Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 57-64
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Откриване на антибактериални субстанции в проби от сурово мляко

Алуш Мусай[1]*, Бахтир Хюсни[1], Валдет Джиновци[2], Фестим Реджепи[2]

[1]Университет на Митровица "Иса Болетини", Факултет по хранителни технологии, Индустриален парк 40000, Митровица, Косово
[2]Ветеринарна агенция по храните, Индустриална зона, Косово поле, 10000 Прищина, Косово

Detection of antibacterial substances regarding the residues in raw milk

Alush Musaj[1]*, Bahtir Hyseni[1], Valdet Gjinovci[2], Festim Rexhepi[2]

[1] University of Mitrovica “Isa Boletini”, Faculty of Food Technology, Parku industrial 40000, Mitrovica, Kosovo
[2]Food and Veterinary Agency, Zona Industriale, Fushe Kosove, 10000 Prishtine, Kosovo
**E-mail: alush.musaj@umib.net*

Received: 12.04.2018 *Accepted:* 27.08.2018 *Published:* 11.10.2018

РЕЗЮМЕ

Настоящето изследване обобщава данни от наблюдение върху проби от сурово мляко, които разглеждат наличието на антибактериални остатъци от ветеринарномедицински продукти, които се използват при животни. Антибактериалните вещества имат широко приложение в лечението на заболявания на домашните животни, като маститът е най-често срещаното заболяване на млечните крави. Употребата на антибиотици има положително въздействие, но злоупотребата с тях води до сериозен риск за общественото здраве, като например антибиотична резистентност, алергични реакции и увреждане на чревната микрофлора. Във връзка с този въпрос, компетентният орган по безопасност на храните предприе съответните мерки, в

SUMMARY

A present research summarises the monitoring data collected from raw milk samples regarded the presences of antibacterial residues from veterinary medicines products that are used in living animals. Antibacterial substances have a wide use in the treatment of diseases in domestic animals for the therapeutic purposes, mastitis is the most common disease of dairy cows.

Usage of antibiotics have the positive effects, but misused of their amount lead causing serious risk for public health, such as antibiotic resistance, allergic reactions, and damage of digestive microflora.

Regarding this issue the competent authority for food safety, according to the съответствие със законовите изисквания и стандарти. Част от тях са правилата на компетентните органи и прилагането на Национална програма за наблюдение на остатъчните вещества според Директива 96/23/ЕО на Съвета за наблюдение на остатъчните вещества и Регламент 37/2/2010/ЕО за определяне на максимално допустими граници на остатъци от антибактериални вещества (група B1). Целта на настоящия труд е да проследи и установи наличието на антибактериални вещества – аминогликозиди, бета-лактами, тетрациклин и флуорохинолони в краве мляко, за да се осигури безопасен продукт за потребителите, да се предотврати злоупотребата с антибиотици, и да се подобри точността на лабораторните методи при откриване на антибактериални вещества.

През първата половина на 2015 г. са изследвани 86 проби от мляко с ELISA като сравнителен тест. От 86 проби, 60 проби или 69.7% от тях не отговарят на изискванията, а 26 проби или 30.3% отговарят на изискванията. Заключението посочва, че трябва да се извършват повече наблюдения и проби през следващите години в подозираните ферми.

Ключови думи: антибиотични остатъци, ELISA, мляко

law requirements and standards undertook the appropriate measures. Competent Authority Drafts and implementing National Residue Monitoring Program under Council directive 96/23/EC, for residues monitoring and Regulation 37/2/2010/EC on establishing allowed maximum limits for residues were the antibacterial substances (group B1) are part of it.

The aim of the work is to monitor and determine the presence of antibacterial substanes – Aminoglycoside's, Beta – Lactams, Tetracycline's and Fluoroquinolones in bovine in milk in order to provide a safe milk for consumers, misuse antibiotics, accuracy of laboratory methods in detection of antibacterial substances.

During the first half of the year 2015, 86 milk samples were tested with ELISA as a competitive test. Out of 86 samples, 54 samples or 62.8 % were not in compliance, and 32 samples or 37.2 % were in compliance. Concluding for more monitoring programs and samples to be collected for coming years in suspected farms.

Key words: antibiotic residues, ELISA, milk

УВОД

Антимикробните агенти като химични вещества, които убиват или забавят развитието на микроорганизмите, се използват широко във фермите за млекодайни говеда за лечение и профилактика на инфекциозни болести (Mitchell et al., 1998). Неподходящото приложение на антибиотик може да наруши равновесието между ползите и вредите от употребата, което води найвече до остатъчни вещества в млякото и всички останали млечни продукти (WHO/FAO/CAC, 1990). Основните последици са насърчаване и развитие на антимикробната резистентност, нама-

INTRODUCTION

Antimicrobial agents as chemical substances which kill ore inhibit the microorganism are widely used in dairy cattle farms for therapy and infective disease prevention (Mitchell et al., 1998). Inappropriate administration of antibiotic can disrupted the balance between benefits and non-benefits of using, which resulted with substance residues primary in milk and all another one dairy products (WHO/FAO/CAC, 1990).

The main consequences are promote and development of antimicrobial resistance, reduced the capacity of immune system, ляване на капацитета на имунната система, странична роля в храносмилателната система (WHO, 2011). За да се предотврати възможна нежелана реакция, е необходима силна национална политика за предотвратяване или намаляване на ненужното приложение свързано с развитие на антимикробна резистентност и разпространение на резистентни бактерии, включително хранителната верига, което може да причини сериозни здравни последици за животните (Stolker et al., 2007). Здравните органи на Европейската общност и на трети държави установяват гранични нива на тези вещества в суровините и храните и е важно да се предприемат всички мерки на международно ниво за действие. Директива 96/23/ЕК установява изискванията във връзка с планирането и надзора на Националния план за контрол на остатъчните вещества (NRCP) за живи животни и хранителни продукти. Максимално допустимите граници на остатъчни вещества (MRLs) за остатъци от ветеринарни медикаменти в животински тъкани, влизащи в хранителната верига на хората, се уреждат с Регламент (ЕС) № 37/2010 на Комисията. Този регламент, с който се отменя Регламент (ЕИО) № 2377/90 на Съвета и неговите изменения (DG-Sante EC.) Поради това, точното откриване на ниски нива на антимикробни лекарствени остатъци в млякото е от голямо значение за млечната промишленост, както и за земеделските стопани за да се гарантира, че замърсеното мляко от отделни крави не е изпратено до цистерната (Mitchell et al., 1998). Разрешаването на търговията, продажбата, производството, разпространението на антибиотиците играе важна роля. Цялостната употреба от ветеринарните лекари на антимикробния агент трябва да следва законодателството и Професионалния кодекс на практиките за контрол на употребата на ветеринарни медикаменти (CAC/RCP 38-1993). Про-

side role in the digestive system (WHO, 2011).

In order to prevent the potential adverse needed a strong national policy to prevent or reducing unnecessary administration related the occurrence of the development of antimicrobial resistance and the spread of resistant bacteria, including food chain what's can cause serious health consequences in animals (Stolker et al., 2007).

European Community and third countries health authorities establishes limits levels of these substances in raw materials and foodstuffs and it is important undertaking all measures in international level of reaction.

Legal basis Directive 96/23/EC lay down the requirements in the relation to the planning and supervising National Residue Control Plans (NRCP) for live animals and food product. The maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary drugs in animal tissues entering in human food chain is governed by Commission Regulation (EU) No 37/2010. This regulation repealing the Council Regulation (EEC) 2377/90 and it amendments (DG-Sante EC.

Therefore, accurate detection of low levels of antimicrobial drug residues in milk is of great importance for the dairy industry and also for farmers, to ensure that contaminated milk from individual cows is not consigned to the bulk tank (Mitchell et al., 1998).

Marketing authorisation, sale, manufacture, distribution of the antibiotics has the important role. Overall use of antimicrobial agent's veterinarians should consulate the legislation and Code of Practice for Control of the Use the Veterinary Medicine Drugs (CAC/RCP 38-1993).

грамите за наблюдение следва да бъдат съгласувани между властите и професионалистите, за да се обменя информация.

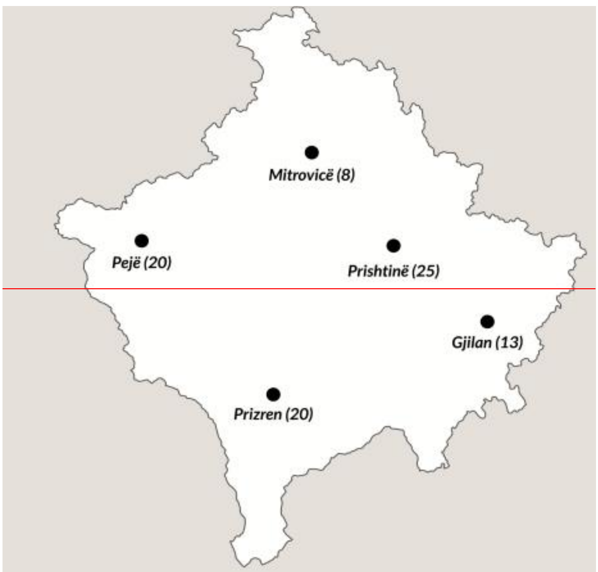
Surveillance programmes should be harmonised between authorities and professionals to exchange the information.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

86-те проби от мляко са събрани за тестване за наличие на антибактериални вещества през първата половина на 2015 г. Пробите са събрани съгласно стандартните изисквания за оперативни процедури за вземане на проби съгласно Националния план за контрол на остатъчните вещества (NRCP), в млекопроизводствените ферми, пунктовете за събиране на мляко и млекопреработване в пет региона (Печки (20), Прищина (25), Призрен (20), Гиляни (13) и Митровица (8), показани на Фигура 1. Пробите се съхраняват при 4-8 °С и всяка проба е разделена на 5 подраздели.

MATERIAL AND METHODS

The 86 milk samples were collected for testing against antibacterial substances in first half of 2015. The samples were collected according to Standard Operating Procedure Requirements on sampling according to the National Residue Control Plan (NRCP), at milk production farms, milk collection points and milk production establishment's in five regions (Peja (20), Prishtina (25), Prizren (20), Gjilani (13) and Mitrovica (8)) shown in Figure 1. Samples were stored at 4-8 °C, and each sample were divided in 5 subsamples.



Фиг. 1. Брой на пробите събрани по региони
Fig. 1. Number of samples collected by regions

Китове за анализ ELISA за аминогликозиди (неомицин, гентамицин и стрептомицин), бета-лактами (амоксицилин, ампицилин и пеницилин G), тетрациклини (тетрациклин, окситетра-

ELISA Test kits, for Aminoglycosides (Neomycin, Gentamycin and Streptomycin), Beta – Lactams (Amoxicillin, Ampicillin and Penicillin G), Tetracycline's (Tetracycline, and циклин и) и флуорохинолони (енрофлоксацин, норфлоксацин) се предоставят от Bio Scientific.

За анализиране на остатъчните вещества в млякото се използва метод за колориметричен имунологичен анализ на ELISA. Лекарството е поставено в микротитърни плаки. Пробата се добавя по протежение на първичното антитяло, специфично за целевото лекарство. Когато остатъчното вещество присъства в пробата, той ще се състезава за антитялото, което предотвратява свързването на антитялото с лекарството, прикрепено към ямката. Освен това, антитялото обработено с пероксидазен ензим, е насочено към първичното антитяло, което е комплексирано с лекарството, покрито върху микротитърните плаки. Полученият цветен интензитет, след добавяне на субстрат, показва връзка с целевата концентрация върху пробата. Всички проби се отчитат при 450 nm дължина на вълната. Материалите, необходими за осъществяване на теста, са четец за микротитърни плочи, инкубатор, тъканен миксер, вихров смесител, многоканални пипети и реагенти.

Стандартна логаритмична крива може да се изгради чрез зачертаване на средната относителна абсорбция спрямо всяка стандартна концентрация, която стандартна крива се използва за изчисляване на пробите. За тази част е използвана Excel MAX SIGNAL Elisa Analysis Program.

Приготвяне на пробата

Приготвянето на пробата се основава на наръчника за ELISA тест за флуорохинолони. 1 ml сурово мляко се центрофугира при 4000 x g в продължение на 5 min, след което слоят от мазнината се изхвърля. 200 μL от останалата част се смесват с 800 μL от 35% метанол като екстракционен буфер. 50 μL от пробата за разреждане се използват за изследване.

Oxytetracycline) and Fluoroquinolone's (Enrofloxacin, Norfloxacin) was provided by Bio Scientific.

ELISA colorimetric immunoassay method is used to analyse the residues in milk. The drug has been coated in plate wells. Sample is added along the primary antibody specific for the target drug.

When the residue is present in the sample it will compete for the antibody, which prevent the antibody from binding to the drug attached to the well. Moreover, antibody targeted with peroxidase enzyme, targets the primary antibody that is complexes to the drug coated on the plate wells.

The resulting colour intensity, after addition of substrate, show relationship with the target concentration on the sample. All the samples were read at 450nm wavelength. Materials needed to realize the test are microtiter plate reader, incubator, tissue mixer, vortex mixer, multichannel pipettes, and reagents.

A standard logarithmic curve can be built by plotting the mean relative absorbance vs. each reference standard concentration, which standard curve then is used to calculate samples. For this part Excel MAX SIGNAL Elisa Analysis Programme.

Sample preparation

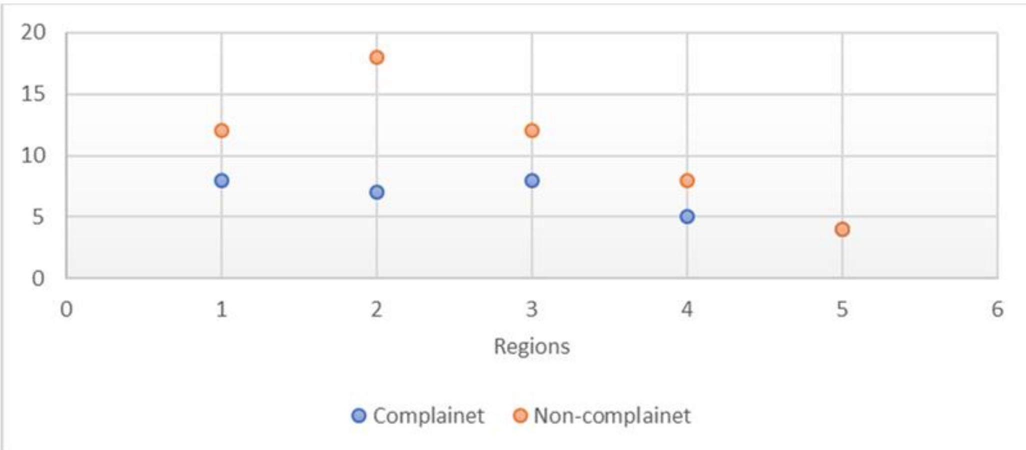
Sample preparation is based on the Fluriquinolone ELISA test kit manual. 1ml of raw milk is centrifuged at 4000 x g for 5 min the layer of the fat is discard. 200µL of the remaining part is mixed with 800µL of 35% methanol as Extraction Buffer. 50 µL of the dilution sample is used for well for the assay.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Целта на настоящата статия е да проследи и анализира остатъчните нива на антибактериални вещества в сурово краве мляко. Общо 86 проби от мляко са обект на тестване, сред 86-те изследвани проби 54 са несъответстващи (62.79%), от тях 12/20 (60.00%) в Печки, 18/25 (72.00%) в Прищина, 12/20 (60,00%) в регион Призрен, 8/13 (61,53%) в региона на Гиляни и 4/8 (50,00%) в региона на Митровица (Фигура 2).

RESULTS AND DISCUSSION

The objective of this paper work is to monitor and analyse the residual levels of antibacterial substances in raw bovine milk. A total 86 milk samples were subject of testing, among the 86 samples tested 54 were in non-compliant (62.79%) , of these 12/20 (60.00%) in Peja region, 18/25 (72.00 %) in Prishtina region, 12/20 (60.00 %) in Prizren region, 8/13 (61.53%) in Gjilan region and 4/8 (50.00 %) in Mirovica region (Figure 2).

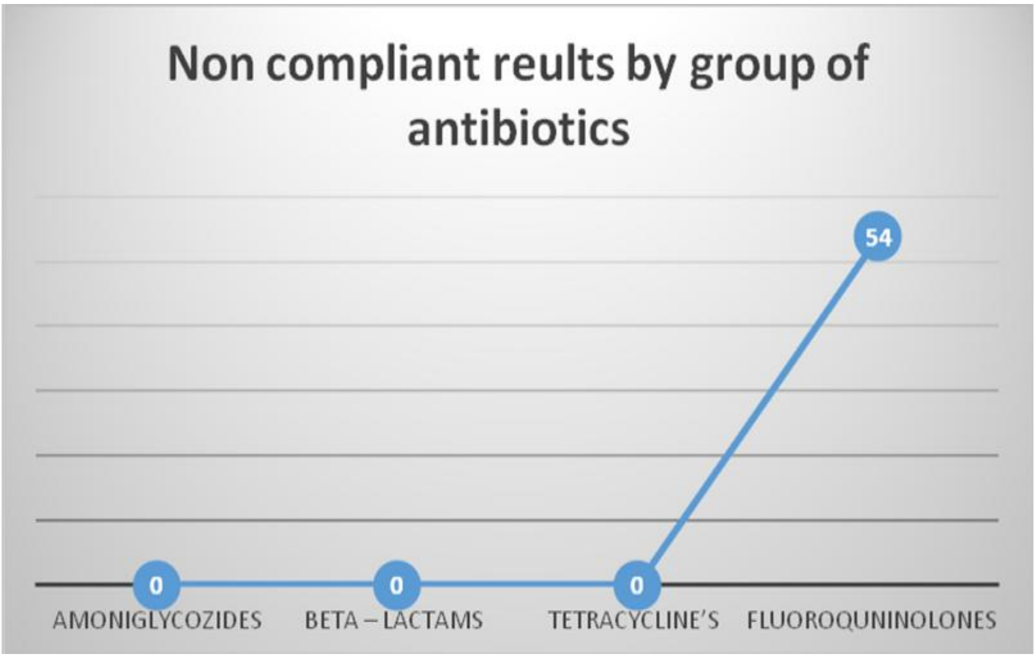


Фиг. 2. Сравнение между съответстващи и несъответстващи резултати по региони 1 – Печки, 2 – Прищина, 3 – Призрен, 4 – Гиляни, 5 – Митровица
Fig. 2. Comparison between compliant and non-compliant results by regions 1 – Peja, 2 – Prishtina, 3 – Prizren, 4 – Gjilan, 5 – Mitrovica

Несъответстващите резултати показват, че единственият антимикробен препарат е флуорохинолона (норфлоксацин) Фигура 3, пробите се отчитат на базата на метода, описан от Hernandez-Arteseros et al., (2002). Обхватът на този вариант на норфлоксацин варира между 0,66 µg/kg и 18,33 µg/kg. MRL за норфлоксацин не е определен в Регламент (ЕС) № 37/2010 на Комисията, наличието на флуорохинолон (норфлоксацин) в млякото е забранено. Останалите антибактериални вещества и

The non-compliant results shown that the only antimicrobial present was fluoroquinolone's (norfloxacin) Figure 3, samples were read based on the method described by Hernandez-Arteseros et al., (2002). The values of norfloxacin were in the range from 0.66 µg/kg to 18.33 µg/kg. The MRL for norfloxacin is not define in Commission Regulation (EU) No 37/2010, the presence of Fluoroquinolone's (norfloxacin) in milk is forbidden. The other antibacterial substances and other fluoroquinolone's shown below the MRLs defined in други флуорохинолони са посочени в MRLs , определени в Регламент (ЕС) № 37/2010 на Комисията.

Commission Regulation (EU) No 37/2010.



Фиг. 3. Брой на несъответстващи резултати според групата на антибиотиците
Fig. 3. Number of non-compliant results by group of antibiotics

ИЗВОДИ

Настоящата работа показва неочакван вид хинолон в суровото мляко. За да се предотврати и да се осигури безопасността на храните според компетентните органи; всички положителни случаи, изпратени в чужбина за целите на потвърждението, увеличаване на броя на официалния контрол, увеличаване на броя на пробите. Органите трябва да наблюдават стриктно разпространението на VMP'S сред частните ветеринарни лекари и приемане и прилагането на Решение 2002/657/ЕК на Европейската комисия.

CONCLUSIONS

This work shows unexpected type of quinolone in raw milk. In order to prevent and to assure the food safety, competent authority shall; all positive cases sent to abroad for confirmation purposes, increase the number of official control, increase the number of samples.

Authorities should strictly monitor the distribution of VMP'S among private veterinary practitioners, and adoption and impelemntation of European Commision Decsion 2002/657/EC.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Codex Alimentarius Commission (CAC), 1990.
2. European Commission (EC). Directory for Health and zFood Safety (DG-Sante), Brussel.
3. **Hernandez-Arteseros, J.A., J. Barbosa and R. Compano**, 2002. Analysis of quinolone residues in edible animal products*. Journal of Chromatography* A, 945, 1-24.
4. Kosovo Food and Veterinary Agency (KFVA). 2013. Standard Operating Procedure for Sampling (SOP).
5. **Mitchel, J.M., M.W. Grofiths, S.A. McEwen, W.B. McNab and A.J. Yee**, 1998. Antimicrobial drug residues in milk and meat Causes, concerns, prevalence, regulations, tests and performance. *Journal of Food Protection,* 61, 74-756.
6. **Stolker, A.A.M., T. Zuidema and M.W.F. Nielen**, 2007. Residue analyses of veterinary drugs and growth-promoting agents. *Trends in Analytical Chemistry,* 26, 976-979.
7. World Health Organization (WHO), 2011. Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. ISBN 978 92 890 1422 9.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 65-79 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Пречистване с активна утайка на отпадъчни води от млекопреработвателната индустрия чрез реактор с циклично действие (SBR)

Алуш Мусай, Дафина Лугаджиу*, Бахтир Хюсени

Факултет по хранителни технологии, Университет на Митровица "Иса Болетини", Митровица, Косово

Activated sludge process for dairy wastewater treatment using SBR reactor

Alush Musaj, Dafina Llugaxhiu*, Bahtir Hyseni

Faculty of Food Technology, University of Mitrovica “Isa Boletini”, Mitrovica, Kosovo

**E-mail: dafina.llugaxhiu@umib.net*

Received: 14.04.2018 *Accepted:* 31.08.2018 *Published:* 11.10.2018

РЕЗЮМЕ

Пречистването с активна утайка се използва за преработване на отпадъчни води чрез аерация и биологична маса съдържаща бактерии и протозоа. Обикновено за да се характеризира технологичната схема и работните условия се използва технологичния показател за съотношението храна / микроорганизми (биомаса) (Х/М). Всяка система има свое оптимално съотношение на храна/микроорганизми в зависимост от състава на отпадъчните води. Оптималното съотношение между храна/микроорганизми в системата на реактора с циклично действие (SBR) е 0.05-0.1 kg БПК/kg MLSS/ден (Биохимично потребен кислород / Суспендирани твърди вещества в смесена течна среда), а възрастта на утайките трябва да бъде 15 до 30 дни в зависимост от температурата. При тези условия са възможни добри резултати от преработването, а излишната утайка, която трябва да бъде отстранена, може да бъде изсушена в сушилни тави без да има проблеми с миризмата.

SUMMARY

The activated sludge process is used for wastewater treatment using aeration and a biological floc composed of bacteria and protozoa. The process parameter commonly used to characterize process design and operating conditions is the food per microorganism (biomass) (F/M) ratio.

Every system has its own optimum F/M ratio depending also on the waste water composition.

An optimal F/M ratio for a Sequencing Batch Reactor system is 0.05-0.1 kg BOD/kg MLSS/day (Biochemical Oxygen Demand / Mixed Liquid Suspended Solids), and the sludge age should be 15 to 30 day depending on the temperature.

Under these conditions, good treatment results are possible and the excess sludge to be removed can be dried on drying beds without smell problems.

Температурата и pH се измерват съответно с термометър и pH метър. Анализът на химично потребния кислород (ХПК) е извършен по метод 8000 въз основа на процедура с спектрофотометър DR 2800.

Фосфати, общ азот, нитрати или ортофосфати и амоний се измерват чрез Ръководство за процедури със спектрофотометър DR 2800. Общото количество суспендирани твърди и летливи вещества се получават по гравиметричен метод. F (храната) се изчислява чрез умножаване на концентрацията на БПК с ежедневно хидравлично натоварване, а M (микроорганизмите) се изчисляват чрез умножаване на Суспендирани твърди вещества в смесена течна среда (MLSS) със съдържанието на реактора с циклично действие (SBR). Утаяването на утайката в измервателния цилиндър внимателно се проверява ежедневно. Поради резултатите от системата с реактора с циклично действие (SBR) в тази млечна промишленост, се наложи отстраняването на част от старата минерализирана утайка от системата. Изхвърлянето се извърши 2 или 3 пъти седмично, освобождавайки около 5 m^3 утайка.

Ключови думи: утайка, реактора с циклично действие (SBR), Х/М отношение, MLSS, ХПК (COD), БПК (BOD)

Temperature and pH were measured by the thermometer and pH meter, respectively. Chemical Oxygen Demand (COD) analysis was performed by the method 8000 based on DR 2800 Spectrophotometer procedure.

Phosphates, total nitrogen, nitrates, orto-phosphates and ammonium were measured by DR 2800 Spectrophotometer procedures manual. Total suspended solids and volatile suspended solids were prepared by Gravimetric method. The F was calculated by multiplying the BOD concentration by the daily hydraulic load and M was calculated by multiplying the MLSS by the content of the SBR.

The settling of the sludge in the measuring cylinder was checked carefully daily. Considering the results of the SBR system in this dairy industry, it was necessary a fraction old mineralized sludge to be removed from the system. Discharging was performed by 2 or 3 times a week, discharging about 5m^3 sludge.

Key words: Sludge, SBR, F/M ratio, MLSS, COD, BOD

1. УВОД

Чистата вода е жизненоважен природен ресурс за всички живи организми и ще продължи да се преработва и управлява за се възобновява. Производството на отпадъци от различни дейности е неизбежно, но предотвратяването на замърсяването от битови, промишлени и аграрно-промишлени отпадъци е много важно, за да се осигури добра околна среда, подходяща за здравословен начин на живот. Хранителният сектор е един от най-големите потребители на вода и един от най-големите производители на отпадъчни води. Млечната промишленост е един от най-замърсяващите отрасли от хранително-вкусовата промишленост. Отпадъчните води, произхождащи

1. INTRODUCTION

Unpolluted water is a vital natural resource for all living organisms and it will continue to be processed and managed for being renewable. The production of waste from different activities is unavoidable but preventing pollution from domestic, industrial and agro-industrial wastes is very important to ensure a good environment and suitable for a healthy life. The food sector is one of the highest user of water and one of highest producer of wastewater.

The dairy industry is one of the most polluted of food industries. Wastewater originated from dairy industry holds от млечната промишленост, притежават органично вещество, което е биоразградимо, а отпадъчните води трябва да бъдат третирани преди оттичането му (Singh et al., 2012; Shivsharan et al., 2013).

Напредъкът в технологията направи използването на реактора SBR подходящ избор за пречистване на отпадъчните води в промишлеността. Хранителната индустрия е един от най-големите производители на отпадъчни води с максимално органично натоварване (Henze and Comeau, 2008; Singh et al., 2012). Тези биореактори са варианти на процеса на активирана утайка в присъствието на кислород. Реакторът с циклично действие представлява напълване и източване на активирана утайка за преработка на отпадъчни води (United States Environmental Protection Agency Office of Water Washington DC, 1999). Системата SBR работи, като изпълнява пет отделни цикъла: (1) напълване, (2) реагиране (аерация), (3) утаяване (избистряне), 4) източване (декантиране на отпадъчни води) и 5) празен ход (Poltak 2005; Al-Rekabi et al., 2007) (Фигура 1.1).

Процесът на активирана утайка се използва за преработване на отпадъчни води, използвайки аерация и биологична маса, съставена от бактерии и протозоа (Davies, 2005). Съотношение между храна/микроорганизми (биомаса) (Х/М) е параметър на процеса, който обикновено се използва за характеризиране на технологията на процеса и експлоатационните условия (Национална клирингова къща за малки потоци в Университет на Западна Вирджиния - Pipeline, 2003); (Subramani and Arulalan, 2012). Всяка система има свое оптимално съотношение между Х/М в зависимост от състава на отпадъчните води. Когато тези параметри се изчисляват редовно и се свързват с резултатите от преработването, може да бъде намерен оптимумът по отношение на този реактор с циклично действие. Оптималното съотношение между храна/микроорганизми за SBR системата е 0.05-0.1 kg БПК/kg MLSS/ден и възрастта на утайката трябва да бъде 15 до 30 дни в зависимост от температурата (при повишаване на

organic substance which are biodegradable and wastewater hast to be treated before its drainage (Singh et al., 2012; Shivsharan et al., 2013).

Advancement in technology has made using of SBR reactor as a suitable choice for treatment of waste water in industry. Food industry is one of major producer of wastewater with a high load organic (Henze and Comeau, 2008; Singh et al., 2012).

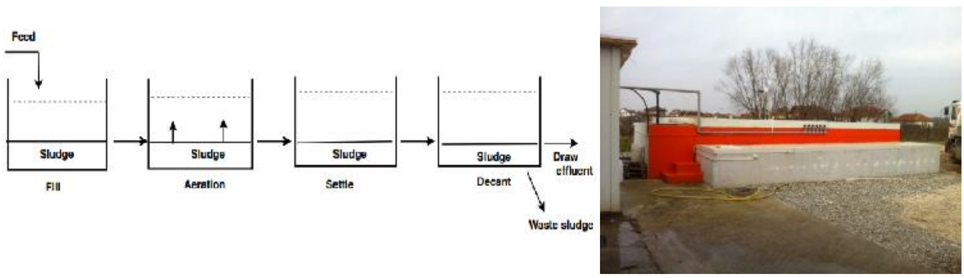
Those bioreactors are variation of the activated sludge process in presence of oxygen. SBR is a fill and draw activated sludge for treatment of wastewater (United States Environmental Protection Agency Office of Water Washington DC, 1999). SBRs system works accomplishing five discrete periods as are: (1) fill, (2) react (aeration), (3) settle (clarification), (4) draw (decantation of effluent) and (5) idle (Poltak, 2005; Al-Rekabi et al., 2007) (Figure 1.1) .

The activated sludge process is used for wastewater treatment using aeration and a biological floc composed of bacteria and protozoa (Davies, 2005). The food to microorganism (biomass) F/M ratio is a process parameter commonly used to characterize process design and operating conditions (National Small Flows Clearing House at West Virginia University - Pipeline, 2003); (Subramani and Arulalan, 2012). Every system has its own optimum F/M ratio depending also on the waste water composition.

When regularly these parameters are calculated and related to the treatment results the optimum regarding this SBR can be found. An optimal F/M ratio for a SBR system is 0.05-0.1 kg BOD/kg MLSS/day, and the sludge age should be 15 to 30 day depending on the temperature (with increasing temperature the sludge age can become lower) температурата утайката може да се понижи) (Ahansazan et al., 2014). При тези условия са възможни добри резултати от преработването, а излишната утайка, която трябва да бъде отстранена, може да бъде изсушена в сушилни тави без да има проблеми с миризмата. Когато съотношението Х/М е по-ниско от 0.04, активираната утайка ще бъде минерализирана от само себе си и ще се разпадне в малки частици, които ще изчезнат от системата. Със съотношение между Х/М от 0.05 утайката е достатъчно гладна и не са необходими допълнителни мерки. Х се изчислява чрез умножаване на концентрацията на БПК по ежедневното хидравлично натоварване, М се изчислява чрез умножаване на суспендираните твърди вещества в смесена течна среда със съдържанието на SBR.

(Ahansazan et al., 2014).

Under these conditions, good treatment results are possible and the excess sludge to be removed can be dried on drying beds without smell problems. When the F/M is lower than 0.04 the activated sludge will be mineralized by itself and disintegrate into small particle which will wash out of the system. With an F/M ratio of 0.05 the sludge is hungry enough and additional measures are not necessary. F can be calculated by multiplying the BOD concentration by the daily hydraulic load, M can be calculated by multiplying the Mixed Liquid Suspended Solid by the content of the SBR.



Фиг. 1.1. Реактор с циклично действие (SBR в млечната промишленост (Vingneswaran et al., 2007).
Fig. 1.1. Sequencing batch reactor in dairy industry (Vingneswaran et al., 2007).

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Операционната система в млечната промишленост работи с помощта на реактор с циклично действие (SBR). SBR е система за напълване и изтегляне на активирана утайка за пречистване на отпадни води. Отпадъчните води се добавят към реактор с циклично действие за пречистване на отпадни води, след това се отстраняват нежеланите компоненти и накрая се изхвърлят третираните води (отпадъчни води). SBR реакторът, внедрен в млечната промишленост, използва капацитет от 240 m^3. По време на извършените експерименти системата е работила в два цикъла: първият цикъл започва

2. MATERIAL AND METHODS

Operation system in this dairy industry works using SBR reactor. SBR is a fill and draw activated sludge system for treatment of wastewater.

Wastewater is added to a batch reactor for treatment of wastewater, then comes removing of undesirable components and in the end discharge of treated water (effluent).

The SBR reactor implanted in dairy industry uses a capacity of 240 m^3.

During period of experiments performed, the system has worked in two cycles: first сутрин в 00:40 часа, когато времето за утаяване, времето за преливане и времето за напълване са продължили около 0.5 часа, а реакционното време е продължило 8.5 часа, докато следобед то започва в 14:00 часа, където времето на утаяване е продължило 0.5 часа, времето за декантиране е 0.5 часа, времето за зареждане е около 0.5 часа и времето за реакция е 12.5 часа. Аерацията е започнала по време на или непосредствено след пълненето и за двата цикъла. Когато кислородът достига висока концентрация, аерация се спира, например в продължение на 30 минути или въздушният поток се намалява. Кислородът се измерва ежедневно с оксиметър. Температурата и pH се измерват съответно с термометър и pH метър. Определянето на нитратите се извършва като се използва 10206-диметилфенол Метод TNT плюс 835 (0.23-13.50 mg/1 NO_3-N); (1.00-60.000 mg/l NO_3). Фосфатите и ортофосфатите се определят на базата на метода на аскорбиновата киселина (Метод 10209 Реактивен, Метод 10210 Общо UHR (6 до 60 mg/L PO_4 3- или 2 до 20 mg/L $PO4^{-}$P) Определянето на амоняка в отпадъчните води се извършва по метода на салицилата (LR (1 до 12 mg/l NH_3-N).) Общият азот се измерва с метода за усвояване на персулфат LR (1 до 16 mg/L N). Параметърът ХПК се изчислява с метод 8000 чрез процедура със спектрофотометър DR 2800 Съотношението между ХПК и БПК е ХПК/БПК = 1.7. Манометричният метод или Oxitop БПК се използва за биохимично измерване на кислородната потребност. Методът Oxitop се основава на измерването на намаляване на налягането, дължащо се на консумацията на кислород от микроорганизмите, окисляващи органичната материя (БПК измерване 5210D, 1995). Общото количество твърди частици (TS) е количеството на всички твърди вещества, което се определя чрез изсушаване на известен обем от пробата в предварително претеглена Owen при 105 °C. След охлаждане в ексикатор, пробата отново се претегля. Общите твърди частици (TSS) се изчисляват със следната формула (Zhang et al., 2013):

cycle has started in the morning at 00:40 where settle time, decant time and fill time has lasted around 0.5 h and react time has lasted 8.5 h, whereas in the afternoon, it has started at 14:00 where settle time has lasted 0.5 h, decant time 0.5 h, fill time about 0.5 h and react time 12.5 h. The aeration has started during or directly after filling for both cycles. When the oxygen reached high concentration, the aeration was shut down, for example during 30 minutes or the air flow was reduced. The oxygen was measured by an oxygen meter, daily. Also temperature and pH meter were measured daily by the thermometer and pH meter, respectively. The determination of Nitrates was performed using 10206 –Dimethylphenol Method TNT plus 835 (0,23-13.50 mg/l NO_3-N); (1,00-60.000 mg/l NO_3). Phosphates and Orthophosphates were determined based on the Ascorbic Acid Method (Method 10209 Reactive; Method 10210 Total UHR (6 to 60 mg/L $PO_4{}^{3-}$ or 2 to 20 mg/L $PO4^{-}$ P). Determination of Ammonia in the wastewater was performed according to the Salicylate Method (LR (1 to 12 mg/L NH_3–N). The total Nitrogen was measured using Persulfate Digestion Method LR (1 to 16 mg/L N). COD parameter was performed using method 8000 based on DR 2800 Spectrophotometer procedure. The ratio between COD and BOD is COD/BOD=1.7. Manometric method or Oxitop BOD was used for biochemical demand oxygen measurement. The Oxitop method is based on the measurement of pressure decrease due to the oxygen consumption by microorganisms oxidizing the organic matter (BOD measurement 5210D, 1995). Total solids (TS) are the amount of all solids, which are determined by drying a known volume of the sample in a pre-weighed Owen at 105 °C. After cooling in an exsiccator, the sample is again weighed. TSS was calculated using the following formula (Zhang et al., 2013):

$$\frac{TSS\ mg}{L} = \frac{average\ weight\ of\ filter\ with\ sample\ (g) - average\ initial\ weight\ o\ filter\ (g)}{Sample\ volume\ (L)} 1000 \frac{mg}{L}$$

По време на настоящето изследване са направени много изчисления:

Изчисляването на X при реактора с циклично действие в млечната индустрия е извършено по следната формула:

ХПК вливане = 2500 mg ХПК/l

съотношението ХПК/БПК е около 1.7

БПК вливане = 2500 mg/1.7 = 1500 mg/БПК/l

Хидравлично натоварване=25m^3/ден

X = 1500 X 25 = 37.5 kg БПК/ден

Размерът на реактора с циклично действие е 240 m^3

Когато MLSS е 3 g/l или 3 kg/m^3, M е 3 kg/m^3 x 240 m^3 = 740 kg. X M = 37,5 kg/740 kg е около 0,05 kg БПК/kg MLSS/ден.

Индексът на обема на утайката (ИОУ) показва управлението на системата, ако е добро или лошо и колко утайка трябва да се върне в аерационния резервоар и колко да се извади от системата.

ИОУ се изчислява, използвайки съотношението между обема на утаената утайка и MLSS:

Many calculations have been performed during this study:

Calculation of F under circumstances of SBR in the dairy industry was performed in this form:

COD influent = 2500 mg COD/l

COD/BOD ratio is about 1,7

BOD influent=2500 mg COD/1,7=1500 mg BOD/l

Hydraulic load = 25 m^3/day

F = 1500 X 25 = 37,5 kg BOD/day

Size of SBR is 240 m^3

When MLSS is 3 gr/l or 3 kg/m^3, M is 3 kg/m^3 x 240 m^3 = 740 kg. F/M = 37,5 kg/740 kg is about 0.05 kg BOD/kg MLSS/day.

Sludge volume index shows the control of the system if it is good or bad and how much sludge has to be returned to the aeration tank and how much to take it out from the system.

SVI was calculated using the ratio between volume of settled sludge and MLSS:

$$SVI = \frac{volume\ of\ settled\ sludge\ \left(\frac{ml}{l}\right) x1000}{MLSS\ \left(\frac{mg}{l}\right)}$$

3. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Отчитайки резултатите от системата SBR в млечната промишленост (Фигури 3.1 - 3.8), се направи заключение за наличието на фракция стара минерализирана утайка в системата, която трябваше да бъде премахната. Утаената утайка в измервателния цилиндър се проверява внимателно (Фигури 3.2, 3.4 и 3.6). Утайката помага да се разбере дали има някаква част от бързото утаяване на утайки от друг цвят (по-тъмен). Излишъкът от производството на утайки зависи от натоварването на БПК. Производството на утайки е около 0.5 kg утайка на kg БПК. В този случай 0.5 x 37.5 kg означава

3. RESULTS AND DISCUSSION

Considering the results of the SBR system in this dairy industry (Figure 3.1 - 3.8), we concluded about presence of a fraction old mineralized sludge in the system which was needed to be removed. The settle sludge in the measuring cylinder was checked carefully (figure.3.2, 3.4 and 3.6). The settle sludge helps to understand if there is any part of fast settling sludge from another color (darker). The excess sludge production depends on the BOD load. Sludge production is about 0,5 kg sludge per kg BOD.

In this case 0.5 x 37,5 kg means about 20 утайка около 20 kg/ден. Когато ИОУ е около 100, ежедневно трябва да се изтеглят от системата около 2 m^3 утайка след утаяването. Изключително важно е да се отстрани утайката от системата. Основно правило е че когато не се отстрани достатъчно утайка, тя ще бъде отстранена от системата с отпадния поток и ще причини висок ХПК на изтичащия поток. Започнахме да премахваме 20 kg утайка дневно, за да достигнем ИОУ от около 100 (Фигура 3.2, 3.4 и 3.6). Изхвърлянето се извършва 2 или 3 пъти седмично, освобождавайки около 5 m^3. Възрастта на утайките трябва да бъде около или по-малко от 20 дни. Може да се изчисли разделянето на количеството MLSS в SBR (около 240x4 gr MLSS/l = 960 kg, на базата на резултатите) по ежедневно отстранените kg с MLSS. MLSS в SBR трябва да бъде около 3 gr/l. През лятото, когато натоварването с БПК е по-високо, MLSS може да бъде пропорционално увеличен. Концентрацията на кислород се изчислява ежедневно, както е показано на фигури 3.1, 3.3 и 3.5. Консумацията на кислород за час се изчислява чрез измерване на кислорода по време на аерация, след спиране на аерация и след 10 минути спиране на аерация. Концентрацията на O_2 е около 6.5 mg O_2/l по време на аерация, след спиране концентрацията му е 5.2 mg O_2 и след 10 минути е 2.1 mg O_2/l. Това означава, че консумацията на кислород в този момент е (5.2 - 2.1) x 240 (обем SBR) x 6 (10 минути) = около 4.5 kg O_2/h. Това означава също, че е отстранен около 4.5 kg/h БПК. Въз основа на няколко теста за ХПК в потока, натоварването с БПК е около 20 до 30 kg БПК/ден. Следователно се предполага, че в този момент натоварването с БПК е по-високо в сравнение с предходния период. Когато натоварването на БПК нараства, потреблението на кислород се увеличава и концентрацията на кислород намалява, ако биомасата е жизнена и активна. Измерването на концентрацията на кислород непосредствено след спиране на аерация и след определен период (например 10 минути) помага да се получи информация за консумацията на

kg/day sludge was produced. When the SVI is about 100, daily about 2m^3 sludge after settling has to be withdrawn from the system. It's very important removing of sludge from the system. The basic rule is, when the sludge is not removed enough, it will be removed from the system with the effluent and causes a high COD of the effluent. We started to remove 20 kg sludge daily, to reach the SVI of about 100 (Figure 3.2, 3.4, and 3.6). Discharging was performed by 2 or 3 times a week, discharging about 5m^3. Sludge age has to be about or less than 20 days. It can be calculated dividing the amount of MLSS in the SBR (about 240x 4 gr MLSS/l = 960 kg, based on the results) by the kg MLSS daily removed. MLSS in the SBR should be about 3 gr/l. In summer, when the BOD load is higher, the MLSS can be proportional increased.

The oxygen concentration was calculated daily as it is shown in figures 3.1, 3.3 and 3.5. The oxygen consumption per hour was calculated by measurement of oxygen during aeration, after stopping aeration and after 10 minutes of stopping aeration. O_2 concentration was about 6,5 mg O_2/l during aeration, after stopping, its concentration was 5,2 mg O_2/l and after 10 minutes was 2,1 mg O_2/l. This means the oxygen consumption at that moment was (5,2 - 2,1) x 240 (volume SBR) x 6(10 minutes) = around 4,5 kg O_2/ h. This means also that about 4,5 kg/h BOD was removed. Based on a few COD tests in the influent, the BOD load was about 20 to 30 kg BOD/day. So we assumed that at that moment the BOD load was higher than during the period before. When the BOD loads increases, the oxygen consumption increases and the oxygen concentration decreases if the biomass is vital and active.

A measure of the oxygen concentration directly after stopping aeration and after a certain period (for example 10 minutes) helps to gain insight into the oxygen consumption and the BOD removal кислород и капацитета за отстраняване на БПК на системата. От резултата е очевидно, че влиянието на ХПК е много ниско около 1100 mg/l (Фигура 3.7). Това е половината от натоварването с ХПК по отношение на количеството от 2500 mg/l. Когато ХПК е 2500 mg/l време, получаваме желания MLSS от 3 g/l. При тази ситуация (1100 mg COD/l) MLSS трябва да бъде половината от MLSS = 1,5 g/l. Въпросът е, че през зимата натоварването на БПК е много по-ниско, отколкото през лятото, което означава, че и MLSS трябва да бъде много по-ниска.

3.1 Проблем с миризмата в SBR системата

По време на това изследване се забелязва проблем с миризмата в SBR реактора. Източниците на проблема с миризмата в реактора могат да бъдат причинени от H_2S миризма, поради амониево присъствие, тъй като резултатите показват, че нивото на амоний е високо или може да бъде поради висока концентрация на сулфати.

3.1.1. Проблеми с миризмата, причинени от H_2S

Това може да бъде обикновен мирис на H_2S, когато количеството на O_2 в системата не е достатъчно и може би някои части на резервоара са в анаеробни условия. Ниският O_2 статус благоприятства разпространението на анаеробните бактерии *Thiobacillus* и последващото сулфидно производство. За да се избегне този проблем, трябва редовно да се проверява, да се анализира SO_4, да се наблюдава дали някои части в аерационната система са блокирани или дали се е увеличила турбулентността / въздуха в системата. По отношение на H_2S в газовата фаза на SBR, ако има налична H_2S в системата, той винаги ще се излъчва в аерационната система. Добрият пренос на кислород от газова към течна фаза (поради високата концентрация на кислород в SBR по време на аерация) означава също много добро прехвърляне на H_2S от течна към газова фаза.

За да е винаги сигурно, къде се произвежда сулфид в системата, той трябва да се измери в течна фаза. С

capacity of the system. From the result, COD influent is very low about 1100 mg/l (Figure 3.7).

This is half of the COD load regarding on the amount of 2500 mg/l. When the COD is 2500 mg/l time, we get a desired MLSS of 3 gr/l. In this situation (1100 mg COD/l) means MLSS should be half of that around MLSS = 1,5 g/l. The point is that in winter the BOD load is much lower than in summer, which means that also the MLSS has to be much lower.

3.1 Smell problem in SBR system

During this study, the smell problem was noticed in SBR reactor. Sources of smell problem in the reactor may be caused by H_2S odor, by Ammonium presence as the results show the level of ammonium has been high or may be by high concentration of sulfates.

3.1.1. Smell problems caused by H_2S

It can be typically H_2S odor when the amount of O_2 in the system is not enough and maybe some parts of the tank were in anaerobic conditions. Low O_2 favors proliferation of anaerobic bacteria *Thiobacillus* and subsequent sulfide generation. To avoid this problem we must check regularly O_2, SO_4^{--} analysis, to look if some parts in aeration system are blocked, or increasing of turbulence/air into system. Regarding H_2S in gas phase SBR, if there is H_2S present in the system, it will always be emitted in the aeration system.

A good oxygen transfer from gas to liquid phase (because of a high oxygen concentration in the SBR during aeration) means also a very good transfer of H_2S from the liquid phase to the gas phase.

Whenever we want to be sure where sulfide is produced in the system, we have to measure it in the liquid phase.

помощта на кювети Hach-Lange е възможно да се анализира сулфида в течна фаза. Времето за задържане на водата в SBR е повече от 10 дни и в цялата смесена система отнема около 3 пъти времето за задържане, за да се измие значителна част от H_2S Също така е възможно все още да има налице H_2S в лошо проветриво място под капака на SBR.

3.1.2. Проблеми с миризмата, причинени от амоний

Когато pH е високо (pH = 8) (Фигура 3.1, 3.3 и 3.5), около 5% от амония се превръща в амоняк, който се излъчва. Когато концентрацията на амоний е около 50 mg/l (Фигура 3.8), това води до отделяне на 600 g амоняк от аерираща резервоар. Амонякът причинява проблеми с миризмата, когато концентрацията е повече от 5 mg/m^3 във въздуха. Когато pH е около 7, няма значима емисия на амоняк.

3.1.3. Проблеми с миризмата, причинени от концентрация на сулфат

Ако концентрацията на сулфат е висока (около 180 mg/l), това може да доведе до проблеми с миризмата. Присъствието на сулфат в резервоара за аерация може да се дължи на факта, че концентрацията на кислород винаги е повече от 5 mg/l, но в резервоара за отстраняване на мазнини вероятна причина би могла да бъде анаеробна ситуация. Ако утайката и утаяването не се отстраняват редовно от резервоара за отстраняване на мазнините, възможно е организмът, който намалява сулфата, да расте там и да произвежда сулфид. В този случай не само песъчинките и утайките са от значение, но е известно, че отговорните бактерии ще бъдат концентрирани като тънък слой по стените на системата. Така че, освен отстраняване на пяна и утайки, стената трябва да се почисти.

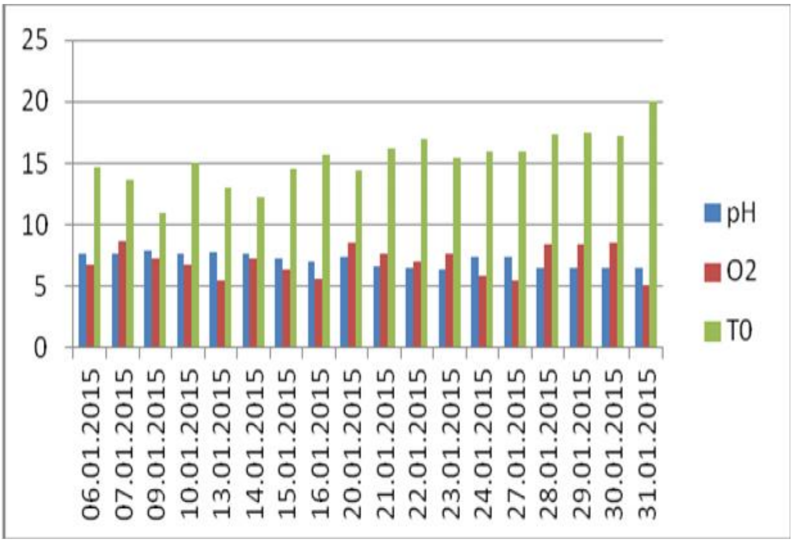
Using Hach-Lange cuvettes is possible to analyze sulfide in the liquid phase. It was possible to be present some H_2S in the system. The water retention time in the SBR is more than 10 days and in a total mixed system takes around 3 times of retention time to have a substantial part of the H_2S of being washed out. It is also possible that there is still some H_2S present in a bad ventilated spot under the cover of the SBR.

3.1.2. Smell problems caused by Ammonium

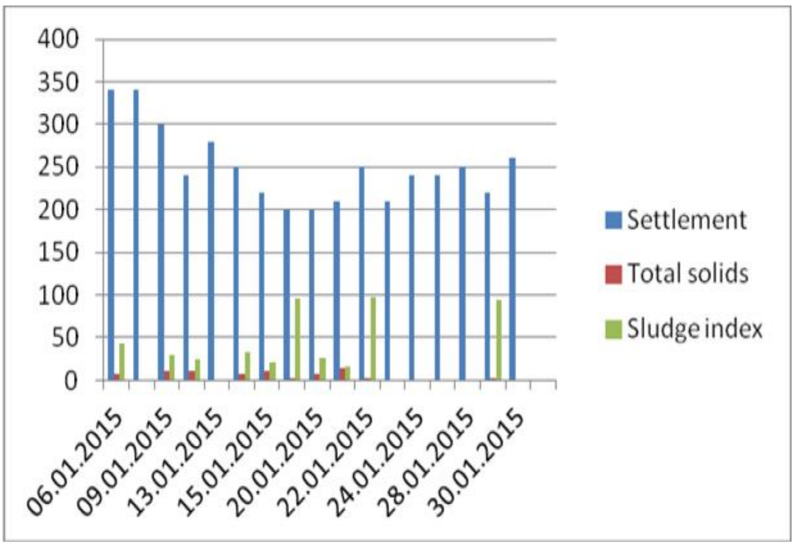
When the pH is high (pH=8) (Figure 3.1, 3.3 and 3.5) about 5% of the ammonium is converted in ammonia that will be emitted. When the ammonium concentration is around 50 mg/l (Figure 3.8), it causes 600 gr of ammonia being emitted out of the aeration tank. Ammonia will cause smell problems when the concentration is more than 5 mg/m^3 in air. When the pH is about 7 there is no any significant emission of ammonia.

3.1.3. Smell problems caused by sulfate concentration

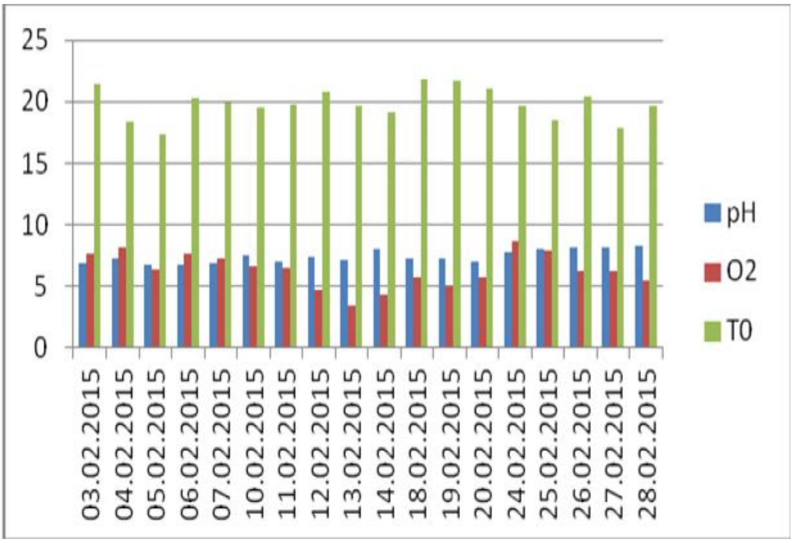
If the concentration of sulfate is high (around 180 mg/l) can be an issue of causing smell problems. The sulfate presence in the aeration tank could be because of the oxygen concentration was always more than 5 mg/l, but in the fat removal tank an anaerobic situation could be a causer, probably. If the scum and settlement are not removed regularly from the fat removal tank, it is possible that sulfate reducing organism will grow there and produce sulfide. In this case not only the scum and sediments are relevant but it is know that the responsible bacteria will be concentrated as a slime layer at the walls of the system. So besides removal of the scum and sediments also the wall has to be cleaned.



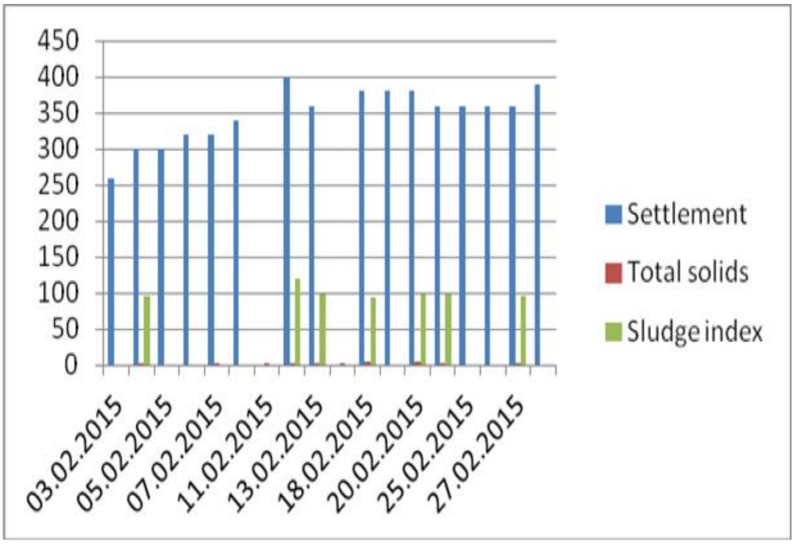
Фиг. 3.1. Измерени параметри в резервоар за аерация (първи месец)
Fig. 3.1. Measured parameters in aeration tank (First month)



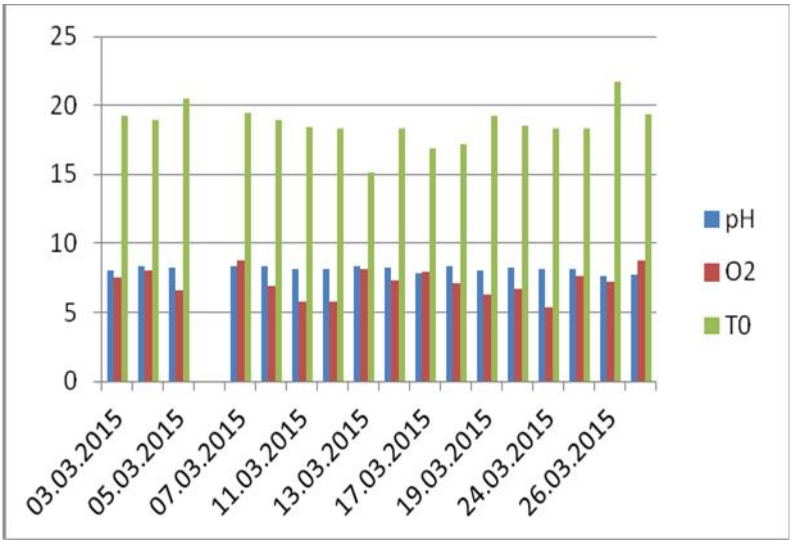
Фиг. 3.2. Измерени параметри по време на етап на аерация (първи месец)
Fig. 3.2. Measured parameters taken during aeration step (First Month)



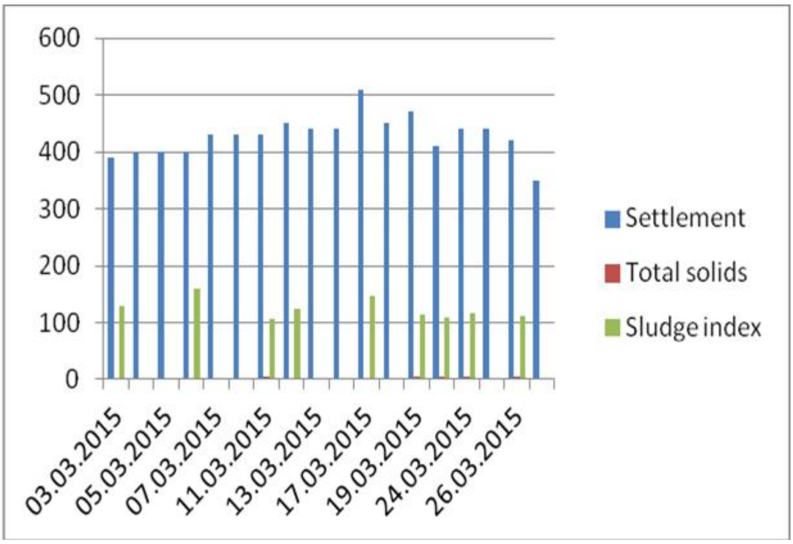
Фиг. 3.3. Измерени параметри в резервоар за аерация (втори месец)
Fig. 3.3. Measured parameters in aeration tank (Second Month)



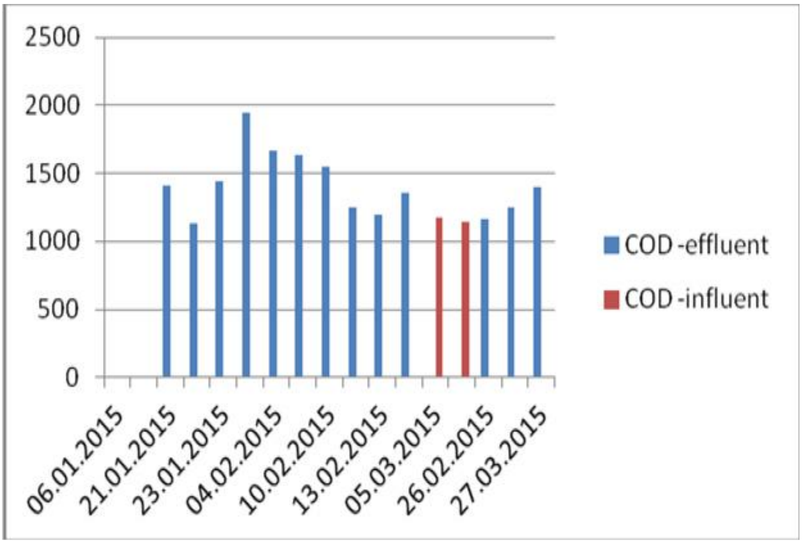
Фиг. 3.4. Измерени параметри по време на етап на аерация (втори месец)
Fig. 3.4. Measured parameters taken during aeration step (Second month)



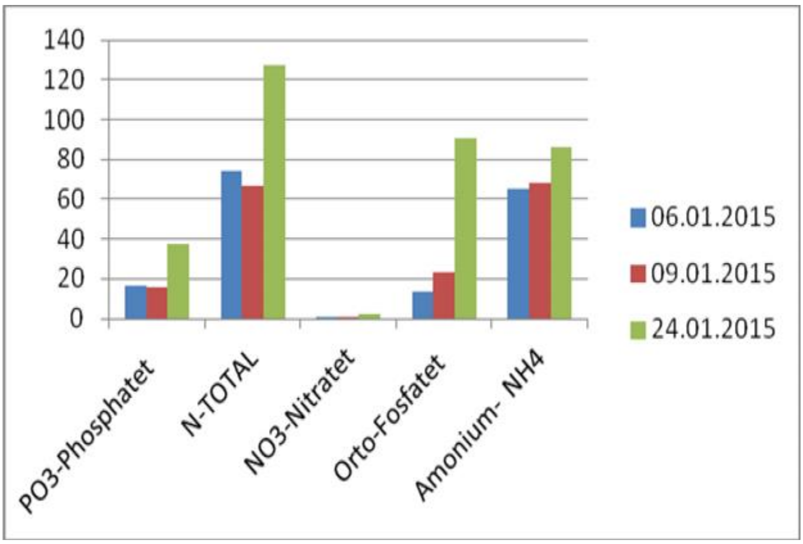
Фиг. 3.5. Измерени параметри в резервоар за аерация (трети месец)
Fig. 3.5. Measured parameters in aeration tank (third month)



Фиг. 3.6. Измерени параметри по време на етап на аерация (трети месец)
Fig. 3.6. Measured parameters taken during aeration step (third month)



Фиг. 3.7. Химично потребен кислород, измерен преди и след третиране на отпадни води
Fig. 3.7. Chemical oxygen demand measured before and after treatment of wastewater



Фиг. 3.8. Анализирани параметри след третиране на отпадни води
Fig. 3.8. Analyzed parameters after treatment of wastewater (effluent)

4. ИЗВОДИ

Въз основа на резултатите може да се заключи, че има консумация на кислород. Ако няма консумация на кислород, концентрацията на кислород ще бъде около 10 mg/l. Това означава, че има биологична активност. Много е важно да се правят изчисления за това колко утайка трябва да се върне в системата и колко утайка трябва да бъде изхвърлена. Утайката трябва да бъде отстранена в друг резервоар, за да се накарат микроорганизмите "да огладнеят" и от време на време трябва да се инжектира в системата. Микроскопското изследване е важно, тъй като може да помогне за характеризиране на качеството на утайката. Също така е полезно да се наблюдава внимателно процеса на утаяване в измервателния цилиндър. Измерването на концентрацията на кислород непосредствено след спиране на аерирането и след определен период (например 10 минути) помага да се получи инфор-мация за консумацията на кислород и капацитета за отстраняване на БПК на системата. Въпреки че млечната промишленост е голяма замърсител, процесът на пречистване на отпадъчните води в този сектор може да бъде постигнат успешно, като се използва правилният метод за всеки параметър.

4. CONCLUSIONS

Based on the results, it can be concluded that there is oxygen consumption. If there is no oxygen consumption the oxygen concentration will be about 10 mg/l. It means, there is a biological activity. It's very important to perform the calculations about how sludge must return to the system and how much sludge must be wasted. Based on it we can decide how much sludge must leave in other tank to make microorganisms "hungry" and time to time should be injected into the system.

It is important the microscopic examination because it can help to characterize the quality of the sludge. It can also be helpful to watch carefully the settling process in the measuring cylinder. Measurement of oxygen concentration directly after stopping aeration and after a certain period (for example 10 minutes) helps to gain insight into the oxygen consumption and the BOD removal capacity of the system.

Even though dairy industry is big polluters, the process of wastewater treatment on this sector can be reached successfully, using the right method for each parameter.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Ahansazan, B., H. Afrashteh, N. Ahansazan and Z. Ahansazan**, 2014. Activated Sludge Process Overview. *International Journal of Environmental Science and Development,* February, 5(1), 81-85.
2. **Al-Rekabi W. S., H. Qiang and W. W. Qiang**, 2007. Review on Sequencing Batch Reactors. *Pakistan Journal of Nutrition,* 6 (1), 11-19.
3. **Davies, P.S.**, 2005. The Biological Basis of Wastewater Treatment, Strathkelvin Instruments Ltd, 1-20.
4. **Henze, M. and Y. Comeau**, 2008. Biological Wastewater Treatment: Principles Modelling and Design, The International Water Association, London.
5. National Small Flows Clearing House at West Virginia University - Pipeline, 2003. Explaining the Activated Sludge Process, 14(2).
6. **Poltak, R. F.**, 2005. New England Interstate Water Pollution Control Comission, Sequencing Batch Reactor Design and Operational Considerations 2005.

7. **Shivsharan, V. S., S. W. Kulkarni and M. Wani**, 2013. Physicochemical Characterization of Dairy Effluents, *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 2(2), 182-191.
8. **Singh, N. B. , R. Singh and M. M. Imam**, 2014. Waste Water Managment in Dairy Industry: Pollution Abatment and Preventive Attitudes. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 3(2): 672-683.
9. **Subramani, T. and K. Arulalan**, 2012. Evaluation of the Efficiency of Surface Aerator in the Activated Sludge Process Treatment of Food Processing Effluent. *International Journal of Modern Engineering Research (IJMER),* 2(4),1518-1528.
10. United States Environmental Protection Agency Office of Water Washington DC, 1999. Wastewater Technology Fact Sheet Sequencing Batch Reactors, EPA 932-F-99-073.
11. **Vingneswaran, S., M. Sundaravadivel and D. S. Chaudhary**, 2007. Sequencing Batch Reactors:Principles, Design/Operation and Case Studies.
12. **Zhang, T., J. Stansbury and J. Branigan**, 2013. Development of a Field Test Method for Total Suspended Solids Analysis, Mid-America Transportation Center, University of Nebraska–Lincoln.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (3), 80-90 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Установяване на тежки метали в яйца на кокошки в Косово

Алуш Мусай[1], Арифе Гаши[2], Дафина Лугаджиу[1]*, Бахтир Хюсени[1]

[1]Факултет по хранителни технологии, Университет на Митровица "Иса Болетини", Митровица, Косово
[2]Факултет по хранителни технологии, Университет на Митровица "Иса Болетини", Митровица, Косово

Determination of heavy metals in hen's eggs in Kosovo

Alush Musaj[1], Arife Gashi[2], Dafina Llugaxhiu[1]*, Bahtir Hyseni[1]

[1]Faculty of Food Technology, University of Mitrovica "Isa Boletini", Mitrovica, Kosovo
[2]Master student of Food Technology, University of Mitrovica "Isa Boletini", Mitrovica, Kosovo

**E-mail: dafina.llugaxhiu@umib.net*

Received: 14.04.2018 *Accepted:* 31.08.2018 *Published:* 11.10.2018

РЕЗЮМЕ

Яйцата са богата на хранителни вещества храна, съдържаща протеини, липиди, минерали и витамини. Те също така са пълни с метали. Хранителните стойности на яйцето зависят от храната, консумирана от птиците. Един от най-важните фактори е санитарният контрол на хигиената в местата за снасяне на яйца.

Целта на настоящата статия е количествено определяне на тежки метали в яйцата въз основа на ролята, влиянието на тежките метали и възможност за тяхното присъствие в яйцата. Ние анализирахме количеството оло-во (Pb), цинк (Zn) и мед (Cu) в яйца, взети от различни места в Косово. Твърде малкото или прекалено високото съдържание на тези тежки метали може да бъде вредно. За да бъдат осъществени тези експерименти, бяха използвани два метода: теоретични методи, използвани за получаване на информация за яйцата като продукт,

SUMMARY

Eggs are a nutrient rich food containing proteins, lipids, minerals, and vitamins. They are also enriched with metals. Nutritional values of the egg depend on the foods consumed by chickens. One of great important factor is the sanitary hygiene control in eggshell places.

The aim of this work was quantification of heavy metals in eggs based on the role, effect of heavy metals and the possibility of their presence on eggs. We have analyzed: lead (Pb), zinc (Zn) and copper (Cu) amounts on eggs taken in different places in Kosovo.

Too little or too much of those heavy metals can be harmful. To realize those experiments, we have used two methods: theoretical methods used for taken information about egg as a product, egg sources, egg hygiene, and egg quality; and experimental method. Experiments

източници на яйца, хигиена на яйцата и качество на яйцата; и експериментален метод. Експериментите са осъществени в Сертифицирана лаборатория AGRO VET. Яйцата са взети в различни села в Косово; две проби, взети от село Суходоли, част от град Митровица, две проби, взети в село Прелез и Йерли, част от град Феризово, и две проби от промишлени яйца, взети в компанията "Kon Soni". Пробите са взети по различно време. Първите проби са взети през май 2016 г. (първи период), а вторите проби са взети през декември 2017 г. (втори период). Измерването на количествата тежки метали се получава с помощта на спектрометрично устройство "Optima 2100 dv".

Резултатите показват стандартни стойности на мед и цинк за всички проби от яйца, взети от три различни източника в Косово, докато стойността на оловото е била по-висока от допустимата граница за олово в яйцата.

Ключови думи: яйца, мед, олово и цинк

have been obtained in Certified Laboratory AGRO VET.

Eggs have been taken in different villages in Kosovo; two samples taken from Suhodolli village part of Mitrovica city, two samples taken in Prelez i Jerlive village part of Ferizaj city and two industrial eggs taken in “Kon Soni” company.

Those samples were taken in different time. The first samples were taken in May 2016 (first period), while the second samples were taken in December 2017 (second period). The measurement of heavy metals amounts were obtained using spectrometer device "Optima 2100 dv".

Results have shown the values of Copper and Zinc match of standard values for all eggs samples taken in three different sources in Kosovo whereas the value of Lead has been higher than permissible limit of lead in eggs.

Key words: eggs, copper, lead and zinc

1. УВОД

Пресните яйца са много важна храна за хората, богата на хранителни вещества, съдържаща протеини, липиди, минерали и витамини. През последните десетилетия глобалното производство на яйца се разраства. През 1970 г. САЩ произвеждат най-много яйца. Китай също увеличи производството на яйца над 20 пъти през същия период като САЩ. Основите производители на яйца са Китай, САЩ, Индия, Япония и Мексико. Отглеждането на кокошки е един от най-големите сектори в селското стопанство в света и се увеличава като индустрия в Косово. Консумацията е под формата на яйца за ядене и преработени в различни продукти (течни, замразени и изсушени яйчни продукти), като освен това яйцата се използват като съставки с различна хранителна употреба (Siddiqui et al., 2011; Islam et al., 2014).

1. INTRODUCTION

Fresh eggs are very important nutritious food in human diet and nutrient rich food containing proteins, lipids, minerals, and vitamins. During the last decades, the global production of eggs has been grown. In 1970, the USA was the greatest place of eggs production. China as well increased the egg production over 20 times in the same period time with USA. The major places of egg production are China, USA, India, Japan and Mexico. The hen’s industry is one of largest sector of agriculture in the world and it is increasing as industry in Kosovo also. The egg consumption is in the form of table eggs and processed into egg products (liquid, frozen and dried egg products) and eggs are used as ingredients in various food applications (Siddiqui et al., 2011; Islam et al., 2014).

Яйцата също така са богати на метали. Металите играят разнообразна роля за всички живи организми, като структурни, компоненти на контролните механизми (например в нервите и мускулите) и ензимен активатор. Следи от метали като мед (Cu), цинк (Zn), калций (Ca), желязо (Fe) и магнезий (Mg) са от съществено значение, тъй като играят определена роля във вътрешните механизми регулиращи жизнените биологични процеси и са токсични, когато приемът им надвишава изискванията. Метали като олово (Pb) и кадмий (Cd) са токсични дори в ниско количество (Hashish et al., 2012; Basha et al., 2013; Khan et al., 2016; Ahmed et al., 2017)

Тежките метали обикновено навлизат в околната среда чрез изгаряне на изкопаеми горива и непланирано управление на отпадъци. Кокошките са изложени на тежки метали чрез приема на храна, а метали се предават чрез кокошите яйца. Замърсяването на околната среда в световен мащаб с тежки метали увеличава вероятността хранителните продукти да бъдат замърсени с тежки метали, а сред тях са и яйцата, които са важна част от диетата на човека (Tchounwou et al., 2012). Оловото причинява отравяне в метаболитната система и е невротоксин, който свързва основни ензими и няколко други клетъчни компонента като ги дезактивира. Симптомите на оловно отравяне са хемопоетични, нервни, стомашно-чревни и бъбречни (Sobeih et al., 2011; Ardakani, 2017). Ролята на цинка е много важна за имунната система, протеиновия синтез, зарастването на рани, синтеза на ДНК и клетъчното делене; вследствие на това поддържа нормален растеж и развитие по време на бременност, детство и юношество, но твърде малко или прекалено голямо количество може да бъде вредно (Sobeih et al., 2011; Chowdhury et al., 2012). Неговото по-малко присъствие в нашата диета води

Eggs are also enriched with metals. Metallic elements play a variety role in all living organisms such as structural, components of control mechanisms (e.g. in nerves and muscles) and enzyme activator. Trace metals such as copper (Cu), zinc (Zn), calcium (Ca), iron (Fe) and magnesium (Mg) are essential because those play a definitive role in the internal mechanisms regulating vital biological processes and are toxic when taken in excess of requirements. Non-essential metals as are lead (Pb) and cadmium (Cd) are toxic even in low amount (Hashish et al., 2012; Basha et al., 2013; Khan et al., 2016; Ahmed et al., 2017)

Heavy metals normally get into the environment through fossil fuels combustion and unplanned waste management. The chickens are exposed to heavy metals by feed intake and those metals are passed through chicken eggs. Pollution of global environment with heavy metals increases possibility of food stuffs being contaminated with heavy metals and amongst them eggs which are an important part of human’s diet (Tchounwou et al., 2012).

Lead causes poison into metabolic system and it is a neurotoxin that binds essential enzymes and several other cellular components and inactivates them. The symptoms of lead posion are haemopoietic, nervous, gastrointestinal and renal systems (Sobeih et al., 2011; Ardakani, 2017). Zinc’s role is very important in immune function, protein synthesis, wound healing, DNA synthesis and cell division; consequentially it supports normal growth and development during pregnancy, childhood and adolescence, but too little or too much can be harmful (Sobeih et al., 2011; Chowdhury et al., 2012).

Its less presence in our diet causes a loss of appetite, decreased sense of taste and до загуба на апетит, намалено чувство за вкус и мирис, намалена имунна функция, рани лекуват бавно и кожни рани. Прекалено ниското съдържание на цинк може да причини проблеми на бременните жени, което е причина за забавяне на растежа. Твърде голямото количество цинк причинява стомашни спазми, гадене, повръщане, анемия, увреждане на панкреаса (Demirulus, 2013). Медта е основен микроелемент, който играе решаваща роля в синтеза на хемоглобина и други ензимни функции. Дефицитът и излишъкът на Cu в системата на бозайниците води до отрицателни ефекти. Токсичното ниво на Cu причинява болестта на Уилсън (прекомерно натрупване на мед в черния дроб, мозъка, бъбреците и роговицата) и болестта на Menke (проблеми с косата, тежко умствено изоставане, неврологично увреждане и смърт преди 3-годишна възраст) (Sobeih et al., 2011; Chowdhury et al., 2012; Demirulus, 2013; Ahmed et al., 2017).

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Въз основа на ролята и влиянието на тежките метали и вероятността за наличието им в яйцата, присъствието на тежки метали като: олово (Pb), цинк (Zn) и мед (Cu) е изследвано в яйца, взети от различни места в Косово.

За осъществяването на експериментите са използвани:

- Теоретическа част за получаване на информация за яйцата като продукт, източници, хигиена и качество на яйцата
- Експериментална част за вземане на проби и тяхната подготовка за анализ, направен чрез експерименти със сертифицирана лаборатория AGRO VET.

2.1. Събиране на проби

Яйцата са взети от различни села в Косово; две проби, взети от село Суходоли, част от град Митровица, две проби, взети в село Прелез и Йерли,

smell, decreased immune function, wounds heal slowly and skin sores.

Too little zinc can also cause problems to pregnant women which cause growth retardation. Too much amounts of zinc cause stomach cramps, nausea, vomiting, anemia, damage the pancreas (Demirulus, 2013).

Copper is a fundamental trace element which plays a crucial role in hemoglobin synthesis and other enzymes functions. Both deficiency and excess of Cu in the mammalian system result in negative effects. Toxic level of Cu causes Wilson’s disease (excessive accumulation of Cu in liver, brain, kidney and cornea) and Menke’s disease (peculiar hair, severe mental retardation, neurological impairment and death before 3 years of age) (Sobeih et al., 2011; Chowdhury et al., 2012; Demirulus, 2013; Ahmed et al., 2017).

2. MATERIAL AND METHODS

Based on the role and effect of heavy metals and the possibility of their presence on eggs, the presence of heavy metals such as: lead (Pb), zinc (Zn) and copper (Cu) have been analyzed on eggs taken in different places in Kosovo.

To realize those experiments, we have used:

- Theoretical part for taking of information about egg as a product, egg sources, egg hygiene, and egg quality
- Experimental part for sample collection, and their preparation for analysis, through Certified Laboratory AGRO VET experiments have been conducted.

2.1. Sample collection

Eggs have been taken in different villages in Kosovo; two samples taken from Suhodolli village part of Mitrovica city, two samples taken in Prelez i Jerlive village part of Ferizaj city and two част от град Феризово, и две проби от промишлени яйца, взети от фирма "Kon Soni". Пробите са взети по различно време. Първите са взети през май 2016 г. (първи период), а вторите проби са взети през декември 2017 г. (втори период).

2.2. Подготовка на пробите от яйцата

След вземане на проби по 0.5 g от всичко яйце, те са претеглени и поставени в Teflon. Към пробите са добавени 6 ml азотна киселина и 2 ml диводороден пероксид. Тефлонови проби се поставят под микровълново лъчение (Фигура 2.1), като се преминава през пет фази при различни температури, под различно налягане и в различно време. В таблиците по-долу са представени пет фази на активност на яйцата (Таблица 2.1):

industrial eggs taken in “Kon Soni” company. Those samples were taken in different time. The first samples were taken in May, 2016 (first period), while the second samples were taken in December, 2017 (second period).

2.1. Preparation of egg samples

After collection of samples, 0.5 g of every egg were weighted and were put in Teflon. 6 ml nitric acid and 2 ml peroxide hydrogen were added on samples. Teflon samples were set in microwaves (Figure 2.1) proceeded in five phases in different temperature, in different presion and in the different time. In the tables below are presented five phases of eggs activity (Table 2.1):

a)

b)

Фиг. 2.1. a) Микровълново лъчение и б) спектрометърно устройство "optima 2100 dv", използвано за анализ на пробите
Fig. 2.1. a) Microwaves and b) spectrometer device "optima 2100 dv" used for samples analysis

Таблица 2.1. Първи период (май 2016 г.) и втори период (декември 2017 г.) на яйцата, при различна температура и различно налягане
Table 2.1. First period (May, 2016) and second period (December, 2017) of eggs, in different temperature and different pressure

First period (May, 2016) Second period (December, 2017)	Фаза 1 Phase 1	Фаза 2 Phase 2	Фаза 3 Phase 3	Фаза 4 Phase 4	Фаза 5 Phase 5
Температура/Temperature	145 ^{O}C	170 ^{O}C	210 ^{O}C	100 ^{O}C	100 ^{O}C
Налягане/Pressure	30 bars	30 bars	30 bars	0 bar	0 bar
Време/Time	5 min	10 min	15 min	10 min	10 min

3. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Измерването на количествата тежки метали се осъществява с помощ-та на спектрометрично устройство "Optima 2100 dv". Резултатите за двата периода са обобщени в Таблици 3.2 и 3.3, като са представени в две диагра-ми (Фигура 3.1 и 3.2), които показват стойностите за всеки анализиран тежък метал. Съгласно допустимите гранични стойности, представени в таблица 3.1, резултатите за мед (Cu) и цинк (Zn) съвпадат предимно със стандартните (допустими граници), докато стойност-ите на оловото (Pb) показват по-висока стойност от допустимите гранични стойности за двата периода за всички проби яйца.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The measurement of heavy metals amounts have been obtained using spectrometer device "Optima 2100 dv". The results for two periods are summarized in Table 3.2 and 3.3 and are presented in two diagrams (Figure 3.1 and 3.2) which show the values for each heavy metal analyzed. According to permissible limit values presented in Table 3.1, the results for Copper (Cu) and Zinc (Zn) match mostly of standard (Permissible limits) whereas the values of Lead (Pb) shows higher value than permissible limit values in two periods in all eggs samples.

Таблица 3.1. Допустими граници на тежки метали в яйца за ядене
Table 3.1. Permissible limits of heavy metals in table hen eggs

Метали/Metals	Допустими граници/Permissible limits (mg kg^{-1})
Мед/Copper (Cu)	10
Олово/Lead (Pb)	0.5
Цинк/Zinc (Zn)	20

Източник / Source: (Zmudzki and Szkoda, 1996; AL-Ashmawy, 2013).

3.1. Мед

Стойността на медта за първите периоди (май, 2016) (Таблица 3.2) и (Фигура 3.1) е 1.08 mg/kg за промиш-лени яйца, докато за проби, взети във Феризово и Митровица 0.95 mg/kg и 0.75 mg/kg, съответно. Във втория период (декември 2017 г.) (Таблица 3.3) и (Фигура 3.2) стойностите на медта за промишлените яйца са 1.10 mg/kg, докато при яйцата, взети във Феризово и Митровица стойностите са 0.96 mg/kg и съответно 1.01 mg/kg.

3.1. Copper

The value of Copper in the first period (May, 2016) (Table 3.2) and (Figure 3.1) has been 1.08 mg/kg for industrial eggs, whereas for eggs samples taken in Ferizaj and in Mitrovica has been 0.95 mg/kg and 0.75 mg/kg, respectively. In the second period (December, 2017), (Table 3.3) and (Figure 3.2), the values of Copper for industrial eggs have been 1.10 mg/kg, whereas for eggs taken in Ferizaj and Mitrovica the values has been 0.96 mg/kg and 1.01 mg/kg respectively.

3.2. Олово (Pb)

Стойността на оловото във всички проби от яйца, взети на всяко място, е надвишила препоръчителния

3.2. Lead (Pb)

The value of Lead in all eggs samples taken in each place has exceeded the recommended threshold of праг на олово в яйцата и в двата случая: първи и втори период. Промишлените яйца показват много високо съдържание на олово, 10,8 mg/kg през първия период (май 2016 г.) и 10,9 mg/kg във втората фаза (декември 2017 г.). Стойностите на яйцата, взети от село Феризово и село Митровица, са били съответно 0,83 mg/kg и 0,95 mg / kg в първия период (май 2016 г.) (Таблица 3.2) и (Фигура 3.1), докато във втория период (декември 2017 г.), представени в (Таблица 3.3) и (Фигура 3.2), стойностите на Pb са 0,89 mg/kg и 0,95 mg/kg. Нивото на оловото в индустриалните яйца е с 9-10% по-високо, отколкото при яйцата, произхождащи от село Феризово и село Митровица и в двете фази. Нивото на оловото е надвишило допустимата стойност за всяка анализирана проба, с увеличение съответно от 60%, 20% и 30%.

3.3. Цинк

Стойностите на цинк във всяка проба са в съответствие с допустимата стойност за съдържание на цинк в яйцата. В първия период (май 2016 г.), представен в Таблица 3.2 и Фигура 3.1, яйцата за промишлени цели показват 11.90 mg/kg цинк, докато през втория период стойността на цинк в яйца за промишлени цели е 12.2 mg/kg. От друга страна, количеството цинк в яйцата, взети в селата Феризово и Митровица, е съответно 13.38 mg/kg и 14.13 mg/kg. Във втория период (декември 2017 г.) стойностите на цинк в яйца за промишлени цели от "Kon Soni", Феризово и Митровица са съответно 12.2 mg/kg, 13.61 mg/kg и 14.51 mg/kg (Таблица 3.3) и (Фигура 3.2).

lead in the eggs in both cases: first and second period. Industrial eggs have shown a very high level of lead presence, 10.8 mg/kg in first period (May, 2016) and 10.9 mg/kg in second phase (December, 2017). The values of eggs taken from village of Ferizaj and village of Mitrovica have been 0.83 mg/kg and 0.95 mg/kg respectively, in the first period (May, 2016) (Table 3.2) and (Figure 3.1) whereas in the second period (December, 2017) presented in (Table 3.3) and (Figure 3.2) the values of Pb have been 0.89 mg/kg and 0.95 mg/kg. The level of Lead in industrial eggs has been 9-10% higher than in eggs samples originated from village of Ferizaj and village of Mitrovica in both phases time. The level of Lead has exceeded the permissible value in each sample analyzed, increasing per 60%, 20%, and 30% respectively.

3.3. Zinc

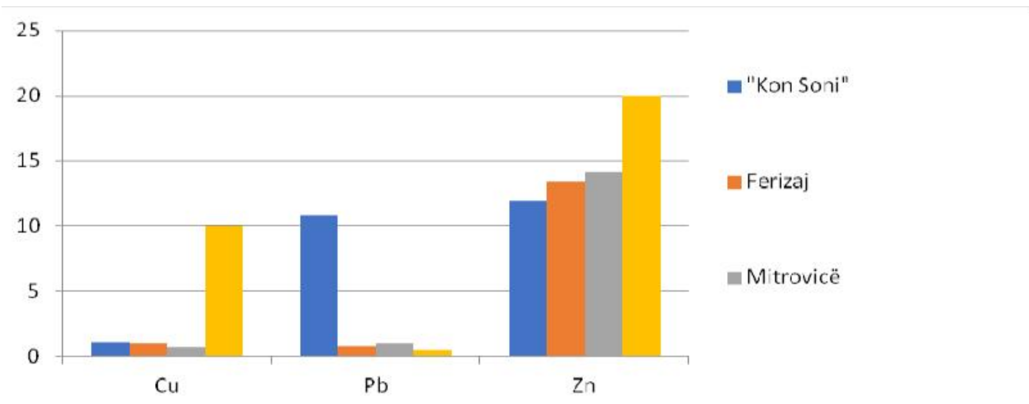
Zinc values in each eggs samples has been in conformity of permissible value of zinc presence in the eggs. In the first period (May, 2016) presented in Table 3.2 and Figure 3.1 the industrial eggs has shown 11.90 mg/kg amount of zinc, whereas in the second period the value of zinc in industrial eggs has been 12.2 mg/kg. On the other hand, amount of zinc into eggs taken in two villages, one in Ferizaj and other village in Mitrovica have been 13.38 mg/kg and 14.13 mg/kg, respectively. In the second period (December, 2017) the values of zinc for industrial eggs “Kon Soni”, Ferizaj and Mitrovica has been 12.2 mg/kg, 13.61 mg/kg and 14.51mg/kg, respectively (Table 3.3) and (Figure 3.2).

Таблица 3.2. Съдържание на тежки метали (mg/kg суровина) в проби от яйца (първа фаза) – май, 2016 г.
Table 3.2. The content of heavy metals (mg/kg of raw material) in egg samples (first phase) – May, 2016

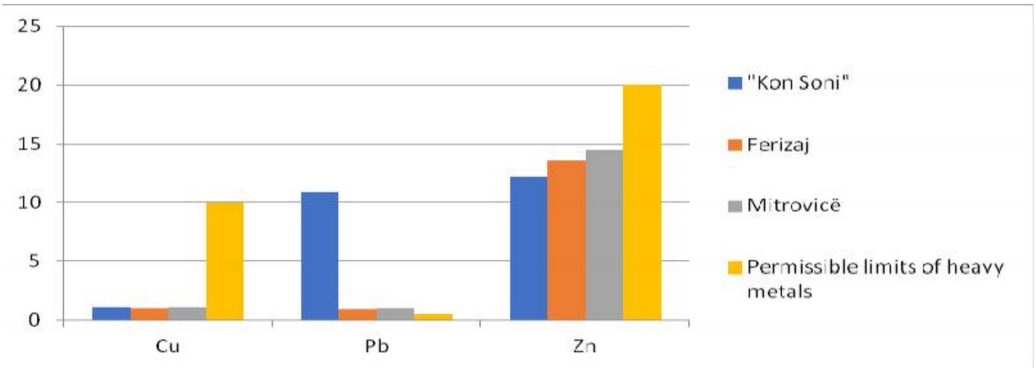
Параметри/Parameters mg/kg	Мерна единица/Unit	Метод/Method	Фирма/Industrial "Kon Soni"	Феризово /Ferizaj	Митровица /Mitrovica
Cu	mg/kg	EPA-6010C BS EN 13804 BS EN 13805 BS EN 13806 BS EN 13803	1.08	0.95	0.75
Pb			10.8	0.83	0.95

Таблица 3.3. Съдържание на тежки метали (mg/kg суровина) в проби от яйца (втора фаза) – декември 2017 г.
Table 3.3. The content of heavy metals (mg/kg of raw material) in egg samples (second phase) – December, 2017

Параметри/Parameters mg/kg	Мерна единица/Unit	Метод/Method	Фирма/Industrial "Kon Soni"	Феризово /Ferizaj	Митровица /Mitrovica
Cu	mg/kg	EPA-6010C BS EN 13804 BS EN 13805 BS EN 13806 BS EN 13803	1.10	0.96	1.01
Pb			10.9	0.89	0.98
Zn			12.2	13.61	14.51



Фиг. 3.1. Стойности на тежки метали в яйца през първия период – май 2016 г.
Fig. 3.1. Presentation of heavy metals values in eggs during the first period – May, 2016



Фиг. 3.2. Стойности на тежки метали в яйца през втория период – декември, 2017 г.
Fig. 3.2. Presentation of heavy metals values in eggs during the second period – December, 2017

Както видяхме, оловото е единствения тежък метал, който преминава граничната стойност на присъствие на Pb в яйцата. Има много възможности за замърсяване на почвата с олово. Оловото се среща естествено в околната среда, но често се среща при по-високи нива в почвите, засегнати от човешката дейност. Градинарството може да увеличи оловото в почвата. Замърсеният въздух, почвата и замърсената храна могат да бъдат източници за поява на олово в яйцата. В Косово оловото е присъствало в източниците на гориво до 1970-та година. Всяко растение, което се отглежда, може да бъде замърсено с олово, което прави растенията опасни за кокошките, тъй като те търсят храната си директно в тревата. Храна съхранявана за дълго време в стъклен пакет или внесена храна от места, където се използва консервирана храна, може да доведе до наличието на олово в яйцата за промишлени цели. Други оловни източници могат да бъдат изхвърлени материали, безполезни предмети, като например боя, съдържаща олово, пържени картофи и т.н. Излагането на олово може да повлияе на здравето. Както беше споменато по-горе, оловото отравя метаболитната система. То е невротоксин, който свързва основни ензими и няколко други клетъчни компоненти и ги дезактивира. Симптомите на оловно

As we have seen, the Lead is only heavy metal which overcomes the threshold value of Pb presence in the eggs. There are many possibilities of the soil being contaminated with lead. Lead occurs naturally in the environment, but it often occurs at higher levels in soils affected by human activity. Gardening may increase the lead into the soil. The contaminated air, soil and contaminated food may be the sources of lead presence in the eggs. In Kosovo, the lead was present in fuel sources until 1970th. Every plant that is grown may be contaminated with lead, making the plants dangerous for chicken because the chickens look for their feed directly in the grass. The assured food for a long time in glass package, or imported food from places which used canned food can cause presence of lead in the industrial eggs. The other lead sources may be caused by discharged materials, useless article such as dyer containing lead, fried potatoes etc. Exposure to lead can be associated with health. As it was mentioned above, lead causes poison into metabolic system and it is a neurotoxin that binds essential enzymes and several other cellular components and inactivates them. The symptoms of lead poison are haemopoietic, nervous, отровяне са хемопоетични, нервни, стомашно-чревни и бъбречни проблеми. Оловото може да бъде опасно за здравето, особено при малките деца. Оловото може да навреди на растежа, поведението и способността на детето да се учи.

gastrointestinal and renal systems. Lead can pose a health concern, especially for young children. Lead can harm a young child's growth, behavior, and ability to learn.

4. ИЗВОДИ

Въз основа на резултатите за тежките метали (Cu, Pb, Zn) можем да заключим, че токсичният елемент Pb в яйцата за промишлени цели показва по-високо от гранично ниво поради недохранване или използването на изкуствена храна в тези ферми, което води до по-голямо увеличаване на Pb и Cu в яйцата в селата, около 9-10%. Около 1-2% от нивото на Zn е установено, че е по-високо в пробите от яйца, взети в две села, отколкото на Zn в яйцата за промишлени цели. Най-силните фактори при замърсяването на яйцата с тежки метали са замърсената храна, замърсеният въздух, замърсяването на водата и събирането на тежки метали в зърнените култури, използвани за хранене на кокошки, и други храни приемани косвено. Като се имат предвид отрицателното влияние върху човешкото здраве, причинено от тежките метали, особено от Pb, се препоръчва да се обърне сериозно внимание на изхвърлянето на замърсители в околната среда; остатъци от тежки метали в храните и контрол на съдържанието на тежки метали по време на производствения процес на птичи храни.

4. CONCLUSIONS

Based on the determined results of heavy metals (Cu, Pb, Zn), we can conclude the toxic element of Pb in the industrial egg indicates higher level than threshold limit due to malnutrition or the use of artificial food in those farms which has lead in increasing of Pb and Cu greater than in the eggs of the villages, around 9-10% higher. Around 1-2 % of Zn level was found to be higher in eggs samples taken in two villages than Zn level in industrial eggs samples.

The most influential factors in contamination of eggs with heavy metals are contaminated food, air pollution, water pollution, and heavy metal gathering in cereals used for chickens feeding and other foods taken indirectly.

Considering the negative effects in human health caused by heavy metals, especially by Pb, it is recommended to pay serious attention to pollutant discharge into the environment; residue of heavy metals in the foodstuffs and control of heavy metals content during the production process of poultry foods.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Ahmed A.A. H., E.E.-P. Mohammed, D. Yahia and A. S.M. Faried**, 2017. Lead, Cadmium and Copper Levels in Table Eggs. *Journal of Advanced Veterinary Research,* 7 (3), 66-70.
2. **AL-Ashmawy M.A.M.**, 2013. Trace elements residues in the table eggs rolling in the Mansoura City markets Egypt. *International Food Research Journal*, 20(4), 1783-1787.
3. **Ardakani S.S.**, 2017. Assessment of levels and health risk of heavy metals (Pb, Cd, Cr, and Cu) in commercial hen's eggs from the city of Hamedan. *Pollution,* 4(3), 669-677.

4. **Basha A.M., N.Yasovardhan, S.V. Satyanarayana, G.V.S. Reddy and A.V. Kumar**, 2013. Assesment of Heavy Metal Content of Hen Eggs in the Surroundings of Uranium Mining Area, India. *Food Science and Technology*, 14: 344-349

5. **Chowdhury M.Z.A., Z.A. Siddique, S.M.A. Hossain, A.I Kazi and A.A. Ahsan, S. Ahmed, M.M. Zaman**, 2012. Determination of essential and toxic metals in meats, meat products and eggs by spectrophotometric method. *Journal of the Bangladesh Chemical Society*, 24(2).

6. **Demirulus H.**, 2013. The Heavy Metal Content in Chicken Eggs Consumed in Van Lake Territory. *Ekoloji*, 22 (86), 19-25.

7. **Hashish S.M., L.D. Abdel-Samee and M.A. Abdel-Wahhab**, 2012. Mineral and Heavy Metals Content in Eggs of Local Hens at Different Geographic Areas in Egypt. *Global Veterinaria*, 3 (8), 298-304.

8. **Islam M.Su., M. Zafar and M. Ahmed**, 2014. Determination of heavy metals from table poultry eggs in Peshawar-Pakistan. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry,* 3 (3), 64-67.

9. **Khan Z., A. Sultan, R. Khan, S. Khan, I. Farid and K. Farid**, 2016. Concentrations of Heavy Metals and Minerals in Poultry Eggs and Meat Produced in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Meat Sciences and Veterinary Public Health,* 1 (1), 4-10.

10. **Siddiqui, S.S. Nazami, F.A. Khan, S. Bhutto, M. Tahir, A.B. Munshi and N.Syed**, 2011. Determination of some heavy metals in hen eggs using ICP-AES technique. *Pak J Biochem Mol Biol*, 4 (44), 133-136.

11. **Sobeih A.M.K. and H.M.R. Hegazy**, 2011. Determination of Some Heavy Metals in Table Hen's Eggs. *Journal of American Science,* 7(9).

12. **Tchounwou P.B., C.G. Yedjou, A.K. Patlolla and D.J. Sutton**, 2012. Heavy Metals Toxicity and the Environment. In: *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology* Edited by Andreas Luch, 3: 133 -164

13. **Zmudzki J. and J. Szkoda**, 1996. Concentrations of trace elements in hen eggs. *Polar Bromatologia-i-Chemia-Toksykologiczna*, 29 (1), 55-57.