

Živa u uzorcima kokošjih jaja podrijetlom iz domaćinstava izloženih dimu uslijed požara u tvornici za recikliranje plastike

Prisuda, Ozana

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:109:881236>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-19**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

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



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

Ozana Prisuda

**Živa 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 Klapec*
Pomoć pri izradi: dr. sc. *Gordana Šelo*

Živa u uzorcima kokošjih jaja podrijetlom iz domaćinstava izloženih dimu uslijed požara u tvornici za recikliranje plastike
Ozana Prisuda, 0113148705

Sažetak:

Uslijed velikog požara u tvornici za recikliranje plastike, s ciljem utvrđivanja potencijalne kontaminacije teškim metalima, prikupljeni su uzorci kokošjih jaja iz slobodnog uzgoja iz domaćinstava koja se nalaze u području zahvaćenom dimom. Osim ovih, analizirani su i uzorci iz kontrolnih područja te komercijalno dostupni uzorci. Uzorci su prikupljeni u tri perioda, jedan, četiri i osam mjeseci nakon izbijanja požara, tj. u jesen, zimu i ljeto. Nakon liofilizacije i mikrovalne digestije, analiza je provedena korištenjem masene spektrometrije s induktivno-spregnutom plazmom (ICP-MS). Rezultati su pokazali da pojedini uzorci jaja s lokacija izloženih dimu požara imaju više maksimalne koncentracije žive (5,9 ng/g originalne namirnice), iako su najviši medijani žive zabilježeni u kontrolnim uzorcima iz jesenskog i zimskog prikupa (1,4 ng/g). Izračunom tjednog unosa žive ($\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m.) konzumacijom jaja utvrđen je najveći udio tolerirane tjedne vrijednosti (TWI) od 0,3 %, što znači da konzumacija jaja iz bilo koje od analiziranih podskupina ne predstavlja značajan rizik za zdravlje. Usporedbom srednjih koncentracija žive u svim uzorcima s lokacija izloženih dimu ($0,9 \pm 0,8$ ng/g) i kontrolnim uzorcima ($1,3 \pm 1,0$ ng/g) može se zaključiti da dim požara nije bio značajan izvor kontaminacije jaja živom. Očito, postoje drugi faktori koji doprinose povišenim razinama žive u jajima, poput kontaminacije vode, tla, hrane, upotrebe pesticida itd.

Ključne riječi: kokošja jaja, živa, požar u tvornici za recikliranje plastike

Rad sadrži: 46 stranica
6 slika
3 tablice
41 literaturna referenca

Jezik izvornika: hrvatski

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

1. doc. dr. sc. <i>Tihomir Kovač</i>	predsjednik
2. prof. dr. sc. <i>Tomislav Klapec</i>	član-mentor
3. doc. dr. sc. <i>Ivana Tomac</i>	član
4. prof. dr. sc. <i>Ines Banjari</i>	zamjena člana

Datum obrane: 11. 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

Mercury in Hen Eggs Collected in Households Exposed to Smoke From a Plastics Recycling Plant Fire
Ozana Prisuda, 0113148705

Summary:

Due to a large fire at a plastics recycling plant, free-range hen eggs were collected from households in the area affected by the smoke to assess potential contamination with heavy metals. Additionally, samples from control areas and commercially available samples were also analyzed. The samples were collected over three periods: one, four, and eight months 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). The results showed that egg samples from locations exposed to the fire smoke had a higher maximum mercury concentrations (5.9 ng/g wet weight), even though the highest median mercury values were recorded in control samples collected in fall and winter (1.4 ng/g). The highest estimated weekly mercury intake ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw) from hen eggs makes only 0.3 % of the tolerable weekly intake (TWI), indicating that consumption of eggs from any of the analyzed subgroups does not pose a significant health risk. Comparing the mean mercury concentrations in all samples from smoke-exposed locations (0.9 ± 0.8 ng/g) and control samples (1.3 ± 1.0 ng/g) leads to a conclusion that fire smoke was not a significant source of egg contamination with mercury. Apparently, other factors contribute to elevated mercury levels in eggs, such as water, soil, and food contamination, pesticide use, etc.

Key words: hen's eggs, mercury, plastic recycling plant fire

Thesis contains: 46 pages
6 figures
3 tables
41 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 Tomac</i> , PhD, assoc. prof. | member |
| 4. <i>Ines Banjari</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: September 11, 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

TE OCIJENJEN USPJEHOM

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. **doc. dr. sc. Tihomir Kovač** predsjednik _____
(potpis)
2. **prof. dr. sc. Tomislav Klačec** član _____
(potpis)
3. **doc. dr. sc. Ivana Tomac** član _____
(potpis)

Zahvaljujem se svima onima koji su na ovom putu bili uz mene, mami, tati, Josipu, Ani, svim kolegama i prijateljima.

Zahvaljujem se i mentoru, prof. dr. sc. Tomislavu Klapecu, što mi je pružio priliku da se bavim onim što me zanima. Također veliko hvala Biljani Crevar na vedrom duhu i podršci.

Sadržaj

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO.....	3
2.1.	KEMIJSKI I NUTRITIVNI PROFIL JAJA.....	4
2.2.	GLOBALNA PROIZVODNJA I POTROŠNJA JAJA	5
2.3.	NAČINI UZGOJA KOKOŠI NESILICA.....	6
2.3.1.	Uzgoj kokoši nesilica u konvencionalnim kavezima i obogaćenim kavezima.....	6
2.3.2.	Podni uzgoj.....	7
2.3.3.	Slobodni i organski uzgoj.....	7
2.4.	UTJECAJ NAČINA UZGOJA KOKOŠI NESILICA NA KVALITETU JAJA.....	8
2.4.1.	Utjecaj na fizikalne parametre	8
2.4.2.	Utjecaj na kemijski sastav	8
2.5.	KONTAMINANTI U JAJIMA I IZVORI KONTAMINACIJE	9
2.5.1.	Dioksini.....	10
2.5.2.	Pesticidi.....	10
2.5.3.	Teški metali.....	11
2.6.	UTJECAJ NAČINA UZGOJA KOKOŠI NESILICA NA KONTAMINACIJU JAJA.....	12
2.7.	ŽIVA U PLASTICI – RIZICI ZA OKOLIŠ I SIGURNOST HRANE.....	13
2.7.1.	Proizvodnja i toksikologija žive.....	13
2.7.2.	Živa kao sastavni dio plastike.....	14
2.8.	TEHNIKE ODREĐIVANJA ŽIVE.....	15
2.8.1.	Masena spektrometrija uz induktivno-spregnutu plazmu (ICP-MS).....	15
2.8.2.	Ostale tehnike određivanja teških metala	19
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	21
3.1.	ZADATAK	22
3.2.	METODE	22
3.2.1.	Prikupljanje uzoraka	22
3.2.2.	Priprema uzoraka.....	22
3.2.3.	Mikrovalna digestija.....	23
3.2.4.	Određivanje žive induktivno spregnutom plazmom s masenim spektrometrom (ICP – MS).....	24

3.2.5. Anketiranje donatora.....	25
3.2.6. Izračun unosa žive konzumacijom jaja.....	26
3.2.7. Statistička obrada.....	26
4. REZULTATI I RASPRAVA	27
4.1. REZULTATI ANALIZE ŽIVE U PRIKUPLJENIM UZORCIMA.....	28
4.2. UTJECAJ OKOLIŠNIH FAKTORA NA RAZINE ŽIVE U UZORCIMA KOKOŠJIH JAJA	36
4.3. TJEDNI UNOS ŽIVE KONZUMACIJOM JAJA	37
5. ZAKLJUČCI.....	41
6. LITERATURA.....	43

1. UVOD

Jaja su važan prehrambeni proizvod s cjelovitim i bogatim nutritivnim sastavom te su konzumirana diljem svijeta. Globalna proizvodnja jaja bilježi stalan porast posljednjih nekoliko desetljeća. Ovaj rast potaknut je rastućom potražnjom za jajima kao pristupačnim izvorom proteina u prehrani. Međutim, globalizacija, koja je ubrzala industrijalizaciju i rast proizvodnje, sa sobom donosi rastući problem onečišćenja okoliša. Povećan broj raznih proizvodnih postrojenja, osim što predstavlja problem ispuštanja otpadnih voda i ispušnih plinova koji zagađuju tlo, vodu i zrak, za sobom vuče problem sve većeg gomilanja smeća i otpada. Zbog neadekvatne infrastrukture i nedovoljnih kapaciteta prihvatnih objekata za skladištenje otpada dolazi do havarija poput požara i odbacivanja otpada u okoliš (Khalid, 2015; Réhault-Godbert i sur., 2019; Szöllösi, 2021).

Posljedice ovakvih ekoloških problema posebno su izražene u kontekstu sigurnosti i zdravstvene ispravnosti hrane. Farme za uzgoj kokoši nesilica ili domaćinstva na kojima se proizvode jaja za osobnu upotrebu smještene u blizini zagađenih područja izložene su riziku kontaminacije jaja raznim štetnim tvarima poput dioksina, teških metala i pesticida. Kokoši nesilice iz slobodnog uzgoja slobodno se kreću na otvorenom i imaju povećan kontakt s okolišnim čimbenicima, potencijalno kontaminiranom vodom, tlom i zrakom, što povećava vjerojatnost kontaminacije jaja i predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje konzumacijom istih (Holt i sur., 2011; Tauson, 2005).

Živa je vrlo opasan kontaminant koji se može pronaći u kokošjim jajima. U okolišu se pronalazi kao elementarna živa, jednovalentni ili dvovalentni anorganski kation te u obliku organskih spojeva od kojih je najistaknutija metil-živa. Kokoši su živi izložene putem zraka, vode, sedimenta i hrane, te u njihovom tkivu može doći do akumulacije. Posebno je opasna za osjetljive skupine poput trudnica, novorođenčadi i nerođene djece, a može uzrokovati ozbiljne neurološke poremećaje, kardiovaskularne bolesti, oštećenje bubrega, respiratornog sustava i imunološkog sustava (EFSA, 2012).

U kontekstu sve češćih ekoloških incidenata, poput nedavnog požara u lokalnoj tvornici za recikliranje plastike, cilj ovog diplomskog rada je utvrditi koncentracije žive u kokošjim jajima podrijetlom iz domaćinstava izloženih dimu uslijed požara u tvornici za recikliranje plastike te procijeniti izloženost živi konzumacijom istih.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. KEMIJSKI I NUTRITIVNI PROFIL JAJA

Kemijski sastav kokošnjih jaja uključuje vodu, proteine, lipide, ugljikohidrate, vitamine, minerale i druge biološki aktivne spojeve. Bjelanjak prosječno čini 64 % jaja i sadrži oko 12 % suhe tvari. Suha tvar bjelanjka se pretežito sastoji od proteina, a manje minerala i šećera, dok su masti prisutne samo u tragovima. Proteinski profil bjelanjka sastoji se od ovalbumina, koji je najzastupljeniji protein, ovotransferina i ovomukoida. Ostali proteini bjelanjka su ovomucin, lizozim, avidin, cistatin i ovoinhibitor. Ovalbumin je kompletan protein koji sadrži sve esencijalne aminokiseline. Za razliku od bjelanjka, žumanjak obiluje mastima, vitaminima i mineralima. Masti se u žumanjku nalaze u obliku lipoproteina. Žumanjak je bogat izvor esencijalnih masnih kiselina. Vitamini prisutni u žumanjku su A, D, E, K, B1, B2, B5, B6, B9 i B12. Bjelanjak sadrži značajnu količinu vitamina B1, B6, B8, B9 i B12. Jaja su također bogata mineralima poput kalcija, kalija i natrija te sadrže elemente u tragovima poput bakra, željeza, magnezija, mangana, seleno i cinka (Li-Chan i Kim, 2007; Parkinson, 1966).

Kokošja jaja su svestrana i nutritivno bogata namirnica. Izvor su esencijalnih hranjivih tvari. Osim što obiluju proteinima, također su prepuna vitaminima, mineralima i drugih hranjivih tvari koje su ključne za održavanje zdravog života. Sadrže otprilike 6,5 grama proteina po jajetu. Ovi proteini sastoje se od histidina, izoleucina, lizina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofana i valina. To su esencijalne aminokiseline koje su neophodne za proizvodnju enzima, nekih hormona, receptora hormona, komponenata DNA i drugih funkcionalnih komponenata potrebnih za regulaciju metaboličkih funkcija te za rast i održavanje tkiva. Termički obrađena jaja imaju visoko iskorištenje tijekom probave. Prethodna termička obrada uzrokuje denaturaciju strukturnih proteina čime se olakšava hidrolitičko djelovanje probavnih enzima (Khalid, 2015; Réhault-Godbert i sur., 2019).

Jaja obiluju polinezasićenim masnim kiselinama poput alfa-linolenske (n-3) i linolne kiseline (n-6). Linolna kiselina metabolizira se u arahidonsku kiselinu, a alfa-linolenska u eikosapentaensku (EPA) i dokosaheksaensku (DHA) kiselinu koje su dio fosfolipida odgovornih za fleksibilnost staničnih stijenki i regulaciju razine plazmatskog kolesterola. Konzumacija namirnica s visokim udjelom EPA i DHA povezana je sa smanjenjem rizika nastajanja kardiovaskularnih bolesti, bolesti centralnog živčanog sustava te upala i infekcija imunološkog sustava.

Nadalje, od vitamina, pored svih prethodno nabrojanih, valja istaknuti visoke razine vitamina B2 i B12 te umjerene razine vitamina B5, B9, A i D. Konzumacijom dva jaja dnevno čovjek

zadovolji od 10 % do 30 % potrebnog dnevnog unosa vitamina. Uz vitamine treba spomenuti kako su jaja značajan izvor kolina. Uz kolin iz goveđe jetre, jaja su drugi najbogatiji izvor ovog esencijalnog nutrijenta koji ima važnu ulogu u neurotransmisiji, razvoju mozga i očuvanju zdravlja kostiju (Khalid, 2015; Mine, 2007; Réhault-Godbert i sur., 2019; Seuss-Baum i sur., 2011).

Devedesetih godina dvadesetog stoljeća American Heart Association (AHA) aktivno je poticala ljude da ograniče unos jaja na manje od tri jaja tjedno tvrdeći da visok unos kolesterola, koji se prirodno nalazi u žumanjku, može povećati rizik od kardiovaskularnih bolesti. Međutim, kasnija istraživanja opovrgnula su te tvrdnje, a potrošačima je preporučena veći tjedni unos jaja zbog njihove visoke nutritivne vrijednosti. Kolesterol iz hrane ima važne funkcionalne uloge. On je dio staničnih membrana, sudjeluje u sintezi žučnih kiselina u jetri, vitamina D u koži, bitan je za apsorpciju vitamina topivih u mastima te se koristi kao prekursor za proizvodnju hormona poput estrogena, progesterona, testosterona i kortizola (Réhault-Godbert i sur., 2019).

2.2. GLOBALNA PROIZVODNJA I POTROŠNJA JAJA

U posljednjih dvadeset godina proizvodnja kokošnjih jaja na globalnoj razini povećala se za otprilike 60 % s 46,6 milijuna tona na 76,8 milijuna tona. Prosječni godišnji rast proizvodnje iznosi 3 %. Najveći proizvođač kokošnjih jaja je Kina čija proizvodnja čini 35 % udjela u globalnoj proizvodnji. SAD, nakon Kine, je drugi proizvođač s globalnim udjelom od 8,4 %, zatim slijedi Indija sa 6,8 % globalnog udjela (Szöllősi, 2021).

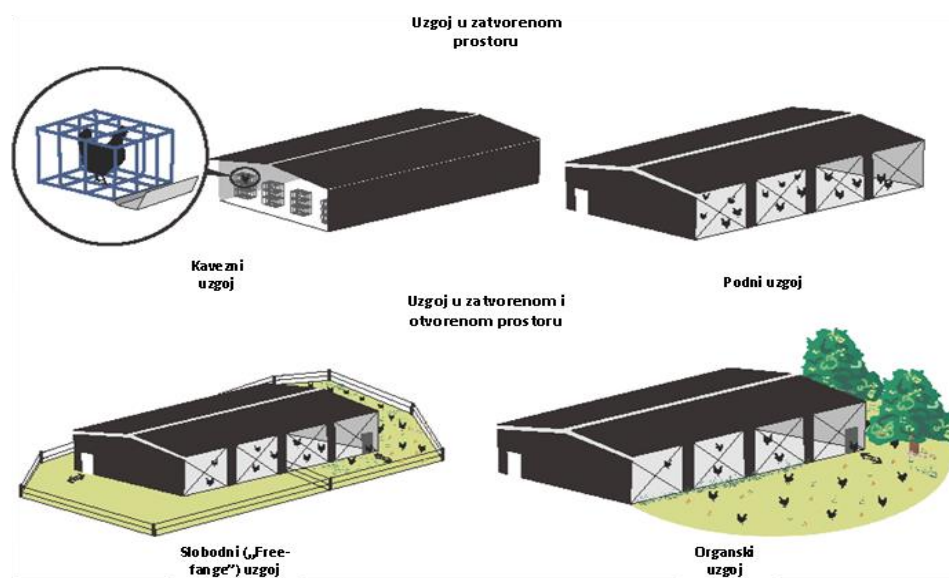
Jaja proizvedena u zemljama EU činila su 9,3 % globalne proizvodnje u 2018. godini. U 2012. godini EU je u potpunosti zabranila korištenje tradicionalnih kaveza, što je uzrokovalo smanjenu proizvodnjom jaja i kokošnjeg mesa. Međutim, u narednim godinama EU se suočava s proizvodnjom koja premašuje potrošnju. Proizvodnja jaja za konzumaciju u zemljama EU povećala se sa 6,7 milijuna tona u 2008. na 7,1 milijuna tona u 2019., što predstavlja rast od 5,4 %. Očekuje se daljnji rast proizvodnje jaja za konzumaciju u EU tijekom sljedećeg desetljeća (Szöllősi, 2021).

Iako sukladno s porastom proizvodnje raste i potrošnja, postoje značajne razlike u EU u pogledu potrošnje jaja. Godine 2017. najveći dio jaja konzumiran je u Danskoj (15,79 kg po osobi godišnje) i Luksemburgu (15,58 kg po osobi godišnje), dok je u Poljskoj konzumacija otprilike dvostruko manja (6,77 kg po osobi godišnje), kao i u Hrvatskoj (8,06 kg po osobi godišnje), dok se u Mađarskoj u istom razdoblju konzumiralo oko 13,61 kg jaja po osobi godišnje, što je

u rangu s prosječnom potrošnjom jaja u EU. Godišnja potrošnja jaja većine država članica EU doseže ili premašuje svjetski prosjek (Szöllösi, 2021).

2.3. NAČINI UZGOJA KOKOŠI NESILICA

Širenjem industrijalizacije u prošlom stoljeću popularizirao se uzgoj kokoši nesilica u kavezima. Takav način uzgoja drastično je povećao proizvodnju jaja. Zbog mogućnosti inkorporacije sustava automatskog hranjenja, sustava za uklanjanje gnoja i traka za prikupljanje jaja znatno su se smanjili troškovi rada. Također, poljoprivrednici su u kavezima mogli držati kokoši gusto naseljene, što je osiguravalo visok prinos jaja (Lewko i Gornowicz, 2011; Tauson, 2005). Međutim, različiti sustavi smještaja kokoši nesilica postali su predmet rasprava. Ključno je pitanje kako ti sustavi utječu na zdravlje i prirodno ponašanje kokoši nesilica. Različiti sustavi uzgoja prikazani su **Slikom 1** (Gerzilov i sur., 2012; Lewko i Gornowicz, 2011; Tauson, 2005). Ovi sustavi imaju direktan i indirektan utjecaj na ponašanje, produktivnost i zdravlje kokoši nesilica, što na kraju utječe i na kvalitetu jaja koje proizvode (Lewko i Gornowicz, 2011).



Slika 1 Načini uzgoja kokoši nesilica (Preuzeto i prilagođeno iz Pires i sur., 2021)

2.3.1. Uzgoj kokoši nesilica u konvencionalnim kavezima i obogaćenim kavezima

Konvencionalni kavezi pružaju mnoge prednosti s aspekta upravljanja, dobrobiti i zdravlja kokoši nesilica. Glavni aspekti upravljanja su niski proizvodni troškovi uz visok stupanj mehanizacije te dobri proizvodni rezultati i kvaliteta jaja. Što se tiče dobrobiti nesilica, koristi

su povezane sa zdravljem i smrtnošću. Kanibalizam nije uobičajen zbog stabilnog društvenog poretka u maloj grupi ptica, a higijenski uvjeti su obično izvrsni s malo ili bez prisutnosti parazita. Potreba za medicinskim tretmanima je mala, a smrtnost je niska. Lakši su uvjeti kontrole prašine i amonijaka u zraku, što je bitno kako za nesilice tako i za zdravlje radnika (Holt i sur., 2011; Tauson, 2005). Međutim, držanje kokoši nesilica u kavezima ima za posljedicu nedovoljno dostupnog prostora, krhkost kostiju te ograničava prirodno ponašanje nesilica poput gniježdenja, sjedenja na prečki ili kljucanja i kupanja u stelji. Potaknuta time, EU Direktiva 1999/74/EC zabranjuje korištenje konvencionalnih kaveza od 1. siječnja 2012. godine. Prema Direktivi, sustavi koji se smiju koristiti su obogaćeni kavezi i alternativni sustavi u kojima se kokoši nesilice mogu slobodno kretati, a gustoća naseljenosti ne smije biti veća od devet kokoši po kvadratnome metru (Tauson, 2005; Vijeće Europske unije, 1999).

2.3.2. Podni uzgoj

Podni uzgoj se istaknuo kao jedna od prvih alternativa kaveznom uzgoju. Kokoši nesilice uzgajaju se na rešetkastom podu, što im omogućuje slobodnije kretanje i prirodnije ponašanje te razvoj čvrstog skeleta. Istraživanja su pokazala da ovaj sustav može rezultirati većom smrtnošću i nižim stopama proizvodnje u odnosu na konvencionalne kaveze (Tauson, 2005).

2.3.3. Slobodni i organski uzgoj

U slobodnom (“free-range”) uzgoju ptice imaju pristup vanjskom prostoru, što im omogućuje prirodno ponašanje poput traženja hrane, čeprkanja po tlu, kretanja i sunčanja, a trećina vanjskog prostora mora biti prekrivena steljom. Unutar zatvorenog prostora nesilice imaju pristup stelji i gnijezdima gdje mogu polagati jaja. Vanjski prostor često je opremljen zaštitom od sunca. Vegetacija koje se tamo nalazi ima ulogu dodatnog izvora hrane i skloništa (Tauson, 2005).

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 vode i tla te zbog mogućih interakcija nesilica s raznim vektorima. Veća je tendencija razvoja kanibalizma u velikim jatima na otvorenom, nego u manjim skupinama nastanjenim u kavezu, te je stoga veća smrtnost (Holt i sur., 2011; Küçükyılmaz i sur., 2012; Tauson, 2005).

2.4. UTJECAJ NAČINA UZGOJA KOKOŠI NESILICA NA KVALITETU JAJA

Utjecaj proizvodnih sustava na kvalitetu jaja kontroverzna je tema oko koje se znanstvenici još uvijek nisu usuglasili. Sustav uzgoja definitivno utječe na kvalitetu života kokoši nesilica, ali na kvalitetu samih jaja utječu mnogi faktori. Pored sustava uzgoja, na kvalitetu jaja utječu vrsta, starost, prehrana, bolesti kokoši nesilica te vrijeme, temperatura i vlaga skladištenja (Pires i sur., 2021; Racevičiūtė-Stupelienė i sur., 2023).

2.4.1. Utjecaj na fizikalne parametre

Razna istraživanja izvještavaju o utjecaju proizvodnih sustava na parametre kvalitete jaja poput debljine, čvrstoće, boje, prisutnosti pukotina i oštećenja ljuske jaja, mase jajeta, količine i kvalitete žumanjka i bjelanjka, njihovog omjera i dr. Prema literaturi, bolja kvaliteta ljuske jajeta pronađena je kod jaja iz konvencionalnog uzgoja u odnosu na jaja iz alternativnih uzgoja. Jačina ljuske jajeta ima važnu ulogu u industriji jer je manja vjerojatnost pucanja jajeta i ekonomskih gubitaka. S druge strane, ljuska jajeta djeluje kao prva prepreka zaštite unutarnjeg sadržaja od mikroorganizama te su jaja sa slabijom ljuskom podložnija takvoj kontaminaciji. Također, masa jaja iz kaveznog uzgoja veća je od jaja iz alternativnih sustava proizvodnje te ima veći udio bjelanjka i žumanjka (Gerzilov i sur., 2012; Lewko i Gornowicz, 2011; Pires i sur., 2021; Racevičiūtė-Stupelienė i sur., 2023).

2.4.2. Utjecaj na kemijski sastav

Racevičiūtė-Stupelienė i sur. (2023) u svojem istraživanju utjecaja proizvodnih sustava na kvalitetu jaja nisu primijetile značajne razlike između kemijske strukture jaja proizvedenih u

kavezima i sustavima slobodnog kretanja. U pogledu aminokiselinskog sastava, dominantne su bile palmitinska (C16:0), elaidinska (C18:1 n-9) i linolna (C18:2 n-6) kiselina. Na početku ispitivanja jaja iz obogaćenih kaveza sadržavala su više heptadekanske (C17:0), arahidonske (C20:4 n-6) i eikosapentaenske (C20:5 n-3) kiseline u odnosu na jaja iz podnog uzgoja. Međutim, primijetili su da su jaja iz podnog uzgoja bila bogatija nervonskom kiselinom (C24:1). Udio zasićenih masnih kiselina bio je veći od 35 % u jajima iz svih proizvodnih sustava s iznimkom na početku istraživanja kada su jaja iz podnog uzgoja sadržavale više zasićenih masnih kiselina. Na kraju ispitivanja jaja iz podnog uzgoja imala su veći sadržaj polinezasićenih masnih kiselina u odnosu na jaja dobivena iz kaveznog uzgoja. Također u svojem istraživanju Racevičiūtė-Stupelienė i sur. (2023) promatrali su omjer n-3 i n-6 masnih kiselina u žumanjcima jaja te izvijestili kako različiti proizvodni sustavi nisu imali utjecaja na njihov sadržaj u žumanjcima, uz nekoliko iznimaka. Na početku ispitnog perioda uočene su više razine n-3 masnih kiselina u žumanjcima jaja iz kaveznog uzgoja, dok je sredinom ispitivanja uočen veći omjer n-6/n-3 masnih kiselina u jajima iz podnog uzgoja u usporedbi s jajima iz kaveznog uzgoja. Razlike u razinama kolesterola u žumanjcima jaja iz različitih vrsta uzgoja nisu zabilježene.

Küçükyılmaz i sur. (2012) uspoređivali su utjecaj organskog i kaveznog uzgoja na kvalitetu jaja. U pogledu aminokiselinskog sastava uočili su niži udio n-3 masnih kiselina u jajima kokoši nesilica iz organskog uzgoja, te veći omjer n-6/n-3 masnih kiselina. Međutim, istaknuli su važnost uzimanja u obzir genotipa ptica koji može utjecati na sam kemijski sastav jaja.

2.5. KONTAMINANTI U JAJIMA I IZVORI KONTAMINACIJE

Najčešći izvori kontaminacije uključuju antropogene aktivnosti. Industrijske aktivnosti, ispuštanje otpadnih voda, nakupljanje otpada na deponijima, ali i prirodne aktivnosti poput vulkanskih erupcija, doprinose kontaminaciji okoliša. Posljedica ovakvih aktivnosti je akumulacija kontaminanata poput dioksina i teških metala u vodi, tlu te prijenos istih zrakom. Kontaminacija prehrambenih proizvoda, poput jaja, nastaje kada su životinje nastanjene u zagađenim područjima ili konzumiraju zagađenu hranu i vodu. Kontaminanti se zatim akumuliraju u različitim tkivima životinja, uključujući jaja, te se kroz hranidbeni lanac prenose do ljudi. Izloženost ovim onečišćivačima može imati širok raspon ozbiljnih štetnih učinaka na zdravlje ljudi, uključujući neurološke poremećaje, endokrinu disfunkciju te nastanak karcinoma (Abedi i sur., 2023; Pleadin i sur., 2017).

2.5.1. Dioksini

Među najtoksičnije kontaminante pronađeni u jajima spadaju dioksini, tj. poliklorirani dibenzo-p-dioksini (PCDD), poliklorirani dibenzofurani (PCDF) te dioksinima slični poliklorirani bifenili (DL-PCB) (Holt i sur., 2011). Mnogi autori (Bernard i sur., 1999; Holt i sur., 2011; Pajurek i sur., 2019; Van Overmeire i sur., 2006) izvještavaju o visokim koncentracijama ovih kontaminanata u jajima. Svi ovi onečišćivači spadaju pod naziv halogenirani aromatski ugljikovodici te imaju vrlo sličnu kemijsku strukturu. Lipofilni su i imaju nisku topljivost u vodi, lako ulaze u prehrambeni lanac i bioakumuliraju se u masnim tkivima životinja. Dugotrajna izloženost malim dozama ovih kontaminanata potencijalno predstavlja zdravstveni problem te se povezuje s poremećajima endokrinog, imunološkog i reproduktivnog sustava, nastankom raka ili neuroloških poremećaja (Pajurek i sur., 2019).

Dioksini se u okoliš ispuštaju nehotečno, kao nusproizvodi industrijskih procesa, ali i kao rezultat izgaranja u nepovoljnim uvjetima u prisutnosti klora, ugljika, metalnog katalizatora i u odsutnosti kisika. Također, dioksini mogu nastati i kao posljedica prirodnih procesa poput vulkanskih erupcija i šumskih požara. Najznačajniji izvori ovih spojeva su spaljivanje industrijskog i neindustrijskog otpada (komunalnog, kućanskog i industrijskog otpada) te spaljivanje drva i ugljena u kućanskim pećima. Dioksini se mogu pronaći i u otpadnim vodama kao posljedica mikrobne biotransformacije kloriranih fenolnih spojeva, otjecanja s kontaminiranih zemljišta i sl. Tlo i sediment su glavni rezervoari dioksina, pri čemu se adsorbiraju na organski ugljik tla zbog čega tlo ostaje kontaminirano godinama (Piskorska-Pliszczynska i sur., 2018).

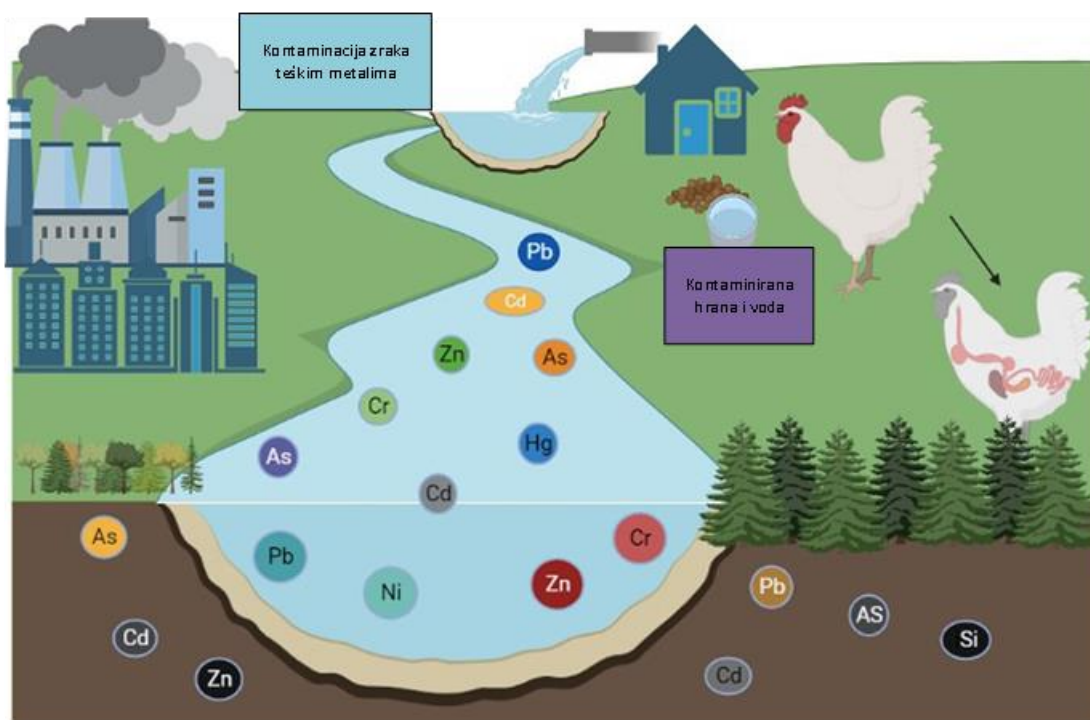
2.5.2. Pesticidi

Uz dioksine, pesticidi su onečišćivači koji također plijene pozornost. Pesticidi se u poljoprivredi koriste za sprječavanje prisustva nametnika ili njihovo uništenje. To su selektivne, biološki aktivne tvari koje ponekad uključuju spojeve žive, arsena i drugih toksičnih elemenata. Preko kontaminiranog okoliša i vode, te preko hrane pesticidi ulaze u hranidbeni lanac kokoši nesilica te se akumuliraju u jajima (Holt i sur., 2011; Pleadin i sur., 2017). Jedan od najznačajnijih pesticida je diklorodifeniltrikloretan (DDT) čiju su prisutnost u jajima zabilježili autori poput Van Overmeire i sur. (2006), Kan i Rooyen (1978) i mnogi drugi. Pesticidi mogu imati imunotoksičan, genotoksičan i neurotoksičan učinak te štetno djelovati na reproduktivni sustav (Pleadin i sur., 2017).

2.5.3. Teški metali

Kontaminacija tla i hrane teškim metalima predstavlja rastući problem. Teški metali učestali su kontaminanti u hrani, a njihovo onečišćenje prisutno je svugdje u svijetu, posebno u područjima industrijskih zona i urbanih sredina (Aljohani, 2023). Životinje apsorbiraju teške metale iz vode, zraka, sedimenta i hrane. Teški metali poput kadmija, olova, nikla i žive, čak i u malim količinama, mogu imati toksične učinke na organizam uključujući neurološke poremećaje te oštećenja bubrega i jetre (Abedi i sur., 2023; Aljohani, 2023; Atamaleki i sur., 2020).

Glavni izvor kontaminacije jaja teškim metalima uključuje zagađen okoliš (blizina industrijskih postrojenja, tvornica i prometnica), kontaminirana hrana za perad i upotreba kontaminiranih gnojiva u poljoprivredi. Uporaba kemijskih gnojiva, gnojiva iz životinjskog otpada i pesticida dodatno doprinosi kontaminaciji. Kokoši nesilice mogu unositi teške metale putem hrane, vode i udisanjem iz zraka. Putevi kontaminacije predloženi su na **Slici 2**. Teški metali apsorbiraju se u organizam peradi te se akumuliraju u različitim tkivima, uključujući jaja. Najčešće pronađeni teški metali u jajima su kadmij i olovo (Aljohani, 2023).



Slika 2 Onečišćenje teškim metalima (Preuzeto i prilagođeno iz Aljohani, 2023)

2.6. UTJECAJ NAČINA UZGOJA KOKOŠI NESILICA NA KONTAMINACIJU JAJA

Način uzgoja kokoši nesilica utječe na sigurnost i zdravstvenu ispravnost jaja. Kao što je već navedeno, 2012. godine u Europskoj uniji na snagu je stupila Direktiva 1999/74/EC koja zabranjuje korištenje konvencionalnih kaveza za uzgoj kokoši nesilica. Alternativni načini uzgoja i novi narativ ohrabruje proizvođače da se usredotoče na dobrobit kokoši nesilica te da im osiguraju što bolje uvjete života radi poticanja prirodnog ponašanja. Jaja iz slobodnog uzgoja potencijalno su kontaminiranija od jaja iz kaveznog uzgoja zbog intenzivnog kontakta kokoši nesilica s okolinom. Također, kontrola zaraza veterinarskim lijekova neophodna je za održavanje zdravlja kokoši nesilica koje se uzgajaju u slobodnom uzgoju te oni dodatno doprinose potencijalnoj kontaminaciji (Aljohani, 2023; Holt i sur., 2011; Vijeće Europske unije, 1999).

Istraživanje provedeno u Kaliforniji na jajima s farme u blizini postrojenja za tretman drva pentaklorfenolom utvrdilo je da su u jajima iz slobodnog uzgoja koncentracije dioksina i do sto puta više nego u jajima iz kaveznog uzgoja (Holt i sur., 2011). Istraživanja u EU pokazuju da jaja iz slobodnog uzgoja imaju veće koncentracije PCDD/F-a i polikloriranih bifenila od onih iz kaveznog uzgoja, a gotovo deset posto jaja iz slobodnog uzgoja premašuje maksimalni dozvoljeni limit PCDD/F-a u jajima. Kontaminacija PCDD/F-ima, osim u urbanim područjima u EU, primijećena je i u ruralnim područjima u kojima je predviđena koncentracija ovih kontaminanata u zemlji manja (Holt i sur., 2011).

Vincevica-Gaile i sur. (2013) u svom su istraživanju kvantitativno odredile jedanaest elemenata u tragovima (Ba, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Rb, Se, Se, V, Zn) u uzorcima kokošnjih jaja iz organskog uzgoja, jaja s domaćih farmi i velikih peradarskih farmi. Najveće vrijednosti elemenata u tragovima pronađene su u jajima s organskih farmi, dok su jaja s domaćih i velikih peradarskih farmi imala niži sadržaj istih. Rezultati ukazuju da se veći sadržaj elemenata u tragovima u jajima s organskih farmi može povezati s utjecajem okolišnih faktora, to uključuje i potencijalne okolišne kontaminante poput Cu, Pb i Zn, dok su utjecaj hrane i veterinarskih lijekova isključeni zbog strogih pravila i ograničenja u organskom načinu uzgoja.

Van Overmeire i sur. (2006), potaknuti zabrinutošću zbog povišenih razina dioksina u jajima iz slobodnog uzgoja kokoši nesilica koje su držali privatni vlasnici na sjeveru Antwerpena, proveli su istraživanje koje je uključivalo analizu PCDD/F-a, polikloriranih bifenila, organoklorinih pesticida i teških metala u jajima iz slobodnog uzgoja privatnih vlasnika i komercijalnih farmi.

Više koncentracije olova, talija, žive i kobalta zabilježene su u jajima iz privatne proizvodnje u usporedbi s jajima s komercijalnih farmi. U jajima iz privatne proizvodnje također su pronađene veće razine dioksina i polikloriranih bifenila. U jajima privatnih vlasnika, utvrdili su da je medijan ukupne koncentracije sedam markera polikloriranih bifenila 32,30 ng/g masti, pri čemu se razine kreću od 0 do 351 ng/g masti. U jajima s komercijalnih farmi utvrdili su da je medijan polikloriranih bifenila 0, a razine se kreću od 0 do 63,20 ng/g masti. Marker polikloriranih bifenila nisu pronađeni u 8 od 22 uzorka jaja privatnih proizvođača, dok u 95 % uzoraka jaja s komercijalnih farmi nije otkriven niti jedan marker polikloriranih bifenila. Znatno veće koncentracije organoklorinih pesticida pronađene su u jajima iz privatne proizvodnje nego u jajima s komercijalnih farmi. Istraživanje pod nazivom CONTEGG (Overmeire i sur., 2009) analiziralo je kontaminaciju jaja prikupljenih od privatnih proizvođača. Analizom domaćih jaja utvrđeno je da vrijednosti kontaminanata, posebno dioksina, premašuju maksimalne razine propisane zakonodavstvom za hranu koja se stavlja na tržište. U jajima su također izmjerene visoke razine polikloriranih bifenila, DDT-a i olova.

2.7. ŽIVA U PLASTICI – RIZICI ZA OKOLIŠ I SIGURNOST HRANE

2.7.1. Proizvodnja i toksikologija žive

Svake godine proizvede se oko 10000 tona žive. Najveću primjenu živa ima u proizvodnji elektroda, zatim u elektroindustriji, proizvodnji klora i alkalnih kemikalija te u industriji boja, agrokemikalija i sl. Živa se također koristi kao katalizator u proizvodnji plastike, papira te u proizvodnji germicida i pesticida (EFSA, 2012; Shibamoto i sur., 2012).

U okolišu se nalazi u obliku elementarne žive, jednovalentnog ili dvovalentnog anorganskog kationa ili u obliku organskog spoja, npr. metil-žive, etil-žive i fenil-žive (EFSA, 2012). Anorganska živa, u odnosu na metil živu, manje je toksična te ima manju sposobnost apsorpcije i brže se izlučuje putem mokraćne. Najveće količine anorganske žive detektirane su u bubrezima. Elementarna živa najčešće se unosi u tijelo putem inhalacije, ingestije, a najrjeđe dodiranjem s kožom. Pri ulasku u tijelo veže se za sumpor koji se nalazi na aminokiselinama te krvotokom dopire do mozga ili prijanja uz membrane eritrocita putem kojih dolazi do mozga fetusa. Nakuplja se u raznim organima poput jetre, srca, pluća i gušterače te može uzrokovati njihovu disfunkciju. Poput elementarne žive, dvovalentni živin kation veže se za aminokiseline koje sadrže sumpor. Nakuplja se u plodovoj vodi, fetalnim tkivima i posteljici. U tijelu se distribuira pomoću transportera za cistein. U bubrezima se pohranjuje u proksimalnim tubulima vezan za

metalotionein. Također se pohranjuje u epitelnim stanicama, koroidnom spletu, testisima te jetri. Najčešće se eliminira putem urina i izmeta. Metil-živa glavni je izvor izloženosti živi te se uglavnom nalazi u kontaminiranoj hrani. Oblici metil-žive posebno su opasni za ljude zbog svoje dugotrajne toksičnosti i mogućnosti prolaska kroz bilo koju staničnu barijeru. Metil-živa najčešće se nalazi u živčanom sustavu, koštanoj srži, bubrezima, mozgu, posteljici i fetusu. U okolišu se najčešće nalaze metil-živa i dimetil-živa, a nastaju kao rezultat metilacije dvovalentnog živinog kationa mikroorganizmima u tlu i vodi, uslijed čega dolazi do bioakumulacije u hranidbenom lancu. Metil-živa ima sposobnost korištenja transportera na staničnoj membrani, poput transportera za cistein, čime se olakšava njezina distribucija i koncentracija u različitim organima i tkivima. Mogućnost prolaska metil-žive kroz krvno-moždanu barijeru ključni je faktor njezine visoke neurotoksičnosti. Osim u mozgu, akumulira se u ostalim tkivima koja su bogata lipidima i aminokiselinama poput jetre, bubrega, mišića i kostiju. Metil-živa uzrokuje ozbiljne neurološke posljedice poput gubitka vida, sluha i motoričkih funkcija. Može uzrokovati neurokognitivne poremećaje, a kod fetusa i novorođenčadi izloženost živi može uzrokovati teško oštećenje mozga i probleme u mentalnom razvoju (EFSA, 2012; Reilly, 1980; Shibamoto i sur., 2012; Wu i sur., 2024).

Živa se u okoliš oslobađa iz prirodnih i antropogenih izvora. Prirodni izvori uključuju isparavanje iz zemljine kore, emisije vulkana i isparavanje iz vode, dok antropogeni izvori poput sagorijevanja ugljena, rudarstva, ispuštanja otpadnih industrijskih voda i ostalih industrijskih aktivnosti doprinose ukupnom oslobađanju žive u okoliš (EFSA, 2012). Kronična izloženost malim dozama žive može uzrokovati neurološke probleme, probleme s probavom, oštećenje bubrega i jetre, probleme s reproduktivnim sustavom te imunološke i kardiovaskularne poremećaje (EFSA, 2012).

2.7.2. Živa kao sastavni dio plastike

Porast globalne potrošnje plastike rezultira sve većim opterećenjem postrojenja za reciklažu te nameće problem nagomilavanja plastike. Ovaj nagli porast stvara izazove za postojeću infrastrukturu za reciklažu koja je nerijetko preopterećena i nespremna za obradu velikih količina plastike. Nedostatak adekvatne infrastrukture može rezultirati povećavanjem deponija plastike. Zbog nepravilnog odlaganja plastike učestale su i havarije poput požara. Plastični otpad postaje izvor zapaljivosti, a požari uzrokovani izgaranjem plastike teško se kontroliraju. Ovi požari u okoliš emitiraju toksične dimove koji ugrožavaju zdravlje ljudi i onečišćuju okoliš. Osim dioksina koji nastaju izgaranjem, u sastavu plastike mogu se pronaći teški metali koji se

koriste kao funkcionalni aditivi i katalizatori u proizvodnji plastike. Funkcionalni aditivi na bazi metala u obliku topljivih i netopljivih organskih spojeva, organskih tekućina ili soli primarni su izvor teških metala u plastici. Koncentracije teških metala u krajnjem proizvodu ovise o vrsti polimera, prirodni aditiva i željenom učinku. Oni djeluju kao biocidi, antimikrobna sredstva, podmazivači i kao sredstva za suzbijanje plamena. Povećavaju krutost i tvrdoću plastike i često smanjuju troškove proizvodnje plastike jer su jeftiniji od osnovnog polimernog materijala. Organometalni oblici arsena (As), žive (Hg) i selena (Se) prisutni u plastici uključuju 10,10'-oksibisfenoksazin te fenil-živine spojeve koji se koriste u proizvodnji poliuretana, od kojih se najčešće u Europi koristio fenil-živa neodekanoat (Turner i Filella, 2021).

2.8. TEHNIKE ODREĐIVANJA ŽIVE

Razvoj metoda za mjerenje teških metala u hrani seže daleko u povijest. 1950-ih godina pojavili su se prvi uređaji za spektroskopsku analizu teških metala, kao što su atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS) i atomska emisijska spektroskopija (AES). Ovi uređaji omogućili su precizna i brža mjerenja, no imali su i neke mane poput nemogućnosti mjerenja više analita istodobno, bili su skupi i zahtijevali stručno osoblje za rad. 1960-ih godina uvođenjem induktivno spregnute plazme (ICP) otvorile su se nove mogućnosti za analizu teških metala. Spajanjem ICP-a na maseni spektrometar omogućeno je mjerenje teških metala s izuzetno visokom osjetljivošću i preciznošću. Osim toga, maseni spektrometri imaju sposobnost odvojiti i kvantificirati više izotopa istog elementa (Yeung i sur., 2017).

2.8.1. Masena spektrometrija uz induktivno-spregnutu plazmu (ICP-MS)

Masena spektrometrija uz induktivno spregnutu plazmu analitička je metoda za određivanje koncentracija elemenata u različitim uzorcima. Princip rada ove metode je korištenje visokotemperaturne plazme kako bi se generirali pozitivni ioni. Ionizirani uzorak ulazi u analizator masa koji se sastoji od kvadrupolnog masenog filtra gdje se ioni razdvajaju prema omjeru mase i naboja. Naposljetku, ioni dolaze do detektora u kojem se generira električni signal proporcionalan broju iona te se omogućuje njihova detekcija i kvantifikacija (Thomas, 2002; Wilschefski i Baxter, 2019; Yeung i sur., 2017).

2.8.1.1. Priprema uzorka

ICP-MS tehnikom se uglavnom analiziraju tekući uzorci, stoga se uzorci u krutom stanju prvo moraju prethodno obraditi. Uzorci se razrijede ili podvrgavaju mikrovalnoj digestiji. Za obradu

uzoraka koriste se kiseline poput dušične i klorovodične ili lužine poput amonijevog hidroksida i tetrametilamonijevog hidroksida (Wilschefski i Baxter, 2019).

2.8.1.2. Sustav za uvođenje uzorka

Nakon što se uzorak prethodno obradi, spreman je za analizu. Uzorak se u tekućem stanju uvodi u sustav za uvođenje uzorka čija je glavna funkcija generirati fini aerosol otopine uzorka. Uzorak se pomoću peristaltičke pumpe pumpa u raspršivač. Peristaltička pumpa je pumpa s mnogo malih valjaka koji se okreću konstantnom brzinom. Tlak u peristaltičkoj pumpi je također konstantan. Prednost ove pumpe je konstantan protok uzorka kroz cijev do raspršivača neovisno o razlici u viskoznosti standarda, uzorka ili slijepa probe. Uzorak ulazi u raspršivač te se pneumatskim djelovanjem protoka plina razbija u fini aerosol. Fini aerosol zatim dolazi u komoru za raspršivanje čija je glavna funkcija odvojiti sitne kapljice aerosola od krupnih i usmjeriti ih prema injektoru uzorka. Plazma nije sposobna disocirati velike kapljice pa ih je potrebno izdvojiti. Najčešće se koriste dvostruke komore za raspršivanje. Aerosol izlazi iz raspršivača te se usmjerava u središnju cijev koja prolazi cijelom duljinom komore. Velike kapljice ($>10\ \mu\text{m}$ promjera) padaju zbog gravitacije i izlaze kroz odvodnu cijev komore za raspršivanje, a male kapljice prolaze između vanjske stijenke i središnje cijevi, izlaze iz komore za raspršivanje i transportiraju se do injektora uzorka (Thomas, 2002).

2.8.1.3. Sustav za induktivno ioniziranje uzorka

Komponente koje se koriste za generiranje induktivno spregnute plazme su baklja, radiofrekvencijska zavojnica (RF) i RF napajanje. Baklja se sastoji od tri koncentrične kvarcne cijevi. Argon protječe kroz sve tri cijevi, pri čemu u svakoj ima različitu ulogu. Središnja cijev naziva se injektor. Kroz nju prolazi aerosol uzorka u protoku argona koji isporučuje uzorak u plazmu. Koncentrično s injektorom je cijev kroz koju struji argon pod nazivom pomoćni plin. Pomoćni plin formira plazmu. U vanjskoj cijevi tok argona služi kao medij za hlađenje kako ne bi došlo do otapanja cijevi. Na kraju baklje omotana je zavojnica, najčešće bakrena, koja je povezana s generatorom radiofrekvencije. Kada se RF snaga primjeni na optočni navoj, izmjenična struja oscilira unutar navoja i inducira intenzivno elektromagnetsko polje u baklji. Prolaskom argona kroz baklju primjenjuje se visokonaponsko pražnjenje koje ionizira argonove atome te nastaju ioni i slobodni elektroni. Slobodni elektroni se pod utjecajem elektromagnetskog polja ubrzavaju te sudaraju s drugim atomima argona koji se u slučaju dovoljno velikog prijenosa energije ioniziraju. Kao rezultat ovih reakcija formira se ICP plazma

koje je izuzetno vruća (do 10000 K), ionizirana i reaktivna (Thomas, 2002; Wilschefski i Baxter, 2019).

2.8.1.4. Ionizacija uzorka

Nakon raspršivanja, uzorak u obliku aerosola ulazi u injektor u kojem ga struja argona prenosi do plazme. Uzorci se u različitim zonama plazme suše, isparavaju, atomiziraju i ioniziraju. Ionizacija se postiže sudarima slobodnih elektrona argona i atoma u osnovnom stanju. Ioni napuštaju plazmu i usmjeravaju se prema sučelju (Thomas, 2002).

2.8.1.5. Sučelje

Ionizirani uzorak iz baklje dolazi do dva metalna stošca (sučelja) čija je uloga učinkovito prenijeti ione iz plazme koja je na atmosferskom tlaku u područje analizatora masenog spektrometra koji je pod tlakom 0,1 – 13,0 mPa. Tlak se u području sučelja održava pomoću vakuum pumpe na približno 150 – 300 Pa (Wilschefski i Baxter, 2019). Ioni generirani u plazmi prolaze kroz prvi stožac, nazvan uzorkovni stožac, koji ima maleni otvor promjera približno 1 mm. Zatim odlaze do separacijskog stošca koji ima otvor približno 0,4 mm. Kućište sučelja hlađeno je vodom kako bi se smanjio utjecaj visokotemperaturne plazme na stošce. Nakon izlaska iz separacijskog stošca ioni ulaze u glavnu vakuumsku komoru koja se održava pod visokim podtlakom ($\sim 7 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}$ Pa) (Thomas, 2002).

2.8.1.6. Ionsko fokusiranje

Sustav ionskog fokusiranja koristi elektrostatske leće koje se nalaze odmah iza separacijskog stošca i ispred analizatora masa. Svrha ovih leća je osigurati da samo željeni ioni stignu do analizatora masa, te ukloniti nepoželjne fotone, neutralne čestice i druge ometajuće elemente (Thomas, 2002; Wilschefski i Baxter, 2019).

Jedna od ključnih uloga ionskog fokusiranja je sprječavanje fotona i neutralnih čestica da dosegnu analizator masa. Fotoni i neutralne čestice uzrokuju šum i nestabilnost signala ako stignu do detektora. Elektrostatske leće unutar sustava ionskog fokusiranja postavljaju fizičke barijere koje blokiraju prolaz fotonima i neutralnim česticama. Tako smanjuju šumove i poboljšavaju kvalitetu signala, što rezultira točnijim i pouzdanijim rezultatima analize (Thomas, 2002; Wilschefski i Baxter, 2019).

Nakon prolaska kroz separacijski stožac ioni ulaze u područje s nižim tlakom. To uzrokuje naglo širenje ionskog snopa, a elektrostatske leće kontroliraju širenje i usmjeravaju ionski snop prema analizatoru masa kako bi se osiguralo da što veći broj iona stigne do njega. Ovaj proces

igra veliku ulogu u osiguravanju visoke osjetljivosti i preciznosti metode (Thomas, 2002; Wilschefski i Baxter, 2019).

Sustav elektrostatskih leća pomoću elektrostatskog upravljanja putem napona na lećama osigurava da željeni ioni, bez obzira na njihovu masu, budu pravilno usmjereni prema analizatoru masa. Nakon ionizacije, uzorak iz područja atmosferskog tlaka dolazi u područje sniženog tlaka u sučelju (150 – 300 Pa), što uzrokuje naglo proširenje snopa. U području nižeg tlaka smanjeni su sudari između čestica, što omogućuje slobodnije kretanje čestica. Ioni manje mase imaju manju inerciju te više divergiraju i lakše mijenjaju smjer kretanja u odnosu na teže ione. Dakle, teži ioni zadržavaju smjer kretanja, dok lakši ioni divergiraju. Pozitivno nabijeni ioni bit će privučeni prema elektrodi s negativnim naponom. Iako električno polje djeluje na sve ione u snopu, lakši ioni će brže reagirati i promijeniti smjer kretanja te se vratiti u središte ionskog snopa (Thomas, 2002).

2.8.1.7. Analizator masa

Analizator masa nalazi se iza ionske optike te ispred detektora. Komercijalno su dostupne četiri vrste analizatora masa, no najčešće se koriste kvadrupolni maseni filtri.

Nakon ionskog fokusiranja snop iona dolazi do kvadrupola. Kvadrupol se sastoji od četiri paralelne hiperbolične ili cilindrične elektrode na koje se primjenjuju istosmjerna i izmjenična struja. Između šipki se stvara promjenjivo elektromagnetsko polje kroz koje prolaze ioni. Ioni se odvajaju na temelju omjera mase i naboja (m/z). Kako bi se osigurala stabilna putanja leta, za ion s određenim m/z mora se primijeniti određen omjer napona izmjenične i istosmjerne struje i frekvencije izmjenične struje. Takvi ioni prolaze kroz kvadrupol, dok se ioni kojima uvjeti ne odgovaraju sudaraju sa šipkama kvadrupola i ne dolaze do detektora (Wilschefski i Baxter, 2019).

2.8.1.8. Detektori

Nakon prolaska kroz analizator masa, ioni dolaze do detektora. Za detekciju i kvantifikaciju iona koriste se elektronski multiplikatori ili Faradayev kolektor.

Elektronski multiplikatori (EM) rade na principu sekundarne emisije elektrona. Pozitivni analitni ioni dolaze do elektronskog multiplikatora i udaraju o prvu dinodu koja je pod visokim negativnim naponom. Udarom o dinodu oslobađa se nekoliko elektrona s njene površine koji se zatim ubrzavaju prema sljedećoj dinodi, udaraju ju i oslobađaju još više elektrona. Taj se proces ponavlja te se broj elektrona na svakoj dinodi eksponencijalno povećava. Veliki broj

elektrona dolazi do kolektora ili anode te stvaraju mjerljiv električni signal koji odgovara početnom broju iona (Thomas, 2002; Wilschefski i Baxter, 2019).

2.8.2. Ostale tehnike određivanja teških metala

2.8.2.1. Atomska apsorpcijska spektrometrija (AAS)

Osnovni princip ove tehnike zasniva se na apsorpciji karakterističnih valnih duljina elemenata koji se proučavaju. Uređaj se sastoji od izvora zračenja, prostora za atomizaciju uzorka, monokromatora, detektora i zapisnog uređaja. Uzorak se atomizira, a izvor svjetlosti emitira elektromagnetsko zračenje koje prolazi kroz uzorak. Analiti apsorbiraju određeni dio zračenja, a količina apsorbiranog zračenja proporcionalna je koncentraciji analita u uzroku. Kako bi mjerenje bilo što selektivnije, izvor zračenja trebao bi emitirati točno one valne duljine koje analitni element može apsorbirati, što se može postići korištenjem lampi s katodama izrađenim od elementa koji se određuje. Po prolasku zračenja kroz uzorak, određene valne duljine se odvajaju monokromatorom te detektiraju mjerenjem smanjenja intenziteta snopa zračenja koje prolazi kroz plamen. Tehnike za određivanje metala mogu biti različite: plamena tehnika (eng. Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS)), grafitna (eng. Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GF-AAS)) i hidridna tehnika (eng. Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (HG-AAS)). Najčešće su korištene atomizacije plamenom (AAS) i grafitnom kivetom (GF-AAS) (Jin i sur., 2020; Yeung i sur., 2017).

2.8.2.2. Atomska emisijska spektrometrija (AES)

Ova tehnika ujedno koristi analit i kao izvor zračenja. Uzorku se dovodi energija potrebna za pobuđivanje u obliku topline, svjetlosti, elektriciteta ili radiovalova. Atomi se pobuđuju te iz osnovnog stanja prelaze u pobuđeno stanje. Pri povratku u osnovno stanje emitiraju zračenje. Emitirano zračenje prolazi kroz selektor valnih duljina kako bi se izdvojile valne duljine od interesa te one zatim odlaze do detektora gdje se kvalitativno i kvantitativno određuju analiti (Yeung i sur., 2017).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada utvrditi je koncentracije žive u jajima iz slobodnog uzgoja proizvedenih u domaćinstvima koja su potencijalno bila izložena kontaminaciji uslijed požara u osječkoj tvornici za reciklažu plastike. Pored uzoraka iz područja zahvaćenog dimom požara, analizirani su i uzorci iz kontrolnih područja, kao i komercijalno dostupni uzorci.

3.2. METODE

3.2.1. Prikupljanje uzoraka

Istraživanje je uključivalo terensko prikupljanje uzoraka. Uzorci su prikupljeni u tri navrata, jedan, četiri i osam mjeseci nakon požara, tj. tijekom studenog 2023. godine (jesenski prikup), te veljače (zimski prikup) i lipnja 2024. godine (ljetni prikup). Uzorci su dobiveni nasumičnim odabirom dobrovoljaca koji uzgajaju kokoši u potencijalno kontaminiranom području koje je bilo zahvaćeno dimom požara u tvornici za reciklažu plastike. Riječ je o sljedećim naseljima: Antunovac, Ivanovac, Brijest, Briješće, Čepin i Tenja, pri čemu je uzorkovanje usredotočeno na naselja najizloženija dimu (Antunovac, Ivanovac, Brijest). Prikupljeni su i uzorci iz kontrolnog područja, odnosno baranjskih naselja koja nisu bila izložena dimu požara (Mece, Darda, Čeminac, Lug, Jagodnjak i Vardarac). Tijekom svakog kruga uzorkovanja su prikupljeni i komercijalno dostupni uzorci. Uzorci iz potencijalno kontaminiranih (po 22 uzorka u studenom, veljači i lipnju = 66 uzoraka) i kontrolnih naselja (po 10 uzoraka u svakoj od faza = 30 uzoraka) potječu od kokoši iz slobodnog uzgoja, dok je 5/10 uzoraka iz trgovina iz slobodnog uzgoja, 2/10 iz podnog i 2/10 iz kaveznog uzgoja. Nakon prikupa su uzorci skladišteni na 4 °C do daljnje obrade.

3.2.2. Priprema uzoraka

Uzorci su prvo homogenizirani, nakon čega je 30 mL homogeniziranog uzorka otpipetirano u Petrijeve zdjelice i zamrznuto na -84 °C radi pripreme za liofilizaciju.

3.2.2.1. Liofilizacija uzoraka

Liofilizacija, odnosno sušenje zamrzavanjem, provedena je pomoću uređaja tvrtke Martin Christ, Njemačka, modela Alpha 2-4 LSCplus. Postupak je proveden u dvije faze - primarno i sekundarno sušenje. Primarno sušenje provedeno je pri temperaturi -40 °C, uz primjenu

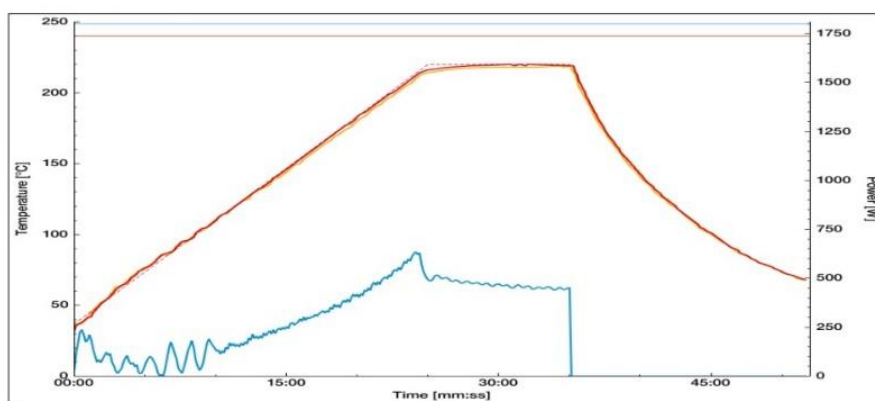
vakuuma od 0,250 mbar. Ova faza trajala je 17 sati. Tijekom ovog procesa led sadržan u uzorcima sublimira, prelazi iz čvrstog stanja u plinovito. Sekundarno sušenje provedeno je kako bi se uklonila zaostala vezana voda. Provedeno je pri temperaturi od 10 °C, uz primjenu vakuuma od 0,0210 mbar, u trajanju od 60 minuta. Nakon liofilizacije uzorci su usitnjeni.

3.2.2.2. Određivanje suhe tvari uzoraka

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.

3.2.3. Mikrovalna digestija

Za mikrovalnu digestiju odvagano je približno 0,600 g liofilizata u teflonske kivete te je dodano 8 mL koncentrirane dušične kiseline (68 w/w) (Acros Organics, Belgija). Kivete su potom smještene u mikrovalni digestor marke Anton Paar, Austrija, model Multiwave 5000. Proces je proveden u tri faze. U prvoj fazi, kivete su postupno zagrijavane do 220 °C tijekom 25 minuta. U drugoj fazi temperatura je održavana na stabilnih 220 °C tijekom 10 minuta, čime je omogućena potpuna digestija uzorka. Treća faza je faza hlađenja koja je trajala 20 minuta, tijekom kojih su kivete postupno ohlađene na 50 °C (**Slika 3**). Korišten je program proizvođača namijenjen za namirnice s visokim udjelom masti.



Slika 3 Dijagram programa mikrovalne digestije

Nakon mikrovalne digestije, uzorci su preneseni u odmjerne tikvice od 25 mL te su tikvice nadopunjene deioniziranom vodom.

Kivete mikrovalnog uređaja, tikvice i ostali korišteni pribor i posuđe su namakani 12 h u 10 %-tnoj otopini dušične kiseline i temeljito isprani deioniziranom vodom prije uporabe.

3.2.4. Određivanje žive induktivno spregnutom plazmom s masenim spektrometrom (ICP – MS)

Za pripremu kalibracijskih otopina i razrjeđenja korištena je ultračista voda iz Milli-Q sustava, te 65 %-tna ultračista dušična kiselina i 37 %-tna klorovodična kiselina (Fisher Scientific, SAD). Osnovna standardna otopina pripremljena je koristeći živu u standardnoj otopini čija je koncentracija bila približno 1000 mg/L (Inorganic Ventures, SAD). Kalibracijski standardi pripremljeni su u mješavini 1 % dušične kiseline i 0,5 % klorovodične kiseline. Inertna standardna otopina, koja je sadržavala ⁶Li, Sc, Ge, Y, In, Tb i Bi, razrijeđena je na 400 µg/L u istoj mješavini kiseline.

Za analizu korišten je uređaj Agilent 7900 ICP-MS s Octopole Reaction System (ORS) (Agilent Technologies, SAD) sustavom za uklanjanje interferencija. Radni uvjeti prikazani su u **Tablici 1**. ICP-MS kalibriran je korištenjem Agilent tuning otopine (Li, Y, Ce, Tl, Co) prije analize. Uzorak i interni standard (ISTD) pomiješani su automatski unutar sustava pomoću T-komada prije nego što dođu do raspršivača. Prikupljeni podaci analizirani su pomoću Agilent ICP-MS MassHunter 4.3 Workstation softvera (verzija C.01.03).

Tablica 1 Radni uvjeti za Agilent ICP-MS 7900

Uvođenje uzorka	PeriPump
Tip raspršivača	MicroMist
Model ionskih leća	x-Lens
RF snaga	1550 W
RF podešavanje	1,70 V
Uvođenje uzorka	0,99 L/min
Prijenosni plin	15,00 L/min
Plinska plazma	0,90 L/min
Pomoćni plin	0,02 mL/min
He plin	27,24 MHz

Učinkovitost instrumenta ili analitičke metode ocjenjuje se određivanjem vrijednosti LOD-a (limit detekcije) i LOQ-a instrumenta (limit kvantifikacije). LOD predstavlja najnižu

koncentraciju analita koja se može detektirati i pouzdano se razlikuje od nule, ali ne mora biti nužno kvantificirana. S druge strane, LOQ predstavlja najnižu koncentraciju analita koju se može kvantitativno odrediti s prihvatljivom razinom preciznosti i točnosti (Gonzalez i Herrador, 2007).

Vrijednosti LOD-a i LOQ-a izračunate su na sljedeći način:

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

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

m - nagib kalibracijske krivulje

SD – standardna devijacija višestrukih izmjera slijepe probe

Dio rezultata je bio ispod razina vrijednosti LOD-a i LOQ-a, te je s takvim podacima postupano prema uputama WHO-a (EFSA, 2010), korištenjem tzv. pristupa srednje granice (middle bound), tj. promijenjeni su u LOD/2 ili LOQ/2.

Ponovljivost metode ispitana je višestrukom analizom istog uzorka te je RSDr određena kao omjer standardne devijacije i srednje vrijednosti izmjerenih vrijednosti:

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

Iskorištenje je određeno dodatkom određene količine standarda Hg u rasponu razina od 7 do 67 ppb u liofilizate jaja poznatih koncentracija te računato prema jednadžbi:

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

Točnost analitičke metode testirana je analizom referentnih materijala te su za potrebe ovog diplomskog rada korišteni sljedeći standardi: Wheat gluten (NIST RM 1418), (koncentracija Hg: $1,9 \pm 0,6$ ng/g) te Bovine liver (NIST RM 1577), (koncentracija Hg: 3 ng/g) nabavljenih od National Institute of Standards & Technology (NIST). Hg u referentnom materijalu Bovine liver nije certificirana. Referentni materijali su prije analize osušeni do konstantne mase pomoću vakuum sušionika.

3.2.5. Anketiranje donatora

Donatori jaja dobili su upitnik u kojemu su morali odgovoriti na pitanja o uvjetima uzgoja kokoši i svojim navikama vezano za konzumaciju jaja. Upitnik je obuhvatio detalje o prehrani kokoši (vrsta hrane, dodaci prehrani itd.), ukupnom broju kokoši, površini dvorišta (m²) u kojem se kreću, postotku pokrivenosti istog prostora vegetacijom, te informacije o eventualnom

spaljivanju otpada ili smeća u dvorištu u kojemu kokoši obitavaju. Cilj upitnika bio je prikupiti relevantne podatke kako bi se mogla utvrditi povezanost uvjeta uzgoja i okolišnih faktora s kontaminacijom jaja te procijeniti unos žive donatora konzumacijom jaja. Podaci za pojedine donatore nedostaju (5/33), što može utjecati na preciznost ciljanih procjena.

3.2.6. Izračun unosa žive konzumacijom jaja

Prosječan tjedni unos žive konzumacijom jaja izračunat je na temelju srednjih vrijednosti koncentracija žive u jajima iz različitih podskupina uzoraka i informacija o tjednoj konzumaciji jaja dobivenih putem ankete koju su ispunili donatori uzoraka. Pretpostavljeno je da masa jednog jajeta iznosi 50 g, a prosječan tjedni unos žive izračunat je prema formuli (1):

$$C_{\text{Hg u jajima}} \times m_{\text{jaja}} \times N_{\text{broj konzumiranih jaja tjedno}} = \text{Tjedni unos Hg (ng)} \quad (1)$$

Tjedni unos žive konzumacijom jaja u $\mu\text{g/kg}$ tjelesne mase izračunat je prema formuli (2). Za pretpostavljenu tjelesnu masu korištene su vrijednosti od 60 kg za žene i 70 kg za muškarce, u skladu s preporukama EFSA-e (2012).

$$\frac{\text{Tjedni unos Hg (ng)} \times 0,001}{m_{\text{tjelesna masa (kg)}}} \quad (\mu\text{g/kg tj. m.}) \quad (2)$$

3.2.7. Statistička obrada

Izračunati su osnovni deskriptivni parametri (srednja vrijednost, standardna devijacija), te Spearmanova korelacija varijabli i Mann-Whitneyev U-test za testiranje razlike između dvije nezavisne varijable. 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. REZULTATI ANALIZE ŽIVE U PRIKUPLJENIM UZORCIMA

Kalibracijska krivulja za živu pokazuje vrlo visoku linearnost, s korelacijskim koeficijentom (R^2) od 0,9998. Ovaj podatak ukazuje na dobar odnos između koncentracije žive u uzorku i mjernog signala. Kalibracijske točke su 0, 0,10, 0,20, 0,50 i 1,0 $\mu\text{g/L}$, što pokriva širok raspon koncentracija i omogućava preciznu kvantifikaciju Hg u uzorcima. Utvrđene vrijednosti LOD-a koji iznosi 0,007 $\mu\text{g/L}$, te LOQ-a koji iznosi 0,1 $\mu\text{g/L}$ ukazuju na to da je uređaj sposoban detektirati i kvantificirati živu u vrlo niskim koncentracijama, što osigurava osjetljivost analize.

Srednje vrijednosti iskorištenja standarda Hg dodanih liofilizatima jaja u rasponu razina od 7 do 67 ppb iznosile su 85 %, što ukazuje na pouzdanost metode u kvantifikaciji Hg u uzorcima, iako postoji manje odstupanje od idealnih uvjeta. Izračunata vrijednost RSDr, kao mjere ponovljivosti metode, bila je izvrsnih 1,4 %.

Vrijednost žive u referentnom materijalu Bovine liver, u kojemu živa nije certificirana, iznosi 3 ng/g, dok u Wheat gluten certificirana vrijednost iznosi $1,9 \pm 0,6$ ng/g. Prema rezultatima analize referentnih materijala, srednja vrijednost za Hg u necertificiranom referentnom materijalu Bovine liver je $18,4 \pm 3,6$ ng/g, što je visoka vrijednost, ali bez certificiranih vrijednosti teško je donijeti zaključke o točnosti. Rezultati za certificirani referentni materijal Wheat gluten također su znatno viši od certificirane vrijednosti ($10,2 \pm 0,5$ ng/g), što upućuje na moguću pogrešku u analizi ili kontaminaciju analiziranog uzorka. Treba ipak napomenuti da je ovim referentnim materijalima istekao rok trajanja, što također može objasniti odstupanja.

Od ukupno 126 analiziranih digestata liofiliziranih uzoraka, njih 88 pokazuje koncentraciju žive manju od 0,1 $\mu\text{g/L}$, što je ispod granice kvantifikacije (LOQ), dok su sve vrijednosti više od granice detekcije (LOD). Ovaj podatak ukazuje na to da velika većina uzoraka (~ 70 %) ima vrlo niske razine žive. Prema pristupu srednje granice (EFSA, 2010), izmjerene vrijednosti niže od limita kvantifikacije zamijenjene su s vrijednošću LOQ/2 tj. s 0,05 $\mu\text{g/L}$, prije daljnje obrade i statističke analize rezultata.

Analizirane vrijednosti suhe tvari u uzorcima pokazale su raspon od 19,0 % do 34,4 %, s prosječnom vrijednošću od 25,3 %. Vrijednosti suhe tvari u komercijalno dostupnim jajima kreću se od 19,0 % do 27,8 %, dok za jaja iz domaćeg uzgoja iznose od 21,6 % do 34,4 %. Pokazalo se da jaja iz domaćeg uzgoja imaju veći medijan (25,8 %) u odnosu na komercijalno dostupnih jaja (25,6 %), te veću srednju vrijednost (25,5 %) u usporedbi s komercijalnim uzorcima (23,9 %). U studiji Matt i sur. (2009), suha tvar u jajima iz konvencionalnog uzgoja iznosila je 23,1 %, dok je u jajima iz organskog uzgoja 22,6 %. Rezultati iz ovog diplomskog

rada pokazuju veći sadržaj suhe tvari, što može ukazivati na različite uvjete uzgoja, prehrane ili druge čimbenike koji mogu utjecati na sadržaj suhe tvari u jajima.

Izmjerene vrijednosti koncentracija žive u liofilizatima i svježim uzorcima prikazane su u **Tablici 2**. Uzorci koji značajnije odstupaju su f_TEN04 s vrijednošću od 5,9 ng/g, potom uzorci w_KON04 (3,7 ng/g), w_KON01 (3,4 ng/g), s_KON01 (3,1 ng/g), f_KON01 (3,0 ng/g) i w_TEN04 (3,0 ng/g).

Tablica 2 Koncentracije žive u analiziranim uzorcima kokošnjih jaja

Šifra	Hg (ng/g liofilizata)	Suha tvar (%)	Hg (ng/g svježeg uzorka)
f_ANT01	5,2	31,1	1,6
f_ANT02	2,1	25,2	0,5
f_ANT03	2,1	27,1	0,6
f_ANT04	2,1	28,3	0,6
f_ANT05	2,0	26,0	0,5
f_ANT06	2,0	26,3	0,5
f_ANT07	4,6	24,0	1,1
f_ANT08	2,0	26,2	0,5
f_ANT09	8,1	25,5	2,1
f_BRT01	7,0	28,2	2,0
f_BRI01	5,0	26,9	1,3
f_BRI02	2,1	27,3	0,6
f_BRI03	2,1	26,9	0,6
f_TEN01	2,1	26,1	0,5
f_TEN02	2,1	25,2	0,5
f_TEN03	2,0	26,1	0,5
f_TEN04	21,4	27,8	5,9
f_IVA01	6,5	23,5	1,5
f_IVA02	7,8	21,7	1,7
f_CEP01	2,1	28,4	0,6
f_CEP02	2,1	27,3	0,6
f_CEP03	2,1	28,5	0,6
f_KON01	8,6	34,4	3,0
f_KON02	3,9	26,6	1,0
f_KON03	8,2	28,2	2,3
f_KON04	2,1	24,7	0,5
f_KON05	8,9	24,2	2,1
f_KON06	2,1	28,0	0,6
f_KON07	5,3	27,6	1,5
f_KON08	7,0	25,6	1,8
f_KON09	4,7	28,9	1,3

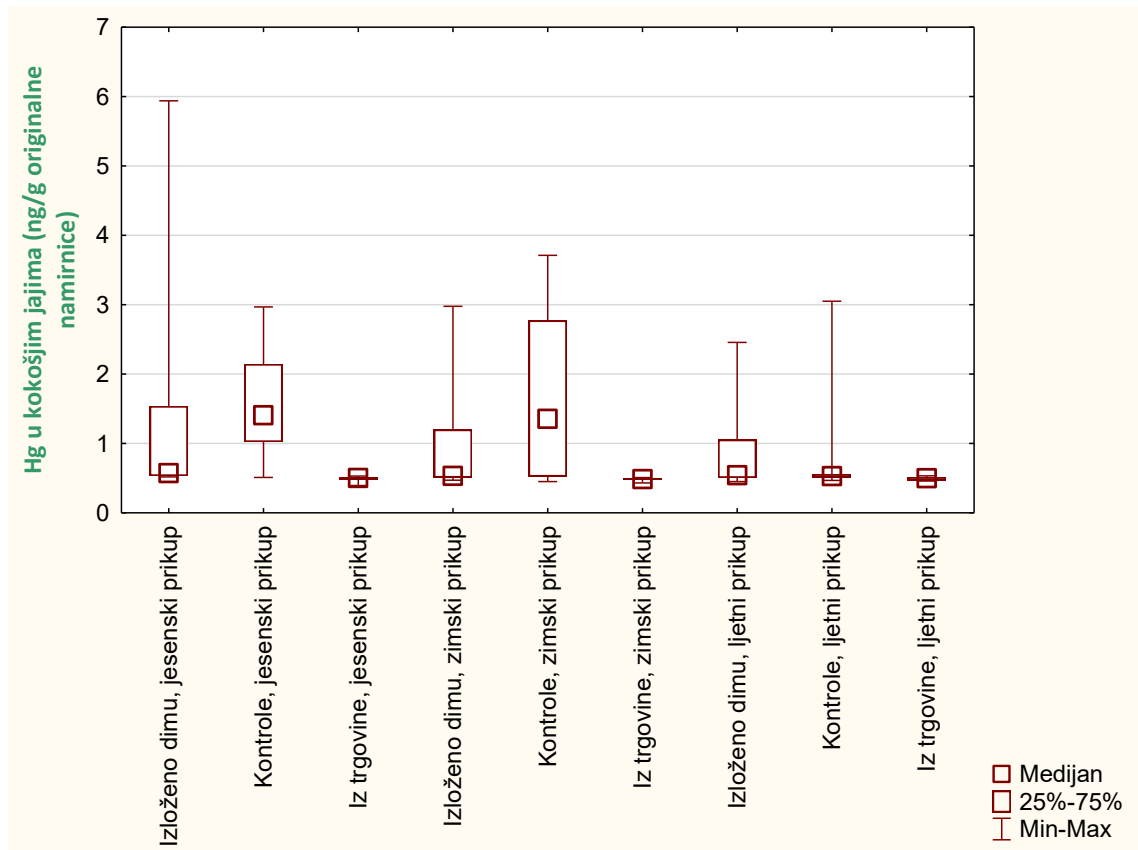
f_KON10	4,5	23,1	1,0
f_KOM01	2,0	24,3	0,5
f_KOM02	2,1	23,3	0,5
f_KOM03	2,1	23,8	0,5
f_KOM04	2,1	19,0	0,4
f_KOM05	2,1	24,6	0,5
f_KOM06	2,1	25,1	0,5
f_KOM07	2,1	25,4	0,5
f_KOM08	2,1	24,6	0,5
f_KOM09	2,0	25,9	0,5
f_KOM10	2,1	23,7	0,5
w_ANT01	4,5	26,8	1,2
w_ANT02	2,1	25,9	0,5
w_ANT03	2,0	25,1	0,5
w_ANT04	2,0	26,2	0,5
w_ANT05	2,0	25,0	0,5
w_ANT06	5,3	22,2	1,2
w_ANT07	5,5	23,9	1,3
w_ANT08	2,1	25,8	0,5
w_ANT09	4,6	24,5	1,1
w_BRT01	2,0	28,4	0,6
w_BRI01	5,0	25,0	1,2
w_BRI02	2,1	22,3	0,5
w_BRI03	2,0	24,3	0,5
w_TEN01	2,1	28,1	0,6
w_TEN02	2,0	25,8	0,5
w_TEN03	2,3	21,6	0,5
w_TEN04	12,5	23,9	3,0
w_IVA01	8,2	23,3	1,9
w_IVA02	5,5	26,3	1,5
w_CEP01	1,8	26,8	0,5
w_CEP02	2,1	25,2	0,5
w_CEP03	2,1	24,8	0,5
w_KON01	12,3	27,4	3,4
w_KON02	2,0	23,6	0,5
w_KON03	1,9	27,1	0,5
w_KON04	14,1	26,4	3,7
w_KON05	2,0	28,6	0,6
w_KON06	10,6	26,2	2,8
w_KON07	4,7	27,6	1,3
w_KON08	7,1	24,6	1,7
w_KON09	5,7	25,2	1,4
w_KON10	2,0	22,2	0,5
w_KOM01	2,0	21,8	0,4
w_KOM02	2,0	23,0	0,5
w_KOM03	2,1	23,5	0,5

w_KOM04	2,1	23,3	0,5
w_KOM05	2,1	23,6	0,5
w_KOM06	2,1	23,1	0,5
w_KOM07	2,0	25,3	0,5
w_KOM08	2,1	23,2	0,5
w_KOM09	2,1	24,1	0,5
w_KOM10	2,1	23,6	0,5
s_ANT01	10,4	23,7	2,5
s_ANT02	2,1	21,7	0,5
s_ANT03	2,0	25,7	0,5
s_ANT04	2,0	26,9	0,5
s_ANT05	2,0	26,1	0,5
s_ANT06	5,7	24,9	1,4
s_ANT07	6,2	25,9	1,6
s_ANT08	2,1	26,7	0,6
s_ANT09	2,1	25,4	0,5
s_BRT01	2,1	27,3	0,6
s_BRI01	4,4	24,3	1,1
s_BRI02	2,1	22,6	0,5
s_BRI03	2,0	24,7	0,5
s_TEN01	2,0	28,4	0,6
s_TEN02	2,0	26,4	0,5
s_TEN03	2,1	24,3	0,5
s_TEN04	6,9	26,2	1,8
s_IVA01	2,0	24,6	0,5
s_IVA02	2,1	27,8	0,6
s_CEP01	2,1	25,0	0,5
s_CEP02	4,2	24,8	1,1
s_CEP03	2,0	25,9	0,5
s_KON01	11,1	27,4	3,1
s_KON02	2,1	25,7	0,5
s_KON03	4,6	25,5	1,2
s_KON04	2,1	25,3	0,5
s_KON05	2,1	27,0	0,6
s_KON06	2,0	25,3	0,5
s_KON07	2,1	22,7	0,5
s_KON08	2,1	26,4	0,5
s_KON09	2,1	25,1	0,5
s_KON10	2,0	23,8	0,5
s_KOM01	2,1	25,0	0,5
s_KOM02	2,1	22,0	0,5
s_KOM03	2,1	22,8	0,5
s_KOM04	2,0	22,7	0,5
s_KOM05	2,1	24,9	0,5
s_KOM06	2,1	24,6	0,5
s_KOM07	2,1	23,8	0,5

s_KOM08	2,1	23,7	0,5
s_KOM09	2,1	22,5	0,5
s_KOM10	2,1	25,7	0,5

Uzorak f_TEN04, gdje su kokoši hranjene travom i povrćem, bez spaljivanja smeća u dvorištu pokazuje najvišu izmjerenu vrijednost žive (**Tablica 2**). Uzorak w_KON04 pokazuje drugu najvišu izmjerenu vrijednost. Uzorci f_KON01, w_KON01 i s_KON01, prikupljeni na kontrolnom području, imaju slične koncentracije žive koje se kreću između 3,0 i 3,7 ng/g. Na tome području, prema anketi donatora, tijekom jeseni dolazi do spaljivanja grana u blizini obitavanja kokoši nesilica. Spaljivanje grana i otpada, te posipavanje pepela po dvorištu potencijalno je izvor kontaminacije, što bi moglo objasniti konstantno povišene vrijednosti žive u jajima s tog područja prikupa. S druge strane, zimski uzorak s područja izloženog dimu (w_TEN04) pokazuje znatno nižu vrijednost od uzorka prikupljenog na istom području u jesen, a slične vrijednosti kao uzorci KON01. Za navedene uzorke, nije zabilježeno hranjenje kokoši dodacima, stoga se kontaminacija putem prehrane ne može povezati s povišenim vrijednostima žive niti u jednom od uzoraka. Iako su koncentracije žive u uzorcima f_TEN04 i w_TEN04 nešto više, razlike između njih i kontrolnih uzoraka nisu dovoljno velike da bi se moglo sa sigurnošću zaključiti da su uzorci izloženi dimu kontaminirani upravo zbog dima od požara u tvornici za reciklažu plastike. Razlike u vrijednostima žive između ovih podgrupa sugeriraju da, iako dim požara može biti jedan od čimbenika, vjerojatno postoje i drugi okolišni faktori koji utječu na koncentracije žive u jajima.

Na **Slici 4** prikazane su vrijednosti distribucije sadržaja Hg u kokošjim jajima, izražene u ng/g originalne namirnice, za različite skupine uzoraka prikupljene u različitim sezonama (jesen, zima, ljeto). Iz dobivenih podataka vidljivo je da su najviše maksimalne vrijednosti žive zabilježene u uzorcima izloženima dimu u jesenskom prikupu (5,9 ng/g). Najviša zabilježena razina u ovoj skupini znatno je viša nego u kontrolnim uzorcima (3,0 ng/g). Međutim, medijan vrijednosti uzoraka izloženih dimu iz jesenskog prikupa iznosi 0,6 ng/g, dok je ta vrijednost za kontrolne uzorke 1,4 ng/g (srednje vrijednosti: 1,1 prema 1,5 ng/g). Razlike su na granici statističke značajnosti ($p = 0,07$). Ovi podaci sugeriraju da većina uzoraka iz jesenskog prikupa ima relativno niske vrijednosti koncentracije žive, dok je veći dio kontrolnih uzoraka imao više razine žive u odnosu na uzorke s lokacija izloženih dimu u jesenskom prikupu.



Slika 4 Koncentracije žive u analiziranim uzorcima kokošjih jaja

Kao i kod jesenskog prikupa, medijan u uzorcima izloženim dimu iz zimskog prikupa (0,5 ng/g) niži je nego kod kontrolnih uzoraka iz zimskog prikupa (1,4 ng/g) (srednje vrijednosti: 0,9 prema 1,6 ng/g; $p = 0,149$) (Slika 4). Maksimalna vrijednost u kontrolnim uzorcima iznosi 3,7 ng/g, dok je ista za uzorke izložene dimu nešto niža, 3,0 ng/g. Očito, opterećenje živom veće je u kontrolnim uzorcima nego u uzorcima izloženim dimu.

Uzorci iz ljetnog prikupa imaju vrlo slične vrijednosti medijana (Slika 4), mada su kontrolni uzorci opet uključivali nešto višu maksimalnu vrijednost (2,5 prema 3,1 ng/g). Medijani za uzorke izložene dimu i za kontrolne uzroke iznose 0,5 ng/g, dok srednje vrijednosti također imaju istu vrijednost: 0,8 ng/g. Može se zaključiti da nema značajnih razlika između razina žive u uzorcima izloženim dimu i kontrolnih uzoraka ($p = 0,611$).

Vrijednosti za živu u uzorcima iz trgovine (jesen, zima i ljeto) pokazuju konstantno najniže vrijednosti i najmanju varijabilnost (Slika 4). Razlike u odnosu na uzorke s lokacija potencijalno izloženih kontaminaciji i na kontrolne uzorke jesenskog prikupa bile su snažno statistički značajne ($p < 0,001$). Slično je utvrđeno za zimski i ljetni prikup. Nema značajnih sezonskih varijacija.

Van Overmeire i sur. (2009) provedli su ispitivanje na domaćim jajima iz slobodnog uzgoja kokoši nesilica na području Belgije, tzv. CONTEGG studija. Utvrđene minimalne (0,10 ng/g), maksimalne (20,20 ng/g) i srednje vrijednosti (3,31 ng/g) te medijan (2,32 ng/g) žive u uzorcima ukazuju na značajno veću kontaminaciju jaja u tom području, nego u uzorcima jaja ispitivanih u sklopu ovog diplomskog rada. Najviša srednja vrijednost u ovom diplomskom radu odnosi se na kontrolne uzorke iz zimskog prikupa, 1,6 ng/g, što je značajno manje nego u uzorcima iz CONTEGG istraživanja. Ovakve povišene vrijednosti prisutne u uzorcima u CONTEGG istraživanju mogu se povezati sa spaljivanjem smeća (plastike i drveta, tjedno ili nekoliko puta godišnje) te posipavanjem pepela po dvorištu u kojemu kokoši nesilice obitavaju. Uz to, neposredna blizina raznih industrijskih postrojenja i korištenje pesticida može utjecati na povišene vrijednosti. S druge strane, u ovom diplomskom radu nema zabilježenog spaljivanja plastike u dvorištu, dok je samo kod šest ispitanika utvrđeno spaljivanje lišća, granja i kartona, a samo kod dva ispitanika utvrđeno je bacanje pepela po dvorištu. Također, pitanje o korištenju pesticida nije uključeno u upitnik dodijeljen donatorima u ovom diplomskom radu.

Rezultati ovog diplomskog rada pokazuju znatno niže razine žive u kokošjim jajima u usporedbi s istraživanjem Tispoura i sur. (2011), u kojemu su analizirani uzroci jaja kanadskih gusaka. Prosječne vrijednosti žive u uzorcima tog istraživanja iznose 4,29 ng/g, što je znatno više od maksimalnih prosječnih vrijednost dobivenih analizom kokošjih jaja u ovom diplomskom radu. Guske u istraživanju Tispoura i sur. (2011) živjele su u New Jersey Meadowlandsu, na području koje se nalazi unutar gusto urbaniziranog estuarija New York/New Jersey koji je podložan značajnom zagađenju zbog neposredne blizine industrijskih postrojenja i ispuštanja otpadnih voda, prometa, i kućanstava uz rijeku Hackensack i obližnje vodene tokove. Takvi uvjeti utjecali su na povišene koncentracije žive u okolišu, te posljedično i u jajima gusaka koje obitavaju na tom području. Ovi rezultati sugeriraju da okolišni faktori, industrijalizacija i urbanizacija imaju značajan utjecaj na akumulaciju žive u jajima.

Mitrović i sur. (2021) u svojem istraživanju imali su za cilj procijeniti izloženost odrasle populacije u Srbiji teškim metalima konzumacijom jaja i proizvoda od jaja. Prikupljeno je 255 uzoraka s različitih komercijalnih farmi. Utvrđena prosječna vrijednost za živu u uzorcima prikupljenim u periodu između 2018. i 2020. iznosila je $0,84 \pm 0,22$ ng/g. Kontrolni uzorci i uzorci izloženi dimu analizirani u sklopu ovog diplomskog rada imaju generalno veće srednje vrijednosti za živu (**Slika 4**), dok uzorci iz trgovine dosljedno pokazuju manje vrijednosti za živu u odnosu na uzorke iz Srbije. Aliu i sur. (2021) ispitivali su koncentracije teških metala u jajima s industrijskih peradarskih farmi i kokošjih jaja iz slobodnog uzgoja s Kosova. Jaja s

peradarskih farmi pokazivala su nešto više vrijednosti (0,39 ng/g) od onih iz slobodnog uzgoja (0,28 ng/g). U usporedbi s rezultatima dobivenim u ovom diplomskom radu, koncentracije žive u jajima s Kosova pokazuju niže vrijednosti. Uzorci kokošnjih jaja analizirani u ovom diplomskom radu pokazali su više koncentracije žive u odnosu na uzorke iz istraživanja Esposito i sur. (2011) u kojem je živa otkrivena samo u 10 od 39 uzoraka, a vrijednosti su bile vrlo blizu granice kvantifikacije. Više koncentracije žive u uzorcima iz ovog diplomskog rada u usporedbi s uzorcima iz navedenih istraživanja mogu biti posljedica izloženosti dimu nastalom uslijed požara u tvornici za recikliranje plastike, međutim ne može se sa sigurnošću tvrditi da je to jedini ili pak glavni izvor kontaminacije. Više koncentracije žive zabilježene su u kontrolnim uzorcima u odnosu na uzorke izložene dimu, što sugerira da uz izloženost dimu mogu postojati i drugi okolišni ili prehrambeni faktori koji doprinose akumulaciji žive u jajima.

Interkvartilni rasponi (**Slika 4**) također ukazuju na više i varijabilnije vrijednosti u kontrolnim uzorcima, osobito u onima iz zimskog prikupa ($Q_{25} = 0,5$ ng/g; $Q_{75} = 2,8$ ng/g). Najviše i najvarijabilnije interkvartilne vrijednosti uzoraka izloženih dimu dobivene su za uzorke iz jesenskog prikupa ($Q_{25} = 0,5$ ng/g; $Q_{75} = 1,5$ ng/g), međutim te vrijednosti su niže od Q_{75} vrijednosti za kontrolne uzorke u jesenskoj i zimskoj sezoni.

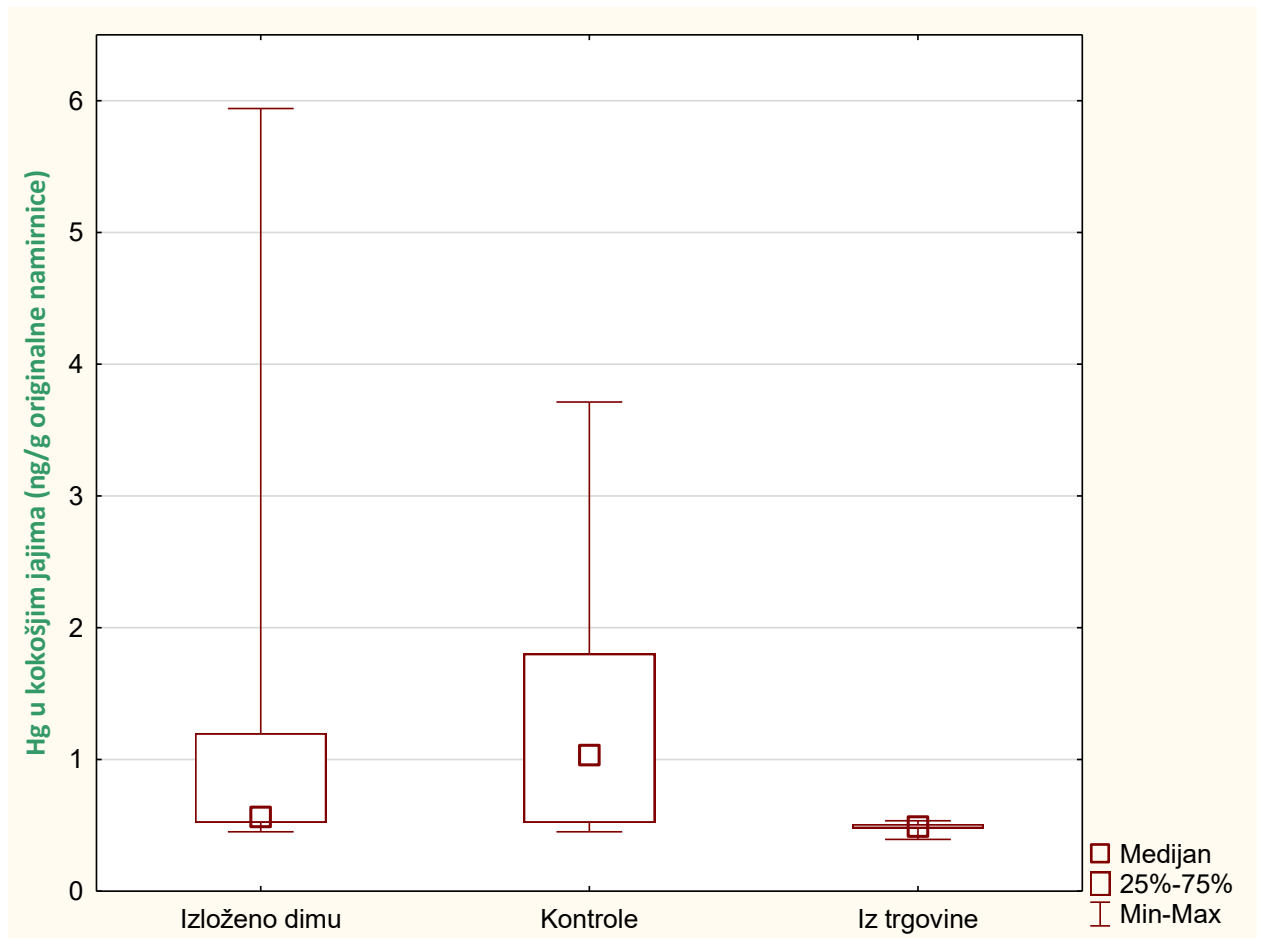
Usporedbom medijana i srednjih vrijednosti uzoraka izloženih dimu po sezonama (medijani: 0,6, 0,5 i 0,5 ng/g; srednje vrijednosti: 1,1, 0,9 i 0,8 ng/g), može se uočiti tek neznatno veća vrijednost uzoraka jesenskog prikupa (**Slika 4**), koja se najviše približila statistički značajnoj razlici u odnosu na rezultate za ljetni prikup ($p = 0,069$). Moguće je da se najviše vrijednosti i najveća varijabilnost izmjerenih koncentracija mogu povezati s dimom požara nošenog vjetrom, kojem je okoliš, kao i kokoši nesilice, tada bio najizloženiji.

U slučaju kontrolnih uzoraka, utvrđena je značajna razlika ($p = 0,021$) između srednjih vrijednosti ljetnog (1,6 ng/g) i jesenskog prikupa (1,5 ng/g), te značajno niža srednja vrijednost za ljetni prikup (0,8 ng/g).

Medijani i srednje vrijednosti za komercijalne uzorke su imali minimalne razlike između sezonskih prikupa (**Slika 4**).

Grupiranjem svih uzoraka iz lokacija izloženih dimu, kontrolnih lokacija te uzoraka iz trgovine (**Slika 5**) ponovno je utvrđen veći medijan za kontrolne (1,0 ng/g) u odnosu na izložene (0,6 ng/g) i komercijalne (0,5 ng/g) skupine uzoraka. Kao što se vidi na slici, raspon odstupanja od srednje vrijednosti podrazumijeva male razlike između kontrolnih i izloženih skupina ($1,3 \pm 1,0$ prema $0,9 \pm 0,8$ ng/g), za razliku od skupine s uzorcima iz trgovine ($0,5 \pm 0,03$ ng/g). Zato

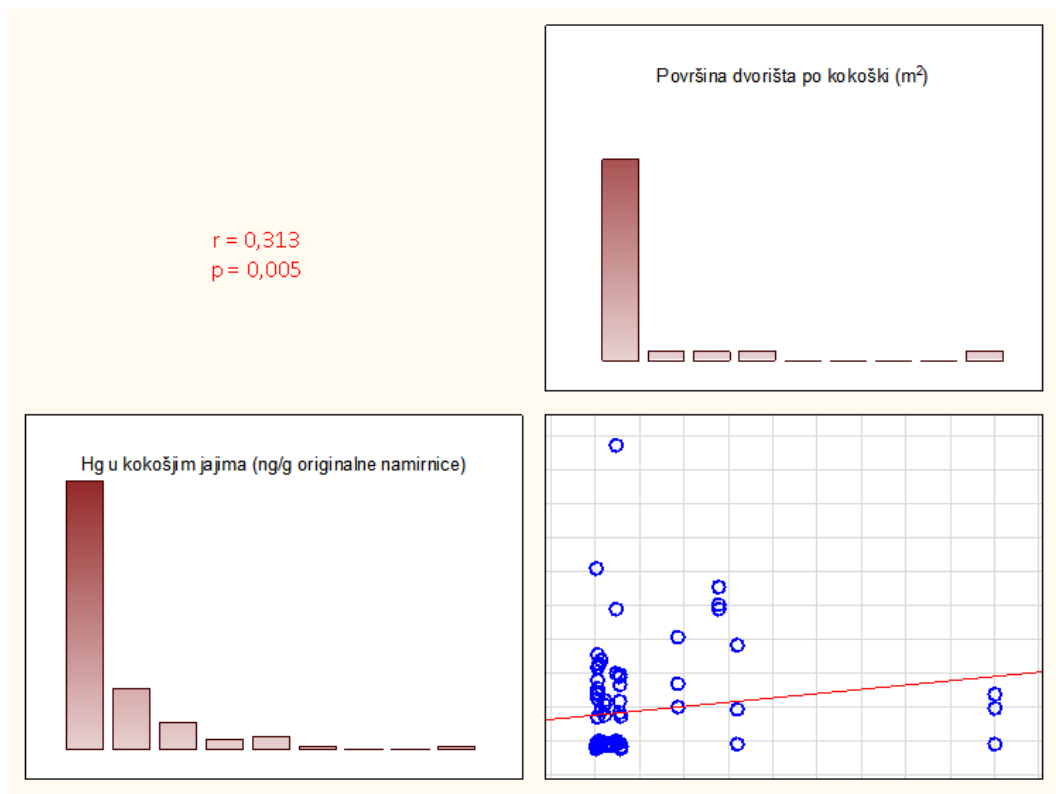
razlike između kontrola i izloženih uzoraka nisu značajne ($p = 0,149$), dok ove dvije skupine imaju statistički značajno veće srednje vrijednosti u odnosu na uzorke iz trgovine ($p < 0,001$).



Slika 5 Koncentracije žive u analiziranim uzorcima kokošjih jaja grupiranim neovisno o sezoni prikupa

4.2. UTJECAJ OKOLIŠNIH FAKTORA NA RAZINE ŽIVE U UZORCIMA KOKOŠJIH JAJA

Korelacija koncentracije žive u uzorcima s površinom dvorišta koje je dostupno kokošima donatora prikazana je na **Slici 6**. Postoji slaba, ali statistički značajna pozitivna povezanost između sadržaja žive u jajima i površine kokošinjca. Rezultat upućuje na utjecaj veće izloženosti okolišu na povećanje razine žive u jajima. Dodatna, ciljana istraživanja bi mogla pomoći da se jasnije utvrde faktori koji utječu na razine žive u kokošjim jajima te bolje razumije utjecaj veličine kokošinjca na sadržaj žive u jajima.



Slika 6 Korelacija koncentracije žive u uzorcima kokošjih jaja s površinom kokošinjca

Provedena je analiza kako bi se istražila povezanost površine dvorišta pokrivena vegetacijom i sadržaja žive u kokošjim jajima. Spearmanov koeficijent korelacije (r) iznosi 0,170, a p -vrijednost 0,130, što upućuje na postojanje pozitivne korelacije između ove dvije varijable, iako je neznatna te nema statističku značajnost. Ispitana je i povezanost između broja kokoši u kokošinjcu i sadržaja žive u kokošjim jajima, ali veza između ovih varijabli nije utvrđena ($r = 0,011$; $p = 0,924$).

4.3. TJEDNI UNOS ŽIVE KONZUMACIJOM JAJA

Izračunate vrijednosti za tjedni unos Hg konzumacijom jaja prikazane su u **Tablici 3**. Prosječnom konzumacijom u populaciji domaćinstava koja su donirala uzorke od 7,56, odnosno osam jaja tjedno, mase 50 g, najveći unos žive ostvaruje se konzumacijom kontrolnih uzoraka iz zimskog prikupa, dok se najmanji unos postiže konzumacijom jaja iz trgovine, također iz zimskog prikupa.

Prema EFSA-i (2012) prihvatljivi tjedni tj. TWI (eng. tolerable weekly intake) vrijednost za metil živu iznosi 1,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne mase, dok ista vrijednost za anorgansku živu iznosi 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$

tjelesne mase. Velika većina žive u kokošjim jajima je u anorganskom obliku te će se za usporedbu unosa koristiti samo TWI za anorgansku živu (González-Álvarez i sur., 2023). Maksimalni tjedni unos žive konzumacijom kokošjih jaja po jedinici tjelesne mase, dobiven izračunom u ovom diplomskom radu, iznosi za žene 0,0109 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m., a za muškarce 0,0093 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m., što je značajno niže od prihvatljivih tjednih unosa za anorgansku živu. Prosječna izloženost živi putem konzumacije jaja u radu Mitrović i sur. (2021) iznosi 0,0017 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m. dnevno, što odgovara 0,0119 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m. tjedno. Ove vrijednosti vrlo su bliske vrijednostima izloženosti živi za kontrolne uzorke (**Tablica 3**). U Italiji su razine žive u jajima bile ispod granica detekcije, što ukazuje na minimalnu izloženost putem konzumacije jaja, dok su, s druge strane, u Iranu zabilježene najviše koncentracije žive (10 ng/g). Prema izračunu korištenom u ovom diplomskom radu, konzumacijom jaja iz Irana, tjedni unos žive za žene i muškarce po kg tjelesne mase bio bi veći otprilike 7 puta u odnosu na ovdje utvrđene unose. Međutim, iako su vrijednosti žive u iranskim jajima više, ona i dalje dovode do znatno nižeg unosa od vrijednosti prihvatljivog tjednog unosa, tj. čine manje od 2 %.

Postotak prihvatljivog tjednog unosa žive dosegnut unosom kokošjih jaja u svim analiziranim podgrupama se kreće između 0,07 i 0,3 %. Konzumacijom jaja iz kontrolnog područja, zimskog prikupa, postiže se maksimalni unos koji za žene iznosi 0,3 %, a za muškarce 0,2 % TWI vrijednosti. Najniži postotak prihvatljivog tjednog unosa zabilježen je kod komercijalnih uzoraka neovisno o sezoni iznosi 0,07 % za muškarce, a 0,08 % za žene. Ovi rezultati upućuju na zaključak da konzumacija jaja iz bilo koje analizirane podgrupe ne predstavlja rizik za razvoj kroničnih ili akutnih bolesti povezanih s prekomjernim unosom žive.

Tablica 3 Procjena unosa žive konzumacijom kokošnjih jaja prema podacima prikupljenim iz ankete

Podgrupe	Hg u jajima (ng/g)	Tjedni unos Hg konzumacijom jaja (ng)	Tjedna izloženost Hg konzumacijom jaja ($\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m.) za muškarce	Tjedna izloženost Hg konzumacijom jaja ($\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m.) za žene
Izloženo dimu jesenski prikup	1,1	452,0	0,0065	0,0075
Kontrole, jesenski prikup	1,5	608,0	0,0087	0,0101
Iz trgovine, jesenski prikup	0,5	196,0	0,0028	0,0033
Izloženo dimu, zimski prikup	0,9	360,0	0,0051	0,0060
Kontrole, zimski prikup	1,6	652,0	0,0093	0,0109
Iz trgovine, zimski prikup	0,5	192,0	0,0027	0,0032
Izloženo dimu, ljetni prikup	0,8	324,0	0,0046	0,0054
Kontrole, ljetni prikup	0,8	336,0	0,0048	0,0056
Iz trgovine, ljetni prikup	0,5	196,0	0,0028	0,0033

5. ZAKLJUČCI

Rezultati ovog diplomskog rada pokazuju da se razine žive u jajima razlikuju između različitih skupina uzoraka (izloženih dimu, kontrolnih uzoraka i komercijalnih uzoraka), pri čemu su najviši medijani koncentracija zabilježeni u kontrolnim uzorcima iz jesenskog i zimskog prikupa (1,4 ng/g originalne namirnice).

Najviša izmjerena vrijednost žive zabilježena je u podgrupi uzoraka izloženih dimu iz jesenskog prikupa (5,9 ng/g), dok su generalno najviše koncentracije zabilježene u kontrolnim uzorcima iz zimskog prikupa.

Uzorci iz ljetnog prikupa pokazuju najniže razine žive u usporedbi s ostalim prikupima, dok komercijalni uzorci dosljedno pokazuju najniže vrijednosti i najuži raspon koncentracija žive, što može ukazati na kontrolirane uvjete uzgoja i nižu izloženost kontaminantima.

Medijani za uzorke s kontrolnih i lokacija izloženih dimu (1,0 prema 0,6 ng/g), te komercijalne uzorke (0,5 ng/g), grupirane neovisno o sezoni prikupa, ukazuju na najviše vrijednosti u kontrolnoj skupini. Ipak, razlika srednje vrijednosti za kontrolnu u odnosu na izloženu skupinu nije statistički značajna ($1,3 \pm 1,0$ prema $0,9 \pm 0,8$ ng/g; $p = 0,149$).

Pretpostavka da će uzorci izloženi dimu požara iz tvornice za reciklažu plastike biti kontaminiraniji od kontrolnih uzoraka nije potvrđena. Ovo sugerira da dim nastao sagorijevanjem plastike nije značajan izvor žive.

Postoji slaba, ali statistički značajna povezanost između veće površine kokošinjca i povećane koncentracije žive u jajima ($r = 0,313$; $p = 0,005$). Veća izloženost okolišnim čimbenicima može doprinijeti većim razinama kontaminacije živom.

Niti jedna skupina uzoraka nije rezultirala tjednim unosom žive ($\mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m.) putem jaja koja premašuje vrijednosti prihvatljivog tjednog unosa za anorgansku živu ($4 \mu\text{g}/\text{kg}$ tj. m.), uz najveći unos koji čini tek 0,3 % ove vrijednosti. Može se zaključiti da konzumacijom jaja iz područja zahvaćenog požarom plastike, kontrolnih područja te jaja iz trgovine nema rizika za razvoj kroničnih ili akutnih bolesti povezanih s unosom žive.

6. LITERATURA

- Abedi AS, Hoseini H, Mohammadi-Nasrabadi F, Rostami N, Esfarjan, F: Consumer health risk assessment of arsenic and mercury in hen eggs through Monte Carlo simulations. *BMC Public Health* 23:1320, 2023
- Aliu H, Dizman S, 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.
- Aljohani ASM: Heavy metal toxicity in poultry: a comprehensive review. *Frontiers in Veterinary Science* 10:1161354, 2023
- Anderson KE: Overview of natural and organic egg production: Looking back to the future. *Journal of Applied Poultry Research* 18:348–354, 2009
- Atamaleki A, Sadani M, Raoofi, A Miri A, Bajestani SG, Fakhri Y, Heidarinejad Z, Mousavi Khaneghah A: The concentration of potentially toxic elements (PTEs) in eggs: A global systematic review, meta-analysis and probabilistic health risk assessment. *Trends in Food Science and Technology* 95:1–9, 2020
- EFSA: Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal* 10:2985, 2012
- Esposito M, Cavallo S, Chiaravalle E, Miedico O, Pellicanò R, Rosato G, Sarnelli P, Baldi L: Trace elements in free-range hen eggs in the Campania region (Italy) analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Environmental Monitoring and Assessment*, 188:4162016
- Gerzilov V, Datkova V, Mihaylova S, Bozakova N: Effect of poultry housing systems on egg production. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 18:953–957, 2012
- González-Álvarez D, Cabrera Jaramillo A, Cadavid Muñoz N, Agudelo-Echavarría D, Soto-Ospina A, Arango Ruiz A: Total mercury and methylmercury levels in eggs from laying hens in a mining area in Bajo Cauca, Antioquia, Colombia. *Emerging Contaminants* 9:100230, 2023
- González G, Herrador M: A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26:227-238, 2007
- Holt PS, Davies RH, Dewulf J, Gast RK, Huwe JK, Jones DR, Waltman D, Willian KR: The impact of different housing systems on egg safety and quality. *Poultry Science* 90:251–262, 2011
- Jin M, Yuan H, Liu B, Peng J, Xu L, Yang D: Review of the distribution and detection methods of heavy metals in the environment. *Analytical Methods* 12:5747–5766, 2020
- Kan CA, Rooyen JCJ-D: Accumulation and Depletion of Some Organochlorine Pesticides in High-Producing Laying Hens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26:935–940, 1978

- Khalid Z: An Updated Review on Chicken Eggs: Production, Consumption, Management Aspects and Nutritional Benefits to Human Health. *Food and Nutrition Sciences* 06:1208–1220, 2015
- Küçükyılmaz K, Bozkurt M, Herken EN, Çınar, M, Çatl AU, Bintaş E, Çöven F: Effects of rearing systems on performance, egg characteristics and immune response in two layer hen genotype. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25:559–568, 2012
- Lewko L, Gornowicz E: Effect of housing system on egg quality in laying hens. *Annals of Animal Science* 11:607–616, 2011
- Li-Chan ECY, Kim: Structure and Chemical Compositions of Eggs. U *Egg Bioscience and Biotechnology*, str. 1–95. Wiley-Blackwell, 2007
- Matt D, Veromann E, Luik A: Effect on housing systems on biochemical composition of chicken eggs. *Agronomy Research* 7:662-667, 2009
- Mine Y: Egg proteins and peptides in human health-chemistry, bioactivity and production. *Current Pharmaceutical Design* 13:875–884, 2007
- 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 and Technology* 56:6685–6696, 2021
- Pajurek M, Pietron W, Maszewski S, Mikolajczyk S, Piskorska-Pliszczynska J: Poultry eggs as a source of PCDD/Fs, PCBs, PBDEs and PBDD/Fs. *Chemosphere* 223:651–658, 2019
- Parkinson TL: The chemical composition of eggs. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 17:101–111, 1966
- Pires P.G.D.S., Bavaresco C., Prato B.S., Wirth M.L., Moraes P.D.O.: The relationship between egg quality and hen housing systems - A systematic review. *Livestock Science* 250:104597, 2021
- Piskorska-Pliszczynska J, Struciński P, Kan CA: Contaminants in eggs: dioxins/PCBs and other toxic substances and their possible health implications. U *Chemical Hazards in Foods of Animal Origin, ECVPH Food Safety Assurance*, str. 415-441. Wageningen Academic Publishers, 2018
- Pleadin J, Bogdanović T, Murati T, Kmetić I: Kemijska onečišćivala iz okoliša i njihovi ostaci u hrani životinjskog podrijetla. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* 12:19–29, 2017
- Racevičiūtė-Stupelienė A, Vilienė V, Bliznikas S, Šašytė V, Nutautaitė M: The relationship between different laying hen housing systems in Lithuania and egg production quality and chemical composition. *Cogent Food and Agriculture* 9:2211432, 2023
- Réhault-Godbert S, Guyot N, Nys Y: The golden egg: Nutritional value, bioactivities, and emerging benefits for human health. *Nutrients* 11:684, 2019

- Reilly C: Mercury. U *Metal Contamination of Food*, str. 94-99. Applied Science Publishers, 1980
- Seuss-Baum I, Nau F, Guérin-Dubiard C: The nutritional quality of eggs. U *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products*, str. 201–236. Woodhead Publishing, 2011
- Shibamoto T, Bjeldanes LF: Toxic Food Contaminants from Industrial Wastes. U *Introduction to Food Toxicology*, str. 117-132. Elsevier Science, 2012
- Szöllösi L: Current state and future prospects of the egg sector – an international outlook. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 86:95–105, 2021
- Tauson R: Management and housing systems for layers - Effects on welfare and production. *World's Poultry Science Journal* 61:477-490, 2005
- Thomas R: A beginner's guide to ICP-MS. *Spectroscopy* 17:36–41, 2002
- Tsipoura N, Burger J, Newhouse M, Jeitner C, Gochfeld M, Mizrahi D: Lead, mercury, cadmium, chromium, and arsenic levels in eggs, feathers, and tissues of Canada geese of the New Jersey Meadowlands. *Environmental Research* 111:775–784, 2011
- Turner A, Filella M: Hazardous metal additives in plastics and their environmental impacts. *Environment International* 156:106622, 2021
- 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* 23:1109–1122, 2006
- Van Overmeire I, Pussemier L, Waegeneers N, Hanot V, Windal I, Boxus L, Covaci A, Eppe G, Scippo ML, Sioen I, Bilau M, Gellynck X, De Steur, H, Tangni EK, Goeyens L: Assessment of the chemical contamination in home-produced eggs in Belgium: General overview of the CONTEGG study. *Science of the Total Environment* 407:4403–4410, 2009
- Vijeće Europske unije: Direktiva Vijeća 1999/74/EZ od 19. srpnja 1999. o minimalnim uvjetima za zaštitu kokoši nesilica. *Službeni list Europske unije* L 203:53-57, 1999
- Vincevica-Gaile Z, Gaga K, Klavins M: Food and Environment: Trace Element Content of Hen Eggs from Different Housing Types. *APCBEE Procedia* 5:221–226, 2013
- Wilschefski SC, Baxter MR: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clinical Biochemist Reviews* 40:115–133, 2019
- Wu Y-S, Osman AI, Hosny M, Elgarahy AM, Eltaweil AS, Rooney DW, Chen Z, Rahim NS, Sekar M, Gopinath SCB, Mat Rani NNI, Batumalaie K, Yap P-S: The Toxicity of Mercury and Its Chemical Compounds: Molecular Mechanisms and Environmental and Human Health Implications: A Comprehensive Review. *ACS Omega* 9:5100–5126, 2024
- Yeung V, Miller D, Rutzke M: Atomic Absorption Spectroscopy, Atomic Emission Spectroscopy, and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. U *Handbook of Trace Elements: Analysis and Speciation*, str. 129-150. Springer Nature, 2017