

INOVATIVNI POSTUPCI UKLANJANJA AFM₁ BIOFIKSATORIMA IZ MLIJEKA

*J. Bošnjir, J. Frece, Ž. Jakopović, I. Čanak, M. Ivešić, S. serdar, Ž. Pavlek, Ž. Kuharić, K. Markov**



NOSITELJ I PARTNER PROJEKTA

Nositelj projekta

-Voditelj projekta:

prof.dr.sc.Ksenija Markov

-Suradnici:

Prof.dr.sc.Jadranka Frece

Željko Jakopović, mag. ing.

Iva Čanak mag.ing.



Partner na projektu:

Izv.prof.dr.sc.Jasna Bošnjir

Dr.sc. Martina Ivešić

Sonja Serdar, dipl.ing.

Željka Pavlek, dipl.ing.

Željka Kuharić, dipl.ing.



Razlozi pokretanja projekta:

- EU RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) sustava žurnog uzbunjivanja primjećena je značajna prisutnost mikotoksina u hrani za ljude i životinje
- Pojave aflatoksina M₁ tijekom 2013. godine
- Gospodarske štete nastale prolijevanjem mlijeka kod proizvođača mlijeka (70.000 l/dan)
- Korištenje mikofiksatora



Pregled dosadašnjih znanstvenih saznanja:

- Poznato je da se koriste jeftiniji prirodni anorganski mikofiksatori za koje, da bi bili učinkoviti, potrebno je primjeniti veliku količinu
- Dobiveni sinteskim putem su skuplji i ne učinkoviti kada je u pitanju kontaminacija sa više različitih mikotoksina
- U praksi se najčešće koriste prirodni i sintetski zeoliti kao dodatci krmivima
- Djeluju na bazi adsorpcije - djelotvorno uklanjaju aflatoksine - nedostatak je da se osim adsorpcije mikotoksina apsorbiraju i potrebne hranjive tvari
- Ostaje problem AFM₁ u mlijeku

Znanstvena saznanja o upotrebi alternativnih metoda uklanjanja aflatoksina M₁ iz mlijeka

- Suvremena znanstvena istraživanja usmjerena su na pronalaženje moguće alternative postojećim fizikalnim i kemijskim metodama detoksifikacije
- Jedna od metoda je uklanjanje mikotoksina mikrobnim kulturama bakterije mliječne kiseline (BMK) i njihovim staničnim komponentama (β -glukan)
- Istraživanja ukazuju na činjenicu da mnogi mikroorganizmi, uključujući bakterije, kvasce, plijesni, aktinomicete i alge **mogu ukloniti ili smanjiti količine** aflatoksina u hrani i krmu
- Poznato je da BMK imaju pozitivan učinak na crijevnu mikrofloru čovjeka



Znanstvena saznanja o upotrebi alternativnih metoda uklanjanja aflatoksina M₁ iz mlijeka

- BMK imaju GRAS (General Recognise as Safe) status, prema US FDA, odnosno QPS (Qualified Presumption of Safety) status prema legislativi Europske Unije s mnogobrojnim dokazima o korisnom djelovanju
- Imaju značajan potencijal za primjenu u funkcionalnoj hrani
- Novija istraživanja su im pridodala i ***sposobnost vezanja/uklanjanja/biotransformacije mikotoksina***
- Uz BMK kao dobri biofiksatori mikotoksina pokazale su se i komponente stanične stijenke, S-proteini kod BMK, a β -glukan u kvasaca



Cilj projekta

- standardiziranom potvrdnom tehnikom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti sa fluorescentnim detektorom (HPLC FLD) kvantificirati količine AFM₁ u uzorcima mlijeka
- primjenom različitih koncentracija živih i mrtvih stanica BMK kao i β -glukana (komercijalnog i izoliranog iz stanice kvasca), utvrditi njihovu učinkovitost glede smanjenja AFM₁ u mlijeku
- utvrditi najniže koncentracije BMK i β -glukana koje smanjuju koncentraciju AFM₁ u mlijeku u najvećem postotku ili ga u potpunosti uklanjaju
- ispitati učinkovitost i primjenjivost metoda membranske filtracije i Centricon Plus-70 filtra za uklanjanje nastalog kompleksa biofiksator-AFM₁ iz mlijeka



Cilj projekta

- usporediti kvalitetu mlijeka (količinu masti, bjelančevina i ugljikohidrata, te mliječnog šećera laktoze) u uzorcima prije dodatka biofiksatora AFM₁, te nakon njegovog djelovanja
- utvrditi da li postoji statistički značajne razlike između količine primjenjenog biofiksatora i kvalitete mlijeka glede učešća nutrijenata (masti, bjelančevina i ugljikohidrata, te mliječnog šećera – laktoze)
- doprinijeti daljnjem razvoju metoda uklanjanja i ostalih mikotoksina biofiksatorima iz različitih namirnica ili krmiva
- da dobiveni rezultati posluže kako polazna osnova za prijavu novih znanstvenih projekata koji bi mogli ponuditi tehničko rješenje uklanjanja kompleksa s mikotoksinom u industrijskim razmjerima („scale up“).

Metode

- mikrobiološke metode izolacije, identifikacije i pripreme BMK;
- izolacija i priprema različitih koncentracija β -glukana;
- priprema uzorka mlijeka za analize vezanja AFM₁;
- određivanje koncentracije AFM₁ HPLC i LC-MS-MS tehnikama;
- kemijski parametri kvalitete mlijeka (masti, bjelančevine, ugljikohidrati, laktoza, voda)
- upotreba membranske filtracije i Centricon Plus-70, MWCO 100 kDa filtera za uklanjanje nastalog kompleksa biofiksator-AFM₁ iz mlijeka u cilju dobivanja zdravstveno ispravnog mlijeka

Shematski prikaz postupka

Određivanje količine masti
ugljikohidrata, laktoze
i bjelančevina

Standard
AFM₁



Uzgoj kvasaca i
izolacija β -glukana

Izolacija,
identifikacija,
uzgoj BMK



β -glukan
iz zobi



Određivanje količine masti
ugljikohidrata, laktoze
i bjelančevina

Određivanje stupnja
vezanja AFM₁



Očekivani rezultati projekta:

- predložiti će se rješenja primjene bioloških postupaka smanjenja i uklanjanja koncentracije AFM₁ u/iz mlijeka, a bez značajnog utjecaja na kvalitetu samog proizvoda
- predloženo rješenje bit će od značaja za mljekarsku industriju i za sve njezine proizvode koji prilikom stavljanja na tržište moraju biti zdravstveno ispravni i udovoljavati navodima na specifikaciji (nutritivnoj tablici) koja je sastavni dio deklaracije proizvoda, a sve u skladu s Uredbom o informiranju potrošača o hrani (1169/2011.)

HVALA NA PAŽNJI

