

Volume 3 / Number 2 / 2015

ISSN 2303-4092

Balkan Journal of Health Science



Balkan Journal of Health Science

Editorial board

Editor-in-chief prof. dr Mensura Kudumovic

Technical Editor B. Sc. Eldin Huremovic

Members

Prof. dr Zmago Turk
(Slovenia),

Prof. dr Budimka Novakovic
(Serbia),

Prof. dr Camil Sukic
(Serbia),

Prof. dr Bekim Fetaji
(Macedonia),

Prof. dr Aleksandar Dzakula
(Croatia),

Prof. dr Jayanthi Repalli
(USA)

Prof. dr Dzenana Gaco
(Bosnia and Herzegovina),

Prof. dr Gordana Manic
(Bosnia and Herzegovina).

Address: Sarajevo,
Bolnicka bb,
Bosnia and Herzegovina

E-mail: balkanjournal@yahoo.com

Web page: <http://www.drunpp.ba/bjhs.html>

Published by DRUNPP, Sarajevo
Volume 3 Number 2, 2015
ISSN 2303-4092

Sadržaj / Table of Contents

Microbiological quality of processed water during processing of milk and dairy products..... 34
Suad Habes, Edina Hasanagic, Asmir Aldzic, Eldina Smjecanin, Huska Jukic

Nove obrazovne tehnologije i trendovi mobilnih bežičnih tehnologija u obrazovanju 39
Mensura Kudumović, Azra Kudumović, Nevres Mešanović, Eldin Huremović

Determination of heavy metal concentration Pb and Cd in honey by AAS..... 43
Određivanje sadržaja teških metala Pb i Cd pomoću AAS-a u uzorcima meda
Ekrem Pehlić, Aida Šapčanin, Sejad Ljubijankić, Majda Srabović, Husein Nanić

Determination of concentration of 4'4-Dihydroxy-2,2-Diphenyl Propan (BPA) 50
Određivanje koncentracije 4'4-Dihidroksi-2,2-Difenil Propana (Bisfenol)
Damir Hrnjica, Huska Jukić, Safeta Redžić, Asmir Aldžić, Suad Habeš, Ekrem Pehlić

Gram negativna sepsa u jedinici intenzivne terapije 59
Amela-Katica Mulalić, Amela Grbo, Ismet Suljević, Belkisa Durić-Čolić, Ahmed Katica

Instructions for the authors..... 62

Balkan Journal of Health Science is indexed in:



Microbiological quality of processed water during processing of milk and dairy products

Suad Habes¹, Edina Hasanagic², Asmir Aldzic³, Eldina Smjecanin¹, Huska Jukic³

¹ Faculty of Health Studies, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina,

² Faculty of Natural Sciences and Mathematics, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina,

³ College of Nursing Studies, University of Bihac, Bosnia and Herzegovina.

Abstract

Water can be a source of many harmful agents, that is why its quality and safety are one of the most important conditions of hygienic food production. Therefore, the quality of the water used in the food industry is one of the precondition for development of food security. The material was taken from 32 different subsidiaries of the company Milkos dd Sarajevo in May, June, July, 2012. Analyses included the quantitative determination of coliform bacteria in water (MPN) method, quantitative determination of all living bacteria in the water and producing records for the presence of enterococci (*Streptococcus faecalis*), representatives of the genus *Proteus*, then *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens*. In the period from May 1 to July 31, 192 Analysis of the microbiological quality of process water were conducted. According to the results it can be concluded that from all 192 samples 100% of the samples correspond to the Regulation on the the sanitary safety of drinking water ("Official Gazette BiH" no 30/12.). The water used in production process of Milkos dd Sarajevo is microbiologically safe and doesn't constitute a risk of possible contamination.

Key words: water, microbiological acceptability, food safety.

Introduction

There are a lot of segments in the food industry which imply large water consumption. Although there are large variations in process procedures in each of industry segments, there are a number of joint operations. The distribution of water in the food industry can be classified into three categories: process water, water for heating and water for cooling (1).

Water can be a source of many harmful agents, that's why its quality and safety are one of the most important conditions of hygienic food. Microorganisms that cause food poisoning, for example in the aquatic environment can survive for weeks (2). Therefore, the quality of water, which is used in the food industry, is one of the preconditions for its security (3). There are a number of possibilities for water contamination, including faecal contamination, the existence of microorganisms within the water supply system as well as presence of metals, pesticides and other harmful chemical agents. Using contaminated water presents a risk to food safety as well as for employees in the food industry. Water must possess good physical properties (temperature, color, smell, turbidity and taste) and such must be suitable for the preparation of food and other environmental and economic activities that require high water quality (4). Water must be microbiologically safe that could be used for drinking, as well as in the manufacture of any food product. That means that water has to be in accordance with the certain requirements in the field of chemical composition and the presence or absence of microorganisms - causative agents of infectious diseases (5). In Bosnia and Herzegovina those standards are regulated by the Regulation on the the sanitary safety of drinking water ("Official Gazette BiH" no 30/12.) (6). For the specific purposes of application of water in the production process, requires water that contains less microorganisms than the Regulations allow, or even does not contain it at all (in such cases, complete sterilization of water is required) (6).

Milk industry is known as a major consumer of water and also as a generator of large amounts of contaminated wastewater (7). Also, the reason for this is the more stringent requirements on hygiene

standards for food safety (8). Water as an energy medium in the milk industry usually has a processing function, cooling function, transfer and wash cycle (9).

The aim of this study was to determine the presence or absence of coliform bacteria and make their identification in the analysed samples of process water during the processing of milk and dairy products using microbiological tests. Based on the results to propose measures to improve the microbiological safety of processed water during the processing of milk and dairy products.

Materials and Methods

Material for the research was taken in May, June, July, 2012, from 32 different places of Milkos dd Sarajevo. 1, 2, 3, 4, 5 - samples were taken from the filling lines for milk; 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 – samples from the CIP system for washing tanks for fermentation; 14, 15 - samples from CIP system for washing tanks for raw cream; 16, 17 - samples from the CIP system for washing tanks which are used for mixing; 18, 19, 20, 21 - water samples from the CIP system for raw milk; 22, 23, 24, 25 - water samples from the CIP system for the Paster tanks; 26, 27, 28 - water samples from the line for milk transfer; 29, 30, 31, 32 - water samples from the charger (water that push the product)

It should be noted that the water from the CIP system was taken after washing.

These places are specifically selected because of the assumption that, precisely in these places, may cause microbiological contamination of da-

iry products by the processed water. Analysis that are made during the tests were related to the quantitative determination of coliform bacteria in water (MPN method), quantitative determination of all living bacteria in the water and proving the presence of enterococci (*Streptococcus faecalis*), representatives of the genus *Proteus*, and *Escherichia coli* and *Clostridium pefringens*.

In this paper is used a prospective analytical method. We performed a comparison of the results with the recommended values defined in the Regulation on the sanitary safety of drinking water ("Official Gazette BiH" no 30/12.). The obtained results are presented in tables and graphs.

Results

Based on analysis of samples that are taken twice a month during the three months following results were obtained:

In the period from 1 May to 31 July, 192 analysis of microbiological quality of water were performed, which was used during the technological process while the processing of milk. Based on the results it can be concluded that of the totally 192 samples, 100% of the samples were suited to the Regulation.

Water samples were sent to the Institute of Public Health of the Federation of Bosnia and Herzegovina, Department for Environmental Health and the Microbiological Analysis. Results of microbiological analysis of water samples from the Institute of Public Health of the Federation of Bosnia and Herzegovina are presented in Table 3.

Table 1. Microbiological quality of process water during the processing of milk and milk products

Month	Number of days when the samples were collected	Total number of samples	Microbiological quality	
			suited	not suited
May	2	64	100%	0
June	2	64	100%	0
July	2	64	100%	0
Total	6	192	100%	0

Table 2. Microbiological parameters of process water during the processing of milk and milk products

Month	The total number of live bacteria in 1 ml of water	Total coliform bacteria	Fecal coliforms	Fecal streptococci	Proteus species	The isolated species
May	4	0	0	0	0	0
June	10	0	0	0	0	0
July	2	0	0	0	0	0

Table 3. Results of microbiological analysis of the Institute of Public Health of the Federation of Bosnia and Herzegovina samples of process water from Milkos dd Sarajevo

Type of analysis	Type of water	Standard according to the Regulations	Isolated in the sample
Coliform germs in 100mL of water MPN method	Natural closed type (capped)	5	0
Total number of germs in 1 mL at 37 ° C and 22 ° C	Natural closed type (capped)	100	37 ° C = 0 22 ° C = 0
Streptococcus faecalis	All drinking water	0	0
Proteus sp.	All drinking water	0	0
Clostridium sp.	All drinking water	0	0
Escherichia coli	All drinking water	0	0
Total samples	192		

Table 4. Results of microbiological analyses of the Institute of Public Health of the Federation of Bosnia and Herzegovina samples of process water from Milkos dd Sarajevo

Type of analysis	Type of water	Standard according to the Regulations	Isolated in the sample	
Coliform germs in 100mL of water MPN method	Natural closed type (capped)	5	0	
Total number of germs in 1 mL at 37 ° C and 22 ° C	Natural closed type (capped)	100	1	37 ° C = 5 22 ° C = 3
Streptococcus faecalis	All drinking water	0	0	
Proteus sp.	All drinking water	0	0	
Clostridium sp.	All drinking water	0	0	
Escherichia coli	All drinking water	0	0	
Total samples	192		suited 191	not suited 1

Tested samples and one sample of the water in which the live germ were isolated suited to the Regulation on the the sanitary safety of drinking water ("Official Gazette BiH" no 30/12.) and it is presented in Table 4.

From Table 4 it is evident that a 192samples of processed water were analysed, of which 191 were valid samples while one sample did not suited to the Regulation, due to the increase in the total number of germs on 37 °C = 5 and at 22 °C = 3.

Discussion

This paper presents the results of processed water that is used during the processing of milk and milk products on the basis of the presence or absence of microorganisms in accordance with standards prescribed by the Regulation on the the sanitary safety of drinking water ("Official Ga-

zette BiH" no 30/12.). Microbiological analysis of process water does not involve only observation of the total number of germs (in this case the total number of live bacteria found was 16 during the three months of analysis).Of the total number of analysed samples (192), coliform bacteria (Streptococcus faecalis, Proteus species) has not been found. Clostridium spp. and Escherichia coli spp. are also not isolated. At the same time that means that the water in the production of milk and milk products was microbiologically safe (no faecal pollution) (6). With this paper we have tried to perform microbiological control of water and therefore the success of the production process of microbiological proper milk and dairy products is based on intention to avoid the risk of possible contamination of milk and dairy products with microorganisms and to prevent the emergence and spread of infectious diseases through food.

Due to the increase in the total number of live bacteria in one sample at $37^{\circ}\text{C} = 5$ and at $22^{\circ}\text{C} = 3$ may be explained that there was a malfunction of the UV lamp, or that there is a saturation of the filters. It is possible to assume that BIOFIL started to form. Considering that this is a production process may be associated with minor damage (eg. scratches, corrosion) on the walls of pipes, pipelines, tanks, and other parts of the machine, as the plastic and the metal parts. In such areas of damage, no matter how technological process was correct and in accordance with the Regulations, biofilms can be created. According to the literature (8, 9) biofilms in the food industry may also have a high content of food residue and minerals which appears either from product either from water used in the process (10). These ingredients also provide protection for the microbiota in the biofilm (11). The growth of biofilms in areas where food is produced leads to increased opportunity for microbial contamination. These biofilms may also contain pathogenic microbiota and the one that leads to spoilage of the food product. Therefore occurrence of biofilms can lead to recontamination resulting shortening of the shelf life of the food product and the spread of disease. Because of this biofilm formation is an important precondition that is often overlooked during implementation and maintenance of HACCP plans (11).

Water can be a source of many harmful agents, therefore its quality and safety are one of the most important conditions of hygienic food. Microorganisms causing food poisoning, for example, in an aqueous environment can survive for weeks (12). Therefore, the quality of the water used in the food industry, is one of the preconditions for its security. There are a number of possibilities for contamination of water, including faecal contamination, nitrogen bacterial existence within the water supply system (13). Using contaminated water presents a risk to food safety as well as for employees in the food industry.

Comparison of our results with the results of other authors (1, 2, 3, 8, 9) which are very similar we conclude that the processed water which was used was microbiologically safe.

Conclusion

The water used in the production process is microbiologically safe and does not represent a risk of possible contamination. It can be used throughout the production process, for all technological operations and those that are in a direct relationship with the product. Water can be freely used for washing and hygiene of dairies. It is known that in the production and processing of milk and dairy products water of flawless bacteriological composition is needed. The reasons for these requirements are fully justified, because the water can be a carrier of many infectious and parasitic diseases and may contain substances that are harmful to the human body.

As a corrective measure of good hygiene practice in daily records and documentation Milkos dd Sarajevo should introduce control of the operation of UV lamps in the premises for water treatment. Environmental Management regarding managing plants and processes of milk production in our country is at evidently low level. Therefore, recommendations for drives for production and processing of dairy products and food in general is to take more concern for the preservation of the environment. The most important aspect in the production of milk and dairy products should be the management of effluents which created during the production process and disposing in the environment causing pollution with long-term side effects.

References

1. Kemer F. Nalkov manual for water. Union of Engineers and Technicians of Serbia. Belgrade, 2005.
2. Salamon, et al. Analysis of the variables that affect the microbiological quality in fresh cheese. Dairy, 2010; 60(4): 252-259.
3. Saboya VL, Maubois JL. Current developments of microfiltration technology in the dairy industry. Lait, 2000; (80): 541-553.
4. Bogner M, Stanojevic M. About waters. Theory, regulations and practical examples. ETA, Belgrade, 2006.
5. And Bach The microbiological quality of water in the production of butter. Presentation of The Seminar for the dairy industry. Food Technology Institute. Zagreb, 1967.

6. *Regulation on the the sanitary safety of drinking water* ("Official Gazette BiH" no 30/12.)
7. Blagojevic S, Jakovljevic M, Raicevic V. *Chemistry and microbiology of water. Faculty of Agriculture. Zemun, 2004.*
8. Barrel RAE, Hunter PR, & Nichols G. *Microbial standards for water and their relationship to health risk. Communicable disease and public health. 2000; 3: 8-13.*
9. Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C, Glasmaier A. *Heterotrophic Plate Counts and drinking water Safety. World Health Organization, 2003.*
10. *United States Environmental Protection AGENCY. Health Risks from Microbial, 2012.*
11. *Growth and biofilms in Drinking Water Distribution Systems. Washington D.C. Food Safety Research Information Office. "A Focus on Hazard Analysis and Critical Control Points". Created June 2003; updated January, 2008.*
12. Hussein RA, Hassan AA, Bakr WMK. *Assessment of the Quality of Water from Some Public Coolers and Alexandria, Egypt. Journal of the Egyptian Public Health Association, 2009; 84(1): 197-217.*
13. Warburton DW, Austin JW. *Bottled Water. In Lund, BM, Baird-Parker, TC, & Gould, GW The Microbiological Safety and Quality of Food. Maryland, Gaithersburg: Aspen Publishers Inc, 2000.*

Corresponding Author
Suad Habes,
Faculty of Health Studies Sarajevo,
Sarajevo,
Bosnia and Herzegovina,
E-mail: hsuad@hotmail.com

Nove obrazovne tehnologije i trendovi mobilnih bežičnih tehnologija u obrazovanju

Mensura Kudumović¹, Azra Kudumović², Nevres Mešanović³, Eldin Huremović⁴

¹ Univerzitet u Sarajevu, Medicinski fakultet Sarajevo, Bosna i Hercegovina,

² PZU „Medica“, Sarajevo, Bosna i Hercegovina,

³ Univerzitet u Tuzli, Bosna i Hercegovina,

⁴ JU Tehnička škola Brčko distrikt, Bosna i Hercegovina.

Sažetak

Elektronsko obrazovanje (e-učenje) i učenje na daljinu, koje je nastalo 60-tih godina prošloga stoljeća i koje se još uvijek razvija, predstavlja takvu vrstu edukacije gdje su student i profesor fizički odvojeni, a gdje se informaciono - komunikacione i mobilne tehnologije koriste za savladavanje te distance. Komunikacija između profesora i studenta je model obrazovanja gdje profesor i student komuniciraju i uče jedan od drugog putem elektronskih sistema. Učenje na daljinu i sve veća potreba za učenjem u pokretu kako bi se svaki slobodan trenutak mogao kvalitetno iskoristiti i kako bi se omogućio transfer znanja, prouzrokovalo je pojavu mobilnog učenja (M-učenje, ili m-learning).

Ovaj rad ima za cilj sagledati mogućnosti nove obrazovne i informacijske tehnologije i trendove mobilnih bežičnih tehnologija, kao alata za poučavanje i učenje u visokom obrazovanju te moderne edukacijske metode i metodologije u skladu sa strategijom i ciljevima koje proklamira Bolonjska deklaracija.

M-učenje čini se obećavajuće i daje potporu u procesu učenja i poučavanja. M-učenje ima najviše smisla kada se razmatra u kontekstu pojačavanja osobnih produktivnosti kroz just-in time, just-in-place dinamike, integrirajući funkcije koje osobe najčešće koriste.

Ključne riječi: e-učenje, M-učenje, mobilne, obrazovne tehnologije.

Uvod

Elektronsko obrazovanje (e-učenje) i učenje na daljinu razvilo se tokom 60-tih godina prošloga stoljeća i još uvijek se razvija.

Postoji mnogo definicija elektronskog i obrazovanja na daljinu, ali u suštini ono predstavlja takvu

vrstu edukacije gdje su student i profesor fizički odvojeni, a gdje se informaciono-komunikacione i mobilne tehnologije koriste za savladavanje te distance.

Učenje na daljinu i sve veća potreba za učenjem u pokretu kako bi se svaki slobodan trenutak mogao kvalitetno iskoristiti i kako bi se omogućio transfer znanja, prouzrokovalo je pojavu mobilnog učenja (M-učenje).

Učenje na daljinu i M-učenje ne mijenja fundamentalni koncept učenja, koristi nove tehnologije i alate, koristi se u cilju veće produktivnosti i jednostavnijeg procesa učenja.

M-učenje jasno je identificirano kao četvrta generacija elektronskog okruženja za učenje (Salmon, 2004), gdje se vrijednost implementacije mobilnih tehnologija, kao alata za podučavanje i učenje u službi učenja i podučavanja, čini tako očita i neizbježna.

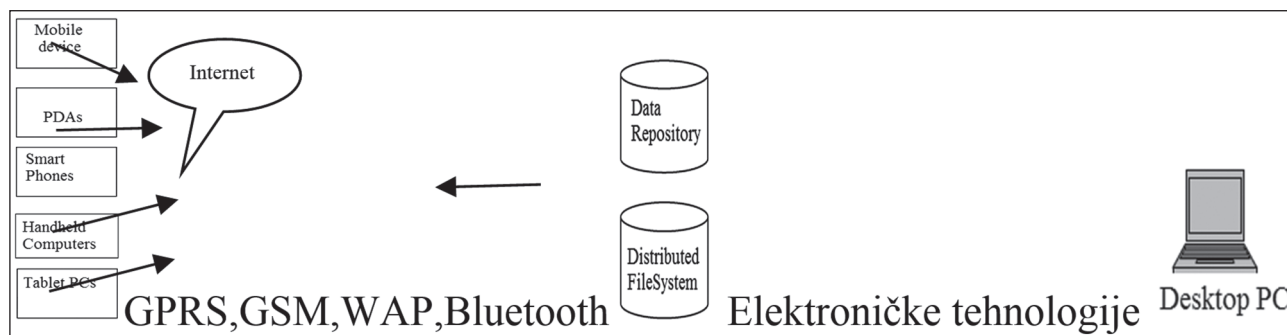
Nasuprot informacione (računarske) tehnologije, mobilna tehnologija nije zavisna od fizičke lokacije. To je značajno u novom mrežnom okruženju i sveprisutnijeg učenja i mobilnosti u učenju (1).

Učenje pomoću bežičnih mobilnih uređaja posjeduje jedinstvene odlike koje uključuju sveprisutnost, personalizaciju (uređaj je vlasništvo pojedinca), praktičnost, svjesnost, lokaciju (1), fleksibilnost i mobilnost.(2)

Elektronskom sadržaju se može pristupiti putem mobilnih uređaja koji koriste ove komunikacijske tehnologije: GPRS, GSM, WAP, Bluetooth, Wi-Fi, IC i slično.(3)

Pojmovi e-učenje i m-učenje

E-učenje predstavlja oblik obrazovanja gdje profesor i student komuniciraju i uče jedan od drugog putem računarskih sistema (kompjuter), dok



Slika 1. Tehnologije korištene u m-učenju. (3)

M-učenje koristi mobilne tehnologije, kao alat za podučavanje i učenje.

E-učenje	M-učenje
Računalo	Mobitel
Širina pojasa	Bluetooth
Multimedijalni	Objekti
Interaktivni	Umreženi
Hiperlinkovima	Smješteno učenje
Kolaborativni	Realno stanje
Učenje na daljinu	Konstruktivizam
Simulirano Stanje	Socijalna interakcija
Hyper učenje	Kolaborativni

Slika 2. Usporedbe pojmova e-učenje i m-učenje (Sharma & Kuhinje, 2004)

Iskustva upotrebe mobilnih tehnologija

U Evropi je provedeno istraživanje (Riordan i Traxler 2003, Traxler i Riordan 2003) koje uključuje pomiješane mobilne (blended) tehnologije učenja kako bi podržali HND studente informatike na Univerzitetu Wolverhampton tokom akademske godine 2002/2003.(4)

Ciljevi ovog projekta bili su razvoj, isporuka i procjena mogućnosti blended (miješanog) učenja uz pomoć SMS, WAP i VLE tehnologije. Početno istraživanje je pokazalo da studenti koriste SMS tekstualne poruke brzo i efikasno te da su željeli primiti obavijesti na oglasnoj tabli, kao što su promjena sale, obaveze, povratne informacije i savjeti o ispitima putem SMS-a, a ne putem e-maila ili oglasnih tabli. SMS-based intervencije su realizovane u drugom semestru akademske godine 2002/2003.

Utvrđeno je da je većina m-learning projekata usmjerena na poboljšanje interakcije u učionici (Griswold et al, 2002), (Sommers et al, 2001) ili

na povećanje studentskog pristupa materijalima učenja. (5).

Manji broj projekata koji su usmjereni na podršku treniranja na radnom mjestu (on-the-job training) na određenom polju, uglavnom je za studente medicine i medicinske sestre u bolnicama (Kukulska-Hulme et al, 2009) & (Traxler, 2002).

Nekoliko projekata uključuje nastavu studenata koji se koriste nekim od aspekata mobilnih tehnologija, kao što su programiranje mobilnih uređaja ili korištenje stylus tehnologije, kao i sveprisutnom isporukom (6). Povremeno su projekti u kombinaciji sa sveprisutnom isporukom sa naglaskom na interaktivnost sa jedinim pedagoškim fokusom. Nekoliko m-learning projekata fokusira se na to kako primijeniti tehnike i sadržaje e-učenja na mobilnim platformama. Nekoliko drugih besplatnih i komercijalnih mobilnih programa učenja jezika postali su dostupni pomoću (4) BBC World Service lekcija. Učenje engleskog jezika nudi poduku iz engleskog jezika putem SMS-a u zapadnoj Africi i Kini, a slično je ponudio BBC Wales - lekcije velškog jezika od 2003 ., a EU financirana inicijativa poznata kao "m-učenje " daje poduku iz engleskog jezika usmjerenu neengleskom govornom području - mladih odraslih osoba.(3, 4)

Pregled mobilnih bežičnih tehnologija u visokom obrazovanju

Značajan broj fakulteta i univerziteta su usvojili mobilne bežične tehnologije kao alat za poučavanje i učenje, a više od 90% od javnih univerziteta i 80% privatnih univerziteta u SAD-u imaju neki nivo mobilnih bežičnih tehnologija, poput mobilnih bežičnih uređaja i mreža.(7,8)

Schools	Users	Tool	Key Uses
North Carolina State University College of Veterinary Medicine, Raleigh, NC	Students	PDA	▪ Accessing to many medical references ▪ Participating in wireless polling during class
University of Central Oklahoma College of Education, Edmond, OK	Faculties and Students	PDA	▪ Accessing to information ▪ Supporting innovative teaching practices ▪ Enhancing collaboration and builds relationships
UC Berkeley School of Education K-12 Schools, Berkeley, CA	Students	PDA	▪ Offering students mobile data-gathering tool ▪ Allowing for new types of curricular activities ▪ Helping students understand difficult science concepts
Stanford University, Stanford CA	Faculty, students and staff	PDA	▪ Accessing data ▪ Enabling on-going communication among faculty, students, and staff ▪ Data exchange
Carnegie Mellon University, Pittsburgh, PA	Students	Wireless Computer	▪ Collaboration
University of California, San Diego, San Diego, CA	Faculty and students	Wireless LAN	▪ Providing better networking service for laptops and PDAs
Florida State University, Tallahassee, FL	Faculty and Law and MBA students	Wireless LAN	▪ Providing better teaching and learning environment
Wake Forest, Winston-Salem, NC	Faculty and students	Wireless LAN	▪ Providing innovative technology ▪ Others

Slika 3. Mobilne bežične tehnologije koje se koriste u visokom obrazovanju (7)

Prema (Boggs, 2002, Fryer, 2002, McGhee i Kozma, 2001, McKenzie, 2001) mobilni bežični uređaji, PDA i handheld uređaji najčešće su se koristili u obrazovnim okruženjima. Slika 3 prikazuje Boggs-ove pronalaskе o tome kako 17 institucija visokog obrazovanja koristi mobilne uređaje.

	Mobile Wireless PCs	PDAs	Handheld Devices	Mobile Wireless Phones	Others
2002	94.0%	39.0%	9.0%	4.0%	3.0%
Plan to add in the future	6.0%	27.0%	22.0%	15.0%	2.0%

Slika 4. Uređaji za pristup bežične mreže (9,10)

U Evropi je provedeno istraživanje (Riordan i Traxler 2003; Traxler i Riordan 2003) koje uključuje pomiješane mobilne (blended) tehnologije učenja kako bi podržali HND studente informatike na Univerzitetu Wolverhampton tokom akademske godine 2002/2003.

Zaključak

Ogromne su mogućnosti koje pružaju nove obrazovne, informatičke i mobilne tehnologije, kao alat za poučavanje i učenje u visokom obrazovanju i u skladu su sa strategijom i ciljevima koje proklamira Bolonjska deklaracija.

M-učenje čini se obećavajuće i daje potporu u procesu učenja i poučavanja. M-učenje ima najviše smisla kada se razmatra u kontekstu unapređenja produktivnosti i efikasnosti kroz just-in time, just-in-place dinamike, integrirajući funkcije koje se najčešće koriste.

Literatura

1. Yordanova K. "Mobile learning and integration of advanced technologies in education", In the Proceedings of International Conference on Computer Systems and Technologies - CompSysTech'07, IV.23-1, IV.23-5, 2007.
2. Motschnig-Pitrik R, Holzinger A. Student-Centered Teaching Meets New Media: Concept and Case Study. *IEEE Journal of Educational Technology & Society*, 2002; 5, 4, 160-172.
3. Ebibi M. Model za razvoj sistema za menadžiranje znanja za elektronsko učenje preko mobilnih uređaja, Doktorska disertacija, np 2012
4. Kukulska-Hulme A, Pettit J. Practitioners as Innovators: Emergent Practice in Personal Mobile Teaching, Learning, Work, and Leisure, in the book (Ally, 2009), 2009.
5. Barbosa J, Hahn R, Barbosa DNF, Geyer CFR. 'Mobile and Ubiquitous Computing in an Innovative Undergraduate Course', *SIGCSE'07*, 2007; March 7-10, Covington, 379-383
6. Sommers K, Hesler J, Bostick J. Little guys make a big splash: PDA projects at Virginia Commonwealth University. *Proceedings of the 29th Annual ACM SIGUCCS Conference*, 2001; 190-193, Portland, Oregon
7. Kim SH, Mims C, Holmes KP. 'An introduction to current trends and benefits of mobile wireless technology use in higher education'. *AACE Journal*, 2006; 14(1): 77-100.
8. Swett C. College students' use of mobile wireless-internet connections becomes more common. *Knight Ridder Tribune Business News*, Washington, 2002, October.
9. Boggs R. ECAR study: Trends in wireless communications in higher education, seminar on academic computing. Retrieved November 9, 2005, from <https://www.educause.edu/ir/library/pdf/EDU0218.pdf>
10. Fryer WA. Wireless computing: New opportunities and challenges in education. Retrieved November 9, 2005, from http://www.wtvi.com/teks/02_03_articles/wirelessfuture.html

Corresponding Author
Mensura Kudumovic,
University of Sarajevo,
Faculty of Medicine,
Sarajevo,
Bosnia and Herzegovina,
E-mail: mensurak@yahoo.com

Determination of heavy metal concentration Pb and Cd in honey by AAS

Određivanje sadržaja teških metala Pb i Cd pomoću AAS-a u uzorcima meda

Ekrem Pehlić¹, Aida Šapčanin², Sejad Ljubijankić¹, Majda Srabović³, Husein Nanić¹

¹ University of Bihać, Biotechnical faculty, Bosnia and Herzegovina,

² University of Sarajevo, Faculty of Pharmacy, Bosnia and Herzegovina,

³ University of Tuzla, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Bosnia and Herzegovina.

Abstract

Honey is the most accessible bee product and it has been used since ancient times. Plants secrete nectar, which is also called the plant's juice of life, to attract bees, and they, in turn pollinate plants and create a new life. Collected nectar, the bees turn into honey. Honey, unlike regular sugar which is just a „raw energy“ contains simple, easily digestible sugars such as fructose and glucose, then vitamins, minerals, proteins, ferments, plant hormones and flavonoids. The goal of this study was to determine the content of heavy metals in honey in this case lead (Pb) and cadmium (Cd). Also, the goal of the study was to see whether the geographical location of nectar which is used for production of honey, can affect the concentrations of these elements in honey. Furthermore, we wanted to compare the content of heavy metals in honey from the area of USC and the amount of these elements in honey that is produced commercially and out of USC.

It is known that the Cd is no evidence that is essential for humans. It is very toxic and carcinogenic (tested only on experimental animals at high doses). Pb is not an essential element, is very toxic to the human body. To determine the concentrations of heavy metals were taken seven different honey samples from different locations, which were manufactured in 2014, of which three samples from domestic production (USC), and four from locations outside of USC. The samples were analyzed by atomic absorption spectrophotometer (AAS) model SHIMADZU series of AA-6800. The samples No. 1, 4, 5 and 7 Cd concentra-

tions higher than the concentration of said metal in between relative to the working standard. The highest measured value conc. Cd in honey was in the sample number 4 and wore the 15.88 mg / kg. Being allowed weekly Cd intake is 0,007 mg / kg body weight (Reg. 396/2005 EU, Directive 91/414 / EEC, Directive 2001/110 / EC Reg. 37/2010 and EC 1881/2006), this concentration of Cd does not represent some sort of health hazard. The values of the cadmium concentration in the honey samples No. 2, 3 and 6 and the lead patterns for the number 3, 4, 5 and 7 were below the measurable concentration values, in relation to the working standard. According to EFSA allowed weekly intake of Cd was 7 mg / kg body weight for the period 1995 to 2004, so that this value was reduced to 2.5 mg / kg body weight of 2009). Sample No. 1 was the most measurable value Pb which amounted to 20.83 mg / kg or (0.02083 mg / kg), and allowed the entry of Pb by EU standards is 0.025 mg / kg body weight per week, which also poses no threat to human health. The maximum permitted amount of Cd and Pb in the samples is not prescribed by the Agency for Food Safety, but not by the European Food Safety Authority-European Food Safety Authority (EFSA). Since all concentrations of cadmium and lead in honey below the maximum allowable concentration of entry into the body as required by European directives and regulations (Reg. 396/2005 EU, Directive 91/414 / EEC, Directive 2001/110 / EC, reg. 37 / 2010 and EC 1881/2006), we conclude that among which is analyzed is not contaminated with heavy metals and as such is acceptable for the general use and not poses a danger to the human body.

Sažetak

Med je najdostupniji pčelinji proizvod i koristi se od davnina. Biljke luče nektar, kojeg neki nazivaju još i "sokom života" biljaka, kako bi privukle pčele, a one ih zauzvrat oprašuju i stvaraju novi život. Sakupljeni nektar pčele pretvaraju u med. Med za razliku od običnog šećera koji predstavlja samo "sirovu energiju" sadrži jednostavne, lako probavljive šećere fruktozu i glukozu, zatim vitamine, minerale, bjelančevine, fermente, biljne hormone i flavonoide. Cilj ovog rada je bio odrediti sadržaj teških metala u medu u ovom slučaju olova (Pb) i kadmija (Cd) uzimajući različite vrste meda sa različitih lokacija. Također, cilj rada je bio da se vidi da li geografski položaj kod sakupljanja nektara pri proizvodnji meda, može utjecati na vrijednosti koncentracija ovih teških metala u medu. Nadalje, željelo se uporediti sadržaj teških metala u medu koji je proizveden u USK-a i koncentracija teških metala u medu koji je komercijalno proizveden, a potiče van USK-a. Poznato je da za Cd-nema dokaza da je esencijalan za ljude. Veoma je toksičan i kancerogen (samo na pokusnim životinjama u visokim dozama). Pb-nije esencijalni element, vrlo otrovan za ljudski organizam. Za određivanje koncentracije teških metala uzeto je sedam različitih uzoraka meda sa različitih lokacija, koji su proizvedeni u 2014. godini od čega su tri uzorka iz domaće proizvodnje (USK-a), a četiri sa područja izvan USK-a. Uzorci su analizirani pomoću Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) model SHIMADZU serije AA-6800. U uzorcima broj 1, 4, 5 i 7 koncentracije Cd su veće od koncentracije navedenog metala u medu u odnosu na radni standard. Najveća izmjerena vrijednost konc. Cd u medu bila je u uzorku broj 4. i iznosila je 15.88 µg/kg. Budući da dozvoljeni sedmični unos Cd iznosi 0,007 mg/kg tjelesne težine (reg. EU 396/2005, direktiva 91/414/EEC, direktiva 2001/110/EC, reg. 37/2010 i EC 1881/2006) ova koncentracija Cd ne predstavlja nikakvu zdravstvenu opasnost. Vrijednosti koncentracije kadmija u medu za uzorke broj 2, 3 i 6, te za olovo, za uzorke broj 3, 4, 5 i 7 su bile ispod mjerljivih vrijednosti koncentracija, u odnosu na radni standard. Prema EFSA, dozvoljeni sedmični unos Cd je bio 7 µg/kg tjelesne težine za period 1995-2004, da bi se ta vrijednost smanjila na 2.5 µg/kg tjelesne težine od 2009.g.). Uzo-

rak broj 1. je imao najveće vrijednosti konc. Pb koje su iznosile 20.83 µg/kg ili (0.02083 mg/kg), a dozvoljeni unos Pb po EU standardima iznosi 0,025 mg/kg tjelesne težine sedmično, što također ne predstavlja opasnost po ljudsko zdravlje. Maksimalno dozvoljena količina Cd i Pb u uzorcima meda nije propisana od strane Agencije za sigurnost hrane BiH, ali ni od Europske agencije za sigurnost hrane-European Food Safety Authority (EFSA). Budući da su sve vrijednosti koncentracije kadmija i olova u medu ispod maksimuma dozvoljenih koncentracija unosa u organizam što je propisano Europskim direktivama i regulativama (reg. EU 396/2005, direktiva 91/414/EEC, direktiva 2001/110/EC, reg. 37/2010 i EC 1881/2006), možemo zaključiti da med koji je analiziran, nije onečišćen teškim metalima, i da je kao takav prihvatljiv za širu upotrebu i ne predstavlja opasnost za ljudski organizam.

Ključne riječi: med, teški metali, toksičnost.

Uvod

Pčelinji proizvodi su rijetka vrsta hrane, koja do krajnjeg potrošača dolazi u neizmijenjenom obliku, bez industrijske prerade – onakvi kakve su ih pčele proizvele, bez aditiva i konzervansa. Kristalizacija meda je prirodno svojstvo u kojem med prelazi iz tekućeg stanja u kristalnu masu. Kod tog procesa sastav i svojstva meda se ne mijenjaju. Do kristalizacije dolazi zato jer je med prezasićena otopina glukoze te kao takav spontano prelazi u stanje ravnoteže i to kristalizacijom suvišne glukoze. Što je sadržaj vode manji, a količina glukoze veća, med brže prelazi u kruto stanje. Med tamnije boje sadrži više mineralnih tvari. Ako se med drži u metalnoj posudi, promijenit će boju, tj. oksidirat će. Miris meda je specifičan za svaku vrstu meda. On ovisi o sadržaju hlapljivih tvari iz cvjetnog nektara. Intenzitet mirisa ovisi o vrsti i količini tih tvari. Stajanjem, hlapljive aromatične tvari iz meda, postepeno ishlape. Okus meda ovisi o njegovom porijeklu i sastavu. U medu su prisutne organske kiseline koje potječu iz nektara i žlijezda pčela te se uglavnom nalaze u obliku soli. Kiselost meda ovisi o vrsti, kvaliteti i dužini stajanja. Stari med ili onaj koji se počeo kvariti, ima povećanu kiselost. Najsladi je med onaj u kojem prevladava fruktoza. Gustoća meda ovisi

o količini vode u medu. Veći sadržaj vode smanjuje njegovu gustoću. Od ostalih svojstava možemo navesti još čistoću meda, viskoznost i zrelost meda. Prisustvo teških metala u medu; elementi koji dolaze u medu, ali i drugim pčelinjim proizvodima su K, P, Mg, Al, Ca, Na, Fe, Mn, Cl, S i Si. No neki elementi kao što su As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb i Zn kao i neki drugi mogu biti pokazatelj kontaminacije okoliša. Nisu svi teški metali ujedno i toksični. U toksične metale ubrajamo one koji nisu biogeni i djeluju isključivo toksično, a to su Cd, Cr, Hg, Pb, As. Njihove koncentracije u tlu i vodi su osnovni pokazatelj onečišćenosti i zagađenja okoliša. Ostali teški metali, npr. Cu, Fe, Mn, Ni, Mo i Zn su esencijalni pa su male koncentracije tih metala u prirodi normalne. Mnoga su istraživanja već dokazala da povećanu koncentraciju teških metala u okolišu pokazuju područja razvijene industrije, prometa, odlagališta otpada, zračnih luka, željezničkih pruga i kolodvora. Industrija je pri tome najveći zagađivač zbog velikog broja izvora zagađenja, ali i kućanstava i automobila koji povećavaju zastupljenost teških metala u zraku što često prerasta iz lokalnog u regionalni, a nerijetko i globalni problem zagađenja. Sva ta zagađenja hranidbenim lancem dolaze i do čovjeka. Teški se metali nakupljaju u organizmu i ometaju metabolizam i njegovu ravnotežu. Onečišćenjem okoliša teški metali dolaze i do peludi pa pčele sakupljanjem peludi dolaze u kontakt s njima što može imati posljedice na njihovo zdravlje. To se često očituje promjenom u njihovu ponašanje, nemirne su, agresivne itd.

Olovo (Pb)

Koncentracija olova znatno je porasla u okolišu kao posljedica industrijalizacije, a posebno automobilske revolucije kada se kao glavno gorivo koristilo benzin s dodatkom olova. Putevi apsorpcije olova u organizam su različiti, a različita su i djelovanja olova u organizmu. Dio olova unesenog u organizam se apsorbira, a ostatak se eliminira putem bubrega pa tako odrasla osoba na dan izluči oko 500 µg ovog metala.

Kadmij (Cd)

Najčešći izvori zagađenja kadmijem su industrijski gradovi, stari rudnici olova i cinka, talionice cinka i vulkanska područja gdje kadmij nastaje kao

nus produkt. Kadmij je zastupljen u gotovo svim namirnicama, a posebno u gljivama, riži, iznutricama, školjkama, povrću, voću i svim vrstama zelene salate. Ovaj metal se često koristi kao insekticid i fungicid, no njegova je djelotvornost relativno mala jer se lako ispire kišama. Mjesta apsorpcije kadmija takođe su različita, a najopasniji je unos hranom i dišnim putevima. Lako se akumulira u organizmima, a proces uklanjanja ponekad traje čak 16-33 godine. Prevelike količine kadmija najviše oštećuju organe krvožilnog sistema i pluća.

Cilj rada

Cilj rada je bio odrediti sadržaj teških metala u medu u ovom slučaju olova (Pb) i kadmija (Cd) uzimajući različite vrste meda sa različitih lokacija. Također, cilj rada je bio da se vidi da li geografski položaj kod sakupljanja nektara pri proizvodnji meda, može utjecati na vrijednosti koncentracija ovih teških metala u medu. Nadalje, željelo se uporediti sadržaj teških metala u medu koji je proizveden u USK-a i koncentracija teških metala u medu koji je komercijalno proizveden, a potiče van USK-a.

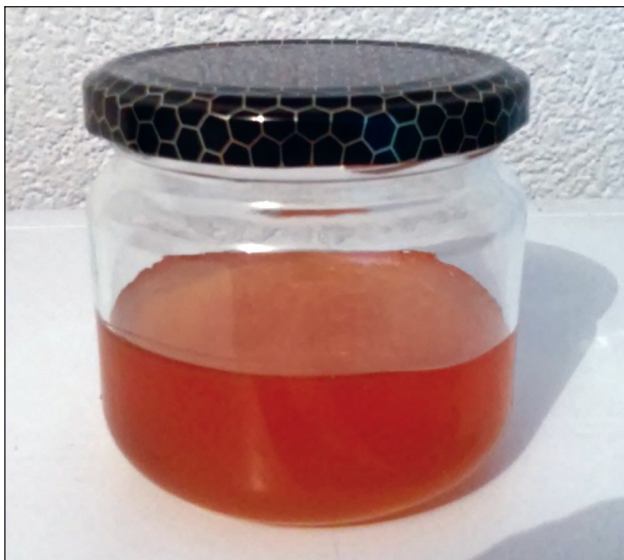
Materijal i metode

Materijal

Za određivanje koncentracije teških metala uzeto je sedam različitih uzoraka meda, koji su proizvedeni u 2014.g. od čega su tri uzorka sa područja USK-a, a četiri uzorka koji su kupljeni u marketima u USK-a, a proizvedeni su u BiH i van Bosne i Hercegovine. Uzorak broj 1. (domaći kestenov med, proizveden 2014, V. Kladaša-Kudići), Uzorak broj 2. (cvjetni med, PIP d.o.o. Hrvatska, proizveden 2014).

Uzorak broj 3. (domaći livadski med, proizveden 2014, Bužim-Radoč, BiH) Uzorak broj 4. (domaći kestenov med, proizveden 2014, Cazin-Pivnice, Bosna i Hercegovina).

Uzorak meda broj 5. (bagrem med „ASEL NAHL“ d.o.o. Gradačac, BiH, 2014), Uzorak meda broj 6.(cvjetni med, RES-KOM“ Makedonija, 2014.).



Slika 1. Uzorak meda br.1.



Slika 4. Uzorak meda br.4.



Slika 2. Uzorak meda br.2.



Slika 5. Uzorak meda br.5.



Slika 3. Uzorak meda br.3.



Slika 6. Uzorak meda br.6.



Slika broj 7. Uzorak meda br.7.
(livadski med „Medino“ d.o.o. Krnjevac, Srbija, 2014).

Metode

Prije samog određivanja koncentracije teških metala olova i kadmija u uzorcima meda, urađeno je prevođenje analita iz čvrste faze u otopinu u kivetama za digestiju. Odvaga svakog uzorka je iznosila od 0.5 g. do 1.0 g. Nakon odvage u svaki od uzoraka je dodano 7 ml 65 % azotne kiseline HNO_3 i 1 ml 30 % vodonik peroksida H_2O_2 . Tako pripremljeni uzorci meda su stavljani u mikrovalnu peć za digestiju u trajanju od deset minuta na temperaturi od 200 °C. Nakon toga svi uzorci meda su ohlađeni na temperaturu ispod 50 °C, uz potpomognuto hlađenje. Atomic absorption spectrophotometer (AAS) model SHIMADZU serije AA-6800 je korišten za određivanje koncentracije teških metala kadmija i olova u uzorcima meda. Uređaj je kalibriran i standardiziran radnim standardima.

Kadmijum (Cd)

Mjerni uvjeti i krivulja kalibracije; Uvjeti osvjetljenja

Postojeći; 8 mA/0 mA; 8 mA/300 mA, Talasna dužina; 228.8 nm; 228.8 nm, Slit širina; 0.5 nm; 0.5 nm, Osvjetljeni način; BGC-D₂; BGC-SR, Temperaturni program grafitne peći (Način visoke osjetljivosti 0.0H). Visoka gustoća grafitne cijevi. Krivulja kalibracije u BGC-D₂ načinu (Volumen ubrizganog uzorka 20 µl).

Olovo (Pb)

Mjerni uvjeti i krivulja kalibracije

Uvjeti osvjetljenja; Postojeći; 10 mA/0 mA; 8 mA/300 mA, Talasna dužina; 283.3 nm; 283.3

nm, Slit širina; 0.5 nm; 0.5 nm, osvjetljeni način; BGC-D₂; BGC-SR.

Rezultati

Med je poznat kao lako kontaminabilan proizvod ako se skladišti ili obrađuje na neodgovarajući način, i ujedno biološki proizvod koji može odražavati zagađenje životne sredine ili geohemijskih specifičnosti područja u kojima pčele prikupljaju nektar. U svim analiziranim uzorcima meda nisu zabilježene povećane vrijednosti potencijalno toksičnih elemenata olova i kadmija, i daleko su ispod granica toksičnih koncentracija. Vrijednosti izmjerenih koncentracija kadmijuma i olova se nalaze u tabelama 1. i 2.

Zaključci

U uzorcima meda broj 1, 4, 5 i 7 koncentracije Cd su veće od koncentracije navedenog metala u medu u odnosu na radni standard. Najveća izmjerena vrijednost konc. Cd u medu bila je u uzorku broj 4. i iznosila je 15.88 µg/kg. Budući da je dozvoljeni sedmični unos Cd iznosi 0,007 mg/kg tjelesne težine (reg. EU 396/2005, direktiva 91/414/EEC, direktiva 2001/110/EC, reg. 37/2010 i EC 1881/2006) ova koncentracija Cd ne predstavlja nekakvu zdravstvenu opasnost. Koncentracije Cd u medu u uzorcima broj 1, 5 i 7 su bile dosta manje u odnosu na uzorak broj 4. Vrijednosti koncentracije kadmija u medu za uzorke broj 2, 3 i 6 su bile ispod mjerljivih vrijednosti koncentracija, u odnosu na radni standard. Nadalje, koncentracija olova u uzorcima meda broj 3, 4, 5 i 7 su bile ispod nivoa detekcije u odnosu na postavljeni standard.

Vrijednosti koncentracija olova u uzorcima meda broj 1. i 2. su detektirani, ali ove vrijednosti ne prelaze maksimalne dozvoljene vrijednosti unosa olova u organizam, što je propisano od strane evropske agencije za sigurnost hrane (EFSA). (EFSA dozvoljeni sedmični unos od 7 µg/kg tjelesne težine za period 1995-2004 i smanjuje ovu vrijednost na 2.5 µg/kg tjelesne težine od 2009.g.) Uzorak broj 1. je imao najveće mjerljive vrijednosti Pb koje su iznosile 20.83 µg/kg ili (0.02083 mg/kg), a dozvoljeni unos Pb po EU standardima iznosi 0,025 mg/kg tjelesne težine sedmično, što također ne predstavlja opasnost po ljudsko zdravlje. Uzorak broj 6. je imao

Tabela 1. Koncentracija kadmija u uzorcima meda, (Cd)

Action	Sam. ID	True Value (ppb)	Conc. (ppb)	Abs.	BG	Pos.	Vol.	Total Vol.	Actual Conc.	Actual Conc. Unit	%RSD
BLK-AV				0.0060	0.0135	R1	18	20			7.0711
STD-AV	STD 1	0.00		0.0104	0.0126	1	0	20			7.4432
STD-AV	STD 2	1.00		0.0612	0.0110	1	2	20			2.0797
STD-AV	STD 3	2.00		0.1154	0.0106	1	4	20			4.1667
STD-AV	STD 4	4.00		0.2544	0.0115	1	8	20			3.2798
BLK-AV				0.0066	0.0088	R1	18	20			1.0796
QC-AV		5.00	5.8371	0.3612	0.0052	30	18	20			1.9378
UNK1-AV	blank 1		-0.1095	-0.0038	0.0087	R1	18	20	-0.1095	ppb	111.6484
QC-AV		1.00	0.9795	0.0630	0.0100	1	2	20			2.5795
UNK2-AV	1		0.0306	0.0048	0.0067	2	18	20	2.9104	ppb	61.0345
UNK3-AV	2		-0.1860	-0.0085	0.0078	3	18	20	-18.8031	ppb	16.6378
UNK4-AV	3		-0.0085	0.0024	0.0074	4	18	20	-0.7989	ppb	129.8768
UNK5-AV	4		0.1609	0.0128	0.0064	5	18	20	15.8804	ppb	9.4281
UNK6-AV	5		0.0469	0.0058	0.0112	6	14	16	4.6909	ppb	32.6357
UNK7-AV	6		-0.0052	0.0026	0.0069	7	18	20	-0.4712	ppb	36.0486
UNK8-AV	7		0.0127	0.0037	0.0052	8	18	20	1.1241	ppb	53.5108

Tabela 2. Koncentracija olova u uzorcima meda, (Pb)

	Action	Sample ID	True Value (ppb)	Conc. (ppb)	Abs.	BG	Pos.	VOL	Total Vol.	Actual Conc.	Actual Conc. Unit
1	BLK				0.0047	0.0244	R1	18	20		
2	STD	STD 1	0.00		-0.0012	0.0231	1	0	20		
3	STD	STD 2	10.00		0.0778	0.0245	1	2	20		
4	STD	STD 3	20.00		0.1539	0.0206	1	4	20		
5	STD	STD 4	40.00		0.2974	0.0280	1	8	20		
6	BLK				0.0097	0.0226	R1	18	20		
7	QC		10.00	9.3898	0.0716	0.0195	30	18	20		
8	UNK1	1		0.2149	0.0033	0.0228	2	18	20	20.8358	ppb
9	UNK2	2		0.0134	0.0018	0.0259	3	18	20	1.2613	ppb
10	UNK3	3		-0.2284	0.0000	0.0248	4	18	20	-22.4141	ppb
11	UNK4	4		-0.3627	-0.0010	0.0309	5	18	20	-34.2881	ppb
12	UNK5	5		-0.8329	-0.0045	0.0285	6	18	20	-82.7275	ppb
13	UNK6	6		0.0000	0.0017	0.0270	7	18	20	0.0000	ppb
14	UNK7	7		-0.8597	-0.0047	0.0277	8	18	20	-78.9150	ppb

istu vrijednost koncentracije olova kao i radni standard, dok uzorak broj 2. je imao zanemarivo malu, skoro nemjerljivu koncentraciju olova. Stoga vrijednosti koncentracija teških metala u medu se bitno nisu mijenjale u odnosu na geografski položaj kao i u odnosu na različite proizvođače. Maksimalno dozvoljena količina Cd i Pb u uzorcima meda nije propisana od strane Agencije za sigurnost hrane BiH, ali niti od Europske agencije za sigurnost hrane- Eu-

ropean Food Safety Authority (EFSA). Budući da su sve vrijednosti koncentracije kadmija i olova u medu ispod maksimuma dozvoljenih koncentracija unosa u organizam što je propisano Europskim direktivama i regulativama (reg. EU 396/2005, direktiva 91/414/EEC, direktiva 2001/110/EC, reg. 37/2010 i EC 1881/2006), možemo zaključiti da je ovakav med prihvatljiv za širu upotrebu i ne predstavlja opasnost za ljudski organizam.

Literatura

1. *Emberšić I, Vitić J. Ekološka proizvodnja meda, Osijek, Prehrambeno tehnološki Fakultet, 2005.*
2. *Leblebici Z, Aksoy A. Determination of Heavy Metals in Honey Samples from Central Anatolia Using Plasma Optical Emission Spectrofotometry (ICP-OES), Erciyes University Press, Turkey, 2008.*
3. *Bibi S, Zahoor Hussain S, Naseem Malik R. Pollen analysis and heavy metals detection in honey samples from seven selected countries, Quid-i-Azam University Press, Pakistan, 2008.*
4. *Pešić-Mikulec D, Dugalić-Vrندیć N, Baltić M. Prirodna antibakterijska svojstva meda, Beograd, 2003.*
5. *Seedley D. Honeybee Ecology, Princeton University Press, New Jersey, 1985. Stephen H., Atomic Absorption Spectrometry, Elsevier, Michigan, 1991.*
6. *Winston L. The Biology of the Honey Bee, Harvard University Press, London, 1987.*
7. *Gobin I, Vučković D, Lušić D. Antibakterijska svojstva meda, Rijeka, 2014.*
8. *Roman A, Bartkowiak A, Reginia M. The cumulation of selected chemical elements of toxic properties in bee honey originating from the industrial and rural-forest areas, ISAH-2 Tartu, Estonia. 2007; 877-881.*
9. *Fakhizahed K, Lodenijus M. Heavy metals in Finnish honey, pollen and honey bees, Apiacta, 2000; 35(2): 85-95.*
10. *Dobrinas S, Matei N, Soceanu A, Birghila S, Popescu V. Estimation of vitamin c and Cd, Cu, Pb content in honey and propolis, Scientific study & research, 2006; Vol. VII (4).*
11. *Vincevica-Gaile Z, Klavins M, Rudovica V, Viksna A. Potentially Toxic Metals in Honey from Latvia: Is there Connection with Botanical Origin? Recent Researches in Environment, Energy Systems and Sustainability; 158-163.*
12. *Akbari B, Gharanfoli F, Hassanzadeh M. Khayyat, Khashyarmansh Z, Rezaee R, Karimi G. Determination of heavy metals in different honey brands from Iranian markets, Food Additives and Contaminants: Part B: Surveillance, 2012; 1-7.*
13. *Stanciu G, Mititelu M. Study of some heavy metals from propolis and honey, Adnan Menderes University, 4th AACD Congress, Kuşadası, Aydın, Turkey; 2004; 298.*
14. *Šarkanj B, Kipčić D, Vasić-Rački Đ, Delaš F, Galić K, Katalenić M, Dimitrov N, Klapac T. Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani, Hrvatska agencija za hranu, 2010.*

Corresponding Author
Ekrem Pehlić,
Biotehnički fakultet,
Univerzitet Bihać,
Bosnia and Herzegovina,
E-mail: pehlic_ekrem@yahoo.com

Determination of concentration of 4'4-Dihydroxy-2,2-Diphenyl Propan (BPA)

Određivanje koncentracije 4'4-Dihidroksi-2,2-Difenil Propana (Bisfenol)

Damir Hrnjica¹, Huska Jukić², Safeta Redžić¹, Asmir Aldžić², Suad Habeš³, Ekrem Pehlić¹

¹ University of Bihać, Biotechnical Faculty Bihać, Bosnia and Herzegovina,

² University of Bihać, School of Health Studies Bihać, Bosnia and Herzegovina,

³ Faculty of Health Studies, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.

Abstract

Introduction: Bisphenol A is an organic molecule IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) bearing the name 4'4-dihydroxy-2,2-diphenylpropan, which is much used in industry as a monomer in the production of epoxy-phenolic resins and polycarbonate, as well as an inhibitor in polymerization in the production of PVC. It has been found that the monomers can migrate from the polymer and pass from packaging into the product, and can be found to a large extent in the human body and the environment. Adverse effects of bisphenol A have been demonstrated, namely in concentrations lower than officially "recommended" daily dose for humans (50 micrograms per kilogram of body weight).

Aim: The aim of the work is based on determining the concentration of bisphenol A in the assay samples packed in polymer packaging that use bisphenol A as a monomer-stabilizer. Furthermore, the goal of the study is to see how temperature and storage time affect the concentration of bisphenol A in food products and other products that are packaged in plastic containers.

Material and methods: Tomato sauce packaging, bought primarily at markets in the Una-Sana Canton (USC) as well as some markets in Bosnia and Herzegovina, has been used for the study. Analyses were conducted in the manner that packaging is subjected to the action of different temperature and time parameters. Determination of the concentration of bisphenol A (BPA) was performed by HPLC-UV.

Results: In the first 48 hours, there were no measurable concentrations, i. e. there was no migra-

tion of bisphenol A from food packaging in food simulant. Migration of BPA from the packaging was first detected after 4 days of sample storage, so that BPA concentration was 0.184 µg/ mL, and increased with time of contact. The amount of bisphenol A migration from tomato sauce packaging increased with the length of contact time of the simulant and packaging.

Key words: Bisfenol A, migration, polimers, monomers.

Sažetak

Uvod: Bisfenol A je organska molekula IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) naziva 4'4-dihidroksi-2,2-difenilpropan koji se mnogo upotrebljava u industriji kao monomer u proizvodnji epoksi-fenolnih smola i polikarbonata, kao i inhibitor u polimerizaciji proizvodnje PVC-a. Utvrđeno je da monomeri mogu migrirati iz polimera i preći iz ambalaže u proizvod, te se u znatnoj mjeri mogu naći u ljudskom organizmu i okolišu. Dokazani su štetni učinci bisfenola A, i to u koncentracijama koje su niže od službeno „preporučene“ dnevne doze za ljude (50 mikrograma na kilogram tjelesne težine).

Cilj: Cilj rada je zasnovan na određivanju koncentracije bisfenola A u ispitivanim uzorcima koji su pakirani u polimernu ambalažu kod kojih se koristi bisfenol A kao monomer-stabilizator. Također, cilj rada je da se vidi kako temperatura, kao i vrijeme skladištenja utječu na koncentraciju bisfenola A u prehrambenim proizvodima i nekim drugim artiklima koji su pakirani u plastičnu ambalažu.

Materijal i metod rada: U istraživanju je korištena ambalaža za paradajz sos, a koja je kupljena prvenstveno u marketima na području Unsko-sanskog kantona (USK-a) i u nekim marketima u Bosni i Hercegovini. Analize su rađene na način da se ambalaža podvrgne djelovanju različitih temperaturnih i vremenskih parametara. Određivanje koncentracije bisfenola A (BPA) je vršeno pomoću HPLC-UV.

Rezultati: U prvih 48 sati nije bilo mjerljivih vrijednosti koncentracije, tj. nije bilo migracije bisfenola A iz ambalaže u simultant hrane. Migracija BPA iz ambalaže je prvi put detektirana nakon 4 dana skladištenja uzorka tako da je koncentracija BPA bila 0,184 µg/mL i povećavala se sa vremenom kontakta. Količina migracije bisfenola A iz ambalaže za sos paradajz raste sa dužinom vremena kontakta simultanta sa ambalažom.

Ključne riječi: Bisfenol A, migracija, polimeri, monomeri.

Uvod

Bisfenol A je organska molekula, IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) naziva: 4,4'-dihidroksi-2,2-difenilpropan koja se mnogo upotrebljava u industriji kao monomer u proizvodnji epoksi-fenolnih smola i polikarbonata, i kao inhibitor u polimerizaciji proizvodnje PVC-a [J. Lopez-Cerevantes, P. Paserio-Losada, (2003.)]. Polikarbonat (PC) je polimer koji se koristi u proizvodnji boca i galona za vodu, bočica za hranjenje djece, posuda i pribora za jelo (tanjuri, itd.), kao i posuda za mikrovalnu pećnicu. Polikarbonat se također koristi u proizvodnji vodovodnih cijevi [EFSA Journal (2006.), Vol. 428, 1-75]. Epoksi-fenolne smole se koriste kao materijal za unutarnje zaštitne obloge za izradu limenki, te kao premaz metalnih poklopaca za posude u kojima se čuva hrana i napitci, kao i za površinski premaz u velikim spremnicima za pitku vodu i alkoholna i bezalkoholna pića [I. Jordakova i sur (2003.)]. Zbog svoje široke upotrebe bisfenol A je spoj koji se proizvodi u velikim količinama, gdje se godišnja svjetska proizvodnja procjenjuje na 3–4 milijuna tona [Linda-Jo Schierow, (2010.)]. Dokazano je da se monomeri mogu izlučiti (migrirati) iz polimera i prijeći iz ambalaže u proizvod, te se u znatnoj mjeri mogu naći u ljudskom organizmu i

okolišu [M. Ščetar, (2010.)]. Podaci raznih studija ukazuju da bisfenol A (BPA) migrira iz ambalaže u proizvod. U zadnjih nekoliko godina dokazani su štetni učinci bisfenola A, i to u koncentracijama koje su niže od službeno "preporučene" dnevne doze za ljude (50 mikrograma na kilogram tjelesne mase µg/kg tt) [Richter C.A. i sur., (2007.)]. Zbog štetnog učinka bisfenola A na ljudsko zdravlje neke države kao što su: Danska, Francuska, Kanada i neke države u SAD-u slijedeći načelo predostrožnosti su 2010. godine uvele zabranu korištenja bisfenola A u ambalažama namijenjene djeci do 3 godine starosti [L. N. Vandenberg i sur., (2010.)]. Migracija bisfenola A u proizvode se prvenstveno ogleda iz razloga što se većina artikala pakuje u materijale od polikarbonatne plastike, PVC-a i epoksi-fenolnih smola koje se koriste za nanošenje unutrašnjosti metalne ambalaže, a koji koriste bisfenol A kao stabilizator. Najvjerojatniji način unosa bisfenola A u ljudski organizam u svakodnevnom životu je oralno, odnosno preko hrane i pića u koje je otpuštanjem i migracijom dospjeo bisfenol A, koji se nalazi u ambalaži, te kod djece preko predmeta i igračaka koje stavljaju u usta. Utjecaj ove molekule na rizik po ljudsko zdravlje i okoliš sa naučnog stanovišta se intenzivno istražuje u posljednjih deset godina [M. Small, (2010.)]. Postoje naučne studije koje dokazuju da bisfenol A uzrokuje poremećaje endokrinog sistema jer oponaša neke hormone u tijelu čovjeka iz grupe estrogena kao što su (estradiol, estriol i estron), te na taj način može negativno utjecati na zdravlje ljudi [Y. Nishikawa, (2003.)], [Alaska Community Action on Toxics Fact Sheet, (2007.)]. Štetni utjecaj se najviše ogleda na razvoj fetusa, mozga i ponašanje djece. Također, neke studije su pokazale korelaciju između visokih koncentracija bisfenola A u urinu i kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa II i enzimatskih poremećaja u reproduktivnom sistemu kod odraslih. Studije koje su provedene na glodavcima (miševima) koji su bili izloženi bisfenolu A ukazuju na niz štetnih učinaka na potomstvo glodavaca kao što je prekomjerno povećanje težine, inzulinska rezistencija, raka prostate i pretjeran razvoj mliječne žljezde [L. N. Vandenberg i sur (2010.)]. Kod laboratorijskih životinja izloženih niskim koncentracijama BPA (20 µg/kg) pronađena je veća učestalost mejotičke aneuploidije, [Hunt i sur. 2003] [Opinion on the

results of the Risk Assessment of: Bisphenol A human health part, (2002.)). (Mejoza je stanična dioba u kojoj se broj hromozoma u novonastalim stanicama reducira na polovinu u odnosu na matičnu stanicu. Aneuploidija predstavlja uvećanje ili smanjenje osnovne jedinice za jedan ili veći broj hromozoma. Fetalna izloženost BPA kod štakora uzrokuje nastanak hiperplazije i karcinoma dojke u odrasloj dobi, [Murray i sur., (2006.)]. Prisustvo BPA u tijelu narušava endokrini sistem u tijelu, on se veže za receptorska mjesta, uzrokujući učinke otpuštanja hormona [P. McManus, (2008.)]. Konkretno, u prihvaćenom mišljenju komisije EU iz Novembra 2006. navodi se da se proučavanjem recentnih istraživanja i studija utjecaja BPA došlo do zaključka da je baza podataka o utjecajima BPA na ljudsko zdravlje dovoljno osnažena novim istraživanjima, tako da su zaključili da se u faktor sigurnosti više ne treba uračunavati faktor 5 za nesigurnost baze podataka. Stoga je postavljena nova vrijednost TDI od 0,05 mg/kg tt. Slijedom toga, u 1996 BPA je klasificirana od strane Europske komisije kao supstancija vanjskog porijekla sa štetnim učinkom na ljudsko zdravlje. Brojne toksikološke i biokemijske studije potvrdile su da bisfenol A ima estrogena svojstva i antagonističke djelovanje prema estrogenim receptorima. U nedavnim studijama bisfenola A je bila klasificirana kao ksenobiotik poremećaja hormonske ravnoteže u ljudi i drugih životinja, tzv endokrinog disruptora. Bisfenol A dokazano je da imaju estrogene aktivnost čak i na koncentracije ispod 1 ng L⁻¹ [I. Rykowska, W. Wasiak, (2006.)]. Zbog složenosti hormonalnog sistema, mehanizmi ksenobiotik aktivnost dovode do endokrinih poremećaja su teško identificirane, a još nisu poznati učinci izloženosti bisfenol A, a koji može biti naročito štetni za fetus, novorođenčad i malu djecu, zbog nedostatka povratnih informacija koji reguliraju aktivnost, sintezu, i eliminaciju hormona. Kontakt sa BPA u to vrijeme može dovesti do ireverzibilnih promjena, koje se pojavljuje čak i nakon mnogo kašnjenja. Studija na miševima pokazala je da koncentracija BPA niska kao i 20 ppm u vodi za piće je dovoljno da donese genetske promjene na fetusu miševa. Promjene su uglavnom rezultat poremećaja raspodjele hromozoma u stanice kćeri. Kao posljedica tih promjena u stanicama jajašca miševa, a time i fetusa, postoji mogućnost za previše ili prema-

lo hromozoma. Kod ljudi, poremećaji tog tipa su glavni razlog za pobačaja i genetska oštećenja, npr. Downov sindrom. Iako BPA ima opasne učinke na stanice ljudskih jajašce još nisu uspostavljena, procesi koji su uključeni u stvaranje jajne stanice kod ljudi i miševa su slični, pa moglo bi se predviđati da je BPA vrlo opasno za ljude, [I. Rykowska, W. Wasiak (2006)].

Materijal i metode

Materijal: U istraživanju su korištena 32 uzorka ambalaža za paradajz sos, a koja je kupljena prvenstveno u marketima na području Unsko-sanskog kantona (USK-a) i u nekim marketima u Bosni i Hercegovini. Analize su rađene na način da se ambalaža podvrgne djelovanju različitih temperaturnih i vremenskih parametara. Određivanje koncentracije bisfenola A (BPA) je vršeno pomoću HPLC-UV. Ambalaža za sos paradajz je od savitljive neprozirne (crvena boja) plastike, zapremine 300 mL nepoznatog proizvođača. Ambalaža za paradajz sos se napuni do puna simultantom hrane i ostavi u termostatskoj peći na +25°C, u vremenu od: 1 do 24 sata, 2, 4, 8, 16, 24, 32, 40 i 48 dana. Sadržaj ambalaže za sos paradajz se prenese mikrospricom u staklene bočice (vajlice) pogodne za HPLC analizu.

Metod: Metoda kojom je mjerena koncentracija, tj. količina migracije bisfenola A iz ambalaže u simultante hrane je referentna metoda, a koja je normirana u EU i ima oznaku EN 13130, a u BiH nosi oznaku: **BAS CEN/TS 13130-13**. Ovaj standard je namijenjen kako bi podržao direktivu 2002/72/EC, 89/109/EEC, 82/711/EEC i njegove izmjene i dopune 93/8/EEC, 97/48/EC i 85/572/EEC. Ovaj dio norme EN 13130 treba čitati zajedno sa EN 13130-1. Daljnji dijelovi EN 13130, pod zajedničkim naslovom „*Materijali i predmeti u dodiru s prehrambenim proizvodima*“. Plastične tvari koje podliježu ograničenju, specifične migracije iz plastičnih materijala u hranu i simultantima hrane i određivanje specifičnih monomera i aditiva u plastici. Dio 13: Određivanje 2,2-bis(hidroksifenil) propana (Bisfenol A) u simultantima hrane.

Princip: Koncentracija bisfenola A u vodenom simulantu hrane se određuje tekućom kromatografijom visoke performanse (HPLC) s UV detektorom.

Reagensi: Voda deionizirana, Metanol, svi reagensi moraju biti p.a., osim ako nije drugačije navedeno.

Analit: 2,2-bis (4-hydroxyphenyl) propan, (Bisphenol A ili 4,4'-(methylethylidene)-bisfenola ili 4,4'-isopropylidenediphenol), molekulske formule $C_{15}H_{16}O_2$, molekularna težina: 228,28, g/mol, čistoća > 99%.

Uređaj za analizu: Instrumenti, posuđe, pribor, oprema koji su korišteni u laboratoriju.

Analitička vaga

Ultrazvučna kupka

HPLC (UFLC Shimadzu, LC-20 AD)

UV detektor (SPD-20 AV)

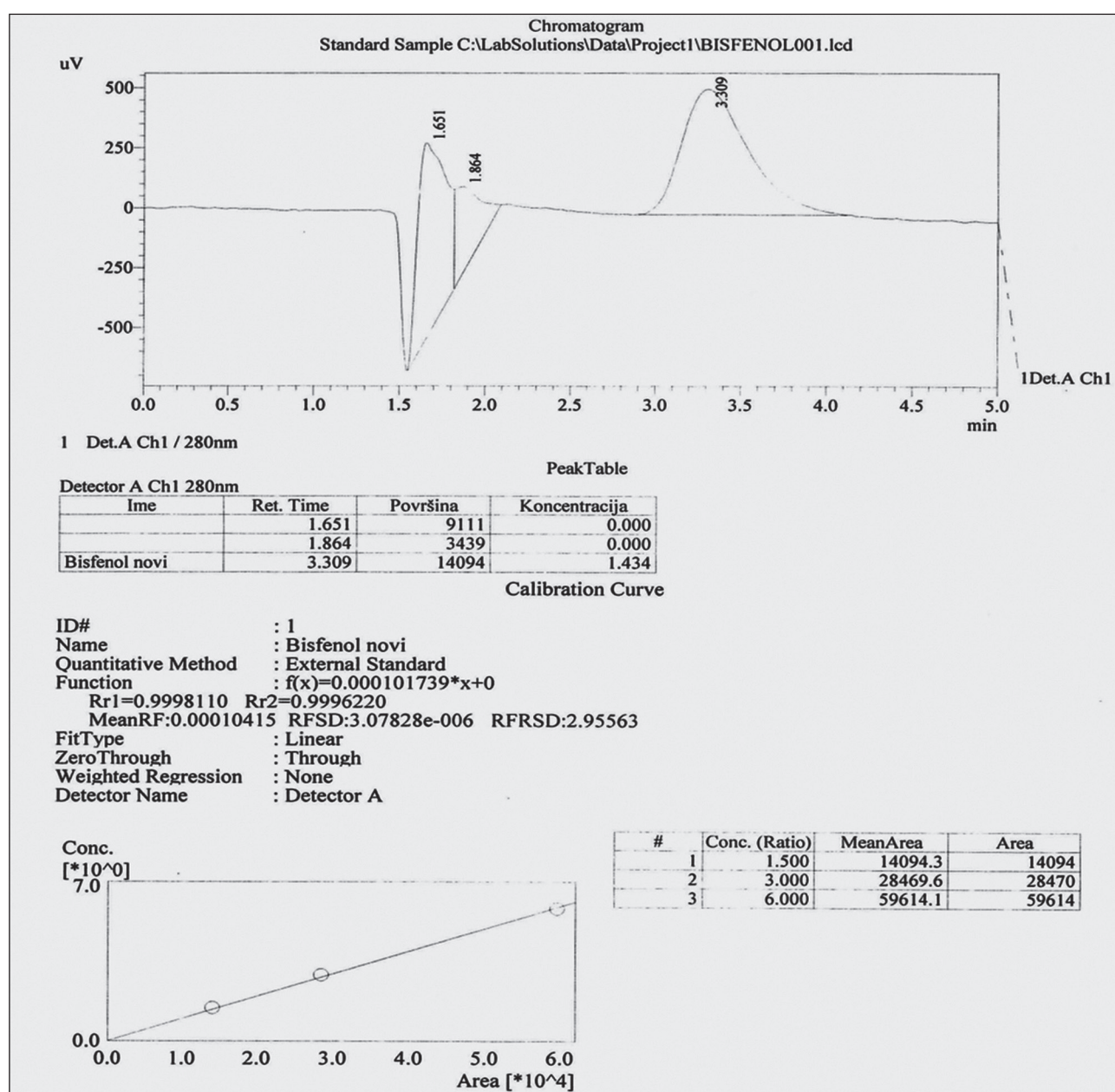
HPLC kolona za odvajanje bisfenola A podrijetlom iz simulanta i/ili otapala koje se koristi (kolona C18: nehrđajući čelik 250 x 4,6 μ m, obložena silikagelom, veličina čestica 5 μ m)

Protok: 1 mL/min

Mobilna faza: 70:30 metanol: voda deionizirana

UV detektor: 780 nm.

Kalibracija: Izvaže se 37,5 mg $\pm$ 0,1 mg bisfenola A u 100 mL volmetrijskoj tikvici. Otopi se bisfenol A u metanolu HPLC čistoće i napuni se do oznake. Prenese se mikro špricom u seriji od šest u 25 ml volmetrijske tikvice 0 μ L, 20



Slika 1. Kalibracioni hromotogram bisfenola A

μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL i 400 μL standardne otopine (37,5 mg otopljeno u 100 mL metanola) i napuni do oznake s odgovarajućim analitom (deionizirana voda) i mješa dobro. Ovako dobivene kalibracijske otopine sadrže 0 $\mu\text{g/mL}$, 0,30 $\mu\text{g/mL}$, 1,5 $\mu\text{g/mL}$, 3,0 $\mu\text{g/mL}$, 4,5 $\mu\text{g/mL}$ i 6,0 $\mu\text{g/mL}$ bisfenola/simultanta hrane. Nakon završene kalibracije gdje je dobiven pravolinijski grafikon s poznatim koncentracijama standarda, dobiveno je retenciono vrijeme (vrijeme na kojem se pojavljuje tražena supstanca bisfenol A). Prema metodi dozvoljeno odstupanje retencionog vremena je 5 %. Na slici 30. je prikazan hromotogram za standardnu koncentraciju bisfenola A od 3 $\mu\text{g/mL}$. Ispod hromotograma je data tabela s očitanim vrijednošću koncentracije bisfenola A od 1.434 $\mu\text{g/mL}$, te površinom pika i retencionim vremenom od 3.309 min. U donjem dijelu slike data je tabela sa zadatim koncentracijama bisfenola A, te očitanim koncentracijama standarda i površinama pika. Također, prikazana je kalibraciona kriva za očitana tri pripremljena standarda bisfenola A i to za koncentracije 0 $\mu\text{g/mL}$, 1,5 $\mu\text{g/mL}$, 3 $\mu\text{g/mL}$ i 6 $\mu\text{g/mL}$. Kalibraciona kriva predstavlja pravac koji prolazi kroz kalibracione tačke koje je HPLC-UV detektor očitao. Kod kalibracione krive X-osa predstavlja očitano površinu pika, a Y-osa očitano koncentraciju.

Postupak: Ultrazvučna kupka; Mobilna faza (metanol: deionizirana voda, 70:30) se stavlja u ultrazvučno kupatilo 10–15 sekundi da bi se istisnuo zrak iz mobilne faze.

HPLC-analiza: mora biti u mogućnosti otkriti najmanje 6 ng u stupcu bisfenola A u omjer signala i šuma za 3:1. Isti uslovi rada HPLC sistema su se održavali tokom mjerenja svih uzoraka. Vrijeme

zadržavanja za bisfenol A u koloni je utvrđeno da bude 4,5 minuta. Uzorak dobiven tokom pripreme se prenese pomoću mikro-šprice (1 mL) u bočice (vajlice) koje se stave u kućište HPLC-a da bi se izvršila analiza uzoraka.

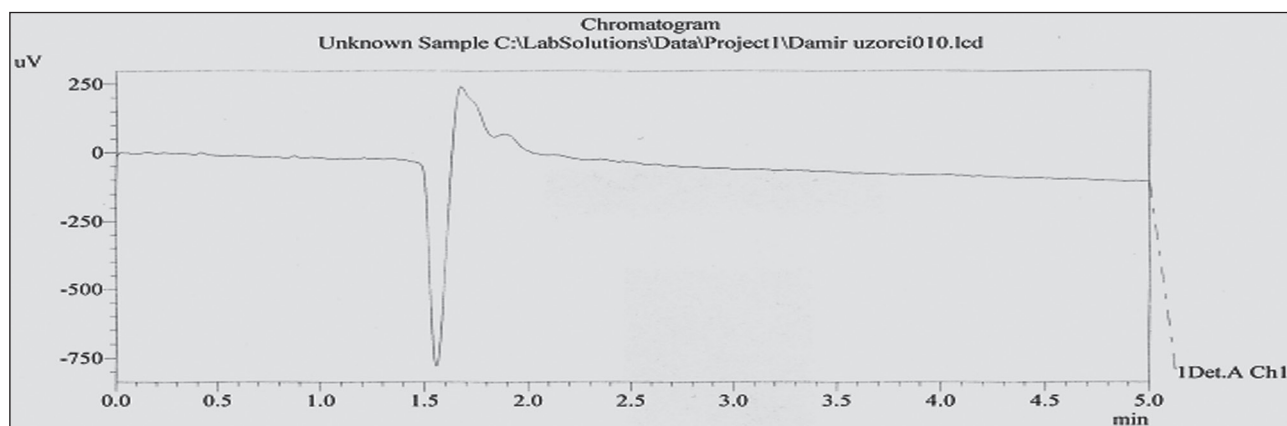
Rezultat

Određivanje količine migracije bisfenola A iz ambalaže za sos paradajz u simultan hrane. U tabeli 1. se vidi da je bisfenol A migrirao iz ambalaže paradajz sosa u simultan hrane. Na temperaturi skladištenja uzoraka do 25 °C, a koncentracija migriranja bisfenola A iz ambalaže u simultan je rasla s dužim vremena zadržavanja uzorka u ambalaži.

Iz tabele 1 se vidi da je došlo do migracije ispitivane tvari BPA iz ambalaže za paradajz sos u simultan. U prvih 48 sati nije bilo mjerljivih vrijednosti koncentracije, tj. nije bilo migracije bisfenola A iz ambalaže u simultan hrane. Migracija BPA iz ambalaže je prvi put detektirana nakon 4 dana skladištenja uzorka tako da je koncentracija BPA bila 0,184 $\mu\text{g/mL}$ i povećavala se sa vremenom kontakta. Količina migracije bisfenola A iz ambalaže za sos paradajz raste sa dužinom vremena kontakta simultanta sa ambalažom.

Na slici 2 je prikazan hromotogram ambalaže paradajz sosa kod prvog mjerenja, nakon kontakta ambalaže sos paradajza i simultanta hrane zadatim parametrima i to za 1 sat i temperaturu od 25°C. Na hromotogramu za navedeno vrijeme i temperaturu nema pojave pika BPA iz ambalaže u simultan.

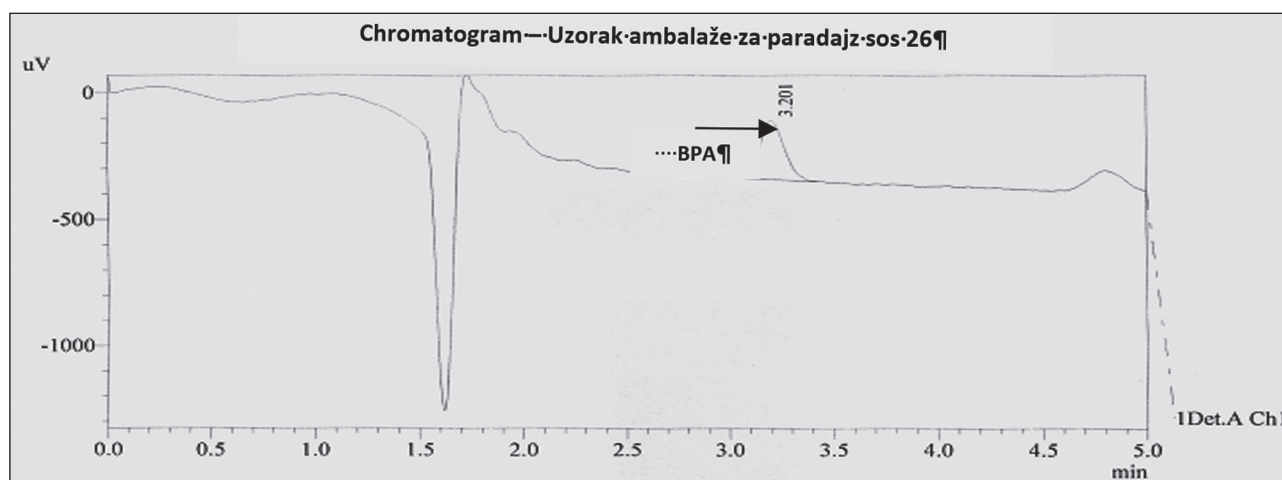
Na slici 3 je prikazan hromotogram ambalaže paradajz sosa kod dvadeset šestog mjerenja, tj. nakon izlaganja ambalaže sos paradajza i simultanta hrane zadatim parametrima i to za 4 dana



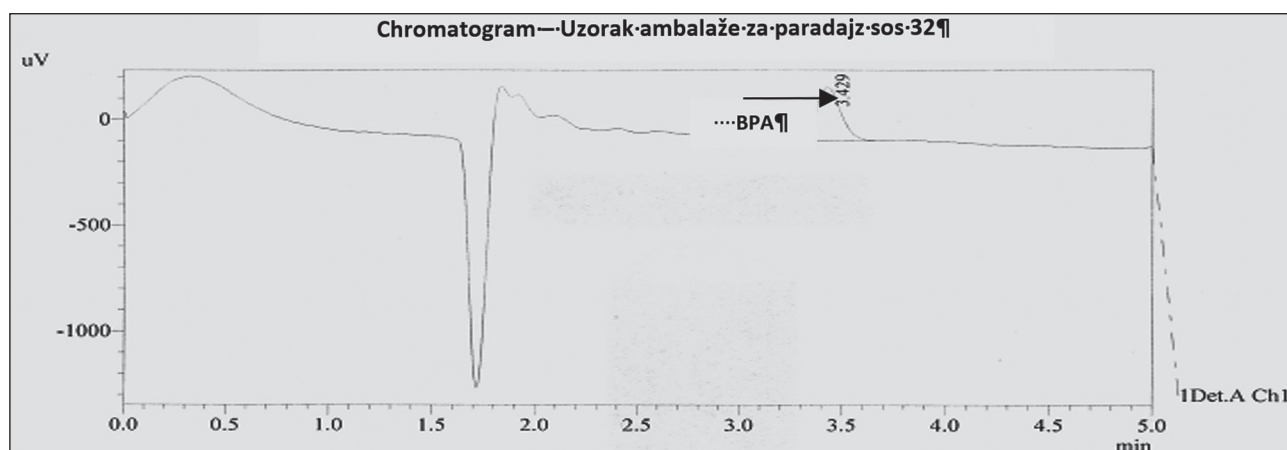
Slika 2. Hromotogram uzorka ambalaže za paradajz sos kod prvog mjerenja

Tabela 1. Koncentracija BPA kod ambalaže za sos paradajz

R.br.	Uzorak	Vrijeme skladištenja	Temp. skladištenja °C	Koncentracija µg/mL
1	Ambalaža za sos paradajz	1 [h]	25	0,000
2	Ambalaža za sos paradajz	2 [h]	25	0,000
3	Ambalaža za sos paradajz	3 [h]	25	0,000
4	Ambalaža za sos paradajz	4 [h]	25	0,000
5	Ambalaža za sos paradajz	5 [h]	25	0,000
6	Ambalaža za sos paradajz	6 [h]	25	0,000
7	Ambalaža za sos paradajz	7 [h]	25	0,000
8	Ambalaža za sos paradajz	8 [h]	25	0,000
9	Ambalaža za sos paradajz	9 [h]	25	0,000
10	Ambalaža za sos paradajz	10 [h]	25	0,000
11	Ambalaža za sos paradajz	11 [h]	25	0,000
12	Ambalaža za sos paradajz	12 [h]	25	0,000
13	Ambalaža za sos paradajz	13 [h]	25	0,000
14	Ambalaža za sos paradajz	14 [h]	25	0,000
15	Ambalaža za sos paradajz	15 [h]	25	0,000
16	Ambalaža za sos paradajz	16 [h]	25	0,000
17	Ambalaža za sos paradajz	17 [h]	25	0,000
18	Ambalaža za sos paradajz	18 [h]	25	0,000
19	Ambalaža za sos paradajz	19 [h]	25	0,000
20	Ambalaža za sos paradajz	20 [h]	25	0,000
21	Ambalaža za sos paradajz	21 [h]	25	0,000
22	Ambalaža za sos paradajz	22 [h]	25	0,000
23	Ambalaža za sos paradajz	23 [h]	25	0,000
24	Ambalaža za sos paradajz	24 [h]	25	0,000
25	Ambalaža za sos paradajz	2 [d]	25	0,000
26	Ambalaža za sos paradajz	4 [d]	25	0,184
27	Ambalaža za sos paradajz	8 [d]	25	0,190
28	Ambalaža za sos paradajz	16 [d]	25	0,190
29	Ambalaža za sos paradajz	24 [d]	25	0,196
30	Ambalaža za sos paradajz	32 [d]	25	0,205
31	Ambalaža za sos paradajz	40 [d]	25	0,210
32	Ambalaža za sos paradajz	48 [d]	25	0,214



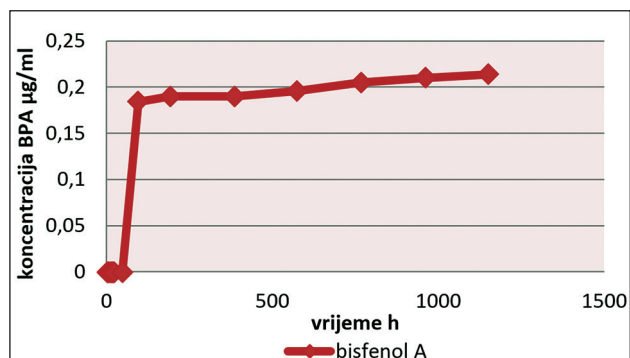
Slika 3. Hromotogram uzorka ambalaže za paradajz sos kod dvadesetšestog mjerenja



Slika 4. Hromotogram uzorka ambalaže za paradajz sos kod zadnjeg (32.) mjerenja

i temperaturu od 25°C. Iz slike 3. koja prikazuje hromotogram BPA se vidi pik koji predstavlja koncentraciju bisfenola A od 0,184 µg/mL, na retencionom vremenu od 3.201 min. sa dopuštenim odstupanjem od 5%.

Na slici 4 je prikazan hromotogram BPA u ambalaži paradajz sosa kod 32. mjerenja, u simultant hrane i to za: 48 dana i 25°C. Za ovo vrijeme i temperaturu koncentracije bisfenola A je 0,214 µg/mL i pik sa retencionim vremenom 3.429 minute, sa dopuštenim odstupanjem od 5%.



Slika 5. HPLC dijagram pri određivanju koncentracije BPA kod ambalaže za paradajz sos

Slika 5 označava koncentraciju bisfenola A u µg/mL u ovisnosti od vremena zadržavanja simultanta u ambalaži. Bisfenol A se pojavljuje u simultantu hrane nakon 96 sati izloženosti u ambalaži. Prva mjerljiva koncentracije bisfenola A od 0,184 µg/mL je bila poslije 96 sata, tj. nakon 4 dana izloženosti uzorka u ambalaži. Vidljivo je da nakon četiri dana dolazi do naglog povećanja migracije bisfenola A iz ambalaže u simultant sa 0,00 µg/mL na 0,184 µg/mL. Nakon 8 dana nije došlo do veli-

ke migracije bisfenola A iz ambalaže u simultant u odnosu na predhodno mjerenje, a koje je iznosilo 0,190 µg/mL što predstavlja povećanje konc. BPA za samo 3,3 %. Nakon osmog dana kontakta simultanta i ambalaže uspostavlja se blaga ravnoteža konc. BPA, sve do 16 dana. Za 24 dana konc. BPA je 0,196 µg/mL i dolazi do postepenog povećanja koncentracije bisfenola A u simultant. Koncentracija BPA nakon 32 dana u simultantu je 0,205 µg/mL. Za 40 dana koncentracija BPA je iznosila 0,210 µg/mL, a izmjerena koncentracija BPA u uzorku skladištenog 48 dana je bila 0,214 µg/mL. Iz diagrama se vidi da se najveća migracija monomera iz polimera tj. ambalaže dešava u periodu između drugog i četvrtog dana kontakta između simultanta i ambalaže.

Zaključak

Brojna istraživanja su dokazala da plastična ambalaža koja je sastavljena od polimera ima osobinu da otpušta monomere iz polimernih molekula u određeni tečni ili čvrsti medij. Štetnost po ljudsko zdravlje mnogih monomera u sastavu polimernih materijala, tema je mnogih studija u zadnjih nekoliko destina godina. Imajući u vidu ova istraživanja u ovom radu su analizirane količine migracije bisfenola A u hranu. Vidi se da je bisfenol A migrirao iz ambalaže paradajz sosa u simultant hrane. Temperatura skladištenja uzoraka u ambalaži je 25 °C, a koncentracija bisfenola A se povećavala sa dužinom vremena skladištenja. Na samom početku nije došlo do migracije ispitivane tvari BPA iz ambalaže za paradajz sos u simultant, tj. prvih 48 sati znači nije bilo migracije bisfenola

A iz ambalaže u simultant hrane. Migracija BPA iz ambalaže je prvi put izmjerena nakon 4 dana skladištenja uzorka u koncentraciji od 0,184 µg/mL i povećavala se sa vremenom kontakta. Količina migracije bisfenola A iz ambalaže za sos paradajz raste sa dužinom vremena kontakta simultanta sa ambalažom. Na hromotogramu ambalaže paradajz sosa kod prvog mjerenja, nakon kontakta ambalaže sos paradajza i simultanta hrane zadatim parametrima i to za 1 sat i temperaturu od 25°C, pokazuje da nema pojave BPA, tj. nema migracije BPA iz ambalaže u simultant. U ambalaži paradajz sosa kod dvadeset šestog mjerenja, a koje se je izvršilo nakon izlaganja ambalaže sos paradajza i simultanta hrane zadatim parametrima i to: za 4 dana i temp. od 25°C, prikazuje hromotogram BPA koji predstavlja koncentraciju bisfenola A od 0,184 µg/mL, na retencionom vremenu od 3.201 min. sa dopuštenim odstupanjem od 5%. Kod 32. mjerenja, u simultantu hrane i to za: 48 dana i 25°C, koncentracija bisfenola A je 0,214 µg/mL. Prva mjerljiva koncentracije bisfenola A je 0,184 µg/mL, a bila je poslije 96 sata, tj. za 4 dana izloženosti uzorka u ambalaži. Nakon četiri dana dolazi do naglog povećanja migracije bisfenola A iz ambalaže u simultant sa 0,00 µg/mL na 0,184 µg/mL. međutim za narednih 8 dana nije došlo do velike migracije bisfenola A iz ambalaže u simultant u odnosu na predhodno mjerenje, a koje je iznosilo 0,190 µg/mL, što predstavlja povećanje konc. BPA za samo 3,3 %. Nakon osmog dana uspostavlja se blaga ravnoteža migracije sve do 16 dana. Za 24 dana konc. BPA je 0,196 µg/mL i dolazi do postepenog povećanja koncentracije bisfenola A u simultant. Koncentracija BPA nakon 32 dana u simultantu je 0,205 µg/mL. Nadalje, za 40 dana koncentracija BPA je iznosila 0.210 µg/mL, a izmjerena koncentracija BPA u uzorku skladištenog 48 dana je bila 0,214 µg/mL. Najveća migracija monomera BPA iz polimera je u periodu između drugog i četvrtog dana kontakta između simultanta i ambalaže. Maksimalne vrijednosti koncentracije bisfenola A za sve ispitivane uzorke u kojima je otkriven bisfenol A prelaze propisanu graničnu vrijednost migracije (0,05 mg/kg) za BPA od strane normativa EU. Najveća izmjerena koncentracija BPA ima 4,28 puta veću koncentraciju od one koja je propisana EU normativa.

Literatura

1. Jordakova I, Dobias J, Voldrich M, Poustka J. Determination of Bisphenol A, Bisphenol F, Bisphenol A Diglycidyl Ether and Bisphenol F Diglycidyl Ether Migrated from Food Cans using Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Czech J. Food Sci.*, 2003; Vol. 21, No. 3: 85–90.
2. Yoshida T, Horie M, Hoshino Y, Nakazawa H. Determination of bisphenol A in canned vegetables and fruit by high performance liquid chromatography, *Food Additives and Contaminants*, 2001; Vol. 18, No. 1: 69 – 75.
3. Vandenberg LN, Chahoud I, Padmanabhan V, Paumgartten JRF, Schoenfelder G. Biomonitoring Studies Should Be Used by Regulatory Agencies to Assess Human Exposure Levels and Safety of Bisphenol A, *Environmental Health Perspectives*, 2010; Vol. 118, No. 8: 1051-1054.
4. Bisphenol A (BPA) - Current state of knowledge and future actions by WHO and FAO, INFOSAN, International Food Safety Authorities Network (INFOSAN), Information Note No. 5, 2009.
5. Poustkova I, Dobias J, Steiner I, Poustka J, Voldrich M. Stability of bisphenol A ether and bisphenol F diglycidyl ether in water-based food stimulants. *European food research technology*, 2004; 214: 534-539..
6. Braunrath R, Cichna M. Sample preparation including sol-gel immunoaffinity chromatography for determination of bisphenol A in canned beverages, fruits and vegetables, *Journal of Chromatography A*, 2005; Vol. 1062, 189–198.
7. Chou K, Wright OR. Phthalates in Food and Medical Devices, *Medical toxicology*, 2006; Vol. 2, No. 3: 126-135.
8. Nishikawa Y. Effects of Bisphenol A on Human Health, *JMAJ*, 2003; Vol. 46, No. 3: 103–107.
9. Poustka J, Dunovská L, Hajšlová J, Holadová K, Poustková I. Determination and Occurrence of Bisphenol A, Bisphenol A Diglycidyl Ether, and Bisphenol F Diglycidyl Ether, Including Their Derivatives, in Canned Foodstuffs 'from the Czech Retail Market, *Czech J. Food Sci.*, 2007; Vol. 25, No. 4: 221–229.
10. Khang JH, Kondo F. Bisphenol A migration from cans containing coffee and caffeine, *Food additives and contaminants*, 2002; No. 9: 886 – 890.
11. Rykowska I, Wasiak W, Szymanski A. Chemically Bonded Phases for the Analysis of Trace Amounts of Organic Pollutants, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2008; No. 18, 537–542.

12. Vandenberg LN. *Exposure to bisphenol A in Canada: invoking the precautionary principle, Canadian Medical Association or its licensors*, 2011; Vol. 183, No. 11: 1265 – 1270.
13. Ščetar M. *Utjecaj ambalažnih materijala na prehrambene proizvode, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Laboratorij za pakiranje hrane*, 2010.
14. Šarkanj B, Kipčić D, Vasić-Rački Đ, Delaš F, Galić K, Katalenić M, et al. *Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani, Hrvatska agencija za hranu, Osijek*, 2010.
15. Dimitrov N. *Onečišćivači iz materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom, 5. Konferencija o sigurnosti i kakvoći hrane, Zagreb*, 2011.
16. *Statement on the ANSES reports on bisphenol A, EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids, Italy, EFSA Journal*, 2011; Vol. 9, No. 12: 247.
17. Bedard K, Brown D, Gibbons K, Riley K, Walsh S. *Re-assessing the Risk of Bisphenol-A to Humans*, 2006.
18. Troiano R, Elmer P, Goodman W. *UHPLC separation and detection of bisphenol A in plastics*, 2009.
19. Nedić B. *Tehnologija prerade plastičnih masa, Mašinski fakultet, Kragujevac, Srbija*, 2008.
20. Richter CA, Bironbau LS, Farabollini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, et al. *In Vivo Effects of Bisphenol A in Laboratory Rodent Studies, Reproductive Toxicology*, 2007.
21. Goodson A, Summerfield W, Cooper I. *Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods, Food Additives and Contaminants*, 2010; Vol. 19, No. 8.

Corresponding Author
Damir Hrnjica,
Biotechnical Faculty Bihac,
University of Bihac,
Bihac,
Bosnia and Herzegovina,
E-mail: damir1911@yahoo.com

Gram negativna sepsa u jedinici intenzivne terapije

Amela-Katica Mulalić¹, Amela Grbo¹, Ismet Suljević¹, Belkisa Durić-Čolić², Ahmed Katica³

¹ Klinika za anesteziju i reanimaciju, Univerzitetsko klinički centar, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

² Kantonalna bolnica Bihać, Bosna i Hercegovina,

³ Dom zdravlja Kantona Sarajevo, Bosna i Hercegovina.

Sažetak

Gram negativnu sepsu izazivaju uzročnici iz velike skupine gram negativnih bakterija. To su prije svega acinetobakter, pseudomonas, klebsiella, escherichia coli, enterobakterije. Javljaju se kod pacijenata izuzetno teškog općeg stanja.

Ovo istraživanje ima za cilj da prikaže zastupljenost gram negativnih bakterija, prije svega acinetobaktera, pseudomonasa, klebsielle, escherichia coli, te enterobakterija u Jedinici intenzivnog liječenja. To je značajan problem savremene medicine, posebno jedinica intenzivne terapije, gdje postoji veća sklonost prema infekcijama uzrokovanim gram-negativnim bakterijama.

Ovaj rad predstavlja retrospektivnu studiju učestalosti gram negativne sepse kod pacijenata hospitaliziranih u jedinici intenzivne terapije Klinike za anesteziju i reanimaciju Kliničkog centra univerziteta u Sarajevu, koja obuhvata period januar- maj 2015 godine. U studiju je uključeno 306 pacijenata koji su hospitalizirani zbog težine općeg stanja, potrebe za intenzivnom reanimacionom terapijom i zbog kontinuiranog monitoring vitalnih parametara.

Ključne riječi: Jedinica intenzivne terapije, gram negativne bakterije.

Uvod

Sepsa, teška sepsa i septični šok su upalna stanja koja nastaju zbog sistemske bakterijske infekcije. U teškoj sepsi i septičnom šoku dolazi do kritičnog smanjenja tkivne perfuzije.

Najčešći uzročnici su gram-negativni organizmi, stafilocoki i meningokoki,

Gram negativnu sepsu izazivaju uzročnici iz velike skupine gram negativnih bakterija. To su prije svega acinetobakter, pseudomonas, klebsiella, escherichia coli, enterobakterije. Javljaju se

kod pacijenata izuzetno teškog općeg stanja, poslije teških operativnih zahvata, kod opekotina, ciroze jetre, šećerne bolesti, nakon transplantacije organa, kod pacijenata na mehaničkoj ventilaciji. Prodor bakterija u krvnu cirkulaciju nastaje kao posljedica širenja lokalizirane infekcije respiratornog, gastrointestinalnog, urinarnog trakta te kože. (1, 2, 3)

Pacijenti sa postoperativnim infekcijama rana su značajan rizik za sepsu. Transitorne bakterije-mije kao posljedice dijagnostičko- terapijskih zahvata su klinički minorne, ali u imunodeficientnih osoba mogu da izazovu sepsu. Gram negativna sepsa produžava hospitalizaciju i zahtjeva primjenu skupih antibiotika. (1, 2, 3, 4)

Cilj

Cilj je utvrditi prisustvo gram negativne sepse i zastupljenost gram negativnih bakterija u Jedinici intenzivnog liječenja. Acinetobakter, klebsiella pneumoniae, pseudomonas, escherichia coli, enterobakterie su najčešći uzročnici gram negativne sepse. Identifikacija uzročnika je potvrđena bakteriološkom dijagnostikom i pozitivnim hemokulturom, urinokulturom, kulturama kožnih lezija i gnojnih eksudata, te likvora.

Materijal i metode

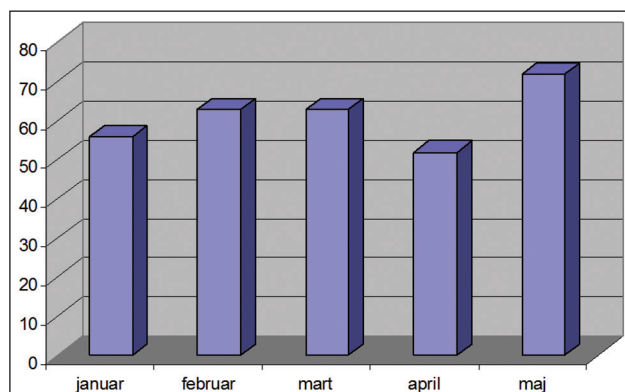
Istraživanje je rađeno u periodu od januara do maja 2015 godine, te predstavlja retrospektivnu studiju. U posmatranom periodu ukupno je hospitalizirano 306 pacijenata u Jedinici intenzivne terapije Klinike za anesteziju i reanimaciju Kliničkog centra univerziteta u Sarajevu, radi potrebe za intenzivnom reanimacionom terapijom i kontinuiranim monitoringom vitalnih parametara.

Rezultati

U Jedinici intenzivnog liječenja od ukupnog broja pacijenata njih 306, koji su hospitalizirani zbog težine općeg stanja, potrebe za intenzivnom reanimacionom terapijom i zbog kontinuiranog monitoring vitalnih parametara, u mjesecu januaru je bilo 56 pacijenata, u februaru 63, u martu 63, u aprilu 52, u maju 72.

Tabela 1. Broj pacijenata po mjesecima posmatranog perioda

Mjesec	Broj pacijenata mjesečno	%
januar	56	18.30%
februar	63	20.59%
mart	63	20.59%
april	52	16.99%
maj	72	23.53%
Ukupno	306	100



Grafikon 1. Pregled broja pacijenata mjesečno

Pacijentima je urađena je laboratorijska i mikrobiološka, bakteriološka dijagnostika. Identifikacija i izolacija uzročnika bila je iz krvi, likvora, traheobronhalnog stable, iz sadržaja drenova. Odmah po prijemu je ordinirana empirijska antibiotska terapija, a po prispjeću mikrobioloških nalaza sa antibiogramom ordinirana ciljana antibiotska terapija, koja djeluje na izoliranog uzročnika.

U posmatranom periodu kod jednog pacijenta ženskog spola iz hemokulture je izolovana klebsiella pneumoniae, a iz sadržaja abdominalnog drena acinetobacter baumannii i enterococcus faecium. Kod drugog pacijenta je izolovan u hemokulturi enterococcus faecium i enterobacter cloacae. U februaru izolovan je u brisu abdominalne rane acinetobacter baumannii. Kod drugog pacijenta izolovan je iz hemokulture pseudomonas aeruginosa. Kod trećeg pacijenta u brisu abdominalne rane izo-

lovana je Escherichia coli. U martu kod pacijenta iz hemokulture izolovan je acinetobacter baumannii. Kod drugog pacijenta u brisu abdominalnog drena, brisu torakalnog drena, brisu vaskularne rane na natkoljenici i u brisu oko fiksatora izolovan je acinetobacter baumannii, enterobacter cloacae i enterococcus faecalis. Kod trećeg pacijenta iz traheobronhalnog stable izolovan je acinetobacter baumannii i klebsiella pneumonia, iz sadržaja torakalnog drena acinetobacter baumannii, a u urinu izolovana je Escherichia coli. U aprilu kod jednog pacijenta u brisu rane na mjestu incizije na nozi izolovan je enterococcus faecalis i pseudomonas aeruginosa. U maju je u hemokulturi kod iste pacijentice izolovan acinetobacter baumannii i u likvoru acinetobacter baumannii. Kod druge pacijentice izolovan je iz hemokulture enterococcus faecium i klebsiella pneumonia.

Nakon izolacije i identifikacije uzročnika uključena je ciljana antibiotska terapija. Kod pacijenata sa kolonizatima u Jedinici intenzivne terapije, gdje su bakterije naseljene na tjelesne površine pacijenta, bez imunološkog odgovora pacijenta, nije se mjenjala započeta empirijska terapija.

Diskusija i zaključak

Gram negativna sepsa uzrokovana gram negativnim bakterijama javlja se u jedinici intenzivnog liječenja kod pacijenata izuzetno teškog općeg stanja, koji zahtijevaju intenzivnu reanimacionu terapiju. To su pacijenti koji imaju znatno snižene imunobiološke snage, te pokazuju, posebno u bolničkim uslovima veću sklonost prema infekcijama. Postoji korelacija sa pratećim komorbiditetima.

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da od ukupnog broja pacijenata njih 306, koji su hospitalizirani zbog težine općeg stanja, potrebe za intenzivnom reanimacionom terapijom i zbog kontinuiranog monitoring vitalnih parametara nije bilo značajnijeg odstupanja u pogledu spolne i vremenske strukture. Nakon izolacije i identifikacije uzročnika uključena je ciljana antibiotska terapija. Kod pacijenata sa kolonizatima u Jedinici intenzivne terapije, gdje su bakterije naseljene na tjelesne površine pacijenta, bez imunološkog odgovora pacijenta, nije se mjenjala započeta empirijska terapija. Ispitivanja se ne razlikuju od rezultata ispitivanja drugih autora u svijetu.

Tabela 2. Pregled broja i vrste uzorka i rezultata mjesečno u periodu januar – maj 2015

Spol	Vrsta uzorka	Rezultat (izol. uzroč)	Mjesec 2015
Ženski	hemokultura	klebsiella pneumoniae	januar
	Sadržaj drena	acinetobacter baumannii	
		Enterococcus faecium	
Ženski	hemokultura	enterococcus faecium	februar
		Enterobacter cloacae	
Ženski	hemokultura	pseudomonas aeruginosa	
Muški	bris abd. rane	acinetobacter baumannii	
Muški	hemokultura	acinetobacter baumannii	mart
Muški	bris abd. Drena	acinetobacter baumannii	
	Bris torak. drena, bris	enterococcus faecalis	
	Oko fiksatora	enterobacter cloacae	
Muški	trahealni aspirat	acinetobacter baumannii	april
		Klebsiellae pneumoniae	
	Urin	Escherichia coli	
Muški	bris incizije na nozi	enterococcus faecalis	
		Pseudomonas aeruginosa	
Žensko	hemokultura	enterococcus faecalis	maj
		Klebsiella pneumoniae	
Žensko	hemokultura	acinetobacter baumannii	
	Likvor	acinetobacter baumannii	

Literatura

- Morgan Mikhail. *Clinical anesthesiology*, fifth edition. 2013.
- Krkić-Dautović S, Ahmetović S, Kezić Z, Koluder N, Curić I. *Infektologija*. 2011.
- Eberhart L. The safety and tolerability of the fentanyl HCl iontophoretic transdermal system: an alternative to currently available analgesic modalities. *J Opioid Manag*. 2007; 3(5): 249–256. [PubMed]
- Gupta S, Hwang S, Southam M, Sathyan G. Effects of application site and subject demographics on the pharmacokinetics of fentanyl HCl patient-controlled transdermal system (PCTS) *Clin Pharmacokinet*. 2005; 44(Suppl 1): 25–32. [PubMed]
- Buvanendran A, Kroin J. Useful adjuvants for postoperative pain management. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2007; 21(1): 31–49. [PubMed]
- Wong G, Gavva N. Therapeutic potential of vanilloid receptor TRPV1 agonists and antagonists as analgesics: Recent advances and setbacks. *Brain Res Rev*. 2009; 60(1): 267–277.
- Nurkić M, Gegić M, Hadžihafizbegović S, Numanović F, Sović M. Osjetljivost na antibiotike sojeva enterococcus faecalis izolovanih iz urina ambulantnih pacijenata u 2000. god. , oktobar 2001. Zbornik sažetaka.

Corresponding Author
Amela-Katica Mulalić,
Klinika za anesteziju i reanimaciju,
Univerzitetsko klinički centar,
Sarajevo,
Bosna i Hercegovina,
E-mail: amelakam@yahoo.com

Instructions for the authors

All papers need to be sent to e-mail: balkanjournal@yahoo.com

Preparing the camera ready paper for Balkan Journal of Health Science

First Author¹, Second Author², Third Author³

¹ First affiliation, City, Country,

² Second affiliation, City, Country,

³ Third affiliation, City, Country.

Abstract

In this paper the instructions for preparing camera ready paper for the Journal are given. The recommended, but not limited text processor is Microsoft Word. Insert an abstract of 50-100 words, giving a brief account of the most relevant aspects of the paper. It is recommended to use up to 5 keywords.

Key words: Camera ready paper, Journal.

Introduction

In order to effect high quality of Papers, the authors are requested to follow instructions given in this sample paper. Regular length of the papers is 5 to 12 pages. Articles must be proofread by an expert native speaker of English language. Can't be accepted articles with grammatical and spelling errors.

Instructions for the authors

Times New Roman 12 points font should be used for normal text. Manuscript have to be prepared in a two column separated by 5 mm. The margins for A4 (210×297 mm²) paper are given in Table 1.

Table 1. Page layout description

Paper size	A4
Top and Bottom margin	20 mm
Left margin	20 mm
Right margin	18 mm
Column Spacing	5 mm

Regular paper may be divided in a number of sections. Section titles (including references and acknowledge-ment) should be typed using 12 pt fonts with **bold** option.

For numbering use Times New Roman number. Sections can be split in subsection, which should be typed 12 pt *Italic* option.

Figures should be one column wide. If it is impossible to place figure in one column, two column wide figures is allowed. Each figure must have a caption under the figure. For the figure captions 12 pt *Italic* font should be used. (1)

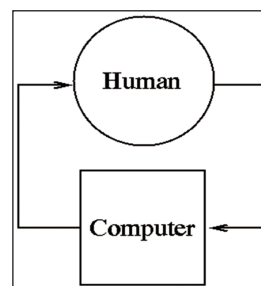


Figure 1. Text here

Conclusion

Be brief and give most important conclusion from your paper. Do not use equations and figures here.

Acknowledgements (If any)

These and the Reference headings are in bold but have no numbers.

References

1. Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behcet's disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 1284–1291.
2. Stewart SM, Lam TH, Beston CL, et al. A Prospective Analysis of Stress and Academic Performance in the first two years of Medical School. *Med Educ* 1999; 33(4): 243- 50.

Corresponding Author

Name Surname,
Institution, City,
Country,
E-mail