

# Utjecaj dodatka lanenog sjemena u ishrani kokoši nesilica na sastav masnih kiselina jaja

---

Žepina, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:065790>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-08**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET**

# **DIPLOMSKI RAD**

Zagreb, svibanj 2022.

Maja Žepina

**UTJECAJ DODATKA LANENOG  
SJEMENA U ISHRANI KOKOŠI  
NESILICA NA SASTAV MASNIH  
KISELINA JAJA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe na Zavodu za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Helge Medić te uz pomoć Ivne Poljanec, mag. ing.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Nutricionizam

**Diplomski sveučilišni studij:** Nutricionizam

### UTJECAJ DODATKA LANENOG SJEMENA U ISHRANI KOKOŠI NESILICA NA SASTAV MASNIH KISELINA JAJA

*Maja Žepina, univ.bacc. nutr. 0177050316/N*

**Sažetak:** Cilj ovog rada bio je utvrditi sastav  $\alpha$ -linolenske ( $\alpha$ -ALA), eikozapentaenske (EPA) i dokozaheksaenske (DHA) masne kiseline u jajima i promjene njihovih masenih udjela nakon dodavanja lana u ishranu kokoši nesilica. Rezultati istraživanja pokazali su kako obogaćena jaja sadrže eikozatriensku i eikozapentaensku kiselinu, kao i da je došlo do povećanja n-3 i smanjenja n-6 polinezasićenih masnih kiselina (PUFA). Udio masti određen pomoću Smedesove metode u kontrolnim jajima iznosio je 31,33 %, a u obogaćenim 29,22 %. Temeljem metode plinske kromatografije konačni rezultati pokazali su kako je od 18 prisutnih masnih kiselina u kontrolnim i obogaćenim jajima, statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) određena za njih 17. Najzastupljenije masne kiseline bile su zasićene palmitinska i stearinska te nezasićena oleinska i linolna kiselina. Iz provedenog istraživanja može se zaključiti da dodatak lana u ishrani kokoši nesilica utječe na sastav i promjene u masenim udjelima masnih kiselina u kontrolnim i obogaćenim jajima.

**Ključne riječi:** obogaćena jaja, kokoši nesilice, lanene sjemenke, udio masti, masne kiseline

**Rad sadrži:** 50 stranica, 7 slika, 3 tablica, 67 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** prof. dr. sc. Helga Medić

**Pomoć pri izradi:** Ivna Poljanec, mag. ing.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. doc. dr. sc. Tibor Janči (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Helga Medić (mentor)
3. doc. dr. sc. Marko Obranović (član)
4. doc. dr. sc. Klara Kraljić (zamjenski član)

**Datum obrane:** 27. svibnja 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GraduateThesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Department of Food Engineering  
Laboratory for Meat and Fish Technology

**Scientific area:** Biotechnical Sciences  
**Scientific field:** Nutrition  
**Graduate university study programme:** Nutrition

### INFLUENCE OF FLAXSEED SUPPLEMENTATION IN THE DIET OF LAYING HENS ON EGG'S FATTY ACID COMPOSITION

*Maja Žepina, univ. bacc. nutr. 0177050316/N*

**Abstract:** The aim of this study was to determine the composition of  $\alpha$ -linolenic ( $\alpha$ -ALA), eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) fatty acids in eggs and changes in their weight content after adding flax to the diet of laying hens. The results of the study showed that enriched eggs contained eicosatrienic and eicosapentaenoic acid, as well as an increase in n-3 and a decrease in n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFA). The fat content determined by the Smedes method in control eggs was 31.33%, and in enriched eggs 29.22%. Based on the gas chromatography method, the final results showed that out of 18 fatty acids present in control and enriched eggs, a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ) was determined for 17. The most common fatty acids were saturated palmitic and stearic and unsaturated oleic and linoleic acid. From the conducted research it can be concluded that the addition of flax in the diet of laying hens affects the composition and changes in the mass fractions of fatty acids in control and enriched eggs.

**Keywords:** enriched eggs, laying hens, flaxseeds, fat content, fatty acids

**Thesis contains:** 50 pages, 7 figures, 3 tables, 67 references

**Original in:** Croatian

**GraduateThesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in:** The Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** Helga Medić, PhD, Full Professor

**Technical support and assistance:** Ivna Poljanec, MSc

**Reviewers:**

- 1) Tibor Janči, PhD, Assistant professor (president)
- 2) Helga Medić, PhD, Full professor (mentor)
- 3) Marko Obranović, PhD, Assistant professor (member)
- 4) Klara Kraljić, PhD, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** May 27<sup>th</sup>, 2022

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	3
2.1. DEFINICIJA JAJA I PRAVILA PLASIRANJA NA TRŽIŠTE .....	3
2.2. JAJA .....	3
2.2.1. Građa jaja .....	3
2.3. FIZIKALNO – KEMIJSKA SVOJSTVA KVALITETE JAJA .....	6
2.3.1. Mjerenje kvalitete ljuske jaja .....	6
2.3.2. Oblik i masa jaja .....	7
2.3.3. Indeks žumanjka i bjelanjka .....	8
2.3.4. pH vrijednost .....	9
2.3.5. Haugh jedinica .....	10
2.4. KLASIRANJE JAJA .....	11
2.5. MIKRONUTRIJENTI U JAJIMA .....	12
2.6. KOLESTEROL .....	13
2.7. OBOGAĆENA JAJA KAO FUNKCIONALNA HRANA .....	14
2.7.1. Omega 3 masne kiseline .....	15
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	20
3.1. MATERIJALI .....	20
3.1.1. Uzorci kokošnjih jaja .....	20
3.2. METODE .....	21
3.2.1. Određivanje udjela masti po Smedesu .....	21
3.2.2. Određivanje sastava masnih kiselina .....	23
3.2.3. Obrada podataka .....	25
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	26
5. ZAKLJUČCI .....	42
6. LITERATURA .....	43

# 1. UVOD

Jaja su uz meso i ribu, jedan od najvažnijih prehrambenih proizvoda u svijetu zbog dostupnosti, niske cijene, lake pripreme i vrijednih hranjivih sastojaka kao što su proteini, vitamini (A, B, D, E), minerali (Fe, I, Cu, Zn, Ca, Se), a posebice zbog esencijalnih masnih kiselina.

Prema tradiciji, jaja su se smatrala vrlo jeftinim izvorom važnih nutrijenata za zdravlje ljudi pa se tijekom dugog niza godina ljude poticalo na konzumaciju istih.

U zemljama sjeverne Europe najprihvaćenija su jaja blijedožute boje žumanjka, za razliku od juga Europe gdje je prihvaćenija žuta do tamnožute boje žumanjka.

Asimetrični i ovalni oblik jaja predstavlja njihovu najvažniju karakteristiku i za taj oblik uočeno je da je najprihvaćeniji od strane potrošača. Starije kokoši nesilice daju jaja veće mase, za razliku od mlađih kokoši nesilica koje daju sitnija jaja.

Kvaliteta jaja ovisi o starosti i načinima hranjenja kokoši nesilica, prikupljanjem, skladištenjem i čuvanju jaja.

Za ljudsko zdravlje potrebna je ravnoteža n-3 i n-6 polinezasićenih masnih kiselina kako bi se izbjegle različite kronične i metaboličke bolesti (pretilost, kardiovaskularne bolesti, šećerna bolest, osteoporoza, neurološke bolesti i dr.).

Najbolji izvori n-3 masnih kiselina smatraju se riba i riblje ulje, lanene i chia sjemenke, mikroalge, a izvori n-6 masnih kiselina su ulja kukuruza, soje, suncokreta, chia i lanene sjemenke.

Jedan od boljih načina unosa tih esencijalnih masnih kiselina je korištenje obogaćenih (funkcionalnih) jaja koja imaju veliku hranjivu vrijednost.

To se postiže tako da se u prehranu životinja (kokoši nesilica) unose sastojci bogati tim kiselinama, kao što su riblje ulje, različiti oblici lanenih sjemenki (cjelovitih, mljevenih, laneno ulje), chia sjemenke, mikroalge.



Cilj ovog istraživanja je odrediti sastav masnih kiselina u kontrolnim jajima kokoši nesilica koje nisu hranjene lanenim sjemenkama i usporediti ih sa sastavom masnih kiselina u obogaćenim jajima kokoši nesilica hranjenih lanenim sjemenkama te utvrditi promjenu u masenim udjelima ( $\alpha$ -ALA, EPA i DHA).

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. DEFINICIJA JAJA I PRAVILA PLASIRANJA NA TRŽIŠTE

Prema članku 3. točki 1. Pravilnika o kakvoći jaja iz 2006. godine (NN 115/2006) jaja su definirana kao kokošja jaja u ljusci dobivena od kokoši nesilica namijenjena prehrani ljudi ili upotrebi u prehrambenoj industriji.

Odredbe Pravilnika o kakvoći jaja iz 2006. godine (NN 115/2006) ne primjenjuju se na jaja:

- dobivena od rasplodnih kokoši nesilica,
- koja se prevoze neposredno od mjesta proizvodnje do pakirnog centra,
- koja su namijenjena za preradu u industriji,
- koja se prodaju na mjestu proizvodnje neposredno potrošaču za njegovu osobnu upotrebu,
- koja se prodaju nezapakirana na tržnici neposredno od proizvođača koji ima u proizvodnji najviše do 350 kokoši nesilica,
- koja se uvoze ili izvoze u količini koja ne prelazi broj od 60 jaja i koja su namijenjena osobnoj upotrebi potrošača.

Ukoliko proizvođači jaja žele plasirati jaja na tržište trebaju ispuniti određene uvjete, a koji uvjeti su propisani Pravilnikom o kakvoći jaja iz 2006. godine (NN 115/2006), a isti se odnose na:

- 1) nazive, definicije i opće uvjete kojima jaja moraju udovoljavati,
- 2) prikupljanje jaja i pakirne centre,
- 3) klasiranje jaja,
- 4) označavanje i pakiranje jaja,
- 5) označavanje trakama, ponovno klasiranje i pakiranje jaja,
- 6) evidencije proizvodnje i pakiranja jaja,
- 7) kontrolu kakvoće jaja (Pravilnik o kakvoći jaja, 2006).

### 2.2. JAJA

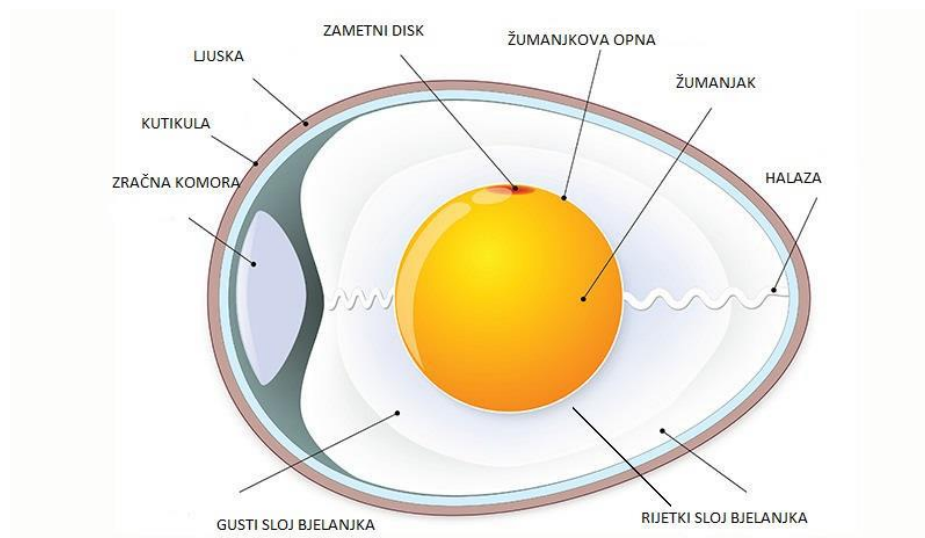
#### 2.2.1. Građa jaja

Jaje je asimetričnog i ovalnog oblika i upravo takav oblik predstavlja njegovu najznačajniju karakteristiku (Petrović, 2012a, Kralik i sur., 2008a). S vanjske strane jaje je obavijeno vapnenom ljuskom koju čini 94% kalcijevog karbonata. Njezina uloga je da mu daje čvrstoću

i kompaknost (Petrović, 2012a). Vanjska vapnena ljuska obavijena je s još jednim slojem tzv. kutikulom čija je uloga da jaje štiti od vanjskih utjecaja, gubitka vode i prodora bakterija. Kutikula sadrži 90% bjelančevina, manji udio lipida i ugljikohidrata (Brake i sur.,1997).

Ispod vapnene ljuske nalaze se dvije rožnate opne; jedna se nalazi uz samu ljusku jaja, dok druga obavija i štiti njegov unutarnji sadržaj. Nakon što kokoši nesilice snesu jaje između ovih dviju opna formira se zračna šupljina (komora) koja je vidljiva na širem i tupom dijelu jajeta. Tijekom čuvanja i skladištenja jaja, zračna šupljina povećava se kao posljedica isparavanja vode, a njezina veličina pokazatelj je svježine jaja. Uz vanjsku ljusku osnovne sastojke jaja čine i bjelanjak i žumanjak (Petrović, 2012a; Kralik i sur., 2008a).

Cherian u svom radu (2013) utvrdio je kako prosječna masa kokošjeg jaja iznosi oko 55 g, a od čega na njegove osnovne dijelove; i to na žumanjak otpada 27,5 % , bjelance 63 % i na ljusku 9,5 % .



**Slika 1.** Građa jaja (Blatarić, 2018)

### 2.2.2. Sastav jaja

U sredini jaja smješten je žumanjak ili oocita (Cherian, 2013) koji je okružen tzv. žumanjčanom opnom. Sastoji se od tamnožutih i svijetložutih koncentričnih slojeva. Na površini žumanjka nalazi se zametna pločica.

Žumanjak okružuju tri sloja bjelanjka različite gustoće, a upravo ga u središtu jaja drže halaze-spiralne tvorevine gustog bjelanjka.

Bjelanjak se sastoji od tri osnovna djela:

- a) rijetki bjelanjak (maseni udio bjelanjka 20-30 %)
- b) gusti bjelanjak (maseni udio bjelanjak 57 – 60 %)
- c) svijetli bjelanjak (maseni udio 15-17 %) (Kralik i sur., 2008a)

#### 2.2.2.1. *Kemijski sastav žumanjka*

Žumanjak jaja sastoji se od 51-52 % vode, 16-17 % proteina, 31 – 33 % masti, 1 % ugljikohidrata, 1,1 % mineralnih tvari, kolesterola, vitamina topivih u mastima te pigmenta (Cherian, 2013; Kralik i sur., 2008a).

Glavne lipide u žumanjku čine triacilgliceridi (65-68 %), od kojih su najzastupljenije palmitinska, stearinska i oleinska kiselina, fosfolipidi (29-32 %) kao što su sfingomijelin, lecitin i kefalin te slobodni kolesterol.

Od sporednih lipida kemijski sastav žumanjka čini cerebrozid (Cherian, 2013; Kralik i sur., 2008a).

#### 2.2.2.2. *Kemijski sastav bjelanjka*

Bjelanjak se sastoji od 85-88 % vode i 12- 15 % suhe tvari.

U kemijskom sastavu bjelanjka zastupljene su od jednostavnijih bjelančevina ovoglobulin, ovalbumin (54 %), konoalbumin, a od složenijih alfa i betaovomucin (1,5-3 %) i ovomukoid (11%) (Ahmadi i Rahimi, 2011; Kralik i sur., 2008a), a čiji sadržaj u ukupnoj masi prosječnog jaja čini 12 % (Petrović, 2012a).

Od ugljikohidrata 0,5 % ukupnog masenog udjela prosječnog jaja, (Petrović, 2012a) ponajviše su zastupljeni glukoza, galaktoza i manoza, dok se masti pronalaze samo u neznatnim količinama (Kralik i sur., 2008a).

Bjelanjak sadrži oko 0,5- 0,6 % mineralnih tvari (Kralik i sur., 2008a).

**Tablica 1.** Sadržaj osnovnih sastojaka u 100 g jestivog jaja modificirano prema Kralik i sur. (2008a)

<b>OSNOVNI SASTOJCI</b>	<b>MASA</b>
<b>Voda</b>	72,5 – 75,0 g
<b>Bjelančevine</b>	12,5 – 13,5 g
<b>Masti</b>	10,7 – 11, 6 g
<b>Ugljikohidrati</b>	0,7 g
<b>Mineralne tvari</b>	1,0 – 1,1 g
<b>Oleinska kiselina</b>	5,0 g
<b>Linolna kiselina</b>	2,03 g
<b>Linolenska kiselina</b>	0,31 g
<b>Kolesterol</b>	0,47 g

### 2.3. FIZIKALNO – KEMIJSKA SVOJSTVA KVALITETE JAJA

Među glavna fizikalno - kemijska svojstva spadaju:

- a) vanjske kvalitete jaja (čvrstoća i debljina ljuske, indeks oblika jaja, masa jaja)
- b) unutarnja kvaliteta jaja (stupanj starenja (SS), Haugh-ova jedinica (HJ), indeks žumanjka i bjelanjka, pH vrijednost žumanjka i bjelanjka i dr.) (Kralik i sur., 2008a).

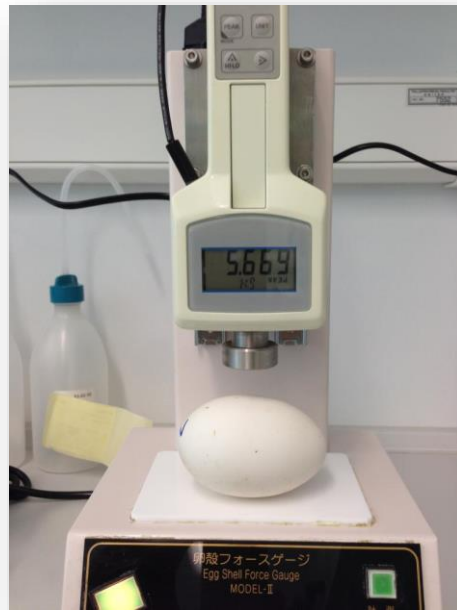
#### 2.3.1. Mjerenje kvalitete ljuske jaja

Ahmadi i Rahimi (2011) razlikuju dvije vrste metoda za mjerenje kvalitete ljuske jaja:

- a) izravne
- b) neizravne

Među izravne metode spadaju: mjerenje snage lomljenja čvrstoće ljuske (primjerice kao što je sila udarnog loma, sila probijanja ili kvazistatična kompresija) i metoda mjerenja težine ljuske

koja se provodi razbijanjem jaja, a potom ispiranjem i na kraju sušenjem. Mjerenje čvrstoće i debljine ljuske mjeri se pomoću posebnih uređaja.



**Slika 2.** Uređaj za mjerenje čvrstoće ljuske (Lovreković, 2017)

U neizravne metode spadaju mjerenje specifične težine jaja na temelju uranjanja jaja u otopine različitih koncentracija soli, nedestruktivna deformacija ljuske, kvazi-statička kompresija debljine ljuske te postotak pukotina.

Nedestruktivna deformacija ljuske mjeri se otklonom ljuske pod određenom silom, a destruktivna kao udaljenost stisnute ljuske prije nego što ljuske pukne.

Na kvalitetu i čvrstoću ljuske jaja utječe starost i vrsta peradi, kvaliteta prehrane i vode, temperatura okoliša, bolesti i stres (Ahmadi i Rahmini, 2011).

### 2.3.2. Oblik i masa jaja

Jedna od bitnih značajki u kvaliteti jaja je njihov ovalni oblik, a za koji oblik je uočeno da je najprihvaćeniji od strane potrošača.

Oblik jaja prikazuje se indeksom oblika (IO) koji se definira prema formuli kao omjer širine i dužine jaja (IO) (Kralik i sur., 2008a).

$$IO (\%) = \frac{\text{ŠIRINA JAJA (cm)}}{\text{DUŽINA JAJA (cm)}} \cdot 100 \quad [1]$$

Iz doktorskog rada (Petrović, 2012a) proizlazi kako standardna jaja imaju vrijednosti indeksa oblika u području od 63,1 do 81,7.

Među čimbenicima koji utječu na masu jaja su visina temperature i dužina svjetlosti koja ovisi o godišnjem dobu, vrsti peradi, ciklusu nesenja, spolnom sazrijevanju i starosti nesilica te načinu i vrsti prehrane (Kralik i sur., 2008a).

Starije kokoši nesilice daju jaja veće mase, dok je za mlađe kokoši koje još nisu dosegnule spolnu zrelost karakteristično da daju sitnija jaja s tanjom ljuskom, a ponekad čak budu i bez nje (Ahmadi i Rahmini, 2011; Kralik i sur., 2008a).

### 2.3.3. Indeks žumanjka i bjelanjka

Indeks žumanjka (IŽ) je omjer visine žumanjka i promjera žumanjka, a računa se prema formuli:

$$I\check{Z}(\%) = \frac{V}{P} \cdot 100 \quad [2]$$

gdje je: IŽ- indeks žumanjka

V- visina žumanjka (mm)

P- promjer žumanjka (mm)

Indeks žumanjka u konačnici ovisi o pasmini i starosti kokoši te načinu čuvanja jaja, a iznosi između 30-50 % (Kralik i sur., 2008a).

Kvaliteta žumanjka određena je teksturom, finoćom, mirisom i bojom koja je važni čimbenik kvalitete žumanjka, a određuje se Rocheovom skalom boja u rasponu od 1 (žuto) do 15 (narančasta) (Liu i sur., 2020; Ahmadi i Rahimi, 2011).



**Slika 3.**Rocheova skala boja (Maguregui, 2020)

U sjevernim zemljama Europe prihvatljiva je blijeda boja žumanjka, a na jugu tamnožuta do crvenkasta. Pomak boje žumanjka prema crvenom uočen je kod kokoši nesilica hranjenih heterotrofnim mikroalgama koje sadrže više različitih karotenoida, primjerice  $\beta$ -karoten (Fraeye i sur., 2012).

Heterotrofne ili autotrofne mikroalge prirodno proizvode značajne količine n-3 PUFA i karotenoida. Prilikom prehrane kokoši nesilica s mikroalgama u žumanjku jaja dolazi do ugradnje DHA i karotenoida koji djeluju kao antioksidansi za očuvanje nestabilnih PUFA i povećavaju stabilnost lipida žumanjka. Prethodno provedene studije utvrdile su da nema značajnijeg povećanja oksidacije lipida u žumanjku ukoliko su kokoši hranjene lanenim sjemenkama ili ribljim uljem u odnosu na one hranjene mikroalgama (Liu i sur., 2020; Lemahieu i sur., 2017).

Indeks bjelanjka (IB) predstavlja omjer visine i površine bjelanjka. U ovom slučaju površinu bjelanjka dobivamo polovinom zbroja dužine i širine bjelanjka.

Indeks bjelanjka (IB) računa se prema formuli:

$$IB (\%) = \frac{V}{P} \cdot 1000 \quad [3]$$

gdje je: IB- indeks bjelanjka

V- visina bjelanjka (mm)

P- površina bjelanjka (mm<sup>2</sup>)

Indeks bjelanjka kod kokošjih jaja iznosi oko 65-80 %, a ujedno ovisi o starosti kokoši nesilica, godišnjim dobima i načinima čuvanja (Kralik i sur., 2008a).

#### 2.3.4. pH vrijednost

pH vrijednost žumanjka iznosi oko 6,0 i reagira kiselo, a pH vrijednost bjelanjka iznosi 7,6 i reagira lužnato. Prilikom skladištenja dolazi do povećanja koncentracije ugljikovog dioksida koji prodire kroz ljusku jaja i pritom uzrokuje porast pH vrijednosti (9,0) (Brake i sur., 1997).

Povećanje pH vrijednosti dovodi do narušavanja ravnoteže između plinovitih i otopljenih tvari, kao i smanjenja zaštitne barijere koja štiti od vanjskih utjecaja (Kralik i sur., 2008a; Brake i sur., 1997).



### 2.3.5. Haugh jedinica

Dugotrajnijim skladištenjima i čuvanjem jaja dolazi do promjena u strukturi i kvaliteti bjelanjka (Kralik i sur., 2008a).

Mjera koja se najčešće koristi prilikom mjerenja kvalitete bjelanjka jaja je Haugh-ova jedinica (Haugh, 1937).

Haugh-ova jedinica, odnosno metoda kojom mjerimo kvalitetu bjelanjaka temelji se na mjerenju ukupne mase jaja i visine bjelanjka, a računa se pomoću formule:

$$HU = 100\log(Hb - 1.7W^{0.37} + 7.57) \quad [4]$$

gdje je: HU- Haughova jedinica

Hb- visina bjelanjka (mm)

W- masa jaja (g) (Petrović, 2012a)

Silversides i Villeneuve (1994) došli su do zaključka da se kvaliteta bjelanjka smanjuje tijekom čuvanja i da je povezana s visinom bjelanjka i HU. Jaja skladištena na sobnoj temperaturi i vlažnosti zraka nižoj 70 % izgubit će 10-15 HU u nekoliko dana (Ahmadi i Rahimi, 2011).

Zbog razvoja današnje tehnologije Haugh-ova jedinica mjeri se pomoću specijaliziranih uređaja (Kralik i sur., 2008a).



**Slika 4.** Egg Multi-Tester EMT 5200 za određivanje HJ i boje žumanjka (Leko, 2016)

## 2.4. KLASIRANJE JAJA

U Republici Hrvatskoj sukladno članku 12. Pravilnika o kakvoći jaja iz 2006 (NN 115/2006) jaja se klasiraju prema masi u četiri kategorije:

- a) „XL“ (vrlo velika jaja) s masom od 73 g i više
- b) „L“ (velika jaja) s masom od 63 do 73 g
- c) „M“ (srednja jaja) s masom od 53 do 63 g
- d) „S“ (mala jaja) s masom manjom od 53 g,

a koje kategorije se primjenjuju i unutar zemalja članica Europske unije, za razliku od SAD-a gdje postoji klasiranje jaja u čak šest kategorija:

- a) Jumbo s masom od 70 g i više
- b) Extra large s masom od 65 do 70 g
- c) Large s masom od 56 do 65 g
- d) Medium s masom od 49 do 56 g
- e) Small s masom od 42 do 49 g
- f) Peepees s masom od 35 do 42 g (Pravilnik, 2006; Petrović, 2012).

Kvaliteta jaja ovisi o načinima proizvodnje, hranjenju peradi, starosti kokoši, o mogućim bolestima, načinima prikupljanja, skladištenja i čuvanja jaja (Silversides i Scott, 2001).

Prema FAO (2003) nepravilno rukovanje jajima može dovesti do nastajanja pukotina na vanjskoj ljusci što može izazvati mikrobiološko zagađenje jaja.

Skladištenje jaja, promjena temperature okoliša i vlažnosti zraka može dovesti do smanjenja kvalitete jaja. Kako jaje stari dolazi do isparavanja vode i gubitka ugljikovog dioksida koji prolazi kroz ljusku pri čemu dolazi do promjene pH vrijednosti, a sadržaj jaja postaje lužnatiji što uzrokuje da bjelanjak bude proziran i vodenast.

Smanjenje gubitka ugljikovog dioksida i vode može se postići podmazivanjem tj. uranjanjem jaja u mineralna ulja i na taj način održati njegovu kvalitetu (Petrović, 2012a; Ahmadi i Rahimi, 2011).

S obzirom na kakvoću jaja, klasiramo u dvije kategorije; klasa „A“ ili svježija jaja i klasa „B“ odnosno namijenjena industrijskoj preradi (Pravilnik, 2006).

Jaja „A“ klase koja se žele plasirati na tržište trebaju ispuniti određene uvjete propisane Pravilnikom o kakvoći jaja iz 2006. godine (NN 115/2006), a koji uvjeti se odnose:

- a) ljuska i pokožica normalnog oblika, čista i neoštećena,
- b) zračna komora nije viša od 6 mm i da je nepokretna, dok za jaja koja će se označiti kao »ekstra« ne smije prelaziti 4 mm,
- c) bjelanjak bistar, proziran i kompaktan,
- d) žumanjak pri prosvjetljavanju jaja vidi kao sjena nejasnih obrisa i da je pri naglom okretanju jaja nepokretan ili neznatno pokretan te da se nalazi u sredini jaja,
- e) zametak neprimjetnog razvoja,
- f) nema stranih tvari,
- g) nema stranog mirisa.

Na temelju članka 10. točke 2 Pravilnika o kakvoći jaja, jaja „A“ klase ne smiju biti čišćena, ni prana kao ni konzervirana ili hlađena na temperaturi nižoj od +5 °C.

Ukoliko se jaja podvrgnu procesu pranja ili hlađenja, ne označavaju se kao klasa „A“, već kao „oprana jaja“ ili „hlađena jaja“.

Ako su jaja bila na temperaturi nižoj od +5 °C kraće od 24 sata ne smatraju se hlađenim u slučaju prijevoza/transporta ili u skladištu trgovine na malo ako zaliha jaja ne prelazi količinu potrebnu za prodaju u tri dana.

Jaja koja ne zadovoljavaju klasu „A“ pripadaju klasi „B“.

Klasiranje jaja u Hrvatskoj prema Pravilniku o kakvoći jaja (2006) istovjetan je kao i klasiranje u zemljama članica Europske unije (EC,2008; EC,2007).

## 2.5.MIKRONUTRIJENTI U JAJIMA

Jaja imaju veliku nutritivnu vrijednost, bogata su bjelančevinama, masnim kiselinama, vitaminima i mineralima (Petrović, 2012a).

Prema Watkins (1995) jaja su dobar izvor vitamina i minerala. Prosječno jaje sadrži vitamin A (12%), vitamine B skupine; (pantotenska kiselina (8%), B6 (6,5 %), tiamin i biotin (3,7 %), B12 (2%), niacin (0,3 %), vitamin D (6%) i vitamin E (3 %).

Bitni minerali koji se nalaze u jaju su jod (I), željezo (Fe), bakar (Cu), cink (Zn), kalcij (Ca), magnezij (Mg) te minerali u tragovima kao što su selen (Se), molibden (Mo) i kobalt (Co) (Watkins,1995).

Posljednjih godina pojavio se veći interes za kokošjim jajima koja su bogata vitaminima (folna kiselina, B12 i vitamin E) i mineralima (jod, selen, željezo) što se postiže hranjenjem kokoši s hranom obogaćenom tim sastojcima s ciljem poboljšanja prehrane ljudi, posebno u zemljama u razvoju.

Potreba stanovništva za jodom koje se ogleda u normalnom radu štitnjače stvaranja njenih hormona riješila se pomoću postupka jodiranja soli. Prosječno kokošje jaje sadrži oko 53 µg joda/100 g, a prehranom kokoši s 5 mg kalijevog jodida/kg hrane povećala se koncentracija joda od 26 do 88 µg .

Selen kao drugi bitni mineral, važan je antioksidans u imunološkom sustavu čovjeka, a njegov nedostatak utječe na živčani sustav i srce. Bogati izvori selena su morski plodovi, pileće meso, a upravo količina selena u jajima ovisi o količini selena koju sadrži hrana za kokoši (Farrell, 2005).

## 2.6. KOLESTEROL

Zbog svoje dostupnosti, niske cijene, dobrih hranjivih sastojaka i lake pripreme, jaja su jedan od najvažnijih prehrambenih proizvoda u svijetu. Potrošnja jaja po glavi stanovnika tijekom posljednjih desetljeća zabilježila je veliko smanjenje, posebno u zapadnim zemljama. Glavnim razlogom smanjenja konzumacije jaja smatra se kolesterol i zasićene masne kiseline u jajima (Cherian, 2013).

U svom radu Petrović (2012a) navodi da se u većini studija dokazalo da umjerena količina jaja u prehrani ne utječe na povećanje udjela kolesterola i triglicerida u krvi, ali i dalje većina liječnika preporučuje da se jaja izbace iz prehrane osoba koje boluju od kardiovaskularnih bolesti.

Prema Petroviću (2012a) prosječni sadržaj kolesterola u jajetu srednje veličine iznosi približno 250 mg, a prema Cherianu (2013) sadržaj kolesterola može varirati od 210 do 215 mg.

Bovet i sur. (2007) navode da jaja imaju visoku vrijednost sadržaja kolesterola, tj. da jedno jaje sadrži približno polovicu maksimalne preporučene dnevne doze kolesterola u iznosu od

300 mg. Prema Američkoj preporuci unos kolesterola ograničava se na četiri jaja (4 žumanjka) tjedno za zdrave osobe i do dva jaja (2 žumanjka) za osobe koje boluju od hiperkolesterolemije. U svom zaključku navodi kako je konzumacija obogaćenih jaja s n-3 PUFA je sigurnija i jeftinija opcija izvora n-3 PUFA, a osobito za osobe koje ne unose dovoljne količine tih kiselina.

U svom radu Cherian (2013) također navodi da unatoč tome kako činjenica da su provedena mnoga istraživanja koja dokazuju da nije uočen direktan učinak konzumacije jaja na kolesterol u krvi nisu dovela do smanjenja straha kod ljudi, niti do povećanja konzumacije istih. U svrhu poboljšanja kvalitete jaja u ishranu kokoši nesilica uvedeni su različiti izvori za povećanje n-3 masnih kiselina i smanjenje zasićenih masnih kiselina.

Fraeye i sur. (2012) u svom radu navode kako sadržaj kolesterola u žumanjku ne ovisi i nije pod utjecajem suplementacije lanenih sjemenki, ribljeg ulja ili heterotrofnih algi.

Rodriguez-Leyva i sur. (2010) ukazuju da je većina studija izvijestila o malom učinku lanenih sjemenki na ukupan kolesterol u krvi.

Ansari i sur. (2006) u svom istraživanju izvijestili su da povećanje omega-3 masnih kiselina znatno smanjuje sadržaj kolesterola.

Glavni izvori za povećanje razine n-3 PUFA masnih kiselina u žumanjku smatraju se riblje ulje, laneno sjeme, DHA zlato (heterotrofne mikroalge), autotrofne mikroalge koji su lako dostupni za ishranu kokoši nesilica (Lemahieu i sur., 2015).

Koncentracije masnih kiselina i kolesterola u žumanjku variraju ovisno o dobi, pasmini i prehrani kokoši nesilica (Guclu i sur., 2008).

## 2.7. OBOGAĆENA JAJA KAO FUNKCIONALNA HRANA

Pojam funkcionalna hrana odnosi se na hranu koja ima određenu hranjivu vrijednost te se sastoji od različitih fizioloških aktivnih tvari koje poboljšavaju i utječu na različite funkcije u organizmu (probavu, rast i razvoj stanica, imunološki i kardiovaskularni sustav).

Obogaćena jaja (tzv. dizajnirana jaja) proizvedena su sa svrhom mijenjanja pojedinih sastojaka u unutarnjem sadržaju te se razlikuju po nutritivnom sastavu od standardnih konzumnih jaja. Dizajnirana jaja imaju povoljan utjecaj na zdravlje čovjeka, a obogaćuju se karotenoidima, vitaminom E, polinezasićenim masnim kiselinama (PUFA), konjugiranom linolnom kiselinom, mineralima, lipidima poput fosfolipida i drugim hranjivim tvarima što se

postiže hranjenjem nesilica hranom obogaćenom lanom, ribljim uljem, heterotrofnim i autotrofnim mikroalgama (Kralik i sur., 2008b; Yalcin i Unal, 2010; Lawlor i sur., 2010; Bruneel i sur., 2013; Lemahieu i sur., 2015; Moran i sur., 2019; Panaite i sur., 2019; Liu i sur., 2020).

Fraeye i sur. (2012) u svom radu upućuju kako postoje mnoga provedena istraživanja koja sadrže podatke i upute na koji način se koriste različiti izvori u obogaćivanju prehrane kokoši nesilica sa sjemenkama lana ili lanenog ulja bogatim ALA, ili EPA i DHA bogato riblje ulje. U novije vrijeme sve se više koriste i istražuju mikroalge kao izvor EPA i/ili DHA.

### 2.7.1. Omega 3 masne kiseline

Osim ugljikohidrata i bjelančevina, važan sastojak u ljudskoj prehrani čine lipidi. Lipidi su važan izvor energije i imaju bitnu ulogu u građi i funkciji stanične membrane. Većina su derivati masnih kiselina, ali sve masne kiseline nemaju istu nutritivnu vrijednost (Lemahieu i sur., 2013).

U prosječnom jaju kao najčešće komponente zastupljene su masne kiseline, trigliceridi i fosfolipidi te isti čine do > 4 g jaja. Masne kiseline koje se nalaze u jaju imaju srednje do duge lance s 14 do 22 atoma ugljika različitih stupnjeva zasićenja i konfiguracije (Cherian, 2013).

Masne kiseline u prirodi dijele se prema broju dvostrukih veza u tri skupine; zasićene masne kiseline (bez dvostrukih veza), mononezasićene masne kiseline (jednostruka veza) i polinezasićenomasne kiseline (sa dvije ili više dvostrukih veza) (Kumar Saini i Keum, 2018).

Najvažnija masna kiselina za ljudsko zdravlje je omega 3 masna kiselina koja pripada skupini polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) kod kojih se dvostruka veza nalazi između trećeg i četvrtog atoma ugljika brojeći od metilnog kraja lanca masnih kiselina (Lemahieu i sur., 2013).

Za ljudsko zdravlje potrebna je ravnoteža n-3 i n-6 PUFA i upravo ta ravnoteža ovisi o hrani i njezinom sadržaju. Preporučeni omjer n-6 /n-3 PUFA ukazuje na nedostatak n-3 PUFA u zapadnjačkoj prehrani. Dokumenti Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA) pokazuju da je unos n-3 PUFA jednak ili malo manji od preporučene dnevne doze od 2 g/dan, dok n-6 PUFA je veći od preporučenog dnevnog unosa od 10 g/dan. Preporučeni omjer n-6/n-3 PUFA iznosi od 3:1 do 10:1. U većini zapadnih europskih zemalja omjer može varirati od 10:1 do

20:1, u SAD- u omjer doseže do 15:1, dok u Japanu do 3:1. Rezultati provedenih istraživanja u Hrvatskoj pokazali su da je omjer n-6/n-3 PUFA u jajima od 11:1 do 35:1 (Beheshti Moghadam i Cherian, 2017; Kralik i sur., 2015; Cherian, 2013; Petrović i sur., 2012 EFSA, 2005, 2009).

Kako bi se izbjegle različite kronične bolesti i očuvalo zdravlje preporučeni omjer n-6 i n-3 PUFA u prehrani iznosi 1: 1- 2: 1 (Kumar Saini i Keum, 2018).

Omega 3 polinezasićenim masnim kiselinama pripadaju  $\alpha$ -linolenska (ALA, C18:3 n-3), eikozapentaenska kiselina (EPA, C 20:5 n-3) i dokozaheksaenska kiselina (DHA, 22:6 n-3).

Većina povoljnih zdravstvenih učinaka vezane su za EPA i DHA, a manje za ALA (Lemahieu i sur., 2015; Fraeye i sur., 2012).

Dokozaheksaenska kiselina (DHA) važna je za mrežnicu oka, mozak i živčana tkiva, krv i sastav krvi (trombociti), testise i sve membrane stanica. A eikozapentaenska kiselina (EPA) ima utjecaj na arterije (antitrombotik i protuupano) (Arantes da Silva i sur., 2009).

Obe masne kiseline (EPA i DHA) općenito imaju pozitivno djelovanje na zdravlje ljudi i pružaju zaštitu protiv kroničnih i metaboličkih bolesti, primjerice pretilosti, šećerne bolesti, neuroloških poremećaja, regulacije tjelesne homeostaze, upalne bolesti, osteoporoze, prijeloma kostiju, kardiovaskularnih bolesti, kao što imaju utjecaj i na hipertenziju, zatim na strukturu i funkciju mozga i dr. (Kumar Saini i Keum, 2018; Cherian, 2013; Fraeye i sur., 2012; Rodriguez-Leyva i sur., 2010; Yalcin i Unal, 2010).

Prema Bovet i sur. (2007) preporučeni dnevni unos za zdrave osobe iznosi 0,3 do 0,5 g EPA/DHA (2 obroka ribe tjedno) i 0,8 do 1,1  $\alpha$ - linolenske kiseline.

Nedostatak n-3 ili n-6 PUFA može uzrokovati negativne utjecaje na fizičke i biokemijske procese u tijelu. Ravnoteža ovih vrsta kiselina ovisi o njihovom sastavu u hrani. Hrana koja je bogata n-6 masnim kiselinama mijenja viskoznost, smanjuje vrijeme krvarenja i vazokonstrukciju, dok povećane količine n-3 masnih kiselina smanjuje potrebu za antioksidansima, agregaciju trombocita i dr. (Kralik i sur., 2015).

Najčešći izvori n-6 masnih kiselina u obliku linolne kiseline s malim udjelom n-3 masnih kiselina linolenska kiselina (ALA) većinom se nalaze u biljnim uljima (repice, soje, kukuruza, suncokreta, ulje šafranike. Chia sjemenke (*Salvia hispanica*), zeleno lisnato povrće i lan (*Linum usitatissimum*) imaju veći udio n- 3 PUFA u obliku ALA. Lan je uljarica s 41- 42 %

neprerađene masti, veoma bogato s 40 – 50 %  $\alpha$ - linolenskom kiselinom (ALA). Laneno sjemenje prepoznato je kao dobar prehrambeni izvor za obogaćivanje n-3 masnim kiselinama u prehrani peradi (Panaite i sur., 2019; Kumar Saini i Keum, 2018; Beheshti Moghadam i Cherian, 2017; Cherian i Quezada, 2016).

Među najbogatijim izvorima n-3 PUFA smatraju se morski plodovi i riba, morske plodove i ribu, kao najbogatiji izvor n-3 PUFA većina stanovnika zapadnih zemalja ne konzumira u dovoljnoj količini zbog visokih cijena, neugodnih mirisa, poteškoća u pripremi što za posljedicu ima da isti veoma rijetko unose preporučeni dnevni unos n-3 masnih kiselina od 250 mg/dan, za razliku od stanovnika zemalja Japana, Filipina, Koreje, Švedske, Norveške, Finske i Islanda koji konzumiraju veće količine ribe pa samim time unose i veće količine n-3 PUFA (Lemahieu i sur., 2013; Fraeye i sur., 2012; Arantes da Silva i sur., 2009).

Zbog navedenih razloga traže se alternativni izvori u prehrani koji bi povećali unos n- 3 PUFA, kao što su primjerice razne autotrofne vrste mikroalgi (*Chlorella*, *Phaeodactylum*, *Nanochloropsis*) (Lemahieu i sur., 2013).

Među čimbenicima koji utječu na razinu i razlike n-3 masnih kiselina su starost i pasmina kokoši nesilica, trajanje, način, vrsta i količina hranjenja (Cherian, 2013).

Povećane razine n-3 PUFA dovode do povećanja oksidacije lipida što utječe na ukupnu kvalitetu jaja, njihovu hranjivu vrijednost, okus koji se može pogoršavati tijekom skladištenja što utječe na organoleptička svojstva i hranjive sastojke jaja (Cherian, 2013).

Većina zdravstvenih organizacija preporuča dnevni unos n-3 PUFA od 1, 4 do 2,5 g/dan, a EPA + DHA u rasponu od 140 do 600 mg/dan (Fraeye i sur., 2012). Dok su Harris i sur. (2009) preporučili dnevni unos EPA + DHA od 250 do 500 mg/dan.

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) preporuča manji dnevni unos ALA (od 0,8 do 1,0 g/dan), a EPA + DHA (od 0,3 do 0,5 g/dan), a LA (od 10 do 12 g/dan) (Beheshti Moghadam i Cherian, 2017).

S obzirom da omega-3 masne kiseline imaju bitnu ulogu u zdravlju čovjeka, ljudi ih ipak ne koriste u dovoljnoj količini. Jedan od boljih načina rješavanja deficita omega-3 masnih kiselina u hrani je prehrana životinja sa sastojcima bogatih omega-3 masnim kiselinama kao što su riblje ulje, lanene sjemenke (mljevene, cjelovite, obrađene), chia sjemenke i mikroalge



(Liu i sur., 2020; Moran i sur., 2019; Cherian i sur., 2013; Yalcin i Unal, 2010; Kralik i sur., 2008b).

Zbog sve većih spoznaja i povećanje svijesti javnosti o utjecaju lanenih sjemenki na zdravlje ljudi dolazi do sve većeg korištenja lana u prehrani. Lanene sjemenke kao bioaktivne komponente sadrže lignane, vlakna i alfa-linolensku kiselinu (ALA).

Istraživanja su pokazala kako lanene sjemenke utječu na smanjenje kolesterola i trans masti, smanjenje napredovanja ateroskleroze, smanjenje visokog tlaka, dijabetesa, na poboljšanje osteoporoze, smanjenje simptoma zatvora i sindroma iritabilnog crijeva. Imaju i pozitivne učinke na rak debelog crijeva, dojke, prostate i dr.

Međutim, osim naprijed navedenih pozitivnih učinaka pokazalo se da lan ima i negativne učinke ukoliko se konzumira količina iznad 100 g sjemenki. Laneno sjeme osim masnih kiselina sadrži i nekoliko drugih komponenata poput topivih vlakana, lignana (fenolni spojevi topivi u vodi), kao i potencijalno toksične spojeve; linatin kao antagonist vitamina B6, cijanohidrin, inhibitor tripsina, fitinska kiselina i dr.

Unatoč činjenici da su uočeni neki negativni utjecaji lana, ipak ne postoje znanstveni dokazi o negativnom učinku lanenih sjemenki kao razlog da se iste ne uvode u prehranu zbog svog negativnog učinka. Kako bi se smanjili negativni učinci antinutrijenata koriste se razne metode prerade lana (zagrijavanje, mljevenje, pečenje, drobljenje)(Parikh i sur., 2019; Beheshti Moghadam i Cherian, 2017).

Ehr i sur. (2017) u svom provedenom istraživanju utvrdili su da antinutrijenti (cijanogeni glikozidi, fitinska kiselina) u lanenim sjemenkama mogu oštetiti probavne organe i usporiti apsorpciju hranjivih tvari kod kokoši nesilica. Hranjenje kokoši nesilica s 20 % mljevenih sjemenki rezultiralo je sa smanjenom proizvodnjom jaja, povećanim unosom hrane i debljanjem u usporedbi s kokošima hranjenim s 0 % i 10 % lanenih sjemenki.

Do sličnih zaključaka došli su i Jia i sur. (2008) koji su izvijestili kako je hranjenje kokoši nesilica s lanom u koncentraciji od 150 g/kg smjese dovelo do smanjenje proizvodnje jaja, povećane potrošnje hrane za životinje, manja težina kokoši nesilica.

Jiang i sur. (1991) i Sparks (2006) preporučili su dodatak lanenog sjemenja u prehrani kokoši nesilica zbog veće količine  $\alpha$ -linoleinske kiseline koja je prekursor EPA i DHA, dok Husvethi

sur. (2003) i Sparks (2006) preporučuju dodatak ribljeg ulja u prehrani kokoši nesilica jer riblje ulje ima EPA i DHA.

Promjenom načina prehrane kokoši nesilica može se mijenjati i profil masnih kiselina u žumanjku jaja. Kokoši nesilice mogu lako unijeti omega-3 masne kiseline iz hrane te ih taložiti u žumanjku za što im je potrebno oko dva tjedna prilagodbe na prehranu obogaćenu izvorima omega-3 masnih kiselina. Mljevene lanene sjemenke dobar su izvor masnih kiselina koje koriste proizvođači peradi (Ehr i sur., 2017; Kralik i sur., 2015; Fraeye i sur., 2012).

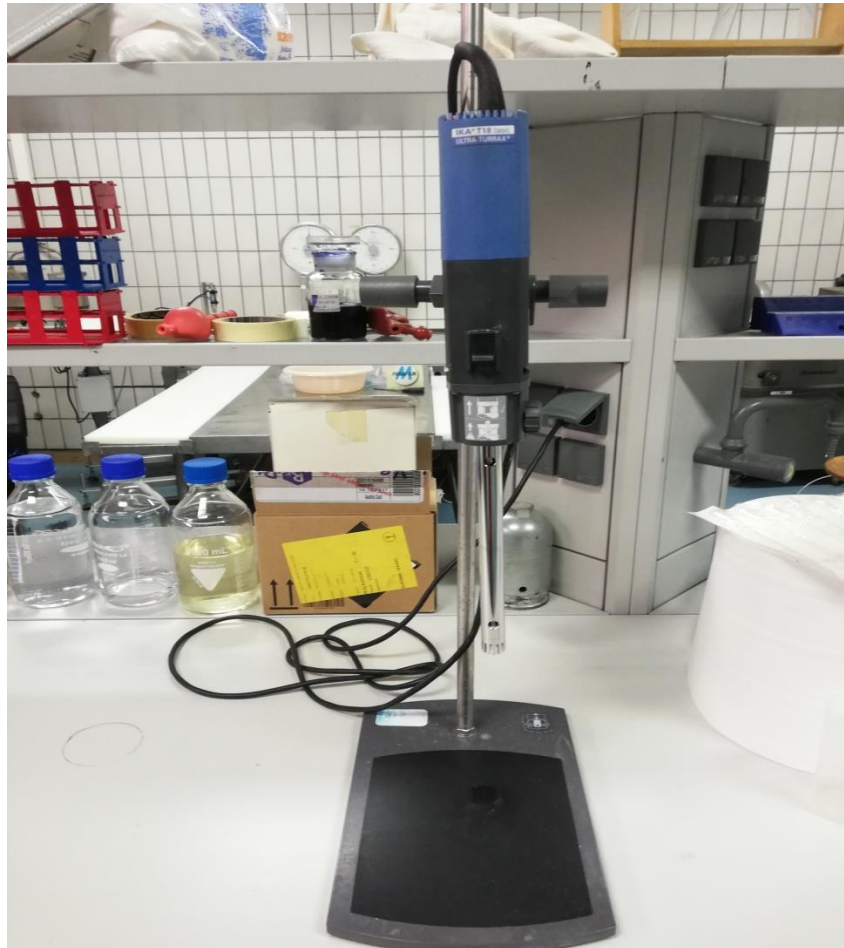
## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJALI

#### 3.1.1. Uzorci kokošjih jaja

Istraživanje je provedeno na ukupno osam uzoraka. Uzorci su bili podijeljeni u dvije skupine: četiri uzorka jaja bila su kontrolni uzorci i četiri uzorka obogaćenih jaja.

Uzorci jaja kontrolne skupine bila su od kokoši nesilica hranjenih uobičajenom prehranom, a uzorci obogaćenih jaja od kokoši nesilica koje su hranjene ishranom koja je bila obogaćena lanenim sjemenkama. Svi uzorci jedne i druge skupine jaja nabavljeni su od istog proizvođača.



**Slika 5.** Uređaj za homogeniziranje uzoraka Ultra – Turrax (IKA – Werke GmbH& Co.KG, Staufen, Njemačka) (vlastita fotografija)

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Određivanje udjela masti po Smedesu

*Princip:* Masti se ekstrahiraju pomoću organskih otapala, cikloheksana i propan-2-ola. Dodatkom vode prelaze u nepolarnu organsku fazu tj. cikloheksanski sloj te slijedi centrifugiranje kojim se postiže odvajanje faza. Masti se određuju gravimetrijski nakon odvajanja iz cikloheksanskog sloja i otparavanja.

*Laboratorijski pribor:*

- Analitička vaga (ABT 220-4M, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Ultra-Turrax (IKA- Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Njemačka)
- Centrifuga (ROTINA 380 R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Njemačka)
- Rotavapor (B-490, BÜCHI, Flawil, Švicarska)
- Sušionik (ST-01/02, Instrumentaria Zagreb, Hrvatska)
- Tikvica s okruglim dnom
- Pipete

*Reagensi:*

- Deionizirana voda
- Propan-2-ol: ACS grade (Carlo Erba Reagents, Rodano, Italija)
- Cikloheksan: ACS grade (Fisher Chemical, Hampton, USA)
- Otopina A: propan-2-ol–cikloheksan (w/w), 16-20 (16 g propan-2-ol + 20 g cikloheksan)
- Otopina B: 13 % (w/w) propan-2-ol u cikloheksanu (13 g propan-2-ol + 87 g cikloheksan)

*Postupak:*

Izvagano je 2,5 g pripremljenog uzorka u tubu za centrifugu od 50 mL i dodano 18 mL otopine A. Uzorak je homogeniziran na Ultra-Turraxu 2 min pri broju okretaja od 11000 do 13000 rpm i dodano je 10 ml vode te je uzorak ponovno homogeniziran u vremenskom trajanju od 1 min na istom broju okretaja. Prilikom centrifugiranja tako pripremljenog uzorka u vremenskom trajanju od 5 min na 2000 rpm došlo je do odvajanja faza (slika 6). Gornja organska faza kvantitativno je odvojena pipetom u prethodno osušenu i izvagano tikvicu s

okruglim dnom. Preostaloj vodenoj fazi u tubi za centrifugu dodano je 10 mL otopine B te homogenizirano pomoću Ultra-Turraxa u vremenskom trajanju od 1 min na istom broju okretaja. Odvajanje faza postiglo se centrifugiranjem pri istim uvjetima, a organska faza izdvojila se u tikvicu s okruglim dnom koja sadrži prvi ekstrakt. Iz tikvice otpareno je otapalo pomoću rotavapora na temperaturi 51 °C i tlaku 235 mbar i sušeno je u sušioniku 1 h na temperaturi 105 °C. Nakon hlađenja tikvica je izvagana i preračuna se udio ekstrahirane masti.

Račun:

Količina masti računa se prema formuli:

$$Količina\ masti = \frac{a \cdot 100}{b} [\%] \quad [5]$$

gdje je:

a – masa ekstrahirane masti (g)

b – masa ispitivanog uzorka (g)



**Slika 6.** Rotavapor (B-490, BÜCH, Flawil, Švicarska) (vlastita fotografija)

### 3.2.2. Određivanje sastava masnih kiselina

Princip: Uzorci masti dobiveni su ekstrakcijskim postupkom po Smedesu koji se koristi za određivanje sastava masnih kiselina u kokošjim jajima. Za određivanje sastava masnih kiselina u uzorcima masti plinskom kromatografijom potrebno je prevesti masne kiseline u njihove metilne estere. Identifikacija pojedinih masnih kiselina provedena je usporedbom vremena zadržavanja metilnih estera pojedine masne kiseline s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese 37 masnih kiselina (F.A.M.E. C4 - C24, Supelco) poznatog sastava.

Laboratorijski pribor:

- Epruete od 10 mL
- Vortex (MS2 Minishaker, IKA-Werke GmbH & Co.KG, Staufen, Njemačka)
- Plinski kromatograf (6890N Network GC System, Agilent Technologies, Santa Clara, SAD)

Reagensi:

- Izooktan
- Metanolna otopina KOH ( $c = 2 \text{ mol L}^{-1}$ )
- Natrijev hidrogensulfatmonohidrat

Postupak:

#### 1) Priprema metilnih estera masnih kiselina

Metilni esteri pripremljeni su metodom po Bannonu, ISO 5509:2000. Odvagano je 60 mg uzorka masti te je otopljeno u 4 ml izooktana u eprueti volumena od 10 mL sa staklenim čepom. Potom je u epruvetu dodano 200  $\mu\text{L}$  metanolne otopine KOH ( $c = 2 \text{ mol L}^{-1}$ ) te se ista snažno protresla oko 30 sekundi i ostavila na sobnoj temperaturi da izreagira. Nakon što se reakcijska smjesa izbistrila i odvojio glicerolni sloj na dnu epruvere, u nju je dodano 1 g natrijeva hidrogensulfatmonohidrata kako bi se smjesa neutralizirala. Bistra otopina prebacila se u vijalicu.

#### 2) Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom

Metilni esteri masnih kiselina analizirani su metodom ISO 5508:1990. Pripremljen uzorak analiziran je na plinskom kromatografu Agilent Technologies 6890N Network GCSystem

(Santa Clara, SAD) opremljenom s plamenoionizacijskim detektorom (FID) koji je preko kanala spojen na računalo.

U kompjuterskom sustavu zadani su uvjeti analize koji su postavljeni nakon provedenih preliminarnih ispitivanja po kojima su odabrani optimalni uvjeti (temperatura kolone, detektora, injektora i „aux-a“, protok plina i količina injektiranog uzorka).

GC parametri:

- Kolona: kapilarna DB-223 (Agilent), 60 m x 0,25 mm, debljina filma 0,25  $\mu\text{m}$
- Stacionarna faza: cijanopropil – silikon
- Temperature kolone: programirana, početna temperatura 60  $^{\circ}\text{C}$  koja se povećava brzinom od 7  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  do konačne temperature 220  $^{\circ}\text{C}$  gdje se zadržava 17 min
- Plin nosioc: helij
- Protok plina nosioca: 1,5 mL  $\text{C min}^{-1}$
- Temperatura injektora: 250  $^{\circ}\text{C}$
- Omjer razdjeljenja (split): 1:30
- Temperatura detektora: 280  $^{\circ}\text{C}$
- Količina injektiranog uzorka: 1  $\mu\text{L}$

### 3.2.3. Obrada podataka

Statistička analiza dobivenih podataka provedena je korištenjem jednosmjerne analize varijance (one-way ANOVA) uz razinu značajnosti od 5 % odnosno  $p < 0,05$  pomoću kompjuterskog programa SPSS 17.0.



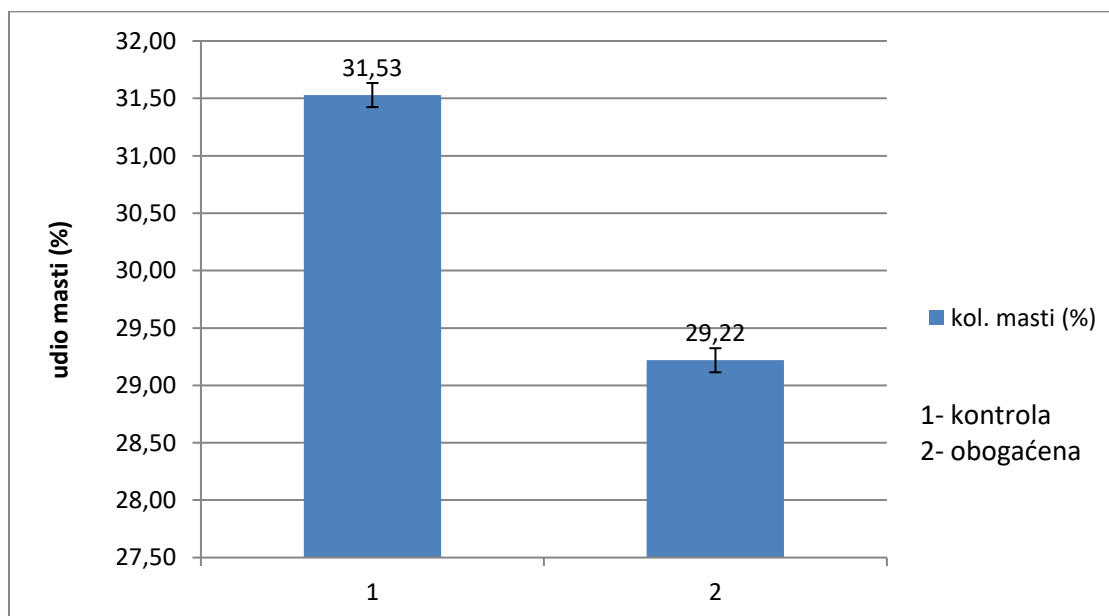
## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu određen je udio masti u kontrolnim i obogaćenim jajima metodom po Smedesu, a sastav masnih kiselina u kontrolnim i obogaćenim jajima pomoću plinske kromatografije.

Na temelju dobivenih rezultata izračunata je p-vrijednost koja pokazuje postoje li statistički značajne razlike između dobivenih rezultata kontrolnih i obogaćenih jaja. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti  $\pm$  standardna pogreška.

Analiza je provedena na osam uzoraka kokošnjih jaja, od čega su četiri uzroka bila iz kontrolne skupine, a četiri uzorka iz obogaćenih jaja. Uzorci kokošnjih jaja potječu od istog proizvođača koji jaja stavlja na hrvatsko tržište.

Na temelju dobivenih rezultata ovog istraživanja definiran je graf koji prikazuje udio masti u uzorcima kontrolnih i obogaćenih jaja. Udio masti u uzorcima kontrolnih jaja iznosio je  $31,53 \pm 0,90$  %, dok je u uzorcima obogaćenih jaja udio masti bio  $29,22 \pm 0,65$  %. Iz grafa je vidljivo kako je razlika u hranjenju kokoši nesilica utjecala na ukupni određeni udio masti u uzorcima kontrolnih i obogaćenih jaja, tj. bilo je statistički značajne razlike ( $P > 0,05$ ) između ispitivanih uzoraka, a isti je iznosio 0,105 (slika 7).



- rezultati su izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna pogreška

**Slika 7.** Udio masti u uzorcima kontrolnih i obogaćenih jaja određen metodom po Smedesu

Schreiner (2006) određivao je udio masti metodom po Smedesu te su njegovi rezultati između dvije skupine uzoraka (orginalna i modificirana jaja) iznosili  $31,82 \pm 0,89$  % i  $34,87 \pm 0,88$  što je slično kao u ovom istraživanju.

Antrujeo i sur. (2011) u svom istraživanju hranili su kokoši nesilice različitim sjemenkama (lan, uljana repica, chia). Udio masti u jajima određen je gravimetrijski, a rezultati udjela masti prikazani su kao prosjek ukupnog udjela masti. Udio masti u uzorcima jaja kokoši nesilica hranjenih lanenim sjemenkama iznosio je 34,97 %, a uzorcima jaja kokoši nesilica hranjenih sa sjemenkama uljane repice bio je 34,14 %, a kod onih hranjenih s chia sjemenkama iznosio je 28,27 %.

Cherian (2013) u svom radu također je naveo kako je udio masti u žumanjku jaja iznosio 31-33 %.

Sastav masnih kiselina između kontrolnih i obogaćenih jaja razlikuje se s obzirom na način prehrane kokoši nesilica.

Statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) s obzirom na vrstu jaja (kontrolna i obogaćena), određena je za ukupno 17 masnih kiselina iz svih skupina (SFA, MUFA i PUFA) od sveukupnih 18 prisutnih masnih kiselina.

Najzastupljenije masne kiseline u uzrocima kontrolnih i obogaćenih jaja su zasićene palmitinska (C16:0) i stearinska (C18:0) te nezasićene oleinska (C18:1c) i linolna (C18:2c n6) kiselina.

U uzorcima kontrolnih jaja najveći udio zasićenih masnih kiselina (SFA) ima palmitinska (C16:0) (21,78%) i stearinska (C18:0) (7,34 %) za razliku od obogaćenih jaja koja sadrže u svom sastavu 24,26 % palmitinske i 13,95% stearinske kiseline. Upravo maseni udjeli palmitinske i stearinske kiseline pokazuju statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) između kontrolnih i obogaćenih jaja.

Najveći maseni udio nezasićenih masnih kiselina (MUFA i PUFA) zastupljenih u kontrolnim jajima ima oleinska kiselina (C18:1c) s udjelom od 41,73 % te linolna kiselina (C18:2c n6) s udjelom od 21,93%, dok je kod obogaćenih jaja zastupljenost oleinske kiseline s udjelom od 33,75% i linolne kiseline smasenim udjelom od 16,40 %. Za zaključiti je da su maseni udjeli oleinske i linolne kiseline zastupljeni u kontrolnim i obogaćenim jajima također pokazali statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$  %).

Najmanje zastupljena masna kiselina u kontrolnim i obogaćenim jajima je pentadekanska kiselina(C15:0) (0,08 i 0,06 %).

**Tablica 2.** Sastav masnih kiselina (% od ukupne masti) u kontrolnim i obogaćenim jajima

MASNE KISELINE	JK	JL	<i>p-vrijednost</i>
C14:0	0,23±0,00 <sup>a</sup>	0,31±0,00 <sup>b</sup>	0,000
C15:0	0,08±0,00 <sup>b</sup>	0,06±0,00 <sup>a</sup>	0,000
C16:0	21,78±0,21 <sup>a</sup>	24,26±0,07 <sup>b</sup>	0,000
C16:1	1,51±0,07 <sup>b</sup>	1,36±0,01 <sup>a</sup>	0,012
C17:0	0,24±0,00 <sup>a</sup>	0,30±0,00 <sup>b</sup>	0,000
C17:1	0,11±0,00 <sup>b</sup>	0,08±0,00 <sup>a</sup>	0,000
C18:0	7,34±0,01 <sup>a</sup>	13,95±0,06 <sup>b</sup>	0,000
C18:1c	41,73±0,08 <sup>b</sup>	33,75±0,15 <sup>a</sup>	0,000
C18:2c n6	21,93±0,18 <sup>b</sup>	16,40±0,07 <sup>a</sup>	0,000
C18:3n6	0,14±0,00 <sup>b</sup>	0,08±0,00 <sup>a</sup>	0,000
C18:3n3	1,05±0,02 <sup>a</sup>	5,54±0,04 <sup>b</sup>	0,000
C20:1	0,20±0,01 <sup>b</sup>	0,15±0,00 <sup>a</sup>	0,000
C20:2	0,23±0,01 <sup>b</sup>	0,16±0,00 <sup>a</sup>	0,000
C20:3n6	0,21±0,02	0,18±0,01	0,138
C20:4n6	2,04±0,01 <sup>b</sup>	1,21±0,01 <sup>a</sup>	0,000
C20:3n3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,12±0,00 <sup>b</sup>	0,000
C20:5n3 EPA	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,10±0,00 <sup>b</sup>	0,000
C22:6n3	1,18±0,02 <sup>a</sup>	1,98±0,01 <sup>b</sup>	0,000

JK- kontrolna jaja; JL- obogaćena jaja

\*Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna pogreška. Različita slova (a i b) u istom redu označavaju statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ )

Od ukupno 18 različitih masnih kiselina kod obogaćenih jaja identificirane su dvije masne kiseline više, nego li u uzorcima kontrolnih jaja, a to su upravo eikozatrienska kiselina (C20:3n3) i eikozapentaenska (C20:5n3).

Kod eikozatrienske kiseline (C20:3n3) zabilježen je mali porast od 0,12 % u obogaćenim jajima u odnosu na kontrolna jaja gdje je 0,00 %. Kod eikozapentaenske kiseline (EPA) (C20:5n3) također je zabilježen porast s 0,00 % u kontrolnim jajima na 0,10 % u obogaćenim jajima.

Maseni udjeli eikozatrienske i eikozapentaenske kiseline zastupljeni u obogaćenim jajima pokazuju statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$  %).

U ovom istraživanju najveće povećanje zabilježeno je kod  $\alpha$ -linolenske kiseline (ALA) (C18:3n3) gdje je u kontrolnim jajima maseni udio iznosio 1,05%, a u obogaćenim jajima 5,54 % i kod dokozaheksaenske kiseline (DHA) (C22:6n3) s masenim udjelom u kontrolnim jajima s masenim udjelom 1,18 % u odnosu na udio od 1,98 % u obogaćenim jajima.

Hayat i sur. (2009) u svom istraživanju također su izvijestili o povećanju  $\alpha$ -linolenske kiseline (ALA) s 0,1 % na 1,05 %, dokozaheksaenske kiseline (DHA) s 2,07 % na 3,7 %, a za eikozapentaenske (EPA) nije bilo promjena.

U svom istraživanju Corrales-Retana i sur. (2020) navode kako je najveće povećanje zabilježeno kod  $\alpha$ -linolenske kiseline (ALA) i dokozaheksaenske kiseline (DHA). Maseni udio  $\alpha$ -linolenske kiseline kod kontrolnih jaja iznosio je 2,8 %, a u obogaćenih jaja bio je 15,0 %. Maseni udio dokozaheksaenske kiseline (DHA) u kontrolnim jajima iznosio je 3,8 % u odnosu na obogaćena jaja gdje je maseni udio bio 6,5 %. Kod eikozapentaenske kiseline (EPA) nije bilo značajnih promjena između kontrolnih i obogaćenih jaja. Maseni udio u kontrolnim jajima bio je 0,1 %, a u obogaćenih jaja iznosio je 0,3 %.

Fraeye i sur. (2012) u svom istraživanju navode kako dodatkom lanenog sjemena u prehrani kokoši nesilica dolazi do proporcionalnog povećanja ALA u žumanjku, a u manjoj mjeri povećava se i koncentracija DHA u žumanjku.

Scheideler i Froning (1996) u svom istraživanju koristili su različite koncentracije lanenog sjemenja. U kontrolnim jajima zabilježili su 0,26 % ALA i 0,52 % DHA. Koristeći 5 %

lanenih sjemenki postotak ALA bio je 2,01 %, a DHA 1,83 %. Dodatkom 10 % lanenih sjemenki maseni udio ALA se povećao na 4,23 %, a DHA se smanjila na 1,70 %. Najveći zabilježeni porast ALA bio je nakon korištenja 15 % lanenih sjemenki, a iznosio je 7,07 %. Maseni udio za DHA koristeći 15 % lanenih sjemenki bio je 1,78 %.

Svojim istraživanjem Ansari i sur. (2006) također su uočili da dolazi do povećanja  $\alpha$ -LNA u jajima kokoši nesilica koje su hranjene s različitim koncentracijama lanenih sjemenki u odnosu na kontrolna jaja. Kod koncentracija od 5%, 10% i 15 % lanenih sjemenki dodanih u hranu kokoši nesilica dolazi do porasta  $\alpha$ -LNA i isti iznose u obogaćenim jajima 18,4 %, 22,8 % i 21,5 %, a u kontrolnim jajima bio je 10,5 %.

Perić i Drinić (2021) uočili su da kod kokoši hranjenih s 5 % i 10 % lanenih sjemenki dolazi do povećanja  $\alpha$ -LNA nakon 5. i 10. tjedna. U 5. tjednu koncentracija  $\alpha$ -LNA u kontrolnim jajima iznosi 0,47 %, a u 10. 0,72 %. Obogaćena jaja kokoši nesilica hranjenih s 5 % lanenih sjemenki u 5. tjednu pokazala su povećanje koncentracije s 0,47 % na 3,05 %, a u 10. tjednu s 0,72 % na 3,27 %.

Veće povećanje koncentracije zabilježeno je kod obogaćenih jaja kokoši nesilica hranjenih s 10 % lanenih sjemenki. Rezultati rada pokazuju povećanje koncentracije s 0,47 % u kontrolnim jajima na 5,86 % u 5. tjednu i s 0,72 % na 7,2 % u 10. tjednu u obogaćenim jajima.

Ehr i sur. (2017) svojim istraživanjem zaključili su da se ukupne omega-3 masne kiseline (ALA, EPA i DHA) u žumanjku jaja linearno povećaju dodatkom lanenog ulja i mljevenih lanenih sjemenki. Nadalje su zaključili kako je povećavanje koncentracije lanenog ulja i mljevenog lanenog sjemena u prehrani kokoši ukazalo na povećanje koncentracije ALA u žumanjku.

U svom radu navode da sjeme lana sadrži sedam puta više količine  $\alpha$ -ALA u odnosu na sojino i kukuruzno ulje s tri puta manjim udjelom omega-6 linolenske kiseline, a cijelo laneno sjeme sastoji se od 30 do 40 % masti s 50 % sastava  $\alpha$ -ALA i 15 % linolne kiseline (LA; C18:2; omega-6 masna kiselina). Istraživanjem je utvrđeno da jaja kokoši nesilica hranjenih bez dopune lanenih sjemenki imaju 93 mg ALA i ukupno 173 g omega-3 masnih kiselina (ALA, EPA i DHA) / 50 g jaja. Međutim, dodavanjem dopune s 15 % lanenih sjemenki dolazi do povećanja ALA i ukupne količine omega-3 masnih kiselina na 358 mg i 468 mg / 50 g jaja.

Njihov zaključak bio je identičan sa zaključkom istraživanja koje je proveo Petrović i sur. (2012b).

Istraživanjem Petrović i sur. (2012b) zaključili su da je dodavanjem lanenog ulja u prehranu kokoši nesilica došlo do većeg povećanja n-3 PUFA (C18:3n3, C20:3n3, C20:5n3, C22:6n3) i do smanjenja n-6 PUFA (C18:3n6, C20:3n6, C20:4n6). Najveće povećanje zabilježeno je za  $\alpha$ -linolensku kiselinu (C18:3 n3) (0,50 % - 3,22 %) i dokozaheksaensku kiselinu (C22:6n3) (0,74%-1,72 %). Značajno smanjenje uočeno je kod arahidonske kiseline (C20:4n6) s masenog udjela 1,75 % na 1,32 % i kod  $\gamma$ -linolenske kiseline (C18:3n6) gdje iznosi 0,09 % na 0,08 %.

Caston i sur. (1994) unutar provedenog istraživanja također su utvrdili povećanje ALA i DHA u obogaćenim jajima nakon hranjenja kokoši lanenim sjemenkama različitim koncentracijama (0 %, 10 % i 20 %) i blagi porast EPA. Hraneći kokoši nesilice s 0 % lanenih sjemenki uočili su blagi porast ALA-e (0,71 %) i DHA-e (0,79 %), dok kod EPA-e nije zabilježena promjena (0,00 %). Povećanjem koncentracije lanenih sjemenki na 10 % došlo je do većeg porasta ALA (6,79 %) i DHA (2,03 %) te malog porasta EPA (0,03 %). Najveći porast zabilježen je kod hranjenja kokoši nesilica s 20 % lanenih sjemenki. Maseni udio za ALA-u iznosio je 12,78 %, a za DHA 2,18 %, dok je za EPA bio 0,31 %.

Autori Beheshti Moghadami i Cheriana (2017) u svojim istraživanjima izvijestili su kako se dodatkom jedne porcije od dva jaja kokoši hranjenih s 10 % lana može osigurati 600 do 800 mg ALA, 160-190 mg EPA + DHA i 760 do 990 mg ukupnih omega-3 masnih kiselina i upravo bi se na taj način moglo zadovoljiti preko 65 % dnevnog unosa ALA u zapadnjačkom načinu prehrane.

U svom radu Panaite i sur. (2019) navode kako dolazi do povećanja  $\alpha$ -linolenske (ALA) ako se kokoši nesilice hrane kombinacijom lanenog brašna i rižinih mekinja, a u tom slučaju porast je iznosio 0,24 % u kontrolnim i u obogaćenim jajima 0,85 %.

U istraživanju Ferrrier i sur. (1995) koristili su lanene sjemenke za povećanje razine  $\omega$ -3 PUFA u jajima. U ishranu kokoša dodali su 10 % i 20 % lanenog sjemena što je dovelo do povećanja  $\alpha$ -ALA u kontrolnim (28 mg - 261 mg) jajima i do 527 mg u obogaćenim jajima. Također je došlo i do povećanja razine DHA s 51 mg na 81 i 87 mg po jaju.

U svom znanstvenom radu Perić i Drinić (2021) ukazali su da u obogaćenim jajima, osim povećanja  $\alpha$ -LNA dolazi i do povećanja EPA i DHA kod kokoši nesilica hranjenih s 5 % i 10

% lanenih sjemenki kroz pet i deset tjedana u odnosu na kontrolna jaja. EPA u kontrolnim jajima u 5. i 10. tjednu je 0,00 %, a DHA u 5. tjednu iznosi 1,84 % i 1,87 % u 10. tjednu. Razina EPA u 5. tjednu kod obogaćenih jaja kokoši nesilica hranjenih s 5 % lanenih sjemenki iznosila je 0,02 %, a u 10. tjednu je 0,00 %, a DHA 3,77 % u 5. tjednu i 2,89 % u 10. Međutim, kod obogaćenih jaja kokoši nesilica hranjenih s 10 % lanenih sjemenki razina EPA u 5. tjednu iznosila je 0,14 %, a u 10. 0,08 %. Razina DHA iznosi 4,30 % u 5. i 3,68 % u 10. tjednu, što ukazuje na znatno povećanje DHA u obogaćenim jajima kokoši hranjenih s 10 % lanenih sjemenki.

U svom radu, Aymond i Van Elswyk (1995) utvrdili su kako se sadržaj ALA povećao s 13 na 212 mg, a DHA s 28 na 90 mg u jajukokoši hranjenjem s 15 % mljevenog lana što upravo ukazuje na sposobnost da kokoši mogu pretvoriti ALA u DHA.

U svom istraživanju Lemahieu i sur. (2015) pokazali su kako se dodatkom lanenih sjemenki u ishranu kokoši nesilica (120 mg dodatnih n-3 PUFA na 100 g hrane ili 0,56 g lanenih sjemenki na 100 g hrane) povećala razina ALA ( $19,2 \pm 2,5$  mg po jaju) i DHA ( $33 \pm 4$  mg po jaju) u žumanjku, a u kontrolnim jajima razina ALA ( $9,9 \pm 1$  mg po jaju) i DHA ( $21 \pm 3$  mg po jaju).

Kralik i sur. (2015) u svom radu istraživali su načine obogaćivanja jaja gdje je jedan od jednostavnijih načina bilo hranjenje kokoši nesilica s lanenim uljem bogatom  $\alpha$ -LNA koja je prekursor EPA i DHA i obogaćivanje prehrane s ribljim uljem gdje se nalazi DHA.

Isti autori dokazali su kako dodavanjem lanenog i ribljeg ulja u ishranu kokoši nesilica rezultira promijenjenim sastavom masnih kiselina uz povećanje n-3 masnih kiselina. Do takvih rezultata došli su i drugi autori (Kralik i sur., 2015; Kralik i sur., 2008b; Rizzi i sur., 2003; Schneideler i Froning, 1996).

Kralik i sur. (2008b) u svom istraživačkom radu uočili su trend blagog povećanja sadržaja n-6 PUFA u lipidima žumanjka jaja kokoši nesilica koje su se hranile kroz mjesec dana s većim količinama lanenog ulja u kombinaciji s ribljim uljem, što je rezultiralo povećanjem sadržaja  $\alpha$ -LNA (C18:3n3) u obogaćenim jajima, a isti iznosi 4,10 %, za razliku od masenih udjela kontrolnih jaja gdje je razina  $\alpha$ -LNA 0,43 % te su zaključili da povećanjem količine lanenog ulja i smanjenje ribljeg ulja u ishranu kokoši nesilica dolazi do značajnog smanjenja ( $P < 0,001$ ) sadržaja SFA i povećanja n-3 PUFA u lipidima žumanjka.

U svom radu zaključili su kako različite koncentracije ribljeg i lanenog ulja dovode do značajne promjene na profil masnih kiselina u žumanjku, posebice na SFA i n-3 PUFA. Dodatkom lanenog i ribljeg ulja u prehranu kokoši nesilica dovode do statističke značajne razlike ( $P < 0,01$ ) u sadržaju miristinske (C14:0), palmitinske (C16:0) i behenske kiseline (C22:0). Također su dokazali kako se povećanjem lanenog ulja, a smanjenjem ribljeg ulja može utjecati na snižavanjem pojedinih masnih kiselina osim stearinske (C18:0) i ukupnih SFA u lipidima žumanjka što kao krajni rezultat ima povoljni učinak na zdravlje ljudi.

U provedenom istraživanju Yalcin i Unal (2010) hranili su kokoši nesilice kroz 15 i 30 dana s ribljim uljem (1,5 %), mješavinom lanenog sjemenja (10%) i ribljeg ulja (1,5%), kontrolnu skupinu hranjena je sa standardnom hranom. Kod uzoraka jaja kokoši nesilica hranjenih ribljim uljem razina EPA-enakon 15 dana bila je 0,87 %, a 0,82 % nakon 30 dana, za razliku od uzoraka jaja kokoši nesilica hranjenih mješavinom lanenih sjemenki i ribljeg ulja razina EPA-e iznosila je 0,49 % nakon 15 dana i 0,55 % nakon 30 dana u odnosu na kontrolna jaja gdje EPA nije utvrđena.

Vrijednosti DHA za uzorke jaja kokoši nesilica hranjenih s ribljim uljem nakon 15 i 30 dana iznosile su 4,85 % i 4,92 % u usporedbi s jajima kokoši nesilica hranjenih mješavinom lanenog sjemenja i ribljeg ulja gdje su vrijednosti DHA-e bile 3,29 % i 3,91 %. Razina DHA-e u kontrolnoj skupini utvrđena i ista je iznosila 1,03 %.

Međutim, sadržaj  $\alpha$ -linolenske kiseline nakon 15 dana iznosila je 0,45 %, a nakon 30 dana bila je 0,49 % u jajima kokoši nesilica hranjenih ribljim uljem u odnosu na jaja kontrolne skupine gdje je iznosila 0,43 %. U uzrocima jaja kokoši nesilica hranjenih mješavinom lanenog sjemenja i ribljeg ulja, sadržaj  $\alpha$ -linolenske kiseline iznosio je 3,61 % odnosno 4,10 %. Yalcin i Unalu (2010) tvrdili su kako su obogaćena jaja kokoši nesilica hranjenih s ribljim uljem zdravija za potrošače zbog reduciranih zasićenih masnih kiselina (SFA) i povećanih PUFA te da ista smanjuju porast kolesterola u krvi (LDL) u usporedbi s konvencionalnim jajima.

U radu Lawlor i sur. (2010) istaknuli su kako prehrana na bazi lana ne daje jaja dovoljno obogaćena EPA-om i da se znatno obogaćivanje EPA-om može uključiti riblje ulje i brašno. Ali „riblji“ mirisi i okusi smatraju se nepoželjnom karakteristikom pa upravo kako bi se to izbjeglo proizvod iz ribljeg ulja (MFO-menhaden ulje) se mikrokapsuliralo i uključuje 180 g/kg EPA i 120 g / kg DHA u granuliranom obliku kao sredstvo za uvođenje tih masnih kiselina u prehranu kokoši nesilica.



Lemahieu i sur. (2015) u svom radu navode kako ipak treba ograničiti količinu ribljeg ulja koja se dodaje u ishranu kokoši nesilica, a kako bi takva jaja bila prihvatljiva za konzumaciju. Kako bi se izbjegli neugodni mirisi, razina ribljeg ulja ne smije prelaziti 1,5 % (prag za neukusne arome) što su također u svojim radovima navodili i drugi autori (Fraeye i sur., 2012; Lawlor i sur., 2010).

Scheideler i Froning (1996) u svom istraživanju koristili su laneno sjeme ili laneno ulje bogato  $\alpha$ -LNA kako bi izbjegli nepovoljan miris ribe koristeći riblje ulje te pritom utvrdili kako kokoši nesilice hranjene lanenim uljem mogu pretvoriti  $\alpha$ -LNA u EPA i DHA pomoću enzimadesaturaze i elongaze.

U svom radu Fraeye i sur. (2012) ističu da je sposobnost pretvorbe ALA u DHA kod kokoši nesilica ograničena kao i kod ljudi zbog niske aktivnosti enzima desaturaze koji sudjeluje u pretvorbi. Na učinkovitu pretvorbu utječe više faktora, među kojima je prisutnost visokih količina n-6 PUFA u prehrani koje se natječu za enzim desaturazu uzrokujući smanjenje pretvorbe ALA u EPA i DHA, kao i omjer n-6 / n-3 PUFA.

Nadalje, Petrović i sur. (2012b) u svom radu navode da se  $\alpha$ -linolenska kiselina (C18:3n3) i linolna kiselina (C18:2n6) natječu za isti enzim desaturazu gdje će veće količine  $\alpha$ -linolenske kiseline iz hrane smanjiti pretvorbu linolne kiseline u arahidonsku (C20:4n6), kao i omjer n-6 / n-3 PUFA u korist n-3 PUFA.

U svom radu Hayat i sur. (2009) došli su do zaključka kako dodatak od 10 % lana u ishranu kokoši nesilica rezultira smanjenjem arahidonske kiseline s 4,36 % u kontrolnim, odnosno 3,80 % u obogaćenim jajima.

Rezultati ovog istraživanja također su pokazali smanjenje koncentracije arahidonske kiseline. U kontrolnim jajima maseni udio arahidonske kiseline (C20:4n6) iznosio je 2,04 %, a u obogaćenim jajima 1,21 % (tablica 2).

Caston i sur. (1994) istraživanjem utjecaja lanenih sjemenki različitih koncentracija (10 % i 20 %) zaključili su da je došlo do povećanja arahidonske kiseline (C20:4n6) u obogaćenim jajima s 10 % lanenih sjemenki s 1,97 % na 2,04 %. Do smanjenja arahidonske kiseline s 1,97 % na 1,77 % zabilježeno je kod obogaćenih jaja kokoši nesilica hranjenih s 20 % lanenih sjemenki.

Autori Sari i sur. (2002) , Husveth i sur. (2003), Petrović i sur. (2012b) i Beheshti Moghadam i Cherian (2017) u svojim istraživanjima utvrdili su da povećanje n-3 PUFA u lipidima žumanjka uzrokuje smanjenje koncentracije arahidonske kiseline (C20:4n6). Do istog zaključka došli su i Van Elswyk i sur. (1992) koji su otkrili smanjenje razine arahidonske kiseline u obogaćenim jajima i to čak oko 70 % u odnosu na kontrolna jaja. Istraživanje Kralik i sur. (2008b), za razliku od naprijed navedenih istraživanja, pokazala su da nije došlo do smanjenja koncentracije arahidonske kiseline.

U istraživanju Corrales-Retana i sur. (2020) izvijestili su da je uočeno smanjenje arahidonske kiseline u lipidima žumanjka između uzoraka kontrolnih i obogaćenih jaja. U kontrolnoj skupini razina arahidonske kiseline iznosila je 7,3 %, dok je u skupini obogaćenih jaja razina bila 5,6 %.

Perić i Drinić (2021) u svom radu također su uočili smanjenje arahidonske kiseline kod kokoša hranjenih s 5 % i 10 % lanenih sjemenki kroz 5. i 10. tjedan. U kontrolnoj skupini nakon pet tjedana udio arahidonske kiseline iznosio je 3,72 %, a u 10. tjednu 2,34 %. Kod obogaćenih jaja kokoši nesilica hranjenih s 5 % lanenih sjemenki udio arahidonske kiseline nakon pet tjedana iznosio je 2,55 %, a nakon deset tjedana 1,63 %. Međutim, kod kokoši hranjenih s 10 % lanenih sjemenki nakon pet tjedana došlo je smanjenja postotka arahidonske kiseline na 3,21 %, a nakon deset tjedana na 0,96 %.

**Tablica 3.** Sastav SFA, MUFA i PUFA u uzorcima kontrolnih i obogaćenih jaja

MASNA KISELINA	JK*	JL*	<i>p</i> -vrijednost
SFA	29,66±0,23a	38,88±0,13b	0,000
MUFA	43,56±0,16b	35,34±0,15a	0,000
PUFA	26,78±0,26b	25,77±0,05a	0,000
n6	24,32±0,21b	17,87±0,08a	0,000
n3	2,23±0,03a	7,74±0,05b	0,000
n6/n3	10,90±6,03b	2,31±0,02a	0,000
MUFA/PUFA	1,63±0,61b	1,37±0,01a	0,000

SFA (engl. Saturated Fatty Acid) – zasićena masna kiselina; MUFA (engl. Monosaturated Fatty Acid) – mononezasićena masna kiselina; PUFA (engl. Polyunsaturated Fatty Acid) – višestruk nezasićena masna kiselina; JK – kontrolna jaja; JL – obogaćena jaja

\*Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost ± standardna pogreška. Različita slova (a i b) u istom redu označavaju statistički značajnu razliku (  $P < 0,05$  )

Zasićene masne kiseline (SFA) predstavljene su kao zbroj svih prisutnih zasićenih masnih kiselina u kontrolnim i obogaćenim jajima, a to su miristinska (C14:0), pentadekanska (C15:0), palmitinska (C16:0), heptadekanska (C17:0) i stearinska (C18:0).

U ovom istraživanju, najveći maseni udio zabilježen je za palmitinsku kiselinu (C16:0) u kontrolnim i obogaćenim jajima, a najmanji za pentadekansku kiselinu (C15:0).

Rezultati ovog istraživanja pokazala su da je maseni udio za palmitinsku kiselinu (C16:0) u kontrolnim jajima iznosio 21,78 %, a u obogaćenim 24,26 %. Maseni udio za stearinsku kiselinu (C18:0) u kontrolnim jajima bio je 7,34 %, a u obogaćenim 13,95%. Maseni udio heptadekanske u kontrolnim jajima bio je 0,24 %, a u obogaćenim 0,30 %, dok je maseni udio miristinske kiseline (C14:0) u kontrolnim jajima iznosio 0,23 %, a u obogaćenim 0,31 %. Najmanji maseni udio za pentadekansku kiselinu (C15:0) u kontrolnim jajima iznosio je 0,08 %, a u obogaćenim 0,06 % (tablica 2).

Ukupni maseni udio SFA za kontrolna jaja iznosio je 29,66 %, dok je u obogaćenim jajima 38,88 %. Dobiveni rezultati pokazuju statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) (tablica 3).

Rezultati istraživanja Corrales-Retana i sur. (2020) ukazuju kako nije došlo do značajne promjene SFA između kontrolnih i obogaćenih rezultata. Količina SFA u kontrolnih jaja iznosila je 132,6, a u obogaćenih 131,9.

Mononezasićene masne kiseline (MUFA) predstavljaju zbroj prisutnih mononezasićenih kiselina u kontrolnim i obogaćenim jajima, a to su palmitolenska (C16:1), heptadekenska (C17:1), oleinska (C18:1c) i eikosenoična (C20:1) kiselina.

U ovom istraživačkom radu maseni udio MUFA u kontrolnim i obogaćenim jajima iznosio je 43,56 % i 35,34 % što pokazuje statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) (tablica 3).

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je najveći maseni udio u kontrolnim jajima bio za oleinsku kiselinu (C18:1c) gdje je iznosio 41,73 %, zatim za palmitolensku kiselinu (C16:1) gdje je iznosio 1,51 %, a manji maseni udio zabilježen je kod eikosenoične kiseline (C20:1) i isti je iznosio 0,20 %, dok je najmanji maseni udio bio kod heptadekenske kiseline (C17:1) i isti je iznosio 0,11 %, za razliku od dobivenih rezultata u obogaćenim jajima, gdje je najveći maseni udio zabilježen kod oleinske kiseline (C18:1c) u iznosu od 33,75 %, zatim kod palmitolenske kiseline (C16:1) u iznosu od 1,36 %, a iznos od 0,15 % zabilježen je kod

eikosenoične kiseline (C20:1), dok je najmanji maseni udio imala heptadekenska kiselina (C17:1) i isti je iznosio 0,08 % (tablica 2).

U svom radu, Ansari i sur. (2006) ukazali su na povećanje MUFA u obogaćenim jajima u odnosu na kontrolna jaja. U kontrolnim jajima nije zabilježena MUFA. U obogaćenim jajima kokoši hranjenih s 5 % lanenih sjemenki sadržaj MUFA iznosio je 70,7 %, a kod onih hranjenih s 10 % lanenih sjemenki bio je 72,1 % te 74,8 % kod 15 %.

Yalcin i Unal (2010) u svom istraživačkom radu izvijestili su kako kombinaciju od 10% lanenih sjemenki i 1,5 % ribljeg ulja u prehrani kokoši nesilica hranjene tim sadržajem kroz mjesec dana dovodi do smanjenja sadržaja MUFA (C18:1) u lipidima žumanjka. U kontrolnim jajima iznosi oleinsku kiselinu (C18:1c) iznosi 37,31 %, a u obogaćenim jajima 36,20%. Za razliku od razine palmitolenske kiseline (C16:1) kod koje dolazi do povećanja u obogaćenim jajima (2,80 %) u odnosu na kontrolna jaja (1,94 %).

Polinezasićene masne kiseline (PUFA) predstavljene su kao zbroj n-3 i n-6 polinezasićenih masnih kiselina.

n-3 polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) predstavljene su kao zbroj  $\alpha$ -linolenska (C18:3n3), eikozatrienska (C20:3n3), eikozapentaenska (C20:5n3) i dokozaheksaenska (C22:6n3).

Nutritivna preporuka za unos n-3 PUFA s preporučenim dnevnim unosom iznosi u rasponu od 140 do 667 mg EPA + DHA na dan, a unos od 250 mg/dan može imati dobar zdravstveni učinak i na zaštitu od kardiovaskularnih bolesti (Lemahieu i sur., 2013).

U mom istraživanju rezultati za najveći maseni udio n-3 PUFA u kontrolnim jajima zabilježen je kod dokozaheksaenske kiseline (C22:6n3) i isti je iznosio 1,18 %, zatim u  $\alpha$ -linolenskoj kiselini (C18:3n3) gdje je iznosio 1,05 %, a kod eikozatrienske kiseline (C20:3n3) i eikozapentaenske (C20:5n3) maseni udio n-3 PUFA nije zabilježen (0,00%) (tablica 2).

Nadalje, rezultati ovog istraživanja za maseni udio kod obogaćenih jaja pokazali su najveće povećanje n-3 PUFA za  $\alpha$ -linolensku kiselinu (C18:3n3) (ALA) u iznosu od 5,54 % te od 1,98 % za dokozaheksaensku kiselinu (C22:6n3) (DHA).

Dodatkom lanenih sjemenki u prehranu kokoši nesilica kod obogaćenih jaja došlo je do povećanjamasenog udjela eikozatrienske kiseline (C20:3n3) i eikozapentaenske kiseline (C20:5n3) (EPA), a čiji maseni udjeli istih kiselina nisu bili zabilježeni u kontrolnim jajima.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je maseni udio za eikozatriensku kiselinu (C20:3n3) iznosio 0,12 %, dok je maseni udio za eikozapentaensku kiselinu (C20:5n3) (EPA) iznosio 0,10 % (tablica 2).

Zbroj masenih udjela svih n-3 polinezasićenih masnih kiselina u kontrolnim jajima bio je 2,23 %, a u obogaćenim jajima iznosio je 7,74 % što pokazuje statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) (tablica 3).

Zbroj n-6 polinezasićenih masnih kiselina čine linoleinska (C18:2n6),  $\gamma$ -linolenska (C18:3n6), eikozadienska (C20:2n6), eikozatrienska (C20:3n6) i arahidonska (C20:4n6) kiselina.

Kod ovog istraživanja rezultat za najveći maseni udio u kontrolnim jajima zabilježen je kod linoleinske kiseline (C18:2c n6) i isti je iznosio 21,93 %, a kod obogaćenih jaja 16,40 %. Kod arahidonske kiseline maseni udio u kontrolnim jajima bio je 2,04 %, dok je kod obogaćenih jaja došlo do smanjenja u iznosu na 1,21 %. Maseni udio eikozadienske kiseline (C20:2n6) u kontrolnim jajima iznosio je 0,23 %, a u obogaćenim jajima smanjen je na 0,16 %. Za eikozatriensku kiselinu (C20:3n6) maseni udio u kontrolnim jajima bio je 0,21 % te je smanjen na 0,16 % u obogaćenim jajima. Najveće smanjenje masenog udjela zabilježeno je kod  $\gamma$ -linolenske kiseline (C18:3n6) gdje je iznosio 0,08 % u obogaćenim jajima, a 0,14 % u kontrolnim jajima (tablica 2).

Zbroj svih masenih udjela n-6 polinezasićenih kiselina u kontrolnim jajima iznosio je 24,32 %, a kod obogaćenih jaja 17,87 %, što pokazuje statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) (tablica 3).

Rezultati istraživanja Panaite i sur. (2019) ukazali su da je došlo do porasta zbroja n-3 PUFA u obogaćenim jajima s 1,39 % na 4,99 % te smanjenja zbroja n-6 PUFA s 26,49 % na 24,63 % kod jaja kokoši hranjenih kombinacijom lanenog brašna i rižinih mekinja.

U mojem istraživanju rezultati su pokazali kako je ukupni maseni udio polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) iznosio u kontrolnim jajima 26,78 %, a u obogaćenim 25,77 % što također pokazuje statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) (tablica 3).

Ansari i sur. (2006) u svom radu zapazili su da dolazi do povećanja sadržaja PUFA u obogaćenim jajima kokoši nesilica hranjenih s različitim koncentracijama lanenih sjemenki (5

%, 10 % i 15 %) i isti iznosi 66 %, 68,5 % i 75,8 %, dok u kontrolnim jajima nije zabilježena PUFA.

Panaite i sur. (2019) uvođenjem brašna lanenih sjemenki i rižinih mekinja postigli su povećanje PUFA, u kontrolnim jajima i isti je iznosio 27,89 %, a u obogaćenim 29,63 %.

Također, provodeći daljna istraživanja, Kralik i sur. (2008b) utvrdili su kako sastav masnih kiselina u prehrani kokoši nesilica ovisi o koncentraciji ribljeg ulja i ulja iz lanenih sjemenki. Analizom su utvrdili da riblje ulje sadrži 37,12 % SFA, 21,03 % MUFA, 16,32 % n-6 PUFA i 33,60 % n-3 PUFA, a EPA + DHA zajedno čine 33,23 % ukupnih masnih kiselina. Ulje lanenog sjemena sadržavalo je 8,51 % SFA, 18 % MUFA, 16,32 % n-6 PUFA i 57,17 % n-3 PUFA od kojih je  $\alpha$ -linoleinska kiselina 56,97 % ukupnih masnih kiselina, a ne sadrži EPA i DHA.

Rezultati njihovog istraživanja bili su u skladu s rezultatima drugih istraživača koji su također u prehranu kokoši nesilica dodali laneno i riblje ulje (Kralik i sur., 2015; Schreiner i sur., 2004; Mirghelenj i sur., 2004; Rizzi i sur., 2003).

U ovom provedenom istraživanju omjer MUFA/PUFA iznosio je 1,63 za kontrolna jaja, a za jaja obogaćena lanenim sjemenkama 1,37 i uočena je statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ).

Svojim istraživanjem Ansari i sur. (2006) utvrdili su kako hranjenjem kokoši nesilica različitim postotcima lanenih sjemenki povećava omjer MUFA/PUFA. Taj omjer iznosi 1,09 za kokoši nesilice hranjenje s 5%, 1,15 za 10% te 1,1 za 15 % lanenih sjemenki u hrani.

Prema preporukama kanadskog zdravstva preporučeni omjer omega-6/omega-3 iznosi od 4:1 do 10:1 za mlade (Health and Welfare Canada, 1990).

U rezultatima mog istraživanja jaja kokoši nesilica hranjenih lanenim sjemenkama pokazala su da dolazi do povećanja n-3 PUFA i smanjenja n-6 PUFA. Maseni udio za n-3 PUFA u skupini obogaćenih jaja iznosio je 7,74 % u odnosu na skupinu kontrolnih jaja gdje je iznosio 2,23 %, dok je maseni udio za n-6 PUFA u obogaćenim jajima iznosio 17,87 %, a u kontrolnim jajima 24,32 % (tablica 3).

Zbog smanjenog udjela n-6 PUFA između kontrolne i obogaćene skupine i povećanja udjela n-3 PUFA u ukupnim masnim kiselinama dolazi i do promjene u omjeru n-6/n-3 PUFA u korist n-3.

U kontrolnim jajima omjer n-6/n-3 iznosio je 10,9, a u obogaćenim jajima bio je 2,31 pri čemu je vidljivo da je omjer niži kod obogaćenih jaja. Omjeri n-6/n-3 između kontrolnih i obogaćenih jaja u ovom istraživanju pokazali su statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ).

Perić i sur. (2019) zaključili su da je došlo do značajne promjene u omjeru omega-6/omega-3 masnih kiselina obogaćenih i kontrolnih jaja. Omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina kod kontrolne grupe iznosio je 9,28 u odnosu na skupine hranjenje s 5 % (3,34) i 10 % (1,63) lanenih sjemenki.

U istraživanju, Corrales-Retana i sur. (2020) također navode kako je došlo do značajne promjene u omjeru omega-6/omega-3 masnih kiselina obogaćenih i kontrolnih jaja. Omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina između kontrolne i obogaćene skupine je smanjen. Za kontrolnu skupinu iznosio je 9,0 u odnosu na obogaćenu skupinu gdje je isti iznosio 3,7.

Kralik i sur. (2015) navode da se koncentracija n-3 PUFA u lipidima žumanjka eksperimentalne skupine povećala dva puta u odnosu na kontrolnu skupinu, a omjer n-6/n-3 PUFA smanjen od 12,04 do 6,17.

Ansari i sur. (2006) izvijestili su da kokoši nesilice hranjene različitim postotcima (5 %, 10 % i 15%) lanenog sjemenja pokazuju promjene u omjeru omega-6/omega-3 (2,64, 2,9 i 3,2) te su predložili razinu lanenog sjemenja od 10 % koja značajno povećava omega-3 masne kiseline u žumanjku i smanjuje razinu zasićenih masnih kiselina.

Panaite i sur. (2019) istraživanjem pokazali su da kokoši nesilice hranjene brašnom od lanenih sjemenki (2,5 %) i rižinim mekinjama (10 %) pokazuju smanjenje omjera omega-6/omega-3. U kontrolnim jajima omjer omega-6/omega-3 iznosi 19,12, a u obogaćenim 4,94 u korist omega-3.

Sari i sur. (2002) zamijetili su kako dodatkom lanenih sjemenki (0, 5, 10 i 15 %) u prehrani kokoši dovodi do povećanja koncentracije n-3 PUFA ( $\alpha$ -LNA, EPA, DHA) što je uzrokovalo smanjenje omjera n-6/n-3 PUFA (13,12, 3,19 2,36 1,88) u žumanjku jaja.

U svom radu Kralik i sur. (2008b) navode kako su upravo proučavajući istraživanja Simopoulos i Cleland (2003) primijetili kako jaja koja su proizvedena u prirodnom okruženju na Peleponezu sadrže 20 puta više n-3 PUFA od standardnih jaja. Omjer n-6/n-3 PUFA u standardnim jajima bio je 20:1, a u jajima iz prirodnog okruženja 1:1.

Rezultati provedenog istraživanja Lemahieu i sur.(2015) koji su obogaćivali prehranu kokoši nesilica različitim izvorima n-3 PUFA pokazali su da riblje ulje ima najveću učinkovitost oko 55 %, zatim DHA zlato (heterotrofne alge) 45 %, a autotrofna alga (*I. galbana*) oko 30 %, a najniža učinkovitost oko 6 % primijećena je u prehrani kokoši lanenim sjemenkama zbog neučinkovite pretvorbe ALA u DHA. Smatraju da se razlike u učinkovitosti mogu objasniti razlikama u dostupnosti i različitim izvorima n-3 PUFA.

Kumar Saini i Keum (2018) u svom radu zaključuju da hrana koja se daje kokošama nesilicama obogaćena n-3 PUFA u obliku ribljih ulja ili heterotrofnih mikroalgi korisnija je u odnosu na hranu koja se sastoji od lanenih sjemenki s obzirom da je karakteristično za kokoši nesilice da pretvaraju ALA u EPA i DHA u znatno nižim razinama.



## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata za masene udjele masnih kiselina te provedene rasprave može se zaključiti slijedeće:

- 1) Sastav masnih kiselina kontrolnih i obogaćenih jaja razlikuje se ovisno o načinu prehrane kokoši nesilica.
- 2) Od navedenih 18 zabilježenih masnih kiselina u kontrolnim i obogaćenim jajima, statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) određena je za 17 masnih kiselina iz skupina (SFA, MUFA, PUFA).
- 3) U kontrolnim jajima u odnosu na obogaćena jaja ukupni maseni udio za SFA iznosi 29,66 % - 38,88%, za MUFA bio je 43,56 % - 35,34 % i za PUFA iznosio je 26,78 % - 22,77%. Omjer MUFA / PUFA u kontrolnim i obogaćenim jajima iznosio je 1,63 % - 1,37 % što pokazuje statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ).
- 4) Najzastupljenije masne kiseline u uzorcima kontrolnih i obogaćenih jaja bile su zasićene palmitinska kiselina (C16:0) (21,78 % - 24,26 %) i stearinska kiselina (C18:0) (7,34 % - 13,95 %), te nezasićene masne kiseline oleinska kiselina (C18:1c) (41,73 % - 33,75 %) i linolna kiselina (C18:2c n6) (21,93 % - 16,40 %). Udjeli ovih masenih kiselina također pokazuju statističku značajnu razliku ( $P < 0,05$ ).
- 5) Najmanje zastupljena masna kiselina u kontrolnim i obogaćenim jajima bila je pentadekanska kiselina (C15:0) (0,08 % - 0,06 %), a rezultati za istu pokazuju statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ).
- 6) Dodatkom lanenih sjemenki u prehranu kokoši nesilica kod obogaćenih jaja identificirane su dvije masne kiseline više, nego u uzorcima kontrolnih jaja.  
To su eikozatrienska kiselina (C20:3n3) (0,00 % - 0,12 %) te eikozapentaenska kiselina (C20:5n3) (0,00 % - 0,10 %) i njihovi masenih udjeli pokazuju statističku značajnu razliku ( $P < 0,05$ ).
- 7) Najveće povećanje zabilježeno je kod  $\alpha$ -linolenske kiseline (C18:3n3) ( $\alpha$ -ALA) (1,05 % - 5,54 %) i kod dokozaheksaenske kiseline (C22:6n3) (1,18 % - 1,98 %). Za obe masne kiseline (ALA i DHA), rezultati pokazuju statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ).
- 8) Kod arahidonske kiseline (C20:4n6) došlo je do smanjenja masenog udjela u obogaćenim jajima u odnosu na kontrolna jaja sa 2,04 % na 1,21 %.
- 9) Rezultati za obogaćena jaja kokoši nesilica hranjenih lanenim sjemenkama pokazali su da dolazi do povećanja n-3 PUFA (ALA, EPA, i DHA) (2,23 % - 7,74 %) i do smanjenja n-6 PUFA (24,32 % - 17,87 %).

## 6. LITERATURA

Ahmadi F, Rahimi F (2011) Factors Affecting Quality and Quantity of Egg Production in Laying Hens: A Review. *World Appl Sci J* **12**, 372-384. <https://doi.org/10.2141/jpsa.41.161>

Ansari R, Azarbajejani A, Ansari S, Asgari S, Gheisari A (2006) Production of egg enriched with omega-3 fatty acids in laying hens. *ARYA J* **1**, 242-246.

Antruejo A, Azcona JO, Garcia PT, Gallinger C, Rosmini M, Ayerza R, Coates W, Perez CD (2011) Omega-3 enriched egg production: the effect of  $\alpha$ -linolenic  $\omega$ -3 fatty acid sources on laying hen performance and yolk lipid content and fatty acid composition. *Br Poult Sci* **52**, 750-760. <https://doi.org/10.1080/00071668.2011.638621>

Arantes da Silva W, Naiverti Elias AH, Aparecida Aricetti J, Sakamoto MI, Murakami AE, Marques Gomez ST, Visentainer JV, Evelazio de Souza N, Matsushita M (2009) Quail egg yolk (*Coturnix coturnix japonica*) enriched with omega-3 fatty acids. *LWT- Food Sci and Technol* **42**, 660-663. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.005>

Aymond WM, Van Elswyk ME (1995) Yolk thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty acids in response to whole and ground flax seed. *Poult Sci* **74**, 1388-1394. <https://doi.org/10.3382/ps.0741388>

Beheshti Moghadam MH, Cherian G (2017) Use of flaxseed in poultry feeds to meet the human need for n-3 fatty acids. *World's Poult Sci Association* **73**, 803-812. <https://doi.org/10.1017/s0043933917000721>

Blatarić N (2018) Mikrobiološko onečišćenje ljuske kokošnjih jaja iz različitih proizvodnih uzgoja (diplomski rad), Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Bovet P, Faeh D, Madeleine G, Viswanthan B, Paccaud F (2007) Decrease in blood triglycerides associated with the consumption of eggs of hens fed with food supplemented with fishoil. *Nutr, Metab and Cardiovasc Dis* **17**, 280-287. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2005.12.010>

Brake J, Walsh TJ, Benton CE Jr., Petite JN, Meijerhof R, Penalva G (1997) Egg Handling and Storage. *Poult Sci* **76**, 144-151. <https://doi.org/10.1093/ps/76.1.144>

Bruneel C, Lemahieu C, Fraye I, Ryckebosch E, Muylaert K, Buyse J, Foubert I (2013) Impact of microalgal feed supplementation on omega-3 fatty acid enrichment of hen eggs. *J of Funct Foods* **5**, 897-904. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.01.039>

Caston LJ, Squires EJ, Leeson S (1994) Hen performance, egg quality and the sensory of eggs from SCWL hens fed dietary flax. *Can J Anim Sci* **74**, 347-353. <https://doi.org/10.4141/cjas94-047>

Cherian G (2013) Egg enrichment with omega-3 fatty acid. U: Food Enrichment with Omega-3 FattyAcids, (Jacobsen, C., Skall Nielsen, N., Frisenfeldt Horn, A., Moltke Sorensen, A., ured.), *Woodhead Publishing*, Oregon, SAD, 288-298. <https://doi.org/10.1533/9780857098863.3.288>

Cherian G, Quezada N (2016) Egg quality, fatty acid composition and immunoglobulin Y content in eggs from laying hens fed full fat camelina or flaxseed. *J of Anim Sci and Biotechnol* **7**, 15. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0075-y>

Corrales-Retana L, Ciucci F, Conte G, Casarosa L, Mele M, Serra A (2020) Profile of fatty acid lipid fractions of omega-3 fatty acid enriched table eggs. *J of Anim Physiol And Anim Nutr* **105**, 326-335. <https://doi.org/10.1111/jpn.13462>

EC – European Community (2007) Commission Regulation (EC) No 557/2007. *Official Journal of the European Union* L132/ 6-20.

EC – European Community (2008) Commission Regulation (EC) No 589/2008. *Official Journal of the European Union* L163/ 6-23.

EFSA (2005) Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition, and allergies on a request from European Commission related to nutrition claims concerning omega-3 fatty acids, monounsaturated fat, polyunsaturated fat and unsaturated fat. *The EFSA J* **253**, 1-29. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.253>

EFSA (2009) Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition, and allergies on a request from European Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *The EFSA J* **1176**, 1-11. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1008>

Ehr IJ, Persia ME, Bobeck EA (2017) Comparative omega-3 fatty acid enrichment of egg yolks from first-cycle laying hens fed flaxseed oil or ground flaxseed. *Poult Sci* **96**, 1791-1799. <https://doi.org/10.3382/ps/pew462>

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2003) Marketing quality eggs. U: Egg Marketing – A Guide for the Production and Sale of Eggs <<http://www.fao.org/DOCREP/005/Y4628E/y4628e00.htm> > . [Pristupljeno 8. kolovoza 2021.](#)

Farrell D (2005) Increasing the nutrient content of chicken eggs to improve human health. *Food and Agriculture Organization of the United Nations.*

Ferrier K L, Caston JL, Leeson S, Squires J, Weaver JB, Holub JB (1995)  $\alpha$ - Linolenic acid and docosahexaenoic acid enriched eggs from hens fed flaxseed. Influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in human. *Am J Clin Nutr* **62**, 81-86. <https://doi.org/10.1093/ajcn/62.1.81>

Fraeye I, Bruneel C, Lemahieu C, Buyse J, Muylaert K, Foubert I (2012) Dietary enrichment of eggs with omega- 3 fatty acids: A review. *Food Research International* **48**, 961-969. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.03.014>

Guclu BK, Uyanik F, Iscan KM (2008) Effects of dietary oil sources on egg quality, fatty acid composition of eggs and blood lipids in laying quail. *S Afr J of Anim Sci* **38**, 91-100. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3360>

Harris WS, Mozaffarian D, Lefevre M, Toner CD, Colombo J, Cunnane SC, Holden JM, Klurfeld DM, Morris MC, Whelan J (2009) Towards establishing dietary reference intakes for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *J of Nutr* **139**, 804S-819S. <https://doi.org/10.3945/jn.108.101329>

Haugh RR (1937) The Haugh units for measuring egg quality. *US Egg Poult Mag* **43**, 552-555, 572-573.

Hayat Z, Cherian G, Pasha TN, Khattak FM, Jabbar MA (2009) Effect of feeding flax and two types of antioxidants on egg production, egg quality, and lipid composition of eggs. *J of Appl Poult Res* **18**, 541-551. <https://doi.org/10.3382/japr.2009-00008>

Health and Welfare Canada (1990) *Nutrition Recommendations*, Ottawa, Kanada , Minister of Supply and Services.

Husveth F, Rozsa L, Magyar L, Bali G, Papocsi P (2003) N- 3 fatty acid enrichment of table eggs by adding a fishoil preparation (Nordos Fat) to the diet of laying hens. *Arch Geflugelkd* **67**, 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104748>

ISO 5508: 1990, International standard of animal and vegetable oils and fats – Analysis by gas chromatography of methyl – esters of fatty acids.

ISO 5509: 2000, International standard of animal and vegetable oils and fats – Preparation of methyl – esters of fatty acids.

Jia W, Slominski BA, Guenter W, Humphreys A, Jones O (2008) The effect of enzyme supplementation on egg production parameters and omega-3 fatty acid deposition in laying hens fed flax seed and canola seed. *Poult Sci* **87**, 2005-2014. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00474>

Jiang Z, Ahn DU, Sim JS (1991) Effect of feeding flax and two types of sunflower seeds on fatty acid composition of yolk lipid classes. *Poult Sci* **70**, 2467-2475. <https://doi.org/10.3382/ps.0702467>

Kralik G, Has-Schon E, Kralik D, Šperanda M (2008a) PERADARSTVO Biološki i zootehnički principi, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, str. 61-82.

Kralik G, Škrčić Z, Suchy P, Strakova E, Gajević Z (2008b) Feeding Fish Oil and Linseed Oil to Laying Hens to Increase the n-3 PUFA of Egg Yolk. *Acta Vet Brno* **77**, 561-568. <https://doi.org/10.2754/avb200877040561>

Kralik G, Kralik Z, Grčević M, Kralik I (2015) The Effect of Feeding Laying Hen Conventional and Omega- 3 Enriched Diet on Fatty Acid Profiles in Egg Yolk Lipids. *J of Agric Sci and Technol* **5**, 506-511. <https://doi.org/10.17265/2161-6264/2015.07.009>

Kumar Saini R, Keum YS (2018) Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance- A review. *Life Sci* **203**, 255-267. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.049>

Lawlor JB, Gaudette N, Dickson T, House JD (2010) Fattyacid profile and sensory characteristics of table eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fishoil. *Anim. Feed Sci and Technol* **156**, 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.01.003>

Leko M (2016) Mogućnost korištenja kokoši pasmine Hrvatica u alternativnoj proizvodnji jaja (diplomski rad), Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Lemahieu C, Bruneel C, Muylaert K, Buyse J, Foubert I (2017) Microalgal Feed Supplementation to Enrich Eggs with Omega-3 FattyAcids. U: *Egg Inovations and Strategies for Improvements*, (Hester P Y, ured.), Elsevier Inc, London/San Diego/Cambridge/Oxford, str. 383-391. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800879-9.00036-6>

Lemahieu C, Bruneel C, Ryckebosch E, Muylaert K, Buyse J, Foubert I (2015) Impact of different omega- 3 polyunsaturated fatty acid (n – 3 PUFA) sources (flaxseed, *Isochrysis galbana*, fishoil and DHA Gold) on n-3 LC- PUFA enrichment (efficiency in the egg yolk). *J of Funct Food* **19**, 821-827. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.021>

Lemahieu C, Bruneel C, Termote – Verhalle R, Muylaert K, Buyse J, Foubert I (2013) Impact of feed supplementation with different omega-3 richmicroalgae species on enrichment of eggs of laying hens. *Food Chem* **141**, 4051-4059. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.078>

Liu B, Zhou Q, Zhu JM, Liu G, Yu DY, Ao T (2020) Time course of nutritional and functional property changes in egg yolk from laying hens fed docosahexaenoic acid-rich microalgae. *Poult Sci* **99**, 4616-4625. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.007>

Lovreković M (2017) Kokošje jaje kao funkcionalna hrana (završni rad), Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek.

Maguregui E (2020) The egg yolk color and pigments The importance of colors in animal feed. *Magazine of veterinary information, medicine and zootechnics, specialized in the poultry, pig, ruminant and aquaculture sectors*.

Mirghelenj A, Rahimi SH, Barzgar M (2004) Comparison of n-3 fatty acids sources for enrichment of egg. *World'sPoultry Congress (CD)*, 8-13 June, Istanbul, Turkey. 8-13.

Moran CA, Morlacchini M, Keegan JD, Rutz F, Fusconi G (2019) Docosahexaenoic acid enrichment of layer hen tissues and eggs through dietary supplementation with

heterotrophically grown *Aurantiochytrium limacinum*. *J of Appl Poult Res* **29**, 152-161. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2019.10.002>

Panaite TD, Olteanu M, Ropota M, Soica C, Vlaicu PA, Visinescu P, Criste RD (2019) Enriching the diet in polyunsaturated fatty acids for laying hens using flax seed meal and rice bran. *Sci Papers Ser D Anim Sci* **62**, 88-94. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00343-1>

Parikh M, Maddaford TG, Austria JA, Aliani M, Neticadan T, Pierce GN (2019) Dietary Flaxseed as a Strategy for Improving Human Health. *Nutrients* **11**, 1171. <https://doi.org/10.3390/nu11051171>

Perić J, Drinić M (2021) Enriching table eggs with omega-3 fatty acids by using ground flax seed or a combination of flax cake and flaxseed oil in the diet of laying hens. *Vet Arhiv* **91**, 399-409. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0916>

Perić J, Drinić M, Mičić N (2019) Fatty acids in feed of laying hens on the production parameters and the ratio of omega-6 and omega-3 fatty acids. *Biotechnol Anim Husb* **35**, 377-386. <https://doi.org/10.2298/bah1904377p>

Petrović M (2012a) Optimizacija proizvodnje konzumnih jaja obogaćenih s omega-3 masnim kiselinama te njihov utjecaj na karakteristike jaja tijekom čuvanja (doktorski rad), Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Petrović M, Gačić M, Karačić V, Gottstein Ž, Mazija H, Medić H (2012b) Enrichment of eggs in n-3 polyunsaturated fatty acids by feeding hens with different amount of linseed oil in diet. *Food Chem* **135**, 1563-1568. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.020>

Pravilnik (2006) Pravilnik o kakvoći jaja. *Narodne novine* **115**, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2006\\_10\\_115\\_2561.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2006_10_115_2561.html) Pristupljeno 10. kolovoza 2021.

Rizzi L, Simioli M, Bochiocchio D, Parazza P (2003) The effects of omega-3 fatty acids, iodine and selenium supplementation of laying hen feed on egg quality. In: Proceedings of the Xth European symposium on the quality of eggs and egg products. 22-26 September. Saint Brieue. France. 296-302.

Rodriguez-Leyva D, Basset CMC, McCullough R, Pierce G (2010) The cardiovascular effects of flax seed and its omega-3 fatty acid, alpha-linolenic acid. *Can J of Cardiol* **26**, 489-496. [https://doi.org/10.1016/s0828-282x\(10\)70455-4](https://doi.org/10.1016/s0828-282x(10)70455-4)

Sari M, Aksit H, Ozdogan M, Basacioglu H (2002) Effect of addition of flaxseed to diets of laying hens on some production characteristics, levels of yolk and serum cholesterol and fatty acid composition of yolk. *Arch Geflugelkd* **66**, 75-79.

Scheideler S E, Froning GW (1996) The Combined Influence of Dietary Flaxseed Variety, Level, From and Storage Conditions on Egg Production and Composition among Vitamin E-Supplemented Hens. *Poult Sci* **75**, 1221-6. <https://doi.org/10.3382/ps.0751221>

Schreiner M (2006) Optimization of Solvent Extraction and Direct Transmethylation Methods for the Analysis of Egg Yolk Lipids. *Int J of Food Prop* **9**, 573-581. <https://doi.org/10.1080/10942910600596290>

Schreiner M, Hulan HW, Razzazi-Fazelie E, Bohm J, Iben C (2004) Feeding laying hens sealblubber oil: Effects on egg yolk incorporation, stereospecific distribution of omega-3 fatty acids, and sensory aspects. *Poult Sci* **83**, 462-473. <https://doi.org/10.1093/ps/83.3.462>

Silversides FG, Scott TA (2001) Effects of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. *Poult Sci* **80**, 1240-1245. <https://doi.org/10.1093/ps/80.8.1240>

Silversides FG, Villeneuve P (1994) Is the Haugh units correction for eggweight valid for eggs stored at room temperature? *Poult Sci* **83**, 1619-1623. <https://doi.org/10.3382/ps.0730050>

Simopoulos AP, Cleland LG (Eds) (2003) Omega-6 /omega-3 essential fatty acid ratio: The scientific evidence. *World Rev Nutr Diet* **92**, 7-13. <https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-01018-3>

Sparks NHC (2006) The hen's egg – is its role in human nutrition changing?. *Worlds Poult Sci J* **62**, 308-315. <https://doi.org/10.1079/wps200599>

Van Elswyk ME, Sams A R, Hargis PS (1992) Composition, functionality and sensory evaluation of eggs from hens fed dietary menhaden oil. *J Food Sci* **57**, 342-344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05490.x>

Watkins BA (1995) Nutritional value of the egg. U: Egg science and technology, (Stadelman, W.J., Cotterill, O.J., ured.), 4. izd., AVI Publishing Company Inc., Westpot.

Yalcin H, Unal MK (2010) The Enrichment of Hen Eggs with  $\omega$ - 3 Fatty Acids. *J of Med Food* **13**, 610-614. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0024>