



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**



**Департман за сточарство**

**Константин Николић**

дипл. инж. пољопривреде

**АФЛАТОКСИН М1 У МЛЕКУ И ПРОЦЕНА  
ИЗЛОЖЕНОСТИ ПОТРОШАЧА**

**МАСТЕР РАД**

**Нови Сад, 2025**





**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**



**Департман за сточарство**

Кандидат:

**Константин Николић**

Ментор:

**Доц. др Саша Крстовић**

**АФЛАТОКСИН М1 У МЛЕКУ И ПРОЦЕНА  
ИЗЛОЖЕНОСТИ ПОТРОШАЧА**

**МАСТЕР РАД**

**Нови Сад, 2025**

## **КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ МАСТЕР РАДА**

**Проф. др Игор Јајић, редовни професор**

Научна област: Исхрана животиња

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

Председник комисије

---

**Проф. др Ксенија Чобановић, ванредни професор**

Научна област: Стоچارство

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

Члан

---

**Доц. др Саша Крстовић, доцент**

Научна област: Исхрана животиња

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

Ментор

---

# Садржај

<b>1. Увод.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Преглед литературе.....</b>	<b>3</b>
2.1. Афлатоксини .....	3
2.2. Афлатоксини у кукурузу.....	7
2.3. Афлатоксин М1 у млеку.....	9
2.4. Превенција и елиминација афлатоксина .....	12
2.5. Законска регулатива .....	14
<b>3. Задатак и циљ рада .....</b>	<b>16</b>
<b>4. Материјал и метод рада.....</b>	<b>17</b>
4.1. Прикупљање узорака.....	17
4.2. Анализа узорака .....	17
4.3. Процена здравственог ризика.....	17
4.4. Статистичке методе .....	19
<b>5. Резултати и дискусија.....</b>	<b>20</b>
5.1. Годишње варијације .....	20
5.2. Сезонске варијације.....	24
5.3. Процена здравственог ризика.....	27
<b>6. Закључак .....</b>	<b>31</b>
<b>7. Литература.....</b>	<b>32</b>

# АФЛАТОКСИН М1 У МЛЕКУ И ПРОЦЕНА ИЗЛОЖЕНОСТИ ПОТРОШАЧА

## РЕЗИМЕ

Циљ овог истраживања је утврђивање присуства и концентрације афлатоксина М1 (AFM1) у сировом крављем млеку са територије Србије и процена изложености потрошача. У периоду 2021-2025. анализирано је 907 узорака ELISA методом. Резултати показују да је 70,1% узорака садржало нивое токсина више од дозвољене границе ЕУ (50 ng/kg). Просечна концентрација износила је 189,8 ng/kg, највиша је утврђена у узорцима из 2025. године (263,05 ng/kg), док је најнижа у узорцима из 2021. године (86,40 ng/kg). Сезонске разлике су биле статистички значајне ( $p < 0,05$ ), са највишим концентрацијама током зиме (251,60 ng/kg), што се може повезати са повећањем употребе складиштене сточне хране. Процењени дневни унос (EDI) износио је од 0,173 до 1,211 ng/kg телесне масе дневно, а маргина изложености (MoE) указује на потенцијални здравствени ризик, нарочито за децу и људе са већом конзумацијом млека. Резултати указују на потребу за континуираним мониторингом и усклађивањем прописа са стандардима ЕУ зарад заштите јавног здравља.

**Кључне речи:** *афлатоксин М1, ELISA, изложеност потрошача, здравствени ризик*

## AFLATOXIN M1 IN MILK AND CONSUMER EXPOSURE ASSESSMENT

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence and concentration of aflatoxin M1 (AFM1) in raw milk from Serbia and to assess consumer exposure. Between 2021 and 2025, a total of 907 samples were analyzed using the ELISA method. Results show that in 70.1% of samples, AFM1 levels exceeded the EU limit (50 ng/kg). The mean concentration was 189.8 ng/kg, with the highest value in 2025 (263.05 ng/kg), and the lowest in 2021 (86.40 ng/kg). Seasonal differences were statistically significant ( $p < 0.05$ ), with the highest levels in winter (251.60 ng/kg), likely due to increased use of stored feed. The estimated daily intake (EDI) ranged from 0.173 to 1.211 ng/kg body weight per day, while margin of exposure (MoE) values indicated a potential health risk, particularly for children and high milk consumers. These results highlight the need for continuous monitoring and harmonization of regulations with EU standards to protect public health.

**Key words:** *aflatoxin M1, ELISA, consumer exposure, health risk*

## СПИСАК СКРАЋЕНИЦА

**AF** - Афлатоксин

**BMDL<sub>10</sub>** - доња граница интервала поверења за референтну (граничну) дозу

**EDI** - процењени дневни унос супстанце

**EFSA** - Европска агенција за безбедност хране

**FAO** - Организација за храну и пољопривреду

**GAP** - добра пољопривредна пракса

**IARC** - Међународна агенција за истраживање канцера

**JECFA** - Заједнички стручни комитет FAO и WHO за адитиве у храни

**LB** - доња граница

**LOD** - граница детекције

**MoE** - маргина изложености

**TDI** - прихватљив дневни унос

**UB** - горња граница

**WHO** - Светска здравствена организација

**EU** - Европска унија

**RHMZ** - Републички хидрометеоролошки завод

## 1. УВОД

Афлатоксини су токсични метаболити које производе филаментозне гљиве рода *Aspergillus*. Ове токсичне материје су природни контаминенти хране, стога је њихова појава неизбежна, и веома је битно да се усеви и храна која је контаминирана детоксикује. Гљиве *A. flavus* и *A. parasiticus* инфицирају многе усеве на пољу, током жетве, у складишту и током прераде. Присуство ових гљива је појачано факторима као што су стрес који настаје услед екстремних временских услова или оштећења самих усева као последица активности инсеката. Ове врсте веома добро расту и продукују токсине на температурама од 15 °C до 44 °C, док је оптимална температура за раст 35 °C, а за продукцију токсина 33 °C. Битан фактор за продукцију токсина и раст је активност воде, те је оптимална активност воде за продукцију токсина 0,99 док је оптимална активност воде за раст 0,95.

Афлатоксини су хепатотоксини, те је главна мета њиховог токсичног деловања јетра. Рани симптоми изложености животиња афлатоксинима су грозница малаксалост и анорексија, праћене боловима у стомаку, повраћањем, хепатитисом, и угинућем. Међутим случајеви акутног тровања су ретки. Хронична токсичност афлатоксина се састоји од имуносупресивних и канцерогених ефеката. Изложеност људи овим токсичним материјама представља озбиљну опасност по здравље. Млеко је намирница коју конзумирају људи свих старосних група, и извор је микро и макро нутријената који су кључни за раст и развој. Међутим, здравствена безбедност млека и производа од млека је често угрожена од стране афлатоксина М1 (AFM1). AFM1 и М2 настају као деривати афлатоксина В типа кроз различите метаболичке процесе, и јављају се у животињама и у производима животињског порекла. Шест сати након исхране храном контаминираном афлатоксином В1 (AFB1), AFM1 је присутан у

млеку. Уколико се унос АFB1 заустави, количина АFM1 у млеку ће након 72 часа пасти на занемарљиви ниво.

Истраживања показују да су деца највише изложена храни која је контаминирана афлатоксином. Доступни докази упућују на то да новорођенчад и мала деца имају већу могућност да доживе штетне ефекте микотоксина због њихових неразвијених метаболичких путева, већег односа уноса микотоксина у односу на телесну масу и мањег капацитета детоксикације у односу на одрасле људе. Истраживањем је утврђено да је ризик од изложености АFB1 код деце био дупло већи него код адолесцената, и чак шест пута већи од ризика код одраслог становништва. Европска комисија препоручује спровођење метода добре пољопривредне праксе попут плодореда, припреме и управљања земљиштем пре и после сетве, избора сорти и употребе одговарајућих фунгицида. Иако је превентива и даље најбољи начин да се очува квалитет хране и заштити од контаминације микотоксинима, некада није довољна. Из тог разлога, развијене су различите методе за деконтаминацију и детоксификацију, а оне могу бити физичке, хемијске, биолошке и комбиноване. Према прописима ЕУ концентрација АFM1 у млеку не сме да прелази 0,05 µg/kg, док је ограничење у храни за бебе 0,025 µg/kg. С друге стране, домаћим прописима максимално дозвољена количина АFM1 у млеку је чак пет пута већа од ЕУ ограничења, и износи 0,25 µg/kg.

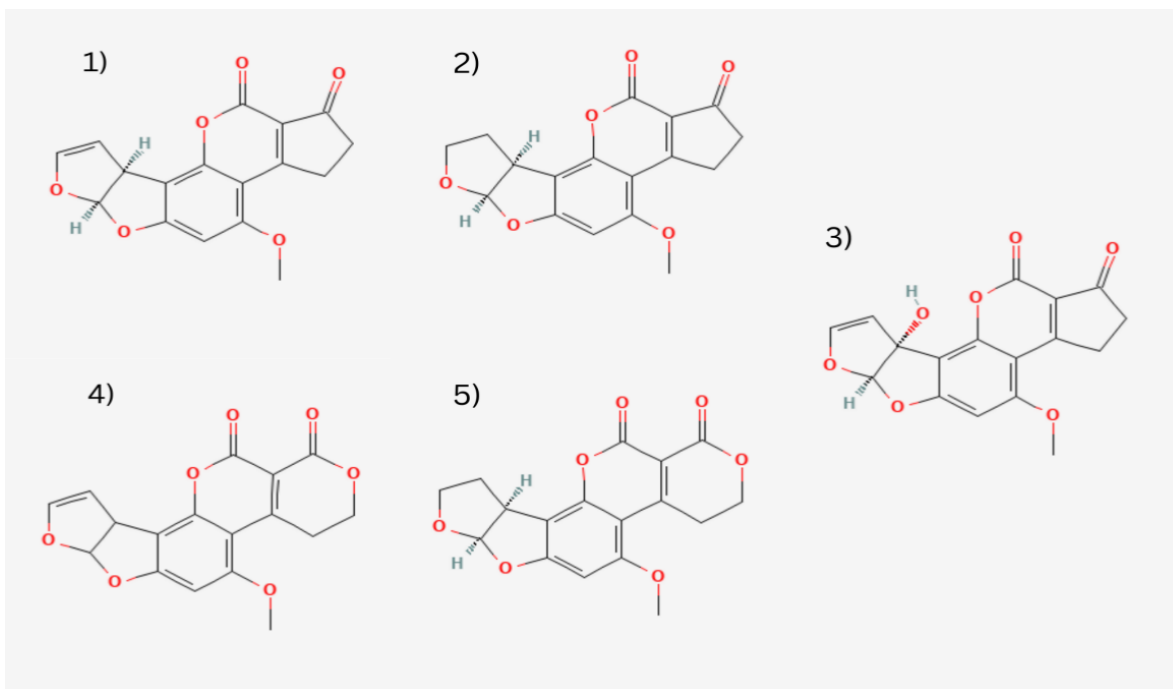
## 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 2.1. АФЛАТОКСИНИ

Афлатоксини (AF) су токсични метаболити које производе филаментозне гљиве рода *Aspergillus*. Врсте које производе ове микотоксине су *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, и *A. tamarii*. Због своје учесталости, само *A. flavus* и *A. parasiticus* су значајни за пољопривреду, стога се они користе за проучавање биосинтезе афлатоксина (Payne и Brown, 1998). Ове токсичне материје су природни контаминенти хране, стога је њихова појава неизбежна, и веома је битно да се усеви и храна која је контаминирана детоксикује (Lakkireddy и сар., 2014). Током касних 1950-их и раних 1960-их година, појавила се нова, тада непозната, болест ћурки. Тада је на једној живинарској фарми у Лондону угинуло чак 100.000 ћурки које су храњене контаминираном сачмом бразилског кикирикија. Ветеринарски истраживач Вилијам Перси Блаунт (William Percy Blount) је прецизно описао симптоме, поготово лезије на јетри, и закључио да би обољење могло бити последица тровања непознатим агенсом. Хистолошки налази код младих ћурки које су изненада угинуле су описане у другим студијама, и све је указивало на то да је узрок болести тровање неидентификованом токсичном супстанцом. Када су се угинућа са истим симптомима појавила и код других врста животиња, отпочета су истраживања на пацовима, који су храњени сачмом кикирикија (Pickova и сар., 2021). Појава канцера јетре код пацова је потврдило сумње, и истраживања су показала да сачма кикирикија садржи токсичне метаболите које производе гљиве (Schoental, 1961). Крајем 1961. године установљено је да ове токсичне метаболите производе неки сојеви гљиве *Aspergillus flavus*. Токсин је екстрахован и орално дат једнодневним пачићима, код којих је угинуће наступило кроз 24 часа, са типичним симптомима такозване ћуреће „Х” болести, нарочито оштећењима на јетри. Заједничким трудом истраживача поља ветрине, сточарства, токсикологије, хемије и микологије, откривена је токсична супстанца, и додељен јој је назив афлатоксин (Pickova et al., 2021).

### 2.1.1. Физичко-хемијске особине афлатоксина

Афлатоксини су безбојни, до бледо-жути кристали, који испољавају флуоресцентност под UV светлом. Слабо су растворљиви у води (10-20  $\mu\text{g/ml}$ ), док су у органским растварачима, попут хлороформа, метанола и диметил сулфооксида, потпуно растворљиви (Kumar, 2018). Са хемијског аспекта (Слика 1), афлатоксини су деривати дифуранокумарина у којима је бифуранска група везана за једну страну кумаринског језгра, а за супротну страну пентатонски прстен у случају афлатоксина В серије, док је на његовом месту лактонски прстен у случају афлатоксина G серије (Kumar и сар., 2017). Хемијски су нестабилни када су изложени кисеонику под UV светлом, као и на екстремним рН вредностима нижим од 3 или вишим од 10. Лактонски прстен се отвара у алкалним условима и афлатоксини се уништавају, међутим ова реакција је реверзибилна при третману киселином. Амонификација афлатоксина при високим температурама доводи до отварања лактонског прстена и доводи до декарбоксилације афлатоксина, која је иреверзибилна (Kumar, 2018).



Слика 1: Хемијска структура афлатоксина 1) AFB1; 2) AFB2; 3) AFM1; 4) AFG1; 5) AFG2

### 2.1.2. Продукција афлатоксина

Гљиве рода *Aspergillus* су индустријски важна група микроорганизама распрострањена широм света. Постоје врсте које су корисне, попут *A. niger*, али и врсте које имају негативне ефекте и доводе до обољења на грожђу, белом луку, кикирикију, кукурузу, кафи и другом воћу и поврћу. Гљиве *A. flavus* и *A. parasiticus* инфицирају многе усеве на пољу, током жетве, у складишту и током прераде. *A. flavus* је доминантан у кукурузу, памуку и орашастим плодовима, док је *A. parasiticus* доминантан у кикирикију. *A. flavus* производи афлатоксине (AF) B1 и B2, док изолати *A. parasiticus* производе (AF) G1, G2, M1, B1 и B2 (Kumar и сар., 2017). Ове врсте веома добро расту и продукују афлатоксине на температурама од 15 °C до 44 °C, док је оптимална температура за раст 35 °C, а за продукцију токсина 33 °C. Поред температуре веома је значајна и активност воде. За раст ових врста потребна је активност воде у распону 0,91-0,99. За продукцију токсина оптимална активност воде је 0,99 док је оптимална активност воде за раст 0,95 (Daou и сар., 2021). Доступност кисеоника и угљен-диоксида представља још један од фактора који утиче на продукцију афлатоксина. Раст гљива као и производња ових микотоксина је инхибирана при вишим нивоима угљен-диоксида, и нижим нивоима кисеоника (Kumar и сар., 2021). Када се споре ових гљива нађу у присуству одговарајућег извора нутријената, уз погодне услове околине (топло и суво), гљиве се брзо развијају и производе афлатоксине. Присуство ових гљива је појачано факторима као што су стрес који настаје услед екстремних временских услова или оштећења самих усева као последица активности инсеката. AFM1 и AFM2 настају као деривати AFB типа кроз различите метаболичке процесе, и јављају се у животињама и у производима животињског порекла. Биосинтеза афлатоксина се састоји од 18 ензиматских корака за конверзију од ацетил-коензима А (ацетил-СоА), и најмање 25 гена који кодирају ензиме и регулаторне путеве (Kumar и сар., 2017).

### 2.1.3. Токсичност афлатоксина

Афлатоксини су хепатотоксини, те је главна мета њиховог токсичног деловања јетра. Када је реч о токсичности појединих афлатоксина, АFB1 је најтоксичнији, а прате га АFG1, АFB2, АFG2 (Lakkireddy и сар., 2014). АFB1 је најтоксичнији и најпотентнији хепатоканцероген, стога је класификован у прву групу хуманих канцерогена. За материје које су класификоване у прву групу хуманих канцерогена постоје уверљиви докази да доводе до појаве канцера код људи (IARC, 1993). Рани симптоми изложености афлатоксинима су грозница, малаксалост и анорексија, праћене боловима у стомаку, повраћањем, хепатитисом, и угинућем. Међутим случајеви акутног тровања су ретки. Хронична токсичност афлатоксина се састоји од имуносупресивних и канцерогених ефеката (Kumar, 2018). Афлатоксини доводе до смањене ефикасности имунизације код деце, што доводи до повећаног ризика од инфекција. Ови токсини представљају највећи ризик у производњи млека због присуства њиховог деривата АFM1, који представља потенцијалну опасност по здравље људи. Афлатоксин В1 се брзо апсорбује у дигестивном тракту и метаболише до АFM1 у јетри. Иако АFM1 има мање мутагено и канцерогено деловање од АFB1, испољава високу генотоксичну активност. Други ефекти овог токсина су оштећења на јетри, смањена производња млека, имуносупресивни ефекти и смањен проток кисеоника до ткива због анемије, што доводи до смањеног апетита код млечних говеда (Kumar и сар., 2017; Lakkireddy и сар., 2014).

## 2.2. АФЛАТОКСИНИ У КУКУРУЗУ

Микотоксини, па и афлатоксини, су присутни у већини усева широм света. Афлатоксини могу да инфицирају усеве током раста на пољу, али и након жетве. Често се налазе у разним житарицама, уљарицама, зачинима и орашастим плодовима. Намирнице попут кукуруза, пиринча, кикирикија, и других орашастих плодова су веома подложни контаминацији овим микотоксином, док су пшеница, овас, јечам, пиринч, соја, и слични усеви отпорнији на контаминацију (Kumar и сар., 2017; Kumar и сар., 2021). Време жетве се показало као важан фактор који утиче на појаву и нивое афлатоксина јер гљиве рода *Aspergillus* не успевају брзо да се развију у присуству других гљива, када је влага кукуруза виша од 20%. Жетва кукуруза када је садржај воде виши од 20%, уз брзо сушење на минимално 14% у року од 24 до 48 часова након жетве, може инхибирати раст и продукцију микотоксина *Aspergillus* гљива. На фармама, афлатоксикоза је типично обољење код којег се промене примећују на целом стаду, а не на индивидуама. Ако се посумња на афлатоксикозу, храну за животиње је потребно анализирати што пре, и уклонити извор контаминације. Поред тога што негативно утичу на нутритивну вредност хранива, присуство гљива негативно утиче на изглед, укус и мирис хранива, што смањује палатибилност и утиче на конзумацију хране (Negash, 2018).

У узорцима кукуруза са територије Француске у периоду од 2018. до 2020. године је забележен пораст у броју контаминираних узорака. Удели контаминираних узорака из 2018. и 2019. године су износили 3,6% и 2,2% након чега је забележен раст у узорцима из 2020. године, са 16% контаминираних узорака (Bailly и сар., 2025). У периоду од 2013. до 2020. године прикупљани су узорци кукуруза са територије Северне Италије, којима је утврђено да је 23,8% узорака позитивно на присуство афлатоксина, док су нивои афлатоксина виши од ЕУ регулативе у 10% узорака (Ferrari и сар., 2022). Током петогодишњег праћења контаминације кукуруза афлатоксинима у Шпанији (2015-2019), утврђено је да је 9,2% узорака позитивно, док код 3% узорака садржај афлатоксина превазилазио ЕУ регулативу (Tarazona и сар., 2020). У периоду од 2018. до 2021. године је анализирано по 100 узорака годишње, који воде порекло са територије Србије. Хронолошким редом, почев од 2018. до 2021. године, удели позитивних узорака су износили 11%, 11%, 5% и 84%.

Од 100 узорака из 2021. године, 61 узорак је садржао нивое више од прописа и Европске и Српске регулативе (Pleadin и сар., 2023).

### 2.3. АФЛАТОКСИН М1 У МЛЕКУ

Млеко је намирница коју конзумирају људи свих старосних група, и извор је микро и макро нутријената који су кључни за раст и развој. Међутим, здравствена безбедност млека и производа од млека је често угрожена од стране АFB1 (Guo и сар., 2024). Ова токсична супстанца настаје као метаболит АFB1 код млечних животиња која су храњена храном контаминираном АFB1 (Zahra, 2024). Молекул АFB1 остаје стабилан током различитих поступака у преради млека (стерилизација, пастеризација, и ферментација) и остаје присутан у млечним производима (сиреви, јогурт, млеко у праху и др.) (Guo и сар., 2024). Пошто је АFB1 релативно мали молекул, он се брзо апсорбује. Транспортује се до јетре, где се трансформише у АFB1 након чега се излучује у млеко. Шест сати након исхране контаминираном храном, АFB1 је присутан у млеку (Mazaheri и сар., 2024). Истраживања показују да животиње конвертују, у просеку око 2% конзумираног АFB1 у АFB1, док је код високо производних животиња степен конверзије око 6% (EFSA, 2004). Уколико се унос АFB1 заустави, количина АFB1 у млеку ће пасти на занемарљив ниво након 72 часа. Иако је канцерогени потенцијал АFB1 значајно нижи од АFB1, ризик његовог присуства у узорцима млека остају опасност по здравље људи, а нарочито по здравље деце која су подложнија деловању овог токсина због веће конзумације млека и варирајућег степена метаболичности (Zahra, 2024).

Анализа 1951 узорка са територије Хрватске у периоду од 2022. до 2024. године је показала да је 18,7% узорака сировог млека позитивно на присуство АFB1, док концентрација АFB1 у 5,67% узорака није била у складу са ЕУ регулативом (Bilandžić и сар., 2025). Прикупљени узорци сировог млека са територије Северне Италије од 2013. до 2021. године су показали веома низак степен контаминације. Од укупно 95.882 узорака 3,2% је садржавало АFB1 у концентрацијама вишим од 25 ng/L, док је свега 0,7% узорака било изван Европске регулативе (Ferrari и сар., 2023). Једна од највећих студија која се односи на присуство АFB1 у млеку са територије Србије обухвата резултате преко 20.000 узорака из периода од 2015. до 2018. године. Хронолошким редом, удели позитивних узорака су били 70%, 85%, 79% и 82%, док је чак 30%, 31%, 27% и 22% узорака садржало количине АFB1 више од Европске регулативе (Milićević и сар., 2019).

### 2.3.1. Афлатоксин M1 у исхрани људи

Изложеност овим токсичним материјама представља озбиљну опасност по здравље људи. У организам људи, афлатоксини доспевају из контаминираних намирница које су најчешће јаја, месо и производи од меса, млеко и млечни производи (Kumar и сар., 2017). Афлатоксини могу имати негативан утицај на физиолошко стање људи и животиња тако што доводе до оштећења ДНК, канцера, и абнормалности у развоју ембриона током дугорочне изложености (Peles и сар., 2021). Приликом конзумације, наизменичне групе карбонила и метилена, назване поликетиди, се апсорбују, модификују и преносе у различите делове организма. Дугорочна изложеност афлатоксинима доводи до акутног тровања које може бити од велике опасности по живот, и углавном изазива оштећења на јетри (Alameri и сар., 2023). Истраживања показују да су деца највише изложена свој храни која је контаминирана афлатоксином. Доступни докази упућују на то да новорођенчад и мала деца имају већу могућност да доживе штетне ефекте микотоксина због њихових неразвијених метаболичких путева, већег односа уноса микотоксина у односу на телесну масу и мањег капацитета детоксикације у односу на одрасле људе. Истраживањем је утврђено да је ризик од изложености АFB1 код деце био дупло већи него код адолесцената, и чак шест пута већи од ризика код одраслих (Ezekiel и сар., 2021). Друга истраживања су показала да пастеризовано и УНТ млеко има највећи степен контаминације, са чак 79% позитивних узорака и највишом просечном концентрацијом АFM1, док је сир имао најнижу просечну концентрацију (Milićević и сар., 2021). Највећи допринос ризику од хепатоцелуларног канцера (HCC) услед излагања АFM1 била је конзумација млечних производа, у облику пастеризованог и УНТ млека (Alameri и сар., 2023). Истраживање Udovički и сар. (2020) испитало је присуство АFM1 у преко 10.000 узорака са територије Србије, у периоду од 2013. до 2016. године. Удео контаминираних узорака износио је 67,8% док је 27,6% узорака садржало концентрације више од прописаних. Истраживање истих аутора за период од 2015. до 2023. године обухватило је више од 14.000 узорака, где је контаминација утврђена у чак 78% узорака (Udovički и сар., 2023). Према извештају EFSA, процењена изложеност становништва Европе АFM1 путем конзумације млека и млечних производа износи од 0,01 до 0,08 ng/kg телесне масе дневно, у зависности од старосне доби и навика у исхрани. Изложеност деце може бити и пет пута већа

због већег уноса млека у односу на телесну масу. Дуготрајна изложеност чак и ниским количинама афлатоксина представља озбиљан ризик по здравље (EFSA, 2020).

## 2.4. ПРЕВЕНЦИЈА И ЕЛИМИНАЦИЈА АФЛАТОКСИНА

Продукција микотоксина у природи је неизбежна у већини хранива и намирница. Уништавање контаминираних усева доводи до великих економских губитака, стога су контрола микотоксина у раним фазама прехранбеног ланца и примарна превенција у критичним тачкама на пољу и током жетве и складиштења од кључног значаја. Европска комисија препоручује спровођење метода добре пољопривредне праксе (GAP) попут плодореда, припреме и управљања земљиштем пре и после сетве, избора сорти и употребе одговарајућих фунгицида (Daou и сар., 2021; Zhu и сар., 2017).

Превенција у преджетвеном периоду се заснива на принципима GAP, као што су употреба усева отпорних на инсекте, правилно ђубрење, наводњавање, орање и плевљење. У периоду након жетве основни поступци у превенцији контаминације афлатоксинима су темељно сушење, правовремено складиштење и транспорт у чистим и сувим складишним контејнерима. Кључни услови за адекватно складиштење су чисти и суви објекти без инсеката и глодара. Иако је превентива и даље најбољи начин да се очува квалитет хране и заштити од контаминације микотоксинима, некада она није довољна. Из тог разлога, развијене су различите методе за деконтаминацију и детоксификацију, и деле се на физичке, хемијске, биолошке и комбиноване методе (Daou и сар., 2021). У физичке методе за контролу *A. flavus* и афлатоксина се убрајају третмани зрачењем и атмосфером сиромашном кисеоником. Зрачење као физички третман је санитарни процес без загревања којим се избегава штета од изложености високим температурама, док се безбедно и ефективно уклања микробна контаминација и смањују се нивои микотоксина. За то се користи рендгенско зрачење, гама зрачење, и зрачење електронским снопом (Kumar и сар., 2017; Pickova и сар., 2021).

Villers и Gummert (2009) тестирали су ултрахерметички метод складиштења. Овај метод прави услове ниске количине кисеоника, и тиме умањује природну респирацију микроорганизама и инсеката, што зауставља развој гљива. Још једна од погодности је што за овај метод складиштења нису потребне хемикалије, фумиганти, струја и вода (Gong и сар., 2024; Villers и Gummert, 2009). Контрола *A. flavus* и афлатоксина током складиштења је могућа и помоћу разних хемијских агенаса.

Различита истраживања су показала да највеће инхибиторне ефекте имају бензалконијум-хлорид и јод, док 1-нонанол у концентрацији од 0,11  $\mu\text{l/ml}$  у гасовитом стању и 0,2  $\mu\text{l/ml}$  у течном стању могу у потпуности да инхибирају раст *A. flavus* (Lemos и сар., 2020; Zhang и сар., 2021). Иако су се многи хемијски третмани показали повољним и ефективним, њихова употреба је још увек забрањена од стране Европске Уније, због опасности које представљају могући токсични нуспроизводи ових процеса. Микроби, као организми које брзо расту и лако се узгајају, су се показали као ресурс велике вредности у продукцији економичних и ефикасних антифунгалних агенаса против *A. flavus* и афлатоксина. За ове сврхе користе се микроорганизми попут бактерија, квасаца, гљива и алги. Велика потражња за овим методима је настала из жеље за природним методама, како би се заменили хемијски и физички третмани. Микроорганизми коришћени у овим процесима успешно везују, разлажу, или модификују микотоксине у мање токсичне супстанце (Gong и сар., 2024; Daou и сар., 2021). Истраживања су показала да се деконтаминација млека од АФМ1 може извести помоћу комерцијалних сојева пробиотских микроорганизама, као што су *Saccharomyces boulardi*, *Lactobacillus casei*, и *Lactobacillus acidophilus*. Међутим, потребно је спровести још истраживања, како би се утврдили механизми деловања ових микроорганизама приликом уклањања токсина, и омогућила њихова примена у индустрији млека и млечних производа (Rezasoltani и сар., 2022).

## 2.5. ЗАКОНСКА РЕГУЛАТИВА

Присуство микотоксина у храни и храни за животиње је проблем који може довести до катастрофалних последица. Из тог разлога су прописане максималне дозвољене концентрације ових токсичних материја.

Европска директива ЕС 1881/2006 (ЕС, 2006) одређује максималне вредности концентрације афлатоксина у различитим хранивима. Ограничење за АFB1 у житарицама и производима од житарица је 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , осим у случају хране за децу и одојчад, када је ограничење 0,10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Максимална дозвољена концентрација АFM1 у сировом млеку, термички обрађеном млеку и млеку за даљу прераду је 0,050  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , док је ограничење у млечним формулама за бебе и дијететској храни за посебне медицинске сврхе 0,025  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Правилник о максималним концентрацијама одређених контаминената у храни (Службени гласник РС, 2024), прописује ограничења која су у сагласности са европском директивом, осим у случају АFM1 у млеку, чија је максимална дозвољена концентрација чак пет пута виша од европске и износи 0,25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Прописана ограничења приказана су у табели 1.

**Табела 1:** Максимално дозвољене количине афлатоксина у храни према прописима ЕУ (ЕС 1881/2006) и Републике Србије (Службени гласник РС, 2024).

Врста хране	Афлатоксин	Ограничења ЕУ	Ограничења РС
Житарице и производи од житарица	B1	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Дечја храна на бази житарица	B1	0,10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0,10 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Млеко	M1	0,050 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Млеко и формуле за одојчад	M1	0,025 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0,025 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Када је реч о храни за животиње, ограничења за АFB1 прописана су ЕУ регулативом ЕУ 574/2011. У хранивима нису дозвољене концентрације више од 20 µg/kg, док је ограничење за потпуне и допунске смеше за телад, јагњад и јарад 10 µg/kg. Потпуне смеше намењене за исхрану млечних животиња не смеју да садрже више од 5 µg/kg АFB1. Према правилнику о квалитету хране за животиње, у Србији је ограничење за АFB1 у хранивима 30 µg/kg, док су остала ограничења углавном у сагласности (Службени гласник РС, 2017).

**Табела 2:** Максимално дозвољене концентрације афлатоксина у храни за животиње према прописима ЕУ (574/2011) и Републике Србије (Службени гласник РС, 2017).

<b>Врста хране</b>	<b>Ограничења ЕУ</b>	<b>Ограничења РС</b>
Хранива	20 µg/kg	30 µg/kg
Потпуне смеше	10 µg/kg	10 µg/kg
Потпуне смеше за исхрану млечних животиња	5 µg/kg	5 µg/kg

### 3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА

Истраживање има за циљ да се прикупи репрезентативан број узорака сировог млека са пољопривредних газдинстава у Србији и да се испита присуство афлатоксина М1, са посебним нагласком на идентификацију потенцијалних извора контаминације и варијабилности концентрација у различитим регионима и у различитим периодима године.

На основи добијених резултата извршиће се процена дневног уноса (Estimated Daily Intake – EDI) и маргиналне изложености (Margin of Exposure – MoE) потрошача, чиме ће се добити конкретни подаци о нивоу ризика који афлатоксини представљају за здравље људи у Србији. Поред тога, истраживањем ће бити анализирана и годишња и сезонска варијабилност контаминације, како би се боље разумели обрасци појављивања афлатоксина у млеку и омогућило правовремено планирање и примена мера контроле ризика у ланцу исхране.

Очекује се да резултати овог истраживања обезбеде научно засноване и поуздане податке који ће омогућити доношење препорука за побољшање безбедности хране за животиње и производа животињског порекла, унапређење пракси на фармама, као и повећање свести фармера и надлежних институција о значају редовног надзора и контроле квалитета хране за животиње.

## **4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА**

### **4.1. ПРИКУПЉАЊЕ УЗОРАКА**

Прикупљено је 907 узорака сировог млека у периоду од јануара 2021. до августа 2025. који су анализирани на садржај AFM1. Узорци су прикупљени директно од фармера са територије Србије. Узорковање је извршено у складу са регулативом ЕУ. Узорци су одмах транспортовани у лабораторију, чувани у фрижидеру на 4° С и анализирани у току 24 часа.

### **4.2. АНАЛИЗА УЗОРАКА**

Присуство AFM1 анализирано је имунохемијским (ELISA) тестом, користећи Veratox® Aflatoxin M1 (каталожка ознака: 8019) комплета за тестирање (Neogen, USA). Интензитет боје је измерен фотометријски на 630 nm, употребом читача микро-плоча ELx800 (Bio Tek, САД), и обрнуто је пропорционалан концентрацији микотоксина у узорку. Специјализован софтвер Gen5 верзија 1.04 (Bio Tek, САД) је коришћен за евалуацију добијених резултата. Потврђена граница детекције (LOD) за ELISA технику су 5 ng/kg, што се сматра задовољавајућим у односу на референтну вредност за AFM1 од 250 ng/kg. Перформансе ELISA методе су потврђене анализом узорака обогаћених познатим количинама анализита, као и учешћем у програмима међулабораторијског поређења (узорци млека у праху FAPAS 04396, 04490, са z-вредностима 1,4 и -0,6). Остварена тачност за AFM1 је износила 110%.

### **4.3. ПРОЦЕНА ЗДРАВСТВЕНОГ РИЗИКА**

Процена здравственог ризика спроведена је употребом података о присуству AFM1 и конзумацији млека. Ради смањења непоузданости која потиче од недетектованих нивоа токсина (испод границе детекције, LOD), примењене су методе одређивања доње границе (LB) и горње границе (UB). Ови приступи се препоручују за хемијска једињења која се појављују у храни, попут природних контаминаната, као што су микотоксини. Према методама замене наведеним у референцама WHO/IPCS (2009) и EFSA (2010), вредности испод LOD замењене су вредношћу нула (LB) или вредношћу на нивоу LOD (UB). Поред тога израчунати су одабрани перцентили (P50 до P95) концентрација AFM1.

Подаци о конзумацији млека преузети су из података Републичког завода за статистику (2014). Процењени дневни унос (*estimated daily intake*, EDI) AFM1 из млека израчунат је комбиновањем одабраних концентрационих нивоа (средња вредност из LB и UB, P50, P75, P90, P95) са одговарајућим подацима о потрошњи млека (WHO, 2025), према формули:

$$EDI = \Sigma (C_i \times V_w) / b.w.$$

Где је:

EDI - процењени дневни унос AFM1 путем млека (ng/kg телесне масе дневно)

C<sub>i</sub> - ниво концентрације AFM1 у млеку (средња вредност или изабрани перцентил, ng/kg)

V<sub>w</sub> - количина конзумираног млека (kg/дан)

b.w. - телесна маса (kg)

Просечна телесна маса за одређене старосне групе становништва Србије је преузета из националног истраживања здравственог стања (Институт за јавно здравље Србије, 2013).

Карактеризација ризика извршена је проценом маргине изложености (*margine of exposure*, МоЕ) (EFSA, 2020). МоЕ је израчуната као однос доње границе интервала поверења за референтну (граничну) дозу и процењеног дневног уноса AFM1 из млека:

$$MoE = BMDL_{10} / EDI$$

Где је:

МоЕ - маргина изложености

BMDL<sub>10</sub> - доња граница интервала поверења за референтну (граничну) дозу (400 ng/kg телесне масе дневно за AFM1; фактор потенције за AFM1 је 0,1 у односу на AFB1)

EDI - процењени дневни унос AFM1 из млека (ng/kg телесне масе дневно)

Маргина изложености (МоЕ) од 10.000 или више се сматра показатељем ниског здравственог ризика.

#### 4.4. СТАТИСТИЧКЕ МЕТОДЕ

Анализа података извршена је помоћу софтвера Statistica, верзија 14.0.0.15 (2020, TIBCO Software Inc, САД). За поређење добијених резултата коришћени су једносмерна анализа варијансе (ANOVA) и *Duncan-ов post hoc* тест. Вредности са  $p < 0.05$  се сматрају статистички значајним.

## 5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

### 5.1. ГОДИШЊЕ ВАРИЈАЦИЈЕ

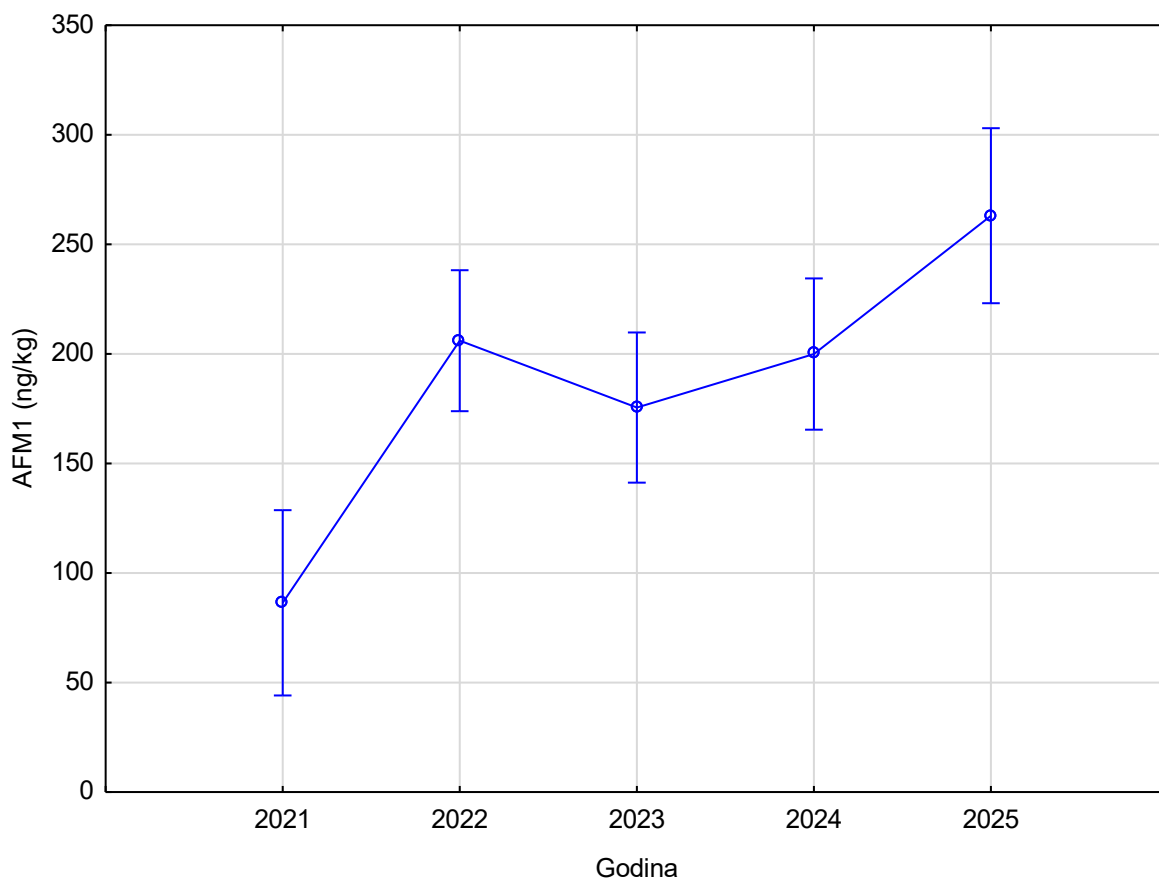
У табели 3 и на слици 2 сумиране су годишње варијације концентрација AFM1 за време проучаваног периода. Број узорача млека анализираних на концентрацију AFM1 варирао је током година, са 132 у 2021, 228 у 2022, 201 у 2023, 198 у 2024. и 148 у 2025. години. Највиша просечна концентрација AFM1 утврђена је у узорцима из 2025. године, и износила је 263,05 ng/kg, са концентрацијама у распону од 223,12 до 302,99 ng/kg. Насупрот томе, најнижа концентрација AFM1 забележена је у узорцима из 2021. године, са средњом вредношћу од 86,40 ng/kg, док су се концентрације кретале у опсегу од 44,11 до 128,69 ng/kg.

**Табела 3:** Годишње варијације AFM1 (ng/kg) у периоду од 2021. до 2025. године (интервал поузданости од 95%).

Година	N	LSM	SE <sub>LSM</sub>	MIN	MAX
2021	132	8,40 <sup>a</sup>	21,55	44,11	128,69
2022	228	206,051 <sup>b</sup>	16,39	173,87	238,23
2023	201	175,54 <sup>b</sup>	17,46	141,27	209,81
2024	198	199,95 <sup>b</sup>	17,59	165,42	234,48
2025	148	263,05 <sup>c</sup>	20,35	223,12	302,99

N – број узорача; LSM – средње вредности најмањих квадрата, SE<sub>LSM</sub> – стандардна грешка LSM, MIN – минимум (−95%), MAX – максимум (+95%). Између вредности које су означене истим словима не постоји статистички значајна разлика ( $p < 0,05$ ).

На основу резултата ANOVA-е утврђено је да постоји статистички значајна разлика у концентрацијама AFM1 у крављем млеку између различитих година ( $F(4, 902) = 9,49$ ;  $p < 0,05$ ). Даља статистичка анализа (*Duncan-ов post hoc* тест) показала је да је просечна концентрација AFM1 забележена у узорцима из 2025. године (263,05 ng/kg) била статистички значајно виша него у осталим посматраним годинама ( $p < 0,05$ ). Док су, с друге стране, узорци из 2021. године показали статистички значајно нижу просечну концентрацију AFM1 (86,40 ng/kg) у поређењу са узорцима из осталих посматраних година ( $p < 0,05$ ). Узорци из периода од 2022. до 2024. године показали су средње нивое контаминације у односу на узорке из 2021. и 2025. године, док значајнија годишња варијација није постојала међу њима ( $p > 0,05$ ).



**Слика 2:** Годишње варијације садржаја AFM1 у периоду 2021–2025. године у Србији ( $F(4, 902) = 9,49$ ;  $p < 0,05$ ; вертикалне линије означавају 0,95 интервале поузданости).

Примећена варијација у нивоу контаминације млека AFM1 може се приписати разликама у контаминацији кукуруза афлатоксинима. AFM1 је метаболит AFB1, који контаминира усеве кукуруза током периода опрашивања и формирања зрна, што се обично дешава у периоду од јула до августа (Zakaria, 2024).

Метеоролошки подаци објављени од стране Републичког хидрометеоролошког завода Србије (РХМЗ, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025) указују на то да су временски услови током критичног периода јул–август значајно варирали од године до године. У 2020. години, када није било већих температурних екстрема који су могли пореметити фенолошке процесе код биљака, тако да су услови били повољни за раст кукуруза. С друге стране, временски услови у 2021. и 2023. години били су мање повољни по усеве, али количине падавина су биле значајније. Насупрот томе, 2022. и 2024. година карактерисале су се топлим и сувим климатским условима током јула и августа, иако су неке падавине забележене почетком и крајем јула, али

не и у августу. Ови временски обрасци су вероватно имали кључну улогу у контаминацији кукуруза АFB1, што је допринело повишењу нивоа АFB1 у млеку у 2022, 2024. и 2025. години, у поређењу са 2021. и 2023. годином. Сем тога, анализом временских услова за 2025. годину, коју су обухватила три топлотна таласа и три периода хлађења у јулу, у комбинацији са периодом веома неповољних падавина, утврђено је да се стање усева и самог земљишта наставило погоршавати током већег дела августа, што је довело до значајног оштећења на усевима, посебно на кукурузу и соји. Ово може бити снажан показатељ да ће нивои АFB1 вероватно бити високи у наредном периоду, што наглашава значај примене превентивних мера.

С обзиром на то да Србија има умерено континенталну климу, раније је постојало опште схватање да је ризик од контаминације афлатоксинима низак (Udovički и сар., 2018). У вези са тим, до 2012. године постојао је велики број објављених радова о присуству афлатоксина у различитим врстама хране за животиње и прехранбених производа у ниским концентрацијама (Matić и сар., 2008; Janković и сар., 2009; Polovinski и Glamočić, 2009; Kos и сар., 2013). Међутим, услед климатских промена, као и развоја савремених аналитичких метода за њихово одређивање, присуство афлатоксина постало је учесталије. Последњих година објављени су бројни научни радови који су се бавили појавом АFB1 у млеку и млечним производима. Кроз последњих пет година у бази података *Web of Science* забележено је преко 270 истраживачких и више од 170 прегледних радова (Kolarić и сар., 2024). Од 2012. године до данас, контаминација афлатоксинима у Србији у различитим врстама хране и хране за животиње редовно се понављала. Контаминација млека и млечних производа АFB1 појавила се почетком 2013. године, као последица контаминације кукуруза афлатоксинима, која се догодила 2012. године и била је обележена сушама (Živančev и сар., 2022). У периоду од 2013. до 2016. године, контаминираност узорака млека АFB1 износила је 67,8% на основу 10.781 анализираних узорка, при чему је 27,6% узорака било изнад прописаних ограничења (Udovički, 2020). Исти аутори су спровели истраживање у периоду од 2015. до 2023. године, које је обухватило око 14.000 узорака млека, где је утврђено да је 78% узорака млека и између 42% и 79% различитих млечних производа било контаминирано АFB1 (Udovički и сар., 2023). Једну од најобимнијих студија из Србије спровели су Milićević и сар. (2019), који су истраживали период од 2015. до 2018. године са

20.232 узорка млека и утврдили високу учесталост AFM1, по годинама хронолошки 70%, 85%, 78,7% и 82,4%.

Као што је већ поменуто, виши нивои AFM1 у годинама 2025, 2024. и 2022. могу се приписати неповољним временским условима. Pleadin и сар. (2023) истичу да се појава афлатоксина у кукурузу углавном повезује са сушама, при чему *Palmer Drought Z*-индекс (показатељ влаге) представља један од релевантних индикатора суше. Након анализе показатеља суше (*Z*-индекса) које је доставио РХМЗ (2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025), јасно је да је значајан део територије Србије током јула и августа 2022, 2024. и 2025. године био изложен умереној до екстремној суши, што је у складу са резултатима овог истраживања.

## 5.2. СЕЗОНСКЕ ВАРИЈАЦИЈЕ

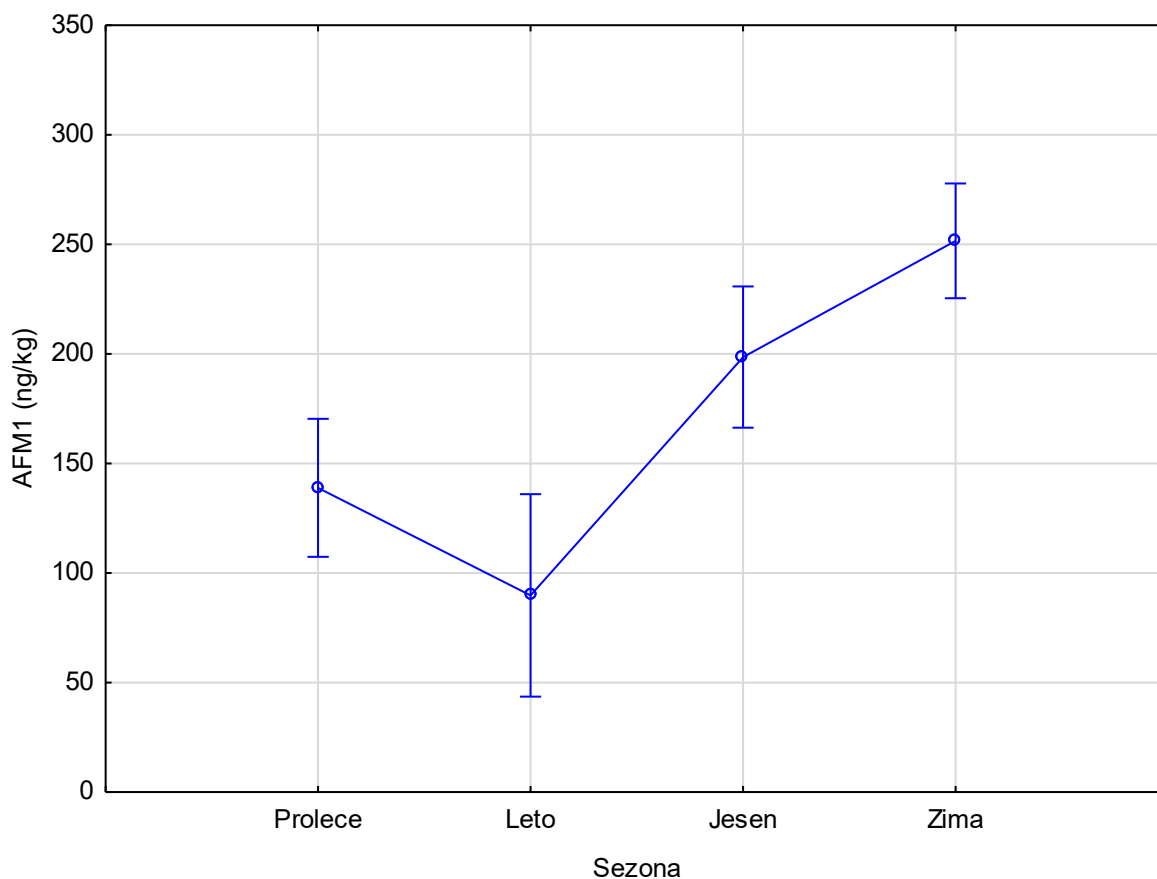
У вези са варијацијом AFM1 током различитих годишњих доба, број анализираних узорака млека износио је 235 за пролеће, 109 за лето, 224 за зиму и 339 за јесен. Сезонска анализа, приказана у табели 4 и илустрована на слици 3, показала је да је највиша концентрација AFM1 у узорцима млека забележена током зиме, са средњом вредношћу од 251,60 ng/kg (у опсегу: 225,39–277,81 ng/kg). Насупрот томе, најнижа концентрација AFM1 забележена је током лета, са средњом вредношћу од 89,74 ng/kg (у опсегу: 43,52–135,97 ng/kg).

**Табела 4:** Сезонске варијације AFM1 (ng/kg) у периоду 2021–2025. године (95% интервал поузданости)

Сезона	N	LSM	SE <sub>LSM</sub>	MIN	MAX
Пролеће	235	138,88 <sup>a</sup>	16,04	107,40	170,36
Лето	109	89,74 <sup>a</sup>	23,55	43,52	135,97
Јесен	224	198,56 <sup>b</sup>	16,43	166,32	230,81
Зима	339	251,60 <sup>c</sup>	13,35	225,39	277,81

N – број узорака; LSM – средње вредности најмањих квадрата, SE<sub>LSM</sub> – стандардна грешка, MIN – минимум (–95%), MAX – максимум (+95%). Између вредности које су означене истим словима не постоји статистички значајна разлика ( $p < 0,05$ ).

ANOVA је показала да је годишње доба имало значајан утицај на нивое AFM1 у крављем млеку ( $F(3, 903) = 16,61$ ;  $p < 0,05$ ). Резултати *Duncan*-овог *post hoc* теста указали су на статистички значајну разлику у концентрацијама AFM1 у узорцима млека из различитих годишњих доба ( $p < 0,05$ ), осим између пролећа и лета ( $p > 0,05$ ). Поред тога, пролеће и лето показали су статистички значајно ниже нивое у поређењу са јесени и зимом ( $p < 0,05$ ). Изненађујуће, узорци из зимске сезоне показали су значајно више концентрације у односу на остала годишња доба ( $p < 0,05$ ).



**Слика 3:** Сезонске варијације садржаја AFM1 у периоду 2021–2025. године у Србији ( $F(3, 903) = 16,61$ ;  $p < 0,05$ ; вертикалне линије означавају 0,95 интервале поузданости).

Ова сезонска варијација у нивоима AFM1 може се приписати разликама у типовима хране коју су животиње конзумирале током хладнијих месеци. Током зиме, смањена доступност зелене кабасте хране често доводи до повећане употребе мешане допунске хране, као што су легуминозе и кукуруз. Ова промена у исхрани може повећати изложеност AFB1 из контаминиране хране, што затим повећава концентрације AFM1 у млеку. Bilandžić и сар. (2014) су напоменули да су виши нивои AFM1 током зиме повезани са повећаном употребом складиштене и прерађене хране, за разлику од летњих месеци, када краве конзумирају више свеже хране. Слична запажања пријавили су Tomašević и сар. (2015), који су указали на значајно више нивое AFM1 у узорцима сировог млека током зиме (358 ng/kg) и пролећа (375 ng/kg) у поређењу са јесени (103 ng/kg) и летом (39 ng/kg), што је у складу са нашим резултатима за зиму, али не и за пролеће и јесен. Студије о појави AFM1 такође подржавају наше налазе. Miočinović и сар. (2017) су утврдили највишу концентрацију AFM1 током јесени, при чему је 44,93% свих узорака сировог млека

прешло прописано ограничење ЕУ. Đekić и сар. (2020) утврдили су да је највећи број узорака сировог млека са АФМ1 добијен током јесени, док је најмањи број добијен током лета. Анализом 248 узорака сировог млека из 2021. године, Јауковић и сар. (2024) закључили су да је за март, април, јун и јул концентрација АФМ1 у млеку била испод границе детекције, док је у септембру број контаминираних узорака износио 27,3%, у октобру 27,6%, у новембру 75,0%, а у последњем месецу године 62,5%.

Предвиђа се да ће се на територији Србије температуре наставити повећавати до краја овог века, на вредности које ће бити у просеку за 3 до 5 °C више него температуре из средине прошлог века (Ђурђевић и сар., 2018). С обзиром на то, три најтоплије године у Србији од 1951. до сада биле су 2024, 2012. и 2025 (РХМЗ, 2025), те је од критичног значаја створити свеобухватан план надзора, контроле и интервенције како би се пратили афлатоксини у целокупном ланцу исхране и избегло понављање кризе из 2013. године, када су у млеку забележени за то време изузетно високи нивои афлатоксина. Један пример таквог система може се наћи у Италији, где је пад броја позитивних узорака на афлатоксине у последњим годинама приписан успостављању Регионалног плана надзора. Овај план је указао на кризу и пружио решења за смањење и одржавање просечне контаминације АФМ1 на ниском нивоу (Ferrari и сар., 2023).

### 5.3. ПРОЦЕНА ЗДРАВСТВЕНОГ РИЗИКА

Процена здравственог ризика заснивала се на просечној дневној конзумацији млека од 0,135 kg по особи (Републички завод за статистику, 2014). Као просечна телесна маса одраслих особа (15+ година старости) узета је 76,27 kg (Институт за јавно здравље Србије, 2014). Израчунавања дневне конзумације МоЕ заснивала су се на BMDL<sub>10</sub> за AFB1 од 400 ng/kg телесне масе дневно и фактору потенције за AFM1 од 0,1 (EFSA, 2020).

Табела 5 показује да је од 907 анализираних узорака, 636 узорака (70,1%) изнад законског лимита ЕУ од 50 ng/kg за AFM1. LB просечна концентрација AFM1 износила је 189,8 ng/kg, док је UB просечна концентрација била 190,4 ng/kg. Медијана или P50 концентрација била је 98 ng/kg, док су P90 и P95 концентрације износиле 491 ng/kg и 684 ng/kg. EDI за AFM1 варирао је од медијане која је износила 0,336 ng/kg телесне масе до 1,211 ng/kg телесне масе на 95. перцентилу. Прорачуната МоЕ из ових уноса кретала се од максималне вредности 23.060 (P50) до минималне 3.304 (P95), што приказује смањење безбедносних маржи са повећањем излагања AFM1.

**Табела 5:** Нивои AFM1 у сировом млеку, процењени дневни унос AFM1 кроз конзумацију млека и МоЕ за појаву хепатоцелуларног канцера код одраслих у Србији.

Ниво AFM1	Сирово млеко (ng/kg)	EDI (ng/kg b.w.)	МоЕ
N	907		
N (%) изнад ML	636 (70,1)		
LB средња вредност	189,8	0,336	11904
UB средња вредност	190,4	0,337	11871
P50	98	0,173	23060
P75	228	0,404	9912
P90	491	0,869	4603
P95	684	1,211	3304

N – број узорака; AFM1 – афлатоксин M1; EDI – процењени дневни унос; МоЕ – маргина изложености; ML – максимални ниво (50 ng/kg); LB – доња граница; UB – горња граница.

Резултати показују велики удео (70,1%) контаминираних узорака сировог млека из Србије, што указује на постојеће изазове у усаглашености са стандардима безбедности афлатоксина у млеку и млечним производима. Средњи нивои AFM1

(LB: 189,8 ng/kg, UB: 190,4 ng/kg) су изнад регулаторног стандарда ЕУ од 50 ng/kg за AFM1 у сировом млеку, што указује на потенцијалне здравствене ризике за потрошаче.

Намирнице које највећим делом доприносе укупној просечној изложености AFM1 у свим старосним групама потрошача су категорије хране „течно млеко“ и „ферментисани млечни производи“ (EFSA, 2020). Присуство AFM1 у млечним производима представља јавну опасност због многих доказаних негативних ефеката на људско здравље (IARC, 2002). Иако се афлатоксини сматрају генотоксичним канцерогенима, Заједнички експертски комитет за адитиве у храни FAO/WHO (JECFA) и Научни комитет за храну (SCF) Европске заједнице нису утврдили прихватљив дневни унос (TDI) за AFM1 у људској исхрани. Kuiper-Goodman (1990) је утврдио максимални TDI за AFM1 од 0,2 ng/kg телесне масе дневно код мушких пацова.

Иако је EDI за AFM1 кроз конзумацију млека већ забрињавајући на медијалном нивоу (0,173 ng/kg телесне масе), значајно је виши и нагло расте на вишим перцентилима (P95 = 1,211 ng/kg телесне масе). Ово показује да чак и просечна потрошња може представљати значајан здравствени ризик, док би потрошачи који конзумирају веће количине млечних производа били изложени још већем ризику. Хронична изложеност AFM1 путем исхране у укупној одраслој популацији европских земаља, према EFSA (2020), износи за просечну изложеност између 0,05 и 0,06 ng/kg телесне масе дневно, док за изложеност у P95 перцентилу износи између 0,13 и 0,16 ng/kg телесне масе дневно.

Udovički и сар. (2023) забележили су највећу изложеност код деце са просечним EDI за AFM1 од 0,336 ng/kg телесне масе дневно, затим код адолесцената са 0,183 ng/kg телесне масе дневно. Просечни EDI одраслих жена износио је 0,161 ng/kg телесне масе дневно, а одраслих мушкараца 0,126 ng/kg телесне масе дневно. Исти аутори навели су да су МоЕ засноване на просечном EDI за све групе популације изнад прага опасности, што указује на низак здравствени ризик услед изложености целокупне популације. Међутим, истакли су да ризик није непостојећи, поготово код деце, јер имају већи удео популације изложен нивоима AFM1 који су повезани са ризицом.

МоЕ анализа омогућава квантификацију ризика. Према смерницама EFSA (2020), вредности МоЕ испод 10.000 у случајевима потенцијално генотоксичних и канцерогених супстанци, укључујући афлатоксине, сматрају се забрињавајућим због могућих здравствених последица. Просечне (LB = 11.904; UB = 11.871) и медијалне (P50 = 23.060) вредности МоЕ у нашем истраживању указују на низак ризик за одраслу популацију, међутим, нивои МоЕ били су забрињавајући на 75. перцентилу (9.912) и значајно нижи на 90. перцентилу (4.603) и 95. перцентилу (3.304), што указује на висок ризик за потрошаче који су изложени повећаним нивоима афлатоксина. Ниске вредности МоЕ на P90 такође корелирају са повишеним ризиком од нискодозног канцерогена за хепатоцелуларни канцер. Ово је посебно важно за одојчад чија се исхрана највећим делом заснива на млеку и млечним производима, и за које је установљено да имају највећу процењену хроничну изложеност AFM1 из хране (EFSA, 2020).

Висок ниво контаминације и високи нивои AFM1 за горње перцентиле указују на могуће пропусте приликом контроле квалитета хране за животиње или складиштења, пошто AFM1 у млеку потиче од хране контаминиране AFB1 (Среппу, 2002), и висока концентрација AFB1 у контаминираној храни резултује високим нивоом AFM1 у млеку и млечним производима (Fallah, 2011). Неадекватно складиштење хране и одсуство сталног надзора може повећати нивое AFM1 у сировом млеку (Миоџиновић и сар., 2017). До сличног закључка дошао је Fallah (2011), који је навео да због недостатка свеже хране током зиме, млечне краве конзумирају велику количину конзервиране или складиштене хране (као што су кукуруз, семе памука и силажа), која може бити контаминирана AFB1 услед неадекватних услова складиштења. Студија такође указује да је сама контаминација сезонски варијабилна, те да је изложеност већа током одређених периода, попут зиме када долази до промене у исхрани крива. Поред тога, резултати овог истраживања се слажу са претходним студијама које су забележиле више нивое AFM1 током хладних периода (Bilandžić и сар., 2014; Томашевић и сар., 2015; Јауковић и сар., 2024; Fallah, 2011; Xiong и сар., 2013; Bilandžić и сар., 2022). С друге стране, Özbek (2023) је утврдио да је највиша концентрација измерена у летњем периоду. Аутор је даље навео да је висока концентрација AFM1 током летњих месеци последица ограничених пашњака, проблема са овчарима у руралним подручјима, садржаја хране (силажа, мешана

храна, пулпа, груба храна), ограниченог времена за испашу, влаге приликом складиштења и температуре.

## 6. ЗАКЉУЧАК

На основу резултата овог истраживања, и упоређивања са вредностима из доступне литературе, могу се извести следећи закључци:

1. У Србији је забележен висок ниво контаминације сировог млека AFM1, где 70% узорака садржи концентрације више од прописаних ограничења ЕУ (50 ng/kg), што представља потенцијални здравствени ризик.
2. Концентрације AFM1 у сировом млеку показале су изражену сезонску и међугодишњу варијабилност. Најниже вредности утврђене су током летњег периода у годинама са повољним климатским условима, док су највише концентрације забележене у зимским месецима и у годинама са неповољним климатским приликама, што поред временских услова указује на могућу повезаност са заменом свеже сточне хране складиштенном.
3. Изложеност ниским количинама AFM1 дужи временски период представља посебан ризик за децу и конзументе који уносе велике количине млечних производа, са вредностима МоЕ од 4.603 и 3.304 на 90. и 95. перцентилу. Просечна изложеност одраслих показује низак ризик са вредности МоЕ од 23.060 на 50. перцентилу.
4. Неадекватно складиштење, недостатак сталног надзора, као и сезонска варијабилност повећавају опасност од повећања нивоа AFM1 у млеку.
5. Како би се обезбедила безбедност млечних производа и смањила изложеност потрошача, потребно је спроводити превентивне мере и континуирано праћење у целокупном ланцу исхране

## 7. ЛИТЕРАТУРА

1. Alameri, M. M., Kong, A. S. -Y., Aljaafari, M. N., Ali, H. A., Eid, K., Sallagi, M. A., Cheng, W. -H., Abushelmaibi, A., Lim, S. -H. E., Loh, J. -Y., & Lai, K. -S. (2023). Aflatoxin Contamination: An Overview on Health Issues, Detection and Management Strategies. *Toxins*, 15(4), 246
2. Bailly, S., El Mahgubi, A., Puel, O., Lorber, S., Bailly, J. D., & Orlando, B. (2025). Implantation of *Aspergillus* Section *Flavi* in French Maize and Consequences on Aflatoxin Contamination of Maize at Harvest: Three-Year Survey. *Toxins*, 17(4), 155.
3. Bilandžić, N., Varga, I., Čalopek, B., Kolanović, B. S., Varenina, I., Đokić, M., Sedak, M., Cvetnić, L., Pavliček, D., & Končurat, A. (2025). Occurrence of Aflatoxin M1 over Three Years in Raw Milk from Croatia: Exposure Assessment and Risk Characterization in Consumers of Different Ages and Genders. *Foods*, 14(13), 2396.
4. Bilandžić, N., Božić, Đ., Đokić, M., Sedak, M., Kolanović, B. S., Varenina, I., Tanković, S., & Cvetnić, Ž. (2014). Seasonal effect on aflatoxin M1 contamination in raw and UHT milk from Croatia. *Food Control*, 40, 260–264.
5. Bilandžić, N., Božić, Đ., Đokić, M., Sedak, M., Kolanović, B. S., Varenina, I., Tanković, S., & Cvetnić, Z. (2022). Seasonal occurrence of aflatoxin M1 in raw milk during a six-year period in Croatia. *Food Control*, 11(13), 1959.
6. Creppy, E. E. (2002). Update of survey, regulation, and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127(1–3), 19–28.
7. Daou R, Joubrane K, Maroun RG, Khabbaz LR, Ismail A, Khoury AE. (2021). Mycotoxins: Factors influencing production and control strategies. *AIMS Agriculture and Food* 6(1):416-447.
8. Đekić, I., Petrović, J., Jovetić, M., Redžepović-Đorđević, A., Štulić, M., Lorenzo, J. M., Iammarino, M., & Tomašević, I. (2020). Aflatoxins in milk and dairy products: Occurrence and exposure assessment for the Serbian population. *Applied Sciences*, 10(21), 7420.
9. Đurđević, V.; Vuković, A.; Mandić, V.M.(2018). Climate changes observed in Serbia and future climate projections based on different scenarios of future

- emissions. United Nations Development Programme (UNDP), Belgrade, Serbia; ISBN 978-86-7728-301-8.
10. EFSA (European Food Safety Authority). (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed (EFSA Journal, 39, 1–27).
  11. EFSA (European Food Safety Authority). (2010) Management of left-censored data in dietary exposure assessment of chemical substances. EFSA Journal, 8, 1557, 96.
  12. EFSA (European Food Safety Authority). (2020) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on the risk assessment of aflatoxins in food. EFSA Journal, 18, 6040, 1–112
  13. European Union. (2006). *Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union*, L 364, 5–24.
  14. European Union. (2011). *Commission Regulation (EU) No 574/2011 of 16 June 2011 laying down detailed rules for the implementation of Regulation (EC) No 1881/2006 as regards aflatoxins in food. Official Journal of the European Union*, L 153, 6–11.
  15. Ezekiel, C. N., Ayeni, K. I., Akinyemi, M. O., Sulyok, M., Oyedele, O. A., Babalola, D. A., Ogara, I. M., & Krska, R. (2021). Dietary Risk Assessment and Consumer Awareness of Mycotoxins among Household Consumers of Cereals, Nuts and Legumes in North-Central Nigeria. *Toxins*, 13(9), 635.
  16. Fallah, A.A. (2011). Seasonal variation of aflatoxin M1 contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. *Food Control* 22(10), 1653–1656.
  17. Ferrari, L., Fumagalli, F., Rizzi, N., Grandi, E., Vailati, S., Manoni, M., Ottoboni, M., Cheli, F., & Pinotti, L. (2022). An Eight-Year Survey on Aflatoxin B1 Indicates High Feed Safety in Animal Feed and Forages in Northern Italy. *Toxins*, 14(11), 763.
  18. Ferrari, L., Rizzi, N., Grandi, E., Clerici, E., Tirloni, E., Stella, S., Bernardi, C. E. M., & Pinotti, L. (2023). Compliance between Food and Feed Safety: Eight-Year Survey (2013–2021) of Aflatoxin M1 in Raw Milk and Aflatoxin B1 in Feed in Northern Italy. *Toxins*, 15(3), 168.

19. Gong, A., Song, M., & Zhang, J. (2024). Current Strategies in Controlling *Aspergillus flavus* and Aflatoxins in Grains during Storage: A Review. *Sustainability*, *16*(8), 3171.
20. Guo, Y., Lv, H., Rao, Z., Wang, Z., Zhang, W., Tang, Y., & Zhao, L. (2024). Enzymatic Oxidation of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Milk Using CotA Laccase. *Foods*, *13*(22), 3702
21. IARC (1993) Monographs on the evaluation of acarcinogenic risks to humans: some naturally occurring substances: food ites and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 56:1-599
22. IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Vol. 82; IARC: Lyon, France, **2002**; p. 171.
23. Institut za javno zdravlje Srbije. Rezultati istraživanja zdravstvenog stanja stanovništva Srbije – 2013. Službeni glasnik RS, Beograd, 2014.
24. Janković, V.V.; Vukojević, J.B.; Lakićević, B.M.; Mitrović, R.R.; Vuković, D. (2009). Presence of moulds and aflatoxin M<sub>1</sub> in milk. *Proc. Nat. Sci., Matica Srpska Novi Sad*, *117*, 63–68.
25. Jauković, M.M.; Rokvić, N.I.; Vuksan, A.D. (2024). Recent aflatoxin levels in maize, feed mixtures, milk and cheese in Serbia. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, *146*, 81–89.
26. Kolarić, L.; Minarovičová, L.; Lauková, M.; Kohajdová, Z.; Šimko, P. (2024). Elimination of aflatoxin M<sub>1</sub> from milk: Current status and potential outline of applicable mitigation procedures. *Trends Food Sci. Technol.*, Article 104603.
27. Kos, J.; Mastilović, J.; Janic-Hajnal, E.; Šarić, B. (2013). Natural occurrence of aflatoxins in maize harvested in Serbia during 2009–2012. *Food Control*, *34*(1), 31–34.
28. Kuiper-Goodman, T. (1990). Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: aflatoxin, ochratoxin, and zearalenone. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, *68*(8), 1017–1024.
29. Kumar, A., Pathak, H., Bhadauria, S. *et al.* (2021). Aflatoxin contamination in food crops: causes, detection, and management: a review. *Food Prod Process and Nutr* **3**, 17

30. Kumar, P., Mahato, D. K., Kamle, M., Mohanta, T. K., & Kang, S. G. (2017). Aflatoxins: A Global Concern for Food Safety, Human Health and Their Management. *Frontiers in microbiology*, 7, 2170.
31. Kumar, Vankayalapati. (2018). Aflatoxins: Properties, Toxicity and Detoxification. *Nutrition & Food Science International Journal*. 6. 10.
32. Lakkireddy, K., Kondapalli, K., & Rao, K. S. S. (2014). Aflatoxins in Food and Feed: The Science of Safe Food. *Research & Reviews: Journal of Food Science and Technology*, 3(2), 6-11.
33. Lemos, J. G., Stefanello, A., Bernardi, A. O., Garcia, M. V., Magrini, L. N., Cichoski, A. J., ... & Copetti, M. V. (2020). Antifungal efficacy of sanitizers and electrolyzed waters against toxigenic *Aspergillus*. *Food Research International*, 137, 109451.
34. Matić, J.; Mandić, A.; Mastilović, J.; Mišan, A.; Beljkas, B.; Milovanović, I. (2008). Contaminations of raw materials and food products with mycotoxins. *Food Process. Qual. Saf.*, 35(2), 65–70.
35. Mazaheri, Y., Shavali-gilani, P., Shariatifar, N., Bakhtiyari, A., Hadian, Z., Akbari, N., Abdoli, A., Sadigahara, P. (2024). Effectiveness of various methods to reduce aflatoxin M1 levels in milk, a systematic review. *Food Chemistry: X*. 23
36. Milićević, D., Petronijević, R., Petrović, Z., Đjinović-Stojanović, J., Jovanović, J., Baltić, T. and Janković, S. (2019), Impact of climate change on aflatoxin M1 contamination of raw milk with special focus on climate conditions in Serbia. *J. Sci. Food Agric.*, 99: 5202-5210.
37. Milićević, D. R., Milešević, J., Gurinović, M., Janković, S., Đinović-Stojanović, J., Zeković, M., & Glibetić, M. (2021). Dietary Exposure and Risk Assessment of Aflatoxin M1 for Children Aged 1 to 9 Years Old in Serbia. *Nutrients*, 13(12), 4450.
38. Miočinović, J.; Keškić, T.; Miloradović, Z.; Kos, A.; Tomašević, I.; Puđa, P. (2017). The aflatoxin M1 crisis in the Serbian dairy sector: The year after. *Food Addit. Contam. Part B*, 10(1), 1–4.
39. Negash, D. (2018). A review of aflatoxin: occurrence, prevention, and gaps in both food and feed safety. *Journal of Applied Microbiological Research*, 1(1), 35-43.
40. Özbey, G.; Kabak, B. (2023). Seasonal variation of aflatoxin M1 level in cow milk from Turkey. *J. Food Saf. Food Qual.*, 74(5), 144-148.

41. Payne, G. A., & Brown, M. P. (1998). Genetics and physiology of aflatoxin biosynthesis. *Annual review of phytopathology*, 36, 329–362.
42. Peles, F., Sipos, P., Kovács, S., Győri, Z., Pócsi, I., & Pusztahelyi, T. (2021). Biological Control and Mitigation of Aflatoxin Contamination in Commodities. *Toxins*, 13(2), 104.
43. Pickova, D., Ostry, V., Toman, J., & Malir, F. (2021). Aflatoxins: History, Significant Milestones, Recent Data on Their Toxicity and Ways to Mitigation. *Toxins*, 13(6), 399.
44. Pleadin, J., Kos, J., Radić, B., Vulić, A., Kudumija, N., Radović, R., Janić Hajnal, E., Mandić, A., & Anić, M. (2023). Aflatoxins in Maize from Serbia and Croatia: Implications of Climate Change. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(3), 548.
45. Polovinski, M.; Glamočić, D. (2009). Two-year study of the incidence of aflatoxin M1 in milk in the region of Serbia. *Biotechnol. Anim. Husb.*, 25, 713–718.
46. Pravilnik o kvalitetu hrane za životinje („Službeni glasnik RS“, br. 4/2010, 113/2012, 27/2014, 25/2015, 39/2016, 54/2017) u Republici Srbiji.
47. Pravilnik o maksimalnim koncentracijama određenih kontaminanata u hrani („Službeni glasnik RS“, br. 73/2024 i 90/2024) u Republici Srbiji
48. Republički hidrometeorološki zavod Srbije (RHMZ). Godišnji agrometeorološki izveštaji – arhive. Beograd, Srbija, 2020. (pristupljeno 15. septembra 2025).
49. Republički hidrometeorološki zavod Srbije (RHMZ). Godišnji agrometeorološki izveštaji – arhive. Beograd, Srbija, 2021. (pristupljeno 15. septembra 2025).
50. Republički hidrometeorološki zavod Srbije (RHMZ). Godišnji agrometeorološki izveštaji – arhive. Beograd, Srbija, 2022. (pristupljeno 15. septembra 2025).
51. Republički hidrometeorološki zavod Srbije (RHMZ). Godišnji agrometeorološki izveštaji – arhive. Beograd, Srbija, 2023. (pristupljeno 15. septembra 2025).
52. Republički hidrometeorološki zavod Srbije (RHMZ). Godišnji agrometeorološki izveštaji – arhive. Beograd, Srbija, 2024. (pristupljeno 15. septembra 2025).
53. Republički hidrometeorološki zavod Srbije (RHMZ). Godišnji agrometeorološki izveštaji – arhive. Beograd, Srbija, 2025. (pristupljeno 15. septembra 2025).
54. Republički zavod za statistiku. Statistički godišnjak 2014. Dostupno onlajn: <https://pod2.stat.gov.rs/objavljenepublikacije/god/sgs2014.pdf> (pristupljeno 15. juna 2025.)
55. Rezasoltani, S., Amir Ebrahimi, N., Khadivi Boroujeni, R., Asadzadeh Aghdaei,

- H., & Norouzinia, M. (2022). Detoxification of aflatoxin M1 by probiotics *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei*, and *Lactobacillus acidophilus* in reconstituted milk. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 15(3), 263–270.
56. Schoental R. (1961). Liver changes and primary liver tumours in rats given toxic guinea pig diet (M.R.C. Diet 18). *British journal of cancer*, 15(4), 812–815.
57. Tarazona, A., Gómez, J. V., Mateo, F., Jiménez, M., Romera, D., & Mateo, E. M. (2020). Study on mycotoxin contamination of maize kernels in Spain. *Food Control*, 118, 107370.
58. Tomašević, I.; Petrović, J.; Jovetić, M.; Raičević, S.; Milojević, M.; Miočinović, J. (2015). Two-year survey on the occurrence and seasonal variation of aflatoxin M1 in milk and milk products in Serbia. *Food Control*, 56, 64–70.
59. Udovički, B. (2020). Dietary exposure assessment of aflatoxin B1 in the Republic of Serbia and decontamination efficiency by ultraviolet irradiation. Doctoral Dissertation, University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia.
60. Udovički, B.; Audenaert, K.; De Saeger, S.; Rajković, A. (2018). Overview on the mycotoxins incidence in Serbia in the period 2004–2016. *Toxins*, 10(7), 279.
61. Udovički, B.; Keskić, T.; Aleksić, B.; Smigić, N.; Rajković, A. (2023). Second-order probabilistic assessment of chronic dietary exposure to aflatoxin M1 in Serbia. *Food Chem. Toxicol.*, 178, 113906.
62. Villers, P., & Gummert, M. (2009). Seal of approval. *Rice Today*, 8(1), 36-37.
63. WHO (World Health Organization). Human Health Risk Assessment Toolkit: Chemical Hazards. International Programme on Chemical Safety. Доступно онлајн: [http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/ra\\_toolkit/en/](http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/ra_toolkit/en/) (приступљено 15. јуна 2025).
64. WHO/IPCS (World Health Organization/International Programme on Chemical Safety). (2009). Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food. International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria; Geneva, Switzerland, p. 240.
65. Xiong, J.L.; Wang, Y.M.; Ma, M.R.; Liu, J.X. (2013). Seasonal variation of aflatoxin M1 in raw milk from the Yangtze River Delta region of China. *Food Control*, 34, 703–706.
66. Zahra, Naseem. (2024). Aflatoxin M1 contamination in milk: A serious issue to be

- tackled. *Nutrition and Food Processing*. 7. 01-05.
67. Zakaria, L. (2024). An overview of *Aspergillus* species associated with plant diseases. *Pathogens*, 13(9), 813.
  68. Zhang, S. B., Qin, Y. L., Li, S. F., Lv, Y. Y., Zhai, H. C., Hu, Y. S., & Cai, J. P. (2021). Antifungal mechanism of 1-nonanol against *Aspergillus flavus* growth revealed by metabolomic analyses. *Applied microbiology and biotechnology*, 105, 7871-7888.
  69. Zhu, Y., Hassan, Y. I., Lepp, D., Shao, S., & Zhou, T. (2017). Strategies and Methodologies for Developing Microbial Detoxification Systems to Mitigate Mycotoxins. *Toxins*, 9(4), 130.
  70. Živančev, J.; Antić, I.; Buljovčić, M.; Bulut, S.; Kocić-Tanackov, S. (2022). Review of the occurrence of mycotoxins in Serbian food items in the period from 2005 to 2022. *Food Feed Res.*, 49(2), 155–172.