

Olovo i kadmij u uzorcima kokošjih jaja podrijetlom iz domaćinstava izloženih dimu uslijed požara u tvornici za recikliranje plastike

Rušiti, Ilmi

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:821593>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-07**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Ilmi Rušiti

**Olovo i kadmij u uzorcima kokošjih jaja podrijetlom iz
domaćinstava izloženih dimu uslijed požara u tvornici za
recikliranje plastike**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za ekologiju i toksikologiju
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Opasnosti vezane uz hranu

Tema rada je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2023./2024. održanoj 28. svibnja 2024.

Mentor: prof. dr. sc. Tomislav Klapac

Pomoć pri izradi: dr. sc. Gordana Šelo

Olovo i kadmij u uzorcima kokošjih jaja podrijetlom iz domaćinstava izloženih dimu uslijed požara u tvornici za recikliranje plastike

Ilmi Rušiti, 0113147092

Sažetak: Zadatak diplomskog rada bio je utvrditi koncentraciju olova i kadmija u uzorcima kokošjih jaja iz slobodnog uzgoja, proizvedenih u domaćinstvima potencijalno izloženim kontaminaciji uslijed požara u osječkoj tvornici za recikliranje plastike. Pored uzoraka jaja iz naselja izloženih dimu, analizirani su i uzorci podrijetlom iz kontrolnih naselja, kao i uzorci iz trgovina. Uzorci su prikupljeni u tri perioda nakon požara, tj. u jesen, zimu i ljeto. Nakon liofilizacije i mikrovalne digestije, analiza je provedena korištenjem masene spektrometrije s induktivno-spregnutom plazmom (ICP-MS). Medijani koncentracija kadmija uzoraka s lokacija izloženih dimu tijekom jesenskog prikupa ne razlikuju se značajno u odnosu na kontrolne uzorke (0,11 prema 0,12 ng/g; $p = 0,951$). Slično vrijedi za ove dvije skupine uzoraka iz zimskog prikupa (0,46 prema 0,55; $p = 0,281$), kao i ljetnog prikupa (0,52 prema 0,52 ng/g; $p = 0,792$). Uzorci s lokacija izloženih dimu i kontrolnih lokacija pokazuju značajno viši sadržaj Cd u odnosu na uzorke iz trgovina. Nema značajne razlike između medijana koncentracije olova s lokacija izloženih dimu tijekom jesenskog prikupa i kontrolnih uzoraka (6,28 prema 6,29 ng/g; $p = 0,640$), kao ni između ove dvije skupine uzoraka iz zimskog prikupa (4,65 prema 5,43; $p = 0,730$) i ljetnog prikupa (8,93 prema 7,46 ng/g; $p = 0,452$). Pretpostavka da će uzorci s lokacija izloženih dimu požara iz tvornice za reciklažu plastike biti kontaminiraniji od kontrolnih uzoraka nije potvrđena. Procijenjeni dnevni unosi Pb ($\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m.) konzumacijom jaja čine manje od 1% BMDL vrijednosti, kao mjere praga toksičnog djelovanja. Analogno je utvrđeno za tjedne unose Cd konzumacijom jaja, koji čine najviše 0,3% TWI vrijednosti. Može se zaključiti da konzumacija analiziranih jaja bilo kojeg podrijetla predstavlja minimalan rizik za zdravlje zbog niskih razina ovih teških metala.

Ključne riječi: olovo, kadmij, kokošja jaja, požar u tvornici za recikliranje plastike, ICP-MS

Rad sadrži: 59 stranica
22 slike
10 tablica
36 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|----------------------------------|---------------|
| 1. doc. dr. sc. Tihomir Kovač | predsjednik |
| 2. prof. dr. sc. Tomislav Klapac | član-mentor |
| 3. prof. dr. sc. Ivana Flanjak | član |
| 4. prof. dr. sc. Ines Banjari | zamjena člana |

Datum obrane: 24. rujna 2024.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Chemistry and Ecology
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food Engineering

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Course title: Foodborne Hazards

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII held in the academic year 2023/2024, held on May 28, 2024.

Mentor: *Tomislav Klapac*, PhD, prof.

Technical assistance: *Gordana Šelo*, PhD

Lead and cadmium in hen eggs produced by households exposed to smoke from a plastics recycling plant fire

Ilmi Rušiti, 0113147092

Summary: The aim of this thesis was to determine the concentration of lead and cadmium in free-range hen egg samples produced in households potentially exposed to contamination due to a plastic recycling plant fire in Osijek. In addition to egg samples from locations exposed to smoke, samples from control locations, and commercially available samples were analyzed. Sampling was performed in three repetitions after the fire outbreak, i.e., during fall, winter, and summer. Following lyophilization and microwave digestion, analysis was performed using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Differences between Cd concentration medians for samples from smoke-exposed locations and control samples collected in fall were not statistically significant (0.11 vs 0.12 ng/g; $p = 0.951$). Similar results were obtained for the two sample groups collected in winter (0.46 vs 0.55; $p = 0.281$), and summer (0.52 vs 0.52 ng/g; $p = 0.792$). Egg samples from smoke-exposed locations and control samples always had significantly higher Cd levels compared to commercial samples. Median Pb levels in samples from smoke-exposed location and control samples collected in fall were not statistically significant (6.28 vs 6.29 ng/g; $p = 0.640$). No significant differences were recorded for the two sample groups collected in winter (4.65 vs 5.43; $p = 0.730$), and summer (8.93 vs 7.46 ng/g; $p = 0.452$). The hypothesized higher contamination levels in samples from smoke-exposed locations was not confirmed. The estimated daily Pb exposure ($\mu\text{g}/\text{kg bw}$) from hen eggs makes less than 1% BMDL, as a measure of toxicological threshold. A similar result was determined for the weekly Cd exposure: less than 0.3% TWI value. It can be concluded that consumption of analyzed eggs of any origin poses a minimal health risk due to low levels of the heavy metals.

Key words: lead, cadmium, hen's eggs, plastic plant fire, ICP-MS

Thesis contains: 59 pages
22 figures
10 tables
36 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. <i>Tihomir Kovač</i> , PhD, assistant prof. | chair person |
| 2. <i>Tomislav Klapac</i> , PhD, prof. | supervisor |
| 3. <i>Ivana Flanjak</i> , PhD, prof. | member |
| 4. <i>Ines Banjari</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: September 24, 2024

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

DIPLOMSKI RAD JAVNO JE OBRANJEN DANA

24. 09. 2024.

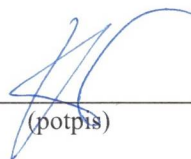
TE OCIJENJEN USPJEHOM

izvrstan (5)

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. doc. dr. sc. Tihomir Kovač

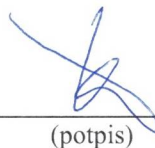
predsjednik



(potpis)

2. prof. dr. sc. Tomislav Klavec

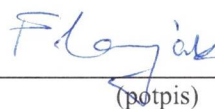
član



(potpis)

3. prof. dr. sc. Ivana Flanjak

član



(potpis)

Zahvaljujem svima koji su bili dio mog fakultetskog putovanja, a naročito mojim roditeljima,
sestri i mojoj A. koji su mi bili najveća podrška.

Također bih se zahvalio prof. dr. sc. Tomislavu Klapecu na ukazanoj prilici i ažurnosti
tijekom izrade cijelog rada. Zahvale idu i Biljani Crevar na potpori i dobroj atmosferi, čime je
sve išlo puno lakše.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. OLOVO	4
2.1.1. Rasprostranjenost	4
2.1.2. Toksičnost.....	5
2.2. KADMIJ	8
2.2.1. Rasprostranjenost	8
2.2.2. Toksičnost.....	9
2.3. JAJA I NAČINI UZGOJA KOKOŠI NESILICA	11
2.3.1. Učinak zagađenja okoliša na kontaminaciju jaja teškim metalima	14
2.4. TEHNIKE ODREĐIVANJA TEŠKIH METALA I MASENA SPEKTROMETRIJA S INDUKTIVNO-SPREGNUTOM PLAZMOM	17
3. EKSPERIMENTALNI DIO	21
3.1. ZADATAK	20
3.2. MATERIJALI I METODE	20
3.2.1. Uzorci	20
3.2.2. Kemikalije i standardi.....	20
3.2.3. Uređaji	21
3.2.3. Metode.....	23
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	30
4.1. VALIDACIJSKI PARAMETRI ICP-MS ANALIZE	31
4.2. REZULTATI ANALIZE OLOVA I KADMIJA	33
4.2. UNOS KADMIJA I OLOVA KONZUMACIJOM JAJA U ODNOSU NA REFERENTNE DOZE IZLOŽENOSTI	50
5. ZAKLJUČCI	53

6. LITERATURA.....	56
--------------------	----

1. UVOD

Kokošja jaja su namirnice životinjskog podrijetla te ih se konzumira diljem svijeta. Prema istraživanjima Organizacije za prehranu i poljoprivredu, u razdoblju od 2000. do 2018. unos namirnica animalnog podrijetla, a samim time i kokošnjih jaja, rapidno je porastao (za oko 50%). Uzevši u obzir široku konzumaciju kokošnjih jaja i globalni porast populacije, očekuje se da će zahtjevi populacije za kokošnjim jajima nastaviti rasti. S obzirom na nutritivna svojstva te kratku i jednostavnu pripremu kokošnjih jaja, ona se nameću kao jedna od glavnih namirnica za unos proteina. Jaja sadrže optimalan omjer esencijalnih aminokiselina, vitamine topljive u mastima (A, D, E, K) i vitamine B skupine. Od minerala, sadrže kalcij, željezo, cink, selen i fosfor, kao i prirodne antioksidanse koji reduciraju slobodne radikale. Međutim, u namirnicama animalnog podrijetla kao što su meso, riba, mliječni proizvodi ili jaja, često se znanstvenim ispitivanjima pronalaze kontaminanti poput toksičnih metala, ostataka lijekova i toksičnih organskih spojeva (Mitrović i sur., 2021).

Jaja iz slobodnog uzgoja se mogu smatrati i dobrim indikatorima zagađenja okoliša. Glavni izvori zagađenja okoliša teškim metalima su razne industrije, a posebno vrijedi istaknuti rudarsku industriju i industriju plastike, kućni otpad, pesticide te ostala agrotehnička djelovanja. Teški metali su vrlo problematični kontaminanti jer se ne razgrađuju i ne mogu samo nestati već se zadržavaju u okolišu kroz procese biotransformacije gdje se vežu za razne organske spojeve te se bioakumulacijom nakupljaju u organizmima hranidbenog lanca. Samim time se teški metali u zagađenom okolišu akumuliraju i u jajima iz slobodnog uzgoja kokoši te ih to čini direktnim izvorom toksičnih teških metala za ljudski organizam. Male količine teških metala u organizmu u pravilu ne rade veće štete jer ih organizam efikasno obrađuje i izlučuje, međutim ukoliko se radi o kontinuiranom unosu teških metala iz hrane kroz duži period i u većim količinama, tada teški metali imaju štetno djelovanje na normalno funkcioniranje organizma jer ometaju mnoge biološke i biokemijske procese, što je naročito opasno kod djece (Aliu i sur., 2021).

Cilj ovog istraživanja je bio odrediti količine olova i kadmija u kokošnjim jajima iz domaćinstava izloženih dimu uslijed požara u tvornici za recikliranje plastike, a metoda koja je korištena za određivanje je ICP-MS (masena spektrometrija uz induktivno-spregnutu plazmu) uz prethodnu obradu uzoraka homogenizacijom, liofilizacijom i digestijom.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. OLOVO

Olovo je mekan, gust i toplinski vodljiv metal koji se nalazi u 4A skupini periodnog sustava elemenata s atomskim brojem 82 te atomskom masom od 207,2 g/mol. Vrlo je pogodno za kovanje, a slabo provodi električnu energiju. Otporno je na koroziju, međutim kada se izloži zraku ima tendenciju tamnjenja. Srebrno plave je boje te se nalazi u Zemljinoj kori u relativno malim količinama, iako se u prirodi vrlo rijetko javlja samostalno kao metal. Uglavnom se veže za dva ili više različita elementa s kojima tvori olovne komponente (EFSA, 2010).

2.1.1. Rasprostranjenost

Olovo se u prirodi javlja u anorganskom i organskom obliku. Prirodni je okolišni kontaminant, a njegova sveprisutnost je posljedica ljudskih aktivnosti kao što su rudarenje, taljenje, lemljenje, proizvodnja baterija, proizvodnja olovnih vodovodnih cijevi, proizvodnja streljiva i mnoge druge aktivnosti. U prošlosti je olovo korišteno i za proizvodnju bojila te u benzinu kako bi poboljšalo efikasnost rada motora. Posljednje dvije aktivnosti su naročito utjecale na rasprostranjenost toksičnog olova u okolišu (EFSA, 2010). U današnje vrijeme industrijska uporaba olova znatno je smanjena. Ne dodaje se bojama i keramičkim proizvodima, a više se ne koristi ni za lemljenje i brtvljenje. Unatoč ovim redukcijama upotrebe olova, u SAD-u su otkrivene značajne količine olova u 25% od 16,4 milijuna kućanstava s više od jednog djeteta ispod 6 godina starosti. Olovo je pronađeno u dekorativnim bojama, prašini i tlu. Olovo iz prašine i krhotina boje iz zidova je vrlo problematično jer često rekontaminira očišćena kućanstva. Danas je najveći izvor trovanja olovom kod djece tlo i krhotine boje sa unutarnjih zidnih površina. Djeca koja žive u domovima kontaminiranim olovom mogu dosegnuti razine koncentracije olova u krvotoku od 20 µg/dL i više (Tchounwou i sur., 2012).

Iako je uporaba olova znatno kontrolirana i ograničena u razvijenim državama, još uvijek se intenzivno koristi u zemljama u razvoju. Razlog tomu je činjenica da olovo posjeduje jedinstvena kemijska i fizikalna svojstva koja ga čine prikladnim u mnogim aplikacijama. Ljudi su uvelike koristili ova pogodna svojstva olova kroz povijest te ga učinili jednim od glavnih okolišnih polutanata. Olovo je izrazito otporan i postojan polutant, a njegova kontinuirana uporaba, bez obzira na pažljiviju upotrebu u odnosu na prošlost, povećava njegove razine gotovo u svim državama svijeta, što ga čini opasnom prijetnjom. Olovo, kao i drugi teški metali se najčešće u organizam unose kroz vodovodnu vodu za piće (Ab Latif i sur., 2015).

Odrasli ljudi apsorbiraju 35-50% olova kroz vodu za piće, dok djeca kroz vodu za piće mogu apsorbirati i više od 50%. Ostali načini izloženosti olovu su kroz inhalaciju čestica olovne prašine, kontaminiranu hranu te krhotine boje sa zidova. Sama apsorpcija olova uvjetovana je u najvećoj mjeri fiziološkim statusom i dobi osobe. Na primjer, ukoliko je organizam imunokompromitiran ili se radi o djetetu čiji sustavi detoksikacije nisu dovoljno razvijeni, doći će do veće apsorpcije olova u organizam. U usporedbi s 1970-tima, izloženost olovu značajno je smanjena. Razlog tomu leži u činjenici da je eliminirana uporaba olova u benzinu, bojama za ličenje, konzervama za hranu i piće te u sustavima vodovodnih cijevi. Međutim, istraživanje koje su proveli Egan i sur. (2021) je pokazalo da je kod velike populacije djece razina olova nastavila rasti, zbog čega se ostaloga toksičnost olova pokazuje kao globalan i ozbiljan pedijatrijski problem. Osim kod djece, izloženost olovu je vrlo opasna i kod trudnica jer se apsorbirano olovo od strane majke tada može lako prenijeti u fetus (Tchounwou i sur., 2014).

Koncentracije olova u riži, povrću, vodenim proizvodima i mesu istraživane su na nacionalnoj razini u Kini, te je zaključeno da je hrana kontaminirana olovom uglavnom povezana s rudarskim aktivnostima, urbanim otpadnim vodama i kanalizacijskim muljem. Različita hrana ima različitu sposobnost akumulacije olova iz okoliša, što implicira različite razine olova za različite vrste hrane u istom okruženju zagađenom olovom (Zhang i sur., 2021).

S obzirom na povećanu potrebu trudnica za kalcijem, moguća je veća apsorpcija olova iz probavnog trakta u slučaju nedostatka kalcija. Također, moguća je i apsorpcija iz kostiju budući da se olovo u kostima akumulira. S obzirom na navedeno, kod trudnica i dojilja udio apsorbiranog olova iz probavnog trakta može iznositi i do 50% (Papanikolau i sur., 2005).

2.1.2. Toksičnost

Intoksikacija teškim metalima je ozbiljna okolišna bolest koja može imati razorne posljedice za ljudski organizam. Bioakumulacija teških metala u organizmu dovodi do raznih toksičnih učinaka na razna tkiva i organe. Konkretno, teški metali ometaju brojne stanične procese kao što su stanični rast i razvoj, apoptoza, proliferacija, diferencijacija i procesi popravljivanja štete.

Iako se olovo može apsorbirati kroz kožu, najčešći putevi apsorpcije su kroz respiratorni i probavni sustav. Izloženost olovu može rezultirati ozbiljnim neurološkim, respiratornim, urinarnim i kardiovaskularnim poremećajima. Nadalje, olovo može inducirati razne upalne procese u organizmu zbog remećenja ravnoteže između oksidansa i antioksidansa u organizmu. Izloženost olovu može izazvati razne poremećaje u fiziološkom sustavu koje su povezane s

velikim brojem bolesti. Koncentracija olova u krvi koja se smatra toksičnom na globalnoj internacionalnoj razini je 10 µg/dL (Balali-Mood i sur., 2021).

Kada se olovo apsorbira, vrlo je sistematičan toksikant jer utječe na veliki broj organa i tkiva u organizmu, pri čemu primarno na jetru, bubrege, središnji živčani sustav, hematopoetski, endokrini i reproduktivni sustav. Međutim, najveća frakcija olova završava u koštanom sustavu gdje se olovo ugrađuje u kosti umjesto kalcija zbog slične atomske građe te se tamo bioakumulira. Središnji živčani sustav je najosjetljiviji na olovo, a neki od ranih simptoma izloženosti olovu su glavobolja, gubitak pamćenja, iritabilnost te umor (Tchounwou, 2014).

Generalno, izloženost olovu može biti akutna ili kronična. Akutnu izloženost se povezuje s oštećenjima organa kao što su mozak i bubrezi te bolestima u gastrointestinalnom sustavu. Grčevi u želucu su jedni od ranih simptoma nakon unosa veće količine olova u organizam. Značajniji simptomi su abdominalna bol, povraćanje, anoreksija i konstipacija. Kod djece može doći do toksične encefalopatije pri višim koncentracijama olova. S obzirom na dugo vrijeme zadržavanja olova u organizmu, kronična izloženost je izglednija. Kronična izloženost uključuje štetne učinke na krv i krvni tlak, bubrege i središnji živčani sustav te ometanje metabolizma vitamina D (EFSA, 2010).

Provedbom brojnih istraživanja, otkrivena je veza između olova u krvi te intelektualnih poteškoća kod djece. Naime, povećanje koncentracije olova u krvi za 10 µg/dL dovodi do smanjenja IQ za 2 do 3 boda. Tako dugotrajnim unosom manjih količina olova može doći do smetnji u intelektualnom i bihevioralnom razvoju djece (Papanikolau i sur., 2005).

Provedena su brojna istraživanja koja ukazuju na simptome intoksikacije olovom kod djece i odraslih. Kod djece s povećanom koncentracijom olova u krvi povezani su sljedeći simptomi:

- niži kvocijent inteligencije (IQ)
- usporen ili neadekvatan neurobihevioralni razvoj
- oslabljeni osjet sluha i govorne mane
- zastoj u rastu i antisocijalno ponašanje.

Kod odraslih muškaraca, visoke razine olova u krvi povezane su s reproduktivnim oštećenjima poput malog broja spermija, dok su kod odraslih žena karakteristični spontani pobačaji.

Kao što je ranije spomenuto, jedan od glavnih biokemijskih puteva kojim olovo manifestira svoje štetne utjecaje je kroz mimikriju, odnosno oponašanje kalcija te na taj način reagira s proteinima s kojima u standardnim uvjetima reagira kalcij. Osim s proteinima, olovo reagira i

s drugim molekulama u organizmu te tako mijenja njihove funkcije. Na primjer, olovo se veže za amidne i sulfhidrilne skupine enzima te mijenja njihovu konfiguraciju, a samim time i funkciju. U kostima, olovo se inkorporira u strukturu umjesto kalcija te se tamo bioakumulira. Također, olovo se natječe s raznim metalnim kationima za mjesta vezivanja u enzimima te se tako upliće u normalne biokemijske puteve organizma. Brojna istraživanja ukazuju na uplitanje olova na slanje signala među neuronima te međustaničnu signalizaciju. Naime, olovo inhibira otpuštanje nekoliko neurotransmitera i ionofora u neuronima. Također, ometa normalno međustanično kruženje kalcija već ranije navedenim mehanizmima (Tchounwou i sur., 2014).

Inhibicijom ferokelataze i dehidrataze δ -aminolevulinske kiseline olovom, može doći do anemije jer su navedena dva enzima glavna u biosintezi hema. Dakle, inhibicijom ovih enzima dolazi do sprječavanja stvaranja hema i posljedično do anemije. Olovo također ima visoki afinitet vezanja za -SH skupinu glutationa koji ima funkciju regulacije oksidativnog stresa na način da neutralizira štetne slobodne radikale. Na taj način glutation također gubi svoju funkciju, čime olovo negativno utječe na oksidativni stres (Balali-Mood i sur., 2021).

Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) klasificira olovo kao karcinogen za ljude. Naime, brojna su istraživanja utvrdila da je olovo potencijalni karcinogen jer inducira stvaranje tumorskih stanica u mokraćnom sustavu miševa i štakora. Izloženost olovu stvara razne genske mutacije i dovodi do morfoloških promjena kod uzgojenih glodavaca. Kada se raspravlja o mehanizmima karcinogenosti, studije su pokazale da se radi o inhibiciji sinteze i popravka DNA, interakcijama olova s proteinima koji se vežu za DNA i tumorsko-supresijskim proteinima (Tchounwou i sur., 2014).

Kako bi se spriječila akumulacija olova u hranidbenom lancu, napretkom tehnologije i znanosti razvijene su brojne metode remedijacije kontaminiranih područja. Metode su podijeljene u 4 glavne skupine ovisno o zajedničkim karakteristikama provedbe:

- fizikalne metode
- kemijske metode
- biološke metode
- biotehnoške i genetičke metode (Kumar i sur., 2020).

2.2. KADMIJ

Kadmij je mekani, srebrno-bijeli ili plavo-bijeli teški metal, koji se rijetko nalazi u čistom stanju u prirodi. Široko je rasprostranjen u Zemljinoj kori s prosječnom koncentracijom od 0,1 mg/kg. Kadmij ima visoki tlak para, međutim prilikom isparavanja se vrlo brzo stvara kadmijev oksid. Reakcijom s kadmijem nastaje veliki broj anorganskih soli. Generalno, anorganski spojevi kadmija imaju vrlo slična svojstva kao cinkovi spojevi. U prirodi se češće povezuje sa cinkom nego olovom ili bakrom. Kadmij se prirodno javlja u okolišu u svom anorganskom obliku primarno iz vulkanskih emisija i sedimentacijskih stijena. Najveće koncentracije kadmijevih spojeva su upravo akumulirane u sedimentacijskim stijenama. Osim toga, antropološkim djelovanjem porasle su razine kadmija u tlu, vodi i živućim organizmima (EFSA, 2009).

2.2.1. Rasprostranjenost

Kadmij se često koristi u raznim industrijskim aktivnostima. Najpogodniji je za proizvodnju legura, a koristi se i u proizvodnji baterija. Glavni putevi izloženosti kadmiju su inhalacija kontaminiranog zraka, pušenje cigareta i ingestija kontaminirane hrane. Ostali izvori kadmija uključuju industrijske procese, kao što su rudarenje, taljenje, proizvodnju baterija, pigmenata i legura. Također ga ima u tragovima u lisnatom povrću, krumpiru, žitaricama, sjemenkama, bubrežima i jetri. Nadalje, postoje neke namirnice koje su bogate kadmijem te uvelike povećavaju njegove razine u krvotoku. Neki od primjera su jetra, gljive, školjkaši, dagnje, kakao prah i osušene alge (Tchounwou i sur., 2014).

Uporabom gnojiva, kontaminiranim kanalizacijskim muljem ili taloženjem kadmija iz zraka mogu se kontaminirati poljoprivredna tla. Povećanje razine kadmija u tlu posljedično dovodi do većeg crpljenja kadmija iz tla od strane biljaka, a indirektno kadmij završava i u životinjama nakon konzumiranja tih istih biljaka i time kadmij ulazi u hranidbeni lanac. Kadmij u vodi kontaminira školjkaše, a gljive prirodno akumuliraju velike količine kadmija iz tla (EFSA, 2012).

Kada se raspravlja o prisutnosti kadmija u vodi, uglavnom se to odnosi na kadmijeve soli. U vodenoj okolini niskog saliniteta, kadmij je uglavnom u kationskom obliku - Cd^{2+} , okružen molekulama vode. Osim molekula vode, također se veže u organske komplekse, ovisno o razinama organskih tvari u vodi i pH vrijednosti. Vodena okolina visokog saliniteta potiče reakcije kadmija s klorovim kationima. Kadmij u vodi lako prelazi u vodene organizme, međutim povećanjem saliniteta opada i bioakumulacija kadmija.

Industrijski procesi su glavni izvori emisije kadmija u okoliš. Kadmij i spojevi s kadmijem imaju zanemarivo mali tlak para, a u zrak dopijevaju morskim strujama, sagorijevanjem fosilnih goriva, industrijskim emisijama ili erozijom tla. Ukupne emisije kadmija iz prirodnih izvora (najvećim dijelom iz vulkana) na godišnjoj razini uglavnom dosežu vrijednosti 150-2600 tona. Izmjerene količine kadmija u zraku urbanih područja su 1-10 ng/m³. Kadmijevi polutanti mogu se transportirati od nekoliko stotina do nekoliko tisuća kilometara s mjesta izvora, a vrijeme potrebno za taloženje na tlo je 1-10 dana.

Kadmij u tlu može postojati u otopljenom obliku u vodi ili pak u netopljivim anorganskim ili organskim kompleksima. Ukoliko je pH tla niži, kadmij postaje pristupačniji. Međutim, kadmij je manje mobilan u tlu nego u vodi ili zraku (EFSA, 2009). Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO), kadmij predstavlja veliku opasnost za ljudsko zdravlje. Prirodno se akumulira u biljci duhana (*Nicotiana tabacum*). Naime, ova obilna bioakumulacija kadmija posljedično dovodi do velike količine akumuliranog kadmija i u listu duhana. Prema mjerenjima, uglavnom se kadmija u listu nalazi 1-2 µg/g, što rezultira s 0,5-1 µg kadmija po cigareti (Ganguly, 2018).

2.2.2. Toksičnost

Kadmij nema poznatih bioloških funkcija u organizmima životinja i ljudi, ali se ponaša kao neki drugi dvovalentni esencijalni metali koji su važni za biokemiju organizma. Zbog svoje kemijske građe, kadmij može lako prijeći mnoge biološke membrane raznim mehanizmima, a tada se veže za ligande unutar stanice. Kadmij može ostati jako dugo u organizmu zbog neefikasnog rada staničnog sustava za izbacivanje. Uglavnom se kadmij akumulira u tkivima poput bubrega i jetre. Biološki poluživot kadmija je 10-30 godina te se iz tijela eliminira vrlo sporo. Toksičnost kadmija se najčešće povezuje s nefrotoksičnošću, osteoporozom, neurotoksičnošću te endokrinim i reproduktivnim bolestima (EFSA, 2009).

Epidemiološki podaci ukazuju i na potencijalnu karcinogenost kadmija, a može uzrokovati rak dojke, pluća, prostate, bubrega i gušterače. Između ostalog, IARC je klasificirao kadmij kao karcinogen nakon udisanja. Najznačajniji mehanizmi induciranja karcinogenosti kadmijem su upalni procesi, oksidativni stres, oštećenja DNA te promjene u ekspresiji gena. Istraživanja su pokazala da je oksidativni stres ključan u toksičnosti kadmija. Može inducirati tumor mutagenozom te direktnim uplitanjem u stanični ciklus. Nadalje, kadmij može utjecati na procese popravka DNA, čime dolazi do krivog sparivanja nukleotida i baza i akumulacije oštećene DNA, što može stvoriti karcinogene mutacije kod diobe stanica.

Prilikom pušenja cigareta, nastaje kadmijev oksid koji se vjerojatno nakuplja u plućnom tkivu ili ulazi u sistemski krvotok. Smatra se da je apsorpcija kadmija znatno viša inhalacijom nego iz hrane. Kod pušača je koncentracija kadmija u krvotoku 4 do 5 puta viša nego kod nepušača, a u bubrezima 2 do 3 puta viša (Ganguly, 2018).

Kadmij je metal koji je visoko toksičan, čak i u tragovima. Akutna toksičnost je stoga moguća već pri koncentracijama 20-30 mg/kg, što se manifestira kao abdominalna bol, grčevi u mišićima, iscrpljenost, pa čak i smrt. Nakon apsorpcije kadmija u krvotok iz pluća ili crijeva, dolazi do vezivanja kadmija za albuminske proteine te transporta do jetre. U stanicama jetre kadmij ulazi u komplekse s metalotioneinom te cirkulacijom dolazi do bubrega. Bubrezi su glavni organi u kojima se kadmij bioakumulira te može oštetiti glomerule i tubule. Tako dolazi do potencijalne nefrotoksičnosti, a kreatinin služi kao biomarker za prisutnost kadmija (Genchi i sur., 2020).

Prije no što kadmij stvori štetu na jetri ili bubregu, može oštetiti kardiovaskularne mišiće. S obzirom da je kardiovaskularnim mišićima za kontrakcije nužan ATP (adenozin trifosfat) koji se dobije razgradnjom glukoze u mitohondriju, kadmij može blokirati piruvat-malat put, što završava smrću kardiovaskularnih stanica (Khan i sur., 2022). Zhu i suradnici (2020) su identificirali kadmij kao potencijalni endokrini disruptor koji narušava kvalitetu nesenja, kvalitetu jaja i taloženje ljuske te izaziva oksidativni stres i upalu u žlijezdama ljuske jaja kod nesilica. Ukupno 480 nesilica starih 38 tjedana nasumično je raspoređeno u 5 grupa koje su hranjene osnovnom prehranom (kontrolna grupa) ili osnovnom prehranom uz dodatak kadmija (davan kao $\text{CdCl}_2 \times 2,5 \text{H}_2\text{O}$) u dozama od 7,5, 15, 30 i 60 mg Cd po kg hrane tijekom 9 tjedana. Rezultati su pokazali da je, u usporedbi s kontrolnom grupom, niska doza kadmija u prehrani (7,5 mg/kg) imala pozitivne učinke na kvalitetu jaja poboljšavajući visinu bjelanjka, boju žumanjka i debljinu ljuske u trećem ili devetom tjednu. Međutim, s povećanjem doze i trajanja izloženosti kadmiju, kvaliteta nesenja, kvaliteta jaja i aktivnosti antioksidativnih enzima u žlijezdi ljuske (katalaza, glutation peroksidaza) te ATP-aze (Na^+/K^+ -ATP-aza, Ca^{2+} -ATP-aza i Mg^{2+} -ATP-aza) su se pogoršali.

Jedna od metoda smanjenja toksičnosti kadmija koja se aktualno istražuje jest terapija cinkom. Istraživanja su ukazala da cink smanjuje toksičnost kadmija direktnom kompeticijom, indukcijom metalotioneina i redukcijom reaktivnih spojeva s kisikom. Međutim, mnoge studije koje su provedene, provedene su na *in vitro* staničnim linijama i manjim pokusnim životinjama te su potrebna daljnja istraživanja kako bi se utvrdila zdravstvena sigurnost ovakve terapije za liječenje pacijenata (Yu i sur., 2021).

Za uklanjanje kadmija koriste se konvencionalne kemijske i fizikalne metode koje se odnose na uklanjanje kadmija iz vodenih otopina. S obzirom na efikasnost, jednostavnost i cijenu, najčešća metoda koja se koristi je precipitacija, a temelji se na reakciji između taložnih reagenasa (sulfidi i hidroksidi) i Cd^{2+} iona. Osim konvencionalnih metoda uklanjanja kadmija poput precipitacije, ionske izmjene, ekstrakcije otapalom, adsorpcije i membranske filtracije, s vremenom su razvijeni napredniji i efikasniji mehanizmi uklanjanja kadmija, kao što su biosorpcija, efluksni transport, intracelularno sekvestriranje i bioremedijacija.

Ono što se nudi kao rješenje koje dodatno treba istražiti jest kombinacija bakterija, kvasaca i algi kako bi se razvio što efikasniji proces uklanjanja teških metala (Khan i sur., 2020).

2.3. JAJA I NAČINI UZGOJA KOKOŠI NESILICA

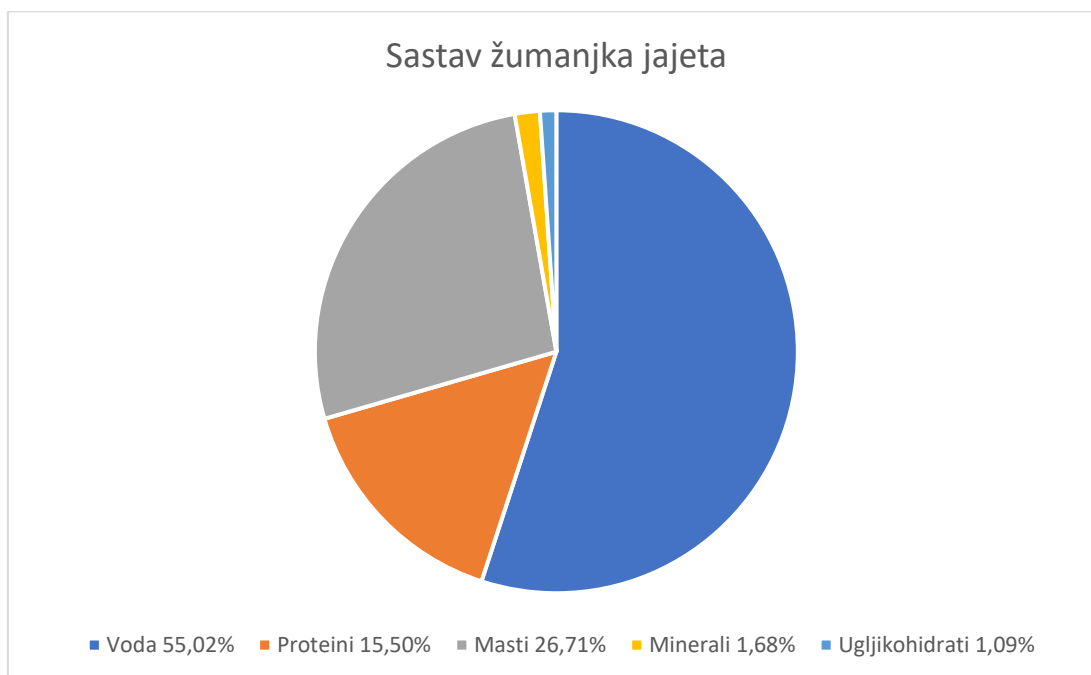
Industrija peradi jedna je od najbrže rastućih poljoprivrednih industrija diljem svijeta. Industrija peradi i proizvodnja jaja su se u posljednje vrijeme suočile s mnogim izazovima, kao što su ekonomske krize, porast globalne populacije, klimatske promjene te izbijanje bolesti. U mnogim zemljama jaja se smatraju jeftinom prehranbenom opcijom animalnog podrijetla bogatom proteinima. Dva glavna faktora koji utječu na ekonomiju farmi za proizvodnju jaja su količina i kvaliteta jaja, a određeni su genetičkim i okolišnim uvjetima. Sustav držanja peradi i prehrana su glavni okolišni uvjeti koji se mogu kontrolirati te direktno utječu na kvalitetu života peradi te posljedično i na kvalitetu jaja. Pojam organske proizvodnje temelji se na slobodnom uzgoju kokoši uz pridržavanje standarda proizvodnje jaja, uvjeta držanja kokoši i zdravlja. Svijest uzgajivača i potrošača o poveznici između prehrane i zdravlja je u posljednje vrijeme porasla te su sve veći zahtjevi za kvalitetnim prehranbenim proizvodima i boljim uvjetima uzgoja životinja (El Sabrou i sur., 2022).

Kokošja jaja su, s obzirom na cijenu, optimalna prehranbena namirnica bogata nutritivnim svojstvima. Prosječni kemijski sastavi bjelanjka i žumanjka prikazani su na **Slikama 1 i 2**. Najveći dio jajeta čini voda. Dok su proteini ravnomjerno raspodijeljeni između bjelanjka i žumanjka, lipidi, vitamini i minerali su koncentrirani u žumanjku. Identificirane su stotine različitih proteina u jajetu koji imaju fiziološke funkcije tijekom razvoja embrija. U prosjeku, 100 g sirovog jajeta sadrži 25 g proteina. Lipidi su dio žumanjka koji su sačinjeni od triglicerida i kolesteril estera te okruženi kolesterolom i slojem fosfolipida. U prošlosti je veliki udio kolesterola u jajima utjecao na smanjenje unosa ove prehranbene namirnice, iako su recentne studije pokazale da negativan utjecaj na kardiovaskularni sustav imaju zapravo zasićene masne kiseline iz jaja. Što se tiče ugljikohidrata, jaja su njima relativno siromašna, a najveći udio

(0,37%) se odnosi na glukozu. Žumanjak je bogat gotovo svim vitaminima osim vitamina C, a ova činjenica se objašnjava na način da su ptice sposobne zadovoljiti potrebe za vitaminom C endogenom sintezom iz glukoze. Također, jaja su dobar izvor nekih mikronutrijenata poput željeza i cinka, što je važno jer je nedostatak ovih minerala povezan s depresijom i umorom (Nimalaratne i Wu, 2015).



Slika 1 Grafički prikaz nutritivnog sastava bjelanjka kokošnjeg jajeta



Slika 2 Grafički prikaz nutritivnog sastava žumanjka kokošnjeg jajeta

Osim navedenih nutrijenata, relevantno je izdvojiti i specifične bioaktivne komponente koje se nalaze u jajima koje se nazivaju nutraceutici. Pod nutraceutike prisutne u jajima ubrajaju se spojevi s antimikrobnim svojstvima od kojih valja izdvojiti lizozim koji reagira sa staničnim stijenkama bakterija te izaziva njihovu smrt. Ovotransferin smanjuje bioraspodivnost željeza, a avidin vitamina koji su potrebni za rast bakterija. Nekoliko studija je ukazalo na antikarcinogena svojstva lizozima i ovomucina na eksperimentalnim tumorima. Većina derivata peptida jajeta pokazuje i antihipertenzivna svojstva jer imaju učinak inhibicije angiotenzin konvertaze koja povisuje krvni tlak (Rehault-Godberg sur., 2019).

Kako bi se odredila kvaliteta i zdravstvena ispravnost domaćih jaja, provedeno je još jedno istraživanje teških metala u jajima s farmi kokoši i jajima iz slobodnog uzgoja na Kosovu 2018. godine. Uzorci su prikupljeni iz čitave regije te predstavljali kvalitetu jaja u čitavoj državi, a dobiveni rezultati (prikazani u **Tablici 1**) služili su i za usporedbu razine kontaminacije između jaja nesilica s farmi i onih iz slobodnog uzgoja (Aliu i sur.,2021).

Tablica 1 Usporedba razina olova i kadmija u jajima ($\mu\text{g}/\text{kg}$) s farmi kokoši i slobodnog uzgoja nesilica na Kosovu (Aliu i sur., 2021).

	Minimum	Maksimum	Srednja vrijednost \pm SD
Olovo - farme kokoši	35,51	71,80	57,40 \pm 19,26
Olovo - slobodni uzgoj	12,85	26,43	18,22 \pm 5,96
Kadmij - farme kokoši	0,07	1,43	4,16 \pm 2,97
Kadmij - slobodni uzgoj	0,27	1,71	0,70 \pm 0,68

Ovo istraživanje je ukazalo na veću količinu teških metala u jajima kokoši iz farmi u usporedbi s jajima iz slobodnog uzgoja, a pretpostavlja se da razlog tomu leži u kontaminiranoj hrani za kokoši i industrijskim aktivnostima u blizini farmi (Aliu i sur., 2021).

Kabeer i suradnici (2020) proveli studiju u kojoj su određivali koncentraciju teških metala (Ni, Pb, Zn, Mn, Cr, Cu i Se) u jajima podrijetlom s peradarskih farmi i domaćih kokoši u prigradskim područjima Lahorea u Pakistanu. Analizirano je 90 uzoraka jaja i 12 uzoraka hrane (6 za hranu i vodu) s tri različite peradarske farme i dvorišta. Cilj je bio utvrditi vezu između koncentracije metala u jajima i njihovoj hrani. Rezultati su pokazali da su koncentracije Pb, Cr i Se u bjelanjku, žumanjku, hrani i vodi iznad dopuštenih granica. Koncentracije metala poput Pb, Mn, Cr, Cu i Se bile su više u jajima s peradarskih farmi nego u jajima domaćih kokoši, što može biti posljedica kontaminirane hrane. Studija zaključuje da postoji pozitivna korelacija između veće koncentracije metala u jajima i unosa kontaminirane hrane.

Provedeno je istraživanje na prisutnost teških metala, dioksina, polikloriranih bifenila i organoklornih pesticida u jajima iz privatnog uzgoja i komercijalnih farmi. Rezultati su pokazali više koncentracije olova, talija, žive i kobalta u jajima iz privatne proizvodnje u usporedbi s komercijalnim jajima. Također, u jajima privatnih proizvođača zabilježene su veće razine dioksina i polikloriranih bifenila. Isto tako, u jajima iz privatne proizvodnje utvrđene su znatno veće koncentracije organoklornih pesticida u usporedbi s komercijalnim jajima (Van Overmeire, 2006).

2.3.1. Učinak zagađenja okoliša na kontaminaciju jaja teškim metalima

Kemijska kontaminacija hrane predstavlja globalan ekološki problem današnjice. Postoji znatan broj kemijskih kontaminanata koji mogu imati potencijalno opasne posljedice po ljudsko zdravlje nakon unosa hranom, a mogu biti organske ili anorganske prirode te iz velikog broja različitih izvora. Najčešći opasni okolišni kontaminanti koji mogu završiti u hrani su olovo i živa od teških metala te dioksini i poliklorirani bifenili od organskih polutanata. Česti izvor polutanata u hrani je uporaba pesticida ili korištenje lijekova koji završavaju u vodovodnom sustavu (Thompson i sur., 2019).

Jedan od glavnih izvora zagađenja predstavlja plastika. Plastika se najčešće upotrebljava kao ambalaža zbog svoje niske cijene i dobrih mehaničkih svojstava. Međutim, plastika ujedno sadrži i veliku količinu kemikalija koji joj daju takva poželjna svojstva. Unatoč korisnim svojstvima, plastici treba dugo vremena za razgradnju te tijekom gorenja otpušta veliki broj po zdravlje štetnih spojeva (Rajmohan i sur., 2019).

Valavanidis i sur. (2006) su proveli istraživanje u kojem su ispitivali količinu teških metala u pepelu nakon sagorijevanja 6 različitih vrsta plastike u kontroliranim uvjetima, pri 600-750 °C. Osim pepela, također je prikupljen i crni dim generiran sagorijevanjem plastike. Sagorijevanju su bili izloženi po 25 g: PS (polistiren), PVC (polivinil klorid), LDPE (polietilen niske gustoće), HDPE (polietilen visoke gustoće) i PET (polietilen tereftalat). Rezultati su prikazani u **Tablici 2**. Ovo eksperimentalno istraživanje pokazalo je da uvjerljivo najveće količine olova i kadmija bivaju oslobođene izgaranjem PVC plastike, ali koncentracije su bile vrlo niske.

Tablica 2 Olovo i kadmij u pepelu ($\mu\text{g/g}$) koji nastaje izgaranjem različitih vrsta plastike (Valavanidis i sur., 2006)

	PS	PVC	LDPE	HDPE	PP	PET
Pb	$3,50 \pm 6,5$	$64,2 \pm 6,7$	$5,91 \pm 0,3$	$5,6 \pm 0,2$	$3,09 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,3$
Cd	$0,07 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,03$	$0,01 \pm 0,005$	$0,019 \pm 0,002$	$0,009 \pm 0,001$	$0,003 \pm 0,001$

Zergui i suradnici (2023) su ispitali utjecaj kontaminacije okoliša na kontaminaciju jaja i meda. Cilj ove studije bio je utvrditi razine teških metala u medu i kokošjim jajima prikupljenim iz šest regija u Alžiru. Analizirano je 60 uzoraka (30 meda i 30 jaja) pomoću atomske apsorpcijske spektrometrije za Pb, Cd i As, a rezultati su uspoređeni s podacima iz drugih zemalja.

Rezultati su pokazali da su koncentracije metala u medu i jajima bile iznad dopuštenih granica, posebno u zagađenim područjima, te predstavljaju potencijalni rizik za zdravlje, osobito za dojenčad. Zbog toga su potrebne buduće studije koje će istražiti povezanost razina metala u medu i jajima s hranom, vodom i tlom kako bi se bolje upravljalo problemom zagađenja. Također, korištenje meda i jaja kao bioindikatora može pomoći u boljem upravljanju problemima povezanim sa zagađenjem.

Kontaminacija prehrambenih proizvoda okolišnim kontaminantima sve se više istražuje te znanstvenici dolaze do sve više novih rezultata i zaključaka. Upravo ti rezultati potiču vlasti za sve strožim uvjetima kontrole, posebice jer se radi o opasnosti za ljudsko zdravlje. Konzumacija domaćih kokošjih jaja iz slobodnog uzgoja rastući je trend, te se prema podacima istraživanja pretpostavlja da će konzumacija takvih jaja nastaviti rasti. Međutim, jaja iz slobodnog uzgoja potencijalno su više kontaminirana od komercijalnih zbog direktnog kontakta između kokoši i okoliša. Osim toga, za nekomercijalne prehrambene proizvode nema striktnih kontrola, stoga se komercijalna jaja nameću kao sigurnija opcija. Jaja sadrže znatan udio masti, što je pogodno

za kontaminante koji se akumuliraju u masti, kao što su poliklorirani bifenili, perzistentni organski polutanti i dioksini. Nadalje, jaja su sklona akumulaciji teških metala, što je povezano s razinom kontaminacije okoline. Zdravstveni rizik ovisi o prehranbenim navikama individue i razini kontaminacije proizvoda.

Van Overmeire i sur. (2009) su u Belgiji proveli istraživanje kemijske kontaminacije domaćih jaja uz uvjet slobodnog uzgoja kokoši i prehrane ostacima kuhinjske hrane kao dodatkom komercijalnoj hrani za kokoši. Dobiveni rezultati su prikazani u **Tablici 3**. Ovo istraživanje je utvrdilo niske koncentracije kadmija te znatno veću kontaminaciju olovom, pri čemu je tijekom jesenskog prikupa 40% uzoraka jaja imalo vrijednosti iznad 100 ng/g. Također, analiza je ukazala na povišene razine dioksina, PCB-ova (poliklorirani bifenili), te DDT-a (diklordifeniltrikloretan).

Tablica 3 Olovo i kadmij u uzorcima jaja (ng/g) iz privatnih domaćinstava u Belgiji (Van Overmeire i sur., 2009)

	Minimum	Medijan	Maksimum	Srednja vrijednost
Pb	3,10	79,90	471,00	115,80
Cd	< 0,50	0,74	2,42	0,96

Organski uzgoj pruža nesilicama slične uvjete kretanja i ponašanja kao i slobodni uzgoj, ali s naglaskom na minimalan utjecaj na okoliš i dobrobit životinja. U vanjskom se prostoru nesilice slobodno kreću, traže hranu i gnijezde se, dok se prehrana temelji na organskim sastojcima bez sintetičkih pesticida, herbicida ili GMO-a. Također, očuvanje zdravlja temelji se na prevenciji nastanka zaraze te se ne upotrebljavaju antibiotici niti hormoni rasta (Anderson, 2009; Tauson, 2005).

Iako, za razliku od kaveznog uzgoja, kokoši nesilice u slobodnom uzgoju i organskom uzgoju imaju mogućnost korištenja većeg prostora, slobodnog kretanja i izvođenja svih prirodnih ponašanja, ovi načini uzgoja suočavaju se s nekim drugim problemima. Daleko je veći potencijal za razvoj različitih bolesti i infekcija endoparazitima zbog moguće kontaminacije

2.4. TEHNIKE ODREĐIVANJA TEŠKIH METALA I MASENA SPEKTROMETRIJA S INDUKTIVNO-SPREGNUTOM PLAZMOM

Odabir prikladne metode često ovisi o broju analiziranih komponenti, pretpostavljenoj koncentraciji analita te broju uzoraka. Konvencionalne tehnike koje se koriste u znanosti u ove svrhe su:

- atomska apsorpcijska spektrometrija (AAS)
- luminiscencija rendgenskim zrakama (XRF)
- mikroskopija atomske sile (AFM)
- masena spektrometrija s induktivno-spregnutom plazmom (ICP-MS)
- optička emisijska spektrometrija s induktivno-spregnutom plazmom (ICP-OES)

Osnovna ideja AAS tehnike je bazirana na činjenici da svjetlo pobuđuje elektrone u atomima na viši energetske nivo. Kada se elektroni vrata u niži energetske nivo, atomi emitiraju svjetlo specifične valne duljine za taj atom. Uređaj se sastoji od glavnog izvora svjetlosti, monokromatora, atomizatora koji generira plinsku fazu za detekciju, detektora te računala sa zaslonom za očitavanje dobivenih podataka. Koncentracija se određuje iz kalibracijske krivulje načinjene od standarda poznatih koncentracija.

XRF je osjetljiva metoda za određivanje teških metala koja se bazira na zračenju atoma. Kada je atom izložen rendgenskim zrakama, on se ionizira, a svaki element ima različit raspon energetske nivoa te se na temelju toga određuje o kojem se metalu radi. Uređaj se sastoji od izvora rendgenske zraka, komore za uzorke, kolimatora koji sužava svjetlost, detektora fluorescencije, detektora te računala sa zaslonom za prikaz podataka. Prednost metode je što je priprema uzorka jednostavna te je analiza brža.

AFM je tehnika koja omogućuje visoku rezoluciju i točnost pri mjerenju površinskih struktura. Kao dio skenirajuće mikroskopije sondama (SPM), prvi put je korištena 1981. godine. Osnovne funkcije AFM-a su:

- snimanje: stvaranje trodimenzionalnih slika površine uzorka
- manipulacija: mijenjanje karakteristika uzorka pomoću sonde
- mjerenje sila: izračunavanje sila između sonde i uzorka ovisno o njihovoj udaljenosti

AFM koristi optički sustav poluge i sondu s integriranim vrhom, gdje laser mjeri male pokrete reflektirajuće sonde. Sustav povratne sprege održava konstantnu udaljenost između sonde i uzorka, što omogućuje precizno mjerenje i kontrolu.

ICP-MS je metoda koja atomizira uzorak pomoću plazma izvora kako bi maseni spektrometar mogao identificirati ione. Ioni se razdvajaju pomoću masenih spektrometara na temelju njihovog omjera mase i naboja. Ova metoda ima izvrsne granice detekcije u ppt (dijelovi na bilijun) rasponu. Posljednjih godina je analiza pomoću ICP-MS-a postala standardna procedura za ultrasenzitivnu detekciju spojeva koji sadrže elemente u tragovima (Wilschefski i Baxter, 2019). Koristi se za analizu metala i kemikalija, omogućuje kvantifikaciju zagađivača u okolišu, analizira elemente u tragovima. Ova metoda ima mogućnost istovremene analize za više elemenata, što povećava efikasnost. Uređaj se sastoji od sustava za unošenje uzorka s nebulizatorom koji pretvara tekući uzorak u finu maglu te raspršivača koji dijeli maglu u male kapljice koje ulaze u plazmu. Zatim se sastoji od visokoenergetske plazme koja atomizira i ionizira uzorak, kvadrupolnog masenog analizatora koji razdvaja ione, detektora i računalnog sustava.

ICP-MS je analitička tehnika koja se može koristiti za mjerenje elemenata u tragovima u biološkim tekućinama. Iako se starije tehnike poput atomske apsorpcije i atomske emisije još uvijek koriste u nekim laboratorijima, u posljednjem desetljeću dolazi do polaganog prijelaza prema ICP-MS-u. Budući da će se ovaj trend vjerojatno nastaviti, znanstvenici trebali bi biti svjesni analitičkih aspekata ICP-MS-a, kao i potencijalnih spektroskopskih i nespektroskopskih smetnji te strategija koje se mogu koristiti za njihovo uklanjanje ili ublažavanje (Wilschefski i Baxter, 2019).

U odnosu na ICP-MS, ICP-OES mjeri emisiju svjetlosti (fotona) na specifičnim valnim duljinama, dok se pobuđeni atomi vraćaju u osnovno stanje. Obično je manje osjetljiva metoda od ICP-MS-a te mjeri koncentracije u ppb-ima (dijelovi na milijardu). ICP-OES se uglavnom upotrebljava za rutinske višeelementne analize pri većim koncentracijama te nije idealan za mjerenje analita koji se u uzorku nalazi u tragovima (Rajoria i sur., 2023).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je utvrditi koncentracije olova i kadmija u kokošnjim jajima iz domaćeg uzgoja u područjima kontaminiranim dimom uslijed požara u tvornici za recikliranje plastike. Ujedno će biti analizirani i uzorci iz kontrolnih područja te uzorci iz trgovina. Procijenit će se utjecaj izloženosti okoliša dimu na nakupljanje ovih teških metala u kokošnjim jajima, kao i unos olova i kadmija konzumacijom jaja u odnosu na referentne doze toksičnosti.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Uzorci

Za ovaj rad ciljana područja za prikupljanje uzoraka kokošnjih jaja iz slobodnog uzgoja bila su naselja u blizini tvornice za recikliranje plastike u kojoj se dogodio požar: Antunovac, Brijest, Briješće, Čepin, Ivanovac i Tenja. Također, prikupljeni su i komercijalni proizvodi jaja iz trgovine te kontrolni uzorci iz naselja u Baranji (Mece, Darda, Čeminac, Lug, Jagodnjak i Vardarac). Uzorci su prikupljeni u tri navrata (jesenski, zimski i ljetni prikup), tj. jedan, četiri i osam mjeseci nakon požara. Tijekom svakog prikupa je skupljeno 22 uzorka (potencijalno kontaminirano područje), 10 uzoraka (kontrolno područje) i 10 uzoraka iz trgovina. Dobrovoljni privatni proizvođači su donirali po dva jaja s odabrane lokacije. Nakon prikupa su uzorci skladišteni na 4°C do daljnje obrade.

3.2.2. Kemikalije i standardi

Digestija uzoraka provedena je uz ultračistu dušičnu kiselinu, 65% (Carlo Erba Reagents, Italija).

ICP-MS analiza koristila je sljedeće kemikalije: ultračista voda (Milli-Q sustav; Millipore), ultračista dušična kiselina (65%) (Fischer Scientific, SAD), ultračista klorovodična kiselina (37%) (Fischer Scientific), ICP standardne otopine pojedinačnih elemenata s koncentracijom od oko 1000 mg/L (Inorganic Ventures), interna standardna otopina koja sadrži Li, Sc, Ge, Y, In, Tb i Bi, razrijeđena na 400 µg/L u mješavini 1% dušične kiseline i 0,5% klorovodične kiseline.

Korišteni su sljedeći standardi otopina: otopine kadmija i olova od 1000 ppm u 1 M dušičnoj kiselini (Fischer Scientific, SAD).

Referentni materijal za analizu elemenata bili su goveđa jetra (NIST SRM 1577b, SAD) i pšenični gluten (NIST RM 8418, SAD).

3.2.3. Uređaji

Liofilizator

Liofilizator (Alpha 2-4 LSCplus, Martin Christ, Njemačka) (**Slika 3**) je uređaj koji se koristi za liofilizaciju, odnosno postupak sušenja smrzavanjem. Ovaj proces uključuje zamrzavanje uzorka, a zatim uklanjanje vode sublimacijom, čime se uzorak suši bez promjene njegove strukture i kemijskog sastava.



Slika 3 Liofilizator s uzorcima

Analitička vaga

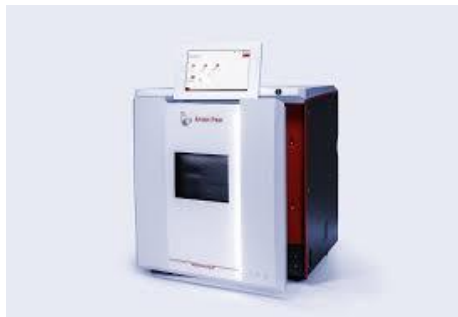
Analitička vaga (Nimbus NBL 214e, Adam Equipment, Velika Britanija) (**Slika 4**) korištena je za točno vaganje uzoraka i pripremu potrebnih otopina. Ova vaga omogućava precizno mjerenje mase, što je ključno za osiguranje točnosti i ponovljivosti u analitičkim postupcima i pripremi različitih otopina.



Slika 4 Analitička vaga

Sustav za mikrovalnu digestiju

Uređaj za mikrovalnu digestiju (Multiwave 5000, Anton Paar, Austrija) (**Slike 5 i 6**) korišten je za pretvaranje krutih uzoraka u tekući oblik, što omogućuje analizu specifičnih analita poput kadmija i olova. Ovaj uređaj koristi mikrovalnu energiju za zagrijavanje uzoraka u zatvorenim posudama, omogućujući učinkovitu i brzu digestiju uzoraka.



Slika 5 Sustav za mikrovalnu digestiju



Slika 6 Sučelje za upravljanje uređajem za digestiju

ICP-MS

ICP-MS (Agilent 7800/7900, SAD) (**Slika 7**) je sofisticirani uređaj za masenu spektrometriju s induktivno-spregnutom plazmom. Korišten je za određivanje koncentracija elemenata (Cd, Pb) u ispitivanim uzorcima. Ovaj uređaj omogućava analizu elemenata u tragovima u složenim matricama, pružajući brze i pouzdane rezultate.



Slika 7 ICP-MS uređaj

3.2.3. Metode

Prije analize digestata uzoraka ICP-MS-om, provedena je priprema koja je uključivala postupke homogenizacije, određivanja suhe tvari, liofilizacije i digestije.

Homogenizacija

Nakon prikupa, uzorcima jaja uklonjena je ljuska te su bjelanjak i žumanjak homogenizirani u plastičnoj posudi. Iz posude je automatskom pipetom prebačeno 15 ml homogeniziranog uzorka u Petrijevu zdjelicu označenu jedinstvenom oznakom za svaki pojedinačni uzorak.

Liofilizacija

Liofilizacija uzoraka provedena je kako bi se uklonila voda iz uzoraka te kako bi se uzorak preveo u prikladno stanje za daljnje postupanje. Postupak uključuje dvije faze, a to su glavno sušenje te završno sušenje, a parametri provedbe prikazani su na **Slikama 8 i 9**.



Slika 8 Uvjeti glavnog sušenja



Slika 9 Uvjeti završnog sušenja

Kruti liofilizat se nakon sušenja drobi kako bi se pretvorio u fini praškasti materijal te kao takav se prebacuje u Falcon epruvetu i čuva na -20°C do uporabe.

Određivanje suhe tvari

Suha tvar uzoraka jaja određena je korištenjem vakuum sušionika VS-50 SC (Kambič, Slovenija). Sušenje do konstantne mase provedeno je pri tlaku od 40 mbara i temperaturi od 60°C .

Digestija

Liofilizirani uzorak (cca 0,6 g) se odvažuje u teflonsku kivetu za digestiju (**Slika 10**) te se u kivetu doda 8 ml 65% dušične kiseline. Kiveta se zatvori te ubaci u poziciju u spremniku uzoraka sustava za mikrovalnu digestiju te se pokrene program na računalo odabirom opcije za razaranje hrane bogate mastima i pokretanjem digestije. Mikrovalna digestija je proces koji traje u prosjeku 55 minuta. Proces je proveden u tri faze. U prvoj fazi se kivete zagrijavaju do 220°C tijekom 25 minuta. Uređaj u drugoj fazi održava tu temperaturu tijekom 10 minuta te u ovoj fazi dolazi do najveće razgradnje uzorka. Treća faza je faza hlađenja koja je traje 20 minuta, tijekom kojih se teflonske kivete s uzorcima postupno hlade na 50°C. Digestat se pažljivo kvantitativno prenese pomoću ultračiste vode i lijevka u odmjerne tikvice od 25 mL te se izdvoji manji volumen uzorka za ICP-MS analizu.



Slika 10 Kivete sustava za mikrovalnu digestiju

Određivanje koncentracija olova i kadmija u uzorcima

Analiza je provedena ICP-MS uređaj s jednostrukim kvadrupolom s oktopolnim reakcijskim sustavom. Prije analize, prema normi HRN EN ISO 17294-2 (HZN, 2016), ICP-MS je podešen pomoću Agilentove otopine koja sadrži Li, Sc, Ge, Y, In, Tb i Bi. Interna standardna Agilentova otopina i uzorak su prije dolaska do nebulizatora ukombinirani pomoću miješalice. Prema priručniku Agilent 7800/7900 ICP-MS Hardware, uvjeti rada navedeni su u **Tablici 4**.

Tablica 4 Uvjeti rada Agilent 7900 ICP-MS-a

Unos uzorka	Peristaltička pumpa
Tip nebulizatora	MicroMist
Model ionske leće	x – Lens
RF snaga	1550 W
RF podudaranje	1,70 V
Unos uzorka	0,99 L/min
Plin nosač	15,00 L/min
Plazma	0,90 L/min
Aux	0,02 mL/min
He	27,24 MHz

Kako bi se provjerila točnost analitičke metode, korišteni su certificirani referentni materijali Wheat gluten (NIST RM 1418; koncentracija Pb: 100 ± 50 ng/g, koncentracija Cd: 64 ± 22 ng/g) te Bovine liver (NIST RM 1577; koncentracija Pb: 129 ± 4 ng/g, koncentracija Cd: 500 ± 30 ng/g). Referentni materijali su prije analize osušeni u vakuum sušioniku do konstante mase.

Učinkovitost analitičkog instrumenta ili metode procjenjuje se putem određivanja granica detekcije (LOD) i kvantifikacije (LOQ). LOD označava najmanju koncentraciju analita koja se može detektirati i razlikovati od nule, iako nije nužno kvantitativno određena. S druge strane, LOQ je najniža koncentracija koja se može izmjeriti kvantitativno uz prihvatljivu preciznost i točnost (Vial i sur., 2003).

Izračunavanje LOD i LOQ vrijednosti:

$$\text{LOD} = (3 \times \text{SD}) \div m$$

$$\text{LOQ} = (10 \times \text{SD}) \div m,$$

gdje je m nagib kalibracijske krivulje, a SD standardna devijacija ponovljenih mjerenja slijepa probe. Dio rezultata može biti ispod LOD-a i LOQ-a te se u takvim slučajevima koristi tzv. pristup srednje granice ("middle bound"), zamjenom vrijednosti s LOD/2 ili LOQ/2.

Ponovljivost se provjerava višestrukom analizom istog uzorka, a izražava se kao relativna standardna devijacija (RSDr) prema formuli:

$$SD / \bar{X} \cdot 100 (\%)$$

gdje SD označava standardnu devijaciju, a \bar{X} srednju vrijednost izmjerenih vrijednosti.

Iskorištenje se određuje dodavanjem poznate količine standarda analiziranih elemenata unutar raspona od 20 do 80 ppb u liofilizirane uzorke jaja. Izračunava se pomoću jednadžbe:

$$C_{\text{uzorka s dodatkom}} / C_{\text{uzorka bez dodatka}} \cdot 100 (\%)$$

Ova metoda omogućuje procjenu kvantifikacije analita i kontrolu preciznosti i točnosti rezultata.

Anketiranje donatora

Donatori jaja ispunili su upitnik koji je prikupljao podatke o uvjetima uzgoja kokoši i njihovim navikama konzumacije jaja. Upitnik je obuhvatio informacije o prehrani kokoši, dodatcima prehrani, broju kokoši, veličini dvorišta, postotku pokrivenosti vegetacijom, te eventualnom spaljivanju otpada u dvorištu. Cilj je bio utvrditi vezu između uvjeta uzgoja, okolišnih čimbenika i kontaminacije jaja te procijeniti unos olova i kadmija putem konzumacije.

Izračun unosa olova i kadmija konzumacijom jaja

Podaci temeljem kojih je izračunat unos olova i kadmija konzumacijom jaja temelje se na online anketi, čiji je primarni cilj bio procijeniti učestalost konzumacije kokošnjih jaja odrasle hrvatske populacije. Ispitanici su uključivali 65 osoba muškog spola (21%) te 249 osoba ženskog spola (79%).

Prosječni tjedni unos kadmija i dnevni unos olova iz jaja računati su na sljedeće načine:

$$\text{Tjedni unos Cd (ng)} = \text{Tjedni unos jaja (g)} \times C_{\text{Cd u originalnoj namirnici}} \text{ (ng/g)}$$

$$\text{Dnevni unos Pb (ng)} = \text{Dnevni unos jaja (g)} \times C_{\text{Pb u originalnoj namirnici}} \text{ (ng/g)}$$

Izloženost opće populacije kadmiju i olovu konzumacijom jaja određena je pomoću donjih jednadžbi, pri čemu su za tjelesnu masu korištene vrijednosti od 60 kg za žene i 70 kg za muškarce, u skladu s preporukama EFSA-e (2012):

$$\text{Tjedna izloženost Cd} = \frac{\text{Tjedni unos Cd (ng)} \times 0,001}{\text{Tjelesna masa (kg)}} \text{ (}\mu\text{g/kg tj. m.)}$$

$$\text{Dnevna izloženost Pb} = \frac{\text{Dnevni unos Pb (ng)} \times 0,001}{\text{Tjelesna masa (kg)}} \text{ (}\mu\text{g/kg tj. m.)}$$

Udio referentnih doza izloženosti teškim metalima konzumacijom jaja određen je uz sljedeće formule:

$$\% \text{TWI vrijednosti za Cd} = \frac{\text{Tjedna izloženost Cd (}\mu\text{g/kg tj. m.)}}{\text{TWI (}\mu\text{g/kg tj. m.)}} \cdot 100$$

$$\% \text{BMDL vrijednosti za Pb} = \frac{\text{Dnevna izloženost Pb (}\mu\text{g/kg tj. m.)}}{\text{BMDL (}\mu\text{g/kg tj. m.)}} \cdot 100$$

TWI = tolerable weekly intake tj. tolerirani tjedni unos

BMDL = benchmark dose lower confidence limit tj. donja granica pouzdanosti referentne doze

Statistička obrada

Statističke razlike između uzoraka s lokacija izloženih dimu, kontrolnih uzoraka te uzoraka iz trgovina, kao i razlike između sezonskih prikupa, ispitane su pomoću Mann-Whitneyevog U testa. Mann-Whitneyev U test je neparametrijski statistički test koji se koristi za usporedbu medijana dviju nezavisnih skupina. Test rangira sve podatke iz obje grupe zajedno i zatim uspoređuje zbroj rangova između grupa. Ako su dvije grupe značajno različite, njihovi zbrojevi rangova će se razlikovati više nego što bi se očekivalo slučajno. Ako je p-vrijednost manja od odabrane granice značajnosti, možemo odbaciti hipotezu koja kaže da nema razlike između grupa (Milenović, 2010).

Ispitivanje korelacija između koncentracija analiziranih teških metala s različitim parametrima, kao što su površina kokošinjca, udio pokrivenosti vegetacijom ili odnos koncentracije s brojem kokoši, korištena je Spearmanova korelacijska analiza. Riječ je o neparametrijskoj metodi koja mjeri snagu i smjer povezanosti između dvije varijable koristeći njihove rangove. Koristi se kada podaci nisu normalno raspodijeljeni ili kada su odnosi između varijabli nelinearni.

Umjesto stvarnih vrijednosti, Spearmanov koeficijent rangira podatke i zatim izračunava korelaciju između tih rangova. Vrijednost koeficijenta može se kretati od -1 do 1, gdje:

- **1** označava savršenu pozitivnu korelaciju (kako jedna varijabla raste, raste i druga),
- **-1** označava savršenu negativnu korelaciju (kako jedna varijabla raste, druga opada),

- 0 označava da nema korelacije između varijabli.

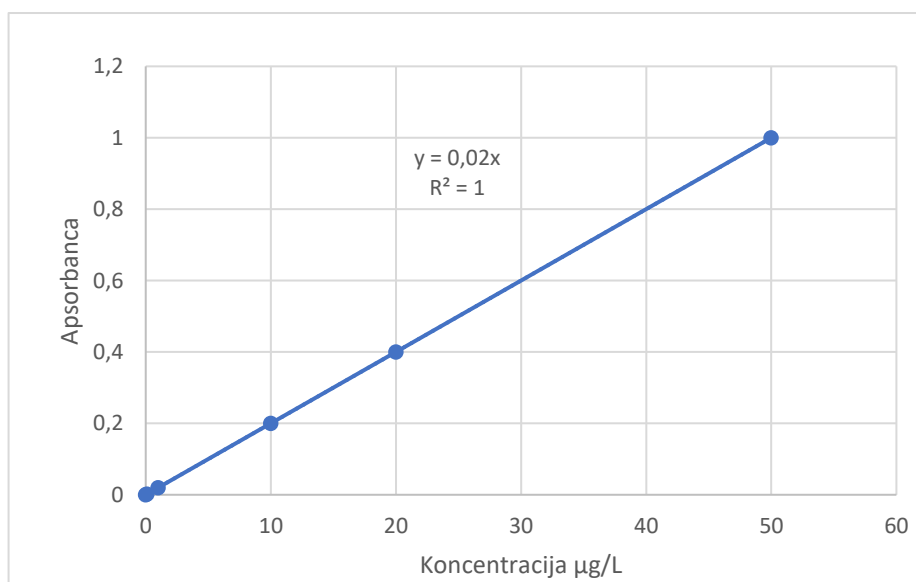
Spearmanov koeficijent korelacije često se koristi kada pretpostavke o linearnoj povezanosti ili normalnoj distribuciji podataka nisu zadovoljene (Al-Hameed, 2022).

Statistički značajnim razlikama ili korelacijama smatrane su one kojima je p-vrijednost bila manja od 0,05. Analize su provedene uz MS Office Excel (Microsoft) i Statisticu (TIBCO Software).

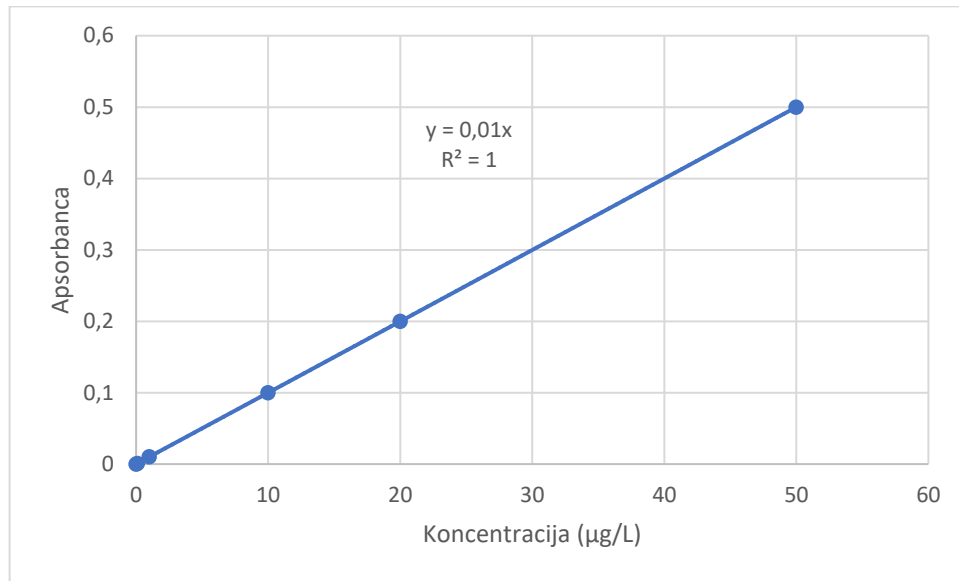
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. VALIDACIJSKI PARAMETRI ICP-MS ANALIZE

Kalibracijske krivulje za olovo i kadmij prikazane su na **Slikama 11** i **12**. Obje krivulje pokazuju visoku linearnost s korelacijskim koeficijentom (R^2) od 1,00, što ukazuje na savršenu linearnu povezanost između koncentracije metala i signala instrumenta u rasponu koncentracija od 0 do 50 $\mu\text{g/L}$. Na temelju ovih kalibracijskih krivulja određene su vrijednosti LOD-a i LOQ-a za oba elementa. Za olovo LOD i LOQ iznosili su 0,009 $\mu\text{g/L}$ i 0,1 $\mu\text{g/L}$, dok za kadmij LOD iznosi 0,02 $\mu\text{g/L}$, a LOQ 0,1 $\mu\text{g/L}$. Ovi rezultati potvrđuju da je metoda vrlo osjetljiva i precizna za detekciju i kvantifikaciju niskih koncentracija kadmija i olova u uzorku. Vrijednosti LOD-a i LOQ-a su u skladu s očekivanim vrijednostima prema tehničkim specifikacijama instrumenta, što dodatno potvrđuje pouzdanost dobivenih rezultata.



Slika 11 Kalibracijska krivulja za olovo



Slika 12 Kalibracijska krivulja za kadmij

Testiranje iskorištenja provedeno je dodatkom standarda kadmija i olova liofilizatu jaja u rasponima koncentracija od 20 do 80 ppb. Srednje vrijednosti iskorištenja su iznosile 91% za Cd i 95% za Pb.

Analizom uzoraka goveđe jetre i pšeničnog glutena, kao certificiranih referentnih materijala (CRM), određene su koncentracije kadmija i olova. Dobivene vrijednosti uspoređene su s certificiranim vrijednostima kako bi se procijenila točnost metode (**Tablica 5**).

Tablica 5 Usporedba izmjerenih vrijednosti olova i kadmija s certificiranim vrijednostima

Element	Referentni materijal	Izmjerena vrijednost (ng/g)	Certificirana vrijednost (ng/g)
Cd	Goveđa jetra	461,4 ± 0,2	500 ± 30
	Pšenični gluten	64,8 ± 4,0	64 ± 22
Pb	Goveđa jetra	140,8 ± 5,6	129 ± 4
	Pšenični gluten	102,0 ± 7,0	100 ± 50

Utvrđena srednja vrijednost kadmija u goveđoj jetri je na granici dozvoljenog odstupanja u odnosu na certificiranu vrijednost, dok je srednja vrijednost za pšenični gluten unutar certificiranog raspona, što potvrđuje točnost metode. Slično je utvrđeno analizom olova u istim CRM-ovima.

4.2. REZULTATI ANALIZE OLOVA I KADMIJA

Analiza uzoraka iz lokacija izloženih dimom, kontrolnih lokacija te komercijalnih uzoraka metodom masene spektrometrije s induktivno-spregnutom plazmom, dobiveni su rezultati za koncentracije olova i kadmija koji su prikazani kroz jesenski, ljetni i zimski period **Tablicama 6, 7 i 8.**

Tablica 6 Koncentracije kadmija i olova u uzorcima jaja prikupljenim u jesenskom periodu

Šifra	Podskupina	Digestati liofiliziranih uzoraka		Suha tvar (%)	Originalna namirnica	
		Cd ($\mu\text{g/L}$)	Pb ($\mu\text{g/L}$)		Cd (ng/g)	Pb (ng/g)
f_ANT01	Uzorci s lokacija izloženih dimu	0,05	1,05	31,1	0,6	13,1
f_ANT02		0,01	2,03	25,2	0,1	21,4
f_ANT03		0,01	7,91	27,1	0,1	88,5
f_ANT04		0,01	0,40	28,3	0,1	4,7
f_ANT05		0,05	0,24	26,0	0,5	2,5
f_ANT06		0,01	0,40	26,3	0,1	4,2
f_ANT07		0,05	1,68	24,0	0,5	16,8
f_ANT08		0,01	0,11	26,2	0,1	1,2
f_ANT09		0,13	1,45	25,5	1,3	14,9
f_BRT01		0,01	0,44	28,2	0,1	5,1
f_BRI01		0,01	0,67	26,9	0,1	7,4
f_BRI02		0,01	0,69	27,3	0,1	7,8
f_BRI03		0,01	0,73	26,9	0,1	8,3
f_TEN01		0,05	0,44	26,1	0,5	4,8
f_TEN02		0,01	0,88	25,2	0,1	9,1
f_TEN03		0,01	0,15	26,1	0,1	1,6
f_TEN04		0,01	0,34	27,8	0,1	3,9
f_IVA01		0,05	4,21	23,5	0,5	40,4
f_IVA02		0,01	0,28	21,7	0,1	2,5
f_CEP01		0,01	0,05	28,4	0,1	0,6
f_CEP02	0,01	0,18	27,3	0,1	2,0	
f_CEP03	0,01	0,75	28,5	0,1	8,7	
f_KON01	Kontrolni uzorci	0,01	1,04	34,4	0,1	14,7
f_KON02		0,01	0,36	26,6	0,1	3,7
f_KON03		0,01	0,51	28,2	0,1	5,9
f_KON04		0,01	0,31	24,7	0,1	3,2
f_KON05		0,01	0,60	24,2	0,1	6,1
f_KON06		0,05	0,27	28,0	0,6	3,2
f_KON07		0,05	2,34	27,6	0,6	26,4
f_KON08		0,01	0,61	25,6	0,1	6,5
f_KON09		0,01	0,69	28,9	0,1	8,4
f_KON10		0,05	3,06	23,1	0,5	29,0
f_KOM01	Uzorci iz trgovina	0,01	0,18	24,3	0,1	1,8
f_KOM02		0,05	0,92	23,3	0,5	8,8
f_KOM03		0,01	0,15	23,8	0,1	1,5
f_KOM04		0,01	0,27	19,0	0,1	2,1
f_KOM05		0,01	0,28	24,6	0,1	2,9
f_KOM06		0,01	0,12	25,1	0,1	1,2
f_KOM07		0,01	0,15	25,4	0,1	1,6
f_KOM08		0,05	2,12	24,6	0,5	21,6
f_KOM09		0,01	0,19	25,9	0,1	1,9
f_KOM10		0,01	0,13	23,7	0,1	1,3

Prema rezultatima za digestate liofiliziranih uzoraka jaja iz jesenskog prikupa, 31 od 42 uzorka, odnosno 74%, je imao koncentraciju manju od LOD vrijednosti za kadmij. Najveću koncentraciju pokazao je uzorak f_ANT09, čija vrijednost je bila iznad LOQ vrijednosti za kadmij. Što se olova tiče, samo je uzorak f_CEP01 ispod LOQ vrijednosti za olovo, a obzirom da je LOD vrlo nizak, svi uzorci su bili iznad granica detekcije. Uzorak f_ANT03 ima uvjerljivo najveću koncentraciju olova (**Tablica 6**), a osim izloženosti dimu uslijed požara u tvornici za reciklažu plastike, razlozi mogu uključivati kontaminiranu hranu ili životni prostor kokoši. Donator konkretnih uzoraka je potvrdio da prakticira paljenje biljnog otpada i rasprostiranje pepela po dvorištu, iako to ne mora biti značajan izvor olova. Također, nešto izraženiju koncentraciju olova ima i uzorak f_IVA01.

Srednja vrijednost suhe tvari uzoraka s lokacija izloženih dimu tijekom jesenskog perioda iznosi 26,5% s medijanom od 26,6%, srednja vrijednost uzoraka iz kontrolnih naselja iznosi 27,1% s medijanom od 27,1%, dok srednja vrijednost komercijalnih proizvoda iznosi 24,0% s medijanom od 24,5%. Ovime se da zaključiti da uzorci iz kontrolnih naselja imaju najveći udio suhe tvari.

Tablica 7 Koncentracije kadmija i olova u uzorcima jaja prikupljenim u zimskom periodu

Šifra	Podskupina	Digestati liofiliziranih uzoraka		Suha tvar (%)	Originalna namirnica		
		Cd (µg/L)	Pb (µg/L)		Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	
w_ANT01	Uzorci s lokacija izloženih dimu	0,16	1,75	26,8	1,7	19,1	
w_ANT02		0,1	0,42	25,9	1,1	4,5	
w_ANT03		0,01	3,31	25,1	0,1	33,8	
w_ANT04		0,01	0,28	26,2	0,1	2,9	
w_ANT05		0,05	0,66	25,0	0,5	6,7	
w_ANT06		0,05	1,66	22,2	0,5	15,1	
w_ANT07		0,22	1,68	23,9	2,1	15,8	
w_ANT08		0,01	0,11	25,8	0,1	1,2	
w_ANT09		0,15	1,64	24,5	1,5	16,9	
w_BRT01		0,01	1,76	28,4	0,1	20,1	
w_BRI01		0,05	0,33	25,0	0,5	3,4	
w_BRI02		0,05	0,23	22,3	0,5	2,2	
w_BRI03		0,05	0,44	24,3	0,5	4,3	
w_TEN01		0,01	0,35	28,1	0,1	4,2	
w_TEN02		0,01	0,05	25,8	0,1	0,5	
w_TEN03		0,05	0,47	21,6	0,5	4,6	
w_TEN04		0,01	0,51	23,9	0,1	4,7	
w_IVA01		0,41	1,46	23,3	3,9	14,0	
w_IVA02		0,13	0,67	26,3	1,4	7,0	
w_CEP01		0,01	0,15	26,8	0,1	1,5	
w_CEP02		0,01	0,64	25,2	0,1	6,7	
w_CEP03		0,01	0,11	24,8	0,1	1,1	
w_KON01		Kontrolni uzorci	0,05	0,66	27,4	0,6	7,7
w_KON02			0,01	0,37	23,6	0,1	3,5
w_KON03			0,05	0,31	27,1	0,5	3,3
w_KON04			0,94	0,36	26,4	10,6	4,1
w_KON05	0,01		0,50	28,6	0,1	5,8	
w_KON06	0,66		0,47	26,2	7,0	5,0	
w_KON07	0,12		2,05	27,6	1,4	23,8	
w_KON08	0,01		0,57	24,6	0,1	5,8	
w_KON09	0,16		1,32	25,2	1,6	13,5	
w_KON10	0,05		0,55	22,2	0,5	5,0	
w_KOM01	Uzorci iz trgovina	0,05	2,60	21,8	0,4	22,5	
w_KOM02		0,05	1,79	23,0	0,5	16,6	
w_KOM03		0,01	0,46	23,5	0,1	4,5	
w_KOM04		0,01	0,21	23,3	0,1	2,1	
w_KOM05		0,01	0,19	23,6	0,1	1,9	
w_KOM06		0,01	0,20	23,1	0,1	1,9	
w_KOM07		0,01	0,24	25,3	0,1	2,4	
w_KOM08		0,05	1,68	23,2	0,5	16,3	
w_KOM09		0,05	2,36	24,1	0,5	23,5	
w_KOM10		0,05	3,08	23,6	0,5	30,1	

Zimski prikup je uključivao 76% uzoraka (31/42) čije su koncentracije u digestatima liofilizata jaja ispod LOQ vrijednosti za kadmij (**Tablica 7**), dok ih je 43% (18/42) bilo ispod LOD vrijednosti. Najveće koncentracije za kadmij pokazali su uzorci w_KON04 i w_KON06. Što se olova tiče, uzorak w_TEN02 je jedini je iz skupine imao vrijednost ispod granice kvantifikacije. Najveće koncentracije olova u originalnim namirnicama pokazali su uzorci w_ANT03 i w_KOM10. Ono što je zanimljivo jest da je koncentracija u uzorku w_ANT03 više nego dvostruko manja u odnosu na jesenski period, što može biti pokazatelj sniženja razine teških metala u tlu u odnosu na period neposredno poslije požara. Alternativno, tijekom zime je manje vegetacije putem koje se životinje primarno izlažu kontaminaciji iz okoliša.

Srednja vrijednost suhe tvari uzoraka s lokacija izloženih dimu tijekom zimskog prikupa iznosi 25,1% s medijanom 25,5%, kontrolnih uzoraka 26,3% s medijanom 26,3%, te komercijalnih uzoraka 23,5% s medijanom od 23,4%. Dakle, može se zaključiti da uzorci iz kontrolnih naselja ponovno imaju nešto veći udio suhe tvari.

Tablica 8 Koncentracije kadmija i olova u uzorcima jaja prikupljenim u ljetnom periodu

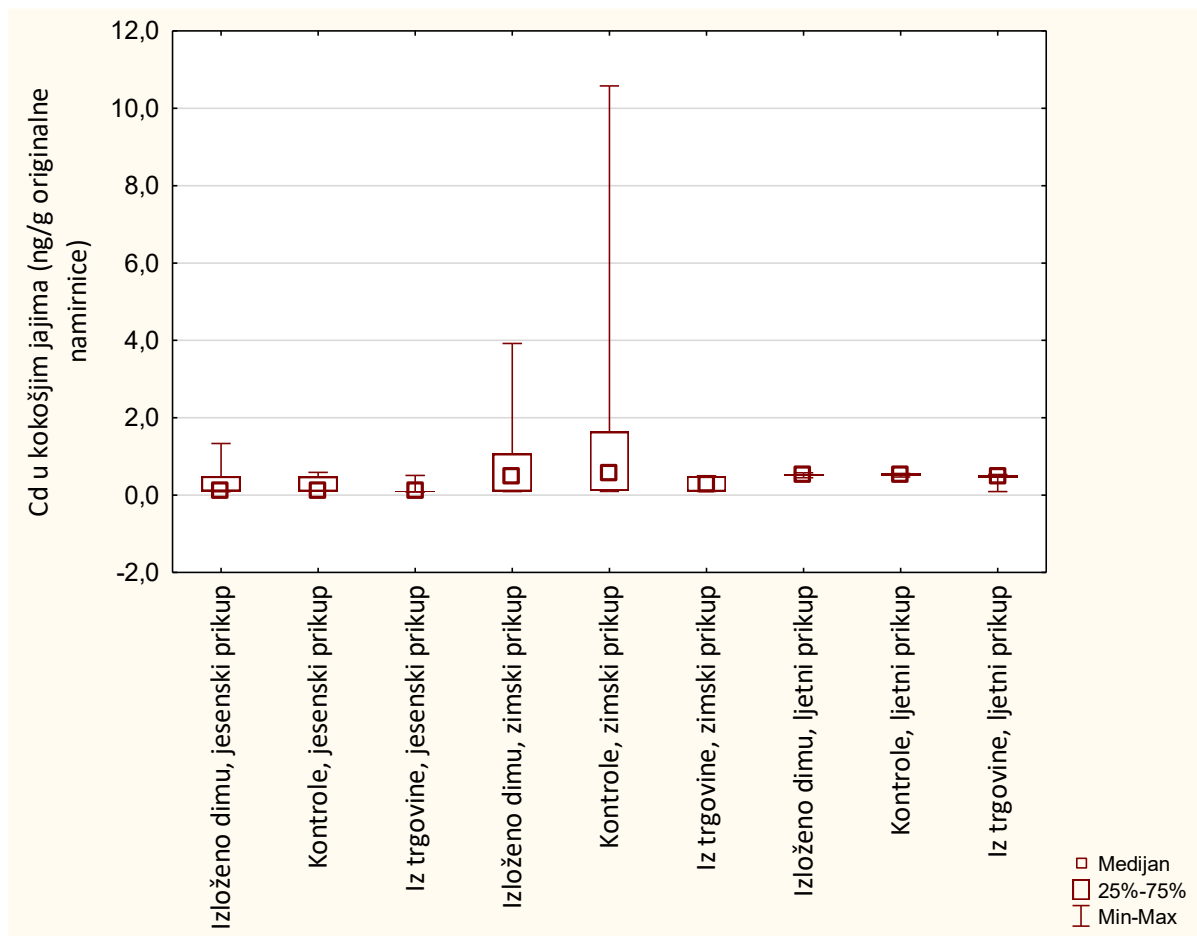
Šifra	Podskupina	Digestati liofiliziranih uzoraka		Suha tvar (%)	Originalna namirnica	
		Cd (µg/L)	Pb (µg/L)		Cd (ng/g)	Pb (ng/g)
s_ANT01	Uzorci s lokacija izloženih dimu	0,050	0,663	23,7	0,5	6,5
s_ANT02		0,050	1,226	21,7	0,5	11,1
s_ANT03		0,050	2,814	25,7	0,5	29,4
s_ANT04		0,050	0,825	26,9	0,5	9,0
s_ANT05		0,050	0,447	26,1	0,5	4,7
s_ANT06		0,050	0,823	24,9	0,5	8,4
s_ANT07		0,050	1,414	25,9	0,5	14,9
s_ANT08		0,050	0,729	26,7	0,6	8,0
s_ANT09		0,050	0,839	25,4	0,5	8,9
s_BRT01		0,050	0,388	27,3	0,6	4,4
s_BRI01		0,050	1,037	24,3	0,5	10,5
s_BRI02		0,050	3,953	22,6	0,5	37,2
s_BRI03		0,050	0,617	24,7	0,5	6,2
s_TEN01		0,050	0,955	28,4	0,6	10,9
s_TEN02		0,050	0,617	26,4	0,5	6,7
s_TEN03		0,050	1,473	24,3	0,5	14,8
s_TEN04		0,050	0,569	26,2	0,5	6,2
s_IVA01		0,050	1,049	24,6	0,5	10,2
s_IVA02		0,050	1,321	27,8	0,6	15,2
s_CEP01		0,050	0,396	25,0	0,5	4,1
s_CEP02	0,050	1,775	24,8	0,5	18,1	
s_CEP03	0,050	0,488	25,9	0,5	4,9	
s_KON01	Kontrolni uzorci	0,050	2,492	27,4	0,6	28,0
s_KON02		0,050	1,002	25,7	0,5	10,7
s_KON03		0,050	0,766	25,5	0,5	8,0
s_KON04		0,050	0,601	25,3	0,5	6,2
s_KON05		0,050	0,593	27,0	0,6	6,6
s_KON06		0,050	0,446	25,3	0,5	4,6
s_KON07		0,050	0,928	22,7	0,5	8,7
s_KON08		0,050	0,629	26,4	0,5	6,9
s_KON09		0,050	1,021	25,1	0,5	10,5
s_KON10		0,050	0,458	23,8	0,5	4,4
s_KOM01	Uzorci iz trgovina	0,050	0,817	25,0	0,5	8,4
s_KOM02		0,010	0,373	22,0	0,1	3,4
s_KOM03		0,050	0,603	22,8	0,5	5,7
s_KOM04		0,050	0,620	22,7	0,5	5,7
s_KOM05		0,050	0,711	24,9	0,5	7,3
s_KOM06		0,050	0,399	24,6	0,5	4,0
s_KOM07		0,050	0,422	23,8	0,5	4,2
s_KOM08		0,050	0,580	23,7	0,5	5,8
s_KOM09		0,050	0,398	22,5	0,5	3,7
s_KOM10		0,050	0,649	25,7	0,5	6,9

Tablica 8 daje rezultate za ljetni prikup uzoraka, pri čemu niti jedan uzorak nije iznad LOQ vrijednosti za kadmij, a s_KOM2 ima koncentraciju ispod LOD vrijednosti. S druge strane, razine olova svih uzoraka su više od LOQ vrijednosti, a najveće koncentracije pokazuju uzorci s_BRI02 te ponovno s_ANT03.

Srednja vrijednost uzoraka s lokacija izloženih dimom tijekom ljetnog prikupa iznosi 25,4% s medijanom 25,6%, srednja vrijednost kontrolnih uzoraka 25,4% s medijanom 25,4%, te komercijalnih uzoraka 23,8% s medijanom od 23,8%. Uzorci iz lokacija izloženih dimu najveću vrijednost suhe tvari su imali tijekom jesenskog perioda, a najmanju tijekom zimskog. Uzorci kontrolnih naselja najveći udio suhe tvari također su imali tijekom jeseni, dok su pak najmanji udio imali tijekom ljetnog perioda. Komercijalni uzorci najveću vrijednost postižu također tijekom jeseni, dok najmanju tijekom zime. Može se zaključiti da svi uzorci imaju veći udio suhe tvari tijekom jesenskog perioda u odnosu na zimski i ljetni period. Razlog tomu mogu biti promjene u prehrani, različiti uvjeti uzgoja te ostali čimbenici koji utječu na udio suhe tvari.

Slika 13 prikazuje vrijednosti sadržaja Cd u kokošnjim jajima, izražene u ng/g originalne namirnice, za različite skupine uzoraka prikupljene u različitim sezonama (jesen, zima, ljetno). Iz dobivenih podataka vidljivo je da uzorci s lokacija izloženih dimu tijekom jesenskog prikupa imaju srednju vrijednost kadmija od 0,26 ng/g, dok je medijan 0,11 ng/g. Srednja vrijednost kontrolnih uzoraka iz iste sezone iznosi 0,24 ng/g, a medijan 0,12 ng/g. Razlike između ovih dviju skupina nisu statistički značajne ($p = 0,951$). Međutim, razlike između uzoraka s lokacija izloženih dimu i uzoraka iz trgovina tijekom jesenskog prikupa su statistički značajne ($p = 0,009$), pri čemu su uzorci s lokacija izloženih dimu imali značajno višu srednju vrijednost (0,26 prema 0,18 ng/g). Slična, statistički značajna razlika ($p = 0,045$), utvrđena je između kontrolnih uzoraka (0,24 ng/g) i uzoraka iz trgovina (0,18 ng/g).

Uzorci s lokacija izloženih dimu u zimskom prikupu imali su srednju vrijednost kadmija od 0,71 ng/g, dok je medijan iznosio 0,46 ng/g (**Slika 13**). Kontrolni uzorci su imali znatno višu srednju vrijednost od 2,25 ng/g, dok je medijan bio 0,55 ng/g. Razlika između uzoraka s lokacija izloženih dimu i kontrolnih uzoraka nije statistički značajna ($p = 0,281$). Međutim, usporedba uzoraka s lokacija izloženih dimu i uzoraka iz trgovina bila je blizu statističke značajnosti ($p = 0,099$), pri čemu su uzorci s lokacija izloženih dimu imali viši sadržaj kadmija. Značajna razlika ($p = 0,045$) zabilježena je između kontrolnih uzoraka (2,25 ng/g) i uzoraka iz trgovina (0,29 ng/g), pri čemu su kontrolni uzorci imali višu srednju vrijednost.



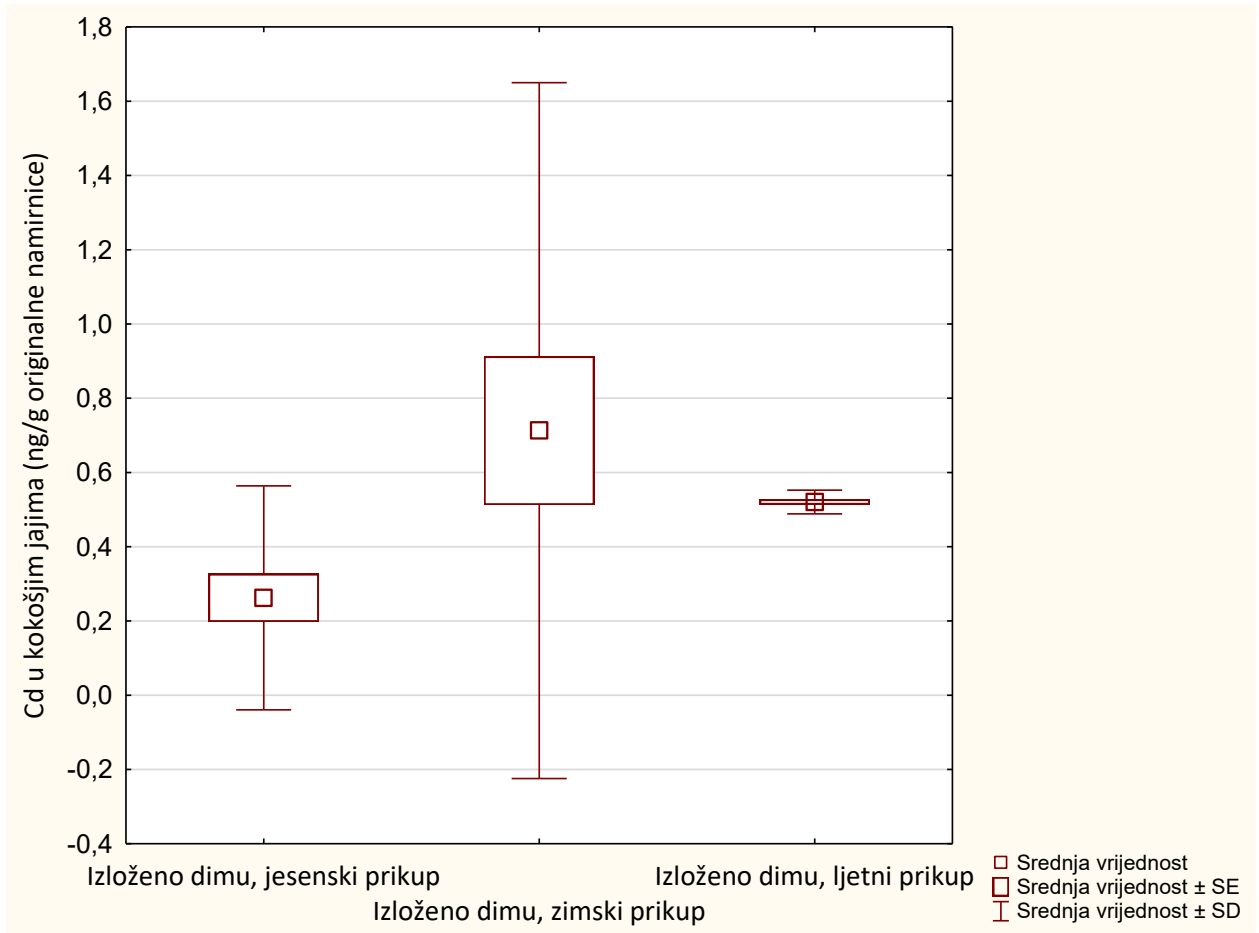
Slika 13 Prosječne koncentracije kadmija u uzorcima kokošjih jaja

Tijekom ljetnog prikupa, srednje vrijednosti i medijani za uzorke izložene dimu (0,52 ng/g) i kontrolne uzorke (0,52 ng/g) bili su identične, dok su uzorci iz trgovina imali nešto niže vrijednosti (0,45 ng/g). Razlike između uzoraka s lokacija izloženih dimu i kontrolnih uzoraka nisu statistički značajne ($p = 0,792$). Međutim, statistički značajna razlika ($p = 0,024$) zabilježena je između uzoraka s lokacija izloženih dimu i uzoraka iz trgovina, gdje su uzorci s lokacija izloženih dimu imali viši sadržaj kadmija. Također, kontrolni uzorci pokazali su značajno viši sadržaj kadmija u odnosu na uzorke iz trgovina ($p = 0,021$).

Kao mjera raspršenosti podataka i varijabilnosti može poslužiti interkvartilni raspon, Q25 – Q75). Najveću vrijednost ima kod kontrolnih uzoraka zimskog prikupa (Q25 = 0,12 ng/g, Q75 = 1,63 ng/g), dok najmanji interkvartilni raspon pokazuju uzorci iz trgovine jesenskog prikupa (Q25 = 0,098 ng/g, Q75 = 0,11 ng/g) (**Slika 13**).

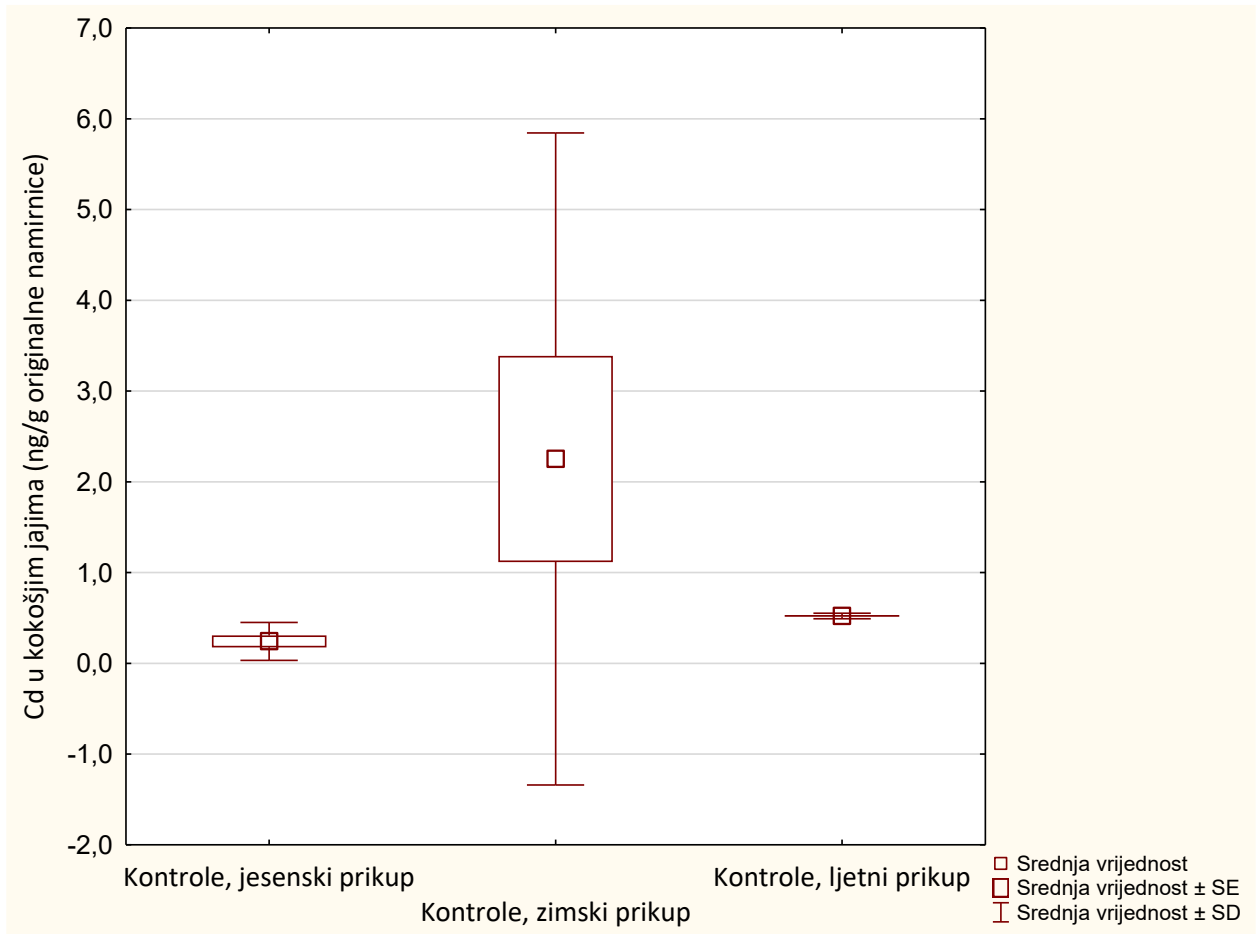
Usporedbom srednjih vrijednosti kadmija uzoraka s lokacija izloženih dimu kroz različite sezone (**Slika 14**) zabilježena je značajna razlika između zimske i ljetne sezone ($p = 0,0002$), gdje je srednja vrijednost uzoraka zimskog perioda 0,71 ng/g, što je više od srednje vrijednosti

ljetnog perioda koja je bila 0,52 ng/g. Usporedba jesen - zima nije statistički značajna ($p = 0,405$), ali uzorci iz ljetnog prikupa su imali višu srednju vrijednost u odnosu na uzorke iz jesenskog prikupa, pri čemu je razlika bila na granici značajnosti ($p = 0,053$).



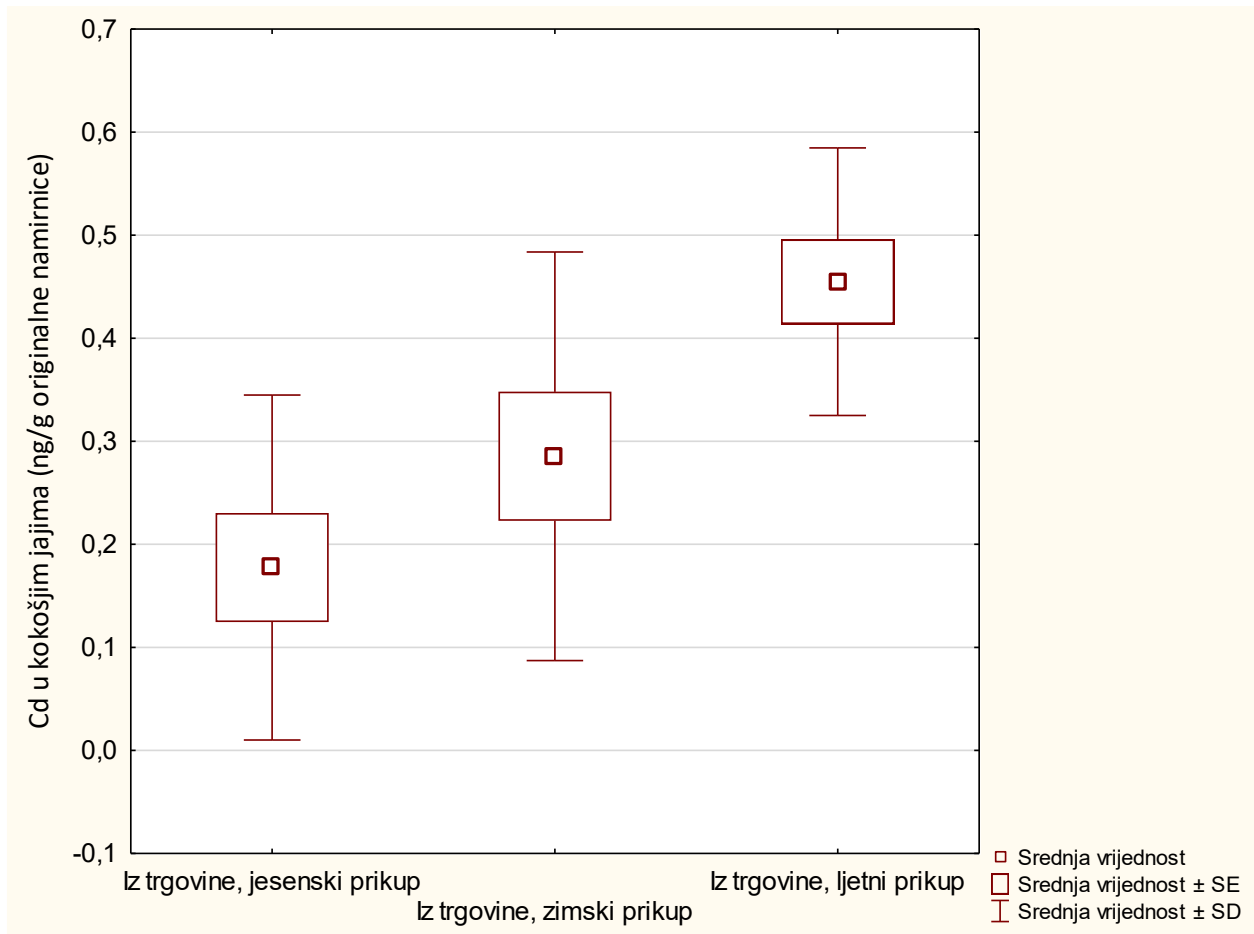
Slika 14 Srednje koncentracije kadmija u uzorcima kokošnjih jaja s lokacija izloženih dimu prema sezoni prikupa

Srednje vrijednosti za kontrolne uzorke iz jesenskog prikupa bile su značajno manje u odnosu na ljetni prikup ($p = 0,031$): 0,24 ng/g prema 0,52 ng/g (**Slika 15**). Ostale su usporedbe bile bez značajnih razlika.



Slika 15 Srednje koncentracije kadmija u uzorcima kokošjih jaja s kontrolnih lokacija prema sezoni prikupa

Usporedbom srednjih vrijednosti uzoraka iz trgovine (**Slika 16**) statistički značajne razlike ($p = 0,017$) su utvrđene između ljetnog (0,45 ng/g) i jesenskog perioda (0,18 ng/g) te između zimskog (0,29 ng/g) i ljetnog perioda (0,45 ng/g), uz $p = 0,031$. Ovi podaci ukazuju na sezonske promjene iako u manjoj mjeri nego kod uzoraka iz lokacija izloženih dimu.



Slika 16 Srednje koncentracije kadmija u uzorcima kokošjih jaja iz trgovina prema sezoni prikupa

Općenito, rezultati pokazuju da su sezonski faktori i podrijetlo uzorka ključni faktori u određivanju sadržaja kadmija. Ukoliko je pretpostavka da bi kokošja jaja s izloženih lokacija trebala biti najviše kontaminirana kadmijem mjesec dana (jesenski prikup) nakon požara u tvornici za reciklažu plastike, to se ne može zaključiti iz rezultata. Uzorci s lokacija izloženih dimu i kontrolnih lokacija pokazuju viši sadržaj Cd u odnosu na uzorke iz trgovina (**Slika 13**). Sezonski uvjeti, uključujući temperaturu i vlagu, dostupnost vegetacije, čini se da igraju značajnu ulogu u bioakumulaciji kadmija, s najvišim koncentracijama Cd u zimskom periodu i u uzorcima s lokacija izloženih dimu, ali i kontrolnih lokacija (**Slike 14 i 15**). Ovi rezultati ukazuju na potrebu za daljnjim istraživanjima kako bi se bolje razumjele specifične okolnosti koje doprinose ovim sezonskim i lokacijskim razlikama, te potencijalne rizike po ljudsko zdravlje.

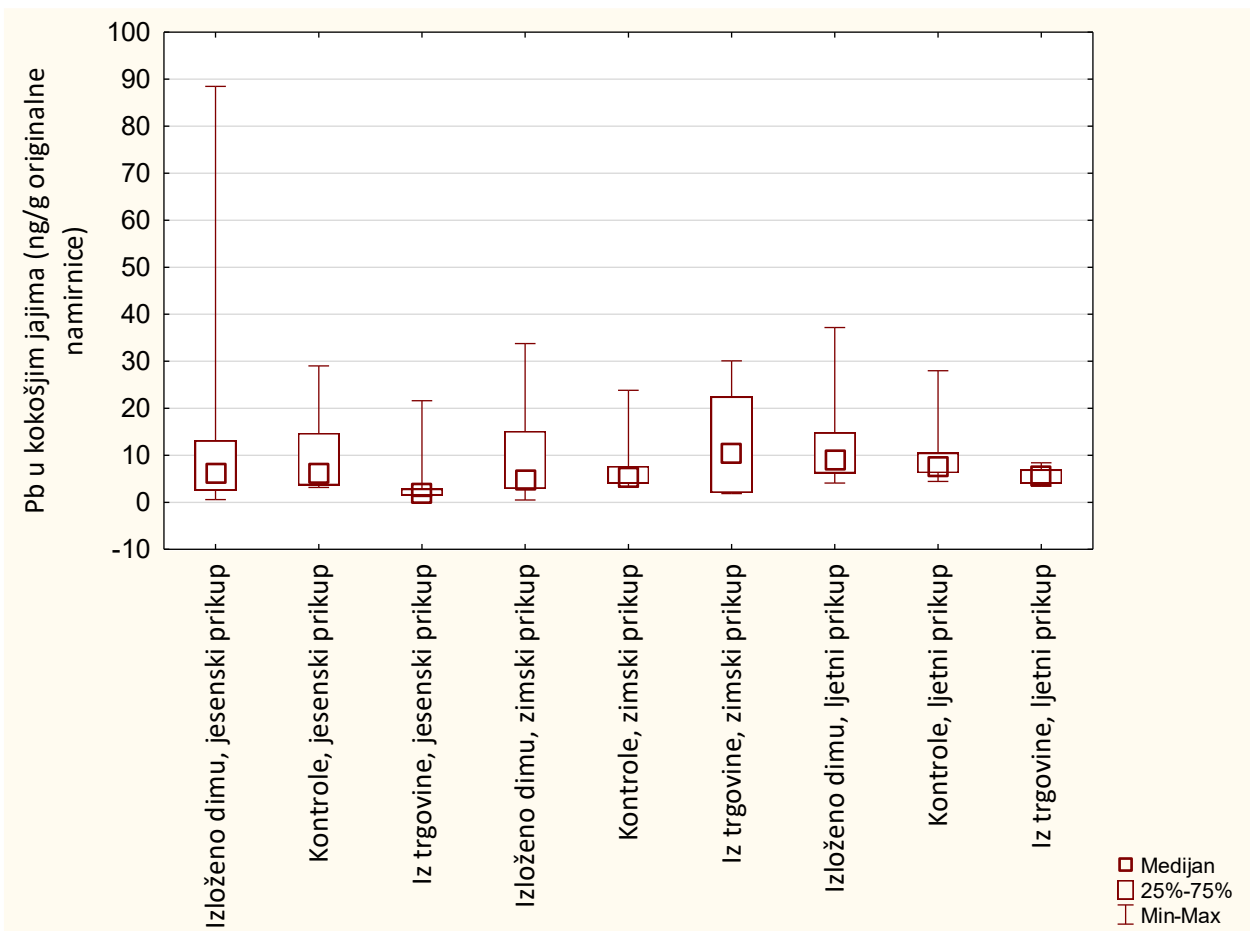
Van Overmeire i sur. (2009) su, u sklopu CONTEGG studije, nastojali utvrditi stupanj kemijske kontaminacije u domaćim jajima slobodnog uzgoja. Analizirane su koncentracije olova, kadmija, žive i halogeniranih ugljikovodika. Srednja vrijednost koncentracije kadmija bila je 0,96 ng/g s medijanom 0,74 ng/g i maksimumom od 2,42 ng/g, što je značajna razlika u odnosu na rezultate ovog istraživanja. Srednja vrijednost i maksimum su jedino niži u odnosu na kontrolne uzorke zimskog perioda sa srednjom vrijednošću 2,25 ng/g i maksimumom 10,58 ng/g.

Aliu i sur. (2021) su ispitali koncentracije teških metala u jajima s industrijskih peradarskih farmi i kokošnjih jaja iz slobodnog uzgoja s Kosova. Jaja s peradarskih farmi pokazivala su znatno više vrijednosti kadmija (4,16 ng/g) od onih iz slobodnog uzgoja (0,70 ng/g). Maksimum kod uzoraka iz slobodnog uzgoja bio je 1,71 ng/g. Usporedbom s rezultatima dobivenim u ovom diplomskom radu, koncentracije kadmija u jajima s Kosova pokazuju niže vrijednosti od uzoraka izloženih dimu tijekom zimskog perioda (0,71 ng/g), također i od kontrolnih uzoraka iz zimskog perioda (2,25 ng/g). Što se tiče maksimuma, kontrolni uzorci zimskog perioda također pokazuju znatno višu vrijednost (10,58 ng/g).

Sadržaj Pb u kokošnjim jajima, izražen u ng/g originalne namirnice, za različite skupine uzoraka prikupljene u različitim sezonama (jesen, zima, ljeto), dan je na **Slici 17**. Uzorci s lokacija izloženih dimu tijekom jesenskog prikupa imaju srednju vrijednost olova od 12,25 ng/g, dok je medijan 6,28 ng/g. Srednja vrijednost u kontrolnim uzorcima iz iste sezone iznosi 10,71 ng/g, a medijan 6,29 ng/g. Razlike između ovih dviju skupina nisu statistički značajne ($p = 0,640$). Međutim, uzorci s lokacija izloženih dimu imaju statistički značajno višu srednju vrijednost u odnosu na uzorke iz trgovina ($p = 0,044$). Slično tome, kontrolni uzorci pokazuju značajno višu srednju vrijednost olova u odnosu na uzorke iz trgovina ($p = 0,009$).

Uzorci s lokacija izloženih dimu, prikupljeni tijekom zimskog prikupa, imali su srednju vrijednost olova od 8,64 ng/g, dok je medijan iznosio 4,65 ng/g (**Slika 17**). Kontrolni uzorci imali su nešto nižu srednju vrijednost (7,75 ng/g), a medijan je bio 5,43 ng/g. Razlika između uzoraka s lokacija izloženih dimu i kontrolnih uzoraka nije statistički značajna ($p = 0,730$). Također, razlike između uzoraka s lokacija izloženih dimu i uzoraka iz trgovina nisu statistički značajne ($p = 0,556$). Slično, nije utvrđena značajna razlika između kontrolnih uzoraka i uzoraka iz trgovina u zimskom prikupu ($p = 0,970$).

Tijekom ljetnog prikupa, uzorci s lokacija izloženih dimu imali su srednju vrijednost od 11,37 ng/g, dok je medijan bio 8,93 ng/g (Slika 17). Kontrolni uzorci imali su nešto nižu srednju vrijednost (9,46 ng/g), a medijan 7,46 ng/g. Razlike između ovih dviju skupina nisu statistički značajne ($p = 0,452$). Međutim, statistički značajna razlika ($p = 0,004$) zabilježena je između uzoraka s lokacija izloženih dimu i uzoraka iz trgovina, gdje su uzorci s lokacija izloženih dimu imali viši sadržaj olova. Također, kontrolni uzorci imali su značajno višu srednju vrijednost olova u odnosu na uzorke iz trgovina ($p = 0,038$).

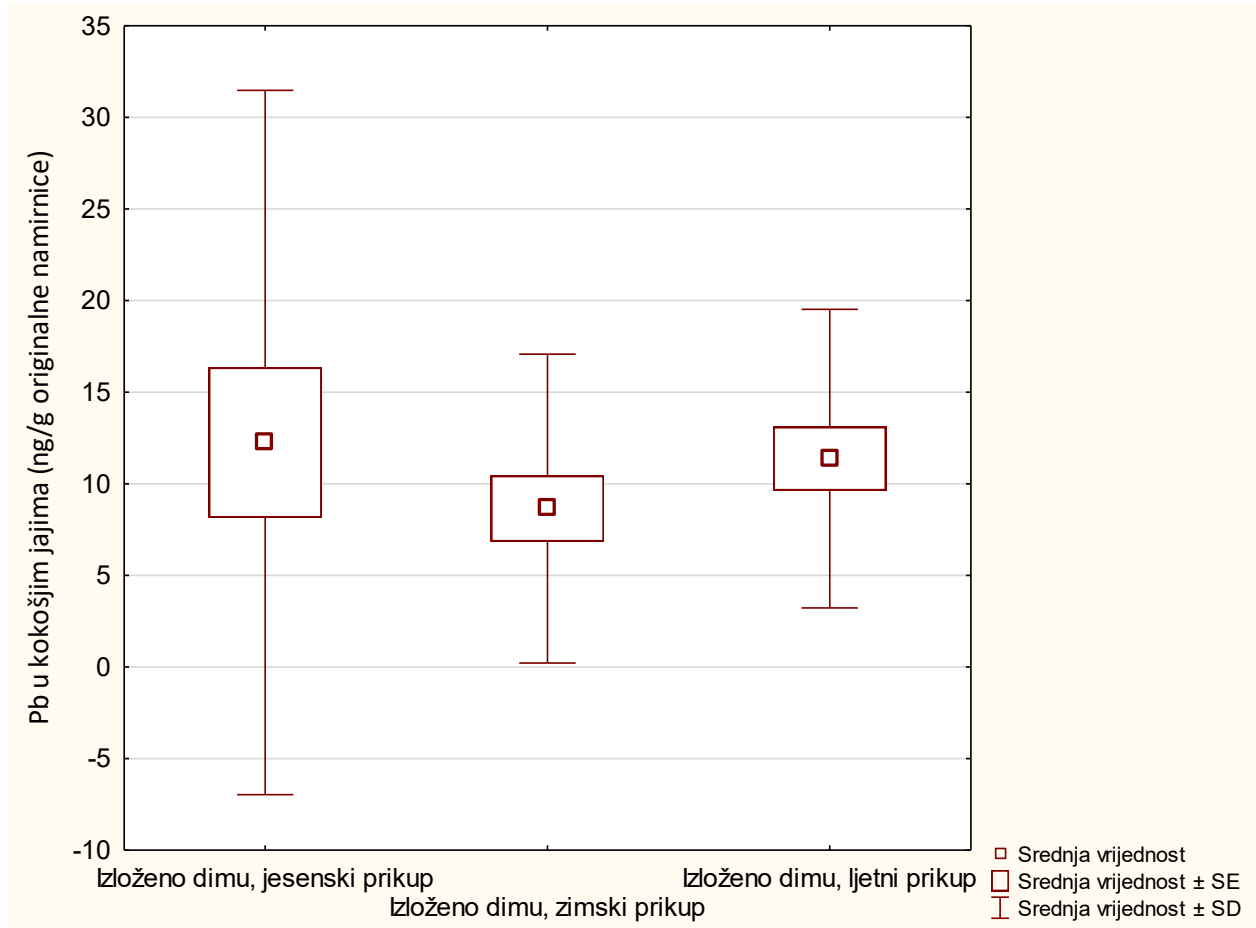


Slika 17 Prosječne koncentracije olova u uzorcima kokošnjih jaja

Najveći interkvartilni raspon pokazali su uzorci iz trgovine zimskog prikupa ($Q_{25} = 2,06$ ng/g, $Q_{75} = 22,46$ ng/g), a najmanji uzorci iz trgovine jesenskog prikupa ($Q_{25} = 1,48$ ng/g, $Q_{75} = 2,86$ ng/g) (Slika 17).

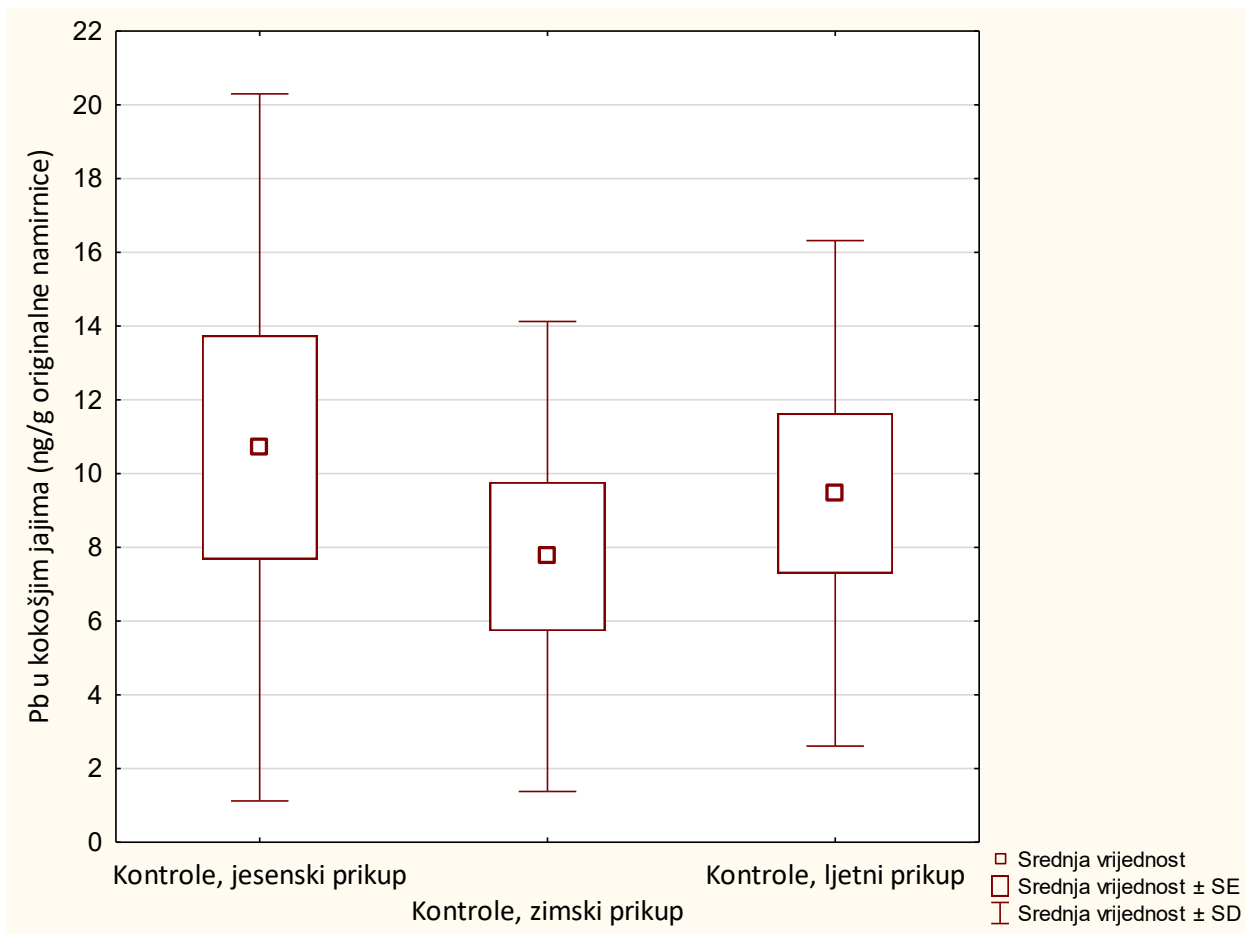
Ispitane su i razlike srednjih koncentracija Pb uslijed sezonskih varijacija za uzorke s lokacija izloženih dimu (Slika 18), ali nije pronađena statistički značajna razlika između jeseni i zime

($p = 0,664$), jeseni i ljeta ($p = 0,119$), dok je razlika između zime i ljeta na granici značajnosti ($p = 0,076$). Očito, sezonske promjene ne igraju ključnu ulogu u akumulaciji Pb u prikupljenim uzorcima kokošjih jaja.



Slika 18 Srednje koncentracije olova u uzorcima kokošjih jaja s lokacija izloženih dimu prema sezoni prikupa

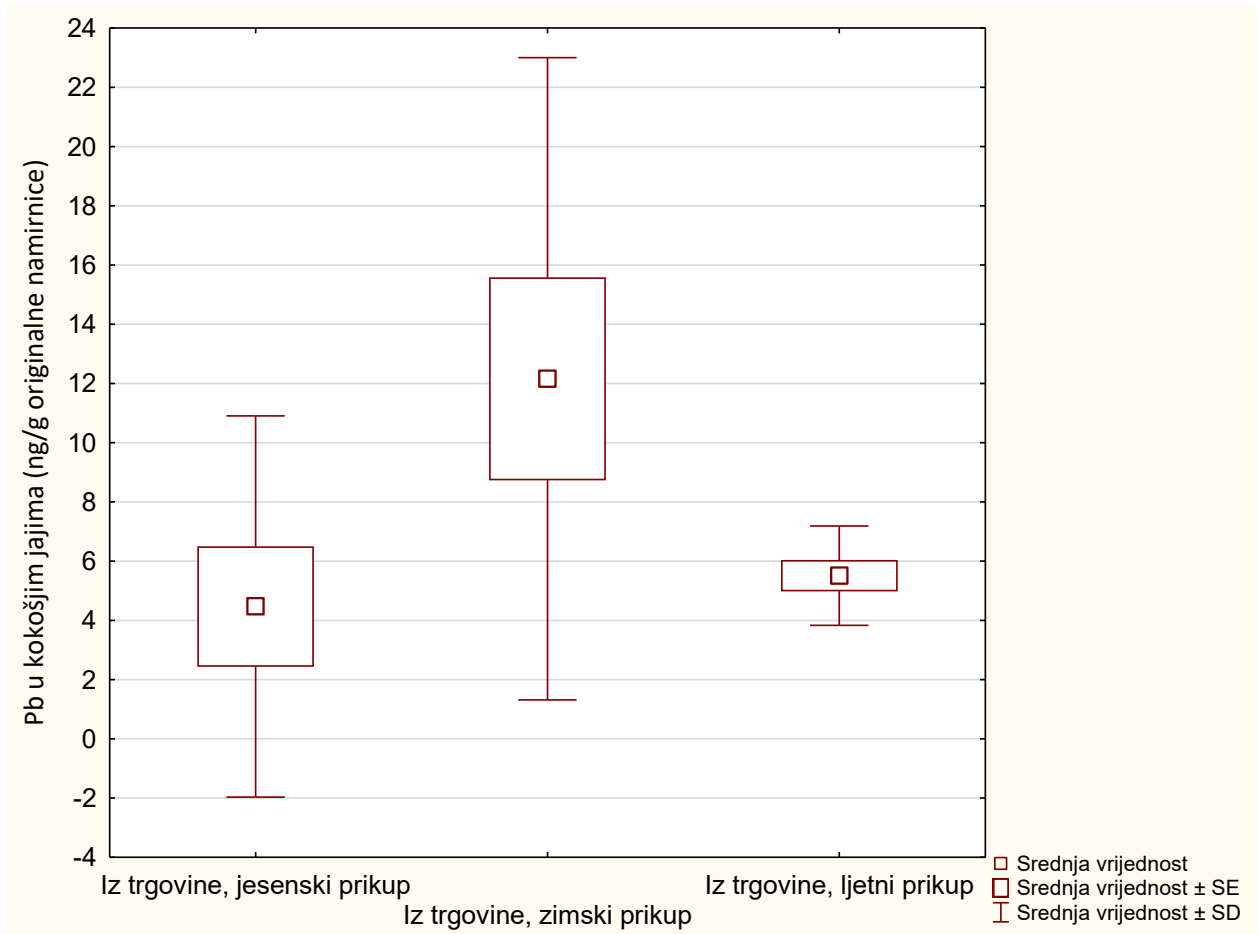
Značajne razlike između sezona prikupa nisu ustanovljene ni za kontrolne uzorke (**Slika 19**), tj. između jesenskog i zimskog prikupa ($p = 0,473$), jesenskog i ljetnog prikupa ($p = 0,521$) te zimskog i ljetnog prikupa ($p = 0,162$), razlike u srednjim koncentracijama Pb nisu statistički značajne.



Slika 19 Srednje koncentracije olova u uzorcima kokošjih jaja s kontrolnih lokacija prema sezoni prikupa

S druge strane, uzorci iz trgovina pokazali su statistički značajne sezonske razlike u srednjim razinama Pb između jeseni i zime ($p = 0,031$) te između jeseni i ljeta ($p = 0,026$) (**Slika 20**), uz nešto nižu srednju vrijednost za jesenski prikup. Razlike između zime i ljeta nisu bile značajne ($p = 0,791$), a točne uzroke odstupanja i više razine Pb u komercijalnim uzorcima tijekom zimskog u odnosu na jesenski i ljetni prikup teško je dokučiti.

Analogno rezultatima za kadmij, uzorci iz jesenskog prikupa s lokacija izloženih dimu nisu imali značajno više prosječne koncentracije Pb u odnosu na kontrole (**Slika 17**), te je malo vjerojatno da je požar imao zamjetan utjecaj na akumulaciju ovog elementa u kokošjim jajima. Uzorci s lokacija izloženih dimu i kontrolnih lokacija uglavnom pokazuju viši sadržaj Pb u odnosu na uzorke iz trgovina. Također nije utvrđen utjecaj sezonskih uvjeta na akumulaciju olova u jajima s izloženih i kontrolnih lokacija, sa slobodnim uzgojem nesilica (**Slike 18 i 19**).



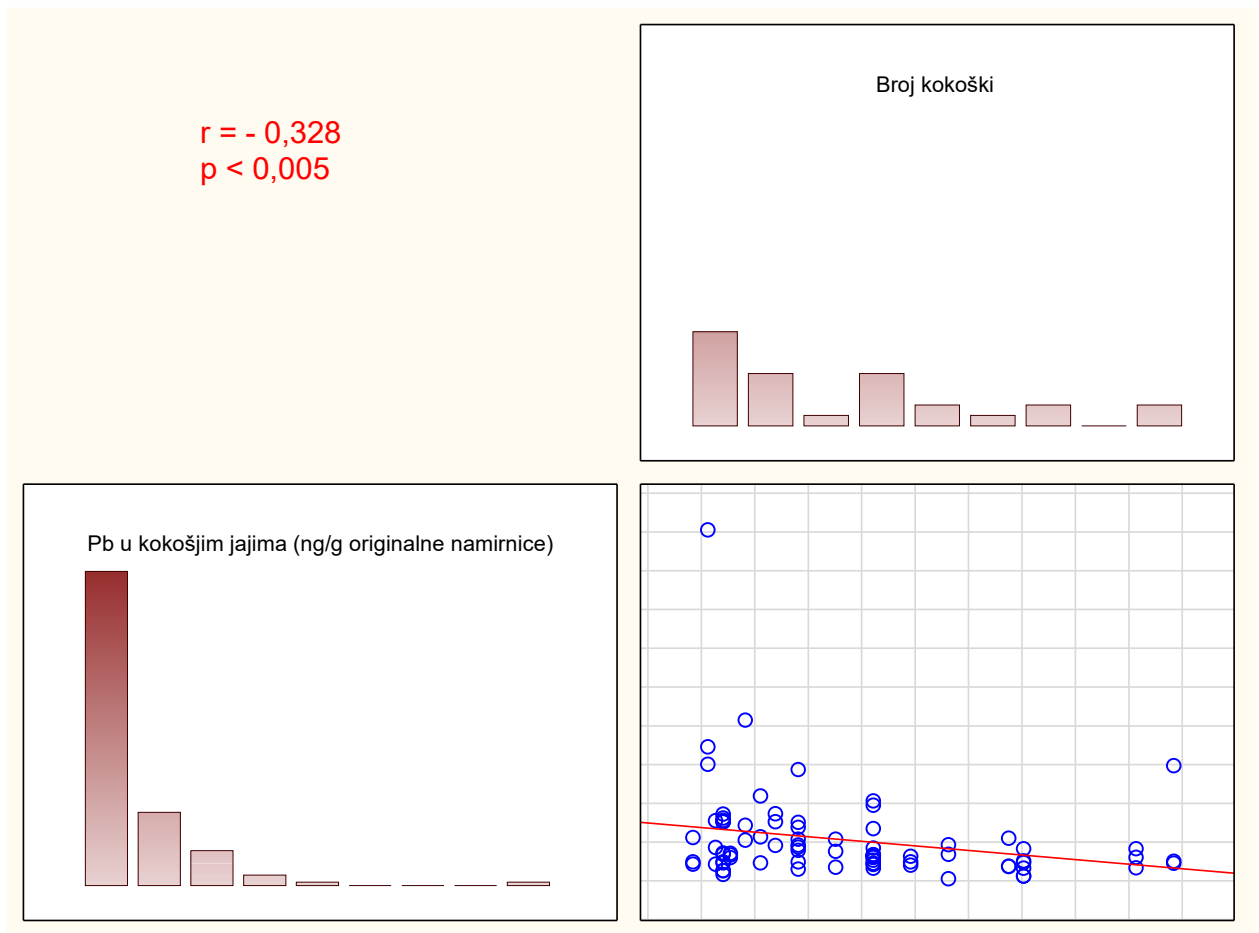
Slika 20 Srednje koncentracije olova u uzorcima kokošnjih jaja iz trgovina prema sezoni prikupa

Rezultati već spomenute CONTEGG studije utvrdili su srednju vrijednost za Pb od 115,80 ng/g s maksimumom od 471 ng/g te medijanom od 79,90 ng/g, što su značajno veće vrijednosti u odnosu na ovo istraživanje. Kao razlog visokim vrijednostima kontaminanata CONTEGG studije pokazalo se kontaminirano tlo (Van Overmeire i sur., 2009).

Aliu i sur., (2021) su analizom jaja na Kosovu iz farmi dobili srednju vrijednost olova od 57,40 ng/g, dok je srednja vrijednost uzoraka slobodnog uzgoja bila znatno niža, tj. 18,22 ng/g. Maksimum uzoraka slobodnog uzgoja iznosio je 26,43 ng/g. Usporedbom ovog rada i dobivenih srednjih vrijednosti za olovo, koncentracije na Kosovu su veće od srednjih vrijednosti koncentracija svih perioda analize. Usporedbom maksimuma, uzorci iz lokacija izloženih dimu postigli su veće maksimume tijekom svih perioda analize (**Slika 17**).

Veza koncentracija kadmija i olova u jajima s varijablama vezanim uz način uzgoja nesilica

Ispitana je korelacija koncentracije kadmija i olova s brojem kokoši te je utvrđeno kako za kadmij ne postoji značajna statistička korelacija ($r = -0,07$; $p = 0,517$), međutim za olovo postoji slaba, ali statistički značajna negativna korelacija, što prikazuje **Slika 21**.



Slika 21 Korelacija koncentracije olova u jajima s ukupnim brojem kokoši

Razlozi zbog kojih broj kokoši u domaćinstvu može biti povezan s koncentracijom Pb u jajima nisu odmah jasni, osim da je riječ o posrednom utjecaju na prehranu, što bi trebalo dodatno istražiti.

Analizom korelacije koncentracije olova i kadmija s površinom kokošinjca po kokoški (m^2) nisu utvrđene statistički značajne veze (Cd: $r = 0,068$; $p = 0,553$; Pb: $r = 0,158$; $p = 0,168$). Nije

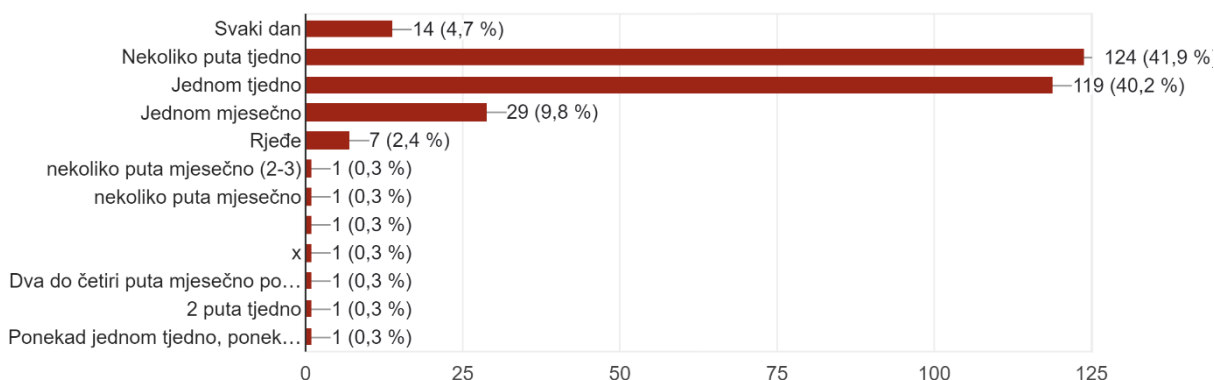
utvrđena ni značajna povezanost korelacija utvrđenih koncentracija s udjelom površine dvorišta koji je pokriven vegetacijom (Cd: $r = -0,005$; $p = 0,968$; Pb: $r = 0,044$; $p = 0,695$).

4.2. UNOS KADMIJA I OLOVA KONZUMACIJOM JAJA U ODNOSU NA REFERENTNE DOZE IZLOŽENOSTI

Rezultati ankete o učestalosti konzumacije kokošjih jaja prikazani su na **Slici 22**. Ukupno 7% ispitanika se izjasnilo da ne konzumiraju kokošja jaja zbog etičkih, zdravstvenih i drugih razloga. Temeljem samoprocjene unosa jaja konzumenata te uzimanjem u obzir i udjela nekonzumenata, ponderiranjem je određen srednji mjesečni broj od 15 konzumiranih jaja svih ispitanika te 16 jaja za konzumente. S ciljem određivanja unosa teških metala putem jaja i usporedbe s referentnim dozama toksičnosti korištena je potonja vrijednost koja odgovara unosu 200 g tjedno i 27 g jaja dnevno.

Ukoliko konzumirate jaja, molim procijenite učestalost mjesečne konzumacije srednje porcije (dva jaja):

296 odgovora



Slika 22 Rezultati ankete o učestalosti konzumacije kokošjih jaja

Izračunat je utjecaj konzumacije jaja na unos teških metala (izražen u $\mu\text{g}/\text{kg}$) te je utvrđen udio unosa olova i kadmija s obzirom na sigurne razine izloženosti. Vrijednosti referentne doze tj. BMDL-a, kao mjere praga štetnog djelovanja toksikanta, za izloženost odraslih osoba olovu kreću se između 0,63 - 1,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne mase na dan (EFSA, 2010), dok tolerirani tjedni unos (TWI) za kadmij iznosi 2,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne mase (EFSA, 2009). Kombiniranjem prosječnog unosa kokošjih jaja dobivenog anketom i prosječnih koncentracija utvrđenih u uzorcima,

procijenjeni dnevni unos olova konzumacijom jaja čini manje od 1% niže BMDL vrijednosti (0,63 $\mu\text{g/kg tj. m.}$) te je minimalan rizik za zdravlje unosom analiziranih jaja bilo kojeg podrijetla. Mitrović i sur. (2021) su izvijestili da je prosječna dnevna izloženost olovu iz komercijalnih jaja u Srbiji 0,0052 $\mu\text{g/kg tj. m.}$, što je slično rezultatima dobivenim ovdje za uzorke privatnih proizvođača uz slobodni uzgoj nesilica (**Tablica 9**).

Ekstremni i malo vjerojatni scenarij konzumacije dva jaja dnevno (100 g), koja sadrže najvišu utvrđenu koncentraciju Pb od 88,5 ng/g (**Tablica 6**), od strane osobe teške 65 kg, rezultirat će dnevnom izloženosti od 0,136 $\mu\text{g/kg tj. m.}$ tj. %BMDL vrijednosti od 22%.

Tablica 9 Procjena unosa olova konzumacijom analiziranih kokošnjih jaja

	Dnevna izloženost Pb konzumacijom jaja ($\mu\text{g/kg tj. m.}$) za muškarce	Dnevna izloženost Pb konzumacijom jaja ($\mu\text{g/kg tj. m.}$) za žene	%BMDL vrijednosti konzumacijom jaja za muškarce	%BMDL vrijednosti konzumacijom jaja za žene
Izloženo dimu jesenski prikup	0,004726	0,005514	0,75	0,88
Kontrole, jesenski prikup	0,004131	0,004819	0,66	0,76
Iz trgovine, jesenski prikup	0,001724	0,002011	0,27	0,32
Izloženo dimu, zimski prikup	0,003335	0,003891	0,53	0,62
Kontrole, zimski prikup	0,002989	0,003487	0,47	0,55
Iz trgovine, zimski prikup	0,004689	0,005471	0,74	0,87
Izloženo dimu, ljetni prikup	0,004386	0,005118	0,70	0,81
Kontrole, ljetni prikup	0,003650	0,004259	0,58	0,68
Iz trgovine, ljetni prikup	0,002126	0,002480	0,34	0,39

Izračunate su i tjedne izloženosti kadmiju konzumacijom jaja (**Tablica 10**). Najviše vrijednosti za tjednu izloženost kadmijem postižu kontrolni uzorci zimskog prikupa, kao i udio TWI vrijednosti za muškarce i žene. Međutim, čak i te više vrijednosti čine tek 0,3% TWI vrijednosti, kao pretpostavljenog praga toksičnosti za kadmij. Mitrović i sur. (2021) su utvrdili tjednu izloženost od 0,0133 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m., što je znatno više od rezultata u ovom radu.

Ekstremni scenarij za kadmij kombinira konzumaciju 100 g jaja na dan s najvišom utvrđenom koncentraciju Cd od 10,6 ng/g (**Tablica 7**), od strane osobe teške 65 kg, rezultirat će dnevnom izloženošću od 0,114 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m. tj. %TWI vrijednosti od 5%.

Tablica 10 Procjena unosa kadmija konzumacijom kokošjih jaja

	Tjedna izloženost Cd konzumacijom jaja ($\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m.) za muškarce	Tjedna izloženost Cd konzumacijom jaja ($\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m.) za žene	%TWI vrijednosti konzumacijom jaja za muškarce	%TWI vrijednosti konzumacijom jaja za žene
Izloženo dimu jesenski prikup	0,000749	0,000874	0,03	0,03
Kontrole, jesenski prikup	0,000691	0,000806	0,03	0,03
Iz trgovine, jesenski prikup	0,000507	0,000592	0,02	0,02
Izloženo dimu, zimski prikup	0,002036	0,002376	0,08	0,10
Kontrole, zimski prikup	0,006433	0,007505	0,26	0,30
Iz trgovine, zimski prikup	0,000816	0,000951	0,03	0,04
Izloženo dimu, ljetni prikup	0,001487	0,001735	0,06	0,07
Kontrole, ljetni prikup	0,001492	0,001740	0,06	0,07
Iz trgovine, ljetni prikup	0,001300	0,001516	0,05	0,06

5. ZAKLJUČCI

- Medijani koncentracija kadmija uzoraka s lokacija izloženih dimu tijekom jesenskog prikupa ne razlikuju se značajno u odnosu na kontrolne uzorke (0,11 prema 0,12 ng/g; $p = 0,951$). Slični rezultati utvrđeni su za ove dvije skupine uzoraka iz zimskog prikupa (0,46 prema 0,55; $p = 0,281$), kao i ljetnog prikupa (0,52 prema 0,52 ng/g; $p = 0,792$). Uzorci s lokacija izloženih dimu i kontrolnih lokacija pokazuju značajno viši sadržaj Cd u odnosu na uzorke iz trgovina.
- Sezonski uvjeti imaju značajnu ulogu u nakupljanju kadmija u jajima tijekom slobodnog uzgoja nesilica, budući da su najviše koncentracije Cd utvrđene u zimskom periodu u uzorcima s lokacija izloženih dimu, ali i kontrolnih lokacija.
- Nema značajne razlike između medijana koncentracije olova s lokacija izloženih dimu tijekom jesenskog prikupa i kontrolnih uzoraka (6,28 prema 6,29 ng/g; $p = 0,640$). Slično vrijedi za ove dvije skupine uzoraka iz zimskog prikupa (4,65 prema 5,43; $p = 0,730$), kao i ljetnog prikupa (8,93 prema 7,46 ng/g; $p = 0,452$). Uzorci s lokacija izloženih dimu i kontrolnih lokacija pokazuju značajno viši sadržaj Pb u odnosu na uzorke iz trgovina tijekom jesenskog i ljetnog prikupa, ali ne i zimskog, zbog višeg sadržaja Pb u komercijalnim uzorcima.
- Nije utvrđen utjecaj sezonskih uvjeta na akumulaciju olova u jajima s izloženih i kontrolnih lokacija, sa slobodnim uzgojom nesilica.
- Najviša izmjerena vrijednost olova bila je zabilježena kod uzoraka iz lokacija izloženih dimu tijekom jesenskog perioda (88,47 ng/g), dok je najviša izmjerena vrijednost kadmija (10,58 ng/g) izmjerena uzoraka iz kontrolnih naselja tijekom zimskog perioda.
- Pretpostavka da će uzorci s lokacija izloženih dimu požara iz tvornice za reciklažu plastike biti kontaminiraniji od kontrolnih uzoraka nije potvrđena. Ovo sugerira da dim nastao sagorijevanjem plastike nije značajan izvor olova i kadmija.
- Postoji slaba, ali statistički značajna negativna povezanost između koncentracije olova i broja kokoši u kokošinjcu ($r = -0,328$, $p = 0,0028$), što može biti pokazatelj posrednog utjecaja na prehranu kokoši. Nije utvrđena veza koncentracija Cd i Pb u jajima i površine kokošinjca ili udjela površine dvorišta pokrivenog vegetacijom.
- Temeljem ankete o učestalosti konzumacije kokošnjih jaja utvrđena je srednja mjesečna konzumacija 16 jaja.

- Kombiniranjem prosječnog unosa kokošnjih jaja dobivenog anketom i prosječnih koncentracija utvrđenih u uzorcima, procijenjeni dnevni unosi Pb konzumacijom jaja čine manje od 1% BMDL vrijednosti, kao mjere praga toksičnog djelovanja. Slično je utvrđeno za tjedne unose Cd konzumacijom jaja, koji čine tek 0,3% TWI vrijednosti. Može se zaključiti da konzumacija analiziranih jaja bilo kojeg podrijetla predstavlja minimalan rizik za zdravlje zbog niskih razina ovih teških metala.

6. LITERATURA

- Agilent: 7800/7900 ICP-MS Hardware; Maintenance manual. *Agilent, Santa Clara, CA, USA*, 2020.
- Ali Abd Al-Hameed K: Spearman's correlation coefficient in statistical analysis. *International Journal of Nonlinear Analysis and Applications*, 13(1):3249-3255, 2022.
- Aliu H, Dizman SE, Sinani A, Hodolli G: Comparative Study of Heavy Metal Concentration in Eggs Originating from Industrial Poultry Farms and Free-Range Hens in Kosovo. *Journal of Food Quality*, 2021:6615289, 2021.
- Anderson, KE Overview of natural and organic egg production: Looking back to the future. *Journal of Applied Poultry Research*, 18: 348-354, 2009.
- Ara A, Usmani JA: Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology*, 8(2):55-64, 2015.
- Balali-Mood M, Naseri K, Tahergorabi Z, Khazdair MR, Sadeghi M: Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, 12:643972, 2021.
- CONTAM, EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain: Scientific opinion on lead in food. *EFSA, Brussels*, 2010.
- EFSA, European Food Safety Authority: Cadmium in food—scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *EFSA, Brussels*, 2009.
- EFSA, European Food Safety Authority: Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA, Brussels*, 2012.
- Egan KB, Cornwell CR, Courtney JG, Ettinger AS: Blood lead levels in US children ages 1–11 years, 1976–2016. *Environmental Health Perspectives*, 129(3):037003, 2021.
- El-Sabrouf K, Aggag S, Mishra B: Advanced practical strategies to enhance table egg production. *Scientifica*, 2022(1):1393392, 2022.
- Ganguly K, Levänen B, Palmberg L, Åkesson A, Lindén A: Cadmium in tobacco smokers: a neglected link to lung disease? *European Respiratory Review*, 27(147):180004, 2018.
- Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A: The effects of cadmium toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(11):3782, 2020.
- HZN, Hrvatski zavod za norme: Water quality—Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)—Part 2: Determination of selected elements including uranium isotopes. HRN EN ISO 17294-2:2016.
- Kabeer MS, Hameed I, Kashif SU, Khan M, Tahir A, Anum F, Khan S, Raza S:
Contamination of heavy metals in poultry eggs: a study presenting relation between heavy metals in feed intake and eggs. *Archives of Environmental & Occupational Health*, 76(4):220-232, 2021.

- Khan Z, Elahi A, Bukhari DA, Rehman A: Cadmium sources, toxicity, resistance and removal by microorganisms: A potential strategy for cadmium eradication. *Journal of Saudi Chemical Society*, 26(6):101569, 2022.
- Kumar A, Kumar A, Chaturvedi AK, Shabnam AA, Subrahmanyam G, Mondal R, Gupta DK, Malyan SK, Kumar SS, Khan SA: Lead toxicity: health hazards, influence on food chain, and sustainable remediation approaches. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7):2179, 2020.
- Milenović Ž: Application of Mann-Whitney U test in research of professional training of primary school teachers. *Metodički obzori: časopis za odgojno-obrazovnu teoriju i praksu*, 6(11):73-79, 2011.
- Mitrovic M, Tomasevic I, Stefanovic S, Djordjevic V, Djekic I: Toxic elements in eggs and egg-based products: occurrence, exposure assessment and risk characterisation for the Serbian population. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(12):6685-96, 2021.
- Nimalaratne C, Wu J. Hen Egg as an Antioxidant Food Commodity: A Review. *Nutrients*. 7(10):8274-8293, 2015.
- Papanikolaou NC, Hatzidaki EG, Belivanis S, Tzanakakis GN, Tsatsakis AM: Lead toxicity update. A brief review. *Medical Science Monitor*, 1;11(10):RA329-36, 2005.
- Rajmohan KV, Ramya C, Viswanathan MR, Varjani S: Plastic pollutants: effective waste management for pollution control and abatement. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 12:72-84, 2019.
- Rajoria S, Vashishtha M, Sangal VK: Heavy metal ions in wastewater: A review on detection and toxicity. *Chemical Engineering Process Technology*, 8(3):1082, 2023.
- Réhault-Godbert S, Guyot N, Nys Y: The golden egg: nutritional value, bioactivities, and emerging benefits for human health. *Nutrients*, 11(3):684, 2019.
- Tauson R: Management and housing systems for layers—effects on welfare and production. *World's Poultry Science Journal*, 61: 477-490, 2005.
- Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ: Heavy metal toxicity and the environment. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology, Experientia Supplementum* 101:133-164, 2012.
- Thompson LA, Darwish WS: Environmental chemical contaminants in food: review of a global problem. *Journal of Toxicology*, 2019(1):2345283, 2019.
- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullou M: Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(2):178-189, 2006.

- Van Overmeire I, Pussemier L, Hanot V, De Temmerman L, Hoenig M, Goeyens L: Chemical contamination of free-range eggs from Belgium. *Food Additives and Contaminants*, 23(11):1109-1122, 2006.
- Van Overmeire, I., Pussemier, L., Waegeneers, N., Hanot, V., Windal, I., Boxus, L., ... & Goeyens, L. (2009). Assessment of the chemical contamination in home-produced eggs in Belgium: general overview of the CONTEGG study. *Science of the total environment*, 407(15), 4403-4410, 2009.
- Vial, J., Le Mapihan, K., & Jardy, A. What is the best means of estimating the detection and quantification limits of a chromatographic method?. *Chromatographia*, 57, S303-S306, 2003.
- Wilschefski SC, Baxter MR: Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects. *The Clinical Biochemist Reviews*, 40(3):115, 2019.
- Yu HT, Zhen J, Leng JY, Cai L, Ji HL, Keller BB: Zinc as a countermeasure for cadmium toxicity. *Acta Pharmacologica Sinica*, 42(3):340-346, 2021.
- Zergui A, Boudalia S, Joseph ML: Heavy metals in honey and poultry eggs as indicators of environmental pollution and potential risks to human health. *Journal of Food Composition and Analysis*, 119:105255, 2023.
- Zhang, Y., Song, B., & Zhou, Z. Pollution assessment and source apportionment of heavy metals in soil from lead–Zinc mining areas of south China. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(2), 109320, 2021.
- Zhu M, Li H, Miao L, Li L, Dong X, Zou X: Dietary cadmium chloride impairs shell biomineralization by disrupting the metabolism of the eggshell gland in laying hens. *Journal of Animal Science*, 98(2), 2020.