

# Analiza tragova polibromiranih difenil-etera u kućnoj prašini i ljudskome mlijeku radi procjene rizika za ljudsko zdravlje

---

Jagić, Karla

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:498740>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Karla Jagić

**ANALIZA TRAGOVA  
POLIBROMIRANIH DIFENIL-ETERA U  
KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MLIJEKU  
RADI PROCJENE RIZIKA ZA  
LJUDSKO ZDRAVLJE**

DOKTORSKI RAD

Mentor:  
dr. sc. Darija Klinčić, v. zn. sur.

Zagreb, 2022





University of Zagreb  
FACULTY OF SCIENCE

Karla Jagić

**TRACE ANALYSIS OF  
POLYBROMINATED DIPHENYL ETHERS IN  
HOUSEHOLD DUST AND HUMAN MILK FOR  
HUMAN HEALTH RISK ASSESSMENT**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:  
Dr. Darija Klinčić, Senior Research Associate

Zagreb, 2022



## **Zahvale**

*Najveće i najposebnije hvala mojoj mentorici dr. sc. Dariji Klinčić! Prije svega na pruženoj prilici, a zatim na strpljenju, uloženom vremenu i trudu tijekom izrade i pisanja ovog rada. Hvala na prijateljskom odnosu, razumijevanju i prenesenom znanju. Hvala na izazovima, iskustvu i prilikama za usavršavanje.*

*Posebno hvala mojoj cimerici dr. sc. Mariji Dvorščak na nesebičnoj podršci tijekom izrade ovog rada, bezbrojnim savjetima i razumijevanju! Hvala na pomoći s eksperimentima i odličnoj radnoj atmosferi.*

*Hvala kolegici dr. sc. Blanki Tariba Lovaković na statističkoj obradi podataka i pomoći u pisanju ovog rada.*

*Hvala dr. sc. Toniju Safneru na statističkoj obradi podataka.*

*Hvala kolegici dr. sc. Dubravki Rašić na vrijednim uzorcima mlijeka.*

*Hvala kolegici Ivi Šimić, mag. ing. cheming. na analizi uzoraka mlijeka.*

*Hvala kolegama iz Jedinice za biokemiju i organsku analitičku kemiju na pomoći i ugodnom radnom okruženju.*

*Zahvaljujem svima koji su prikupljali uzorke prašine i mlijeka, a posebno mojim curama.*

*Hvala ekipi s jutarnje kave za svaki ljepši početak radnog dana.*

*Hvala mojim curama na svakom druženju, smijehu i na svakoj riječi ohrabrenja.*

*Posebno hvala Martini i Vale na podršci, razumijevanju i ohrabrenju kada mi je bilo najpotrebnije.*

*Hvala Ivanu na podršci, savjetima, razumijevanju i strpljenju.*

*Veliko hvala mojoj obitelji na podršci i sigurnosti da bez straha slijedim svoj put. Hvala što ste vjerovali u mene.*



# Sadržaj

<b>SAŽETAK</b> .....	<b>XI</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XIII</b>
<b>§ 1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Svrha rada</b> .....	<b>2</b>
<b>§ 2. LITERATURNI PREGLED</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1. Postojana organska zagađivala</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2. Fizikalno-kemijska svojstva polibromiranih difenil-etera</b> .....	<b>5</b>
<b>2.3. Primjena i izvori emisije polibromiranih difenil-etera</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4. Raspodjela polibromiranih difenil-etera u okolišu i izloženost ljudi</b> .....	<b>11</b>
<b>2.5. Procjena izloženosti djece i odraslih spojevima PBDE u kućnoj prašini i ljudskome mlijeku</b> .....	<b>14</b>
<b>2.6. Toksičnost polibromiranih difenil-etera</b> .....	<b>16</b>
<b>2.7. Raspodjela i razine polibromiranih difenil-etera u kućnoj prašini</b> .....	<b>17</b>
<b>2.8. Raspodjela i razine polibromiranih difenil-etera u ljudskome mlijeku</b> .....	<b>21</b>
<b>2.9. Kemijska analiza</b> .....	<b>25</b>
2.9.1. <i>Uzorkovanje, priprava i skladištenje uzoraka kućne prašine i ljudskog mlijeka</i> .....	<b>26</b>
2.9.2. <i>Ekstrakcijske tehnike</i> .....	<b>28</b>
2.9.2.1. <i>Ekstrakcija spojeva PBDE iz uzoraka kućne prašine</i> .....	<b>28</b>
2.9.2.2. <i>Ekstrakcija spojeva PBDE iz uzoraka ljudskog mlijeka</i> .....	<b>30</b>
2.9.3. <i>Pročišćavanje ekstrakta</i> .....	<b>31</b>
2.9.4. <i>Kvalitativna i kvantitativna analiza polibromiranih difenil-etera</i> .....	<b>32</b>
<b>§ 3. MATERIJALI I METODE</b> .....	<b>35</b>
<b>3.1. Analizirani spojevi</b> .....	<b>35</b>
<b>3.2. Kemikalije, instrumenti i pribor</b> .....	<b>36</b>
3.2.1. <i>Kemikalije</i> .....	<b>36</b>
3.2.2. <i>Instrumenti i pribor</i> .....	<b>37</b>
<b>3.3. Radni uvjeti plinskrokromatografske analize</b> .....	<b>38</b>
3.3.1. <i>Plinska kromatografija uz detektor zahvata elektrona (GC-<math>\mu</math>ECD)</i> .....	<b>38</b>
3.3.2. <i>Plinska kromatografija uz tandemnu spektrometriju masa (GC-MS/MS)</i> .....	<b>38</b>
<b>3.4. Priprava standardnih otopina</b> .....	<b>40</b>
<b>3.5. Uzorci kućne prašine i ljudskog mlijeka</b> .....	<b>41</b>
3.5.1. <i>Uzorkovanje kućne prašine i obrada uzoraka</i> .....	<b>41</b>
3.5.2. <i>Uzorkovanje ljudskog mlijeka</i> .....	<b>41</b>



3.5.2.1. Priprava uzorka ljudskog mlijeka za liofilizaciju i liofilizacija .....	42
<b>3.6. Analitički postupci za određivanje polibromiranih difenil-etera u uzorcima kućne prašine.</b>	<b>42</b>
3.6.1. Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima spojeva PBDE iz kućne prašine .....	42
3.6.1.1. Preliminarno istraživanje učinkovitosti otapala .....	43
3.6.1.2. Optimiranje parametara ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz kućne prašine .....	44
3.6.2. Optimizacija postupka pročišćavanja ekstrakta .....	45
3.6.3. Validacija metode za određivanje polibromiranih difenil-etera u kućnoj prašini .....	46
<b>3.7. Analitički postupci za određivanje polibromiranih difenil-etera u ljudskome mlijeku.</b>	<b>47</b>
3.7.1. Optimiranje parametara ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz uzorka ljudskog mlijeka .....	47
3.7.1.1. Detaljnije optimiranje uvjeta ekstrakcije .....	50
3.7.2. Optimizacija postupka pročišćavanja ekstrakta .....	51
3.7.3. Validacija metode za određivanje polibromiranih difenil-etera u ljudskome mlijeku .....	52
<b>3.8. Plinskokromatografska analiza polibromiranih difenil-etera.</b>	<b>52</b>
<b>3.9. Statistička obrada podataka .....</b>	<b>53</b>
<b>§ 4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>55</b>
<b>4.1. Optimizacija analitičkih metoda.</b>	<b>55</b>
4.1.1. Linearost odziva detektora i granice određivanja .....	55
4.1.2. Analitički postupci za određivanje polibromiranih difenil-etera u uzorcima kućne prašine .....	57
4.1.2.1. Učinkovitost otapala .....	57
4.1.2.2. Procjena utjecaja parametara tehnike MAE na učinkovitost ekstrakcije .....	58
4.1.2.3. Optimizacija postupka pročišćavanja ekstrakta .....	60
4.1.2.4. Validacija metode .....	62
4.1.3. Analitički postupci za određivanje polibromiranih difenil-etera u uzorcima ljudskog mlijeka .....	65
4.1.3.1. Liofilizirani uzorci ljudskog mlijeka .....	65
4.1.3.2. Tekući uzorci ljudskog mlijeka .....	66
4.1.3.3. Liofilizirani uzorci ljudskog mlijeka uz dodatak destilirane deionizirane vode .....	67
4.1.3.4. Detaljnija optimizacija eksperimentalnih uvjeta tehnike MAE .....	69
4.1.3.5. Optimizacija postupka pročišćavanja ekstrakta .....	72
4.1.3.6. Validacija metode .....	74
<b>4.2. Analiza realnih uzoraka kućne prašine i ljudskog mlijeka.</b>	<b>75</b>
4.2.1. Realni uzorci kućne prašine .....	75
4.2.2. Realni uzorci ljudskog mlijeka .....	78
<b>4.3. Procjena rizika za ljudsko zdravlje.</b>	<b>80</b>
<b>4.4. Procjena povezanosti masenih udjela spojeva PBDE s karakteristikama kućanstva te osobnim podacima majke i dojenčadi.</b>	<b>90</b>
<b>§ 5. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>99</b>
<b>§ 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ .....</b>	<b>103</b>
<b>§ 7. LITERATURNI IZVORI .....</b>	<b>106</b>
<b>§ 8. DODATAK .....</b>	<b>CXXIV</b>

---

§ 9. ŽIVOTOPIS.....CXLVIII





Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
**Kemijski odsjek**

Doktorska disertacija

## SAŽETAK

### ANALIZA TRAGOVA POLIBROMIRANIH DIFENIL-ETERA U KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MLIJEKU RADI PROCJENE RIZIKA ZA LJUDSKO ZDRAVLJE

Karla Jagić

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Ksaverska cesta 2, 10001 Zagreb

Polibromirani difenil-eteri (PBDE) postojani su organski spojevi korišteni kao usporivači gorenja. Karakteristična su zagađivala unutarnjih prostora, a nakupljaju se u kućnoj prašini, čija je ingestija, uz prehranu, glavni put njihova unosa u ljude. Za dojenčad hranjenu ljudskim mlijekom, ono predstavlja glavni izvor izloženosti. U ovom je radu primijenjena ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima za određivanje sedam spojeva PBDE u kućnoj prašini, a po prvi put i u uzorcima ljudskog mlijeka, uz pažljivu optimizaciju uvjeta ekstrakcije i pročišćavanja. Pročišćeni ekstrakti analizirani su plinskom kromatografijom uz detektor zahvata elektrona. Analizom 30 uzoraka ljudskog mlijeka ispitanica i prašine iz njihovih kućanstava s područja Zagreba i okolice dobivene su prve informacije o statusu onečišćenja ovim spojevima u Hrvatskoj te parametrima koji potencijalno utječu na njihove razine. Detektirani maseni udjeli spojeva PBDE bili su podjednaki onima u ostatku Europe, dok su na globalnoj razini među nižima. Prema procijenjenim dnevnim unosima spojeva PBDE, zaključeno je da ne predstavljaju rizik za zdravlje dojenčadi i majki na ovom području.

(123 stranice, 15 slika, 30 tablica, 181 literaturnih navoda, 7 dodataka, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102a, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: bromirani usporivači gorenja/ ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima/ kućna prašina/ ljudsko mlijeko/ polibromirani difenil-eteri/ postojana organska zagađivala/ procjena rizika

Mentor: dr. sc. Darija Klinčić, v. zn. sur.

Rad prihvaćen: 05. listopada 2022.

Ocjenitelji:

prof. dr. sc. Nives Galić

doc. dr. sc. Irena Brčić Karačonji, zn. savj.

dr. sc. Ivan Senta, v. zn. sur.





University of Zagreb  
Faculty of Science  
**Department of Chemistry**

Doctoral Thesis

## ABSTRACT

### TRACE ANALYSIS OF POLYBROMINATED DIPHENYL ETHERS IN HOUSEHOLD DUST AND HUMAN MILK FOR HUMAN HEALTH RISK ASSESSMENT

Karla Jagić

Institute for Medical Research and Occupational Health, Ksaverska c. 2, 10001 Zagreb

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are persistent organic compounds used as flame retardants. They are typical indoor pollutants and accumulate in house dust, the ingestion of which is the most important route of exposure for humans besides diet. For breastfed infants, the main source of exposure is mother's milk. In this work, microwave-assisted extraction was used for the analysis of seven PBDEs in house dust and, for the first time, in human milk, with carefully optimized extraction conditions and clean-up. Purified extracts were analysed by gas chromatography coupled to an electron capture detector. The analysis of house dust and human milk samples from women (N = 30) living in these households in Zagreb and its surroundings provided the first information on the level of contamination with these compounds in Croatia and the parameters potentially affecting their levels. The determined mass fractions of PBDEs are similar to the rest of Europe and among the lowest in the world. The estimated daily intakes of PBDEs suggest that they do not pose a health risk to infants and mothers in the studied area.

(123 pages, 15 figures, 30 tables, 181 references, 7 supplements, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Keywords: brominated flame retardants/ house dust/ human milk/ microwave-assisted extraction/ polybrominated diphenyl ethers/ persistent organic pollutants/ risk assessment

Supervisor: Dr. Darija Klinčić, Senior Research Associate

Thesis accepted: October 5th, 2022

Reviewers:

Dr. Nives Galić, Professor

Dr. Irena Brčić Karačonji, Senior Scientist, Assistant Professor

Dr. Ivan Senta, Senior Research Associate



## § 1. UVOD

Polibromirani difenil-eteri (engl. *Polybrominated Diphenyl Ethers*, PBDE) skupina su bromiranih usporivača gorenja (engl. *Brominated Flame Retardants*, BFR), a upotrebljavali su se kao aditivi građevnom i izolacijskom materijalu te proizvodima koji se koriste u kućanstvu, poput namještaja, tekstila te električne i elektroničke opreme.<sup>1</sup> Ovisno o broju i položaju bromovih atoma na dvama benzenskim prstenovima, postoji 209 kongenera PBDE. Spojevi PBDE bili su komercijalno dostupni kao tri glavne formulacije: „penta“, „okta“ i „deka“, koje su se sastojale od relativno malog broja kongenera navedenih spojeva, a nazvane su prema stupnju bromiranosti najzastupljenije skupine kongenera.<sup>2</sup> Spojevi PBDE lako se otpuštaju u okoliš tijekom proizvodnje, upotrebe/primjene, odlaganja na odlagalištima otpada i/ili procesa recikliranja materijala odnosno proizvoda u koje su dodavani bez formiranja kemijske veze. Nakon što su detektirani u mnogim dijelovima okoliša i biološkim uzorcima te uočenih štetnih učinaka na zdravlje ljudi i životinja, početkom 21. stoljeća poduzete su globalne mjere zabrane njihove proizvodnje i upotrebe.<sup>3,4</sup> Istraživanja toksičnosti ovih spojeva pokazala su da utječu na promjenu statusa hormona štitnjače te posljedično i na endokrini sustav i neurobihevioralni razvoj, a posebno zabrinjavaju negativni učinci na neurološki i imunološki sustav u fetalnom i periodu ranog razvoja kod djece.<sup>5</sup>

Dva osnovna puta unosa spojeva PBDE u ljude su putem hrane i ingestije prašine. U nekim slučajevima unos navedenih spojeva putem ingestije prašine dominira, posebno ako se uzme u obzir današnji stil života u razvijenim zemljama, koji je vezan pretežno uz zatvorene prostore.<sup>6</sup> Potrebno je istaknuti ljudsko mlijeko kao posebnu vrstu hrane koje bi prema preporukama Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization*, WHO) trebalo biti jedina prehrana djece do šestog mjeseca starosti. Dojenaštvo je razdoblje kada je ljudski organizam najosjetljiviji, a putem ljudskog mlijeka navedeni spojevi izravno se unose u dojenče, koje zbog svoje male mase na taj način dobiva najveću dozu izraženu po kilogramu tjelesne mase.<sup>7</sup>

U svijetu se provode intenzivna istraživanja u kojima se prate razine spojeva PBDE u prašini iz kućanstva i drugih zatvorenih prostora, kako bi se procijenio unos u ljude, kao i potencijalni izvori. Ljudsko mlijeko jedna je od najčešće korištenih bioloških matrica za praćenje razina postojanih organskih zagađivala (engl. *Persistent Organic Pollutants*, POPs) u



ljudima. Detektirane razine daju informacije o izloženosti majke i dojenčeta, ali i o izloženosti opće populacije.<sup>8</sup> Hrvatska i općenito jugoistočni dio Europe područje je s kojeg gotovo i nema podataka o razinama ovih spojeva.

Analiza spojeva PBDE koji se u tragovima nalaze u složenim okolišnim i biološkim uzorcima sastoji se od četiri glavna dijela: pripreme uzorka, ekstrakcije analita, pročišćavanja ekstrakta te kvalitativne i kvantitativne instrumentne analize. Svaki od navedenih koraka nastoji se poboljšati kako bi se postigla što bolja osjetljivost i selektivnost analize uz što manji utrošak reagensa te vremena i financijskih sredstava. Selektivna i iscrpna ekstrakcija analita ključan je dio analitičkog procesa. Unatoč tome što se ne koristi često, ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima (engl. *Microwave Assisted Extraction*, MAE) ima potencijal za ekstrakciju analita od interesa iz prašine i ljudskog mlijeka te nudi nekoliko prednosti. S obzirom na to da se radi o zatvorenom sustavu, ekstrakcija se može provesti na povišenim temperaturama ubrzavajući pritom prijenos analita iz matrice uzorka u prikladno ekstrakcijsko otapalo. Također, smanjena je upotreba velikih volumena otapala, kao i vrijeme potrebno za ekstrakciju, a zbog automatizacije povećan je broj analiziranih uzoraka i moguće je procesuirati više uzoraka istovremeno (maksimalno 14).

## 1.1. Svrha rada

Svrha ovog rada bila je optimirati uvjete pripreme i obrade uzoraka kućne prašine i ljudskog mlijeka za što osjetljivije i selektivnije istovremeno određivanje sedam pojedinačnih kongenera PBDE. Analitički postupci obuhvatili su ekstrakciju potpomognutu mikrovalovima, pročišćavanje ekstrakta te završnu analizu plinskom kromatografijom uz detektore zahvata elektrona i tandemnu spektrometriju masa kao potvrdnu tehniku kod analize realnih uzoraka ljudskog mlijeka. Posebna se pažnja posvetila optimiranju uvjeta tehnike MAE koja nudi mnoštvo prednosti, posebice s aspekta „zelene“ kemije zbog smanjenja utroška otapala te je po prvi put uspješno korištena za ekstrakciju organskih zagađivala iz uzoraka ljudskog mlijeka. Uz optimizaciju ekstrakcije, istraženi su načini i uvjeti učinkovitog pročišćavanja ekstrakta korištenjem ekstrakcije na čvrstoj fazi.

Optimirane i validirane metode primijenjene su za određivanje specifičnih kongenera PBDE u 30 prikupljenih uzoraka ljudskog mlijeka i prašine iz kućanstva ispitanica iz Zagreba i okolice. Time su u Hrvatskoj dobiveni prvi podaci o izloženosti ljudi spojevima PBDE, kao i dojenčadi putem unosa mlijeka te je procijenjeno postoji li rizik za ljudsko zdravlje.

---

Statistička obrada anketnih podataka omogućila je procjenu koji osobni podaci majke i dojenčeta ili karakteristike kućanstva u kojem žive potencijalno utječu na detektirane razine spojeva PBDE u prašini i mlijeku.

## § 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Postojana organska zagađivala

Postojana organska zagađivala obuhvaćaju veliki broj organskih spojeva otpornih na fotolitičku, biološku i kemijsku razgradnju.<sup>9</sup> Jednom kada dospiju u okoliš, u njemu se netaknuti mogu zadržati godinama, ali pod utjecajem prirodnih procesa u koje su prvenstveno uključeni zrak, a zatim voda i tlo, mogu se široko rasprostraniti i dospjeti u sve dijelove okoliša. Skloni su akumuliranju u masnim tkivima živih organizama, uključujući ljude, a pronalaze se u višim koncentracijama u vrstama na vrhu hranidbenog lanca te su dokazano toksični za ljude i životinje.

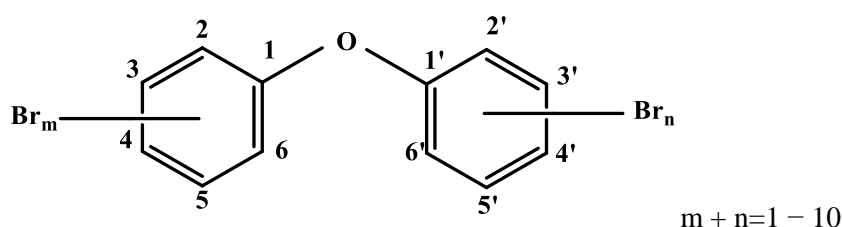
Kao rezultat ispuštanja u okoliš tijekom posljednjih nekoliko desetljeća, posebno zbog ljudskih aktivnosti, spojevi POPs zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava danas su široko rasprostranjeni, uključujući područja (npr. Arktik i Antarktika) gdje se nikada nisu koristili. Zbog sklonosti ovih spojeva koncentriranju u živim organizmima procesom koji se naziva bioakumulacija, te dugotrajne izloženosti, pojavili su se razni akutni i kronični toksični učinci. Izloženost spojevima POPs može dovesti do ozbiljnih zdravstvenih učinaka, uključujući određene vrste zloćudnih tumora, urođene mane, alergije i veću osjetljivost na bolesti, oštećenja središnjeg i perifernog živčanog sustava, reproduktivne poremećaje i poremećaje imunološkog sustava. Neki spojevi POPs smatraju se endokrinim disruptorima, koji promjenom hormonskog statusa mogu također oštetiti reproduktivni i imunološki sustav izloženih osoba, kao i njihovog potomstva, a mogu imati i razvojne i kancerogene učinke.<sup>10</sup>

S ciljem zaštite ljudskog zdravlja i okoliša, 2001. godine u Stockholmu je usvojena, a 2004. godine stupila na snagu *Stockholmska konvencija o postojanim organskim zagađivalima*. Konvencijom se propisuju uvjeti koje svaka stranka potpisnica treba ispuniti kako bi se na globalnoj razini ograničila ili u potpunosti ukinula proizvodnja, upotreba, uvoz i izvoz spojeva POPs, a također i kako bi se osiguralo da se sa zalihamo koje se sastoje od ili sadrže navedene spojeve, uključujući proizvode i artikle nakon što postanu otpad, postupa na prikladan način s ciljem zaštite okoliša i ljudskog zdravlja.<sup>11</sup> U početku je Konvencija obuhvaćala 12 spojeva ili skupina spojeva POPs uvrštenih pod Prilogom A, B i C (propisuju različite zakonske mjere), a do danas su na popisu 32. Stockholmska konvencija danas ima 152 države potpisnice, među

kojima od većih i poznatijih država to nisu Italija, Izrael i Sjedinjene Američke Države (SAD). Republika Hrvatska ratificirala je Konvenciju 2007. godine.<sup>10</sup>

## 2.2. Fizikalno-kemijska svojstva polibromiranih difenil-etera

Polibromirani difenil-eteri su organohalogeni spojevi koji imaju strukturu bromirane molekule s dva benzenska prstena povezana kisikovim atomom. Njihova opća kemijska formula je  $C_{12}H_{10-(m+n)}Br_{m+n}$ , gdje  $m$  i  $n$  označavaju broj vezanih bromovih atoma, a zbroj atoma broma i vodika uvijek je jednak deset. Opća strukturna formula spojeva PBDE prikazana je na Slici 2.1.



**Slika 2.1.** Opća strukturna formula polibromiranih difenil-etera

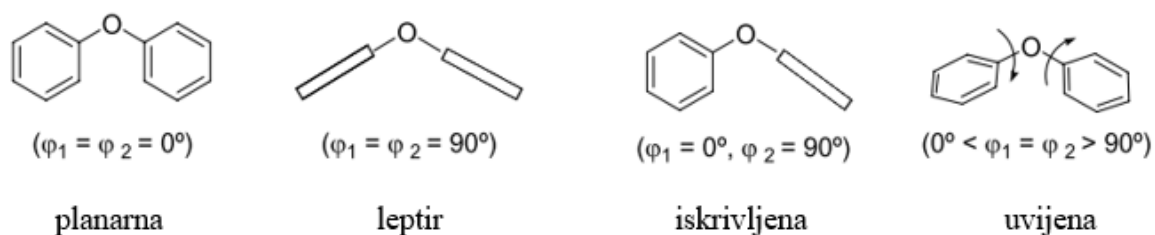
Deset je mjesta na molekuli gdje bromov atom može supstituirati vodikov atom i kovalentno se vezati na jedan od benzenskih prstena, te postoji deset homolognih grupa s prefiksima mono-, di-, tri-, tetra-, penta-, heksa-, hepta-, okta-, nona- i deka-BDE (Tablica 2.1.). Ovisno o broju i položaju vezanih bromovih atoma, postoji 209 izomera i homologa spojeva PBDE koji se nazivaju kongenerima. Prema Međunarodnoj uniji za čistu i primijenjenu kemiju (engl. *International Union for Pure and Applied Chemistry, IUPAC*), označavaju se brojevima od 1 do 209. Raspon molekulskih masa kongenera PBDE je od 249 do 959 g mol<sup>-1</sup>. U spojeve PBDE supstituirane s većim brojem Br atoma svrstavamo kongenere s osam, devet i deset Br atoma, odnosno okta-, nona- i deka-bromirane difenil-etera.

**Tablica 2.1.** Kongeneri PBDE svrstani u homologne grupe, njihove kemijske formule, molekulske mase i broj pripadajućih izomera<sup>12</sup>

Homologna grupa	Kemijska formula (Molekulska masa)	Broj izomera	Kongeneri
mono-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> Br <sub>1</sub> O (249)	3	od BDE-1 do BDE-3
di-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Br <sub>2</sub> O (328)	12	od BDE-4 do BDE-15
tri-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> Br <sub>3</sub> O (407)	24	od BDE-16 do BDE-39
tetra-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Br <sub>4</sub> O (486)	42	od BDE-40 do BDE-81
penta-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Br <sub>5</sub> O (565)	46	od BDE-82 do BDE-127
heksa-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>6</sub> O (644)	42	od BDE-128 do BDE-169
hepta-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>3</sub> Br <sub>7</sub> O (723)	24	od BDE-170 do BDE-193
okta-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> Br <sub>8</sub> O (801)	12	od BDE-194 do BDE-205
nona-BDE	C <sub>12</sub> H <sub>1</sub> Br <sub>9</sub> O (880)	3	od BDE-206 do BDE-208
deka-BDE	C <sub>12</sub> Br <sub>10</sub> O (959)	1	BDE-209

Polibromirani difenil-eteri razlikuju se po svojim fizikalno-kemijskim svojstvima, što dovodi do razlika u njihovom ponašanju u različitim dijelovima okoliša. Vrelišta kongenera PBDE su između 310 °C i 450 °C.<sup>13</sup> Navedeni spojevi su hidrofobni, s logaritamskim vrijednostima koeficijenta razdjeljenja između *n*-oktanola i vode (log  $K_{ow}$ ) u rasponu od 5,08 za mono-BDE do 8,70 za deka-BDE i topljivosti u vodi u rasponu od 0,00087 do 0,04 mg L<sup>-1</sup> pri 25 °C. Općenito, porastom broja bromovih atoma povećavaju se vrijednosti log  $K_{ow}$ , dok se topljivost u vodi i tlak pare snižavaju. Drugim riječima, povećanjem stupnja bromiranosti smanjuje se sposobnost kongenera da se otopi u vodi ili zadrži u plinovitom obliku u atmosferi, odnosno spojevi PBDE supstituirani s većim brojem Br atoma lakše se sorbiraju na čestice u vodi ili u zraku.<sup>14,15</sup>

Spojevi PBDE mogu biti u konformacijama od uvijene do iskrivljene, a u teoriji i u planarnoj i leptir konformaciji prikazanim na Slici 2.2. Povećanjem stupnja bromiranosti spojeva PBDE konformacija teži ka iskrivljenoj.<sup>12</sup>



**Slika 2.2.** Teorijske konformacije (planarna i leptir) i moguće konformacije (iskrivljena i uvijena) spojeva PBDE<sup>12</sup>

Kemijska stabilnost pojedinog kongenera PBDE razlikuje se ovisno o strukturi, a općenito kongeneri s manjim brojem supstituiranih Br atoma (mono-, di-, tri-) i oni s devet i deset su nestabilniji od kongenera susptituiranih s četiri do osam Br atoma. Spojevi PBDE podložniji su fotolizi i reduktivnoj debrominaciji, a manje su osjetljivi na nukleofilnu aromatsku supstituciju i oksidaciju. Iako postoje razlike u postojanosti pojedinih kongenera ovisno o njihovoj strukturi, na temelju fizikalno-kemijskih i reaktivnih svojstava spojevi PBDE općenito se smatraju postojanima.<sup>12</sup>

### 2.3. Primjena i izvori emisije polibromiranih difenil-etera

Polibromirani difenil-eteri zabranjeni su sintetski organski spojevi čija je komercijalna proizvodnja započela 1976. godine<sup>16</sup> bromiranjem molekula difenil-etera u prisutnosti katalizatora Friedel-Craft (npr.  $\text{AlCl}_3$ ) u otapalu. Masa Br i vrijeme kemijske reakcije kontroliraju brominaciju molekule difenil-etera. Postupnim dodavanjem Br stvaraju se kongeneri PBDE supstituirani sve većim brojem Br atoma dok se ne dobije ciljani kongener.<sup>12,16</sup> Navedeni spojevi pripadaju skupini bromiranih usporivača gorenja, odnosno upotrebljavali su se kao aditivi raznovrsnim materijalima i opremi kako bi smanjili njihovu zapaljivost, spriječili nastanak požara ili usporili njegovo širenje.<sup>1</sup> U slučaju nastanka požara, pod utjecajem nastale toplinske energije oslobađaju se radikali Br koji smanjuju plamen, odnosno daljnje otpuštanje topline i ugljičnog monoksida.<sup>17,18</sup> Zbog pristupačne cijene te malog utjecaja na mehanička svojstva polimera intenzivno su korišteni, a na svjetskom tržištu bili su dostupni kao tri glavne formulacije:

- „penta” (DE-71 i Bromkal 70-5DE)
- „okta” (DE-79 i Bromkal 79-8DE)
- „deka” (Saytex102E i Bromkal 82-ODE)

Svaka formulacija sastojala se od relativno malog broja PBDE kongenera, a nazvane su prema stupnju bromiranosti najzastupljenije homologne skupine (Tablica 2.2.). Godine 2001., formulacija „penta“ bila je zastupljena na svjetskom tržištu s 11 %, okta sa 6 % i deka s 83 %.<sup>16,19</sup> Tipičan dodatak komercijalnih formulacija varirao je od 5 % do 30 % mase materijala, odnosno polimera.<sup>12</sup>

**Tablica 2.2.** Sastav komercijalnih PBDE smjesa (maseni udjeli homolognih grupa izraženi u %, w/w)<sup>12</sup>

Komercijalna formulacija	Homologna skupina						
	tetra-BDE	penta-BDE	heksa-BDE	hepta-BDE	okta-BDE	nona-BDE	deka-BDE
„penta”	24 – 38	50 – 60	4 – 8				
„okta”			10 – 12	44	31 – 35	10 – 11	<1
„deka”						<3	97 – 98

Najzastupljeniji kongeneri formulacije „penta“ su BDE-47 i BDE-99, a zatim slijede kongeneri BDE-100, BDE-153 i BDE-154. Formulaciju „okta“ u najvećem udjelu čini kongener BDE-183, a formulaciju „deka“ kongener BDE-209.<sup>12</sup>

Nema pouzdanih informacija o količinama formulacija koje su se proizvele, ali procijenjeno je da je ukupna svjetska proizvodnja spojeva PBDE iznosila između 1,3 i 1,5 milijuna tona između 1970. i 2005. godine.<sup>20</sup> Na globalnoj razini, potrošnja komercijalnih formulacija PBDE varirala je između različitih dijelova svijeta. Na primjer, formulacija „penta“ imala je vrlo malu upotrebu ili se uopće nije upotrebljavala u Aziji. Međutim, formulacija „deka“ daleko je najčešće korištena u svijetu i činila je 81 % i 83 % globalne potražnje za PBDE 1999. i 2001. godine.<sup>12</sup> Zanimljiv je podatak da je približno 95 % globalne proizvodnje formulacije „penta“, 40 % „okta“ i 44 % „deka“ upotrijebljeno u Americi.<sup>16</sup>

Formulacija „penta“ najviše se koristila kao aditiv fleksibilnim poliuretanskim pjenama upotrebljavanim kao punila za namještaj, madrace, automobilska i avionska sjedala, u građevnom materijalu za izolaciju, u tekstilu te epoksidnim smolama, fenolnim smolama i nezasićenim poliesterima. Osim toga, koristila se i kao aditiv u električnoj i elektroničkoj opremi, hidrauličnim tekućinama te gumama.

Formulacija „okta“ prvenstveno je korištena kao aditiv u plastici od akrilonitril-butadien-stiren (ABS) polimera, čak 95 %. Preostalih 5 % ukupne proizvodnje odnosilo se na dodatak sintetskim tekstilima (poliesterne smole, epoksidne smole, poliuretani), termoplastičnim elastomerima [polipropilen, polietilen, etilen-vinilacetat, poli(vinil-klorid)], poliolefinima, polistirenu visokog utjecaja (engl. *High Impact Polystyrene*, HIPS), polibutilen tereftalatu (PBT), poliamidnim polimerima, polikarbonatima, najlonu i fenol-formaldehidnim smolama. Polimeri u koje je „okta“ formulacija dodavana obično su se koristili za izradu kućišta uredske opreme, uključujući računala, te za industrijske strojeve.

Čak 80 % ukupne proizvodnje „deka“ formulacije korišteno je kao aditiv različitoj plastici (polietilen, polipropilen, PBT, HIPS i nezasićeni poliesteri). Navedena plastika primjenjivala se za izradu elektroničkih i električnih uređaja, preciznije u proizvodnji kućišta i stražnjih ploča televizora, za izolaciju žica i kabela električne opreme, u kućištima audio i video opreme, mobilnih telefona, daljinskih upravljača, računala i monitora, laserskih pisaa, fotokopirnih i faks uređaja i razvodnih kutija. Navedena plastika primjenjivala se i u građevnim materijalima, u skladištenju i distribuciji proizvoda (plastične palete) te u transportnom sektoru (automobili, zrakoplovi, vlakovi i brodovi). Preostalih 20 % od ukupne proizvodnje korišteno je kao dodatak tekstilu (draperije i tkanine za namještaj i madrace). Zrakoplovna industrija još uvijek koristi formulaciju „deka“ u električnim žicama i kabelima i u unutarnjim komponentama te u električnoj i elektronskoj opremi u starijim zrakoplovima i svemirskim letjelicama.<sup>2,10,12</sup>

Polibromirani difenil-eteri nisu kemijski vezani u materijalima u koje su dodavani, a kao posljedica toga dolazi do njihovog otpuštanja u okolni zrak, vodu, prašinu, sediment ili tlo te akumuliranja u kopnenim i morskim organizmima i u ljudima. Kao rezultat zabrinutosti zbog njihove sveprisutnosti u okolišu, hrani, prašini u zatvorenim prostorima te postojanosti, sklonosti bioakumulaciji i biomagnifikaciji u hranidbenim lancima te uz dokaze o njihovoj toksičnosti za ljude i životinje, Europska unija (EU) zabranila je upotrebu formulacija „penta“ i „okta“ 2004. godine. SAD su slijedile taj primjer obustavivši proizvodnju tih formulacija iste



godine.<sup>3</sup> Što se tiče formulacije „deka“, EU je zabranila njezinu upotrebu nešto kasnije, 2008. godine, a SAD tek 2013. godine.<sup>4</sup>

Dodavanjem tetra-, penta-, heksa- i hepta- homolognih grupa spojeva PBDE na popis Priloga A *Stockholmske konvencije o postojanim organskim zagađivačima* 2009. godine, zabranjena je proizvodnja, upotreba, uvoz i izvoz formulacija „penta“ i „okta“, dok je formulacija „deka“ dodana na navedeni popis tek 2017. godine.<sup>10</sup>

Unatoč obustavi proizvodnje i upotrebe spojeva PBDE, pretpostavlja se da će oni biti prisutni u okolišu još mnogo godina zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava, ali i zbog proizvoda koji su još uvijek u upotrebi, a sadrže ove spojeve. Naime, proizvodi koji sadrže materijale tretirane ovim spojevima predstavljaju njihov izvor tijekom cijelog svog vijeka trajanja: od procesa proizvodnje, preko upotrebe/primjene, pa sve do odlaganja na odlagalištima otpada i tijekom procesa recikliranja. U novije vrijeme pokazalo se da je električni i elektronički otpad (EE otpad) jedan od najznačajnijih današnjih izvora spojeva PBDE, stoga je općenito porasla svijest o štetnom utjecaju njegova gomilanja. S obzirom na brzi razvoj tehnologije, potražnja za novim električnim i elektroničkim uređajima je u eksponencijalnom porastu te je EE otpad danas jedan od najbrže rastućih vrsta otpada. Navedeni otpad, osim sirovina koje se recikliranjem mogu ponovo iskoristiti, sadrži i toksične spojeve, između ostalog i spojeve PBDE, a njegovim ručnim rastavljanjem, taljenjem ili spaljivanjem navedeni spojevi otpuštaju se u okoliš. Upravo zato je EE otpad nužno pravilno skladištiti i kontrolirati procese njegovog recikliranja.<sup>17,21,22</sup> Kao posljedica zagađenja okoliša u blizini mjesta za odlaganje ili recikliranje EE otpada, povišeni maseni udjeli spojeva PBDE izmjereni su u zraku,<sup>23</sup> tlu i prašini,<sup>17,22</sup> ali i u ljudima (ljudsko mlijeko, serum, kosa) koji su određeni vremenski period života proveli u blizini takvog otpada.<sup>24–26</sup>

Općenito, nakon što su spojevi PBDE okarakterizirani kao sveprisutna zagađivala okoliša, u državama s razvijenom industrijom njihova potrošnja se smanjila, dok se u državama koje sudjeluju u tranziciji ili u industrijski slabije razvijenim državama povećala. Naime, trgovina EE otpadom uzrokovala je značajan porast emisije spojeva PBDE u nerazvijenim državama, dok u razvijenim nije bilo velike promjene. U industrijski razvijenim područjima uočeno je da se više od 70 % emisija spojeva PBDE događa tijekom proizvodnje i korištenja materijala i opreme, dok je u industrijski slabije razvijenim dijelovima svijeta više od 70 % emisija nastalo tijekom procesa zbrinjavanja otpada.<sup>18</sup>

Isprobano je nekoliko metoda uklanjanja spojeva PBDE iz različitih dijelova okoliša, a one uključuju fotolitičku i fotokatalitičku razgradnju, adsorpciju, toplinsku i hidrotermalnu obradu, naprednu oksidaciju, reduktivnu debrominaciju i biološku remedijaciju. Među navedenim metodama, fotodegradacija i fotokatalitička razgradnja prevladavajuće su metode za uklanjanje spojeva PBDE. Ipak, navedene fizikalno-kemijske metode većinom nisu financijski isplative, a osim toga stvaraju i spojeve PBDE supstituirane s manjim brojem Br atoma koji su često toksičniji za okoliš i ljude. Nadalje, vremenski zahtjevna biološka remedijacija pri nepotpunoj razgradnji stvara hidroksilirane (OH-PBDE) i metoksilirane (MeO-PBDE) polibromirane difenil-etera, za koje postoji zabrinutost o njihovoj potencijalnoj opasnosti za ljudsko zdravlje.<sup>18</sup>

#### **2.4. Raspodjela polibromiranih difenil-etera u okolišu i izloženost ljudi**

Zahvaljujući razlikama u njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima, spojevi PBDE široko su rasprostranjeni i prisutni u svim dijelovima okoliša. Poluhlapljivi su, stoga se lako otpuštaju u atmosferu, koja je njihov glavni prijenosnik. Kongeneri PBDE supstituirani s manjim brojem Br atoma zadržavaju se u atmosferi u plinovitom stanju, a oni supstituirani s većim brojem Br atoma lakše se sorbiraju na organske čestice u zraku. Osim o fizikalno-kemijskim svojstvima određenog kongenera PBDE, raspodjela i razine kongenera u plinovitoj fazi odnosno vezanih na čestice u atmosferi ovisi i o okolišnim uvjetima te o koncentraciji, sastavu i veličini suspendiranih čestica.<sup>27,28</sup> Zračnim se masama mogu prenijeti na velike udaljenosti, a dokaz tome je njihova prisutnost u najudaljenijim područjima (Arktik i Antartika), gdje se talože zbog niskih temperatura.<sup>18,29-31</sup> Mogućnost transporta zrakom na veće udaljenosti viša je za spojeve PBDE supstituirane s manjim brojem Br atoma zbog većeg tlaka pare, dok je za spojeve PBDE supstituirane s većim brojem Br atoma prijenos na veće udaljenosti povezan s udaljenosti koju čestice mogu prijeći u atmosferi.<sup>14</sup>

Spojevi PBDE općenito su hidrofobnih svojstava, stoga su skloniji vezanju za organsku tvar u tlu taloženjem organskih čestica iz zraka. Osim taloženjem iz atmosfere, u tlo dospjevaju iz područja gdje je tlo izravno onečišćeno, na primjer iz odlagališta otpada.<sup>32,33</sup> Biljke mogu iz atmosfere ili putem korijena apsorbirati spojeve PBDE, što, osim o fizikalno-kemijskim svojstvima pojedinih kongenera PBDE, ovisi i o vrsti biljke.<sup>32</sup> Posljedično su i kopnene

životinje izložene navedenim spojevima, no puno manje nego morski organizmi pa su i istraživanja o razinama spojeva PBDE u njima malobrojnija.<sup>33</sup>

Povećanjem stupnja bromiranosti smanjuje se i sposobnost kongenera da se otopi u vodi, odnosno spojevi PBDE supstituirani s većim brojem Br atoma lakše se sorbiraju na čestice u vodi. U vodeni okoliš spojevi PBDE dopijevaju također i taloženjem iz atmosfere, ali i ispuštanjem otpadnih voda iz industrijskih postrojenja ili odlagališta otpada. Pritom se adsorbiraju na suspendirane čestice u vodi, organski dio sedimenata, i/ili ulaze u morske organizme, dok se u vodi pronalaze u značajno nižim koncentracijama. U vodenom ekosustavu bioakumuliraju se u lipidima bogatim tkivima raznih organizama i biomagnificiraju duž hranidbenih lanaca. Zbog toga vodeni organizmi, posebno vrste na vrhu hranidbenog lanca, često imaju visoke razine razmatranih spojeva.<sup>14,33</sup>

Studije izloženosti usmjerene na odabrane kongenere PBDE (BDE-28, -47, -99, -100, -153, -154, -183 i -209) najzastupljenije u komercijalnim smjesama i učestalo detektirane u okolišnim i biološkim uzorcima, pokazale su da su ljudi ovim spojevima izloženi dvama glavnim putovima – putem hrane i ingestije prašine. Prema Europskoj agenciji za sigurnost hrane (engl. *European Food Safety Authority*, EFSA) glavni izvor izloženosti ljudi je putem hrane životinjskog podrijetla s većim udjelom masti (riba, meso, mlijeko i mliječni proizvodi), gdje se navedeni spojevi akumuliraju zbog svoje lipofilnosti.<sup>12</sup> Mnogobrojnim znanstvenim istraživanjima potvrđena je povezanost povišenih masenih udjela spojeva PBDE u određenim populacijama ljudi s njihovom konzumacijom hrane kontaminirane ovim spojevima. U jednom od prvih takvih istraživanja pronađeni su za red veličine veći maseni udjeli spojeva PBDE u serumu Šveđana koji su mjesečno konzumirali od 12 do 20 obroka ribe iz Baltičkog mora.<sup>34</sup> Istraživanjem razina spojeva PBDE u različitim vrstama hrane koje se najčešće konzumiraju u Italiji (meso, jaja, mlijeko/mliječni proizvodi, riblje ulje, dagnje), zaključeno je da izloženost ljudi spojevima PBDE putem hrane značajno ovisi o osobnim prehranbenim navikama pojedinaca te regiji u kojoj se istraživanje provodi.<sup>35</sup>

Mnogo više razine spojeva PBDE pronađene su u populaciji SAD-a nego u ostatku svijeta, iako njihove razine u američkim prehranbenim proizvodima nisu bile značajno više.<sup>36</sup> Paralelna analiza hrane i bioloških uzoraka dovela je do važne spoznaje da unos putem prašine u značajnoj mjeri doprinosi ukupnoj izloženosti ljudi spojevima PBDE.<sup>6,7,37</sup> Naime, iako su spojevi PBDE sveprisutni i u vanjskom okolišu, oni se smatraju postojanim organskim zagađivalima zatvorenih prostora zbog njihove primjene u proizvodima koji se prvenstveno

koriste u zatvorenim prostorima (kućanstva, škole, vrtići, radna mjesta, javne ustanove, prijevozna sredstva), a prašina iz tih prostora jednim od najvažnijih izvora izloženosti spojevima PBDE.<sup>17,38-41</sup> Uz to, današnji stil života koji je pretežito vezan uz zatvorene prostore gdje ljudi provode otprilike 90 % svog vremena, dodatno utječe na povećanu izloženost spojevima PBDE.

Dominantan put unosa spojeva PBDE sadržanih u prašini zatvorenih prostora je ingestija prašine, dok dermalna apsorpcija i udisanje kontaminiranih čestica zraka/prašine u manjoj mjeri doprinose ukupnom unosu.<sup>7,42,43</sup>

Važno je naglasiti da je povećana izloženost spojevima PBDE putem ingestije kućne prašine najviše izražena kod male djece (1 – 5 godina), zbog učestale „ruka-usta“ aktivnosti i intenzivnih aktivnosti (sjedenje, puzanje, igranje) na ili u blizini podova, tepiha i ostalih površina na kojima se nakuplja prašina.<sup>38,44,45</sup> Kao posljedica takvih obrazaca ponašanja kod djece, kao i njihove male tjelesne mase, u nekoliko su istraživanja izmjereni maseni udjeli spojeva PBDE u krvi djece bili viši nego u krvi odraslih.<sup>46-48</sup> Nadalje, smatra se da su mala djeca osjetljivija na organska zagađivala jer imaju smanjen metabolički kapacitet za njihovu eliminaciju iz organizma. Stoga, uzimajući u obzir navedene činjenice – veću izloženost, osjetljivo doba razvoja i niži imunitet u odnosu na odrasle, poželjno ih je uključiti kao posebno važnu skupinu u procjenama izloženosti ljudi spojevima PBDE u prašini iz zatvorenih prostora.<sup>49,50</sup>

U ljudski organizam spojevi PBDE mogu ući već u prenatalnom periodu, što je dokazano njihovim prisustvom u krvi iz pupčane vrpce,<sup>51,52</sup> posteljici,<sup>53</sup> krvi<sup>54</sup> i jetri fetusa.<sup>52</sup> Maseni udjeli u serumu fetusa mogu biti čak i veći od masenih udjela izmjerenih u serumu majke.<sup>52</sup> No, mnoga istraživanja su potvrdila da je životno razdoblje dojenaštva u odnosu na druga životna razdoblja ono u kojem je ljudski organizam u najvećoj mjeri izložen unosu organskih zagađivala koja se putem ljudskog mlijeka izravno unose u dojenče, koje zbog svoje male mase na taj način dobiva najveću dozu izraženu po kilogramu tjelesne mase.<sup>7,18,55,56</sup> Ipak, ljudsko mlijeko jedinstvena je i složena smjesa tvari koja je evoluirala kako bi osigurala prehranu i ključnu imunološku podršku dojenčetu. Uz pozitivan psihološki utjecaj na dijete u razvoju, dojenje ima i jasne zdravstvene prednosti, kao što je utjecaj na zdrav razvoj crijeva i zaštitu od infekcija, što je osobito važno u manje razvijenim zemljama. Stoga bi, prema preporukama Svjetske zdravstvene organizacije ono trebalo biti jedina prehrana djece u prvih šest mjeseci života.

Kongeneri PBDE suspsituirani s manjim brojem Br atoma lakše mogu ući u organizam putem pluća ili gastrointestinalnog trakta i dalje u krvotok u usporedbi s kongenerima PBDE supstituiranih s većim brojem Br atoma.<sup>57-60</sup> Na primjer, potpuno bromirani kongener BDE-209 ima ograničenu bioraspoloživost zbog svoje velike molekulske mase koja mu ograničava prolazak kroz staničnu membranu putem pasivne difuzije. Ipak, istraživanja na glodavcima i pticama pokazala su da male količine BDE-209 prolaze krvno-moždanu barijeru i ulaze u mozak. Također, postoje dokazi o prijenosu BDE-209 iz odraslih riba i ptica u njihova jaja te o njegovom prijenosu kroz posteljicu do fetusa kod sisavaca.<sup>60</sup>

U ljudskom organizmu spojevi PBDE se zbog lipofilnosti zadržavaju u tkivima bogatim mastima, poput seruma, masnog tkiva i ljudskog mlijeka.<sup>61-63</sup> Povećanjem stupnja bromiranosti kongenera PBDE i vrijednosti log  $K_{ow}$ , smanjuje se sposobnost bioakumulacije u organizmu, gdje se, jednom kada dospiju, mogu djelomično razgraditi i izlučiti u obliku metabolita ili se metabolizirati u kongenere PBDE supstituirane s manjim brojem Br atoma, koji su toksičniji i skloniji bioakumulaciji.<sup>57</sup> Najčešći metaboliti spojeva PBDE su OH-PBDE i MeO-PBDE.<sup>52,64</sup>

Vrijeme poluraspada kongenera PBDE također se smanjuje povećanjem stupnja bromiranosti. Kongener BDE-209 ima vrijeme poluraspada 15 dana, dok kongeneri PBDE suspsituirani s manjim brojem Br atoma mogu ostati u organizmu dugi niz godina, pohranjeni uglavnom u mastima.<sup>57-60</sup> Postoji nekoliko, i to dosta različitih, procjena vremena poluraspada pojedinačnih kongenera. Geyer i suradnici (2004) procijenili su vrijeme poluraspada kongenera BDE-100 na 1,6 godina, BDE-47 na 1,8 godina, BDE-99 na 2,9 godina, BDE-154 na 3,3 godine i kongenera BDE-153 na 6,5 godina.<sup>65</sup> Procjena Sjođin i suradnika (2020) nešto je drugačija te u godinama iznosi 0,9 (BDE-28), 1,2 (BDE-47), 1,0 (BDE-99), 2,2 (BDE-100) i 4,1 (BDE-153)<sup>66</sup>, dok su procjene Wong i suradnika (2013) 0,37 (BDE-47), 8,2 (BDE-99), 2,0 (BDE-100) i 3,5 godina (BDE-153).<sup>67</sup> Thuresson i suradnici (2006) procijenili su vrijeme poluraspada kongenera BDE-183 na 94 dana (0,26 godina).<sup>68</sup>

## 2.5. Procjena izloženosti djece i odraslih spojevima PBDE u kućnoj prašini i ljudskome mlijeku

Kao što je navedeno, ljudi su izloženi spojevima PBDE prisutnim u kućnoj prašini putem ingestije, dermalne apsorpcije i inhalacije. Ne postoji standardizirana tehnika prikupljanja uzorka kućne prašine za procjenu izloženosti ljudi spojevima PBDE. Većinom se prašina

prikuplja pomoću usisavača prema ustaljenom običaju ukućana. Međutim, različiti pristupi uzorkovanju prašine te prostorne i vremenske varijacije mogu utjecati na detektirane razine spojeva PBDE u prašini, a posljedično i na procjene izloženosti ljudi.<sup>69,70</sup> Procjene dnevnog unosa (engl. *Estimated Daily Intake*, EDI) spojeva PBDE obično se računaju prema dobnim skupinama, s obzirom na to da ovise o obrascima ponašanja, tjelesnoj masi i drugim parametrima vezanim uz dob<sup>12</sup> te najčešće za dva scenarija. Pritom se za jedan scenarij (centralni scenarij, engl. *Central Case Scenario*) uzimaju medijani masenih udjela pojedinačnih kongenera PBDE ili njihove sume i prosječna stopa unosa prašine, dok se za drugi (najgori scenarij, engl. *Worst Case Scenario*) uzimaju maksimalne izmjerene vrijednosti masenih udjela pojedinačnih spojeva PBDE ili njihove sume i visoka stopa unosa prašine.

Razine spojeva PBDE u ljudskome mlijeku daju uvid u opterećenost roditelja i omogućuju procjenu izloženosti dojenčeta navedenim spojevima. Spojevi PBDE su lipofilni i bioakumuliraju se u mastima, stoga maseni udjeli izraženi po masi masti u mlijeku u velikoj mjeri odražavaju razine u serumu majke i krvi iz pupkovine novorođenčeta nakon prijenosa preko posteljice.<sup>71</sup> Kongener BDE-47 smatra se biomarkerom izloženosti spojevima PBDE jer se u biološkim uzorcima gotovo uvijek javlja u najvišim masenim udjelima, bez obzira radi li se o ljudskome mlijeku, masnom tkivu ili krvi.<sup>72</sup>

Stavljanjem u odnos procijenjenih dnevnih unosa i referentne doze (engl. *Reference Dose*, RfD) određene za pojedine kongenere i komercijalne smjese računa se tzv. kvocijent opasnosti ili rizika (engl. *Hazard Quotient*, HQ), koji pokazuje postoji li rizik od nekancerogenog učinka promatranog spoja ili smjese spojeva uzimajući u obzir pojedini put unosa, npr. ingestiju prašine. Američka agencija za zaštitu okoliša (engl. *United States Environmental Protection Agency*, U.S. EPA) odredila je vrijednosti referentne doze samo za formulaciju “penta” ( $2000 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ) i “okta” ( $3000 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ) te za kongenere BDE-47 ( $100 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ), BDE-99 ( $100 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ), BDE-153 ( $200 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ) i BDE-209 ( $7000 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ).<sup>73</sup>

Indeks opasnosti ili rizika (engl. *Hazard Index*, HI) zbroj je kvocijenata opasnosti i pokazuje postoji li rizik od nekancerogenog učinka promatranog spoja/smjese uzimajući u obzir sve moguće puteve unosa.<sup>74</sup>

## 2.6. Toksičnost polibromiranih difenil-etera

Polibromirani difenil-eteri dokazano su toksični za životinje i ljude, i to je jedan od glavnih razloga istraživanja njihove rasprostranjenosti i raspodjele u okolišu, ali i zabrane korištenja. Procjene toksičnosti ovih spojeva uglavnom se temelje na istraživanjima na životinjama, a u nekoliko epidemioloških studija procjenjivala se povezanost izmjerenih povišenih masenih udjela razmatranih spojeva u ljudskom tkivu (npr. u krvi i mlijeku) s njihovim opaženim štetnim utjecajima na ljudsko zdravlje.<sup>57</sup> Istraživanja kancerogenosti provedena su samo za formulaciju „deka” i pokazala su neke učinke kod vrlo visokih doza te je Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. *International Agency for Research on Cancer*, IARC) zaključila da formulacija „deka” nije kancerogena za ljude.<sup>75</sup>

Istraživanja na životinjskim modelima pokazala su da formulacija „penta“ već pri niskim masenim udjelima u rasponu od 0,6 do 0,8 mg kg<sup>-1</sup> uzrokuje neurobiheviornalne poremećaje i utječe na razine hormona štitnjače,<sup>76,77</sup> formulacija „okta“ pri masenom udjelu od 2 mg kg<sup>-1</sup> povećava fetalnu toksičnost i teratogenost,<sup>78</sup> dok formulacija „deka“ uzrokuje morfološke promjene štitnjače, jetre i bubrega pri značajno višim masenim udjelima (80 mg kg<sup>-1</sup>).<sup>79,80</sup>

Dokazani su kratkoročni i dugoročni poremećaji u ponašanju embrija zebriice (lat. *Dania rerio*) izloženih niskim koncentracijama BDE-47 (0,01 – 0,3 μmol L<sup>-1</sup>) i BDE-99 (0,003 – 20 μmol L<sup>-1</sup>). Također je otkriveno da je dugotrajno izlaganje vrlo niskim koncentracijama ovih spojeva dovelo do promjena u ponašanju odraslih zebriica, iako nije bilo vidljivih učinaka na aktivnost ličinki.<sup>81</sup>

Epidemiološka istraživanja pokazala su da je izloženost spojevima PBDE tijekom prenatalnog perioda povezana s nižom razinom tireoidnog stimulirajućeg hormona (TSH), nižim kvocijentom inteligencije, smanjenim razvojem kognitivnih i motoričkih sposobnosti te povećanim nekontroliranim, impulzivnim ili agresivnim ponašanjem.<sup>5</sup>

Što se tiče postnatalne izloženosti spojevima PBDE, ona je također povezana s nižim kvocijentom inteligencije, povećanom učestalosti hiperaktivnog i agresivnog ponašanja, te smanjenom mogućnosti usvajanja socijalnih normi, odnosno standarda ponašanja i doživljavanja, smanjenom sposobnosti čitanja i razvoja izvršnih funkcija.<sup>5,82</sup> Itszatt i suradnici (2019) otkrili su da kongener BDE-28 utječe na sastav i funkciju mikrobiote crijeva kod dojenčadi, što potencijalno može negativno utjecati na zdravlje djece.<sup>56</sup>

Jedno od mogućih objašnjenja za navedene učinke je promjena statusa hormona štitnjače. Naime, razvoj neurološkog sustava u velikoj mjeri ovisi o hormonima štitnjače, posebice tiroksinu (T4), koji ima sličnu stereokemijsku strukturu kao spojevi PBDE te se njihovim vezanjem na receptore hormona štitnjače ometa proizvodnja hormona.<sup>83</sup> Iako nedostaju podaci o učincima kratkotrajne i dugotrajne izloženosti spojevima PBDE, očekivano je da su uz trudnice, kojima održavanje ravnoteže hormona štitnjače predstavlja fiziološki problem, embriji i dojenčad najranjivije skupine.<sup>59</sup>

Različita istraživanja *in vitro* pokazala su da spojevi PBDE uzrokuju stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta, oslobađanje laktat dehidrogenaze, promjenu mitohondrijskog potencijala i oštećenja DNA, što sve zajedno može dovesti do apoptoze ljudskih stanica.<sup>84,85</sup> Istraživanja *in vitro* na neuroprogenitorskim stanicama pokazala su da dolazi do njihovih promijenjenih funkcija već pri 0,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  za kongener BDE-99 i pri 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  kod kongenera BDE-47.<sup>84</sup> Sličan utjecaj imao je i kongener BDE-209, međutim pri višim koncentracijama (oko 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), vjerojatno zato što teže ulazi u stanicu zbog robustnije strukture u odnosu na ostale kongenere.<sup>86</sup>

## 2.7. Raspodjela i razine polibromiranih difenil-etera u kućnoj prašini

Kućna prašina je heterogena smjesa bioloških materijala (dlake, kosa, koža), čestica koje nastaju iz izvora unutar kućanstva (grijanje, kuhanje, upotreba EE uređaja, tekstila i namještaja) i čestica iz vanjskih izvora (tlo, zrak) kao posljedice antropogenih aktivnosti<sup>45,87</sup> koja se taloži na podnim (podne obloge, sagovi) i povišenim površinama (namještaj, police, površine uređaja) u zatvorenim prostorima. Zbog svoje velike specifične površine i visokog udjela organske tvari djeluje kao rezervoar, ali i transportni medij za zagađivala u zatvorenom prostoru, uključujući spojeve PBDE.<sup>88</sup> Otpuštanje spojeva PBDE iz materijala/proizvoda u kućnu prašinu događa se uslijed neposrednog kontakta s materijalom, mehaničke abrazije ili isparavanja.<sup>44,89,90</sup> Zbog nedostatka vlage, mikrobne aktivnosti i sunčeve svjetlosti u unutarnjim prostorima, spojevi PBDE ostaju duže vremena vezani za prašinu, a samim time predstavljaju i zdravstveni rizik kroz dulje razdoblje.<sup>87,91</sup> Najučinkovitiji načini smanjenja koncentracija navedenih spojeva u unutarnjim prostorima su učestalije prozračivanje, usisavanje i uklanjanje prašine čišćenjem.<sup>41,87</sup>



U Tablici 2.3. prikazane su razine osam najčešće analiziranih kongenera PBDE (BDE-28, -47, -99, -100, -153, -154, -183 i -209) u kućnoj prašini iz raznih dijelova svijeta, uključujući i Hrvatsku. Usporedba podataka iz različitih istraživanja izazovna je zbog razlika u vremenima uzorkovanja, metodama uzorkovanja prašine, veličini i vrsti usisavanog područja (određena prostorija ili cijelo kućanstvo), prisutnosti specifičnih proizvoda za koje postoji mogućnost da doprinose povećanim razinama spojeva PBDE i popisu analiziranih kongenera PBDE. S ciljem dobivanja sveobuhvatnog i ažuriranog pregleda razina spojeva PBDE u kućnoj prašini, ali i radi što preciznije usporedbe podataka, uzeti su u obzir radovi koji su imali isti ili sličan način prikupljanja uzoraka te približnu godinu uzorkovanja, a neizbježne varijacije posebno su naglašene. U tu svrhu pretražena je baza podataka *Web of Science* za podatke iz literature objavljene u razdoblju od 2018. do 2022. godine.

Maseni udjeli kongenera PBDE u uzorcima kućne prašine prikupljenim u razvijenim gradovima, posebno u blizini industrijskih postrojenja, viši su nego u nerazvijenim/ruralnim područjima.<sup>32</sup> Na primjer, u industrijski razvijenim gradovima Guangzhou i Qingyuan iz pokrajine Guangdong u Južnoj Kini zabilježene su više razine spojeva PBDE, u rasponu od 118 ng g<sup>-1</sup> do 27 980 ng g<sup>-1</sup> prašine,<sup>39</sup> odnosno od 102 ng g<sup>-1</sup> do 26 098 ng g<sup>-1</sup> prašine<sup>92</sup> u odnosu na ruralno područje (2 – 3 kilometra udaljeno od Qingyuana), gdje su razine bile od 372 ng g<sup>-1</sup> do 16 800 ng g<sup>-1</sup> prašine.<sup>93</sup>

Povišenim masenim udjelima spojeva PBDE u prašini iz kućanstva dodatno doprinosi i blizina odlagališta EE otpada. Lin i suradnici (2022) izmjerili su za dva reda veličine više razine spojeva PBDE u kineskom gradu Guiyu (medijan  $\sum$ PBDE 63 300 ng g<sup>-1</sup> prašine) u kojem se nalazi mjesto za recikliranje EE otpada u usporedbi s gradom Haojiang (medijan  $\sum$ PBDE 7060 ng g<sup>-1</sup> prašine) u kojem ga nema.<sup>22</sup>

Osim toga, godišnje doba uzorkovanja prašine također može utjecati na razlike u razinama spojeva PBDE. Naime, u hladnije doba godine zabilježene su više razine spojeva PBDE u prašini s podnih površina nego za vrijeme ljeta, a tome je najviše doprinio kongener BDE-209, čijem taloženju najviše pogoduje hladnije doba godine zbog nižeg tlaka para.<sup>69</sup> Adeyi i suradnici (2020) su niske masene udjele kongenera BDE-209 u uzorcima kućne prašine iz Nigerije pripisali prevladavanju tropske klime u Nigeriji, pod čijim utjecajem dolazi do bržeg raspada BDE-209 na kongenere supstituirane s manjim brojem Br atoma.<sup>45</sup> Slični rezultati dobiveni su u istraživanju uzoraka kućne prašine prikupljene u Rimu tijekom ljeta, gdje su maseni udjeli kongenera BDE-209 bili ispod granice detekcije, za razliku od kongenera

BDE-47, -99, -100 i -183.<sup>94</sup> S druge strane, Muenhor i suradnici (2012) nisu uočili značajne razlike u razinama spojeva PBDE u kućnoj prašini prikupljenoj u toplijim mjesecima (proljeće i ljeto) u odnosu na onu prikupljenu u hladnijim mjesecima (jesen i zima). Međutim, nisu analizirali kongener BDE-209, a nedostatak značajnih razlika u izmjerenim razinama pripisali su učestalijem provjetravanju u toplijim mjesecima, pri čemu se navedeni spojevi manje zadržavaju unutar kućanstva iako u to vrijeme može doći do veće emisije spojeva PBDE iz materijala/proizvoda.<sup>95</sup>

Razine spojeva PBDE mogu biti značajno različite i ovisno o tome s kojih se površina u zatvorenim prostorima prašina uzorkuje, što posljedično može značajno utjecati na procjenu izloženosti ljudi ovim spojevima. Niu i suradnici (2018) otkrili su da prašina prikupljena s podnih površina sadrži više masene udjele spojeva PBDE od one prikupljene s povišenih površina, dok razlike u profilu kongenera PBDE nisu primijećene.<sup>70</sup> Suprotno navedenom istraživanju, Khairy i suradnici (2018) izmjerili su više masene udjele spojeva PBDE u prašini s povišenih površina u odnosu na prašinu prikupljenu s podnih površina,<sup>96</sup> dok Cequier i suradnici (2014) nisu pronašli statistički značajne razlike u medijanima masenih udjela spojeva PBDE u prašini prikupljenoj s podnih površina i onoj s povišenih površina.<sup>97</sup>

U pojedinim istraživanjima detaljnije su istraženi utjecaji pojedinih čimbenika iz kućanstva (npr. broj ukućana, broj elektroničkih uređaja, preuređenje prostora...) na masene udjele spojeva PBDE u prašini. S porastom broja ukućana i broja sati aktivnog korištenja elektroničkih uređaja rastu maseni udjeli spojeva PBDE u prašini, dok su obnovom prostora, odnosno zamjenom starog namještaja ili nekih materijala novijima, razine spojeva PBDE značajno manje.<sup>41</sup> Činjenicu da se zamjenom starog namještaja i namještaja punjenog poliuretanskom pjenom smanjuju razine spojeva PBDE u prašini u vrlo kratkom vremenu (6 mjeseci) potvrdili su Rodgers i suradnici (2021) istraživanjem uzoraka prašine iz kućanstava u Kaliforniji, gdje su općenito pronađene vrlo visoke razine ovih spojeva u odnosu na druge države<sup>98</sup> (Tablica 2.3.). Al-Habri i suradnici (2021) utvrdili su da su veličina i starost kućanstva, namještaj te broj elektroničkih uređaja i broj sati njihovog aktivnog korištenja povezani s povišenim razinama spojeva PBDE u prašini.<sup>99</sup> Osim toga, istraživanja su pokazala da se koncentracije spojeva PBDE u prašini mogu smanjiti učestalijim prozračivanjem, usisavanjem i općenito redovitim čišćenjem.<sup>41,99,100</sup>

Tablica 2.3. Medijani masenih udjela najčešće analiziranih kongenera PBDE u kućnoj prašini

Lokacija	Godina uzorkovanja	$\gamma$ / ng g <sup>-1</sup> prašine												Medijan sume masenih udjela	Referenca
		BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	BDE-209	Raspon sume masenih udjela (broj analiziranih kongenera PBDE)		Medijan sume masenih udjela			
Južna Koreja	/	< GD	304	76	45	< GD	/	< GD	315	396 – 3346 (13)		1257	101		
Tajland	2007. – 2008.	0,10	1,9	3,4	0,72	0,91	0,48	0,91	/	0,59 – 260 (10)		10	38		
Kina	2014.	0,68	1,3	4,9	0,37	0,89	0,53	0,37	148	90 – 428 (8)		155	102		
Egipat	2014.	13	18	41	9,1	15	8,0	9,4	/	4,0 – 713 (12)		131	96		
podne površine	2016.	0,18	0,48	0,39	0,13	0,01	0,13	1,3	139	19 – 3280 (22)		187			
povišene površine		0,21	0,57	0,91	0,21	0,01	0,15	0,82	160	55 – 792 (22)		225	70		
Kina															
Australija	2016.	< GD	56	74	15	7,8	6,5	< GD	1100	400 – 13000 (8)		2000	44		
Južna Kina	2015. – 2016.	1,5	12	23	4,4	15	5,5	30	2654	647 – 11562 (8)		3051	103		
Finska	/	0,29	12	20	3,3	2,4	1,6	/	411	/ (7)		/	104		
Nepal	2015.	0,04	0,04	0,05	0,10	0,05	0,04	0,12	1,1	0,14 – 63 (9)		1,6	105		
Kina	2016.	3,6	5,4	5,9	1,9	18	2,7	4,8	415	71 – 4035 (8)		531	106		
~ tjedan dana	2019.	4,0	8,3	13	1,4	8,7	4,7	5,1	877	647 – 4620 (8)		903			
~ 3 mjeseca		2,7	7,3	14	5,0	9,9	4,5	4,2	272	97 – 878 (8)		307	107		
Južna Afrika															
Kina	/	4,0	5,9	0,48	70	< GD	< GD	< GD	321	334 – 4444 (38)		442	108		
Lagos	/	0,67	34	40	67	3,7	17	40	8,7	14 – 11481 (8)		227			
Ibadan	/	0,28	33	9,8	46	19	13	38	2,9	2,2 – 859 (8)		286	45		
Nigerija															
Južna Koreja	2015.	< GD	12	4,2	< GD	< GD	< GD	1,1	640	24 – 32000 (22)		840	50		
Kina	2017. – 2018.	0,67	1,0	0,45	5,3	0,49	/	1,2	235	221 – 1060 (10)		259	109		
Velika Britanija	2019.	< 1,0	0,93	2,9	0,29	< 2,0	< 2,0	< 2,0	1600	21 – 18000 (8)		1700	110		
Italija <sup>a</sup>	2019.	< GD	20	37	34	< GD	6,4	12	< GD	/ (12)		101	94		
Vijetnam	2014.	0,61	2,5	1,8	0,43	0,51	0,10	0,41	42	25 – 140 (8)		61	111		
Grčka	2017.	0,37	17	4,0	3,2	3,1	2,7	4,4	366	51 – 1710 (20)		427	87		
Turska	2016.	0,24	2,6	3,1	0,92	0,57	0,46	5,9	128	12 – 2484 (14)		207	91		
Gabriel de Castilla	2017.	0,06	3,9	11	2,2	4,3	1,1	5,2	/	7,1 – 131 (9)		28			
Julio Escudero	2017.	0,09	4,3	7,3	1,6	< GD	< GD	< GD	/	7,7 – 36 (9)		13			
James Clark Roos	2016. – 2017.	0,16	2,8	3,8	0,62	0,83	0,30	1,7	/	8,0 – 106 (9)		10	90		
Antarktika															
Vijetnam	2018.	1,7	1,8	1,3	0,39	0,30	0,31	0,55	130	43 – 480 (36)		170	112		
nepušači	2018. – 2019.	0,97	9,2	9,9	0,27	0,69	0,88	0,14	304	128 – 1460 (8)		394			
pušači		1,3	11	13	0,34	0,85	1,0	0,18	351	82 – 1562 (8)		423	99		
Kuvajt															
Saudijska Arabija	2019.	< 0,2	2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	3150	/ (14)		/	113		
Nigerija	2019.	< 0,79	4,8	6,9	1,5	1,9	1,2	3,4	280	43 – 810 (8)		300	114		
Hrvatska	2020. – 2021.	< GD	0,66	1,52	< GD	0,34	< GD	0,91	/	0,16 – 200 (7)		4,2	41		
Španjolska <sup>a</sup>	2019. – 2020.	0,4	7,4	11	1,4	3,0	1,0	8,7	514	/ (8)		/	115		

GD granica detekcije; / nije analizirano; <sup>a</sup> rezultat izražen kao srednja vrijednost

Pregledom aktualne literature može se zaključiti da je najzastupljeniji kongener u većini uzoraka kućne prašine BDE-209, glavni sastojak formulacije „deka“, čija je upotreba najkasnije zabranjena. Slijede kongeneri koji su glavni sastojci formulacija „penta“ i „okta“, ali i koji mogu nastati raspadom BDE-209, a to su BDE-47, -99 i -183 (Tablica 2.3.).

Među najvišim masenim udjelima spojeva PBDE u svijetu nalaze se oni izmjereni u Sjevernoj Americi, točnije Kaliforniji, gdje je zbog strogih zakona protiv požara povijesno bila velika potrošnja spojeva PBDE.<sup>116,117</sup> U jednom istraživanju kućne prašine iz grada Richmond u Kaliforniji maseni udio kongenera BDE-99 dosegao je čak 170 000 ng g<sup>-1</sup> prašine.<sup>116</sup> Iako niži u odnosu na one u Kaliforniji, visoki maseni udjeli spojeva PBDE pronalaze se i u Aziji, zbog intenzivne upotrebe formulacije „deka“ u brzorastućoj električnoj i elektroničkoj industriji na tom području, ali i prisutnosti odlagališta EE otpada.<sup>39,50,118</sup> U Južnoj Koreji, raspon masenih udjela bio je od 24 ng g<sup>-1</sup> do 32 000 ng g<sup>-1</sup> prašine, s najvećom zastupljenosti spojeva PBDE supstituiranih većim brojem Br atoma (BDE-206, BDE-207 i BDE-209). Maseni udio kongenera BDE-209 dosegao je čak 24 000 ng g<sup>-1</sup> prašine, što je od jedan do dva reda veličine više od masenih udjela izmjerenih za kongenere BDE-47, BDE-99 i BDE-183.<sup>50</sup>

Što se tiče Europe, u kućnoj prašini prikupljenoj u Ujedinjenom Kraljevstvu izmjerene su također visoke razine spojeva PBDE:  $\sum$ PBDE koja je uključivala i BDE-209 iznosila je 370 000 ng g<sup>-1</sup> prašine. Razlog tome je, uz stroge zakone protiv požara, i velika upotreba tepiha karakteristična za Ujedinjeno Kraljevstvo.<sup>119</sup> U ostatku Europe pronalaze se značajno niže razine spojeva PBDE. U kućnoj prašini prikupljenoj u Belgiji, Italiji i Španjolskoj razine spojeva PBDE nisu se značajno razlikovale, a suma masenih udjela spojeva PBDE bila je od 4,3 ng g<sup>-1</sup> do 13 073 ng g<sup>-1</sup> prašine, s BDE-209 kao najzastupljenijim kongenerom.<sup>89</sup>

## 2.8. Raspodjela i razine polibromiranih difenil-etera u ljudskome mlijeku

Ljudsko mlijeko je biološka matrica koja se sastoji od masti, proteina, ugljikohidrata, minerala i vitamina, te u najvećem udjelu vode. Najčešća je i najpraktičnija biološka matrica koja se koristi u biomonitoringu izloženosti ljudi postojanim organohalogenim zagađivalima zbog neinvazivne metode prikupljanja uzorka, pri čemu pruža informacije ne samo o izloženosti majki, već i dojenčadi kao najranjivije populacijske skupine.<sup>120,121</sup> Sadrži veći udio lipida od seruma ili plazme, na koje se vežu lipofilni spojevi poput spojeva PBDE.<sup>120</sup>

Općenito, na razine postojećih organskih zagađivala u mlijeku može utjecati niz čimbenika, od prehrambenih navika majke, jer se s konzumacijom hrane životinjskog podrijetla s većim udjelom masti potencijalno povećava unos lipofilnih spojeva u organizam, do dobi majke, jer se pretpostavlja da se s vremenom ovi spojevi akumuliraju u tijelu. S druge strane, redni broj i trajanje laktacije mogu utjecati na smanjenje razina lipofilnih organskih zagađivala u mlijeku jer tim procesom dolazi do njihova izlučivanja iz tijela majke.

Značajan utjecaj na razine spojeva PBDE u mlijeku imaju mjesto stanovanja (povišeni maseni udjeli kod dojlja koje žive blizu izvora zagađenja, poput odlagališta EE otpada) i način života (veći unos putem prašine kod dojlja koji veći dio svog vremena provode u zatvorenim prostorima).<sup>25,122</sup>

Uzimajući u obzir činjenicu da se spojevi PBDE zbog svoje lipofilnosti nakupljaju u masti, njihove razine u ljudskome mlijeku izražavaju se u masenim udjelima po masi masti mlijeka, koja se određuje gravimetrijski. Izražavanjem razina spojeva PBDE na taj način omogućena je njihova usporedba s razinama izmjerenim u krvi i masnom tkivu, s obzirom na to da je dokazano da se spojevi PBDE podjednako raspoređuju između različitih tkiva koje sadrže masti.<sup>71</sup>

U Tablici 2.4. prikazane su razine osam najčešće analiziranih kongenera PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka iz raznih dijelova svijeta. S ciljem dobivanja sveobuhvatnog i ažuriranog pregleda razina spojeva PBDE u ljudskome mlijeku, pretražena je baza podataka *Web of Science* za podatke iz literature objavljene u razdoblju od 2016. do 2022. godine.

Tablica 2.4. Medijani masenih udjela najčešće analiziranih spojeva PBDE u ljudskome mlijeku

Lokacija	Godina uzorkovanja	$\gamma$ / ng g <sup>-1</sup> masti											Medijan sume masenih udjela	Referenca
		BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	BDE-209	Raspon sume masenih udjela (broj analiziranih kongenera PBDE)	Medijan sume masenih udjela	Referenca		
Grčka	2004. – 2005.	<0,10	0,48	0,27	0,19	0,30	<0,10	<0,10	/	0,32 – 13 (7)	1,5	123		
Kalifornija	2009. – 2012.	/	17	3,5	2,5	4,9	/	/	/	11 – 435 (19)	37	124		
Juzna Koreja	2011.	<GD	0,6	0,3	0,1	<GD	<GD	<GD	/	0,3 – 20 (21)	/	125		
Francuska	2011. – 2012.	0,04	0,43	0,10	0,10	0,54	0,03	0,05	0,21	0,45 – 15 (8)	1,5	126		
Finska	1997. – 2002.	0,33	3,1	0,54	0,42	0,77	0,05	0,03	<LOD	1,5 – 19 (8)	5,2	126		
Danska	1997. – 2002.	0,19	2,0	0,76	0,45	1,2	0,07	0,07	0,34	1,2 – 111 (8)	4,9	127		
Tanzanija	2012.	<GD	5,3	8,9	2,1	1,8	<GD	<GD	/	<GD – 786 (11)	20	127		
Kina <sup>a</sup>	/	0,19	0,4	0,17	0,15	1,3	0,07	0,47	1,3	/ (8)	/	128		
Sj. Kina	2014. – 2015.	<0,002	<0,002	ND	ND	<0,003	ND	<0,003	0,87	ND – 20 (8)	1,2	129		
Moldova <sup>a</sup>	2008. – 2009.	0,04	0,42	0,10	0,11	0,10	0,003	/	/	0,77 – 1,8 (7)	/	130		
2014. – 2015.	0,05	0,76	0,55	0,16	0,22	0,05	/	/	/	/	/	130		
2004. – 2005.	2,0	32	6,0	5,3	5,0	0,6	<GD	<GD	/	10 – 677 (9)	453	131		
12 – 16 tjedana	2,4	28	6,7	4,9	5,2	0,6	<GD	<GD	/	11 – 577 (9)	300	131		
SAD	/	/	/	/	/	/	/	/	0,57	/	/	132		
Kina	2011.	0,09	0,07	0,02	0,02	0,25	0,02	0,03	2,2	0,29 – 22 (8)	2,9	120		
Nakaseke	2014.	<0,01	0,14	0,06	<0,01	0,09	<0,01	<0,03	<0,5	0,59 – 2,2 (12)	1,0	63		
Kampala	/	<0,01	0,5	0,05	<0,01	0,17	0,05	<0,03	0,72	0,91 – 8,1 (12)	2,7	63		
Uganda	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	133		
Afrika	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	133		
Kalifornija	2015.	/	23	6,9	0,2	1,6	0,9	/	/	/ (5)	/	133		
Norveška	2002. – 2005.	0,16	1,1	0,26	0,26	0,5	0,03	/	/	/ (6)	/	56		
Njemačka	2015. – 2016.	0,03	0,20	0,06	0,05	0,38	0,01	0,03	0,44	0,51 – 113 (14)	1,7	134		
Irska	2016. – 2018.	<0,06	0,64	<0,2	<0,2	0,71	<0,12	<0,3	1,4	1,7 – 24 (8)	2,5	135		
Slovenija	2008. – 2014.	0,06	0,51	0,12	0,13	0,27	0,01	0,02	/	0,47 – 3,8 (7)	1,1	121		
Kina	2018.	0,06	0,08	0,03	0,034	0,39	0,01	0,06	0,28	0,46 – 157 (8)	1,1	136		
Uganda <sup>b</sup>	2018.	<0,03 – 0,28	<0,18 – 3,7	<0,08 – 0,26	<0,02 – 0,14	<0,40 – 0,30	<GD	<0,02 – 0,05	<0,12 – 4,8	0,13 – 8,9 (37)	0,63	137		
Svedska	1996. – 2017.	/	1,0	0,21	0,20	0,53	/	/	0,06	/ (10)	/	71		
Hrvatska <sup>b</sup>	2019. – 2021.	<GD – 0,95	<GD – 0,74	<GD – 2,0	<GD – 0,98	0,12 – 0,54	0,02 – 0,65	<GD – 0,38	/	0,16 – 6,2 (7)	0,35	138		

GD granica detekcije; / nije analizirano; ND nije detektirano; <sup>a</sup> rezultat izražen kao srednja vrijednost; <sup>b</sup> rezultat izražen kao raspon

Općenito, kongeneri BDE-47 i BDE-153 najčešći su i najzastupljeniji kongeneri u uzorcima ljudskog mlijeka.<sup>63,123,126,136,139</sup> Za razliku od uzoraka kućne prašine, gdje je kongener BDE-209 najzastupljeniji, u uzorcima ljudskog mlijeka njegova zastupljenost varira. To se uglavnom pripisuje dužim vremenima poluraspada manje bromiranih kongenera PBDE u odnosu na BDE-209. S obzirom na to da je njegovo vrijeme poluraspada u ljudskom organizmu svega 15 dana,<sup>68</sup> viši maseni udjeli BDE-209 u odnosu na ostale kongenere pokazuju trenutnu i kontinuiranu izloženost majke formulaciji „deka“.<sup>120,129,137</sup> Uz to, dugotrajna izloženost ovom spoju značajno doprinosi povećanju masenih udjela kongenera susptituiranih manjim brojem Br atoma, koji nastaju njegovim raspadom.

Upravo je to i potvrđeno u istraživanju Zhao i suradnika (2021), gdje je pronađen značajan pad razina  $\Sigma$ PBDE u ljudskome mlijeku žena iz Pekinga u Kini u razdoblju od 2014. do 2018. godine zbog oštrog pada izmjerenih masenih udjela kongenera BDE-209, dok značajne razlike u sumi masenih udjela tri- do hepta-BDE kongenera nije bilo.<sup>136</sup>

U dva pregledna rada objedinjeni su podaci dobiveni istraživanjem uzoraka ljudskog mlijeka prikupljenih u periodu od 2000. do 2015. godine u raznim dijelovima svijeta.<sup>32,140</sup> Najviši medijani sume masenih udjela spojeva PBDE bili su u Sjevernoj Americi (20 – 55 ng g<sup>-1</sup> masti), zatim u Europi (0,4 – 6,3 ng g<sup>-1</sup> masti), a najniži u Aziji (1,5 – 12 ng g<sup>-1</sup> masti). Drugim riječima, razine spojeva PBDE u Sjevernoj Americi bile su 20 puta veće nego u Europi ili Aziji, što je posljedica intenzivne proizvodnje i primjene komercijalnih formulacija u Americi. Kongener BDE-47 bio je najzastupljeniji, a slijede ga BDE-99, BDE-100 i BDE-153.<sup>32,140</sup> Značajno više masene udjele spojeva PBDE u ljudskome mlijeku na području Azije prikazali su u preglednom radu Tang i suradnici (2017). Tome je doprinijelo istraživanje ljudskog mlijeka u gradu Taizhou u Kini, u kojem se nalazi mjesto za recikliranje EE otpada i zbog kojeg je suma masenih udjela analiziranih spojeva PBDE dosegla čak 117 ng g<sup>-1</sup> masti.<sup>122</sup> Međutim, bitno je uzeti u obzir godine provedene u blizini takvog otpada jer se s vremenom spojevi PBDE akumuliraju u tijelu. Tako su značajno više razine spojeva PBDE u mlijeku zabilježene kod žena koje su živjele više od 20 godina (medijan  $\Sigma$ PBDE 20 ng g<sup>-1</sup> masti) u blizini odlagališta EE otpada od onih koje su tamo živjele manje od tri godine (medijan  $\Sigma$ PBDE 3,9 ng g<sup>-1</sup> masti).<sup>25</sup>

Više razine spojeva PBDE u ljudskome mlijeku pronalaze se i kod žena koje žive u industrijski razvijenijim gradovima u odnosu na one koje žive u ruralnim područjima. Matovu i suradnici (2019) odredili su značajno više razine spojeva PBDE u mlijeku žena koje su živjele

u gradu Kampale (Uganda) u odnosu na one koje su živjele u ruralnom području Nakasake. Razlika u razinama ukazuje na činjenicu da su žene u Kampali izložene većem broju izvora spojeva PBDE, poput električnih i elektroničkih uređaja i sagova. Detaljnijim istraživanjem je ista skupina autora zaključila da je izloženost majki parama od boja povezana s višim razinama kongenera BDE-47 u mlijeku, dok je recikliranje EE otpada povezano s višim razinama BDE-99 i BDE-153.<sup>63</sup> Također, u istraživanju razina spojeva PBDE u mlijeku majki iz tri kineska grada (Mianyang, Wuhan i Hangzhou), medijan masenih udjela spojeva PBDE bio je  $9 \text{ ng g}^{-1}$  masti, s BDE-153 kao najzastupljenijim kongenerom, iza kojeg slijede kongeneri BDE-47 i BDE-154. U mlijeku majki iz Mianyanga detektirani su viši maseni udjeli spojeva PBDE od onih iz Wuhana i Hangzhoua, a statistička analiza pokazala je da su dob majke i zagađenost izvora pitke vode najvažniji čimbenici koji utječu na povišene razine spojeva PBDE. Naime, mogući izvor kontaminacije okoliša ovim spojevima u Mianyangu je industrija proizvodnje građevinskog materijala.<sup>141</sup> Ipak, na temelju istraživanja ljudskog mlijeka prikupljenog u 16 pokrajina u Kini u razdoblju od 2007. do 2011. godine nije uočena razlika u razinama spojeva PBDE između ruralnih područja i gradova što ukazuje na činjenicu da ukoliko majka nije izravno izložena izvoru zagađenja, utoliko razine spojeva PBDE u mlijeku neće biti značajno povišene.<sup>142</sup>

## 2.9. Kemijska analiza

Kemijska analiza spojeva PBDE u uzorcima kućne prašine i ljudskog mlijeka zahtjevna je i izazovna jer se razmatrani spojevi u navedenim uzorcima nalaze pri niskim masenim udjelima i/ili koncentracijama, najčešće u  $\text{ng g}^{-1}$  ili nižim. Drugi problem i izazov za kvantitativno određivanje ciljanih analita u tragovima predstavlja složenost matrice uzorka, naročito ljudskog mlijeka, s obzirom na to da sadrži visok udio masti. Stoga je za uspješno kvalitativno i kvantitativno određivanje razmatranih spojeva potreban stalan razvoj i optimizacija četiri glavna koraka od kojih se sastoji njihova analiza: priprava uzorka, ekstrakcija analita, pročišćavanje ekstrakta te instrumentna analiza. Cilj je postići što bolju osjetljivost i selektivnost uz što manji utrošak reagensa te vremena i financijskih sredstava. Kao što je navedeno, postoji 209 kongenera PBDE, a s obzirom na njihovu zastupljenost u komercijalnim formulacijama te posljedično i učestalost detekcije u okolišnim i biološkim uzorcima, onečišćenje spojevima PBDE najčešće se prati analizom kongenera BDE-28, -47, -99, -100, -153, -154, -183 i -209.



U okolišnim i biološkim uzorcima određivanje kongenera PBDE s maksimalnim brojem supstituiranih Br atoma, odnosno dekabromiranog difenil-etera (BDE-209), zahtjevnije je nego ostalih kongenera PBDE zbog njegovih fizikalno-kemijskih svojstava. Nije hlapljiv i raspada se pri visokim temperaturama ili u prisutnosti UV svjetlosti na hepta-, okta- i nona-BDE te bromirane dibenzofurane.<sup>14</sup> Okta- i nona-BDE njegovi su glavni razgradni produkti i mogu se pod utjecajem UV svjetlosti dalje raspadati na stabilnije kongenere PBDE supstituirane s manjim brojem Br atoma. Posljedica njegove nestabilnosti je da se postepeno razgrađuje tijekom cijelog analitičkog postupka, od priprave uzorka, ekstrakcije, pročišćavanja pa sve do instrumentne analize. Uz to, BDE-209 se u ionskom izvoru spektrometra masa ponaša drugačije od ostalih kongenera PBDE. Stoga je dobivanje pouzdanih i ponovljivih rezultata jedan od većih izazova u analizi kongenera BDE-209. Njegova razgradnja također predstavlja problem u analizi kongenera okta- i nona-BDE, čiji su maseni udjeli u uzorcima manji od masenih udjela kongenera BDE-209, te ako dođe do njegovog raspada, analize će pokazati previsoke masene udjele kongenera okta- i nona-BDE, a preniske masene udjele kongenera BDE-209. Posljedično, jedan od temeljnih zahtjeva u analizi spojeva PBDE supstituiranih s većim brojem Br atoma je smanjiti razgradnju potpuno bromiranog kongenera BDE-209. Uzorci i ekstrakti bi trebali tijekom cijelog postupka biti zaštićeni od UV svjetlosti, npr. korištenjem posuđa i viala od tamnog stakla ili zamatanjem posuđa aluminijskom folijom. Dodatno, rizik od kontaminacije može se smanjiti zagrijavanjem staklenog posuđa na 450 °C i ispiranjem s otapalom prije upotrebe. Treba obratiti pažnju i na plastične materijale koji su dio opreme nekih instrumenata, a koji također mogu biti izvor kontaminacije.<sup>14</sup>

### *2.9.1. Uzorkovanje, priprava i skladištenje uzoraka kućne prašine i ljudskog mlijeka*

Skupljanje, priprema i skladištenje uzoraka važni su koraci prije procesa ekstrakcije ciljanih spojeva, pri kojima treba smanjiti mogućnost kontaminacije ili razgradnje pojedinih spojeva osjetljivih na visoku temperaturu i UV svjetlo. Kako bi uzorci bili reprezentativni za istraživano mjesto, potrebno je odrediti jedinstvene uvjete načina i područja uzorkovanja.

### Kućna prašina

Uzorci kućne prašine najčešće se prikupljaju pomoću usisavača. Ako se za prikupljanje uzoraka na različitim lokacijama koristi isti usisavač, potrebno je za svaki uzorak u usisavač staviti novu vrećicu i prethodno, koliko je moguće, očistiti unutarnje površine kroz koje prolazi uzorak prašine organskim otapalom (npr. *n*-heksan, aceton).<sup>49,102</sup> Usisavač umjesto vrećice može imati i posudu za skupljanje prašine, koju je također potrebno očistiti na jednak način prije svakog uzorkovanja. Ako se uzorak prikuplja usisavačem vlasnika kućanstva, navedena procedura čišćenja usisavača nije potrebna. Često se za spriječavanje prolaska većih fragmenata kod uzorkovanja koriste najlonske čarape veličine pora 25 µm, koje se navuku na cijev usisavača ili stave unutar usisavača.<sup>38,44,102</sup>

Uzorak prašine najčešće se prikuplja uobičajenim postupkom usisavanja podnih i ostalih površina u prostorijama kuće/stana prema ustaljenom običaju ukućana, a broj i učestalost usisavanja pretežito nije određen.<sup>50,89,92,143</sup> Međutim, u pojedinim slučajevima precizirano je područje skupljanja prašine, npr. dnevna soba i spavaće sobe ili samo dječje sobe,<sup>49,102,104,113</sup> ili određena kvadratura tepiha i poda koji nije prekriven tepihom.<sup>38</sup> Ponekad je određen i period prikupljanja prašine, npr. određeno godišnje doba.<sup>44,102,112</sup> Osim usisavačem, prašina se može skupljati četkicom u posudu ili postavljanjem aluminijske folije na stolac, stol ili drugi namještaj uglavnom visine između 0,5 i 2 m, na koji prirodno pada prašina.<sup>45,70,111,114</sup>

Nakon što je uzorak skupljen i dostavljen u laboratorij, ako je potrebno, uklanjaju se veći fragmenti (npr. plastika, kosa, papir), a ostatak prosije kroz sito od nehrđajućeg čelika veličine pora koje mogu varirati od 60 µm do 2 mm<sup>22,45,50,87,99,144</sup>, no najčešće se koristi sito veličine pora 500 µm.<sup>41,49,90,107,145,146</sup> Uzorci se potom homogeniziraju i do analize pohranjuju na tamno mjesto pri sobnoj temperaturi<sup>41,145–147</sup> ili temperaturi od –20 °C.<sup>44,110,112</sup>

### Ljudsko mlijeko

Uzorci ljudskog mlijeka prikupljaju se od dojlja u različito doba laktacije, ovisno o potrebama istraživanja, tako da dojlja ručno ili pomoću izdajalice u staklenu posudu izdoji od 15 mL do 150 mL mlijeka, ovisno o strategiji/potrebama istraživanja.<sup>63,134–138</sup> Uzorci mlijeka se nakon dopreme u laboratorij mogu skladištiti u tekućem obliku na –20 °C ili liofilizirati i skladištiti pri sobnoj temperaturi ili temperaturi od 4 °C zaštićeni od UV svjetlosti u prethodno opranim i

za to pripremljenim bočicama.<sup>55,137,138</sup> Neposredno prije analize uzorci mlijeka se homogeniziraju.

### 2.9.2. Ekstrakcijske tehnike

Temelj uspješnosti svake analitičke metode je selektivna i iscrpna ekstrakcija ciljanih spojeva iz uzorka, što izravno utječe na pouzdanost rezultata. Izbor ekstrakcijske tehnike ovisi o tipu uzorka i dostupnosti laboratorijske opreme. Kongeneri PBDE imaju široki raspon molekulskih masa i razlikuju se međusobno po fizikalno-kemijskim svojstvima, tako da je potrebna pažljiva optimizacija ekstrakcijskog procesa. Potrebna količina uzorka ovisi o razinama istraživanih spojeva u uzorku i o osjetljivosti detekcijske tehnike. Učinkovitost ekstrakcije ovisi o vrsti otapala, vremenu ekstrakcije, temperaturi, tlaku, a potrebno je uzeti u obzir i ekonomičnost postupka. Visoka temperatura će u većini slučajeva povisiti učinkovitost ekstrakcije sniženjem viskoznosti otapala i površinske napetosti te povećanjem topljivosti analita u otapalu. Međutim, previsoka temperatura može dovesti do razgradnje spojeva PBDE supstituiranih s većim brojem Br atoma: okta-, nona- i deka-BDE, zbog čega ekstrakcijska tehnika za njih neće biti učinkovita.

Ljudsko mlijeko je biološki uzorak koji za razliku od kućne prašine sadrži visoki udio masti, koju je potrebno otopiti u prikladnom otapalu, što u određenim slučajevima može dovesti do stvaranja emulzije, čime se otežava postupak ekstrakcije. Usprkos razlikama u sastavu matrica, za analizu kućne prašine koriste se iste ili slične ekstrakcijske tehnike i otapala kao i za puno složeniji biološki uzorak ljudskog mlijeka, a postupak se najčešće razlikuje u koraku pročišćavanja ekstrakta.

#### 2.9.2.1. Ekstrakcija spojeva PBDE iz uzoraka kućne prašine

Organska otapala koja se najčešće koriste za ekstrakciju spojeva PBDE iz uzoraka kućne prašine su diklormetan, *n*-heksan, aceton, toluen i etil acetat ili njihove smjese u različitim omjerima.<sup>22,44,50,105,106,111,148,149</sup>

Klasična tehnika koja se koristi je ekstrakcija po Soxhletu, čija je upotreba jednostavna, uz minimalnu pripravu uzorka. Međutim, ekstrakcija ciljanih analita je dugotrajna i pritom su potrebni veliki volumeni otapala (100 – 200 mL).<sup>50,103,105,111,148,149</sup>

Danas daleko najčešće korištena tehnika ekstrakcije je ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom (engl. *Ultrasonic Assisted Extraction*, UAE),<sup>22,89,90,92,101,106</sup> te u manjoj mjeri i ekstrakcija potpomognuta visokim tlakom (engl. *Pressurised Liquid Extraction*, PLE, a naziva se još i *Accelerated Solvent Extraction*, ASE).<sup>38,44,107,115,147</sup>

Ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom jednostavan je postupak ekstrakcije u kojem se analiti ekstrahiraju odgovarajućim organskim otapalom uz pomoć ultrazvučnih valova koji prolaze kroz uzorak i otapalo i na taj način pospješuju ekstrakciju. Prednosti ove tehnike su relativna brzina i mogućnost ekstrakcije više uzoraka odjednom, a ne zahtijeva skupu instrumentaciju. Nedostaci su upotreba velikih volumena otapala i moguća potreba za višekratnom ekstrakcijom radi postizanja zadovoljavajuće učinkovitosti.

Tehnika PLE koristi povišenu temperaturu (od 80 °C do 130 °C) i tlak (od 100 °C do 200 bar), pri kojima otapalo za ekstrakciju iznad svog vrelišta ostaje u tekućem stanju i na taj način se povećava kinetika ekstrakcijskog procesa, a vrijeme ekstrakcije i volumen potrebnog otapala značajno se smanjuje. Navedena tehnika može se koristiti samo za polučvrste i čvrste uzorke, što znači da se može primijeniti samo za liofilizirane uzorke ljudskog mlijeka. Aparatura omogućuje učinkovitu i brzu ekstrakciju, primjenom 2 ili 3 ekstrakcijska ciklusa u manje od 30 minuta. Uz to što je automatizirana, pruža mogućnost istovremenog pročišćavanja ekstrakta. Na dno ekstrakcijske ćelije može se dodati prikladni sorbens, npr. kiseli silikagel za oksidaciju masti, Florisil® (magnezijev silikat) ili aluminijev oksid, čime se ekstrakt istovremeno pročišćava.<sup>44,94,115,139</sup> Ponekad je potrebno ekstrakte dodatno pročistiti, međutim u većini slučajeva mogu se izravno analizirati. Iako je navedena tehnika automatizirana, nedostatak je što se procesuiraju uzorci jedan za drugim, a za svaki je potrebno otprilike 25 minuta ako su uključena 3 ekstrakcijska ciklusa. Nadalje, iza svakog uzorka sustav se ispire (istim otapalom koje se koristi i za ekstrakciju) kako bi se izbjegla unakrsna kontaminacija između različitih uzoraka. U obzir treba uzeti i činjenicu da su sama aparatura, ali i njeno korištenje i održavanje relativno skupi.

Tehnika koja unatoč tome što nudi sve navedene prednosti modernih tehnika nije tako učestalo korištena za ekstrakciju spojeva PBDE iz uzoraka kućne prašine je ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima. Tehnika MAE našla je svoju primjenu u ekstrakciji spojeva POPs iz krutih uzoraka kao što su tlo,<sup>150</sup> sediment,<sup>151</sup> prašina,<sup>152</sup> čestice zraka,<sup>153</sup> hrana<sup>154</sup> i životinjsko tkivo<sup>155</sup>. Međutim, u slučaju prašine, uz nedavno objavljene radove proizašle u

sklopu ove disertacije, pregledom literature pronađena su samo dva rada od iste skupine autora iz Španjolske u kojima je tehnika MAE korištena za ekstrakciju spojeva PBDE.<sup>144,156</sup>

Navedena tehnika podrazumijeva ekstrakciju otapalom, ubrzanu i pospješenu mikrovalnom energijom kojom se griju uzorak i otapalo. Mikrovalna energija je neionizirajuće zračenje koje uzrokuje gibanje iona i rotaciju dipolnog momenta, a snaga mikrovalova mora biti dovoljna kako bi se postiglo vrelište otapala. Stoga je za uspješnu ekstrakciju potrebno koristiti polarno otapalo, a stupanj apsorpcije mikrovalova povećava se s dielektričnom konstantom otapala. Za ekstrakciju hidrofobnih spojeva PBDE koristi se nepolarno otapalo, ali uz dodatak polarnog otapala u određenom udjelu kako bi se smjesa mogla uspješno zagrijati primjenom mikrovalova. Glavne prednosti ove tehnike su: smanjena upotreba otapala, smanjeno vrijeme ekstrakcije jer se ekstrakcija može provoditi pri temperaturama višim od vrelišta otapala, povećanje analitičkog povrata, mogućnost automatizacije i obrade većeg broja uzoraka istovremeno. Nedostatak je nepoznati učinak mikrovalova na analite, a ekstrakti najčešće zahtijevaju daljnje pročišćavanje.

#### 2.9.2.2. Ekstrakcija spojeva PBDE iz uzoraka ljudskog mlijeka

Ekstrakcija analita iz uzorka ljudskog mlijeka može se provoditi korištenjem mlijeka u izvornom tekućem ili čvrstom (nakon postupka liofilizacije) agregatnom stanju. Organska otapala koja se koriste za ekstrakciju spojeva PBDE iz uzoraka ljudskog mlijeka su *n*-heksan, diklormetan, aceton, dietil-eter, *tert*-butil-eter, *n*-pentan ili njihove smjese u različitim omjerima.<sup>55,121,126,131,134,135,137,141,157</sup> Često se uz prikladno otapalo dodaje i sredstvo za denaturaciju proteina, a za to se najčešće koriste kalijev ili natrijev oksalat, mravlja kiselina, etanol ili propan-2-ol.<sup>63,121,133,134,157</sup>

Za tekuće se uzorke mlijeka najčešće primjenjuju klasična tehnika ekstrakcije tekuće-tekuće (engl. *Liquid-Liquid Extraction*, LLE),<sup>55,56,121,137</sup> a u manjoj mjeri ekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. *Solid Phase Extraction*, SPE)<sup>131,133</sup> i ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom.<sup>158</sup> Za ekstrakciju liofilizata mlijeka koriste se ekstrakcija po Soxhletu,<sup>120,123,132</sup> ekstrakcija potpomognuta visokim tlakom<sup>135,136,139,142,159</sup> i također ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom.<sup>141</sup>

Tehnika LLE ne zahtijeva skupu i suvremenu instrumentaciju, što ju čini relativno jeftinom i jednostavnom tehnikom. Temelji se na razdiobi otopljene tvari između dva otapala

različite polarnosti koja se međusobno ne miješaju. Zbog potrebe višekratnog ponavljanja postupka, dugotrajna je i potrebne su velike količine reagensa kako bi se osigurala detekcija ciljanih spojeva prisutnih u niskim masenim udjelima u mlijeku.

Druga klasična tehnika koja se najčešće koristi je tehnika SPE. Ona se temelji na sorpciji analita na sorbentu smještenom u nosač u obliku diska ili stupca. Kada se tekući uzorak propusti kroz takav stupac, spojevi od interesa vežu se za sorbens, a kasnije se sa sorbenta ispiru odgovarajućim volumenom prikladnog otapala. Prednost ove tehnike je smanjeni utrošak otapala i mogućnost upotrebe svih vrsta otapala, a odabirom prikladnog sorbenta i otapala moguće je u jednom koraku odvojiti analite od matrice uzorka te pročititi i ukoncentrirati uzorak.

Općenito, pregledom literature uočava se da je MAE vrlo rijetko korištena za ekstrakciju analita iz tekućih uzoraka,<sup>61,160–163</sup> a od toga su samo tri rada<sup>61,160,164</sup> uključivala organska zagađivala. Prema nama dostupnim literaturnim podacima, tehnika MAE nikad nije korištena kao ekstrakcijska tehnika za uzorke ljudskog mlijeka.

### 2.9.3. Pročišćavanje ekstrakta

Ekstrakti kućne prašine i ljudskog mlijeka uz ciljane spojeve PBDE sadrže i druge halogenirane organske spojeve i složenu matricu, što sve zajedno negativno utječe na selektivnost i djelotvornost kromatografskog sustava, povećava nesigurnost analize te umanjuje točnost i preciznost analitičkog postupka. Stoga je cilj postupka pročišćavanja odvajanje ciljanih spojeva od matrice i drugih interferirajućih spojeva, što je često vrlo zahtjevno te je potreban vrlo iscrpan i selektivan postupak. Ovisno o vrsti analita i uzorka, pročišćavanje se može sastojati od jednog ili više uzastopnih koraka. Tip pročišćavanja uvelike ovisi o analiziranom uzorku. Kućna prašina sadrži visok udio organske tvari (kosa, stanice kože, čestice tla), a ljudsko mlijeko prvenstveno visok udio masti i proteina, koji mogu ometati kromatografsku analizu. Uklanjanje masti može se provesti destruktivnim ili nedestruktivnim tehnikama. S obzirom na to da su spojevi PBDE stabilni pri kiselim uvjetima, najjednostavnija destruktivna tehnika koja se često koristi je dodatak koncentrirane sumporne kiseline izravno na ekstrakt.<sup>110,114,139</sup> Druga mogućnost uklanjanja masti je nedestruktivnom tehnikom gel propusne kromatografije (engl. *Gel Permeation Chromatography*, GPC), gdje se organsko otapalo (najčešće smjesa  $\psi$ (diklormetan, *n*-heksan)=1:1) koristi kao pokretna faza.<sup>55,120,157</sup>

Za pročišćavanje ekstrakta može se koristiti i tehnika SPE, a najčešći sorbensi koji se koriste su Florisil®,<sup>105,135</sup> aluminijev oksid<sup>165</sup> i silikagel, koji može biti ili neutralni<sup>39,45</sup> ili modificiran s koncentriranom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.<sup>49,141,148</sup> Silikagel se može modificirati i s jakim lužinama poput NaOH i KOH, ali to se ne koristi često s obzirom na to da lužine mogu uzrokovati gubitak Br atoma iz spojeva PBDE supstituiranih s većim brojem Br atoma.<sup>14</sup> Nerijetko se koriste i višeslojne kolone koje sadrže kiseli i neutralni silikagel ili kiseli i lužnati silikagel ili kombinaciju sva tri.<sup>50,70,166</sup> Moguće je povezati niz od nekoliko kolona s različitim sorbensima ako je to potrebno,<sup>105,159</sup> koristiti višeslojne kolone s različitim sorbensima<sup>99,107</sup> ili koristiti jednostavnu destruktivnu tehniku dodatka koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> u kombinaciji s tehnikom SPE ili GPC.<sup>38,55,90,132,138,146</sup> Izborom prikladnog eluensa, može se primjenom odgovarajućeg sorbensa ekstrakte istovremeno pročistiti i frakcionirati kako bi se ekstrahirani spojevi prije analize odvojili u više frakcija koje sadrže jednu ili više skupina spojeva. Spojevi PBDE se dodaju na kolonu otopljeni u *n*-heksanu, a eluiraju najčešće diklormetanom, *n*-heksanom ili smjesom *n*-heksana i diklormetana u različitim omjerima.<sup>41,50,70,99,138,145</sup> Kolone s odgovarajućim sorbensom mogu se pripremiti u laboratoriju, a mnoge su i komercijalno dostupne.

#### 2.9.4. Kvalitativna i kvantitativna analiza polibromiranih difenil-etera

Vrsta kromatografije koja se primjenjuje za analizu ciljanih analita ovisi o njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima. Najprikladnija fizikalna metoda separacije za analizu poluhlapljivih spojeva PBDE je plinska kromatografija (engl. *Gas Chromatography*, GC), gdje je odvajanje sastojaka na koloni uvjetovano razlikom u njihovoj hlapljivosti. Spojevi PBDE su nepolarni i stoga su za njihovo učinkovito odvajanje i određivanje najprikladnije nepolarne i srednje polarne visokodjelotvorne kapilarne kolone zbog manjeg otpora protoku plina nosioca i zbog manjeg pada tlaka duž kolone, čime se postiže optimalan protok plina. Helij se najčešće upotrebljava kao plin nosioc, a dušik kao „*make-up*“ plin. Najčešća nepokretna faza je dimetilpolisiloksan koji sadrži 5 % fenilnih skupina, a na tržištu je takva kolona dostupna pod različitim komercijalnim imenima poput HP-5MS, DB-5HT, DB-5MS i RTX-1614. Dok su kolone duljine 30 m optimalne za odvajanje spojeva PBDE supstituiranih s manjim brojem Br atoma, za analizu spojeva PBDE susptituiranih s većim brojem Br atoma, posebno kongenera

BDE-209, potrebne su kraće kolone, najčešće od 15 m, kako bi se spriječila mogućnost njihovog raspada tijekom duljeg izlaganja visokoj temperaturi.

Za analizu spojeva PBDE preporuča se korištenje injektora za djelomično unošenje uzorka u kapilarnu kolonu („*split/splitless*“ injektor), čime je omogućena visoka osjetljivost.

Što se tiče detekcije spojeva PBDE, potrebno je koristiti analitičke tehnike koje pružaju dovoljno niske granice određivanja i daju pouzdane rezultate. Za to se često upotrebljava detektor zahvata elektrona (engl. *Electron Capture Detector*, ECD), zbog relativno niske cijene opreme i njezinog održavanja.<sup>41,45,55,138,145,146,158</sup> Navedeni detektor osjetljiv je i selektivan za organohalogene spojeve, a dobiveni kromatogrami su jednostavni za interpretaciju. Radi na principu ionizacije plina nosioca na izlasku iz kromatografske kolone pomoću izvora  $\beta$ -zračenja ( $^{63}\text{Ni}$  ili  $^3\text{H}$ ), čime nastaje stalna struja slobodnih elektrona koji zatim putuju prema sabirnoj elektrodi – anodi. Plin nosioc eluira molekule analita s kromatografske kolone, a ukoliko analit sadrži elektrofilne skupine, dolazi do vezanja slobodnih elektrona na njih i smanjenja ukupne struje elektrona, što se detektira kao kromatografski pik. Glavni nedostatak ove tehnike je mala selektivnost ako se u uzorku nalaze drugi spojevi koji sadrže visoko elektronegativne atome te je velika mogućnost njihovog koeluiranja, s obzirom na to da se određivanje spojeva temelji na njihovim vremenima zadržavanja na kromatografskoj koloni. Koeluiranje se može izbjeći selektivnim pročišćavanjem ekstrakta i frakcioniranjem prije instrumentne analize. Navedeni problem najčešće se javlja kod spojeva PBDE supstituiranih s manjim brojem Br atoma, dok je kod analize spojeva PBDE supstituiranih s većim brojem Br atoma manja vjerojatnost koeluiranja s drugim halogeniranim spojevima jer imaju dulja vremena zadržavanja na koloni od većine drugih spojeva. Ipak, radi što sigurnijeg određivanja ciljanih spojeva, uzorci se često analiziraju na dvije paralelne kolone različite polarnosti. Uz prethodno navedenu nepolarnu kolonu s 5 % fenilnih skupina, koristi se druga polarnija kolona (npr. DB–1701) na kojoj analiti imaju drugačija vremena zadržavanja. Osim toga, rezultati se mogu potvrditi i tehnikom GC uz detektor spektrometrije masa (engl. *Mass Spectrometry*, MS) ili tandemne spektrometrije masa (MS/MS).<sup>136,138,141,145</sup>

Spektrometrija masa omogućuje kvalitativno i kvantitativno određivanje spojeva na temelju omjera mase i naboja ( $m/z$ ) iona fragmenata analiziranih kongenera PBDE, što ju čini visoko selektivnom tehnikom. Tehnike ionizacije koje se najčešće koriste za određivanje spojeva PBDE u uzorcima kućne prašine i ljudskog mlijeka su ionizacija elektronima (engl. *Electron Ionization*, EI),<sup>38,108,111,135,141</sup> ionizacija niskoenergijskim elektronima (engl. *Electron*



*Capture Negative Ionization, ECNI*<sup>39,49,50,63,139</sup> i negativna kemijska ionizacija (engl. *Negative Chemical Ionization, NCI*).<sup>22,56,70,92,157</sup> Tehnike ECNI i NCI imaju veću osjetljivost od tehnike EI, međutim određivanje spojeva temelji se samo na razlikama u vremenima zadržavanja, a odziv se smanjuje s povećanjem broja Br atoma. Tehnika EI je selektivnija jer daje više informacija o strukturi ioniziranih spojeva. Jedna od najselektivnijih i najosjetljivijih tehnika koja se koristi u analizi spojeva PBDE je spektrometrija masa visoke rezolucije (engl. *High Resolution Mass Spectrometry, HRMS*) uz ionizaciju elektronima.<sup>90,125,142</sup> Može postići rezoluciju višu od 4000, a osjetljivost za spojeve većih molekulskih masa nije smanjena jer učinkovitost prijenosa iona kroz kvadrupolni analizator masa nije ovisna o masi zbog dodatnih magnetskih i električnih komponenti.

## § 3. MATERIJALI I METODE

### 3.1. Analizirani spojevi

U ovom radu analizirano je sedam kongenera polibromiranih difenil-etera, čiji su nazivi i strukturne kemijske formule prikazani u Tablici 3.1.

**Tablica 3.1.** Popis spojeva analiziranih u ovom radu i njihove strukturne formule

Kratica	Naziv spoja prema nomenklaturi IUPAC	Strukturna formula
BDE-28	2, 4, 4'- tribromodifenil-eter	
BDE-47	2, 2', 4, 4'- tetrabromodifenil-eter	
BDE-99	2, 2', 4, 4',5- pentabromodifenil-eter	
BDE-100	2, 2', 4, 4', 6- pentabromodifenil-eter	
BDE-153	2, 2', 4, 4', 5, 5'- heksabromodifenil-eter	
BDE-154	2, 2', 4, 4', 5, 6'- heksabromodifenil-eter	
BDE-183	2, 2', 3, 4, 4', 5, 6'- heptabromodifenil-eter	

## 3.2. Kemikalije, instrumenti i pribor

### 3.2.1. Kemikalije

- certificirane standardne otopine pojedinačnih kongenera PBDE: BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154 i BDE-183 ( $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  u *n*-nonanu), LGC Standards GmbH, Wesel, Njemačka
- certificirane standardne otopine kongenera BDE-77 (3,3',4,4'- tetrabromodifenil-eter) i BDE-128 (2,2',3,3',4,4'-heksabromodifenil-eter) ( $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  u *n*-nonanu) korištene kao surogatni standardi, LGC Standards GmbH, Wesel, Njemačka
- certificirani referentni materijal 2585 „*Organic Contaminants in House Dust*“, National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, MS, SAD
- *n*-heksan,  $\geq 99,0 \%$ , Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka
- aceton,  $\geq 99,8 \%$ , Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka
- diklormetan,  $\geq 99,8 \%$ , Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka
- kloroform,  $\geq 99,0 \%$ , Kemika, Zagreb, Hrvatska
- etanol,  $\geq 96,0 \%$ , Kemika, Zagreb, Hrvatska
- metanol,  $\geq 99,9 \%$ , J. T. Baker, Avantor Performance Materials, Deventer, Nizozemska
- acetonitril,  $\geq 99,9 \%$ , Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka
- mravlja kiselina,  $\geq 98,5 \%$ , Kemika, Zagreb, Hrvatska
- propan-2-ol,  $\geq 99,9 \%$ , Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka
- sumporna kiselina, 95 – 97 %, *p.a.*, Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka
- natrijev hidroksid (2 – 5 mm),  $\geq 98,6 \%$ , Kemika, Zagreb, Hrvatska
- bezvodni natrijev sulfat,  $\geq 99,0 \%$ , Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka
- kolona SPE ispunjena silikagelom (1 g/6 mL i 2 g/6 mL), Alphachrom, Rockville, MD, SAD
- kolona SPE ispunjena aluminijevim oksidom (1 g/6 mL), Alphachrom, Rockville, MD, SAD
- kolona SPE ispunjena Florisil® (2 g/6 mL), J. T. Baker, Deventer, Nizozemska
- silikagel 60 (0,063 – 0,200 mm), Merck, Darmstadt, Njemačka
- destilirana deionizirana voda pripravljena primjenom sustava Mili-Q za pročišćavanje vode, Milipore® (18 M $\Omega$  cm), Bedford, MA, SAD

- dušik 5.5 (99,9995 %), SOL SPA, Monza, Italija
- dušik 5.0 (99,999 %), SOL SPA, Monza, Italija
- helij 6.0 (99,9999 %), SOL SPA, Monza, Italija

### 3.2.2. Instrumenti i pribor

- plinski kromatograf Agilent 7890B opremljen s automatskim uzorkivačem (Agilent 7693 A), dvije kolone i dva mikrodetektora zahvata elektrona ( $^{63}\text{Ni}$ ), Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD
- plinski kromatograf Agilent 7890B opremljen s automatskim injektorom (PAL RTC 120) i trostrukim kvadrupolnim spektrometrom masa (Agilent 7000 C) uz ionizaciju elektronima, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD
- liofilizator LABCONCO FreeZone Plus 2.5 Liter, LABCONCO, Kansas City, MO, SAD
- uređaj za ekstrakciju potpomognutu mikrovalovima MarsX, CEM Corporation, Matthews, NC, SAD opremljen s Teflon® TFM kivetama za ekstrakciju (100 mL), GreenChem Plus, CEM Corporation, Matthews, NC, SAD
- centrifuga Centric 322A, Tehnica, Železniki, Slovenija
- uparivač sa strujom dušika, N-evap, The Meyer, Washington, SAD
- analitička vaga Mettler Toledo PN1201, Greifensee/Zürich, Švicarska
- tehnička vaga Mettler AX205 DeltaRange, Greifensee, Švicarska
- tresilica IKA MS 3 control, Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka
- rotator uzoraka Multi Bio RS-24, Biosan, Riga, Latvija
- zamrzivač Ultra-Low Temperature Freezer, New Brunswick, Eppendorf AG, Hamburg, Njemačka
- sito ( $200 \times 50$  mm) veličine pora  $500 \mu\text{M}$ , Retsch GmbH, Haan, Njemačka
- pipete ep T.I.P.S., Eppendorf, Hamburg, Njemačka
- PP štrcaljke BD DISCARDIT 300928 BX10, 2 mL, King Scientific, West Yorkshire, Velika Britanija
- filtri PTFE Minispikes, veličina pora  $0,2 \mu\text{m}$ , Acrodisc CR13, Waters, Milford, MA, SAD

- vialne Screw Cap Blue PTFE/Silicone Septa, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD
- prazne kolone Bond Elut (12 mL) za tehniku SPE, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD
- frite (15,9 mm) za kolone SPE, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD

### 3.3. Radni uvjeti plinskrokromatografske analize

#### 3.3.1. Plinska kromatografija uz detektor zahvata elektrona (GC- $\mu$ ECD)

Plinski kromatograf Agilent 7890B opremljen s injektorom za djelomično unošenje uzorka („split/splitless“ injektor) u kapilarnu kolonu, dvije kapilarne kolone od taljenog silicijevog dioksida duljine 30 m, unutarnjeg promjera 0,25 mm i debljine filma stacionarne faze 0,25  $\mu$ m (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) i dva mikrodetektora zahvata elektrona

**kolona DB-1701** → stacionarna faza: 14 % cijanopropilfenil – 86 % dimetilpolisiloksan

**kolona HP-5MS** → stacionarna faza: 5 % fenil – 95 % dimetilpolisiloksan

Temperaturni program pećnice: programirano zagrijavanje od početnih 90 °C (zadržavanje 1 min) do 280 °C (zadržavanje 7 min) brzinom 20 °C min<sup>-1</sup>, a zatim do 300 °C (zadržavanje 5 min) brzinom 5 °C min<sup>-1</sup>

protok plina nosioca (He): 1,2 mL min<sup>-1</sup>

protok „make-up“ plina (N<sub>2</sub>): 28,8 mL min<sup>-1</sup>

temperatura injektora: 270 °C

temperatura detektora: 300 °C

volumen injektiranog uzorka: 1  $\mu$ L („splitless“)

#### 3.3.2. Plinska kromatografija uz tandemnu spektrometriju masa (GC-MS/MS)

Plinski kromatograf Agilent 7890B opremljen s automatskim injektorom s programiranom temperaturom isparavanja (engl. *Programmable Temperature Vaporization*, PTV) i velikim volumenom injektiranja (engl. *Large Volume Injection*, LVI), kapilarnom kolonom od taljenog silicijevog dioksida **HP-5MS Ultra Inert** duljine 30 m, unutarnjeg promjera 0,25 mm i debljine

filma stacionarne faze 0,25  $\mu\text{m}$  (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) i trostrukim kvadrupolnim spektrometrom masa uz ionizaciju elektronima (Agilent 7000C)

Temperaturni program pećnice: programirano zagrijavanje od početnih 58 °C (zadržavanje 2,59 min) do 250 °C brzinom 60 °C  $\text{min}^{-1}$ , zatim do 270 °C brzinom 10 °C  $\text{min}^{-1}$ , i do 300 °C (zadržavanje 2 min) brzinom 2 °C  $\text{min}^{-1}$

protok plina nosioca (He): 1 mL  $\text{min}^{-1}$

temperatura ionskog izvora: 340 °C

temperaturni program injektiranja: programirano zagrijavanje od 60 °C (zadržavanje 0,1 min) do 325 °C brzinom 600 °C  $\text{min}^{-1}$  (zadržavanje 5 min) uz protok He od 1 mL  $\text{min}^{-1}$

temperatura međuspoja: 340 °C

temperatura kvadrupola: 180 °C

volumen injektiranog uzorka: 4  $\mu\text{L}$

**Tablica 3.2.** Najintenzivniji fragmentni ioni  $m/z$  primijenjeni za određivanje spojeva PBDE upotrebom tehnike GC–MS/MS uz ionizaciju elektronima

Spoj	Prekursor ion / $m/z$	Produkt ion / $m/z$	Kolizijska energija / eV
BDE-28	408	248	20
	246	139	30
BDE-47	486	326	20
	326	217	30
BDE-99	566	406	30
	564	404	20
BDE-100	566	406	30
	564	404	20
BDE-153	484	375	40
	484	484	5
BDE-154	484	375	40
	484	484	5
BDE-183	564	564	5
	562	562	5

### 3.4. Priprava standardnih otopina

Standardne otopine pojedinačnih kongenera PBDE, uključujući i surogatne standarde, pripravljene su u *n*-heksanu iz certificiranih izvornih standardnih otopina masenih koncentracija  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  u *n*-nonanu. Surogatni standardi kemijski su slični spojevi spojevima od interesa, koji se pri određenoj koncentraciji dodaju u svaki uzorak prije postupka ekstrakcije i prolaze cjelokupni postupak analize. Koriste se kako bi se utvrdila učinkovitost metode, odnosno korigirao gubitak analita od interesa tijekom analitičkog postupka. Standardna otopina smjese kongenera PBDE u *n*-heksanu ( $\gamma = 250 \text{ ng mL}^{-1}$ ) pripravljena je iz pojedinačnih standardnih otopina analita i dvaju surogatnih standarda. Daljnjim razrjeđivanjem standardne otopine smjese kongenera PBDE u *n*-heksanu, pripremljen je niz standardnih otopina smjese kongenera PBDE korištenih za određivanje linearnosti odziva plinskromatografskog detektora te plinskromatografsku analizu uzoraka (Tablica 3.3.)

**Tablica 3.3.** Masene koncentracije kongenera PBDE u standardnim otopinama korištenim za određivanje linearnosti odziva plinskromatografskog detektora te plinskromatografsku analizu

Spoj	Standardna otopina ( $\gamma / \text{ng mL}^{-1}$ )						
	St1 <sup>a,b</sup>	St2 <sup>a</sup>	St3 <sup>a</sup>	St4 <sup>a,b</sup>	St5 <sup>b</sup>	St6 <sup>b</sup>	St7 <sup>b</sup>
BDE-28	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00
BDE-47	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00
BDE-99	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00
BDE-100	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00
BDE-153	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00
BDE-154	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00
BDE-183	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00
<b>BDE-77</b>	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00
<b>BDE-128</b>	1,00	10,00	25,00	50,00	100,00	150,00	200,00

<sup>a</sup> standardne otopine korištene u analizi ljudskog mlijeka; <sup>b</sup> standardne otopine korištene u analizi kućne prašine

### 3.5. Uzorci kućne prašine i ljudskog mlijeka

Za prikupljanje uzoraka kućne prašine i ljudskog mlijeka regrutirane su ispitanice koje žive u Zagrebu i bližoj okolini. Sve ispitanice potpisale su obrazac *Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju* (Prilog 1. u Dodatku). Također, ispunile su *Anketni obrazac* (Prilog 2. u Dodatku) koji sadrži pitanja o karakteristikama kućanstva (npr. vrsta i godina gradnje, površina prekrivena sagovima, broj tapeciranog namještaja, broj tekstilnih zavjesa, broj električnih/elektroničkih uređaja), broju ukućana, navikama ukućana (učestalost provjetravanja i usisavanja, procjena sati korištenja pojedinih električnih/elektroničkih uređaja po danu) te pitanja vezana uz prehranu majke i njezinim ostalim navikama tijekom trudnoće. Ovo istraživanje odobrilo je Etičko povjerenstvo Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu. Prikupljeno je ukupno 30 uzoraka ljudskog mlijeka i prašine iz kućanstva ispitanica u razdoblju od ožujka 2019. do siječnja 2022.

#### 3.5.1. Uzorkovanje kućne prašine i obrada uzoraka

U kućanstvima ispitanica uzorak kućne prašine prikupljali su ukućani njihovim vlastitim usisavačem otprilike mjesec dana (računavši od dana rođenja djeteta) uobičajenim postupkom usisavanja prema navikama i potrebama ukućana. Nakon što je uzorak prikupljen i dopremljen u laboratorij, uklonjeni su veći fragmenti (npr. plastika, kosa, igračke, papir). Uzorak je zatim dva puta prosijan kroz prethodno oprano sito veličine pora 500  $\mu\text{m}$ , homogeniziran tijekom 24 h pomoću rotatora, i pohranjen u čistu staklenu posudu s poklopcem na tamno i suho mjesto pri sobnoj temperaturi do daljnje obrade i analize.

Za optimiranje analitičkog postupka određivanja spojeva PBDE korišten je realni uzorak prašine prikupljen u kućanstvu.

#### 3.5.2. Uzorkovanje ljudskog mlijeka

Uzorci ljudskog mlijeka prikupljeni su tako da su se ispitanice izdojile ručno ili pomoću izdajalice otprilike 30. dan od dana poroda u prethodno opranu staklenu posudu s čepom koju



su zatim pohranile u zamrzivač. U najkraćem mogućem roku uzorci su dopremljeni u laboratorij i pohranjeni na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  do daljnje obrade i analize.

Za optimiranje analitičkog postupka određivanja spojeva PBDE korišten je uzorak mlijeka prikupljen u velikom volumenu od ispitanice koja je dojila drugorođeno dijete.

#### *3.5.2.1. Priprava uzorka ljudskog mlijeka za liofilizaciju i liofilizacija*

Nakon što je odmrznut i homogeniziran, tekući uzorak ljudskog mlijeka razdijeljen je na podjednake volumene ( $\sim 20\text{ mL}$ ) u staklene posude za liofilizaciju tako da površina uzorka bude što veća i zamrznut na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Zamrznuti uzorak liofiliziran je pri temperaturi komore liofilizatora od  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  tijekom 48 h. Zatim je homogeniziran tijekom 12 h pomoću rotatora i pohranjen u staklenu posudu s čepom u eksikator na sobnoj temperaturi do daljnje obrade i analize. Bilo je potrebno otprilike 50 mL tekućeg mlijeka za dobivanje 5 g liofiliziranog mlijeka.

### **3.6. Analitički postupci za određivanje polibromiranih difenil-etera u uzorcima kućne prašine**

#### *3.6.1. Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima spojeva PBDE iz kućne prašine*

Prije razvoja metode ekstrakcije spojeva PBDE pomoću tehnike MAE, istražen je mogući utjecaj mikrovalova na spojeve PBDE tako da je u kivetu za ekstrakciju dodano 19 mL smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  i 1 mL standardne otopine smjese kongenera PBDE masene koncentracije  $1000\text{ ng mL}^{-1}$ . Ekstrakcija je provedena pri sljedećim uvjetima: zagrijavanje smjese otapala i standarda kroz 5 minuta do temperature od  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , vrijeme ekstrakcije 10 minuta, srednja brzina miješanja magneta i maksimalna snaga mikrovalova od 300 W. Alikvot ekstrakta analiziran je plinskom kromatografijom uz detektor zahvata elektrona na kolonama HP-5MS i DB-1701. Potencijalni gubitak analita praćen je određivanjem analitičkog povrata, odnosno usporedbom masenih udjela svakog pojedinog kongenera određenih u konačnom ekstraktu s njihovim masenim udjelima u standardnoj otopini korištenoj za ekstrakciju. Dobiveni analitički povrati pokazali su da mikrovalovi ne uzrokuju raspad ciljanih spojeva PBDE.

### 3.6.1.1. Preliminarno istraživanje učinkovitosti otapala

Kako bi se odabralo najprikladnije otapalo za kvantitativnu ekstrakciju spojeva PBDE iz kućne prašine provedeno je preliminarno istraživanje učinkovitosti (analitički povrat, ponovljivost) ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz uzorka kućne prašine primjenom šest različitih smjesa otapala:  $\psi(n\text{-heksan, NaOH (10 \%, aq)})=2:1$ ,  $\psi(n\text{-heksan, propan-2-ol})=1:1$ ,  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$ ,  $\psi(n\text{-heksan, H}_2\text{O})=10:1$ ,  $\psi(n\text{-heksan, diklormetan})=9:1$  i  $\psi(n\text{-heksan, diklormetan})=1:1$ . Istražena je i učinkovitost istovremene ekstrakcije i pročišćavanja primjenom smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  uz dodatak 2 g, odnosno 4 g Florisila® prethodno aktiviranog pri 130 °C tijekom 24 h. Analitički povrati i ponovljivost rezultata istraženi su korištenjem obogaćenih uzoraka prašine (za svaku smjesu otapala korišteno je pet alikvota prašine s dodatkom standardne otopine smjese kongenera PBDE masene koncentracije 10 ng mL<sup>-1</sup>) čiji su maseni udjeli pojedinih kongenera korigirani za masene udjele istih spojeva detektiranih u dva alikvota prašine u koje nisu dodani. Na 1 g uzorka prašine u kiveti za ekstrakciju dodano je 20 mL odabrane smjese otapala, a tehnika MAE provedena je pri sljedećim uvjetima: zagrijavanje smjese otapala i uzorka kroz 5 minuta do temperature od 80 °C, vrijeme ekstrakcije 10 minuta, srednja brzina miješanja magneta i maksimalna snaga mikrovalova od 1200 W. Nakon hlađenja do sobne temperature, ekstrakt je dekantiran u staklene kivete za centrifugiranje i centrifugiran 5 minuta pri 1948 m s<sup>-2</sup>. Supernatant je odvojen u epruvete za centrifugu i reduciran u blagoj struji N<sub>2</sub> do 2 mL, a nakon dodatka *n*-heksana do 5 mL, centrifugiran je 5 minuta pri 1989 m s<sup>-2</sup>. U slučaju smjesa otapala s NaOH ili H<sub>2</sub>O, prije dodatka *n*-heksana dodan je bezvodni Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> za uklanjanje suviška vode. Nakon što je supernatant odvojen u epruvetu za centrifugu, pročišćen je dodatkom 4 mL koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, vorteksiran i zatim centrifugiran 5 minuta pri 1989 m s<sup>-2</sup>. Supernatant je odvojen, uparen do 1 mL i ponovno pročišćen dodatkom 1 mL koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, vorteksiran i zatim centrifugiran 5 minuta pri 1989 m s<sup>-2</sup>. Odvojeni supernatant, odnosno pročišćeni ekstrakt uzorka kućne prašine (1 mL), profiltriran je kroz filtre veličine pora 0,2 μm i razdijeljen u dvije viala prije plinskrokromatografske analize.

### 3.6.1.2. Optimiranje parametara ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz kućne prašine

Kako bi se istražio utjecaj najvažnijih parametara tehnike MAE koji utječu na učinkovitost ekstrakcije spojeva PBDE iz uzoraka prašine, osmišljen je eksperiment prema potpunom faktorskom dizajnu eksperimenta (engl. *Full Factorial Design*, FFD) koji uključuje jedan kvalitativni (vrsta otapala) i tri kvantitativna faktora (volumen otapala, temperatura i vrijeme ekstrakcije). Prema postignutim vrijednostima analitičkih povrata i ponovljivosti postupka iz preliminarnog istraživanja učinkovitosti otapala, izdvojene su dvije smjese otapala koje su uključene u daljnja istraživanja. Minimalne i maksimalne vrijednosti kvantitativnih parametara odabrane su na temelju podataka iz literature i osobnog iskustva istraživača kako bi se u obzir uzeo smislen raspon vrijednosti. Uz njih, za svaki parametar istražene su i odgovarajuće centralne točke. Eksperimenti za svaku kombinaciju radnih uvjeta (Tablica 3.4.) i za svako otapalo izvedeni su dva puta kako bi se omogućila procjena eksperimentalne pogreške i linearnosti. Rezultati su izraženi kao maseni udjeli pojedinih kongenera PBDE i sume masenih udjela svih spojeva PBDE ( $\Sigma$ PBDE) detektiranih u uzorku prašine bez dodatka standardne otopine smjese ciljanih analita. Ovaj dizajn omogućio je dobivanje procjene učinka svakog faktora zasebno, kao i učinaka njihove jednosmjerne interakcije. Ako se utvrdi da bilo koji od kvantitativnih parametara ima značajan učinak na tehniku MAE, u drugom koraku novim setom pokusa osmišljenim prema središnjem kompozitnom dizajnu (engl. *Central Composite Design*, CCD) dodatno bi se optimirale vrijednosti tih parametara.

**Tablica 3.4.** Odabrani kvantitativni faktori za potrebe optimiranja tehnike MAE upotrebom potpunog faktorskog dizajna eksperimenta (svaka serija ponovljena je sa smjesom otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  i  $\psi(n\text{-heksan, H}_2\text{O})=10:1$ )

Oznaka eksperimenta	Temperatura / °C	Volumen otapala / mL	Vrijeme ekstrakcije / min
1	100	30	12,5
2	80	40	5
3	80	40	5
4	80	20	20
5	100	30	12,5
6	80	20	5
7	120	20	5
8	120	40	5
9	120	40	20
10	100	30	12,5
11	120	20	5
12	100	30	12,5
13	80	40	20
14	120	20	20
15	80	20	20
16	120	40	5
17	80	40	20
18	80	20	5
19	120	40	20
20	120	20	20

### 3.6.2. Optimizacija postupka pročišćavanja ekstrakta

Za optimizaciju postupka pročišćavanja ekstrakta korišten je uzorak prašine čiji je kromatogram pokazao prisutnost najviše interferencija i najvišu baznu liniju. Nakon ekstrakcije spojeva PBDE iz navedenog uzorka pri prethodno odabranim uvjetima, ekstrakt navedene prašine pročišćen je jednom s koncentriranom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, a zatim je dodana standardna otopina smjese ciljanih kongenera PBDE i surogatnih standarda (BDE-77 i BDE-128) masene koncentracije 50 ng mL<sup>-1</sup>.

Kao drugi korak pročišćavanja korištena je tehnika ekstrakcije na čvrstoj fazi, a učinkovitost je procijenjena na temelju bazne linije kromatograma i količine interferencija

prisutnih u kromatogramu te izračunom analitičkog povrata svih ciljanih kongenera te surogatnih standarda kako bi se procijenila njihova primjenjivost kasnije u rutinskoj analizi realnih uzoraka. Potencijalni gubitak analita praćen je određivanjem analitičkih povrata, odnosno usporedbom masenih udjela pojedinog analita i surogatnog standarda u pročišćenom ekstraktu s njihovim masenim udjelima u standardnoj otopini dodanoj prije pročišćavanja. Kolone sorbensa kondicionirane su s 10 mL *n*-heksana, a spojevi PBDE eluirani sa sloja sorbensa primjenom određenog otapala u frakcijama od 15 mL, 5 mL i 5 mL koje su analizirane zasebno kako bi se utvrdio optimalan volumen otapala potreban za učinkovito eluiranje.

Isprobane su tri vrste komercijalno dostupnih SPE kolona (silikagel, aluminijev oksid i Florisil®) u kombinaciji s dva eluensa, *n*-heksan i  $\psi$ (*n*-heksan, diklormetan)=9:1. Višeslojne kolone SPE pripravljene u laboratoriju sadržavale su različite mase neutralnog silikagela (S), silikagela modificiranog koncentriranom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (44 %, w/v), tzv. kiselog silikagela (K), i silikagela modificiranog s 0,1 mol L<sup>-1</sup> NaOH (33 %, w/v), tzv. lužnatog silikagela (L). Postupak pripreme silikagela sastojao se od sljedećih koraka: silikagel natopljen diklormetanom ostavljen je stajati 24 h, zatim je osušen pomoću Büchnerovog lijevka uz upotrebu vakuuma te aktiviran pri 180 °C tijekom 24 h. Jedna vrsta višeslojne kolone silikagela punjena je redom od dna kolone s 1 g + 1 g (SK1), 2 g + 2 g (SK2) i 2 g + 4 g (SK3) neutralnog silikagela i kiselog silikagela. Druga vrsta kolone punjena je redom od dna kolone s 1 g + 1 g + 1 g (LSK1) i 1,5 g + 1,5 g + 1,5 g (LSK2) lužnatog silikagela, neutralnog silikagela i kiselog silikagela. Za eluiranje spojeva PBDE istražene su četiri vrste otapala: *n*-heksan,  $\psi$ (*n*-heksan, diklormetan)=1:1,  $\psi$ (*n*-heksan, diklormetan)=4:1 i diklormetan.

### 3.6.3. Validacija metode za određivanje polibromiranih difenil-etera u kućnoj prašini

Validacija metode za određivanje polibromiranih difenil-etera u kućnoj prašini provedena je istraživanjem točnosti i preciznosti rezultata mjerenja dobivenih analizom obogaćenih uzoraka kućne prašine pri koncentracijskoj razini od 50 ng g<sup>-1</sup>. Izvedba metode istražena je prvotno nakon optimizacije uvjeta ekstrakcije spojeva PBDE iz prašine pomoću tehnike MAE tako da su analizirana dva alikvota prašine bez i tri alikvota prašine s dodatkom standardne otopine smjese kongenera PBDE dodane u uzorak prije ekstrakcije. Na identičan način je istražena izvedba metode i nakon optimizacije postupka pročišćavanja analizom tri alikvota prašine bez i pet alikvota prašine s dodatkom standardne otopine smjese kongenera PBDE i surogatnih

standarda. Slijepe probe reagensa, odnosno otapala koja se koriste za ekstrakciju, analizirane su na jednak način kao i obogaćeni uzorci kako bi se otkrila moguća kontaminacija tijekom analitičkog postupka. Točnost rezultata mjerenja izražena je kao analitički povrat, a preciznost kao ponovljivost odnosno relativna standardna devijacija (RSD) između analiziranih usporednih uzoraka prašine.

Validacija analitičke metode za određivanje polibromiranih difenil-etera u kućnoj prašini provedena je i analizom šest alikvota certificiranog referentnog materijala 2585 „*Organic Contaminants in House Dust*“ s dokumentiranim mjernim vrijednostima masenih udjela spojeva PBDE i pouzdanosti. Zbog visokih masenih udjela spojeva PBDE u certificiranom referentnom materijalu, početna masa uzorka za analizu iznosila je 0,5 g. Rezultati analize prihvatljivi su ako su u granicama mjerne nesigurnosti, odnosno intervala unutar kojega bi se s velikom sigurnošću trebao nalaziti mjerni rezultat.

### **3.7. Analitički postupci za određivanje polibromiranih difenil-etera u ljudskome mlijeku**

#### *3.7.1. Optimiranje parametara ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz uzorka ljudskog mlijeka*

Ljudsko mlijeko je biološki uzorak čija je dostupnost ograničena te je razvoj metode ovisio i o raspoloživosti, odnosno ukupnoj količini prikupljenog uzorka. Kao što je već navedeno, metoda temeljena na MAE razrađena je i optimirana na uzorku prikupljenom u većem volumenu mlijeka od samo jedne roditelje. Stoga je učinkovitost određene kombinacije parametara ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz uzoraka ljudskog mlijeka istražena određivanjem analitičkog povrata korištenjem jednog alikvota uzorka bez i jednog alikvota s dodatkom standardne otopine smjese kongenera PBDE i surogatnih standarda (BDE-77 i BDE-128) masene koncentracije  $25 \text{ ng mL}^{-1}$ . Ponovljivost je izračunata samo za uvjete koji su razmatrani kao optimalni i pri kojima je u tu svrhu analizirano više usporednih uzoraka.

Ovisno o načinu pripreme uzorka ljudskog mlijeka, pokusi su podijeljeni u tri skupine: liofilizirano ljudsko mlijeko, L (masa uzorka 5 g); tekuće ljudsko mlijeko, T (volumen uzorka 50 mL) i liofilizirano ljudsko mlijeko uz dodatak 10 mL destilirane deionizirane vode, LV (masa uzorka 5 g). S obzirom na to da je volumen Teflon® kiveta za ekstrakciju 100 mL, uzorci tekućeg ljudskog mlijeka razdijeljeni su u dvije kivete za ekstrakciju (u svakoj 25 mL uzorka),

a ekstrakti su prije daljnjeg postupka pročišćavanja spojeni. Tehnika MAE provedena je pri snazi mikrovalova od 600 W uz srednju brzinu miješanja magneta. Vrijeme ekstrakcije u svim eksperimentima bilo je 20 minuta, dok je zagrijavanje smjese otapala i uzorka do željene temperature ovisilo o vrsti otapala, a bilo je u rasponu od 5 do 10 minuta. Istražen je utjecaj sljedećih parametara:

- vrsta otapala
- volumen otapala
- temperatura ekstrakcije

Eksperimentalni uvjeti za pojedini set pokusa prikazani su u Tablici 3.5., Tablici 3.6. i Tablici 3.7.

**Tablica 3.5.** Eksperimentalni uvjeti ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz liofiliziranih uzoraka ljudskog mlijeka

Oznaka eksperimenta	Volumen otapala / mL	Vrsta otapala	Denaturirajući reagens (volumen)	Temperatura ekstrakcije / °C
L1	30	$\psi$ ( <i>n</i> -heksan, aceton)=1:1	etanol (1 mL)	80
L2	30	$\psi$ ( <i>n</i> -heksan, aceton)=1:1	mravlja kiselina (3 mL) i propan-2-ol (6 mL)	80
L3	40	$\psi$ ( <i>n</i> -heksan, diklormetan, metanol)=5:2:1		80
L4	40	$\psi$ (diklormetan, <i>n</i> -heksan)=3:2		70
L5	60	$\psi$ (diklormetan, <i>n</i> -heksan)=3:2		80

**Tablica 3.6.** Eksperimentalni uvjeti ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz tekućih uzoraka ljudskog mlijeka

Oznaka eksperimenta	Volumen otapala / mL	Vrsta otapala	Denaturirajući reagens (volumen)	Temperatura ekstrakcije / °C
T1	60	$\psi$ ( <i>n</i> -heksan, aceton)=1:1	etanol (2 mL)	80
T2	60	$\psi$ (kloroform, metanol)=1:1		80
T3	60	$\psi$ (kloroform, metanol)=1:1		100
T4	60	$\psi$ (kloroform, metanol)=1:1		120
T5	60	$\psi$ (metanol, <i>n</i> -heksan, kloroform)=1:1:1		80

**Tablica 3.7.** Eksperimentalni uvjeti ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz liofiliziranih uzoraka ljudskog mlijeka uz dodatak 10 mL destilirane deionizirane vode

Oznaka eksperimenta	Volumen otapala / mL	Vrsta otapala	Denaturirajući reagens (volumen)	Temperatura ekstrakcije / °C
LV1	30	$\psi$ ( <i>n</i> -heksan, aceton)=1:1	etanol (1 mL)	80
LV2	30	$\psi$ ( <i>n</i> -heksan, aceton)=1:1	mravlja kiselina (3 mL) i propan-2-ol (6 mL)	80
LV3	30	$\psi$ (kloroform, metanol)=1:1		80
LV4	30	$\psi$ (diklormetan, <i>n</i> -heksan)=3:2		80
LV5	30	$\psi$ ( <i>n</i> -heksan, acetonitril)=4:1	etanol (1 mL)	80

S obzirom na to da učinkovitost ekstrakcije zahtijeva denaturaciju proteina, isprobane su dvije vrste najčešće korištenih denaturirajućih sredstava, etanol i smjesa  $\psi$ (mravlja kiselina, propan-2-ol)=1:2.<sup>125,137,141,157</sup> Dodani su otapalima za ekstrakciju koja ne denaturiraju proteine, poput *n*-heksana, acetona i acetonitrila.

Nakon hlađenja do sobne temperature, ekstrakt je dekantiran u staklene kivete za centrifugiranje i centrifugiran 5 minuta pri  $1948 \text{ m s}^{-2}$ . Supernatant je odvojen u epruvete pogodne za centrifugiranje i uparen u blagoj struji  $\text{N}_2$  do masti. U slučaju smjese otapala  $\psi$ (kloroform, metanol)=1:1, kivete za ekstrakciju dodatno su isprane dva puta s po 3,5 mL destilirane deionizirane vode koja je pridodana ekstraktu, a zatim je sve zajedno centrifugirano 15 minuta pri  $994 \text{ m s}^{-2}$ . Donji kloroformski sloj odvojen je u epruvetu pogodnu za centrifugiranje i uparen u blagoj struji  $\text{N}_2$  do masti.



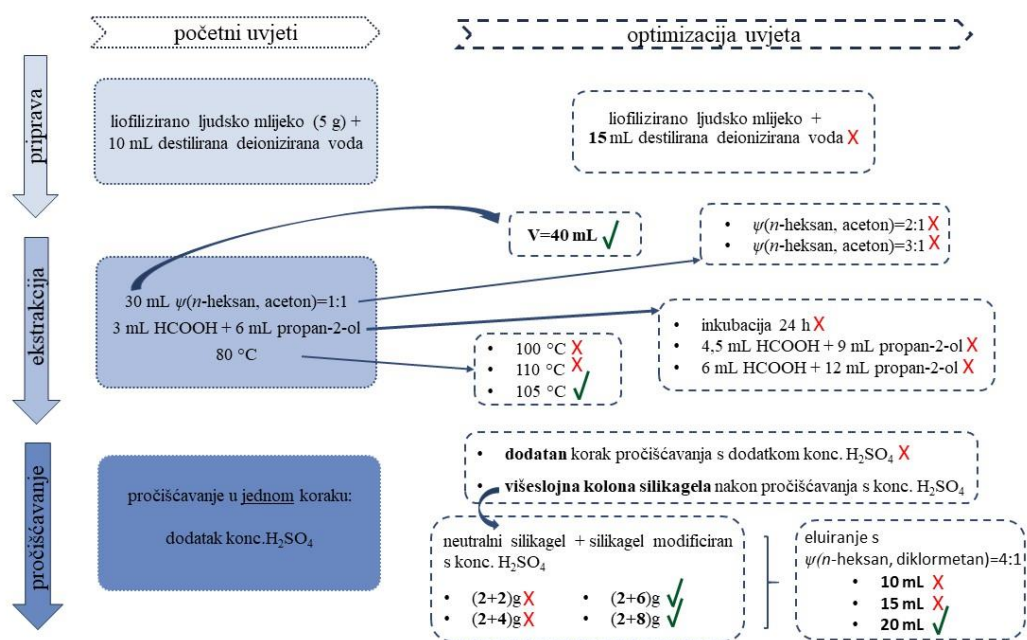
Masa masti određena je gravimetrijski. Mast je potom otopljena u 4 mL *n*-heksana uz vorteksiranje (~1 – 2 min) i uzorak je pročišćen dodatkom 4 mL koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Nakon centrifugiranja 5 minuta pri 1989 m s<sup>-2</sup>, supernatant je odvojen i uparen do 0,5 mL u slaboj struji N<sub>2</sub>. Upareni supernatant, odnosno čisti uzorak profiltriran je kroz filtre veličine pora 0,2 μm i podijeljen u dvije vialje prije plinskrokromatografske analize.

#### *3.7.1.1. Detaljnije optimiranje uvjeta ekstrakcije*

Eksperimentalni uvjeti ekstrakcije LV2 korišteni su za detaljnije istraživanje utjecaja sljedećih parametara na učinkovitost ekstrakcije (Slika 3.1.):

- povećanje udjela destilirane deionizirane vode s 10 mL na 15 mL
- inkubacija ekstrakcijske smjese 24 sata s denaturirajućim reagensima
- povećanje volumena denaturirajućih reagensa za 50 %, odnosno 100 %
- povećanje volumena otapala za ekstrakciju s 30 mL na 40 mL
- udvostručenje ili utrostručenje udjela *n*-heksana u smjesi otapala za ekstrakciju
- povećanje temperature ekstrakcije s 80 °C na maksimalno 110 °C

U alikvote uzorka prije ekstrakcije dodano je 5 ng mL<sup>-1</sup> standardne otopine smjese kongenera PBDE i surogatnih standarda (BDE-77 i BDE-128).



**Slika 3.1.** Eksperimentalni uvjeti korišteni za detaljniju optimizaciju metode za određivanje spojeva PBDE u ljudskome mlijeku (za ispitivanje svakog parametra korišten je zaseban uzorak u koji je prije ekstrakcije dodana standardna otopina smjese kongenera PBDE i surogatnih standarda masene koncentracije 5 ng mL<sup>-1</sup>).

### 3.7.2. Optimizacija postupka pročišćavanja ekstrakta

Za procjenu učinkovitosti dodatnog koraka pročišćavanja ekstrakta ljudskog mlijeka prethodno pročišćenog dodatkom koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, isprobano je još jedno pročišćavanje dodatkom koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> u ekstrakt i pročišćavanje na višeslojnim kolonama sorbensa pripremljenim u laboratoriju. Na temelju iskustva s optimizacijom postupka pročišćavanja ekstrakta kućne prašine, u laboratoriju su pripravljene višeslojne kolone silikagela punjene redom od dna kolone s 2 g neutralnog silikagela i različitim masama (2 g, 4 g, 6 g i 8 g) silikagela modificiranog s koncentriranom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, tzv. kiselim silikagelom. Kolone su kondicionirane s 15 mL *n*-heksana. Za eluiranje spojeva PBDE s površine sorbensa korištena je smjesa otapala  $\psi(n\text{-heksan, diklormetan})=4:1$  u frakcijama od 15 mL, 5 mL i 5 mL te su sve analizirane zasebno kako bi se utvrdio optimalan volumen otapala potreban za učinkovito eluiranje. Sve navedene analize (dodatno pročišćavanje s koncentriranom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> odnosno na višeslojnim kolonama silikagela) izvedene su tri puta, a učinkovitost pročišćavanja procijenjena je na temelju bazne linije i količine interferencija u kromatogramu te izračunom analitičkog

povrata i ponovljivosti na temelju poznate masene koncentracije ( $5 \text{ ng mL}^{-1}$ ) ciljanih kongenera PBDE i surogatnih standarda dodanih u uzorak prije ekstrakcije.

### 3.7.3. Validacija metode za određivanje polibromiranih difenil-etera u ljudskome mlijeku

Validacija metode za određivanje polibromiranih difenil-etera u ljudskome mlijeku provedena je određivanjem točnosti i preciznosti rezultata dobivenih analizom obogaćenih uzoraka ljudskog mlijeka pri dvije koncentracijske razine,  $5 \text{ ng mL}^{-1}$  i  $25 \text{ ng mL}^{-1}$ . U tu svrhu, za svaku koncentracijsku razinu analizirana su dva alikvota ljudskog mlijeka bez i pet alikvota ljudskog mlijeka s dodatkom standardne otopine smjese kongenera PBDE i surogatnih standarda. Slijepa probe reagensa, odnosno otapala koja se koriste za ekstrakciju, analizirane su na jednak način kao i uzorci. Točnost rezultata mjerenja izražena je kao analitički povrat, a preciznost kao ponovljivost odnosno relativna standardna devijacija.

Iako je za procjenu izvedbe metode najbolje koristiti certificirani referentni materijal, u ovom slučaju analiza dovoljnog broja alikvota bi zahtijevala veliku količinu certificiranog referentnog materijala i bila bi preveliki financijski trošak. Stoga je optimirana metoda dodatno validirana analizom dva alikvota komercijalnog adaptiranog mlijeka za dojenčad bez i pet alikvota s dodatkom standardne otopine smjese kongenera PBDE i surogatnih standarda masene koncentracije  $5 \text{ ng mL}^{-1}$ .

## 3.8. Plinskokromatografska analiza polibromiranih difenil-etera

Heksanski eluati dobiveni nakon pročišćavanja ekstrakta uzoraka kućne prašine i ljudskog mlijeka analizirani su tehnikom GC- $\mu$ ECD na kapilarnim kolonama HP-5MS i DB-1701 prema vanjskim standardima pripremljenim u *n*-heksanu. Maseni udjeli spojeva PBDE u uzorcima kućne prašine odnosno ljudskog mlijeka određeni su prema kalibracijskim krivuljama za svaki pojedini spoj u mjernom području od  $1 \text{ ng mL}^{-1}$  do  $200 \text{ ng mL}^{-1}$  te od  $1 \text{ ng mL}^{-1}$  do  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ , ovisno o matrici. Spojevi PBDE kvantitativno su određeni ako su identificirani na obje kolone. U realnim uzorcima dobiveni maseni udjeli spojeva PBDE korigirani su za srednju vrijednost analitičkih povrata dvaju surogatnih standarda BDE-77 i BDE-128 te izraženi kao srednje vrijednosti rezultata na obje kolone. Surogatni standardi dodavani su u uzorke prašine

odnosno mlijeka prije postupka ekstrakcije u masenim koncentracijama od  $50 \text{ ng mL}^{-1}$  odnosno  $5 \text{ ng mL}^{-1}$  ovisno o matrici. Slijepe probe reagensa analizirane su u svakoj sekvenci, a masene koncentracije određivanih analita bile su ispod granica određivanja odnosno detekcije.

Potvrđne analize spojeva PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka provedene su tehnikom GC-MS/MS (uvjeti opisani u poglavlju 3.3.2.).

### 3.9. Statistička obrada podataka

Dizajn eksperimenta osmišljenog za optimizaciju tehnike MAE i sve statističke analize izvedene su pomoću softvera JMP® 13.0.0 (SAS Institute, Cary, NC, SAD). Numerička analiza podataka dobivenih navedenim eksperimentom izvedena je pomoću statističkog paketa Statgraphics-Plus 5.1 (Manugistics, Rockville, MD, SAD). Procijenjena je i testirana značajnost svakog faktora zasebno, kao i značajnost njihove jednosmjerne interakcije upotrebom  $p$  vrijednosti testa omjera vjerojatnosti dobivenih faktorskom regresijskom analizom. Razlike u rezultatima smatrale su se značajnima kada je  $p < 0,05$ .

Rezultati analize spojeva PBDE u kućnoj prašini i ljudskome mlijeku statistički su obrađeni pomoću softvera Statistica (Dell™ Statistica™ verzija 14.0.0.15; TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, SAD). Razina statističke značajnosti određena je na 5 % ( $p < 0,05$ ).

Hipoteza o normalnosti distribucije ispitivanih parametara istražena je Shapiro-Wilk-ovim testom. Za ocjenu značajnosti razlika između pojedinih skupina korišten je Mann Whitney U-test (zbog nesimetrične distribucije mjerenih parametara).

Međusobni odnosi i potencijalni izvori spojeva PBDE u kućnoj prašini i ljudskome mlijeku istraženi su različitim statističkim tehnikama. Korelacije između masenih udjela pojedinih kongenera u prašini i ljudskome mlijeku i/ili karakteristika kuće/stana (npr. starost kuće, broj ukućana...), odnosno osobnih podataka o majci (dob, indeks tjelesne mase, pušenje...) i dojenčadi (težina, spol, koje je dijete po redu...), istražene su Spearmanovom rank korelacijom. Faktorska analiza uz ekstrakciju analizom glavnih komponenti (engl. *Primary Component Analysis*, PCA) i rotacijom varimax s normalizacijom Kaiser provedena je za redukciju podataka i detekciju strukture. Faktorska analiza omogućuje da se u većem broju varijabli, među kojima postoji povezanost, utvrdi manji broj izvedenih varijabli (faktora) koje objašnjavaju tu povezanost.

Evaluacija kvantitativne međusobne povezanosti između karakteristika kuće/stana, odnosno osobnih podataka o majci u odnosu na ukupnu koncentraciju svih izmjerenih kongenera ( $\Sigma$ PBDE) u prašini ili ljudskome mlijeku istražena je postupnom višestrukom regresijom (engl. *Stepwise Forward Multiple Regression*). Prije regresijske analize, zavisna varijabla ( $\Sigma$ PBDE) je transformirana kako bi se približila normalnoj distribuciji računanjem prirodnog logaritma. Normalnost distribucije reziduala provjerena je Shapiro-Wilk-ovim testom.

## § 4. REZULTATI I RASPRAVA

U prvom dijelu ovog poglavlja prikazani su podaci vezani uz optimizaciju uvjeta pripreve i obrade uzoraka kućne prašine i ljudskog mlijeka za osjetljivo, točno i precizno određivanje sedam kongenera PBDE uz detektore zahvata elektrona. Tandemna spektrometrija masa korištena je kao potvrдна tehnika kod analize realnih uzoraka ljudskog mlijeka, dok u slučaju kućne prašine to nije bilo potrebno s obzirom na to da je zbog viših masenih udjela analita osjetljivost i selektivnost detektora zahvata elektrona bila zadovoljavajuća. Posebna se pažnja posvetila optimiranju uvjeta ekstrakcije potpomognute mikrovalovima koja nudi mnoštvo prednosti, posebice s aspekta „zelene“ kemije zbog smanjenja utroška otapala.

U drugom dijelu prikazani su rezultati analize 30 uzoraka ljudskog mlijeka skupljenih od donorica iz Zagreba i okolice u čijim su kućanstvima prikupljeni i uzorci kućne prašine. Na temelju dobivenih masenih udjela spojeva PBDE u te dvije vrste uzoraka, procijenila se izloženost odraslih i dojenčadi ovim spojevima te predstavlja li ta izloženost rizik za ljudsko zdravlje. Statističkom obradom anketnih podataka u ovisnosti o masenim udjelima spojeva od interesa pokušalo se procijeniti postoje li njihove međusobne korelacije ovisno o tipu uzorka, te koje karakteristike majke, njezinog stila života ili kućanstva u kojem živi potencijalno utječu na razine spojeva PBDE.

### 4.1. Optimizacija analitičkih metoda

#### 4.1.1. Linearnost odziva detektora i granice određivanja

Optimirani su kromatografski uvjeti plinske kromatografije za istovremenu analizu sedam kongenera PBDE na dvjema paralelnim tridesetmetarskim kapilarnim kolonama HP-5MS i DB-1701 uz detektore zahvata elektrona. Postiglo se njihovo uspješno razdvajanje na obje kolone unutar 23 minute (Slika 4.1.).



**Slika 4.1.** GC- $\mu$ ECD kromatogrami standardne otopine smjese kongenera PBDE u *n*-heksanu masene koncentracije  $100 \text{ ng mL}^{-1}$  na koloni HP-5MS (A) i DB-1701 (B)

Linearnost odziva detektora istražena je analizom u triplicatu svake od pet standardnih otopina različitih masenih koncentracija (Tablica 3.3.). Linearnom regresijom površina kromatografskih pikova i koncentracija pojedinih kongenera PBDE utvrđen je linearan odziv detektora za sve spojeve uz koeficijente korelacije  $r$  veće od 0,995 na obje plinskromatografske kolone.

Za svaki pojedini spoj granica detekcije i granica određivanja određene su iz kromatograma realnog uzorka prašine ili obogaćenog uzorka mlijeka u kojem je signal analita tri, odnosno 10 puta veći od šuma osnovne linije. Za uzorke kućne prašine granica detekcije (granica određivanja) iznosila je  $0,10 \text{ ng g}^{-1}$  prašine ( $0,33 \text{ ng g}^{-1}$  prašine) za sve ciljane kongenere PBDE, osim za BDE-183 za koji je bila  $0,23 \text{ ng g}^{-1}$  prašine ( $0,77 \text{ ng g}^{-1}$  prašine). U uzorcima mlijeka granice detekcije iznosile su od  $0,01 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-99), preko  $0,02 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-47, -153 i -154),  $0,04 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-100) do  $0,1 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-28) i  $0,13 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-183), dok su granice određivanja bile  $0,03 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-99),  $0,07 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-47, -153 i -154),  $0,13 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-100),  $0,33 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-28) i  $0,43 \text{ ng g}^{-1}$  masti (BDE-183). Zbog niskih masenih udjela pojedinih analita u prašini te svih analita u ljudskom mlijeku, u radu su prikazani i maseni udjeli čija je vrijednost bila ispod granice određivanja ukoliko je ista bila viša od određene granice detekcije.

Kurt-Karakus i suradnici (2017) primjenom tehnike GC-ECNI-MS odredili su sličnu osjetljivost metode za analizu spojeva PBDE u kućnoj prašini,  $0,23 \text{ ng g}^{-1}$  prašine za sve

analizirane spojeve.<sup>165</sup> Slične vrijednosti granica detekcije metode odredili su i Lin i suradnici (2022) primjenom tehnike GC-MS uz dvije vrste tehnika ionizacije – EI i NCI (od 0,21 ng g<sup>-1</sup> do 0,68 ng g<sup>-1</sup> prašine).<sup>22</sup> Zeng i suradnici (2020) odredili su nešto više granice detekcije metode primjenom tehnike GC-EI-MS, od 0,32 ng g<sup>-1</sup> (BDE-1) do 50 ng g<sup>-1</sup> prašine (BDE-209),<sup>108</sup> dok su niže granice detekcije metode odredili Yu i suradnici (2019) primjenom tehnike GC-NCI-MS, od 0,005 ng g<sup>-1</sup> do 0,41 ng g<sup>-1</sup> prašine.<sup>92</sup>

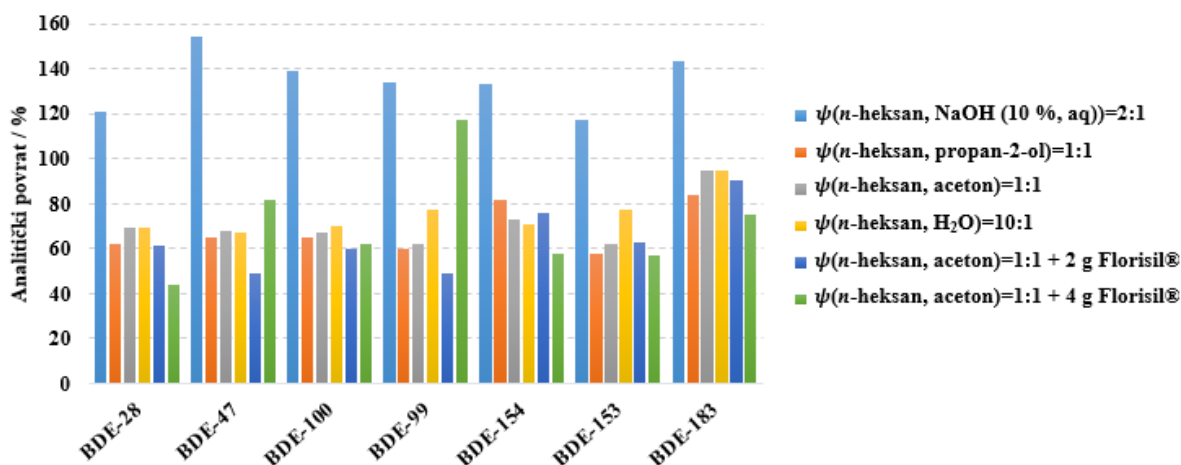
Što se tiče osjetljivosti metode za određivanje kongenera PBDE u ljudskome mlijeku, ona je bila slična onoj koju su odredili Matovu i suradnici (2019) primjenom tehnike GC-ECNI-MS, od 0,01 ng g<sup>-1</sup> do 0,5 ng g<sup>-1</sup> masti,<sup>63</sup> dok su niže granice detekcije metode odredili Zhao i suradnici (2021) primjenom tehnike GC-MS/MS (od 1,5 g g<sup>-1</sup> do 4 pg g<sup>-1</sup> masti)<sup>136</sup> i Zhang i suradnici (2017) tehnikom GC-EI-HRMS (od 0,3 pg g<sup>-1</sup> do 1,8 pg g<sup>-1</sup> masti).<sup>142</sup>

#### 4.1.2. Analitički postupci za određivanje polibromiranih difenil-etera u uzorcima kućne prašine

##### 4.1.2.1. Učinkovitost otapala

Za odabir najprikladnijeg otapala za kvantitativnu ekstrakciju spojeva PBDE iz uzoraka kućne prašine, preliminarnim pokusima isprobano je šest različitih smjesa otapala te istovremena ekstrakcija i pročišćavanje uz dodatak Florisila®. Učinkovitost pojedine smjese otapala izražena je kao analitički povrat i ponovljivost. Upotrebom smjesa  $\psi$ (*n*-heksan, diklormetan)=9:1 i  $\psi$ (*n*-heksan, diklormetan)=1:1 nije se uspjela postići ciljana temperatura. Iako je diklormetan polarno otapalo i ima dovoljno visoku dielektričnu konstantu ( $\epsilon = 9,1$ ) te problemi nisu bili očekivani, vjerojatno je došlo do određenih interakcija s matricom koje nisu dopuštale dovoljnu apsorpciju mikrovalne energije kako bi se ekstrakcijska smjesa zagrijala do zadane temperature u optimalnom vremenu. Srednje vrijednosti analitičkih povrata dobivene upotrebom preostale četiri smjese otapala i istovremene ekstrakcije i pročišćavanja prikazane su na Slici 4.2.





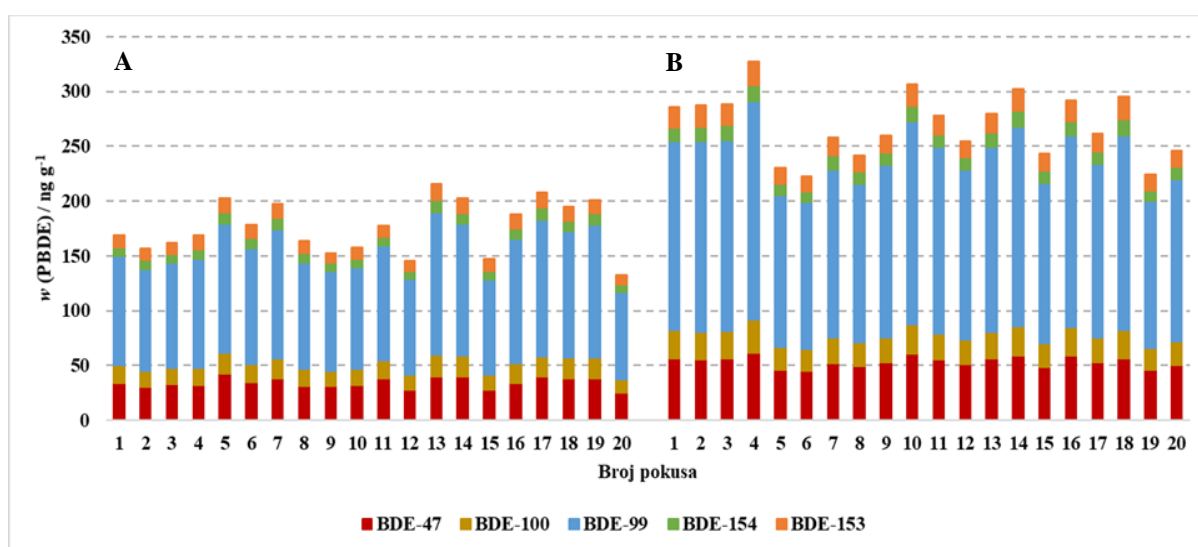
**Slika 4.2.** Utjecaj smjese otapala na učinkovitost ekstrakcije potpomognute mikrovalovima sedam kongenera PBDE iz kućne prašine uz dodatak standardne otopine smjese PBDE masene koncentracije  $10 \text{ ng mL}^{-1}$

Upotrebom smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, NaOH})=2:1$  dobiveni su analitički povрати viši od 100 % što upućuje na neselektivnu ekstrakciju spojeva PBDE iz kućne prašine. Što se tiče učinkovitosti istovremene ekstrakcije i pročišćavanja upotrebom smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  uz dodatak manje mase Florisila®, za kongenere BDE-47 i BDE-99 postignuti su najmanji analitički povрати u odnosu na ostala otapala, dok kod veće mase Florisila® navedeni kongeneri PBDE koeluiraju s interferencijama i postignuti su povišeni analitički povрати. Upotrebom smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, propan-2-ol})=1:1$  analitički povрати usporednih uzoraka variraju i uparavanje je dugotrajno. Najbolji rezultati analitičkih povrata (> 60 %) za sve kongenere PBDE postignuti su upotrebom smjesa otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  i  $\psi(n\text{-heksan, H}_2\text{O})=10:1$  pa su obje uključene u daljnju optimizaciju uvjeta tehnike MAE (Slika 4.2.).

#### 4.1.2.2. Procjena utjecaja parametara tehnike MAE na učinkovitost ekstrakcije

Istraženi su najvažniji parametri (vrsta i volumen otapala, temperatura i vrijeme ekstrakcije) koji potencijalno mogu utjecati na učinkovitost ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz uzoraka kućne prašine. Eksperiment je osmišljen prema potpunom faktorskom dizajnu eksperimenta, a rezultati su izraženi kao  $\sum$ PBDE detektiranih u uzorku prašine bez dodatka standardne otopine smjese spojeva PBDE.

Numerička analiza rezultata provedenih pokusa ukazala je da samo vrsta primijenjenog otapala ima statistički značajan utjecaj ( $p < 0,001$ ) na učinkovitost tehnike MAE, odnosno na izmjerene masene udjele individualnih kongenera PBDE i posljedično njihove sume u korištenom uzorku kućne prašine. Kongeneri BDE-28 i BDE-183 nisu detektirani u uzorku primjenom niti jedne kombinacije radnih uvjeta. Općenito, primjenom svih kombinacija parametara veća učinkovitost ekstrakcije postignuta je upotrebom smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$ , odnosno detektirani su značajno veći maseni udjeli svih analiziranih kongenera PBDE nego primjenom smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, H}_2\text{O})=10:1$  (Slika 4.3.). Štoviše, budući da upotrebom smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  nema potrebe za dodatnim korakom koji uključuje uklanjanje vode iz ekstrakta dodatkom bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , smanjena je mogućnost dodatnih gubitaka analita, potrošnja kemikalija te vrijeme potrebno za obradu uzorka.



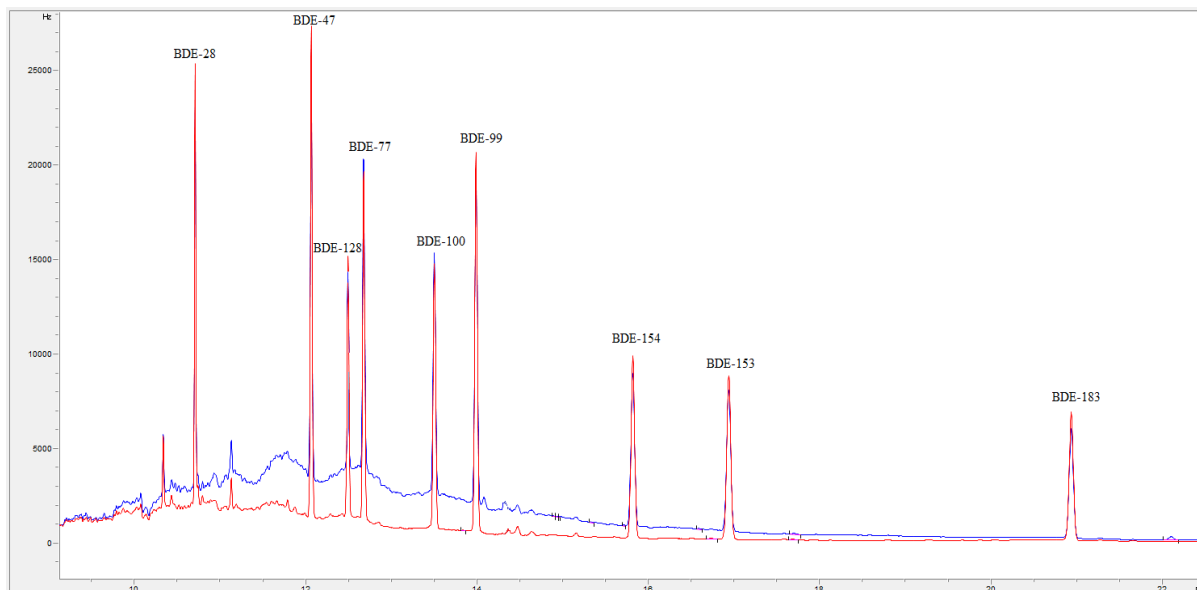
**Slika 4.3.** Utjecaj različitih kombinacija uvjeta tehnike MAE prikazanih u Tablici 3.4. upotrebom dvije vrste smjese otapala (A =  $\psi(n\text{-heksan, H}_2\text{O})=10:1$ ; B =  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$ ) na masene udjele kongenera PBDE ekstrahiranih iz uzorka kućne prašine

Varijacije u rezultatima dobivene zbog promjena ostalih parametara (temperatura i vrijeme ekstrakcije, volumen otapala) nisu bile značajno veće od eksperimentalne pogreške, što ukazuje na činjenicu da se bilo koja vrijednost u istraživanom rasponu može koristiti za ekstrakciju

kongenera PBDE iz uzoraka prašine pomoću tehnike MAE. Ovim rezultatima potvrđeno je da su tijekom osmišljavanja pokusa u svrhu optimizacije navedenih parametara odabrani realni početni rasponi koji su prikladni za učinkovitu ekstrakciju spojeva PBDE iz uzoraka prašine. Budući da niti jedan od istraživanih parametara nije statistički značajno utjecao na učinkovitost ekstrakcije, nije bila potrebna njihova daljnja optimizacija, odnosno planirano postavljanje eksperimenta prema središnjem kompozitnom dizajnu. Na temelju rezultata eksperimentalnog dizajna i naših razmatranja, predloženi su sljedeći optimalni uvjeti za ekstrakciju potpomognutu mikrovalovima kongenera PBDE iz uzoraka kućne prašine (1 g): 20 mL smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  pri temperaturi od 80 °C tijekom 20 minuta.

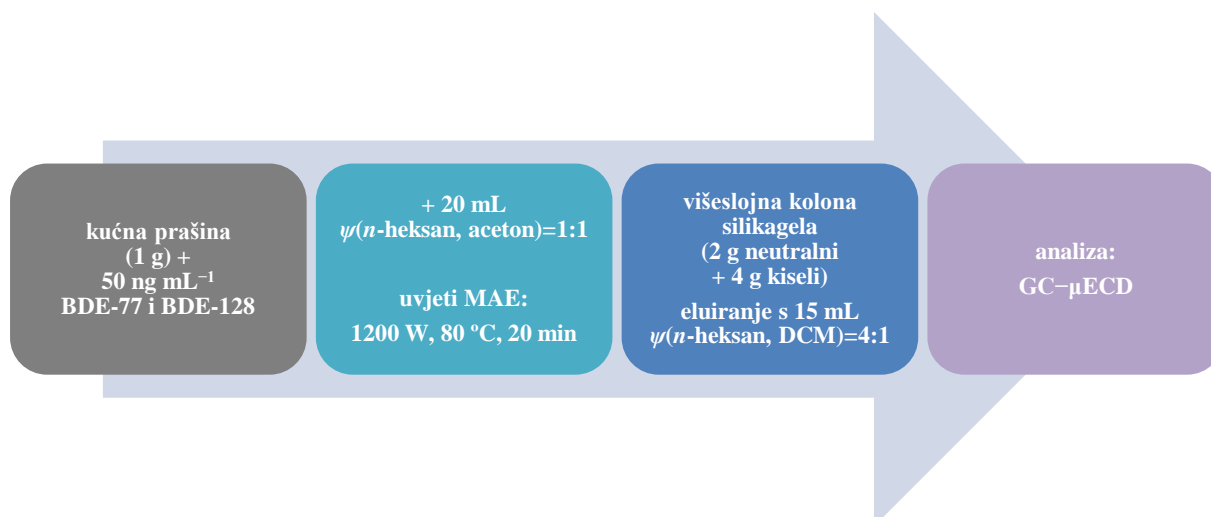
#### 4.1.2.3. Optimizacija postupka pročišćavanja ekstrakta

Cilj optimizacije postupka pročišćavanja je učinkovito pročišćavanje ekstrakta prašine u što manje koraka. U tu svrhu isprobane su razne komercijalno dostupne kolone SPE te višeslojne kolone SPE pripravljene u laboratoriju. Upotrebom komercijalnih kolona SPE (silikagel, aluminijev oksid, Florisil®) nisu dobiveni zadovoljavajući rezultati, ali su ukazali na činjenicu da bi povećanje mase silikagela moglo rezultirati čistim ekstraktima. Stoga su isprobane višeslojne kolone silikagela (SK1 i LSK1) pripravljene u laboratoriju, uz eluense  $n$ -heksan, diklormetan i njihove smjese u prethodno navedenim omjerima (poglavlje 3.6.2.). Svaka prikupljena frakcija analizirana je zasebno kako bi se utvrdila optimalna količina otapala potrebna za potpuno eluiranje spojeva PBDE. Rezultati su pokazali da je najviše spojeva PBDE eluirano pomoću smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, diklormetan})=4:1$ . Stoga je navedena smjesa otapala korištena u daljnjim pokusima kao eluens u isprobavanju kolona SPE punjenih većom masom silikagela (SK2 i LSK2). Analizom prikupljenih frakcija u različitim volumenima ustanovljeno je da je 15 mL otapala dovoljno za potpuno eluiranje spojeva PBDE s kolone. Višeslojna kolona ispunjena samo s neutralnim i kiselim silikagelom (SK2) pokazala se prikladnijom za pročišćavanje ekstrakta prašine zbog dobivenih viših analitičkih povrata spojeva PBDE, niže bazne linije kromatograma i manje interferencija prisutnih od spojeva koji su ekstrahirani zajedno sa spojevima PBDE (Slika 4.4.).



**Slika 4.4.** GC- $\mu$ ECD kromatogram uzorka kućne prašine uz dodatak  $50 \text{ ng mL}^{-1}$  standardne otopine smjese kongenera PBDE u ekstrakt prašine prije pročišćavanja na kolonama SPE: SK2 (crveno) i LSK2 (plavo)

U završnom koraku procesa optimizacije pročišćavanja ekstrakta prašine istražena je potreba za prvim korakom pročišćavanja s koncentriranom  $\text{H}_2\text{SO}_4$  prije pročišćavanja na koloni silikagela SK2. Utvrđeno je da povećanjem mase kiselog silikagela s 2 na 4 g (kolona SK3) nije potreban prvi korak pročišćavanja s koncentriranom  $\text{H}_2\text{SO}_4$  te je time pročišćavanje svedeno samo na jedan korak. Konačno, eluiranje spojeva PBDE s 15 mL smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, diklormetan})=4:1$  s kolone SPE punjene s 2 g neutralnog silikagela i 4 g kiselog silikagela te prethodno kondicionirane s 10 mL *n*-heksana pokazalo se najučinkovitijim za pročišćavanje ekstrakta prašine uz minimalne gubitke analita (Slika 4.5.).



**Slika 4.5.** Konačni eksperimentalni uvjeti metode za određivanje spojeva PBDE u kućnoj prašini uz dodatak 50 ng mL<sup>-1</sup> surogatnih standarda BDE-77 i BDE-128

#### 4.1.2.4. Validacija metode

Točnost i preciznost istražene su kako bi se procijenila izvedba metode za određivanje spojeva PBDE u kućnoj prašini. Masene koncentracije određivanih analita u slijepim probama reagensa bile su ispod granica određivanja odnosno detekcije.

S obzirom na to da su se najprije optimirali uvjeti ekstrakcije a zatim pročišćavanja, točnost i preciznost određene su nakon optimizacije uvjeta ekstrakcije potpomognute mikrovalovima i nakon optimizacije postupka pročišćavanja ekstrakta. Rezultati srednjih vrijednosti analitičkih povrata i preciznosti analiziranih usporednih uzoraka prašine prikazani su u Tablici 4.1. i Tablici 4.2.

**Tablica 4.1.** Srednje vrijednosti analitičkih povrata i preciznost izražena kao relativna standardna devijacija (RSD) za individualne kongenere PBDE dobivene analizom kućne prašine nakon optimizacije tehnike MAE pri koncentracijskoj razini od 50 ng mL<sup>-1</sup>

Spoj	Analitički povrat / %	Preciznost (RSD) / %
BDE-28	70	3
BDE-47	75	6
BDE-99	83	8
BDE-100	72	7
BDE-153	71	9
BDE-154	71	7
BDE-183	77	6

Analitički povrati ukazuju na činjenicu da je predložena metoda za određivanje spojeva PBDE nakon optimizacije uvjeta tehnike MAE zadovoljavajuća. Naime, postignuti su dovoljno dobri analitički povrati u rasponu od 70 % za BDE-28 do 83 % za BDE-99, uz RSD ispod 9 %, koji ukazuje na vrlo dobru ponovljivost metode.

U skladu s očekivanjima, optimizacijom postupka pročišćavanja postignuti su još veći analitički povrati i slične vrijednosti relativne standardne devijacije. Analitički povrati konačne metode bili su u rasponu od 76 % za BDE-28 do 90 % za BDE-183, a vrijednosti RSD ukazale su na odličnu ponovljivost predložene metode (Tablica 4.2., Slika 4.5.). Analitički povrati surogatnih standarda bili su podjednaki kao i za ostale kongenere PBDE te je time potvrđena njihova prikladnost za korištenje u analizama realnih uzoraka kućne prašine.

**Tablica 4.2.** Srednje vrijednosti analitičkih povrata i preciznost izražena kao relativna standardna devijacija (RSD) za individualne kongenere PBDE i surogatne standarde dobivene analizom kućne prašine optimiranom metodom za određivanje spojeva PBDE u prašini pri koncentracijskoj razini od 50 ng mL<sup>-1</sup>

Spoj	Analitički povrat / %	Preciznost (RSD) / %
BDE-28	76	6
BDE-47	77	6
BDE-99	87	7
BDE-100	81	6
BDE-153	88	5
BDE-154	86	5
BDE-183	90	6
<b>BDE-77</b>	81	5
<b>BDE-128</b>	69	5

Također, validacija predložene metode provedena je analizom certificiranog referentnog materijala 2585 „*Organic Contaminants in House Dust*“. Dobiveni rezultati potvrdili su dobru ponovljivost metode, a izmjerene vrijednosti masenih udjela ciljanih kongenera PBDE vrlo se dobro slažu s certificiranim vrijednostima referentnog materijala (Tablica 4.3.).

Prihvatljiva mjerna nesigurnost izmjerenog masenog udjela spoja od interesa i njegove certificirane vrijednosti obično je < 15 %, <sup>167</sup> dok je u certificiranom referentnom materijalu 2585 kućne prašine ona znatno manja za sve kongenere, a posebno za kongener BDE-153 (< 1 %). S obzirom na to da se srednja vrijednost određenih masenih udjela kongenera BDE-153 razlikuje od raspona certificirane vrijednosti za samo 0,6 %, smatramo da je predložena metoda prikladna i za određivanje kongenera BDE-153.

**Tablica 4.3.** Maseni udjeli ciljanih kongenera PBDE određeni pomoću tehnike MAE uz GC- $\mu$ ECD u certificiranom referentnom materijalu kućne prašine CRM-2585 (N=6)<sup>a</sup>

Spoj	Certificirana vrijednost <sup>b</sup> / ng g <sup>-1</sup>	Eksperimentalni podaci	
		Prosječni maseni udio / ng g <sup>-1</sup>	Preciznost (RSD) / %
BDE-28	46,9 ± 4,4	42,6	7
BDE-47	497 ± 46	515,3	8
BDE-99	892 ± 53	922,8	7
BDE-100	145 ± 11	134,1	11
BDE-153	119 ± 1	120,8	11
BDE-154	83,5 ± 2,0	85,0	3
BDE-183	43 ± 3,5	45,3	5

<sup>a</sup> N – broj analiziranih alikvota; <sup>b</sup> srednja vrijednost ± proširena mjerna nesigurnost

#### 4.1.3. Analitički postupci za određivanje polibromiranih difenil-etera u uzorcima ljudskog mlijeka

##### 4.1.3.1. Liofilizirani uzorci ljudskog mlijeka

Prema literaturi, tehnika MAE za ekstrakciju ciljanih spojeva najčešće se koristi za čvrste uzorke, pa je stoga prvotno korišten liofiliziran uzorak ljudskog mlijeka za ekstrakciju spojeva PBDE, a postupak je opisan u poglavlju 3.5.2.1. Prema rezultatima prikazanim u Tablici 4.4., vidljivo je da učinkovitost ekstrakcije spojeva PBDE iz liofiliziranih uzoraka ljudskog mlijeka za sve kombinacije otapala i uvjeta tehnike MAE nije bila zadovoljavajuća.



**Tablica 4.4.** Učinkovitost ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz liofiliziranih uzoraka ljudskog mlijeka primjenom različitih eksperimentalnih uvjeta prikazanih u Tablici 3.5.

Spoj	Analitički povrat / %				
	L1	L2	L3	L4	L5
BDE-28	42	33	41	55	56
BDE-47	30	30	35	49	54
BDE-99	35	32	37	49	54
BDE-100	28	28	32	44	49
BDE-153	26	26	28	37	42
BDE-154	31	33	36	48	55
BDE-183	26	29	28	30	31

Iako se smjesa otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  vrlo često koristi za ekstrakciju spojeva PBDE iz liofiliziranih uzoraka ljudskog mlijeka upotrebom različitih tehnika,<sup>123,132,135,139</sup> u ovom slučaju analitički povrati ciljanih spojeva bili su najniži (~ 30 %), a i dodatak različitih denaturirajućih reagensa nije imao utjecaj na učinkovitost postupka ekstrakcije pri navedenim eksperimentalnim uvjetima. Upotrebom smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, diklormetan})=3:2$  dobiveni su viši analitički povrati, no ipak manji od 50 % za većinu kongenera PBDE. Povećanjem volumena navedenog otapala s 40 mL na 60 mL i temperature ekstrakcije s 70 °C na 80 °C učinkovitost tehnike MAE povećala se za otprilike 5 %.

#### 4.1.3.2. Tekući uzorci ljudskog mlijeka

S obzirom na nezadovoljavajuću učinkovitost ekstrakcije spojeva PBDE iz liofiliziranih uzoraka ljudskog mlijeka, isprobana je ekstrakcija navedenih spojeva iz uzoraka u tekućem stanju. Sveukupno, ekstrakcijom spojeva PBDE iz tekućih uzoraka ljudskog mlijeka pomoću tehnike MAE dobiveni su bolji analitički povrati u odnosu na liofilizirane uzorke ljudskog mlijeka (Tablica 4.5.). Na primjer, upotrebom iste smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  uz jednake uvjete tehnike MAE (L1; T1) dobiveni su od 17 % do 33 % viši analitički povrati iz tekućih uzoraka ljudskog mlijeka. Učinkovitost MAE dodatno se, iako neznatno, povećala primjenom smjese otapala  $\psi(\text{kloroform, metanol})=1:1$ , koja se uobičajeno koristi za ekstrakciju

postojanih organoklorovih spojeva iz uzoraka ljudskog mlijeka pomoću tehnike LLE.<sup>168,169</sup> Povećanjem temperature s 80 °C na 100 °C te 120 °C vidljivo je da nije došlo do poboljšanja u učinkovitosti postupka ekstrakcije. Slične vrijednosti analitičkih povrata dobivene su i dodatkom *n*-heksana u navedenu smjesu kloroforma i metanola.

**Tablica 4.5.** Učinkovitost ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz tekućih uzoraka ljudskog mlijeka primjenom različitih eksperimentalnih uvjeta prikazanih u Tablici 3.6.

Spoj	Analitički povrat / %				
	T1	T2	T3	T4	T5
BDE-28	59	75	64	71	63
BDE-47	54	61	59	67	56
BDE-99	59	65	63	70	58
BDE-100	50	55	54	61	51
BDE-153	53	55	51	57	49
BDE-154	64	67	66	72	62
BDE-183	51	50	45	46	44

S obzirom na to da se radi o spojevima koji se u ljudskome mlijeku nalaze u tragovima, veći volumen (50 mL) mlijeka korišten je kako bi se postigla zadovoljavajuća osjetljivost analize ciljanih kongenera PBDE. Eksperimenti vezani uz ekstrakciju spojeva PBDE iz tekućih uzoraka ljudskog mlijeka doveli su do spoznaje da rad s velikim volumenima (u usporedbi s liofiliziranim uzorcima) može dovesti do slabijeg ili nepotpunog miješanja uzorka i nepolarnog otapala potrebnog za ekstrakciju navedenih lipofilnih spojeva, većeg utroška otapala, dugotrajnijeg ukoncentriravanja ekstrakta te veće mogućnosti za pogrešku tijekom višestrukog rukovanja uzorkom.

#### 4.1.3.3. Liofilizirani uzorci ljudskog mlijeka uz dodatak destilirane deionizirane vode

Nakon obećavajućih vrijednosti analitičkih povrata spojeva PBDE dobivenih njihovom ekstrakcijom iz tekućih uzoraka ljudskog mlijeka, osmišljen je eksperiment u kojem se

prevladalo volumno ograničenje posuda za ekstrakciju koje se koriste u tehnici MAE tako da se liofiliziranom uzorku ljudskog mlijeka (5 g) dodao minimalni volumen destilirane deionizirane vode (10 mL), tek toliko da se vrati u tekuće stanje (Slika 4.6.). Time se peterostruko smanjio ukupni volumen uzorka, tako da više nije bilo potrebno dijeliti uzorak u dvije kivete za ekstrakciju. Štoviše, dodatkom vode povećao se dipolni moment smjese uzorka i otapala, što je ključno za povećanje učinkovitosti tehnike MAE.<sup>170,171</sup> Naime, Eskilsson i Björklund (2000) u svom preglednom radu upućuju na činjenicu da prirodna prisutnost vode u uzorku ili njezin dodatak često (iako ne uvijek) povećava učinkovitost ekstrakcije, najvjerojatnije uslijed povećanja polarnosti otapala, čime se olakšava zagrijavanje smjese uzorka i otapala. Osim toga, sugeriraju da dodatak vode može utjecati na interakcije između analita i matrice tako da analiti budu dostupniji otapalima, čime se pospješuje njihova ekstrakcija.<sup>170</sup>



**Slika 4.6.** Fotografije 50 mL tekućeg mlijeka (a), 5 g liofiliziranog mlijeka (b), 5 g liofiliziranog mlijeka + 10 mL destilirane deionizirane vode (c)

Navedena zamisao pokazala se uspješnom jer su dobiveni analitički povrti spojeva PBDE općenito bili viši u odnosu na eksperimente s tekućim i liofiliziranim uzorcima ljudskog mlijeka (Tablica 4.6.). To je posebno bilo izraženo kod primjene smjese otapala  $\psi$ (*n*-heksan, aceton)=1:1 uz dodatak mravlje kiseline i propan-2-ola kao denaturirajućih sredstava. Primjer za to je eksperiment LV2 kojim su postignuti analitički povrti od 61 % do 83 %, za razliku od

odgovarajućeg eksperimenta s liofiliziranim uzorkom ljudskog mlijeka (L2) kojim su postignuti značajno niži analitički povrati (od 26 % do 33 %).

**Tablica 4.6.** Učinkovitost ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz liofiliziranih uzoraka ljudskog mlijeka uz dodatak 10 mL destilirane deionizirane vode primjenom različitih eksperimentalnih uvjeta prikazanih u Tablici 3.7.

Spoj	Analitički povrat / %				
	LV1	LV2	LV3	LV4	LV5
BDE-28	62	67	51	38	59
BDE-47	56	61	45	30	50
BDE-99	64	62	53	36	53
BDE-100	62	63	50	34	49
BDE-153	70	69	63	42	56
BDE-154	64	67	54	37	56
BDE-183	69	83	67	41	61

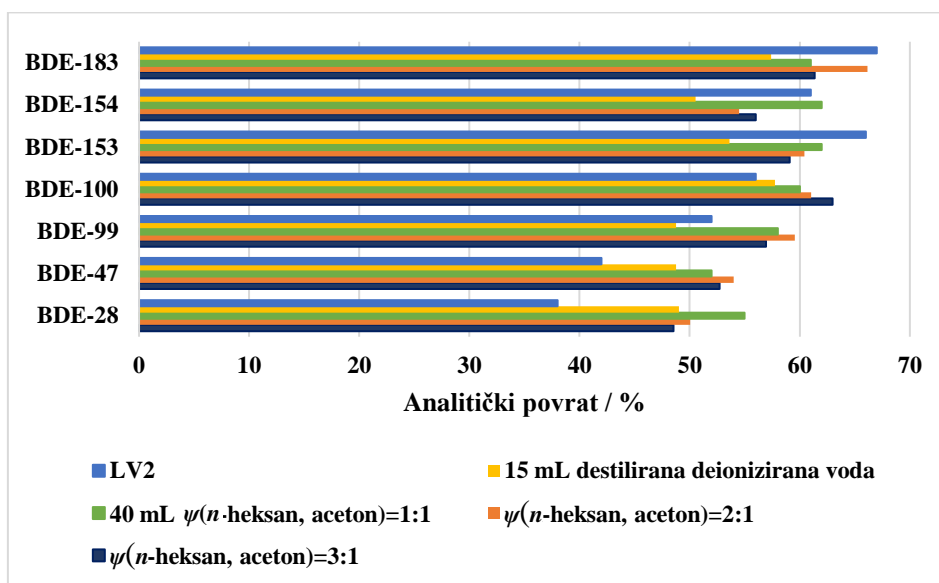
Ovim rezultatima potvrđeno je da se uz dodatak male količine vode može značajno poboljšati učinkovitost ekstrakcije vraćanjem polarnosti smjese uzoraka i otapala, odnosno povećanjem stupnja apsorpcije mikrovalne energije. Osim toga, jedino su u eksperimentima LV1 i LV2 detektirani spojevi PBDE u realnim uzorcima ljudskog mlijeka u koje nije dodana standardna otopina smjese spojeva PBDE, iako je to bio samo kongener BDE-153 (0,16 ng g<sup>-1</sup> masti, odnosno 0,19 ng g<sup>-1</sup> masti). Budući da je mlijeko koje se koristilo za optimizaciju metode prikupljano u razdoblju od 6 do 10 mjeseci nakon drugog poroda donorice, vrlo je vjerojatno da je, ako je u mlijeku uopće bio prisutan bilo koji drugi kongener PBDE, u prethodnom razdoblju dojenja došlo do njegove eliminacije iz organizma. U eksperimentima s drugim kombinacijama otapala (LV3-5) nije bilo daljnjeg poboljšanja učinkovitosti ekstrakcije.

#### 4.1.3.4. Detaljnija optimizacija eksperimentalnih uvjeta tehnike MAE

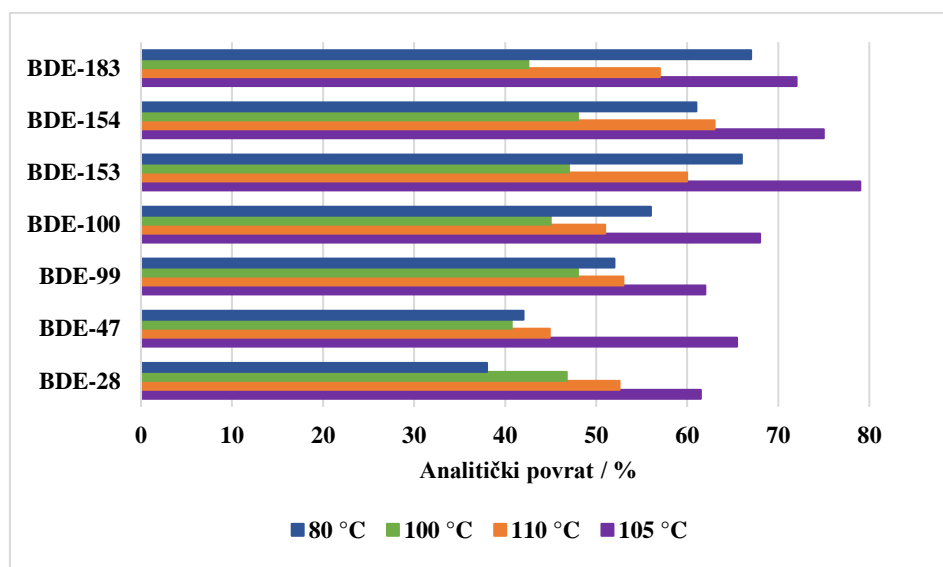
Najbolji analitički povrati dobiveni su eksperimentom LV2 te je daljnjim izmjenama njegovih eksperimentalnih uvjeta (Slika 3.1.) istraženo moguće poboljšanje u učinkovitosti tehnike

MAE. Prvo se istražila inkubacija s denaturirajućim reagensima –  $\psi$ (mravlja kiselina, propan-2-ol)=1:2 – kroz 24 h i/ili povećanjem njihovog volumena za 50 % i 100 %, međutim analitički povrati ostali su podjednaki. Sljedeći pokušaj bio je dodatak većeg volumena destilirane deionizirane vode (15 mL) liofilizatu ljudskog mlijeka, kako bi se povećao ukupni dipolni moment ekstrakcijske smjese, ali ni to nije doprinijelo značajnom poboljšanju učinkovitosti ekstrakcije. Istražena je i učinkovitost ekstrakcije spojeva PBDE eksperimentima u kojima se povećao volumen smjese otapala s 30 mL na 40 mL, promijenio omjer *n*-heksana i acetona u smjesi otapala ili povećala temperatura ekstrakcije (Slika 4.7.).

A)



B)



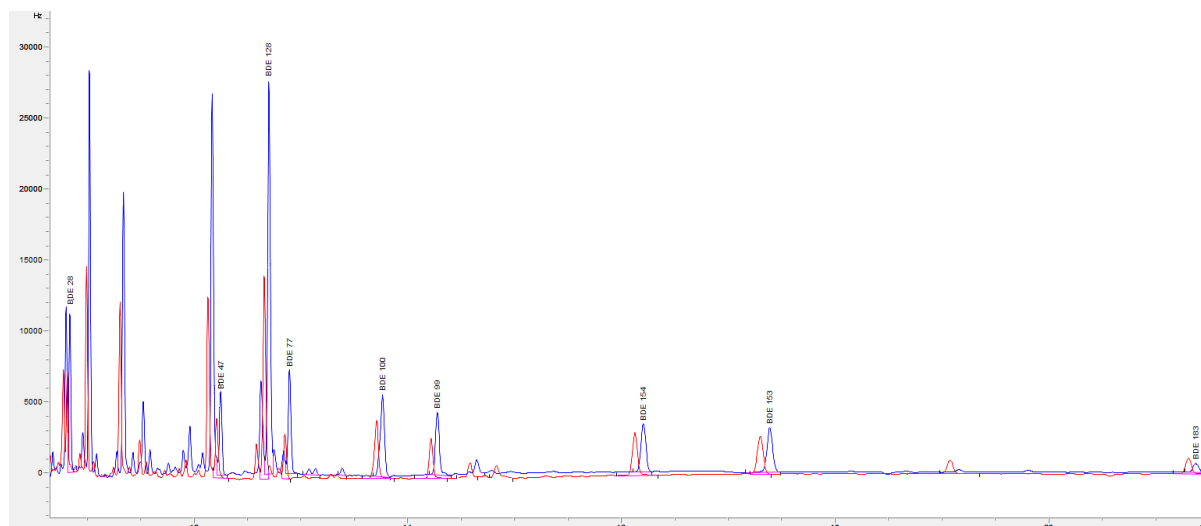
**Slika 4.7.** Usporedba učinkovitosti ekstrakcije spojeva PBDE iz uzoraka ljudskog mlijeka (dodatak 5 ng mL<sup>-1</sup> standardne otopine smjese spojeva PBDE masene koncentracije) uz eksperimentalne uvjete LV2 i njegovih izmjena: (A) volumen smjese otapala i vode te omjer otapala; B) promjena temperature ekstrakcijskog postupka

U svakom eksperimentu mijenjan je samo jedan parametar, a najbolji analitički povrati spojeva PBDE postignuti su s većim volumenom (40 mL) smjese otapala  $\psi$ (*n*-heksan, aceton)=1:1 i temperaturom ekstrakcije od 105 °C.

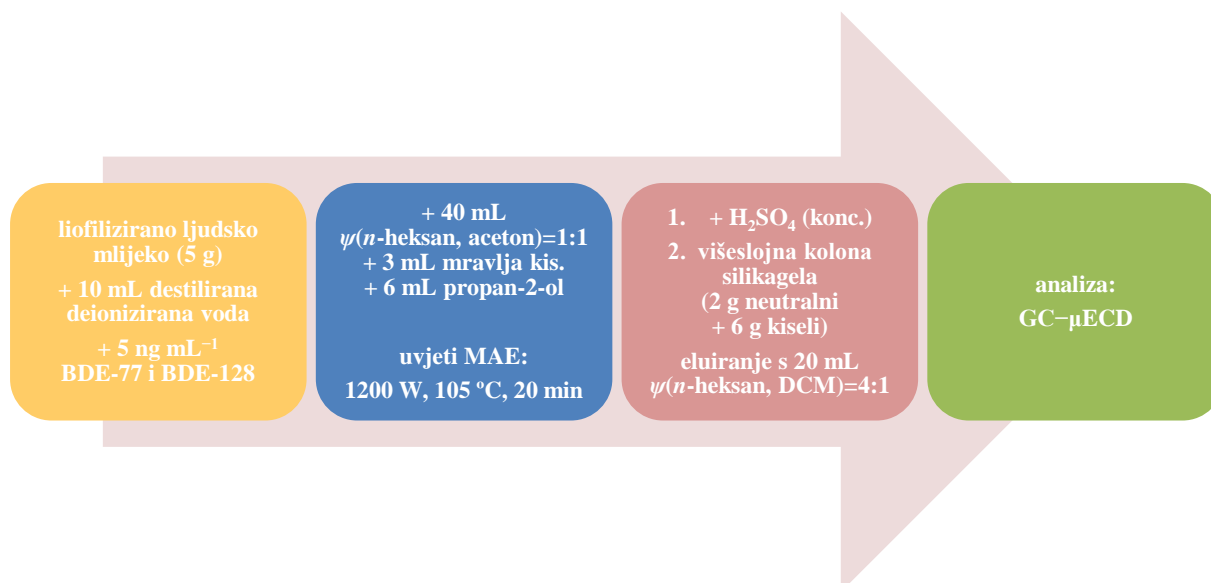
#### 4.1.3.5. Optimizacija postupka pročišćavanja ekstrakta

Tijekom optimizacije postupka pripreve i ekstrakcije spojeva PBDE iz uzoraka ljudskog mlijeka, pročišćavanje ekstrakta provodilo se u samo jednom koraku – dodatkom koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> u ekstrakt. Ipak, za dobivanje čišćih ekstrakta i kromatograma bilo je potrebno uvesti dodatan korak pročišćavanja. Za optimizaciju pročišćavanja, isprobano je dodatno pročišćavanje dodatkom koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> u već jednom pročišćeni ekstrakt ili propuštanjem navedenog ekstrakta kroz višeslojnu kolonu silikagela (Slika 3.1.).

Usporedbom dvostrukog pročišćavanja ekstrakta s koncentriranom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i pročišćavanja ekstrakta na višeslojnim kolonama silikagela nakon koraka pročišćavanja s koncentriranom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, čišći kromatogrami s nižom baznom linijom (što je posebno vidljivo na prednjem dijelu kromatograma) dobiveni su upotrebom višeslojnih kolona silikagela u drugom koraku pročišćavanja koje su sadržavale 6 g i 8 g kiselog silikagela (Slika 4.8.). Te dvije kolone bile su jednako učinkovite bez obzira na razliku u količini sorbensa i stoga su iz praktičnih razloga i većeg prostora u koloni za manipulaciju uzorkom daljnji eksperimenti provedeni upotrebom višeslojne kolone punjene s 2 g neutralnog silikagela i 6 g kiselog silikagela. Što se tiče volumena otapala za eluiranje, analizom zasebnih frakcija eluata pokazalo se da je 20 mL smjese otapala  $\psi$ (*n*-heksan, diklormetan)=4:1 dovoljno za učinkovito eluiranje ciljanih spojeva PBDE (Slika 4.9.).



**Slika 4.8.** Usporedba kromatograma ekstrakta ljudskog mlijeka (dodatak standardne otopine smjese spojeva PBDE  $5 \text{ ng mL}^{-1}$ ) pročišćenog dva puta dodatkom koncentrirane  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (crveno) i pročišćenog jednom s koncentriranom  $\text{H}_2\text{SO}_4$  te na višeslojnoj koloni silikagela (2 g neutralni silikagel i 6 g kiseli silikagel) (plavo)



**Slika 4.9.** Konačni eksperimentalni uvjeti metode za određivanje spojeva PBDE u ljudskome mlijeku uz dodatak  $5 \text{ ng mL}^{-1}$  surogatnih standarda BDE-77 i BDE-128



## 4.1.3.6. Validacija metode

Točnost i preciznost određene su kako bi se procijenila izvedba metode za određivanje spojeva PBDE u ljudskome mlijeku. Masene koncentracije određivanih analita u slijepim probama reagensa bile su ispod granica određivanja odnosno detekcije.

Dobiveni su podjednaki analitički povrati za sve kongenere PBDE pri obje koncentracijske razine uz zadovoljavajuće vrijednosti RSD, što upućuje na činjenicu da je predložena metoda (Slika 4.9.) prikladna za analizu spojeva PBDE u ljudskome mlijeku (Tablica 4.7.). Analitički povrati surogatnih standarda bili su podjednaki kao i za ostale kongenere PBDE te je time potvrđena njihova prikladnost za korištenje u analizama realnih uzoraka ljudskog mlijeka.

Validacija predložene metode provedena je i analizom adaptiranog mlijeka za dojenčad, čiji su se analitički povrati spojeva PBDE (Tablica 4.7.) odlično slagali s analitičkim povratima dobivenim analizom ljudskog mlijeka, što upućuje na to da je odabrana metoda robusna i prikladna za analizu spojeva PBDE i u matricama sličnima ljudskome mlijeku.

**Tablica 4.7.** Srednje vrijednosti analitičkih povrata i preciznost izražena kao relativna standardna devijacija (RSD) za individualne kongenere PBDE i surogatne standarde dobivene analizom ljudskog mlijeka i adaptiranog mlijeka optimiranom metodom za određivanje spojeva PBDE u ljudskome mlijeku

Spoj	Ljudsko mlijeko				Adaptirano mlijeko	
	5 ng mL <sup>-1</sup>		25 ng mL <sup>-1</sup>		5 ng mL <sup>-1</sup>	
	Analitički povrat / %	Preciznost (RSD) / %	Analitički povrat / %	Preciznost (RSD) / %	Analitički povrat / %	Preciznost (RSD) / %
BDE-28	61	9	63	6	68	0
BDE-47	65	6	66	10	65	4
BDE-99	62	10	67	7	65	4
BDE-100	67	6	65	8	60	5
BDE-153	74	8	78	9	71	7
BDE-154	73	7	76	9	67	5
BDE-183	69	12	80	9	70	2
<b>BDE-77</b>	64	6	66	7	62	3
<b>BDE-128</b>	67	5	72	7	68	3

Dio realnih uzoraka ljudskog mlijeka dodatno je analiziran primjenom tehnike GC–MS/MS kako bi se potvrdila pouzdanost rezultata dobivenih pomoću tehnike GC– $\mu$ ECD (Tablica 8.1. u Dodatku). Navedeni maseni udjeli korigirani su za srednju vrijednost analitičkih povrata surogatnih standarda BDE-77 i BDE-128. Primjenom tehnike GC– $\mu$ ECD, srednja vrijednost navedenih povrata u analiziranim uzorcima bila je 70 %, dok je primjenom tehnike GC–MS/MS bila 87 %. Konačni maseni udjeli dobiveni primjenom obje tehnike izvrsno su se slagali i stoga se može zaključiti da je  $\mu$ ECD prikladan detektor za određivanje spojeva PBDE.

## 4.2. Analiza realnih uzoraka kućne prašine i ljudskog mlijeka

Optimirane i validirane metode za određivanje spojeva PBDE u uzorcima kućne prašine i ljudskog mlijeka primijenjene su za analizu 30 realnih uzoraka mlijeka donorica iz Zagreba i okolice te prašine skupljene u njihovim kućanstvima.

### 4.2.1. Realni uzorci kućne prašine

Optimirana i validirana metoda za određivanje spojeva PBDE u uzorcima kućne prašine, koja uključuje upotrebu tehnike MAE i plinskokromatografsku analizu pročišćenog ekstrakta na dvjema kolonama uz detekciju ciljanih analita s dva mikrodetektora zahvata elektrona, primijenjena je za određivanje tragova ciljanih spojeva u uzorcima kućne prašine.

Maseni udjeli kongenera PBDE u uzorcima kućne prašine određeni su usporedbom površina pikova analita u kromatogramu uzorka i standarda uz korištenje kalibracijskih krivulja. Kvantitativno su određeni samo spojevi čiji su pikovi detektirani na obje kolone, a zatim su dobivene vrijednosti masenih udjela korigirane za srednju vrijednost analitičkih povrata surogatnih standarda BDE-77 i BDE-128 i izražene kao srednje vrijednosti rezultata na dvije kolone (rezultati prikazani u Tablici 8.2. u Dodatku). Slijepe probe reagensa analizirane su u svakoj sekvenci, a masene koncentracije određivanih analita bile su ispod granica detekcije.

Učestalost detekcije i maseni udjeli sedam kongenera PBDE u uzorcima kućne prašine prikazani su u Tablici 4.8. U najvišim masenim udjelima pronađeni su kongeneri BDE-99 (medijan 1,4 ng g<sup>-1</sup> prašine) i BDE-47 (medijan 1,2 ng g<sup>-1</sup> prašine), a detektirani su u 93 %, odnosno 90 % uzoraka kućne prašine. Slijedio je kongener BDE-183, čiji medijan je bio

1,0 ng g<sup>-1</sup> prašine, a detektiran je u 83 % uzoraka kućne prašine. Ostali analizirani kongeneri detektirani su u 60 % (BDE-100), 70 % (BDE-154) i 73 % (BDE-153) uzoraka kućne prašine. Najrjeđe je detektiran kongener BDE-28 (10 %), a razlog tome je njegova hlapljivost i manja sposobnost vezanja za čestice prašine.

**Tablica 4.8.** Maseni udjeli spojeva PBDE detektirani u uzorcima prašine prikupljenim u kućanstvima ispitanica (N = 30) s područja Zagreba i okolice

Spoj	n	Maseni udio / ng g <sup>-1</sup> prašine					
		Raspon <sup>a</sup>	Q <sub>0</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>
BDE-28	3	0,53 – 0,77	< GD	< GD	< GD	< GD	0,77
BDE-47	27	0,18* – 120	< GD	0,44	1,2	2,4	120
BDE-99	28	0,23* – 283	< GD	0,73	1,4	5,1	283
BDE-100	18	0,27* – 48	< GD	< GD	0,32	0,94	48
BDE-153	22	0,19* – 37	< GD	< GD	0,48	1,4	37
BDE-154	21	0,15* – 33	< GD	< GD	0,25	0,75	33
BDE-183	25	0,40* – 19	< GD	0,57	1,0	2,1	19
∑PBDE	29	0,24 – 523	< GD	3,5	4,9	13,6	523

n – broj pozitivnih uzoraka; <sup>a</sup> raspon masenih udjela u pozitivnim uzorcima; GD granica detekcije;

Q<sub>0</sub> minimum; Q<sub>1</sub> donji kvartil (25 %); Q<sub>2</sub> srednji kvartil (medijan); Q<sub>3</sub> gornji kvartil (75 %); Q<sub>4</sub> maksimum;

\* vrijednost iznad GD i ispod granice određivanja

Detektiran je široki raspon masenih udjela ∑PBDE (od 0,24 ng g<sup>-1</sup> do 523 ng g<sup>-1</sup> prašine), ali u čak 53 % uzoraka (n = 16) detektirana je ∑PBDE manja od 5 ng g<sup>-1</sup> prašine i u 40 % uzoraka (n = 12) manja od 50 ng g<sup>-1</sup> prašine, dok su u samo jednom uzorku svi analizirani kongeneri bili ispod granica detekcije. Suma tri najzastupljenija kongenera (BDE-47, BDE-99, BDE-183) doprinosila je ukupnoj sumi kongenera od 63 % do 100 %, a medijan je iznosio 83 %. Medijan doprinosi kongenera BDE-99 ∑PBDE bio je 28 %, a kongenera BDE-47 i BDE-183 27 %.

Maseni udjeli najzastupljenijih kongenera detektirani su u vrlo širokom rasponu od 0,23 ng g<sup>-1</sup> do 283 ng g<sup>-1</sup> prašine (BDE-99) i od 0,18 ng g<sup>-1</sup> do 120 ng g<sup>-1</sup> prašine (BDE-47), što upućuje na velike razlike u kontaminaciji ovim spojevima među istraživanim uzorcima prašine iz kućanstava. U 53 % uzoraka prašine dominantni kongeneri bili su BDE-99 i/ili BDE-47 (predstavnici komercijalne formulacije „penta“), dok je kongener BDE-183 (predstavnik komercijalne formulacije „okta“) bio dominantan u 20 % uzoraka. Navedeni kongeneri podjednako su bili zastupljeni u 13 % (n = 4) uzoraka prašine. Ovi rezultati ukazuju

na prisutnost komercijalne smjese „penta“ u zagrebačkim kućanstvima, koja se intenzivno koristila kao dodatak tekstilu i poliuretanskim pjenama upotrebljavanim kao punila za namještaj i madrace.<sup>2</sup> Osim toga, kongener BDE-99 je jedan od najzastupljenijih produkata debrominacije komercijalne formulacije „okta“.<sup>172</sup> Nadalje, osim na upotrebu formulacije „okta“, prisutnost kongenera BDE-183 upućuje i na debrominaciju termolabilnog i fotoosjetljivog kongenera BDE-209 u uzorcima kućne prašine.<sup>173</sup> Stoga se ne može nedvojbeno utvrditi jesu li najzastupljeniji kongeneri detektirani u prašini rezultat intenzivnije upotrebe komercijalnih formulacija „penta“ i „okta“ ili rezultat razgradnje kongenera PBDE supstituiranih većim brojem Br atoma prisutnih u komercijalnim formulacijama „okta“ i „deka“, ili posljedica jednog i drugog. Omjer kongenera BDE-47 i BDE-99 može se koristiti kao pokazatelj debrominacije spojeva PBDE supstituiranih većim brojem Br atoma pod utjecajem UV svjetlosti.<sup>87,91,165,174</sup> Naime, omjeri navedenih kongenera u dvjema najčešće korištenim komercijalnim formulacijama „penta“ – DE-71 i Bromkal 70-5DE iznose 0,78 i 1,1<sup>19</sup>. U čak 90 % (n = 27) analiziranih uzoraka kućne prašine, detektirani su i BDE-47 i BDE-99. Većinom je njihov omjer bio između 0,18 do 1,0 (srednja vrijednost 0,59), što je slično njihovim omjerima u prethodno navedenim komercijalnim formulacijama. U četiri uzoraka omjer je bio između 1,1 i 2,3 (srednja vrijednost 1,6), što upućuje na to da su u tim uzorcima prašine BDE-47 i BDE-99 nastali procesom debrominacije. Sveukupno, može se zaključiti da su komercijalne formulacije „penta“ u većini kućanstava vjerojatnije prisutne uslijed prisustva raznih tretiranih materijala nego da su ti kongeneri bili produkti debrominacije kongenera PBDE supstituiranih većim brojem Br atoma.

Razine spojeva PBDE u uzorcima kućne prašine u različitim državama teško je usporediti jer su razlike u razinama prisutne već među pojedinačnim realnim uzorcima prikupljenim unutar istog područja istraživanja. Međutim, usporedbom medijana pojedinačnih kongenera PBDE analiziranih u ovom istraživanju s nedavnim istraživanjima iz drugih država može se zaključiti da su razine u uzorcima kućne prašine s područja Zagreba i okolice relativno niske. Samo su u nekoliko istraživanja pronađeni niži medijani analiziranih kongenera PBDE. Za kongenere BDE-47 i BDE-99, niži medijani detektirani su u uzorcima iz Šangaja i Harbina (Kina)<sup>70,109</sup> te Kopawe (Nepal).<sup>105</sup> U prašini iz Birminghama (Velika Britanija) detektirana je niža vrijednost medijana za kongener BDE-47,<sup>110</sup> a za kongener BDE-99 u prašini iz pokrajine Hunan (Kina),<sup>108</sup> dok u prašini iz Jeddaha (Saudijska Arabija) kongener BDE-99 nije detektiran.<sup>113</sup>

Slične vrijednosti medijana za kongener BDE-47 izmjerene su u prašini iz Pekinga (Kina),<sup>102</sup> a za kongener BDE-99 u prašini iz Hanoijske (Vijetnam).<sup>111,112</sup> Što se tiče kongenera BDE-183, slična vrijednost medijana detektirana je u uzorcima prašine iz Šangaja i Harbina (Kina) te u različitim pokrajinama Južne Koreje.<sup>50,70,109</sup> Kongener BDE-28 također je među najmanje zastupljenim kongenerima u uzorcima prašina iz drugih zemalja, dok u nekim studijama uopće nije detektiran.<sup>44,50,94,101</sup>

#### 4.2.2. Realni uzorci ljudskog mlijeka

Optimirana i validirana metoda za određivanje spojeva PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka, koja uključuje upotrebu tehnike MAE i plinskokromatografsku analizu pročišćenog ekstrakta na dvjema kolonama uz detekciju ciljanih analita na dva mikrodetektora zahvata elektrona, primijenjena je za određivanje tragova ciljanih spojeva u uzorcima ljudskog mlijeka. Dodatno, za potvrdu rezultata, provedena je kvantitativna analiza tehnikom GC-MS/MS uz ionizaciju elektronima.

Maseni udjeli kongenera PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka određeni su usporedbom površina pikova analita u kromatogramu uzorka i standarda uz korištenje kalibracijskih krivulja. Kvantitativno su određeni samo spojevi čiji su pikovi detektirani na obje kolone, a zatim su dobivene vrijednosti masenih udjela korigirane za srednju vrijednost analitičkih povrata surogatnih standarda BDE-77 i BDE-128 i izražene kao srednje vrijednosti rezultata na dvije kolone (rezultati prikazani u Tablici 8.3. u Dodatku). Slijepe probe reagensa analizirane su u svakoj sekvenci, a masene koncentracije određivanih analita bile su ispod granica detekcije.

Učestalost i maseni udjeli sedam kongenera PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka prikazani su u Tablici 4.9. U najvišim masenim udjelima pronađen je kongener BDE-153 (medijan  $0,23 \text{ ng g}^{-1}$  masti) i detektiran je u svim uzorcima ljudskog mlijeka ( $n = 30$ ). Tome je vjerojatno razlog njegov veći bioakumulacijski potencijal, i duže vrijeme poluraspada u odnosu na ostale analizirane kongenere,<sup>65</sup> ali i činjenica da može nastati razgradnjom kongenera BDE-209.<sup>14,57</sup>

Ostali analizirani kongeneri bili su detektirani u 53 % (BDE-100), 57 % (BDE-99), 60 % (BDE-47) i 83 % (BDE-154) uzoraka mlijeka. Najrjeđe su detektirani kongeneri BDE-28 i BDE-183. Kongener BDE-28 općenito se nalazi u nižim razinama u okolišnim uzorcima u

odnosu na ostale analizirane kongenere, dok na niske razine kongenera BDE-183 vjerojatno utječe njegovo kratko vrijeme poluraspada od samo 94 dana.<sup>68</sup> U uzorku VMTK5 (maseni udjeli pojedinih kongenera u pojedinačnim uzorcima prikazani su u Tablici 8.3. u Dodatku) BDE-183 je detektiran u većem masenom udjelu (0,38 ng g<sup>-1</sup> masti) u odnosu na ostale uzorke, što ukazuje na kontinuiranu izloženost majke formulaciji „okta“.

Raspon masenih udjela  $\Sigma$ PBDE bio je od 0,16 ng g<sup>-1</sup> do 6,3 ng g<sup>-1</sup> masti. Suma tri kongenera (BDE-47, BDE-99, BDE-153) doprinosila je ukupnoj sumi kongenera od 45 % do 100 %, a medijan je iznosio 78 %. Medijan doprinosa kongenera BDE-153 ukupnoj sumi kongenera PBDE bio je 66 %, kongenera BDE-99 31 % i kongenera BDE-47 14 % u uzorcima u kojima su detektirani. U 50 % uzoraka ljudskog mlijeka dominantan kongener bio je BDE-153, a kongener BDE-99 u 23 % uzoraka. Zanimljivo je da je u uzorcima u kojima su detektirane najviše razine spojeva PBDE (MALU1 s 5,7 ng g<sup>-1</sup> masti odnosno FRSN1 sa 6,3 ng g<sup>-1</sup>) dominirao kongener BDE-99, što je u skladu s činjenicom da je to jedan od najzastupljenijih kongenera formulacije „penta“ kojoj su majke izložene u svom kućanstvu.

**Tablica 4.9.** Maseni udjeli spojeva PBDE detektirani u uzorcima ljudskog mlijeka prikupljenim od ispitanica (N = 30) iz Zagreba i okolice

Spoj	n	Maseni udio / ng g <sup>-1</sup> masti					
		Raspon <sup>a</sup>	Q <sub>0</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>
BDE-28	1	0,42	< GD	< GD	< GD	< GD	0,42
BDE-47	18	0,02* – 1,5	< GD	< GD	0,05*	0,21	1,5
BDE-99	17	0,01* – 3,4	< GD	< GD	0,04	0,33	3,4
BDE-100	16	0,06* – 0,98	< GD	< GD	0,07*	0,17	0,98
BDE-153	30	0,08 – 0,83	0,08	0,18	0,23	0,32	0,83
BDE-154	25	0,03* – 0,65	< GD	0,04*	0,07	0,14	0,65
BDE-183	1	0,38*	< GD	< GD	< GD	< GD	0,38*
$\Sigma$ PBDE	30	0,16 – 6,3	0,16	0,28	0,49	1,2	6,3

n – broj pozitivnih uzoraka; <sup>a</sup> raspon masenih udjela u pozitivnim uzorcima; GD granica detekcije;

Q<sub>0</sub> minimum; Q<sub>1</sub> donji kvartil (25 %); Q<sub>2</sub> srednji kvartil (medijan); Q<sub>3</sub> gornji kvartil (75 %); Q<sub>4</sub> maksimum;

\* vrijednost iznad GD i ispod granice određivanja

Vrlo slične vrijednosti sume masenih udjela istih sedam kongenera PBDE detektirane su u uzorcima ljudskog mlijeka roditelja iz Grčke (od 0,32 ng g<sup>-1</sup> do 13 ng g<sup>-1</sup> masti, medijan:

1,5 ng g<sup>-1</sup> masti),<sup>123</sup> Finske (od 1,5 ng g<sup>-1</sup> do 19 ng g<sup>-1</sup> masti, medijan: 5,2 ng g<sup>-1</sup> masti) i Francuske (od 0,5 ng g<sup>-1</sup> do 15 ng g<sup>-1</sup> masti, medijan: 1,5 ng g<sup>-1</sup> masti).<sup>126</sup> Niže vrijednosti detektirane su uzorcima ljudskog mlijeka roditelja iz Irske (od 0,61 ng g<sup>-1</sup> do 2,5 ng g<sup>-1</sup> masti, medijan 1,4 ng g<sup>-1</sup> masti)<sup>135</sup> i Kine (od 0,0064 ng g<sup>-1</sup> do 1,5 ng g<sup>-1</sup> masti, medijan: 0,71 ng g<sup>-1</sup> masti).<sup>136</sup>

Slične vrijednosti medijana sume istih sedam kongenera PBDE detektirane su u uzorcima ljudskog mlijeka roditelja iz Danske (4,9 ng g<sup>-1</sup> masti), uz nešto širi raspon od 1,2 ng g<sup>-1</sup> do 111 ng g<sup>-1</sup> masti,<sup>126</sup> te 14 kongenera PBDE detektiranih u uzorcima ljudskog mlijeka roditelja iz Njemačke (1,7 ng g<sup>-1</sup> masti, raspon: od 0,51 ng g<sup>-1</sup> do 113 ng g<sup>-1</sup> masti).<sup>134</sup>

Značajno više razine spojeva PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka detektirane su na području SAD-a (od 10 ng g<sup>-1</sup> do 677 ng g<sup>-1</sup> masti, medijan: 453 ng g<sup>-1</sup> masti).<sup>131</sup> Sličan raspon sume masenih udjela samo pet kongenera PBDE detektiran je i u uzorcima ljudskog mlijeka majki iz Kalifornije (od 6,8 ng g<sup>-1</sup> do 407 ng g<sup>-1</sup> masti, medijan: 30 ng g<sup>-1</sup> masti). Iako su navedene razine spojeva PBDE bile u padu u odnosu prethodna razdoblja,<sup>124</sup> u usporedbi s našim vrijednostima medijana  $\Sigma$ PBDE bile su i dalje preko 60 puta više. Razlog tome je što Kalifornija ima izrazito stroge zakone o zaštiti od požara te su bili veliki potrošači komercijalnih formulacija koje sadrže spojeve PBDE.

### 4.3. Procjena rizika za ljudsko zdravlje

Unos spojeva PBDE u ljude odvija se dvama glavnim putovima, putem hrane i putem prašine – prvenstveno ingestijom prašine, a u manjoj mjeri apsorpcijom putem kože i inhalacijom.<sup>89,104</sup> Izloženost majke ovim spojevima može između ostalog kontaminirati i ljudsko mlijeko, u kojem se spojevi PBDE nakupljaju zbog svoje lipofilnosti i koreliraju s udjelom masti u mlijeku. Dojenaštvo je razdoblje kada je ljudski organizam u najvećoj mjeri izložen unosu organskih zagađivala zato što se tada navedeni spojevi putem mlijeka izravno unose u dojenče, a prema preporuci Svjetske zdravstvene organizacije ljudsko mlijeko bi trebalo biti jedina prehrana djece do šestog mjeseca starosti. Stoga je ljudsko mlijeko jedna od najčešće korištenih bioloških matrica za biomonitoring ljudi, ali i za procjenu rizika za zdravlje dojenčadi.

Podaci o razinama spojeva PBDE određenih u realnim uzorcima ljudskog mlijeka ispitanica i prašine iz njihovih kućanstava korišteni su za procjenu rizika za zdravlje roditelja i

dojenčadi. S obzirom na to da razine spojeva PBDE u zraku nisu izmjerene, izloženost majki i dojenčadi ovim spojevima putem inhalacije zraka/suspendiranih čestica prašine nije izračunata. Za dojenčad je osim izloženosti putem prašine uzeta u obzir i izloženost putem ljudskog mlijeka.

Za procjenu dnevnog unosa spojeva PBDE u dojenčad putem hrane ( $EDI_{mlijeko}$ ), odnosno mlijeka korištena je jednadžba:<sup>139</sup>

$$EDI_{mlijeko} = \frac{\gamma_{mlijeko} \times m \times V}{BW} [ng \text{ kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}] \quad (1)$$

gdje je  $\gamma_{mlijeko}$  maseni udio pojedinog kongenera PBDE ili  $\Sigma$ PBDE ( $ng \text{ g}^{-1}$  masti) u pojedinom uzorku ljudskog mlijeka,  $m$  masa masti (g) u 1 mL mlijeka (sadržaj masti svakog pojedinog uzorka određen je gravimetrijski),  $V$  je prosječan dnevni volumen mlijeka koje dojenče popije (prema uputama Američke agencije za zaštitu okoliša<sup>175</sup> za dojenče staro mjesec dana iznosi  $702 \text{ mL dan}^{-1}$ ), dok je  $BW$  tjelesna masa (engl. *Body Weight*) dojenčeta (4,14 kg).

Za procjenu dnevnog unosa spojeva PBDE u organizam majki i dojenčadi putem ingestije prašine ( $EDI_{ing}$ ) uzeta su u obzir dva scenarija. Za tzv. centralni scenarij, uzeta je vrijednost prosječne, a za drugi, tzv. najgori scenarij, visoke stope ingestije prašine (engl. *Dust Ingestion Rate*,  $IR_{prašina}$ ) izražena u  $mg \text{ dan}^{-1}$ . Za izračun unosa putem ingestije prašine je korištena formula:<sup>89</sup>

$$EDI_{ing} = \frac{\gamma_{prašina} \times IR_{prašina} \times AF_{gastro} \times HEF}{BW} [ng \text{ kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}] \quad (2)$$

gdje je  $\gamma_{prašina}$  maseni udio pojedinog kongenera PBDE ili  $\Sigma$ PBDE ( $ng \text{ g}^{-1}$  prašine) u pojedinom uzorku kućne prašine i  $AF_{gastro}$  (engl. *Gastrointestinal Absorption Fraction*) gastrointestinalna apsorpcijska frakcija (%). Postotak, odnosno frakcija vremena koja se provede u kućanstvu (engl. *Home Exposure Fraction*; HEF) i koja predstavlja vrijeme izloženosti prašini iz tog prostora, za odrasle prema literaturi iznosi 64 %, <sup>176</sup> dok je za malu djecu obično veća i iznosi preko 80 %. S obzirom na to da se ovdje radi o dojenčadi staroj mjesec dana, povećali smo taj postotak i uzeto je da tako mala djeca provedu u svojim kućama 95 % vremena.



Za procjenu dnevnog unosa spojeva PBDE u organizam majki i dojenčadi putem dermalne apsorpcije ( $EDI_{\text{derm}}$ ) korištena je formula:<sup>89</sup>

$$EDI_{\text{derm}} = \frac{\gamma_{\text{prašina}} \times DAS \times ESA \times AF_{\text{derm}} \times HEF}{BW} [ng \text{ kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}] \quad (3)$$

gdje je  $DAS$  (engl. *Dust Adhered to Skin Rate*) stopa vezanja prašine za kožu ( $\text{mg cm}^{-2}$ ),  $ESA$  (engl. *Exposed Skin Area*) površina izložene kože ( $\text{cm}^2$ ), a  $AF_{\text{derm}}$  (engl. *Dermal Absorption Fraction*) dermalna apsorpcijska frakcija ( $\text{mg cm}^{-2} \text{ dan}^{-1}$ ). Pojednosti i vrijednosti svih parametara koji se koriste za izračun vrijednosti  $EDI$  dati su u Tablici 4.10.

Kvocijent opasnosti, koji predstavlja rizik od nekancerogenog učinka promatranog spoja/smjese uzimajući u obzir pojedini put unosa, izračunat je dijeljenjem vrijednosti  $EDI$  (za svaki kongener odnosno  $\Sigma$ PBDE i za svaki put izloženosti) s odgovarajućom oralnom referentnom dozom:

$$HQ_{\text{mlijeko}} = \frac{EDI_{\text{mlijeko}}}{RfD} \quad (4)$$

$$HQ_{\text{ing}} = \frac{EDI_{\text{ing}}}{RfD} \quad (5)$$

$$HQ_{\text{derm}} = \frac{EDI_{\text{derm}}}{RfD} \quad (6)$$

Kongenerima za koje Američka agencija za zaštitu okoliša nije utvrdila  $RfD$  vrijednosti, pripisane su vrijednosti njima strukturno najbližnjih kongenera ( $100 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  za BDE-100 i  $200 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  za BDE-154 i -183) dok je vrijednost  $2000 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  određena za penta-BDE formulaciju primijenjena kao  $RfD$  za  $\Sigma$ PBDE.<sup>177,178</sup> U slučaju ingestije prašine,  $HQ_{\text{ing}}$  je izračunat za oba scenarija, centralni i najgori.

Indeks opasnosti je nekancerogeni rizik uslijed višestrukih puteva unosa izražen kao zbroj pojedinih vrijednosti  $HQ$ :

$$(7)$$

$$HI = HQ_{\text{mlijeko}} + HQ_{\text{ing}} + HQ_{\text{derm}}$$

$HI \leq 1$  označava da ne postoji značajan rizik od nekancerogenih učinaka, dok  $HI > 1$  označava da određeni spoj može predstavljati nekancerogeni rizik za izloženu populaciju, s vjerojatnošću koja ima tendenciju porasta kako se povećava vrijednost  $HI$ .<sup>179</sup>

**Tablica 4.10.** Nazivi, mjerne jedinice i vrijednosti parametara korištenih za izračun rizika za zdravlje majki i dojenčadi uslijed izloženosti spojevima PBDE sadržanim u ljudskome mlijeku i kućnoj prašini

Parametar	Oznaka	Vrijednost		Jedinica	Referenca	
		odrasli	dojenčad			
stopa ingestije prašine	$IR_{\text{dust}}$	prosječna/visoka	20/60	20/60	mg dan <sup>-1</sup>	180
gastrointestinalna apsorpcijska frakcija	$AF_{\text{gastro}}$		100		%	89
tjelesna masa	$BW$		70	4,14	kg	42
frakcija izloženosti u kućanstvu	$HEF$		0,64	0,95		176
stopa vezanja prašine za kožu	$DAS$		0,03	0,03	mg cm <sup>-2</sup>	176
površina izložene kože	$ESA$		4615	2564	cm <sup>2</sup>	176
dermalna apsorpcijska frakcija	$AF_{\text{derm}}$	BDE-28	0,0423			7,89
		tetra-BDE	0,0285			
		penta-BDE	0,0196			
		heksa-BDE i hepta-BDE	0,0089			
		$\Sigma$ PBDE	0,03			
oralna referentna doza	$R/D$	BDE-47	100			ng kg <sup>-1</sup> dan <sup>-1</sup>
		BDE-99	100			
		BDE-153	200			
		penta-BDE	2000			

Vrijednosti procijenjenih dnevnih unosa, kvocijenata i indeksa opasnosti za svaki pojedini kongener prikazani su u Tablicama 8.4. i 8.5. u Dodatku, dok su vrijednosti dobivene za  $\Sigma$ PBDE prikazane u Tablici 4.11. (za majke, odnosno odraslu populaciju) te u Tablici 4.12. (za dojenčad).

Prema dobivenim podacima, unos spojeva PBDE u organizam majke putem dermalne apsorpcije doprinosi ukupnoj izloženosti prosječno manje od 6 % za centralni scenarij, dok u najgorem scenariju doprinosi još manje, svega 2 % za sve analizirane uzorke. Navedeni podaci su u skladu s prijašnjim istraživanjima.<sup>33,89,104</sup> Ukupni procijenjeni unos  $\Sigma$ PBDE u organizam majke u rasponu je od  $4,7 \times 10^{-5} \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  do  $0,1 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  u slučaju centralnog scenarija i od  $1,4 \times 10^{-4} \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  do  $0,29 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  u slučaju najgoreg scenarija. Kongeneri BDE-99, BDE-47 i BDE-183 koji su bili najzastupljeniji u uzorcima kućne prašine, najviše su doprinijeli i ukupnom unosu spojeva PBDE u organizam majke putem ingestije kućne prašine s 26 %, 23 % i 19 %. Što se tiče dermalne apsorpcije, najveći doprinos imao je kongener BDE-47.

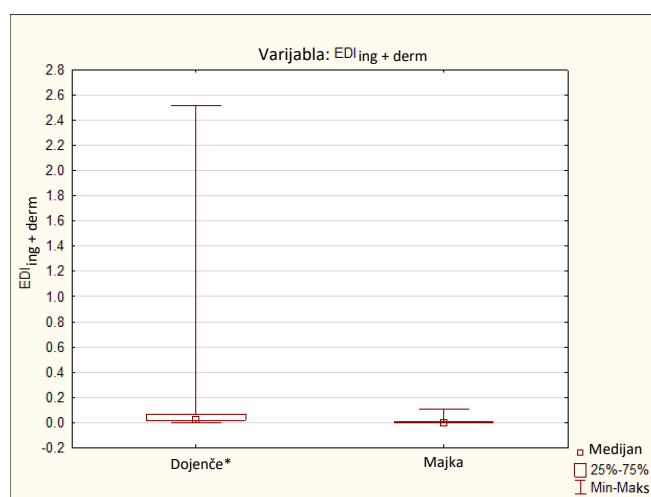
Izračunate vrijednosti *HQ* za pojedini put unosa spojeva PBDE kao i vrijednosti *HI*, koji uzima u obzir oba puta unosa, bile su za majke nekoliko redova veličine ispod 1. Navedeni rezultati ukazuju na to da detektirane razine spojeva PBDE u uzorcima kućne prašine u domovima majki iz Zagreba i okolice ne predstavljaju rizik za njihovo zdravstveno stanje. Ovdje treba uzeti u obzir da ingestija i dermalna apsorpcija prašine predstavljaju jedan udio u ukupnom unosu spojeva PBDE u organizam, a da jedan važan put unosa, ingestija kontaminirane hrane, u ovom radu nije istraživana. S obzirom na to da nema poznatih većih izvora onečišćenja spojevima PBDE u Hrvatskoj koji bi potencijalno mogli kontaminirati hranu, smatramo da je općenito rizik za zdravlje zbog unosa ovih spojeva u Hrvatskoj vrlo nizak.

Prema dobivenim podacima, unos spojeva PBDE u organizam dojenčadi putem ljudskog mlijeka daleko je značajniji (medijan 99 %) u odnosu na unos putem ingestije i dermalne apsorpcije prašine (medijan < 1 %). No, u slučaju uzorka kod kojeg je nađena izrazito visoka  $\Sigma$ PBDE u kućnoj prašini ( $523 \text{ ng g}^{-1}$  prašine, u odnosu na medijan  $\Sigma$ PBDE od  $4,9 \text{ ng g}^{-1}$  prašine), doprinos putem ingestije prašine je značajniji (70 % za centralni scenarij i 88 % za najgori scenarij) od onog putem ljudskog mlijeka.

Ukupni procijenjeni unos  $\Sigma$ PBDE u organizam dojenčeta u rasponu je od  $0,72 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  do  $41 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  u slučaju centralnog scenarija i od  $0,84 \text{ ng kg}^{-1} \text{ dan}^{-1}$  do

41 ng kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup> u slučaju najgoreg scenarija. Važno je uzeti u obzir da postoje razlike u unosu pojedinih kongenera PBDE iz različitih matrica. Unos kongenera BDE-153 putem ljudskog mlijeka bio je u rasponu od 0,44 ng kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup> do 5,3 ng kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup>, no za dva uzorka ljudskog mlijeka (FRSN1 i MALU1) u kojima su detektirani najviši maseni udjeli ΣPBDE i u kojima je po zastupljenosti prevladavao kongener BDE-99, upravo je procijenjeni dnevni unos tog kongenera iznosio gotovo 22 ng kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup>, što je za ta dva uzorka više od polovice procijenjenog dnevnog unosa ΣPBDE u dojenčad putem ingestije mlijeka. Što se tiče unosa spojeva PBDE putem ingestije kućne prašine, značajniji doprinos ukupnom unosu čine kongeneri koji su detektirani u višim masenim koncentracijama u samim uzorcima prašine.

Očekivano, dojenčad je izloženija unosu spojeva PBDE u organizam putem ingestije i dermalne apsorpcije kućne prašine u odnosu na majke, što se pokazalo i statistički značajno ( $z = 5,322$ ) prema Mann Whitney U-testu (Slika 4.10.). Time je potvrđeno da su dojenčad izuzetno osjetljiva populacija, a pogotovo ako se uzme u obzir i njihova prehrana koja značajnije doprinosi ukupnom unosu spojeva PBDE u odnosu na kasnija životna razdoblja. Isto je dobiveno i u radu Johnson i Restrepo (2009), gdje je istraživanjem pet dobnih skupina zaključeno da je unos putem prašine u prosjeku bio od 3 do 5 puta veći za dojenčad u odnosu na ostale dobne skupine.<sup>7</sup>



**Slika 4.10.** Značajnost razlika između procjene ukupnog dnevnog unosa spojeva PBDE putem prašine (ingestija i dermalna apsorpcija) u organizam majki i dojenčeta prema Mann Whitney U-testu ( $p < 0,05$ )

Izračunate vrijednosti  $HQ$  za pojedini put unosa spojeva PBDE, a također i vrijednosti  $HI$  bile su za dojenčad uglavnom nekoliko redova veličine ispod 1. Navedeni rezultati ukazuju da prema razinama spojeva PBDE detektiranim u ljudskome mlijeku i kućnoj prašini zdravstveno stanje dojenčadi nije ugroženo uslijed unosa navedenih spojeva. U već spomenutim uzorcima FRSN1 i MALU1, vrijednost  $HI$  od približno 0,2 za kongener BDE-99 značajno se približila 1. Dobiveni rezultati potvrđuju da su dojenčad izuzetno osjetljiva populacija podložna značajno većem unosu spojeva PBDE nego odrasla populacija, uglavnom zbog unosa putem mlijeka. S obzirom na to da se ti spojevi dugo zadržavaju u organizmu, a pred tom djecom je period kada će zbog prije spomenutih obrazaca ponašanja njihova izloženost uslijed ingestije prašine još više porasti, važno je u najvećoj mogućoj mjeri poduzeti radnje da se generalno smanji izloženost ovim štetnim spojevima. Na razini svojih domova, to se može postići korištenjem novih materijala koji ne sadrže spojeve PBDE, redovitim uklanjanjem prašine i što češćim provjetravanjem.

**Tablica 4.11.** Procjena dnevnog unosa (*EDI*)  $\Sigma$ PBDE (ng kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup>) putem ingestije i dermalne apsorpcije kućne prašine te vrijednosti kvocijenta opasnosti (*HQ*) i indeksa rizika (*HI*) za majke

SCENARIJ	IZLOŽENOST MAJKI $\Sigma$ PBDE DETEKTIRANOJU KUĆNOJ PRAŠINI					
	CENTRALNI			NAJGORI		
UZORAK	EDI <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>ak</sub>	HI
JŠIV8	1,64E-04	8,21E-08	2,37E-03	1,19E-06	7,11E-03	3,64E-06
RŠDB1	3,07E-06	1,53E-09	4,43E-05	2,22E-08	1,33E-04	6,80E-08
ADRU2	1,67E-05	8,36E-09	2,42E-04	1,21E-07	7,25E-04	3,71E-07
KRBR2	6,36E-05	3,18E-08	9,19E-04	4,59E-07	2,76E-03	1,41E-06
ANLJB7	1,70E-04	8,50E-08	2,46E-03	1,23E-06	7,37E-03	3,77E-06
VRAM3	6,63E-03	3,31E-06	9,57E-02	4,79E-05	2,87E-01	1,47E-04
DV'NK9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
DIT08	5,00E-05	2,50E-08	7,22E-04	3,61E-07	2,17E-03	1,11E-06
SOSN2	1,36E-04	6,81E-08	1,97E-03	9,83E-07	5,90E-03	3,02E-06
GRH5	5,11E-05	2,55E-08	7,37E-04	3,69E-07	2,21E-03	1,13E-06
NZHL3	6,26E-05	3,13E-08	9,05E-04	4,52E-07	2,71E-03	1,39E-06
IVKR4	1,45E-05	7,27E-09	2,10E-04	1,05E-07	6,30E-04	3,22E-07
PTLV2	6,19E-05	3,09E-08	8,94E-04	4,47E-07	2,68E-03	1,37E-06
FRSN1	4,55E-04	2,27E-07	6,57E-03	3,29E-06	1,97E-02	1,01E-05
MACI0	1,17E-05	5,86E-09	1,69E-04	8,47E-08	5,08E-04	2,60E-07
ZNLR2	5,69E-05	2,85E-08	8,22E-04	4,11E-07	2,47E-03	1,26E-06
MATR0	5,58E-05	2,79E-08	8,06E-04	4,03E-07	2,42E-03	1,24E-06
MRLU7	1,73E-04	8,67E-08	2,50E-03	1,25E-06	7,51E-03	3,84E-06
SKKS7	1,95E-03	9,77E-07	2,82E-02	1,41E-05	8,46E-02	4,33E-05
DALL6	4,02E-04	2,01E-07	5,81E-03	2,9E-06	1,74E-02	8,91E-06
MALU1	4,37E-05	2,19E-08	6,32E-04	3,16E-07	1,89E-03	9,69E-07
JABU8	1,08E-04	5,40E-08	1,56E-03	7,81E-07	4,68E-03	2,40E-06
MIMH4	1,97E-04	9,85E-08	2,84E-03	1,42E-06	8,53E-03	4,37E-06
VMTK5	1,21E-04	6,04E-08	1,74E-03	8,72E-07	5,23E-03	2,68E-06
NKME1	4,52E-05	2,26E-08	6,53E-04	3,26E-07	1,96E-03	1,00E-06
ENVK1	3,58E-05	1,79E-08	5,17E-04	2,58E-07	1,55E-03	7,93E-07
MGZK0	2,07E-05	1,03E-08	2,99E-04	1,49E-07	8,96E-04	4,58E-07
JSSI4	3,17E-04	1,58E-07	4,58E-03	2,29E-06	1,37E-02	7,02E-06
MJKT4	5,01E-05	2,51E-08	7,24E-04	3,62E-07	2,17E-03	1,11E-06
APPL3	5,59E-04	2,79E-07	8,07E-03	4,04E-06	2,42E-02	1,24E-05

**Tablica 4.12.** Procjena dnevnog unosa ( $EDI$ )  $\Sigma$ PBDE (ng kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup>) putem ingestije i dermalne apsorpcije kućne prašine i ingestije ljudskog mlijeka te vrijednosti kvocijenta opasnosti ( $HQ$ ) i indeksa rizika ( $HI$ ) za dojenčad

SCENARIJ	IZLOŽENOST DOJENČADI $\Sigma$ PBDE DETEKTIRANOJU KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MILJEKU						CENTRALNI						NAJGORI							
	EDI <sub>derm</sub>		HQ <sub>derm</sub>		EDI <sub>mliječno</sub>		HQ <sub>mliječno</sub>		EDI <sub>ing</sub>		HQ <sub>ing</sub>		HI		EDI <sub>uk</sub>		HQ <sub>ing</sub>		HI	
	EDI <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDI <sub>mliječno</sub>	HQ <sub>mliječno</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	HI	EDI <sub>uk</sub>	HQ <sub>ing</sub>	HI	EDI <sub>uk</sub>	HQ <sub>ing</sub>	HI			
JŠIV8	2,86E-03	1,43E-06	6,61E-01	3,30E-04	5,95E-02	2,98E-05	7,23E-01	3,62E-04	1,79E-01	8,93E-05	8,42E-01	4,21E-04								
RŠDB1	5,35E-05	2,67E-08	1,14E+00	5,72E-04	1,11E-03	5,56E-07	1,14E+00	5,72E-04	3,34E-03	1,67E-06	1,15E+00	5,73E-04								
ADRU2	2,91E-04	1,46E-07	9,90E-01	4,95E-04	6,06E-03	3,03E-06	9,97E-01	4,98E-04	1,82E-02	9,09E-06	1,01E+00	5,04E-04								
KRBR2	1,11E-03	5,54E-07	1,10E+00	5,50E-04	2,31E-02	1,15E-05	1,13E+00	5,63E-04	6,92E-02	3,46E-05	1,17E+00	5,86E-04								
ANLJB7	2,96E-03	1,48E-06	8,19E+00	4,10E-03	6,17E-02	3,08E-05	8,26E+00	4,13E-03	1,85E-01	9,25E-05	8,38E+00	4,19E-03								
VRAM3	1,15E-01	5,77E-05	8,93E-01	4,46E-04	2,40E+00	1,20E-03	3,41E+00	1,71E-03	7,21E+00	3,60E-03	8,22E+00	4,11E-03								
DV'NK9	0,00E+00	0,00E+00	1,45E+01	7,24E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,45E+01	7,24E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,45E+01	7,24E-03								
DIT08	8,71E-04	4,35E-07	3,50E+00	1,75E-03	1,81E-02	9,06E-06	3,52E+00	1,76E-03	5,44E-02	2,72E-05	3,56E+00	1,78E-03								
SOSN2	2,37E-03	1,19E-06	5,49E+00	2,74E-03	4,93E-02	2,47E-05	5,54E+00	2,77E-03	1,48E-01	7,40E-05	5,64E+00	2,82E-03								
GRTH5	8,90E-04	4,45E-07	8,81E-01	4,41E-04	1,85E-02	9,25E-06	9,01E-01	4,50E-04	5,55E-02	2,78E-05	9,38E-01	4,69E-04								
NZHL3	1,09E-03	5,46E-07	2,17E+00	1,09E-03	2,27E-02	1,14E-05	2,20E+00	1,10E-03	6,81E-02	3,41E-05	2,24E+00	1,12E-03								
IVKRA4	2,53E-04	1,27E-07	5,10E+00	2,55E-03	5,27E-03	2,64E-06	5,10E+00	2,55E-03	1,58E-02	7,91E-06	5,11E+00	2,56E-03								
PTLV2	1,08E-03	5,39E-07	2,10E+00	1,05E-03	2,24E-02	1,12E-05	2,12E+00	1,06E-03	6,73E-02	3,37E-05	2,16E+00	1,08E-03								
FRSN1	7,93E-03	3,96E-06	4,08E+01	2,04E-02	1,65E-01	8,25E-05	4,10E+01	2,05E-02	4,95E-01	2,47E-04	4,13E+01	2,07E-02								
MACI0	2,04E-04	1,02E-07	1,86E+00	9,32E-04	4,25E-03	2,13E-06	1,87E+00	9,34E-04	1,28E-02	6,38E-06	1,88E+00	9,38E-04								
ZNLR2	9,92E-04	4,96E-07	1,31E+00	6,54E-04	2,06E-02	1,03E-05	1,33E+00	6,65E-04	6,19E-02	3,10E-05	1,37E+00	6,85E-04								
MATR0	9,73E-04	4,86E-07	1,90E+00	9,51E-04	2,02E-02	1,01E-05	1,92E+00	9,61E-04	6,07E-02	3,04E-05	1,96E+00	9,82E-04								
MRLU7	3,02E-03	1,51E-06	5,53E+00	2,76E-03	6,28E-02	3,14E-05	5,59E+00	2,80E-03	1,89E-01	9,43E-05	5,72E+00	2,86E-03								
SKKS7	3,40E-02	1,70E-05	1,04E+01	5,21E-03	7,08E-01	3,54E-04	1,12E+01	5,58E-03	2,12E+00	1,06E-03	1,26E+01	6,29E-03								
DALL6	7,01E-03	3,50E-06	1,95E+00	9,77E-04	1,46E-01	7,29E-05	2,11E+00	1,05E-03	4,37E-01	2,19E-04	2,40E+00	1,20E-03								
MALU1	7,62E-04	3,81E-07	3,64E+01	1,82E-02	1,58E-02	7,92E-06	3,64E+01	1,82E-02	4,75E-02	2,38E-05	3,64E+01	1,82E-02								
JABU8	1,88E-03	9,42E-07	1,01E+00	5,05E-04	3,92E-02	1,96E-05	1,05E+00	5,25E-04	1,18E-01	5,88E-05	1,13E+00	5,64E-04								
MIMH4	3,43E-03	1,72E-06	8,64E+00	4,32E-03	7,14E-02	3,57E-05	8,72E+00	4,36E-03	2,14E-01	1,07E-04	8,86E+00	4,43E-03								
VMTK5	2,10E-03	1,05E-06	1,36E+01	6,78E-03	4,38E-02	2,19E-05	1,36E+01	6,81E-03	1,31E-01	6,57E-05	1,37E+01	6,85E-03								
NKME1	7,87E-04	3,94E-07	1,90E+00	9,50E-04	1,64E-02	8,19E-06	1,92E+00	9,59E-04	4,92E-02	2,46E-05	1,95E+00	9,75E-04								
ENVK1	6,24E-04	3,12E-07	7,54E+00	3,77E-03	1,30E-02	6,49E-06	7,55E+00	3,78E-03	3,89E-02	1,95E-05	7,58E+00	3,79E-03								
MGZK0	3,60E-04	1,80E-07	3,74E+00	1,87E-03	7,49E-03	3,75E-06	3,75E+00	1,88E-03	2,25E-02	1,12E-05	3,77E+00	1,88E-03								
JSSI4	5,52E-03	2,76E-06	1,49E+00	7,45E-04	1,15E-01	5,74E-05	1,61E+00	8,06E-04	3,44E-01	1,72E-04	1,84E+00	9,20E-04								
MJKT4	8,73E-04	4,37E-07	2,28E+00	1,14E-03	1,82E-02	9,09E-06	2,30E+00	1,15E-03	5,45E-02	2,73E-05	2,33E+00	1,17E-03								
APPL3	9,74E-03	4,87E-06	2,42E+00	1,21E-03	2,03E-01	1,01E-04	2,63E+00	1,32E-03	6,08E-01	3,04E-04	3,04E+00	1,52E-03								



#### 4.4. Procjena povezanosti masenih udjela spojeva PBDE s karakteristikama kućanstva te osobnim podacima majke i dojenčadi

U statističkoj obradi podataka izostavljen je uzorak kućne prašine u kojem je maseni udio sume analiziranih kongenera ( $\Sigma$ PBDE 523 ng g<sup>-1</sup> prašine) bio značajno viši u odnosu na ostale uzorke (ekstrem).

Koeficijenti Spearmanove korelacije ( $r$ ) između masenih udjela analiziranih kongenera PBDE u kućnoj prašini i ljudskome mlijeku prikazani su u Tablicama 4.13. i 4.14. Analiza korelacija pokazala je statistički značajne pozitivne korelacije između masenih udjela svih analiziranih kongenera PBDE u kućnoj prašini, kao i između pojedinih kongenera i  $\Sigma$ PBDE, što ukazuje na to da vjerojatno slični čimbenici utječu na detektirane masene udjele. Jedan od takvih čimbenika mogu biti uobičajeni izvori navedenih spojeva, poput tapeciranog namještaja, tekstila ili EE uređaja u kućanstvu. U usporedbi s jakim međusobnim korelacijama između najzastupljenijih kongenera formulacije „penta“ (BDE-47, -99, -100, -153 i -154), većina tih kongenera ne pokazuje statistički značajnu korelaciju s predstavnikom formulacije „okta“ (BDE-183). To potvrđuje da u kućanstvima postoje materijali, odnosno proizvodi kontaminirani s obje spomenute formulacije, no kongener BDE-183 vjerojatno potječe iz drugih izvora u odnosu na kongenere formulacije „penta“.

Analizom korelacija masenih udjela kongenera PBDE izmjerenih u uzorcima ljudskog mlijeka dobiven je manji broj statistički značajnih korelacija između pojedinih kongenera PBDE. Statistički značajne međusobne korelacije nađene su između kongenera BDE-47, BDE-99, BDE-153 i BDE-154, što je u skladu s rezultatima analize kućne prašine. Također je nađena značajna korelacija između para kongenera BDE-28 i BDE-183.

Statistički značajna korelacija između izmjerenih masenih udjela u kućnoj prašini i onih izmjerenih u ljudskome mlijeku nađena je za kongener BDE-28, te između kongenera BDE-183 iz mlijeka i kongenera BDE-28 iz kućne prašine. Uočena sukladnost vrijednosti dviju skupina podataka može se objasniti time da su koncentracije oba kongenera (BDE-28 i BDE-183) u majčinom mlijeku bile ispod granice detekcije u više od 96 % analiziranih uzoraka dok je koncentracija kongenera BDE-28 u kućnoj prašini bila ispod granice detekcije u 90 % uzoraka. Nađene su i statistički značajne korelacije između kongenera BDE-153 u ljudskome mlijeku i kongenera BDE-47, BDE-99, BDE-100, koji potječu iz kućne prašine (Tablica 4.15.), što je u skladu s tim da su ispitanice bile najizloženije formulaciji „penta“. Uz niske masene

udjele detektiranih spojeva PBDE u ljudskome mlijeku, vjerojatni razlozi izostanka snažnijih korelacija jesu i različita biodostupnost pojedinih kongenera, sposobnost njihova vezanja i akumulacije, kao i različito vrijeme njihova poluraspada u ljudskom organizmu.

**Tablica 4.13.** Koeficijenti Spearmanove korelacije ( $r$ ) između masenih udjela detektiranih kongenera PBDE u uzorcima prašine iz kućanstva ispitanica iz Zagreba i okolice [statistički značajne korelacije ( $p < 0,05$ ) su podebljane]

	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	ΣPBDE
BDE-28	<b>0,450</b>	<b>0,409</b>	<b>0,437</b>	<b>0,413</b>	<b>0,442</b>	0,266	<b>0,395</b>
BDE-47		<b>0,923</b>	<b>0,752</b>	<b>0,662</b>	<b>0,721</b>	0,300	<b>0,877</b>
BDE-99			<b>0,874</b>	<b>0,770</b>	<b>0,818</b>	0,281	<b>0,904</b>
BDE-100				<b>0,756</b>	<b>0,846</b>	0,198	<b>0,798</b>
BDE-153					<b>0,866</b>	<b>0,614</b>	<b>0,881</b>
BDE-154						<b>0,379</b>	<b>0,810</b>
BDE-183							<b>0,596</b>

**Tablica 4.14.** Koeficijenti Spearmanove korelacije ( $r$ ) između masenih udjela detektiranih kongenera PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka ispitanica iz Zagreba i okolice [statistički značajne korelacije ( $p < 0,05$ ) su podebljane]

	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	ΣPBDE
BDE-28	0,277	0,280	0,328	0,247	0,312	<b>0,719</b>	0,290
BDE-47		<b>0,634</b>	<b>0,757</b>	<b>0,380</b>	<b>0,453</b>	0,331	<b>0,820</b>
BDE-99			<b>0,541</b>	<b>0,733</b>	<b>0,733</b>	0,109	<b>0,851</b>
BDE-100				0,254	0,333	0,063	<b>0,761</b>
BDE-153					<b>0,784</b>	0,209	<b>0,703</b>
BDE-154						0,224	<b>0,707</b>
BDE-183							0,134

**Tablica 4.15.** Koeficijenti Spearmanove korelacije ( $r$ ) između masenih udjela detektiranih kongenera PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka i prašine iz kućanstva ispitanica iz Zagreba i okolice [statistički značajne korelacije ( $p < 0,05$ ) su podebljane]

	BDE-28 <sup>b</sup>	BDE-47 <sup>b</sup>	BDE-99 <sup>b</sup>	BDE-100 <sup>b</sup>	BDE-153 <sup>b</sup>	BDE-154 <sup>b</sup>	BDE-183 <sup>b</sup>	ΣPBDE <sup>b</sup>
<b>BDE-28<sup>a</sup></b>	<b>0,597</b>	0,237	0,171	0,246	0,218	0,097	<b>0,458</b>	0,226
<b>BDE-47<sup>a</sup></b>	0,161	0,219	0,203	0,117	<b>0,485</b>	0,255	0,209	0,323
<b>BDE-99<sup>a</sup></b>	0,097	0,223	0,210	0,079	<b>0,419</b>	0,107	0,194	0,295
<b>BDE-100<sup>a</sup></b>	0,122	0,280	0,218	0,094	<b>0,409</b>	0,068	0,224	0,313
<b>BDE-153<sup>a</sup></b>	0,097	0,200	0,135	0,237	0,172	-0,089	0,075	0,204
<b>BDE-154<sup>a</sup></b>	0,141	0,294	0,247	0,296	0,314	-0,017	0,166	0,328
<b>BDE-183<sup>a</sup></b>	-0,011	-0,160	-0,221	0,042	-0,256	-0,317	-0,120	-0,214
<b>ΣPBDE<sup>a</sup></b>	0,075	0,129	0,073	0,062	0,273	0,014	0,134	0,162

<sup>a</sup>kućna prašina; <sup>b</sup>ljudsko mlijeko

Spearmanova rank korelacija pokazala je mali broj korelacija između masenih udjela pojedinačnih kongenera PBDE s karakteristikama kućanstva, odnosno majke i djeteta. Jedino kongener BDE-100 detektiran u kućnoj prašini statistički značajno pozitivno korelira s brojem sati korištenja električnih i elektroničkih uređaja ( $r = 0,396$ ) te negativno s površinom tepiha u kućanstvu ( $r = 0,428$ ), što može biti povezano s tim da je općenito u kućanstvima zabilježeno malo površina prekrivenih tepisima. U ljudskome mlijeku navedeni kongener statistički značajno pozitivno korelira s brojem tapeciranog namještaja ( $r = 0,402$ ). Nedostatak većeg broja statistički značajnih korelacija masenih udjela spojeva PBDE s brojem tapeciranog namještaja ili količinom tekstila u kućanstvu može se pripisati malom broju uzoraka, dok, s druge strane, ni u istraživanjima s puno većim brojem uzoraka nisu uvijek nađene očekivane korelacije. Slučaj je to i u istraživanju Whitehead i suradnika (2013) u kojem su analizirana 292 uzorka kućne prašine te nisu nađene korelacije između koncentracija spojeva PBDE i broja ili sati korištenja elektroničkih uređaja kao ni broja tapeciranog namještaja, što se pripisalo činjenici da, unatoč prividnoj sličnosti, takvi predmeti mogu sadržavati spojeve PBDE u vrlo različitim količinama.<sup>181</sup>

Od dostupnih osobnih podataka majke odnosno djeteta dobivenih iz *Anketnih obrazaca*, nađena je korelacija pojedinih kongenera jedino s BMI majke. Svi kongeneri osim BDE-47 negativno su korelirali s BMI majke izračunatim za tri perioda: prije trudnoće, neposredno prije poroda i mjesec dana nakon poroda (Tablica 4.16.). Za sve tri kategorije korelacija BMI s

BDE-153 je i statistički značajna, dok kongener BDE-99 statistički značajno korelira s BMI prije trudnoće, a kongener BDE-154 s BMI prije trudnoće i mjesec dana nakon poroda. Moguće objašnjenje dobivenih rezultata bi bilo da se ovi spojevi kod ispitanica s većim BMI raspođeljuju i u drugim dijelovima tijela s povećanim udjelom masti, što dovodi do efekta razrjeđenja. U drugim radovima nisu uočene statistički značajne korelacije između masenih udjela spojeva PBDE i indeksa tjelesne mase.<sup>123,129,141</sup>

Nije bilo statistički značajne korelacije između izmjerenih masenih udjela spojeva PBDE u ljudskome mlijeku s masti mlijeka. Mogući razlog je mali broj uzoraka, a i činjenica da nisu sve ispitanice bile prvorotke, te, kao što je napomenuto, redni broj i trajanje laktacije mogu utjecati na smanjenje razina lipofilnih organskih zagađivala u mlijeku jer tim procesom dolazi do njihova izlučivanja.

**Tablica 4.16.** Koeficijenti Spearmanove korelacije ( $r$ ) između masenih udjela detektiranih kongenera PBDE u uzorcima ljudskog mlijeka i indeksa tjelesne mase [prije trudnoće ( $BMI_{\text{prije}}$ ); neposredno prije poroda ( $BMI_{\text{porod}}$ ); mjesec dana nakon poroda ( $BMI_{\text{nakon}}$ )] [statistički značajne korelacije ( $p < 0,05$ ) su podebljane]

	$BMI_{\text{prije}}$	$BMI_{\text{porod}}$	$BMI_{\text{nakon}}$
<b>BDE-28</b>	-0,204	-0,182	-0,215
<b>BDE-47</b>	-0,049	0,092	0,028
<b>BDE-99</b>	<b>-0,366</b>	-0,229	-0,294
<b>BDE-100</b>	-0,159	0,127	-0,062
<b>BDE-153</b>	<b>-0,371</b>	<b>-0,386</b>	<b>-0,403</b>
<b>BDE-154</b>	<b>-0,425</b>	-0,354	<b>-0,364</b>
<b>BDE-183</b>	-0,127	-0,231	-0,157
<b><math>\Sigma</math>PBDE</b>	-0,070	-0,071	-0,044

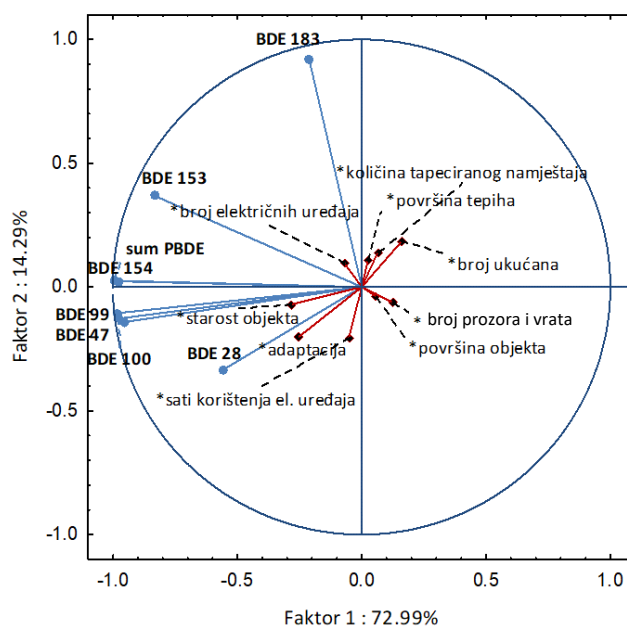
Korištenjem faktorske analize uz ekstrakciju analizom glavnih komponenata cilj je bio utvrditi manji broj izvedenih varijabli koje objašnjavaju povezanost većeg broja varijabli.

Faktorska analiza pokazala je da varijaciju masenih udjela spojeva PBDE izmjerenih u uzorcima prašine ispitivanih kućanstava mogu opisati dva glavna faktora. Prvi modelu doprinosi s gotovo 73 % i čine ga kongeneri iz formulacije „penta“, dok drugi faktor doprinosi s 14 % i čini ga kongener BDE-183 kao glavni predstavnik formulacije „okta“. Zajedno ta dva faktora objašnjavaju 87 % ukupne varijance (Tablica 4.17.)

**Tablica 4.17.** Rezultati faktorske analize nakon ekstrakcije glavnih komponenti (rotacija varimax s normalizacijom Kaiser) masenih udjela spojeva PBDE u kućnoj prašini. Značajne korelacije ( $r > 0,7$ ) su podebljane

	Faktor 1	Faktor 2
BDE-28	-0,555	-0,333
BDE-47	<b>-0,957</b>	-0,141
BDE-99	<b>-0,985</b>	-0,106
BDE-100	<b>-0,979</b>	-0,128
BDE-153	<b>-0,833</b>	0,369
BDE-154	<b>-0,979</b>	0,023
BDE-183	-0,211	<b>0,921</b>
Svojevredna vrijednost	5,840	1,143
Udio ukupne varijance (%)	72,99	14,29

Na Slici 4.11. prikazan je dijagram varijabli izveden iz prve dvije glavne komponente, čime je omogućena vizualizacija njihovog grupiranja.

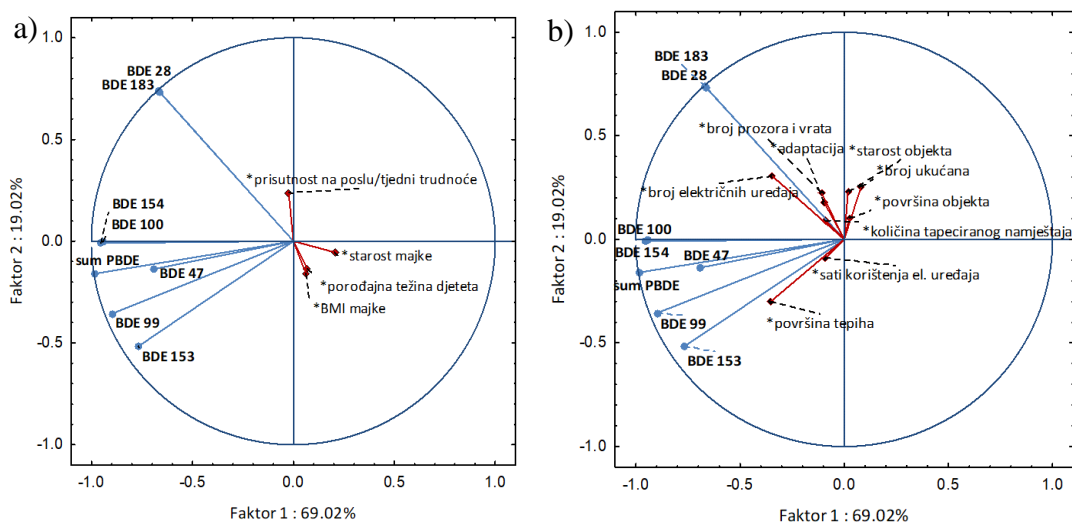


**Slika 4.11.** Dijagram varijabli izveden iz prve dvije glavne komponente za spojeve PBDE detektirane u prašini iz kućanstava Zagreba i okolice uz dodatne varijable povezane s karakteristikama kućanstva

Grupiranje kongenera PBDE dospjelih iz istih komercijalnih formulacija dodatno potvrđuje da u kućanstvima postoje različiti izvori obje komercijalne formulacije i da su oni na maloj udaljenosti od mjesta uzorkovanja prašine.

Kao dodatne varijable (engl. *Supplementary Variables*) (na Slici 4.11. prikazane crvenom bojom) istražene su neke od karakteristika kućanstva iz anketnih podataka, a za koje smo na temelju dosadašnjih saznanja i literaturnih podataka smatrali da mogu utjecati na ukupnu izloženost spojevima PBDE. Teoretski, što su dodatne varijable udaljenije od ishodišta i bliže pojedinim varijablama koje predstavljaju masene udjele kongenera, njihov doprinos modelu je veći. Uočava se da su od ishodišta najudaljenije dodatne varijable adaptacija, starost objekta, broj električnih i elektroničkih uređaja te broj sati njihovog korištenja, što znači da ti parametri u najvećoj mjeri doprinose izmjenjenim masenim udjelima spojeva PBDE u kućnoj prašini iako njihov doprinos nije statistički značajan.

Što se tiče ljudskog mlijeka, na Slici 4.12. prikazana su dva dijagrama varijabli izvedena iz prvih dviju glavnih komponenti povezanih s osobnim podacima majke i dojenčeta (a) i karakteristikama kućanstva (b).



**Slika 4.12.** Dijagram varijabli izveden iz prve dvije glavne komponente za spojeve PBDE detektirane u ljudskome mlijeku ispitanica iz Zagreba i okolice uz dodatne varijable povezane s osobnim podacima majke i djeteta (a) i karakteristikama kućanstva (b)

Vidljivo je da varijaciju (88 % ukupne varijance) masenih udjela spojeva PBDE nađenih u ljudskome mlijeku mogu opisati dva glavna faktora – prvi modelu doprinosi sa 69 % i čine ga ponovno kongeneri iz formulacije „penta“ dok drugi faktor doprinosi s 19 % i čine ga kongeneri BDE-28 i BDE-183 (Tablica 4.18.). Grupiranje ova dva kongenera vjerojatno se može pripisati njihovoj maloj zastupljenosti u uzorcima ljudskog mlijeka, odnosno činjenici da su nađeni tek u jednom, odnosno dva uzorka.

**Tablica 4.18.** Rezultati faktorske analize nakon ekstrakcije glavnih komponenti (rotacija varimax s normalizacijom Kaiser) masenih udjela spojeva PBDE u ljudskome mlijeku. Statistički značajne korelacije ( $r > 0,7$ ) su podebljane

	Faktor 1	Faktor 2
<b>BDE-28</b>	-0,666	<b>0,739</b>
<b>BDE-47</b>	-0,689	-0,136
<b>BDE-99</b>	<b>-0,898</b>	-0,356
<b>BDE-100</b>	<b>-0,944</b>	-0,004
<b>BDE-153</b>	<b>-0,767</b>	-0,516
<b>BDE-154</b>	<b>-0,953</b>	-0,010
<b>BDE-183</b>	-0,664	<b>0,734</b>
Svojevna vrijednost	5,522	1,521
Udio ukupne varijance (%)	69,02	19,02

Jedina dodatna varijabla vezana uz karakteristike majke i djeteta, a koja je grupirana bliže kongenerima BDE-28 i BDE-183 (iako ne statistički značajno) je tjedan trudnoće do kojeg je majka bila prisutna na poslu. Pregledom *Anketnih obrazaca* utvrdilo se da su majke koje rade uredske poslove bile najdulje prisutne na poslu i može se zaključiti da su time bile izložnije spojevima PBDE u poslovnoj okolini nego u vlastitom kućanstvu. Dimitradou i suradnici (2016) također su uočili da majke koje rade uredske poslove imaju povišene masene udjele spojeva PBDE, te da su posebno kongeneri BDE-47 i BDE-153 u snažnoj korelaciji sa zanimanjem.<sup>123</sup>

Kad se gledaju dodatne varijable povezane s karakteristikama kućanstva, one koje u najvećoj mjeri doprinose modelu, iako ne statistički značajno, su adaptacija, broj prozora i vrata, površina tepiha te broj električnih i elektroničkih uređaja i broj sati njihovog korištenja. Zanimljivo je da su tri varijable (adaptacija, broj električnih i elektroničkih uređaja i broj sati

njihovog korištenja) ovdje izdvojene zbog doprinosa modelu, imale najveći doprinos modelu i u slučaju kućne prašine (Slika 4.11.).

Rezultati postupne višestruke regresije prikazani su u Tablici 4.19. i pokazuju da su pozitivni prediktori masenog udjela  $\Sigma$ PBDE u kućnoj prašini broj električnih i elektroničkih uređaja i starost kuće/stana, dok su broj tapeciranog namještaja te površina stana/kuće negativni prediktori. To znači da se u starijim građevinama, manje stambene površine s većim brojem električnih i elektronskih uređaja i manjim brojem tapeciranog namještaja mogu očekivati viši maseni udjeli  $\Sigma$ PBDE. Jedini prediktor za koji bi se očekivalo upravo suprotno od dobivenog je broj tapeciranog namještaja, odnosno očekivalo bi se da u kućanstvima s većim brojem tapeciranog namještaja budu i viši maseni udjeli spojeva PBDE. No, kao što je prije spomenuto, takve korelacije nisu uvijek nađene, s obzirom na to da u kućanstvima i veliki broj drugih parametara može utjecati na koncentracije spojeva PBDE u prašini.

Ako izdvojimo dva uzorka u kojima su detektirani najviši maseni udjeli spojeva PBDE u prašini (VRAM3 s 523 ng g<sup>-1</sup> i SKKS7 s 154 ng g<sup>-1</sup>), na temelju informacija danih u *Anketnim obrascima* može se vidjeti da su navedeni uzorci kućne prašine prikupljeni u obiteljskim kućama koje su među najstarijima od svih istraživanih te su ukućani izvijestili o visokom udjelu vremena provedenom koristeći električne i elektroničke uređaje. Osim toga, u odnosu na ostala kućanstva, izvijestili su da je učestalost usisavanja niska, što može doprinijeti gomilanju zagađivala u kućnoj prašini.



**Tablica 4.19.** Sažeti rezultati postupne višestruke regresije između masenih udjela  $\Sigma$ PBDE u kućnoj prašini i ljudskome mlijeku i varijablama povezanim s kućanstvom te majkom i djetetom. Statistički značajne korelacije su podebljane

	$\Sigma$ PBDE u kućnoj prašini	$\Sigma$ PBDE u ljudskome mlijeku
<i>Karakteristike kućanstva</i>		
broj tapeciranog namještaja	<b>-0,218</b>	-
broj ukućana	-0,485	-
broj EE uređaja	<b>0,228</b>	-
sati korištenja EE uređaja	-	0,017
površina stana/kuće	<b>-0,340</b>	<b>-0,011</b>
starost stana/kuće	<b>0,304</b>	-
površina tepiha	0,138	<b>0,096</b>
<i>Osobni podaci majke</i>		
dob majke	-	<b>-0,067</b>

Što se tiče prediktora masenih udjela  $\Sigma$ PBDE u ljudskome mlijeku u odnosu na karakteristike kućanstva, pozitivni prediktor je površina tepiha u kućanstvu, dok je površina stambenog prostora negativni prediktor. Ovdje je važno istaknuti da manja površina stambenog prostora potencijalno utječe na povišene masene udjele spojeva PBDE ne samo u kućnoj prašini nego i u ljudskome mlijeku. Kao prediktor masenog udjela  $\Sigma$ PBDE u ljudskome mlijeku s obzirom na karakteristike majke, istaknula se samo dob i to kao negativan prediktor. Smanjenje masenih udjela  $\Sigma$ PBDE s povećanjem godina majke uočili su i Yin i suradnici (2019),<sup>141</sup> dok u drugim radovima nisu uočene slične statistički značajne korelacije.<sup>123,129,137</sup>

Gledajući ukupno, različiti statistički alati izdvojili su nekoliko parametara koje možemo povezati s određenim masenim udjelima spojeva PBDE u kućnoj prašini i ljudskome mlijeku. Prije svega to su električni i elektronički uređaji i vrijeme njihova korištenja, čijim porastom rastu i razine spojeva PBDE. Obrnuto, što je građevina novija ili nedavno adaptirana te površina stambenog prostora veća, razine spojeva PBDE se smanjuju. Što se tiče karakteristika majke, pokazalo se da utjecaj na izmjerene masene udjele spojeva PBDE u mlijeku mogu imati dob, izloženost na radnom mjestu te BMI.

## § 5. ZAKLJUČCI

1. Optimirani su kromatografski uvjeti za istovremenu plinskokromatografsku analizu sedam kongenera PBDE na tridesetmetarskim kapilarnim kolonama HP-5MS i DB-1701 uz detekciju spojeva detektorom zahvata elektrona. Optimalno razlučivanje svih sedam kongenera PBDE postignuto je unutar 23 minute. Linearan odziv detektora postignut je za sve spojeve uz koeficijente korelacije  $r$  veće od 0,995 na obje plinskokromatografske kolone.

2. Preliminarnim istraživanjima učinkovitosti raznih otapala i smjesa otapala za kvantitativnu ekstrakciju spojeva PBDE iz kućne prašine pomoću ekstrakcije potpomognute mikrovalovima izdvojene su smjese  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  i  $\psi(n\text{-heksan, H}_2\text{O})=10:1$ , čijom su primjenom postignuti zadovoljavajući analitički povrati ( $> 60\%$ ). Te su dvije smjese otapala predstavljale kvalitativni parametar u eksperimentu osmišljenom prema potpunom faktorskom dizajnu eksperimenta.

3. Uz smjesu otapala kao kvalitativni parametar, serijom pokusa osmišljenih prema potpunom faktorskom dizajnu eksperimenta istraženi su volumen otapala, temperatura i vrijeme ekstrakcije kao kvantitativni parametri koji potencijalno mogu utjecati na učinkovitost ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz kućne prašine. Statistički značajan utjecaj nađen je samo za vrstu primijenjenog otapala. Smjesom otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  ekstrahirani su viši maseni udjeli spojeva PBDE (od  $222\text{ ng g}^{-1}$  do  $327\text{ ng g}^{-1}$  prašine) u odnosu na smjesu otapala  $\psi(n\text{-heksan, H}_2\text{O})=10:1$  (od  $133\text{ ng g}^{-1}$  do  $216\text{ ng g}^{-1}$  prašine). Odabrani optimalni uvjeti ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE su sljedeći: ekstrakcija 1 g kućne prašine uz dodatak 20 mL smjese  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  pri  $80\text{ }^\circ\text{C}$  tijekom 20 minuta.

4. Optimiran je postupak pročišćavanja ekstrakta kućne prašine. Pročišćavanje ekstrakta svedeno je na samo jedan korak upotrebom višeslojne kolone SPE punjene s 2 g neutralnog silikagela i 4 g silikagela modificiranog s koncentriranom  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , uz kondicioniranje kolone s 10 mL  $n\text{-heksana}$  i eluiranje spojeva PBDE s 15 mL smjese  $\psi(n\text{-heksan, diklormetan})=4:1$ .

5. Točnost i preciznost metode određivanja spojeva PBDE u kućnoj prašini istražene su nakon optimizacije uvjeta ekstrakcije potpomognute mikrovalovima i nakon optimizacije postupka pročišćavanja ekstrakta pri koncentracijskoj razini od  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ . U skladu s očekivanjima, optimizacijom postupka pročišćavanja postignuti su veći analitički povrati (od 76 % do 90 %) u odnosu na one dobivene nakon optimizacije uvjeta ekstrakcije (od 70 % do 83 %), uz podjednaku ponovljivost metode.

6. Pouzdanost analitičkog postupka temeljenog na ekstrakciji potpomognutoj mikrovalovima spojeva PBDE iz kućne prašine smjesom otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  provjerena je analizom certificiranog referentnog materijala kućne prašine (CRM-2585). Maseni udjeli ciljanih kongenera PBDE bili su unutar zadanog raspona certificiranih vrijednosti, osim za kongener BDE-153, za koji je odstupanje bilo samo 0,6 %.

7. Istražena je učinkovitost ekstrakcije potpomognute mikrovalovima spojeva PBDE iz različito pripremljenih uzoraka ljudskog mlijeka (liofilizirano, tekuće i liofilizirano uz dodatak destilirane deionizirane vode). Priprava uzorka pokazala se najvažnijim korakom za dobivanje zadovoljavajućih analitičkih povrata spojeva PBDE. Najbolja učinkovitost (analitički povrati od 61 % do 83 %) ekstrakcije spojeva PBDE dobivena je analizom liofiliziranog ljudskog mlijeka uz dodatak 10 mL destilirane deionizirane vode i primjenu denaturirajućih sredstava, mravlje kiseline i propan-2-ola, i smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$  za ekstrakciju. Na taj način peterostruko se smanjio ukupni volumen uzorka u odnosu na uzorak tekućeg ljudskog mlijeka, a dodatkom vode povećan je dipolni moment smjese uzorka i otapala.

8. Detaljnijom optimizacijom uvjeta ekstrakcije potpomognute mikrovalovima, zaključeno je da promjena omjera otapala, volumena denaturirajućih reagensa i/ili prethodne inkubacije s njima nema utjecaja na učinkovitost ekstrakcije spojeva PBDE iz uzoraka ljudskog mlijeka. Povećanje volumena smjese otapala i temperature ekstrakcije povoljno su utjecali na njezinu učinkovitost te su za ekstrakciju spojeva PBDE iz 5 g liofiliziranog mlijeka uz dodatak destilirane deionizirane vode najbolji analitički povrati postignuti upotrebom 40 mL smjese otapala  $\psi(n\text{-heksan, aceton})=1:1$ , uz 3 mL mravlje kiseline i 6 mL propan-2-ola pri temperaturi ekstrakcije od  $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$  u trajanju od 20 minuta.

9. Optimiran je postupak pročišćavanja ekstrakta ljudskog mlijeka. Optimalno pročišćavanje ekstrakta provedeno je u dva koraka: 1) izmućkivanje ekstrakta s koncentriranom sumpornom kiselinom i 2) propuštanje izdvojenog organskog sloja kroz višeslojnu kolonu SPE punjenu s 2 g neutralnog silikagela i 6 g silikagela modificiranog s koncentriranom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Kolona je prethodno kondicionirana s 15 mL *n*-heksana, a spojevi PBDE eluirani su s 20 mL smjese otapala  $\psi$ (*n*-heksan, diklormetan)=4:1.

10. Točnost i preciznost metode određivanja spojeva PBDE u ljudskome mlijeku istražene su analizom obogaćenih uzoraka pri dvije koncentracijske razine: 5 ng mL<sup>-1</sup> i 25 ng mL<sup>-1</sup>. Dobiveni su podjednaki analitički povrati pri obje koncentracijske razine (niža: od 61 % do 74 %; viša: od 63 % do 80 %), uz zadovoljavajuću ponovljivost (< 12 % odnosno < 10 %). Pouzdanost analitičkog postupka temeljenog na ekstrakciji potpomognutoj mikrovalovima spojeva PBDE iz ljudskog mlijeka smjesom otapala  $\psi$ (*n*-heksan, aceton)=1:1 provjerena je i analizom komercijalnog adaptiranog mlijeka za dojenčad. Analitički povrati (od 60 % do 71 %) uz ponovljivost < 7 % odlično su se slagali s prethodno dobivenim rezultatima validacije metode.

11. Suma masenih udjela spojeva PBDE u uzorcima prašine iz kućanstava Zagreba i okolice bila je u rasponu od 0,24 ng g<sup>-1</sup> do 523 ng g<sup>-1</sup> prašine. Najviši maseni udjeli određeni su za kongenere BDE-47, BDE-99 i BDE-183, a medijan njihovog doprinosa ukupnoj sumi iznosio je 83 %. Usporedbom izmjerenih masenih udjela pojedinačnih kongenera PBDE s aktualnim istraživanjima na globalnoj razini može se zaključiti da su razine u kućnoj prašini na području Zagreba i okolice relativno niske.

12. Suma masenih udjela spojeva PBDE u ljudskome mlijeku ispitanica iz Zagreba i okolice bila je u rasponu od 0,16 ng g<sup>-1</sup> do 6,3 ng g<sup>-1</sup> masti. U najvišim masenim udjelima određen je kongener BDE-153, koji je detektiran u 100 % ukupnog broja uzoraka. Usporedbom sume masenih udjela spojeva PBDE s novijim istraživanjima na globalnoj razini može se zaključiti da su razine u ljudskome mlijeku na području Zagreba i okolice relativno niske, što je u skladu s razinama detektiranim u paralelnim uzorcima kućne prašine.

13. Za odraslu populaciju je očekivano unos spojeva PBDE u organizam veći putem ingestije prašine u odnosu na dermalnu apsorpciju, dok je kod dojenčadi unos spojeva PBDE u organizam putem ljudskog mlijeka daleko značajniji (medijan 99 %) u odnosu na unos putem prašine (medijan < 1 %). Iznimka je uzorak prašine u kojem je nađena izrazito visoka suma spojeva PBDE te je doprinos putem ingestije prašine za dojenčad bio veći u odnosu na unos putem mlijeka. Usporedbom rezultata potvrđeno je da je dojenčad izuzetno osjetljiva populacija podložna značajno većem unosu spojeva PBDE nego odrasla populacija, uglavnom zbog unosa putem mlijeka. Kongeneri BDE-99, BDE-47 i BDE-183, koji su bili najzastupljeniji u uzorcima kućne prašine, najviše su doprinijeli i ukupnom unosu spojeva PBDE u organizam majke putem ingestije kućne prašine. Što se tiče ljudskog mlijeka, ukupnom unosu spojeva PBDE u organizam dojenčeta najviše je doprinio kongener BDE-153. Izračunate vrijednosti indeksa opasnosti koji uzima u obzir sve moguće puteve unosa spojeva PBDE bile su za dojenčad i majke nekoliko redova veličine ispod 1. U slučaju dojenčadi, u dva slučaja se vrijednost indeksa opasnosti (~ 0,2) za kongener BDE-99 značajno približila 1.

14. Različitim statističkim tehnikama istražene su međusobne korelacije izmjerenih masenih udjela pojedinačnih kongenera PBDE i njihove sume s prikupljenim podacima o majkama i njihovim životnim navikama te potencijalnim izvorima spojeva PBDE prisutnim u njihovim kućanstvima. Pokazano je da u kućanstvima postoje materijali, odnosno proizvodi kontaminirani s formulacijama „penta“ i „okta“. Porastom broja električnih i elektroničkih uređaja te vremena njihova korištenja rastu i razine spojeva PBDE. Obrnuto, u novijim ili nedavno adaptiranim te površinom većim stambenim prostorima, mogu se očekivati niže razine spojeva PBDE. Što se tiče karakteristika majke, pokazano je da utjecaj na izmjerene masene udjele spojeva PBDE u mlijeku mogu imati dob, izloženost na radnom mjestu te BMI.

15. Rezultatima je potvrđeno da je dojenčad najosjetljivija populacijska skupina, a s obzirom na to da su spojevi PBDE skloni bioakumulaciji u organizmu te da je pred njima razdoblje u kojem se njihova izloženost ovim spojevima putem ingestije prašine dodatno povećava zbog učestalog prinošenja ruku i raznih predmeta ustima te kontakta s podovima i drugim predmetima, vrlo je važno poduzeti preventivne radnje za smanjivanje masenih udjela navedenih spojeva u njihovom okruženju. To se može postići redovitim usisavanjem, provjetravanjem te upotrebom novijih proizvoda i materijala koji ne sadrže spojeve PBDE.

## § 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ

Kratica	Značenje
/	nije analizirano
$\Sigma$ PBDE	suma masenih udjela spojeva PBDE
$\gamma_{\text{mlijeko}}$	maseni udio specifičnog kongenera PBDE ili $\Sigma$ PBDE u pojedinom uzorku ljudskog mlijeka
$\gamma_{\text{prašina}}$	maseni udio specifičnog kongenera PBDE ili $\Sigma$ PBDE u pojedinom uzorku kućne prašine
ABS	akrilonitril-butadien-stiren
AF <sub>derm</sub>	dermalna apsorpcijska frakcija (engl. <i>Dermal Absorption Fraction</i> )
AF <sub>gastro</sub>	gastrointestinalna apsorpcijska frakcija (engl. <i>Gastrointestinal Absorption Fraction</i> )
ASE	ubrzana ekstrakcija otapalom (engl. <i>Accelerated Solvent Extraction</i> )
BFR	bromirani usporivači gorenja (engl. <i>Brominated Flame Retardants</i> )
BW	tjelesna masa (engl. <i>Body Weight</i> )
CCD	središnji kompozitni dizajn (engl. <i>Central Composite Design</i> )
DAS	stopa vezanja prašine za kožu (engl. <i>Dust Adhered to Skin Rate</i> )
ECD	detektor zahvata elektrona (engl. <i>Electron Capture Detector</i> )
ECNI	ionizacija niskoenergijskim elektronima (engl. <i>Electron Capture Negative Ionization</i> )
EDI	procjena dnevnog unosa (engl. <i>Estimated Daily Intake</i> )
EDI <sub>ing</sub>	procjena dnevnog unosa spojeva PBDE u organizam majki i dojenčadi putem ingestije prašine
EDI <sub>derm</sub>	procjena dnevnog unosa spojeva PBDE u organizam majki i dojenčadi putem dermalne apsorpcije
EE otpad	električni i elektronički otpad
EFSA	Europska agencija za sigurnost hrane (engl. <i>European Food Safety Authority</i> )
EI	ionizacija elektronima (engl. <i>Electron Ionization</i> )
ESA	površina izložene kože (engl. <i>Exposed Skin Area</i> )

---

EU	Europska unija
FFD	potpuni faktorski dizajn eksperimenta (engl. <i>Full Factorial Design</i> )
HEF	postotak, odnosno frakcija vremena koja se provede u kućanstvu (engl. <i>Home Exposure Fraction</i> )
HI	indeks opasnosti ili rizika (engl. <i>Hazard Index</i> )
HIPS	polistiren visokog utjecaja (engl. <i>High Impact Polystyrene</i> )
HRMS	spektrometrija masa visoke rezolucije (engl. <i>High Resolution Mass Spectrometry</i> )
HQ	kvocijent opasnosti ili rizika (engl. <i>Hazard Quotient</i> )
GC	plinska kromatografija (engl. <i>Gas Chromatography</i> )
GC–MS/MS	plinska kromatografija uz tandemnu spektrometriju masa
GC– $\mu$ ECD	plinska kromatografija uz detektor zahvata elektrona
GD	granica detekcije
GPC	gel propusna kromatografija (engl. <i>Gel Permeation Chromatography</i> )
IARC	Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. <i>International Agency for Research on Cancer</i> )
IR <sub>prašina</sub>	stopa ingestije prašine (engl. <i>Dust Ingestion Rate</i> )
IUPAC	Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju (engl. <i>International Union for Pure and Applied Chemistry</i> )
LLE	ekstrakcija tekuće-tekuće (engl. <i>Liquid-Liquid Extraction</i> )
log $K_{ow}$	logaritamska vrijednost koeficijenta razdjeljenja između <i>n</i> -oktanola i vode
LVI	veliki volumen injektiranja (engl. <i>Large Volume Injection</i> )
m	masa
MAE	ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima (engl. <i>Microwave Assisted Extraction</i> )
MeO-PBDE	metoksilirani polibromirani difenil-eteri
MS	detektor spektrometrije masa (engl. <i>Mass Spectrometry</i> )
MS/MS	tandemna spektrometrija masa
<i>m/z</i>	omjer mase i naboja
N	broj uzoraka
NCI	negativna kemijska ionizacija (engl. <i>Negative Chemical Ionization</i> )

---

ND	nije detektirano
OH-PBDE	hidroksilirani polibromirani difenil-eteri
PBDE	polibromirani difenil-eteri (engl. <i>Polybrominated Diphenyl Ethers</i> )
PBT	polibutilen tereftalat
PCA	analiza glavnih komponenti (engl. <i>Primary Component Analysis</i> )
PLE	ekstrakcija potpomognuta visokim tlakom (engl. <i>Pressurised Liquid Extraction</i> )
POPs	postojana organska zagađivala (engl. <i>Persistent Organic Pollutants</i> )
PTV	injektor s programiranom temperaturom isparavanja (engl. <i>Programmable Temperature Vaporization</i> )
RfD	referentna doza (engl. <i>Reference Dose</i> )
RSD	relativna standardna devijacija
SAD	Sjedinjene Američke Države
SPE	ekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. <i>Solid Phase Extraction</i> )
T4	tiroksin
TSH	tireoidni stimulirajući hormon
UAE	ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom (engl. <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> )
U.S. EPA	Američka agencija za zaštitu okoliša (engl. <i>United States Environmental Protection Agency</i> )
V	volumen
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organization</i> )



## § 7. LITERATURNI IZVORI

1. UNEP, Guidance for the inventory of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) listed under the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, *United Nations Environ. Program.* **127** (2015) 66–75.
2. US EPA, An Exposure Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers, *United States Environ. Prot. Agency* (2010) 1–378.
3. US EPA, U. S. Environmental Protection Agency (EPA) international decontamination research and development conference, *United States Environ. Prot. Agency* **2** (2013) 1–779.
4. US EPA, An alternatives assessment for the flame retardant decabromodiphenyl ether (DecaBDE), *United States Environ. Prot. Agency* (2014) 1–901.
5. E. A. Gibson, E. L. Siegel, F. Eniola, J. B. Herbstman i P. Factor-Litvak, Effects of polybrominated diphenyl ethers on child cognitive, behavioral, and motor development, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **15** (2018) 1636.
6. A. Schechter, O. Pöpke, T. R. Harris, K. C. Tung, A. Musumba, J. Olson i L. Birnbaum, Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in an expanded market basket survey of U.S. food and estimated PBDE dietary intake by age and sex, *Environ. Health Perspect.* **114** (2006) 1515–1520.
7. B. Johnson-Restrepo i K. Kannan, An assessment of sources and pathways of human exposure to polybrominated diphenyl ethers in the United States, *Chemosphere* **76** (2009) 542–548.
8. R. Malisch i FX Rolaf van Leeuwen, Results of the WHO-coordinated exposure study on the levels of PCBs, PCDDs and PCDFs in human milk, *Organohalogen Compd.* **64** (2003) 140–143.
9. UNEP, Guidance for the inventory of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) listed under the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, *United Nations Environ. Program.* **127** (2017) 1–105.
10. <http://www.pops.int/TheConvention/Overview/tabid/3351/Default.aspx> (preuzeto 11. siječnja 2022. god.)
11. UNEP, Stockholm Convention on persistent organic pollutants (POPS), *United Nations*

- Environ. Program.* (2019) 1–77.
12. Scientific Opinion on Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Food *EFSA J.* **9** (2011) 2156.
  13. E. Akortia, J. O. Okonkwo, M. Lupankwa, S. D. Osae, O. I. Olunkule, A. P. Daso i A. Chaudhary, A review of sources, levels and toxicity of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and their transformation and transport in various environmental compartments, *Environ.* **110390** (2016) 1–98.
  14. A. Kierkegaard, U. Sellström i M. S. McLachlan, Environmental analysis of higher brominated diphenyl ethers and decabromodiphenyl ethane, *J. Chromatogr. A* **1216** (2009) 364–375.
  15. S. Y. Gu, K. I. Ekpeghere, H. Y. Kim, I. S. Lee, D. H. Kim, G. Choo i J. E. Oh, Brominated flame retardants in marine environment focused on aquaculture area: Occurrence, source and bioaccumulation, *Sci. Total Environ.* **601–602** (2017) 1182–1191.
  16. US EPA, An Exposure Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDE), *United States Environ. Prot. Agency* (2010) 1–378.
  17. C. M. Ohajinwa, P. M. Van Bodegom, Q. Xie, J. Chen, M. G. Vijver, O. O. Osibanjo i W. J. G. M. Peijnenburg, Hydrophobic Organic Pollutants in Soils and Dusts at Electronic Waste Recycling Sites: Occurrence and Possible Impacts of Polybrominated Diphenyl Ethers, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **16** (2019) 360.
  18. S. Paliya, A. Mandpe, S. Bombaywala, M. S. Kumar, S. Kumar i V. K. Morya, Polybrominated diphenyl ethers in the environment: a wake-up call for concerted action in India, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **28** (2021) 44693–44715.
  19. M. J. La Guardia, R. C. Hale i E. Harvey, Detailed polybrominated diphenyl ether (PBDE) congener composition of the widely used penta-, octa-, and deca-PBDE technical flame-retardant mixtures, *Environ. Sci. Technol.* **40** (2006) 6247–6254.
  20. Z. Wu, C. He, W. Han, J. Song, H. Li, Y. Zhang, X. Jing i W. Wu, Exposure pathways, levels and toxicity of polybrominated diphenyl ethers in humans: A review, *Environ. Res.* **187** (2020) 109531.
  21. I. M. S. K. Ilankoon, Y. Ghorbani, M. N. Chong, G. Herath, T. Moyo i J. Petersen, E-waste in the international context – A review of trade flows, regulations, hazards, waste management strategies and technologies for value recovery, *Waste Manag.* **82** (2018)

- 258–275.
22. C. Lin, Z. Zeng, R. Xu, W. Liang, Y. Guo i X. Huo, Risk assessment of PBDEs and PCBs in dust from an e-waste recycling area of China, *Sci. Total Environ.* **803** (2022) 150016.
  23. Q. Qin, X. Xu, Q. Dai, K. Ye, C. Wang i X. Huo, Air pollution and body burden of persistent organic pollutants at an electronic waste recycling area of China, *Environ. Geochem. Health* **41** (2019) 93–123.
  24. J. Ma, J. Cheng, W. Wang, T. Kunisue, M. Wu i K. Kannan, Elevated concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans and polybrominated diphenyl ethers in hair from workers at an electronic waste recycling facility in Eastern China, *J. Hazard. Mater.* **186** (2011) 1966–1971.
  25. X. Li, Y. Tian, Y. Zhang, Y. Ben i Q. Lv, Accumulation of polybrominated diphenyl ethers in breast milk of women from an e-waste recycling center in China, *J. Environ. Sci. (China)* **52** (2017) 305–313.
  26. A. Eguchi, K. Nomiyama, N. Minh Tue, P. T. K. Trang, P. Hung Viet, S. Takahashi i S. Tanabe, Residue profiles of organohalogen compounds in human serum from e-waste recycling sites in North Vietnam: Association with thyroid hormone levels, *Environ. Res.* **137** (2015) 440–449.
  27. A. Basis, G. Lammel, P. Kuku i C. Samara, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in background air around the Aegean: implications for phase partitioning and size distribution, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **24** (2017) 28102–28120.
  28. C. Degrendele, J. Wilson, P. Kukučka, J. Klanova i G. Lammel, Are atmospheric PBDE levels declining in central Europe? Examination of the seasonal and semi-long-term variations, gas – particle partitioning and implications for long-range atmospheric transport, *Atmos. Chem. Phys.* **18** (2018) 12877–12890.
  29. E. Markham, E. K. Brault, M. Khairy, A. R. Robuck, M. E. Goebel, M. G. Cantwell, R. M. Dickhut i R. Lohmann, Time Trends of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Antarctic Biota, *ACS Omega* **3** (2018) 6595–6604.
  30. M. A. Khairy, J. L. Luek, R. Dickhut i R. Lohmann, Levels, sources and chemical fate of persistent organic pollutants in the atmosphere and snow along the western Antarctic Peninsula, *Environ. Pollut.* **216** (2016) 304–313.
  31. R. J. Law, A. Covaci, S. Harrad, D. Herzke, M. A. E. Abdallah, K. Fernie, L. M. L. Toms

- i H. Takigami, Levels and trends of PBDEs and HBCDs in the global environment: Status at the end of 2012, *Environ. Int.* **65** (2014) 147–158.
32. Y. Jiang, L. Yuan, Q. Lin, S. Ma i Y. Yu, Polybrominated diphenyl ethers in the environment and human external and internal exposure in China: A review, *Sci. Total Environ.* **696** (2019) 133902.
33. D. Klinčić, M. Dvorščak, K. Jagić, G. Mendaš i S. Herceg Romanić, Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers in humans and environmental compartments: a comprehensive review of the last five years of research, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **27** (2020) 5744–5758.
34. A. Sjödin, L. Hagmar, E. Klasson-Wehler, J. Björk i Å. Bergman, Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men, *Environ. Health Perspect.* **108** (2000) 1035–1041.
35. T. Martellini, G. Diletti, G. Scortichini, M. Lolini, E. Lanciotti, A. Katsoyiannis i A. Cincinelli, Occurrence of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foodstuffs in Italy and implications for human exposure, *Food Chem. Toxicol.* **89** (2016) 32–38.
36. M. Lorber, Exposure of Americans to polybrominated diphenyl ethers, *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* **18** (2008) 2–19.
37. M. H. Stapleton, S. M. Kelly, J. G. Allen, M. D. Mcclean i T. F. Webster, Measurement of polybrominated diphenyl ethers on hand wipes: Estimating exposure from hand-to-mouth contact, *Environ. Sci. Technol.* **42** (2008) 3329–3334.
38. D. Muenhor i S. Harrad, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in car and house dust from Thailand: Implication for human exposure, *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* **53** (2018) 629–642.
39. S. Tang, H. Tan, X. Liu i D. Chen, Legacy and alternative flame retardants in house dust and hand wipes from South China, *Sci. Total Environ.* **656** (2019) 1–8.
40. P. Blanchard, N. Babichuk i A. Sarkar, Evaluating the use of synchrotron X-ray spectroscopy in investigating brominated flame retardants in indoor dust, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **27** (2020) 42168–42174.
41. D. Klinčić, B. Tariba Lovaković, K. Jagić i M. Dvorščak, Polybrominated diphenyl ethers and the multi-element profile of house dust in Croatia: Indoor sources, influencing factors of their accumulation and health risk assessment for humans, *Sci. Total Environ.*

- 800** (2021) 149430.
42. US EPA, Exposure Factors Handbook: 2011 Edition, *United States Environ. Prot. Agency* (2011) 1–1466.
  43. C. A. De Wit, J. A. Björklund i K. Thuresson, Tri-decabrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in indoor air and dust from Stockholm microenvironments 2: Indoor sources and human exposure, *Environ. Int.* **39** (2012) 141–147.
  44. T. J. McGrath, P. D. Morrison, A. S. Ball i B. O. Clarke, Concentrations of legacy and novel brominated flame retardants in indoor dust in Melbourne, Australia: An assessment of human exposure, *Environ. Int.* **113** (2018) 191–201.
  45. A. A. Adeyi, F. R. Akanmu, B. A. Babalola i S. O. Akpotu, Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in indoor dusts in Lagos and Ibadan, Nigeria, *Microchem. J.* **158** (2020) 105132.
  46. L. M. L. Toms, A. Sjödin, F. Harden, P. Hobson, R. Jones, E. Edenfield i J. F. Mueller, Serum polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels are higher in children (2-5 years of age) than in infants and adults, *Environ. Health Perspect.* **117** (2009) 1461–1465.
  47. S. Lunder, L. Hovander, I. Athanassiadis i Å. Bergman, Significantly higher polybrominated diphenyl ether levels in young U.S. children than in their mothers, *Environ. Sci. Technol.* **44** (2010) 5256–5262.
  48. M. Rose, D. H. Bennett, A. K. E. Bergman, B. Fängström, I. N. Pessah i I. Hertz-Picciotto, PRDEs in 2-5 year-old children from California and associations with diet and indoor environment, *Environ. Sci. Technol.* **44** (2010) 2648–2653.
  49. Q. Bu, D. Wu, J. Xia, M. Wu, X. Liu, Z. Cao i G. Yu, Polybrominated diphenyl ethers and novel brominated flame retardants in indoor dust of different microenvironments in Beijing, China, *Environ. Int.* **122** (2019) 159–167.
  50. H. K. Lee, H. Kang, S. Lee, S. Kim, K. Choi i H. B. Moon, Human exposure to legacy and emerging flame retardants in indoor dust: A multiple-exposure assessment of PBDEs, *Sci. Total Environ.* **719** (2020) 137386.
  51. U. J. Kim, I. S. Lee, H. S. Kim i J. E. Oh, Monitoring of PBDEs concentration in umbilical cord blood and breast milk from Korean population and estimating the effects of various parameters on accumulation in humans, *Chemosphere* **85** (2011) 487–493.
  52. A. R. Zota, S. D. Mitro, J. F. Robinson, E. G. Hamilton, J. S. Park, E. Parry, R. T. Zoeller i T. J. Woodruff, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hydroxylated PBDE

- metabolites (OH-PBDEs) in maternal and fetal tissues, and associations with fetal cytochrome P450 gene expression, *Environ. Int.* **112** (2018) 269–278.
53. R. M. A. P. S. Dassanayake, H. Wei, R. C. Chen i A. Li, Optimization of the matrix solid phase dispersion extraction procedure for the analysis of polybrominated diphenyl ethers in human placenta, *Anal. Chem.* **81** (2009) 9795–9801.
54. A. Mazdai, N. G. Dodder, M. P. Abernathy, R. A. Hites i R. M. Bigsby, Polybrominated diphenyl ethers in maternal and fetal blood samples., *Environ. Health Perspect.* **111** (2003) 1249–1252.
55. A. Hernik, M. Liszewska, P. Struciński, M. G. Robson, M. Rybińska-Piętowska, K. Czaja i W. Korcz, Different risk assessment methodologies applied for infant's exposure for polybrominated diphenyl ethers: Implications for public health, *Hum. Ecol. Risk Assess.* **27** (2021) 1954–1964.
56. N. Iszatt, S. Janssen, V. Lenters, C. Dahl, H. Stigum, R. Knight, S. Mandal, S. Peddada, A. González, T. Midtvedt i M. Eggesbø, Environmental toxicants in breast milk of Norwegian mothers and gut bacteria composition and metabolites in their infants at 1 month, *Microbiome* **7** (2019) 1–14.
57. ATSDR, Public Health Statement: PBDEs – Polybrominated diphenyl ethers, *Agency Toxic Subst. Dis. Regist.* (2017) 1–14.
58. UNEP, Risk profile on commercial octabromodiphenyl ether, *United Nations Environ. Program.* (2007) 1–23.
59. UNEP, Risk profile on commercial pentabromodiphenyl ether, *United Nations Environ. Program.* (2006) 1–46.
60. UNEP, Risk profile on decabromodiphenyl ether (commercial mixture, c-decaBDE), *United Nations Environ. Program.* (2014) 1–58.
61. M. F. Fernandez, P. Araque, H. Kiviranta, J. M. Molina-Molina, P. Rantakokko, O. Laine, T. Vartiainen i N. Olea, PBDEs and PBBs in the adipose tissue of women from Spain, *Chemosphere* **66** (2007) 377–383.
62. D. S. Drage, F. A. Harden, T. Je, J. F. Mueller, P. Hobson i L. maree L. Toms, Human biomonitoring in Australian children: Brominated flame retardants decrease from 2006 to 2015, *Environ. Int.* **122** (2019) 363–368.
63. H. Matovu, M. Sillanpää i P. Ssebugere, Polybrominated diphenyl ethers in mothers' breast milk and associated health risk to nursing infants in Uganda, *Sci. Total Environ.*

- 692 (2019) 1106–1115.
64. A. Covaci, S. Voorspoels, L. Ramos, H. Neels i R. Blust, Recent developments in the analysis of brominated flame retardants and brominated natural compounds, *J. Chromatogr. A* **1153** (2007) 145–171.
65. H. J. Geyer, K. W. Schramm, P. O. Darnerud, M. Aune, E. A. Feicht, K. W. Fried, B. Henkelmann, D. Lenoir, P. Schmid i T. A. McDonald, Terminal elimination half-lives of the brominated flame retardants TBBPA, HBCD, and lower brominated PBDEs in humans, *Organohalogen Compd.* **66** (2004) 3820–3825.
66. A. Sjödin, J. F. Mueller, R. Jones, A. Schütze, L. Y. Wong, S. P. Caudill, F. A. Harden, T. F. Webster i L. M. Toms, Serum elimination half-lives adjusted for ongoing exposure of tri- to hexabrominated diphenyl ethers: Determined in persons moving from North America to Australia, *Chemosphere* **248** (2020) 125905.
67. F. Wong, I. T. Cousins i M. MacLeod, Bounding uncertainties in intrinsic human elimination half-lives and intake of polybrominated diphenyl ethers in the North American population, *Environ. Int.* **59** (2013) 168–174.
68. K. Thuresson, P. Höglund, L. Hagmar, A. Sjödin, Å. Bergman i K. Jakobsson, Apparent half-lives of hepta- to decabrominated diphenyl ethers in human serum as determined in occupationally exposed workers, *Environ. Health Perspect.* **114** (2006) 176–181.
69. L. S. Al-Omran i S. Harrad, Within-room and within-home spatial and temporal variability in concentrations of legacy and “novel” brominated flame retardants in indoor dust, *Chemosphere* **193** (2018) 1105–1112.
70. D. Niu, Y. Qiu, L. Li, Y. Zhou, X. Du, Z. Zhu, L. Chen i Z. Lin, Occurrence of polybrominated diphenyl ethers in floor and elevated surface house dust from Shanghai, China, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **25** (2018) 18049–18058.
71. I. Gyllenhammar, M. Aune, U. Fridén, T. Cantillana, A. Bignert, S. Lignell i A. Glynn, Are temporal trends of some persistent organochlorine and organobromine compounds in Swedish breast milk slowing down?, *Environ. Res.* **197** (2021) 111117.
72. K. Góralczyk i M. G. Robson, Distribution of biomarkers of human exposure to persistent organic pollutants from the group of organohalogen compounds as a result of the impact of the environment, *Hum. Ecol. Risk Assess.* **26** (2020) 1589–1602.
73. <https://www.epa.gov/iris> (preuzeto 13. travnja 2022. god.)
74. US EPA, Risk Assessment Guidance for Superfund (RAGS) Volume III - Part A: Process

- for Conducting Probabilistic Risk Assessment, Appendix B, *United States Environ. Prot. Agency* **III** (2001) 1–385.
75. P. O. Darnerud, Toxic effects of brominated flame retardants in man and in wildlife, *Environ. Int.* **29** (2003) 841–853.
76. J. R. Fowles, A. Fairbrother, L. Baecher-Steppan i N. I. Kerkvliet, Immunologic and endocrine effects of the flame-retardant pentabromodiphenyl ether (DE-71) in C57BL/6J mice, *Toxicology* **86** (1994) 49–61.
77. P. Eriksson, E. Jakobsson i A. Fredriksson, Brominated Flame Retardants: A Novel Class of Developmental Neurotoxicants in Our Environment?, *Environ. Health Perspect.* **109** (2001) 903.
78. W. J. Breslin, H. D. Kjrck i M. A. Zimmer, Teratogenic Evaluation of a Polybromodiphenyl Oxide Mixture in New Zealand White Rabbits following Oral Exposure, *Environ. Toxicol.* **12** (1989) 151–157.
79. G. J. van Esch, Brominated diphenyl ethers, *Int. Program. Chem. Saf.*, WHO, Geneva, 1994, str. 1-317
80. Norris J M, R. J. Kociba, B. A. Schwetz, J. Q. Rose, C. G. Humiston, G. L. Jewett, P. J. Gehring i J. B. Mailhes, Toxicology of Octabromobiphenyl and Decabromodiphenyl Oxide, *Environ. Health Perspect.* **11** (1975) 153–161.
81. L. Glazer, C. N. Wells, M. Drastal, K. A. Odamah, R. E. Galat, M. Behl i E. D. Levin, Developmental exposure to low concentrations of two brominated flame retardants, BDE-47 and BDE-99, causes life-long behavioral alterations in zebrafish, *Neurotoxicology* **66** (2018) 221–232.
82. A. M. Vuong, K. Yolton, K. M. Cecil, J. M. Braun, B. P. Lanphear i A. Chen, Flame Retardants and Neurodevelopment: an Updated Review of Epidemiological Literature, *Curr. Epidemiol. Reports* **7** (2020) 220–236.
83. G. R. Marchesini, A. Meimaridou, W. Haasnoot, E. Meulenberg, F. Albertus, M. Mizuguchi, M. Takeuchi, H. Irth i A. J. Murk, Biosensor discovery of thyroxine transport disrupting chemicals, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **232** (2008) 150–160.
84. M. A. Verner, M. Bouchard, E. Fritsche, M. Charbonneau i S. Haddad, In vitro neurotoxicity data in human risk assessment of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): Overview and perspectives, *Toxicol. Vit.* **25** (2011) 1509–1515.
85. A. Zandona, K. Jagić, M. Dvorščak, J. Madunić, D. Klinčić i M. Katalinić, PBDEs Found



- in House Dust Impact Human Lung Epithelial Cell Homeostasis, *Toxics* **10** (2022) 97-112.
86. L. Costa i G. Giordano, Metallurgy Technology and Applications of Titanium Alloys, 15 – 18 September 1998, Xian, Shaanxi, China, *Mater. Sci.* **32** (2011) 9–24.
87. A. Basis, E. Botsaropoulou, D. Balla, D. Voutsas i C. Samara, Toxic organic pollutants in Greek house dust: Implications for human exposure and health risk, *Chemosphere* **284** (2021) 131318.
88. Z. G. Cao, G. Yu, Y. S. Chen, Q. M. Cao, H. Fiedler, S. B. Deng, J. Huang i B. Wang, Particle size: A missing factor in risk assessment of human exposure to toxic chemicals in settled indoor dust, *Environ. Int.* **49** (2012) 24–30.
89. A. de la Torre, I. Navarro, P. Sanz i M. de los Ángeles Martínez, Organophosphate compounds, polybrominated diphenyl ethers and novel brominated flame retardants in European indoor house dust: Use, evidence for replacements and assessment of human exposure, *J. Hazard. Mater.* **382** (2020) 121009.
90. S. Corsolini, A. Metzdorff, D. Baroni, J. L. Roscales, B. Jiménez, E. Cerro-Gálvez, J. Dachs, C. Galbán-Malagón, O. Audy, J. Kohoutek, P. Přibylková, M. Pobleto-Morales, R. Avendaño-Herrera, E. Bergami i K. Pozo, Legacy and novel flame retardants from indoor dust in Antarctica: Sources and human exposure, *Environ. Res.* **196** (2021) 110344.
91. B. Basaran i M. Yılmaz Civan, Investigating of primary components and source apportionment of persistent organic pollutants of indoor dust, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **18** (2021) 2145–2160.
92. Y. jiang Yu, B. gui Lin, X. chao Chen, J. Qiao, L. zhong Li, Y. Liang, G. zhi Zhang, Y. Jia, X. qin Zhou, C. rong Chen i H. dong Kan, Polybrominated diphenyl ethers in human serum, semen and indoor dust: Effects on hormones balance and semen quality, *Sci. Total Environ.* **671** (2019) 1017–1025.
93. C. T. He, X. B. Zheng, X. Yan, J. Zheng, M. H. Wang, X. Tan, L. Qiao, S. J. Chen, Z. Y. Yang i B. X. Mai, Organic contaminants and heavy metals in indoor dust from e-waste recycling, rural, and urban areas in South China: Spatial characteristics and implications for human exposure, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **140** (2017) 109–115.
94. G. Simonetti, P. Di Filippo, C. Riccardi, D. Pomata, E. Sonogo i F. Buiarelli, Occurrence of halogenated pollutants in domestic and occupational indoor dust, *Int. J. Environ. Res.*

- Public Health* **17** (2020) 1–16.
95. D. Muenhor i S. Harrad, Within-room and within-building temporal and spatial variations in concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in indoor dust, *Environ. Int.* **47** (2012) 23–27.
96. M. A. Khairy i R. Lohmann, Selected organohalogenated flame retardants in Egyptian indoor and outdoor environments: Levels, sources and implications for human exposure, *Sci. Total Environ.* **633** (2018) 1536–1548.
97. E. Cequier, A. C. Ionas, A. Covaci, R. M. Marcé, G. Becher i C. Thomsen, Occurrence of a broad range of legacy and emerging flame retardants in indoor environments in Norway, *Environ. Sci. Technol.* **48** (2014) 6827–6835.
98. K. M. Rodgers, D. Bennett, R. Moran, K. Knox, T. Stoiber, R. Gill, T. M. Young, A. Blum i R. E. Dodson, Do flame retardant concentrations change in dust after older upholstered furniture is replaced?, *Environ. Int.* **153** (2021) 106513.
99. M. Al-Harbi, E. Al-Enzi, H. Al-Mutairi i J. K. Whalen, Human health risks from brominated flame retardants and polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor dust, *Chemosphere* **282** (2021) 131005.
100. E. J. Sugeng, M. De Cock, P. E. G. Leonards i M. Van De Bor, Electronics, interior decoration and cleaning patterns affect flame retardant levels in the dust from Dutch residences, *Sci. Total Environ.* **645** (2018) 1144–1152.
101. D. J. Kweon, M. K. Kim i K. D. Zoh, Distribution of brominated flame retardants and phthalate esters in house dust in Korea, *Environ. Eng. Res.* **23** (2018) 354–363.
102. J. Wang, Y. Wang, Z. Shi, X. Zhou i Z. Sun, Legacy and novel brominated flame retardants in indoor dust from Beijing, China: Occurrence, human exposure assessment and evidence for PBDEs replacement, *Sci. Total Environ.* **618** (2018) 48–59.
103. Y. jiang Yu, B. gui Lin, W. bo Liang, L. zhong Li, Y. de Hong, X. chao Chen, X. yu Xu, M. deng Xiang i S. Huang, Associations between PBDEs exposure from house dust and human semen quality at an e-waste areas in South China—A pilot study, *Chemosphere* **198** (2018) 266–273.
104. P. Rantakokko, E. Kumar, J. Braber, T. Huang, H. Kiviranta, E. Cequier i C. Thomsen, Chemosphere Concentrations of brominated and phosphorous flame retardants in Finnish house dust and insights into children’s exposure, *Chemosphere* **223** (2019) 99–107.
105. I. C. Yadav, N. L. Devi, V. K. Singh, J. Li i G. Zhang, Measurement of legacy and

- emerging flame retardants in indoor dust from a rural village (Kopawa) in Nepal: Implication for source apportionment and health risk assessment, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **168** (2019) 304–314.
106. Y. Chen, Z. Cao, A. Covaci, C. Li i X. Cui, Novel and legacy flame retardants in paired human fingernails and indoor dust samples, *Environ. Int.* **133** (2019) 105227.
107. M. Brits, S. H. Brandsma, E. R. Rohwer, J. De Vos, J. M. Weiss i J. de Boer, Brominated and organophosphorus flame retardants in South African indoor dust and cat hair, *Environ. Pollut.* **253** (2019) 120–129.
108. Y. Zeng, W. Pan, N. Ding, Y. Kang, Y. B. Man, L. Zeng, Q. Zhang i J. Luo, Brominated flame retardants in home dust and its contribution to brominated flame retardants bioaccumulation in children hair, *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* **55** (2020) 1528–1533.
109. J. Q. Guo, Y. feng Li, L. Y. Liu, C. Y. Huo, Y. Sun, W. li Ma, Z. feng Zhang i Y. F. Li, Occurrence and partitioning of brominated flame retardants (BFRs) in indoor air and dust: a 15-month case study in a test home, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **27** (2020) 35126–35136.
110. D. S. Drage, S. Waiyarat, S. Harrad, M. Abou-Elwafa Abdallah i S. K. Boontanon, Temporal trends in concentrations of legacy and novel brominated flame retardants in house dust from Birmingham in the United Kingdom, *Emerg. Contam.* **6** (2020) 323–329.
111. L. T. Tran, T. C. Kieu, H. M. Bui, N. T. Nguyen, T. T. T. Nguyen, D. T. Nguyen, T. Q. Nguyen, H. T. A. Nguyen, T. H. Le, S. Takahashi, M. B. Tu i A. Q. Hoang, Polybrominated diphenyl ethers in indoor dusts from industrial factories, offices, and houses in northern Vietnam: Contamination characteristics and human exposure, *Environ. Geochem. Health* **6** (2021) 3–5.
112. A. Q. Hoang, T. M. Tran, M. B. Tu i S. Takahashi, Polybrominated diphenyl ethers in indoor and outdoor dust from Southeast Asia: An updated review on contamination status, human exposure, and future perspectives, *Environ. Pollut.* **272** (2021) 116012.
113. D. Bannan, N. Ali, N. A. Alhakamy, M. A. Alfaleh, W. S. Alharbi, M. I. Rashid, N. Rajeh i G. Malarvannan, Brominated flame retardants in children’s room: Concentration, composition, and health risk assessment, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **18** (2021) 6421.

114. O. E. Akinrinade, W. A. Stubbings, M. Abou-Elwafa Abdallah, O. Ayejuyo, R. Alani i S. Harrad, Concentrations of halogenated flame retardants and polychlorinated biphenyls in house dust from Lagos, Nigeria, *Environ. Sci. Process. Impacts* **23** (2021) 1696–1705.
115. R. Esplugas, J. Rovira, M. Mari, J. Fernández-Arribas, E. Eljarrat, J. L. Domingo i M. Schuhmacher, Emerging and legacy flame retardants in indoor air and dust samples of Tarragona Province (Catalonia, Spain), *Sci. Total Environ.* **806** (2022) 150494.
116. A. R. Zota, R. A. Rudel, R. A. Morello-Frosch i J. G. Brody, Elevated house dust and serum concentrations of PBDEs in California: Unintended consequences of furniture flammability standards?, *Environ. Sci. Technol.* **42** (2008) 8158–8164.
117. L. Quirós-Alcalá, A. Bradman, M. Nishioka, M. E. Harnly, A. Hubbard, T. E. McKone i B. Eskenazi, Concentrations and loadings of polybrominated diphenyl ethers in dust from low-income households in California, *Environ. Int.* **37** (2011) 592–596.
118. N. Z. Zhu, L. Y. Liu, W. L. Ma, W. L. Li, W. W. Song, H. Qi i Y. F. Li, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the indoor dust in China: Levels, spatial distribution and human exposure, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **111** (2015) 1–8.
119. F. Tao, M. A. elwafa Abdallah i S. Harrad, Emerging and legacy flame retardants in UK indoor air and dust: evidence for replacement of PBDEs by emerging flame retardants?, *Environ. Sci. Technol.* **50** (2016) 13052–13061.
120. T. Chen, M. Huang, J. Li, J. Li i Z. Shi, Polybrominated diphenyl ethers and novel brominated flame retardants in human milk from the general population in Beijing, China: Occurrence, temporal trends, nursing infants' exposure and risk assessment, *Sci. Total Environ.* **689** (2019) 278–286.
121. A. A. Runkel, B. Križanec, E. Lipičar, M. Baskar, V. Hrženjak, Z. C. Kodba, L. Kononenko, T. Kanduč, D. Mazej, J. S. Tratnik i M. Horvat, Organohalogen: A persisting burden in Slovenia?, *Environ. Res.* **198** (2021) 111224.
122. J. Tang i J. X. Zhai, Distribution of polybrominated diphenyl ethers in breast milk, cord blood and placentas: a systematic review, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **24** (2017) 21548–21573.
123. L. Dimitriadou, G. Malarvannan, A. Covaci, E. Iossifidou, J. Tzafettas, V. Zournatzi-Koioi i O. I. Kalantzi, Levels and profiles of brominated and chlorinated contaminants in human breast milk from Thessaloniki, Greece, *Sci. Total Environ.* **539** (2016) 350–358.

124. W. Guo, A. Holden, S. C. Smith, R. Gephart, M. Petreas i J. S. Park, PBDE levels in breast milk are decreasing in California, *Chemosphere* **150** (2016) 505–513.
125. M. Y. Shin, S. Lee, H. J. Kim, J. J. Lee, G. Choi, S. Choi, S. Kim, S. Y. Kim, J. Park, H. B. Moon, K. Choi i S. Kim, Polybrominated diphenyl ethers in maternal serum, breast milk, umbilical cord serum, and house dust in a South Korean birth panel of mother-neonate pairs, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **13** (2016) 767.
126. J. P. Antignac, K. M. Main, H. E. Virtanen, C. Y. Boquien, P. Marchand, A. Venisseau, I. Guiffard, E. Bichon, C. Wohlfahrt-Veje, A. Legrand, C. Boscher, N. E. Skakkebaek, J. Toppari i B. Le Bizec, Country-specific chemical signatures of persistent organic pollutants (POPs) in breast milk of French, Danish and Finnish women, *Environ. Pollut.* **218** (2016) 728–738.
127. M. H. B. Müller, A. Polder, O. B. Brynildsrud, E. Lie, K. B. Løken, W. B. Manyilizu, R. H. Mdegela, F. Mokiti, M. Murtadha, H. E. Nonga, J. U. Skaare i J. L. Lyche, Brominated flame retardants (BFRs) in breast milk and associated health risks to nursing infants in Northern Tanzania, *Environ. Int.* **89–90** (2016) 38–47.
128. Y. Lin, C. Feng, Q. Xu, D. Lu, X. Qiu, Y. Jin, G. Wang, D. Wang, J. She i Z. Zhou, A validated method for rapid determination of dibenzo-p-dioxins/furans (PCDD/Fs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human milk: focus on utility of tandem solid phase extraction (SPE) cleanup, *Anal. Bioanal. Chem.* **408** (2016) 4897–4906.
129. L. Yang, Y. Lu, L. Wang, F. Chang, J. Zhang i Y. Liu, Levels and Profiles of Polybrominated Diphenyl Ethers in Breast Milk During Different Nursing Durations, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **97** (2016) 510–516.
130. A. Tirsina, R. Sircu, I. Pinzaru i I. Bahnarel, Changes over time in persistent organic pollutants (POP) concentrations in human milk in the Republic of Moldova, *Toxicol. Environ. Chem.* **99** (2017) 1007–1019.
131. S. A. Marchitti, S. E. Fenton, P. Mendola, J. F. Kenneke i E. P. Hines, Polybrominated diphenyl ethers in human milk and serum from the U.S. EPA MAMA study: Modeled predictions of infant exposure and considerations for risk assessment, *Environ. Health Perspect.* **125** (2017) 706–713.
132. Z. Shi, L. Zhang, Y. Zhao, Z. Sun, X. Zhou, J. Li i Y. Wu, A national survey of tetrabromobisphenol-A, hexabromocyclododecane and decabrominated diphenyl ether in

- human milk from China: Occurrence and exposure assessment, *Sci. Total Environ.* **599–600** (2017) 237–245.
133. J. C. Hartle, R. S. Cohen, P. Sakamoto, D. B. Barr i S. L. Carmichael, Chemical Contaminants in Raw and Pasteurized Human Milk, *J. Hum. Lact.* **34** (2018) 340–349.
134. Z. M. Li, M. Albrecht, H. Fromme, K. W. Schramm i M. De Angelis, Persistent Organic Pollutants in Human Breast Milk and Associations with Maternal Thyroid Hormone Homeostasis, *Environ. Sci. Technol.* **54** (2020) 1111–1119.
135. N. Wemken, D. S. Drage, C. Cellarius, K. Cleere, J. J. Morrison, S. Daly, M. A. E. Abdallah, C. Tlustos, S. Harrad i M. A. Coggins, Emerging and legacy brominated flame retardants in the breast milk of first time Irish mothers suggest positive response to restrictions on use of HBCDD and Penta- and Octa-BDE formulations, *Environ. Res.* **180** (2020) 108805.
136. X. Zhao i Z. Shi, Legacy brominated flame retardants in human milk from the general population in Beijing, China: Biomonitoring, temporal trends from 2011 to 2018, and nursing infant's exposure assessment, *Chemosphere* **285** (2021) 131533.
137. H. Matovu, Z. M. Li, B. Henkelmann, S. Bernhöft, M. De Angelis, K. W. Schramm, M. Sillanpää, C. D. Kato i P. Ssebugere, Multiple persistent organic pollutants in mothers' breastmilk: Implications for infant dietary exposure and maternal thyroid hormone homeostasis in Uganda, East Africa, *Sci. Total Environ.* **770** (2021) 145262.
138. M. Dvorščak, K. Jagić, L. Besednik, I. Šimić i D. Klinčić, First Application of Microwave-Assisted Extraction in the Analysis of Polybrominated Diphenyl Ethers in Human Milk, *Microchem. J.* **179** (2022) 107447.
139. F. Tao, M. Abou-Elwafa Abdallah, D. C. Ashworth, P. Douglas, M. B. Toledano i S. Harrad, Emerging and legacy flame retardants in UK human milk and food suggest slow response to restrictions on use of PBDEs and HBCDD, *Environ. Int.* **105** (2017) 95–104.
140. J. Zhang, L. Chen, L. Xiao, F. Ouyang, Q. Y. Zhang i Z. C. Luo, Polybrominated Diphenyl Ether Concentrations in Human Breast Milk Specimens Worldwide, *Epidemiology* **28** (2017) S89–S97.
141. S. Yin, F. Guo, M. Aamir, Y. Liu, M. Tang i W. Liu, Multicenter biomonitoring of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in colostrum from China: Body burden profile and risk assessment, *Environ. Res.* **179** (2019) 108828.
142. L. Zhang, S. Yin, Y. Zhao, Z. Shi, J. Li i Y. Wu, Polybrominated diphenyl ethers and

- indicator polychlorinated biphenyls in human milk from China under the Stockholm Convention, *Chemosphere* **189** (2017) 32–38.
143. K. Kademoglou, A. C. Williams i C. D. Collins, Bioaccessibility of PBDEs present in indoor dust: A novel dialysis membrane method with a Tenax TA® absorption sink, *Sci. Total Environ.* **621** (2018) 1–8.
144. J. Regueiro, M. Llompart, C. García-Jares i R. Cela, Determination of polybrominated diphenyl ethers in domestic dust by microwave-assisted solvent extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **1137** (2006) 1–7.
145. K. Jagić, M. Dvorščak, A. Jurič, T. Safner i D. Klinčić, Optimization and validation of a two-step method for the determination of polybrominated diphenyl ethers in Croatian house dust samples, *Anal. Methods* **13** (2021) 3504–3510.
146. K. Jagić, M. Dvorščak, A. Jurič, T. Safner i D. Klinčić, Preliminary results on polybrominated diphenyl ether contamination status in Croatian households and insights into children's exposure, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **84** (2021) 103603.
147. C. He, X. Wang, P. Thai, C. Baduel, C. Gallen, A. Banks, P. Bainton, K. English i J. F. Mueller, Organophosphate and brominated flame retardants in Australian indoor environments: Levels, sources, and preliminary assessment of human exposure, *Environ. Pollut.* **235** (2018) 670–679.
148. W. D'Hollander, L. Roosens, A. Covaci, C. Cornelis, H. Reynders, K. Van Campenhout, P. de Voogt i L. Bervoets, Brominated flame retardants and perfluorinated compounds in indoor dust from homes and offices in Flanders, Belgium, *Chemosphere* **81** (2010) 478–487.
149. Y. Kang, H. S. Wang, K. C. Cheung i M. H. Wong, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in indoor dust and human hair, *Atmos. Environ.* **45** (2011) 2386–2393.
150. P. Wang, Q. Zhang, Y. Wang, T. Wang, X. Li, L. Ding i G. Jiang, Evaluation of Soxhlet extraction, accelerated solvent extraction and microwave-assisted extraction for the determination of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in soil and fish samples., *Anal. Chim. Acta* **663** (2010) 43–48.
151. S. Song, M. M. Shao, H. Tang, Y. He, W. Wang, L. Liu i J. Wu, Development, comparison and application of sorbent-assisted accelerated solvent extraction, microwave-assisted extraction and ultrasonic-assisted extraction for the determination of polybrominated diphenyl ethers in sediments, *J. Chromatogr. A* **1475** (2016) 1–7.

152. M. García, I. Rodríguez i R. Cela, Microwave-assisted extraction of organophosphate flame retardants and plasticizers from indoor dust samples, *J. Chromatogr. A* **1152** (2007) 280–286.
153. M. I. Beser, J. Beltrán i V. Yusà, Design of experiment approach for the optimization of polybrominated diphenyl ethers determination in fine airborne particulate matter by microwave-assisted extraction and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **1323** (2014) 1–10.
154. S. Moret, C. Conchione, A. Srbinovska i P. Lucci, Microwave-based technique for fast and reliable extraction of organic contaminants from food, with a special focus on hydrocarbon contaminants, *Foods* **8** (2019) 503.
155. W. He, Y. Chen, C. Yang, W. Liu, X. Kong, N. Qin, Q. He i F. Xu, Optimized Multiresidue Analysis of Organic Contaminants of Priority Concern in a Daily Consumed Fish (Grass Carp), *J. Anal. Methods Chem.* (2017).
156. J. Regueiro, M. Llompарт, C. Garcia-Jares i R. Cela, Factorial-design optimization of gas chromatographic analysis of tetrabrominated to decabrominated diphenyl ethers. Application to domestic dust, *Anal. Bioanal. Chem.* **388** (2007) 1095–1107.
157. X. M. Huang, S. T. Ma, J. T. Cui, P. Li, X. Y. Zeng i Z. Q. Yu, Simultaneous Determination of Multiple Persistent Halogenated Compounds in Human Breast Milk, *Chinese J. Anal. Chem.* **45** (2017) 593–600.
158. P. Berton, S. B. Mammana, D. A. Locatelli, N. B. Lana, A. B. Camargo i J. C. Altamirano, Determination of polybrominated diphenylethers in milk samples. Development of green extraction coupled techniques for sample preparation, *Electrophoresis* **38** (2017) 460–468.
159. E. Čechová, Š. Vojta, P. Kukučka, A. Kočan, T. Trnovec, E. P. Murínová, M. de Cock, M. van de Bor, J. Askevold, M. Eggesbø i M. Scheringer, Legacy and alternative halogenated flame retardants in human milk in Europe: Implications for children's health, *Environ. Int.* **108** (2017) 137–145.
160. F. I. Onuska i K. A. Terry, Microwave extraction in analytical chemistry of pollutants: Polychlorinated biphenyls, *J. High Resolut. Chromatogr.* **18** (1995) 417–421.
161. M. Woźniakiewicz, R. Wietecha-Posłuszny, A. Garbacik i P. Kościelniak, Microwave-assisted extraction of tricyclic antidepressants from human serum followed by high performance liquid chromatography determination, *J. Chromatogr. A* **1190** (2008) 52–

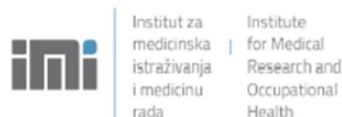


- 56.
162. J. M. Keller, R. F. Swarthout, B. K. R. Carlson, J. Yordy, A. Guichard, M. M. Schantz i J. R. Kucklick, Comparison of five extraction methods for measuring PCBs, PBDEs, organochlorine pesticides, and lipid content in serum, *Anal. Bioanal. Chem.* **393** (2009) 747–760.
163. C. Wang, Z. Lin, Q. Dong, Z. Lin, K. Lin, J. Wang, J. Huang, X. Huang, Y. He, C. Huang, D. Yang i C. Huang, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human serum from Southeast China, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **78** (2012) 206–211.
164. N. Tapie, H. Budzinski i K. Le Ménach, Fast and efficient extraction methods for the analysis of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in biological matrices, *Anal. Bioanal. Chem.* **391** (2008) 2169–2177.
165. P. B. Kurt-Karakus, H. Alegria, L. Jantunen, A. Birgul, A. Topcu, K. C. Jones i C. Turgut, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and alternative flame retardants (NFRs) in indoor and outdoor air and indoor dust from Istanbul-Turkey: Levels and an assessment of human exposure, *Atmos. Pollut. Res.* **8** (2017) 801–815.
166. J. Li, Z. Dong, Y. Wang, J. Bao, Y. Yan, A. Liu i J. Jin, Human exposure to brominated flame retardants through dust in different indoor environments: Identifying the sources of concentration differences in hair from men and women, *Chemosphere* **205** (2018) 71–79.
167. H. M. Stapleton, T. Harner, M. Shoeib, J. M. Keller, M. M. Schantz, S. D. Leigh i S. A. Wise, Determination of polybrominated diphenyl ethers in indoor dust standard reference materials, *Anal. Bioanal. Chem.* **384** (2006) 791–800.
168. D. Klinčić, S. H. Romanić, M. M. Sarić, J. Grzunov i B. Dukić, Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in human milk samples from two regions in Croatia, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **37** (2014) 543–552.
169. D. Klinčić, S. Herceg Romanić, I. Brčić Karačonji, M. Matek Sarić, J. Grzunov Letinić i N. Brajenović, Organochlorine pesticides and PCBs (including dl-PCBs) in human milk samples collected from multiparae from Croatia and comparison with primiparae, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **45** (2016) 74–79.
170. C. S. Eskilsson i E. Björklund, Analytical-scale microwave-assisted extraction., *J. Chromatogr. A* **902** (2000) 227–250.
171. L. Sanchez-Prado, C. Garcia-Jares i M. Llompart, Microwave-assisted extraction:

- Application to the determination of emerging pollutants in solid samples., *J. Chromatogr. A* **1217** (2010) 2390–2414.
172. X. Zeng, S. L. M. Simonich, K. R. Robrock, P. Korytár, L. Alvarez-Cohen i D. F. Barofsky, Model To Study Photodebromination , Anaerobic, *Environ. Toxicol. Chem.* **29** (2010) 770–778.
173. G. Söderström, U. Sellström, C. A. De Wit i M. Tysklind, Photolytic Debromination of Decabromodiphenyl Ether (BDE 209), *Environ. Sci. Technol.* **38** (2004) 127–132.
174. S. Harrad, S. Hazrati i C. Ibarra, Concentrations of polychlorinated biphenyls in indoor air and polybrominated diphenyl ethers in indoor air and dust in Birmingham, United Kingdom: Implications for human exposure, *Environ. Sci. Technol.* **40** (2006) 4633–4638.
175. US EPA, National Recommended Water Quality Criteria, *United States Environ. Prot. Agency* (2002) 1–33.
176. G. Pawar, M. A. E. Abdallah, E. V. De Sáa i S. Harrad, Dermal bioaccessibility of flame retardants from indoor dust and the influence of topically applied cosmetics, *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* **27** (2017) 100–105.
177. Z. Bu, X. Xu, Q. Xu, D. Mmereki, J. Wang, Z. Cheng, K. Li i C. Dong, Indoor polybrominated diphenyl ethers in urban China: An exposure and risk assessment based on settled dust from selected urban regions, *Sci. Total Environ.* **714** (2020) 136808.
178. K. Kalachova, P. Hradkova, D. Lankova, J. Hajslova i J. Pulkrabova, Occurrence of brominated flame retardants in household and car dust from the Czech Republic, *Sci. Total Environ.* **441** (2012) 182–193.
179. US EPA, Toxics Release Inventory Executive Summary, *United States Environ. Prot. Agency* (2001) 1–26.
180. US EPA, Update for Chapter 5 of the Exposure Factors Handbook, *United States Environ. Prot. Agency* (2017) 1–85.
181. T. P. Whitehead, F. Reber Brown, C. Metayer, P. June-Soo, M. Does, M. X. Petreas, P. A. Buffler i S. M. Rappaport, Polybrominated Diphenyl Ethers in Residential Dust: Sources of Variability, *Tissue Eng.* **0** (2013) 11–24.

## § 8. DODATAK

### Prilog 1. Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju



#### SUGLASNOST ZA SUDJELOVANJE U ISTRAŽIVANJU

Naziv projekta: *Razvoj, validacija i primjena analitičkih metoda za određivanje PBDE-a*

(Voditelj projekta: dr.sc. Darija Klinčić, dipl. ing. kemije)

Poštovana,

pozivamo da u svojstvu ispitanika sudjelujete u istraživanju u kojem se ispituje izloženost opće populacije postojećim organskim zagađivačima. Sve ispitanice koje to zatraže dobit će povratnu informaciju o rezultatima istraživanja kada ona budu dostupna.

Istraživanje će se provoditi u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada iz Zagreba u sklopu projekta „Razvoj, validacija i primjena analitičkih metoda za određivanje PBDE-a“ čiji je voditelj dr.sc. Darija Klinčić, dipl. ing. kemije. Uzorkovanje provodite samostalno u Vašem domu. Molimo Vas, pažljivo pročitajte ovu *Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju* u kojoj se objašnjava zašto se ispitivanje provodi te na koji način je potrebno skupiti uzorke.

U slučaju da ne razumijete bilo koji dio *Suglasnosti* molimo Vas da se za objašnjenje obratite suradniku/istraživaču. Vaše sudjelovanje u ovom ispitivanju je dobrovoljno i možete se u bilo kojem trenutku povući. Ukoliko odlučite sudjelovati u ovom istraživanju od Vas će se tražiti da potpišete *Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju* uz naznaku datuma.

Suradnici/istraživači koji provode ovo istraživanje neće primiti nikakvu financijsku naknadu.

#### PODACI O ISTRAŽIVANJU

Cilj istraživanja je ispitati razine bromiranih spojeva u ljudima i kućnoj prašini. Bromirani spojevi, preciznije polibromirani difenil eteri (PBDE) svoju glavnu primjenu imaju kao usporivači gorenja te se pronalaze u namještaju, tepisima, električnim i elektronskim uređajima. Zbog mogućnosti hlađenja sa/iz predmeta u kojima se nalaze, u velikoj su mjeri zastupljeni u kućnoj prašini. No zbog svoje izrazite postojanosti i spore razgradnje oni se pronalaze i u svim dijelovima okoliša, od vode i hrane, preko životinja pa sve do ljudi. Zbog svojih lipofilnih svojstava u ljudima se nakupljaju u tkivima koja sadrže masti, među ostalim i u majčinom mlijeku.

Majčino mlijeko prepoznato je kao idealna matrica za određivanje razina postojanih organskih spojeva u ljudima obzirom da je sama tehnika uzorkovanja neinvazivna, a rezultati osim izloženosti majke omogućuju i procjenu unosa ovih spojeva u organizam dojenčadi kao jedne od najosjetljivijih populacijskih skupina. Analiza uzoraka kućne prašine iz domova ispitanica omogućila bi procjenu važnosti unosa ovih spojeva putem udisanja kućne prašine, a koji se smatra jednim od najvažnijih putova unosa ovih spojeva u organizam.

Istraživanje je važno jer dosada u Hrvatskoj nisu mjerene razine bromiranih spojeva te nije poznato u kolikoj mjeri su zastupljeni u našim domovima i u populaciji. Hrvatska kao članica EU i potpisnica *Stockholmske konvencije o postojanim organskim onečišćujućim tvarima* dužna je pratiti razine ovih spojeva u okolišu i ljudima. Iako je njihova proizvodnja i upotreba zabranjena, zbog intenzivne primjene u prošlosti oni će još dugi niz godina biti prisutni u biosferi. Praćenje njihove pojavnosti tijekom vremena omogućit će i praćenje učinkovitosti zakonskih mjera poduzetih u svrhu zaštite okoliša i ljudskog zdravlja.

Ukoliko pristajete na sudjelovanje u istraživanju, molimo Vas da uz ovu *Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju* ispunite i *Anketni obrazac*. Za sve eventualne nejasnoće možete kontaktirati voditelja projekta i/ili suradnike/istraživače koji su Vas kontaktirali u vezi sudjelovanja u istraživanju.

#### UZORKOVANJE MAJČINOG MLIJEKA

Uzorkovanje majčinog mlijeka provodi se na način da izdvojite maksimalno mlijeka koliko ste u mogućnosti donirati (minimalan volumen 100 mL mlijeka) otprilike **mjesec dana nakon poroda** u prethodno opranu i za tu svrhu pripremljenu bočicu koju Vam je predao suradnik/istraživač. Također je potrebno pripaziti da su Vam ruke čiste kako pritom ne bi došlo do kontaminacije uzorka. **Važna napomena:** Mlijeko **ne treba nužno** biti izdvojeno odjednom, samo ga je potrebno u međuvremenu držati u frižideru ili zamrzivaču te svježe izdvojeno mlijeko jednostavno dodati prethodno izdvojenom mlijeku. Izdajanje možete obaviti ručno ili pomoću izdajalice u uvjetima koji Vam najviše odgovaraju kako bi se osjećali ugodno. Nakon što je skupljeno dovoljno mlijeka, potrebno ga je držati u **zamrzivaču** i sa suradnikom/istraživačem dogovoriti njegov transport u laboratorij Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada.

U laboratoriju će suradnik/istraživač uzorak obilježiti šifrom te pohraniti na -20 °C do daljnje obrade i analize.

#### UZORKOVANJE KUĆNE PRAŠINE

U svrhu dobivanja adekvatnog uzorka kućne prašine, potreban je uzorak od otprilike **mjesec dana usisavanja**. U tu svrhu, potrebno je da Vi ili Vaši ukućani u usisavač stavite **novu vrećicu** kada se približi termin poroda ili najkasnije kada se vratite iz rodilišta. Ukoliko posjedujete usisavač s posudom za skupljanje prašine umjesto vrećice te nakon jednog ili nekoliko usisavanja tu posudu imate običaj prazniti, potrebno je da od datuma početka uzorkovanja tu prašinu praznite u papirnatu vrećicu tijekom mjesec dana uzorkovanja. Neovisno o metodi sakupljanja, potrebno je **zabilježiti datum** početka i završetka skupljanja uzorka. Uzorkovanje je potrebno provoditi u periodu od mjesec dana, odnosno kada se skupi mlijeko istovremeno se predaje i uzorak prašine. Uzorak prašine se skuplja **uobičajenim postupkom** usisavanja podnih i ostalih površina u prostorijama kuće/stana prema ustaljenom običaju Vas i Vaših ukućana. Broj i učestalost usisavanja **nije određen**, u potpunosti ovisi o potrebama i navikama Vas i Vaših ukućana. Nakon što je uzorak skupljen, vrećica usisavača ili papirnata vrećica u koju je skupljan sadržaj usisavača može se držati na sobnoj temperaturi te se sa suradnikom/istraživačem dogovora njegov transport u laboratorij Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada.

U laboratoriju će suradnik/istraživač uzorak obilježiti šifrom usklađenom sa šifrom uzorka mlijeka te ga pohraniti na mračno i suho mjesto sobne temperature do daljnje obrade i analize.

#### MOGUĆI RIZICI I NEUGODNOSTI

Ovo istraživanje ne uključuje nikakav rizik osim uobičajenog svakodnevnog rizika.

#### POVJERLJIVOST I ZAŠTITA OSOBNIH PODATAKA

Svi podaci koji će biti objavljeni biti će anonimni. Uvid u prikupljene podatke imat će samo ispitanice i suradnici/istraživači. Svi prikupljeni osobni podaci obrađivat će se pod šifrom dodjeljenom prilikom dopreme uzorka u laboratorij, a koje će biti poznate samo suradnicima/istraživačima koji provode istraživanje.

#### KORIST ZA ISTRAŽIVAČE

Rezultati istraživanja biti će korišteni u svrhu objave znanstvenih radova i kongresnih priopćenja.

#### TKO JE ODOBRILO OVO ISTRAŽIVANJE

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu.

#### DOBROVOLJNO SUDJELOVANJE

Sudjelovanje u ovome istraživanju je u potpunosti dobrovoljno. Ukoliko se odlučite sudjelovati u istraživanju, možete u bilo kojem trenutku prekinuti svoje sudjelovanje u njemu.

#### PITANJA O ISTRAŽIVANJU I KONTAKT PODACI

Za dodatna pitanja o samom istraživanju možete se obratiti:

Dr.sc. Darija Klinčić, voditeljica istraživanja

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada

Telefon: 01/4682-554

E-mail: darija@imi.hr

Ovaj tekst pažljivo pročitajte i obratite nam se za sve eventualne nejasnoće. Zahvaljujemo na suradnji!

Svojim potpisom potvrđujem da sam informirana o ciljevima i rizicima ovog istraživanja i pristajem u njemu sudjelovati.

U \_\_\_\_\_  
(mjesto i datum)

\_\_\_\_\_  
Potpis ispitanice ili njenog zakonskog zastupnika

## Prilog 2. Anketni obrazac



Institut za  
medicinska  
istraživanja  
i medicinu  
rada

Institute  
for Medical  
Research and  
Occupational  
Health

## ANKETNI OBRAZAC

## ZA UZORKOVANJE MAJČINOG MLIJEKA I KUĆNE PRAŠINE

u sklopu projekta *Razvoj, validacija i primjena analitičkih metoda za određivanje PBDE-a*

(voditelj projekta dr.sc. Darija Klinčić)

1. ŠIFRA:	
2. IME I PREZIME ISPITANICE (velikim tiskanim slovima):	
3. DATUM ROĐENJA ISPITANICE:	
4. ADRESA (ukoliko ste se selili unazad 5 godina navedite obje adrese):	
Prijašnja:	Sadašnja:
Mjesto	Mjesto
Ulica i broj	Ulica i broj
<p>Da li ste živjeli u sadašnjem mjestu boravka barem 10 godina unatrag?</p> <p style="text-align: center;">Da <input type="checkbox"/>                      Ne <input type="checkbox"/></p> <p>Ako ne, navesti broj godina koliko živite u sadašnjem mjestu: _____</p>	
<p><b>5. PODACI O MJESTU STANOVANJA</b></p> <p>Gdje živite:    Kuća <input type="checkbox"/>            Stan u zgradi <input type="checkbox"/></p> <p>Starost zgrade ili kuće: _____    Broj osoba u kućanstvu: _____</p> <p>Veličina stana/kuće (m<sup>2</sup>): _____ unutarnjeg prostora + _____ terase/balkona</p> <p>Da li ste u sadašnjem mjestu boravka 5 godina unatrag imali unutrašnju adaptaciju prostora:</p> <p style="text-align: center;">Da <input type="checkbox"/>                      Ne <input type="checkbox"/></p>	

Koje podne obloge prevladavaju u prostoru?  
 parket  laminat  pločice  drugo (što) \_\_\_\_\_

Podna obloga u dnevnom boravku? parket  laminat  pločice  drugo (što) \_\_\_\_\_

Površina područja pokrivenog tepihom (ukupno)? \_\_\_\_\_ m<sup>2</sup>

---

Da li imate namještaj koji sadrži poliuretansku pjenu (PUF) (npr. kauči, fotelje, madraci)?  
 Da  Ne

Ako da, navedite koji i količinu: \_\_\_\_\_

---

Broj prozora (uključujući balkonska vrata) u stanu/kući: \_\_\_\_\_

Broj sati po danu s otvorenim prozorom (u periodu uzorkovanja prašine): \_\_\_\_\_

Sustav grijanja: struja  plin  drvo  drugo \_\_\_\_\_

---

Živate li u blizini spalionice, tvornice celuloze i/li papira, metalne industrije ili u blizini tvornice koja proizvodi kemikalije ili benzinske stanice ili u području gdje se kućanstva griju na drva ili ugljen?  
 Da  Ne

Ako da, navedite blizu čega: \_\_\_\_\_

Ispunite tablicu što preciznije:

Elektronički uređaj	Broj	Korišten sati/dan
TV Plazma ili LED tehnologija Katodna tehnologija		
DVD player		
CD i MP3 player		
Laptop		
Računalo		
Printer		
Tablet		
Radio		
Mobitel		
Telefon		
Klima		
Hladnjak		

**6. PODACI O MAJCI**

TEŽINA MAJKE (kg):  
 Prije trudnoće: \_\_\_\_\_  
 Prije poroda: \_\_\_\_\_  
 Sadašnja težina: \_\_\_\_\_

VISINA MAJKE (cm): \_\_\_\_\_

**PREHRANA MAJKE:**  
 Mješovita  Vegetarijanska   
 Vegetarijanska uključuje mlijeko i jaja  Ostalo   
 Ako je odgovor **ostalo** opišite vrstu prehrane: \_\_\_\_\_

Koliko često jedete ribu i morske plodove: _____	
Je li vam se prehrana bitno mijenjana tijekom trudnoće i ako da, kako: _____	
Vrsta i količina lijekova/dodataka prehrani koje ste koristili tijekom trudnoće: _____	
Vrsta i količina lijekova/dodataka prehrani koje sada koristite: _____	
<b>ZAPOSLIENJE MAJKE:</b>	
Prijašnje:	Sadašnje:
Zanimanje:	Zanimanje:
Radno mjesto:	Radno mjesto:
Naziv organizacije:	Naziv organizacije:
Zaposlena od _____ do _____	Zaposlena od _____ do _____
Do kojeg tjedna trudnoće ste bili prisutni na radnom mjestu? _____	
<b>PUŠENJE PRIJE I TIJEKOM TRUDNOĆE:</b>	
Da li ste pušili prije trudnoće? Pušač <input type="checkbox"/> Broj cigareta dnevno: _____ Nepušač <input type="checkbox"/> Bivši pušač <input type="checkbox"/> Pasivni pušač <input type="checkbox"/>	
Da li ste pušili tijekom trudnoće? Da <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	
Ako da, koliko dugo i koliko cigareta dnevno? _____	

<b>PUŠENJE SADA:</b>	
Pušač <input type="checkbox"/> Broj cigareta dnevno: _____ Nepušač <input type="checkbox"/> Bivši pušač <input type="checkbox"/> Pasivni pušač <input type="checkbox"/>	
<b>7. PODACI O TRUDNOĆI</b>	
Da li je ovo bila višeploidna trudnoća? Da <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	
Jeste li imali normalnu zdravu trudnoću? Da <input type="checkbox"/> Ne <input type="checkbox"/>	
<b>8. PODACI O DJETETU</b>	
Koje je dijete po redu: _____	
Termin poroda djeteta: _____	
Datum rođenja djeteta: _____	
Spol djeteta: Muško <input type="checkbox"/> Žensko <input type="checkbox"/>	
Težina djeteta pri porodu (g): _____ Sadašnja težina djeteta (g): _____	
Koliko dugo namjeravate dojiti dijete:	
Koju hranu dijete konzumira osim majčinog mlijeka:	
<b>9. STARIJA DJECA</b>	
Prvo (godina rođenja):	Koliko je dugo dojeno:
Drugo (godina rođenja):	Koliko je dugo dojeno:
Treće (godina rođenja):	Koliko je dugo dojeno:
Četvrto (godina rođenja):	Koliko je dugo dojeno:



<b>10. UZORAK MLIJEKA</b>	
Datum uzimanja uzorka: _____	Volumen: _____ mL
Mjesto uzorkovanja:	
Kod kuće <input type="checkbox"/>	U bolnici <input type="checkbox"/>
U drugoj ustanovi <input type="checkbox"/>	Navedite kojoj _____
<b>11. UZORAK PRAŠINE</b>	
Datum uzimanja uzorka: od _____ do _____	
Vrsta usisavača (npr. s vrećicom, posuda, ostalo): _____	
Broj usisavanja / tjedan: _____	
Mjesta sa kojih ste sakupljali uzorak prašine sa usisavačem: Pod <input type="checkbox"/> Namještaj <input type="checkbox"/> Madrac <input type="checkbox"/>	
Okvir prozora <input type="checkbox"/> Balkon/terasa <input type="checkbox"/>	
Mjesto koje nije navedeno, a sakupljali ste uzorak sa njega: _____	

\_\_\_\_\_  
Mjesto i datum ispunjavanja Ankete\_\_\_\_\_  
Vlastoručan potpis ispitanice

**Tablica 8.1.** Usporedba masenih udjela spojeva PBDE određenim u uzorcima ljudskog mlijeka (N =24) prikupljenim od ispitanica iz Zagreba i okolice pomoću tehnika GC- $\mu$ ECD i GC-MS/MS

Spoj	GC- $\mu$ ECD		GC-MS/MS	
	Maseni udio / ng g <sup>-1</sup> masti			
	Raspon	Medijan	Raspon	Medijan
BDE-28	0,95	0,95	0,03 – 1,0	0,04
BDE-47	0,02 – 1,5	0,24	0,08 – 2,4	0,17
BDE-99	0,01 – 3,4	0,26	0,03 – 4,2	0,24
BDE-100	0,08 – 0,98	0,21	0,01 – 0,85	0,11
BDE-153	0,13 – 0,83	0,25	0,11 – 0,91	0,23
BDE-154	0,03 – 0,65	0,08	0,02 – 0,57	0,09
BDE-183	0,380	0,38	0,33 – 0,50	0,42
$\Sigma$ PBDE	0,16 – 6,3	0,55	0,18 – 7,5	0,59

**Tablica 8.2.** Maseni udjeli spojeva PBDE (ng g<sup>-1</sup> prašine) detektirani u uzorcima prašine prikupljenim u kućanstvima ispitanica (N = 30) s područja Zagreba i okolice

UZORAK	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	ΣPBDE
JŠIV8	< GD	1,2	< GD	1,2	< GD	1,7	8,8	13
RŠDB1	< GD	< GD	< GD	0,24*	< GD	< GD	< GD	0,24
ADRU2	< GD	< GD	< GD	< GD	< GD	< GD	1,3	1,3
KRBR2	< GD	1,5	< GD	1,3	< GD	< GD	2,3	5,0
ANLjB7	< GD	7,8	0,66	3,4	0,24*	0,50	0,78	13
VRAM3	0,63	120	48	283	33	37	3,4	523
DVKN9	< GD	< GD	< GD	< GD	< GD	< GD	< GD	< GD
DITO8	< GD	0,47	< GD	0,68	0,19*	0,45	2,2	4,0
SOSN2	< GD	1,9	0,91	5,3	0,55	0,88	1,3	11
GRTH5	< GD	0,50	0,38	1,9	0,22*	0,40	0,60*	4,0
NZHL3	< GD	0,54	0,32*	0,79	0,15*	0,32*	2,8	5,0
IVKR4	< GD	0,33	< GD	0,23*	< GD	< GD	0,58*	1,1
PTLV2	< GD	0,43	0,36	1,4	0,21*	0,61	1,9	4,9
FRSN1	< GD	5,2	3,4	21	3,0	3,0	0,64*	36
MACI0	< GD	0,35	0,32*	0,25*	< GD	< GD	< GD	0,93
ZNLR2	< GD	0,76	< GD	1,2	0,36	0,40	1,8	4,5
MATR0	< GD	2,2	< GD	2,2	< GD	< GD	< GD	4,4
MRLU7	< GD	1,4	0,95	7,5	0,79	2,2	0,95	14
SKKS7	0,53	41	15	82	7,0	4,5	3,9	154
DALL6	< GD	11	3,0	14	1,0	1,4	1,6	32
MALU1	< GD	0,94	< GD	1,0	0,20*	0,23*	1,1	3,5
JABU8	< GD	1,6	1,1	4,4	0,49	0,54	0,40*	8,5
MIMI4	< GD	3,1	1,6	8,0	0,88	1,3	0,76*	16
VMTK5	0,77	2,5	0,67	3,1	0,60	0,98	0,96	9,5
NKME1	< GD	0,18*	< GD	0,43	0,26*	1,1	1,6	3,6
ENVK1	< GD	0,91	0,29*	1,2	0,25*	0,19*	< GD	2,8
MGZK0	< GD	0,37	< GD	0,70	< GD	< GD	0,56*	1,6
JSSI4	< GD	1,2	0,36	1,3	0,99	2,2	19	25
MJKT4	< GD	1,4	0,27*	1,4	0,25*	0,22*	0,44*	4,0
APPL3	< GD	7,5	2,8	21	3,0	4,3	5,1	44

GD granica detekcije; \* vrijednost iznad GD i ispod granice određivanja

**Tablica 8.3.** Maseni udjeli spojeva PBDE (ng g<sup>-1</sup> masti) detektirani u uzorcima ljudskog mlijeka prikupljenim od ispitanica (N = 30) iz Zagreba i okolice određeni tehnikom GC- $\mu$ ECD

UZORAK	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	$\Sigma$ PBDE
JŠIV8	< GD	< GD	< GD	< GD	0,06*	0,16	< GD	0,22
RŠDB1	< GD	< GD	< GD	< GD	0,03*	0,13	< GD	0,16
ADRU2	< GD	< GD	< GD	< GD	< GD	0,20	< GD	0,20
KRBR2	< GD	< GD	< GD	< GD	0,08	0,17	< GD	0,25
ANLjB7	< GD	0,36	0,08	0,07*	0,24	0,53	< GD	1,3
VRAM3	< GD	< GD	< GD	< GD	0,04*	0,24	< GD	0,28
DVNK9	< GD	0,26	0,11	0,66	0,12	0,22	< GD	1,4
DITO8	< GD	< GD	0,28	0,23	0,07	0,20	< GD	0,79
SOSN2	< GD	0,14	0,14	0,34	0,17	0,31	< GD	1,1
GRTH5	< GD	< GD	< GD	0,18	0,07	0,32	< GD	0,57
NZHL3	< GD	< GD	< GD	< GD	0,07	0,23	< GD	0,30
IVKR4	< GD	0,09	0,09	0,28	0,08	0,21	< GD	0,76
PTLV2	< GD	0,07	< GD	0,05*	< GD	0,15	< GD	0,27
FRSN1	< GD	0,76	0,90	3,4	0,48	0,76	< GD	6,3
MACI0	< GD	0,02*	< GD	< GD	0,09	0,18	< GD	0,29
ZNLR2	< GD	< GD	< GD	< GD	0,04*	0,17	< GD	0,24
MATR0	< GD	< GD	< GD	< GD	0,18	0,33	< GD	0,52
MRLU7	< GD	0,12	0,08	0,21	0,07	0,31	< GD	0,78
SKKS7	< GD	1,5	0,46	0,59	0,06*	0,28	< GD	2,9
DALL6	< GD	< GD	< GD	0,10*	0,04*	0,28	< GD	0,43
MALU1	< GD	0,48	0,60	3,3	0,48	0,82	< GD	5,7
JABU8	< GD	< GD	< GD	< GD	< GD	0,25	< GD	0,25
MIMI4	< GD	0,22	< GD	0,68	0,14	0,33	< GD	1,4
VMTK5	0,42	0,74	0,98	2,0	0,65	0,42	0,38*	5,6
NKME1	< GD	0,04*	0,16	< GD	0,03*	0,12	< GD	0,34
ENVK1	< GD	0,19	0,20	1,1	0,21	0,39	< GD	2,1
MGZK0	< GD	0,39	0,17	< GD	< GD	0,08	< GD	0,63
JSSI4	< GD	0,04*	0,09	< GD	0,04*	0,20	< GD	0,37
MJKT4	< GD	0,06*	0,06	< GD	0,04*	0,19	< GD	0,35
APPL3	< GD	0,12	0,25	< GD	< GD	0,10	< GD	0,46

GD granica detekcije; \* vrijednost iznad GD i ispod granice određivanja

**Tablica 8.4.** Procjena dnevnog unosa (EDI) pojedinačnih kongenera PBDE (ng kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup>) putem ingestije i dermalne apsorpcije kućne prašine te vrijednosti kvocijenta opasnosti (HQ) i indeks rizika (HI) za majke

a)

SCENARIJ	IZLOŽENOST MAJKI KONGENERU BDE-28 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI						NAJGORI							
	CENTRALNI			NAJGORI			CENTRALNI			NAJGORI				
UZORAK	EDI <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI
JŠIV8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
KRBR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ANLJB7	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
VRAM3	1,12E-05	1,12E-07	1,15E-04	1,15E-06	1,26E-04	1,26E-06	3,44E-04	3,44E-06	3,55E-04	3,55E-06	3,44E-04	3,44E-06	3,55E-04	3,55E-06
DVNM9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
DITO8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
SOSN2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
GRTH5	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
NZHL3	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
IVKR4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
PTLV2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
FRSN1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MACI0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ZNLR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MATR0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MRLU7	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
SKKS7	9,53E-06	9,53E-08	9,76E-05	9,76E-07	1,07E-04	1,07E-06	2,93E-04	2,93E-06	3,02E-04	3,02E-06	2,93E-04	2,93E-06	3,02E-04	3,02E-06
DALL6	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MAJU1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
JABU8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MIMI4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
VMTK5	1,38E-05	1,38E-07	1,41E-04	1,41E-06	1,55E-04	1,55E-06	4,23E-04	4,23E-06	4,37E-04	4,37E-06	4,23E-04	4,23E-06	4,37E-04	4,37E-06
NKME1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ENVK1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MGZK0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
JSSI4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MJKT4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
APPL3	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

IZLOŽENOST MAJKI KONGENERU BDE-47 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI											
SCENARIJ				CENTRALNI				NAJGORI			
UZORAK	EDI <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>ak</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>ak</sub>	HI	
ŠIV8	1,49E-05	1,49E-07	2,27E-04	2,27E-06	2,42E-04	2,42E-06	6,82E-04	6,82E-06	6,97E-04	6,97E-06	
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
KRBR2	1,75E-05	1,75E-07	2,66E-04	2,66E-06	2,83E-04	2,83E-06	7,98E-04	7,98E-06	8,15E-04	8,15E-06	
ANLJB7	9,40E-05	9,40E-07	1,43E-03	1,43E-05	1,52E-03	1,52E-05	4,29E-03	4,29E-05	4,38E-03	4,38E-05	
VRAM3	1,44E-03	1,44E-05	2,19E-02	2,19E-04	2,33E-02	2,33E-04	6,56E-02	6,56E-04	6,70E-02	6,70E-04	
DVINK9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
DIT08	5,65E-06	5,65E-08	8,59E-05	8,59E-07	9,15E-05	9,15E-07	2,58E-04	2,58E-06	2,63E-04	2,63E-06	
SOSN2	2,23E-05	2,23E-07	3,39E-04	3,39E-06	3,61E-04	3,61E-06	1,02E-03	1,02E-05	1,04E-03	1,04E-05	
GRTH5	6,03E-06	6,03E-08	9,17E-05	9,17E-07	9,77E-05	9,77E-07	2,75E-04	2,75E-06	2,81E-04	2,81E-06	
NZHL3	6,55E-06	6,55E-08	9,97E-05	9,97E-07	1,06E-04	1,06E-06	2,99E-04	2,99E-06	3,06E-04	3,06E-06	
IVKR4	4,01E-06	4,01E-08	6,10E-05	6,10E-07	6,50E-05	6,50E-07	1,83E-04	1,83E-06	1,87E-04	1,87E-06	
PTLV2	5,12E-06	5,12E-08	7,79E-05	7,79E-07	8,30E-05	8,30E-07	2,34E-04	2,34E-06	2,39E-04	2,39E-06	
FRSN1	6,21E-05	6,21E-07	9,44E-04	9,44E-06	1,01E-03	1,01E-05	2,83E-03	2,83E-05	2,89E-03	2,89E-05	
MAC10	4,25E-06	4,25E-08	6,46E-05	6,46E-07	6,89E-05	6,89E-07	1,94E-04	1,94E-06	1,98E-04	1,98E-06	
ZNLR2	9,11E-06	9,11E-08	1,39E-04	1,39E-06	1,48E-04	1,48E-06	4,16E-04	4,16E-06	4,25E-04	4,25E-06	
MATR0	2,66E-05	2,66E-07	4,04E-04	4,04E-06	4,30E-04	4,30E-06	1,21E-03	1,21E-05	1,24E-03	1,24E-05	
MRLU7	1,62E-05	1,62E-07	2,46E-04	2,46E-06	2,63E-04	2,63E-06	7,39E-04	7,39E-06	7,55E-04	7,55E-06	
SKKS7	4,98E-04	4,98E-06	7,58E-03	7,58E-05	8,08E-03	8,08E-05	2,27E-02	2,27E-04	2,32E-02	2,32E-04	
DALL6	1,30E-04	1,30E-06	1,97E-03	1,97E-05	2,10E-03	2,10E-05	5,92E-03	5,92E-05	6,05E-03	6,05E-05	
MALU1	1,14E-05	1,14E-07	1,73E-04	1,73E-06	1,84E-04	1,84E-06	5,18E-04	5,18E-06	5,29E-04	5,29E-06	
JABU8	1,86E-05	1,86E-07	2,83E-04	2,83E-06	3,02E-04	3,02E-06	8,49E-04	8,49E-06	8,67E-04	8,67E-06	
MIMI4	3,76E-05	3,76E-07	5,72E-04	5,72E-06	6,10E-04	6,10E-06	1,72E-03	1,72E-05	1,75E-03	1,75E-05	
VMTK5	2,96E-05	2,96E-07	4,49E-04	4,49E-06	4,79E-04	4,79E-06	1,35E-03	1,35E-05	1,38E-03	1,38E-05	
NKME1	2,17E-06	2,17E-08	3,30E-05	3,30E-07	3,52E-05	3,52E-07	9,91E-05	9,91E-07	1,01E-04	1,01E-06	
ENVK1	1,09E-05	1,09E-07	1,66E-04	1,66E-06	1,77E-04	1,77E-06	4,99E-04	4,99E-06	5,10E-04	5,10E-06	
MGZK0	4,41E-06	4,41E-08	6,70E-05	6,70E-07	7,15E-05	7,15E-07	2,01E-04	2,01E-06	2,06E-04	2,06E-06	
JSSI4	1,40E-05	1,40E-07	2,12E-04	2,12E-06	2,26E-04	2,26E-06	6,37E-04	6,37E-06	6,51E-04	6,51E-06	
MJKT4	1,70E-05	1,70E-07	2,59E-04	2,59E-06	2,76E-04	2,76E-06	7,77E-04	7,77E-06	7,94E-04	7,94E-06	
APPL3	9,00E-05	9,00E-07	1,37E-03	1,37E-05	1,46E-03	1,46E-05	4,11E-03	4,11E-05	4,20E-03	4,20E-05	

b)

IZLOŽENOST MAJKI KONGENERU BDE-99 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI											
SCENARIJ				CENTRALNI				NAJGORI			
UZORAK	EDI <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>tuk</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>tuk</sub>	HI	
JŠIV8	9,95E-06	9,95E-08	2,20E-04	2,20E-06	2,30E-04	2,30E-06	6,60E-04	6,60E-06	6,70E-04	6,70E-06	
RŠDB1	2,01E-06	2,01E-08	4,43E-05	4,43E-07	4,63E-05	4,63E-07	1,33E-04	1,33E-06	1,35E-04	1,35E-06	
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
KRBR2	1,09E-05	1,09E-07	2,40E-04	2,40E-06	2,51E-04	2,51E-06	7,20E-04	7,20E-06	7,31E-04	7,31E-06	
ANLJB7	2,83E-05	2,83E-07	6,27E-04	6,27E-06	6,55E-04	6,55E-06	1,88E-03	1,88E-05	1,91E-03	1,91E-05	
VRAM3	2,34E-03	2,34E-05	5,17E-02	5,17E-04	5,40E-02	5,40E-04	1,55E-01	1,55E-03	1,57E-01	1,57E-03	
DVVK9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
DIT08	5,63E-06	5,63E-08	1,25E-04	1,25E-06	1,30E-04	1,30E-06	3,74E-04	3,74E-06	3,79E-04	3,79E-06	
SOSN2	4,38E-05	4,38E-07	9,69E-04	9,69E-06	1,01E-03	1,01E-05	2,91E-05	2,91E-05	2,95E-05	2,95E-05	
GRTH5	1,60E-05	1,60E-07	3,54E-04	3,54E-06	3,70E-04	3,70E-06	1,06E-03	1,06E-05	1,08E-03	1,08E-05	
NZHL3	6,57E-06	6,57E-08	1,45E-04	1,45E-06	1,52E-04	1,52E-06	4,36E-04	4,36E-06	4,43E-04	4,43E-06	
IVKR4	1,94E-06	1,94E-08	4,29E-05	4,29E-07	4,48E-05	4,48E-07	1,29E-04	1,29E-06	1,31E-04	1,31E-06	
PILV2	1,19E-05	1,19E-07	2,63E-04	2,63E-06	2,75E-04	2,75E-06	7,89E-04	7,89E-06	8,00E-04	8,00E-06	
FRSN1	1,71E-04	1,71E-06	3,78E-03	3,78E-05	3,95E-03	3,95E-05	1,13E-02	1,13E-04	1,15E-02	1,15E-04	
MACI0	2,10E-06	2,10E-08	4,64E-05	4,64E-07	4,85E-05	4,85E-07	1,39E-04	1,39E-06	1,41E-04	1,41E-06	
ZNLR2	9,48E-06	9,48E-08	2,10E-04	2,10E-06	2,19E-04	2,19E-06	6,29E-04	6,29E-06	6,38E-04	6,38E-06	
MATR0	1,82E-05	1,82E-07	4,03E-04	4,03E-06	4,21E-04	4,21E-06	1,21E-03	1,21E-05	1,23E-03	1,23E-05	
MRLU7	6,21E-05	6,21E-07	1,37E-03	1,37E-05	1,43E-03	1,43E-05	4,12E-03	4,12E-05	4,18E-03	4,18E-05	
SKKS7	6,81E-04	6,81E-06	1,51E-02	1,51E-04	1,57E-02	1,57E-04	4,52E-02	4,52E-04	4,59E-02	4,59E-04	
DALL6	1,16E-04	1,16E-06	2,56E-03	2,56E-05	2,68E-03	2,68E-05	7,69E-03	7,69E-05	7,80E-03	7,80E-05	
MALU1	8,42E-06	8,42E-08	1,86E-04	1,86E-06	1,95E-04	1,95E-06	5,58E-04	5,58E-06	5,67E-04	5,67E-06	
JABU8	3,68E-05	3,68E-07	8,13E-04	8,13E-06	8,49E-04	8,49E-06	2,44E-03	2,44E-05	2,47E-03	2,47E-05	
MIMI4	6,59E-05	6,59E-07	1,46E-03	1,46E-05	1,52E-03	1,52E-05	4,37E-03	4,37E-05	4,44E-03	4,44E-05	
VMTK5	2,56E-05	2,56E-07	5,65E-04	5,65E-06	5,91E-04	5,91E-06	1,70E-03	1,70E-05	1,72E-03	1,72E-05	
NKME1	3,56E-06	3,56E-08	7,87E-05	7,87E-07	8,23E-05	8,23E-07	2,36E-04	2,36E-06	2,40E-04	2,40E-06	
ENVK1	9,75E-06	9,75E-08	2,16E-04	2,16E-06	2,25E-04	2,25E-06	6,47E-04	6,47E-06	6,56E-04	6,56E-06	
MGZK0	5,82E-06	5,82E-08	1,29E-04	1,29E-06	1,35E-04	1,35E-06	3,86E-04	3,86E-06	3,92E-04	3,92E-06	
JSSI4	1,11E-05	1,11E-07	2,45E-04	2,45E-06	2,56E-04	2,56E-06	7,35E-04	7,35E-06	7,46E-04	7,46E-06	
MJKT4	1,13E-05	1,13E-07	2,50E-04	2,50E-06	2,62E-04	2,62E-06	7,51E-04	7,51E-06	7,62E-04	7,62E-06	
APPL3	1,77E-04	1,77E-06	3,92E-03	3,92E-05	4,10E-03	4,10E-05	1,18E-02	1,18E-04	1,19E-02	1,19E-04	

c)

d)

IZLOŽENOST MAJKI KONGENERU BDE-100 DETEKTIRANOMU KUĆNOJ PRAŠINI											
SCENARIJ			CENTRALNI						NAJGORI		
UZORAK	EDI <sub>dem</sub>	HQ <sub>dem</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	
JŠIV8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
RŠDBI	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
KRBR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ANLJB7	5,45E-06	5,45E-08	1,21E-04	1,21E-06	1,26E-04	1,26E-06	3,62E-04	3,62E-06	3,67E-04	3,67E-06	
VRAM3	3,98E-04	3,98E-06	8,81E-03	8,81E-05	9,20E-03	9,20E-05	2,64E-02	2,64E-04	2,68E-02	2,68E-04	
DV'NK9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
DITO8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
SOSN2	7,53E-06	7,53E-08	1,66E-04	1,66E-06	1,74E-04	1,74E-06	4,99E-04	4,99E-06	5,07E-04	5,07E-06	
GRTH5	3,15E-06	3,15E-08	6,97E-05	6,97E-07	7,28E-05	7,28E-07	2,09E-04	2,09E-06	2,12E-04	2,12E-06	
NZHL3	2,63E-06	2,63E-08	5,82E-05	5,82E-07	6,08E-05	6,08E-07	1,75E-04	1,75E-06	1,77E-04	1,77E-06	
IVKR4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
PILV2	2,94E-06	2,94E-08	6,49E-05	6,49E-07	6,79E-05	6,79E-07	1,95E-04	1,95E-06	1,98E-04	1,98E-06	
FRSN1	2,83E-05	2,83E-07	6,27E-04	6,27E-06	6,55E-04	6,55E-06	1,88E-03	1,88E-05	1,91E-03	1,91E-05	
MACIO	2,64E-06	2,64E-08	5,83E-05	5,83E-07	6,10E-05	6,10E-07	1,75E-04	1,75E-06	1,78E-04	1,78E-06	
ZNLR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
MATRO	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
MRLU7	7,82E-06	7,82E-08	1,73E-04	1,73E-06	1,81E-04	1,81E-06	5,18E-04	5,18E-06	5,26E-04	5,26E-06	
SKKS7	1,20E-04	1,20E-06	2,66E-03	2,66E-05	2,78E-03	2,78E-05	7,99E-03	7,99E-05	8,11E-03	8,11E-05	
DALL6	2,46E-05	2,46E-07	5,43E-04	5,43E-06	5,68E-04	5,68E-06	1,63E-03	1,63E-05	1,65E-03	1,65E-05	
MALU1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
JABU8	9,19E-06	9,19E-08	2,03E-04	2,03E-06	2,12E-04	2,12E-06	6,10E-04	6,10E-06	6,19E-04	6,19E-06	
MIMI4	1,29E-05	1,29E-07	2,86E-04	2,86E-06	2,99E-04	2,99E-06	8,57E-04	8,57E-06	8,70E-04	8,70E-06	
VMTK5	5,55E-06	5,55E-08	1,23E-04	1,23E-06	1,28E-04	1,28E-06	3,68E-04	3,68E-06	3,74E-04	3,74E-06	
NKME1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ENVK1	2,44E-06	2,44E-08	5,39E-05	5,39E-07	5,63E-05	5,63E-07	1,62E-04	1,62E-06	1,64E-04	1,64E-06	
MGZK0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
JSSI4	2,98E-06	2,98E-08	6,58E-05	6,58E-07	6,88E-05	6,88E-07	1,97E-04	1,97E-06	2,00E-04	2,00E-06	
MJKT4	2,21E-06	2,21E-08	4,89E-05	4,89E-07	5,11E-05	5,11E-07	1,47E-04	1,47E-06	1,49E-04	1,49E-06	
APPL3	2,35E-05	2,35E-07	5,19E-04	5,19E-06	5,43E-04	5,43E-06	1,56E-03	1,56E-05	1,58E-03	1,58E-05	



IZLOŽENOST MAJKI KONGENERU BDE-153 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI											
SCENARIJ			CENTRALNI						NAJGORI		
UZORAK	EDI <sub>term</sub>	HQ <sub>term</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	
JŠIV8	6,43E-06	3,22E-08	3,13E-04	1,57E-06	3,20E-04	1,60E-06	9,39E-04	4,70E-06	9,46E-04	4,73E-06	
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
KRBR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ANLJB7	1,88E-06	9,42E-09	9,18E-05	4,59E-07	9,37E-05	4,68E-07	2,75E-04	1,38E-06	2,77E-04	1,39E-06	
VRAM3	1,38E-04	6,88E-07	6,70E-03	3,35E-05	6,84E-03	3,42E-05	2,01E-02	1,00E-04	2,02E-02	1,01E-04	
DVINK9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
DIT08	1,69E-06	8,47E-09	8,25E-05	4,12E-07	8,42E-05	4,21E-07	2,47E-04	1,24E-06	2,49E-04	1,25E-06	
SOSN2	3,30E-06	1,65E-08	1,60E-04	8,02E-07	1,64E-04	8,19E-07	4,81E-04	2,41E-06	4,85E-04	2,42E-06	
GRTH5	1,51E-06	7,56E-09	7,36E-05	3,68E-07	7,52E-05	3,76E-07	2,21E-04	1,10E-06	2,22E-04	1,11E-06	
NZHL3	1,19E-06	5,93E-09	5,78E-05	2,89E-07	5,89E-05	2,95E-07	1,73E-04	8,66E-07	1,74E-04	8,72E-07	
IVKR4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
PTLV2	2,28E-06	1,14E-08	1,11E-04	5,54E-07	1,13E-04	5,65E-07	3,32E-04	1,66E-06	3,35E-04	1,67E-06	
FRSNI	1,14E-05	5,71E-08	5,56E-04	2,78E-06	5,67E-04	2,84E-06	1,67E-03	8,34E-06	1,68E-03	8,39E-06	
MAC10	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ZNLR2	1,49E-06	7,43E-09	7,23E-05	3,62E-07	7,38E-05	3,69E-07	2,17E-04	1,08E-06	2,18E-04	1,09E-06	
MATR0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
MRLU7	8,07E-06	4,03E-08	3,93E-04	1,96E-06	4,01E-04	2,00E-06	1,18E-03	5,89E-06	1,19E-03	5,93E-06	
SKKS7	1,69E-05	8,44E-08	8,22E-04	4,11E-06	8,39E-04	4,20E-06	2,47E-03	1,23E-05	2,48E-03	1,24E-05	
DALL6	5,19E-06	2,59E-08	2,53E-04	1,26E-06	2,58E-04	1,29E-06	7,58E-04	3,79E-06	7,63E-04	3,82E-06	
MALU1	8,80E-07	4,40E-09	4,29E-05	2,14E-07	4,38E-05	2,19E-07	1,29E-04	6,43E-07	1,29E-04	6,47E-07	
JABU8	2,04E-06	1,02E-08	9,94E-05	4,97E-07	1,01E-04	5,07E-07	2,98E-04	1,49E-06	3,00E-04	1,50E-06	
MIMI4	4,69E-06	2,35E-08	2,29E-04	1,14E-06	2,33E-04	1,17E-06	6,86E-04	3,43E-06	6,90E-04	3,45E-06	
VMTK5	3,68E-06	1,84E-08	1,79E-04	8,95E-07	1,83E-04	9,14E-07	5,37E-04	2,69E-06	5,41E-04	2,70E-06	
NKME1	4,01E-06	2,01E-08	1,95E-04	9,77E-07	2,00E-04	9,98E-07	5,86E-04	2,93E-06	5,91E-04	2,95E-06	
ENVK1	7,13E-07	3,57E-09	3,47E-05	1,74E-07	3,55E-05	1,77E-07	1,04E-04	5,21E-07	1,05E-04	5,25E-07	
MGZK0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
JSSI4	8,31E-06	4,16E-08	4,05E-04	2,02E-06	4,13E-04	2,07E-06	1,21E-03	6,07E-06	1,22E-03	6,11E-06	
MJKT4	8,12E-07	4,06E-09	3,95E-05	1,98E-07	4,04E-05	2,02E-07	1,19E-04	5,93E-07	1,19E-04	5,97E-07	
APPL3	1,62E-05	8,11E-08	7,90E-04	3,95E-06	8,06E-04	4,03E-06	2,37E-03	1,18E-05	2,38E-03	1,19E-05	

e)

f)

IZLOŽENOST MAJKI KONGENERU BDE-154 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI											
SCENARIJ			CENTRALNI						NAJGORI		
UZORAK	EDI <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>tok</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>tok</sub>	HI	
JŠIV8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
KRBR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ANLjB7	9,18E-07	4,59E-09	4,47E-05	2,23E-07	4,56E-05	2,28E-07	1,34E-04	6,70E-07	1,35E-04	6,75E-07	9,01E-05
VRAM3	1,22E-04	6,12E-07	5,96E-03	2,98E-05	6,09E-03	3,04E-05	1,79E-02	8,94E-05	1,80E-02	9,01E-05	0,00E+00
DVKN9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
DITO8	7,00E-07	3,50E-09	3,41E-05	1,70E-07	3,48E-05	1,74E-07	1,02E-04	5,11E-07	1,03E-04	5,15E-07	5,15E-07
SOSN2	2,06E-06	1,03E-08	1,00E-04	5,01E-07	1,02E-04	5,11E-07	3,00E-04	1,50E-06	3,02E-04	1,51E-06	1,51E-06
GRTH5	8,10E-07	4,05E-09	3,94E-05	1,97E-07	4,03E-05	2,01E-07	1,18E-04	5,92E-07	1,19E-04	5,96E-07	5,96E-07
NZHL3	5,64E-07	2,82E-09	2,75E-05	1,37E-07	2,80E-05	1,40E-07	8,24E-05	4,12E-07	8,30E-05	4,15E-07	4,15E-07
IVKR4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
PTLV2	7,74E-07	3,87E-09	3,77E-05	1,88E-07	3,85E-05	1,92E-07	1,13E-04	5,65E-07	1,14E-04	5,69E-07	5,69E-07
FRSN1	1,12E-05	5,61E-08	5,46E-04	2,73E-06	5,58E-04	2,79E-06	1,64E-03	8,19E-06	1,65E-03	8,25E-06	8,25E-06
MACIO	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ZNLR2	1,35E-06	6,73E-09	6,55E-05	3,28E-07	6,69E-05	3,34E-07	1,97E-04	9,83E-07	1,98E-04	9,90E-07	9,90E-07
MATRO	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MRLU7	2,98E-06	1,49E-08	1,45E-04	7,26E-07	1,48E-04	7,41E-07	4,36E-04	2,18E-06	4,39E-04	2,19E-06	2,19E-06
SKKS7	2,61E-05	1,31E-07	1,27E-03	6,36E-06	1,30E-03	6,49E-06	3,82E-03	1,91E-05	3,84E-03	1,92E-05	1,92E-05
DALL6	3,74E-06	1,87E-08	1,82E-04	9,11E-07	1,86E-04	9,30E-07	5,47E-04	2,73E-06	5,51E-04	2,75E-06	2,75E-06
MALU1	7,42E-07	3,71E-09	3,61E-05	1,81E-07	3,69E-05	1,84E-07	1,08E-04	5,42E-07	1,09E-04	5,46E-07	5,46E-07
JABU8	1,84E-06	9,20E-09	8,96E-05	4,48E-07	9,14E-05	4,57E-07	2,69E-04	1,34E-06	2,70E-04	1,35E-06	1,35E-06
MIMI4	3,31E-06	1,66E-08	1,61E-04	8,07E-07	1,65E-04	8,23E-07	4,84E-04	2,42E-06	4,87E-04	2,44E-06	2,44E-06
VMTK5	2,27E-06	1,13E-08	1,11E-04	5,53E-07	1,13E-04	5,64E-07	3,32E-04	1,66E-06	3,34E-04	1,67E-06	1,67E-06
NKME1	9,79E-07	4,89E-09	4,77E-05	2,38E-07	4,86E-05	2,43E-07	1,43E-04	7,15E-07	1,44E-04	7,20E-07	7,20E-07
ENVK1	9,57E-07	4,78E-09	4,66E-05	2,33E-07	4,76E-05	2,38E-07	1,40E-04	6,99E-07	1,41E-04	7,04E-07	7,04E-07
MGZK0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
JSSI4	3,73E-06	1,86E-08	1,81E-04	9,07E-07	1,85E-04	9,26E-07	5,44E-04	2,72E-06	5,48E-04	2,74E-06	2,74E-06
MJKT4	9,39E-07	4,70E-09	4,57E-05	2,29E-07	4,67E-05	2,33E-07	1,37E-04	6,86E-07	1,38E-04	6,91E-07	6,91E-07
APPL3	1,13E-05	5,66E-08	5,52E-04	2,76E-06	5,63E-04	2,81E-06	1,65E-03	8,27E-06	1,67E-03	8,33E-06	8,33E-06

IZLOŽENOST MAJKI KONGENERU BDE-183 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI											
SCENARIJ				CENTRALNI				NAJGORI			
UZORAK	EDI <sub>term</sub>	HQ <sub>term</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	
JŠIV8	3,31E-05	1,65E-07	1,61E-03	8,06E-06	1,64E-03	8,22E-06	4,83E-03	2,42E-05	4,87E-03	2,43E-05	
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ADRU2	4,96E-06	2,48E-08	2,42E-04	1,21E-06	2,47E-04	1,23E-06	7,25E-04	3,62E-06	7,30E-04	3,65E-06	
KRBR2	8,48E-06	4,24E-08	4,13E-04	2,07E-06	4,22E-04	2,11E-06	1,24E-03	6,20E-06	1,25E-03	6,24E-06	
ANLJB7	2,94E-06	1,47E-08	1,43E-04	7,16E-07	1,46E-04	7,31E-07	4,30E-04	2,15E-06	4,33E-04	2,16E-06	
VRAM3	1,26E-05	6,31E-08	6,14E-04	3,07E-06	6,27E-04	3,13E-06	1,84E-03	9,21E-06	1,86E-03	9,28E-06	
DVVK9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
DIT08	8,11E-06	4,05E-08	3,95E-04	1,97E-06	4,03E-04	2,01E-06	1,18E-03	5,92E-06	1,19E-03	5,96E-06	
SOSN2	4,75E-06	2,37E-08	2,31E-04	1,16E-06	2,36E-04	1,18E-06	6,94E-04	3,47E-06	6,99E-04	3,49E-06	
GRTH5	2,24E-06	1,12E-08	1,09E-04	5,46E-07	1,11E-04	5,57E-07	3,28E-04	1,64E-06	3,30E-04	1,65E-06	
NZHL3	1,06E-05	5,30E-08	5,17E-04	2,58E-06	5,27E-04	2,64E-06	1,55E-03	7,75E-06	1,56E-03	7,80E-06	
IVKR4	2,18E-06	1,09E-08	1,06E-04	5,31E-07	1,08E-04	5,42E-07	3,19E-04	1,59E-06	3,21E-04	1,60E-06	
PTLV2	6,98E-06	3,49E-08	3,40E-04	1,70E-06	3,47E-04	1,74E-06	1,02E-03	5,10E-06	1,03E-03	5,14E-06	
FRSN1	2,39E-06	1,19E-08	1,16E-04	5,81E-07	1,19E-04	5,93E-07	3,49E-04	1,74E-06	3,51E-04	1,76E-06	
MACI0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ZNLR2	6,91E-06	3,45E-08	3,36E-04	1,68E-06	3,43E-04	1,72E-06	1,01E-03	5,05E-06	1,02E-03	5,08E-06	
MATR0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
MRLU7	3,58E-06	1,79E-08	1,74E-04	8,72E-07	1,78E-04	8,90E-07	5,23E-04	2,62E-06	5,27E-04	2,63E-06	
SKKS7	1,47E-05	7,33E-08	7,14E-04	3,57E-06	7,29E-04	3,64E-06	2,14E-03	1,07E-05	2,16E-03	1,08E-05	
DALL6	6,05E-06	3,02E-08	2,94E-04	1,47E-06	3,00E-04	1,50E-06	8,83E-04	4,42E-06	8,89E-04	4,45E-06	
MALU1	3,98E-06	1,99E-08	1,94E-04	9,69E-07	1,98E-04	9,89E-07	5,81E-04	2,91E-06	5,85E-04	2,93E-06	
JABU8	1,51E-06	7,53E-09	7,33E-05	3,67E-07	7,49E-05	3,74E-07	2,20E-04	1,10E-06	2,22E-04	1,11E-06	
MIMI4	2,87E-06	1,43E-08	1,40E-04	6,98E-07	1,42E-04	7,12E-07	4,19E-04	2,09E-06	4,22E-04	2,11E-06	
VMTK5	3,61E-06	1,80E-08	1,76E-04	8,78E-07	1,79E-04	8,96E-07	5,27E-04	2,63E-06	5,30E-04	2,65E-06	
NKME1	6,13E-06	3,07E-08	2,99E-04	1,49E-06	3,05E-04	1,52E-06	8,96E-04	4,48E-06	9,02E-04	4,51E-06	
ENVK1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
MGZK0	2,11E-06	1,06E-08	1,03E-04	5,14E-07	1,05E-04	5,24E-07	3,08E-04	1,54E-06	3,10E-04	1,55E-06	
JSSI4	7,12E-05	3,56E-07	3,47E-03	1,73E-05	3,54E-03	1,77E-05	1,04E-02	5,20E-05	1,05E-02	5,23E-05	
MJKT4	1,66E-06	8,29E-09	8,08E-05	4,04E-07	8,24E-05	4,12E-07	2,42E-04	1,21E-06	2,44E-04	1,22E-06	
APPL3	1,90E-05	9,51E-08	9,26E-04	4,63E-06	9,45E-04	4,72E-06	2,78E-03	1,39E-05	2,80E-03	1,40E-05	

g)

**Tablica 8.5.** Procjena dnevnog unosa (EDI) pojedinačnih kongenera PBDE (ng kg<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup>) putem ingestije i dermalne apsorpcije kućne prašine i ingestije ljudskog mlijeka te vrijednosti kvocijenta opasnosti (HQ) i indeks rizika (HI) za dojenčad

IZLOŽENOST DOJENČADI KONGENERU BDE-28 DETEKTRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MLJEKU												
SCENARIJ	CENTRALNI				NAJGORI							
	EDI <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDI <sub>mlijeko</sub>	HQ <sub>mlijeko</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI
JŠIV8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
KRRR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ANLJB7	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
VRAM3	1,95E-04	1,95E-06	0,00E+00	0,00E+00	2,88E-03	2,88E-05	3,07E-03	3,07E-05	8,63E-03	8,63E-05	8,82E-03	8,82E-05
DVANK9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
DUTO8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
SOSN2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
GRTH5	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
NZHL3	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
IVKR4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
PTLV2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
FRSN1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MACIO	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ZNLR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MATR0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MRLU7	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
SKKS7	1,66E-04	1,66E-06	0,00E+00	0,00E+00	2,45E-03	2,45E-05	2,62E-03	2,62E-05	7,35E-03	7,35E-05	7,52E-03	7,52E-05
DALL6	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MALU1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
JABU8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MIMI4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
VMTK5	2,40E-04	2,40E-06	1,01E+00	1,01E-02	3,54E-03	3,54E-05	1,01E+00	1,01E-02	1,06E-02	1,06E-04	1,020E+00	1,02E-02
NKME1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ENVK1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MGZK0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
JSSI4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MJKT4	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
APPL3	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

a)

IZLOŽENOST DOJENČADI KONGENERU BDE-47 DETEKTRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MLJEKU													
SCENARIJ				CENTRALNI				NAJGORI					
UZORAK	EDI <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDI <sub>mlijeko</sub>	HQ <sub>mlijeko</sub>	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	EDI <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HI	
JŠIV8	2,60E-04	2,60E-06	0,00E+00	0,00E+00	5,71E-03	5,71E-05	5,97E-03	5,97E-05	1,71E-02	1,71E-04	1,74E-02	1,74E-04	
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	
KRBR2	3,05E-04	3,05E-06	0,00E+00	0,00E+00	6,67E-03	6,67E-05	6,98E-03	6,98E-05	2,00E-02	2,00E-04	2,03E-02	2,03E-04	
ANLJB7	1,64E-03	1,64E-05	2,32E+00	2,32E-02	3,59E-02	3,59E-04	2,35E+00	2,35E-02	1,08E-01	1,08E-03	2,43E+00	2,43E-02	
VRAM3	2,50E-02	2,50E-04	0,00E+00	0,00E+00	5,49E-01	5,49E-03	5,74E-01	5,74E-03	1,65E+00	1,65E-02	1,67E+00	1,67E-02	
DVINK9	0,00E+00	0,00E+00	2,76E+00	2,76E-02	0,00E+00	0,00E+00	2,76E+00	2,76E-02	0,00E+00	0,00E+00	2,76E+00	2,76E-02	
DITO8	9,84E-05	9,84E-07	0,00E+00	0,00E+00	2,16E-03	2,16E-05	2,25E-03	2,25E-05	6,47E-03	6,47E-05	6,56E-03	6,56E-05	
SOSN2	3,88E-04	3,88E-06	6,83E-01	6,83E-03	8,50E-03	8,50E-05	6,92E-01	6,92E-03	2,55E-02	2,55E-04	7,09E-01	7,09E-03	
GRTH5	1,05E-04	1,05E-06	0,00E+00	0,00E+00	2,30E-03	2,30E-05	2,41E-03	2,41E-05	6,90E-03	6,90E-05	7,01E-03	7,01E-05	
NZHL3	1,14E-04	1,14E-06	0,00E+00	0,00E+00	2,50E-03	2,50E-05	2,62E-03	2,62E-05	7,50E-03	7,50E-05	7,62E-03	7,62E-05	
IVKR4	6,99E-05	6,99E-07	6,15E-01	6,15E-03	1,53E-03	1,53E-05	6,16E-01	6,16E-03	4,59E-03	4,59E-05	6,19E-01	6,19E-03	
PTLV2	8,92E-05	8,92E-07	5,80E-01	5,80E-03	1,95E-03	1,95E-05	5,82E-01	5,82E-03	5,86E-03	5,86E-05	5,86E-01	5,86E-03	
FRSN1	1,08E-03	1,08E-05	4,91E+00	4,91E-02	2,37E-02	2,37E-04	4,94E+00	4,94E-02	7,11E-02	7,11E-04	4,98E+00	4,98E-02	
MACIO	7,40E-05	7,40E-07	1,48E-01	1,48E-03	1,62E-03	1,62E-05	1,50E-01	1,50E-03	4,86E-03	4,86E-05	1,53E-01	1,53E-03	
ZNLR2	1,59E-04	1,59E-06	0,00E+00	0,00E+00	3,48E-03	3,48E-05	3,64E-03	3,64E-05	1,04E-02	1,04E-04	1,06E-02	1,06E-04	
MATRO	4,63E-04	4,63E-06	0,00E+00	0,00E+00	1,01E-02	1,01E-04	1,06E-02	1,06E-04	3,04E-02	3,04E-04	3,09E-02	3,09E-04	
MRLU7	2,82E-04	2,82E-06	8,55E-01	8,55E-03	6,18E-03	6,18E-05	8,61E-01	8,61E-03	1,86E-02	1,86E-04	8,74E-01	8,74E-03	
SKKS7	8,69E-03	8,69E-05	5,44E+00	5,44E-02	1,90E-01	1,90E-03	5,64E+00	5,64E-02	5,71E-01	5,71E-03	6,02E+00	6,02E-02	
DALL6	2,26E-03	2,26E-05	0,00E+00	0,00E+00	4,95E-02	4,95E-04	5,18E-02	5,18E-04	1,49E-01	1,49E-03	1,51E-01	1,51E-03	
MALU1	1,98E-04	1,98E-06	3,07E+00	3,07E-02	4,33E-03	4,33E-05	3,08E+00	3,08E-02	1,30E-02	1,30E-04	3,08E+00	3,08E-02	
JABU8	3,24E-04	3,24E-06	0,00E+00	0,00E+00	7,10E-03	7,10E-05	7,42E-03	7,42E-05	2,13E-02	2,13E-04	2,16E-02	2,16E-04	
MIMI4	6,55E-04	6,55E-06	1,38E+00	1,38E-02	1,44E-02	1,44E-04	1,40E+00	1,40E-02	4,31E-02	4,31E-04	1,42E+00	1,42E-02	
VMTK5	5,15E-04	5,15E-06	1,77E+00	1,77E-02	1,13E-02	1,13E-04	1,78E+00	1,78E-02	3,38E-02	3,38E-04	1,80E+00	1,80E-02	
NKME1	3,79E-05	3,79E-07	2,28E-01	2,28E-03	8,29E-04	8,29E-06	2,29E-01	2,29E-03	2,49E-03	2,49E-05	2,30E-01	2,30E-03	
ENVK1	1,91E-04	1,91E-06	6,97E-01	6,97E-03	4,17E-03	4,17E-05	7,02E-01	7,02E-03	1,25E-02	1,25E-04	7,10E-01	7,10E-03	
MGZK0	7,68E-05	7,68E-07	2,30E+00	2,30E-02	1,68E-03	1,68E-05	2,30E+00	2,30E-02	5,05E-03	5,05E-05	2,31E+00	2,31E-02	
JSS14	2,43E-04	2,43E-06	1,65E-01	1,65E-03	5,33E-03	5,33E-05	1,71E-01	1,71E-03	1,60E-02	1,60E-04	1,81E-01	1,81E-03	
MJKT4	2,97E-04	2,97E-06	3,80E-01	3,80E-03	6,50E-03	6,50E-05	3,87E-01	3,87E-03	1,95E-02	1,95E-04	4,00E-01	4,00E-03	
APPL3	1,57E-03	1,57E-05	6,30E-01	6,30E-03	3,44E-02	3,44E-04	6,66E-01	6,66E-03	1,03E-01	1,03E-03	7,35E-01	7,35E-03	

b)

IZLOŽENOST DOJENČADI KONGENERU BDE-99 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MLJEKU												
SCENARIJ	CENTRALNI						NAJGORI					
	EDJ <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDJ <sub>mlijeke</sub>	HQ <sub>mlijeke</sub>	EDJ <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDJ <sub>uk</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDJ <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDJ <sub>uk</sub>	HI
JŠIV8	1,73E-04	1,73E-06	0,00E+00	0,00E+00	5,52E-03	5,52E-05	5,69E-03	5,69E-05	1,66E-02	1,66E-04	1,67E-02	1,67E-04
RŠDB1	3,49E-05	3,49E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,11E-03	1,11E-05	1,15E-03	1,15E-05	3,34E-03	3,34E-05	3,37E-03	3,37E-05
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
KRBR2	1,89E-04	1,89E-06	0,00E+00	0,00E+00	6,02E-03	6,02E-05	6,21E-03	6,21E-05	1,81E-02	1,81E-04	1,83E-02	1,83E-04
ANLJB7	4,94E-04	4,94E-06	4,26E-01	4,26E-03	1,57E-02	1,57E-04	4,42E-01	4,42E-03	4,72E-02	4,72E-04	4,74E-01	4,74E-03
VRAM3	4,07E-02	4,07E-04	0,00E+00	0,00E+00	1,30E+00	1,30E-02	1,34E+00	1,34E-02	3,89E+00	3,89E-02	3,93E+00	3,93E-02
DVINK9	0,00E+00	0,00E+00	6,94E+00	6,94E-02	0,00E+00	0,00E+00	6,94E+00	6,94E-02	0,00E+00	0,00E+00	6,94E+00	6,94E-02
DIT08	9,82E-05	9,82E-07	1,02E+00	1,02E-02	3,13E-03	3,13E-05	1,02E+00	1,02E-02	9,38E-03	9,38E-05	1,03E+00	1,03E-02
SOSN2	7,64E-04	7,64E-06	1,70E+00	1,70E-02	2,43E-02	2,43E-04	1,73E+00	1,73E-02	7,30E-02	7,30E-04	1,78E+00	1,78E-02
GRTH5	2,79E-04	2,79E-06	2,80E-01	2,80E-03	8,88E-03	8,88E-05	2,90E-01	2,90E-03	2,66E-02	2,66E-04	3,07E-01	3,07E-03
NZHL3	1,15E-04	1,15E-06	0,00E+00	0,00E+00	3,65E-03	3,65E-05	3,76E-03	3,76E-05	1,09E-02	1,09E-04	1,11E-02	1,11E-04
IVKR4	3,38E-05	3,38E-07	1,92E+00	1,92E-02	1,08E-03	1,08E-05	1,92E+00	1,92E-02	3,23E-03	3,23E-05	1,92E+00	1,92E-02
PTLV2	2,07E-04	2,07E-06	3,77E-01	3,77E-03	6,60E-03	6,60E-05	3,83E-01	3,83E-03	1,98E-02	1,98E-04	3,97E-01	3,97E-03
FRSN1	2,98E-03	2,98E-05	2,19E+01	2,19E-01	9,49E-02	9,49E-04	2,20E+01	2,20E-01	2,85E-01	2,85E-03	2,22E+01	2,22E-01
MACI0	3,66E-05	3,66E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,16E-03	1,16E-05	1,20E-03	1,20E-05	3,49E-03	3,49E-05	3,53E-03	3,53E-05
ZNLR2	1,65E-04	1,65E-06	1,51E-01	1,51E-03	5,26E-03	5,26E-05	1,57E-01	1,57E-03	1,58E-02	1,58E-04	1,67E-01	1,67E-03
MATR0	3,17E-04	3,17E-06	5,26E-02	5,26E-04	1,01E-02	1,01E-04	6,31E-02	6,31E-04	3,03E-02	3,03E-04	8,33E-02	8,33E-04
MRLU7	1,08E-03	1,08E-05	1,45E+00	1,45E-02	3,44E-02	3,44E-04	1,48E+00	1,48E-02	1,03E-01	1,03E-03	1,55E+00	1,55E-02
SKKS7	1,19E-02	1,19E-04	2,11E+00	2,11E-02	3,78E-01	3,78E-03	2,50E+00	2,50E-02	1,13E+00	1,13E-02	3,25E+00	3,25E-02
DALL6	2,02E-03	2,02E-05	4,55E-01	4,55E-03	6,43E-02	6,43E-04	5,21E-01	5,21E-03	1,93E-01	1,93E-03	6,49E-01	6,49E-03
MALU1	1,47E-04	1,47E-06	2,11E+01	2,11E-01	4,67E-03	4,67E-05	2,11E+01	2,11E-01	1,40E-02	1,40E-04	2,11E+01	2,11E-01
JABU8	6,40E-04	6,40E-06	0,00E+00	0,00E+00	2,04E-02	2,04E-04	2,10E-02	2,10E-04	6,12E-02	6,12E-04	6,18E-02	6,18E-04
MIMI4	1,15E-03	1,15E-05	4,30E+00	4,30E-02	3,66E-02	3,66E-04	4,34E+00	4,34E-02	1,10E-01	1,10E-03	4,41E+00	4,41E-02
VMTK5	4,46E-04	4,46E-06	4,92E+00	4,92E-02	1,42E-02	1,42E-04	4,93E+00	4,93E-02	4,26E-02	4,26E-04	4,96E+00	4,96E-02
NKME1	6,20E-05	6,20E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,98E-03	1,98E-05	2,04E-03	2,04E-05	5,93E-03	5,93E-05	5,99E-03	5,99E-05
ENVK1	1,70E-04	1,70E-06	3,93E+00	3,93E-02	5,41E-03	5,41E-05	3,94E+00	3,94E-02	1,62E-02	1,62E-04	3,95E+00	3,95E-02
MGZK0	1,01E-04	1,01E-06	0,00E+00	0,00E+00	3,23E-03	3,23E-05	3,33E-03	3,33E-05	9,70E-03	9,70E-05	9,80E-03	9,80E-05
JSSI4	1,93E-04	1,93E-06	0,00E+00	0,00E+00	6,15E-03	6,15E-05	6,34E-03	6,34E-05	1,85E-02	1,85E-04	1,86E-02	1,86E-04
MJKT4	1,97E-04	1,97E-06	0,00E+00	0,00E+00	6,28E-03	6,28E-05	6,48E-03	6,48E-05	1,88E-02	1,88E-04	1,90E-02	1,90E-04
APPL3	3,09E-03	3,09E-05	0,00E+00	0,00E+00	9,84E-02	9,84E-04	1,01E-01	1,01E-03	2,95E-01	2,95E-03	2,98E-01	2,98E-03

c)

IZLOŽENOST DOJENČADI KONGENERU BDE-100 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MLJEKU														
SCENARIJ	CENTRALNI						NAJGORI							
	ED <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	ED <sub>inhalato</sub>	HQ <sub>inhalato</sub>	ED <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	ED <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	ED <sub>inhalato</sub>	HQ <sub>inhalato</sub>	ED <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	ED <sub>uk</sub>	HI
JŠIV8	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
KRBR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ANLJB7	9,50E-05	9,50E-07	4,85E-01	4,85E-03	3,03E-03	3,03E-05	4,88E-01	4,88E-03	4,88E-03	9,08E-03	9,08E-05	4,95E-01	4,95E-03	4,95E-03
VRAM3	6,94E-03	6,94E-05	0,00E+00	0,00E+00	2,21E-01	2,21E-03	2,28E-01	2,28E-03	2,28E-03	6,63E-01	6,63E-03	6,70E-01	6,70E-03	6,70E-03
DVINK9	0,00E+00	0,00E+00	1,19E+00	1,19E-02	0,00E+00	0,00E+00	1,19E+00	1,19E-02	1,19E-02	0,00E+00	0,00E+00	1,19E+00	1,19E-02	1,19E-02
DIT08	0,00E+00	0,00E+00	1,24E+00	1,24E-02	0,00E+00	0,00E+00	1,24E+00	1,24E-02	1,24E-02	0,00E+00	0,00E+00	1,24E+00	1,24E-02	1,24E-02
SOSN2	1,31E-04	1,31E-06	6,88E-01	6,88E-03	4,18E-03	4,18E-05	6,92E-01	6,92E-03	6,92E-03	1,25E-02	1,25E-04	7,01E-01	7,01E-03	7,01E-03
GRTH5	5,49E-05	5,49E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,75E-03	1,75E-05	1,80E-03	1,80E-03	1,80E-03	5,25E-03	5,25E-05	5,30E-03	5,30E-03	5,30E-03
NZHL3	4,58E-05	4,58E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,46E-03	1,46E-05	1,51E-03	1,51E-03	1,51E-03	4,38E-03	4,38E-05	4,43E-03	4,43E-03	4,43E-03
IVKR4	0,00E+00	0,00E+00	5,95E-01	5,95E-03	0,00E+00	0,00E+00	5,95E-01	5,95E-03	5,95E-03	0,00E+00	0,00E+00	5,95E-01	5,95E-03	5,95E-03
PTLV2	5,12E-05	5,12E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,63E-03	1,63E-05	1,68E-03	1,68E-03	1,68E-03	4,89E-03	4,89E-05	4,94E-03	4,94E-03	4,94E-03
FRSN1	4,94E-04	4,94E-06	5,88E+00	5,88E-02	1,57E-02	1,57E-04	5,89E+00	5,89E-02	5,89E-02	4,72E-02	4,72E-04	5,92E+00	5,92E-02	5,92E-02
MACI0	4,60E-05	4,60E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,46E-03	1,46E-05	1,51E-03	1,51E-03	1,51E-03	4,39E-03	4,39E-05	4,44E-03	4,44E-03	4,44E-03
ZNLR2	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MATR0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MRLU7	1,36E-04	1,36E-06	5,89E-01	5,89E-03	4,34E-03	4,34E-05	5,94E-01	5,94E-03	5,94E-03	1,30E-02	1,30E-04	6,02E-01	6,02E-03	6,02E-03
SKKS7	2,10E-03	2,10E-05	1,65E+00	1,65E-02	6,68E-02	6,68E-04	1,72E+00	1,72E-02	1,72E-02	2,01E-01	2,01E-03	1,85E+00	1,85E-02	1,85E-02
DALI6	4,28E-04	4,28E-06	0,00E+00	0,00E+00	1,36E-02	1,36E-04	1,41E-02	1,41E-02	1,41E-02	4,09E-02	4,09E-04	4,13E-02	4,13E-04	4,13E-04
MALU1	0,00E+00	0,00E+00	3,84E+00	3,84E-02	0,00E+00	0,00E+00	3,84E+00	3,84E-02	3,84E-02	0,00E+00	0,00E+00	3,84E+00	3,84E-02	3,84E-02
JABU8	1,60E-04	1,60E-06	0,00E+00	0,00E+00	5,10E-03	5,10E-05	5,26E-03	5,26E-03	5,26E-03	1,53E-02	1,53E-04	1,55E-02	1,55E-04	1,55E-04
MIMI4	2,25E-04	2,25E-06	0,00E+00	0,00E+00	7,17E-03	7,17E-05	7,40E-03	7,40E-03	7,40E-03	2,15E-02	2,15E-04	2,17E-02	2,17E-04	2,17E-04
VMIK5	9,68E-05	9,68E-07	2,37E+00	2,37E-02	3,08E-03	3,08E-05	2,37E+00	2,37E-02	2,37E-02	9,25E-03	9,25E-05	2,38E+00	2,38E-02	2,38E-02
NKME1	0,00E+00	0,00E+00	8,91E-01	8,91E-03	0,00E+00	0,00E+00	8,91E-01	8,91E-03	8,91E-03	0,00E+00	0,00E+00	8,91E-01	8,91E-03	8,91E-03
ENVK1	4,24E-05	4,24E-07	7,41E-01	7,41E-03	1,35E-03	1,35E-05	7,42E-01	7,42E-03	7,42E-03	4,06E-03	4,06E-05	7,45E-01	7,45E-03	7,45E-03
MGZK0	0,00E+00	0,00E+00	9,98E-01	9,98E-03	0,00E+00	0,00E+00	9,98E-01	9,98E-03	9,98E-03	0,00E+00	0,00E+00	9,98E-01	9,98E-03	9,98E-03
JSSI4	5,19E-05	5,19E-07	3,67E-01	3,67E-03	1,65E-03	1,65E-05	3,69E-01	3,69E-03	3,69E-03	4,96E-03	4,96E-05	3,72E-01	3,72E-03	3,72E-03
MJKT4	3,86E-05	3,86E-07	4,14E-01	4,14E-03	1,23E-03	1,23E-05	4,15E-01	4,15E-03	4,15E-03	3,68E-03	3,68E-05	4,18E-01	4,18E-03	4,18E-03
APPL3	4,09E-04	4,09E-06	1,29E+00	1,29E-02	1,30E-02	1,30E-04	1,31E+00	1,31E-02	1,31E-02	3,91E-02	3,91E-04	1,33E+00	1,33E-02	1,33E-02

d)



IZLOŽENOST DOJENČADI KONGENERU BDE-153 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MILJEKU													
SCENARIJ	CENTRALNI						NAJGORI						
	ED <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	ED <sub>inhalato</sub>	HQ <sub>inhalato</sub>	ED <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	ED <sub>uk</sub>	HI	ED <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	ED <sub>uk</sub>	HI	
JŠIV8	1,12E-04	5,60E-07	4,89E-01	2,44E-03	7,86E-03	3,93E-05	4,97E-01	2,48E-03	2,36E-02	1,18E-04	5,12E-01	2,56E-03	
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	9,64E-01	4,82E-03	0,00E+00	0,00E+00	9,64E-01	4,82E-03	0,00E+00	0,00E+00	9,64E-01	4,82E-03	
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	9,90E-01	4,95E-03	0,00E+00	0,00E+00	9,90E-01	4,95E-03	0,00E+00	0,00E+00	9,90E-01	4,95E-03	
KRBR2	0,00E+00	0,00E+00	7,64E-01	3,82E-03	0,00E+00	0,00E+00	7,64E-01	3,82E-03	0,00E+00	0,00E+00	7,64E-01	3,82E-03	
ANLJB7	3,28E-05	1,64E-07	3,42E+00	1,71E-02	2,30E-03	1,15E-05	3,43E+00	1,71E-02	6,91E-03	3,45E-05	3,43E+00	1,72E-02	
VRAM3	2,40E-03	1,20E-05	7,71E-01	3,85E-03	1,68E-01	8,41E-04	9,41E-01	4,71E-03	5,04E-01	2,52E-03	1,28E+00	6,39E-03	
DVINK9	0,00E+00	0,00E+00	2,34E+00	1,17E-02	0,00E+00	0,00E+00	2,34E+00	1,17E-02	0,00E+00	0,00E+00	2,34E+00	1,17E-02	
DIT08	2,95E-05	1,48E-07	8,93E-01	4,47E-03	2,07E-03	1,04E-05	8,95E-01	4,48E-03	6,21E-03	3,11E-05	9,00E-01	4,50E-03	
SOSN2	5,74E-05	2,87E-07	1,55E+00	7,77E-03	4,03E-03	2,01E-05	1,56E+00	7,79E-03	1,21E-02	6,04E-05	1,57E+00	7,83E-03	
GRTH5	2,64E-05	1,32E-07	4,92E-01	2,46E-03	1,85E-03	9,24E-06	4,93E-01	2,47E-03	5,54E-03	2,77E-05	4,97E-01	2,49E-03	
NZHL3	2,07E-05	1,03E-07	1,69E+00	8,47E-03	1,45E-03	7,25E-06	1,70E+00	8,48E-03	4,35E-03	2,17E-05	1,70E+00	8,49E-03	
IVKR4	0,00E+00	0,00E+00	1,42E+00	7,12E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,42E+00	7,12E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,42E+00	7,12E-03	
PTLV2	3,97E-05	1,98E-07	1,14E+00	5,70E-03	2,78E-03	1,39E-05	1,14E+00	5,71E-03	8,34E-03	4,17E-05	1,15E+00	5,74E-03	
FRSN1	1,99E-04	9,94E-07	4,96E+00	2,48E-02	1,39E-02	6,97E-05	4,98E+00	2,49E-02	4,18E-02	2,09E-04	5,01E+00	2,50E-02	
MACI0	0,00E+00	0,00E+00	1,15E+00	5,77E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,15E+00	5,77E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,15E+00	5,77E-03	
ZNLR2	2,59E-05	1,29E-07	9,24E-01	4,62E-03	1,82E-03	9,08E-06	9,26E-01	4,63E-03	5,45E-03	2,72E-05	9,30E-01	4,65E-03	
MATR0	0,00E+00	0,00E+00	1,20E+00	5,98E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,20E+00	5,98E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,20E+00	5,98E-03	
MRLU7	1,41E-04	7,03E-07	2,13E+00	1,07E-02	9,86E-03	4,93E-05	2,14E+00	1,07E-02	2,96E-02	1,48E-04	2,16E+00	1,08E-02	
SKKS7	2,94E-04	1,47E-06	1,00E+00	5,02E-03	2,06E-02	1,03E-04	1,03E+00	5,13E-03	6,19E-02	3,10E-04	1,07E+00	5,34E-03	
DALL6	9,04E-05	4,52E-07	1,30E+00	6,52E-03	6,34E-03	3,17E-05	1,31E+00	6,56E-03	1,90E-02	9,51E-05	1,32E+00	6,62E-03	
MALU1	1,53E-05	7,67E-08	5,29E+00	2,65E-02	1,08E-03	5,38E-06	5,29E+00	2,65E-02	3,23E-03	1,61E-05	5,29E+00	2,65E-02	
JABU8	3,56E-05	1,78E-07	1,01E+00	5,05E-03	2,49E-03	1,25E-05	1,01E+00	5,06E-03	7,48E-03	3,74E-05	1,02E+00	5,08E-03	
MIMI4	8,18E-05	4,09E-07	2,06E+00	1,03E-02	5,74E-03	2,87E-05	2,07E+00	1,03E-02	1,72E-02	8,60E-05	2,08E+00	1,04E-02	
VMIK5	6,41E-05	3,20E-07	1,01E+00	5,04E-03	4,49E-03	2,25E-05	1,01E+00	5,06E-03	1,35E-02	6,74E-05	1,02E+00	5,11E-03	
NKME1	7,00E-05	3,50E-07	6,36E-01	3,18E-03	4,91E-03	2,45E-05	6,41E-01	3,20E-03	1,47E-02	7,36E-05	6,51E-01	3,25E-03	
ENVK1	1,24E-05	6,22E-08	1,42E+00	7,10E-03	8,72E-04	4,36E-06	1,42E+00	7,11E-03	2,62E-03	1,31E-05	1,42E+00	7,11E-03	
MGZK0	0,00E+00	0,00E+00	4,43E-01	2,21E-03	0,00E+00	0,00E+00	4,43E-01	2,21E-03	0,00E+00	0,00E+00	4,43E-01	2,21E-03	
JSSI4	1,45E-04	7,24E-07	8,08E-01	4,04E-03	1,02E-02	5,08E-05	8,19E-01	4,09E-03	3,05E-02	1,52E-04	8,39E-01	4,19E-03	
MJKT4	1,42E-05	7,08E-08	1,23E+00	6,16E-03	9,92E-04	4,96E-06	1,23E+00	6,16E-03	2,98E-03	1,49E-05	1,23E+00	6,17E-03	
APPL3	2,83E-04	1,41E-06	4,99E-01	2,50E-03	1,98E-02	9,91E-05	5,19E-01	2,60E-03	5,95E-02	2,97E-04	5,59E-01	2,79E-03	

e)



f) IZLOŽENOST DOJENČADI KONGENERU BDE-154 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MILJEKU

SCENARIJ	CENTRALNI						NAJGORI					
	EDJ <sub>derm</sub>	HQ <sub>derm</sub>	EDJ <sub>inhalako</sub>	HQ <sub>inhalako</sub>	EDJ <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDJ <sub>uk</sub>	HI	EDJ <sub>ing</sub>	HQ <sub>ing</sub>	EDJ <sub>uk</sub>	HI
JŠIV8	0,00E+00	0,00E+00	1,72E-01	8,61E-04	0,00E+00	0,00E+00	1,72E-01	8,61E-04	0,00E+00	0,00E+00	1,72E-01	8,61E-04
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	1,79E-01	8,94E-04	0,00E+00	0,00E+00	1,79E-01	8,94E-04	0,00E+00	0,00E+00	1,79E-01	8,94E-04
ADRU2	0,00E+00	0,00E+00	4,94E-02	2,47E-04	0,00E+00	0,00E+00	4,94E-02	2,47E-04	0,00E+00	0,00E+00	4,94E-02	2,47E-04
KRBR2	0,00E+00	0,00E+00	3,37E-01	1,68E-03	0,00E+00	0,00E+00	3,37E-01	1,68E-03	0,00E+00	0,00E+00	3,37E-01	1,68E-03
ANLJB7	1,60E-05	8,00E-08	1,54E+00	7,71E-03	1,12E-03	5,61E-06	1,54E+00	7,72E-03	3,36E-03	1,68E-05	1,55E+00	7,73E-03
VRAM3	2,13E-03	1,07E-05	1,22E-01	6,10E-04	1,50E-01	7,48E-04	1,22E-01	1,37E-03	4,49E-01	2,24E-03	5,73E-01	2,87E-03
DVINK9	0,00E+00	0,00E+00	1,25E+00	6,26E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,25E+00	6,26E-03	0,00E+00	0,00E+00	1,25E+00	6,26E-03
DIT08	1,22E-05	6,10E-08	2,87E-01	1,43E-03	8,56E-04	4,28E-06	2,88E-01	1,44E-03	2,57E-03	1,28E-05	2,90E-01	1,45E-03
SOSN2	3,58E-05	1,79E-07	8,62E-01	4,31E-03	2,51E-03	1,26E-05	8,64E-01	4,32E-03	7,54E-03	3,77E-05	8,69E-01	4,35E-03
GRTH5	1,41E-05	7,06E-08	1,09E-01	5,47E-04	9,90E-04	4,95E-06	1,10E-01	5,52E-04	2,97E-03	1,49E-05	1,12E-01	5,62E-04
NZHL3	9,83E-06	4,91E-08	4,78E-01	2,39E-03	6,89E-04	3,45E-06	4,78E-01	2,39E-03	2,07E-03	1,03E-05	4,80E-01	2,40E-03
IVKR4	0,00E+00	0,00E+00	5,42E-01	2,71E-03	0,00E+00	0,00E+00	5,42E-01	2,71E-03	0,00E+00	0,00E+00	5,42E-01	2,71E-03
PTLV2	1,35E-05	6,74E-08	0,00E+00	0,00E+00	9,46E-04	4,73E-06	9,59E-04	4,80E-06	2,84E-03	1,42E-05	2,85E-03	1,43E-05
FRSN1	1,95E-04	9,77E-07	3,15E+00	1,58E-02	1,37E-02	6,86E-05	3,17E+00	1,58E-02	4,11E-02	2,06E-04	3,19E+00	1,60E-02
MACI0	0,00E+00	0,00E+00	5,61E-01	2,80E-03	0,00E+00	0,00E+00	5,61E-01	2,80E-03	0,00E+00	0,00E+00	5,61E-01	2,80E-03
ZNLR2	2,35E-05	1,17E-07	2,32E-01	1,16E-03	1,64E-03	8,22E-06	2,34E-01	1,17E-03	4,93E-03	2,47E-05	2,37E-01	1,18E-03
MATR0	0,00E+00	0,00E+00	6,53E-01	3,27E-03	0,00E+00	0,00E+00	6,53E-01	3,27E-03	0,00E+00	0,00E+00	6,53E-01	3,27E-03
MRLU7	5,20E-05	2,60E-07	5,04E-01	2,52E-03	3,64E-03	1,82E-05	5,08E-01	2,54E-03	1,09E-02	5,47E-05	5,15E-01	2,58E-03
SKKS7	4,55E-04	2,28E-06	2,23E-01	1,11E-03	3,19E-02	1,60E-04	2,55E-01	1,28E-03	9,58E-02	4,79E-04	3,19E-01	1,60E-03
DALL6	6,52E-05	3,26E-07	1,95E-01	9,75E-04	4,57E-03	2,29E-05	2,00E-01	9,99E-04	1,37E-02	6,86E-05	2,09E-01	1,04E-03
MALU1	1,29E-05	6,47E-08	3,09E+00	1,54E-02	9,07E-04	4,54E-06	3,09E+00	1,54E-02	2,72E-03	1,36E-05	3,09E+00	1,55E-02
JABU8	3,20E-05	1,60E-07	0,00E+00	0,00E+00	2,25E-03	1,12E-05	2,28E-03	1,14E-05	6,74E-03	3,37E-05	6,77E-03	3,39E-05
MIMI4	5,77E-05	2,89E-07	8,96E-01	4,48E-03	4,05E-03	2,02E-05	9,00E-01	4,50E-03	1,21E-02	6,07E-05	9,08E-01	4,54E-03
VMTK5	3,95E-05	1,98E-07	1,57E+00	7,85E-03	2,77E-03	1,39E-05	1,57E+00	7,87E-03	8,32E-03	4,16E-05	1,58E+00	7,90E-03
NKME1	1,71E-05	8,53E-08	1,46E-01	7,28E-04	1,20E-03	5,98E-06	1,47E-01	7,34E-04	3,59E-03	1,79E-05	1,49E-01	7,46E-04
ENVK1	1,67E-05	8,34E-08	7,52E-01	3,76E-03	1,17E-03	5,85E-06	7,53E-01	3,77E-03	3,51E-03	1,75E-05	7,55E-01	3,78E-03
MGZK0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
JSSI4	6,49E-05	3,25E-07	1,50E-01	7,49E-04	4,55E-03	2,28E-05	1,54E-01	7,72E-04	1,37E-02	6,83E-05	1,64E-01	8,18E-04
MJKT4	1,64E-05	8,18E-08	2,52E-01	1,26E-03	1,15E-03	5,74E-06	2,53E-01	1,26E-03	3,44E-03	1,72E-05	2,55E-01	1,28E-03
APPL3	1,97E-04	9,87E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,38E-02	6,92E-05	1,40E-02	7,02E-05	4,15E-02	2,08E-04	4,17E-02	2,09E-04

IZLOŽENOST DOJENČADI KONGENERU BDE-183 DETEKTIRANOM U KUĆNOJ PRAŠINI I LJUDSKOME MLJEKU												
SCENARIJ			CENTRALNI						NAJGORI			
UZORAK	EDI <sub>term</sub>	HQ <sub>term</sub>	EDI <sub>mlijeko</sub>	HQ <sub>mlijeko</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HQ <sub>uk</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HQ <sub>uk</sub>	EDI <sub>uk</sub>	HQ <sub>uk</sub>	HI	
JŠIV8	5,77E-04	2,88E-06	0,00E+00	0,00E+00	4,10E-02	2,02E-04	4,04E-02	2,02E-04	1,22E-01	6,07E-04	2,05E-04	6,09E-04
RŠDB1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ADRU2	8,64E-05	4,32E-07	0,00E+00	0,00E+00	6,15E-03	3,03E-05	6,06E-03	3,03E-05	1,82E-02	9,09E-05	3,07E-05	9,14E-05
KRBR2	1,48E-04	7,39E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,05E-02	5,18E-05	1,04E-02	5,18E-05	3,11E-02	1,56E-04	5,26E-05	1,56E-04
ANLjB7	5,13E-05	2,56E-07	0,00E+00	0,00E+00	3,65E-03	1,80E-05	3,60E-03	1,80E-05	1,08E-02	5,39E-05	1,82E-05	5,42E-05
VRAM3	2,20E-04	1,10E-06	0,00E+00	0,00E+00	1,56E-02	7,71E-05	1,54E-02	7,71E-05	4,62E-02	2,31E-04	7,82E-05	2,32E-04
DVVK9	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
DITO8	1,41E-04	7,07E-07	6,68E-02	3,34E-04	7,69E-02	4,96E-05	9,91E-03	4,96E-05	2,97E-02	1,49E-04	3,84E-04	4,83E-04
SOSN2	8,28E-05	4,14E-07	0,00E+00	0,00E+00	5,89E-03	2,90E-05	5,80E-03	2,90E-05	1,74E-02	8,71E-05	2,94E-05	8,75E-05
GRTH5	3,91E-05	1,95E-07	0,00E+00	0,00E+00	2,78E-03	1,37E-05	2,74E-03	1,37E-05	8,23E-03	4,11E-05	1,39E-05	4,13E-05
NZHL3	1,85E-04	9,24E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,31E-02	6,48E-05	1,30E-02	6,48E-05	3,89E-02	1,94E-04	6,57E-05	1,95E-04
IVKR4	3,80E-05	1,90E-07	0,00E+00	0,00E+00	2,70E-03	1,33E-05	2,66E-03	1,33E-05	7,99E-03	4,00E-05	1,35E-05	4,02E-05
PTLV2	1,22E-04	6,08E-07	0,00E+00	0,00E+00	8,66E-03	4,27E-05	8,53E-03	4,27E-05	2,56E-02	1,28E-04	4,33E-05	1,29E-04
FRSN1	4,16E-05	2,08E-07	0,00E+00	0,00E+00	2,96E-03	1,46E-05	2,92E-03	1,46E-05	8,75E-03	4,38E-05	1,48E-05	4,40E-05
MACI0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
ZNLR2	1,20E-04	6,02E-07	0,00E+00	0,00E+00	8,56E-03	4,22E-05	8,44E-03	4,22E-05	2,53E-02	1,27E-04	4,28E-05	1,27E-04
MATR0	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MRLU7	6,24E-05	3,12E-07	0,00E+00	0,00E+00	4,44E-03	2,19E-05	4,38E-03	2,19E-05	1,31E-02	6,56E-05	2,22E-05	6,60E-05
SKKS7	2,56E-04	1,28E-06	0,00E+00	0,00E+00	1,82E-02	8,96E-05	1,79E-02	8,96E-05	5,38E-02	2,69E-04	9,09E-05	2,70E-04
DALL6	1,05E-04	5,27E-07	0,00E+00	0,00E+00	7,49E-03	3,69E-05	7,39E-03	3,69E-05	2,22E-02	1,11E-04	3,75E-05	1,11E-04
MALU1	6,93E-05	3,47E-07	0,00E+00	0,00E+00	4,93E-03	2,43E-05	4,86E-03	2,43E-05	1,46E-02	7,29E-05	2,47E-05	7,33E-05
JABU8	2,62E-05	1,31E-07	0,00E+00	0,00E+00	1,87E-03	9,20E-06	1,84E-03	9,20E-06	5,52E-03	2,76E-05	9,34E-06	2,77E-05
MIMI4	5,00E-05	2,50E-07	0,00E+00	0,00E+00	3,55E-03	1,75E-05	3,50E-03	1,75E-05	1,05E-02	5,26E-05	1,78E-05	5,28E-05
VMTK5	6,28E-05	3,14E-07	9,15E-01	4,57E-03	9,19E-01	2,20E-05	4,41E-03	2,20E-05	1,32E-02	6,61E-05	4,60E-03	4,64E-03
NKME1	1,07E-04	5,34E-07	0,00E+00	0,00E+00	7,60E-03	3,75E-05	7,50E-03	3,75E-05	2,25E-02	1,12E-04	3,80E-05	1,13E-04
ENVK1	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
MGZK0	3,68E-05	1,84E-07	0,00E+00	0,00E+00	2,62E-03	1,29E-05	2,58E-03	1,29E-05	7,74E-03	3,87E-05	1,31E-05	3,89E-05
JSSI4	1,24E-03	6,20E-06	0,00E+00	0,00E+00	8,82E-02	4,35E-04	8,70E-02	4,35E-04	2,61E-01	1,30E-03	4,41E-04	1,31E-03
MJKT4	2,89E-05	1,45E-07	0,00E+00	0,00E+00	2,06E-03	1,01E-05	2,03E-03	1,01E-05	6,08E-03	3,04E-05	1,03E-05	3,06E-05
APPL3	3,31E-04	1,66E-06	0,00E+00	0,00E+00	2,36E-02	1,16E-04	2,32E-02	1,16E-04	6,97E-02	3,49E-04	1,18E-04	3,50E-04

g)

## § 9. ŽIVOTOPIS

Karla Jagić rođena je 19. srpnja 1991. godine u Zagrebu. Osnovnu školu završila je u Gajnicama, a nakon završetka Opće gimnazije u Zagrebu, 2010. godine upisuje studij kemije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu. Studij završava 2018. godine obranom diplomskog rada pod nazivom „Određivanje odabranih fizikalno-kemijskih značajki vodenih suspenzija Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>“ koji je pod vodstvom prof. dr. sc. Sande Rončević izradila na matičnom fakultetu.

Od 01. veljače 2019. godine zaposlena je u Jedinici za biokemiju i organsku analitičku kemiju Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu kao asistent-doktorand na projektu „Razvoj, validacija i primjena analitičkih metoda za određivanje PBDE-a – DeValApp“ (HrZZ-UIP-2017-05-6713). Iste godine upisala je poslijediplomski studij prirodnih znanosti, polje Kemija, smjer Analitička kemija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu.

Godine 2019. pohađala je međunarodnu ljetnu školu „15th Summer School on Toxic Compounds in the Environment 2019“ u Brnu, Češka te međunarodnu ljetnu školu „XIX. International Chromatography School“ u Zagrebu (FKIT). Godine 2020. dobila je priznanje za najbolje postersko priopćenje na „4. Simpoziju studenata doktorskih studija PMF-a“, a 2021. godine stipendiju „Young Scientist“ za sudjelovanje na kongresu „6th Croatian Congress of Toxicology“.

Godine 2021. sudjelovala je *online* na međunarodnim ljetnim školama „17th RECETOX Summer School 2021“ i „9th BfR-Summer Academy 2021:Lecture Series“ te na znanstvenoj školi „Sveobuhvatni pristup istraživanju antropogenih pritisaka na okoliš“.

Rezultate dosadašnjeg znanstvenog rada objavila je u 9 znanstvenih radova objavljenih u časopisima indeksiranim u bazi *Web of Science*, pri čemu je na njih četiri prvi autor. Autor/koautor je 13 priopćenja na znanstvenim skupovima, a aktivno je sudjelovala usmenim izlaganjem na njih 3, dok izlaganjem postera na njih 7.

Sudjelovala je u popularizaciji znanosti IMI-ja (IMIobil 2021.) s održanih osam radionica u osnovnim školama i dječjem vrtiću.

**Znanstveni radovi u časopisima**

1. D. Klinčić, M. Dvorščak, K. Jagić, G. Mendaš i S. Herceg Romanić, Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers in humans and environmental compartments: a comprehensive review of the last five years of research, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **27** (2020) 5744-5758.
2. K. Jagić, M. Dvorščak, A. Jurič, T. Safner i D. Klinčić, Preliminary results on polybrominated diphenyl ether contamination status in Croatian households and insights into children's exposure, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **84** (2021) 103603.
3. K. Jagić, M. Dvorščak, A. Jurič, T. Safner i D. Klinčić, Optimization and validation of two-step method for determination of polybrominated diphenyl ethers in Croatian house dust samples, *Anal. Methods* **13** (2021) 3504-3510.
4. D. Klinčić, B. Tariba Lovaković, K. Jagić i M. Dvorščak, Polybrominated diphenyl ethers and the multi-element profile of house dust in Croatia: Indoor sources, influencing factors of their accumulation and health risk assessment for humans, *Sci. Total Environ.* **800** (2021) 149430.
5. K. Jagić, M. Dvorščak i D. Klinčić, Analysis of brominated flame retardants in the aquatic environment: a review, *Arh. Hig. Rada Toksikol.* **72** (2021) 4; 254-267.
6. A. Zandona, K. Jagić, M. Dvorščak, J. Madunić, D. Klinčić i M. Katalinić, PBDEs found in house dust impact human lung epithelial cell homeostasis, *Toxics* **10** (2022) 97-112.
7. M. Dvorščak, K. Jagić, L. Besednik, I. Šimić i D. Klinčić, First application of microwave-assisted extraction in the analysis of polybrominated diphenyl ethers in human milk, *Microchem. J.* **179** (2022) 107447.
8. B. Tariba Lovaković, K. Jagić, M. Dvorščak i D. Klinčić, Trace elements in indoor dust – Children's health risk considering overall daily exposure, *Indoor Air* **32** (2022) 13104.

9. I. Jakovljević, M. Dvorščak, K. Jagić, D. Klinčić, Polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor dust in Croatia: levels, sources, and human health risks, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **19** (2022) 11848.

### Priopćenja znanstvenim skupovima

1. K. Jagić, M. Dvorščak i D. Klinčić, Analiza postojanih i toksičnih polibromiranih difenil etera u uzorcima kućne prašine / 18. Ružičkini dani, Vukovar, 2020. str. 146-146 (poster)
2. K. Jagić, Analiza polibromiranih difenil etera u kućnoj prašini / 4. Simpozij studenata doktorskih studija PMF-a, Zagreb, 2020. str. 109-109 (poster)
3. K. Jagić, D. Klinčić i M. Dvorščak, Solvent selection for effective extraction of polybrominated diphenyl ethers from house dust samples using microwaves / XIII. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, 2020. str. 163-163 (poster)
4. K. Jagić, M. Dvorščak i D. Klinčić, Polybrominated diphenyl ethers in indoor dust of different microenvironments in Zagreb, Croatia and assessment of toddlers' exposure / 56th Congress of the European Societies of Toxicology (*virtual congress*), 2021. str. S193-S194 (poster)
5. K. Jagić, M. Dvorščak, B. Tariba Lovaković i D. Klinčić, Utjecaj čimbenika iz kućanstva na koncentracije spojeva PBDE i elemenata u tragovima u kućnoj prašini / 12th Croatian Scientific and Professional Assembly Air Protection '21, Medulin, 2021. str. 112-113 (poster)
6. K. Jagić, M. Dvorščak i D. Klinčić, Preliminarni rezultati o onečišćenju zagrebačkih kućnih prašina polibromiranim difenil eterima / 5. Simpozij studenata doktorskih studija PMF-a, Zagreb, 2021. str. 172-173 (predavanje)

7. K. Jagić, M. Dvorščak i D. Klinčić, Extraction of polybrominated diphenyl ethers from human milk samples / 27th Croatian Meeting of Chemists and Chemical Engineers, Veli Lošinj, 2021. str. 153-153 (poster)
8. M. Dvorščak, A. Zandona, K. Jagić, M. Katalinić i D. Klinčić, Toxic effects of polybrominated diphenyl ethers on cultured human lung and neuronal cells / 6th Croatian Congress of Toxicology, Rabac, 2021. str. 46-46 (poster)
9. K. Jagić, M. Dvorščak i D. Klinčić, Polybrominated diphenyl ethers in Croatian house dust and assessment of human exposure / 6th Croatian Congress of Toxicology, Rabac, 2021. str. 35-35 (predavanje)
10. K. Jagić, M. Dvorščak i D. Klinčić, Exposure to polybrominated diphenyl ethers associated with car dust / 21st European Meeting on Environmental Chemistry, Beograd, 2021. str. 65-65 (predavanje)
11. M. Dvorščak, K. Jagić, I. Jakovljević, I. Šimić i D. Klinčić, Polybrominated diphenyl ethers in Croatian human milk samples / 41st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Tianjin, Kina (*on-line*), 2021. str. 367-368 (poster)
12. I. Jakovljević, G. Pehneć, M. Dvorščak, K. Jagić i D. Klinčić, Udio PAU u prašini iz unutarnjeg prostora automobila / XIV. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, 2022. str. 70-70 (poster)
13. K. Jagić, M. Dvorščak, D. Klinčić, Polybrominated diphenyl ethers in human milk of Croatian mothers and matched house dust samples / 10th International Symposium on Flame Retardants, Atena, Grčka, 2022. (poster)