

# Detekcija kravljeg imunoglobulina G (IgG) kao parametra patvorenja kozjeg i ovčjeg mlijeka i mliječnih proizvoda



A. Smajlović\*, M. Dragičević, M. Smajlović, E. Članjak - Kudra,  
I. Mujezinović, N. Kapo i N. Fazlović

## Sažetak

Patvorenje prehrambenih proizvoda podrazumijeva zamjenu i/ili dodavanje nekog sastojka proizvodu protiv zakonskih odredbi, što nekim proizvođačima donosi financijsku dobit. Patvorenjem se mijenjaju svojstva i zdravstvena sigurnost izvornog proizvoda, čime se može nanijeti šteta potrošačima. Miješanje različitih vrsta mlijeka zakonski je dopušteno, a ponekad zbog svojstava proizvoda i poželjno. Međutim, problem nastaje kada konačni proizvod nije deklariran kao proizvod sastavljen od više vrsta mlijeka. Dodavanje nedeklariranih vrsta mlijeka npr. dodavanje kravljeg mlijeka, kao jeftinijeg, u ovčje i kozje mlijeko i njihove proizvode je najčešći način patvorenja mlijeka. U cilju izbjegavanja nedeklariranog dodavanja kravljeg mlijeka te zaštite potrošača, danas je sve češća praksa provjere autentičnosti proizvoda ispitivanjem njihovog sastava. Većina metoda za identifikaciju autentičnosti mliječnih proizvoda zasniva se na analizi glavnih proteina mlijeka pa se uglavnom koriste elektroforetske, kromatografske,

spektroskopske i imunokemijske metode. Analitičke metode koje se zasnivaju na analizi proteina sirutke pouzdane su i točne za analizu mlijeka i sira koji nisu termički obrađeni, dok za termički obrađeno mlijeko i sir treba izabrati metode koje se zasnivaju na analizi kazeina. U našem radu je primijenjena i ispitana pouzdanost ELISA metoda za dokazivanje kravljeg imunoglobulin G (IgG) na mješavinama različitih vrsta mlijeka u eksperimentalnim uvjetima, nakon čega smo pokušali ustvrditi stvarno stanje na tržištu BiH u pogledu sadržaja nedeklariranih vrsta mlijeka, u uzorcima ovčjeg i kozjeg mlijeka i mliječnih proizvoda na prisustvo kravljeg imunoglobulin G (IgG) kao parametra patvorenja istih. Uočeno je prisustvo kravljeg mlijeka skoro u polovini uzoraka kozjeg i ovčjeg mlijeka te u proizvodima od ovih vrsta mlijeka, a najveći broj pozitivnih uzoraka na prisustvo kravljeg mlijeka uočeno je u proizvodima od ovčjeg mlijeka.

**Ključne riječi:** *patvorenje, ELISA, mlijeko*

Dr. sc. Ahmed SMAJLOVIĆ\*, dipl. vet., izvanredni profesor, (dopisni autor, e-mail: ahmed.smajlovic@vfs.unsa.ba), dr. sc. Muhamed SMAJLOVIĆ, dipl. vet., redoviti profesor, dr. sc. Enida ČLANJAK – KUDRA, dipl. vet., docentica, dr. sc. Indira MUJEZINOVIĆ, dipl. vet., redovita profesorica, Naida KAPO, dr. vet. med., asistentica, Neira FAZLOVIĆ, dr. vet. med., asistentica, Veterinarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Bosna i Hercegovina; mr. sc. Mladen DRAGIČEVIĆ, dipl. vet., Grad Doboje, Odjeljenje za inspeksijske poslove, Doboje, Bosna i Hercegovina

## Uvod

Kako bi se izbjegla mogućnost nezakonite zamjene jedne vrste mlijeka drugom, neophodno je osigurati adekvatne kontrolne mjere koje mogu otkriti takve prijevare i zaštititi potrošača (Hurley i sur., 2004., Nicolaou i sur., 2010., Song i sur., 2011., Zachar i sur., 2011.). Većina metoda za identifikaciju autentičnosti mliječnih proizvoda zasniva se na analizi glavnih proteina mlijeka pa se uglavnom koriste elektroforetske, kromatografske, spektroskopske i imunokemijske metode (Borkova i Snašelova, 2005., Azad i Ahmed, 2016.). Analitičke metode koje se zasnivaju na analizi proteina sirutke pouzdane su i točne za analizu mlijeka i sira koji nisu termički obrađeni, dok za termički obrađeno mlijeko i sir treba izabrati metode koje se zasnivaju na analizi kazeina (Damjanović i sur., 2006.).

Važeći Pravilnik o proizvodima od mlijeka i starter kulturama („Sl. glasnik BiH“, br. 21/11 i 25/12), ne propisuje zahtjeve o označavanju mliječnih proizvoda vezanih za ovu problematiku. Međutim, Pravilnik o općem deklariranju ili označavanju pakirane hrane („Sl. glasnik BiH“ br. 87/08) propisuje da podatci na deklaraciji ne smiju potrošača dovoditi u zabludu u pogledu sastava te da deklaracija mora sadržavati listu svih sastojaka u određenoj namirnici. Preciznije upute o deklariranju vrsta mlijeka ne daje ni aktualna legislativa u Europskoj uniji, tj. Uredba 1169/2011 o informiranju potrošača o hrani i Uredba 853/2004 o specifičnim higijenskim pravilima za hranu animalnog podrijetla.

Imunoglobulina u mlijeku ima vrlo malo (oko 2,1 %), a najtermolabilniji su proteini sirutke pa njihova denaturacija započinje već pri temperaturama višim od 60 °C. Sadrže u sebi i ugljikohidratnu komponentu (heksoze i heksozamin) te se ubrajaju u glikoproteine koji se sastoje iz više genetskih varijanti: IgM, IgA i IgG (IgG<sub>1</sub> i IgG<sub>2</sub>) (Damodaran, 1996., Herceg i Režek, 2006.). Kazeini su, u

odnosu na proteine sirutke termostabilni, ali podložni proteolitičkim reakcijama tijekom zrenja sira (Tratnik, 1998.).

Za dokazivanje patvorenja mlijeka i sira drugim vrstama mlijeka najčešće korištena imunološka metoda je ELISA (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Iako je granica detekcije ELISA metode niska, kao nedostatak metode navodi se određeni postotak lažno negativnih rezultata patvorenja u slučajevima prethodne termičke obrade mlijeka. Dobar primjer je patvorenje ovčjeg sira pasteriziranim kravljim mlijekom (Mayer, 2005.).

ELISA metodom moguće je ustvrditi kravlje i kozje mlijeko u mješavini mlijeka pomoću poliklonalnih i monoklonalnih antitijela koja su proizvedena da bi se suprotstavila proteinima sirutke, kazeinima ili peptidima kratkih lanaca podrijetlom od proteina mlijeka.

Kazeini predstavljaju glavni dio proteinske frakcije i mogu biti više ili manje stabilni pod utjecajem visokih temperatura pa se mogu s uspjehom koristiti kao glavni antigeni kod termički obrađenih (pasterizacija ili UHT) mlijeka i mliječnih proizvoda. Proteini sirutke, suprotno kazeinu, su puno bolji imunogeni i slabo su podložni proteolitičkoj degradaciji. Što se tiče utjecaja visokih temperatura, proteini sirutke su manje otporni (Zeleňáková i Golian, 2008.).

Cilj našeg istraživanja bio je ustvrditi stvarno stanje na tržištu BiH u pogledu sadržaja nedeklariranog kravljeg mlijeka u uzorcima kozjeg i ovčjeg mlijeka i mliječnih proizvoda ELISA metodom na prisustvo kravljeg imunoglobulina G (IgG) kao parametra patvorenja.

## Materijali i metode

### Materijali

Uzorci ovčjeg i kozjeg mlijeka, ovčjeg i kozjeg sira i drugih mliječnih

**Tabela 1.** Zastupljenost uzoraka ovčjeg i kozjeg mlijeka, ovčjeg i kozjeg sira i drugih mliječnih proizvoda uzorkovanih iz maloprodaje i s tržnica/pijaca od registriranih i neregistriranih proizvođača na području BiH

Vrsta uzorka	Uzorci iz maloprodaje (n)	Uzorci s tržnica/pijaca (n)	UKUPNO (%)
Kozje mlijeko	7	21	28 [24,1]
Ovčje mlijeko	0	1	1 [0,9]
Kozji sir	26	16	42 [36,2]
Ovčji sir	18	22	40 [34,5]
Ostali kozji proizvodi (kiselo mlijeko, kefir, jogurt i ajran)	1	4	5 [4,3]
UKUPNO	52 [44,8 %]	64 [55,25 %]	116 [100 %]

proizvoda uzorkovani su iz velikih tržnih centara i samostalnih trgovačkih objekata (maloprodaja), kao i s tržnica/pijaca od registriranih i neregistriranih prodavača s područja BiH. Uzimajući u obzir nemogućnost detekcije kravljeg imunoglobulina G kao parametra patvorenja kravljim mlijekom ELISA metodom u uzorcima koji su podvrgnuti visokim temperaturama sterilizacije, uzorkovanje je obuhvatilo isključivo uzorke sirovog i pasteriziranog mlijeka, kao i proizvode dobivene od sirovog i pasteriziranog mlijeka. Broj i vrste uzetih uzoraka su prikazani u Tabeli 1.

Za detekciju kravljeg mlijeka u uzorcima ovčjeg i kozjeg mlijeka, ovčjeg i kozjeg sira i drugih mliječnih proizvoda korišten je komercijalni ELISA test kit RIDASCREEN®CIS (R-Biopharm AG, Njemačka) prema uputama proizvođača.

## Metode

Sve laboratorijske analize su rađene u Laboratoriju za ispitivanja kemijskih i bioloških rezidua živežnih namirnica Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu.

## Priprema i analiza uzoraka

Priprema uzoraka za analizu detekcije kravljeg imunoglobulina IgG

u ovčjem i kozjem mlijeku i mliječnim proizvodima je izvršena prema uputstvu proizvođača komercijalnog ELISA kita RIDASCREEN®CIS (R-Biopharm AG, Njemačka).

Uzorci mlijeka su pripremljeni tako što je u 0,1 mL ispitujućeg mlijeka dodavano 9,9 mL destilirane vode (1:100). Za test je korišteno 100 µL ovako pripremljenog uzorka mlijeka. Uzorci sira i mliječnih proizvoda (kiselo mlijeko, ajran, jogurt i kefir) su pripremljeni tako što je na 1 g uzorka sira ili mliječnih proizvoda dodano 10 mL destilirane vode nakon čega je uzorak homogeniziran na vorteksu tijekom 1 minute, a zatim centrifugiran 10 minuta na 4.000 okretaja (Nahita 2655, Španjolska). Za test je korišteno 100 µL ovako pripremljenog uzorka sira.

Detekcijasekravljegmlijekauuzorcima vršila prema uputstvu proizvođača test kita, a bazira se na imunološkoj detekciji kravljeg imunoglobulina G (IgG) kao klase antitijela. Očitavanje absorbanci ispitujućih uzoraka i odgovarajućih standarda se vršilo primjenom čitača ELISA ploča (IDEXX, SAD) na valnoj duljini od 450 nm na osnovu dobivenih vrijednosti absorbanci ispitujućih uzoraka i standarda. Prema specifikaciji proizvođača, nivo razlučivanja ELISA test kita RIDASCREEN®CIS je 0,1 % kravljeg imunoglobulina G (IgG).

Uzimajući u obzir razrjeđenja od 1:100 za mlijeko i 1:10 za sir prilikom pripreme uzoraka za analizu, očitane vrijednosti absorbanci uzoraka su uspoređene s očitanim absorbancama standarda poznatih koncentracija od 10, 1 i 0,1 %. Na osnovu dobivenih rezultata i njihove interpretacije uzorci su grupirani u 4 osnovne skupine (A, B, C i D).

Interpretacija rezultata dobivenih vrijednosti se vršila tako da, ukoliko su vrijednosti očitanih apsorbanci ispitujućih uzoraka mlijeka i sira manje od očitanih vrijednosti absorbanci standarda od 0,1 %, uzorci se u tom slučaju smatraju negativnim, odnosno da sadrže manje od 0,1 % kravljeg mlijeka (**skupina A**). Ukoliko su vrijednosti očitanih absorbanci ispitujućih uzoraka mlijeka i sira jednake ili veće od očitanih vrijednosti absorbanci standarda od 0,1 %, a manji od absorbanci standarda od 1 %, uzorci se smatraju pozitivnim, odnosno da sadrže više ili jednako od 0,1 % kravljeg mlijeka (**skupina B**). Ukoliko su vrijednosti

očitanih absorbanci ispitujućih uzoraka mlijeka i sira bile jednake ili veće od očitanih vrijednosti absorbanci standarda od 1 %, a manje u odnosu na dobijene absorbance standarda od 10 %, uzorci su također smatrani pozitivnim, odnosno da sadrže između 1 i 10 % kravljeg mlijeka (**skupina C**). U slučaju očitavanja jednakih ili većih vrijednosti absorbanci uzoraka od vrijednosti absorbance standarda od 10 %, nalaz je interpretiran kao pozitivan sa sadržajem kravljeg mlijeka jednako ili više od 10 % (**skupina D**).

### Obrada podataka

Za obradu podataka i grafički prikaz rezultata korišten je softver Excel 2000® (Microsoft Corp., SAD). Statistička obrada dobivenih rezultata analiza rađena je primjenom programa SPSS 18 (engl. *Statistical Package for Social Sciences, SAD*).

U navedenim slučajevima obrade deskriptivne statistike primjenjen je  $\chi^2$ -test (hi-kvadrat test). Ovaj test se koristi za

**Tabela 2.** Zastupljenost negativnih i pozitivnih uzoraka ovčjeg sira i mlijeka ( $n=41$ ) uzorkovanih iz maloprodaje i tržnica/pijaca te zastupljenost detektiranog kravljeg mlijeka (kravljeg imunoglobulina G) unutar skupine pozitivnih uzoraka

Vrsta uzorka	Skupina A	Skupina B	Skupina C	Skupina D	Ukupno
	NEG.	POZ.			
Ovčji sir	8 (19,5 %)	10 (24,5 %)	17 (41,5 %)	5 (12,0 %)	40 (97,6 %)
Ovčje mlijeko	1 (2,5 %)	0	0	0	1 (2,4 %)
Ukupno	9 (21,5 %)	10 (24,5 %)	17(41,5 %)	5 (12,0 %)	41 (100 %)

**Tabela 3.** Zastupljenost negativnih i pozitivnih uzoraka kozjeg sira, mlijeka i mliječnih proizvoda (kiselo mlijeko, jogurt, ajran, kefir) ( $n=75$ ) uzorkovanih iz maloprodaje i tržnica/pijaca te zastupljenost detektiranog kravljeg mlijeka (kravljeg imunoglobulina G) unutar skupine pozitivnih uzoraka

Vrsta uzorka	Skupina A	Skupina B	Skupina C	Skupina D	Ukupno
	NEG.	POZ.			
Kozji sir	26 (34,5 %)	11 (15,0 %)	3 (4,0 %)	2 (2,5 %)	42 (56,0 %)
Kozje mlijeko	22 (29,0 %)	5 (7,0 %)	1 (1 %)	0	28 (37,3 %)
Mliječni proizvodi	5 (7,0 %)	0	0	0	5 (6,7 %)
Ukupno	53 (71 %)	16 (21,5 %)	4 (5,0 %)	2 (2,5 %)	75 (100 %)

ispitivanje neovisnosti (engl. *independence*) dvije varijable ili faktora, slučajnosti (engl. *randomness*) i stupnja prilagođenosti modela (engl. *goodness-to-fit*). Hi-kvadrat test se zasniva na usporedbi opaženih i teoretskih (očekivanih) frekvencija.

## Rezultati

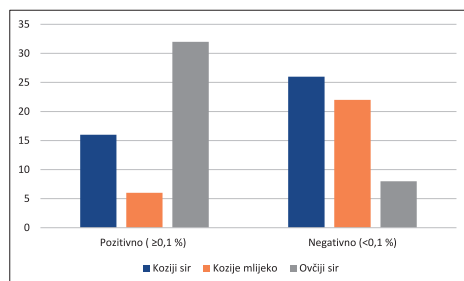
Zastupljenost negativnih i pozitivnih uzoraka ovčjeg i kozjeg mlijeka, ovčjeg i kozjeg sira i drugih mliječnih proizvoda (kiselo mlijeko, ajran, jogurt i kefir) te zastupljenost detektiranog kravljeg mlijeka (kravljeg imunoglobulina IgG) unutar skupine pozitivnih uzoraka ELISA metodom uzorkovanih iz maloprodaje i tržnica/pijaca na području BiH prikazani su u tabelama 2. i 3.

### Rezultati statističke obrade podataka

Statističkom obradom podataka obuhvaćeno je ukupno 116 uzoraka od čega je 45 % uzoraka podrijetlom iz maloprodaje i 55 % s tržnica/pijaca na području BiH (Tabela 1.). Uzorci kozjeg mlijeka predstavljaju najzastupljeniju vrstu uzoraka unutar ovog istraživanja. Ovčje mlijeko je najmanje zastupljeno na tržištu obzirom da se slabo ili nikako konzumira, što je i rezultiralo zanemarljivom zastupljenosti uzoraka ovčjeg mlijeka u eksperimentalnom istraživanju. Nadalje, broj uzorkovanih kozjih mliječnih proizvoda u koje spadaju kiselo mlijeko, ajran, jogurt i kefir je premali da bi bio samostalno statistički analiziran, zbog čega su navedeni uzorci uvršteni u skupinu uzoraka kozijeg sira u svim statističkim obradama podataka. Rezultati  $\chi^2$ -testa ukazuju na podjednaku zastupljenost analiziranih uzoraka prikupljenih u maloprodaji i tržnicama/pijacama na tržištu BiH, odnosno da vrijednost nije statistički signifikantna ( $P>0,05$ ;  $df = 1$  i vrijednost hi-kvadrata: 1,241).

Od ukupno 116 analiziranih uzoraka ovčjeg i kozjeg mlijeka, ovčjeg i kozjeg

sira i ostalih mliječnih proizvoda, broj pozitivnih uzorka iznosi 54 što predstavlja 46,6 %, a broj negativnih uzoraka je 62, odnosno 53,4 %.



**Grafikon 1.** Ukupna zastupljenost pozitivnih ( $\geq 0,1\%$ ) i negativnih ( $< 0,1\%$ ) uzoraka kozjeg sira i mlijeka i ovčjeg sira ( $n=116$ ) analiziranih na prisustvo kravljeg imunoglobulina G

Rezultat testiranja  $\chi^2$ -testom i dobivena vrijednost  $P<0,05$  ukazuje da je broj detektiranih uzoraka kozjih i ovčjih proizvoda pozitivnih na kravljem imunoglobulinu G podrijetlom iz maloprodaje i tržnica/pijaca statistički značajan.

Nadalje, rezultati testiranja statističke značajnosti zastupljenosti uzoraka kod kojih je ELISA metodom detektirano  $\geq 0,1\%$  kravljeg imunoglobulina G po različitim tipu proizvoda od iste vrste životinje (kozje mlijeko i kozji sir) ukazuju da, razlike u zastupljenosti pozitivnih uzoraka na kravljem imunoglobulinu G, između kozjeg mlijeka i kozjeg sira, nisu statistički značajne, odnosno da su podjednako zastupljeni pozitivni uzorci kozjeg mlijeka i kozjeg sira na kravljem imunoglobulinu G uzorkovani iz maloprodaje i tržnice/pijaca na području BiH ( $P>0,05$ ).

Ukoliko usporedimo sve tipove proizvoda testiranih na kravljem imunoglobulinu G u odnosu na vrstu životinje od koje potječu, rezultati  $\chi^2$ -testa ( $P<0,05$ ) ukazuju da je zastupljenost proizvoda pozitivnih na kravljem imunoglobulinu G statistički značajno viša u ovčjih proizvodima u odnosu na kozjeg

## Rasprava

Kako je kravljje mlijeko, u odnosu na ostale vrste mlijeka, jeftinije i dostupnije na tržištu, neki proizvođači ga miješaju s ovčjim i kozjim mlijekom, koje je znatno skuplje i rjeđe u prometu. Miješanje različitih vrsta mlijeka zakonski je dopušteno, a ponekad i poželjno, da bi se dobio proizvod određenog sastava i organoleptičkih svojstava. Međutim, problem nastaje kada takav proizvod nije deklariran kao proizvod koji sadrži različite vrste mlijeka i u tom se slučaju može smatrati patvorenim (Borkova i Snašelova, 2005., Damjanović i sur., 2006., Haasnoot i sur., 2014.).

Hurley i sur. (2004.) su proveli istraživanje u kojem su razvili indirektnu kompetitivnu ELISA metodu za ustvrđivanje dodavanja kravljeg mlijeka kozjem, ovčjem i mlijeku bivolice, a kao indikator patvorenja korištena je detekcija eventualno prisutnog kravljeg imunoglobulina G s nivoom detekcije od 0,1 %.

Od ukupno 116 analiziranih uzoraka ovčjeg i kozjeg mlijeka, ovčjeg i kozjeg sira te ostalih mliječnih proizvoda uzorkovanih i iz maloprodaje i tržnica/pijaca na području BiH, broj pozitivnih uzoraka iznosi 54 (46,6 %), a broj negativnih 62 ili 53,4 %. Ukoliko se uzme u obzir da nije zakonski propisana najviše dopuštena razina dodanog kravljeg mlijeka, priloženi rezultati detekcije kravljeg mlijeka (kravlje imunoglobulina G) u ispitujućim uzorcima ukazuju na statistički značajnu zastupljenost pozitivnih uzoraka.

Ovo je u skladu i s rezultatima Zelenkove i sur. (2009.) koji su u Slovačkoj od ukupno analiziranih 20 uzoraka ovčjeg mlijeka ustvrdili prisustvo kravljeg u njih 8, a u 30 analiziranih ovčjih sireva, u 12 su ustvrdili prisustvo kravljeg mlijeka. Isto tako, u studiji provedenoj u Iranu (Khanzadi i sur., 2013.) od 105 analiziranih uzoraka ovčjeg mlijeka, samo je 21 ili 20 %

uzoraka sadržavalo čisto ovčje mlijeko, dok su svi ostali u različitim postocima sadržavali dodano kravljje i kozje mlijeko.

Nadalje, od ukupno 42 analizirana uzorka kozjeg sira koji su također uzorkovani iz maloprodaje i tržnica/pijaca, kod njih 26 nije detektiran kravljji imunoglobulin G, dok je kod 16 uzoraka njegovo prisustvo ustvrđeno ( $\geq 0,1$  %) pa smo ih klasificirali kao pozitivne. Rezultati naših istraživanja su u skladu s nalazima Golinelli i sur. (2014.) koji su u svih 20 vrsta kozjih sireva proizvedenih u Brazilu ustvrdili prisustvo nedeklariranog kravljeg mlijeka.

Dobiveni rezultati testiranja grupe uzoraka koju su sačinjavali kozje mlijeko i ostali proizvodi (kiselo mlijeko, ajran, jogurt i kefir), ukazuju da je od ukupno 33 analizirana uzorka, u 6 detektirano prisustvo kravljeg mlijeka, a 27 ih je bilo negativno. Svi uzorci mliječnih proizvoda od kozjeg mlijeka su bili negativni, dok je postotak kravljeg mlijeka detektiran isključivo u mlijeku deklariranom kao kozje. Naše istraživanje je u skladu s provedenim u Brazilu (Rodrigues i sur., 2012.) gdje je od 140 analiziranih uzoraka svježeg kozjeg mlijeka njih 41,2 % bilo pozitivno na prisustvo kravljeg mlijeka.

Rezultati primijenjenog statističkog  $\chi^2$ -testa ( $P > 0,05$ ) ukazuju na podjednaku zastupljenost pozitivnih uzoraka kozjeg sira i kozjeg mlijeka uzorkovanih iz maloprodaje i tržnice/pijaca na području BiH. Istovremeno, statistički je značajno veći broj pozitivnih ovčjih proizvoda u odnosu na kozje, što ukazuje da se ovčji proizvodi češće patvore kravljim mlijekom u odnosu na kozje (Grafikon 1.).

## Zaključci

ELISA je brza, jednostavna, specifična i senzitivna metoda za identificiranje kravljeg imunoglobulina G u sirovom i pasteriziranom kozjem i ovčjem mlijeku, kozjem i ovčjem siru od pasteriziranog

mlijeka te mliječnim proizvodima od pasteriziranog kozjeg i ovčjeg mlijeka, ali nije pogodna za identifikaciju kravljeg imunoglobulina G kada je u mlijeko, sir i druge proizvode od kozjeg i ovčjeg mlijeka dodano kuhano kravlje mlijeko. Uočeno je prisustvo kravljeg mlijeka (kravljeg imunoglobulina G) skoro u polovini (46,6 %) uzoraka kozjeg i ovčjeg mlijeka te u proizvodima od ovih vrsta mlijeka dok je najveći broj pozitivnih uzoraka na prisustvo kravljeg mlijeka (kravljeg imunoglobulina G) uočen kod proizvoda od ovčjeg mlijeka. Uočena je i podjednaka zastupljenost pozitivnih uzoraka mlijeka i proizvoda od mlijeka na prisustvo kravljeg mlijeka (kravljeg imunoglobulina G) podrijetlom iz maloprodaje i tržnica/pijaca na području BiH.

## Literatura

1. AZAD, T. and S. AHMED (2016): Common milk adulteration and their detection techniques. *Int. J. Food Contam.* 3, 22.
2. BORKOVA, M. and J. SNAŠELOVA (2005): Possibilities of different animal milk detection in milk and dairy products - a review. *Czech J. Food Sci.* 23, 41-50.
3. EUROPEAN COMMISSION (2004): Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific hygiene rules for on the hygiene of foodstuffs.
4. EUROPEAN COMMISSION (2011): Regulation (EC) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council EU on the provision of food information to consumers.
5. DAMJANOVIĆ, S., D. SAMARŽIJA i J. HAVRANEK (2006): Metode za dokazivanje patvorenja mlijeka i sira drugim vrstama mlijeka. *Mljekarstvo* 56, 221-232.
6. DAMODARAN, S. (1996): Amino acids, peptide and proteins. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 15-21.
7. GOLINELLI, L. P., A. C. CARVALHO, R. S. CASAES, C. S. C. LOPES, R. DELIZA, V. M. F. PASCHOALIN and J. T. SILVA (2014): Sensory analysis and species-specific PCR detect bovine milk adulteration of *frescal* (fresh) goat cheese. *J. Dairy Sci.* 97, 6693-6699.
8. HAASNOOT, W., N. ŠAJIĆ, K. DOORN ESSERS, L. STREPPPEL and R. VERHEIJEN (2014): ELISA for Raw and Heat-Treated Cow's and Buffalo's Milk in the Milk of Other Species and Sources. *J. Advanc. Dairy Res.* 2, 118.
9. HERCEG, Z. i A. REŽEK (2006): Prehrambena i funkcionalna svojstva koncentrata i izolata proteina sirutke. *Mljekarstvo* 56, 379-396.
10. HURLEY, I. P., R. C. COLEMAN, H. E. IRELAND and J. H. H. WILLIAMS (2004): Measurement of Bovine IgG by Indirect Competitive ELISA as a Means of Detecting Milk Adulteration. *J. Dairy Sci.* 87, 543-549.
11. KHANZADI, S., A. JAMSHIDI, J. RAZMYAR and M. MOHSENZADEH (2013): PCR-based detection of cow and goat milk in sheep milk and dairy products marketed in Mashhad city of Iran. *Iran. J. Vet. Med.* 7, 257-262.
12. MAYER, H. K. (2005): Milk species identification in cheese varieties using electrophoretic, chromatographic and PCR techniques. *Int. Dairy J.* 15, 595-604.
13. NICOLAOU, N., Y. XU and R. GOODACRE (2010): Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis for the detection and quantification of different milk species. *J. Dairy Sci.* 93, 5651-5660.
14. Pravilnik o općem deklariranju ili označavanju pakirane hrane. Službeni glasnik BiH, br. 87/08.
15. Pravilnik o proizvodima od mlijeka i starter kulturama. Sl. glasnik BiH, br. 21/11 i 25/12.
16. RODRIGUES, N. P., P. E. GIVISIEZ, R. C. QUEIROGA, P. S. AZEVEDO, W. A. GEBREYES and C. J. OLIVEIRA (2012): Milk adulteration: Detection of bovine milk in bulk goat milk produced by smallholders in northeastern Brasil by a duplex PCR assay. *J. Dairy Sci.* 95, 2749-2752.
17. SONG, H., H. XUE and Y. HAN (2011): Detection of cow's milk in Shaanxi goat's milk with an ELISA assay. *Food Control* 22, 883-887.
18. TRATNIK, Lj. (1998): Mlijeko - tehnologija, biokemija i mikrobiologija. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
19. ZACHAR, P., M. ŠOLTES, R. KASARDA, J. NOVOTNY, M. NOVIKMECOVA and D. MARCINČAKOVA (2011): Analytical methods for the species identification of milk and milk products. *Mljekarstvo* 61, 199-207.
20. ZELEŇÁKOVÁ, L. and J. GOLIAN (2008): Application of ELISA tests for detection of milk and cheese adulteration. *Scientific Monography, SPU Nitra*, 98.
21. ZELEŇÁKOVÁ, L., M. ŠESTÁK and R. ŽIDEK (2009): Monitoring of sheep milk and milk products adulteration on common european food market. *Potravinárstvo* 3, 69-73.

## Detection of cow immunoglobulin G (IgG) as a parameter of adulteration of goat and sheep milk and milk products

Ahmed SMAJLOVIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Muhamed SMAJLOVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Enida ČLANJAK-KUDRA, DVM, PhD, Assistant Professor, Indira MUJEZINOVIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Naida KAPO, DVM, Assistant, Neira FAZLOVIĆ, DVM, Assistant, Veterinary faculty University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina; Mladen DRAGIČEVIĆ, DVM, MSc, City of Dobož, Department of Inspection services, Dobož, Bosnia and Herzegovina

The most common method of milk adulteration is the addition of undeclared types of milk, such as cow's milk (due to its lower cost) to sheep and goat milk and milk products. In order to avoid the undeclared addition of cow's milk and improve consumer protection, it is common practice to check the authenticity of a product by examining its contents. For the purposes of this study, the ELISA method was applied and tested to detect cow immunoglobulin G (IgG) in mixtures of various types of milk under experimental conditions. Following this, we

aimed to determine the current situation on the BiH market in terms of content of undeclared milk types, by detecting the presence of cow immunoglobulin G (IgG) as a parameter of adulteration in samples of sheep and goat milk and milk products. We established that cow's milk was present in almost half of the tested samples of goat and sheep milk and their products, while the highest number of positive samples of the presence of cow's milk was found in sheep milk products.

**Key words:** *adulteration; ELISA; milk*