b>	<b>- 0,233</b>	<b>- 0,433</b>	<b>- 0,404</b>	<b>- 0,232</b>	<b>- 0,412</b>	<b>- 0,290</b>	
	р	0,432	0,838	0,614	0,332	0,368	0,617	0,358	<b>0,528</b>	

Вредности означене различитим словима (а, б, ц, д) у истој колони статистички се значајно разликују ( $p < 0,05$ )

Табела 44. Оцене сензорног квалитета свињског наприкаша и коефицијент корелације оцена у односу на период складиштења

Произвођач	Период складиштења година/месец	Спољашњи изглед	Изглед и састав пресека	Боја и одрживост боје	Мирис и укус меса	Мирис и укус прилога	Текстура меса	Текстура прилога	Укупна оцена	
<b>Б</b>	У року употребе	0г/3м	5,00 ± 0,00 а	4,31 ± 0,07 а	4,39 ± 0,09 а	4,81 ± 0,09 а	4,67 ± 0,09 а	4,81 ± 0,06 а	4,58 ± 0,08 а	<b>4,62 ± 0,10 а</b>
		0г/6м	5,00 ± 0,00 а	4,61 ± 0,05 а,ц	4,69 ± 0,06 б	4,92 ± 0,04 а	4,75 ± 0,06 а	4,92 ± 0,04 а	4,92 ± 0,04 б	<b>4,81 ± 0,04 б</b>
		2г/2м	5,00 ± 0,00 а	4,50 ± 0,10 а,ц	4,50 ± 0,09 а	4,50 ± 0,07 б	4,33 ± 0,12 б	4,25 ± 0,06 б	4,50 ± 0,14 а	<b>4,50 ± 0,12 а</b>
		3г/2м	4,58 ± 0,07 б	4,78 ± 0,09 б	4,69 ± 0,09 б	4,58 ± 0,10 б	4,47 ± 0,09 б	4,83 ± 0,09 а	4,50 ± 0,12 а	<b>4,63 ± 0,13 а</b>
<b>А</b>	Истекао рок употребе	4г/0м	4,89 ± 0,05 а	4,47 ± 0,07 а	4,58 ± 0,09 б	4,33 ± 0,06 б,ц	4,25 ± 0,06 б	4,58 ± 0,04 б,ц	4,50 ± 0,07 а	<b>4,49 ± 0,05 а</b>
		5г/1м	3,97 ± 0,19 ц	4,56 ± 0,07 а,ц	4,30 ± 0,06 а	4,00 ± 0,07 ц	3,92 ± 0,06 ц	4,33 ± 0,06 б	4,03 ± 0,08 ц	<b>4,19 ± 0,06 ц</b>
		5г/9м	4,92 ± 0,04 а	4,83 ± 0,06 б,ц	4,75 ± 0,06 б	4,00 ± 0,00 ц	4,00 ± 0,04 ц	4,50 ± 0,07 б,ц	4,28 ± 0,06 ц	<b>4,45 ± 0,03 а</b>
<b>Пирсонова корелација</b>	<b>r</b>	<b>- 0,516</b>	<b>0,613</b>	<b>0,177</b>	<b>- 0,928</b>	<b>- 0,899</b>	<b>- 0,475</b>	<b>- 0,755</b>	<b>- 0,695</b>	
	<b>p</b>	0,236	0,143	0,704	0,003 **	0,006 **	0,282	0,05 *	<b>0,083</b>	

Вредности означене различитим словима (а, б, ц) у истој колони статистички се значајно разликују ( $p < 0,05$ );

\* корелација је значајна на нивоу 0,05;

\*\* корелација је значајна на нивоу 0,01.

Резултати испитивања су показали да је најбоља укупна оцена сензорног квалитета СП (4,81) утврђена код узорака складиштених шест месеци и била је статистички значајно боља од оцене узорака након три месеца и након две године складиштења (4,62 и 4,50 респективно). Међутим, у поређењу са ова два производа, сличне оцене је имао и СП који је био при крају рока употребе и са истеклим роком употребе (4,63, 4,49 и 4,45), а разлике нису биле статистички значајне. Код узорака СП утврђена ја јака негативна корелација између висине оцена за укупни сензорски квалитет и дужине складиштења ( $r = -0,695$ ), иако та корелација није била статистички значајна ( $p = 0,083$ ). Томе су допринеле јаке негативне корелације оцена за мирис и укус меса, мирис и укус прилога и текстуру прилога, у односу на дужину складиштења (-0,928, -0,899 и -0,755 респективно), при чему су корелације биле статистичке значајне ( $p = 0,003, 0,006$  и  $0,05$  респективно). Наиме, оцене за ове особине биле су највеће код узорака из прве године складиштења (4,58 до 4,92), а најлошије код узорака после пете године складиштења (3,92 до 4,28).

Међутим, оцене за мирис и укус и текстуру производа после треће године складиштења, биле су боље (4,47 до 4,58) него исте особине производа после друге године складиштења (4,33 до 4,50), а разлике нису биле статистички значајне. И код СП, неочекивано су утврђене јака позитивна корелација (0,613) и слаба позитивна корелација (0,177) оцена за изглед и састав пресека, односно боју и одрживост боје, са дужином складиштења. При томе је најбоље оцењен изглед и састав пресека (4,83), као и боја (4,75) најстаријих конзерви, односно конзерви складиштених непуних шест година, док је најлошије оцењен изглед и састав пресека конзерви у првој години складиштења (4,31).

Појединачне оцене испитиваних сензорних својстава и укупна оцена сензорног квалитета узорака МН у току складиштења, са коефицијентом корелације за оцене у односу на дужину периода складиштења приказане су у Табели 45.

Табела 45. Оцене сензорног квалитета месног нареска и коефицијент корелације оцена у односу на период складиштења

Произвођач	Период складиштења година/месец	Спољашњи изглед	Изглед и састав пресека	Боја и одрживост боје	Мирис и укус	Текстура	Укупна оцена	
Ц	У року употребе	0г/8м	5,00 ± 0,00 а	4,42 ± 0,07 а	4,61 ± 0,09 а	4,53 ± 0,08 а	4,42 ± 0,07 а	<b>4,55 ± 0,09 а,е</b>
		1г/1м	5,00 ± 0,00 а	4,56 ± 0,09 а	4,81 ± 0,06 а	4,81 ± 0,06 б	4,67 ± 0,06 б	<b>4,81 ± 0,04 б</b>
		2г/1м	4,89 ± 0,05 а	4,36 ± 0,05 а	4,31 ± 0,07 а	4,31 ± 0,07 а	4,33 ± 0,06 а	<b>4,39 ± 0,07 а</b>
А	Истекао рок употребе	3г/1м	4,42 ± 0,04 б	3,19 ± 0,12 б	3,14 ± 0,06 б	2,22 ± 0,14 ц	2,81 ± 0,09 ц	<b>2,90 ± 0,07 ц</b>
Е		4г/4м	3,90 ± 0,10 ц	4,58 ± 0,08 а	4,55 ± 0,10 а	4,50 ± 0,13 а	4,25 ± 0,17 а	<b>4,42 ± 0,09 а</b>
А		5г/0м	4,08 ± 0,11 ц	3,92 ± 0,04 ц	4,00 ± 0,00 ц	4,08 ± 0,04 д	3,75 ± 0,06 д	<b>3,96 ± 0,04 д</b>
Ф		6г/0м	4,70 ± 0,14 а	4,75 ± 0,14 а	4,83 ± 0,11 а	4,50 ± 0,00 а	4,67 ± 0,11 б	<b>4,65 ± 0,07 б,е</b>
Пирсонова корелација	г	<b>- 0,694</b>	<b>- 0,076</b>	<b>- 0,158</b>	<b>- 0,188</b>	<b>- 0,211</b>	<b>- 0,234</b>	
	р	0,084	0,871	0,736	0,686	0,649	<b>0,613</b>	

Вредности означене различитим словима (а, б, ц, д, е) у истој колони статистички се значајно разликују ( $p < 0,05$ )



Резултати испитивања су показали да је најбоља оцена укупног сензорног квалитета МН утврђена код узорака после једне године складиштења (4,81), али је била скоро подједнако добра и после шест година складиштења (4,65) при чему су ове оцене статистички значајно боље у поређењу са осталим узорцима. Најслабије је оцењен МН после три године складиштења (2,90), иако је још увек био у року употребе, а ова оцена је била статистички значајно лошија од оцена конзерви са истеклим роком употребе, без обзира на годину складиштења (3,96 до 4,65). Овај производ је имао најлошије оцене за сва испитивана сензорна својства, почев од мириса и укуса (2,22), до изгледа и састава пресека (3,19). Једино је спољашњи изглед (амбалажа) био добро оцењен (4,42). Конзерве складиштене шест година, издвајају се најбоље оцењеним изгледом и саставом пресека (4,75), бојом (4,83), као и изгледом амбалаже (4,70).

Корелација између оцена испитиваних сензорних својстава и дужине складиштења, била је слабо негативна (од -0,076 за изглед и састав пресека до -0,211 за текстуру). Само је код спољашњег изгледа амбалаже утврђена јака негативна корелација (-0,694), иако није била статистички значајна ( $p=0,084$ ).

Појединачне оцене испитиваних сензорних својстава и укупна оцена сензорног квалитета конзерви ЈП у току складиштења, са коефицијентом корелације за оцене у односу на дужину складиштења, приказане су у Табели 46.

Табела 46. Оцене сензорног квалитета *јетрене паишете* и коефицијент корелације оцена у односу на период складиштења

Произвођач	Период складиштења година/месец		Спољашњи изглед	Изглед и састав пресека	Боја и одрживост боје	Мирис и укус	Текстура	Укупна оцена
Ц	У року употребе	0/7	5,00 ± 0,08 а	4,92 ± 0,04 а	4,81 ± 0,07 а	4,83 ± 0,06 а	5,00 ± 0,00 а	<b>4,90 ± 0,03 а</b>
		1/1	4,69 ± 0,10 б	4,64 ± 0,05 б	4,89 ± 0,05 а	5,00 ± 0,00 а	5,00 ± 0,00 а	<b>4,90 ± 0,02 а</b>
		2/4	3,89 ± 0,08 ц	4,14 ± 0,07 ц	4,08 ± 0,04 б	4,08 ± 0,04 б	4,17 ± 0,06 б	<b>4,10 ± 0,07 б</b>
А		3/0	4,67 ± 0,09 б	3,75 ± 0,09 д	4,00 ± 0,07 б	4,22 ± 0,07 б	3,83 ± 0,06 ц	<b>3,74 ± 0,04 ц</b>
Е	Истекао рок употребе	4/4	4,10 ± 0,13 ц	3,03 ± 0,08 е	3,48 ± 0,08 ц	3,85 ± 0,11 ц	3,20 ± 0,08 д	<b>3,53 ± 0,05 ц</b>
А		5/0	3,56 ± 0,09 д	3,41 ± 0,21 д	3,89 ± 0,09 б	3,72 ± 0,08 ц	3,86 ± 0,09 ц	<b>4,06 ± 0,09 б</b>
Ф		6/0	4,95 ± 0,05 а	4,63 ± 0,08 б	4,75 ± 0,05 а	4,25 ± 0,07 б	4,48 ± 0,07 е	<b>4,51 ± 0,03 д</b>
Пирсонова корелација	r		<b>- 0,289</b>	<b>- 0,530</b>	<b>- 0,434</b>	<b>- 0,743</b>	<b>- 0,606</b>	<b>- 0,535</b>
	p		0,530	0,221	0,330	0,056	0,149	<b>0,216</b>

Вредности означене различитим словима (а, б, ц, д) у истој колони статистички се значајно разликују ( $p < 0,05$ )

Резултати испитивања су показали да је најбоље оцењен узорак ЈП у првој и после прве године складиштења (укупни сензорни квалитет 4,90), а да квалитет даље опада и после три године износи 3,74. Са истеком рока употребе, после четири године складиштења, ова оцена је нешто мања (3,53), али није статистички значајно различита. Међутим, конзерве после пете и шесте године складиштења, имају статистички значајно боље оцене укупног сензорног квалитета (4,06 и 4,51 респективно), тако да су по квалитету приближно исто, или боље оцењене од конзерви складиштених две године и четири месеца (4,10).

Оцене укупног сензорног квалитета узорака биле су у јакој негативној корелацији са дужином складиштења (-0,535), али ова корелација није била статистички значајна ( $p= 0,216$ ). Најснажније се мењао мирис и укус производа, где је коефицијент корелације износио -0,743, при чему су најбоље оцењене конзерве после прве године складиштења (4,83 и 5,00 респективно), а најлошије конзерве после пете и шесте године складиштења (3,72 и 4,25 респективно). Конзерве које су испитане после шест година складиштења, имале су веома високу оцену за изглед и састав пресека (4,63), боју (4,75) и спољашњи изглед амбалаже (4,95), која се статистички није разликовала од оцена за ове особине производа после прве године складиштења.

Појединачне оцене испитиваних сензорних својстава и укупна оцена сензорног квалитета узорака ЋПС у току складиштења, са коефицијентом корелације за оцене у односу на дужину периода складиштења, приказани су у Табели 47.

Табела 47. Оцене сензорног квалитета *ћуфте* у парадајз сосу и коефицијент корелације оцена у односу на период складиштења

Произвођач	Период складиштења година, месец	Спољашњи изглед	Изглед и састав пресека	Боја и одрживост боје	Мирис и укус меса	Мирис и укус прилога	Текстура меса	Текстура прилога	Укупна оцена	
Д	У року употребе	0г/1м	4,83 ± 0,09 а	4,25 ± 0,06 а	4,42 ± 0,08 а	3,89 ± 0,12 а	3,36 ± 0,09 а	4,03 ± 0,11 а	4,11 ± 0,09 а	<b>4,10 ± 0,09 а</b>
		1г/10м	4,64 ± 0,10 а	3,75 ± 0,09 б	3,83 ± 0,09 б,ц	3,28 ± 0,11 б	2,81 ± 0,08 б	3,22 ± 0,12 б	2,64 ± 0,08 б	<b>3,45 ± 0,12 б</b>
		2г/8м	4,67 ± 0,11 а	4,17 ± 0,11 а	4,14 ± 0,07 а	4,00 ± 0,10 а	3,42 ± 0,15 а	3,69 ± 0,11 ц	2,92 ± 0,16 б	<b>3,89 ± 0,18 а</b>
		3г/9м	3,75 ± 0,16 б	4,03 ± 0,06 а	4,03 ± 0,07 ц	3,64 ± 0,10 а	2,83 ± 0,09 б	3,58 ± 0,11 ц	2,81 ± 0,08 б	<b>3,58 ± 0,12 б</b>
Пирсонова корелација	г р	- 0,848 0,152	- 0,451 0,549	- 0,141 0,859	- 0,012 0,988	- 0,383 0,617	- 0,340 0,660	- 0,698 0,302	- 0,490 <b>0,510</b>	

Вредности означене различитим словима (а, б, ц) у истој колони статистички се значајно разликују ( $p < 0,05$ )

Сви узорци ЋПС били су у року употребе, односно унутар четири године складиштења. При томе, најбољу оцену за укупан сензорни квалитет имале су конзерве у првој години складиштења (4,10), а најслабију оцену конзерве после прве године складиштења (3,45). Узорци у трећој години складиштења били су статистички значајно боље оцењени (3,89) од узорака који су складиштени у другој години (3,45), и имали су приближан квалитет као узорци складиштени у првој години. Наведене оцене укупног сензорног квалитета садржаја конзерви, биле су у средње негативној корелацији са годинама складиштења (-0,490), али ова корелација није била статистички значајна ( $p=0,510$ ).

Најјача негативна корелација (-0,848) утврђена је за оцене спољашњег изгледа амбалаже, где су оцене опадале са 4,83 у првој години, на 3,75 у четвртој години складиштења. Када су у питању сензорна својства самог надева, највећи пад у оценама је забележен код текстуре прилога, која су износила у првој години 4,11, а 2,81 у четвртој години складиштења ( $r=-0,698$ ). Мирис и укус прилога, слабо је оцењен већ у првој години складиштења (3,36) и значајно је лошији у другој и у четвртој години (2,81 и 2,83). Најслабија корелација ( $r=-0,012$ ) забележена је код оцена за мирис и укус меса, у односу на период складиштења, при чему је оцена у првој години била 3,89, и није се статистички разликовала од производа из четврте године (3,64).

Сензорна својства конзервисаних производа од меса зависе од великог броја фактора, као што су избор сировина (*Florowski et al., 2017*), интензитет топлотне обраде (*Nitsch i Vuković, 2006*), квалитет посуда у које се пакују, као и услова складиштења (*Buculei et al., 2014; Vafaei et al., 2018*). Одређене врсте конзервисаних производа од меса, које су коришћене у нашим истраживањима, произведене су и пуњене према специфичној војној рецептури, обрађене одговарајућим режимом топлотне обраде, пуњене у амбалажу која је требала да буде истог квалитета и складиштене у одговарајућим условима. Због тога би се на првом месту очекивале промене у сензорним својствима, у зависности од дужине периода складиштења, односно да садржај конзерви са најстаријом годином производње поседује и најлошија својства. На основу Табеле 42, где су дати описи промена у сензорним својствима садржаја, запажа се да у току

складиштења долази до сличних промена код свих врста конзерви, а то је појава металног укуса садржаја, промена боје и текстуре меса. Метални укус се може објаснити миграцијом јона метала из амбалаже у садржај конзерви. Наиме, *Viculei et al.*, (2014) наводе да се у току складиштења конзерви у року од 36 месеци садржај Fe, Zn, Cu, Pb и Cd повећава са нивоом значајности од  $p < 0,001$ , при чему је највећи садржај Fe ( $15,83 \text{ mg kg}^{-1}$ ), чији јони најзначајније доприносе металном укусу садржаја. До сличних резултата и појаве металног укуса, који се повезује са повећаном концентрацијом Fe, дошла је и друга група аутора (*Lawless et al.*, 2004). Поред тога, у нашем експерименту су већ после три године складиштења утврђени недостаци, у смислу издвајања желеа и масти код МН и ЈП, код којих је запажена и појава шупљина. Ово је слично налазу других аутора (*Pinter*, 2009), у току вишегодишњег складиштења конзервисаних производа од меса.

Интересантно је напоменути да, уколико упоредимо оцене појединих особина за један производ, који је добијен код различитих произвођача, можемо запазити да су често боље оцењени производи из старијих производних партија, у поређењу са новијим. Ово се најбоље запажа кроз оцене за укупни сензорни квалитет узорка ГГ произвођача А, складиштених пет, односно шест година, које су износиле 4,46 и 4,49 респективно, а којима је увелико истекао рок трајања. Ове оцене су биле боље, него код узорка ГГ произвођача Б, складиштеног свега годину дана, који је био у року употребе, а оцењен је укупном оценом 4,17. Исто тако, од МН произвођача Ф, који је складиштен шест година и оцењен је са 4,65, бољу оцену је добио једино МН произвођача Ц, који је складиштен годину дана и добио је оцену 4,81. Најлошије је оцењен МН произвођача А, који је складиштен три године и оцењен је са 2,90, без обзира што је још увек био у року употребе.

Посматрајући појединачне особине, нарочито су боље оцењени састав и изглед пресека код узорка ГГ произвођача А, складиштеног пет и шест година (4,58 и 4,67 респективно), него код узорка произвођача Б, складиштеног само годину дана (3,75). Исто тако, изглед и састав пресека СП (Табела 44), боље је оцењен код узорка складиштених шест и у четвртој години, који су били ван рока и близу рока употребе (4,83 односно 4,78 респективно) него код СП који је складиштен само три месеца (4,31, произвођач Б). Свему томе у прилог иде

податак, да је код узорака ГГ и СП, утврђена позитивна корелација између сензорних оцена и дужине периода складиштења (0,096 до чак 0,613 респективно). Овакви резултати се могу објаснити тиме да су током ранијих година производње коришћене квалитетније сировине него у каснијим годинама, а познато је да од квалитета сировина у великој мери зависе својства и одрживост производа (*Florowski et al., 2017*). Наиме, код испитаних производа, недостатак који се најчешће помиње у вези са изгледом и саставом пресека садржаја, био је да су комади меса несвојственог облика и величине, као и да се запажа несвојствено присуство везивног ткива у мањем или већем проценту (Табела 42). Познато је да веће присуство везивног ткива у надеву производа од уситњеног меса, доводи до нестабилности надева, што резултира издвајањем масти и воде из садржаја, као и нарушавањем његове текстуре (*Berry et al., 1986; Whiting, 1998*).

Стање амбалаже, која треба да обезбеди добру одрживост производа од меса, такође, значајно утиче на њихова сензорна својства (*Dimitrijević et al., 2015*).

Наши резултати показују да су најчешћи недостаци конзерви били у нијансама, од незнатних оштећења, мраморираности, па све до корозије (Табела 41). Оштећења конзерви настају као последица непажљивог руковања, како у току производње, тако и у току транспорта и складиштења. Мраморираност конзерви је последица реакције садржаја конзерве са металом лименке (*Buculei et al., 2014*), што доводи до промена сензорних својстава самог садржаја конзерве, али представља и увод у корозију у току дуготрајног складиштења.

Резултати наших испитивања показали су, да су конзерве које су имале најмању оцену за спољашњи изглед амбалаже, имале углавном и ниске оцене за друга сензорна својства, попут боје, ароме и текстуре производа. То се јасно види код узорка ГГ (Табела 43) складиштеног четири године, СП (Табела 43) складиштеног пет година и ЈП (Табела 46) складиштене пет година (сви од произвођача А), код којих је спољашњи изглед амбалаже оцењен оценама мањим од 4. Слично је и код узорака ЈП складиштених нешто више од две године, произвођача Ц (Табела 46), где је производ имао најниже оцене, како за спољашњи изглед амбалаже, тако и за остале особине.

Насупрот томе, узорци ГГ (Табела 43) и СП (Табела 44), који су били у року употребе (произвођач Б), имају најбоље оцене за спољашњи изглед амбалаже (4,17 – 5,00), а исто тако и за већину осталих сензорних својстава. Интересантно је да промене на конзервама нису биле у вези са периодом складиштења (Табела 41), јер осим конзерви новијег датума производње, конзерве ГГ и СП складиштене шест година, биле су такође у скоро беспрекорном стању (оцене 4,97 односно 4,92 респективно), без појаве мраморираности и корозије.

Сматра се да је са појавом корозије на лименци нарушена њена херметичност (Charbonneau, 2001), што с једне стране отвара могућност контаминације садржаја и угрожавања безбедност, а са друге стране неповољно утиче на сензорна својства у смислу оксидације масти и пигмента меса (миоглобина), која доводи до промене боје и појаве ужегле ароме производа (Min i Ahn, 2005).

#### 4.9. Резултати микробиолошке анализе

Резултати микробиолошке анализе, односе се на 120 узорака конзерви ГГ и на 120 узорака конзерви ЋПС, у неоштећеним конзервама и конзервама са мањим и са већим степеном оштећења, које су анализирани након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C. Одређивање броја аеробних бактерија, као и броја *Clostridium perfringens*, вршено је у 1 граму узорака ГГ и ЋПС.

На основу добијених резултата, може се констатовати да у узорцима конзерви ГГ и узорцима конзерви ЋПС, нису детектоване аеробне бактерије и *Clostridium perfringens* у 1 граму узорка. Код свих узорака (неоштећене конзерве, конзерве са мањим и већим степеном оштећења), након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 и 40 °C, добијене вредности биле су испод дозвољене граничне вредности (< 1 cfu/g).

Врста конзервисаног производа од меса, степен оштећења конзерви, период термостатирања и различите температуре, нису утицали на микробиолошку исправност испитаних узорака конзерви. Анализирани врсте конзервисаних производа од меса су, са аспекта микробиолошке исправности, здравствено безбедне за исхрану припадника Војске Србије.



#### **4.10. Резултати хемијске и физичко-хемијске анализе**

Овај део истраживања имао је за циљ да утврди утицај степена оштећења конзерви, периода складиштења и различите температуре, на нутритивну (хранљиву) вредност испитиваних узорака конзерви ГГ и ЋПС.

Одређен је проценат протеина, масти, воде и натријум-хлорида, као и рН вредност, у узорцима ГГ и ЋПС, у неоштећеним конзервама и конзервама са мањим и са већим степеном оштећења, које су анализирани након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на температури од 20 °С и 40 °С. Добијене вредности изражене су у грамима протеина, масти, воде и кухињске соли на 100 грама производа.

Процент протеина у конзервисаним производима од меса, произведеним за потребе војске, дефинисан је СО и ТС као минимална вредност од 18,5% код конзерви ГГ, односно 9% код конзерви ЋПС. Анализе показују, да су добијене вредности у испитаним узорцима изнад дефинисане минималне вредности, како код неоштећених конзерви, тако и код конзерви са мањим и већим степеном оштећења, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на температури од 20 °С и од 40 °С, код обе врсте производа (Табела 19 и 20, Прилог 1).

Процент масти у конзервисаним производима од меса, дефинисан је СО и ТС као максимална вредност до 14% код конзерви ГГ, односно до 15% код конзерви ЋПС. Након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на температури од 20 °С и од 40 °С, анализе су показале да су добијене вредности (g/100g) код обе врсте конзерви и код свих испитаних узорака конзерви биле испод дефинисане вредности (Табела 21 и 22, Прилог 1).

Процент воде у конзервама ГГ дефинисан је СО као максимална вредност од 68,5%. Анализе су показале, да је садржај воде (g/100g) код свих испитаних узорака био испод максимално дефинисане границе (Табела 23, Прилог 1).

Процент натријум-хлорида дефинисан је СО и ТС као максимална вредност од 1,2% у конзервама ГГ, односно 2% у конзервама ЋПС. Анализе су показале, да је садржај натријум-хлорида био испод максималне вредности, код обе врсте конзерви и код свих испитаних узорака (Табела 24 и 25, Прилог 1).

Хемијски параметри квалитета били су у оквиру дефинисаних (задатих) вредности, које су утврђене и приликом квалитативног пријема код произвођача.

На основу добијених вредности, може се закључити да степен оштећења конзерви, дужина периода термостатирања и различите температуре, нису утицали на промене хемијских параметара квалитета конзервисаних производа од меса, те да су конзерве, са аспекта анализираних параметара, задржале висок квалитет. Експериментални услови нису утицали на хранљиву (нутритивну) и енергетску вредност испитаних конзервисаних производа од меса.

Од физичко-хемијских анализа испитиваних узорака конзерви, вршено је мерење рН вредности садржаја. Иако рН вредност садржаја није дефинисана СО и ТС, у овим истраживањима она је мерена, обзиром да је претпостављено да рН вредност хране може да утиче на степен миграције токсичних супстанци - токсичних елемената и ВРА.

Промена рН вредности код узорака конзерви ГГ и ЋПС приказана је у Табелама 26 и 27 (Прилог 1), где се може видети да су вредности код ГГ биле од  $6,11 \pm 0,1$  код неоштећених конзерви након 3 месеца термостатирања на  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , до  $6,59 \pm 0,1$  код конзерви са већим степеном оштећења, након 12 месеци термостатирања на  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Вредности рН биле су константно ниже у узорцима ЋПС и кретале су се у распону од  $5,91 \pm 0,1$  код конзерви са мањим степеном оштећења, након 3 месеца термостатирања на  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , до  $6,20 \pm 0,1$  код конзерви са мањим степеном оштећења, након 12 месеци термостатирања на  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Врста конзервисаног производа од меса значајно је утицала на рН вредност. Она је била нижа код конзерви ЋПС у односу на конзерви ГГ, како код неоштећених тако и код конзерви са различитим степеном оштећења, у свим периодима термостатирања, на обе температуре.

Дужина периода термостатирања утицала је на повећање рН вредности (нарочито након девет месеци), код узорака узорака ГГ и ЋПС.

Степен оштећења конзерви и различите температуре, нису имале утицаја на рН вредност.

## 5. ЗАКЉУЧЦИ

На основу резултата истраживања и њиховог критичког сагледавања, донети су одређени закључци.

На основу испитаних својстава *белог лима и амбалаже* од белог лима може се **закључити** следеће:

- 1) Хемијски састав, механичка својства и дебљина белог лима и лименки, које су се користиле за производњу конзервисаних производа од меса за потребе ВС, били су у складу са прописаним вредностима;
- 2) Маса превлаке калаја, на унутрашњим и спољашњим површинама лименки, била је знатно изнад захтеваних вредности које је имала војска;
- 3) Све лименке имале су просечне вредности масе полимерног лака изнад захтеваних вредности које је имала војска, и знатно више у односу на масу лака на лименкама произведеним без додатних захтева војске;
- 4) Степен пријањања (адхезивност), континуалност (порозност) и термохемијска отпорност превлаке лака на спољашњим и унутрашњим површинама лименки, задовољавали су захтевани квалитет;
- 5) Лименке за израду конзервисаних производа од меса у свему су биле у складу са стандардом SRPS EN 10202:2007 и додатним захтевима које је имала војска по питању наноса масе калаја и лака.

На основу резултата који су добијени у **првом делу истраживања**, а односе се на *дужину периода складиштења* конзервисаних производа од меса у редовним условима, донети су следећи **закључци**:

- 1) Токсични елементи, били су присутни у садржају свих испитаних врста конзервисаних производа од меса, али не у свим периодима складиштења;
- 2) Дужина периода складиштења утицала је на повећање концентрације појединих токсичних елемената (нарочито Sn) у испитаним конзервисаним производима од меса;

- 3) Дужина периода складиштења утицала је на значајну позитивну корелацију између токсичних елемената у узорцима ГГ, односно јаку позитивну корелацију у узорцима СП, док у узорцима МН, ЈП и ЋПС није било значајних корелација;
- 4) Дужина периода складиштења утицала је на смањење концентрација макроелемената (осим Са) код узорака ГГ, СП, МН и ЈП. Код узорака ЋПС, запажено је смањење концентрације Mg и K, односно повећање Na и Ca, али без статистичке значајности;
- 5) Дужина периода складиштења утицала је на значајну позитивну и јаку позитивну корелацију између макроелемената у узорцима ГГ, СП, МН и ЋПС, док у узорцима ЈП није било значајних корелација;
- 6) Дужина периода складиштења није утицала на статистички значајне промене концентрација токсичних елемената и макроелемената у односу на средњу вредност, на нивоу значајности од 99% ( $p > 0,01$ );
- 7) Дужина периода складиштења утицала је на смањење вредности свих микроелемената (осим Fe) у узорцима ГГ; смањење вредности Cu, Zn и Se, односно повећање вредности Cr, Mn и Fe у узорцима СП, али без статистичке значајности. Концентрација Fe у узорцима конзерви ГГ које су складиштене непуне четири године, била је врло близу максимално дозвољеној граничној вредности од  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ;
- 8) Дужина периода складиштења утицала је на смањење вредности Zn и Se и повећање вредности осталих микроелемената код узорака МН. Код узорака ЈП и ЋПС, утицала је на смањење вредности Se и повећање вредности свих осталих микроелемената, али без статистичке значајности. Вредности концентрације Fe у узорцима МН, који су складиштени преко четири године, биле су близу и изнад максималне вредности, док су вредности Fe у свим узорцима ЈП биле изнад максималне вредности прописане Правилником;
- 9) Дужина периода складиштења утицала је на значајну позитивну и јаку позитивну корелацију између микроелемената у узорцима ГГ, МН и ЈП, док у узорцима СП и ЋПС није било значајних корелација;

10) Дужина периода складиштења утицала је на повећање концентрације ВРА у појединим периодима складиштења. Вредност ВРА, у конзервама ГГ, кретала се у распону од  $3,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ , што је било испод границе квантификације, до  $64,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ , са просечном вредношћу од  $26,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Највиша вредност ( $64,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) била је у узорку са периодом складиштења од непуне три године. Ова вредност је изнад границе миграције ВРА за пластичне материјале у контакту са храном, која износи  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$  према европској регулативи. Узорак ГГ са периодом складиштења од непуне три године садржао је ниво ВРА од  $44,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ , који је био близу дозвољене граничне вредности од  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ ;

11) Количина ВРА која је мигрирала из превлаке лименки у симуланте хране, била је различита и директно је зависила од симуланта. Највећа количина ВРА мигрирала је у 50% етанол, али није нађена значајна разлика између стерилисаног узорка ( $15 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) и узорака који су грејани на  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  током 10 дана, односно стерилисани па затим грејани 10 дана на  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $16 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Грејање у трајању од 10 дана на  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , без претходне стерилизације, било је довољно да екстрахује доступни ВРА из епокси-фенолне превлаке употребом 50% етанола;

12) Већа количина ВРА екстрахована је 50% етанолом у поређењу са 3% сирћетном киселином;

13) Индивидуални процес стерилизације, као ни грејање од 10 дана на  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , нису били довољни за екстракцију целокупно доступног ВРА у епокси-фенолној превлаци, већ се за потпуну екстракцију морала применити комбинација ова два процеса;

14) Најнижа количина ВРА екстрахована је приликом коришћена смеше 10% етанола и 3% сирћетне киселине као симуланта хране. У киселим симулантима хране (3% сирћетна киселина и смеша 3% сирћетне киселине са 10% етанола), долазило је до разарања превлаке унутар лименке и до појаве изражене корозије.

На основу вредности концентрација токсичних, макро и микроелемената у сировинама, зачинима и додацима за производњу ГГ и ЋПС, може се **закључити**:

- 1) Pb, Cd и Al, детектовани су у сировини ЋПС, док As, Hg и Sn, нису детектовани у сировинама ГГ и ЋПС;
- 2) Токсични елементи (Pb, Cd и Al, односно As, Pb, Cd и Al) налазили су се у појединим зачинима и додацима коришћеним за производњу ГГ и ЋПС;
- 3) Макро и микроелементи били су присутни у свим сировинама, зачинима и додацима који их природно садрже, код обе врсте конзервисаних производа.

Из резултата који су добијени испитивањем *поступка стерилизације* на концентрацију токсичних, макроелемената, микроелемената и ВРА у садржају конзерви ГГ и ЋПС, може се **закључити**:

- а) Врста конзервисаног производа од меса утицала је на детекцију и концентрацију токсичних елемената. Већи број токсичних елемената и веће концентрације биле су у узорцима конзерви ЋПС;
- б) Поступак стерилизације имао је утицаја на концентрацију токсичних елемената, тако што су веће вредности биле након стерилизације (Al у узорцима ГГ, односно Pb, Sn и Al у узорцима ЋПС);
- в) Вредности макроелемената и микроелемената биле су знатно мање након стерилизације, код обе врсте конзерви;
- г) Поступак стерилизације значајно је утицао на концентрацију ВРА, знатно веће вредности биле су након стерилизације, код обе врсте конзервисаног производа, односно највећи део ВРА мигрирао је у садржај у току стерилизације. Може се закључити да је око 70% ВРА мигрирало током стерилизације, а 30% током периода складиштења на 40 °С, односно, да је око 80% мигрирало током стерилизације, а 20% током складиштења на 20 °С. Врста конзервисаног производа значајно је утицала на вредност ВРА, тако да су веће вредности измерене у узорцима ЋПС.

На основу утицаја почетног периода складиштења (15-105 дана од датума производње), при температури од 20 °C и 40 °C, на вредност токсичних, макроелемената, микроелемената и ВРА у узорцима ЋПС, може се закључити:

- 1) Вредности концентрације Sn повећавале су се са повећањем иницијалног периода складиштења, на обе температуре. Температура од 40 °C утицала је на повећање вредности Sn у односу на 20 °C;
- 2) Концентрација Al била је већа на температури од 40 °C, док период складиштења није имао значајнији утицај;
- 3) Концентрација макроелемената смањивала се са дужином периода складиштења на температури од 40 °C;
- 4) Концентрације микроелемената доста су варирале, а њихова вредност је опадала са периодом складиштења и на вишој температури (осим за Fe и Zn);
- 5) Концентрација ВРА повећавала се током иницијалног периода складиштења, посебно на температури од 40 °C.

Резултати другог дела истраживања показали су да је *врста конзервисаног производа од меса* утицала на концентрацију токсичних елемената, макроелемената, микроелемената и ВРА, у конзервама ГГ и ЋПС, и то на:

- 1) Концентрацију појединих токсичних елемената (већи ниво Pb, Cd, Sn и Al детектован је код конзерви ЋПС);
- 2) Концентрацију макроелемената (веће вредности Mg и K биле су у узорцима ГГ, док су ЋПС имале веће вредности Na и Ca);
- 3) Концентрацију микроелемената (веће вредности Fe, Zn и Se биле су у узорцима ГГ, док су ЋПС имале већу вредност Mn и Cu).
- 4) Концентрацију ВРА (веће вредности биле су код узорака ЋПС).

Анализирајући утицај *степен индукваног оштећења* конзерви на вредности концентрације токсичних, макро и микроелемената, концентрације ВРА, квалитет и безбедност ГГ и ЋПС, може се закључити да је он био различит:

- 1) Утицао је на статистички значајно повећање концентрације Sn ( $p < 0,05$ ) код обе врсте конзерви, на 20 °C и 40 °C, док на концентрацију As, Pb, Cd, Hg и Al није имао утицаја;

- 2) Није утицао на концентрацију макроелемената код обе врсте конзерви од меса;
- 3) Утицао је на повећање концентрације Fe код обе врсте конзерви, на 20 °C и 40 °C, али без статистичке значајности, док на концентрацију осталих микроелемената није имао утицаја;
- 4) Није имао утицаја на концентрацију ВРА код обе врсте конзерви;
- 5) Није утицао на квалитет и микробиолошку исправност конзерви;
- 6) Није имао утицаја на рН вредност садржаја.

Испитивањем *периода термостатирања*, може се **закључити** да је он на различите начине утицао на вредности концентрација токсичних, макроелемената, микроелемената, ВРА, квалитет и безбедност испитиваних конзерви:

- а) Утицао је на статистички значајно повећање концентрације Pb и Cd ( $p < 0,05$ ). Такође је утицао на повећање концентрације Sn и Al код конзерви ГГ, на 20 °C и 40 °C, али без статистичке значајности. Код узорака ЋПС утицао је на статистички значајно повећање концентрације Cd и Al ( $p < 0,05$ ) на 20 °C, повећање концентрације Al на 40 °C и повећање концентрације Sn на обе температуре.
- б) Утицао је на незнатно повећање концентрације ВРА у периоду од 3 до 6 месеци, стагнацију између 6 и 9 месеци и на смањење концентрације од 9 до 12 месеци, код обе врсте конзерви;
- в) Утицао је на статистички значајно смањење концентрације свих макроелемената (осим Ca), у узорцима ГГ и узорцима ЋПС ( $p < 0,05$ );
- г) Утицао је на статистички значајно повећање концентрације ( $p < 0,05$ ) Cr и Fe на 40 °C, Cu и Zn на 20 °C и 40 °C. Такође је утицао на статистички значајно смањење концентрације Se ( $p < 0,05$ ) на 20 °C, код узорака ГГ. Код узорака ЋПС, утицао је на статистички значајно повећање концентрације свих микроелемената, ( $p < 0,05$ ), на 20 °C и 40 °C, односно, на значајно смањење концентрације Se ( $p < 0,05$ ) на 20 °C;
- д) Није имао утицаја на квалитет и безбедност испитиваних врста конзерви;
- ђ) Утицао је на повећање рН вредности садржаја, код обе врсте конзерви.



На основу утицаја *различитих температура* (20 °C и 40 °C) на вредности концентрације токсичних, макроелемената, микроелемената, ВРА, квалитет и безбедност испитиваних узорака конзерви ГГ и ЋПС, може се **закључити** да:

- 1) Вредности Sn и Pb су повећане на температури од 20 °C, а вредности Cd и Al су повећане на температури од 40 °C, код узорака ГГ. Код узорака ЋПС, дошло је до повећања Cd и Pb на температури од 20 °C, а Sn и Al на температури од 40 °C;
- 2) Температура није имала утицаја на концентрацију As и Hg;
- 3) Концентрација Na и Ca значајно је нижа на температури од 20 °C, а Mg и K на 40 °C код узорака ГГ. Код узорака ЋПС, запажено је смањење концентрације Na, Mg и Ca на температури од 20 °C, а K на 40 °C;
- 4) Значајно је смањена концентрација Cr, Mn и Se на температури од 20 °C, а Zn на 40 °C, док се концентрација Fe значајно повећавала на температури од 40 °C, код узорака ГГ. Код узорака ЋПС, значајно је смањена концентрација Cr, Mn, Fe, Zn и Se на температури од 20 °C, а Cu на температури од 40 °C;
- 5) Вредност ВРА била је значајно виша на температури од 40 °C, код обе врсте конзерви;
- 6) Термостатирање на температури од 20 °C и 40 °C није утицало на квалитет и микробиолошку исправност испитиваних врста конзерви.

На основу резултата који су добијени у **трећем делу истраживања**, а односе се на утицај *дужине периода складиштења* конзервисаних производа од меса на сензорна својства, у редовним условима, донети су следећи **закључци**:

- 1) Дужина периода складиштења утицала је на сензорне промене (нарочито укуса и мириса), односно на појаву металног укуса и мириса код свих узорака конзерви након четири године складиштења;
- 2) Несвојствене сензорне особине нису се увек мењале са периодом складиштења, што потврђује и негативна корелација оцена за укупни сензорни квалитет у односу на дужину периода складиштења (од -0.290 код ГГ, до -0.695 код СП);
- 3) Сензорне промене конзервисаних производа зависиле су и од других фактора, попут квалитета употребљених сировина, металне амбалаже, услова производње, термичког процеса, услова складиштења и др.

## 6. ЛИТЕРАТУРА

Ackerman, L.K., Noonan, G.O., Heiserman, W.M., Roach, J.A., Limm, W., Begley, T.H. (2010): Determination of bisphenol A in U.S. infant formulas: updated methods and concentrations. *J Agric Food Chem.* 58 (4): 2307-2313.

Adriano, D.C. (2001): Trace Elements in the Terrestrial Environment, 2<sup>nd</sup> edition, Springer-Verlag, New York.

Akan, J.C., Abdulrahman, F.I., Sodipo, O.A., Chiroma, Y.A. (2010): Distribution of heavy metals in the liver, kidney and meat of beef, mutton, caprine and chicken from Kasuwan Shanu market in Maiduguri Metropolis, Borno State, Nigeria. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology* 2 (8): 743-748.

Alonso-Magdalena, P., Quesada, I., Nadal, A. (2011): Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 7 (6): 346-353.

AL-Rajhi, M.A. (2014): Determination the concentration of some metals in imported canned food and chicken stock. *American Journal of Environmental Sciences* 10 (3): 283-288.

Al-Thagafi, Z., Arida, H., Hassan, R. (2014): Trace Toxic Metal Levels in Canned and Fresh Food: A Comparative Study. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. Vol. 3, Issue 2.

Anon. (2004): On Materials And Articles Intended To Come Into Contact With Food, No:1935/2004, European Union.

Anon. Food safety Authority of Ireland (2009): Mercury, lead, cadmium, tin and arsenic in food. ISSUE No. 1, 2009.

Anon., Ministarstvo poljoprivrede, trgovine, šumarstva i vodoprivrede (2011): Vodič za primenu mikrobioloških kriterijuma za hranu. Prvo izdanje.

Areej, Kh.A., Angham, O.Z., Adem, A.A. (2012): Determination of mercury, nickel and copper in some types of canned fish and meat. *Bas. J. Vet. Res.* Vol. 11, No 2.

ATSDR (2003a): Toxicological Profile for Cadmium, U.S. Department of Health and Humans Services, Public Health Service, Centres for Diseases Control, Atlanta, GA.

ATSDR (2003b): Toxicological Profile for Mercury U.S. Department of Health and Humans Services, Public Health Service, Centres for Diseases Control, Atlanta, GA.

ATSDR (2003c): Toxicological Profile for Arsenic U.S. Department of Health and Humans Services, Public Health Service, Centres for Diseases Control, Atlanta, GA.

ATSDR (2005): Toxicological Profile for Lead, U.S. Department of Health and Humans Services, Public Health Service, Centres for Diseases Control, Atlanta, GA.

ATSDR (2005a): Toxicological Profile for Zinc.  
<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp60.pdf>.

ATSDR (2007): Toxicological Profile for Lead. Public Health Service, Agency for Toksic Substances and Disease Registry. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>.

ATSDR (2008): Toxicological profile for Cadmium. Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. USA, 2008.

ATSDR (2008): Toxicological profile for Chromium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. USA, 2008. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>.

ATSDR (2012): Toxicological profile for Manganese. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. USA, 2012. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp151.pdf>.

ATSDR (2012): Toxicological profile for Cadmium. U.S. Department of health and human services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. USA, 2012.

Baluka, S.A., Rumbelha, W.K. (2016): Bisphenol A and food safety: Lessons from developed to developing countries. *Food chem toxicol.* 92: 58-63.

Barnes, K.A., Sinclair, C.R., Watson, D.H. (2007): Chemical migration and food contact materials. 1<sup>st</sup> Edition. Cambridge, U.K.: Woodhead Publishing Series in Food Science, *Technology and Nutrition*. 1-13.

Barone, C., Bolzoni, L., Caruso, G., Montanari, A., Parisi, S., Steinka, I. (2015): Food Packaging Hygiene. *Chemistry of Foods*.

Berry, B.W., Smith, J.J., Secrist, J.L. (1986): Effects of Connective Tissue Levels on Sensory, Instron, Cooking and Collagen Values of Restructured Beef Steaks. *Journal of Food Protection* 49 (6): 455-60.

Biedermann, B.S., Grob, K. (2009): Release of bisphenol A from polycarbonate baby bottles: Water hardness as the most relevant factor. *European Food Research and Technology* 228: 679-684.

Boas, M., Main, K.M., Feldt-Rasmussen, U. (2009): Environmental chemicals and thyroid function: An update. Current opinion in endocrinology, diabetes and obesity 16 (5): 385-391.

Bockris, J.O.M., Conway, B.E., White, R.E. (1981): Comprehensive Treatise of Electrochemisrty, Vol. 4: *Electrochemical Materials and Science*, Plenum Press, New York.

Buculei, A., Amariei, S., Oroian, M., Gutt, G., Gaceu, L., Birca, B. (2014): Metals migration between product and metallic package in canned meat. *LWT - Food Science and Technology* (58): 364-374.

Buculei, A., Gutt, G., Amariei, S., Adriana, D., Constantinescu, G. (2012): Study regarding the tin and iron migration from metallic cans into foodstuff during storage. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 18 (4): 299-303.

Cao, X.L., Perez-Locas, C., Dufresne, G., Clement, G., Popovic, S., Beraldin, F., Dabeka, R.W., Feeley, M. (2011): Concentrations of bisphenol A in the composite food samples from the 2008 Canadian total diet study in Quebec City and dietary intake estimates. *Food Addit. Contam. Part A. Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 28 (6): 791-800.

Castagnetto, J.M., Hennessy, S.W., Roberts, V.A., Getzoff, E.D., Tainer, J.A., Pique, M.E. (2002): The metalloprotein database and browser at the scripps research institute. *Nucleic Acids Res.* 30 (1): 379-382.

CEPE (2013): European Council of the Paint, Printing Ink and Artists' Colours Industry. Annual Report.

Cerić, O. (2006): Ispitivanje činilaca od značaja za prisustvo arsena i teških metala u tkivima puževa. Doktorska disertacija, Beograd.

Cesar, R.T.T., Wendell, K.T.C., Makoto, M., Nilson, E.S. (2001): Characteristic levels of some heavy metals from Brazilian canned sardines (*Sardinella brasiliensis*). *Journal of food composition and analysis* 14: 611-617.

Charbonneay, J.E. (2001): Investigation of corrosion and container integrity in metal food containers using scanning electron microscopy-X-ray microanalysis. *Scanning* 23: 198-203.

Chemical Weekly, (2009): Bisphenol A: a Technocommercial profile. september 1, 2009, 205-211. [http://www.chemicalweekly.com/Profiles/Bisphenol\\_A.pdf](http://www.chemicalweekly.com/Profiles/Bisphenol_A.pdf).

Chen, M.Y., Ike, M., Fujita, M. (2002): Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of bisphenol A and other bisphenols. *Environmental Toxicology* 17 (1): 80-86.

Chen, W.Y., Shen, Y.P., Chen, S.C. (2016): Assessing bisphenol A (BPA) exposure risk from long-term dietary intakes in Taiwan. *Sci. Total Environ.* 543: 140-146.

Coatings Manual, (2011): Appendix C.

Commission Regulation (EC) No 1935/2004 of the European Parliament and of the Council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC.

Commission Directive 2011/8/EU of 28 January 2011 amending Directive 2002/72/EC as regards the restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles. *Official Journal of the European Union L Series* 26: 11-14.

Commission Regulation (EU) 2018/213 of 12 February 2018 on the use of bisphenol A in varnishes and coatings intended to come into contact with food and amending Regulation (EU) No 10/2011 as regards the use of that substance in plastic food contact materials. *Official Journal of the European Union*, L41/6-L41/12.

Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. *Official Journal of the European Union*, L12/1-L12/89 411 ([https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg10\\_2011.pdf](https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg10_2011.pdf)).

Commission Regulation (EU) No. 420/2011 of 29 April 2011 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Off J Eur Union L* 111: 3-6.

Commission regulation No 1881/2006 (EC) of 19 december 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official journal of the European Union L* 364: 5-24.

Connor, J.C., Chapin, R.E. (2003): Critical evaluation of observed adverse effects of endocrine active substances on reproduction and development, the immune system, and the nervous system. *Pure and Applied Chemistry* 75 (11-12): 2099-2123.

Couture, L. (2010): The History of Canned Food. Academic Symposium of Undergraduate Scholarship. Paper 4. [http://scholarsarchive.jwu.edu/ac\\_symposium/4](http://scholarsarchive.jwu.edu/ac_symposium/4).

Crawford, S.M., Moeller, S.J., Zerby, H.N., Irvin, K.M., Kuber, P.S., Velleman, S.G., Leeds, T.D. (2010): Effects of cooked temperature on pork tenderness and relationships among muscle physiology and pork quality traits in loins from Landrace and Berkshire swine. *Meat Science* 84: 607-612.

Cunha, S.C., Alves, R.N., Fernandes, J.O. Casal, S., Marques., A. (2017): First approach to assess the bioaccessibility of bisphenol A in canned seafood. *Food Chemistry* 232: 501-507.

Dahai, X., Shizhe, S., Jihui, W., Huichao, B., Yuxuan, J., Zhe-wen, H. (2012): Corrosion behavior of tinplate in NaCl solution. *Trans. Nonferrous Met. Soc. China* 22: 717-724.

Dart, R.C. (2004): Medical toxicology. Philadelphia: *Williams & Wilkins*. 1393-1401.

Demirezen, D. Uruc, K. (2006): Comparative study of trace elements in certain fish, meat and meat products. *Meat Science* 74: 255-260.

Dimitrijević, M., Bošković, M., Baltić, M., Karabasil, N., Teodorović, V., Vasilev, D., Katić, V. (2015): The importance and use of nanopacking in food industry. *Veterinary herald* 69 (1-2): 139-154.

Directive 2004/12/EC of the European Parliament and of the Council of 11 february 2004 amending Directive 94/62/EC on packaging and packaging waste - Statement by the Council, the Commission and the European Parliament.

Dodds, E.C., Lawson, W. (1936): Synthetic Estrogenic Agents without the Phenanthrene Nucleus. *Nature* 137 (3476): 996.

Dodds, E. C., Lawson, W. (1938): Molecular Structure in Relation to Oestrogenic Activity. Compounds without a Phenanthrene Nucleus. Proceedings of the Royal Society of London B: *Biological Sciences* 125 (839): 222-232.

DRI, Dietary Reference Intakes (2011): Recommended Dietary Allowances and Adequate Intakes, Elements, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies. National Institutes of Health (NIH), Office of Dietary Supplements.

Drummond, J.C., Lewis, W.R. (1817): Historic tinned food. London 1817.

EFSA CEF Panel (2015): Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: Executive summary. *The EFSA Journal* 13 (1): 3978. (<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2015.3978>).

EFSA (2009): Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Cadmium in food. *The EFSA Journal* 980: 1-139.

EFSA (2010): Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Lead in Food. *The EFSA Journal* 8 (4): 1570.

EFSA (2012): Cadmium dietary exposure in the European population. Scientific report of EFSA. *The EFSA Journal* 10 (1): 2551, 1-37.

EFSA (2012): Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *The EFSA Journal* 10 (12): 2985.

EPA (1980): Exposure and risk assessment for Zinc. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of water regulations and standards (WH-553). EPA 440481016. PB 85212009.

EPA (2003): Health effects support document for Manganese. U.S. Environmental protection agency, EPA822R03003.

EPA (2005): A Cross-Species mode of action information assessment: A case study of Bisphenol A. National center for environmental assessment office of research and Development U.S. Environmental protection agency. Report EPA/600/R-05/044F.

Erickson, B.E. (2008): Bisphenol A under scrutiny. *Chemical and Engineering News* 86 (22): 36-39.

Eskandari, S., Siami, S., Shahrestani, M., Oromiehie, A., Mizani, M. (2014): Specific migration of Bisphenol-A Diglycidyl Ether (BADGE) and its derivatives in four different temperatures in epoxy lacquer. *Journal of Paramedical Sciences (JPS) Spring* Vol. 5 (2): 102-108.

El Moussawi, S. N., Karam, R., Cladière, M., Chébib, H., Ouaini, R., Camel, V. (2018): *Food Addit. Contam.* 35: 337.  
(<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19440049.2017.1395521>).

FAO/WHO (2004): Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation Bangkok, Thailand, 21-30.9.1988.

FAO/WHO (2010): Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Seventy-third meeting, Geneva, 8-17 June 2010. Summary and conclusions, issued 24 June 2010.

FAO/WHO (2010): Toxicological and health aspects of Bisphenol A. Report of Joint FAO/WHO expert meeting. Report of Stakeholder Meeting on Bisphenol A. November 2010 Ottawa, Canada.

FAO/WHO (2014): Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on contaminants in foods. Eighth Session The Hague, The Netherlands, 31 March - 4 April 2014.

Fathy, A.K., Fatma, H.M.A., Abdel-Rahim, H.A.H., Shady, E.B. (2016): Residues of lead, cadmium, mercury and tin in canned meatproducts from Egypt: an emphasis on permissible limits and sources of contamination. *J. Verbr. Lebensm.* 11: 137-143.

Fiamegos, Y., Vahcic, M., Emteborg, H., Snell, J., Raber, G., Cordeiro, F., Robouch, P., Calle, B. (2016): Determination of toxic trace elements in canned vegetables. The importance of sample preparation. *Trends in Analytical Chemistry* 85: 57-66.

Flora, S.J.S., Mittal, M., Mehta, A. (2008): Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res.* 128: 501-523.

Florowski, T., Florowska, A., Chmiel, M., Adamczak, L., Pietrzak, D., Ruchlicka, M. (2017): The effect of pale, soft and exudative meat on the quality of canned pork in gravy. *Meat Science* 123: 29-34.

Forbes-Ewan, C., Moon, T., Stanley, R. (2016): Past, present and future of Military food technology. *Journal of Food Science and Engineering* 6: 308-315.

- Gallo, P., Pisciotano, I.D.M., Esposito, F., Fasano, E., Scognamiglio, G., Mita, G.D., Cirillo, T. (2017): Determination of BPA, BPB, BPF, BADGE and BFDGE in canned energy drinks by molecularly imprinted polymer cleaning up and UPLC with fluorescence detection. *Food Chemistry* 220: 406-412.
- García, R.S., Silva, A.S., Cooper, I., Franz, R., Losada, P.P. (2006): Revision of analytical strategies to evaluate different migrants from food packaging materials. *Trends in Food Science and Technology* 17 (7): 354-366.
- Geens, T., Apelbaum, T.Z., Goeyens, L., Neels, H., Covaci, A. (2010): Intake of bisphenol A from canned beverages and foods on the Belgian market. *Food Addit. Contam. Part A. Chem Anal Control Expo Risk Assess* 27 (11): 1627-1637.
- Good, R. H. (1988): Recent Advances in Metal Can Interior Coatings. *American Chemical Society*, Washington, DC.
- Goodson, A., Summerfield, W., Cooper, I. (2004): Migration of bisphenol A from can coatings - effects of damage storage, conditions and heating. *Food Addit. Contam.* 1015-1026. (<https://doi.org/10.1080/02652030400011387>).
- Gore, A.C. (2007): Endocrine-disrupting chemicals: From basic research to clinical practice. *Contemporary Endocrinology*. Humana Press. ISBN 978-1-58829-830-0.
- Gorecki, S., Bemrah, N., Roudot, A.C., Marchioni, E., Bizec, B.L., Faivre, F., Kadawathagedara, M., Botton, J., Rivière, G. (2017): On behalf of the EDEN mother-child cohort study group, Human health risks related to the consumption of foodstuffs of animal origin contaminated by bisphenol A. *Food and Chemical Toxicology* 110: 333-339.
- Goyer, R.A. (1997): Toxic and essential metal interactions. *Annual Review of Nutrition* 17: 37-50.
- Goyer, R.A., Clarkson, T.W. (2001): Toxic effects of metals. In: Klaassen, C.D., (Ed.), Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 6<sup>th</sup> Edition, McGraw-Hill, New York, pp. 861-867.
- Guart, A., Bono-Blay, F., Borrell, A., Lacorte, S. (2011): Migration of plasticizers, phthalates, bisphenol A and alkylphenols from plastic containers and evaluation of risk. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 28: 676-685.
- Gugušević-Đaković, M. (1989): Industrijska proizvodnja gotove hrane. Naučna knjiga. Poljoprivredni fakultet, Zemun - Beograd.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. (2006): Text book of medical physiology. 11<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Inc.



- Hamasalim, H.J., Mohammed, H.N. (2013): Determination of heavy metals in exposed corned beef and chicken luncheon that sold in Sulaymaniah markets. *Academic Journals* Vol. 7 (7): pp. 178-182.
- Hartle, J.C., Navas-Acien, A., Lawrence, R.S. (2016): The consumption of canned food and beverages and urinary Bisphenol A concentrations in NHANES 2003-2008. *Environ. Res.* 150: 375-382.
- Henderikx, F. (2017): Labelling of food: a challenge for many. *Veterinary herald*, 71 (1): 16-23.
- Hodgson, E. (2004): Textbook of Modern Toxicology. Third Edition, John Wiley & Sons, Inc., 49-50.
- Hosseini, S.V., Sobhanardakani, S., Miandare. H.K., Harsij, M., Regenstein, J.M., (2015): Determination of toxic (Pb, Cd) and essential (Zn, Mn) metals in canned tuna fish produced in Iran. *Journal of Environmental Health Science & Engineering* 13:59.
- IARC (1987): Overall evaluations of carcinogenicity: An updating of IARC Monographs. Volumes 1-42. Lyon. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Supp. 7), 100-106.
- ICIS Chemical Business, (2008). <https://www.icis.com/resources/news/2008/10/13/9162868/chemical-profile-bisphenol-a/>.
- İçöz, A., Eker, B. (2016): Selection of food packaging material, migration and its effects on food quality. *1<sup>st</sup> International conference on Quality of Life*; June 2016, Center for Quality. Faculty of Engineering, University of Kragujevac.
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., Beeregowda, K.N. (2014): Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology* Vol. 7 (2): 60-72.
- Janković, S., (2015): Procena rizika pri ekspoziciji organohalogenim kontaminantima i teškim metalima putem hrane. Doktorska disertacija, Beograd.
- Janković, S., Antonijević, B., Ćurčić, M., Radičević, T., Stefanović, S., Nikolić, D., Ćupić, V., (2012): Assessment of mercury intake associated with fish consumption in Serbia. *Tehnologija mesa* 53: 56-61.
- Janković, S., Nikolić, D., Stefanović, S., Radičević, T., Spirić, D., Petrović, Z. (2013): Procena unosa kadmijuma hranom u Srbiji. *Tehnologija mesa* 54 (2): 123-129.
- Jarup, L. (2003): Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull*, 68 (1): 167-182.
- Jihui, W., Congwei, F., Zhiming, G., Dahai, X. (2013): Corrosion process detection of tinplate in deaerated functional beverage by EIS. *Trans. Tianjin Univ.* 19: 235-240.

- Jovanović, N., Krasna Ilić, Marica Mišić, Mirjana Šuvakov, Parunović, L.J.M. (1982). Svojstva laminiranih i lakiranih aluminijumskih folija domaće proizvodnje i njihova primena u proizvodnji konzervi mesa. *Tehnologija mesa*, 23 (10): 277-281.
- Kaesche, H. (1979): Die Korrosion der Metalle. Springer-Verlag. Berlin.
- Kassouf, A., Chebib, H., Lebbos, N., Ouaini, R. (2013): Migration of iron, lead, cadmium and tin from tinfoil-coated cans into chickpeas. *Food Additives and Contaminants: Part A*, Vol. 30, No. 11: 1987-1992.
- Katalenić, M. (2004): Limenke kroz stoleća. *Meso*, 6 (4): 12-15.
- Kaur, A., Jhora, R., Mukherjee, T.K. (2016): Analysis of bisphenol a migration in reusable polycarbonate containers and canned products available in indian markets. *International Journal of Advanced Research* 4 (5): 1763-1767.
- Keiko, K., Nobuaki, F., Shigeyuki, K., S., Shigeru, O., Kazumi, S., Kozo, U., Hideki, H., Kikuyo, T., Ken-Ichi, S., Akihiko, K. (2009): Disruption of Thyroid Hormone Function by Environmental Pollutants. *Journal of Health Science* 55 (2): 147-160.
- Khalafalla, F.A., Ali, F.H.M., Abdel-Rahim, H.A.H., Basta, S.E. (2016): Residues of lead, cadmium, mercury and tin in canned meatproducts from Egypt: an emphasis on permissible limits and sources of contamination. *J. Verbr. Lebensm*, 11: 137-143.
- Kiri, H.J., Samuel, Y.G., Samson, I.W., Joseph, A. (2016): Levels of zinc, iron and lead in canned fish Sold in Jos, Nigeria. *Advances in Research* 7 (4): 1-6.
- Kitamura S., Suzuki, T., Sanoh, S., Kohta, R., Jinno, N., Sugihara, K. (2005): Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicol Sci*, 84 (2): 249-259.
- Koestel, Z.L., Backus, R.C., Tsuruta, K., Spollen, W.G., Johnson, S.A., Javurek, A.B., Eilersieck, M.R., Wiedmeyer, C.E., Kannan, K., Xue, J., Bivens, N.J., Givan, S.A., Rosenfeld, C.S (2017): Bisphenol A (BPA) in the serum of pet dogs following short-term consumption of canned dog food and potential health consequences of exposure to BPA. *Science of the Total Environment* 579 (1): 1804-1814.
- Korfali, S.I., Hamdan, W.A. (2013): Essential and Toxic Metals in Lebanese Marketed Canned Food: Impact of Metal Cans. *Journal of Food Research* Vol. 2, No. 1.
- Kwon, J.H., Katz, L.E., Liljestrand, H.M. (2007): Modeling binding equilibrium in a competitive estrogen receptor binding assay. *Chemosphere*, 69 (7): 1025-1031.
- Lawless, H.T., Schlake, S., Smythe, J., Lim, J., Yang, H., Chapman, K., Bolton, B. (2004): Metallic Taste and Retronasal Smell. *Chem. Senses*, 29: 25-33.

- Lee, S., Liao, C., Song, G.J., Ra, K., Kannan, K., Moon, H.B. (2015): Emission of bisphenol analogues including bisphenol A and bisphenol F from wastewater treatment plants in Korea. *Chemosphere* 119: 1000-1006.
- Liao, C., Kannan, K. (2013): Concentrations and profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. *J. Agric. Food Chem.* 61 (19): 4655-4662.
- Liao, C., Kannan, K. (2014): A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Addit. Contam. Part A. Chem Anal Control Expo Risk Assess.*, 31 (2): 319-329.
- Lorber, M., Schechter, A., Paepke, O., Shropshire, W., Christensen, K., Birnbaum, L. (2015): Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. *Environ. Int.* 77: 55-62.
- Malakootian, M., Tahergorabi, M., Daneshpajoo, M., Amirtaheri, K. (2011): Determination of Pb, Cd, Ni, and Zn concentrations in canned fish in Southern Iran. *Sacha Journal of Environmental Studies* Vol. 1, No 1, pp. 94-100.
- Manfredi, L.B., Gines, M.J.L., Benitez, G.J., Egli, W.A., Rissone, H., Vazquez, A. (2005): Use of epoxy-phenolic lacquers in food can coatings: Characterization of lacquers and cured films. *Journal of Applied Polymer Science* Vol. 95: 1448-1458.
- Mahalingaiah, S., Meeker, J.D., Pearson, K.R., Calafat, A.M., Ye, X., John Petrozza, J., and Hauser, R. (2008): Temporal Variability and Predictors of Urinary Bisphenol A Concentrations in Men and Women. *Environmental Health Perspectives*, Vol. 116 (2): 173-178.
- Mani, M., Srinivasan, B., Kalyanasundram, I., Muthukumarasamy, S. (2012): Characteristic levels of heavy metals in canned tuna fish. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences* Vol. 4(2), pp. 43-45.
- Matsushima, A., Kakuta, Y., Teramoto, T., Koshiba, T., Liu, X., Okada, H., Tokunaga, T., Kawabata, S., Kimura, M., Shimohigashi, Y. (2007): Structural evidence for endocrine disruptor bisphenol A binding to human nuclear receptor ERR gamma. *J. Biochem.* 142 (4): 517-524.
- May, C.A., (1988): Epoxy resins-chemistry and technology, 2<sup>nd</sup> Edition, Ed., Marcel Dekker, New York, 1988, 1,288 pp.
- Min, B., Ahn, D.U. (2005): Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products -A review. *Food Sci. Biotechnol*, 14 (1): 152-63.
- Mirzajani, H., Cheng, C., Wu, Jayne., Chen, J., Eda, S., Aghdam, E.N., Ghavifekr, H.B. (2017): A highly sensitive and specific capacitive aptasensor for rapid and label-free trace analysis of Bisphenol A (BPA) in canned foods. *Biosensors and Bioelectronics* 89: 1059-1067.

- Motawie, A.M., and Sadek, E.M., (1999): Adhesives and Coatings Based on Phenolic/Epoxy Resins. *Polym. Adv. Technol.* 10: 223-228.
- Moeller, S.J., Miller, R.K., Edwards, K.K., Zerby, H.N., Logan, K.E., Aldredge, T.L., Stahl, C.A., Boggess, M., Box-Steffensmeier, L.M. (2010): Consumer perceptions of pork eating quality as affected by pork quality attributes and end-point cooked temperature. *Meat Science* 84: 14-22.
- Munguia-Lopez, E.M., Peralta, E., Gonzalez-Leon, A., Vargas-Requena, C., Soto-Valdez, H. (2002): Migration of Bisphenol A (BPA) from epoxy can coatings to Jalapeno peppers and an acid food simulant. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7299-7302.
- Munguia-Lopez, E.M., Soto-Valdez, H. (2001): Effect of heat processing and storage time on migration of Bisphenol A (BPA) and Bisphenol A-Diglycidyl Ether (BADGE) to aqueous food simulant from Mexican can coatings. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3666-3671.
- Nikčević-Grassino, A., Grabarić, Z., Pezzani, A., Squitieri, G., Berković, K. (2010): Corrosion inhibition with different protective layers in tinplate cans for food preservation. *J. Sci. Food Agric.* 90: 2419-2426.
- Nisancioglu, K. (1990): Principles of Corrosion, Univeritetet I Trondheim, Norges Tekniske Hogskole.
- Nitsch, P., Vuković, I. (2006): Calculation of F-values at the cooling-step of heating process of cans. *Fleischwirtschaft*, 86 (1): 89-92.
- Newman, P. (2001): Green light for coating, *The Canmaker*, April, p 57.
- Noonan, G.O., Ackerman, L K., Begley, T.H. (2011): Concentration of bisphenol A in highly consumed canned foods on the U.S. market. *J. Agric. Food Chem.* 59 (13): 7178-7185.
- Parkar, J. i Rakesh, R. (2014): Leaching of elements from packaging material into canned foods marketed in India. *Food Control* 40: 177-184.
- Paseiro-Cerrato, R., DeVries, J., Begley, T.H. (2017): Evaluation of Short-Term and Long-Term Migration Testing from Can Coatings into Food Simulants: Epoxy and Acrylic-Phenolic Coatings. *J Agric Food Chem.* 65 (12): 2594-2602.
- Patrick, L. (2003): Toxic metals and antioxidants: part II, the role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity. *Altern. Med. Rev.* 8, pp. 106-128.
- Petrović, T., Rajić, J. (2016): Ambalaža i pakovanje hrane - Praktikum. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Zemun-Beograd.
- Petrović, Z. (2003): Limenke i poklopci za trajne konzerve. *Tehnologija mesa* 44 (5-6): 252-256.

Petrie, E.M. (2006): Epoxy adhesive formulations, McGRAW-HILL *Chemical Engineering*.

Pinter, N., Cvrtila-Fleck, Ž., Kozačinski, L., B. Njari, B., Čož Rakovac, R., Topić Popović, N. (2013): Procena rizika od unosa hranom ostataka teških metala iz konzervi sardine (*Sardina pilchardus* Walbaum, 1792) koji se koristi za potrebe Oružanih snaga Republike Hrvatske. Vol. XV, broj 1.

Pinter, N., Kozačinski, L., Njari, B., Mioković, B., Cvrtila-Fleck, Ž., Dobranić, V., Filipović, I., Zdolec, N. (2009): Quality and health safety of meat cans. *Meso* 11: 70-74.

Pograjc, L., Stibilj, V., Šcancar, J., Jamnik, M. (2010): Determination of macronutrients and some essential elements in the Slovene military diet. *Food Chemistry* 122: 1235-1240.

Pravilnik o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane ("Sl. glasnik RS", broj 19/2017 u 16/2018).

Pravilnik o graničnoj vrednosti ukupnog nivoa koncentracije olova, kadmijuma, žive i šestovalentnog hroma u ambalaži ili njenim komponentama, izuzecima od primene i roku za primenu granične vrednosti ("Sl. glasnik RS", broj 70/2009).

Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa ("Sl. glasnik RS", broj 94/2015, 104/2015 i 19/2017).

Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i o hrani i hrani za životinje za koju se utvrđuju maksimalno dozvoljene količine ostataka sredstava za zaštitu bilja ("Sl. glasnik RS", broj 22/2018).

Pravilnik o uslovima u pogledu zdravstvene ispravnosti predmeta opšte upotrebe koji se mogu stavljati u promet ("Sl. list SFRJ", broj 26/1983, 61/1984, 56/1986, 50/1989 u 18/1991).

Pravilnik o opštim i posebnim ulovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa („Sl. glasnik PC“, broj 72/2010, 62/2018).

Product catalogue - Steel for Packaging - Arcelor Mittal, 2013.

Radovanović, R., Popov-Raljić, J. (2000/2001): Senzorna analiza prehrambenih proizvoda. Naučna knjiga Beograd - Novi Sad.

Regulation (EC) No 178/2002 of the European parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. *Official Journal of the European Union* L 031:1-24.

- Rezg, R., El-Fazaa, S., Gharbi, N., Mornagui, B. (2014): Bisphenol A and human chronic diseases: current evidences, possible mechanisms, and future perspectives. *Environment International* 64: 83-90.
- Rivas, A., Lacroix, M., Olea-Serrano, F., Laios, I., Leclercq, G., Olea, N. (2002): Estrogenic effect of a series of bisphenol analogues on gene and protein expression in MCF-7 breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 82 (1): 45-53.
- Rivera-Mancia, S., Rios, C., Montes, S. (2011): Manganese accumulation in the CNS and associated pathologies. *Biometals*, 24: 811-825.
- Rochester, J.R. (2013): Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reproductive Toxicology Vol. 42*, 132-155.
- Rubin, B.S. (2011): Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 127 (1-2): 27-34.
- Russo, G., Barbato, F., Grumetto, L. (2017): Monitoring of bisphenol A and bisphenol S in thermal paper receipts from the Italian market and estimated transdermal human intake: A pilot study. *Sci Total Environ.* 1: 68-75.
- Sadeghi, M., Nematifar, Z., Fattahi, N., Pirsaeheb, M., Shamsipur, M. (2016): Determination of Bisphenol A in food and environmental samples using combined solid-phase extraction - dispersive liquid - liquid microextraction with solidification of floating organic drop followed by HPLC. *Food Anal. Methods* 9: 1814 - 1824.
- Safer chemicals alternative (ALHem, Civil Society Organization Belgrade), (2017): Toxic Cash Receipts: Presence of Bisphenol A (BPA) in thermal paper and some of food contact materials.
- Sarigiannis, D. A., Karakitsios, S.P., Handakas, E., Simou, K., Solomou, E., Gotti, A. (2016): Integrated exposure and risk characterization of bisphenol A in Europe. *Food and Chemical Toxicology* 98: 134-147.
- Schechter, A., Malik, N., Haffner, D., Smith, S., Harris, R., Paepke, O., Birnbau, M. L. (2010): Bisphenol A (BPA) in U.S. Food. *Environ. Sci. Technol.* 44: 9425-9430.
- SO, Standard odbrane (1998): Konzerva, Govedi gulaš.
- SO, Standard odbrane (1998): Konzerva, Svinjski paprikaš.
- SO, Standard odbrane (1998): Konzerva, Mesni narezak.
- SO, Standard odbrane (1998): Konzerva, Jetrena pašteta.
- Song, S., Song, M., Zeng, L., Wang, T., Liu, R., Ruan, T., Jiang, G. (2014): Occurrence and profiles of bisphenol analogues in municipal sewage sludge in China. *Environ. Pollut.* 186: 14-19.

Soto, A.M., Sonnenschein, C. (2010): Environmental causes of cancer: Endocrine disruptors as carcinogens. *Nature Reviews Endocrinology* 6 (7): 363-370.

Spasić, Ž. (1987): 100 година Црвена звезда Крагујевац 1887-1987. Научна књига Крагујевац.

SRPS CEN/TS 13130-13:2008. Materijali i predmeti u dodiru sa prehrambenim proizvodima - Supstancije iz plastičnih masa koje podležu ograničenju - Deo 13: Određivanje 2,2-bis (4-hidroksifenil) propana (bisfenol A) u simulatorima hrane.

SRPS CEN/TS 14235:2008. Materijali i predmeti u dodiru sa prehrambenim proizvodima - Polimerne prevlake na metalnim podlogama - Uputstvo za izbor uslova i metoda ispitivanja za ukupnu migraciju.

SRPS EN 10202:2007. Hladnovaljani čelični lim za ambalažu - Beli lim (lim prevučen kalajem elektrolitičkim postupkom) i lim prevučen hromom/hrom-oksидом elektrolitičkim postupkom.

SRPS EN 10205:2017. Hladnovaljani čelični lim za ambalažu - Fini lim (za beli lim).

SRPS EN 1186-1:2008. Materijali i predmeti u dodiru sa prehrambenim proizvodima - Plastične mase - Deo 1: Uputstvo za izbor uslova i metoda ispitivanja za ukupnu migraciju.

SRPS EN 13130-23:2005. Materijali i predmeti u dodiru sa prehrambenim proizvodima - Supstancije iz plastičnih masa koje podležu ograničenju: Deo 23: Određivanje formaldehida i heksmetilentetramina u simulatorima hrane.

SRPS EN ISO 4833-1:2014. Mikrobiologija lanca hrane - Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama - Deo 1: Brojanje kolonija na 30 °C tehnikom nalivanja ploče.

SRPS EN ISO 7218:2008. Mikrobiologija namirnica za ljudsku ishranu i namirnica za ishranu životinja - Opšta pravila mikrobioloških ispitivanja.

SRPS EN ISO 7937:2010. Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za određivanje broja *Clostridium perfringens* - Tehnika brojanja kolonija.

SRPS EN ISO 8586-2:2012. Senzorne analize - Opšte uputstvo za odabir, obuku i praćenje ocenjivača – Deo 2: Senzorski ocenjivači (eksperti).

SRPS EN ISO 8589:2015. Senzorne analize - Opšte uputstvo za projektovanje prostorija za ispitivanje.

SRPS ISO 1442:1998. Meso i proizvodi od mesa - Određivanje sadržaja vlage.

SRPS ISO 1444:1998. Meso i proizvodi od mesa - Određivanje sadržaja slobodne masti.

- SRPS ISO 2409:2000. Boje i lakovi - Ispitivanje unakrsnim prosecanjem.
- SRPS ISO 2917:2004. Meso i proizvodi od mesa - Merenje pH (referentna metoda).
- SRPS ISO 4121:2013. Senzorne analize - Uputstva za korišćenje kvantitativnih skala.
- SRPS ISO 6658:2013. Senzorske nalize - Metodologija - Opšte uputstvo.
- SRPS ISO 937:1992. Meso i proizvodi od mesa - Određivanje sadržaja azota.
- SRPS M.Z2.032:1986. Лименке за конзервисање хране - Методе проверавања квалитета формираних спојева и заптивености лименки.
- SRPS Z.M5.119:1980. Staklena ambalaža za prehrambenu industriju–Poklopci–Proveravanje kvaliteta.
- Stalović, B., Đorđević, S. (2013): Optička emisiona spektroskopija sa induktivno kuplovanom plazmom (ICP/OES) kao analitička tehnika za detekciju teških metala u biološkom materijalu. *Medicinska revija. Medical data* Vol. 5. No 1/ III.
- Stancheva, M., Makedonski, L., Peycheva, K. (2014): Determination of heavy metal concentrations of most consumed fish species from Bulgarian Black Sea coast. *Bulgarian Chemical Communications* Vol. 46, No 1(pp. 195-203).
- Stojanović, B., Radović, Lj., Natić, D., Dodevska, M., Vraštanović-Pavičević, G., Balaban, M., Lević, S., Petrović, T., Antić, V. (2019): Influence of a storage conditions on migration of bisphenol A from epoxy–phenolic coating to canned meat products. *J. Serb. Chem. Soc.* Vol 84, No 4, 377-389.
- Su, Y.P., Tang, J.M., Tang, Y., Gao, H.Y. (2005): Histological and ultrastructural changes induced by selenium in early experimental gastric carcinogenesis. *World Journal of Gastroenterology* 11 (29): 4457-4460.
- Sungur, Ş., Köroğlu, M., Özkan, A. (2014): Determination of bisphenol a migrating from canned food and beverages in markets. *Food Chem.* 142: 87-91.
- Takeda, Y., Liu, X., Sumiyoshi, M., Matsushima, A., Shimohigashi, M., Shimohigashi, Y. (2009): Placenta expressing the greatest quantity of bisphenol A receptor ERR gamma among the human reproductive tissues: Predominant expression of type-1 ERR gamma isoform. *J. Biochem.* 146 (1): 113-122.
- Teodorović, V., Bunčić, O., Karabasil, N., Dimitrijević, M., Vasilev, D. (2012): Higijena i tehnologija mesa – Praktikum. Fakultet veterinarske medicine, Beograd.
- Teodorović, V., Dimitrijević, M. (2011): Hemijski i fizički zagađivači namirnica animalnog porekla, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Naučna KMD, d.o.o., Beograd.



Tešanović, B., Jović, S. (2013): Feeding the army in global food security. Thematic proceedings of the 135<sup>th</sup> EAAE seminar, Challenges for the global agricultural trade regime after Doha; 2013 Aug 28-30; Belgrade, Serbia. Serbian association of agricultural economists, Belgrade, Serbia, p.311-322.

The French Republic law No 2012-1442 of 24 December 2012 for the suspension of the manufacture, import, export and marketing of all-purpose food packaging containing bisphenol A was published in the *Official Journal of the French Republic (OJFR)* on 26 December 2012.

The International Life Sciences Institute, ILSI (2007): Europe packaging materials task force. Packaging materials: 7. *Metal packaging for foodstuffs*.

Thomas, J.D., Styblo, M., Lin, S. (2001): The cellular metabolism and systemic toxicity of arsenic. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 176: 127-144.

Thomson, B.M., Grounds, P.R. (2005): Bisphenol A in canned foods in New Zealand: An exposure assessment. *Food Additives and Contaminants*, 22(1): 65-72.

Tomaš, B., Kekić-Simić, N., Jovanović, D. (1969): Uticaj dugogodišnjeg skladištenja na intenzitet abiotskih deteorativnih promena različitih vrsta trajnih konzervi od mesa. *Tehnologija mesa* 10 (7-8), 212-226.

Trajković, J., Baras, J., Mirčić, M., Miler, S. (1983): Analize životnih namirnica. Univerzitet u Beogradu. Tehnološko-metalurški fakultet. Beograd.

Tran, B.C., Teil, M.J., Blanchard, M., Alliot, F., Chevreuil, M. (2015): BPA and phthalate fate in a sewage network and an elementary river of France. Influence of hydroclimatic conditions. *Chemosphere* 119: 43-51.

TS - Tehnička specifikacija (2012): Konzerva, Čufte u paradajz sosu.

Vafaei, M., Naseri, M., Imani, A. (2018): Long-term storage effect on some mineral elements of canned silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) with reference to daily intake changes. *Journal of Food Composition and Analysis* 66: 116-120.

Velev, R., Krleska-Veleva, N., Čupić, V. (2009): Trovanja domaćih životinja teškim metalima. *Vet. glasnik* 63 (5-6): 393-405.

Vereš, M. (2004): Principi konzervisanja namirnica. Poljoprivredni fakultet Zemun-Beograd.

Vodič za primenu mikrobioloških kriterijuma za hranu (*Prvo izdanje, Beograd, 2011*).

Vitošević, B., Samardžić, S., Antonijević, V., Jakovljević, V. (2007): Teški metali u životnim namirnicama uvoznog porekla i njihove eventualne toksikološke implikacije. *Medicus* 8 (2): 62-66.

- Vogel, S.A. (2009): The Politics of plastics: The making and unmaking of Bisphenol A safety. *Am J Public Health* 99 (S3): S559-S566.
- Vujković, I., Galić, K., Vereš, M. (2007): Ambalaža za pakovanje namirnica. *Tektus*, Zagreb.
- Vuković, I. (2012): Osnove tehnologije mesa. Četvrto dopunjeno izdanje. Veterinarska komora Srbije, Beograd.
- Wang, Q., Zhu, L., Chen, M., Ma, X., Wang, X., Xia, J. (2016): Simultaneously determination of Bisphenol A and its alternatives in sediment by ultrasound-assisted and solid phase extractions followed by derivatization using GC-MS. *Chemosphere* 169: 709-715.
- WHO (1988): Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).
- Whiting, R.C. (1998): Contributions of Collagen to the Properties of Comminuted and Restructured Meat Products. *Reciprocal Meat Conference Proceedings* 42: 149-56.
- WHO (2008): Guidelines for Drinking-water Quality, Third Edition Incorporating The First And Second Addenda, Volume 1. Recommendations World Health Organization. WHO Press, Geneva, Switzerland, 306-308.
- WHO (2011): Cadmium. Food Additives Series, 24. Geneva (Internet). Available at: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v024je09.htm>.
- Winter, M. (2011): International NACE Paper. Fast Curing Polycyclamine Cured Tank Linings. Paper No 11040.
- Yamazaki, E., Yamashita, N., Taniyasu, S., Lam, J., Lam, P.K.S., Moon, H.B., Jeong, Y., Kannan, P., Achyuthan, H., Munuswamy, N., Kannan, K. (2015): Bisphenol a and other analogues including BPS and BPF in surface water samples from Japan, China, Korea and India. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 122: 565-572.
- Yu, X., Xue, J., Yao, H., Wu, Q., Venkatesan, A.K., Halden, R.U., Kannan, K. (2015): Occurrence and estrogenic potency of eight bisphenol analogs in sewage sludge from the U.S. EPA targeted national sewage sludge survey. *J. Hazard. Mater.* 299: 733-739.
- Zakon o ambalaži i ambalažnom otpadu („Sl. glasnik RS“, broj 36/2009 u 95/2018).
- Zakon o bezbednosti hrane („Sl. glasnik RS“, broj 41/2009 u 17/2019).
- Zakon o zdravstvenoj ispravnosti predmeta opšte upotrebe („Sl. glasnik RS“, broj 92/2011).
- Zakon o predmetima opšte upotrebe („Sl. glasnik RS“, broj 25/2019).

## СКРАЋЕНИЦЕ

ВС – Војска Србије

ВРА – *енгл.* Bisphenol A, Бисфенол А

ГГ – говеђи гулаш

СП – свињски паприкаш

МН – месни нарезак

ЈП – јетрена паштета

ЋПС – ћуфте у парадајз сосу

СО – стандард одбране

ТС – техничка спецификација

TDI – *енгл.* Tolerable daily intake, Толерабилни дневни унос

t-TDI – *енгл.* Привремени толерабилни дневни унос

SML – *енгл.* Specific migration limit, Сецифична граница миграције

ATSDR – *енгл.* Agency for Toxic Substance and Disease Registry,  
Агенција за токсичне супстанце и регистрацију болести

IARC – *енгл.* International Agency for Researchon Cancer,  
Међународна агенција за истраживање рака

WHO – *енгл.* The World Health Organisation, Светска здравствена организација

FAO/WHO – *енгл.* Food and Agriculture Organization and World Health Organisation  
– Органирација за пољопривреду и храну/Светска здравствена организација

EFSA – *енгл.* European Food Safety Authority,  
Европска агенција за безбедност хране

DRI – *енгл.* Dietary Reference Intakes, Дијетални референтни уноси

MDK – *енгл.* Maximum concentration allowed,  
Максимално дозвољена концентрација

PTDI – *енгл.* Provisional tolerable daily intake,  
Привремени толерабилни дневни унос

PTWI – *енгл.* Provisional tolerable weekly intake,  
Привремено толерабилни недељни унос

EDCs – *енгл.* Endocrine disrupting chemicals, Ендокрини дисруптор

EPA – *енгл.* Environmental Protection Agency,  
Агенција за заштиту животне средине

- CDCP – *енгл.* Centers for Disease Control and Prevention,  
Центар за превенцију и контролу болести
- НО – неоштећене конзерве
- МО – конзерве са мањим степеном оштећења
- ВО – конзерве са већим степеном оштећења
- SEM/EDS – *енгл.* Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive Spectroscopy,  
Скенирајућа електронска микроскопија са енергетски дисперзионом спектроскопијом
- FTIR *енгл.* Fourier transform infrared spectroscopy  
Инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом,
- <sup>1</sup>H NMR *енгл.* Proton nuclear magnetic resonance,  
Протонско нуклеарно-магнетна резонанца
- MS – *енгл.* Mass spectrometry, Масени спектрометар
- DFC – *енгл.* Differential fluorescence chromatography,  
Диференцијална флуоресцентна хроматографија
- TGA – *енгл.* Thermogravimetric analysis, Термогравиметријска анализа
- SRPS – Српски стандард
- ICP-MS – *енгл.* Inductively coupled plasma mass spectrometry  
Индуктивно куплована плазма у спрези са масеним спектрометром
- HPLC-MS – *енгл.* High performance liquid chromatography-mass spectrometry,  
Високоефикасна течна хроматографија са масеном спектрометријом
- LOD – *енгл.* Limit of detection, Лимит детекције
- LOQ – *енгл.* Limit of quantification, Лимит квантификације
- ANOVA – *енгл.* Analysis of variance, Анализа варијансе
- PCA – *енгл.* Principal component analysis, Анализа главних компоненти
- EU – *енгл.* European Union, Европска унија
- Tm – телесна маса

## 7. ПРИЛОЗИ

## 7.1. Прилог 1

**Табела 1.** Резултати анализе токсичних елемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења (*Shapiro-Wilk тест*)

Врста конзерве	<i>Shapiro-Wilk тест</i>	Концентрација токсичних елемената		
		As, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$	Hg, $\mu\text{g kg}^{-1}$
ГГ				
	Sig.	0,095	0,096	0,112
СП		Sn, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Hg, $\mu\text{g kg}^{-1}$	
	Sig.	0,058	0,198	
МН		Cd, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$	Hg, $\mu\text{g kg}^{-1}$
	Sig.	0,112	0,728	0,052
ЈП		Cd, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$	Hg, $\mu\text{g kg}^{-1}$
	Sig.	0,848	0,860	0,051
ЋПС		Cd, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$	
	Sig.	0,577	0,072	

**Табела 2.** Корелације између токсичних елемената у узорцима ГГ и СП у току периода складиштења (*Pearson Correlation тест*)

Врста конзерве	Токсични елементи	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$	Hg, $\mu\text{g kg}^{-1}$
ГГ	As, $\mu\text{g kg}^{-1}$	0,068	0,098
	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$	-	<b>0,780*</b>
СП	Sn, $\text{mg kg}^{-1}$	-	<b>0,911**</b>

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05

\*\* Корелација је значајна на нивоу од 0,01

**Табела 3.** Резултати анализе макроелемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења (*Shapiro-Wilk тест*)

Врста конзерве	<i>Shapiro-Wilk тест</i>	Концентрација макроелемената [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]			
		Na	Mg	K	Ca
ГГ	Sig.	0,835	0,150	0,247	0,122
СП	Sig.	0,595	0,402	0,564	0,428
МН	Sig.	0,377	0,340	0,472	0,559
ЈП	Sig.	0,491	0,216	0,665	0,210
ЋПС	Sig.	0,267	0,063	0,656	0,139

**Табела 4.** Корелације између макроелемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења (Pearson Correlation test)

Врста конзерве	Макро-елементи	Mg	K	Ca
ГГ	Na	0,045	<b>0,898<sup>**</sup></b>	-0,106
	Mg	-	0,260	<b>0,896<sup>**</sup></b>
	K	-	-	-0,032
СП	Na	<b>0,830<sup>*</sup></b>	<b>0,904<sup>**</sup></b>	0,063
	Mg	-	<b>0,760<sup>*</sup></b>	0,007
	K	-	-	-0,220
МН	Na	0,711	0,374	-0,495
	Mg	-	<b>0,802<sup>*</sup></b>	-0,484
	K	-	-	-0,099
ЈП	Na	-0,100	0,518	-0,523
	Mg	-	0,262	0,595
	K	-	-	-0,387
ЋПС	Na	0,007	0,027	-0,636
	Mg	-	<b>0,959<sup>*</sup></b>	0,269
	K	-	-	0,449

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05

\*\* Корелација је значајна на нивоу од 0,01

**Табела 5.** Резултати анализе микроелемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења (Shapiro-Wilk test)

Врста конзерве	Shapiro - Wilk test	Концентрација микроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]					
		Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
ГГ	Sig.	0,288	0,411	0,243	0,426	0,833	0,833
СП	Sig.	-	0,154	0,760	0,079	0,658	0,184
МН	Sig.	0,214	0,737	0,268	0,463	0,956	0,462
ЈП	Sig.	0,077	0,090	0,169	0,568	0,367	0,309
ЋПС	Sig.	-	0,860	0,272	0,954	0,839	0,397

Табела 6. Корелације између микроелемената у узорцима ГГ, СП, МН, ЈП и ЋПС у току периода складиштења (Pearson Correlation тест)

Врста конзерве	Микро-елементи	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
ГГ	Cr	-0,098	0,541	0,079	0,378	-0,353
	Mn	-	-0,239	<b>0,794*</b>	-0,088	-0,453
	Fe	-	-	0,149	-0,077	-0,216
	Cu	-	-	-	0,117	-0,318
	Zn	-	-	-	-	-0,080
СП	Mn	-	0,183	0,336	-0,409	0,229
	Fe	-	-	-0,584	-0,576	0,652
	Cu	-	-	-	0,146	-0,343
	Zn	-	-	-	-	-0,242
МН	Cr	-0,103	-0,352	<b>0,821*</b>	-0,622	-0,152
	Mn	-	<b>0,809*</b>	0,053	0,045	-0,398
	Fe	-	-	-0,113	0,199	-0,457
	Cu	-	-	-	-0,100	-0,180
	Zn	-	-	-	-	0,215
ЈП	Cr	0,329	0,460	0,578	0,505	0,067
	Mn	-	0,538	0,604	<b>0,884**</b>	-0,233
	Fe	-	-	0,564	0,590	-0,630
	Cu	-	-	-	0,687	-0,471
	Zn	-	-	-	-	-0,244
ЋПС	Mn	-	0,090	0,908	0,396	-0,915
	Fe	-	-	-0,028	0,946	-0,115
	Cu	-	-	-	0,225	-0,665
	Zn	-	-	-	-	-0,426

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05

\*\* Корелација је значајна на нивоу од 0,01

Табела 7. Резултати анализе токсичних елемената код НО, МО и ВО конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима говеђег гулаша (Shapiro-Wilk тест)

Температура, степен оштећења, период термостатирања		Концентрација токсичних елемената			
		Sn, mg kg <sup>-1</sup>	Al, mg kg <sup>-1</sup>	Cd, µg kg <sup>-1</sup>	Pb, µg kg <sup>-1</sup>
20 °C	НО/3	0,525/0,887	0,453/0,063	*	*
	МО/6	0,734/0,587	0,132/0,725	*	*
	ВО/9	0,513/0,906	0,790/0,508	0,637	0,911
	12	0,152	<b>0,009</b>	0,537	0,281
40 °C	НО/3	0,449/0,620	0,878/0,585	*	*
	МО/6	0,684/0,997	0,729/0,677	*	*
	ВО/9	0,379/0,855	0,232/0,135	0,363	0,726
	12	0,902	0,570	0,391	0,637

\* Елементи који нису детектовани у анализираним узорцима

**Табела 8.** Корелације између токсичних елемената у узорцима говеђег гулаша, (Pearson Correlation test)

Температура	Токсични елементи	Al, mg kg <sup>-1</sup>	Cd, μg kg <sup>-1</sup>	Pb, μg kg <sup>-1</sup>
20 °C	Sn, mg kg <sup>-1</sup>	<b>0,738*</b>	0,288	-0,113
	Cd, μg kg <sup>-1</sup>	0,441	-	0,786
	Pb, μg kg <sup>-1</sup>	0,954	-	-
40 °C	Sn, mg kg <sup>-1</sup>	0,003	0,121	0,172
	Cd, μg kg <sup>-1</sup>	0,037	-	<b>0,844*</b>
	Pb, μg kg <sup>-1</sup>	-0,363	-	-

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05

**Табела 9.** Резултати анализе макроелемената код НО, МО и ВО конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима говеђег гулаша (Shapiro-Wilk test)

Температура, степен оштећења, период термостатирања		Концентрација макроелеманта [mg kg <sup>-1</sup> ]			
		Na	Mg	K	Ca
20 °C	НО/3	0,825	0,101	0,975	0,123
	МО/6	0,170	0,162	0,875	<b>0,034</b>
	ВО/12	0,209	0,707	0,108	0,139
40 °C	НО/6	0,948	0,859	0,919	0,287
	МО/9	0,273	0,997	0,052	<b>0,036</b>
	ВО/12	0,348	0,616	0,637	0,914

**Табела 10.** Корелације између макроелемената у узорцима говеђег гулаша, (Pearson Correlation test)

Температура	Макро-елементи	Mg	K	Ca
20 °C	Na	0,559	0,567	<b>0,596*</b>
	Mg	-	<b>0,619*</b>	0,389
	K	-	-	-0,075
40 °C	Na	<b>0,640*</b>	0,488	0,492
	Mg	-	<b>0,608*</b>	<b>0,634*</b>
	K	-	-	0,215

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05



**Табела 11.** Резултати анализе микроелемената код НО, МО и ВО конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима говеђег гулаша (Shapiro-Wilk тест)

Температура, степен оштећења, период термостатирања		Концентрација микроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]					
		Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
20 °C	НО/3	0,789	0,126	0,867	0,289	0,548	0,552
	МО/6	0,141	0,433	0,248	0,999	0,221	0,543
	ВО/12	0,231	0,108	0,868	0,662	0,151	0,719
40 °C	НО/6	0,051	0,731	0,470	0,887	0,327	0,872
	МО/9	0,061	0,476	0,755	0,316	0,544	0,819
	ВО/12	0,051	0,251	0,530	0,900	0,297	0,247

**Табела 12.** Корелације између микроелемената у узорцима говеђег гулаша, (Pearson Correlation тест)

Температура	Микро-елементи	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
20 °C	Cr	-0,372	0,229	-0,546	0,068	0,113
	Mn	-	0,218	<b>0,703*</b>	-0,206	-0,268
	Fe	-	-	0,189	-0,510	<b>-0,742**</b>
	Cu	-	-	-	0,187	-0,489
	Zn	-	-	-	-	0,324
40 °C	Cr	0,012	<b>0,602*</b>	<b>-0,631*</b>	-0,363	0,116
	Mn	-	0,381	0,313	0,031	-0,270
	Fe	-	-	-0,367	-0,529	-0,159
	Cu	-	-	-	0,347	-0,526
	Zn	-	-	-	-	0,051

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05

\*\* Корелација је значајна на нивоу од 0,01

**Табела 13.** Резултати анализе токсичних елемената код НО, МО и ВО конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима ћуфти у парадајз сосу (Shapiro-Wilk тест)

Температура, степен оштећења, период термостатирања		Концентрација токсичних елемената			
		Sn, mg kg <sup>-1</sup>	Al, mg kg <sup>-1</sup>	Cd, µg kg <sup>-1</sup>	Pb, µg kg <sup>-1</sup>
20 °C	НО/3	0,471/0,790	<b>0,012</b> /0,890	0,734/0,130	*
	МО/6	0,864/0,919	0,712/0,228	0,880/0,456	*
	ВО/9	0,447/0,598	0,467/ <b>0,029</b>	<b>0,018</b> /0,463	0,454
	12	0,626	0,911	0,363	0,060
40 °C	НО/3	0,981/0,724	0,629/ <b>0,011</b>	0,287/0,463	*
	МО/6	0,852/0,531	0,849/0,544	0,798/0,878	*
	ВО/9	0,371/0,872	0,488/0,168	0,182/0,780	0,591
	12	0,459	0,916	0,537	0,510

\* Елементи који нису детектовани у анализираним узорцима

**Табела 14.** Корелације између токсичних елемената у узорцима ђуфти у парадајз сосу (Pearson Correlation test)

Температура	Токсични елементи	Al, mg kg <sup>-1</sup>	Cd, µg kg <sup>-1</sup>	Pb, µg kg <sup>-1</sup>
20 °C	Sn, mg kg <sup>-1</sup>	0,170	0,461	-0,302
	Al, mg kg <sup>-1</sup>	-	-0,517	-0,748
	Cd, µg kg <sup>-1</sup>	-	-	-0,681
40 °C	Sn, mg kg <sup>-1</sup>	<b>0,612*</b>	-0,004	0,298
	Al, mg kg <sup>-1</sup>	-	-0,546	0,142
	Cd, µg kg <sup>-1</sup>	-	-	0,385

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05

**Табела 15.** Резултати анализе макроелемената код НО, МО и ВО конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима ђуфти у парадајз сосу (Shapiro-Wilk test)

Температура, степен оштећења, период термостатирања		Концентрација макроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]			
		Na	Mg	K	Ca
20 °C	НО/3	0,669	0,989	0,254	0,234
	МО/6	0,269	0,556	0,704	0,719
	ВО/12	0,233	0,995	0,859	0,139
40 °C	НО/6	0,845	0,368	0,966	0,902
	МО/9	0,261	0,237	0,377	0,561
	ВО/12	0,940	0,303	0,767	0,313

**Табела 16.** Корелације између макроелемената у узорцима ђуфти у парадајз сосу (Pearson Correlation test)

Температура	Макро-елементи	Mg	K	Ca
20 °C	Na	0,273	<b>0,819**</b>	-0,072
	Mg	-	0,401	0,533
	K	-	-	0,082
40 °C	Na	0,574	<b>0,657*</b>	0,089
	Mg	-	0,378	<b>0,589*</b>
	K	-	-	0,475

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05

\*\* Корелација је значајна на нивоу од 0,01

Табела 17. Резултати анализе микроелемената код НО, МО и ВО конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима ђуфти у парадајз сосу (Shapiro-Wilk тест)

Температура, степен оштећења, период термостатитања		Концентрација микроелемената [mg kg <sup>-1</sup> ]					
		Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
20 °C	НО	0,552	0,107	0,334	0,724	0,405	0,786
	МО	<b>0,006</b>	0,192	0,623	0,795	0,145	0,066
	ВО	0,680	0,599	0,777	0,517	0,781	0,817
40 °C	НО	0,704	0,071	0,437	0,902	0,370	0,064
	МО	0,531	0,946	0,133	0,747	0,533	0,698
	ВО	0,418	0,162	0,769	0,293	0,521	0,288

Табела 18. Корелације између микроелемената у узорцима ђуфти у парадајз сосу (Pearson Correlation тест)

Температура	Микро-елементи	Mn	Fe	Cu	Zn	Se
20 °C	Cr	-0,483	-0,219	-0,649	-0,177	0,184
	Mn	-	-0,203	<b>0,826**</b>	<b>0,661*</b>	0,082
	Fe	-	-	-0,149	-0,288	<b>-0,748**</b>
	Cu	-	-	-	<b>0,739**</b>	0,043
	Zn	-	-	-	-	0,181
40 °C	Cr	-0,265	0,063	<b>-0,758**</b>	-0,210	-0,332
	Mn	-	<b>0,650*</b>	<b>0,588*</b>	0,440	-0,006
	Fe	-	-	0,439	0,477	<b>-0,588*</b>
	Cu	-	-	-	<b>0,731**</b>	0,155
	Zn	-	-	-	-	0,046

\* Корелација је значајна на нивоу од 0,05

\*\* Корелација је значајна на нивоу од 0,01

Табела 19. Садржај протеина (g/100g) код НО, МО и ВО конзерви, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима говеђег гулаша

Температура, степен оштећења	Садржај протеина			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	18,90 ± 5%	19,63 ± 5%	20,96 ± 5%	19,10 ± 5%
20/МО	19,38 ± 5%	20,03 ± 5%	19,78 ± 5%	19,21 ± 5%
20/ВО	19,15 ± 5%	20,52 ± 5%	20,67 ± 5%	19,45 ± 5%
40/НО	19,69 ± 5%	19,98 ± 5%	21,89 ± 5%	19,19 ± 5%
40/МО	18,97 ± 5%	19,39 ± 5%	19,69 ± 5%	18,22 ± 5%
40/ВО	19,06 ± 5%	18,88 ± 5%	19,35 ± 5%	18,93 ± 5%

**Табела 20.** Садржај протеина (g/100g) код НО, МО и ВО конзерви, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима ћуфти у парадај сосу

Температура, степен оштећења	Садржај протеина			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	12,70 ± 5%	12,78 ± 5%	13,54 ± 5%	12,56 ± 5%
20/МО	13,60 ± 5%	12,57 ± 5%	12,76 ± 5%	12,47 ± 5%
20/ВО	13,25 ± 5%	11,67 ± 5%	13,01 ± 5%	12,33 ± 5%
40/НО	12,47 ± 5%	13,00 ± 5%	13,17 ± 5%	13,15 ± 5%
40/МО	12,78 ± 5%	12,99 ± 5%	12,98 ± 5%	12,38 ± 5%
40/ВО	13,05 ± 5%	12,36 ± 5%	13,21 ± 5%	13,45 ± 5%

**Табела 21.** Садржај масти (g/100g) код НО, МО и ВО конзерви, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима говеђе гужа

Температура, степен оштећења	Садржај масти			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	11,00 ± 5%	10,08 ± 5%	10,86 ± 5%	11,76 ± 5%
20/МО	10,54 ± 5%	9,99 ± 5%	10,02 ± 5%	11,54 ± 5%
20/ВО	10,87 ± 5%	10,37 ± 5%	10,26 ± 5%	13,58 ± 5%
40/НО	10,11 ± 5%	10,12 ± 5%	14,29 ± 5%	13,45 ± 5%
40/МО	10,03 ± 5%	10,50 ± 5%	10,99 ± 5%	12,82 ± 5%
40/ВО	10,98 ± 5%	10,86 ± 5%	10,53 ± 5%	10,84 ± 5%

**Табела 22.** Садржај масти (g/100g) код НО, МО и ВО конзерви, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима ћуфти у парадајз сосу

Температура, степен оштећења	Садржај масти			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	7,13 ± 5%	7,36 ± 5%	7,29 ± 5%	7,31 ± 5%
20/МО	7,76 ± 5%	7,17 ± 5%	7,58 ± 5%	7,52 ± 5%
20/ВО	7,31 ± 5%	7,10 ± 5%	7,37 ± 5%	7,78 ± 5%
40/НО	7,55 ± 5%	7,55 ± 5%	7,77 ± 5%	7,20 ± 5%
40/МО	7,87 ± 5%	7,71 ± 5%	7,49 ± 5%	7,49 ± 5%
40/ВО	7,68 ± 5%	7,19 ± 5%	7,88 ± 5%	7,18 ± 5%

**Табела 23.** Садржај воде (g/100g) код НО, МО и ВО конзерви, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима говеђе гужа

Температура, степен оштећења	Садржај воде			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	65,98 ± 5%	64,74 ± 5%	67,40 ± 5%	66,31 ± 5%
20/МО	66,45 ± 5%	64,65 ± 5%	66,35 ± 5%	66,56 ± 5%
20/ВО	66,00 ± 5%	65,15 ± 5%	65,17 ± 5%	63,89 ± 5%
40/НО	67,03 ± 5%	65,87 ± 5%	64,50 ± 5%	63,98 ± 5%
40/МО	67,56 ± 5%	65,93 ± 5%	67,12 ± 5%	67,06 ± 5%
40/ВО	67,37 ± 5%	65,13 ± 5%	66,74 ± 5%	66,70 ± 5%

Табела 24. Садржај натријум хлорида (g/100g) код НО, МО и ВО конзерви, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима говеђе гулаша

Температура, степен оштећења	Садржај натријум хлорида			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	1,05 ± 5%	1,10 ± 5%	0,93 ± 5%	1,14 ± 5%
20/МО	1,10 ± 5%	1,16 ± 5%	1,00 ± 5%	1,17 ± 5%
20/ВО	1,07 ± 5%	1,04 ± 5%	1,12 ± 5%	1,13 ± 5%
40/НО	1,10 ± 5%	1,09 ± 5%	1,05 ± 5%	1,15 ± 5%
40/МО	1,06 ± 5%	1,10 ± 5%	1,10 ± 5%	1,13 ± 5%
40/ВО	1,09 ± 5%	1,17 ± 5%	1,07 ± 5%	1,04 ± 5%

Табела 25. Садржај натријум хлорида (g/100g) код НО, МО и ВО конзерви након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C у узорцима ђуфти у парадајз сосу

Температура, степен оштећења	Садржај натријум хлорида			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	1,62 ± 5%	1,62 ± 5%	1,44 ± 5%	1,44 ± 5%
20/МО	1,70 ± 5%	1,63 ± 5%	1,64 ± 5%	1,43 ± 5%
20/ВО	1,67 ± 5%	1,40 ± 5%	1,67 ± 5%	1,47 ± 5%
40/НО	1,78 ± 5%	1,70 ± 5%	1,40 ± 5%	1,50 ± 5%
40/МО	1,63 ± 5%	1,73 ± 5%	1,65 ± 5%	1,30 ± 5%
40/ВО	1,73 ± 5%	1,69 ± 5%	1,70 ± 5%	1,39 ± 5%

Табела 26. рН вредност код НО, МО и ВО конзерви говеђе гулаша, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C

Температура, степен оштећења	рН вредност			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	6,20 ± 0,1	6,23 ± 0,1	6,29 ± 0,1	6,55 ± 0,1
20/МО	6,26 ± 0,1	6,25 ± 0,1	6,24 ± 0,1	6,52 ± 0,1
20/ВО	6,17 ± 0,1	6,33 ± 0,1	6,31 ± 0,1	6,59 ± 0,1
40/НО	6,11 ± 0,1	6,29 ± 0,1	6,29 ± 0,1	6,57 ± 0,1
40/МО	6,14 ± 0,1	6,27 ± 0,1	6,28 ± 0,1	6,54 ± 0,1
40/ВО	6,17 ± 0,1	6,24 ± 0,1	6,30 ± 0,1	6,40 ± 0,1

Табела 27. рН вредност код НО, МО и ВО конзерви ђуфти у парадајз сосу, након 3, 6, 9 и 12 месеци термостатирања на 20 °C и 40 °C

Температура, степен оштећења	рН вредност			
	3 месеца	6 месеци	9 месеци	12 месеци
20/НО	5,97 ± 0,1	6,06 ± 0,1	6,02 ± 0,1	6,11 ± 0,1
20/МО	5,94 ± 0,1	6,10 ± 0,1	6,10 ± 0,1	6,16 ± 0,1
20/ВО	6,02 ± 0,1	6,20 ± 0,1	6,07 ± 0,1	6,12 ± 0,1
40/НО	5,95 ± 0,1	6,00 ± 0,1	5,92 ± 0,1	6,15 ± 0,1
40/МО	5,91 ± 0,1	6,04 ± 0,1	5,98 ± 0,1	6,20 ± 0,1
40/ВО	5,91 ± 0,1	6,06 ± 0,1	6,00 ± 0,1	6,19 ± 0,1

**Прилог 7.2.***Биографија кандидата*

Бранислав Стојановић рођен је 1966. године у Лесковцу, где је завршио основну и средњу школу са одличним успехом. Факултет ветеринарске медицине у Београду уписао је 1986/1987. године, а завршио фебруара 1993. године. Специјализацију из области „Хигијена и технологија намирница анималног порекла“ завршио је 2000. године на истом Факултету.

Бранислав Стојановић је у Војсци Србије од 01. фебруара 1994. године у својству професионалног војног лица-официра. У својој богатој војничкој каријери радио је у више гарнизона, као начелник ветеринарске службе у бригади и корпусу. За свој рад и професионални однос према војном позиву више пута је новчано награђиван, похваљиван и ванредно унапређен у виши чин. Учесник је рата 1999. године на простору јужне Србије и Косова и Метохије. У периоду од 2000. до 2005. године године био је у саставу Ветеринарске управе Генералштаба Војске Србије, а од 2005. године до данас је у Управи за војно здравство Министарства одбране, на месту руководиоца Групе за безбедност хране и ветеринарско-санитарни надзор, и као заменик начелника Одељења за ветеринарску заштиту.

Докторске академске студије уписао је школске 2014/2015. године на Пољопривредном факултету у Београду - област Прехрамбена технологија. Положио је све испите предвиђене статутом факултета са просечном оценом 9,33. Ужа област интересовања му је безбедност и квалитет хране. Учествовао је на бројним научних и стручних скупова у земљи и иностранству. Члан је Српског ветеринарског друштва и Ветеринарске коморе Србије. Члан је Секције за хигијену и технологију намирница анималног порекла Српског ветеринарског друштва. Испред Министарства одбране именован је за члана Преговарачке групе у процесу преговора са ЕУ за поглавље 12: Безбедност хране, ветеринарска и фитосанитарна питања и активно учествује у раду ове преговарачке групе. Група којом руководи је преко Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде контактна тачка у систему Rapid Alert System for Food and Feed, који има задатак да обавештава земље ЕУ и земље кандидата о небезбедној храни у земљи. Бранислав је ожењен и има једног сина.

Прилог 7.3.

**Изјава о ауторству**

Потписани Бранислав Стојановић

Број индекса 14/29

**Изјављујем**

да је докторска дисертација под насловом:

**Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже**

**у конзервисане производе од меса, произведене**

**за потребе Војске Републике Србије**

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да предложена докторска дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Прилог 7.4.

**Изјава о истоветности  
штампане и електронске верзије докторске дисертације**

Име и презиме аутора Бранислав Стојановић

Број индекса 14/29

Студијски програм Прехрамбена технологија производа од меса

Наслов докторске дисертације **Миграција токсичних супстанци из металне  
амбалаже у конзервисане производе од меса, произведене  
за потребе Војске Републике Србије**

Ментор проф. др Весна Антић

Потписани Бранислав Стојановић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији коју сам предао за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



## Прилог 7.5.

**Изјава о коришћењу**

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

**Миграција токсичних супстанци из металне амбалаже****у конзервисане производе од меса, произведене****за потребе Војске Републике Србије**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.  
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_