

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Polona HRIBAR

**RAZVOJ ANALITSKE METODE ZA DOLOČANJE VSEBNOSTI
POLIKLORIRANIH BIFENILOV V DIVJAČINSKEM MESU
RAZLIČNIH LOKACIJ**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**DEVELOPMENT OF AN ANALYTICAL METHOD FOR
DETERMINATION OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN
GAME MEAT OF DIFFERENT LOCATIONS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2008

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Delo je bilo opravljeno na Katedri za tehnologijo mesa in gotovih jedi Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Študijska komisija oddelka za živilstvo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Božidarja Žlendera, za somentorja dr. Tomaža Polaka in za recenzenta doc. dr. Matevža Pompe.

Mentor: prof. dr. Božidar Žlender

Somentor: dr. Tomaž Polak

Recenzent: doc. dr. Matevž Pompe

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Polona Hribar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 637.55:661.723:543.635.3(043)=163.6
- KG divjačina/divjačinsko meso/meso jelenov/meso divjih prašičev/geografsko poreklo/Slovenija/Poljska/PCB /poliklorirani bifenili/pesticidi/maščobne kisline
- AV HRIBAR, Polona
- SA ŽLENDER, Božidar (mentor)/POLAK, Tomaž (somentor)/Matevž, Pompe (recenzent)
- KZ SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2008
- IN RAZVOJ ANALITSKE METODE ZA DOLOČANJE VSEBNOSTI POLIKLORIRANIH BIFENILOV V DIVJAČINSKEM MESU RAZLIČNIH LOKACIJ
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP IX, 71 str., 18 pregl., 23 sl., 41 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Namen diplomske naloge je bil določiti vsebnost polikloriranih bifenilov v divjačinskem mesu različnih lokacij. Rezultate smo podali posebej za jelena in divjega prašiča v šestih skupinah, oblikovanih na podlagi vrste tkiva (*m. longissimus dorsi* (LD), *m. triceps brachii* (TB), slanina) in izvora mesa (Poljska in Slovenija). Pred začetkom analiz smo se posvetili razvoju metode, kjer smo izboljšali ekstrakcijo in fazo čiščenja. Ves postopek je potekal pod sterilnimi pogoji saj smo le tako lahko zagotovili optimalen signal na GC-ECD. Rezultate smo statistično obdelali z računalniškim programom SAS. Ugotovili smo da je za vsebnost PCB pomemben geografski izvor živali ter prav tako opazili razlike med jelenom in divjim prašičem. Opravili smo tudi maščobnokislinsko sestavo. Največjo vsebnost PCB smo ugotovili v slanini. Rezultati so pokazali, da je v slanini divjega prašiča poljskega porekla desetkrat več skupnih PCB kot v slanini slovenskega porekla. V Sloveniji se v jelenih izmed vseh PCB nalaga največ PCB 34 (54 ppb) in v divjih prašičih največ PCB 180 (57,5 ppb), na Poljskem pa se v jelenih in divjih prašičih akumulira največ PCB 180 (120 in 800 ppb). Določili smo tudi vsebnost nekaterih organoklornih pesticidov. Med OCP (organoklorni pesticidi) se v jelenih in divjih prašičih slovenskega porekla, ter jelenih poljskega porekla, nalaga največ dieldrina, medtem ko se v divjih prašičih poljskega izvora nalaga največ γ lindana.

KEY WORDS DOKUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 637.55:661.723:543.635.3(043)=163.6
- CX game/game meat/red deer/wild boar/geographical origin/Slovenia/Poland/PCB/
polychlorinated biphenyls/pesticides/fatty acids
- AU HRIBAR, Polona
- AA ŽLENDER, Božidar (supervisor)/ POLAK, Tomaž (co-advisor)/POMPE, Matevž
(reviewer)
- PP SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and
Technology
- PY 2008
- TI DEVELOPMENT OF AN ANALYTICAL METHOD FOR DETERMINATION
OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN GAME MEAT OF DIFFERENT
LOCATIONS
- DT Graduation thesis (University studies)
- NO IX, 71 p., 18 tab., 23 graph., 41 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The aim of graduation thesis was determination of polychlorinated biphenyls in
game meat. The results were represented separately for red deer and wild boar in
six groups. From each animal we took a sample of the following muscles: *m.*
longissimus dorsi (LD), *m. triceps brachii* (TB) and subcutaneous fat. Animals
were shot in Slovenia and Poland. Before we started with analysis, the modification
of standard method was done. We improved the extraction and clean-up step. The
whole proceeding was done under clean conditions. That we can get the best signal
for GC-ECD. Statistical analysis of the results was done by the computer programme
SAS. Content is dependent on species, muscle and hunt location. We also analysed
the fatty acid composition to see differences in feeding habits between animals.
The highest content of PCBs is in subcutaneous fat. The content of PCB is ten times
higher in subcutaneous fat of wild boar from Poland than in subcutaneous fat from
Slovenia. The highest content of PCB 34 (54 ppb) is in red deer from Slovenia and
in wild boar PCB 180 (57,5 ppb). In red deer and wild boar from Poland is the
highest content of PCB 180 (120 in 800 ppb). In red deer and wild boar from
Slovenia and red deer from Poland is the highest content of dieldrin while in wild
boar from Poland is the highest content of γ lindane.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOKUMENTATION	IV
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE	IX
1 UVOD	1
1.1 NAMEN	2
1.2 HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 KEMIJSKE LASTNOSTI ORGANOKLORNIH SPOJIN	3
2.1.1 Poliklorirani bifenili (PCB)	3
2.1.2 Dioksini - poliklorodibenzodioksine (PCDD)	4
2.1.3 Furani - poliklordibenzofurane (PCDF)	4
2.2 STRUPENOST PCB	5
2.2.1 Tetrakloro dibenzoparadioksin (TCDD) in ekvivalentni faktor toksičnosti (TEF)..	5
2.3 PCB SKOZI ZGODOVINO	6
2.3.1 Začetki uvajanja zakonodaje na področju PCB	8
2.3.2 Nesreče s PCB in bolezenski znaki	9
2.3.3 Začetki pojavljanja PCB v živilih	10
2.4 NAČINI ŠIRJENJA PCB V OKOLJU	12
2.5 BIOREMIDIACIJA	13
2.5.1 Aerobna in anarobna biorazgradnja PCB	14
2.5.2 Vplivi na hitrost biorazgradnje	16
2.6 ONESNAŽENJE S PCB V SLOVENIJI	16
2.7 HRANA IN PREHRANJEVANJE JELENOV IN DIVJIH PRAŠIČEV	18
2.8 METODE ZA DOLOČANJE ORGANOKLORNIH SPOJIN V ŽIVILIH	20
2.8.1 Metode s toplo ekstrakcijo	20
2.8.2 Metode s hladno ekstrakcijo	20
2.8.3 Ekstrakcija na trdni fazi (SPE)	21
3 MATERIAL IN METODE DELA	24
3.1 MATERIAL IN NAČRT POSKUSA	24
3.2 METODE DELA	24

3.2.1	Priprava vzorca.....	24
3.2.2	Določanje vsebnosti PCB.....	24
3.2.3	Maščobnokislinska sestava.....	27
3.2.4	Statistična analiza	29
4	REZULTATI	30
4.1	RAZVOJ METODE.....	30
4.1.1	Metoda SIST EN 1528 1 – 4: 1998: Metoda: D (hladna ekstrakcija).....	30
4.1.2	Topla ekstrakcija	30
4.2	VALIDACIJA ANALITSKE METODE	32
4.2.1	Ponovljivost metode za določanje vsebnosti PCB in OCP	32
4.2.2	Izkoristek metode za določanje vsebnosti PCB in OCP	33
4.3	VSEBNOST PCB.....	35
4.4	VSEBNOST OCP	44
4.5	MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA DIVJAČINSKEGA MESA	49
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	60
5.1	RAZPRAVA	60
5.2	SKLEPI	64
6	POVZETEK	65
7	VIRI.....	67
8	ZAHVALA.....	71

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Lastnosti posameznih PCB (EPA, 2003).....	4
Preglednica 2: Vsebnost PCB v nekaterih živilih iz Italije (Fattore in sod., 2008).....	11
Preglednica 3: Ponovljivost med paralelkami za določanje vsebnosti PCB in OCP.....	32
Preglednica 4: Izkoristki za posamezne PCB oz. OCP	33
Preglednica 5: Rezultati določanja vsebnosti PCB (ppb) v divjačinskem mesu različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	35
Preglednica 6: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na vsebnost PCB-jev v divjačinskem mesu različnega izvora.....	36
Preglednica 7: Vpliv vrste mesa, tkiva in izvora na vsebnost PCB (ppb) v divjačinskem mesu (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).....	37
Preglednica 8: Rezultati določanja vsebnosti OCP (ppb) v mesu jelenov in divjih prašičev različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	44
Preglednica 9: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na vsebnost OCP-jev v divjačinskem mesu različnega izvora.....	45
Preglednica 10: Vpliv vrste mesa, mišice in izvora na vsebnost OCP v divjačinskem mesu (ppb) (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).....	46
Preglednica 11: Maščobnokislinska sestava (ut. %) mesa jelenov različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	49
Preglednica 12: Maščobnokislinska sestava (ut. %) mesa divjih prašičev različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.....	50
Preglednica 13: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na maščobnokislinsko sestavo mesa jelenov in divjih prašičev različnega izvora.....	52
Preglednica 14: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na nekatere pokazatelje maščobnokislinske sestave divjačinskega mesa različnega izvora.....	53
Preglednica 15: Vpliv vrste živali, mišice in izvora na maščobnokislinsko sestavo divjačinskega mesa (ut. %) (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).....	54
Preglednica 16: Vpliv vrste mesa, mišice in izvora na nekatere pokazatelje maščobnokislinske sestave divjačinskega mesa (ut. %) (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).....	57
Preglednica 17: Primerjava vsebnosti PCB v različnem mesu.....	61
Preglednica 18: Primerjava dobljenih rezultatov o vsebnosti MK z rezultati iz literature.....	62

KAZALO SLIK

Slika 1:	Shematski prikaz strukture PCB (Wiegel in Wu, 2000).....	3
Slika 2:	Poti PCB v okolju (Lovrenčič, 2001).	13
Slika 3:	Shema principa ekstrakcije na trdni fazi (Brodnjak Vončina, 2006).....	23
Slika 4:	Kromatogram standarda PCB.....	34
Slika 5:	Kromatogram standarda OCP.....	34
Slika 6:	Vpliv vrste živali, mišice in izvora na vsebnost skupnih PCB.....	38
Slika 7:	Vpliv vrste živali in izvora na vsebnost skupnih PCB v mastnini.....	39
Slika 8:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 26.....	39
Slika 9:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 34.....	40
Slika 10:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 43.....	40
Slika 11:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 52.....	41
Slika 12:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 106.....	41
Slika 13:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 116.....	42
Slika 14:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 153.....	42
Slika 15:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 156.....	43
Slika 16:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 180.....	43
Slika 17:	Vpliv vrste živali, mišice in izvora na vsebnost skupnih OCP.....	47
Slika 18:	Vpliv vrste živali in izvora na vsebnost skupnih OCP v mastnini.....	47
Slika 19:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost γ lindana.....	48
Slika 20:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost dieldrina.....	48
Slika 21:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora živali na vsebnost NMK.....	58
Slika 22:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora živali na vsebnost ENMK.....	59
Slika 23:	Vpliv vrste živali, tkiva in izvora živali na vsebnost VNMK.....	59

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

DDD	diklorodifenildikloroetan
ECD	electron capture detector
ENMK	enkrat nenasičene maščobne kisline
EPA	Environmental Protection Agency
FDA	Food and Drug Administration
GC	plinska kromatografija
HCB	benzenheksaklorid
HCH	heksaklorocikloheksan
IA	indeks aterogenosti
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Internacionalno združenje za uporabno kemijo)
IVZ	Inštitut za varovanje zdravja
LD	<i>longissimus dorsi</i>
LLE	ekstrakcija tekoče-tekoče
MEMK	metilni estri maščobnih kislin
MK	maščobne kisline
NMK	nasičene maščobne kisline
OCP	organoklorni pesticidi
OECD	Organizacija za gospodarsko sodelovanje in razvoj
PCB	poliklorirani bifenili
PCDD	poliklorodibenzodioksin
PCDF	poliklorodibenzofuran
PCT	poliklorirani trifenili
PL	Poljska
POP	persistant organic pollutants (ostanki organskih onesnažil)
PTFE	teflon
SEPO	Skupina za oceno posegov v okolje pri Inštitutu Jože Štefan
SLO	Slovenija
SPE	ekstrakcija na trdni fazi
TB	<i>triceps brachii</i>
TCDD	tetraklorodibenzoparadioksin
TEF	ekvivalentni faktor toksičnosti
TEQ	ekvivalentna stopnja toksičnosti
TOZD	Temeljna organizacija združenega dela
VNMK	večkrat nenasičene maščobne kisline
WHO	World Health Organization

1 UVOD

Po pestrosti naravnih razmer sodi Slovenija v sam evropski vrh. Razgibanost reliefa, velika gozdnatost in geografska lega na stičišču alpskega, mediteranskega, panonskega ter dinarskega sveta, vse to ustvarja pestrost slovenskega prostora, ki se kaže tudi v veliki pestrosti favne in s tem tudi divjadi. Današnja razširjenost in številčnost divjadi v Sloveniji je rezultat naravnih razmer, različnosti v preteklosti veljavne zakonodaje, stopnje socialnoekonomskega razvoja posameznih regij in tradicionalnosti odnosov do divjadi, oziroma vse favne. Številčnost in razširjenost divjadi sta danes precej drugačni, kot sta bili v preteklosti. Ko si te spremembe podrobneje ogledamo, vidimo da so bila dogajanja v populacijah divjadi pri nas podobna kot v večjem delu Evrope. Posledice so na eni strani naraščajoča številnost in prostorsko širjenje velikih rastlinojedov, na drugi strani pa nazadovanje vrst, navezanih na specifične razvojne oblike gozda. (Adamič, 1988).

V naravi se nahaja veliko ostankov pesticidov, med njih spadajo tudi poliklorirani bifenili (PCB), ki sicer po svojem namenu niso pesticidi, vendar so po strukturi in farmakološkem delovanju močno podobni pesticidom družine DDT (diklorodifeniltrikloroetan), le še bolj strupeni in nevarnejši so.

PCB so skupina organskih molekul z visoko stopnjo toksičnosti in odpornosti. Skupno je poznanih 209 različnih spojin, ki se med seboj razlikujejo po položaju in številu atomov klora na benzenovih obročih. Njihove ugodne fizikalno-kemijske lastnosti so omogočile široko uporabo v industriji, s tem pa so PCB zaradi lipofilnosti in obstojnosti postali povsod razširjeni onesnaževalci. Zaradi njihove velike uporabnosti v industriji in nepravilnega ravnanja z njihovimi odpadki, je prihajalo tudi do velikih nesreč, ki so na ljudeh, po stiku s PCB pustili trajne posledice ali celo povzročili smrt.

Z izjemo poklicne izpostavljenosti (delavci v kemični in elektro industriji, poljedelci) je glavni vir lipofilnih organoklornih onesnaževalcev za človeka onesnažena hrana, zlasti tista, ki je bogata z lipidi. Organoklorni onesnaževalci, ki jih zaužijemo s hrano, se absorbirajo v steni prebavnega trakta in potujejo vezani z lipoproteini in s proteini (albumini) po krvi oz. s hilomikroni po limfi. V posamezna tkiva prehajajo z difuzijo. Obseg razgradnje organoklornih onesnaževalcev v organizmu je majhen. Posledica tega je njihovo počasno izločanje iz organizma in znatna bioakumulacija.

Na biokoncentriranje organoklornih onesnaževalcev vpliva predvsem vsebnost lipidov v tkivu, kakor tudi njihova sestava. Prav tako lahko nekatere pregrade, kot so biološke membrane, vplivajo na prehod organoklornih spojin. Te prehajajo preko celičnih membran s pasivno difuzijo, zato so sprva domnevali, da je njihov prehod odvisen le od lipofilnosti spojine. Kasneje so ugotovili, da na prehod vpliva še število in položaj klorovih atomov v molekuli PCB, ter debelina membrane in njena površina.

Najvišje koncentracije teh snovi so zasledili v bližini prometnih in industrijskih središč. V okolju se vežejo na različne organske snovi. Rastline jih vsrkavajo iz onesnaženega zraka, oziroma preko korenin iz onesnažene zemlje ali vode. Rastlinojede živali jih pridobijo iz onesnaženih rastlin, mesojede pa iz mesa onesnaženih živali.

Glavni problem s PCB je kontaminirana voda in meso živali, ter s tem prenos na človeka. Zato je smotno pridobiti čim več podatkov o koncentracijah PCB v hrani in na sploh v človeku. Ocenjeno je da meso in mesni izdelki prispevajo 14-19 % k naraščajočim toksičnim posledicam PCB, v primerjavi z ostalo hrano.

1.1 NAMEN

Meso in mesni izdelki so pomemben sestavni del naše prehrane, zato je bil namen te diplomske naloge ugotoviti vsebnost PCB v posameznih mišicah jelena in divjega prašiča, slovenskega in poljskega porekla. Z maščobno kislinsko analizo smo želeli ugotoviti raznolikost prehranjevanja obeh živalskih vrst in vpliv različne geografske lokacije.

1.2 HIPOTEZE

Pri živalih poljskega porekla smo pričakovali večje vrednosti PCB kot pri živalih slovenskega porekla. Glede na večjo topnost PCB v maščobah, smo pričakovali večje vsebnosti v tkivih divjega prašiča kot v tkivih jelena. Posledično smo predvideli večjo vsebnost PCB v slanini, glede na ostale mišice.

Sklepamo, da se bosta maščobnokislinski sestavi jelenjega in prašičjega mesa razlikovali zaradi različnih prehranjevalnih navad, ter da bodo zaradi tega tudi različne vsebnosti PCB v obeh živalskih vrstah.

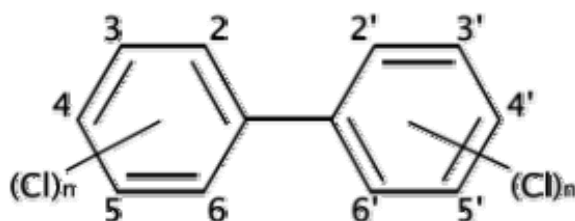
2 PREGLED OBJAV

2.1 KEMIJSKE LASTNOSTI ORGANOKLORNIH SPOJIN

2.1.1 Poliklorirani bifenili (PCB)

Poliklorirani bifenili (PCB) so skupina kemijskih spojin, sestavljenih iz dvojnega benzenovega obroča, na katerega so z zunanje strani (na enem od desetih možnih položajih) vezani atomi klora. Skupno je 209 spojin razvrščenih v skupine, ki se med seboj razlikujejo po številu in položaju atoma klora na zunanjem delu molekule. PCB so ksenobiotiki, kar pomeni, da te spojine v naravi niso nikoli obstajale, so sintetične. Zaradi razlik v obliki molekul se vsaka molekula PCB obnaša drugače. Razlikujemo težko in lažje klorirane PCB, odvisno od koncentracije klora, ki ga vstavijo pri proizvodnji (Sott in sod., 2008).

PCB so večinoma tekočine in smole obstojne do 1300 °C. Proizvajali so jih namerno in jih zaradi negorljivosti, kemične stabilnosti, visokega vrelišča ter električnih izolacijskih lastnosti uporabljali v industriji kot sredstva za prenos toplote, hidravlične tekočine, izolacijska in protipožarna sredstva, v proizvodnji transformatorjev, kondenzatorjev, prisotni pa so lahko tudi v gradbenem materialu, strojnih mazilih, premazih, mehčalnih in črnilih. Večina zgoraj naštetih primerov uporabe je sedaj zakonsko prepovedana. PCB se lahko koristijo le v posebne namene in pod posebnimi pogoji. V kolikor pa je oprema s PCB še v uporabi, pa se odpadna olja iz teh strojev stalno nadzirajo (Costabeber, 2006).



Slika 1: Shematski prikaz strukture PCB (Wiegel in Wu, 2000).

Pri sintezi PCB nastajajo dioksini in dibenzofurani, ki spadajo med zelo toksične spojine na svetu. Dioksini so okrajšava za poliklorodibenzodioksine (PCDD), furani pa za poliklordibenzofurane (PCDF). Skupini predstavljata 49 klorodioksinov in 87 klorodibenzofuranov. Dioksini, furani in PCB so halogenirane organske spojine s podobnimi kemičnimi in biološkimi značilnostmi. Razgrajujejo se zelo počasi in so razvrščeni med dvanajst za okolje najbolj škodljivih obstojnih organskih onesnažil ali POP (persistent organic pollutants). Zanje so bili v svetu sprejeti najstrožji ukrepi nadzora tehnologij in varstva okolja (Stenberg in Andersson, 2008).

2.1.2 Dioksini - poliklorodibenzodioxine (PCDD)

Dioksini so lahko tudi naravnega izvora, glavnina (ca 80 %) pa nastaja kot stranski produkt pri gorenju in sežiganju različnih snovi: gorenje premoga, olja, s kemikalijami zaščitene lesa, ob požarih v naravi, vulkanski aktivnosti, sežigu komunalnih in industrijskih odpadkov, proizvodnji pesticidov, najdemo jih v cigaretne dimu, v nekaterih kemijskih procesih: pri postopkih beljenja papirja ali tekstila s klorom ali podobnimi spojinami, pri proizvodnji predmetov splošne rabe (zobne paste, kozmetika, plastika,...) in ob izgorevanju dizelskega goriva. Dioksini v zraku se lahko širijo daleč od vira onesnaženja, zato jih najdemo po vsem svetu (McKay, 2002).

2.1.3 Furani - poliklordibenzofurane (PCDF)

Furani so brezbarvne, hlapne tekočine, ki se uporabljajo v kemični industriji. Ne spadajo med dioksinske substance, čeprav se jih pogosto označi z dioksini. Včasih se uporablja izraz furani za v naravi prisotne dibenzofurane, ki imajo značilnosti dioksinov (McKay, 2002).

Preglednica 1: Lastnosti posameznih PCB (EPA, 2003).

Opis	št. kongenere	IUPAC ime
CP1, 2M	26	2,3',5'-triklorobifenil
CP1, 2M	34	2,3',5'-triklorobifenil
4CL, 2M	43	2,2',3,5-tetraklorobifenil
4CL, 2M	52	2,2',5,5'-tetraklorobifenil
CP1, 4CL, 2M	106	2,3,3',4,5-pentaklorobifenil
4CL, 2M	116	2,3,4,5,6-pentaklorobifenil
4CL, PP, 2M	153	2,2',4,4',5,5'-heksaklorobifenil
CP1, 4CL, PP, 2M	156	2,3,3',4,4',5-heksaklorobifenil
4CL, PP, 2M	180	2,2',3,4,4',5,5'-heptaklorobifenil

CP0 – non – orto pozicija klorirana
CP1 - mono – orto pozicija klorirana
4CL – 4 ali več klorirane substituentne
PP – obe para poziciji klorirani
2M – 2 ali več meta pozicije klorirane

2.2 STRUPENOST PCB

V tehničnih izdelkih ali živih sistemih so odkrili vsega skupaj 135 sorodnih spojin PCB. V večini sorodnih spojin PCB so klorovi atomi enakomerno porazdeljeni med fenilnima obročema. S toksikološkega vidika sta najpomembnejša položaja 2 in 6, tako imenovana orto položaja. Klorov atom je precej velik, zato se pri številnih zamenjavah s klorom na mestih 2 in 6 bifenilno ogrodje zviije okrog osi. Pri večini molekul sta dva ali več klorovih atomov v orto položaju, v tem primeru je molekula bolj planarna. Če PCB nimajo zasedenih orto položajev, nastanejo sorodne spojine, tako imenovani koplanarni PCB, ki so prisotni v sledovih le v tehničnih izdelkih. Poliklorirani dibenzofurani nastajajo kot naključni stranski proizvodi med sintezo PCB, ki je katalizirana z železom. Nastajajo tudi pri nepopolnem zgorevanju, na primer v transformatorjih, ki vsebujejo PCB, v izdelkih, kjer se uporabljajo kot medij za prenos toplote in v drugih oblikah odpadnih PCB, ki so izpostavljeni vročini ali ognju (Koppe in Keys, 2004).

2.2.1 Tetrakloro dibenzoparadioksin (TCDD) in ekvivalentni faktor toksičnosti (TEF)

Poliklorirani dibenzo-p-dioksini so močno povezani z dibenzofurani. 2,3,7,8-tetra kloro spojino, sorodno PCB, so prvič odkrili kot stranski produkt pri herbicidih 2,4,5-triklorokislinah. TCDD (tetrakloro dibenzoparadioksin) nastaja tudi pri zgorevanju ob prisotnosti klora. TCDD spada med ene najbolj strupenih snovi, kar je posledica njene interakcije s citoplazemskim proteinom v živi celici, imenovanim Ah-receptor. Rezultat je motena encimska proizvodnja. Ta učinek prek Ah-receptorja, pogosto imenujejo efekt dioksinskega tipa. TCDD je za človeka rakotvoren, saj je strup, ki prizadene jetra, živce in kostni mozeg. Različni klorirani dioksini so dobili vrednost TEF (ekvivalentni faktor toksičnosti), pri čemer je bila sposobnost TCDD, da sproži aktivnost aril-ogljikovodikove hidroksilaze prek Ah-receptorja, dodeljena vrednost 1. Dokazano je bilo da različni klorirani dibenzofurani učinkujejo podobno kot dioksini, zato jim je bilo mogoče pripisati vrednost TEF. Učinek je v splošnem nekoliko šibkejši v primerjavi z dioksinom z enakim vzorcem zamenjave. Sposobnost dioksinu podobnega učinkovanja je povezano tako s planarnostjo molekule kakor s specifičnim vzorcem klorove zamenjave. Nekatere sorodne spojine PCB so dovolj planarne, da je njihov učinek dioksinskega tipa majhen, to velja zlasti za koplanarne spojine. Isto velja za molekule PCB z enim samim orto klorovim atomom pri še nižji vrednosti TEF. Skupni učinek dioksinskega tipa pa se izraža kot produkt vrednosti TEF in celotne prisotne količine. Zaradi tega je lahko celoten učinek dioksinskega tipa sorodnih spojin PCB, z enim orto klorom precejšen, saj so prisotne v živih organizmih v relativno visokih koncentracijah.

Večina sorodnih spojin PCB v bioloških vzorcih in tehničnih izdelkih ima dva ali več orto substituentov. Te molekule so preveč zvite, da bi se lahko vezale na Ah-receptor. Njihova vrednost TEF je enaka nič. Učinkujejo podobno fenobarbitalu in tako na delovanje različnih encimov vplivajo drugače kot dioksini (Koppe in Keys, 2004).

2.3 PCB SKOZI ZGODOVINO

Leta 1865 so odkrili prvo molekulo PCB v katranski smoli, prvič pa je bila sintetizirana v laboratoriju leta 1881. Patološko stanje, imenovano klorakne so identificirali do leta 1899. Gre za bolečo kožno bolezen, za katero je značilno razbarvanje kože, prizadene pa ljudi, ki imajo pri delu opravka z organskim klorom. Do leta 1914 so v okolje odvrgli večje količine PCB, kar je povzročilo pogin velikega števila ptic. Leta 1929 se je začela industrijska proizvodnja v ZDA, uporabljali pa so ga v proizvodnji izolacije. PCB se je od leta 1930 do sredine osemdesetih let uporabljal v elektroindustriji. Ker so bile mešanice z višjim deležem klora bolj obstojne, so se uporabljale za komercialno rabo. Proizvajali so jih pod različnimi imeni, eno izmed njih je Arochlor, ki se je uporabljal tudi v Sloveniji. Države zahodne Evrope, ZDA in Japonska so v letih od 1930 do 1989 proizvedle 1.054.800 ton PCB, od tega je bilo v elektroindustriji uporabljeno 48,7 % proizvedenega PCB (Koppe in Keys, 2004).

PCB so bili na trgu dobro sprejeti, saj so zamenjali izdelke, ki so bili vnetljivi, manj stabilni in so zavzemali več prostora. Nova skupina kemikalij je omogočala izdelavo manjših, lažjih in kot so sprva menili, varnejših električnih naprav. Med drugo svetovno vojno so v ZDA odigrali zelo pomembno vlogo (Koppe in Keys, 2004).

Med letoma 1929 in 1988 je svetovna proizvodnja PCB (brez Sovjetske zveze in Kitajske) znašala okrog 1 milijona ton. Konec tridesetih let prejšnjega stoletja je ameriški proizvajalec PCB Monsanto nedvomno že poznal negativni učinek na zdravje ljudi izpostavljenih PCB. Monsanto je agro-biotehnološka korporacija, ki izdeluje herbicide. V gospodarskih družbah Halowax v New Yorku je leta 1936 več delavcev, ki so bili izpostavljeni PCB (takrat imenovanim klorirani difenili) in sorodnim kemikalijam - kloriranim naftalenom, zbolelo za kloraknami. Pri dveh do treh umrlih so pri avtopsiji ugotovili hudo okvaro jeter. Gospodarska družba je zaprosila raziskovalca Cecila K. Drinkerja z Univerze v Harwardu za pomoč pri tem primeru. Rezultate svoje raziskave je predstavil na srečanju leta 1937, ki so se ga udeležili predstavniki podjetji Monsanto, General Electric, Halowax, ameriške nacionalne službe za zdravstveno varstvo in državni uslužbenci, odgovorni za zdravje iz Massachusettsa in Connecticuta. Podobno kot pri delavcih iz Halowaxa so se tudi pri podganah, ki jih je Drinker uporabil za testiranje, pokazale resne okvare jeter. Rezultati so bili objavljeni, vendar niso zbudili večje pozornosti pri snovalcih politike. Kljub temu da Drinkerjev članek ni zbudil večje

pozornosti, je pa opozoril medicino dela, organe ki so se ukvarjali s predpisi o delu in proizvajalce na nevarnosti, povezane s PCB (Francis, 1998).

Leta 1949 je eksplozija v tovarni PCB povzročila, da so bili delavci izpostavljeni herbicidu 2,4,5-T ki je bil pomešan z dioksinom. Ta mešanica je kasneje postala herbicid Agent Orange. Prva prava uporaba dioksina (v širšem pomenu besede) je bila tako zabeležena med letoma 1961 in 1971, ko se je ta herbicid uporabljal v Vietnamski vojni. Zaradi njega so bila tudi evakuirana mesta Times Beach in Missouri leta 1983 in Love Canal na področju Niagarskih slapov leta 1978. Poleg tega so v zadnjih tridesetih letih v Vietnamu zabeležili številne teratogene učinke, za katere znanstveniki menijo, da so povzročeni s strani zgoraj omenjenega herbicida. Takrat so se začele tudi študije o morebitnem kancerogenem delovanju, zato so leta 1956 v tovarni Monsanto uvedli obvezno uporabo zaščitne opreme (Chamie in sod., 2008).

Soren Jensen je bil švedski raziskovalec ki je prvi opozoril na vsesplošno razširjenost PCB v okolju. Leta 1966 je Jensen, ki je tedaj raziskoval DDT (diklorodifeniltrikloroetan), v mišicah švedskih belorepcev po naključju odkril neznano spojino. Odkril je, da so bile pri orlih, ki se hranijo z morskimi ribami, koncentracije bistveno večje kot pri ribah s teh območij. Sklepal je da so te kemikalije trajno prisotne v živih tkivih in se težko razgrajujejo. Skrivnostne spojine so bile izjemno stabilne celo v ekstremnih razmerah, ko so bile izpostavljene delovanju vrele koncentrirane žveplove kisline. Jensen je po dveletnem raziskovanju odkril metodo za razlikovanje DDT od PCB, tako je tedaj bilo znano, da so PCB prisotni skoraj v vseh človeških tkivih. Leta 1969 je objavil izsledke svojih raziskav, iz katerih so bile razvidne zelo velike koncentracije PCB v precejšnjem delu favne Baltiškega morja. PCB so več kot 37 let vstopali v okolje v velikih količinah in se kopičili v prehranjevalni verigi (Koppe in Keys, 2004).

V šestdesetih letih je postalo očitno, da rodnost pri vseh treh vrstah tjuinov, živečih v Baltskem morju, upada. Do sedemdesetih let je bilo neplodnih že skoraj 80 % vseh samic. Nekatere študije so pokazale povezavo s prisotnostjo težko razgradljivih onesnaževal- pri vseh treh vrstah so izmerili visoke vrednosti DDT in PCB. Odkrili so tesno povezanost med bolezenskimi spremembami na maternicah in povečanimi koncentracijami onesnaževal, zlasti PCB. Nadaljnje raziskave so potrdile domnevo, da povečane vrednosti PCB niso samo vzrok nepravilnosti v delovanju reproduktivnih organov pri tjuinjih, temveč tudi drugih simptomov, kot so poškodbe kože in plavuti, črevesja, ledvic, nadledvičnih žlez in okostja (Bernes, 1998).

Konec šestdesetih so se začela pojavljati časopisna poročila o prisotnosti PCB v okolju, zato je podjetje Monsanto v javnem zagovoru zanikalo, da bi bile sporne kemikalije PCB. Vendar je leta 1969 do tega vprašanja podjetje na tihem zavzelo drugačno stališče, kar je razvidno iz njihovega internega načrta za zmanjšanje onesnaževanja, v katerem je priznalo,

da problem vključuje celotne Združene države, Kanado in dele Evrope, zlasti Veliko Britanijo in Švedsko, ter da bodo zagotovo kmalu prizadeti tudi drugi predeli Evrope, Azije in Latinske Amerike. Dokazi o onesnaženosti so prišli iz nekaterih zelo oddaljenih delov sveta. V načrtu je bilo tudi zapisano, da zaustavitev proizvodnje ne pride v poštev, ker bi to pomenilo prekinitev dotoka dobička, postavilo pa bi se tudi vprašanje odgovornosti, saj bi tako priznali krivdo za njihova dejanja (Francis, 1998).

Skozi sedemdeseta leta je bilo vedno več dokazov o PCB kot povsod prisotnih onesnaževalcih okolja. Našli so jih celo na Arktiki. Na Nizozemskem so odkrili, da velike količine PCB vstopajo v okolje iz reke Ren. V mestecu Lobith ob nemški meji so znašali izmerjeni vnosi v letih od 1976 do 1981 med 14.300 in 24.000 kg. Večina PCB je bila vezana na fini mulj v suspenziji. Vrednosti v usedlinah so bile zaradi tega največje tam, kjer so bili rečni pretoki najnižji. Največje koncentracije so izmerili v usedlinah v pristanišču Rotterdam, 12 do 24 mg/kg. Ker so te usedline uporabljali v obdelovalni zemlji, pridobljeni z izsušitvijo morja, je znašala stopnja onesnaženosti na Nizozemskem kar 5.000 kg PCB na leto. V ribah, ujetih ob nizozemski obali, so bile koncentracije izredno velike. Rečne in jezerske jegulje, ki so jih testirali leta 1977 in 1988 so imele od 3,0 do 131 mg/kg PCB. PCB so odkrili v ribah, minkih (kanadska kuna zlatica), morskih pticah in ljudeh, ter s temi študijami okrepili dokaze o boakumulaciji PCB. Prav tako so bili dokumentirani dokazi o dejanski ali domnevni škodi, ki jo je tako kopičenje povzročilo (Koppe in Keys, 2004).

Leta 1971 je podjetje Monsanto spoznalo, da je njihov javni ugled omajan, zato je prostovoljno omejilo ponudbo vrste zmesi PCB s skupnim trgovskim imenom Aroclor na tiste izdelke, v katerih je bila stopnja zamenjave s klorom manj kot 60 masnih odstotkov. Poleg tega so spremenili sestavo enega od Aroclorov tako, da so znižali delež PCB, ki so vsebovali veliko klorovih atomov. Ta poteza je bila posledica tedanjega znanstvenega prepričanja, da naj bi bile molekule z manj klorovimi atomi manj strupene. Žal je bil zgoraj opisani pogled preveč poenostavljen (Koppe in Keys, 2004).

2.3.1 Začetki uvajanja zakonodaje na področju PCB

Leta 1972 je Švedska na podlagi poročil o prisotnosti in učinkih PCB na okolje prepovedala uporabo teh snovi za zunanjo uporabo, kot so tesnila, barve in plastika, zaradi nepredvidljivih posledic za okolje. Prvi ukrep mednarodne vladne organizacije so uvedli leta 1973, ko je Svet Organizacije za gospodarsko sodelovanje in razvoj (OECD) sprejel odločitev C (73) 1 o zaščiti okolja z nadzorom nad polikloriranimi bifenili. Odločitev je bila sprejeta zaradi zaskrbljenosti nad onesnaževanjem okolja zaradi uporabe PCB in njihovih učinkov na okolje in zdravje. Članicam OECD je nalagala, da prepovedo njihovo uporabo v novih izdelkih za zunanjo uporabo. Vendar so precej PCB še naprej uporabljali

v tako imenovanih zaprtih sistemih, kot so transformatorji, najbrž zato, ker so bili tehnični problemi in stroški povezani z njihovo zamenjavo, po tedanjih merilih preveliki. (Koppe in Keys, 2004).

Prav tako je v ZDA kongres odgovoril na nevarnosti, povezane z uporabo PCB in drugih strupenih kemikalij. Leta 1976 so sprejeli Zakon o nadzoru nad strupenimi snovmi. Čeprav je pravno urejal vse kemijske spojine, so zaradi resnosti grožnje, ki so jo pomenili PCB, posvetili poseben člen izključno tem snovem. Nobena druga kemikalija ni bila deležna take pozornosti. Med razpravo o senatni verziji zakona je senator Nelson, avtor tega člena, poudaril, da so PCB v okolju močno razširjeni in so zato velika potencialna nevarnost za zdravje ljudi in živega sveta. Člen je določal, da se smejo PCB po preteku enega leta po začetku veljavnosti zakona proizvajati, predelovati, prodajati in uporabljati le še v popolnoma zaprtih sistemih. Osemnajst mesecev pozneje so prepovedali vsako proizvodnjo, predelavo in prodajo PCB. V Veliki Britaniji so opustili proizvodnjo leta 1978, v ZDA leta 1979. Žal pa se je industrijska proizvodnja drugod, zlasti v nekaterih vzhodnoevropskih državah, nadaljevala vse do sredine osemdesetih let (Janousek in sod., 1994).

Ministrske konference o Severnem morju so bile skupaj s konvencijami iz Osla in Pariza pomemben mednarodni impulz, ki je spodbudil ukrepe v zvezi z nevarnimi snovmi. Na prvi konferenci leta 1984 so ugotovili, da je treba povečati hitrost zmanjševanja rabe in izpustov PCB. Na drugi konferenci leta 1987 so sklenili, da se morajo vrednosti spojin ki so strupene, težko razgradljive in se kopičijo v živih organizmih, znižati za 50% do leta 1995. Leta 1990 so na tretji konferenci o Severnem morju sprejeli poseben načrt o postopnem puščanju uporabe PCB in njihovem varnem odstranjevanju do leta 1999 (Koppe in Keys, 2004).

Evropska skupnost je leta 1996 pozvala k opustitvi uporabe PCB in PCT (polikloriranih trifenilov) do leta 2010. Vendar se še vedno uporabljajo transformatorji z olji, ki vsebujejo PCB. Ker se ti starajo in rjavijo, narašča nevarnost iztekanja v okolje. Približno sto let za tem ko so bili potrjeni prvi resni negativni učinki PCB, je bil končno dosežen sporazum o resnosti grožnje glede nevarnosti PCB-spojin (Koppe in Keys, 2004).

2.3.2 Nesreče s PCB in bolezenski znaki

Prvi primer, ki je odjeknil v javnosti zaradi nevarnih učinkov na človekovo zdravje, je bila množična zastrupitev 1800 ljudi, ki so zaužili onesnaženo riževo olje, leta 1968 na Japonskem. Ugotovili so, da je olje vsebovalo precej kanekloro 400, vrsto PCB, ki naj bi odtekal iz tovarniškega toplovodnega sistema. Posledice so bile resne zdravstvene težave pri ljudeh, ki so uživali oporečno olje (Yao in sod., 2002).

Prvi klinični znaki so bili nenavadna kožna bolezen s konjunktivitizom, otekanje očesnih vek in klorakne. Telesa žrtev, vključno z okončinami, so pokrivali aknam podobni gnojni mehurčki. Med najbolj običajnimi simptomi so bili pigmentiranje nohtov, kože in membrane sluznic, povečano potenje dlani, hud glavobol, otekli sklepi in občutki slabosti. Približno polovica obolelih je nepretrgano kašljala in pri tem izločala sluz, kar je imelo za posledico kronični bronhitis. Te dihalne motnje so povezane z vsebnostjo PCB v krvi. Šele po več kot desetih letih so ti simptomi začeli izginjati. Med žrtvami, ki so uživale olje, onesnaženo s PCB, so bile tudi noseče ženske. Od enajstih dojenčkov, rojenih tem materam, sta bila dva mrtvorojena. Vsi so bili zaostali v rasti, imeli obarvano kožo in gnojni izcedek iz oči, njihovi nohti pa so bili pigmentirani. Poznejše študije na otrocih so pokazale, da je njihova rast upočasnjena, inteligenčni količnik nizek, njihovo vedenje pa apatično in topo. Pri vseh bolnikih iz Yusha so ugotovili povečano umrljivost za rakom na jetrih in v dihalnem sistemu. Obremenitev njihovih teles z dioksinom je znašala približno 450 mikrogramov ekvivalentne stopnje toksičnosti (TEQ) na kilogram, pri čemer niso vštete količine fenobarbitalu podobnih PCB (Todaka in sod., 2007).

Odmevnost te nesreče se kaže tudi v tem, da od tega dogodka naprej v japonščini obstaja nova beseda (yusho), ki označuje bolezen japonskega riževega olja. Pojavila so se vprašanja, kdo je pravi povzročitelj težav, PCB ali njihovi razgradnji produkti. Vsi so bili enotni, da imajo PCB, ki so podvrženi segrevanju, škodljive učinke na ljudi in da prisotnost PCB v predelavi hrane lahko povzroči nesreče, kakršna je bila opisana (Koppe in Keys, 2004).

Leta 1979 je človeštvo prejelo še en drag opomin o veliki škodljivosti PCB za njegovo zdravje. Na Tajvanu se je 2.000 ljudi zastrupilo z onesnaženim riževim oljem. Dogodek, imenovan Yucheng, je bil deležen večje pozornosti javnosti in je sprožil več odmevov kot nesreča Yusho v šestdesetih letih, kar je bilo posledica spremenjenega zavedanja o PCB kot onesnaževalcih okolja. Oboleli so imeli enake klinične znake kot tisti v nesreči Yusho. Otroke, rojene materam, ki so uživale onesnaženo olje, so preučevali v vrsto let trajajoči študiji. Četrtnina vseh je umrla pred četrtem letom starosti zaradi okužb dihalnih poti. Še pri osmih letih so imeli otroci deformirane nohte in so trpeli za kroničnim vnetjem srednjega ušesa, povezanim z bronhitisom. Poznejše študije na odraslih žrtvah nesreče Yucheng so pokazale več kožnih alergij, kloraken, glavobol, boleznih hrbtenice in sklepov ter golšavosti (Ikeda, 1996).

2.3.3 Začetki pojavljanja PCB v živilih

V osemdesetih letih se je razumevanje pojava PCB povečalo, ko so spoznali, da se PCB med bioakumulacijo (kopičenjem v živih sistemih) in biodegradacijo (biološko razgradnjo) spreminjajo. Tako so lahko ponovno razlagali številne starejše neprepričljive študije in

pojasnili navidez nasprotujoče si dokaze. Sklepali so, da se med bioakumulacijo v prehranjevalni verigi povečuje koncentracija sorodnih spojin PCB z višjim deležem klora, zaradi česar se PCB v analiziranih vzorcih bistveno razlikujejo od originalnih zmesi Aroklora (Schwartz in sod., 1987). Izkazalo se je, da so bioakumulirani PCB bolj strupeni od komercialnih zato, ker so nekatere sorodne spojine PCB bolj obstojne. Minki, ki so jih hranili z ribami iz Velikih jezer, okuženimi s PCB, so kazali znake zastrupitve jeter in reproduktivnih organov, primerljive z znaki pri minkih, ki so jih hranili s trikratnim odmerkom Aroklora 1254 (Hornshaw in sod., 1983).

Prisotnost PCB so v osemdesetih letih dokazali tudi v človeškem mleku. Zaradi visokih vrednosti PCB v nizozemskem okolju ostajajo vrednosti teh spojin med nizozemsko populacijo med najvišjimi na svetu – povprečne vrednosti v maščobnem tkivu znašajo med 1,6 in 2,5 mg/kg maščobe. Prve objavljene študije o možnih učinkih na razvoj otroka izvirajo ravno iz osemdesetih let. Značilne so nepravilnosti v delovanju žlez z notranjim izločanjem. Otroci so bolj dovzetni za strupene učinke PCB kot odrasli, ker so zanje značilna razvojna obdobja, tako imenovana časovna okna, ko se razvijajo presnovni sistemi (Koppe in Keys, 2004).

Preglednica 2: Vsebnost PCB v nekaterih živilih iz Italije (Fattore in sod., 2008).

Živilo	enota	PCB kongenere						Σ PCB
		PCB 28	PCB 52	PCB 101	PCB 138	PCB 153	PCB 180	
žita in žitni proizvodi	pg/g	8,35	5,01	1,89	2,17	2,46	1,41	21,3
sadje in zelenjava	pg/g	6,32	3,89	2,62	7,42	10,5	19,1	49,5
maščobe in olja	ng/g maščobe							
rastlinska olja		0,65	0,35	0,56	1,42	1,51	0,57	5,05
živalska maščoba		0,13	0,11	0,13	0,63	1,16	0,46	2,61
ribje olje		0,79	3,44	9,18	23,2	25,5	8,09	70,2
ribe	ng/g	0,24	0,55	1,06	2,69	2,74	0,99	8,27
meso	ng/g maščobe							
perutnina		0,77	0,96	0,89	5,34	2,31	2,03	12,7
svinjina		0,45	0,66	0,58	1,54	2,34	1,23	6,80
jetra		0,50	1,02	0,52	1,16	2,88	0,70	6,79
mleko in mlečni izdelki	ng/g maščobe	1,48	0,99	1,01	2,57	3,21	1,47	10,7

2.4 NAČINI ŠIRJENJA PCB V OKOLJU

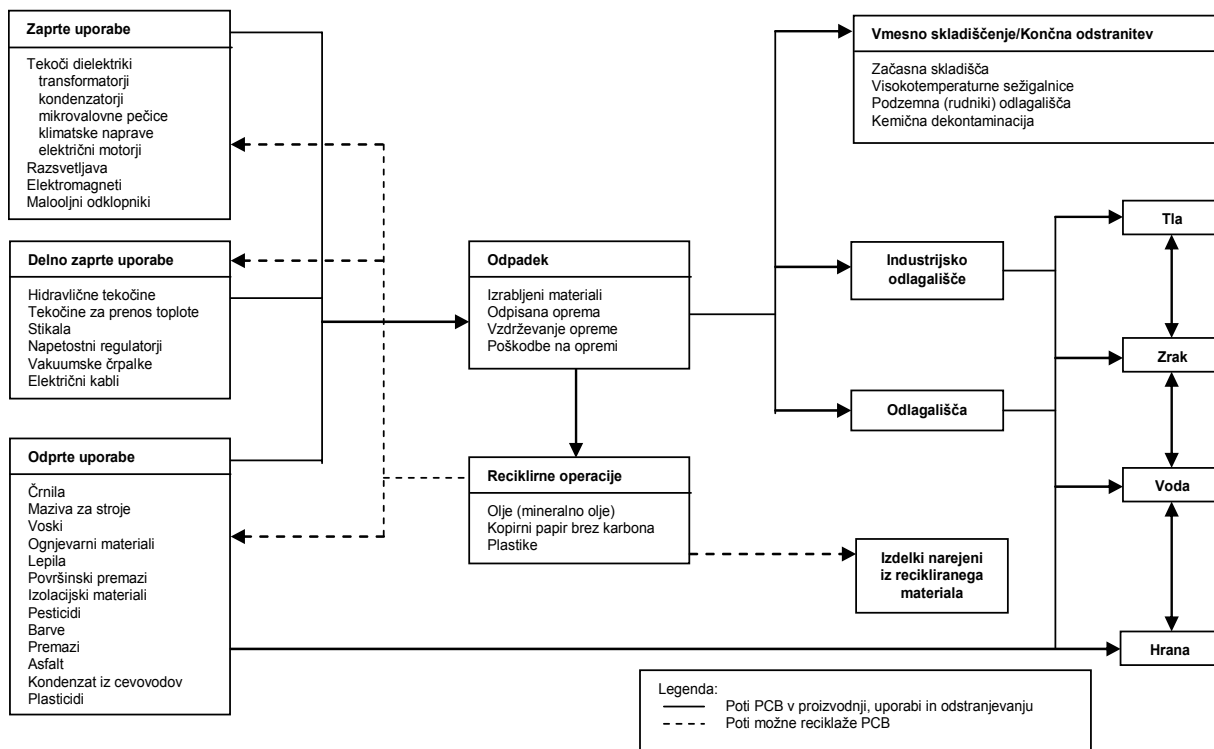
Pri razgradnji ali sežiganju izdelkov, ki vsebujejo PCB, precej teh kemikalij preživi zaradi svoje stabilnosti. Pri nepopolnem izgorevanju in siceršnji razgradnji PCB nastajajo in se sproščajo izredno strupeni poliklorirani dibenzofurani. Med komercialno uporabo transformatorjev in kondenzatorjev ter zaradi nepravilnega odlaganja opreme ali izdelkov so se dogajali tudi naključni izpusti PCB in sorodnih onesnaževal v okolje iz domnevno nepredušno zaprtih vsebovalnikov s PCB (Koppe in Keys, 2004).

Transport PCB v okolju je kompleksen in različen ter odvisen tako od fizikalno-kemijskih parametrov (topnost, hlapnost, absorpcija/desorpcija, porazdelitveni koeficient, razgradnja hidrolitične, fotolitične reakcije) kot tudi od bioloških, ekoloških in ostalih značilnosti okolja. Usodo PCB v okolju lahko shematično razdelimo v naslednje faze: vir onesnaženja (emisija), transport v okolju (zrak, voda, sedimenti, biosfera), fizikalno-kemijske in biološke spremembe (biokoncentracija, biomagnifikacija, bioakumulacija in biorazgradnja), izpostavljenost ljudi in živali (prehrambena veriga-kritične poti vnosa-doze) (Polič in sod., 1993).

Za določitev (napoved) usode transporta PCB v okolju so pomembni predvsem naslednji empirično pridobljeni fizikalno-kemijski parametri PCB v okolju:

- hlapnost in topnost PCB v vodi,
- izhlapevanje PCB iz onesnažene zemljine je odvisno od temperature, vlažnosti in debeline onesnažene zemljine oz. prekrivnega sloja,
- absorpcija PCB na substratih (zemljina, sedimenti; pri koncentracijah PCB v vodi od 100 do 200 ng/l se količine absorbiranega PCB v sedimentu gibljejo med 1 in 50 µg PCB/kg suhe snovi),
- fazna porazdelitev PCB v vodnih sistemih (Polič in sod., 1993).

V poznih devetdesetih letih so razne organizacije priznale, da se je v preteklosti na odlaganje odpadkov, ki vsebujejo PCB v reke, potoke in odprta odlagališča gledalo kot na sprejemljivo, zakonito in nevarno početje. PCB so včasih spuščali v okolje tudi namenoma, tudi zaradi manjšega prašenja nekaterih cest ali kot dodatke v pripravkih določenih pesticidov za uporabo v poljedelstvu. Gledano nazaj, je bilo tako ravnanje neustrezno in potencialno škodljivo. Ko so PCB sproščeni, lahko hlapijo ali se razpršijo v obliki aerosola in se tako širijo v okolje. Močni zračni tokovi v smeri jug-sever, zlasti prek zahodne Evrazije, so omogočili selektivno kopičenje PCB in določenih pesticidov na Arktiki, ki so jo nekoč imeli za prvinsko okolje. PCB so skupaj s pesticidi DDT, HCH in HCB odkrili v nizkih koncentracijah (0,01-40 nanogramov na gram suhe snovi) v vseh vzorcih sladkovodnih površinskih sedimentov z Aljaske, iz severne Kanade, z Grenlandije, Norveške, Finske in iz Rusije. Sladkovodni in morski ekosistemi praviloma vsebujejo večje koncentracije PCB kakor kopenski (Koppe in Keys, 2004).



Slika 2: Poti PCB v okolju (Lovrenčič, 2001).

2.5 BIOREMEDIACIJA

Bioremediacija je obdelovalni postopek, ki temelji na naravnih procesih, pri katerih mikroorganizmi spremenijo okoljsko onesnaževanje v tleh, podtalnici in sedimentih do neškodljivih končnih produktov. Bioremediacija je za svojo nizko ceno izredno učinkovita metoda odstranjevanja nečistoč, v nekaterih primerih pa je to edina praktična rešitev za čiščenje. Konvencionalne remediacijske metode za kontaminirana tla in podtalnico so počasne, drage, povečujejo število ogroženih lokacij ter izpostavljajo ljudi. Bioremediacija pa temelji na naravno potekajočih biogeokemijskih procesih (oksidacija in redukcija). Bioremediacijska okolja so največkrat večfazna, heterogena in neizenačena. V tleh na primer so kontaminanti vezani na delce prsti, so raztopljeni v talni tekočini ali pa so del talne atmosfere. Mikrobi morajo biti prisotni v dovolj velikem številu, pomembna pa je tudi njihova raznolikost, da lahko opravijo pričakovane, pogosto zelo raznolike naloge (Raičević in sod., 2007).

2.5.1 Aerobna in anarobna biorazgradnja PCB

Biodegradacija v glavnem razdelimo na dva procesa:

- V aerobnem okolju (prisotnost kisika): vključuje reakcije z mono in dioksisgenazami, v zadnjem delu reakcije se vključi še voda. Proces imenujemo oksidativna deklorinacija ali hidrolitična dehalogenizacija.
- V anaerobnem okolju (odsotnost kisika): akceptorji elektronov so anorganske snovi – nitrati, sulfati, CO. Proces imenujemo reduktivna deklorinacija (Abramowicz, 1995).

Teoretično bi morali na koncu biorazgradnje ostati le še CO₂, H₂O in klor, glavni produkt pa je kljub temu benzoat. Proces vključuje odstranitev atomov klora iz bifenilnih obročev in razpad ter oksidacija preostalega bifenila (Borja in sod., 2005). Trdoživost PCB se povečuje s stopnjo kloriranosti bifenilnih obročev. Čeprav je aerobni način razpada kloriranih ksenobiotikov z ekološkega vidika nedvomno zelo pomemben, je reduktivna deklorinacija predvsem bolj zanimiva zaradi hitrega nastanka anaerobnih pogojev v onesnaženih mikrobnih habitatih, kjer je torej onemogočeno delovanje aerobnih organizmov (Tanasković, 2001).

2.5.1.1 Aerobna razgradnja

Prva poročila o bioremedaciji segajo v leto 1973, ko so znanstveniki poročali o vrsti bakterije iz rodu *Achromobacter*, ki naj bi razgrajevala več vrst izomerov PCB. Sledila so poročila o drugih rodovih npr. *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* in *Acinetobacter*, ki naj bi vsebovali bakterije sposobne biodegradacije. Te bakterije naj bi v glavnem razgrajevale mono, di in triklorobifenile, le malo je takih, ki razgrajujejo visoko klorirane bifenile. Odkrili so namreč, da so bifenili z več kot tremi klorovimi atomi na obroču bolj odporni na razgradnjo, predvsem če so ti na mestih 2,2' ali 2,6' (Kolar in sod., 2007).

Po raziskavah sodeč se zdi, da je v vseh primerih razgradnje končni produkt benzoat. Vendar se nadaljnja razgradnja le tega razlikuje od vrste do vrste bakterije (Borja in sod., 2005).

Na Japonskem so že uspeli klonirati zaporedje treh do štirih posebnih genov za ta tip razgradnje pri mikrobu *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. Ta tip je primeren samo za manj klorirane bifenile. Sposobnost razgradnje PCB po tej poti imajo pripadniki rodov *Pseudomonas*, *Alcaligenes* in *Acinetobacter* (Herman, 1990).

Lastnosti aerobne razgradnje (Borja in sod., 2005):

- večje število klorovih atomov zmanjšuje hitrost razgradnje PCB
- dva klorova atoma v orto poziciji na istem ali na dveh aromatskih obročih PCB inhibirata biorazgradnjo (razen 2,4,6-triklorobifenil, ki ga razgrajuje bakterije *Acinetobacter* sp.)
- če so klorovi atomi na obeh obročih, potem se bo prvi hidroksilirani obroč z manj klorovimi atomi
- PCB, ki imajo klorove atome le na enem obroču, se hidroksilirajo hitreje kot PCB, ki imajo sicer enako število klorovih atomov, vendar porazdeljene po obeh obročih.

Torej 3,4-diklorobifenil se bo prej metaboliziral kot 3',4'-diklorobifenil, razgradnja poteka hitreje, če je substituiran ogljikov atom med dvema nesubstituiranima ogljikovima atomoma. Visoko klorirani PCB z 2,3,4-triklorofenilno skupino so odporni proti biorazgradnji. Razpad najraje poteče na nesubstituiranem obroču PCB, ki imajo klorove atome na 2. ali 3. mestu, npr. 2,2',3,3'-tetraklorobifenil, 2,2',3,5'-tetraklorobifenil, 2,2',3',4,5-pentaklorobifenil se raje razgrajujejo kot ostali tetra in penta klorirani bifenili (Borja in sod., 2005).

2.5.1.2 Anaerobna razgradnja

Znanstveniki so naredili velik korak naprej z opazovanjem globljih delov rečnih sedimentov v PCB onesnaženi reki Hudson v ZDA. Ugotovili so namreč, da imajo preiskovani PCB drugačno sestavo od ostalih, ki so jih našli na kopnem. Po dolgotrajnem raziskovanju ali so razlike posledica fizikalnih procesov kot so npr. adsorpcija, izhlapevanje ali samo premikanje reke ali pa je to mogoče mikrobiološko spodbujeni proces, se je pokazalo, da je sprememba strukture molekule posledica reduktivne deklorinacije v anaerobnem okolju sedimenta. Anaerobna biorazgradnja je značilna za najbolj klorirane ter meta in para substituirane PCB. Pokazalo se je tudi, da so bile na različnih delih sedimenta tudi drugačne oblike deklorinacije. Slednje je še posebej nasprotovalo trditvam, da bi lahko fizikalni procesi vplivali na strukturo molekule (Abramowicz, 1995). Kljub mnogim raziskavam, se je le malo zvedelo o organizmih, ki anaerobno razgrajujejo PCB. Do leta 1990 je bila izolirana bakterija s to sposobnostjo (Borja in sod., 2005).

Obstaja več poti reduktivne deklorinacije, kar je posledica različnih mikrobnih populacij, ki lahko razgrajujejo PCB. Za skupno lastnost pa velja, da se meta in para substituirani PCB raje razgrajujejo kot orto. Posledica je kopičenje PCB z orto pozicijo klorovih atomov. Do leta 1994 je bilo uspešno razgrajenih le nekaj orto substituiranih PCB (Borja in sod., 2005).

Anaerobna reduktivna deklorinacija vključuje zamenjavo klorovega atoma z hidrogenim atomom na bifenilnem obroču. Tak tip biodegradacije spreminja visoko klorirane PCB (npr. Arochlor 1254 in 1260, ki sta bila uporabljena tudi v Sloveniji) v nizko klorirane. Produkti so manj toksični in se lahko razgradijo na aeroben način. Kombinacija aerobne in anaerobne razgradnje je tudi eden od načinov zmanjševanja PCB v okolju (Borja in sod., 2005).

2.5.2 Vplivi na hitrost biorazgradnje

Prisotnost različnih ogljikovih spojin zavira biodegradacijo PCB. Te postanejo namreč primarni vir energije za mikroorganizme. Lahko pa se zgodi, da se nekatere snovi razgrajujejo delno ali popolnoma, čeprav ima organizem že svoj primarni vir energije. Ta fenomen imenujemo kometabolizem ali kooksidacija. Kosubstrat bifenil je najpomembnejši faktor, ki vpliva na razgradnjo PCB. Ampak ker bifenil iz zemlje hitro izginja, ga je potrebno konstantno dodajati v potrebnih količinah, tako se vzdržuje višja stopnja deklorinacije. Kljub temu so raziskave pokazale, da sama adicija bifenila in klorofenila še ne stimulira mikroorganizmov k bioremedaciji PCB. Dodati je namreč treba še en mikroorganizem, za katerega se ve, da razgrajuje PCB. Biodegradacija PCB je lahko v zemlji tudi več kot 50-krat počasnejša kot v laboratorijih, zaradi vezave PCB na površino zemlje. Zadostna koncentracija PCB v okolju še spodbuja biodegradacijo, prevelike količine pa so za mikroorganizme že toksične. Večje je število kloriranih ogljikovih atomov, počasnejša je bioremediacija. Svojevrsten vpliv na hitrost biodegradacije imata tudi temperatura in pH (Abramowicz, 1995).

2.6 ONESNAŽENJE S PCB V SLOVENIJI

Med ekološkimi nesrečami zadnjih let je v slovenski javnosti najbolj odmevalo onesnaževanje belokranjske Krupe s PCB. Onesnaženost Krupe je pokazalo prikrito onesnaževanje okolja z nevarnimi snovmi, širjenje onesnaževanja tudi v manj razvitih slovenskih pokrajinah in razbilo mit o zanesljivi čistosti modernih industrijskih panog. Onesnaženost okolja s PCB v Beli krajini je poznan javno zdravstveni problem v Republiki Sloveniji. Zadnje proučevanje obremenjenosti prebivalcev s PCB je bilo opravljeno v letih 1990 in 1991. V letu 2005 je bila opravljena pilotna raziskava o obremenjenosti bivalnega okolja s PCB (naročnik študije je bil Urad RS za kemikalije). Rezultati te študije so pokazali, da je obremenjenost okolja s PCB še vedno primerljivo enaka, kot pred 15 leti (Harlander in Miljavac, 2007).

Leta 1962 je Iskra v Semiču, takratni TOZD Kondenzatorji, začela s proizvodnjo polnjenja kondenzatorjev. Odpadne kondenzatorje (tehnološki odpad) so odlagali na več odlagališč.

V letu 1984 je SEPO (Skupina za oceno posegov v okolje pri Inštitutu Jožef Štefan) identificirala odlagališča odpadnih kondenzatorjev na ožjem in širšem območju tovarne, ki so bila leto kasneje tudi delno ali v celoti sanirana. Po bilanci uporabe PCB v Iskri Semiču od leta 1962 pa do leta 1985 je razvidno, da so emisije v okolje znašale približno (računano na čisti PCB) 70 do 75 ton, kar dobro ponazarja naslednji pregled: do leta 1969 so v tovarni uporabljali PCB firme Bayer (Nemčija) Clophen A-50, ki je vseboval 50% klororanih produktov in Clophen A-30 s 30% kloriranih produktov, od tedaj pa do leta 1985 pa PCB firme Prodelec (Francija) z imenom Pyralene 1500 (Polič in sod., 1993).

Na osnovi razširjenih analiz, s katerimi je bila leta 1983 ugotovljena velika onesnaženost reke Krupe, rečnih sedimentov in rib s PCB, so upravni organi v letu 1984 zahtevali sanacijo ozemlja, onesnaženega s PCB. Zaradi strokovno zelo zahtevne interdisciplinarne problematike onesnaževanja okolja s PCB je takratni izvršni svet Republike Slovenije novembra leta 1984 imenoval komisijo za koordinacijo strokovnega dela pri reševanju onesnaženosti reke Krupe pri naslednjih glavnih nalogah:

- izdelava začasnih navodil o ravnanju z izdelki, ki vsebujejo PCB;
- stalen inšpekcijski nadzor tovarne in izvajanje ukrepov o prepovedi uporabe vode iz reke Krupe;
- sanacija odlagališč odpadnih kondenzatorjev;
- nadzor nad prehrabnimi izdelki;
- meritve onesnaženosti zraka;
- spremljanje zdravstvenega stanja delavcev Iskre;
- prepoved uporabe vode iz reke Krupe za pitje, napajanje, ribolov in kopanje;
- dokončna izgradnja vodovoda
- izgradnja skladišča posebnih odpadkov, onesnaženih s PCB (Polič in sod., 1993).

Po 1. februarju 1985 (v avgustu 1985 so bili na sežig v Francijo odpeljani zadnji odpadki, ki so vsebovali PCB) je Iskra nadaljevala proizvodnjo kondenzatorjev z uporabo nekloriranih impregnatorjev. Med sanacijo onesnažene zemlje (zgraditev trajnega skladišča posebnih odpadkov) je bilo izkopano okoli 18.000 m³ kontaminirane zemljine, ki je bila sortirana na čisto (pod 10 mg PCB/kg) in nečisto s sprotim analitskim preverjanjem. Vsa kontaminirana zemljina, označena kot nečista, skupaj okoli 7.000 m³, je bila trajno odložena v posebnem betonskem vodotesnem pokritem skladišču, ki so ga začeli graditi maja 1986. Po ocenah SEPO je v skladišču trajno izoliranih 30 do 50 ton odpadnega PCB, to je količina, ki jo je bilo moč zajeti in fizično odstraniti iz okolja z vseh evidentiranih odlagališč. Preostale količine PCB, emitiranega v okolje (20-40 ton) v 20-letnem obdobju proizvodnje, so bile oziroma bodo še podvržene naravnim asimilacijskim procesom in prenosu v različne elemente okolja (Polič in sod., 1993).

Ob vseh prej izvedenih sanacijskih ukrepih in dejavnostih tovarne, inšpekcijskih in zdravstvenih služb ter drugih, je bilo in bo še vedno potrebno spremljati obremenitve

okolja s PCB. V letu 1991 so se začele širše raziskave v projektu raziskovalnega projekta »Ocena zdravstveno-ekoloških razmer na območju Bele krajine v zvezi z ekološko obremenitvijo s polikloriranimi bifenili in sorodnimi spojinami«, katerega nosilec je bil Univerzitetni zavod za zdravstveno in socialno varstvo iz Ljubljane. Cilj tako razširjenih meritev, ki so sledile prejšnjemu programu meritev od leta 1984 naprej, je bil oceniti ekološke obremenitve in zdravstvene posledice na prebivalstvu na izpostavljenih območjih ter učinkovitost vseh izpeljanih ekoloških in medicinskih ukrepov. Meritve ekološke obremenitve PCB na ogroženem območju so obsegale:

- meritve ostankov PCB v zemljini ogroženega območja, ki so ga določili v radiu zračne črte 7 km od lokacije vira onesnaženosti (Iskra Semič-Vrača)
- v gospodinjstvih v naseljih, ki so na zgoraj opisanem in omenjenem ogroženem območju, so odvzeli in analizirali vzorce avtohtono pridelanih živil rastlinskega in živalskega porekla ter vzorce pitne vode, ki so jih analizirali na vsebnost PCB (Polič in sod., 1993).

2.7 HRANA IN PREHRANJEVANJE JELENOV IN DIVJIH PRAŠIČEV

Vse živali, ki si jim v evoluciji kremplje na okončinah nadomestila kopita, imenujemo kopitarji. Mednje spadata tudi jelen in divji prašič. Vse kaže da je ta sprememba nastala zaradi potrebe po hitrejšem premikanju in uspešnejšemu prehranjevanju z rastlinami. Živeči kopitarji pripadajo dvema rodovoma, lihoprstim kopitarjem in sodoprstim kopitarjem (jelen in divji prašič). Razvoj okončine kopitarjev prikazuje prilagajanje na nomadski način življenja v odprtih pokrajini. Vzporedno z razvojem okončin pa je potekal tudi razvoj zobovja, lobanje in prebavnega sistema. Vsi kopitarji so kopenske živali, ki se prehranjujejo z rastlinsko hrano (listje, zelišča, cvetovi, sadeži, semena, trave). Le prašiči so se razvili v bolj vsejede živali, njihova prehrana obsega tudi korenine, gomolje in hrano živalskega izvora. Razen redkih izjem se vsi kopitarji prehranjujejo stoje. Pri samem hranjenju si ne morejo pomagati s sprednjimi okončinami. Hrano lahko pobirajo z rastlin ali s tal samo z ustnicami, zobmi ali jezikom, ki so temu primerno oblikovani (McDonald, 1996).

Glavna sestavina rastlin so ogljikovi hidrati (sladkor, škrob, celuloza), malo pa je maščob in beljakovin. Kot kaže, pomanjkanje maščob kopitarji ne občutijo preveč, saj jih je veliko celo brez žolčnika in s tem brez soli, ki omogočajo raztapljanje maščob in njihovo razgradnjo. Kritično pa je pridobivanje beljakovin (sestavni deli beljakovin so amino kisline, ki so gradbeni elementi za rast in obnovo tkiv v telesu) (McDonald, 1996).

Najpogostejši rastlinski vir beljakovin so semena, ki so ponavadi majhna, raztresena po pokrajini in zato težko dosegljiva v zadostnih količinah. Lažje dosegljivo je listje, ki pa še posebno ob dozorelosti, vsebuje pretežno samo ogljikove hidrate, ki o v dveh oblikah: kot

v vodi topna celična vsebina in kot vlaknata celična stena, zgrajena iz celuloze – za sesalce neprebavljive snovi. V prehrani kopitarjev velik del pripada celulozi, ki je ne morejo razgraditi, zato imajo v prebavilih posebne predele s simbiotskimi mikroorganizmi, ki jo spremenijo v uporabno obliko. Med sodoprstimi kopitarji so brez simbiotov le svinje, ki se hranijo z manj vlaknato hrano (McDonald, 1996).

Pri sodoprstih kopitarjih, med katere spadata tudi jelen in divji prašič, ki se prehranjujejo z bolj vlaknato hrano (prežvekovalci in žuljevinarji), sta se razvila dva različna sistema fermentacije celuloze. Pri prežvekovalcih služi kot fermentacijski prostor (kjer mikroorganizmi predelujejo celulozo) eden izmed sprednjih prekatov želodca. Za to skupino je tudi značilno, da živali poleg razgrajene celuloze prebavijo simbiotske mikroorganizme. Zapletena zgradba želodca jim omogoča ločevanje že prebavljene hrane, ki gre skozi situ podoben ustroj v zadnji del prebavil, od še neprebavljene, ki se fermentira, nato pa gre nazaj v usta, kjer jo žival ponovno prežveči (prežvekovanje). Od tu potuje v drugi del želodca in naprej, dokler se s pomočjo encimov ne razgradi. Dobra stran takšnega načina prebave je visok izkoristek celuloze, slaba pa, da hrana ostane dolgo v telesu (do 4 dni). Zaradi tega prežvekovalci predelajo količinsko manj hrane kot neprežvekovalci (McDonald, 1996).

Pri lihoprstih kopitarjih pa poteka fermentacija v zadnjem delu prebavne cevi (slepo,debelo črevo). Čeprav je proces presnove celuloze biokemično enak kot pri prežvekovalcih, slabše prebavijo celulozo (ker se hrana ne vrne v usta v ponovno mletje), hrana pa se v telesu zadržuje polovico manj časa. To pomeni, da lahko živali iz te skupine použijejo več hrane. Ob primerjavi obeh sistemov vidimo, da je fermentacija v zadnjem delu prebavil manj učinkovita pri prehrani z mladim, nizkim rastlinjem. Mlade rastline namreč vsebujejo dokaj visok delež beljakovin, in nudijo vsa potrebna hranila že v malih količinah, kar bolje izkoristijo prežvekovalci. Ti pa so manj učinkoviti pri hranjenju tam, kjer je hrane veliko, a je slabe kakovosti (stare, visoke rastline z malo beljakovin). Da bi zadostili vse potrebe po beljakovinah, bi je morali namreč zaužiti velike količine, česar pa ne morejo zaradi dolgotrajnega zadrževanja hrane v telesu (McDonald, 1996).

Vsrkavanje snovi, ki so nastale z razgradnjo beljakovin, v stene prebavil in naprej po telesu je pri obeh različicah fermentacije podobno. Pri prežvekovalcih pa je razvit še dodaten sistem, s katerim ponovno uporabijo sečnino, z dušikom bogato odpadno snov, ki se pri drugih sesalcih izloči razredčena z vodo v obliki seča. Z njo se hranijo mikroorganizmi v fermentacijskem delu želodca. Ker kasneje te organizme prebavijo, pomeni, da dušik iz sečnine posredno izkoriščajo za svojo prehrano. Druga prednost izkoriščanja seča pa se kaže v tem, da živali ne potrebujejo toliko vode. Lihoprsti kopitarji kar najbolj izkoristijo hranilne snovi, ki so v sadežih, še posebej pa sladkorje. To dosežejo tako, da jih vsrkavajo iz prebavil, še preden pridejo do predela, kjer poteka fermentacija celuloze. Prežvekovalci pa fermentirajo sadje v vampu, in s tem hrana veliko izgubi na hranilni vrednosti. Med

kopitarji je več vrst prežvekovalcev kot tistih s fermentacijo v zadnjem delu prebavil. Verjetno je vzrok temu večja prilagodljivost prvih, ki zaradi sposobnosti izkoriščanja dušika iz sečnine in izkoriščanja mikroorganizmov kot vir beljakovin, niso tako odvisni od hrane kot vira nujno potrebnih aminokislin. Zato so se lahko omejili na ožji izbor rastlinske hrane kakor lihoprsti kopitarji (McDonald, 1996).

2.8 METODE ZA DOLOČANJE ORGANOKLORNIH SPOJIN V ŽIVILIH

Za določanje organoklorinih pesticidov (OPC), PCB, dioksinov in furanov je poznanih več metod. Vse te metode zajemajo tri glavne faze, ki so:

- ekstrakcija maščobe iz živila,
- čiščenje oziroma odstranitev maščobe iz ekstrakta,
- določitev vsebnosti OCP oz. PCB.

Poznanih je več metod za ekstrakcijo maščobe iz živila. V glavnem pa jih razdelimo v dve skupini: hladna ekstrakcija in topla ekstrakcija, te pa se med seboj razlikujejo še po različno uporabljenih topilih. Druga faza temelji na kolonski kromatografiji, kjer je možna uporaba različne stacionarne in mobilne faze. Za določanje OCP, PCB, dioksinov in furanov se uporablja plinska kromatografija pri kateri se lahko uporabi več različnih detektorjev. Spodaj je navedenih le nekaj različnih metod, ki smo jih zasledili v literaturi.

2.8.1 Metode s toplo ekstrakcijo

Abad in sodelavci (2002) predlagajo za ekstrakcijo maščobe različna topila, glede na naravo živila. Tako predlagajo za ekstrakcijo maščob iz piščančjega in puranjega mesa metodo po Soxhletu, 24 h urno ekstrakcijo z mešanico toluen : cikloheksan (1:1), za mleko predlagajo ekstrakcijo z organskim topilom (dietileter, petrol eter,...), za maslo in olje pa predlagajo direktno raztopitev v n-heksanu. Za odstranitev organskega matriksa predlagajo uporabo žveplene kisline, medtem ko PCB ostanejo v n-heksanski frakciji. Pred procesom čiščenja predlagajo koncentriranje z rotavaporjem. Na podlagi uporabe večplastne kolone predlagajo izvedbo prečiščevanja, s predhodnim filtriranjem in uporabo večkratnega čiščenja z ekstrakcijo s trdno fazo (SPE), ki vsebujejo aluminijeve spojine ali aktivno oglje, ter eluiranje z različnimi topili, kot so n-heksan : diklorometan (98:2) in (1:1), toluen, pri različnih pretokih.

2.8.2 Metode s hladno ekstrakcijo

Atuma in Aune (1999) predlagata za ekstrakcijo mešanico n-heksan : dietil eter (1:1), nato centrifugiranje pri $2500 \times g$ 10 minut in pobiranje zgornje organske faze v stehtano

epruveto in ponovitev ekstrakcije. Za odstranitev topila predlagata uporabo nežnega toka dušika in gravimetrično določitev vsebnosti maščobe. Za odstranitev lipidnih in polarnih komponent predlagata raztopitev ekstrahirane maščobe v n-heksanu in obdelavo s koncentrirano žvepleno kislino. Po centrifugiranju pri $3000 \times g$ 15 minut in zbiranju organske faze predlagata ponovno ekstrakcijo kislinske faze z n-heksanom in združitev obeh faz, ter uporabo nežnega toka dušika, za odstranitev topila. Za nadaljevanje postopka predlagata nanos ekstrakta na silika SPE kolono in dvakratno eluiranje z n-heksanom in mešanico n-heksan : dietil eter (3:1).

Waliszewski in sodelavci (1997) predlagajo pomešanje vzorca z natrijevim sulfatom in izvedbo ekstrakcije z uporabo petroletra, prenos ekstrakta v predhodno stehtano bučko z okroglim dnom, odstranitev topila z rotavaporjem, ter gravimetrično določanje maščobe. Nato predlagajo prenos ekstrakta v epruveto s steklenim zamaškom in dodatek žveplene kisline ter močno stresanje, da se ločijo organske faze, sledi prelitje supernatanta preko natrijevega sulfata in spiranje s petroletrom.

FDA (2000) navaja za ekstrakcijo maščobe iz živila uporabo Buchnerjevega lija, ki je napolnjen s predhodno homogeniziranim in pomešanim vzorcem z natrijevim sulfatom. Kot topilo navaja uporabo petroletra. Skozi Buchnerjev lij se z vakuumsko črpalko in filtrirnega papirja prečrpa maščoba. Predlagajo večkratno filtriranje in združitev tako dobljenih ekstraktov. Sledi izpiranje ekstrakta skozi kolono napolnjeno z natrijevim sulfatom. Za odstranitev odvečnega topila pa predlagajo uporabo steklenih koncentradorjev (Kuderna-Danish). Za postopek čiščenja navajajo uporabo večplastne kolone napolnjene s florisilom in natrijevim sulfatom. Za eluiranje pa predlagajo različne koncentracije mešanice etileter : petroleter, ter zbiranje posameznih frakcij in koncentriranje v steklenih (Kuderna-Danish) koncentradorjih.

2.8.3 Ekstrakcija na trdni fazi (SPE)

Biološki materiali so kompleksni in pogosto vključujejo proteine, maščobe, soli, kisline, baze in organske komponente podobne lastnostim analita. Poleg tega je analit v vzorcu pogosto v nizkih koncentracijah. Ker večina instrumentov ne deluje direktno na matriks, je ponavadi potrebna predpriprava vzorca, da izoliramo in koncentriramo analit iz matriksa. Na splošno je analitski proces razdeljen na več korakov: vzorčenje, priprava vzorca, separacija, detekcija in analiza podatkov. Vzorčenje in priprava vzorca porabi več kot 80% analitskega časa, hkrati pa lahko priprava vzorca vključuje postopek čiščenja vzorca. Izolacija in merjenje organske komponente v biološkem matriksu posebno v nizkih koncentracijah, lahko predstavlja velik problem (Pihlar, 2004).

Zelo pomembno pri pripravi vzorca je:

- minimalna izguba vzorca,
- koeksistencialne komponente morajo biti učinkovito odstranjene,
- problemi ne smejo nastajati v kromatografskem sistemu,
- postopek mora biti ustrezen in hiter,
- nizka cena analize (Pihlar, 2004).

Tradicionalna ekstrakcija tekoče-tekoče (LLE) se sooča z mnogimi omejitvami; npr. topilo, ki se ne meša z vzorcem težko ekstrahira polarne in ionske komponente iz vode, potreben je velik volumen organskih topil, kar vpliva tudi na razredčenost. Da preprečimo te slabe strani, združimo dve glavni tehniki SPE (trdno – fazna ekstrakcija) in SPME (trdno – fazna mikro ekstrakcija), ki tvorita čiste ekstrakte za analizo. Pri SPE tehniki se vzorec prefiltrira skozi trdno fazo, ki zadrži raztopljene snovi, ki niso zaželeni, kasneje jih eluiramo z majhnim volumnom. Prednosti te tehnike so visoke koncentracije končnega ekstrakta, selektivnost in velika izbira trdnih faz, kar omogoča ekstrakcijo praktično vseh organskih ali vodnih komponent. Poleg tega ima tak sistem možnost avtomatizacije in sklopitve s kromatografijo. Slabost te tehnike je, da je včasih končna raztopina nezdržljiva z analitskim sistemom, tako da raztopino raztopimo, preostanek pa raztopimo v ustreznem topilu. Ta problem rešimo z uporabo SPME, ki je tehnika brez topila (Pihlar, 2004).

SPE ima naslednje prednosti pred običajno tekočo – tekočo ekstrakcijo:

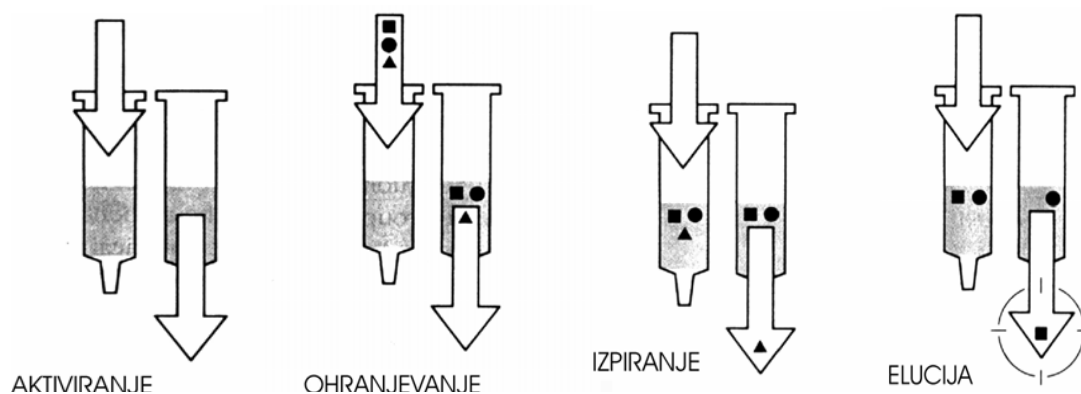
- velika ponovljivost,
- bolj učinkovite koncentracije,
- manjša poraba organskih topil,
- krajši čas priprave vzorca,
- ni težav s penjenjem,
- enostavno delovanje,
- enostavna vključitev na avtomatski proces (Brodnjak Vončina, 2006).

Princip ekstrakcije na trdni fazi

Osnove SPE so podobne kot pri LLE, le da vključuje porazdelitev komponent med dve fazi. Pri SPE je komponenta, ki jo želimo ekstrahirati porazdeljena med trdno in tekočo fazo, pri LLE je merjena komponenta porazdeljena med dvema tekočinama, ki se med seboj ne mešata. Vzorec (mobilna faza), ki vsebuje merjeno komponento, nanese na ekstrakcijsko kolono s primernim polnilom (stacionarna faza). Ko je dosežena ravnotežna porazdelitev merjene komponente med obema fazama, fazi ločimo s filtracijo ali odlitjem tekoče faze. Če je polnilo učinkovito, bo merjena komponenta bolj ali manj uspešno ekstrahirana iz tekoče v trdno fazo. Interference, polarne komponente matriksa, spiramo iz kolone z vodo oziroma s primernim puflom. Polnilo nato osušimo, tako da ga preprihamo z

zrakom (plinom), v naslednji fazi pa merjeno komponento speremo (eluiramo) iz kolone z organskim topilom (Brodnjak Vončina, 2006).

Za uspešno ekstrakcijo so pomembne naslednje stopnje: kondicioniranje kolone, odstranitev aktivacijskega topila, nanos vzorca, spiranje interferenčnih komponent, elucija merjene komponente.



Slika 3: Shema principa ekstrakcije na trdni fazi (Brodnjak Vončina, 2006).

Faze ekstrakcije na trdni fazi

Aktivacija kolone izvedemo s prehajanjem primerne topila, ki kondicionira površino trdne faze. Največkrat jo izvedemo z acetonitrilom ali s čistim metanolom. V tem koraku aktiviramo površino polnila, da se merjena komponenta bolj veže.

Odstranitev aktivacijskega topila izvedemo s tekočino, ki ima podobno sestavo kot matriks. Polnilo običajno speremo z vodo ali s pufrom pri pH-ju, pri katerem poteka ekstrakcija merjene komponente.

Nanos vzorca - polnilo bo zadržalo merjeno komponento. Volumen vzorca igra pomembno vlogo pri izkoristku ekstrakcije. Pomembna je tudi hitrost pretoka vzorca, saj je od nje odvisna kvantitativnost vezave analita na polnilo.

Spiranje interferenčnih komponent: interferenčne komponente, ki so ostale v tretji stopnji, odstranimo iz kolone s spiranjem z vodo ali s primernim pufrom. Pri tem pazimo, da ne izpiramo tudi iskane komponente.

Sušenje polnila je potrebno, da posušimo fazo pred elucijo s topilom. Običajno sušimo z zrakom ali prepihavamo s suhim dušikom. Sušenje traja običajno nekaj minut.

Elucija analita iz polnila s primernim organskim topilom: pomembno je, da elucija poteka počasi, največkrat topilo samo teče skozi kolono. Izkoristek ekstrakcije je močno odvisen od hitrosti pretoka (Brodnjak Vončina, 2006).

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 MATERIAL IN NAČRT POSKUSA

V poskus smo vključili jelene in divje prašiče, slovenskega in poljskega izvora. Vsaka skupina je zajemala po štiri živali. Uplen živali ter transport trupov sta potekala po ustaljenih postopkih (Uradni list Republike Slovenije, 2004). Iz triglave nadlahtne mišice *m. triceps brachii* (TB) smo za vzorec odvzeli sredinski del mišice, iz dolge hrbtne mišice *m. longissimus dorsi* (LD) smo za vzorec odvzeli meso med prvim in četrtem ledvenim vretencem. Za analize smo prav tako odvzeli tudi slanino. Analizirali smo 48 vzorcev, vse analize smo opravili v paralelkah. V vzorcih smo določili vsebnost PCB, OCP in maščobnokislinsko sestavo. Rezultate analiz smo statistično obdelali.

3.2 METODE DELA

3.2.1 Priprava vzorca

Pred analizo smo vzorce narezali na majhne koščke in jih homogenizirali s kuhinjskim sekljalnikom (Philips, Cucina 220 W, Kitajska) do pastozne mase. Tako pripravljene vzorce smo vakuumsko zapakirali v polietilenske vrečke, da smo preprečili oksidacijo, in shranili v zmrzovalnik pri $-20\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

3.2.2 Določanje vsebnosti PCB

Priprava florisila:

Florisil smo preko noči žarili v žarilnih lončkih pri 360 °C , sledilo je 3 urno kondicioniranje pri 130 °C , nato ohladili v eksikatorju, ter deaktivirali tako, da smo dodali 3 ut.% vode, ter dobro premešali (predpisan postopek po proizvajalčevi specifikaciji).

Postopek:

V čašo smo odtehtali 10,000 g vzorca (pri analizah slanine, smo odtehtali 5,000 g) in 10 g Na_2SO_4 (Merck, 1.06649) (pri slanini 5 g). S stekleno palčko smo dobro premešali in vsebino dali na dvojni filter papir (Sartorius 388, FT-3-101-150) ter dodali 1,000 ml internega standarda (PCB 155, LGC Standarsd, SL 2061). Z vato pomočeno v n-heksan smo obrisali čašo in stekleno palčko, da se izognemo izgubam. Filter papir (Sartorius 388, FT-3-101-150) smo zvili in položili v Soxhlet ekstraktor (Lenz, 5.3650.37). V bučko Soxhlet ekstraktorja smo dali 120 ml n-heksana (Merck, 1.04367) in jo spojili z ekstraktorjem ter previdno segrevali na vodni kopeli ($T = 97\text{ °C}$) preko noči (18 h). Po končani ekstrakciji smo topilo oddestilirali z rotavaporjem (Büchi, R-215, vakuumsko črpalko V-700, kontrolerjem V-850 in termostatsko kopeljo B-491) (pogoji: 310 mbar,

40 °C, 7 min). Ostanek smo nanесли na steklene kromatografske kolone s stekleno frito in PTFE ventilom (35 ml) (Lenz, 5.4507.03), katere smo predhodno napolnili z n-heksanom (Merck, 1.04367), 6 g predpripravljenega florisila (Fluka, 46382) in 2 g Na₂SO₄ (Merck, 1.06649) in počakali, da se florisil usede. Kolono smo kondicionirali z n-heksanom (Merck, 1.04367) do višine 1 cm nad plastjo florisila. Pri slanini smo ostanek razredčili do 10,00 ml z n-heksanom (Merck, 1.04367) in 1,00 ml te mešanice (R = 10) nanесли na stekleno kolono. Začeli smo z zbiranjem vzorca v stekleno bučko, in sicer tako, da smo na kolono nanесли 30 ml mobilne faze, ki je bila n-heksan (Merck, 1.04367) : CH₂Cl₂ (Merck, 1.06044) (4:1). Ko je eluat iztekal, smo pazili da se kolona na vrhu nikdar ni osušila. Nato smo topilo iz eluata ponovno odparili na rotavaporju (pogoji: 310 mbar, 40 °C, 7 min; do ≈ 1,3 ml ostanka). Ostanek smo z n-heksanom (Merck, 1.04367) dopolnili do 1,5 ml. Vsebinsko smo shranili v steklene vialе (Supelco, 854165) do nadaljnjih analiz na GC-ECD. Vso steklovino smo pred analizami sprali z acetonom in do suhega posušili, da smo se izognili nadaljnji kontaminaciji s PCB.

Plinska kromatografija:

Vsebnost in deleže posameznih PCB smo določili s plinsko kromatografijo na plinskem kromatografu (Hewlett-Packard 5890, CA, ZDA) z ECD (electron capture detector). Uporabili smo Rtx-5MS (Resteck, 12641) kolono (60 m × 0,25 mm × 0,5 μm). Temperaturni program za ločevanje in detekcijo: 70 °C (5 min); 30 °C/min do 250 °C (5 min), 5 °C/min do 270 °C (5 min), 10 °C/min do 300 °C (5 min); temperatura injektorja 250 °C; injektor: split:splitless = 1:30, volumen 0,5 μl; temperatura detektorja ECD 320 °C; nosilni plin: He (čistost 6) 2,3 ml/min; maskirni plin: N₂ (čistost 6) 45 ml/min; plina detektorja: H₂ (čistost 6) 40ml/min; sintetični zrak (čistost 6) (21 % O₂) 450 ml/min. Za določitev in izvrednotenje rezultatov smo uporabili naslednje standarde PCB: standardno mešanico EPA 625/CLP Pesticide Mix (Supelco, 47914) in standardno mešanico CEN PCB Congener Mix-1 (Supelco, 47927).

Določanje relativnega faktorja odzivnosti (R_{fECD}) ECD glede na PCB 155

Za natančno kvantitativno ovrednotenje kromatogramov je treba določiti relativni faktor odzivnosti detektorja (R_{fECD}). Določili smo ga s standardnima mešanicama EPA 625/CLP Pesticide Mix (Supelco, 47914), CEN PCB Congener Mix-1 (Supelco, 47927) in internim standardom PCB 155 (LGC Standards, SL 2061), kjer je bila koncentracija 1 μg/ml posameznega OCP oz. PCB.

Račun:

$$Rf_{ECDi} = \frac{A_{PCB155}}{A_i}$$

A_i = površina pod vrhom posameznega PCB oz. OCP v standardu ($c = 1 \mu\text{g/ml}$)

$A_{PCB 155}$ = površina pod vrhom internega standarda PCB 155 ($c = 1 \mu\text{g/ml}$)

Izračun vsebnosti posameznega PCB oz. OCP z internim standardom PCB 155

Vsebnost posameznega PCB oz. OCP smo izračunali z upoštevanjem mase vzorca, relativnega faktorja odzivnosti detektorja (Rf_{ECD}) in internega standarda PCB 155. Vsebnosti so izražene v ng/g (ppb).

Račun:

$$PCB \text{ oz. OCP (ppb)} = \frac{A_i \times Rf_{ECDi} \times m_{PCB155} \times R}{A_{PCB155} \times m_{vz}} \times 1000$$

A_i = površina pod vrhom posameznega PCB oz. OCP

$A_{PCB 155}$ = površina pod vrhom internega standarda PCB 155

Rf_{ECDi} = relativni faktor odzivnosti glede na PCB 155

R = razredčitev (meso = 1; slanina = 10)

m_{PCB155} = masa internega standarda PCB 155

m_{vz} = masa vzorca

3.2.2.1 Določanje ponovljivosti z internim standardom PCB 155

Ponovljivost med paralelkami smo določili na naključno izbranem vzorcu, z dodatkom 1 ml standardne mešanice EPA 625/CLP Pesticide Mix (Supelco, 47914) ($c = 1 \mu\text{g/ml}$), 1 ml CEN PCB Congener Mix-1 (Supelco, 47927) ($c = 1 \mu\text{g/ml}$) in 1 ml internega standarda PCB 155 ($c = 1 \mu\text{g/ml}$) ter tako določili vsebnost PCB in OCP v šestih paralelkah. Ponovljivost smo ovrednotili z določitvijo koeficienta variabilnosti (KV).

3.2.2.2 Določanje izkoristka metode z uporabo standardnih mešanic in internim standardom PCB 155

Za določanje izkoristka metode in za proučevanje vpliva matriksa smo v vzorec odpipetirali 1 ml standardne mešanice CEN PCB Congener Mix-1 (Supelco, 47927) ($c = 1 \mu\text{g/ml}$) ali 1 ml standardne mešanice EPA 625/CLP Pesticide Mix (Supelco, 47914) ($c = 1 \mu\text{g/ml}$) in 1,5 ml internega standarda PCB 155 ($c = 1 \mu\text{g/ml}$) ter naprej postopali enako kot z vzorci (postopek opisan v poglavju 3.2.2.).

3.2.3 Maščobnokislinska sestava

Princip:

Maščobnokislinsko sestavo mišične maščobe smo določili z metodo, modificirano po Parku in Goinsu (1994). Za to analizo smo morali najprej pripraviti metilne estre maščobnih kislin (MEMK), ki so bolj hlapni in bolj nepolarni kot maščobne kisline. Pri postopku priprave MEMK smo izvedli ekstrakcijo in transesterifikacijo (*in situ transesterifikacija*) v eni fazi. Maščobnokislinsko sestavo smo za tem določili s plinsko kromatografijo (GC). Ta metoda je hitra, glede na toksičnost reagentov bolj varna, izognemo se tudi morebitnim izgubam MEMK.

Postopek:

V 10 ml epruvete s teflonskim pokrovčkom smo odtehtali 0,500 g homogeniziranega vzorca mišičnine ali 0,200 g homogeniziranega vzorca slanine, dodali 300 μ l metilenklorida (CH_2Cl_2 ; Merck, 1.06044) in 3 ml 0,5 M sveže pripravljene natrijevega hidroksida (NaOH; Merck, 1.06498) v metanolu (Merck, 1.06007). Epruvete smo takoj prepihali z dušikom, tesno zaprli s teflonskim pokrovčkom in premešali. Dobro premešane vzorce smo segrevali v termobloku (VLM EC1) pri 90 °C 120 minut in jih večkrat premešali. Sledilo je hitro hlajenje v ledeni vodi (0 °C). Ohlajeni zmesi smo dodali 3 ml 14 % BF_3 v metanolu (Sigma, B1252), prepihali z dušikom ter ponovno segrevali v termobloku 10 min pri 90 °C. Nato smo zmes ohladili na sobno temperaturo (23 °C) ter dodali 3 ml 10 % raztopine NaCl (Merck, 1.06404) v vodi in 1 ml heksana (Merck, 1.04371). Epruvete smo 1 minuto močno stresali, da je prišlo do čim boljše ekstrakcije MEMK iz vodne faze v nepolarno heksansko fazo in centrifugirali 10 min pri $2000 \times g$ (Eppendorf, centrifuge 5810), nakar smo odpipetirali zgornjo heksansko fazo v temne penicilinke in 0,5 μ l injicirali v plinski kromatograf s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID).

Plinska kromatografija

Deleže posameznih maščobnih kislin smo določili s plinsko kromatografijo na plinskem kromatografu Agilent Technologies 6890, s plamensko ionizacijskim detektorjem (FID). Uporabili smo kapilarno kolono $\text{SP}^{\text{TM}}\text{-2380}$ (Supelco, 24111) ($60 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,2 \mu\text{m}$). Temperaturni program za ločevanje in detekcijo: 150 °C (4 min); 4 °C/min do 180 °C (5 min), 3 °C/min do 240 °C (2 min); temperatura injektorja 250 °C; injektor: split:splitless = 1:30, volumen 0,5 μ l; temperatura detektorja FID 280 °C; nosilni plin: He (čistost 6) 2,3 ml/min; maskirni plin: N_2 (čistost 6) 45 ml/min; plina detektorja: H_2 (čistost 6) 40 ml/min; sintetični zrak (čistost 6) ($21 \% \text{O}_2$) 450 ml/min.

Za določitev in iz vrednotenje rezultatov smo uporabili naslednje standarde MEMK: standardno mešanico NuChek 85 Prep. Inc, standardno mešanico NuChek 68 D Prep. Inc. in standardno mešanico FAME Mix C4-C24 (Supelco, 18919-1AMP).

Določanje faktorja odzivnosti (Rf_{ECD}) plamensko ionizacijskega detektorja (FID)

Za natančno kvantitativno ovrednotenje kromatogramov je treba določiti faktor odzivnosti detektorja (Rf_{ECD}). Določimo ga s standardno mešanico (Nu Check 85 Prep. Inc), kjer so znani utežni % posameznih maščobnih kislin.

Račun:

$$Rf_{FIDi} = \frac{ut. \%_{posam.MEMK} \times \sum_{i=1}^n A_i}{A_i \times 100 ut. \%}$$

A_i = površina posameznega MEMK-standarda

ut. % posameznih metilnih estrov maščobnih kislin v Nu Check 85 Prep. Inc znaša 3,03, razen za metilne estre heksadekanojske (palmitinske) maščobne kisline, kjer znaša 6,06.

Določanje konverzijskega faktorja (FA_i) za posamezno MK

Faktor za pretvorbo MEMK v MK (FA_i) smo določili po naslednji formuli:

Račun:

$$FA_i = \frac{MrMK_i}{MrMEMK_i} = \frac{MrMK_i}{MrMK_i + 14}$$

$MrMK_i$ = molska masa posamezne maščobne kisline

$MrMEMK_i$ = molska masa posameznega metilnega estra maščobnih kislin, ki se od $MrMK_i$ razlikuje za $Mr(CH_2)$ skupine = 14.

Izračun utežnih deležev maščobnih kislin (ut %)

Utežni delež maščobnih kislin v vzorcu smo izračunali iz relativne površine vrha posamezne maščobne kisline na kromatogramu (A_i) in upoštevanjem faktorja odzivnosti detektorja (Rf_i) ter konverzijskega faktorja (FA_i) pretvorbe MEMK v MK.

Račun:

$$ut. \% MK = \frac{(Rf_i \times FA_i \times A_i)}{\sum_{i=1}^n (Rf_i \times FA_i \times A_i)} \times 100$$

A_i = površina posamezne maščobne kisline

Rf_i = faktor odzivnosti detektorja za posamezno maščobno kislino

FA_i = konverzijski faktor za posamezno maščobno kislino

3.2.4 Statistična analiza

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke smo statistično obdelali z računalniškim programom SAS (SAS Software, Version 8.01, 1999) z multiplo analizo variance – postopkom GLM (General Linear Models).

Statistični model za vsebnost PCB in maščobnokislinsko sestavo je naslednji:

$$y_{ijkl} = \mu + V_i + M_j + I_k + M \cdot I_{jk} + e_{ijkl} \quad (\text{model 1})$$

kjer je y_{ijkl} = $ijkl$ -to opazovanje, μ = povprečna vrednost, V_i – vpliv vrste mesa (jelen, divji prašič), M_j – vpliv vrste mišice (pleče, hrbet in slanina), I_k – vpliv izvora živali (Slovenija, Poljska) in e_{ijk} = ostanek.

Pričakovane povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa in so primerjane pri 5 % tveganju. Pearsonovi korelacijski koeficienti med merjenimi parametri so bili izračunani s postopkom PROC CORR (SAS Software, 1999).

4 REZULTATI

4.1 RAZVOJ METODE

4.1.1 Metoda SIST EN 1528 1 – 4: 1998: Metoda: D (hladna ekstrakcija)

Uporabili smo metodo SIST EN 1528 1-4: 1998: Metoda: D, ki jo uporabljajo na Inštitutu za varovanje zdravja (IVZ) za določanje organoklorinih pesticidov in PCB v živilih ki vsebujejo maščobo. Zatehtali smo 5 g homogeniziranega vzorca v čašo, dodali 20 g Na₂SO₄ (Merck, 1.06649) in 150 ml n-heksana (Merck, 1.04371). Čašo smo postavili na magnetno mešalo (IKA, Nemčija, IKA RT 10) in pustili da je čez noč potekala hladna ekstrakcija. Topilo smo nato odparili na rotavaporju. Odtehtali smo 0,5g ostanka po odparitvi v čašo in dodali 10 ml n-heksana (Merck, 1.04371). V stekleno kolono smo predhodno dali 50 ml n-heksana in 25 g deaktiviranega florisila (Fluka, 46382). Odvečni n-heksan (Merck, 1.04371) smo izpustili iz kolone. Nato smo na kolone nanесли vsebino iz epruvete, počakali da se usede. Še enkrat smo odvečni n-haksan (Merck, 1.04371) spustili iz kolone in začeli z zbiranjem vzorca. Pretok čez kolono je bil 5 ml/min. Izpirali smo s 300 ml izpiralne mešanice, ki je bila n-heksan (Merck, 1.04371): CH₂Cl₂ (Merck, 1.06044) (4:1). Eluat smo uparili do približno 10-20 ml, uparili pod tokom dušika na približno 1 ml in shranili v GC vialo do nadaljnjih analiz. Vzorci so bili analizirani na IVZ.

Dobljeni rezultati so bili pod mejo detekcije. Sklepali smo, da postopek hladne ekstrakcije ni bil primeren za naše vzorce. Za izboljšanje postopka smo se odločili izvesti še toplo ekstrakcijo.

4.1.2 Topla ekstrakcija

Pred začetkom analiz smo vzorce vzeli iz zamrzovalnika in jih odtajali na sobni temperaturi. Ekstrakcijo smo izvedli tako, da smo v 100 ml erlenmajerice s pokrovčkom (Lenz, 3.0251.37) zatehtali po 5 g vzorca, ter dolili 20 ml n-hexana. Erlenmajerice smo postavili na mešalnik (IKA, Nemčija, IKA RT 10), kjer se je vsebina mešala 12 ur pri temperaturi 90 °C. Po tem smo vzorce ohladili in sledila je ekstrakcija s florisilom (SPE), ki smo ga predhodno aktivirali čez noč v žarilni peči na 360 °C in pozneje deaktivirali s 3 % (w/w) destilirane vode. Steklene kromatografske kolone s stekleno frito in PTFE ventilom (35 ml) (Lenz, 5.4507.03) smo napolnili s 20 ml n-hexana in s 6 g florisila (Fluka, 46382), na vrh pa smo dodali 2 g natrijevega sulfata (Merck, 1.06649). Odvečni n-hexan (Merck, 1.04367) smo spustili skozi kolono in dolili vsebino iz erlenmajerice. Odvečni n-heksan skupaj z našim vzorcem smo še enkrat spustili skozi kolono in eluat zavrgli. Kolono smo spirali s 30 ml mešanice n-hexan (Merck, 1.04371) :diklorometan (Merck, 1.06044) (4:1) in eluat zbirali v čaše. Eluat smo nato koncentrirali v steklenih

koncentratorjih (Kuderna-Danish Sample Concentrator, Supelco, 64718) na 1,5 ml in ga shranili v steklene vial, ter vzorce shranili pri $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ do analiz na GC-ECD.

Vzorce slanine smo pred začetkom analiz homogenizirali in vakuumsko zapakirali, ter shranili v zmrzovalnik na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pred začetkom analiz smo vzorce vzeli iz zamrzovalnika in jih odtajali na sobni temperaturi. Ekstrakcijo smo izvedli tako, da smo v 10 ml epruvete s teflonskim pokrovčkom odtehtali po 0,2 g vzorca slanine, ter dodali 8 ml n-hexana (Merck, 1.04371). Epruvete smo postavili v termoblok (VLM EC1) na $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ za 2 uri. Po tem je sledilo ohlajanje in čiščenje s florisilom po enakem postopku kot pri mišičnini.

Rezultati so bili prav tako, kot pri hladni ekstrakciji, pod mejo detekcije, poleg tega, pa so nekateri vzorci še po končani analizi vsebovali vodo ali maščobo.

Nadaljnje smo se na podlagi rezultatov odločili za vročo ekstrakcijo s n-heksanom (Merck, 1.04371) po Soxhletu, ki je trajala 18 ur. Vode v ekstraktih smo se znebili z dodatkom Na_2SO_4 (Merck, 1.06649). Koncentriranje ekstrakta je potekalo na rotavaporju (Büchi, R-215, vakuumsko črpalko V-700, kontrolerjem V-850 in termostatsko kopeljo B-491) (pogoji: 310 mbar, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 7 min; do ≈ 10 ml ostanka). Sledila je SPE na deaktiviranem florisilu v stekleni koloni, na vrhu florisila smo dodali še Na_2SO_4 (Merck, 1.06649), da smo odstranili še morebitni ostanek vode v koncentratu. Previdno smo izpeljali postopek ekstrakcije. Eluat smo nato koncentrirali na rotavaporju (Büchi, R-215, vakuumsko črpalko V-700, kontrolerjem V-850 in termostatsko kopeljo B-491) (pogoji: 310 mbar, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 7 min; do $\approx 1,3$ ml ostanka), kateri se je izkazal za veliko boljšo izbiro kot Kuderna-Danish koncentrator. Pri slednjem je prihajalo zaradi težko kontroliranih pogojev do večjih izgub. Izgube na Kuderna-Danish koncentratorjih smo preverili s standardno mešanico OCP in PCB (izkoristek je bil $\approx 20\%$ in KV $\approx 60\%$). S tako modificiranim postopkom smo prišli do zadovoljivih rezultatov, katere smo potrdili s ponovljivostjo in izkoristkom same metode. Podroben opis metode je v poglavju 3.2.2.

Pri določevanju tako nizkih vsebnosti PCB in OCP je pomembno posvetiti veliko pozornost zelo čisti steklovini, aparaturam in rokovanju s samim vzorcem, da ne pride do naknadne kontaminacije. Pozorni moramo biti tudi na čistost reagentov, saj nekateri vsebujejo nekatere OCP (npr. heksan od Fluke vsebuje lindan).

4.2 VALIDACIJA ANALITSKE METODE

4.2.1 Ponovljivost metode za določanje vsebnosti PCB in OCP

Ponovljivost med paralelkami smo določili tako, da smo na naključnem vzorcu s standardnim dodatkom CEN PCB Congener Mix-1, EPA 625/CLP Pesticide Mix in internim standardom PCB 155 opravili šest zaporednih analiz vsebnosti PCB in OCP. Iz izračunanega KV lahko sklepamo, da je metoda za določanje vsebnosti PCB in OCP ponovljiva, saj je KV pod 5 % (preglednica 3).

Preglednica 3: Ponovljivost med paralelkami za določanje vsebnosti PCB in OCP (relativna površina pod vrhom).

Ponovitev	1.	2.	3.	4.	5.	6.	\bar{x}	so	KV
PCB 26	439,6	445,5	450,7	463,4	470,4	489,6	459,9	18,5	4,0
PCB 34	611,5	637,1	657,3	659,5	661,0	674,3	650,1	22,4	3,4
PCB 43	192,7	194,4	194,8	199,8	206,7	206,9	199,2	6,3	3,2
PCB 52	315,8	324,7	329,9	337,2	346,6	352,6	334,5	13,8	4,1
PCB 106	652,0	676,9	677,7	710,8	720,2	735,0	695,4	31,5	4,5
PCB 116	460,8	480,7	484,2	503,1	515,6	528,1	495,4	24,8	5,0
PCB 153	427,1	431,2	447,8	458,2	476,3	483,1	453,9	23,0	5,1
PCB 156	273,1	286,1	296,4	301,9	313,5	320,3	298,6	17,4	5,8
PCB 180	326,2	329,3	345,4	356,6	365,8	370,9	349,0	18,7	5,3
HCB	113,2	115,2	119,3	122,4	128,2	131,0	121,5	7,0	5,8
α HCH	136,4	138,3	145,1	151,8	157,8	165,5	149,1	11,3	7,6
γ HCH	154,3	154,9	156,3	163,4	167,0	173,5	161,6	7,7	4,8
β HCH	61,3	61,7	62,4	63,0	65,7	68,8	63,8	2,9	4,5
δ HCH	71,1	73,6	76,5	76,7	79,2	79,6	76,1	3,3	4,3
β lindan	166,1	168,1	168,3	168,6	169,1	170,3	168,4	1,4	0,8
γ lindan	107,3	107,5	110,0	110,2	114,1	118,2	111,2	4,2	3,8
heptaklor	106,6	111,2	112,8	113,0	117,2	120,0	113,4	4,7	4,1
dieldrin	41,2	42,9	44,1	46,1	48,0	50,1	45,4	3,3	7,3
DDD 4,4	45,6	47,7	47,8	48,8	49,4	51,6	48,5	2,0	4,2

\bar{x} – povprečna vrednost, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.

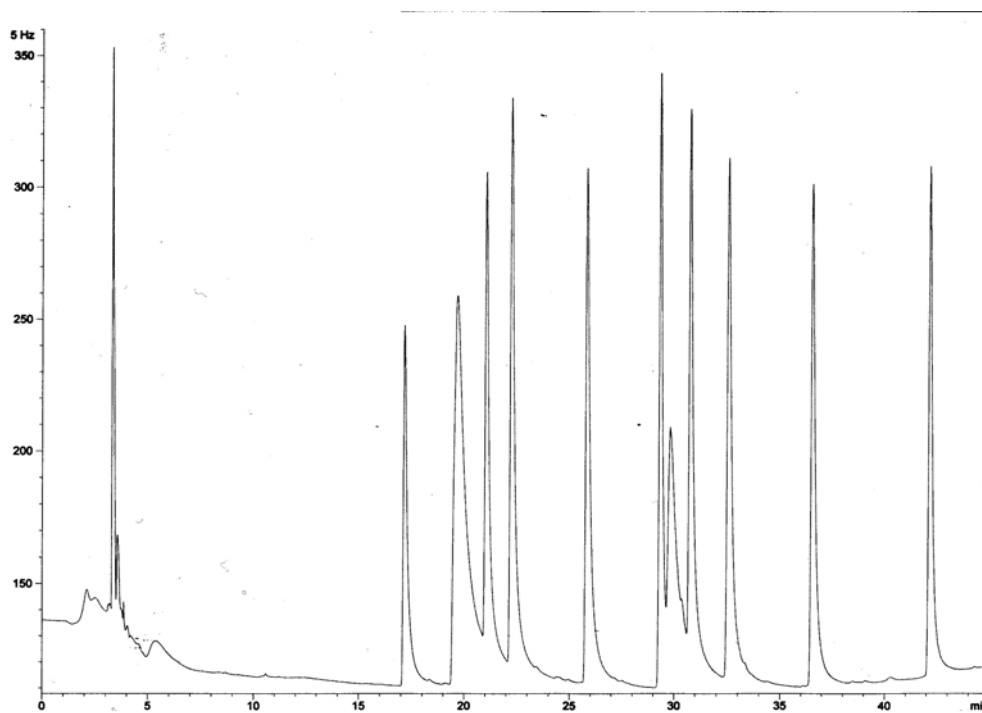
4.2.2 Izkoristek metode za določanje vsebnosti PCB in OCP

Izkoristek metode smo določili tako, da smo na naključnem vzorcu v šestih ponovitvah s standardnim dodatkom CEN PCB Congener Mix-1, EPA 625/CLP Pesticide Mix in internim standardom PCB 155 opravili analizo vsebnosti PCB in OCP in jo primerjali s površinami teh istih standardov injiciranimi direktno v GC-ECD. Iz izračunanih izkoristkov (preglednica 4), lahko zaključimo, da imamo zadovoljive izkoristke glede na kompleksnost matriksa in metode ekstrakcije ter koncentriranja.

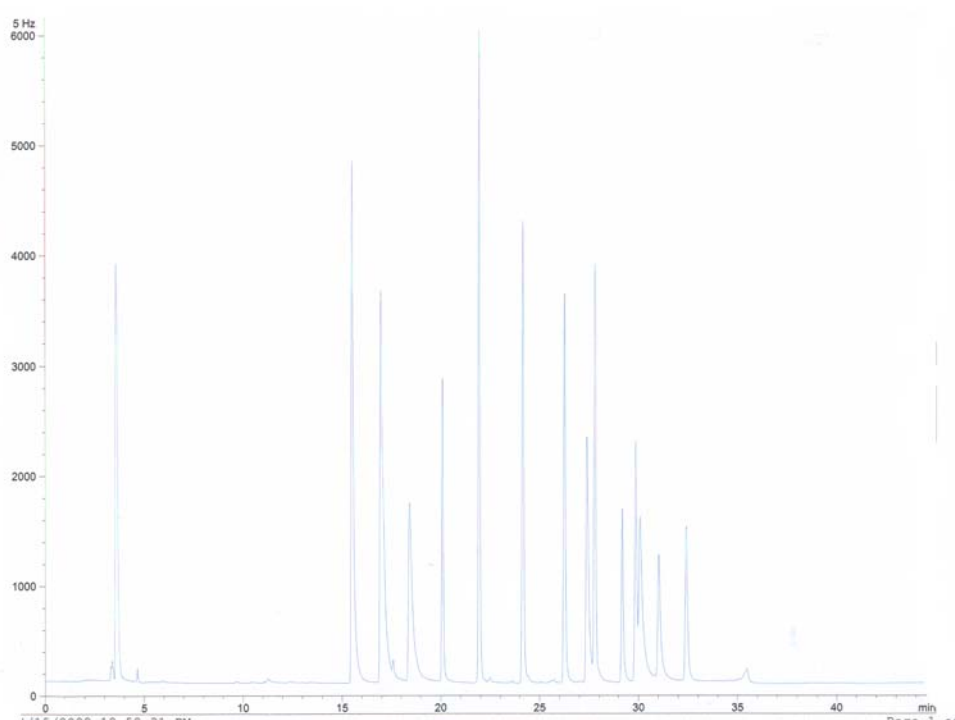
Preglednica 4: Izkoristki za posamezne PCB oz. OCP .

Ponovitev	1.	2.	3.	4.	5.	6.	\bar{x}	so	KV (%)
PCB 26	65,10	70,10	78,20	68,20	70,10	75,50	71,20	4,82	6,77
PCB 34	59,80	69,30	67,70	72,50	69,30	75,80	69,07	5,38	7,80
PCB 43	31,30	39,90	45,90	43,70	40,50	49,40	41,78	6,22	14,90
PCB 52	74,50	85,50	91,10	78,10	78,10	84,50	81,97	6,13	7,48
PCB 106	60,00	71,60	78,50	74,90	73,30	81,30	73,27	7,39	10,09
PCB 116	49,70	60,00	67,20	64,00	61,10	67,80	61,63	6,63	10,76
PCB 153	48,00	59,00	67,50	67,10	60,70	68,60	61,82	7,83	12,66
PCB 156	67,70	83,10	91,90	78,60	83,40	85,60	81,72	8,12	9,94
PCB 180	38,40	48,80	56,60	66,90	50,40	62,90	54,00	10,35	19,17
HCB	70,60	88,10	79,10	84,40	83,60	80,20	81,00	6,02	7,43
α HCH	68,30	83,50	76,50	80,90	80,50	81,90	78,60	5,56	7,07
γ HCH	61,20	87,50	65,80	74,50	73,20	76,90	73,18	9,15	12,50
β HCH	69,10	84,60	73,90	81,60	79,20	78,90	77,88	5,56	7,14
δ HCH	69,20	82,50	73,70	78,80	76,30	75,90	76,07	4,51	5,93
β linden	63,20	83,80	69,60	75,10	74,00	71,80	72,92	6,80	9,32
γ linden	64,90	72,90	67,00	70,60	69,10	72,80	69,55	3,20	4,60
Heptaklor	64,20	88,10	70,30	75,20	75,80	81,90	75,92	8,41	11,08
Dieldrin	87,90	109,20	93,10	94,60	98,80	93,20	96,13	7,29	7,58
DDD 4,4	54,70	85,90	63,30	70,50	72,60	75,50	70,42	10,66	15,14

\bar{x} – povprečna vrednost, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.



Slika 4: Kromatogram standarda PCB.



Slika 5: Kromatogram standarda OCP.

4.3 VSEBNOST PCB

Meso jelenov slovenskega izvora vsebuje 62,57 ppb vseh PCB (preglednica 5). Koefficient variabilnosti znaša 310 %, kar je posledica velike razlike med vsebnostjo PCB znotraj proučevane skupine. Vsebnost PCB 34 je v jelenih slovenskega izvora 54,05 ppb, kar predstavlja 86 % od vseh PCB. Sledi mu PCB 180 s 5,76 ppb. Vsebnosti ostalih PCB v jelenih slovenskega izvora so pod 1 ppb.

Preglednica 5: Rezultati določanja vsebnosti PCB (ppb) v divjačinskem mesu različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.

PCB (ppb)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)
jeleni		Slovenija					Poljska					
PCB 26	24	0,30	0,00	0,61	0,19	64,6	24	0,15	0,00	0,61	0,27	176,9
PCB 34	24	54,05	0,00	705,75	183,89	340,2	24	4,18	0,00	99,18	20,24	484,0
PCB 43	24	0,91	0,00	2,30	0,91	100,3	24	0,46	0,00	1,85	0,82	176,9
PCB 52	24	0,48	0,00	2,05	0,53	110,3	24	0,51	0,00	2,05	0,91	176,9
PCB 106	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
PCB 116	24	0,31	0,00	0,50	0,17	56,7	24	0,14	0,00	0,48	0,19	135,0
PCB 153	24	0,32	0,00	0,47	0,19	59,4	24	0,12	0,00	0,47	0,21	176,9
PCB 156	24	0,43	0,00	0,60	0,25	59,3	24	0,13	0,00	0,52	0,23	176,9
PCB 180	24	5,76	0,00	43,30	12,78	221,7	24	57,54	0,00	1160,51	235,20	408,8
vsota PCB	24	62,57	0,48	745,61	194,07	310,2	24	63,24	0,00	1259,69	255,04	403,3
divji prašiči		Slovenija					Poljska					
PCB 26	24	0,41	0,00	1,76	0,73	177,4	24	0,55	0,00	1,76	0,80	144,9
PCB 34	24	6,02	0,00	99,18	19,97	331,5	24	1,97	0,00	5,89	2,25	114,0
PCB 43	24	1,19	0,00	4,88	2,10	177,0	24	1,58	0,00	4,88	2,28	144,6
PCB 52	24	0,25	0,00	2,03	0,68	270,3	24	0,59	0,00	2,03	0,94	159,2
PCB 106	24	4,36	0,00	44,62	12,45	285,5	24	492,34	0,00	1961,72	860,35	174,7
PCB 116	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
PCB 153	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
PCB 156	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-	24	206,40	0,00	822,71	360,87	174,8
PCB 180	24	120,95	0,00	1160,51	318,75	263,5	24	800,07	0,00	3144,11	1372,54	171,6
vsota PCB	24	133,19	0,00	1259,69	339,64	255,0	24	1503,51	0,00	5928,54	2590,98	172,3

n – število opazovanj, \bar{x} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, so – standardni odklon, KV (%) – koefficient variabilnosti.

Vsota vseh PCB pri jelenih poljskega izvora je 63,24 ppb; KV je 400 %, kar je prav tako posledica velike razlike med vsebnostjo PCB znotraj proučevane skupine. Največjo

koncentracijo kaže PCB 180 (57,54 ppb), ki prispeva 90 % k vsoti vseh PCB. Sledi mu PCB 34 s 4,18 ppb. Vsebnost ostalih PCB je pod 1 ppb.

Divji prašiči slovenskega izvora vsebujejo skupno 133,19 ppb vseh PCB. Velika vrednost KV je posledica tega, da nekateri vzorci niso vsebovali PCB, nekateri pa so imeli veliko vsebnost PCB. K skupni vrednosti PCB največ prispeva PCB 180 (120,95 ppb), ki predstavlja 90 % vseh PCB v slovenskem mesu divjega prašiča. Vsebnost PCB 34 je 6,02 ppb.

Vseh PCB vsebuje meso divjega prašiča poljskega izvora 1503,51 ppb. K tej vrednosti doprinesejo: PCB 180 53 % (800,07 ppb), PCB 106 33 % (492,34 ppb) in PCB 156 14 % (206,4 ppb).

Preglednica 6: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na vsebnost PCB-jev v divjačinskem mesu različnega izvora.

Parameter	vir variabilnosti (<i>p</i> -vrednost)			
	vrsta	mišica	izvor	vrsta*mišica*izvor
PCB 26	0,0104	<0,0001	0,9550	0,012
PCB 34	0,1671	0,1526	0,1384	0,0358
PCB 43	0,0187	<0,0001	0,9286	0,0170
PCB 52	0,5345	<0,0001	0,1493	0,0119
PCB 106	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
PCB 116	<0,0001	0,0494	0,0016	0,0018
PCB 153	<0,0001	0,0029	<0,0001	<0,0001
PCB 156	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
PCB 180	<0,0001	<0,0001	0,0002	<0,0001
vsota PCB	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

p ≤ 0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; *p* ≤ 0,01 statistično visoko značilen vpliv; *p* ≤ 0,05 statistično značilen vpliv; *p* > 0,05 statistično neznačilen vpliv.

Vrsta mesa ima statistično zelo visoko značilen vpliv na vsebnost skupnih PCB v divjačinskem mesu. V jelenjem mesu in mesu divjih prašičev smo določili statistično značilno različne vsebnosti naslednjih PCB: PCB 106, PCB 116, PCB 153, PCB 156 in PCB 180 (*p* < 0,0001) ter PCB 26 in PCB 43 (*p* < 0,05). Pri PCB 34 in 52 je ta vpliv statistično neznačilen.

Na splošno vrsta mišice značilno (*p* < 0,05) vpliva na vsebnost skupnih in posameznih PCB v divjačinskem mesu. Izjema je PCB 34, saj njegova vsebnost ni odvisna od vrste mišice.

Pomembno je iz katere države je divjačinsko meso. Meso iz Slovenije in Poljske se loči po vsebnosti PCB 106, PCB 153, PCB 156, PCB 116 in PCB 180 ($p < 0,001$), ne loči pa se glede vsebnosti PCB 26, PCB 34, PCB 43 in PCB 52.

Vrsta živali, vrsta mišice in izvor živali statistično zelo visoko značilno vplivajo na vsoto vseh PCB v divjačinskem mesu, kot tudi posameznih (PCB 106, PCB 153, PCB 156 in PCB 180 PCB 116), pri ostalih PCB pa je ta vpliv statistično značilen. Na podlagi značilnih interakcij smo se odločili, da bomo rezultate prikazovali v šestih skupinah, oblikovanih na podlagi vrste mišice in izvora mesa (preglednica 7).

Preglednica 7: Vpliv vrste mesa, tkiva in izvora na vsebnost PCB (ppb) v divjačinskem mesu (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).

PCB (ppb)	vrsta	LD-PL	TB-PL	slanina-PL	LD-SLO	TB-SLO	slanina-SLO
PCB 26	jelen	0,45±0,28 ^{ay}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,34±0,24 ^{ax}	0,28±0,18 ^{ax}	0,28±0,18 ^{ax}
	prašič	1,24±0,77 ^{ax}	0,41±0,77 ^{bcx}	<0,001 ^{cx}	0,83±0,89 ^{abx}	<0,001 ^{cy}	0,41±0,77 ^{bcx}
PCB 34	jelen	<0,001 ^{by}	0,14±0,27 ^{by}	12,40±35,07 ^{bx}	162,2±301,8 ^{ax}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{bx}
	prašič	1,17±0,72 ^{ax}	3,34±2,47 ^{ax}	1,40±2,61 ^{ax}	2,19±2,23 ^{ax}	2,95±2,87 ^{ax}	12,93±34,86 ^{ax}
PCB 43	jelen	1,39±0,86 ^{ay}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	1,03±0,96 ^{ax}	1,05±1,00 ^{ax}	0,65±0,84 ^{abx}
	prašič	3,56±2,20 ^{ax}	1,19±2,20 ^{bcx}	<0,001 ^{cx}	2,37±2,54 ^{abx}	<0,001 ^{cy}	1,19±2,20 ^{bcx}
PCB 52	jelen	1,54±0,95 ^{ax}	<0,001 ^{cx}	<0,001 ^{cx}	0,75±0,84 ^{abx}	0,37±0,26 ^{bcx}	0,33±0,23 ^{bcx}
	prašič	1,51±0,93 ^{ax}	0,25±0,72 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,51±0,94 ^{bx}	<0,001 ^{by}	0,25±0,72 ^{bx}
PCB 106	jelen	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ax}
	prašič	10,45±6,51 ^{bx}	2,61±2,83 ^{bx}	1465,0±902,0 ^{ax}	0,66±1,88 ^{bx}	1,33±2,46 ^{bx}	11,09±20,54 ^{bx}
PCB 116	jelen	0,25±0,16 ^{ax}	0,18±0,25 ^{ax}	<0,001 ^{bx}	0,28±0,18 ^{ax}	0,37±0,17 ^{ax}	0,28±0,18 ^{ax}
	prašič	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ay}
PCB 153	jelen	0,35±0,22 ^{ax}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,33±0,21 ^{ax}	0,31±0,20 ^{ax}	0,32±0,20 ^{ax}
	prašič	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ay}
PCB 156	jelen	0,39±0,24 ^{ay}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	0,42±0,26 ^{ax}	0,43±0,27 ^{ax}	0,43±0,27 ^{ax}
	prašič	1,31±0,81 ^{bx}	4,20±4,49 ^{bx}	613,7±378,8 ^{ax}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}
PCB 180	jelen	<0,001 ^{ay}	6,00±5,27 ^{ax}	166,6±401,7 ^{ay}	10,39±19,27 ^{ax}	1,41±3,99 ^{ax}	5,49±10,17 ^{ax}
	prašič	38,73±23,98 ^{bx}	15,10±11,61 ^{bx}	2346,4±1445,6 ^{ax}	1,97±2,60 ^{bx}	3,96±3,91 ^{bx}	356,9±488,2 ^{bx}
vsota PCB	jelen	4,38±2,70 ^{ay}	6,32±5,07 ^{ay}	179,0±436,7 ^{ay}	175,7±318,9 ^{ax}	4,23±3,18 ^{ax}	7,78±8,8 ^{ax}
	prašič	57,98±35,87 ^{bx}	27,09±19,24 ^{bx}	4425,5±2723,8 ^{ax}	8,53±6,28 ^{bx}	8,24±7,21 ^{bx}	382,8±521,7 ^{bx}

LD – *m. longissimus dorsi*, TB – *m. triceps brachii*, PL – Poljska, SLO – Slovenija, ^{x,y} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj stolpca se med seboj statistično značilno ne razlikujeta, ^{a,b,c,d,e} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj vrstice se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

V LD mišicah jelenov poljskega izvora je vsebnost skupnih PCB značilno večja kot v LD divjega prašiča (4,38 ppb vs. 57,98 ppb). To lahko trdimo tudi za posamezne PCB, in sicer

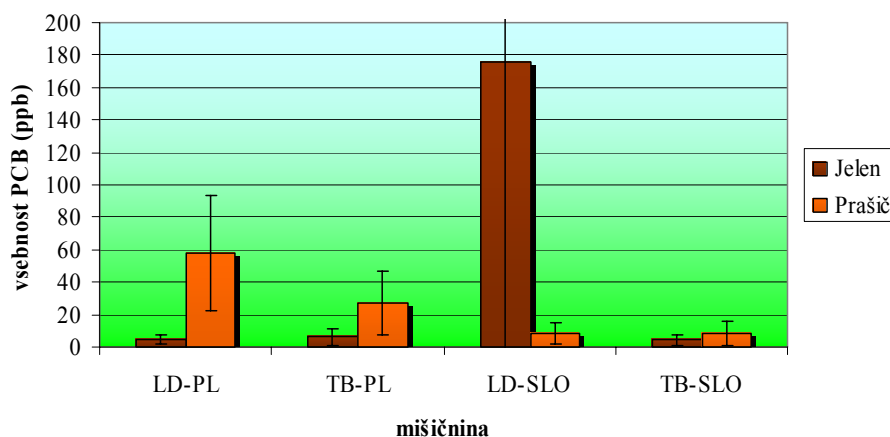
za: PCB 26, PCB 34, PCB 43, PCB 106, PCB 156 in PCB 180. Vsebnost PCB 116 in PCB 153 pa je večja v LD jelenov kot LD divjih prašičev.

V TB mišici jelenov poljskega izvora je vsebnost skupnih PCB 6,32 ppb, v mesu divjega prašiča pa 27,09 ppb. Vrednosti se statistično značilno razlikujeta, kar pomeni da se skupni PCB pri poljskih živalih bolj akumulirajo v TB mišičnino divjega prašiča, kot jelena. Vsebnost PCB 34 in PCB 106 je prav tako večja pri divjem prašiču kot pri jelenu. Vsebnosti ostalih PCB se v TB mišičnini poljskega izvora, v jelenu in divjem prašiču, med seboj statistično ne razlikujejo.

V slanini jelenov poljskega izvora je vsebnost skupnih PCB 179 ppb, v slanini divjega prašiča pa 4425,5 ppb. Vrednosti se statistično značilno razlikujeta, kar pomeni da se skupni PCB pri poljskih živalih bolj akumulirajo v slanino divjega prašiča kot jelena. Prav tako se izmed vseh PCB v slanini, PCB 106, PCB 156 in PCB 180, bolj akumulirajo v divjem prašiču kot v jelenu.

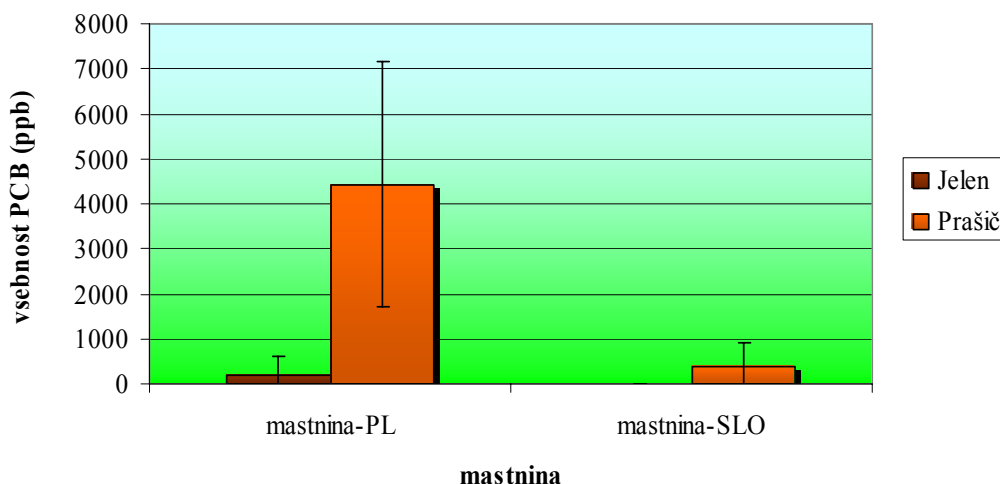
Vsebnost skupnih PCB, v LD slovenskega izvora, se statistično značilno ne razlikuje med jelenom in divjim prašičem. Le pri PCB 116, PCB 153 in PCB 156 vidimo, da se vrednosti znotraj stolpca statistično razlikujejo, kar pomeni da je vsebnost teh spojin večja pri jelenih kot pri divjih prašičih.

Vsebnost skupnih PCB, v TB slovenskega izvora, se prav tako statistično značilno ne razlikuje med jelenom in divjim prašičem. Vsebnost PCB 26, PCB 43, PCB 52, PCB 116, PCB 153 in PCB 156 je večja v jelenem mesu, medtem ko je vsebnost PCB 34 večja v mesu divjega prašiča. Vsebnost skupnih PCB se v mastnini slovenskega izvora prav tako statistično značilno ne razlikuje med jelenom in divjim prašičem, razen vsebnosti PCB 116, PCB 153 in PCB 156, kjer je vsebnost teh snovi večja pri jelenu.



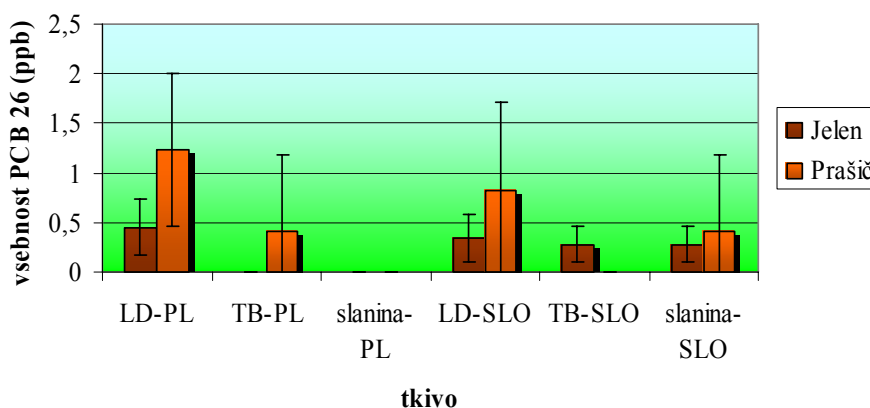
Slika 6: Vpliv vrste živali, mišice in izvora na vsebnost skupnih PCB.

V LD mišici jelena slovenskega izvora je vsebnost skupnih PCB največja, vendar se statistično značilno ne razlikuje od ostalih vrednosti PCB v jelenjem mesu. Vse mišice divjega prašiča, slovenskega in poljskega izvora, se po vsebnosti PCB statistično ne razlikujejo (slika 6).



Slika 7: Vpliv vrste živali in izvora na vsebnost skupnih PCB v mastnini.

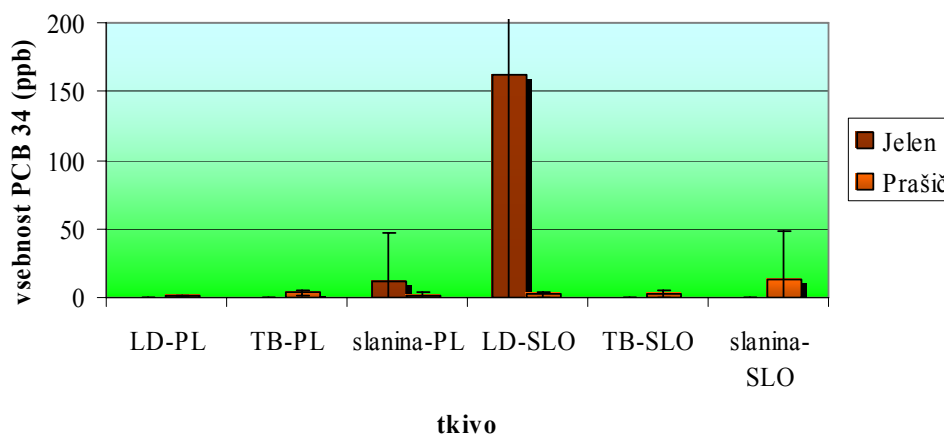
Pri jelenu je vsebnost skupnih PCB največja v mastnini živali poljskega izvora, vendar se ta statistično značilno ne razlikuje od slanine slovenskega izvora. Pri prašiču je vsebnost skupnih PCB največja v slanini poljskega izvora (4425,5 ppb). Ta vrednost se statistično značilno razlikuje od slanine divjega prašiča slovenskega izvora (slika 7).



Slika 8: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 26.

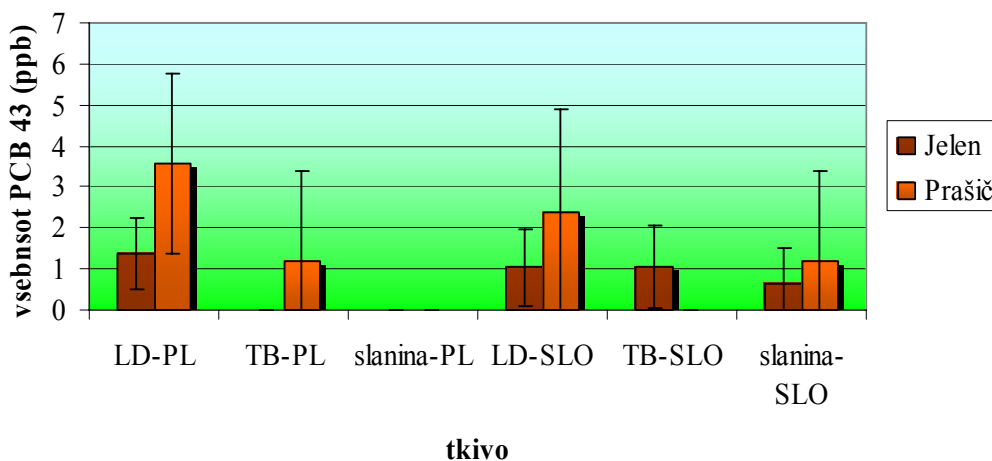
Pri jelenu se vsebnosti PCB 26 med mišicami statistično značilno ne razlikujejo, medtem ko pri divjem prašiču se. V LD mišici poljskega izvora se nalaga največ PCB 26, sledi LD

mišica slovenskega izvora, ter TB mišičnina poljskega izvora in slanina slovenskega izvora (slika 8).



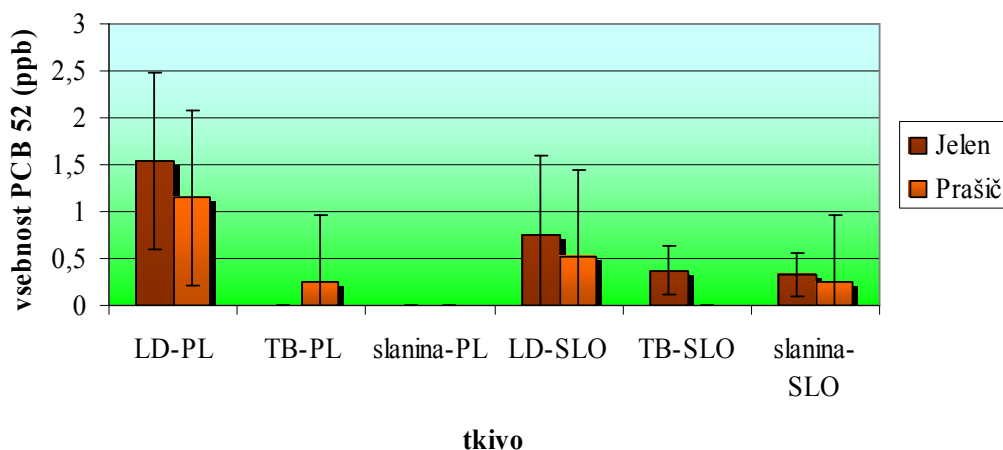
Slika 9: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 34.

LD mišica jelena slovenskega izvora vsebuje največ PCB 34 (162,2 ppb) in se statistično značilno razlikuje od ostalih mišic. Pri prašiču so vsebnosti PCB 34 manjše in se med seboj statistično značilno ne razlikujejo (slika 9).



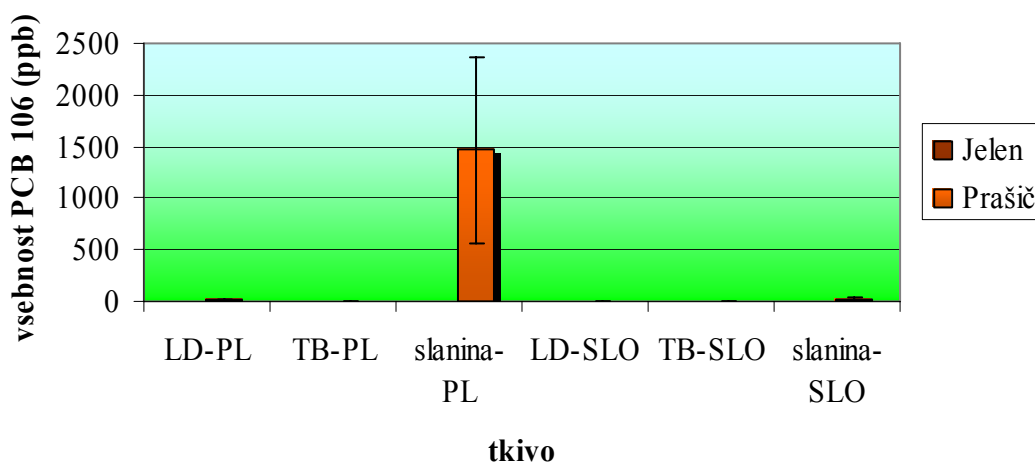
Slika 10: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 43.

Pri jelenu največ PCB 43 vsebujejo LD mišica poljskega izvora, LD mišica slovenskega izvora in TB mišica slovenskega izvora. Te vrednosti se statistično značilno ne razlikujejo med seboj. Pri divjem prašiču pa največ PCB 43 vsebuje LD mišica poljskega izvora, sledi ji LD mišica slovenskega izvora, ter TB poljskega izvora in slanina slovenskega izvora (slika 10).



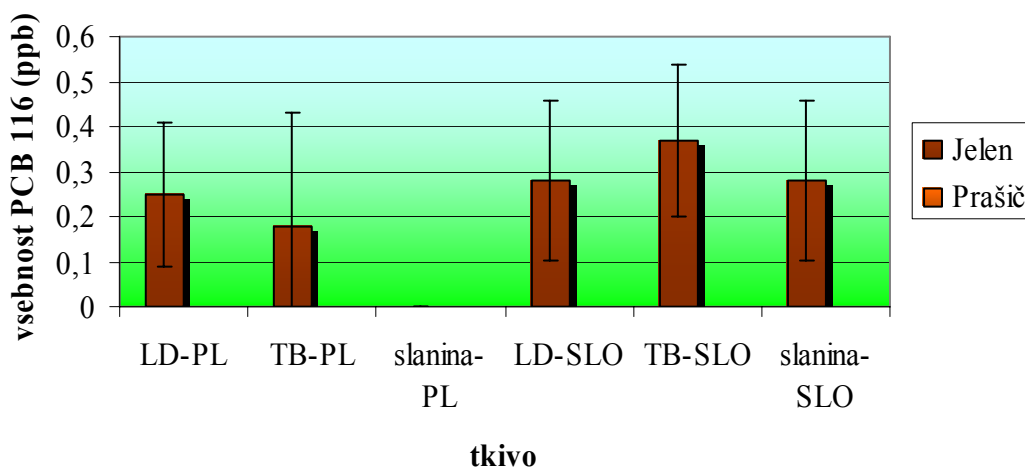
Slika 11: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 52.

Največ PCB 52 pri jelenu vsebuje LD mišica poljskega izvora, sledi ji LD mišica slovenskega izvora, ter TB mišica in mastnina slovenskega izvora. Vse vrednosti se med seboj statistično značilno razlikujejo. Pri divjem prašiču največ PCB 52 prav tako vsebuje LD mišica, sledijo ji ostale mišice, ki se po vsebnosti PCB 52 statistično značilno razlikujejo od LD mišice (slika 11).



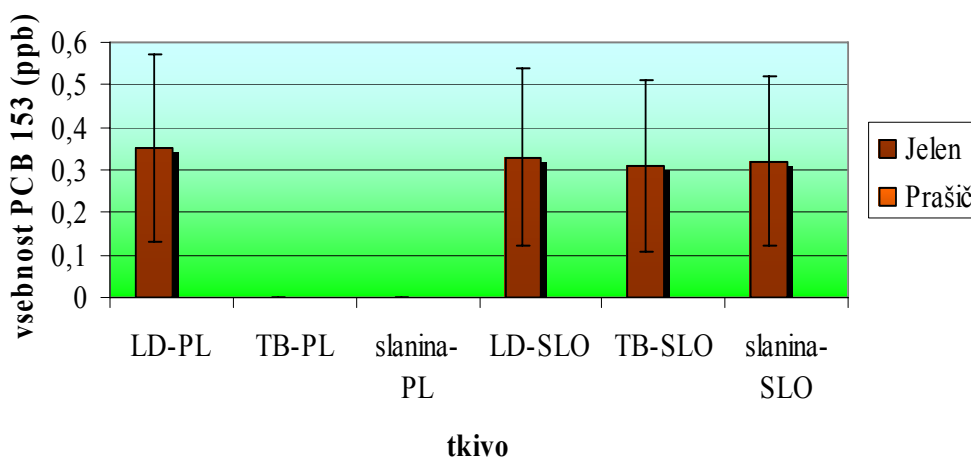
Slika 12: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 106.

Jelenje meso vsebuje PCB 106 $< 0,001$ ppb. Slanina poljskega izvora divjega prašiča vsebuje največ PCB 106, sledijo ji ostale mišice, kjer se njihove vrednosti bistveno manjše in se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (slika 12).



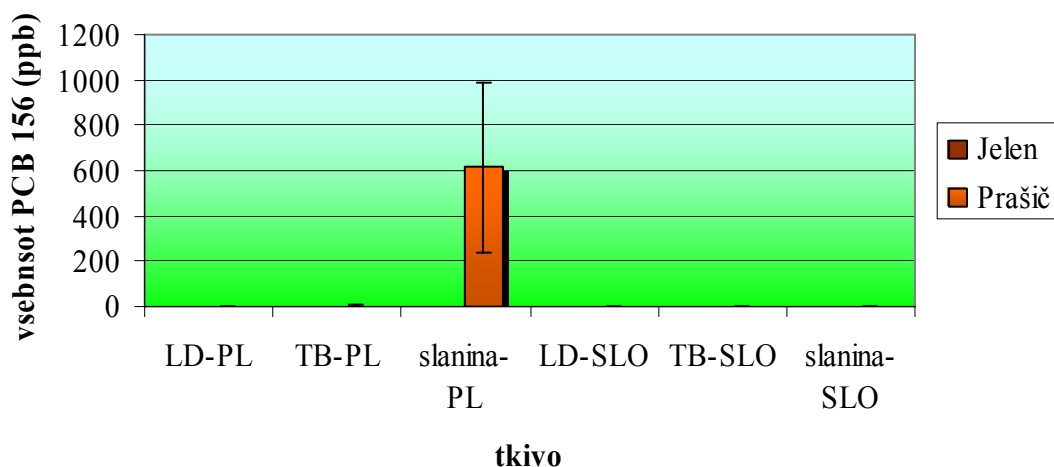
Slika 13: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 116.

Vsebnosti PCB 116 pri jelenih, so znotraj posameznih mišic primerljive, kar pomeni da se posamezne mišice ne razlikujejo po vsebnosti PCB, razen pri mastnini poljskega izvora, kjer je ta vrednost $< 0,001$ ppb (slika 13).



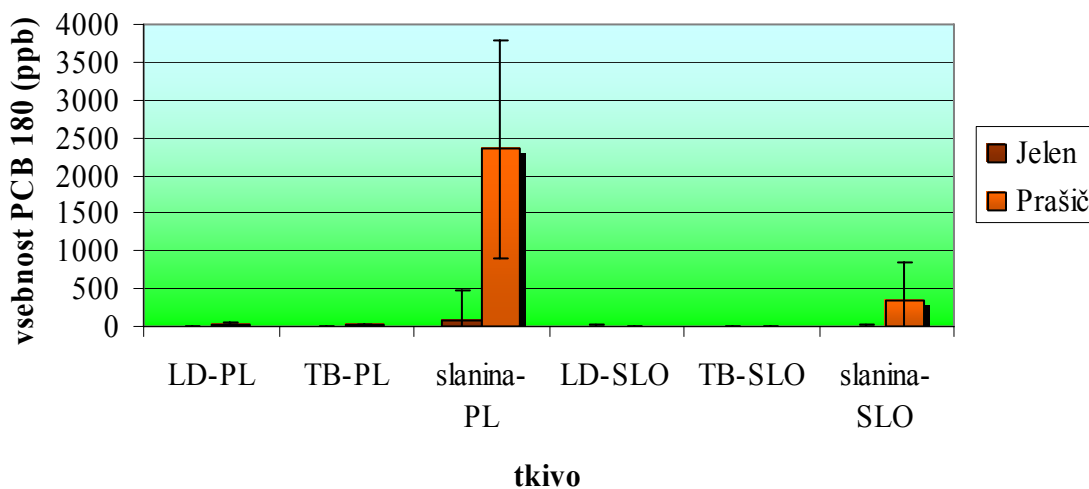
Slika 14: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 153.

Vsebnosti PCB 153 se pri jelenih v mišicah LD obeh izvorov in TB mišici, ter mastnini slovenskega izvora ne razlikujejo med seboj. Pri divjem prašiču so vsebnosti v vseh mišičninah $< 0,001$ ppb (slika 14).



Slika 15: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 156.

Vsebnost PCB 165 je pri jelenu bistveno manjša kot pri prašičji slanini poljskega izvora, kjer je ta vrednost največja (slika 15).



Slika 16: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost PCB 180.

Največ PCB 180 vsebuje slanina divjega prašiča poljskega izvora, sledijo ji ostale mišičnine, kjer so te vrednosti bistveno manjše in se statistično značilno ne razlikujejo med seboj (slika 16).

4.4 VSEBNOST OCP

Preglednica 8: Rezultati določanja vsebnosti OCP (ppb) v mesu jelenov in divjih prašičev različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.

OCP (ppb)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)						
jeleni							Slovenija						Poljska					
HCB	24	0,45	0,00	1,98	0,55	122,4	24	0,35	0,00	1,98	0,65	188,3						
α HCH	24	0,73	0,00	2,80	0,73	100,3	24	4,99	0,00	87,51	17,79	356,5						
γ HCH	24	1,83	0,00	12,15	3,02	164,9	24	0,95	0,00	1,95	0,74	77,5						
β HCH	24	3,28	0,00	38,88	10,85	330,8	24	3,36	0,00	53,26	11,85	353,2						
δ HCH	24	4,46	0,00	28,22	7,67	172,1	24	8,75	0,00	28,22	11,51	131,5						
β lindan	24	3,23	0,00	34,00	9,47	293,0	24	8,66	0,00	34,00	14,94	172,5						
γ lindan	24	20,97	0,00	136,43	46,64	222,4	24	48,06	0,00	249,76	74,35	154,7						
heptaklor	24	7,99	0,00	107,83	27,30	341,7	24	6,29	0,00	79,98	21,34	339,5						
dieldrin	24	27,81	0,00	270,54	74,76	268,8	24	75,05	0,43	270,54	114,61	152,7						
DDD 4,4	24	0,81	0,00	1,16	0,38	46,4	24	3,57	0,00	73,95	15,00	420,2						
vsota OCP	24	71,56	2,83	445,52	148,00	206,8	24	160,03	4,34	569,04	220,79	138,0						
divji prašiči							Slovenija						Poljska					
HCB	24	0,29	0,00	1,24	0,52	177,3	24	0,39	0,00	1,24	0,57	144,8						
α HCH	24	7,36	0,13	87,51	18,60	252,7	24	7,08	0,10	26,36	11,30	159,7						
γ HCH	24	3,74	0,00	28,05	7,47	199,5	24	8,25	1,31	28,05	11,60	140,6						
β HCH	24	6,41	0,00	53,26	14,83	231,4	24	9,10	0,00	35,83	15,65	172,0						
δ HCH	24	6,45	0,00	19,87	7,41	114,9	24	7,25	0,00	19,87	8,40	115,9						
β lindan	24	0,06	0,00	0,35	0,13	228,4	24	0,03	0,00	0,35	0,10	338,8						
γ lindan	24	36,78	0,00	249,76	80,41	218,6	24	50,21	0,00	195,12	84,85	169,0						
heptaklor	24	12,54	0,00	79,98	28,42	226,7	24	18,63	0,00	74,32	32,61	175,0						
dieldrin	24	176,84	0,78	1961,72	547,35	309,5	24	1,87	0,00	14,85	3,99	213,8						
DDD 4,4	24	3,19	0,00	73,95	15,08	472,8	24	0,04	0,00	0,86	0,18	489,9						
vsota OCP	24	253,65	5,92	2321,41	650,00	256,3	24	102,85	5,92	359,69	150,68	146,5						

n – število opazovanj, \bar{x} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.

Vsebnost skupnih OCP je v jelenjem mesu slovenskega izvora 71,56 ppb. Izmed vseh preiskovanih OCP je največ dieldrina, s 27,81 ppb, kar predstavlja 39 % od vseh OCP. Sledi γ lindan z 20,97 ppb (29 %) (preglednica 8).

Vsebnost skupnih OCP je v jelenjem mesu poljskega izvora 160 ppb. Največ je dieldrina (75,05 ppb), ki predstavlja 47 % od vseh OCP. Sledi γ lindan z 48,06 ppb, ki doprinese 30 % k skupni vrednosti OCP.

Vsebnost skupnih OCP je v mesu divjega prašiča slovenskega izvora 235,65 ppb. Izmed vseh preiskovanih OCP je največ dieldrina, s 176,84 ppb, kar predstavlja 75 % od vseh OCP. Sledi γ lindan s 36,78 ppb (16 %).

Koncentracija skupnih OCP je v mesu divjega prašiča poljskega izvora 102,85 ppb. Izmed vseh preiskovanih OCP je največ γ lindana s 50,21 ppb, kar predstavlja 49 % od vseh OCP. Sledi heptaklor s 18,63 ppb (18 %).

Preglednica 9: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na vsebnost OCP-jev v divjačinskem mesu različnega izvora.

Parameter	vir variabilnosti (<i>p</i> -vrednost)			
	vrsta	mišica	izvor	vrsta*mišica*izvor
HCB	0,6030	0,0084	0,9919	0,0095
α HCH	0,0975	0,0001	0,4463	0,2636
γ HCH	<0,0001	<0,0001	0,0909	<0,0001
β HCH	0,0498	<0,0001	0,5361	0,0012
δ HCH	0,8665	0,0211	0,0831	<0,0001
β lindan	<0,0001	<0,0001	0,0410	<0,0001
γ lindan	0,3827	<0,0001	0,0511	0,0016
Heptaklor	0,0677	<0,0001	0,6313	0,0004
Dieldrin	0,4751	0,0030	0,2303	0,0247
DDD 4,4	0,7918	0,1703	0,9285	0,6037
vsota OCP	0,3151	<0,0001	0,6153	0,0235

p ≤ 0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; *p* ≤ 0,01 statistično visoko značilen vpliv; *p* ≤ 0,05 statistično značilen vpliv; *p* > 0,05 statistično neznačilen vpliv.

Statistično zelo visoko značilno vrsta živali vpliva na vsebnost γ HCH in β lindana, na vsebnost β HCH je ta vpliv statistično značilen. Vrsta mišice statistično zelo visoko vpliva na vsebnost skupnih OCP. Statistično zelo visoko značilen vpliv ima predvsem na γ HCH, β HCH, β lindan, γ lindan in heptaklor. Izvor živali statistično značilno vpliva le na vsebnost β lindana. Vrsta mesa, vrsta mišice in izvor živali statistično značilno vplivajo na vsebnost skupnih OCP. Na vsebnost γ HCH, δ HCH in β lindana so ti vplivi statistično zelo visoko značilni (preglednica 9).

Preglednica 10: Vpliv vrste mesa, mišice in izvora na vsebnost OCP v divjačinskem mesu (ppb) (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).

OCP	vrsta	LD-PL	TB-PL	slanina-PL	LD-SLO	TB-SLO	slanina-SLO
HCB	jelen	0,30±0,18 ^{aby}	0,74±1,02 ^{ax}	<0,001 ^{bx}	0,35±0,42 ^{abx}	0,74±0,69 ^{ax}	0,26±0,44 ^{abx}
	prašič	0,88±0,55 ^{ax}	0,29±0,54 ^{bcx}	<0,001 ^{cx}	0,59±0,63 ^{abx}	<0,001 ^{cy}	0,29±0,54 ^{bcx}
α HCH	jelen	0,92±0,03 ^{ax}	1,42±1,30 ^{ax}	12,63±30,63 ^{ax}	0,63±0,58 ^{ax}	1,10±0,92 ^{ax}	0,46±0,58 ^{ax}
	prašič	0,58±0,26 ^{by}	0,79±0,86 ^{bx}	19,86±11,79 ^{ax}	1,16±0,82 ^{bx}	0,99±0,57 ^{bx}	19,92±29,40 ^{ax}
γ HCH	jelen	1,29±0,03 ^{by}	1,57±0,43 ^{bx}	<0,001 ^{by}	3,66±4,82 ^{ax}	1,27±0,62 ^{bx}	0,58±0,68 ^{bx}
	prašič	1,48±0,10 ^{bx}	1,84±0,44 ^{bx}	21,41±12,02 ^{ax}	1,59±0,37 ^{bx}	1,80±0,49 ^{bx}	7,84±12,40 ^{bx}
β HCH	jelen	0,19±0,12 ^{ay}	<0,001 ^{ax}	9,88±19,71 ^{ax}	9,73±17,77 ^{ax}	0,04±0,07 ^{ax}	0,07±0,08 ^{ay}
	prašič	0,43±0,27 ^{bx}	0,14±0,27 ^{bx}	26,73±16,50 ^{ax}	0,29±0,31 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	18,93±21,29 ^{ax}
δ HCH	jelen	1,96±0,01 ^{ay}	3,18±1,50 ^{ax}	21,13±13,04 ^{bx}	1,77±2,27 ^{ay}	3,28±2,45 ^{ax}	8,32±12,46 ^{bcx}
	prašič	14,52±7,83 ^{ax}	6,48±7,66 ^{bcx}	0,75±1,63 ^{cy}	10,60±8,77 ^{abx}	3,04±1,44 ^{cx}	5,72±8,25 ^{bcx}
β lindan	jelen	0,09±0,16 ^{bx}	0,41±0,57 ^{bx}	25,48±15,73 ^{ax}	0,27±0,32 ^{bx}	0,49±0,34 ^{bx}	8,94±15,45 ^{bx}
	prašič	0,09±0,16 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ay}	0,09±0,16 ^{ax}	0,09±0,16 ^{ay}	<0,001 ^{ax}
γ lindan	jelen	0,59±0,08 ^{by}	1,49±1,24 ^{bx}	142,1±54,8 ^{ax}	33,47±60,95 ^{bx}	0,75±0,74 ^{bx}	28,69±52,12 ^{bx}
	prašič	2,77±1,43 ^{bx}	2,13±0,95 ^{bx}	145,7±89,5 ^{ax}	2,08±1,62 ^{bx}	1,06±0,93 ^{bx}	107,2±112,9 ^{ax}
heptaklor	jelen	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ay}	18,86±35,01 ^{ax}	23,97±44,84 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ay}
	prašič	<0,001 ^{bx}	0,37±0,40 ^{bx}	55,53±34,05 ^{ax}	0,09±0,25 ^{bx}	0,18±0,33 ^{bx}	37,34±40,00 ^{ax}
dieldrin	jelen	0,54±0,19 ^{bx}	0,81±0,03 ^{bx}	223,8±72,3 ^{ax}	17,82±32,74 ^{bx}	0,21±0,38 ^{by}	65,4±121,2 ^{bx}
	prašič	0,21±0,39 ^{bx}	4,09±6,10 ^{bx}	1,30±2,44 ^{by}	8,48±6,11 ^{bx}	3,01±2,41 ^{ax}	519,0±885,2 ^{ax}
DDD 4,4	jelen	0,63±0,39 ^{ax}	0,83±0,52 ^{ay}	9,24±26,15 ^{ax}	0,69±0,43 ^{ax}	1,01±0,08 ^{ax}	0,73±0,45 ^{ax}
	prašič	<0,001 ^{ay}	<0,001 ^{ax}	0,11±0,30 ^{ax}	0,11±0,30 ^{ay}	0,21±0,40 ^{ay}	9,24±26,15 ^{ax}
vsota OCP	jelen	6,49±0,35 ^{by}	10,46±5,63 ^{bx}	463,1±51,3 ^{ax}	92,36±158,3 ^{bx}	8,86±4,96 ^{bx}	113,5±199,7 ^{bx}
	prašič	20,97±9,37 ^{bx}	16,15±15,49 ^{bx}	271,4±159,8 ^{by}	25,06±17,30 ^{bx}	10,38±2,89 ^{bx}	725,5±1003,0 ^{ax}

LD – *m. longissimus dorsi*, TB – *m. triceps brachii*, PL – Poljska, SLO – Slovenija, OCP – organoklorni pesticidi, ^{x,y} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj stolpca se med seboj statistično značilno ne razlikujeta, ^{a,b,c,d,e} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj vrstice se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

V jelenovi mišici LD poljskega izvora je vsebnost skupnih OCP 6,49 ppb, pri divjem prašiču pa 20,97 ppb. Razlika med obema vrstama živali je statistično značilna. Tudi vsebnost HCB, γ HCH, β HCH, δ HCH in γ lindana je v mesu divjega prašiča večja, medtem ko se α HCH in DDD 4,4 nalagata bolj v mesu jelena.

V TB poljskega izvora se heptaklor in DDD 4,4 bolj nalagata v divjem prašiču, kot jeleni.

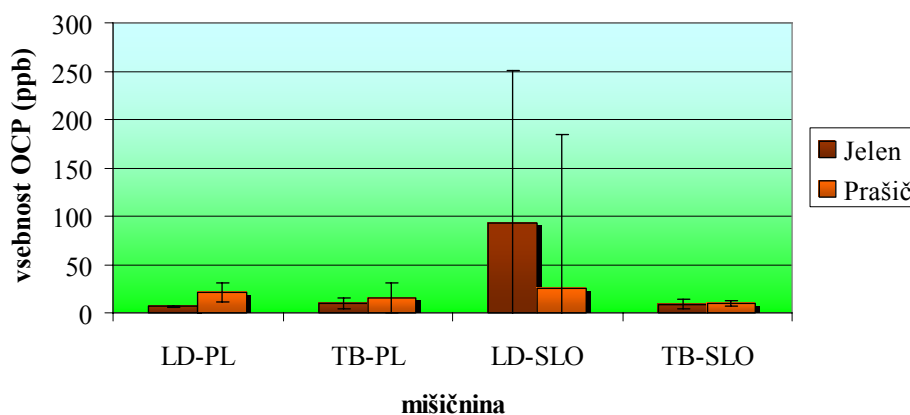
V mastnini jelena poljskega izvora je vsebnost vseh OCP večja, kot v slanini divjega prašiča. Prav tako kot skupni OCP, je vsebnost δ HCH in β lindana večja v slanini jelena.

Vsebnost γ HCH je v mastnini jelena poljskega izvora manjša, kot v slanini poljskega divjega prašiča.

V mišici LD slovenskega izvora je vsebnost δ HCH večja pri divjem prašiču kot pri jelenu, medtem ko je vsebnost DDD 4,4 večja v mišici jelena.

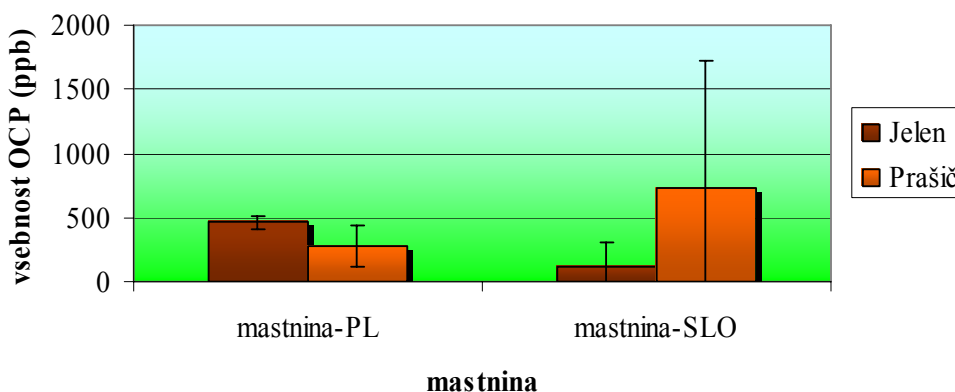
V mišici TB slovenskega izvora je vsebnost HCB, β lindana in DDD 4,4 večja v jelenovem mesu, medtem ko je vsebnost dieldrina večja v mesu divjega prašiča.

Slanina divjega prašiča slovenskega izvora vsebuje več β HCH in heptaklora kot mastnina jelena.



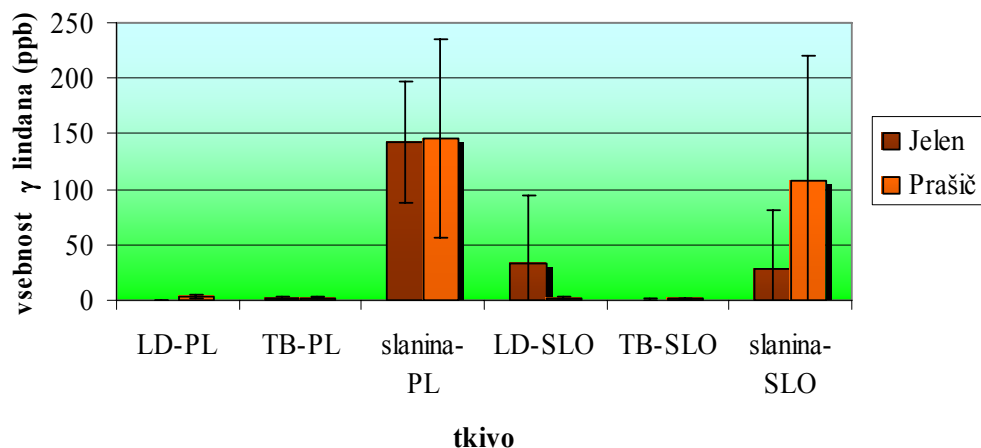
Slika 17: Vpliv vrste živali, mišice in izvora na vsebnost skupnih OCP.

V jelenovi mišici LD slovenskega izvora je vsebnost skupnih OCP največja, vendar ugotovimo da razlik v vsebnosti OCP med ostalimi mišicami ni (slika 17).



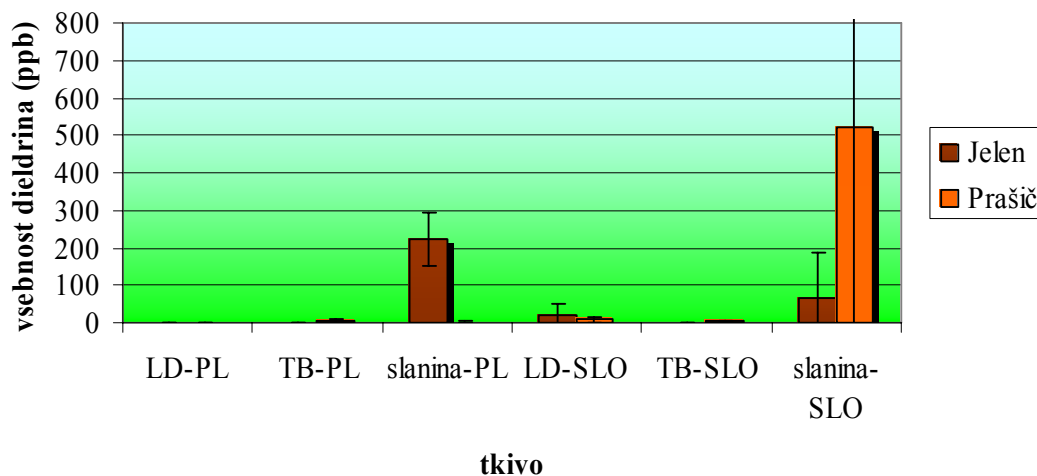
Slika 18: Vpliv vrste živali in izvora na vsebnost skupnih OCP v mastnini.

V mastnini poljskih jelenov je vsebnost skupnih OCP večja kot v mastnini slovenskih jelenov, obratno pa je pri prašičih, kjer je več skupnih OCP v slanini slovenskega izvora. Vse vrednosti se med seboj statistično značilno razlikujejo (slika 18).



Slika 19: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost γ lindana.

Med vsemi analiziranimi tkivi jelena, vsebuje mastnina poljskega jelena značilno največ γ lindana. Pri divjem prašiču pa vsebuje slanina največ γ lindana, ne glede na izvor živali (slika 19).



Slika 20: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora na vsebnost dieldrina.

Vsebnost dieldrina je največja pri mastnini poljskega jelena, ostale vrednosti se po vsebnosti dieldrina statistično ne razlikujejo. Pri divjem prašiču je vsebnost dieldrina največja v slanini živali slovenskega izvora (slika 20).

4.5 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA DIVJAČINSKEGA MESA

Preglednica 11: Maščobnokislinska sestava (ut. %) mesa jelenov različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.

Maščobna kislina (ut.%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)
jelen												
izvor	Slovenija						Poljska					
C10:0	22	0,01	0,00	0,05	0,02	167,14	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
C12:0	22	0,23	0,00	0,46	0,13	57,95	24	0,17	0,00	0,52	0,15	90,81
C12:1	22	0,11	0,03	0,24	0,06	59,11	24	0,10	0,00	0,25	0,07	76,64
C13:0	22	0,03	0,00	0,07	0,03	126,16	24	0,02	0,00	0,14	0,04	170,12
C13:1	22	0,05	0,00	0,14	0,04	78,06	24	0,08	0,01	0,16	0,03	35,48
C14:0	22	3,04	0,19	9,02	2,66	87,54	24	4,50	0,07	13,56	3,46	76,88
C14:1t-9	22	0,13	0,00	0,45	0,10	79,98	24	0,25	0,12	0,80	0,20	80,69
C14:1c-9	22	0,96	0,06	2,73	0,89	92,56	24	1,59	0,81	3,03	0,51	31,82
C15:0	22	0,46	0,28	0,55	0,05	11,73	24	0,67	0,43	1,56	0,34	50,28
C15:1c-5	22	4,54	0,02	10,15	3,56	78,41	24	3,87	0,02	8,52	2,93	75,58
C15:1c-10	22	0,12	0,00	0,31	0,09	76,25	24	0,10	0,01	0,21	0,06	65,26
C16:0	22	30,32	13,38	48,44	13,31	43,90	24	29,67	15,45	42,14	9,00	30,34
C16:1t-9	22	5,88	0,19	17,37	7,73	131,58	24	2,71	0,14	9,08	3,69	135,90
C16:1c-9	22	3,02	0,00	10,56	3,12	103,33	24	5,46	0,00	10,23	4,43	81,06
C17:0	22	0,45	0,32	0,73	0,11	23,49	24	0,57	0,38	0,93	0,25	44,29
C17:1t-10	22	0,80	0,05	3,04	1,02	127,40	24	0,92	0,04	2,97	1,25	135,99
C17:1c-10	22	0,26	0,18	0,34	0,05	18,41	24	0,17	0,01	0,27	0,11	65,45
iC18	22	0,07	0,00	0,21	0,07	90,67	24	0,07	0,00	0,23	0,06	85,68
C18:0	22	12,62	8,59	18,21	3,51	27,82	24	14,93	10,10	21,35	4,58	30,67
C18:1t-9	22	0,51	0,11	0,92	0,28	54,92	24	0,81	0,50	1,87	0,45	54,77
C18:1c-9+c-11	22	16,00	7,30	20,78	3,58	22,60	24	16,07	3,89	17,44	3,68	32,85
C18:2t-9,12	22	0,04	0,00	0,26	0,06	153,29	24	0,04	0,00	0,33	0,08	223,28
C18:2c-9,12	22	9,51	0,88	20,87	6,61	69,49	24	7,51	0,14	17,44	5,74	76,39
C18:3c-6,9,12	22	0,01	0,00	0,05	0,02	222,91	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
C20:0	22	0,13	0,00	0,36	0,09	75,80	24	0,15	0,03	0,31	0,09	62,91
C18:3c-9,12,15	22	2,35	0,70	5,45	1,40	59,48	24	2,65	0,87	4,66	1,28	48,29
C20:1c-9	22	0,37	0,00	0,49	0,11	30,14	24	0,36	0,00	0,72	0,15	42,85
C20:1c-11	22	0,02	0,00	0,06	0,03	167,14	24	0,01	0,00	0,08	0,02	185,14
C21:0	22	0,03	0,00	0,11	0,04	132,46	24	0,02	0,00	0,19	0,05	194,96
C20:2c-11,14	22	0,06	0,00	0,14	0,05	75,64	24	0,08	0,03	0,15	0,04	48,41
C20:3c-8,11,14	22	0,12	0,00	0,99	0,20	170,36	24	0,06	0,00	0,15	0,05	73,88

Nadaljevanje-Preglednica 11: Maščobnokislinska sestava (ut. %) mesa jelenov različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.

Maščobna kislina (ut.%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)
jelen												
izvor	Slovenija						Poljska					
C20:3c-11,14,17	22	0,38	0,00	1,31	0,39	101,43	24	0,30	0,04	0,90	0,24	78,37
C22:0	22	0,01	0,00	0,05	0,02	218,53	24	0,04	0,00	0,09	0,03	77,22
C20:4c-5,8,11,14	22	4,03	0,04	10,76	3,44	85,41	24	3,15	0,06	7,94	2,69	85,29
C22:1c-13	22	0,04	0,00	0,13	0,04	87,83	24	0,03	0,00	0,06	0,03	87,84
C23:0	22	0,10	0,00	0,27	0,09	92,03	24	0,10	0,04	0,23	0,05	54,09
C20:5c-5,8,11,14,17	22	0,69	0,00	1,40	0,58	83,68	24	0,30	0,00	1,18	0,52	172,69
C22:2c-13,16	22	0,21	0,00	0,91	0,26	122,18	24	0,50	0,00	1,44	0,48	95,98
C24:0	22	0,02	0,00	0,15	0,05	200,82	24	0,01	0,00	0,08	0,02	173,77
C24:1	22	0,25	0,02	0,48	0,18	70,56	24	0,15	0,00	0,43	0,13	86,49
C22:5c-7,10,13,16,19	22	1,63	0,04	3,68	1,25	76,28	24	1,34	0,02	3,05	1,08	80,32
C22:6c-4,7,10,13,16,19	22	0,28	0,00	0,73	0,26	91,40	24	0,46	0,02	0,97	0,38	82,10

n – število opazovanj, \bar{x} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.

Preglednica 12: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave (ut. %) mesa divjih prašičev različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.

Maščobna kislina (ut.%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)
divji prašič												
izvor	Slovenija						Poljska					
C10:0	24	0,06	0,00	0,19	0,05	76,85	24	0,07	0,00	0,09	0,02	26,45
C12:0	24	0,06	0,00	0,09	0,02	30,99	24	0,07	0,03	0,08	0,01	15,19
C12:1	24	0,02	0,00	0,07	0,02	106,14	24	0,02	0,00	0,07	0,02	122,16
C13:0	24	0,00	0,00	0,00	0,00	338,80	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
C13:1	24	0,00	0,00	0,02	0,01	338,80	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
C14:0	24	1,15	0,69	1,82	0,26	22,57	24	1,21	0,85	1,55	0,19	15,68
C14:1t-9	24	0,01	0,00	0,03	0,01	124,31	24	0,08	0,00	0,26	0,11	132,36
C14:1c-9	24	0,04	0,01	0,10	0,02	58,06	24	0,04	0,03	0,07	0,01	29,32
C15:0	24	0,05	0,01	0,07	0,01	26,50	24	0,03	0,00	0,07	0,03	91,84
C15:1c-5	24	1,35	0,00	3,01	1,08	79,98	24	1,49	0,70	4,39	0,97	64,83
C15:1c-10	24	0,02	0,00	0,06	0,02	101,14	24	0,01	0,00	0,05	0,02	139,14
C16:0	24	21,82	6,98	26,75	3,88	17,76	24	25,14	19,95	27,06	2,51	9,99
C16:1t-9	24	0,97	0,25	2,32	0,88	90,01	24	1,32	0,25	3,49	1,14	86,39

Nadaljevanje - Preglednica 12: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave (ut. %) mesa divjih prašičev različnega izvora z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri.

Parameter	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)	n	\bar{x}	min	max	so	KV (%)
divji prašič												
izvor	Slovenija						Poljska					
C16:1c-9	24	2,16	0,17	4,02	1,45	67,01	24	1,60	0,03	3,94	1,60	100,43
C17:0	24	0,20	0,01	0,32	0,10	51,91	24	0,16	0,07	0,35	0,09	55,02
C17:1t-10	24	0,18	0,00	1,36	0,32	176,63	24	0,16	0,00	1,38	0,35	225,85
C17:1c-10	24	0,23	0,02	0,49	0,10	43,59	24	0,15	0,11	0,30	0,06	38,69
iC18	24	0,06	0,00	0,17	0,05	85,21	24	0,05	0,00	0,19	0,06	125,63
C18:0	24	10,58	9,05	14,31	1,64	15,54	24	12,75	10,80	14,40	1,02	7,98
C18:1t-9	24	0,13	0,00	0,23	0,08	65,14	24	0,10	0,08	0,15	0,02	22,93
C18:1c-9+c-11	24	40,06	25,74	48,32	5,80	14,86	24	45,15	26,41	52,48	8,37	20,06
C18:2t-9,12	24	0,01	0,00	0,15	0,03	489,90	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
C18:2c-9,12	24	14,29	0,05	25,37	5,79	40,53	24	6,54	0,12	21,57	7,41	113,24
C18:3c-6,9,12	24	0,00	0,00	0,02	0,01	159,78	24	0,00	0,00	0,02	0,01	144,47
C20:0	24	0,22	0,10	0,35	0,07	30,92	24	0,21	0,10	0,26	0,05	22,29
C18:3c-9,12,15	24	0,82	0,08	1,39	0,40	48,70	24	0,56	0,26	1,21	0,25	44,44
C20:1c-9	24	0,96	0,00	1,81	0,51	53,02	24	0,64	0,14	1,15	0,40	62,42
C20:1c-11	24	0,03	0,00	0,10	0,03	126,65	24	0,02	0,00	0,03	0,01	87,32
C21:0	24	0,01	0,00	0,04	0,01	134,29	24	0,01	0,00	0,03	0,01	98,70
C20:2c-11,14	24	0,47	0,30	0,65	0,11	22,69	24	0,23	0,02	0,48	0,18	76,77
C20:3c-8,11,14	24	0,06	0,01	0,09	0,03	47,96	24	0,04	0,01	0,10	0,03	74,79
C20:3c-11,14,17	24	0,22	0,03	0,34	0,12	53,50	24	0,16	0,00	0,44	0,14	87,25
C22:0	24	0,02	0,00	0,13	0,04	198,43	24	0,00	0,00	0,01	0,00	228,42
C20:4c-5,8,11,14	24	2,57	0,20	6,13	1,93	75,13	24	1,71	0,01	5,36	1,76	102,79
C22:1c-13	24	0,02	0,00	0,09	0,04	154,93	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
C23:0	24	0,04	0,00	0,14	0,04	119,05	24	0,00	0,00	0,02	0,01	228,42
C20:5c-8,11,14,17	24	0,14	0,00	0,35	0,14	93,71	24	0,21	0,00	0,60	0,19	91,11
C22:2c-13,16	24	0,08	0,00	0,37	0,13	149,81	24	0,01	0,00	0,07	0,02	153,36
C24:0	24	0,00	0,00	0,01	0,01	148,91	24	0,00	0,00	0,00	0,00	-
C24:1	24	0,20	0,05	0,38	0,12	59,67	24	0,13	0,00	0,34	0,11	79,83
C22:5c-7,10,13,16,19	24	0,55	0,00	1,16	0,36	66,69	24	0,38	0,00	0,96	0,33	87,11
C22:6c-4,7,10,13,16,19	24	0,11	0,02	0,29	0,08	75,32	24	0,05	0,00	0,12	0,03	71,75

n – število opazovanj, \bar{x} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti.

Preglednica 13: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na maščobnokislinsko sestavo mesa jelenov in divjih prašičev različnega izvora.

Maščobna kislina	vir variabilnosti (<i>p</i> -vrednost)			
	vrsta	mišica	izvor	vrsta*mišica*izvor
C10:0	<0,0001	0,001	0,1461	<0,0001
C12:0	<0,0001	<0,0001	0,008	<0,0001
C12:1	<0,0001	<0,0001	0,4046	<0,0001
C13:0	<0,0001	<0,0001	0,2006	<0,0001
C13:1	<0,0001	<0,0001	0,0004	<0,0001
C14:0	<0,0001	0,0602	0,0275	0,0001
C14:1 <i>t</i> -9	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
C14:1 <i>c</i> -9	<0,0001	0,0027	<0,0001	<0,0001
C15:0	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
C15:1 <i>c</i> -5	<0,0001	<0,0001	0,7493	<0,0001
C15:1 <i>c</i> -10	<0,0001	<0,0001	0,297	0,0007
C16:0	<0,0001	<0,0001	0,4728	<0,0001
C16:1 <i>t</i> -9	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
C16:1 <i>c</i> -9	<0,0001	<0,0001	0,0009	<0,0001
C17:0	<0,0001	<0,0001	0,0268	<0,0001
C17:1 <i>t</i> -10	<0,0001	<0,0001	0,4551	<0,0001
C17:1 <i>c</i> -10	0,0207	<0,0001	<0,0001	<0,0001
iC18	0,0687	<0,0001	0,3924	0,1042
C18:0	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
C18:1 <i>t</i> -9	<0,0001	0,0239	<0,0001	<0,0001
C18:1 <i>c</i> -9+ <i>c</i> -11	<0,0001	<0,0001	0,083	<0,0001
C18:2 <i>t</i> -9,12	0,0014	0,1457	0,6606	0,5206
C18:2 <i>c</i> -9,12	0,0091	<0,0001	<0,0001	0,0111
C18:3 <i>c</i> -6,9,12	0,6578	0,0225	0,0507	<0,0001
C20:0	<0,0001	<0,0001	0,5274	<0,0001
C18:3 <i>c</i> -9,12,15	<0,0001	<0,0001	0,3958	<0,0001
C20:1 <i>c</i> -9	<0,0001	0,6055	0,0043	<0,0001
C20:1 <i>c</i> -11	0,2044	<0,0001	0,0164	0,0135
C21:0	<0,0001	<0,0001	0,2207	0,0002
C20:2 <i>c</i> -11,14	<0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001
C20:3 <i>c</i> -8,11,14	0,0497	<0,0001	0,1016	0,1646
C20:3 <i>c</i> -11,14,17	0,0001	<0,0001	0,1495	0,008
C22:0	0,0015	<0,0001	0,1354	<0,0001

Nadaljevanje-Preglednica 13: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na maščobnokislinsko sestavo mesa jelenov in divjih prašičev različnega izvora.

Maščobna kislina	vir variabilnosti (<i>p</i> -vrednost)			
	vrsta	mišica	izvor	vrsta*mišica*izvor
C20:4c-5,8,11,14	<0,0001	<0,0001	0,0154	0,0068
C22:1c-13	<0,0001	0,4089	<0,0001	<0,0001
C23:0	<0,0001	<0,0001	0,1234	<0,0001
C20:5c-5,8,11,14,17	<0,0001	<0,0001	0,017	<0,0001
C22:2c-13,16	<0,0001	<0,0001	0,0043	<0,0001
C24:0	0,0007	0,0358	0,1513	<0,0001
C24:1	0,0321	<0,0001	<0,0001	0,0078
C22:5c-7,10,13,16,19	<0,0001	<0,0001	0,0387	<0,0001
C22:6c-4,7,10,13,16,19	<0,0001	<0,0001	0,0033	<0,0001

p ≤ 0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; *p* ≤ 0,01 statistično visoko značilen vpliv; *p* ≤ 0,05 statistično značilen vpliv; *p* > 0,05 statistično neznačilen vpliv.

Preglednica 14: Viri variabilnosti in statistične značilnosti njihovega vpliva na nekatere pokazatelje maščobnokislinske sestave divjačinskega mesa različnega izvora.

Parameter	vir variabilnosti (<i>p</i> -vrednost)			
	vrsta	mišica	izvor	vrsta*mišica*izvor
NMK	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
ENMK	<0,0001	0,1203	0,0003	<0,0001
VNMK	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0375
P/S	0,0308	<0,0001	<0,0001	0,0116
<i>n</i> -6	0,2414	<0,0001	<0,0001	0,0155
<i>n</i> -3	<0,0001	<0,0001	0,3803	<0,0001
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	<0,0001	0,8408	<0,0001	<0,0001
IA	<0,0001	<0,0001	0,0202	<0,0001

p ≤ 0,001 statistično zelo visoko značilen vpliv; *p* ≤ 0,01 statistično visoko značilen vpliv; *p* ≤ 0,05 statistično značilen vpliv; *p* > 0,05 statistično neznačilen vpliv, ENMK so enkrat nenasičene maščobne kisline. P/S razmerje je razmerje med VNMK (večkrat nenasičene maščobne kisline) in NMK (nasičene maščobne kisline). *n*-3 maščobne kisline zavzemajo 18:3cis-9,12,15, 18:4cis-6,9,12,15, 20:5cis-5,8,11,14,17, 22:5cis-7,10,13,16,19, in 22:6cis-4,7,10,13,16,19, ter *n*-6 maščobne kisline zavzemajo 18:2cis-9,12, 18:3cis-6,9,12, 20:3cis-8,11,14, 20:4cis-5,8,11,14, 22:2cis-13,16, in 22:4cis-7,10,13,16. 17:1trans-10, 20:2cis-11,14, 22:1cis-13, 22:4cis-7,10,13,16 in 24:1cis-15 so bile tudi določene, vendar je njihova koncentracija manjša kot 0.01 g/100 g od skupnih maščobnih kislin. IA je indeks aterogenosti = (C12:0 + 4 C14:0 + C16:0)/(Σ(*n*-6) + Σ(*n*-3) + C18:1cis-9 + ostale ENMK) (Ulbricht & Southgate, 1991).

Vpliv vrste živali na vsebnost NMK, ENMK, VNMK, $n-3$, $n-6/n-3$ in na IA v divjačinskem mesu je statistično zelo visoko značilen, na razmerje P/S pa statistično značilen.

Vpliv vrste mišice na vsebnost NMK, VNMK, P/S, $n-3$, $n-6$ in na IA v divjačinskem mesu je statistično zelo visoko značilen.

Vpliv izvora živali na vsebnost NMK, ENMK, VNMK, P/S, $n-6$ in na razmerje $n-6/n-3$ je statistično zelo visoko značilen, na IA pa statistično značilen.

Vplivi vrsta mesa, vrsta mišice in izvor živali hkrati statistično zelo visoko značilno vplivajo na vsebnost NMK, ENMK, $n-3$, $n-6/n-3$ in na IA. Ti trije vplivi hkrati statistično značilno vplivajo na vsebnost VNMK, P/S in $n-6$ v divjačinskem mesu.

Preglednica 15: Vpliv vrste živali, mišice in izvora na maščobnokislinsko sestavo divjačinskega mesa (ut. %) (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).

MK	vrsta	LD-PL	TB-PL	slanina-PL	LD-SLO	TB-SLO	slanina-SLO
C10:0	jelen	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	0,05±0,00 ^{ax}
	prašič	0,08±0,01 ^{abx}	0,07±0,03 ^{bxc}	0,06±0,00 ^{cx}	0,11±0,04 ^{ax}	0,04±0,04 ^{cx}	0,04±0,03 ^{cx}
C12:0	jelen	0,17±0,01 ^{bx}	<0,001 ^{cy}	0,33±0,11 ^{ax}	0,21±0,16 ^{bx}	0,15±0,05 ^{bx}	0,37±0,01 ^{ax}
	prašič	0,07±0,01 ^{aby}	0,06±0,02 ^{abx}	0,07±0,00 ^{aby}	0,06±0,03 ^{by}	0,06±0,02 ^{aby}	0,08±0,01 ^{ay}
C12:1	jelen	0,09±0,01 ^{bx}	0,18±0,03 ^{ax}	0,01±0,01 ^{cx}	0,11±0,04 ^{bx}	0,16±0,05 ^{ax}	0,03±0,00 ^{cx}
	prašič	0,02±0,01 ^{bcy}	0,04±0,03 ^{ay}	<0,001 ^{cy}	0,03±0,02 ^{aby}	0,04±0,02 ^{ay}	<0,001 ^{cy}
C13:0	jelen	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,07±0,04 ^{ax}	0,02±0,03 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,07±0,01 ^{ax}
	prašič	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{ay}
C13:1	jelen	0,09±0,01 ^{abx}	0,10±0,03 ^{ax}	0,06±0,03 ^{bc}	0,04±0,04 ^{cx}	0,09±0,03 ^{abx}	0,02±0,00 ^{cx}
	prašič	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	0,01±0,01 ^{ay}	<0,001 ^{by}
C14:0	jelen	4,71±0,26 ^{ax}	2,63±0,31 ^{abx}	6,17±5,66 ^{ax}	4,97±2,97 ^{ax}	3,23±1,06 ^{abx}	0,19±0,03 ^{by}
	prašič	1,41±0,08 ^{ay}	1,07±0,20 ^{by}	1,16±0,01 ^{by}	1,14±0,11 ^{by}	0,90±0,17 ^{cy}	1,43±0,20 ^{ax}
C14:1 t -9	jelen	0,13±0,01 ^{bx}	0,14±0,03 ^{bx}	0,47±0,21 ^{ax}	0,09±0,05 ^{bx}	0,19±0,15 ^{bx}	0,09±0,01 ^{bx}
	prašič	0,01±0,01 ^{by}	0,02±0,01 ^{by}	0,24±0,02 ^{ay}	0,01±0,01 ^{by}	0,02±0,01 ^{by}	0,01±0,01 ^{by}
C14:1 c -9	jelen	1,74±0,10 ^{ax}	1,27±0,22 ^{ax}	1,77±0,79 ^{ax}	1,52±0,93 ^{ax}	1,07±0,64 ^{ax}	0,06±0,01 ^{bx}
	prašič	0,03±0,0 ^{by}	0,05±0,01 ^{ay}	0,03±0,00 ^{by}	0,05±0,02 ^{ay}	0,06±0,01 ^{ay}	0,01±0,00 ^{cy}
C15:0	jelen	0,47±0,03 ^{bx}	0,47±0,10 ^{bx}	1,06±0,31 ^{ax}	0,46±0,04 ^{bx}	0,45±0,08 ^{bx}	0,48±0,12 ^{bx}
	prašič	0,03±0,01 ^{by}	0,05±0,02 ^{by}	1,05±0,06 ^{ax}	0,05±0,01 ^{by}	0,05±0,01 ^{by}	0,04±0,02 ^{by}
C15:1 c -5	jelen	4,97±0,27 ^{ax}	6,62±1,12 ^{ax}	0,03±0,01 ^{bx}	5,44±3,29 ^{ax}	7,03±1,29 ^{ax}	0,02±0,00 ^{bx}
	prašič	1,02±0,36 ^{by}	2,40±1,23 ^{ay}	<0,001 ^{dy}	1,73±0,26 ^{aby}	2,32±0,69 ^{ay}	0,01±0,01 ^{cy}

Nadaljevanje-Preglednica 15: Vpliv vrste živali, mišice in izvora na maščobnokislinsko sestavo divjačinskega mesa (ut. %) (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).

MK	vrsta	LD-PL	TB-PL	slanina-PL	LD-SLO	TB-SLO	slanina-SLO
C15:1c-10	jelen	0,09±0,01 ^{bcx}	0,17±0,01 ^{ax}	0,02±0,01 ^{cx}	0,13±0,12 ^{abx}	0,15±0,06 ^{abx}	0,05±0,01 ^{cx}
	prašič	0,01±0,02 ^{aby}	0,03±0,02 ^{ay}	<0,001 ^{cy}	0,03±0,01 ^{ay}	0,03±0,02 ^{ay}	<0,001 ^{by}
C16:0	jelen	30,41±1,67 ^{cx}	18,66±1,31 ^{dy}	39,94±2,22 ^{bx}	27,00±10,36 ^{cx}	20,07±3,21 ^{dx}	48,44±3,15 ^{ax}
	prašič	26,32±1,00 ^{ay}	22,33±2,46 ^{bx}	26,78±0,07 ^{ay}	22,46±0,71 ^{bx}	20,12±1,13 ^{bx}	22,42±7,64 ^{by}
C16:1t-9	jelen	0,14±0,01 ^{cy}	0,26±0,08 ^{bcx}	0,74±1,16 ^{ay}	0,75±4,53 ^{ax}	0,39±0,07 ^{bx}	0,15±0,04 ^{cx}
	prašič	1,97±1,62 ^{ax}	0,36±0,11 ^{bx}	1,64±0,02 ^{ax}	0,38±0,10 ^{bx}	0,36±0,08 ^{bx}	0,19±0,07 ^{bx}
C16:1c-9	jelen	10,23±0,56 ^{ax}	6,16±1,96 ^{bx}	7,74±1,16 ^{abx}	3,83±3,77 ^{bx}	4,47±1,99 ^{bx}	10,37±0,12 ^{ax}
	prašič	1,74±1,85 ^{by}	2,97±0,40 ^{ay}	3,48±0,87 ^{ay}	3,46±0,57 ^{ax}	2,72±0,45 ^{aby}	2,31±0,24 ^{cy}
C17:0	jelen	0,38±0,02 ^{bx}	0,41±0,04 ^{bx}	0,91±0,02 ^{ax}	0,44±0,13 ^{bx}	0,48±0,12 ^{bx}	0,42±0,07 ^{bx}
	prašič	0,18±0,07 ^{aby}	0,22±0,09 ^{ay}	0,08±0,00 ^{cy}	0,20±0,05 ^{aby}	0,22±0,06 ^{ay}	0,12±0,16 ^{by}
C17:1t-10	jelen	0,04±0,00 ^{cx}	2,65±0,18 ^{ax}	0,07±0,00 ^{cx}	1,07±1,09 ^{bx}	1,10±1,12 ^{bx}	0,05±0,01 ^{cx}
	prašič	0,07±0,13 ^{ax}	0,40±0,54 ^{ay}	<0,001 ^{by}	0,24±0,31 ^{ax}	0,27±0,45 ^{ax}	0,04±0,01 ^{ax}
C17:1c-10	jelen	0,25±0,01 ^{ax}	0,26±0,02 ^{ax}	0,02±0,00 ^{by}	0,25±0,04 ^{ax}	0,26±0,07 ^{ax}	0,28±0,03 ^{ax}
	prašič	0,14±0,05 ^{by}	0,19±0,07 ^{by}	0,11±0,00 ^{cx}	0,21±0,05 ^{abx}	0,29±0,12 ^{ax}	0,18±0,11 ^{bx}
iC18	jelen	0,09±0,01 ^{ax}	0,12±0,06 ^{ax}	<0,001 ^{bx}	0,10±0,07 ^{ax}	0,11±0,05 ^{ax}	<0,001 ^{bx}
	prašič	0,03±0,03 ^{by}	0,11±0,05 ^{ax}	<0,001 ^{bx}	0,08±0,01 ^{ax}	0,11±0,04 ^{ax}	<0,001 ^{bx}
C18:0	jelen	10,10±0,55 ^{dy}	13,98±1,45 ^{bcx}	20,70±1,00 ^{ax}	12,89±3,15 ^{cx}	15,39±2,08 ^{bx}	8,59±0,78 ^{dx}
	prašič	13,44±1,19 ^{ax}	11,99±0,88 ^{by}	12,81±0,07 ^{aby}	10,07±0,62 ^{cy}	10,22±0,59 ^{cy}	12,25±2,55 ^{abx}
C18:1t-9	jelen	0,50±0,03 ^{cx}	0,56±0,06 ^{bcx}	1,39±0,30 ^{ax}	0,57±0,13 ^{bcx}	0,74±0,10 ^{bx}	0,11±0,04 ^{dx}
	prašič	0,10±0,02 ^{by}	0,11±0,02 ^{by}	0,08±0,00 ^{bcy}	0,18±0,04 ^{ay}	0,19±0,04 ^{ay}	0,02±0,02 ^{cy}
C18:1c-9+c-11	jelen	16,60±0,58 ^{bcy}	14,91±1,37 ^{cy}	16,70±7,73 ^{by}	14,27±3,15 ^{by}	14,40±1,45 ^{by}	20,78±1,30 ^{ay}
	prašič	42,01±6,61 ^{cx}	37,22±7,76 ^{cx}	56,22±0,14 ^{ax}	38,36±3,68 ^{cx}	34,12±5,27 ^{cx}	47,71±5,25 ^{bx}
C18:2t-9,12	jelen	<0,001 ^{ax}	0,07±0,14 ^{ax}	0,04±0,03 ^{ax}	0,02±0,05 ^{ax}	0,04±0,09 ^{ax}	0,06±0,01 ^{ax}
	prašič	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	<0,001 ^{ax}	0,02±0,06 ^{ax}
C18:2c-9,12	jelen	9,29±0,51 ^{bx}	13,09±2,72 ^{abx}	0,16±0,02 ^{cx}	10,98±5,00 ^{abx}	14,51±3,33 ^{ay}	0,88±0,12 ^{cx}
	prašič	6,69±6,35 ^{cx}	12,81±6,93 ^{abx}	0,13±0,00 ^{dx}	14,23±3,14 ^{abx}	18,79±4,02 ^{ax}	8,44±6,66 ^{bcx}
C18:3c-6,9,12	jelen	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{by}	0,00±0,01 ^{abx}	0,02±0,03 ^{ax}	<0,001 ^{by}
	prašič	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,01±0,00 ^{ax}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,01±0,01 ^{ax}
C20:0	jelen	0,03±0,00 ^{dy}	0,16±0,02 ^{abx}	0,25±0,04 ^{ax}	0,14±0,08 ^{bcx}	0,16±0,13 ^{abx}	0,06±0,02 ^{cdy}
	prašič	0,23±0,03 ^{bx}	0,15±0,03 ^{dx}	0,25±0,00 ^{abx}	0,20±0,04 ^{bcx}	0,17±0,04 ^{cdx}	0,31±0,04 ^{ax}
C18:3c-9,12,15	jelen	2,64±0,14 ^{bcx}	4,17±0,26 ^{ax}	1,13±0,19 ^{dx}	2,52±0,73 ^{cx}	3,41±1,29 ^{abx}	0,70±0,07 ^{dx}
	prašič	0,47±0,23 ^{by}	0,76±0,28 ^{aby}	0,45±0,01 ^{by}	0,85±0,35 ^{aby}	0,91±0,27 ^{ay}	0,82±0,61 ^{abx}

Nadaljevanje-Preglednica 15: Vpliv vrste živali, mišice in izvora na maščobnokislinsko sestavo divjačinskega mesa (ut. %) (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).

MK	vrsta	LD-PL	TB-PL	slanina-PL	LD-SLO	TB-SLO	slanina-SLO
C20:1c-9	jelen	0,32±0,02 ^{bcy}	0,30±0,18 ^{cy}	0,47±0,16 ^{abx}	0,30±0,13 ^{cy}	0,36±0,05 ^{abcy}	0,49±0,14 ^{ay}
	prašič	1,04±0,13 ^{ax}	0,76±0,17 ^{ax}	0,14±0,00 ^{by}	0,86±0,26 ^{ax}	0,86±0,22 ^{ax}	0,95±0,85 ^{ax}
C20:1c-11	jelen	<0,001 ^{cy}	<0,001 ^{cx}	0,04±0,02 ^{bx}	<0,001 ^{cy}	<0,001 ^{cx}	0,06±0,01 ^{ax}
	prašič	0,02±0,02 ^{ax}	0,01±0,01 ^{ax}	0,03±0,00 ^{ax}	0,02±0,02 ^{ax}	0,03±0,05 ^{ax}	0,03±0,03 ^{ax}
C21:0	jelen	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{bx}	0,07±0,06 ^{ax}	0,01±0,02 ^{bx}	0,01±0,04 ^{bx}	0,09±0,03 ^{ax}
	prašič	0,01±0,01 ^{bx}	<0,001 ^{bxc}	0,03±0,01 ^{ax}	0,00±0,01 ^{bxc}	<0,001 ^{cx}	0,03±0,00 ^{ay}
C20:2c-11,14	jelen	0,08±0,00 ^{ay}	0,12±0,02 ^{ay}	0,03±0,01 ^{bx}	0,08±0,04 ^{ay}	0,08±0,05 ^{ay}	0,02±0,01 ^{by}
	prašič	0,30±0,12 ^{cx}	0,35±0,15 ^{bxc}	0,04±0,00 ^{dx}	0,39±0,09 ^{bxc}	0,46±0,08 ^{bx}	0,59±0,07 ^{ax}
C20:3c-8,11,14	jelen	0,06±0,00 ^{abx}	0,12±0,02 ^{abx}	0,01±0,01 ^{bx}	0,10±0,07 ^{abx}	0,23±0,31 ^{ax}	<0,001 ^{bx}
	prašič	0,04±0,00 ^{by}	0,07±0,02 ^{ay}	0,01±0,00 ^{cx}	0,05±0,01 ^{abx}	0,08±0,02 ^{ax}	0,06±0,03 ^{abx}
C20:3c-11,14,17	jelen	0,30±0,02 ^{abx}	0,56±0,19 ^{ax}	0,05±0,01 ^{bx}	0,58±0,48 ^{ax}	0,47±0,21 ^{ax}	<0,001 ^{bx}
	prašič	0,18±0,03 ^{by}	0,30±0,10 ^{ay}	<0,001 ^{dy}	0,28±0,04 ^{ax}	0,31±0,03 ^{ay}	0,05±0,03 ^{cx}
C22:0	jelen	0,05±0,00 ^{ax}	<0,001 ^{bx}	0,06±0,01 ^{ax}	0,01±0,02 ^{bx}	0,01±0,02 ^{bx}	<0,001 ^{bx}
	prašič	0,01±0,01 ^{by}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,07±0,05 ^{ax}
C20:4c-5,8,11,14	jelen	2,99±0,16 ^{bx}	6,39±0,92 ^{ax}	0,07±0,02 ^{cx}	5,16±3,82 ^{abx}	5,88±1,38 ^{ax}	0,04±0,00 ^{cy}
	prašič	1,53±0,45 ^{cy}	3,60±1,60 ^{aby}	0,01±0,00 ^{cy}	2,99±0,37 ^{bx}	4,46±1,33 ^{ax}	0,25±0,05 ^{dx}
C22:1c-13,n-9	jelen	0,05±0,00 ^{ax}	0,04±0,03 ^{ax}	<0,001 ^{bx}	0,04±0,04 ^{ax}	0,05±0,06 ^{ax}	0,04±0,00 ^{ax}
	prašič	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	0,06±0,02 ^{ax}
C23:0	jelen	0,10±0,01 ^{abx}	0,16±0,04 ^{ax}	0,04±0,01 ^{bxc}	0,13±0,10 ^{ax}	0,15±0,07 ^{ax}	<0,001 ^{cy}
	prašič	0,01±0,01 ^{by}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{by}	0,01±0,02 ^{by}	0,06±0,06 ^{ay}	0,03±0,01 ^{bx}
C20:5c-8,11,14,17	jelen	<0,001 ^{by}	0,89±0,55 ^{ax}	0,02±0,01 ^{bx}	0,97±0,37 ^{ax}	0,91±0,58 ^{ax}	0,02±0,01 ^{bx}
	prašič	0,21±0,01 ^{bx}	0,42±0,14 ^{ay}	<0,001 ^{dy}	0,25±0,05 ^{by}	0,16±0,17 ^{by}	0,02±0,02 ^{cx}
C22:2c-13,16	jelen	0,91±0,05 ^{ax}	0,57±0,52 ^{abx}	0,01±0,01 ^{dx}	0,18±0,14 ^{cdx}	0,40±0,32 ^{bxc}	<0,001 ^{dx}
	prašič	0,02±0,01 ^{by}	0,02±0,03 ^{by}	<0,001 ^{cy}	0,03±0,02 ^{by}	0,21±0,16 ^{ax}	0,02±0,01 ^{bx}
C24:0	jelen	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	0,04±0,02 ^{abx}	0,01±0,02 ^{bx}	0,06±0,07 ^{ax}	<0,001 ^{by}
	prašič	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{by}	<0,001 ^{bx}	<0,001 ^{by}	0,01±0,00 ^{ax}
C24:1	jelen	0,14±0,01 ^{bx}	0,31±0,07 ^{ax}	0,01±0,01 ^{cx}	0,30±0,14 ^{ax}	0,39±0,08 ^{ax}	0,02±0,00 ^{cy}
	prašič	0,14±0,01 ^{cx}	0,24±0,07 ^{abx}	0,01±0,01 ^{cx}	0,24±0,04 ^{bx}	0,30±0,09 ^{ay}	0,06±0,01 ^{dx}
C22:5c-7,10,13,16,19	jelen	1,41±0,08 ^{bx}	2,59±0,27 ^{ax}	0,03±0,02 ^{cx}	1,94±1,13 ^{abx}	2,53±0,43 ^{ax}	0,04±0,00 ^{cx}
	prašič	0,39±0,03 ^{cy}	0,74±0,23 ^{aby}	0,01±0,01 ^{dx}	0,65±0,06 ^{by}	0,90±0,21 ^{ay}	0,09±0,07 ^{dx}
C22:6c-4,7,10,13,16,19	jelen	0,44±0,02 ^{bx}	0,91±0,11 ^{ax}	0,02±0,00 ^{cx}	0,37±0,27 ^{bx}	0,42±0,19 ^{bx}	<0,001 ^{cy}
	prašič	0,04±0,01 ^{dy}	0,08±0,03 ^{cy}	0,02±0,02 ^{dx}	0,12±0,04 ^{by}	0,19±0,07 ^{ay}	0,02±0,00 ^{dx}

n – število obravnavanj v skupini, \bar{x} – povprečna vrednost, so – standardni odklon, ^{x,y} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj stolpca se med seboj statistično značilno ne razlikujeta, ^{a,b,c,d,e} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj vrstice se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

Preglednica 16: Vpliv vrste mesa, mišice in izvora na nekatere pokazatelje maščobnokislinske sestave divjačinskega mesa (ut. %) (Duncanov test, $\alpha = 0,05$).

Pokazatelj	vrsta	LD-PL	TB-PL	slanina-PL	LD-SLO	TB-SLO	slanina-SLO
NMK	jelen	46,42±2,54 ^{cx}	36,43±1,89 ^{dx}	69,53±5,68 ^{ax}	46,24±10,37 ^{cx}	40,11±2,44 ^{cdx}	58,68±2,15 ^{bx}
	prašič	41,79±2,11 ^{ay}	36,05±2,89 ^{bx}	41,22±0,16 ^{ay}	34,36±0,80 ^{bey}	31,88±1,15 ^{cy}	36,75±7,29 ^{by}
ENMK	jelen	34,42±1,89 ^{ay}	30,02±2,57 ^{aby}	19,11±6,84 ^{dy}	25,94±4,32 ^{bey}	28,03±3,04 ^{by}	21,83±1,11 ^{cdy}
	prašič	46,02±5,01 ^{abx}	43,66±7,03 ^{bx}	50,14±4,14 ^{ax}	44,74±4,07 ^{abx}	40,48±5,24 ^{bx}	50,47±5,10 ^{ax}
VNMK	jelen	19,16±1,05 ^{bx}	33,55±3,02 ^{ax}	11,36±1,50 ^{cx}	27,82±10,44 ^{ax}	31,86±5,04 ^{ax}	19,49±0,03 ^{bx}
	prašič	12,19±5,66 ^{cy}	20,29±9,56 ^{by}	8,97±1,58 ^{dy}	20,89±4,03 ^{abx}	27,64±5,98 ^{ax}	12,78±6,39 ^{cx}
P/S	jelen	0,41±0,02 ^{bx}	0,92±0,12 ^{ax}	0,16±0,02 ^{by}	0,68±0,40 ^{ax}	0,80±0,18 ^{ax}	0,33±0,03 ^{bx}
	prašič	0,30±0,14 ^{cy}	0,58±0,29 ^{by}	0,21±0,02 ^{dx}	0,61±0,12 ^{bx}	0,87±0,21 ^{ax}	0,39±0,25 ^{bxcx}
n-6	jelen	12,42±0,68 ^{bx}	19,72±2,71 ^{ax}	0,28±0,04 ^{cx}	16,32±8,52 ^{abx}	20,71±4,36 ^{ax}	0,95±0,09 ^{cx}
	prašič	8,56±6,92 ^{bx}	16,83±8,57 ^{ax}	0,18±0,00 ^{cy}	17,67±3,34 ^{ay}	23,78±5,21 ^{ax}	9,34±6,62 ^{bx}
n-3	jelen	4,79±0,26 ^{cx}	9,11±0,09 ^{ax}	1,25±0,16 ^{dx}	6,37±2,80 ^{bxcx}	7,73±2,00 ^{abx}	0,76±0,07 ^{dx}
	prašič	1,29±0,27 ^{by}	2,31±0,63 ^{ay}	0,47±0,03 ^{cy}	2,15±0,44 ^{ay}	2,46±0,50 ^{ay}	1,01±0,55 ^{bx}
n-6/n-3	jelen	2,59±0,14 ^{aby}	2,17±0,31 ^{by}	0,23±0,06 ^{dx}	2,51±0,59 ^{aby}	2,81±0,74 ^{ay}	1,25±0,15 ^{cx}
	prašič	5,92±4,13 ^{bx}	6,77±2,73 ^{bx}	0,39±0,02 ^{cx}	8,36±1,17 ^{bx}	9,79±1,60 ^{abx}	15,71±15,15 ^{ax}
IA	jelen	0,92±0,05 ^{bx}	0,46±0,04 ^{bx}	2,35±1,37 ^{ax}	0,97±0,58 ^{bx}	0,56±0,14 ^{bx}	1,20±0,06 ^{bx}
	prašič	0,55±0,04 ^{by}	0,42±0,07 ^{cdx}	2,41±1,22 ^{ax}	0,41±0,02 ^{cdy}	0,35±0,03 ^{dy}	0,46±0,14 ^{cy}

n – število obravnavanj v skupini, \bar{x} – povprečna vrednost, so – standardni odklon, ^{x,y} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj stolpca se med seboj statistično značilno ne razlikujeta, ^{a,b,c,d,e} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj vrstice se med seboj statistično značilno ne razlikujejo. ENMK so enkrat nenasičene maščobne kisline. P/S razmerje je razmerje med VNMK (večkrat nenasičene maščobne kisline) in NMK (nasičene maščobne kisline). n-3 maščobne kisline zavzemajo 18:3cis-9,12,15, 18:4cis-6,9,12,15, 20:5cis-5,8,11,14,17, 22:5cis-7,10,13,16,19, in 22:6cis-4,7,10,13,16,19, ter n-6 maščobne kisline zavzemajo 18:2cis-9,12, 18:3cis-6,9,12, 20:3cis-8,11,14, 20:4cis-5,8,11,14, 22:2cis-13,16, in 22:4cis-7,10,13,16. 17:1trans-10, 20:2cis-11,14, 22:1cis-13, 22:4cis-7,10,13,16 in 24:1cis-15 so bile tudi določene, vendar je njihova koncentracija manjša kot 0,01 g/100 g od skupnih maščobnih kislin. IA je indeks aterogenosti = (C12:0 + 4 C14:0 + C16:0)/(Σ(n-6) + Σ(n-3) + C18:1cis-9 + ostale ENMK) (Ulbricht & Southgate, 1991).

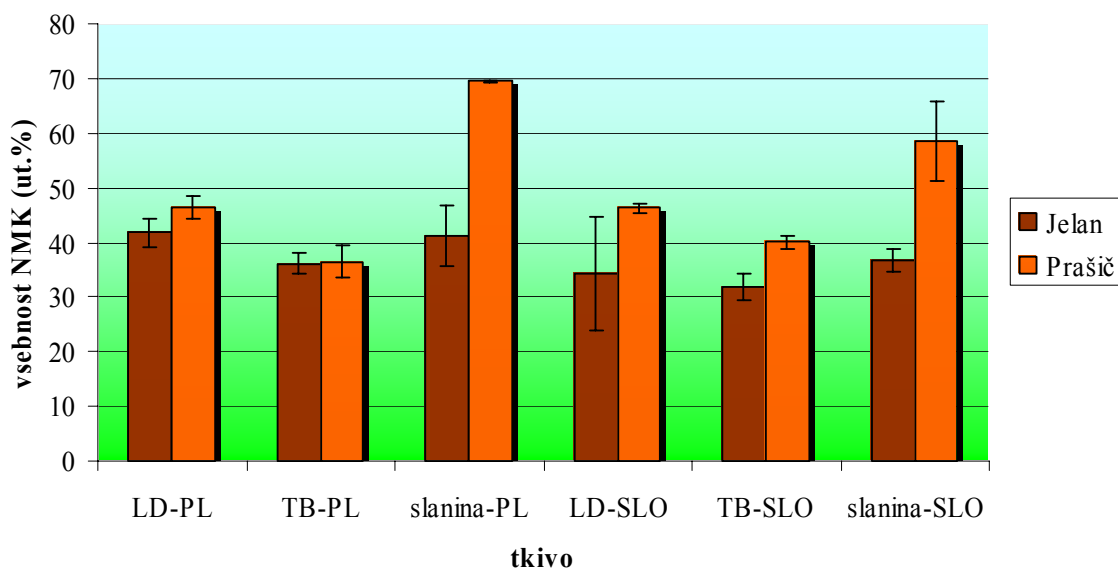
V mišici LD poljskega izvora so pokazatelji NMK, VNMK, P/S, n-3 in IA večji pri jelenovem mesu, kot pri mesu divjega prašiča. Vsebnost ENMK in indeks n-6/n-3 pa sta večja pri mesu divjega prašiča.

V mišici TB poljskega izvora so pokazatelji VNMK, P/S in n-3 večji pri jelenu, kot pri divjem prašiču. Vsebnost ENMK in indeks n-6/n-3 pa sta večja pri mesu divjega prašiča.

Mastnina jelena poljskega izvora ima večjo vsebnost NMK, VNMK, n-6 in n-3, kot slanina divjega prašiča. Slanina divjega prašiča pa ima več ENMK in višji P/S.

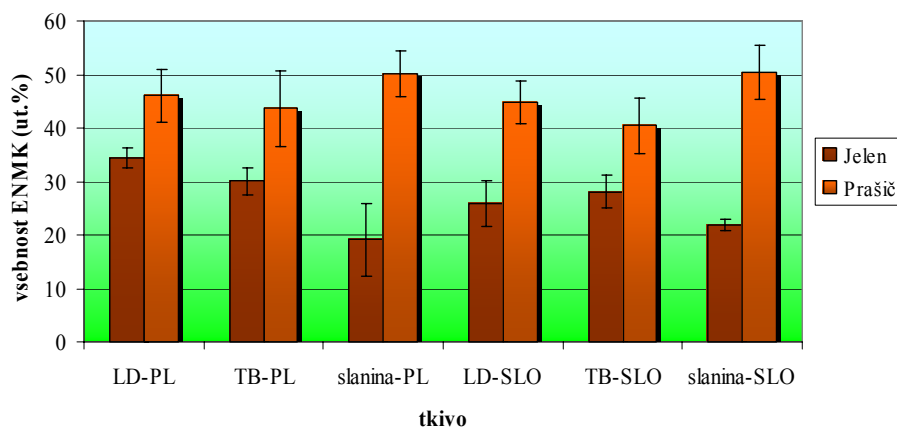
Mišici TB in LD jelena slovenskega izvora vsebuje več NMK, $n-6$, $n-3$ in ima večji IA, kot enaka mišica divjega prašiča slovenskega izvora. LD mišica divjega prašiča slovenskega izvora pa vsebuje več ENMK in ima večje razmerje $n-6/n-3$.

Mastnina jelena slovenskega izvora vsebuje več NMK in ima večji IA, kot slanina divjega prašiča. Vsebnost ENMK je večje v slanini divjega prašiča, kot v mastnini jelena.



Slika 21: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora živali na vsebnost NMK.

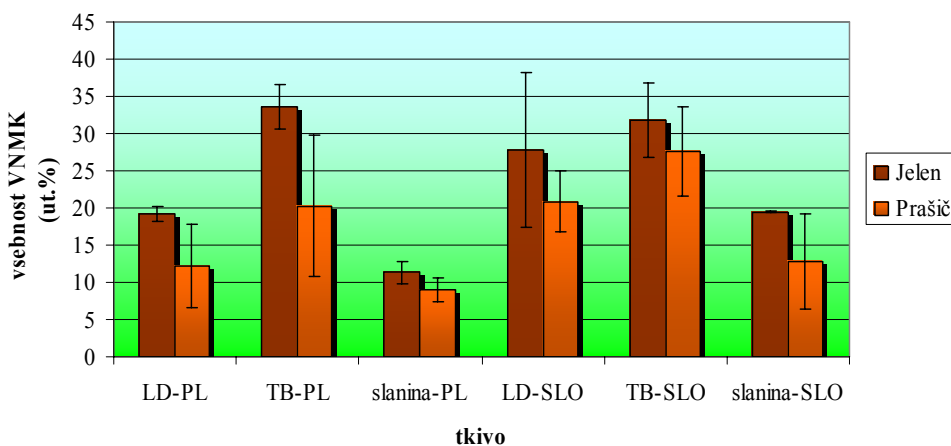
Mastnina jelena poljskega izvora vsebuje več NMK (69 ut. %), v primerjavi s slovenskim jelenom (ut. 58 %). Več NMK vsebuje mišica LD v primerjavi s TB, ne glede na izvor živali. Pri divjem prašiču poljskega izvora vsebujeta LD in slanina največ NMK (41 ut.%). Manjši delež NMK (36 ut.%) je v TB poljskega izvora in slanini slovenskega izvora. Najmanj NMK vsebujeta LD in TB mišici slovenskega izvora, ki se statistično značilno razlikujeta od ostalih mišic po vsebnosti NMK (slika 21).



Slika 22: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora živali na vsebnost ENMK.

Pri jelenih poljskega izvora je največji delež ENMK v mišici LD, najmanjši pa v mastnini. Pri jelenih slovenskega izvora je delež ENMK v obeh mišicah podoben, vendar nižji kot pri poljskih jelenih. Mastnina slovenskih jelenov vsebuje manj ENMK, podobno kot poljski jeleni.

Slanina divjega prašiča vsebuje visok delež ENMK (okoli 50 ut. %), mišičnina pa nekoliko manj (40 do 46 ut. %). Več ENMK je v mišici LD kot TB, ne glede na izvor živali.



Slika 23: Vpliv vrste živali, tkiva in izvora živali na vsebnost VNMK.

Pri jelenih je največji delež VNMK v mišici TB, najmanjši pa v slanini, ne glede na izvor živali. Mišica LD poljskega jelena ima manjšo vsebnost VNMK kot LD slovenskega jelena.

Pri divjih prašičih vsebujeta mišici TB in LD visok delež VNMK, ne glede na izvor živali, slanina pa nekoliko manj. Več VNMK je v mišici TB kot v LD, ne glede na izvor (slika 23).

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Meso in mesni izdelki so pomemben sestavni del naše prehrane, zato je bil naš namen te diplomske naloge ugotoviti vsebnost PCB v posamezni mišičnini, jelena in divjega prašiča, slovenskega in poljskega izvora. Predvsem pa primerjava vpliva izvora živali na vsebnost PCB, zaradi različnih ekonomskih stanj in okoljevarstvene politike Slovenije in Poljske skozi zgodovino, ter s tem posledično različno uporabo PCB v industriji in kasnejše onesnaženje okolja s PCB. Ker smo želeli ugotoviti tudi raznolikost prehranjevalnih navad dveh vrst divjadi, smo analizirali tudi maščobno kislinsko sestavo jelena in divjega prašiča v različnih tkivih in jih primerjali med seboj.

Pred začetkom analiz smo se srečali s številnimi problemi, saj so bile metode opisane v literaturi pomanjkljive ali pa so bili naši rezultati pod mejo detekcije. Po številnih neuspelih poskusih smo se odločili, da se bomo podrobneje posvetili postopku ekstrakcije in samemu procesu čiščenja. Za ekstrakcijo smo uporabili metodo po Soxhletu in topilo n-heksan, v katerem so PCB tudi topni, za čiščenje pa steklene kolone napolnjene s florisilom. Pri samem čiščenju so največji problem predstavljali vzorci slanine, katere smo zaradi omejene kapacitete florisila po vezavi maščobe, pred čiščenjem morali razredčiti. Ker so koncentracije PCB v mesu zelo nizke, so druge nečistoče iz steklovine motile detekcijo. Tako smo se morali posvetiti tudi temeljitemu čiščenju steklovine in čim bolj sterilnemu izvajanju postopka.

V Sloveniji se izvaja sistematična kontrola ostankov onesnažil okolja in veterinarsko-medicinskih preparatov v mesu in mesnih izdelkih, kar pomaga z drugimi ukrepi zagotavljati zdravstveno ustreznost živil. Sistematični nadzor je pomemben tako iz zdravstvenega kot ekološkega vidika, saj nam obenem pokaže onesnaženost različnih vrst živil, kot tudi geografskih področij. Od vseh onesnažil okolja se je v svetu najprej začel izvajati sistematični nadzor ravno nad ostanki organoklorinih pesticidov. Svetovna zdravstvena organizacija in ameriška agencija za varstvo okolja (EPA) sta opredelili PCB kot ekstremno nevarne, toksične, rakotvorne in izjemno obstojne kemične odpadke. Zaradi njihovih usodnih posledic za človeka, smo želeli pridobiti čim več podatkov o onesnaženosti slovenske in poljske divjadi, ker so prisotne na našem trgu z divjačinskim mesom.

Paleari in sodelavci (2003) navajajo podatek, da jelenovo meso vsebuje 2 ut. % maščobe, medtem ko Souci in sodelavci (2004) navajajo podatek, da meso divjega prašiča vsebuje 9,3 ut. % maščobe. Ugotovili smo, da je vsebnost PCB veliko višja pri divjem prašiču (1503 ppb–PL vs. 133 ppb–SLO), kot pri jeleni (63 ppb–PL in SLO), saj se zaradi višje vsebnosti maščobe pri divjem prašiču, PCB zaradi njihove visoke topnosti v lipidih,

vgradijo v lipidne komponente animalnega tkiva. Tudi sama slanina poljskega prašiča vsebuje več PCB (4425 ppb), kot slanina slovenskega izvora (382 ppb). Mišičnina poljskega in slovenskega izvora vsebuje primerljive količine PCB. Pri jelenu razlik v vsebnosti skupnih PCB med mišicami in različnim poreklom ne opazimo. Izmed vseh PCB smo opazili, da se PCB 34 in PCB 180 najbolj nalagata v jelenih, tako da je v poljskih jelenih več PCB 180 (57,4 ppb), v slovenskih pa PCB 34 (54 ppb). Obratno pa se v slovenskih divjih prašičih akumulira več PCB 180 (120 ppb). Opazimo zanimivo dejstvo, da se poleg PCB 180 (800 ppb) v poljskih divjih prašičih nalagata tudi PCB 106 (492 ppb) in PCB 156 (206 ppb).

Lahko sklepamo, da na višjo onesnaženost poljskih živalih vpliva predvsem položaj države skozi zgodovino, in njena slaba ozaveščenost o nevarnosti uporabe PCB za človeka, živali in njihovega odlaganja v okolje. V slovenski javnosti je najbolj odmevalo onesnaževanje belokranjske Krupe s PCB in tako onesnaževanje slovenskih živalih, med katere v prvi vrsti sodi ravno divjad, zaradi njihovega prostoživečega načina življenja. Sklepamo, da je ta nesreča tudi eden izmed vzrokov za onesnaženost slovenske divjadi. Primerjava divjadi, klavnih živalih (govedina, svinjina) in perutnine pokaže, da je divjad bolj kontaminirana s PCB (preglednica 17), verjetno zaradi drugačnih in nekontroliranih pogojev prehranjevanja divjadi.

Preglednica 17: Primerjava vsebnosti PCB v različnem mesu.

Živilo	enota	PCB			
		PCB 52	PCB 153	PCB 180	∑ PCB
govedina*	ppb	0,063	0,073	0,045	0,465
svinjina*	ppb	0,052	0,065	0,033	0,384
piščanec*	ppb	0,080	0,028	0,18	0,460
jelen**	ppb	0,49	0,22	31,65	62,90
divji prašič**	ppb	0,42	0	460,51	818,35

* - MeeKyung (2004)

** - naši rezultati

Z metodo po kateri smo določili PCB smo hkrati lahko določili tudi OCP. Ugotovili smo, da se ravno tako kot PCB, več OCP nahaja v tkivih jelena poljskega izvora (160 ppb), kot slovenskega izvora (72 ppb). V jelenih poljskega izvora se nalaga največ dieldrina (75 ppb) in γ lindana (48 ppb). Več OCP vsebuje divji prašič slovenskega izvora (254 ppb), kot poljskega izvora (103 ppb). V slovenskem divjem prašiču se izmed OCP nalaga največ dieldrina, ki ga je v poljskih prašičih zelo malo, se pa tam nalaga več γ lindana in heptaklora. Sklepamo, da na te razlike med državama vpliva različna uporaba

organoklornih pesticidov v naravi, ter različna zakonodaja o tem, kateri pesticidi in v kakšnih količinah se lahko uporabljajo v okolju.

Ob primerjavi naših rezultatov z raziskavo, ki so jo opravili Paleari in sodelavci (2003), vidimo da so vrednosti maščobnih kislin primerljive med seboj (preglednica 18). Paleari in sodelavci so prav tako dokazali, da se meso jelena in divjega prašiča razlikuje po vsebnosti maščobnih kislin. Delež NMK je pri jelenu 49,6 ut. % pri divjem prašiču pa 37,0 ut. %. Vsebnost ENMK je pri jelenu 26,6 ut. %, pri divjem prašiču 45,0 ut. %, vsebnost VNMK je pri jelenu 23,9 ut. % in pri divjem prašiču 17,1 ut. %.

Preglednica 18: Primerjava dobljenih rezultatov o vsebnosti MK z rezultati iz literature.

MK	vrsta mesa	Paleari in sod. (2003) (ut. %)	naši rezultati (ut. %)
NMK	jelen	44,9	49,6
	prašič	35,5	37,0
ENMK	jelen	30,3	26,6
	prašič	45,7	45,0
VNMK	jelen	19,6	23,9
	prašič	16,2	17,1

Razlike v maščobno kislinski sestavi med jelonom in divjim prašičem opazimo tudi znotraj posameznih mišic. Naših rezultati kažejo, da je delež NMK pri mastnini jelena (63 ut. %) večji, kot pri slanini divjega prašiča (38 ut. %) in da je delež NMK prav tako večji v LD jelena (46 ut. %), kot v TB divjega prašiča (38 ut. %). Več ENMK vsebuje meso divjega prašiča in mišica LD (45 ut. %). Razlika v maščobnokislinski sestavi se kaže tudi v tem, da več VNMK vsebuje meso jelena in mišica TB (32 ut. %). Razmerje $n-6/n-3$ je pri jelenu 1,92, pri divjem prašiču pa 7,82. Tako je s prehranskega stališča za uživanje ugodnejše meso jelenov, kot divjih prašičev. Razlike so opazne tudi v IA, saj ima jelenovo meso IA 1,07, meso divjega prašiča pa 0,76 in tako je s prehranskega stališča za uživanje ugodnejše meso divjega prašiča.

Na podlagi opisanih razlik lahko trdimo, da se meso jelena in divjega prašiča razlikuje po vsebnosti maščobnih kislin. Ker je različna maščobnokislinska sestava pogojena z različnimi navadami prehranjevanja, sklepamo da razlike v vsebnosti PCB in OCP, med divjim prašičem in jelonom, izhajajo ravno iz tega dejstva. PCB in OCP se različno nalagajo v različnih rastlinskih vrstah in v posameznih delih rastline. Več jih je v tleh in koreninah rastlin kot v listih. Če upoštevamo dejstvo, da je divji prašič vsejed in pobira korenine in hrano po tleh, jelen pa trga liste iz dreves in grmovja, lahko sklepamo, da razlike med živalima v vsebnosti PCB in OCP izhajajo iz različnih virov hrane.

WHO (1998) za PCB navaja podatke, da je 30 – 90 pg TEF (ekvivalent toksičnosti) / g maščobe, to je $30 - 90 \times 10^{-12}$ g TEF / g maščobe in da je 6 – 18 ng TEF / kg človeka ($6 - 18 \times 10^{-9}$ g TEF / kg človeka). Ob preračunavanju teh vrednosti dobimo podatek, da je za 60 kg človeka 360 – 1080 ng PCB TEF, kar je enako 0,36 – 1,08 pg PCB TEF. Ob upoštevanju TEF dobimo podatek, da je za PCB v jelenjem mesu slovenskega izvora 0,0018 ng TEF/g in prav tako za jelenovo meso poljskega izvora. Meso divjega prašiča slovenskega izvora ima 0,0039 ng TEF/g in meso poljskega izvora 0,0451 ng TEF/g.

WHO (1998) navaja tudi podatke o primejavi nesreč Yusho na Japonskem in Yucheng v Tajvanu, kjer je bilo kontaminirano riževo olje. Na Japonskem je olje vsebovalo 1000 mg PCB/kg, v Tjvanu pa 100 mg PCB/kg. Ob upoštevanju, da so ljudje zaužili 600 ml tega olja na mesec, so izračunali, da je bila za 60 kg človeka dnevna doza 0,33 mg PCB/kg/dan na Japonskem in 0,06 mg PCB/kg/dan v Tajvanu. V 22 letnih raziskavah na Japonskem so ugotovili povečano tveganje za raka na jetrih. V Tajvanu pa 12 letna raziskava ni pokazala povečanega tveganja obolelosti za rakom na jetrih. Iz tega dejstva lahko sklepamo, da so PCB nevarne in kancerogene spojine, ki zahtevajo nenehen nadzor kontaminacije v naravi in v samih živilih.

Kljub dolgoletni prepovedi uporabe PCB v odprti sistemih in nenehnih opozorilih o njihovi nevarnosti na okolje in posledično tudi na človeka, so vsebnosti PCB v divjadi še vedno zelo visoke. Tako se odpirajo nove dileme, na primer, kdo lahko presodi, kakšno tveganje je za človeka še sprejemljivo, brez kakršnih koli posledic? V preteklosti se nismo zavedali uničujočih posledic PCB, zato imamo sedaj zapuščino, o katere učinkih in stroških lahko samo sklepamo. Nujno je potrebno najti načine za zmanjšanje obremenitev s temi kemikalijami pri ljudeh. Seveda pa trenutno ni možnih nobenih ustreznih ukrepov za živalske vrste in naravo.

5.2 SKLEPI

- Razvili smo metodo za določanje PCB v divjačinskem mesu. Za ekstrakcijo smo uporabili metodo po Soxhletu in topilo *n*-heksan, v katerem so PCB topni. Čiščenje maščobe smo izvedli z SPE, pri čemer smo uporabili steklene kolone, napolnjene s florisilom.
- Vsebnost PCB je veliko višja pri divjem prašiču kot pri jelenu, zaradi topnosti v lipidih.
- Živali poljskega izvora vsebujejo večjo vsebnost PCB kot živali slovenskega izvora.
- Mastnina obeh živali vsebuje mnogo večje koncentracije PCB kot mišičnina.
- Na podlagi različne maščobnokislinske sestave lipidov pri divjem prašiču in jelenu lahko sklepamo, da se živali prehranjujejo z različnim rastlinjem zaradi česar so najverjetneje razlike v vsebnosti PCB v divjem prašiču in jelenu.
- Izmed vseh PCB vsebuje meso jelenov slovenskega izvora največ PCB 34 (54 ppb) in meso divjega prašiča največ PCB 180 (120 ppb).
- Meso jelena in divjega prašiča poljskega izvora izmed vseh PCB, vsebujeta največ PCB 180 (57 ppb vs. 800 ppb).
- Slovenski jeleni in divji prašiči vsebujejo od OCP največ dieldrina (28 ppb vs. 177 ppb), sledi mu γ lindan (21 ppb vs. 37 ppb).
- V poljskih jelenih se od OCP nalaga največ dieldrina (75 ppb), v divjih prašičih pa γ lindana (50 ppb).
- Lipidi divjega prašiča in jelena se po maščobnokislinski sestavi razlikujejo:
 - delež NMK je pri jelenu večji kot pri divjem prašiču, prav tako je delež NMK večji v mišici LD kot v TB.
 - lipidi divjega prašiča vsebujejo več ENMK (46 ut. % vs. 27 ut. %) in manj VNMK (17 ut. % vs. 22 ut. %) kot lipidi jelena.
 - razmerje P/S je večje pri lipidih jelena (0,55) kot pri lipidih divjega prašiča (0,49), kar je s prehranskega vidika bolj v prid mesu jelena.
 - razmerje *n*-6/*n*-3 je pri jelenu manjše (1,92) kot pri divjem prašiču (7,82), tako je s prehranskega stališča za uživanje ugodnejše meso jelena.
 - lipidi jelena imajo IA 1,07, lipidi divjega prašiča pa 0,76, to pomeni da je za uživanje ugodnejše meso divjega prašiča.

6 POVZETEK

Poznanih je 209 različnih skupin PCB, ki se med seboj razlikujejo po položaju in številu atomov klora na benzenovem obroču. Ker so PCB lipofilni, obstojni in povsod razširjeni onesnaževalci okolja, so njihove ugodne fizikalno-kemijske lastnosti omogočile široko uporabo v industriji. Zaradi njihove velike uporabnosti v industriji in nepravilnega ravnanja z njihovimi odpadki, je prihajalo tudi do velikih nesreč, ki so na ljudeh izpostavljenih delovanju PCB pustili trajne posledice ali celo povzročili smrt. Vezava PCB na različne organske molekule jim je omogočila bioakumulacijo v rastlinah in živalih, ter s tem posredno v živilih.

Določili smo vsebnost PCB, ter zaradi podobne metode, tudi nekatere izmed OCP v mesu jelena in divjega prašiča slovenskega in poljskega porekla. Analizirali smo tudi maščobnokislinsko sestavo lipidov. Za analizo smo odvzeli mišice iz plečeta (*m. triceps brachii*-TB), hrbta (*m. longissimus dorsi*-LD) in mastnino.

Pred začetkom analiz smo zaradi pomanjkljivih metod, ki mo jih zasledili v literaturi, dali večji poudarek razvoju metode. Ekstrakcijo po Soxhletu, ki je trajala 18 ur, smo izboljšali s tem, da smo vzorec predhodno pomešali z natrijevim sulfatom, s tem pospešili vezavo vode iz vzorca, ter direktno vzorec in natrijev sulfat s filter papirjem vstavili v ekstraktor. Pri fazi čiščenja maščobe iz ekstrakta, smo dali večji poudarek na eluiranje. Na predhodno kondicionirano kolono smo nanesti vzorec, ter takoj začeli z zbiranjem eluata. Koncentriranje s Kuderna-Danish koncentradorjem smo nadomestili z rotavaporjem. Sledilo je kvantitativno določanje PCB in OCP s GC-ECD.

Na podlagi statistične analize dobljenih podatkov lahko podamo naslednje ugotovitve: jelenovo meso in meso divjega prašiča se statistično značilno razlikujeta po vsebnosti PCB (63 ppb vs. 818 ppb) in OCP (115 ppb vs. 178 ppb), te razlike opazimo tudi med posameznimi mišicami in med državama. Poljski jeleni imajo večje koncentracije PCB kot slovenski (63 ppb vs. 62 ppb), prav tako imajo poljski divji prašiči več PCB kot slovenski (1503 ppb vs. 133 ppb). Vsebnost OCP je v slovenskih jelenih 72 ppb v poljskih pa 160 ppb. Slovenski divji prašiči vsebujejo 253 ppb OCP, poljski pa 102 ppb. Slanina vsebuje mnogo večje količine PCB in OCP kot ostale mišičnine, ter poljske živali vsebujejo večje količine posameznih PCB in OCP kot slovenske.

Ugotovili smo, da se jelenje meso in meso divjega prašiča razlikujeta tudi v maščobno kislinski sestavi: delež NMK je pri jelenu večji kot pri divjem prašiču (50 ut.% vs. 37 ut. %), lipidi divjega prašiča vsebujejo več ENMK (46 ut. % vs. 27 ut. %) in manj VNMK (17 ut. % vs. 22 ut. %) kot lipidi jelena. Razmerje P/S je večje pri lipidih jelena (0,55) kot pri lipidih divjega prašiča (0,49), razmerje $n-6/n-3$ je pri jelenu manjše (1,92) kot pri divjem prašiču (7,82), ter lipidi jelena imajo višji IA kot lipidi divjega prašiča. S

prehranskega stališča P/S in $n-6/n-3$ je za uživanje ljudi bolj primerno jelenovo meso, s stališča IA pa meso divjega prašiča. Na podlagi teh razlik lahko trdimo, da se prehranjevalne navede jelena in divjega prašiča razlikujejo, ter da imata posledično s tem tudi različne vsebnosti PCB in OCP.

7 VIRI

- Abad E., Llerena J.J., Sauló J., Caixach J., Rivera J. 2002. Study on PCDDs/PCDFs and co-PCBs content in food samples from Catalonia (Spain). *Chemosphere*, 46, 9-10: 1435-1441
- Abramowicz D.A. 1995. Aerobic and anaerobic PCB biodegradation in the environment. *Environmental Health Perspectives*, 103, 5: 97-99
- Adamič M. 1988. Prehranske značilnosti kot element načrtovanja varstva, gojitve in lova parkljaste divjadi s poudarkom na jelenjadi (*Cervus elaphus* L.). Doktorska disertacija. Beograd, Univerza v Beogradu: 1-1
- Atuma S.S., Aune M. 1999. Method for the determination of PCB congeners and chlorinated pesticides in human blood serum. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62: 8-15
- Bernes C. 1998. Persistent organic pollutants: A Swedish view of an international problem. Stockholm, Swedish Environmental Protection Agency: 16 str.
- Borja J., Marie Taleon D., Auresenia J., Gallardo S. 2005. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40, 6: 1999-2013
- Brodnjak Vončina D. 2006. Analizna kemija II. Zbrano gradivo. Maribor, Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 109-111
- Chamie K., W deVere White R., Ellison L.M. 2008. Agent orange exposure, Vietnam war veterans and the risk of prostate cancer. *Journal of Urology*, 179, 4: 149-150
- Costabeber I., Sifuentes dos Santos J., Odorissi Xavier A.A., Weber J., Leal Leães F., Bogusz Junior S., Emanuelli T. 2006. Levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) in meat and meat products from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1: 1-7
- EPA - Environmental Protection Agency. 2003. Table of PCB species by congener Number (november 2003). Kraj, United States of Amerika, EPA- Environmental Protection Agency.
<http://www.epa.gov/pcb/pubs/congenertable.pdf> (5. maj 2008): 8 str.
- Fattore E., Fanelli R., Dellatte E., Turrini A., di Domenico A. 2008. Assessment of the dietary exposure to non-dioxin-like PCBs of the Italian general population. *Chemosphere*, doi. 10.1016/j.chemosphere.2007.12.040
- Francis E. 1998. Conspiracy of silence-how three corporate giants covered their toxic trail. (1998). San Francisco, Sierra club.
<http://www.sierraclub.org/sierra/200103/conspiracy.asp> (25. marec 2008): 3 str.

- Harlander D., Miljavac B. 2007 Nadaljevanje projekta za ugotavljanje obremenjenosti ljudi in okolja v Beli Krajini s PCB in ocene tveganj. V: Letni program javne službe javnega zdravja za leto 2007. Novo mesto, Zavod za zdravstveno varstvo Novo mesto: 7-11
- Herman S. 1990. Selekcija mikroorganizmov, ki razgrajujejo PCB, in poskus opredelitve njihovih genetskih elementov. *Medicinski razgledi*, 29, 4: 421-429
- Hornshaw T.C., Aulerich R.J., Johnson H.E. 1983. Feeding great lakes fish to mink: effects on mink and accumulation and elimination of PCBs by mink. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 11, 4-6: 933-946
- Ikeda M. 1996. Comparison of clinical picture between Yusho/Yucheng cases and occupational PCB poisoning cases. *Chemosphere*, 32, 3: 559-566
- Janousek V., Krijt J., Malbohan M., Cibula D., Lukas W., Zejda J.E., Lammers W., Huisman M., Boersma E.R., van der Paauw C.G. 1994. Cord blood levels of potentially neurotoxic pollutants (polychlorinated biphenyls, lead and cadmium) in the areas of Prague (Czech Republic) and Katowice (Poland), comparison with reference values in the Netherlands. *Central European Journal of Public Health*, 2, 2: 73-6
- Jensen S., Johnels A. G., Olsson M., Otterlind G. 1969. DDT and PCB in marine animals from Swedish waters. *Nature*, 224: 247-250
- Kolar A.B., Hršak D., Fingler S., Četković S., Petrić I. Udiković Kolić U. 2007. PCB-degrading potential of aerobic bacteria enriched from marine sediments. *International Biodeterioration & Biodegradation*: 60, 1: 16-24
- Koppe J., G. Keys J. 2004. PCB-ji in previdnostno načelo. V: Gee D., Guedes Vaz S. Pozne lekcije iz zgodnjih svaril: previdnostno načelo 1896-2000. Rejec Brancelj I., Kovač N. (ur.). Ljubljana, Agencija Republike Slovenije za okolje. http://nfp-si.eionet.europa.eu/Podatki_in_informacije/F1084794869/F1093543508/F1093543928/F1109340852/F1109341329/6.poglavje_PCB.pdf (20. marec 2008): 73-85
- Lovrenčič V. 2001. Tehnična pojasnila k Pravilniku o odstranjevanju polikloriranih bifenilov (PCB) in polikloriranih terfenilov (PCT). Ljubljana, Ministrstvo za okolje in prostor Republike Slovenije http://www.arso.gov.si/podrocja/odpadki/porocila_in_publicacije/tehpojpc.doc (20. marec 2008): 55 str.
- McDonald D. 1996. Sodoprsti kopitarji. V: Velika enciklopedija-sesalci. McDonald D.(ur.) Ljubljana, Mladinska knjiga: 469-472
- McKay G. 2002. Dioxin characterisation, formation and minimisation during municipal solid waste (MSW) incineration. *Chemical Engineering Journal*, 86: 343-368

- MeeKyung K., Sooyeon K., Seonjong Y., Myoungheon L., Byunghoon C., Jongmyung P., Seongwan S., Okkyung K. 2004. Comparison of seven indicator PCBs and three coplanar PCBs in beef, pork, and chicken fat. *Chemosphere*, 54: 1533–1538
- Paleari M.A., Moretti V.M., Beretta G., Mentasti T., Bersani C. 2003. Cured products from different animal species. *Meat Science*, 63, 4: 485-489
- Park P.W., Goins R.E. 1994. In situ preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *Journal of Food Science*, 95: 1262-1266
- Pihlar B. 2004. Avtomatizirana analiza: nove tehnike priprave vzorca v klinični in farmacevtski analizi. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 3-6
- Polič S., Blatnik M., Brvar Š. 1993. Primer Krupa: Stanje onesnaženosti s PCB-ji deset let po odkritju. *Ujma*, 7: 165-170
- Raičević V., Lalevič B., Dabić D., Kiković D., Jovanović L., Nikšić M. 2007. Mikroorganizmi u bioremedijaciji zemljišta i voda. *Zaštita materiala*, 48, 2: 49-52
- SAS Software. Version 8.01. 1999. Cary, SAS Institute Inc.
- Schwartz T.R., Stalling D.L. Rice C.L. 1987. Are polychlorinated biphenyl residues adequately described by Aroclor mixture equivalents? Isomer-specific principal components analysis of such residues in fish and turtles. *Environmental Science and Technology*, 21, 1: 72–76
- Sott R., Hawner C. Johansen J. E. 2008. Synthesis of dioxin-like monofluorinated PCBs: for the use as internal standards for PCB analysis. *Tetrahedron*, 64, 18: 4135-4142
- Souci S. W., Fachmann W., Kraut H. 2004. Food composition and nutrition tables. Scherz H., Sener F. (ur.) 6th review And completed ed. Stuttgart, Medpharm. 1182 str.
- Stenberg M., Andersson P.L. 2008. Selection of non-dioxin-like PCBs for in vitro testing on the basis of environmental abundance and molecular structure. *Chemosphere*, 71, 10: 1909-1915
- Tanasković M. 2001. Efekti polihlorovanih bifenila na životnu sredinu i zdravlje ljudi. V: Međunarodni stručni skup, Junij 20-22, 2001. Beograd, Gradski zavod za zaštitu zdravlja. <http://www.miteco.co.yu/tanaskovic.pdf> (28. marec 2008): 11 str.
- Todaka T., Hirakawa H., Hori T., Tobiishi K., Iida T. Furue M. 2007. Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-ortho and mono-ortho polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. *Chemosphere*, 66, 10: 1983-1989
- Waliszewski S.M., Pardio V.T., Waliszewski K.N., Chantiri J.N., Aguirre A.A., Infanzhn R.M., Rivera J. 1997. Organochlorine pesticide residues in cow's milk and butter in Mexico. *Science of the Total Environment*, 208: 127-132

WHO. 1998. Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI). WHO European Centre for Environment and Health International Programme on Chemical Safety. Geneva, WHO Consultation: 3-4

Wiegel J., Wu Q. 2000. Microbial reductive dehalogenation of polychlorinated biphenyls. FEMS Microbiology Ecology, 32, 1: 1-15

Yao Y., Takasuga T., Masunaga S. Nakanishi J. 2002. Detailed study on the levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in Yusho ric oil. Chemosphere, 46, 9-10: 1461-1469

Zakon o divjadi in lovstvu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 16:1577-1593

8 ZAHVALA

Zahvaljujem se prof. dr. Božidarju Žlendru za strokoven pregled in cenzuro diplomskega dela.

Prav tako se zahvaljujem dr. Tomažu Polaku za pomoč pri izvedbi eksperimentalnega dela, za zelo sproščeno ter hkrati strokovno delovno vzdušje, tudi izven laboratorija. Hvala za vso pomoč in vse vzpodbudne besede pri nastajanju diplomskega dela. Čeprav je bilo kdaj tudi težko in mnoge prebite ure v laboratoriju niso obrodile sadov, se bom teh časov vedno z veseljem spominjala. Tomaž, še enkrat hvala za vse!

Hvala doc. dr. Lei Gašperlin za strokovno pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Hvala recenzentu doc. dr. Matevžu Pompetu za skrben pregled diplomskega dela.

Zahvala gre tudi Gregorju Arhu s Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo za skupno sodelovanje pri delu v laboratoriju.

Zahvaljujem se uni. dipl. ing. živil. tehnol. Ivici Hočevar za pregled diplomskega dela.

Mateja, Ana in Jasmina, brez vas delo v laboratoriju nikoli ne bi bilo tako prijetno. Če bi se vam želela za vse zahvaliti, bi mi zmanjkalo listov, zato bom preprosto rekla le: »HVALA za vse!«

Tadej, hvala za vzpodbudo in moralno podporo. Pa mi je le uspelo!

In za konec, zame najpomembnejša zahvala, gre za vaju, ati in mami. Hvala ker sta mi omogočila študij in mi vseskozi stala ob strani. HVALA!

