

UNIVERSITY
OF EAST
SARAJEVO



FACULTY OF
TECHNOLOGY
ZVORNIK

PROCEEDINGS
ZBORNİK RADOVA

III INTERNATIONAL CONGRESS
ENGINEERING, ENVIRONMENT AND MATERIALS
IN PROCESSING INDUSTRY

III MEĐUNARODNI KONGRES
INŽENJERSTVO, EKOLOGIJA I MATERIJALI
U PROCESNOJ INDUSTRIJI

JAHORINA, 04.03. - 06.03.2013.
BOSNIA AND HERZEGOVINA

FACULTY OF TECHNOLOGY ZVORNIK
TEHNOLOŠKI FAKULTET ZVORNIK

PUBLISHER/IZDAVAČ:
TEHNOLOŠKI FAKULTET ZVORNIK,
Karakaj bb,75400 Zvornik
Republika Srpska, BiH
Telefon: +387 56 261-072
Fax: +387 56 260-190
E-mail: sekretar@tfzv.org
Web: www.tfzv.org

FOR PUBLISHER/ZA IZDAVAČA:
Prof. dr Miladin Gligorić, dean/dekan

ORGANIZING COMMITTEE/ORGANIZACIONI ODBOR:

Prof. dr Miladin Gligorić, president; Mr Aleksandar Došić, secretary; Prof. dr Milovan Jotanović; Prof. dr Miomir Pavlović; Prof. dr Radoslav Grujić; Prof. dr Dragan Tošković; Prof. dr Dragica Lazić; Prof. dr Branko Đukić; Prof. dr Dušan Stanojević; Prof. dr Mitar Perušić; Prof. dr Branko Pejović; Prof. dr Pero Dugić; Prof. dr Milorad Tomić; Prof. dr Goran Tadić; Docent dr Vladan Mičić; Dr Vaso Novaković; Dr Anto Gajić; Dipl. ing Novo Škrebić; Dr Predrag Tomić; Mr Slavko Smiljanić; Mr Dragana Kešelj; Mr Dragan Vujadinović; Dipl. mat Mladen Ignjatović; Dipl. ing Milan Vukić.

SCIENTIFIC AND PROGRAMME COMMITTEE/NAUČNI I PROGRAMSKI ODBOR:

Prof. dr Todor Vasiljević, **Australia**; Prof. dr Jozefita Marku, **Albania**; Prof. dr Ivan Krastev, **Bulgaria**; Prof. dr Milovan Jotanović, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Miomir Pavlović, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Miladin Gligorić, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Jovan Đuković, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Radoslav Grujić, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Dragan Tošković, **Bosna i Hercegovin**; Prof. dr Dragica Lazić, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Živan Živković, **Bosnia and Herzegovina**; Akademik Dragoljub Mirjanić, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Stevan Trbojević, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Jovo Mandić, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Jelena Penavin-Škundrić, **Bosnia and Herzegovina**; Mr Vinko Bogdan, **Bosnia and Herzegovina**; Prof. dr Kemal Delijić, **Montenegro**; Dr ing. Srećko Stopić, **Germany**; Prof. dr Ivan Esih, **Croatia**; Prof. dr Gyula Vatai, **Hungary**; Prof. dr Svetomir Hadži Jordanov, **Macedonia**; Prof. dr Andrzej Kowal, **Poland**; Dr Ingrid Milošev, **Slovenia**; Prof. dr Milan Antonijević, **Serbia**; Dr Nadežda Talijan, **Serbia**; Prof. dr Božidar Stavrić, **Serbia**; Prof. dr Branko Bugarski, **Serbia**; Prof. dr Božo Dalmacija, **Serbia**.

EDITORIAL BOARD/UREDNICI:

Prof. dr Miladin Gligorić,
Mr Aleksandar Došić,
Mr Dragana Kešelj,
Mr Dragan Vujadinović

AREA/OBLAST:

ENGINEERING, ENVIRONMENT AND MATERIALS IN PROCESSING INDUSTRY
INŽENJERSTVO, EKOLOGIJA I MATERIJALI U PROCESNOJ INDUSTRIJI

PUBLISHED/GODINA IZDANJA: 2013.

COMPUTER PROCESSING/KOMPJUTERSKA OBRADA:

Mr Dragan Vujadinović, Mr Aleksandar Došić, Milan Vukić

PRINT/ŠTAMPA: Eurografika Zvornik

CIRCULATION/TIRAŽ: 300 copies/primjeraka

ISBN 978-99955-81-11-4

**UNIVERSITY OF EAST SARAJEVO
FACULTY OF TECHNOLOGY ZVORNIK**



**UNIVERZITET U ISTOČNOM SARAJEVU
TEHNOLOŠKI FAKULTET ZVORNIK**

PROCEEDINGS

ZBORNIK RADOVA

3rd INTERNATIONAL CONGRESS

“ENGINEERING, ENVIRONMENT AND MATERIALS IN PROCESSING INDUSTRY”

III MEĐUNARODNI KONGRES

„INŽENJERSTVO, EKOLOGIJA I MATERIJALI U PROCESNOJ INDUSTRIJI“

UNDER AUSPICIES OF:

- *THE MINISTRY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY OF REPUBLIC OF SRPSKA*
- *THE ACADEMY OF SCIENCE AND ART OF REPUBLIC OF SRPSKA*

POD POKROVITELJSTVOM:

- *MINISTARSTVA NAUKE I TEHNOLOGIJE REPUBLIKE SRPSKE*
- *AKADEMIJE NAUKA I UMJETNOSTI REPUBLIKE SRPSKE*

JAHORINA, 04.03.– 06.03. 2013.

BOSNIA AND HERZEGOVINA

UDC: 637. 136 : 637. 065
Original scientific paper: (I-102)

EXAMINATION OF AFLATOXINE IN RAW MILK, COMERCIAL MILK, DAIRY PRODUCTS AND STORAGE SOUR CREAM

ИСПИТУВАЊЕ НА АФЛАТОКСИНИ ВО СУРОВО, КОМЕРЦИЈАЛНО МЛЕКО, МЛЕЧНИ ПРОИЗВОДИ И ЧУВАНИ ПАВЛАКИ

Julijana Tomovska, Velina Stefanovska, Gjorgievski Nikola, Vesna K. Hristova, Biljana Trajkovska

Univerzity „St. Kliment Ohridski, - Bitola , Faculty of biotechnical sciences – Bitola, Macedonia

Џулијана Томовска, Велина Стефановска, Ѓоргиевски Никола, Весна К. Христова, Билјана Трајковска
Универзитет „Св. Климент Охридски“ – Битола, Факултет за биотехнички науки - Битола, Македонија

ABSTRACT

The aflatoxins M_1 and M_2 (AFM_1 and AFM_2) are the prime metabolites of the aflatoxins B_1 and B_2 (AFB_1 and AFB_2) respectively, which are found in milk derived from animals which have consumed feed contaminated with aflatoxins B_1 and B_2 . Aflatoxin M_1 is a hydroxylated metabolite of AFB_1 (4-Hydroxyaflatoxin B_1), and is produced under influence of enzymes that are present in the liver. After the formation, the aflatoxin is excreted into the environment via the urin and milk, and thus can be found in dairy products which are produced from milk derived from animals fed with contaminated feed.

In milk, the processes of pasteurization and sterilization diminish the content of aflatoxins, but the contamination with aflatoxins in milk powder is sometimes up to eight times greater than the contamination of raw milk. That is because the aflatoxins are bonded to the milk protein, thus the milk powder needs to be examined aside from the raw milk for the presence of aflatoxins.

The maximal allowed concentration of AFM_1 according to the guidebook for maximum allowed concentrations in food is 0,5ppb. the concentration of aflatoxins in fresh milk, thermally treated milk and milk destined for production of milk based products must be no greater than 0,050 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The maximum level of AFM_1 in milk for nourishing of infants and children, should not be greater than 0,025 $\mu\text{g}/\text{kg}$. AFM_1 can be detected in the milk 12-24 hours after ingestion of AFB_1 in the organism of the animal. If AFM_1 is detected in the milk, it poses a potencial carcinogen risk for the human population, and then the dairy animals need to be fed with clean uncontaminated feed, which contains bentonine and dietary hemisorbent.

The aim of this research is the determination of AFM_1 in raw milk, commercially obtained milks and dairy products with the precise and selective method VICAM.

Key words: aflatoxin M_1 , aflatoxin B_1 and B_2 , milk, dairy products, carcinogen, VICAM

ИЗВОД

Афлатоксини M_1 и M_2 (AFM_1 и AFM_2) се примарни метаболити на афлатоксини B_1 и B_2 (AFB_1 и AFB_2) соодветно, кои се наоѓаат во млеко добиено од животни кои конзумирале храна контаминирана со афлатоксини B_1 и B_2 . Афлатоксин M_1 е хидроксилиран метаболит на AFB_1 (4-Hydroxyaflatoxin B), и е произведен под

влијание на ензими кои се присутни во црниот дроб. По формирањето, афлатоксините се излучуваат во животната средина преку урина и млеко, и на тој начин може да се најдат и во млечни производи кои се создаваат од млеко добиено од животни хранети со контаминирана храна.

Во млекото, процесите на пастеризација и стерилизација ја намалуваат содржината на афлатоксини, но контаминација со афлатоксини во млеко во прав е понекогаш и до осум пати поголема од контаминацијата на суровото млеко. Тоа е затоа што афлатоксините се врзани со млечни протеини, така што млекото во прав треба да се испита настрана од суровото млеко за присуството на афлатоксини.

Максималната дозволена концентрација на AFM_1 според Водичот за максимално дозволените концентрации во храната е 0,5 ppb. Концентрација на афлатоксини во свежо млеко, термички обработено млеко и млечни производи, не смее да биде поголема од 0,050 mg/kg. Максимално ниво на AFM_1 во млеко употребено за храна на доенчиња и деца, не треба да биде поголема од 0.025 g / kg. AFM_1 може да се открие во млекото 12-24 часа по ингестијата на AFB_1 во организмот на животното. Ако AFM_1 е откриен во млекото, тоа претставува потенцијални канцероген ризик за човечката популација, а потоа и млечни животни треба да се хранат со чиста незагадена храна, која содржи бентонин и диететски хемисорбент.

Целта на ова истражување е утврдување на AFM_1 во сурово млеко, комерцијално добиени млека и млечни производи со прецизни и селективен начин VICAM метода.

Клучни зборови: афлатоксин M_1 , афлатоксин B_1 и B_2 , млеко, млечни производи, канцерогени, VICAM

ВОВЕД

Мувлите ги излучуваат микотоксините преку мицелиумот кој може да дифундира во најдлабоките слоеви на прехранбените производи и да ги контаминира. Млечни производи покрај сточната храна можат да бидат одличен супстрат за развој на мувлите и можност за внесување на микотоксини во организмот. Се разликуваат примарни и секундарни микотоксикози во зависност од начинот на влегување на микотоксините во ланецот на исхрана (Pešić-Mikulec, 2005).

Афлатоксините M_1 и M_2 (AFM_1 и AFM_2) се главни метаболити на афлатоксините B_1 и B_2 (AFB_1 и AFB_2) соодветно, кои се наоѓаат во млекото добиено од животни кои конзумирале храна контаминирана со афлатоксини B_1 и B_2 (A. E. Yousef, E. H. Marth, 1989). Тие се добиваат при процесот на конверзација во црниот дроб на животните и се излучуваат во млекото со 1,5% од количината на внесените B афлатоксини (Katalenić, M 2004). Афлатоксин M_1 е хидроксилизиран метаболит од AFB_1 (4-Hydroxyaflatoxin B₁) и се создава под дејство на ензимите кои се наоѓаат во црниот дроб. Откако ќе се формира, афлатоксинот излегува во надворешната средина преку урината и млекото и може да се сретне во млечни производи кои потекнуваат од животни кои конзумирале контаминирана храна (S.H. Henry et al.2004).

Според некои податоци, 72% од анализираниите примероци на млеко од Јужна Италија биле контаминирани со AFM_1 во ист период кога се добиени податоци за присуство на AFB_1 во сточната храна (G. Battacone, et al. 2003).

Намалување на присуство на афлатоксинот во сточната храна доведува до намалување на неговата количина и во млеко (Aflatoxin handbook, 2002).

Кај млекото, пастеризацијата и стерилизацијата ја намалуваат количината на афлатоксини, меѓутоа понекогаш контаминацијата на афлатоксините кај млекото во прав е осум пати поголема отколку контаминацијата во обичното млеко, затоа што афлатоксините се лепат на млечните белковини и млекото во прав треба да се испитува одделно за присутноста на афлатоксини (Z. J. Sinovec, et al. 2006)

Максимално дозволена концентрација на AFM_1 според правилникот за максимално дозволени количини на одредени контаминенти во храна е $0,5 \text{ ppb}^{[50]}$. Свежо млеко, термички обработено млеко и млеко за производство на производи на база на млеко изнесува до $0,050 \mu\text{g/kg}$. Максимално ниво на AFM_1 во млеко наменето за исхрана на младенчиња и деца (M. Decandia et al. 2009) не смее да содржи повеќе од $0,025 \mu\text{g/kg}$.

Европската Комисија настојува рестрективните мерки да се пооптри до граница при која никакво присуство на AFM_1 не би било дозволено во млеко кое се користи за исхрана на луѓето (A. Prandini et al. 2009).

Токсичност на AFM_1

Афлатоксините B_1 и M_1 се акутно и хронично токсични. AFB_1 е еден од најпознатите хепато-канцерогени, додека AFM_1 е цитотоксичен и неговата токсичност е слична и за еден степен послаба од онаа на AFB_1 . Афлатоксин M_1 може да предизвика штети во генетската мутација на DNA, хромозомни аномалии и трансформација кај ќелиите (A. Prandini et al. 2009).

AFM_1 може да се детектира во млекото од 12-24h по внесувањето на AFB_1 во организмот во животното (Peraica M., et al. 2001). Ако AFM_1 се детектира во млекото, тоа млеко е потенцијален канцероген за човечката популација и тогаш на млечните криви треба да им се даде чиста неконтаминирана пченка која содржи бентонит или диетеален хемисорбент. Ако нивото на AFM_1 е над 0.5 ppb тогаш тоа млеко е неупотребливо, а ако е до или пак 0.5 ppb тоа млеко се прифаќа, но во секој случај зрнестата храна треба да се тестира за одредување на степенот и присутноста на афлатоксините (M.P. Carlson et al. 2008).

Ефекти кои се јавуваат при преработка на млеко контаминирано со AFM_1

При честата појава на AFM_1 во млекото, се поставуваат две прашања:

- Што се случува со AFM_1 кога контаминирано млеко се вклучува во секојдневниот процес во млечната индустрија?
- Што може да се преземе за да се уништи AFM_1 во контаминирано млеко и млечни производи?

Процеси кои се вообичаени во млечната индустрија може да се поделат на два вида: оние кои на ја вклучуваат сепарацијата од млечните компоненти, како што се термичка обработка, ниска температура за складирање и подготовката на јогуртот, и процеси кои ја вклучуваат сепарацијата на млечните компоненти, како што се концентрирање, сушење и производство на сирење и путер (M. Decandia, et al. 2009).

Испитувањата во сите овие процеси покажаа дека не влијаат врз намалувањето и врз отстранувањето на количината на AFM₁ од млекото и млечните производи (O. Devenci, E. Sezgin, 2005).

Постојат и некои други можности за отстранување и инактивација на AFM₁ во млекото, вклучувајќи примена на хемиски и физички третмани. Хемикалиите кои се применуваат за разградување на AFM₁ се: сулфити, бисулфити и H₂O₂ (M. P. Horvatovic, et al. 2009).

Се употребуваат и физички процеси за отстранување на AFM₁ во млекото како што се адсорпција и зрачење. Употреба на 5% бентонит во млекото адсорбира 89% од присуството на AFM₁. Во една студија за ефектите од УВ зрачење со и без H₂O₂, концентрацијата на AFM₁ била намалена од 3,6-100% и тоа во зависност од должината на времето на кое млекото било изложено на зрачење, обемот на обработеното млеко и присуството на H₂O₂ (T.H.Celik, et al.2005).

Во моментот хемиските и физичките третмани не се лесно применливи во млечната индустрија бидејќи малку се знае за биолошката или хранливата вредност на така третираните производи. Покрај тоа и трошоците на овие процеси можат да бидат значителни или превисоки за нивна редовна примена (G. Karimi, et al. 2007). Ако AFM₁ не може лесно да биде отстранет и уништен, неговата присутност може да биде исклучена од млекото единствено преку елиминирање на AFB₁ од исхраната на молзните животни (Milan O. Miric et al. 2002).

Целта на ова истражување е да се определи количеството на AFM₁ во сурово млеко, комерцијални млека и млечни производи од трговската мрежа со прецизна и селективна VICAM метода.

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

Изборот на примероците од сурово кравјо, овчо и козјо млеко за определување на присуството на AFM₁ е направено врз основа на претходни сознанија за присуство на AFB₁ во сточната храна со која беше хранет субјектот. Испитувањата на AFM₁ се направени во примероци од три вида сурово млеко земено од 20 различни географски места на Пелагонискиот регион.

Најпрво во сите примероци се определи масленоста кој е важен податок за оценување на квалитетот на млекото. Применета беше ацидобутирометриска метода по Gerber, која се заснива на растварање на сите компоненти од млекото во H₂SO₄ освен на мастите кои се одвојуваат на површината.

1. Определување на AFM₁ во сурово кравјо, овчо и козјо млеко, чувани во ладилник на температура од 4⁰ C пред испитување.
2. Испитување на AFM₁ во комерцијално млеко и млечни производи кои се пласирани во трговската мрежа во нашата држава, претходно чувани во ладилник.
3. Определување на AFM₁ во павлаки кои беа чувани на собна температура се до нивно мувросување.

Определување на присуството на афлатоксини M_1 се направени со VICAM.

Технологијата на апаратот VICAM овозможува одредување на присутноста на AFM_1 во млекото, без употреба на токсични растворувачи како што се хлороформ и метил хлорид. AFM_1 се користи во лаборатории каде се прави контрола на квалитетот на млекото, тој е лесен и брз метод за одредување на афлатоксините во млекото и истовремено докажување на неговиот квалитет. Перформансите на апаратот се одликува со повторливост каде лимитот на детекција е до 0,10 ppb. Точноста се движи 0-2,0 ppb, со прецизност изразена како релативна стандардна девијација која обично изнесува 1% и пониски за концентрации 100 пати поголеми од лимитот за детекција.

Калибрациони подесувања се направени со Alfa Test – M_1 , калибрациони стандарди: зелен (-0,10), црвен (2,20) и жолт ($1,10 \pm 0,2$). Аналитичкиот принос (recovery) од 80% вкупно присутен AFM_1 изнесува помеѓу 0,010-3 ppb.

Методата за определување на AFM_1 беше применета соодветно како што е приложена со самиот апарат VICAM.

Од испитуваното млеко се зема 50 ml и се центрифугира на 1540 вртежи за време од 15 минути при што се одделува горниот мрсен слој, а за работа се користи немрсниот долен слој. Потоа 50 ml од млекото комплетно се пропушта низ M_1 колоната со 1-2 капка/ секунда додека да почни од шприцот да излегува воздух (вкупното време на течење треба да изнесува 20 минути). Низ колоната се пропушта 2 x 10 ml вода, 1,25 ml ацетонитрил : метанол (3:2) со проток низ колона 1 капка / 2-3 секунди, елуирани со High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). Низ колоната се пропушта 1,25 ml вода со проток 1 капка/2-3 секунди и се собира во чиста кивета ($V=2,5$ ml). Се меша на Vortex и се чита на VICAM (HPLC).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Експерименталните вредности добиени за афлатоксини M_1 со VICAM во сурово млеко (кравјо, козјо и овчо) од 20 пунктови од Пелагонискиот регион како и вредностите за афлатоксини M_1 во комерцијално млеко и млечни производи пласирани во трговската мрежа се дадени во Табела 2 и 3 (во прилог).

Може да се каже дека не е забележано присуство на афлатоксини M_1 во сите испитувани примероци.

За да се испита сигурноста на метода направени се и дополнителни истражувања во павлаки кои беа чувани на собна температура се до нивно расипување. Во текот на 25 дена е следена појавата на развојот на мувлите и одредување на афлатоксини M_1 , и тоа првиот ден кога беа купувани потоа 15 ден, 20 ден и 25 ден, се до нивното потполно мувлосување Табела 3.

Табела 1. Афлатоксини M_1 во чувани павлаки определени со VICAM

Број на производи	AFM1/(μ g/kg) во чувани денови			
	1	15	20	25
1	0	169	20330	61000
2	0	190	22830	68500
3	0	208	25000	75000
4	0	221	26600	80000
5	0	215	25800	77400
6	0	110	13300	40000
7	0	204	24530	70600
8	0	183	22000	66000
9	0	179	21500	63000
10	0	150	18000	54000
\bar{x}		167,6364	19991,82	59593,18
SD		59,86697	7649,695	22780,58



Слика 1. Графичко претставување на афлатоксин M_1 во чувана павлака определени со VICAM

Од експериментално добиените вредности дадени во Табела 1, може да се види дека средната вредност и отстапувањата на афлатоксини M_1 , на 15 ден изнесувала (167,6364 \pm 59,86697), на 20 ден изнесувала (19991,82 \pm 7649,695), додека при 25 ден вредноста достигнала до (59593,18 \pm 22780,58).

Од овие експериментални вредности на Слика 1 гледаме дека присуството на афлатоксините M_1 се зголемува со зголемување на времето, имаме брз развој на мувлите во чуваната павлака.

Во Кореа истражувања за присустви на афлатоксини M_1 кај комерцијални млечни производи од трговската мрежа во текот на 18 часа, и тоа на 1 h концентрацијата на афлатоксините M_1 изнесувала 75 ppb, на 6h изнесувала 243 ppb, а на 18h изнесувала 532 ppb (D. Jaksic, 2009).

Во Иран имало истражување за контаминација со афлатоксини M_1 во млекото и млечните производи пласирани во трговската мрежа каде што од 47 испитани примероци од сурово млеко 41 биле со позитивна концентрација на афлатоксини M_1 98,9 ppb, во 40 примероци од јогурт 22 биле позитивни со концентрација 20, 6 ppb, во 35 примероци павлака од кои сите 35 биле позитивни со концентрација 20,3 ppb и во 45 испитани примероци на сирење 38 биле позитивни со концентрација од 23,2 ppb (K. Muhammad, 2010). Во Иран вршеле истражување за контаминација на пастеризирано млеко со афлатоксини M_1 во текот на 3 месеци (март, април, мај) при што во март биле испитани 29 примерока каде min. изнесува 0,008 ppb, maks. 0,034 ppb, во април биле испитани 42 примерока каде min. бил 0,009 ppb, а maks. 0,039 ppb, додека во мај испитувањата од 39 примерока min. присуство било 0,013 ppb, а maks. 0,089 ppb (A. Kamkar, et al. 2011).

Во Иран исто така во текот на зимскиот и летниот период од годината ја испитувале контаминацијата со афлатоксини M_1 на пласираното млеко и млечните производи во трговската мрежа. Во зимскиот период од 44 испитувани примероци на пастеризирано млеко концентрацијата изнесувала 0,010-0,070 ppb, кај 36 примероци од јогурт изнесувала 0,006-0,043 ppb, додека кај 33 примероци од бело сирење изнесувала 0,057-0,309 ppb, кај 15 примероци на путер изнесувала 0,003-0,008 ppb и кај 16 примероци на сладолед изнесувала 0,011-0,062 ppb. Во текот на летниот период пак од 47 испитувани примероци на пастеризирано млеко концентрацијата изнесувала 0,006-0,034 ppb, кај 32 примероци од јогурт изнесувала 0,004-0,020 ppb, кај 39 примероци од бело сирење изнесувала 0,052-0,286 ppb, кај 16 примероци на путер изнесувала 0,002-0,011 ppb и кај 20 примероци на сладолед изнесувала 0,005-0,020 ppb (M. H. Movassagh, 2011). Во Иран било истражувано присуство на афлатоксини M_1 во 160 млечни производи пласирани во трговската мрежа од кои во 40 испитани пастеризирани млека просечната контаминација изнесувала 8,65-23,22 ppb, кај 40 УНТ млека изнесувала 7,47-19,53 ppb, кај 40 кремасти сирења изнесувала 3,23-21,96 ppb и кај 40 фета сирења изнесувала 18,51-43,31 ppb (H. Muhamadi et al, 2010).

Во Аргентина било испитувано присуство на афлатоксините M_1 во суровото и комерцијалното млеко каде од 56 примероци на сурово млеко земено од фармите 50 биле негативни, 6 позитивни со концентрација 0,007-0,016 ppb и од 16 примероци на комерцијално млеко 8 биле негативни и 8 позитивни со концентрација 0,002-0,013 ppb (T. H. Celik et al. 2005).

Тим истражувачи од Турција испитувале за присуството на афлатоксини M_1 во млечните производи пласирани во трговската мрежа од 7 различни фирми во текот на целата година. Во првата сезона од 3 месеци (март, април, мај) min. концентрација на афлатоксини M_1 изнесувала 0,193 ppb, а maks. 0,535 ppb, во втората сезона min. било

0,000 ppb, a maks. 0,324 ppb, во третата сезона (септември, октомври, ноември) min. било 0,262 ppb, maks. 0,705 ppb, а во четвртата min. било 0,350 ppb, а maks. 0,372 ppb (V. Fedele, et al. 2007).

При едно истражување во Турција била следена контаминацијата на сурово млеко со афлатоксини M_1 земено од 3 села каде во границата <5-9 ppb имало 10 контаминирани млека само во третото село, во границата 10-49 ppb имало контаминирани млека во првото село 7 во второто и 4 во третото село. Во границата 50-79 ppb во првото село има 6 контаминирани примероци, во второто 7 и во третото 2ppb. Во границата ≥ 80 ppb имало 20 во првото село, 12 во второто и 16 во третото село (H. M. Buldu et al. 2011).

Во Србија испитувањата на афлатоксини M_1 во 23 примерока од сурово млеко и тоа 3 биле од кравјо млеко каде што во границите <0,01 ppb немало ниту еден позитивен примерок, во границите од (0,01-0,05 ppb) имало 3 позитивни примероци и во границата >0,05 ppb немало ниту еден позитивен примерок. Од 2 примерока испитано овчо млеко во границата (0,01-0,05 ppb) имало 1 позитивен примерок, а во границата >0,05 ppb немалониту еден позитивен примерок. Во 18 испитани примероци од козјо млеко во границата <0,01 ppb имало 6 позитивни примероци во границата (0,01-0,05 ppb) имало 5 позитивни примероци во границата >0,05 ppb имало 7 позитивни примероци. При испитувањата направени на 35 пастеризирани комерцијално млека 26 биле во граница <0,01 ppb, 9 во границата 0,01-0,05 ppb и ниедно во границата >0,05 ppb, а додека во 32 испитувани УНТ млека, 21 биле во границата <0,01 ppb, 11 во границата (0,01-0,05 ppb) и ниту едно во границата >0,05 ppb (M. P. Horvatovic, et al. 2009).

Споредбата на нашите резултати со сличните добиени за афлатоксини M_1 во млеко и млечни производи зборуваат дека има разлика. Таа разлика произлегува од различни фактори на влијание на создавање, чување, транспортирање, технологија на производство како и од применетата метода на одредување.

ЗАКЛУЧОК

Во ова испитување е воведена VICAM метода за определување на афлатоксини M_1 во сурово млеко, комерцијално млеко и млечни производи од трговската мрежа и во чувана павлака.

Врз основа на испитувањата може да се заклучи дека присутноста на афлатоксини M_1 во примероците од 20 места од Пелагонискиот регион е минимално и се движи во дозволените граници.

Исто така и во сите примероци земени од трговската мрежа концентрацијата на афлатоксини M_1 е еднаква на нула.

На почетокот на сите примероци, кај суровото и кај сите комерцијални производи беше определена концентрацијата на масленоста по методата на Gerber.

Може да се потврди дека присуството на афлатоксин В во добиточната храна е во дозволените граници па затоа и излучувањето на афлатоксини M_1 е сведено на минимум.

Овие истражувања се од значење за познавање и заштита на млекото и млечните производи од микотоксиколошка контаминација. Микотоксините се токсични фунги метаболити кои се опасни за човековото здравје и причина за губење економски на добитокот поради појавата на болести или редуцирање на ефективност во продукцијата.

ЛИТЕРАТУРА

- Pešić-Mikulec, D., "Mikrobiološke analize namirnica u odnosu na evropsku zakonsku regulativu", Beograd, Vol. 19, 226-230, 2005
- A. E. Yousef, E. H. Marth, "Stability and degradation of aflatoxin M₁", London, *Mycotoxins in Dairy Products*, 45, 127-161, 1989
- Katalenić, M., "Toksini Fusarium plijesni i drugi toksini (I dio)", MESO: *The first Croatian meat journal*, Vol. VI, 31-35, 2004
- S.H. Henry, T. Whitaker, I. Rabbani, J. Bowers, D. Park, W. Price, F. X. Bosch, J. Pennington, P. Verger, T. Yoshizawa, H. van Egmond, M.A Jonker, R. Coker "AFLATOXIN M₁", *Food Tech*, Vol. 40, 268-273, 2004
- G. Battacone, A. Nudda, A. Cannas, G. Pulina, "Excretion of aflatoxin M₁ in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B₁", Italy, Vol. 51, 195-198, 2003
- Aflatoxin handbook, March, 2002
- Dr Z. J. Sinovec, Dr R. M. Resanovic, Dr S. M. Sinovec, "Mikotoksini, pojava, efekti i prevencija", Beograd, 2006
- M. Decandia, M. Acciaro, A. Fenu, A. H. D. Francesconi, G. Battacone, "Excretion of aflatoxin M₁ in milk of goats fed diet contaminated by aflatoxin B", Italy, *Ital.J.Anim.Sci.* Vol. 8 (Suppl. 2), 631-633, 2009
- A. Prandini, G. Tansini, S. Sigolo, L. Filippi, M. Laporta, G. Piva, "On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products", Italy, *Univ. Vet. Fak. Derg.*, 2009
- Peraica M., Domijan, A., "Mikotoksini u hrani i njihov učinak na ljudsko zdravlje", Arhiv za higijenu rada i toksikologiju, Vol. 52, 23-25, 2001
- M. P. Carlson, S. M. Ensley, R. J. Grant, D. R. Smith, "Aflatoxin M₁ in milk", University of Lincoln, Nebraska, USA, 2008
- O. Deveci, E. Sezgin, "Aflatoxin M₁ levels of skim milk powders produced in Turkey", Turkey, *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 13, No. 2, 139-142, 2005
- M. P. Horvatovic, V. Juric, D. Glamocic, "Two year study of incidence of aflatoxin M₁ in milk in the region of Serbia", Serbia, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25 (5-6), 713-718, 2009
- T. H. Celik, B. Sarimehmetoglu, O. Kuplulu, "Aflatoxin M₁ contamination in pasteurised milk", Turkey, *Journal of Biotechnology*, Vol. 9 (46), 7905-7908, 2005

G. Karimi, M. Hassanzadeh, A. Nili, "Aflatoxin M₁ contamination in pasteurized milk in Mashhad, Iran", Iran, *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences Summer*, **3(3)**, 153-156, 2007

Prof.dr. Milan O.Miric, Prof.dr.Sladzana S. Sobajic, Zdrastvena ispravnost namirnica; Zavod za udzbenika i nastavna sredstva - Beograd, 102-122; 2002

D. Jaksic, "Citotoksicnost nekih furofuranskif prekursora biosinteze aflatoksina", Zagreb, 2009

K. Muhammad, "Monitoring of aflatoxin M₁ in market raw milk in Lahore City, Pakistan", Pakistan, *Food Control*, **21**, 1478-1481, 2010

A. Kamkar, G. R. J. Khaniki, S. A. Alavi, "Occurrence of aflatoxin M₁ raw milk produced in Ardebil of Iran", Iran, *Tropical Agricultural Research*, Vol. **21(2)**, 119 – 125, 2011

M. H. Movassagh, "Aflatoxin M₁ contamination in the marketed cow's raw milk of Tabriz, Iran", Iran, *J. Anim. Sci.*, Vol. **6**, (Suppl. 2), 1120-1122, 2011

H. Mohamadi, M. Alizadeh, "A study of the occurrence of aflatoxin M₁ in dairy products marketed in Urmia, Iran", Iran, *J. Agr. Sci. Tech.*, Vol. **12**, 579-583, 2010

V. Fedele, F. G. Cifuni, L. Sepe, M. A. Napoli, "Effect of two aflatoxin level treatments on contamination of Mozzarella di Bufala cheese", Italy, *J. Environ. Health. Sci. Eng.*, Vol. **8**, No. **2**, 123-128, 2007

H. M. Buldu, A. N. Koc, G. Uraz, "Aflatoxin M₁ contamination in cow's milk in Kayseri", Turkey, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **35 (2)**, 87-91, 2011

M. P. Horvatovic, V. Juric, D. Glamocic, "Two year study of incidence of aflatoxin M₁ in milk in the region of Serbia", Serbia, *Biotechnology in Animal Husbandry*, **25 (5-6)**, 713-718, 2009

ПРИЛОЗИ

Табела 2. Резултати за афлатоксини M_1 во сурово млеко од Пелагониски регион

Пунктови	Број на приме рок	Вид на млеко	Маслен ост во %	VICAM
				Афлатоксини M_1 (ppb)
I Пункт	1	Кравјо	5,2	0
	2	Козјо	2,7	0
	3	Овчо	4,2	0
II Пункт	4	Кравјо	5,5	0
	5	Козјо	3,8	0
	6	Овчо	3,2	0
III Пункт	7	Кравјо	5,9	0
	8	Козјо	6,3	0
	9	Овчо	5,5	0
IV Пункт	10	Кравјо	3,5	0
	11	Козјо	3,0	0
	12	Овчо	4,8	0
V Пункт	13	Кравјо	5,4	0
	14	Козјо	5,8	0
	15	Овчо	6,0	0
VI Пункт	16	Кравјо	5,0	0
	17	Козјо	3,8	0
	18	Овчо	5,5	0
VII Пункт	19	Кравјо	2,8	0
	20	Козјо	4,0	0

	21	Овчо	5,3	0
VIII Пункт	22	Кравјо	4,2	0
	23	Козјо	5,1	0
	24	Овчо	5,6	0
IX Пункт	25	Кравјо	4,9	0
	26	Козјо	4,3	0
	27	Овчо	5,8	0
X Пункт	28	Кравјо	3,3	0
	29	Козјо	2,9	0
	30	Овчо	5,8	0
XI Пункт	31	Кравјо	3,9	0
	32	Козјо	5,0	0
	33	Овчо	6,1	0
XII Пункт	34	Кравјо	3,1	0
	35	Козјо	3,0	0
	36	Овчо	5,1	0
XIII Пункт	37	Кравјо	4,9	0
	38	Козјо	3,3	0
	39	Овчо	4,1	0
XIV Пункт	40	Кравјо	6,0	0
	41	Козјо	4,9	0
	42	Овчо	5,4	0
XV Пункт	43	Кравјо	3,8	0
	44	Козјо	4,2	0
	45	Овчо	5,0	0

XVI Пункт	46	Кравјо	3,2	0
	47	Козјо	4,1	0
	48	Овчо	5,8	0
XVII Пункт	49	Кравјо	5,5	0
	50	Козјо	5,1	0
	51	Овчо	4,8	0
XVIII Пункт	52	Кравјо	3,9	0
	53	Козјо	4,2	0
	54	Овчо	3,7	0
XIX Пункт	55	Кравјо	4,3	0
	56	Козјо	2,8	0
	57	Овчо	5,8	0
XX Пункт	58	Кравјо	4,9	0
	59	Козјо	4,2	0
	60	Овчо	6,0	0

Табела 3. Резултати за афлатоксини M_1 во комерцијално млеко и млечни производи од трговската мрежа

Реден број	Вид на производ	Масленост %	VICAM
			M_1 (ppb)
1	Свежо битолско млеко – АД ИМБ Млекара, Битола	3,2	0
2	Битолско млеко – АД ИМБ Млекара, Битола	1,5	0
3	Моја кравица (трајно млеко) – АД Имлек Млекара Белград	2,8	0
4	Моја кравица (трајно млеко) – АД Имлек Млекара Белград	0,5	0
5	Млеко Meggle – Meggle Млекара, Бихаќ	3,2	0
6	Здраво трајно млеко стерилизирано и хомогенизирано полномасно – Млекара Суботица	3,5	0
7	Трајно млеко Dukat – Млекара Дукат Загреб, Хрватска	0,5	0
8	Трајно млеко Dukat – Млекара Дукат Загреб, Хрватска	0,9	0
9	Трајно млеко Dukat – Млекара Дукат Загреб, Хрватска	2,8	0
10	Трајно млеко Dukat – Млекара Дукат Загреб, Хрватска	3,8	0
11	Трајно млеко Dukat со 7 витамини – Млекара Дукат Загреб, Хрватска	/	0
12	Трајно млеко Dukat омега 3 – Млекара Дукат Загреб, Хрватска	/	0
13	Свежо млеко – Млекара Идеал Шипка, Битола	3,2	0
14	Битолски јогурт ViMilk – АД ИМБ Млекара Битола	3,2	0
15	Битолски јогурт ViMilk Light – АД ИМБ Млекара Битола	1,6	0
16	Битолски јогурт ViMilk Balans – АД ИМБ Млекара Битола	1	0
17	Dukat light јогурт – Млекара Дукат, Загреб, Хрватска	0,5	0
18	Dukat tekuci jogurt prirodno hranliv – Млекара Дукат, Загреб, Хрватска	/	0
19	АВ јогурт – Млекара Суботица	1,6	0
20	Здраво Јогурт – Млекара Суботица	3,2	0
21	Јогурт – Млекара Мики, Прилеп, Македонија	3,2	0
22	Битолска кисела павлака - АД ИМБ Млекара Битола	20	0

23	Битолска кисела павлака - АД ИМБ Млекара Битола	12	0
24	Кисела Павлака – Млекара Идеал Шипка Битола, Македонија	20	0
25	Кисела Павлака - Млекара Идеал Шипка Битола, Македонија	18	0
26	Кисела павлака од свежо кравјо млеко - Млекара Мики Прилеп, Македонија	20	0
27	Крем кисело млеко - Млекара Мики Прилеп, Македонија	6	0
28	Кисела павлака - Млекара Здравје, Радово, Македонија	15	0
29	Павлака – Маестро Србија		0
30	Кисела павлака - Meggle Млекара, Бихаќ	12	0
31	Битолско кравјо кисело млеко - АД ИМБ Млекара Битола	3,2	0
32	Balans пробиотики ферментиран млечен производ - АД ИМБ Млекара Битола		0
33	Кисело млеко - Млекара Идеал Шипка Битола, Македонија	3,2	0
34	Кравско Кисело млеко - Млекара Мики Прилеп, Македонија	3,2	0
35	Овчо кисело млеко - Млекара Мики Прилеп, Македонија	6	0
36	Кравјо сирење - Млекара Идеал Шипка Битола, Македонија		0
37	Мешано сирење - Млекара Идеал Шипка Битола, Македонија		0
38	Кравјо сирење light - Млекара Идеал Шипка Битола, Македонија		0
39	Кравјо сирење - Млекара Мики, Прилеп, Македонија		0
40	Овчо сирење - Млекара Мики, Прилеп, Македонија		0
41	Мешано сирење - Млекара Мики, Прилеп, Македонија		0
42	Биено сирење - Млекара Мики, Прилеп, Македонија		0
43	Кравјо сирење - Млекара Здравје, Радово, Македонија		0
44	Мешано сирење - Млекара Здравје, Радово, Македонија		0
45	Кравјо сирење – ДПТТ Наташа Доо Млекара, Берово, Македонија		0
46	Кравјо сирење со пиперки - ДПТТ Наташа Доо Млекара, Берово, Македонија		0