

**UNIVERSITATEA PENTRU ȘTIINȚELE VIETII
"ION IONESCU DE LA BRAD" DIN IAȘI
FACULTATEA DE INGINERIA RESURSELOR
ANIMALE ȘI ALIMENTARE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL ZOOTEHNIE
SPECIALIZAREA ALIMENTAȚIA ANIMALELOR**

TEZĂ DE DOCTORAT

Conducător de doctorat,
Prof. Univ. Dr. Ioan Mircea POP

Doctorand,
Ing. Mădălina MATEI

2023

**UNIVERSITATEA PENTRU ȘTIINȚELE VIETII
"ION IONESCU DE LA BRAD" DIN IAȘI
FACULTATEA DE INGINERIA RESURSELOR
ANIMALE ȘI ALIMENTARE
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL ZOOTEHNIE
SPECIALIZAREA ALIMENTAȚIA ANIMALELOR**

TEZĂ DE DOCTORAT

**CONTRIBUȚII LA EVALUAREA TRANSFERULUI UNOR
POLUANȚI DIN NUTREȚURI ÎN LAPTELE DE VACĂ**

Conducător de doctorat,
Prof. Univ. Dr. Ioan Mircea POP

Doctorand,
Ing. Mădălina MATEI

**IAȘI
2023**

**”ION IONESCU DE LA BRAD”
IAȘI UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES
FACULTY DE OF FOOD AND ANIMAL SCIENCES
DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES
DOMAIN OF ANIMAL SCIENCES
SPECIALIZATION IN ANIMAL FEEDING**

Ph.D. THESIS

**Ph.D. Coordinator,
PhD, Prof. Ioan Mircea POP**

**Ph.D. Student,
Eng. Mădălina MATEI**

2023

**”ION IONESCU DE LA BRAD”
IAȘI UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES
FACULTY DE OF FOOD AND ANIMAL SCIENCES
DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES
DOMAIN OF ANIMAL SCIENCES
SPECIALIZATION IN ANIMAL FEEDING**

Ph.D. THESIS

**CONTRIBUTIONS TO ASSESSMENT OF THE TRANSFER OF
SOME POLLUTANTS FROM FEED INTO COW'S MILK**

**Ph.D. Coordinator,
PhD, Prof. Ioan Mircea POP**

**Ph.D. Student,
Eng. Mădălina MATEI**

**IAȘI
2023**

CUPRINS

LISTA CU ABREVIERILE	xi
LISTA TABELOR	xii
LISTA FIGURILOR	xiv
REZUMAT	xxiii
INTRODUCERE	1

PARTEA I – STUDIUL BIBLIOGRAFIC

CAPITOLUL 1. POLUAREA MEDIULUI ȘI RELAȚIA CU PRODUCȚIA ANIMALĂ	7
1.1 Poluarea mediului–poluanți, contaminanți	7
1.2 Compoziția chimică a nutrețurilor, a corpului și producțiilor animalelor ..	12
1.3 Aspecte privind transferul substanțelor din hrană în corpul și producțiile animalelor	17
1.4 Particularități privind relația dintre poluarea mediului și producția animală	26
CAPITOLUL 2. HIDROCARBURI DIN ULEIURI MINERALE ÎN PRODUCȚIA VEGETALĂ ȘI PRODUCȚIA ANIMALĂ	35
2.1 Hidrocarburile din uleiurile minerale: descriere, particularități	35
2.2 Incidența hidrocarburilor din uleiuri minerale în producția vegetală și producția animală	41
2.3 Toxicitatea hidrocarburilor din uleiuri minerale pentru organismele animale și umane	45
2.4 Posibilități de evaluare a prezenței hidrocarburilor din uleiuri minerale în producția vegetală și producția animală	50
2.5 Aspecte legislative privind prezența hidrocarburilor din uleiuri minerale în hrana pentru animale și în producțiile de origine animală	57

PARTEA A II-A – CERCETĂRI PROPRII

CAPITOLUL 3. SCOPUL ȘI METODOLOGIA CERCETĂRII	63
3.1 Scopul și obiectivele cercetării	63
3.2 Planul experimental și organizarea cercetărilor	64
3.2.1 Cadrul organizatoric de desfășurare al cercetării	66
3.2.2 Preluarea datelor de cercetare	69
3.3 Materialul de cercetare	73
3.4 Metode de cercetare	75
3.4.1 Determinarea compoziției chimice brute a nutrețurilor și a laptelui	75
3.4.2 Monitorizarea și cuantificarea hidrocarburilor din uleiuri minerale prin tehnica LC-GC-FID	76

CAPITOLUL 4. REZULTATE PRIVIND CARACTERIZAREA COMPOZIȚIEI CHIMICE BRUTE A NUTREȚURILOR ȘI A LAPTELUI	81
4.1 Rezultate obținute pentru unitatea din zona montană	81
4.2 Rezultate obținute pentru unitatea din zona rurală	84
4.3 Rezultate obținute pentru unitatea din zona urbană	87
4.4 Analiza comparativă privind compoziția chimică brută a nutrețurilor și a laptelui	91
CAPITOLUL 5. REZULTATE PRIVIND CONTAMINAREA NUTREȚURILOR CU HIDROCARBURI DIN ULEIURI MINERALE	95
5.1 Rezultate obținute pentru unitatea din zona montană	95
5.2 Rezultate obținute pentru unitatea din zona rurală	103
5.3 Rezultate obținute pentru unitatea din zona urbană	114
5.4 Analiza comparativă privind contaminarea nutrețurilor cu hidrocarburi din uleiuri minerale	125
CAPITOLUL 6. REZULTATE PRIVIND CONTAMINAREA LAPTELUI CU HIDROCARBURI DIN ULEIURI MINERALE	129
6.1 Rezultate obținute pentru unitatea din zona montană	129
6.2 Rezultate obținute pentru unitatea din zona rurală	134
6.3 Rezultate obținute pentru unitatea din zona urbană	138
6.4 Analiza comparativă privind contaminarea laptelui cu hidrocarburi din uleiuri minerale	142
CAPITOLUL 7. REZULTATE PRIVIND EVALUAREA POSIBILITĂȚII DE TRANSFER A HIDROCARBURILOR DIN ULEIURI MINERALE DIN NUTREȚURI ÎN LAPTE	145
7.1 Rezultate obținute pentru unitatea din zona montană	145
7.2 Rezultate obținute pentru unitatea din zona rurală	148
7.3 Rezultate obținute pentru unitatea din zona urbană	150
7.4 Considerații privind transferul hidrocarburilor din uleiuri minerale din nutrețuri în lapte	153
CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI	155
ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI	167
LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE	169
BIBLIOGRAFIE	171

LISTA CU ABREVIERI

1-MN	1- metilnaftalenă	Mo	montan
2-MN	2- metilnaftalenă	MAS	saponificare asistată cu microunde
ADF	fibră detergent acidă	MOAH	hidrocarburi aromatice din uleiuri minerale
AlOx	pasaj oxid de aluminiu	MOH	hidrocarburi din uleiuri minerale
AU	nutreț amestec	MOSH	hidrocarburi saturate din uleiuri minerale
BaP	benzo(a)piren	MS	spectrometrie de masă
BB	borhot de bere	NDF	fibră detergent neutră
decaBDE	decabromdifenil eter	PAH	hidrocarburi aromatice policiclice
BFR	compuși bromurați	PAO	polialfaolefine
CAS	nr. chimic de înregistrare	PB	porumb boabe
CB	celuloză brută	PCB	bifenili policlorurați
CenB	cenușă brută	PCDD	dibenzo-p-dioxine policlorurate
CHL	cis-clordan și trans-nonaclor	PCDF	dibenzofurani policlorurați
Cho	Colestan	PCP	pentaclorofenol
CyCy	Ciclohexilciclohexan	PE	polietilenă
DDE	diclor-difenil-diclorețan	Per	perilenă
DDT	diclor-difenil-triclorețan	PFC	compuși perfluorinați
DL-PCBs	bifenili policlorurați asemănători dioxinelor	PFOA	acidul perfluorooctanoic
DMBA	Dimetilbenzoantracen	PFOS	acidul perfluorooctan sulfonic
DN	drum national	PM	pajiște montană
EC	Comisia Europeană	POPs	poluanți organici persistenti
EPOX	Epoxidare	POSH	poliolefine
FCM	material în contact cu alimentele	PP	polipropilenă
FL	fân de lucernă	Pr.B	proteină brută
FLD	Spectrofluorimetrie	R	ridicat (* nivel de poluare)
FN	fân natural	Rr	rural
GB	grăsime brută	S	scăzut (* nivel de poluare)
GC	gaz-cromatografie	SEN	substanțe extractive neazotate
HBCDD	Hexabromciclododecan	SO	substanță organică
HCB	Hexaclorobenzen	SP	siloz porumb
HCH	Hexaciclohexan	SS	șrot de soia
HPLC	cromatografie lichidă de înaltă performanță	SSL	semisiloz lucernă
IR	indice de refracție	SU	substanță uscată
IS	standard intern	T	triticale
L	Lapte	TBB	terțbutilbenzen
LC	lichid-cromatografie	TEQ	echivalent toxic
L _i	lapte/rație iarnă	U	urban
L _v	lapte/rație vară	UPLC	cromatografie lichidă de ultra performanță
M	mediu (* nivel de poluare)		

LISTA TABELELOR

Tabelul 1.1 Lista POPs aflați sub incidența Convenției de la Stockholm	10
Tabelul 1.2 Date din literatura de specialitate cu privire la compoziția chimică a unor nutrețuri de volum	14
Tabelul 1.3 Date din literatura de specialitate cu privire la compoziția chimică a unor nutrețuri concentrate	15
Tabelul 1.4 Incidența unor poluanți organici în produse lactate	28
Tabelul 1.5 Proporții de PCDD/F din lapte și eliminarea acestora în timp	28
Tabelul 1.6 Incidența unor POPs în sol, nutrețuri și lapte	30
Tabelul 1.7 Contribuțiile diferitelor sectoare la emisiile de gaze cu efect de seră în perioada 2014-2019	32
Tabelul 1.8 Emisiile de gaze cu efect de seră în perioada 1990-2019 pe sectoare de activitate	33
Tabelul 1.9 Posibilități nutriționale de reducere a incidenței poluării în producția animală	34
Tabelul 2.1 Prezența MOSH și MOAH în producția vegetală și producția animală ..	44
Tabelul 2.2 Criteriile de performanță pentru analiza MOSH/MOAH	57
Tabelul 2.3 Propuneri legislative privind nivelurile de referință MOSH/MOAH	59
Tabelul 3.1 Elemente de monitorizare a unităților pe perioada studiului	70
Tabelul 3.2 Surse de poluare și încadrarea unităților pe nivel de poluare preconizat	71
Tabelul 3.3 Tratamente chimice aplicate culturilor vegetale	72
Tabelul 3.4 Materialul de cercetare și situația probelor prelevate	73
Tabelul 4.1 Rezultate privind compoziția chimică brută a nutrețurilor pentru unitatea din zona montană	81
Tabelul 4.2 Rezultate privind compoziția chimică brută a laptelui pentru unitatea din zona montană	83
Tabelul 4.3 Rezultate privind compoziția chimică brută a nutrețurilor pentru unitatea din zona rurală	84
Tabelul 4.4 Rezultate privind compoziția chimică brută a laptelui pentru unitatea din zona rurală	86
Tabelul 4.5 Rezultate privind compoziția chimică brută a nutrețurilor pentru unitatea din zona urbană	87
Tabelul 4.6 Rezultate privind compoziția chimică brută a laptelui pentru unitatea din zona urbană	91
Tabelul 5.1 Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH din nutrețuri pentru unitatea din zona montană	95
Tabelul 5.2 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona montană și relația cu factorii poluanți	99
Tabelul 5.3 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona montană și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică	100
Tabelul 5.4 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona montană și relația cu factorii contaminanți de natură analitică	100
Tabelul 5.5 Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH din nutrețuri pentru unitatea din zona rurală	104
Tabelul 5.6 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona rurală și relația cu factorii poluanți	107

Tabelul 5.7 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona rurală și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică	111
Tabelul 5.8 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona rurală și relația cu factorii contaminanți de natură analitică	112
Tabelul 5.9 Rezultatele privind concentrațiile de MOSH/MOAH din nutrețuri pentru unitatea din zona urbană	115
Tabelul 5.10 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona urbană și relația cu factorii poluanți	118
Tabelul 5.11 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona urbană și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică	122
Tabelul 5.12 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor unității din zona urbană și relația cu factorii contaminanți de natură analitică	123
Tabelul 6.1 Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH din probele de lapte ale unității din zona montană	129
Tabelul 6.2 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al laptelui unității din zona montană și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică	130
Tabelul 6.3 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al laptelui unității din zona montană și relația cu factorii contaminanți de natură analitică	130
Tabelul 6.4 Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH din probele de lapte ale unității din zona rurală	135
Tabelul 6.5 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al laptelui unității din zona rurală și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică	137
Tabelul 6.6 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al laptelui unității din zona rurală și relația cu factorii contaminanți de natură analitică	137
Tabelul 6.7 Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH din probele de lapte ale unității din zona urbană	139
Tabelul 6.8 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al laptelui unității din zona urbană și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică	141
Tabelul 6.9 Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH al laptelui unității din zona urbană și relația cu factorii contaminanți de natură analitică	141

LISTA FIGURILOR

Figura 1.1 Clasificarea nutrețurilor folosite în hrana animalelor	13
Figura 1.2 Factorii privind eficiența transferului substanțelor din hrană în corpul și producțiile animalelor	18
Figura 1.3 Rolurile lipidelor în organismul animal	20
Figura 1.4 Mecanismul de absorbție al nutrienților în organism	23
Figura 2.1 Exemple de structuri chimice ale MOSH și MOAH	36
Figura 2.2 Cromatogramele LC-GC-FID ale unei selecții de probe cu hidrocarburi liniare endogene	37
Figura 2.3 Reprezentarea LC-GC-FID a standardului intern	38
Figura 2.4 Reprezentarea cromatogramelor LC-GC-FID al amestecului standard pe categorii de sub-fracțiuni n-C	39
Figura 2.5 Model de migrare a contaminanților în alimente pe parcursul lanțului de prelucrare	43
Figura 2.6 Principiul de lucru simplificat al sistemului LC-GC-FID	51
Figura 2.7 Arborele de decizie propus de JRC privind protocolul de lucru și metodele auxiliare de analiză a MOSH/MOAH	55
Figura 3.1 Planul experimental al cercetării	65
Figura 3.2 Amplasarea unităților luate în studiu	67
Figura 3.3 Laboratorul Chimia Alimentelor, Departamentul de Științe Agroalimentare, Mediu și Animale, Universitatea din Udine	68
Figura 3.4 Prelevarea și pregătirea probelor pentru analize	74
Figura 3.5 Determinarea compoziției chimice brute: grăsimea din nutrețuri și lapte	76
Figura 3.6 Protocolul de lucru aplicat pentru determinarea MOSH/MOAH prin tehnica de detecție LC-GC-FID	78
Figura 4.1 Conținutul mediu de substanță uscată, substanțe organice și grăsime brută al nutrețurilor	92
Figura 4.2 Conținutul mediu de substanță uscată totală și grăsime brută al laptelui ..	94
Figura 5.1 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de fân natural	97
Figura 5.2 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de pășiște montană	98
Figura 5.3 Cromatogramele LC-GC-FID ale probelor de fân natural exemplificând modele de migrare ale MOSH/MOAH din materialele de contact	102
Figura 5.4 Cromatogramele LC-GC-FID ale probelor de pășiște montană exemplificând modele de migrare ale MOSH/MOAH din materialele de contact	103
Figura 5.5 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de porumb boabe	105
Figura 5.6 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de nutreț amestec	106
Figura 5.7 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH pentru probe de fân de lucernă și siloz de porumb	109
Figura 5.8 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOAH pentru probe de fân de lucernă și siloz de porumb	110
Figura 5.9 Cromatogramele LC-GC-FID exemplificând modele de migrare ale MOSH/MOAH din materialele de contact în nutrețurile unității din zona rurală	113
Figura 5.10 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de porumb boabe	116

Figura 5.11 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de nutreț amestec	117
Figura 5.12 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de siloz de porumb și semisiloz de lucernă	119
Figura 5.13 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de șrot de soia	120
Figura 5.14 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de borhot de bere	121
Figura 5.15 Cromatogramele LC-GC-FID exemplificând modele de migrare ale MOSH/MOAH din materialele de contact în nutrețurile unității din zona urbană	124
Figura 5.16 Concentrațiile MOSH din probele de nutrețuri	126
Figura 5.17 Concentrațiile MOAH din probele de nutrețuri	126
Figura 5.18 Nivelul comparativ de contaminare al probelor de nutrețuri din unitatea montană, unitatea rurală și unitatea urbană redat prin suprapunerea cromatogramelor LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH	127
Figura 6.1 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probele de lapte din rația de iarnă	131
Figura 6.2 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de lapte din rația de vară	132
Figura 6.3 Cromatogramele LC-GC-FID ale probelor S-L _i și S-L _v cuprinzând fracțiunile MOSH în relație cu distribuția MOSH în hârtia cerată	134
Figura 6.4 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de lapte M-L	136
Figura 6.5 Cromatogramele LC-GC-FID ale probelor de lapte M-L cuprinzând fracțiunile MOSH/MOAH în relație cu distribuția MOSH/MOAH în hârtia cerată	138
Figura 6.6 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH pentru probe de lapte R-L	140
Figura 6.7 Cromatogramele LC-GC-FID ale probelor de lapte R-L cuprinzând fracțiunile MOSH/MOAH în relație cu distribuția MOSH/MOAH în hârtia cerată ..	142
Figura 6.8 Concentrațiile MOSH și MOAH din probele de lapte	143
Figura 6.9 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH/MOAH ce redau exemple de migrare ale MOH din materialele de contact în probele de lapte	144
Figura 7.1 Comparația cromatogramelor LC-GC-FID ale fracțiilor MOSH/MOAH pentru pajiște montană și probe de lapte S-L _v	146
Figura 7.2 Comparația cromatogramelor LC-GC-FID ale fracțiilor MOSH/MOAH pentru fân natural și probe de lapte S-L _i	146
Figura 7.3 Estimarea nivelului de contaminare cu MOSH/MOAH din probele de nutrețuri și probele de lapte ale unității din zona montană	147
Figura 7.4 Comparația cromatogramelor LC-GC-FID ale fracțiilor MOSH/MOAH pentru porumb boabe, șrot de soia, nutreț amestec și probe de lapte M-L	149
Figura 7.5 Estimarea nivelului de contaminare cu MOSH/MOAH din probele de nutrețuri și probele de lapte ale unității din zona rurală	150
Figura 7.6 Comparația cromatogramelor LC-GC-FID ale fracțiilor MOSH/MOAH pentru semisiloz de lucernă, porumb boabe, nutreț amestec și probe de lapte R-L ...	151
Figura 7.7 Estimarea nivelului de contaminare cu MOSH/MOAH din probele de nutrețuri și probele de lapte ale unității din zona urbană	152
Figura 7.8 Conținutul de MOSH/MOAH pentru perechi de probe nutreț-lapte din cadrul fiecărei unități	153

TABLE OF CONTENTS

ABBREVIATIONS	xviii
LIST OF TABLES	xix
LIST OF FIGURES	xxi
SUMMARY	xxviii
INTRODUCTION	3
PART I – BIBLIOGRAPHY STUDY	
CHAPTER 1. ENVIRONMENTAL POLLUTION IN RELATION TO ANIMAL PRODUCTION	7
1.1 Environmental pollution – pollutants, contaminants	7
1.2 Chemical composition of feed, animal body and animal productions	12
1.3 Aspects regarding the transfer of substances from feed to the body and animal productions	17
1.4 Specificity regarding the relationship between environmental pollution and animal production	26
CHAPTER 2. MINERAL OIL HYDROCARBONS OCCURRENCE ON VEGETAL PRODUCTION AND ANIMAL PRODUCTION	35
2.1 Mineral oil hydrocarbons: description, specificity	35
2.2 Incidence of mineral oil hydrocarbons in vegetal production and animal production	41
2.3 Toxicity of mineral oil hydrocarbons to animals and humans	45
2.4 Possibilities to assess the presence of hydrocarbons from mineral oils in vegetal production and animal production	50
2.5 Legislative issues regarding the presence of hydrocarbons from mineral oils in animal feed and animal production	57
PART II – PERSONAL RESEARCH	
CHAPTER 3. AIM AND METHODOLOGY OF RESEARCH	63
3.1 Aim and objectives of research	63
3.2 Experimental design and research organization	64
3.2.1 The organizational framework of research	66
3.2.2 Retrieving research data	69
3.3 Research material	73
3.4 Methodology of research	75
3.4.1 Determination of crude chemical composition of feed and milk	75
3.4.2 Monitoring and quantification of mineral oil hydrocarbons by LC-GC-FID technique	76

CHAPTER 4. RESULTS ON CHARACTERIZATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF FEED AND MILK	81
4.1 Results obtained for mountain area farm	81
4.2 Results obtained for rural area farm	84
4.3 Results obtained for urban area farm	87
4.4 Comparative analysis of crude chemical composition of feed and milk	91
CHAPTER 5. RESULTS ON FEED CONTAMINATION WITH MINERAL OIL HYDROCARBONS	95
5.1 Results obtained for mountain area farm	95
5.2 Results obtained for rural area farm	103
5.3 Results obtained for urban area farm	114
5.4 Comparative analysis of mineral oil hydrocarbons feed contamination	125
CHAPTER 6. RESULTS ON MILK CONTAMINATION WITH MINERAL OIL HYDROCARBONS	129
6.1 Results obtained for mountain area farm	129
6.2 Results obtained for rural area farm	134
6.3 Results obtained for urban area farm	138
6.4 Comparative analysis of mineral oil hydrocarbons feed contamination	142
CHAPTER 7. RESULTS ON ASSESSMENT OF POSSIBILITY OF TRANSFER OF MINERAL OIL HYDROCARBONS FROM FEED TO MILK	145
7.1 Results obtained for mountain area farm	145
7.2 Results obtained for rural area farm	148
7.3 Results obtained for urban area farm	150
7.4 Considerations on mineral oil hydrocarbons transfer from feed to milk ...	153
CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	161
ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS	167
LIST OF SCIENTIFIC PUBLISHED PAPERS	169
BIBLIOGRAPHY	171

ABBREVIATIONS

1-MN	1- methylnaphthalene	Mo	mountain
2-MN	2- methylnaphthalene	MAS	microwave assisted saponification
ADF	acid detergent fiber	MOAH	mineral oil aromatic hydrocarbons
AlOx	aluminum oxide passage	MOH	mineral oil hydrocarbons
AU	combined feed	MOSH	mineral oil saturated hydrocarbons
BaP	benzo(a)pyrene	MS	mass spectrometry
BB	brewers spent grain	NDF	neutral detergent fiber
decaBDE	decabromodiphenyl ether	PAH	polycyclic aromatic hydrocarbons
BFR	brominated compounds	PAO	polialfaolefines
CAS	Chemical Abstracts Service no.	PB	corn grain
CB	crude fiber	PCB	polychlorinated biphenyls
CenB	Ash	PCDD	polychlorinated dibenzo-p-dioxins
CHL	cis-chlordane and trans-nonachlor	PCDF	polychlorinated dibenzofurans
Cho	Cholestane	PCP	pentachlorophenol
CyCy	Cyclohexylcyclohexane	PE	polythene
DDE	dichloro-diphenyl-dichloroethane	Per	perylene
DDT	dichloro-diphenyl-trichloroerane	PFC	perfluorinated compounds
DL-	dioxin-like	PFOA	perfluorooctanoic acid
PCBs	polychlorinated biphenyls	PFOS	perfluorooctane sulfonic acid
DMBA	Dimethylbenzoanthracene	PM	mountain pasture
DN	national road	POPs	persistent organic pollutants
EC	European Comission	POSH	polyolefinic oligomeric saturated hydrocarbons
EPOX	Epoxidation	PP	polypropylene
FCM	food contact material	Pr.B	crude protein
FL	alfalfa hay	R	high (*pollution level)
FN	natural hay	Rr	rural
GB	crude fat	S	low (*pollution level)
GC	gas chromatography	SEN	non-nitrogenous extractives
HBCDD	Hexabromciclododecan	SO	organic substances
HCB	Hexabromocyclodecane	SP	corn silage
HCH	Hexacyclohexane	SS	soya meal
HPLC	high performance liquid chromatography	SSL	alfalfa silage
IR	refraction index	SU	dry matter
IS	internal standard	T	triticale
L	Milk	TBB	tert-butylbenzene
LC	liquid chromatography	TEQ	toxic equivalent
L _i	milk/ winter ration	U	urban
L _v	milk/ summer ration	UPLC	ultra performance liquid chromatography
M	medium (*pollution level)		

LIST OF TABLES

Table 1.1 POPs listed in the Stockholm Convention	10
Table 1.2 Literature survey on the chemical composition of some bulky feeds	14
Table 1.3 Literature survey on the chemical composition of some concentrated feeds	15
Table 1.4 Incidence of some organic pollutants in dairy products	28
Table 1.5 PCDD/F in milk and their elimination over time	28
Table 1.6 Incidence of some POPs in soil, feed and milk	30
Table 1.7 Contributions of different sectors to greenhouse gas emissions in 2014-2019	32
Table 1.8 Greenhouse gas emissions in 1990-2019 by activity branch	33
Table 1.9 Nutritional possibilities for reducing the incidence of pollution in animal production	34
Table 2.1 Literature survey on presence of MOSH/MOAH in vegetal and animal production	44
Table 2.2 Performance requirements for MOSH/MOAH analysis	57
Table 2.3 Legislative proposals on MOSH/MOAH reference levels	59
Table 3.1 Monitoring elements during the study period	70
Table 3.2 Sources of pollution and classification of units by expected level of pollution	71
Table 3.3 Chemical treatments applied to vegetable crops	72
Table 3.4 Material and samples	73
Table 4.1 Results on crude chemical composition of feed in the mountain area farm	81
Table 4.2 Results on chemical composition of milk from the mountain area farm	83
Table 4.3 Results on crude chemical composition of feed in the rural area farm	84
Table 4.4 Results on chemical composition of milk from the rural area farm	86
Table 4.5 Results on crude chemical composition of feed in the urban area farm	87
Table 4.6 Results on chemical composition of milk from the urban area farm	91
Table 5.1 Results on MOSH/MOAH concentrations in feed for mountain area farm	95
Table 5.2 The level of MOSH/MOAH contamination of feed for mountain area farm and the relationship with polluting factors	99
Table 5.3 The level of contamination with MOSH/MOAH of feed for mountain area farm and the relationship with the technological factors of contamination	100
Table 5.4 The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of feed for mountain area farm and the relationship with the analytical factors of contamination	100
Table 5.5 Results on MOSH/MOAH concentrations in feed for rural area farm	104
Table 5.6 The level of MOSH/MOAH contamination of feed for rural area farm and the relationship with polluting factors	107
Table 5.7 The level of contamination with MOSH/MOAH of feed for rural area farm and the relationship with the technological factors of contamination	111
Table 5.8 The level of contamination with MOSH/MOAH of feed from rural area farm and the relationship with the analytical factors of contamination	112
Table 5.9 Results on MOSH/MOAH concentrations in feed for urban area farm	115
Table 5.10 The level of MOSH/MOAH contamination of feed for urban area farm and the relationship with polluting factors	118
Table 5.11 The level of contamination with MOSH/MOAH of feed for urban area farm and the relationship with the technological factors of contamination	122
Table 5.12 The level of contamination with MOSH/MOAH of feed for urban area farm and the relationship with the analytical factors of contamination	123

Table 6.1 Results on MOSH/MOAH concentrations in milk for mountain area farm	129
Table 6.2 The level of contamination with MOSH/MOAH of milk from mountain area farm and the relationship with the technological factors of contamination	130
Table 6.3 The level of contamination with MOSH/MOAH of milk from mountain area farm and the relationship with the analytical factors of contamination	130
Table 6.4 Results on MOSH/MOAH concentrations in milk for rural area farm	135
Table 6.5 The level of contamination with MOSH/MOAH of milk for rural area farm and the relationship with the technological factors of contamination	137
Table 6.6 The level of contamination with MOSH/MOAH of milk for rural area farm and the relationship with the analytical factors of contamination	137
Table 6.7 Results on MOSH/MOAH concentrations in milk for urban area farm	139
Table 6.8 The level of contamination with MOSH/MOAH of milk for urban area farm and the relationship with the technological factors of contamination	141
Table 6.9 The level of contamination with MOSH/MOAH of milk from urban area farm and the relationship with the analytical factors of contamination	141

LIST OF FIGURES

Figure 1.1 Animal feed clasification	13
Figure 1.2 Factors regarding the transfer efficiency of substances from feed to animal body and animal production	18
Figure 1.3 Roles of lipids in the animal body	20
Figure 1.4 Absorption mechanism of nutrients in the body	23
Figure 2.1 Examples of chemical structures of MOSH and MOAH	36
Figure 2.2 LC-GC-FID chromatograms of a selection of samples with endogenous linear hydrocarbons	37
Figure 2.3 LC-GC-FID representation of internal standard	38
Figure 2.4 Representation of the LC-GC-FID chromatograms of the standard mixture by categories of n-C sub-fractions	39
Figure 2.5 Migration model of contaminants into food along the processing chain ..	43
Figure 2.6 Simplified working principle of the LC-GC-FID system	51
Figure 2.7 Decision tree on MOSH/MOAH working protocol and ancillary methods of analysis proposed by JRC	55
Figure 3.1 Experimental plan of the research	65
Figure 3.2 Location of the studied farms	67
Figure 3.3 Food Chemistry Laboratory, Department of Agricultural, Environmental and Animal Sciences, University of Udine	68
Figure 3.4 Sampling and preparation of samples for analysis	74
Figure 3.5 Determination of crude chemical composition: feed and milk fat composition	76
Figure 3.6 Working protocol applied for the determination of MOSH/MOAH by the LC-GC-FID detection technique	78
Figure 4.1 The average content of dry matter, organic matter and crude fat of the feeds	92
Figure 4.2 Average content of total dry matter and crude fat of milk	94
Figure 5.1 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for natural hay samples	97
Figure 5.2 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for mountain pasture samples	98
Figure 5.3 LC-GC-FID chromatograms of natural hay samples with migration patterns of MOSH/MOAH from packaging materials	102
Figure 5.4 LC-GC-FID chromatograms of mountain pasture with migration patterns of MOSH/MOAH from packaging material	103
Figure 5.5 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH fractions for corn grain samples	105
Figure 5.6 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH fractions for combined feed samples	106
Figure 5.7 LC-GC-FID chromatograms of MOSH fractions for alfalfa hay and corn silage samples	109
Figure 5.8 LC-GC-FID chromatograms of MOAH fractions for alfalfa hay and corn silage samples	110
Figure 5.9 LC-GC-FID chromatograms showing migration patterns of MOSH/MOAH from packaging materials to feed from rural farm	113
Figure 5.10 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for corn grain samples	116
Figure 5.11 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for combined feed samples	117
Figure 5.12 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for corn silage and alfalfa silage samples	119

Figure 5.13 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for corn grain samples	120
Figure 5.14 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for brewers spent grain sample	121
Figure 5.15 LC-GC-FID chromatograms showing migration patterns of MOSH/MOAH from packaging materials to feed from urban farm	124
Figure 5.16 MOSH concentrations of all feed samples	126
Figure 5.17 MOAH concentrations of all feed samples	126
Figure 5.18 Overlay of MOSH/MOAH chromatograms of feed samples from mountain farm, rural farm and urban farm	127
Figure 6.1 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for S-L _i milk samples from mountain farm	131
Figure 6.2 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for S-L _v milk samples from mountain farm	132
Figure 6.3 LC-GC-FID chromatograms of S-L _i and S-L _v samples on MOSH fractions in relation to the MOSH distribution in the waxed paper	134
Figure 6.4 LC-GC-FID chromatograms of MOSH and MOAH for M-L milk samples	136
Figure 6.5 LC-GC-FID chromatograms of M-L samples on MOSH/MOAH in relation to MOSH/MOAH distribution in the waxed paper	138
Figure 6.6 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for R-L milk samples	140
Figure 6.7 LC-GC-FID chromatograms of R-L samples on MOSH/MOAH in relation to MOSH/MOAH distribution in the waxed paper	142
Figure 6.8 MOSH and MOAH concentrations of all milk samples	143
Figure 6.9 LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH showing examples of migration of MOH from contact materials into milk samples	144
Figure 7.1 Comparison of LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for mountain pasture and milk samples S-L _v	146
Figure 7.2 Comparison of LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for natural hay and S-L _i milk samples	146
Figure 7.3 Estimation of MOSH/MOAH contamination level from feed samples and milk samples for mountain farm	147
Figure 7.4 Comparison of LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH fractions for corn grain, soya meal, combined feed and M-L milk samples	149
Figure 7.5 Estimation of MOSH/MOAH contamination level from feed and milk samples for rural farm	150
Figure 7.6 Comparison of LC-GC-FID chromatograms of MOSH/MOAH for alfalfa silage, corn grain, combined feed and R-L milk samples	151
Figure 7.7 Estimation of MOSH/MOAH contamination level from feed and milk samples for urban farm	152
Figure 7.8 MOSH/MOAH content for feed-milk samples pair from each farm	153

REZUMAT

Cuvinte cheie: hidrocarburi din uleiuri minerale, poluare, nutrețuri, lapte, lanț agro-alimentar

Poluarea modernă și poluanții actuali antrenează numeroase provocări pentru sectorul agro-alimentar, cu atât mai mult pentru producția animalieră.

În ciuda impactului lor toxicologic, problematica contaminării cu hidrocarburi din uleiuri minerale a captat atenția cu puțini ani în urmă, până la momentul actual, la nivel internațional, fiind elaborate deosebit de puține abordări privind contaminarea cu hidrocarburi din uleiuri minerale în nutrețuri.

Mai mult de atât, studiul trasabilității contaminanților nu este suficient de riguros, puținele prevederi legislative existente limitându-se asupra sectorului alimentar, subestimând importanța alimentației animalelor în obținerea unor producții sigure, ceea ce face dificilă monitorizarea surselor potențiale de contaminare și aplicarea unor măsuri de prevenție specifice, acțiuni care și-ar putea transmite beneficiile asupra unei producții alimentare sigure pentru consumatori.

Evoluția problematicii privind poluarea și contaminarea modernă pe lanțul agro-alimentar au condus către o serie de investigații privind riscurile de expunere la contaminarea din mediu. Importante caractere cancerigene și genotoxice, precum și un potențial ridicat de bioacumulare al contaminanților în organismele umane și animale au fost evidențiate pentru hidrocarburile din uleiuri minerale.

Datele insuficiente și caracterul toxic al contaminanților moderni au condus către nevoia de a investiga, în mod sistematic și critic, incidența episoadelor de contaminare cu hidrocarburi din uleiuri minerale în sectorul producției animaliere.

Prin asocierea analitică a unor concepte și idei, o intensă activitate de cercetare a fost realizată cu scopul de a monitoriza și cuantifica hidrocarburile din uleiuri minerale, în vederea evaluării posibilității de migrare a acestora din nutrețuri în lapte, ca rezultat posibil al transferului metabolic din organismul animal.

Prin procedee specifice de extracție și purificare și aplicarea tehnicii de detecție cuplate LC-GC-FID, au fost analizate probe de nutrețuri și de lapte prelevate din trei unități cu profil zootehnic situate în areale geografice selectate în funcție de nivelul preconizat de poluare, în vederea monitorizării, cuantificării și confirmării prezenței hidrocarburilor saturate (MOSH) și aromatice (MOAH) din uleiuri minerale.

Pentru a evalua factorii care afectează inocuitatea nutrețurilor și a laptelui și pentru a înțelege mecanismele care facilitează transferul contaminanților din nutrețuri în lapte, cercetarea a fost orientată pe obiective concrete, materializate prin analiza nivelului de contaminare în raport cu nivelul de poluare preconizat, caracterizarea profilului de contaminare și elaborarea de strategii eficiente de reducere a poluării.

Teza de doctorat *”Contribuții la evaluarea transferului unor poluanți din nutrețuri în laptele de vacă”* a fost structurată în două părți, ce includ un număr total șapte capitole, 43 de tabele, 54 de figuri și 274 titluri bibliografice, prin care au fost

integrate în dinamica tezei studiul literaturii de specialitate cu referire la problematica abordată, cercetările proprii, concluziile, recomandările, dar și originalitatea, o selecție a contribuțiilor inovative ale tezei și referințele bibliografice consultate.

Date actuale din literatura de specialitate și din cercetări de profil au fost incluse în primele două capitole ce definesc prima parte a lucrării.

În primul capitol au fost prezentate particularitățile privind relația dintre poluarea mediului și producția animală, centrate asupra principalilor poluanți și contaminanți cu incidență ridicată pe lanțul agro-alimentar, la care au fost integrate o serie de aspecte privind compoziția chimică și transferul substanțelor din hrană în corpul și în producțiile animalelor.

În cel de-al doilea capitol, au fost descrise principalele particularități privind incidența unei clase de noi de contaminanți, hidrocarburile din uleiuri minerale, cu accent pe toxicitatea acestora asupra organismelor animale și umane și pe posibilitățile de confirmare a prezenței lor în producția vegetală și animală.

Partea de contribuții proprii a tezei de doctorat cuprinde cinci capitole în care au fost prezentate scopul și organizarea cercetării desfășurate, a fost descrisă metodologia de confirmare a contaminării nutrețurilor și a laptelui cu hidrocarburi din uleiuri minerale și s-au materializat rezultatele cercetării în vederea evaluării potențialului de transfer al poluanților pe lanțul agro-alimentar, clarificând mecanismele care facilitează transferul contaminanților din nutrețuri în lapte.

Cel de-al treilea capitol argumentează scopul, obiectivele, motivația și aplicabilitatea cercetării și descrie succint desfășurarea și organizarea cercetării, cu accent pe cadrul organizatoric selectat, materialul de studiu și tehnica de detecție ce a stat la baza confirmării prezenței contaminanților în probele studiate.

Rezultatele cercetării, integrate în ultimele trei capitole, prezintă într-o manieră obiectivă cele mai relevante aspecte identificate în urma monitorizării și confirmării prezenței hidrocarburilor saturate și aromatice din uleiuri minerale din probele de nutrețuri și probele de lapte ale unităților selectate.

Pe baza datelor obținute din cercetările efectuate în unitățile din cele trei areale geografice selectate (montan, rural, urban), au fost dezvoltate strategii de confirmare a contaminării nutrețurilor și a laptelui. Rezultatele obținute au fost formulate în acord cu obiectivele propuse, după cum urmează:

- A fost fixat cadrul metodologic al cercetării și au fost evaluate sursele de poluare specifice; în acest fel, au fost caracterizate unitățile studiate în raport cu nivelul potențial de poluare preconizat în arealul geografic selectat: scăzut (S) în zona montană (Mo), mediu (M) în zona rurală (Rr) și ridicat (R) în zona urbană (U).

- S-a determinat compoziția chimică brută a nutrețurilor și a laptelui și s-au analizat comparativ parametri urmăriți, în raport cu specificul alimentației animalelor din fiecare unitate studiată. Dintre componentele chimice brute, conținutul de grăsime a avut în special aplicabilitate în relație cu studiul contaminanților.

Analiza compoziției chimice a nutrețurilor și a laptelui a arătat în general o uniformitate la nivelul fiecărei unități, cu o distribuție echilibrată a nutrienților în toate probele analizate, diferențele dintre valorile obținute și valorile considerate referință, sesizate în cazuri particulare, fiind explicate fie condițiile diferite de obținere și procesare, condițiile de depozitare și transport a nutrețurilor, sezon, stadiul de vegetație al culturii la momentul prelevării probei sau condițiile de prelucrare a probei.

▪ A fost monitorizată și confirmată prezența MOSH/MOAH din probele de nutrețuri și a fost caracterizat profilul de contaminare în raport cu implicațiile factorilor poluanți sau contaminanți; rezultatele obținute au permis analiza comparativă contaminării nutrețurilor din cele trei unități selectate (montană, rurală, urbană).

Atât pentru MOSH, cât și pentru MOAH, s-au obținut în general rezultate cantitative și de confirmare a prezenței contaminanților importanți pentru a dovedi fiabilitatea metodei de detecție LC-GC-FID utilizată, pentru care s-au demonstrat bune performanțe în ceea ce privește cuantificarea rezultatelor.

Evaluarea nivelurilor de contaminare a nutrețurilor au confirmat prezența MOSH și MOAH în general pentru toate tipurile de nutrețuri analizate, diferențele evidențiate fiind date de specificul fiecărei unități în raport cu expunerea la diferite surse de poluare, de poziționarea unității și locația culturilor de proveniență a nutrețurilor sau de gradul de tehnologizare a operațiunilor din fermă.

În urma determinărilor cantitative s-a observat că rezultatele privind concentrațiile de MOSH și MOAH au variat foarte mult, probele de nutrețuri având o contaminare medie cu MOSH cuprinsă între 11,4–81,4 mg/kg și un nivel detectabil de MOAH cuprins între 0,6–4,6 mg/kg; cu excepția a patru tipuri de nutrețuri (1–unitatea M-Rr, 3–unitatea R-U), toate celelalte probe au avut niveluri de MOSH și MOAH de câteva zeci de ori peste limita recomandată EU-RL, respectiv 0,5 mg/kg.

Cromatografic, profilurile de contaminare au confirmat prezența MOSH și MOAH în probele de nutrețuri analizate, dar cu toate acestea, nu a fost găsită o legătură concretă între nivelul de contaminare al nutrețurilor și distanța față de sursele de poluare.

Rezultatele obținute pentru unitatea din zona montană S-Mo au arătat că nivelul de contaminare al nutrețurilor a fost cuprins între 21,6–27,4 mg/kg pentru MOSH, respectiv 1,2–1,6 mg/kg pentru MOAH. În unitatea din zona rurală M-Rr, probele de nutrețuri au evidențiat în medie un nivel de contaminare cu MOSH de la 11,4 mg/kg, până la 35,0 mg/kg, în timp ce pentru MOAH a fost evidențiată o contaminare minimă, de până la 2,5 mg/kg. În cazul unității din zona urbană R-U, nivelul de contaminare al nutrețurilor a variat de la 16,9–81,4 mg/kg MOSH până la 0,5–4,5 mg/kg MOAH,

În mod specific, nivelul considerabil de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor a fost atribuit în general traficului terestru și aerian, activităților industriale, istoricului zonal incluzând activități miniere, precum și contaminării

tehnologice prin prisma emisiilor și lichidelor tehnice ale echipamentelor și utilajelor agricole utilizate la obținerea nutrețurilor.

La evaluarea factorilor de poluare și contaminare, pentru toate cele trei unități studiate, s-a evidențiat că din punct de vedere tehnologic, operațiunile aplicate culturilor vegetale nu au avut un impact considerabil în ceea ce privește contaminarea nutrețurilor.

În raport cu sursele de poluare, nivelul de contaminare al nutrețurilor din fiecare unitate nu a fost în totalitate proporțional cu gradul și intensitatea de expunere la sursele de poluare identificate în arealul geografic studiat. Atât pentru MOSH, cât și MOAH, nivelul cel mai redus de contaminare al nutrețurilor a fost evidențiat pentru unitatea din zona rurală M–Rr, urmat de o contaminare mai ridicată evidențiată pentru nutrețurile unității din zona montană S–Mo, nivelul cel mai ridicat de contaminare fiind atribuit nutrețurilor unității din zona urbană R–U.

- Dat fiind caracterul lipofil al contaminanților, a fost analizată relația dintre nivelul de contaminare și conținutul de grăsime brută al nutrețurilor, aspect în urma căruia s-a confirmat că nivelurile cele mai ridicate de contaminare cu MOSH/MOAH au fost în cazul probelor cu cele mai ridicate conținuturi de grăsime brută.

- A fost monitorizată și confirmată prezența MOSH și MOAH din probele de și a fost caracterizat profilul de contaminare în raport cu implicațiile diferiților factori poluanți sau contaminanți; rezultatele obținute au permis analiza comparativă a contaminării laptelui din cele trei unități selectate.

Rezultatele obținute au evidențiat niveluri deosebite de contaminare cu MOSH/MOAH pentru toate cele patru eșantioane de lapte analizate, cu valori cuprinse între 3,3–9,9 mg/kg MOSH, respectiv 2,6–5,7 mg/kg MOAH. Au fost sesizate diferențe mici între unitățile selectate, toate probele de lapte indicând un nivel de contaminare cu MOSH și MOAH considerabil mai mare decât limita recomandată EU-RL (0,5–1,0 mg/kg).

Pentru identificarea surselor obiective de contaminare, în limita posibilităților, s-a realizat cuantificarea MOH din materialele în componența cărora se găsesc uleiuri minerale și cu care laptele au intrat în contact. S-a evidențiat o contaminare importantă indusă de materialele de contact, susținută de un profil de contaminare similar, confirmat la nivelul probelor de lapte analizate.

- Au fost elaborate strategii de confirmare a transferului MOSH/MOAH din nutrețuri în lapte, prin analiza conținuturilor medii de MOSH/MOAH și analiza profilurilor de contaminare în vederea identificării interferențelor comune.

- Similitudini între profilurile de contaminare și o distribuție asemănătoare a MOSH/MOAH au fost evidențiate pentru mai multe grupuri de probe nutreț–lapte; chiar și în lipsa unei potriviri depline a profilurilor de contaminare, distribuția similară a contaminanților MOSH/MOAH în același interval molecular (n – C_{16-25}) observată atât în cazul probelor de nutrețuri, cât și în cazul probelor de lapte, a

sugerat existența unui model de migrare pe cale metabolică a contaminanților, din nutrețurile ingerate în lapte și a indicat astfel condiții comune de contaminare.

Estimarea posibilității de transfer pe cale metabolică a contaminanților din nutrețuri în lapte, pe baza rezultatelor cantitative obținute, a reflectat, în general, o migrație medie spre redusă a contaminanților urmăriți. Pe baza evaluării profilurilor de contaminare s-a apreciat că transferul contaminanților a fost mai evident la nivelul unității din zona montană S-Mo, urmată de unitatea din zona rurală M-Rr și, în final, unitatea din zona urbană R-U.

Interferențe comune, ce confirmă transferul metabolic al MOSH/MOAH în lapte, au fost observate în special între probele de fân natural S-FN și laptele din rația de iarnă S-L_i ale unității din zona montană; probele de porumb boabe M-PB, șrot de soia M-SS, nutreț amestec M-AU și probele de lapte M-L ale unității din zona rurală, respectiv probele de siloz de porumb R-SP, semisiloz de lucernă R-SSL, porumb boabe R-PB și probele de lapte R-L ale unității din zona urbană.

Valorificarea cercetării a fost realizată prin obținerea de rezultate concrete în diferite zone de cercetare, iar acestea confirmă prezența MOSH/MOAH în nutrețuri sau lapte și sunt comparabile cu rezultatele anterioare obținute în cercetări similare. Având în vedere că studiul contaminării constituie un subiect sensibil și într-o continuă fluctuație, ca urmare a existenței diferitelor surse de poluare care pot imprima caracteristici diverse, cercetarea realizată a oferit doar modele de migrare a contaminanților din nutrețuri în lapte ca rezultate posibile ale transferului metabolic.

Managementul strategic prin care s-au realizat conexiuni între rezultatele obținute a permis evidențierea transferului contaminanților din nutrețuri în lapte pe baza interferențelor comune și au pus în valoare capacitatea de a identifica soluții optime pentru abordarea problemelor de siguranță a hranei pentru animale ca factor esențial pentru siguranța producțiilor animale. Rezultatele conturate în prezenta lucrare pot servi la implementarea unor bune practici de producție pentru minimizarea riscurilor de contaminare și pot deschide noi orizonturi de colaborare cu unități cu preocupări teoretice și aplicative în domeniu.

Abordarea problematicii privind contaminarea pe lanțul agro-alimentar, în relație cu sursele moderne de poluare, a condus, printr-un raționament analitic, la asocierea de idei și soluții de o reală utilitate pentru dezvoltare și noi perspective.

Fiind fundamentată pe baza unor referințe de specialitate bine argumentate și adaptată astfel încât să ofere conținut original și valoare adăugată cercetării internaționale, prezenta teză de doctorat reprezintă forma primară a unei realizări care, prin rezultatele sale, poate servi la implementarea unor bune practici de producție pentru minimizarea riscurilor de contaminare și poate deschide noi orizonturi de colaborare cu unități cu preocupări teoretice și aplicative în domeniu.

SUMMARY

Key words: mineral oils hydrocarbons, pollution, feed, milk, agri-food chain

Modern pollution and current pollutants present numerous challenges for the agri-food sector, even more so for animal production.

Despite their toxicological impact, the problem of contamination with mineral oil hydrocarbons captured the attention a few years ago, until now, at the international level, particularly few approaches regarding the contamination with mineral oil hydrocarbons in feed have been developed.

Moreover, the study of traceability of contaminants is not rigorous enough, the few existing legislative provisions are limited to the food sector, underestimating the importance of animal nutrition in obtaining safe productions, which makes it difficult to monitor potential sources of contamination and apply preventive measures that could pass on their benefits to safe food production for consumers.

The evolution of the issue regarding modern pollution and contamination in the agro-food chain led to a series of investigations regarding the risks of exposure to environmental contamination. Important carcinogenic and genotoxic characters, as well as a high potential for bioaccumulation of contaminants in human and animal organisms, have been highlighted for mineral oil hydrocarbons. Insufficient data and toxicity of modern contaminants have led to the need to systematically and critically investigate the incidence of contamination episodes with mineral oil hydrocarbons in the animal production.

Through the analytical association of some concepts and ideas, an intense research activity was carried out for monitoring and quantifying the mineral oil hydrocarbons, in order to evaluate the possibility of their migration from feed to milk, as a possible result of metabolic transfer from the animal body.

Through specific extraction and purification procedures and the application of the coupled LC-GC-FID detection technique, feed and milk sampled from three farms located in geographical areas selected according to expected level of pollution were analyzed, in order to monitoring, quantifying and confirming the presence of mineral oil saturated (MOSH) and aromatic (MOAH) hydrocarbons.

In order to evaluate the factors that could affect the innocuity of feed and milk and to understand the mechanisms of the transfer of contaminants from feed to milk, the research was carried out towards specific objectives, by analyzing the level of contamination in relation to expected level of pollution in the farms, characterizing the contamination profile and developing effective strategies to reduce pollution and maintain a good relationship between animals and environment.

The PhD thesis "*Contributions to assessment of the transfer of some pollutants from feed into cow's milk*" was structured in two parts, including a total of seven chapters, 43 tables, 54 figures and 274 bibliographic titles, which have

integrated into the dynamics of the thesis, study of the literature referring to addressed issue, own research, conclusions, recommendations, but also originality, a selection of the innovative contributions of the thesis and bibliographic references.

Current data from literature and specific research were included in the first two chapters that made up the first part of the paper.

In the first chapter, the particularities regarding the relationship between environmental pollution and animal production were presented, focused on the main pollutants and contaminants with a high incidence on the agro-food chain, to which were integrated some aspects regarding the chemical composition and the transfer of substances from food to the animal body and to the animal productions.

In the second chapter, the main particularities regarding the incidence of a new class of contaminants, the mineral oil hydrocarbons, were described, with an emphasis on their toxicity on animal and human organisms and on the possibilities of confirming their presence in vegetal and animal production.

The own contributions of the PhD thesis includes five chapters in which were presented the purpose and organization of research, was described the methodology for confirming the contamination of feed and milk with mineral oil hydrocarbons and were materialized the results of the research in order to evaluate the potential of the transfer of pollutants along the agri-food chain, clarifying the mechanisms of the transfer of contaminants from feed to milk.

The third chapter argues the purpose, objectives, motivation and applicability of the research and briefly describes the organization of research, with an emphasis on selected organizational framework, the study material and the detection technique for confirming the presence of contaminants in the samples.

The results of the research, integrated in the last three chapters, present in an objective way, the most relevant aspects identified following the monitoring and confirmation of presence of saturated and aromatic mineral oil hydrocarbons in the feed and milk samples of the farms.

Based on the data obtained from the research carried out in the farms selected by geographical areas (mountain, rural, urban), strategies were developed to confirm the contamination of feed and milk. The results obtained were formulated according the proposed objectives, as follows:

- The methodological framework was fixed and the pollution sources were evaluated; in this way, the farms were characterized in relation to the potential level of pollution expected in the selected geographical area: low (S) in the mountainous area (Mo), medium (M) in the rural area (Rr) and high (R) in the area urban (U).

- The crude chemical composition of feed and milk was determined and monitored parameters were comparatively analyzed, in relation to the specifics of feeding of animals in each farm. Among the crude chemical components, fat content has had particular applicability in relation to the study of contaminants.

The analysis of chemical composition of feed and milk samples generally showed a uniformity in each farm, with a balanced distribution of nutrients in all the analyzed samples, the differences between the values obtained and the values considered as reference, noticed in some cases, being explained either by the different conditions of obtaining or processing, storing and transporting, vegetation stage of crops at the time of sampling or the sample processing conditions.

- The presence of MOSH/MOAH in feed samples was monitored and confirmed and contamination profile was characterized in relation to the implications of polluting or contaminating factors; the results obtained allowed the comparative analysis of feed contamination from the three farms (mountain, rural, urban).

For both MOSH and MOAH, quantitative and confirmatory results were generally obtained for the presence of important contaminants to prove the reliability of the LC-GC-FID detection method used, which demonstrated good performance in terms of quantification of results.

The evaluation of contamination levels of the feed confirmed the presence of MOSH and MOAH generally for all types of feed analyzed, the differences being given by the specifics of each farm in relation to exposure to different sources of pollution, the positioning of the farm and the location of crops from which the feed was sourced or the degree of technologization in farms.

Following the quantitative analysis, it was observed that the results regarding MOSH and MOAH concentrations varied widely; feed samples had an average MOSH contamination between 11,4–81,4 mg/kg and a detectable MOAH level between 0,6–4,6 mg/kg; except for four feed types (1–M-Rr farm, 3–R-U farm), all other samples had levels of MOSH and MOAH several times above the EU-RL recommended limit of 0,5 mg/kg.

Chromatographically, the contamination profiles confirmed the presence of MOSH and MOAH in feed samples analyzed but no specific relationship was found between the level of feed contamination and the distance from the pollution sources.

The results obtained for S-Mo mountain farm showed that the contamination level of feed was between 21,6–27,4 mg/kg MOSH and 1,2–1,6 mg/kg MOAH. In M-Rr rural farm, feed samples showed an 11,4 mg/kg, up to 35,0 mg/kg average level of MOSH contamination, while MOAH contamination was minimum, up to 2,5 mg/kg. For the R-U urban farm, the level of feed contamination ranged from 16,9–81,4 mg/kg MOSH to 0,5–4,5 mg/kg MOAH.

Specifically, the considerable level of MOSH/MOAH contamination of feed was generally attributed to land and air traffic, industrial activities, areas with mining activities, as well as technological contamination through emissions and technical fluids of agricultural equipment and machinery used for obtaining feed.

Evaluating the pollution and contamination factors, for all three farms, it was highlighted that technologically, the operations applied to vegetal crops did not have a considerable impact in terms of contamination of feeds.

In relation to sources of pollution, the level of contamination of feed in each farm was not entirely proportional to the degree and intensity of exposure to sources of pollution identified in the geographical area studied. For both MOSH and MOAH, the lowest level of feed contamination was found for the rural farm M-Rr, followed by a higher contamination found for the feed of mountain farm S-Mo, the highest level of contamination being attributed to feed of urban farm R-U.

- Given the lipophilic nature of contaminants, the relationship between the level of contamination and the crude fat content of the feed was analyzed, which confirmed that the highest levels of contamination with MOSH/MOAH were in the case of samples with the highest crude fat contents.

- The presence of MOSH and MOAH in samples was monitored and confirmed and contamination profile was characterized in relation to the implications of different pollutant or contaminant factors; the results obtained allowed the comparative analysis of milk contamination from the three farms.

The obtained results revealed particular levels of contamination with MOSH/MOAH for all four analyzed milk samples, with values between 3,3–9,9 mg/kg MOSH and 2,6–5,7 mg/kg MOAH. Small differences were noted between the farms, with all milk samples showing a level of MOSH and MOAH contamination considerably higher than the EU-RL recommended limit (0,5–1,0 mg/kg).

In order to identify the specific sources of contamination, as far as possible, the quantification of MOH was carried out from the contact materials in which mineral oils are found and with which the milk came into contact. An important contamination given by contact materials was highlighted, supported by a similar contamination profile, confirmed in analyzed milk samples.

- Strategies were developed to confirm the transfer of MOSH/MOAH from feed to milk, by analyzing average MOSH/MOAH contents and analyzing contamination profiles to identify common interferences.

Similarities between contamination profiles and a similar distribution of MOSH/MOAH were highlighted for several feed–milk sample groups; even in the absence of a complete match of contamination profiles, the similar distribution of MOSH/MOAH contaminants in the same molecular range (n-C₁₆₋₂₅) observed in feed and milk samples showed a model of metabolic migration of contaminants from ingested feed into milk and thus indicated common contamination conditions.

The estimation of possibility of metabolic transfer of contaminants from feed to milk, based on quantitative results obtained, generally showed a medium to low migration of tracked contaminants. Based on the evaluation of contamination profiles, it was appreciated that the transfer of contaminants was more evident for mountain farm S-Mo, followed by rural farm M-Rr and, finally, the urban farm R-U.

Common interferences confirming the metabolic transfer of MOSH/MOAH in milk, were observed especially between S-FN natural hay samples and S-L_i winter ration milk from mountain farm; corn grain samples M-PB, soybean meal M-SS,

mixed feed M-AU and milk samples M-L of rural farm and also corn silage samples R-SP, alfalfa silage R-SSL, corn grain R-PB and R-L milk samples of urban farm.

The valorization of the results was achieved by obtaining specific data in different research areas; the results obtained confirm the presence of MOSH/MOAH in feed or milk and are comparable to previous results obtained in similar research. Considering that the study of contamination is a sensitive and constantly fluctuating subject, as a result of existence of different sources of pollution that can imprint multiple characteristics, the research carried out only offered models of contaminant migration from feed to milk as possible results of metabolic transfer.

The strategic management through which connections were made between the obtained results allowed highlighting the transfer of contaminants from feed to milk based on common interferences. Also, was highlighted the ability to identify optimal solutions to address feed safety issues as an essential factor for safety animal productions. The results outlined in this paper can serve to implement good production practices to minimize contamination risks and can open new perspective for collaboration with different factories with similar concerns in the field.

Addressing the problem of contamination in agri-food chain, in relation to modern sources of pollution, led, through analytical reasoning, to the association of ideas with solutions of real utility for development and new perspectives.

Being substantiated on the basis of well-argued specialized references and adapted in such a way as to provide original content and added value to international research, this doctoral thesis represents the primary form of an achievement that, through its results, can serve to implement good production practices for minimizing the risks of contamination and can open new horizons of collaboration with companies with similar concerns in the field.

INTRODUCERE

Progresele industriale și tehnologice necesare pentru o populație în continuă creștere au condus la eliberarea unor cantități ridicate de poluanți și contaminanți din diferite sectoare productive, cu repercusiuni importante asupra ecosistemului natural, poluarea devenind astfel o problemă de actualitate pentru societatea modernă. Destabilizarea mediului natural este, de cele mai multe ori, o rezultată a activităților umane, conștiente sau inconștiente, însă, care generează o multitudine de componente ce interacționează cu elementele ecosistemului.

În raport cu situația ultimilor ani privind nivelul poluării, schimbarea tiparelor și tendințelor de consum ale populației, prin creșterea cererii de produse de origine animală, a creat o conexiune între creșterea animalelor și mediu, centrată pe obținerea unor producții sigure, în condiții de bunăstare a animalelor și în acord cu dezvoltarea unor strategii eficiente de reducere a poluării și de păstrare a unei relații armonioase a animalelor cu mediul înconjurător (Mitchell, 2007).

Poluarea modernă și clasele de poluanți actuali antrenează noi provocări pentru sectorul producției animaliere, iar contaminarea nutrețurilor ridică probleme importante în ceea ce privește siguranța producțiilor obținute.

În relația cu mediul, ultimii ani au adus în atenția tuturor diferite categorii și clase de poluanți și contaminanți, așa cum sunt hidrocarburile din uleiuri minerale (MOH–eng. *Mineral Oil Hydrocarbons*). Prezența hidrocarburilor din uleiuri minerale în mediu și ușurința cu care pot fi transferate pe lanțul trofic face ca hrana animalelor și producțiile acestora să fie predispuse la o contaminare continuă, fapt ce necesită identificarea căilor prin care aceștia ajung din mediu în hrana animalelor și evaluarea posibilității de transfer în producțiile animalelor.

Centrat în special pe problemele de siguranță alimentară, studiul contaminării cu hidrocarburi din uleiuri minerale înglobează un concept complex, ce implică nu numai monitorizarea și cuantificarea contaminanților din alimente, dar și conștientizarea efectelor negative produse prin contaminarea producțiilor vegetale utilizate ca hrană pentru animale, esențiale pentru calitatea și siguranța producțiilor oferite și pentru siguranța consumatorilor (Zubairi ș.a., 2021).

În procesul de monitorizare a contaminării nutrețurilor și a producției animale, poluanții moderni nu beneficiază de un cadru legislativ bine statuat în ceea ce privește limitele de siguranță sau toxicitatea, ceea ce ridică probleme importante la nivelul sectorului agro-alimentar.

Mai mult de atât, studiul trasabilității contaminanților nu este suficient de riguros, puținele prevederi legislative existente limitându-se asupra sectorului alimentar, subestimând importanța ciclului productiv în sine, în special importanța alimentației animalelor, ceea ce face dificilă monitorizarea surselor potențiale de contaminare și aplicarea unor măsuri de prevenție specifice, acțiuni care și-ar putea transmite beneficiile asupra unei producții alimentare sigure pentru consumatori.

Cercetările privind clasele moderne de poluanți sunt încă insuficiente la nivel mondial, cu atât mai mult, la nivelul țării noastre; fără un cadru legislativ riguros și fără referințe de specialitate bine argumentate, episoade de contaminare a nutrețurilor și a producțiilor animale obținute sunt foarte probabile.

În lipsa unor date suficiente, studiul își propune să contureze relația dintre poluarea mediului, creșterea animalelor și obținerea unor producții animale sigure.

Prin procedee specifice de extracție și purificare, urmate de aplicarea tehnicii de detecție LC-GC-FID (cromatografie lichidă–cromatografie gazoasă–detecție cu ionizare în flacără/ *eng. Liquid Chromatography–Gas Chromatography–Flame Ionization Detection*), au fost analizate probe de nutrețuri și probe de lapte prelevate din trei unități cu profil zootehnic, situate în areale geografice selectate în funcție de nivelul preconizat de poluare, în vederea monitorizării, cuantificării și confirmării prezenței hidrocarburilor saturate (MOSH–*eng. Mineral Oil Saturated Hydrocarbons*) și aromatice (MOAH–*eng. Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons*) din uleiuri minerale.

Pe baza rezultatelor obținute se vor dezvolta strategii de confirmare a contaminării nutrețurilor și a laptelui, se vor face aprecieri privind posibilitatea de transfer a contaminanților din nutrețuri în lapte și se vor analiza modelele de migrare pe cale metabolică a contaminanților, precum și condițiile comune de contaminare.

Date actuale din literatura de specialitate și cercetări de profil au fost centralizate în prima parte a lucrării, pentru prezentarea particularităților privind relația dintre poluarea mediului și producția animală, precum și a particularităților privind incidența contaminanților pe lanțul agro-alimentar; cea de-a doua parte a lucrării descrie metodologia de confirmare a contaminării nutrețurilor și a laptelui cu hidrocarburi din uleiuri minerale și completează datele existente pentru a evalua potențialul de transfer al poluanților pe lanțul agro-alimentar, clarificând mecanismele care facilitează transferul contaminanților din nutrețuri în lapte.

INTRODUCTION

The industrial and technological advances necessary for a continuously growing population have led to the release of high amounts of pollutants and contaminants from different productive sectors, with important repercussions on the natural ecosystem, pollution thus becoming a topical issue for modern society. The destabilization of the natural environment is, most of the time, a result of human activities, conscious or unconscious, however, which generate a multitude of components that interact with the elements of the ecosystem.

In relation to the situation of the last years regarding the level of pollution, the change in the consumption patterns and trends of the population, by increasing the demand for products of animal origin, created a connection between animal husbandry and the environment, focused on obtaining safe productions, in conditions of well-being of animals and in accordance with the development of effective strategies to reduce pollution and preserve a harmonious relationship between animals and the environment (Mitchell, 2007).

Modern pollution and current pollutant classes pose new challenges for the animal production sector, and feed contamination raises important issues regarding the safety of the obtained productions.

In relation to environment, recent years have brought to everyone's attention different categories and classes of pollutants and contaminants, such as mineral oil hydrocarbons (MOH). The presence of mineral oil hydrocarbons in environment and the ease with which they can be transferred to the food chain make animal feed and their production prone to continuous contamination, a fact that requires the identification of the ways through which they reach the animal feed from the environment and the evaluation of the possibility of transfer in animal productions.

Focused especially on food safety issues, the study of hydrocarbon contamination from mineral oils encompasses a complex concept, which involves not only the monitoring and quantification of contaminants in food, but also the awareness of the negative effects produced by the contamination of plant productions used as animal feed, essential for the quality and safety of the products offered and for the safety of consumers (Zubairi et al., 2021).

In the process of monitoring the contamination of feed and animal production, modern pollutants do not benefit from a well-established legislative framework in terms of safety limits or toxicity, which raises important problems at the level of the agri-food sector.

Moreover, the study of the traceability of contaminants is not rigorous enough, the few existing legislative provisions are limited to the food sector, underestimating the importance of the productive cycle itself, especially the importance of animal nutrition, which makes it difficult to monitor potential sources

of contamination and apply some specific prevention measures, actions that could pass on their benefits to safe food production for consumers.

Research on modern classes of pollutants is still insufficient worldwide, even more so, at the level of our country; without a rigorous legislative framework and without well-argued specialist references, episodes of contamination of feed and animal products obtained are very likely.

In the absence of enough data, the study aims to outline the relationship between environmental pollution, animal husbandry and safe animal production.

Through specific extraction and purification procedures, followed by the application of LC-GC-FID (*Liquid Chromatography–Gas Chromatography–Flame Ionization Detection*) detection technique, feed and milk sampled from farms located in different geographical areas, selected according to the expected level of pollution, in order to monitor, quantify and confirm the presence of mineral oil saturated (MOSH) and aromatic (MOAH) hydrocarbons.

Based on the results, strategies will be developed to confirm the contamination of feed and milk, assessments will be made regarding the possibility of transfer of contaminants from feed to milk and the patterns of metabolic migration of contaminants will be analyzed, as well as the common conditions of contamination.

Current data from specialized literature and profile research were centralized in the first part of the paper, to present the particularities regarding the relationship between environmental pollution and animal production, as well as the particularities regarding the incidence of contaminants on the agro-food chain; the second part of the paper describes the methodology for confirming the contamination of feed and milk with hydrocarbons from mineral oils and complements the existing data to assess the potential for the transfer of pollutants along the agro-food chain, clarifying the mechanisms that facilitate the transfer of contaminants from feed to milk.

PARTEA I
STUDIUL BIBLIOGRAFIC

PART I
BIBLIOGRAPHIC STUDY

CAPITOLUL 1. POLUAREA MEDIULUI ȘI RELAȚIA CU PRODUCȚIA ANIMALĂ

CHAPTER 1. ENVIRONMENTAL POLLUTION IN RELATION TO ANIMAL PRODUCTION

Creșterea animalelor după principii raționale, în condiții optime și eficiente, a devenit în ultimii ani o prioritate pentru obținerea unor producții sigure și păstrarea unei relații armonioase și durabile între animale și mediul înconjurător.

Pentru a evalua potențialul de transfer al poluanților pe lanțul agro-alimentar, date actuale din literatura de specialitate și cercetări de profil au fost centralizate pentru prezentarea principalelor particularități privind relația dintre poluarea mediului și producția animală. În cadrul acestui capitol au fost studiate principalii poluanți și contaminanți cu incidență ridicată pe lanțul agro-alimentar, dar și serie de particularități privind compoziția chimică și aspecte privind transferul substanțelor din hrană în corpul și în producțiile animalelor.

1.1 Poluarea mediului – poluanți, contaminanți

Poluarea mediului reprezintă o problemă de actualitate a societății moderne ale cărei consecințe negative sunt resimțite la nivel global. Industrializarea, urbanizarea, tehnologizarea și dezvoltarea unor lanțuri de aprovizionare profund interconectate au stimulat dezvoltarea economiei globale și, o dată cu aceasta, au stimulat supraproducția și consumerismul la nivelul populației, ceea ce a condus la epuizarea resurselor naturale și implicit au determinat consecințe negative asupra mediului natural (Singh, 2022).

Ca și concept, poluarea mediului nu poate fi descrisă prin prisma unei definiții statornice și nu poate fi considerată un fenomen clar, fiind în general un proces reversibil perceput în natura subiectului abordat, dar despre care se cunoaște cu certitudine că afectează negativ utilitatea resurselor naturale.

Engelking (2000) a definit poluarea ca o formă de contaminare a mediului cu materiale care interferează cu funcția naturală a ecosistemelor din care fac parte organismele vii și a creat astfel o relație directă între nivelul de poluare și calitatea vieții. Într-un context similar, Landrigan ș.a. (2017) au definit poluarea ca totalitatea schimbărilor ce pot avea loc în mediu în urma acțiunii unor factori contaminanți, în plus, accentuând că degradarea și deprecierea calității mediului poate fi atribuită de cele mai multe ori în special activităților antropice.

În raport cu apariția diferitelor forme de poluare moderne, Nathanson (2021) definește poluarea ca un cumul de acțiuni prin care orice substanță (solidă, lichidă, gazoasă) sau orice formă de energie (căldură, sunet, radioactivitate), este introdusă în mediu la o viteză mai rapidă decât cea cu care ar putea fi dispersată, diluată, descompusă sau depozitată într-o formă inofensivă.

Formele de poluare și tipurile de poluanți sunt clasificați în general în funcție de substratul impactat (apă, aer, sol, plantă) sau în funcție de categoria de poluare (fizică, chimică sau biologică); clasificările moderne include tipuri specifice de poluare precum poluarea fonică, poluarea energetică sau poluarea cu plastic.

Dintre formele de poluare, corespunzător mențiunilor United Nation Environmental Programme (UNEP, 2022), poluarea aerului a constituit dintotdeauna una cele mai mari amenințări de mediu ce au în vedere sănătatea publică la nivel global, aerul fiind un vector de transfer favorabil majorității tipurilor de poluanți. Statistici elaborate în 2019 evidențiază că poluarea aerului conduce, prin consecințele sale negative, spre o criză globală majoră de sănătate, modificări importante fiind resimțite în special în Asia și Europa Centrală (World Bank, 2022). UNEP (2022) menționează despre legătura puternică dintre mediu, starea de sănătate și necesitatea de a aborda în mod sistematic măsuri de prevenție, cu atât mai mult întrucât ~99 % din populația lumii nu beneficiază de niveluri de calitate a aerului corespunzătoare, așa cum a fost stabilit de OMS (Organizația Mondială a Sănătății), toate acestea cu consecințe negative deosebit de importante.

Activitatea urbană, activitățile industriale și transportul, agricultura și în general activitățile umane sunt cele care generează, intenționat sau accidental, o multitudine de compuși cu caracter dăunător, ale căror componente pot interfera cu elementele ecosistemului (Ukaogo ș.a., 2020).

Destabilizarea mediului natural începe de la elementele ecosistemice de bază, odată cu poluarea, prin diferite căi, a solului, apei și a aerului, efectele secundare fiind transmise și resimțite de-a lungul lanțului trofic de către organismele vegetale, animale și până la organismul uman (Ukaogo ș.a., 2020). Dacă în cazul plantelor contaminarea se poate realiza fie prin absorbția poluanților din sol, fie prin depunerea atmosferică a acestora (Teil ș.a., 2004; Yang & Zhu, 2007), în organismul animal și uman poluanții pot pătrunde atât prin inhalare (contaminare directă), dar în special prin ingestia de hrană contaminată (Tremolada ș.a., 2014; Rychen ș.a., 2008).

Conform Singh (2022), efectele poluării mediului asupra ecosistemului sunt variate și depind de cele mai multe ori de specificitatea poluantului și de natura și caracteristicile substratului asupra căruia acesta acționează.

Raportat la specificitate, persistența a fost considerată una dintre cele mai importante proprietăți ale poluanților (Manciulea & Dumitrescu, 2016), de aceea una din clasificările comune urmărește gradul de degradabilitate al poluanților și grupează principalele clase de compuși în: (1) poluanți degradabili sau substanțe ce se descompun rapid prin procese naturale, însă cu potențial nociv dacă acumularea este mai rapidă decât descompunerea; (2) poluanți nedegradabili sau substanțe care, fie nu se descompun, fie se descompun foarte lent în mediul natural.

Indiferent de forma în care se manifestă, poluarea creează condiții dăunătoare ecosistemelor și a devenit o amenințare existențială pentru toate formele de viață de pe pământ. Deși poluarea reprezintă un punct major de discuție prin

prisma efectelor asupra sănătății, nu trebuie neglijate totodată consecințele economice și efectele secundare ale acestora, de la situații ce împiedică creșterea economică, până la exacerbarea sărăciei și inegalității la nivelul populației.

Efectele poluării mediului sunt cu atât mai îngrijorătoare mai ales dacă contaminanții provin din surse de poluare moderne, intensificate în ultimii ani ca urmare a industrializării și urbanizării excesive și a căror manifestări rămân în continuare dificil de controlat sau de eliminat (Kumar ș.a., 2008). Dintre diferiții poluanți și contaminanți prezenți în mediu, pesticidele organice, dioxinele, furanii, metalele grele, hidrocarburile aromatice policiclice, hidrocarburile din uleiurile minerale și alte grupări înrudite sunt compușii ce determină gradul cel mai ridicat de vulnerabilitate pentru elementele de mediu, prin prisma particularităților lor, fiind la momentul actual subiectul asupra căruia globalitatea manifestă un interes deosebit și asupra căruia își concentrează eforturile în ceea ce privește prevenția, reducerea sau eliminarea oricăror forme de risc (EEA, 2020).

Poluanții organici constituie o grupă importantă de contaminanți ai mediului, caracterizați în principal prin persistența îndelungată în mediu și posibilitatea de stocare în țesuturile grase, particularități care, combinate cu un metabolism lent, pot determina o capacitate ridicată de acumulare a acestora, transpunerea lor fiind evidentă asupra întregului ecosistem.

Sintetizați atât pe cale antropică, cât și din surse naturale, poluanții organici persistenți (POPs – eng. *Persistent Organic Pollutants*) sunt compuși organici halogenați, rezistenți la degradarea chimică, fotolitică și biologică, fapt ce facilitează acumularea lor în ecosistemele terestre și acvatice (Manciulea & Dumitrescu, 2016).

Potențialul toxic al poluanților organici a fost monitorizat, iar cei mai nocivi poluanți au devenit parte a unor prevederi legislative. Corespunzător specialiștilor în protecția mediului, cel puțin 12 astfel de substanțe organice cu proprietăți toxice și influențe negative asupra organismelor vii au devenit, în 2001, parte a Convenției de la Stockholm privind POPs (tabelul 1.1).

În prezent, conform European Chemicals Agency (ECHA, 2021), lista poluanților organici interziși sau restricționați cuprinde ~ 28 de substanțe chimice periculoase și include trei categorii de POPs; o variantă de clasificare a fost redată de Curtean-Bănăduc ș.a. (2016), în funcție de sursa de poluare:

- compuși produși în special pentru utilizare în agricultură, incluzând unele pesticidele organoclorurate: aldrin, dieldrin, diclor-difenil-tetracloretan (DDT), heptaclor, mirex, clordan, taxofen, endrin;
- substanțe chimice obținute din activitatea industrială: hexaclorobenzen (HCB), bifenili policlorurați (PCB), compuși perfluorinați (PFC) sau bromurați (BFR);
- produse secundare ale arderii: dioxine (dibenzo-p-dioxine policlorurate, PCDD), furani (dibenzofurani policlorurați, PCDF), hidrocarburi aromatice policiclice (PAH) sau bifenili policlorurați asemănători dioxinelor (DL-PCBs).

Tabelul 1.1/ Table 1.1

Lista POPs aflați sub incidența Convenției de la Stockholm
 POPs listed in the Stockholm Convention
 (prelucrare originală după ECHA, 2021)

AN	DENUMIRE SUBSTANȚĂ	POPs			Anexa
		P	Act. I	Ar. I	
2001	Aldrin	●			A
	Clordan	●			A
	Mirex	●			A
	Dieldrin	●			A
	Endrin	●			A
	Heptaclor	●			A
	Toxafen	●			A
	Hexaclorbenzen (HCB)		▲	■	A,C
	Bifenilii policlorurați (PCB)			■	A,C
	Diclor-Difenil-Tricloretan (DDT)	●			B
	Dibenzo-p-dioxine policlorurate (PCDD)			■	C
	Dibenzofurani policlorurați (PCDF)			■	C
2004	α , β – hexaclorciclohexan; Lindan	●			A
	Clordecon	●			A
	Hidrocarburi aromatice policiclice (PAH)			■	A
	Pentaclorbenzen	●			A
	Hexabromdifenil		▲		A
2010	Pentaclorbenzen		▲	■	A,C
	Tetra- și penta-bromdifenil eter		▲		A
	Hexa- și hepta-bromdifenil eter		▲		A
	Acidul perfluorooctan sulfonic (PFOS)	●	▲		A
2012	Endosulfanul tehnic și izomerii săi	●			A
	Hexaclorbutadienă (HCBDD)		▲	■	A, C
	Decabromdifenil eter (c-decaBDE)		▲		A
	Naftaline policlorinate (PCNs)			■	A, C
2016	Hexabromciclododecan (HBCDD)		▲		A
2019	Pentabromofenil eter		▲		A
	Pentaclorofenol, sărurile și esterii săi (PCP)	●			A
2020	Acidul perfluorooctanoic (PFOA) și sărurile sale		▲		A
	Dicofol	●			A
Actualizări importante		Act legislativ			
Anexa A	Heptabromdifenileter, α/β – pentaclorobenzen	Reg.(UE) 757/2010			
	Endosulfanul tehnic și izomerii săi	Reg. (CE) 519/2012			
	HBCDD (hexabromciclododecan)	Reg. (UE) 293/2016			
	Pentabromofenil eter	Reg. (UE) 1021/2019			
	Pentaclorfenol, sărurile și esterii săi (PCP)	Reg. (CE) 636/2019			
	Acidul perfluorooctanoic (PFOA)	Reg. Delegat (UE) 784/2020			
	Dicofol	Reg. Deleg. (UE) 1204/2020			
●	Pesticide (P)	A – eliminarea producerii și utilizării			
▲	Substanțe din activități industriale (Act. I)	B – restricționarea producerii și utilizării			
■	Produse secundare ale arderii (Ar. I)	C – reducerea eliberării accidentale			

Utilizarea pesticidelor la nivel mondial a cunoscut o extindere importantă în ultimii ani, conform datelor redate de Chavoshani ș.a. (2020), creșterea fiind pusă pe seama modernizării și intensivizării agriculturii. Chiar dacă au fost considerate esențiale pentru protecția culturilor împotriva agenților patogeni, iar introducerea lor spre utilizare a avut în vedere obținerea unui compus care să se descompună rapid chimic sau biologic, să nu se răspândească în mediul înconjurător și să nu aibă efecte nocive, utilizarea practică a pesticidelor a arătat, în schimb, că acestea pot fi dăunătoare întrucât se pot acumula în mediu și pe lanțul trofic, au spectru larg de acțiune, sunt greu degradabile și formează la descompunere produși mai toxici decât compusul inițial, fapt ce a dus la încadrarea lor ca poluanți ai mediului, cu riscuri însemnate asupra sănătății oamenilor și animalelor (Bromilow, 2005).

Substanțele chimice poluante din activitățile industriale includ compuși formați din diferite tipuri de substanțe (PCB, HCB), cu niveluri diferite de toxicitate (WHO, 2010), eliberați fie ca rezultat al combustiei incomplete din numeroase procese industriale (Ding ș.a., 2013; Starek-Swiechowicz ș.a., 2017), fie rezultați ca reziduuri ale diferitelor industrii de prelucrare a compușilor organici sau de prelucrare a maselor plastice (Manciulea & Dumitrescu, 2016).

Din punct de vedere al remanenței în mediu, atât bifenilii policlorurați, cât și hexaclorbenzenul au fost considerați deosebit de rezistenți la degradare și cu un potențial ridicat de bioacumulare în organismele vii, astfel că reziduuri ale acestora pot contamina diferite substraturi, inclusiv hrana animalelor (culturi vegetale) sau hrana oamenilor (lapte, pește, plante, carne).

Dioxinele și furanii sunt formate dintr-un grup de ~210 compuși chimici aromatici policlorurați foarte toxici, grupați în funcție de specificitatea lor în dibenzo–para–dioxine policlorurate (PCDD/dioxine) și dibenzofurani policlorurați (PCDF/furani) și care sunt omniprezenți în mediu ca urmare a faptului că pot fi generați din numeroase procese industriale (Kulkarni, 2019). Ca și particularități, dioxinele și furanii sunt contaminanți persistenți, greu degradabili în mediu, cu capacitate ridicată de a se bioacumula și transfera, manifestându-și caracterele toxice asupra elementelor de mediu, inclusiv asupra omului, ca verigă finală a lanțului trofic.

Rezultate din procesele de ardere incompletă, similar dioxinelor și furanilor, hidrocarburile aromatice policiclice (PAH–eng. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) reprezintă o clasă de compuși organici cu două sau mai multe nuclee aromatice condensate, cu structuri specifice și persistență ridicată în mediu, fiind regăsite în mod constant în substraturile ecosistemice importante (European Commission, 2001; Baklanov ș.a., 2007). Raportat la nivelul de risc, toxicitatea hidrocarburilor aromatice este în general variabilă, însă pe baza efectelor toxice cuantificate pentru 33 din câteva sute de PAH care pot prezenta risc pentru mediu, doi compuși din clasa hidrocarburilor aromatice policiclice au fost selectați ca fiind cu potențial toxic ridicat (CCME, 2010; Shafy & Mansour, 2016), respectiv 7,12 dimetilbenzoantracen (DMBA) și benzo(a)piren (BaP).

Asemănătoare hidrocarburilor aromatice policiclice, hidrocarburile din uleiuri minerale constituie una din grupele moderne de contaminanți cu implicații importante asupra lanțului alimentar și cu relevanță ecotoxicologică deosebită pentru sănătatea consumatorilor.

Structural, hidrocarburile din uleiuri minerale (MOH) sunt o clasă de contaminanți de origine petrogenă formați din amestecuri complexe de hidrocarburi saturate (MOSH) sau aromatice (MOAH) care pot fi prezente în diferite matrici ca rezultat al contaminării mediului (Bratinova & Hoekstra, 2019), în special din procesele de ardere ale combustibililor, incluzând astfel sectorul transporturilor și sectorul industrial (Gharbi ș.a. 2017; Purcaro ș.a., 2016) sau pot fi eliberate ca rezultat al contaminării pe ciclul de producție, prin prisma practicilor necorespunzătoare de producție incluzând contaminarea accidentală prin intermediul lubrifianților pentru utilajele agricole, a agenților de degajare sau a materialelor de contact (Carrillo ș.a., 2022).

Prin prisma surselor de origine și a particularităților care favorizează transferul trofic al acestora, MOH pot contamina elementele de mediu și pot migra din sol, în plante, pot contamina cu ușurință organismul animal și producțiile obținute și implicit pot produce efecte toxice importante asupra organismului uman (EFSA, 2012; Canavar ș.a., 2018) motiv pentru care, potențialele efecte negative produse odată cu contaminarea au devenit o problemă esențială pentru siguranța oamenilor și a animalelor (Grob, 2018).

1.2 Compoziția chimică a nutrețurilor, a corpului și producțiilor animalelor

Dezvoltarea unor strategii de hrănire echilibrată pentru animale și cuantificarea limitelor de producție ale animalelor au la bază cunoașterea diferitelor componente din hrana acestora, de aceea, din prisma nutriției și alimentației, creșterea și dezvoltarea animalelor a fost dintotdeauna configurată de caracteristicile nutritive și de tipul de nutrețuri administrate (Laswai ș.a., 2013).

În vederea cunoașterii caracteristicilor nutrețurilor, semnificații diverse au fost atribuite termenului. Conform DEX (2009), nutrețul este termenul ce definește totalitatea plantelor recoltate, ce servesc ca hrană pentru animalele erbivore. Laswai ș.a. (2013) definesc nutrețul ca fiind orice material vegetal ce poate fi consumat de animal, digerat, absorbit și utilizat în organism.

O altă definiție a fost evidențiată prin cadrul legislativ referitor la organizarea producerii și folosirii raționale a nutrețurilor (Regulamentul UE 230/2013), unde s-a menționat că pot fi considerate nutrețuri toate produsele de origine vegetală, animală, minerală și de sinteză care, folosite în hrana animalelor, determină asigurarea funcțiilor vitale și punerea în valoare a potențialului productiv al acestora.

Capacitatea nutrețurilor de a satisface cerințele în substanțe nutritive ale animalelor este diferită în funcție de componentele chimice ale nutrețurilor. În hrana animalelor, nutrețurile de origine vegetală au o pondere mai ridicată comparativ cu

nutrețurile de origine animală (Pop ș.a., 2006), însă compoziția chimică a nutrețurilor vegetale este în general suficient de complexă pentru a atinge necesarul de nutrienți al animalelor. Sursele de hrană pentru animale sunt definite și grupate în funcție de specificul alimentației lor, iar ca urmare a diversității nutrețurilor existente, a fost necesară clasificarea lor raportat la diferite criterii (fig 1.1).

Compoziția chimică a nutrețurilor este variabilă și influențează procesul de valorificare al nutrienților în organism, astfel încât, cunoașterea disponibilității și profilelor nutrienților este importantă pentru a se evita situațiile de supraalimentare sau subalimentare, care ar putea determina pierderi economice, poluarea mediului, morbidități sau mortalități.

Determinarea și caracterizarea nutrienților din hrana animalelor presupune evaluarea componentelor chimice brute ale nutrețurilor, rezultate ale unor cercetări în acest sens fiind prezentate în tabelele 1.2 și 1.3, pe categorii de nutrețuri.

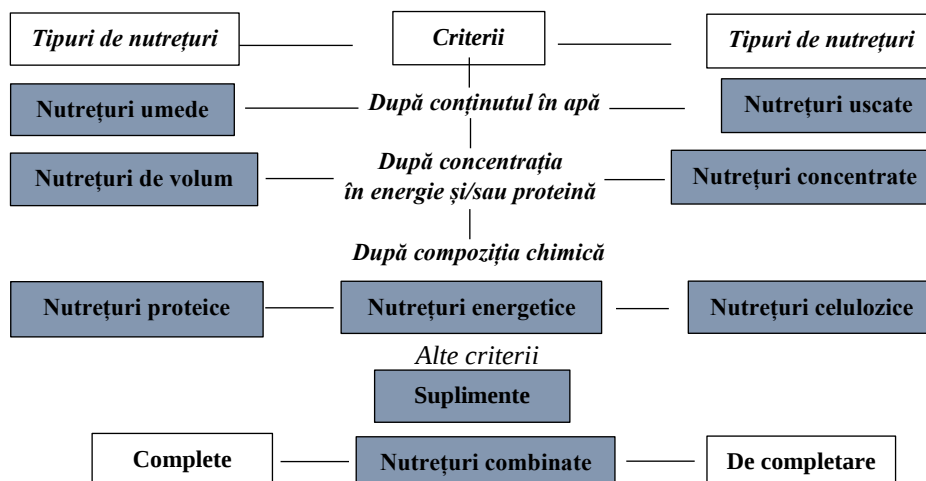


Figura 1.1 Clasificarea nutrețurilor folosite în hrana animalelor

Figure 1.1 Animal feed clasification

(prelucrare originală după Pop ș.a., 2006; Laswai ș.a., 2013)

Apa este una dintre cele două componente chimice de bază ale nutrețurilor, regăsită în constituția acestora în proporții extrem de variabile, de la 10–15 % (în nutrețurile uscate/energetice), până la 70–90 % (în nutrețurile umede), fiind în inversă proporționalitate cu substanțele nutritive (Pop ș.a., 2006). Pentru organism, apa este un element vital, rolul acesteia fiind adesea menționat în transportul substanțelor în corp sau în eliminarea compușilor nedorți. De asemenea, aportul de apă influențează performanțele de producție ale animalelor întrucât contribuie la ingestia de hrană, existând o relație directă între nivelul productivității animalelor, cantitatea de nutrețuri și cantitatea de apă ingerată (Erickson & Kalscheur, 2020).

Tabelul 1.2/Table 1.2

Date din literatura de specialitate cu privire la compoziția chimică a unor nutrețuri de volum
Literature survey on the chemical composition of some bulky feeds
 (original – date prelucrate)

NUTREȚURI		APĂ	SO	Pr.B	GB	CB	NDF	ADF	SEN	Cen. B	Sursa bibliografică
UM		%	% SU	% SU	% SU	% SU	% CB	% CB	% SU	% SU	
min. - max.											
Umede	Lucernă	76,5-81,4	87,3	18,8	1,8-3,1	34,0-35,4	51,4-56,0	40,0-41,0	32,6-37,0	12,7	Aioanei (2013); Avci ș.a. (2006); Coșman ș.a. (2018); Lestingi ș.a. (2012); Pop ș.a. (2006) Preston (2010); Stanton & LeValley (2010)
	Pajiște naturală	80,0-84,7	88,4	2,5-3,5	ns.	29,3-33,5	43,2-62,4	25,7-44,0	30,9	11,6	Aioanei, 2013; Avci ș.a. (2006); Burlacu ș.a. (2002); Lestingi ș.a. (2012); Pop ș.a. (2006) Preston (2010); Van Soest (2013)
	Porumb masă verde	70,4-75,0	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	Burlacu ș.a. (2002); Coșman ș.a. (2018)
	Siloz porumb	44,9-79,6	95,9	2,9	ns.	20,5-31,6	40,6-57,0	28,0-32,0	62,5	4,1	Aioanei (2013); Coșman ș.a. (2018); Pop ș.a. (2006); Tassoul ș.a. (2007)
	Siloz fl. Soarelui	72,5-73,5	ns.	6,5	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	Coșman ș.a. (2018)
	Sfecă furajeră	86,0	ns.	ns.	ns.	ns.	47,3	ns.	ns.	ns.	NRC (2001)
	Tuberculi/Rădăcini	75,0-90,0	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	Coșman ș.a. (2018); Pop ș.a. (2006)
Uscate	Fân de lucernă	7,5-17,0	93,2	14,0	0,9-2,5	25,7-46,1	43,1-46,3	33,75-45,9	34,4-47,4	6,75	Aioanei (2013); Coșman ș.a. (2018); Donoșă (2011); Martin ș.a. (2004); Pop ș.a. (2006)
	Fân natural	7,6-15,0	93,5	ns.	1,0-2,5	23,3-33,0	55,0-70,0	40,0-44,0	ns.	6,5	Preston (2010); Stanton & LeValley (2010); Van Soest (2013)
	Paie de grâu	10,8-13,4	ns.	2,65	1,33	35,0	ns.	ns.	40,0	ns.	Coșman ș.a. (2018)

SO = substanță organică; Pr.B = proteină brută; GB = grăsime brută; CB = celuloză brută; NDF = hemiceluloză, celuloză, lignină; ADF = celuloză și lignină; SEN = substanțe extractive neazotate; Cen.B = cenușă brută; SU = substanță uscată; UM = unitate de măsură; ns. = nespecificat.

Tabelul 1.3/Table 1.3

Date din literatura de specialitate cu privire la compoziția chimică a unor nutrețuri concentrate

*Literature survey on the chemical composition of some concentrated feeds**(original – date prelucrate)*

NUTREȚURI		APĂ	SO	Pr.B	GB	CB	NDF	ADF	SEN	Cen.B	Sursa bibliografică
UM		%	% SU	% SU	% SU	% SU	% CB	% CB	% SU	% SU	
Min. - Max.											
Energetice	Porumb boabe	10,0-13,0	98,8	7,9	3,9-4,3	2,7-7,0	9,0-10,0	3,0-4,0	83,1	1,2	Burlacu ș.a. (2002); Pop ș.a. (2006); Stanton și LeValley (2010); Tassoul ș.a. (2007)
	Grâu boabe	12,0-15,2	ns.	11,0	1,5	5,9	ns.	ns.	79,5	ns.	
	Ovăz boabe	11,3-13,6	ns.	ns.	4,5	17,4	ns.	ns.	65,3	ns.	
	Triticale	12,6	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	
Proteice	Fl.soarelui semințe	9,8	ns.	13,9	26,9	30,8	ns.	ns.	19,5	ns.	Coșman ș.a. (2018)
	Soia boabe	8,3-11,4	ns.	ns.	19,4	ns.	ns.	ns.	ns.	ns.	
	Șrot fl.soarelui	9,3-11,1	ns.	ns.	12,9	21,6	ns.	ns.	33,1	ns.	
	Șrot soia	6,7-13,1	93,2	45,9	2,6	7,8	ns.	ns.	40,6	6,8	
		Tărâțe de grâu	9,1-16,4	ns.	ns.	3,8	9,2-11,1	39,3-47,0	12,1-14,0	75,5	ns.

SO = substanță organică; Pr.B = proteină brută; GB = grăsime brută; CB = celuloză brută; NDF = hemiceluloză, celuloză, lignină; ADF = celuloză și lignină; SEN = substanțe extractive neazotate; Cen.B = cenușă brută; SU = substanță uscată; UM = unitate de măsură; ns. = nespecificat.

Substanța uscată (SU) este cea de-a doua componentă chimică primară a nutrețurilor, ce redă cantitatea efectivă de nutrienți disponibili (Laswai ș.a., 2013). La rândul său, aceasta înglobează compușii de natură organică (proteine, lipide, glucide; SO) sau de natură anorganică (macroelemente, microelemente; CenB).

Glucidele constituie componenta dominantă a regnului vegetal, celulele și țesuturile fiind formate din aproximativ 60–80 % glucide (Pop ș.a., 2006).

În alimentația animalelor, glucidele se regăsesc în aproximativ 70 % din nutrețuri, surse importante fiind nutrețurile de volum sau cerealele. Pentru rumegătoare, glucidele au importanță energetică și productivă întrucât fermentarea lor în organism conduce la formarea acizilor grași volatili, precursorii diferitelor producții animale. Dintre aceștia, acizii acetic și butiric sunt utilizați pentru sinteza grăsimii din lapte, în timp ce acidul propionic contribuie la sinteza glucozei, cu implicații ulterioare în sinteza lactozei și implicit în producția de lapte (Erickson & Kalscheur, 2020). Din punct de vedere chimic, carbohidrații din nutrețuri sunt grupați în funcție de digestibilitate în carbohidrați structurali (fibră detergent neutră, NDF; fibră detergent acidă, ADF) și carbohidrați nestructurali (amidon, zaharuri).

Proteinele sunt compuși organici alcătuiți din lanțuri de aminoacizi în succesiune caracteristică (Pop ș.a., 2006), ce contribuie la formarea țesuturilor corpului animal (Erickson & Kalscheur, 2020). Raportându-se la particularitățile aminoacizilor și a importanței acestora în nutriție, Erickson & Kalscheur (2020) au menționat că din cele câteva sute de aminoacizi, doar zece prezintă aplicabilitate deosebită, fiind considerați esențiali și limitativi pentru producție.

În nutrețurile vegetale, cantitățile de proteine sunt variabile în funcție de partea anatomică a plantei, principalele clase de proteine din nutrețuri incluzând albuminele, globulinele, glutelinele și prolaminele. În literatura de specialitate, despre nutrețurile vegetale s-a menționat adesea că acestea conțin în marea lor majoritate mai mult azot neproteic (Pop ș.a., 2006).

Lipidele sunt compuși formați din acizi grași cu lanț lung, fiind printre cele mai importante substanțe organice cu rol energetic, biochimic și fiziologic (NRC, 2001; Cetingul & Yardimci, 2008).

În nutrețuri, lipidele se regăsesc sub formă de substanțe simple, compuse sau ca derivați lipidici, proporțiile lor fiind foarte variabile, de la 4–50 % din SU în unele semințe de oleaginoase și în unele semințe de cereale și până la proporții foarte reduse, sub 1 % din SU, în nutrețurile de volum umede (Pop ș.a., 2006).

Dintre componentele nutritive ale nutrețurilor, lipidele își regăsesc aplicabilitatea în studiul transferului contaminanților, întrucât, pe lângă rolurile pozitive pe care le au în organism, pot fi depozite de acumulare pentru substanțele poluante cu lipofilicitate ridicată (EFSA, 2005; Tao ș.a., 2009). Pe lângă proporțiile de lipide din nutrețuri, pentru definirea comportamentului poluanților în organismul animal, conținutul în grăsimi al corpului animal este la fel de important pentru acumularea sau eliminarea poluanților din organism.

Vitaminele sunt compuși organici cu structură chimică diferită, rezultate din transformarea precursorilor vitaminici, fără rol plastic și energetic, însă cu importante roluri catalitice și metabolice în organism (Pop ș.a., 2006; NRC, 2001).

Aportul total de vitamine al unui animal revine din cantitatea biodisponibilă din nutrețuri sau din alte suplimente, vitaminele fiind grupate în funcție de solubilitatea lor în vitamine liposolubile și vitamine hidrosolubile (Combs & McClung, 2017). Marea majoritate a vitaminelor pot fi asigurate prin nutrețurile de bază, surse importante fiind în special nutrețurile verzi (vit. A, E, K, B₆, C), silozurile, porumbul boabe (vit. A), fânurile (vit. D, E) sau cerealele (vit. E, B₁, B₂).

Componenta anorganică a nutrețurilor și a corpului animal este definită ca cenușă brută, fiind constituită din minerale. Mineralele sunt compuși anorganici cu funcții multiple în organism, cu roluri structurale și de catalizatori ai diferitelor reacții, grupate în funcție de proporțiile necesare organismului în: macroelemente (mg) și microelemente (μg) (Erickson & Kalscheur, 2020). După NRC (2001), dintre nutrețuri, leguminoasele și nutrețurile verzi pot fi surse importante de minerale.

1.3 Aspecte privind transferul substanțelor din hrană în corpul și producțiile animalelor

În acord cu principiile nutriționale raționale, pentru creștere, dezvoltare și obținerea de producții, animalele acumulează nutrienții din hrana primită. Pentru ca hrana animalelor să asigure necesarul organismului, dar și potențialul de producție, nutrienții trebuie să fie disponibili (Baumgard ș.a., 2017; Xu ș.a., 2022), iar utilizarea lor în scopuri productive precise depinde de eficiența transferului substanțelor din hrană în corpul animal (Mitchell, 2007).

Transformarea hranei și absorbția nutrienților din hrană înglobează un cumul de procese complexe întrucât aceștia nu pot fi disponibili ca atare pentru celule, ci doar în urma descompunerii hranei în corpul animalului celulele și țesuturile pot utiliza nutrienții la adevărata lor funcționalitate (Xu ș.a., 2022). Printr-un ansamblu de procese mecanice și biochimice ce au loc de-a lungul tractului digestiv se asigură descompunerea macromoleculelor din nutrețurile ingerate în fragmente organice mici, de dimensiuni adecvate absorbției în epitelile digestive, moment în care macromoleculele devin accesibile funcției celulare (Rye ș.a., 2016).

Pentru ca hrana animalelor să fie în conformitate cu un potențial de producție ridicat, componentele nutritive trebuie să fie disponibile și direcționate către funcții productive specifice (Baumgard ș.a., 2017) astfel încât resursele de nutrienți pentru întreținere și pentru realizarea producțiilor depind de factorii referitori la calitatea nutritivă a nutrețurilor, dar și de factorii legați de animal (fig. 1.2).

Conform Pop ș.a. (2006), un model de transfer al substanțelor din nutrețuri în corpul animal și în direcția producțiilor obținute poate fi bine redat în cazul producției de lapte. În mod explicit, asimilarea substanțelor nutritive din hrană contează pentru dezvoltarea țesuturilor animalului și pentru compoziția laptelui; mai

mult decât atât, hrana influențează în foarte mare măsură conținutul de grăsime al laptelui și consistența acesteia, conținutul de vitamine liposolubile și cel de microelemente, precum și mirosul și gustul laptelui.

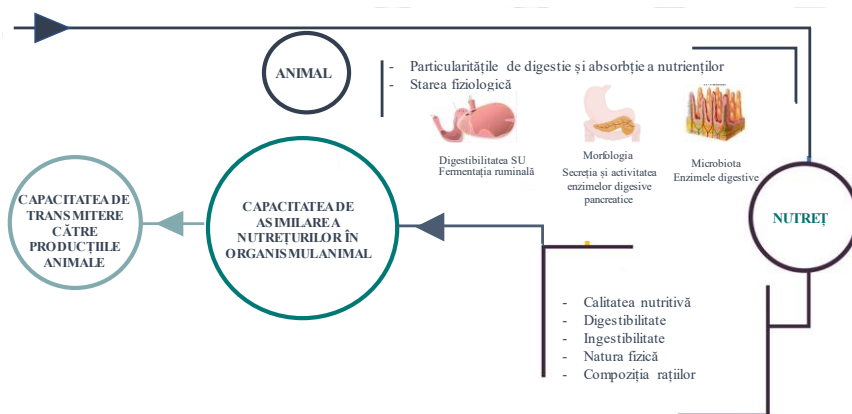


Figura 1.2 Factorii privind eficiența transferului substanțelor din hrană în corpul și producțiile animalelor
 Figure 1.2 Factors regarding the transfer efficiency of substances from feed to animal body and animal production
 (prelucrare originală după diferiți autori)

Capacitatea animalelor de a utiliza eficient hrana a fost studiată de-a lungul timpului, asimilarea nutrienților din hrană fiind influențată de diferitele particularități ale nutrețurilor, așa cum sunt digestibilitatea substanței uscate, conținutul de proteine și grăsimi sau starea de inocuitate a nutrețurilor (Liu ș.a., 2018; Gallo ș.a., 2020; Pu ș.a., 2021; Mwaniki ș.a., 2021)

În egală măsură cu factorii referitori la calitatea nutritivă a nutrețurilor, procesele digestive și de absorbție influențează de asemenea transferul și acumularea substanțelor din nutrețuri în organismul animal (Xu ș.a., 2022). Din punct de vedere fiziologic, digestia și absorbția componentelor nutritive cuprinde un ansamblu de reacții biochimice prin care biomoleculele din hrană ajung în diferite țesuturi, fiind baza unui proces vital ce asigură energie și homeostazia organismului. În organism, o bună parte din procesul de digestie și absorbție se desfășoară în intestinul subțire, sub acțiunea diferitelor enzime responsabile de stadiul final al digestiei nutrienților. După digestie, procesul de absorbție este facilitat de mai multe proteine transportoare prin intermediul cărora, nutrienții traversează epiteliul intestinal și pătrund în circulația sistemică (Iqbal & Hussain, 2009; Kiela & Ghisahn, 2016).

Carbohidrații, lipidele și proteinele sunt constituenții majori ai hranei și elemente de bază pentru creșterea și dezvoltarea componentelor celulare esențiale. Pentru a asigura echilibrul nutrițional, rația unui animal trebuie să includă într-un mod optim toate grupele de componente nutritive, absorbția, distribuția, acumularea sau metabolizarea acestora în organism având loc prin mecanisme adaptate fiecărei categorii (Rye ș.a., 2016).

Buna funcționare a organismului animal, dar și productivitatea depind în mod evident de concentrația energiei primite și de proporțiile și principiile biologic- active ale substanțelor nutritive asimilate din nutrețuri (Coșman ș.a., 2018). Din acest punct de vedere, din cele trei grupe de nutrienți, lipidele sunt cele mai dense din punct de vedere energetic (9,5 kcal/g), cu o energie mai mare de aproximativ două ori comparativ cu cea furnizată de proteine sau carbohidrați (4–5 kcal/g), fiind benefice pentru îndeplinirea cât mai bună a cerințelor nutriționale ale animalelor.

Cunoscute generic sub numele de grăsimi, lipidele sunt componente organice nutritive ale plantelor (uleiuri vegetale) sau ale țesuturilor animale (grăsimi animale), formate chimic din esterificarea acizilor grași cu alcoolii (Cherian, 2020).

În organismul animal, lipidele îndeplinesc rolul de depozit energetic al organismului (Pop ș.a., 2006), fiind a doua sursă majoră de energie a organismului animal, după glucide, însă, principala formă de stocare a energiei în corpul animal (Cherian, 2020). Bune furnizoare de energie, lipidele sunt responsabile în primul rând de asigurarea acizilor grași esențiali pentru organism, efectele pozitive aduse prin aportul de energie fiind concentrate în special pe beneficiile asupra performanțelor de creștere (Cetingul & Yardimci, 2008; Cherian, 2020), asupra îmbunătățirii productivității prin creșterea palatabilității și ingestibilității, a eficienței conversiei și utilizării hranei (Kerr ș.a., 2015), susținerii reproducției sau reducerii cantității de metan formată în timpul fermentației ruminale (Volac, 2013); atât rolurile menționate, cât și alte roluri ale lipidelor au fost schematizate în fig. 1.3.

Pentru vacile în lactație, în cadrul ghidului de eficientizare al procesului de creștere a animalelor elaborat de Volac (2013), dar și în alte publicații de specialitate (Esmail, 2018), au fost prezentate rolurile lipidelor și modul în care adăugarea de grăsimi în rație poate fi benefică pentru îmbunătățirea echilibrului energetic. Cercetări recente au evidențiat, de asemenea, că profilul acizilor grași este esențial pentru a optimiza performanța în lactație timpurie întrucât îmbunătățesc ingestibilitatea hranei și duc la creșterea consumului de nutrețuri, conducând astfel spre creșterea producțiilor și randamentului grăsimii din lapte (Kwakman, 2020).

Pentru rumegătoare, Volac (2013); Esmail (2018) au menționat că proporțiile echilibrate de lipide din hrană pot constitui o modalitate eficientă de a reduce producția ruminală de metan și, prin urmare, o modalitate eficientă de a evita pierderile de energie (12 % din aportul de energie) și de a diminua proporțiile de metan eliberate în mediul înconjurător.

Rolul lipidelor în organismul animal poate varia în funcție de tipul de grăsimi conținute, astfel că, în organismul rumegătoarelor, lipidele pot avea și efecte nedorite resimțite în special la bovine, asupra activității rumenului și asupra productivității. Conform Volac (2013) și Esmail (2018), efectele nedorite ale lipidelor se concentrează pe efectele negative generate de grăsimile nesaturate,

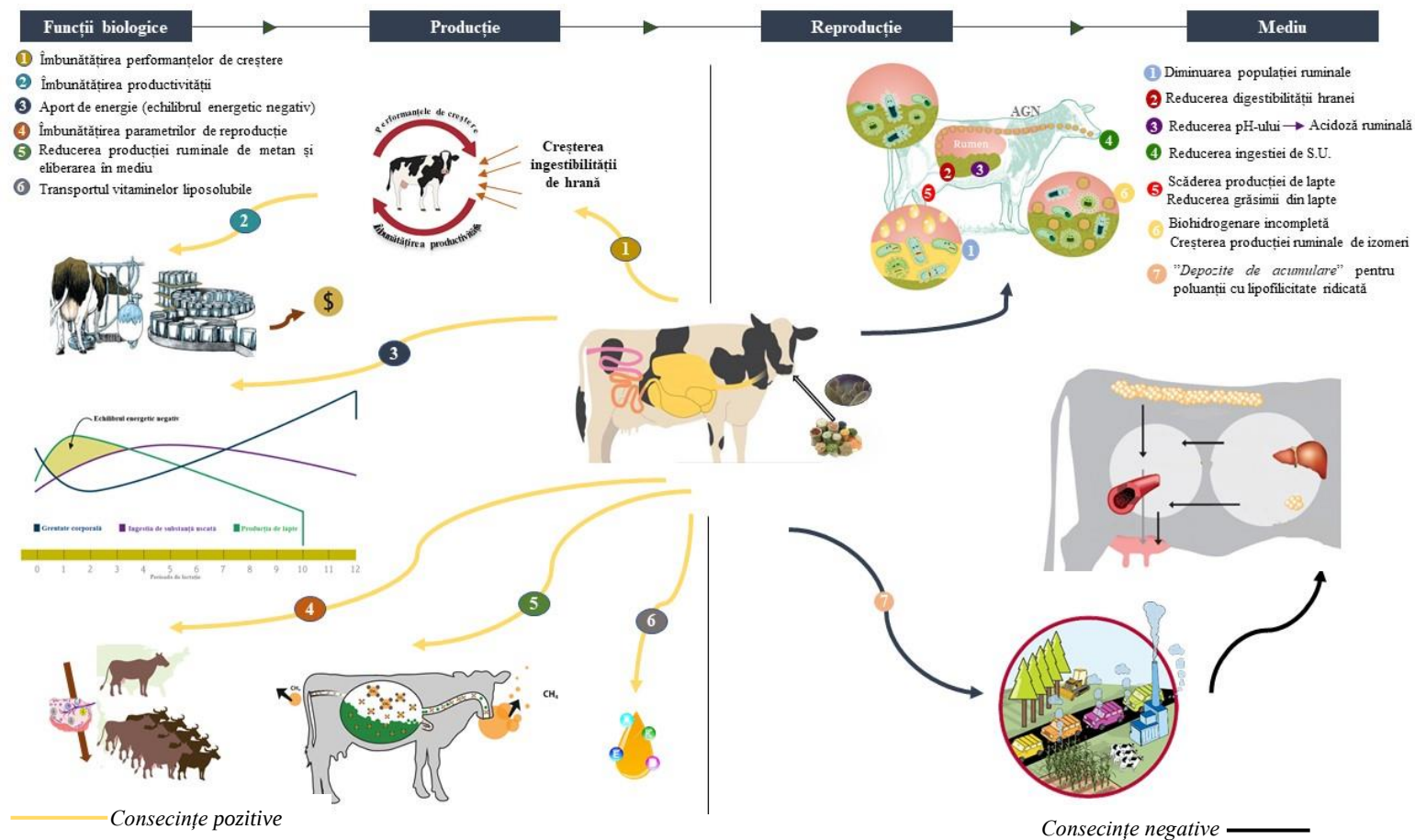


Figura 1.3 Rolurile lipidelor în organismul animal
 Figure 1.3 Roles of lipids in the animal body
 (original)

concretizate prin reducerea digestibilității hranei, reducerea pH-ului și determinarea acidozei rumenului sau diminuarea populației ruminale, cu consecințe negative directe asupra ingestiei de substanță uscată, scăderii randamentelor producției de lapte sau reducerii grăsimii din lapte.

Capacitatea acizilor grași nesaturați de a favoriza producția de grăsimi trans poate determina consecințe negative asupra organismului animal, întrucât, din punct de vedere al fiziologiei rumenului, vacile nu dețin mecanisme specializate pentru digestia grăsimilor primite peste cerințele lor biologice și productive, astfel că administrarea unor cantități prea mari de acizi grași nesaturați poate implica un efort suplimentar pentru hidrogenarea dublelor legături, acțiune care poate conduce la creșterea producției ruminale de izomeri. Despre izomerii formați în procesul de biohidrogenare incompletă, Bauman ș.a. (2011) au menționat că pot avea numeroase efecte nefavorabile asociate cu scăderea cantității de grăsime din lapte.

Privind importanța lipidelor pentru organismul animal, pe departe unul dintre cele mai importante roluri include capacitatea lipidelor de a facilita transportul și absorbția diferiților compuși în organism (Pop ș.a., 2006; Erickson & Kalscheur, 2020), un rol pozitiv dacă se referă la transportul și absorbția nutrienților sau cu impact negativ dacă se referă la transportul și absorbția diferiților compuși nedoriti.

Prin aportul de lipide din nutrețuri, organismul animal poate fi expus la acumularea de compuși poluanți sau contaminanți, în special a celor cu preferință pentru țesuturile grase.

Datele din literatura de specialitate furnizate de EFSA (2005) și studiile efectuate de Tao ș.a. (2009) au arătat că lipidele din organism pot servi ca depozite de acumulare pentru substanțele poluante cu lipofilicitate ridicată, calea principală de pătrundere în organismul animal fiind consumul de nutrețuri în a căror componență se pot regăsi. Totuși, gradul de acumulare al contaminanților depinde în general de modul de interacțiune cu diferitele medii contaminate, astfel încât, influența lipidelor în absorbția contaminanților variază în funcție de modalitatea de expunere la contaminare, dar și de intensitatea caracterului lipofil al contaminantului. Conținutul de lipide al corpului este de asemenea important în definirea comportamentului poluanților în organismul animal, întrucât își poate manifesta contribuția în sensul acumulării sau eliminării poluanților din organism.

Transferul poluanților în organismul animal și eliminarea produselor de excreție însumează o succesiune de etape fiziologice, respectiv absorbție, metabolizare, distribuție și excreție (Amutova ș.a., 2021).

Privind relația poluare–organism animal–producții animale studii efectuate de Jaspers ș.a. (2014); Ali ș.a. (2019) asupra particularităților de transfer și potențialului bioacumulativ al poluanților în organisme vii, au evidențiat că aceștia au o serie de caracteristici care dau posibilitatea transferului lor de la un nivel trofic la altul, cu ușurință, inclusiv din organismul animal către producțiile animale. Prin prisma aceluiași studii, s-a menționat că înțelegerea comportării poluanților și a

factorilor care facilitează transferul lor din hrană în organismul animal poate fi dificilă întrucât caracteristicile poluanților se pot schimba continuu ca urmare a descompunerilor metabolice sau a proceselor de eliminare ce pot avea loc.

În organismul animal, acumularea, transferul și posibilitatea de eliminare a a oricărui contaminant depinde în principal de caracteristicile compusului în cauză, precum și de mecanismele fiziologice dezvoltate de organism pentru interacțiunea cu acesta (Jaspers ș.a., 2014; Ali ș.a., 2019). Raportat la acestea, în cazul animalelor ruminante microbiota din tractul gastro-intestinal constituie o barieră de rezistență asupra acțiunii diferiților contaminanți (Maresca, 2013), de cele mai multe ori majoritatea contaminanților fiind transformați sub acțiunea microbiotei ruminale în derivați cu o toxicitate mai redusă, rumegătoarele fiind astfel mai rezistente la acțiunea xenobioticelor (Fink-Gremmels, 2008; Gallo ș.a., 2015).

Monitorizarea transferului substanțelor poluante în corpul animal, prin intermediul hranei, integrează metabolismul diferiților poluanți în organismul animal prin prisma absorbției acestora prin epiteliul intestinal, metabolizarea și distribuția lor în fluxul sangvin sau în țesuturi sau eliminarea acestora din organism sub diferite forme (Kelly ș.a., 2004; Amutova ș.a., 2021).

Absorbția este primul proces cheie ce facilitează transferul poluanților în organismul animal și este determinată în particular de specie și caracteristicile fiziologice ale animalului și nu în ultimul rând de proprietățile chimice ale poluanților.

Literatura de specialitate menționează că agenții toxici ce pătrund în organismul animal odată cu hrana sunt absorbiți pe aceleași căi precum aceasta; un agent toxic odată absorbit este distribuit în tot corpul, transportul său fiind facilitat de fluxul sangvin, prin prisma proceselor de biotransformare ce au loc în intestinul subțire (Singh ș.a., 2020; Monson ș.a., 2015).

Alături de metabolizarea în intestinul subțire, procese importante de detoxifiere a contaminanților ce ajung în organism au loc în ficat și pancreas (Hooton ș.a., 2015; Maresca, 2013; Monson ș.a., 2015). Căile de biotransformare a contaminanților la nivelul ficatului și pancreasului depind însă de specie sau de tipurile și specificitatea enzimelor metabolizante (Pinton & Oswald, 2014; Deng ș.a., 2018), la fel cum capacitatea de detoxifiere și vârsta animalelor pot contribui la diferențele între mecanismele de metabolizare (Andretta ș.a., 2012).

În general, mecanismul de asimilare al substanțelor din hrană în organism include o rețea de reacții biochimice de distribuire a nutrienților în țesuturile organismului; Cu referire strict la compușii lipofili, după digestie, aceștia sunt transportați de către miceliile formate din sărurile biliare și lipidele excretate către epiteliul intestinal (Kelly ș.a., 2004), iar din acea etapă, absorbția compușilor în țesuturile corpului va fi facilitată de enterocite sau de diferite proteine plasmatice transportoare (Iqbal & Hussain, 2009; Kiela & Ghishan, 2016) și se poate realiza fie prin transport pasiv: intercelular (1), intracelular (2) și difuzie facilitată (4); prin transport activ (3) sau prin citoză (5); pentru înțelegerea procesului, mecanismele de

transport și calea de migrare transcelulară a substanțelor la nivelul epiteliului peretelui intestinal au fost structurate în fig. 1.4 (Szeffel ș.a., 2015).

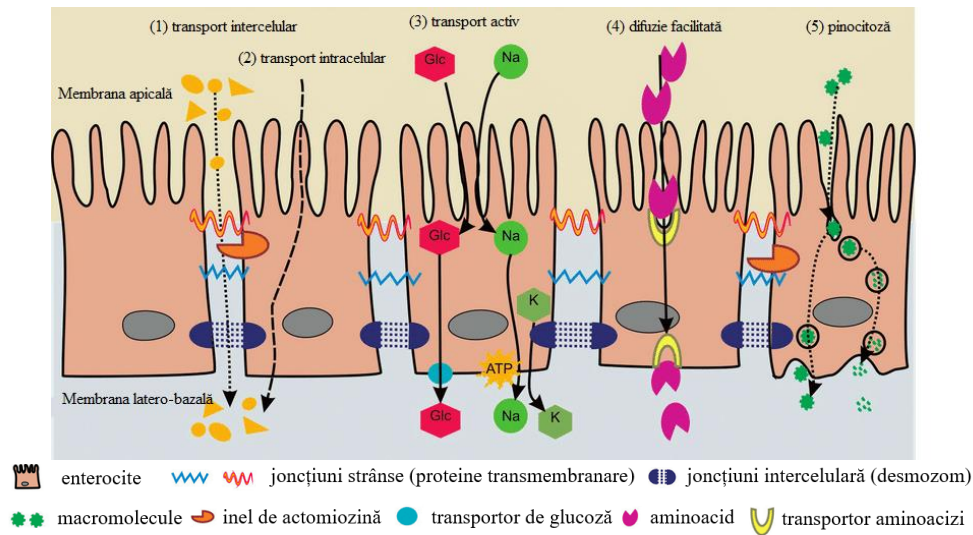


Figura 1.4 Mecanismul de absorbție al nutrienților în organism

Figure 1.4 Absorption mechanism of nutrients in the body

(prelucrare după Szeffel ș.a., 2015)

Poluanții sunt recunoscuți pentru dispersia neomogenă și capacitatea ridicată de bioacumulare în organismele vii, metabolizarea moleculelor substanțelor ajunse în organism având loc în diferite țesuturi eligibile: în lumenul intestinal, în ficat, în celulele endoteliale ale vaselor de sânge sau în țesuturile de depunere, cu predilecție țesutul adipos (Amutova ș.a., 2021). Diferite modele de evaluare a potențialului de bioacumulare a substanțelor contaminante prin mecanisme de absorbție intestinală și studii privind comportarea substanțelor chimice organice în rețele trofice au fost realizate de Kelly ș.a. (2004). Mai multe cercetări ce au adus contribuții la studiul metabolismului lipidelor în organism și absorbția intestinală a xenobioticelor au fost amintite în lucrarea elaborată de același grup de autori.

În mod specific, componentele chimice din nutrețuri traversează stratul lipidic dublu al membranei celulare prin două procese de bază: difuzie și transport activ (Aytenfsu ș.a., 2016).

Raportat la contaminanții ce pot pătrunde în organism odată cu hrana, cei mai mulți dintre poluanții gazoși și volatili sunt transportați în membranele celulare prin difuzie simplă, în timp ce, poluanții de tip mineral traversează membranele prin transport activ. Ulterior absorbției, substanța exogenă ce pătrunde odată cu nutrienții din hrană, se fixează pe proteinele sanguine, fie pe eritrocite, sub formă de pulberi sau compuși anorganici (ex. metalele grele), fie se pot lega de proteinele plasmatică (majoritatea poluanților gazoși). Diferiți constituenți ai sângelui, precum

lipoproteinele și albuminele facilitează vehicularea diferiților poluanți în sânge (Casarett & Doull, 2008), dar, întrucât permeabilitatea membranei celulare din diferitele țesuturi ale corpului este diferită, distribuția și repartiția substanțelor din sânge în țesuturi se face de cele mai multe ori neuniform.

Distribuția compușilor lipofili în organismul animal are ca rezultat acumularea acestor compuși în organele bogate în lipide, rezultate ale cercetărilor efectuate pe această temă raportând o distribuție mai ridicată a poluanților în țesutul adipos comparativ cu țesutul muscular, rinichii sau inima. Acumularea poluanților în țesuturile adipoase reprezintă cu precădere o amenințare asupra producțiilor animale obținute, în special producțiile de lapte și ouă, ale căror procese de formare implică, din punct de vedere fiziologic, o remobilizare a poluanților din stocul format în țesutul adipos (Kierkegaard ș.a., 2007; Fournier ș.a., 2011).

Mai mult decât înțelegerea modului în care poluanții se acumulează și sunt distribuiți în organismul animal, înțelegerea modului în care poluanții sunt excretați din organismul animal reprezintă un factor critic, atât pentru sănătatea animalului, dar și pentru producțiile animale obținute. Studii de profil realizate cu ani în urmă de Jandacek & Tso (2001) și consolidate în anii următori de Lerch ș.a. (2016) au evidențiat că metabolizarea sau excreția poluanților din organism se realizează în general prin eliberarea poluanților lipofili din țesuturile adipoase unde au fost depozitați, către sânge, concomitent cu procesul de lipoliză ce are loc în organism, astfel că întregul mecanism este dependent de grăsimea corporală a animalului.

Amutova ș.a. (2021) susțin că excreția poluanților din organismul animal se realizează în principal prin intermediul producțiilor animale (lapte, ouă), importanța excreției, așa cum a fost redată în studii deja menționate (Kierkegaard ș.a., 2007; Fournier ș.a., 2011), fiind argumentată de faptul că simultan co-excreției de grăsime din decursul procesului de sinteză a laptelui sau de formare a ouălor, poate avea loc o excreție a oricăror compuși lipofili nedoriți prezenți în organismul uman.

Producțiile de origine animală reprezintă calea majoră de expunere umană la contaminare, conform EFSA (2018), 90 % din această contaminare fiind atribuită producțiilor de la animalele rumegătoare (carne, lapte).

Cu excepția situațiilor de contaminare accidentală sau a oricărui tip de contaminare exogenă, contaminarea produselor de origine animală își are originea preponderent în consumul de nutrețuri contaminate (Weber ș.a., 2018), după Lupton ș.a. (2019), produsele de la bovine fiind cu atât mai mult mai sensibile și mai predispuse la o contaminare excesivă, comparativ cu alte producții similare.

La fel cum înțelegerea metabolismului poluanților în organismul animal este importantă pentru sănătatea animalelor, înțelegerea și cuantificarea ratelor de transfer a poluanților asupra producțiilor animale este esențială pentru siguranța producțiilor obținute și pentru a asigura sustenabilitatea sistemelor de creștere.

Parcursul contaminanților în organismul animal este investigat de cele mai multe ori prin experimente de hrănire, prin care se evaluează factorii care favorizează

acumularea poluanților în țesuturile corpului sau eficiența asimilării poluanților în organism. Alte studii au evaluat, de asemenea, modele toxicocinetice prin care să se valideze transferul contaminanților de la vacile-mamă la viței (Bogdal ș.a., 2017).

Evaluarea ratelor de transfer a poluanților a devenit cu atât mai importantă întrucât s-a evidențiat dependența toxicocineticii poluanților față de factori precum starea fiziologică a animalului (Driesen ș.a., 2022), ratele de creștere a acestora sau raportul lipidic al carcasei (Jondreville ș.a., 2017; Lerch ș.a., 2020; Rey-Cadilhac ș.a., 2020).

Cercetări centrate exclusiv pe hrănirea bovinelor cu nutrețuri contaminate, pentru evaluarea ratelor de transfer a poluanților din nutrețuri în organism (țesut adipos, sânge) și evaluarea contribuției proporției de lipide din carcasă asupra factorilor de transfer a contaminanților au fost efectuate recent de Driesen ș.a. (2021). După Amutova ș.a. (2020), evaluarea factorilor de transfer reprezintă o modalitate de a descrie concret factorii care favorizează bioacumularea potențialilor contaminanți în țesuturi specifice, astfel că rezultatele studiului efectuat de Driesen ș.a. (2021) au arătat că diferite proprietăți fizico-chimice ale poluanților, precum gradul de clorinare sau lipofilicitatea, în asociere cu factorii de ordin fiziologic, cu referire în principal la proporția de lipide a corpului animal, pot influența transferul poluanților din nutrețuri în organismul animal.

Dacă prin studiul efectuat de Matei ș.a. (2022) s-a preconizat un raport pozitiv între conținutul de lipide din nutrețuri și conținutul potențial de contaminanți, în studiul menționat (Driesen ș.a., 2021), s-a evidențiat o corelație negativă între proporția de lipide din corpul animal și factorii de transfer și de bioacumulare a contaminanților, rezultatele obținute fiind comparabile cu cele înregistrate de Lerch ș.a. (2020a) în studiul lor privind efectele contaminanților asupra bovinelor de carne. Aspecte similare au fost, de asemenea, menționate și în studii anterioare (Fernandes ș.a., 2011), argumentate de faptul că o proporție de lipide mai mare în carcasă oferă mai mult spațiu de diluție disponibil pentru contaminanții lipofili.

Întrucât înțelegerea transferului poluanților din țesuturile animale și excreția acestora în producțiile obținute este esențială pentru sustenabilitatea producțiilor zootehnice, Amutova ș.a. (2021) au elaborat un studiu experimental valoros prin care s-au urmărit diferite metodologii de evaluare a transferului contaminanților din organismul animal în alimentele de origine animală. Concluziile studiului au arătat astfel că cei mai toxici poluanți analizați (PCDD, PCDF, PCB) au un potențial deosebit de ridicat de transfer, în special în produsele alimentare de origine animală de larg consum, respectiv ouăle și laptele. Ratele de transfer, raportate la doza și durata expunerii la contaminare au arătat că proporția de contaminanți transferați dintr-o matrice în alta depășește de cele mai multe ori 50 %, ceea ce, pentru siguranța alimentară evidențiază necesitatea unor măsuri riguroase de control.

1.4 Particularități privind relația dintre poluarea mediului și producția animală

Evoluția numerică a populației mondiale și sporirea nivelului de trai a condus în ultimii ani către creșterea cererii de alimente de înaltă calitate. Prin transformarea produselor agricole în hrană pentru animale și valorificarea animalelor pentru producții, sectorul agricol și zootehnic a devenit furnizorul principal de aprovizionare a societății cu produse alimentare cu înaltă valoare nutritivă (Baumgard ș.a., 2017).

Solul reprezintă principalul rezervor de nutrienți pentru creșterea și dezvoltarea plantelor, în aceeași măsură în care nutrețurile reprezintă singura sursă de energie și nutrienți pentru creșterea și dezvoltarea animalelor (Xu ș.a., 2022). Pentru un circuit optim și un mediu natural echilibrat, sănătos și neviciat, creșterea animalelor și atingerea potențialului de producție trebuie să înglobeze însă un cumul de acțiuni eficiente, bazate atât pe asigurarea unor bune practici în alimentație, dar și pe păstrarea unei relații armonioase a animalelor cu mediul înconjurător.

Pe lanțul de producție agro-zootehnic, atât pentru sol, cât și pentru animale, diferiți compuși exogeni pot limita utilizarea nutrienților și disponibilitatea acestora, ducând la rezultate nutriționale negative și o performanță redusă a producției.

Contrar numeroaselor modalități de reducere a poluării, emisiile de poluanți eliberate în mediu creează în continuare daune importante asupra resurselor naturale (sol, aer, apă, păduri, culturi agricole) (EEA, 2017). Prin prisma potențialului lor dinamic, precum și a capacității de bioacumulare și a toxicității, poluanții pot reprezenta o reală amenințare pentru toate elementele mediului înconjurător, astfel încât, pentru cuantificarea efectelor înlănțuite ale poluanților în relație cu producția animală este necesară o monitorizare etapizată pe circuitul trofic: sol–culturi agricole–organism animal–producție animală (Matei & Pop, 2021).

Comportarea poluanților în mediu și efectele lor sunt în general determinate de structura chimică, proprietățile fizice și chimice și natura mediului în care se regăsesc (Manciulea & Dumitrescu, 2016).

Ciclul poluării debutează de la sol, diferiți compuși rezultați din activități de producție industrială sau activități agricole având capacitatea de a se acumula la suprafața acestuia (Senthilkumar & Naveen Kumar, 2020). În sol, acumularea, disponibilitatea și mobilitatea poluanților pot fi influențate atât de structura chimică, de proprietățile fizice ale solului sau de proporția materiei organice, însă de cele mai multe ori, factorii naturali, precum temperatura sau umiditatea, sunt cei care influențează comportamentul poluanților (Hayata ș.a., 2009).

Cu toate acestea, dinamica poluanților în sol poate fi diferită în funcție de tipul de compus. Conform Jaspers ș.a. (2014), în ciuda degradabilității, în general ridicate, în sol, poluanții trec printr-o serie de modificări în urma cărora pot fi eliberați în aerul ambiant (poluanții volatili), transferați în apele subterane și de suprafață (poluanții cu afinitate redusă pentru materia organică a solului) sau pot fi biodegradați (descompunere facilitată de către microorganismele din sol).

Prin prisma particularităților lor, poluanții care se stochează totuși în sol se acumulează în straturile superficiale de unde, prin intermediul rădăcinilor se transferă către plante, parte din acestea devenind ulterior hrană pentru animale (Yang & Zhu, 2007). Conform Rychen ș.a. (2008), incidența contaminării solului este mai ridicată decât incidența contaminării plantelor, cunoașterea căilor de contaminare a materiilor vegetale având o particularitate aparte întrucât permite evaluarea gradului de disponibilitate și potențialul de transfer al poluanților către celelalte substraturi.

Concentrarea compușilor poluanți în diferitele părți vegetative ale plantelor, furnizate constant sub formă de nutrețuri pentru animale, poate duce la bioacumularea reziduurilor poluante în organismul animalelor, ce se vor regăsi apoi în producțiile obținute (Kim ș.a., 2013).

Incidența poluanților din nutrețuri a fost subiectul diferitelor cercetări de specialitate (Matei ș.a., 2023). Rychen ș.a. (2008) au studiat expunerea animalelor la poluare prin consumul de nutrețuri contaminate, de unde au evidențiat că orice contaminare potențială a hranei pentru animale este un rezultat al expunerii directe a culturilor vegetale la surse de emisii poluante. Bedi ș.a. (2018) au evaluat un tip de contaminanți din lapte în relație cu hrana administrată vacilor, studiu în urma căruia au raportat că expunerea directă a nutrețurilor la agentul contaminant a fost responsabilă pentru contaminarea organismului animal și a producției sale.

În studiul ciclului de poluare, Tremolada ș.a. (2014) au evaluat transferul unor poluanți din sol și materiile vegetale, către animale și către oameni, ca urmare a consumului de către animale a unor nutrețuri contaminate. Alături de Tremolada ș.a. (2014), un studiu efectuat anterior de Lake ș.a. (2013), a evidențiat în mod similar că orice detectare a unor poluanți în organismele animale sau în producțiile acestora indică o contaminare masivă a nutrețurilor administrate. Pe lângă nutrețuri, nu a fost neglijată nici contribuția la contaminare a ingestiei de sol, 10 % până la 30 % (în extra-sezon) din cantitatea ingerată în timpul pășunatului fiind reprezentată de sol, ceea ce crește riscul de acumulare a poluanților într-o formă mai concentrată.

Pentru organismul animal, efectele poluării sunt directe și notabile; raportat la alte tipuri de contaminări posibile, contaminările ce au ca origine consumul de nutrețuri poluate au periodicitatea și incidența cea mai ridicată (Rychen ș.a., 2018). Consecințele poluării asupra animalelor sunt cu atât mai însemnate întrucât animalele, prin prisma producțiilor oferite, generează o înlănțuire a efectelor negative până la verigile finale ale lanțului trofic, respectiv oamenii, în calitate de consumatori (Singh, 2022).

Pentru a cuantifica influența poluanților asupra producțiilor animale, Bedi ș.a. (2018) au investigat relația dintre contaminarea nutrețurilor administrate unor bovine și reziduurile de poluanți regăsite în lapte; în urma studiului s-a evidențiat că hrana animalelor a fost principala sursă de contaminare a laptelui, iar proporțiile de poluanți identificate au afectat salubritatea produsului.

Raportat la producțiile obținute, Robertson ș.a. (2002) au evidențiat acumulări frecvente de poluanți în producțiile de origine animală; incidența unor poluanți organici în unele produse lactate a fost prezentată în tabelul 1.4.

Tabelul 1.4/Table 1.4

Incidența unor poluanți organici în produse lactate
Incidence of some organic pollutants in dairy products
 (original – date prelucrate după Polder ș.a., 2010)

	Lipide	DDT	HCH	CHL	Mirex	DDE/DDT	HCB	PCB
	%	●	●	●	●	●	▲	▲
		ng/g						
Lapte	5,9	1,09	0,22	0,02	0,01	17,0	0,38	1,1
	2,5	0,07	0,13	0,01	0,01	3,4	0,14	0,17
	0,9	0,06	0,04	0,01	< 0,01	1,4	0,09	0,19
Unt	84,0	2,31	2,95	2,72	0,04	8,48	7,4	9,79
	75,0	3,31	3,40	0,45	0,31	5,70	3,26	12,28
	40,0	0,25	0,37	0,04	0,02	4,2	0,43	0,65
Smântână	36,0	1,17	0,57	0,18	0,07	1,8	1,09	1,48
	16,0	0,58	0,63	0,05	0,02	6,1	0,52	1,05

PCB = bifenili policlorurați (28, 52, 74, 99, 101, 105, 118, 128, 138, 153, 156, 157, 170, 180, 187, 194); DDT (p,p'-DDT) = diclor-difenil-triclorețan; HCHs (α -, β -, γ -HCH) = hexaciclohexan; CHL = cis-clordan și trans-nonaclor; DDE = diclor-difenil-diclorețan; HCB = hexaclorobenzen.

Comportarea în mediu, riscurile potențiale și posibilitatea de transfer a unor poluanți din nutrețuri în laptele de vacă au fost evaluate de Piskorska-Pliszczynska ș.a. (2017), pentru fiecare stadiu de hrănire, urmărindu-se persistența și capacitatea de eliminare a acestora într-o perioadă de timp determinată (tabelul 1.5). În urma studiului, s-a evidențiat că reducerea cu 45 % a concentrațiilor de poluanți din lapte poate fi posibilă după un an de la întreruperea administrării de nutrețuri contaminate.

Tabelul 1.5/Table 1.5

Proporții de PCDD/F din lapte și eliminarea acestora în timp
PCDD/F in milk and their elimination over time
 (original – date prelucrate după Piskorska-Pliszczynska ș.a., 2017)

	Concentrație PCDD/F					
% de grăsime al laptelui și perioada de la întreruperea administrării contaminantului	a _i	a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	a ₅
	inițial	4,44 % 106 zile	3,32 % 120 zile	3,81 % 142 zile	4,04 % 163 zile	3,28 % 287 zile
pg g ⁻¹ grăsime TEQ	4,31	4,07	5,08	4,89	2,78	1,14

TEQ – valorile sunt exprimate în concentrații maxime ca echivalent toxic TEQ – pg/g grăsime; PCDD = dibenzo-p-dioxine policlorurate; PCDF=dibenzofurani policlorurați

În România, Rusu ș.a. (2016) au determinat prezența unor poluanți în diferite probe de nutrețuri și lapte colectate din proximitatea unei zone urbane din NE țării, amplasată într-un areal cu un istoric poluant important, respectiv în arealul unor foste fabrici producătoare de pesticide organoclorurate. În mod similar cu alți autori menționați, relația dintre consumul de nutrețuri contaminate și prezența contaminanților în lapte a fost din nou evidențiată.

Tabelul 1.6 prezintă concentrații ale diferiților poluanți identificate în diferite studii de specialitate, pe sistemul lor de trasabilitate, de la sol, către producția vegetală utilizată ca nutreț și până la animal și producția sa.

Asupra organismelor vii, conform Desiato ș.a (2014), poluanții pot avea o puternică activitate toxică și perturbatoare. La animale, Wielsoe ș.a. (2017) au completat că efectele toxice sunt redată prin numeroase tulburări metabolice sau prin creșterea riscului de boli infecțioase, consecințele acestora fiind diminuarea productivității sau degradarea calitativă a produselor obținute.

Influența negativă a poluanților asupra organismului animal și asupra producțiilor animale obținute a fost studiată de Rychen ș.a. (2008), în cazul bovinelor, unde s-a evidențiat că pătrunderea poluanților în organism poate determina o serie de infecții ale glandei mamare, ceea ce ar duce la creșterea permeabilității barierelor epiteliale mamare, contribuind astfel la suplimentarea concentrațiilor de compuși poluanți în lapte.

Pentru a evalua riscul potențial al expunerii pe termen lung a animalelor la poluare și efectele asupra producțiilor obținute, Piskorska–Pliszczynska ș.a. (2017) au efectuat cercetări de estimare a duratei de timp necesare pentru eliminarea unor dioxine și furani identificați în lapte ca urmare a administrării de nutrețuri contaminate. Prin aceasta, s-au evidențiat consecințele grave ale contaminării nutrețurilor, atât din punct de vedere al sănătății animalelor și oamenilor, cât și din punct de vedere economic și productiv, asupra industriilor sau practicilor agricole.

Pe lângă efectele specifice asupra organismelor vii, efectele negative directe ale poluării formează un angrenaj de-a lungul lanțului trofic. Poluanții își pot manifesta astfel influența indirectă asupra organismelor din rețeaua trofică prin reducerea fertilității solului, cu efecte înlănțuite asupra plantelor, asupra procesului de fotosinteză, prin inhibarea dezvoltării plantelor sau tulburări în ritmul de creștere a acestora, modificarea compoziției chimice a solului și a mediului în general sau pierderea eficienței producției.

Ținând cont de mențiunile anterioare privind deteriorarea stării de sănătate a animalelor, repercusiunile generate de poluanții organici se pot răsfrânge asupra producțiilor care ar putea fi diminuate sub aspect cantitativ, dar și sub aspect calitativ, prin tulburări ale stării de sănătate a animalelor, precum și prin faptul că toți acești compuși poluanți influențează negativ inocuitatea și salubritatea produselor obținute, extinzându-se până la tulburări severe ale stării de sănătate a oamenilor, ca urmare a consumului de produse animale contaminate.

Tabelul 1.6/Table 1.6

Incidența unor POPs în sol, nutrețuri și lapte
 Incidence of some POPs in soil, feed and milk
 (original – date prelucrate)

POPs	SOL ng g ⁻¹	Sursa bibliografică
● Pesticide organoclorurate		
Ad.s	0 – 5	0 – 25
	175,66	101,66
DDT	96,0	Ene ș.a. (2012)
	139,33	Covaci ș.a. (2002)
	-	Drăgan ș.a. (2007)
	81,79	Holoubek ș.a. (2009)
HCH	165,0	Ene ș.a. (2012)
	10,0	Covaci ș.a. (2002)
	5,23	Drăgan ș.a. (2007)
	ns.	Holoubek ș.a. (2009)
	82,8	Calvelo Pereira ș.a. (2010)
Heptaclor	328,78	ns.
Clordan	53,0	Ene ș.a. (2012)
📌 Substanțe din arderi incomplete		
PCDD/Fs	0,11 – 0,41	Domingo ș.a. (2002);
	0,025 – 0,76	Schuhmacher ș.a. (2004)
PAH	71,6	Crepineau–Ducoulombier & Rychen (2003)
NUTREȚ ng g⁻¹		
● Pesticide organoclorurate		
γ – HCH (Lindan)	2,73	
DDE	1,90	Bedi ș.a. (2018)
Sulfat de endosulfan	2,95	
🚩 Substanțe industriale		
PCB*	52,2 – 79,86	Costera ș.a. (2006)
📌 Substanțe din arderi incomplete		
PCDD/Fs	60,0 – 350,0	Costera ș.a. (2006);
	4,0 – 1680,0	Schuhmacher ș.a. (2004)
PCDD/Fs	5,0 – 427,0	Piskorska–Pliszczynska ș.a. (2017)
DL–PCBs	20,0 – 100,0	
PAH	25,0	Crepineau–Ducoulombier & Rychen, 2003
LAPTE ng g⁻¹		
● Pesticide organoclorurate		
HCH*	9,4	Jahed (2007)
DDT	15,9	
γ – HCH (Lindan)	0,46	
DDE	0,83	Costera ș.a. (2006)
Sulfat de endosulfan	1,01	
γ–HCH (lindan)	7,8	
α–HCH	0,74	Rusu ș.a. (2016)
β–HCH	0,9	
α-endosulfan	26,4	
β-endosulfan	41,46	Sajid (2015)
Sulfat de endosulfan	22,63	

Tabelul 1.6/Table 1.6 (Cont.)

POPs	LAPTE <i>ng g⁻¹</i>	Sursa bibliografică
● Pesticide organoclorurate		
DDE	4,06	Sajid (2015)
γHCH	1,52	
Dieldrin	2,13	
▲ Substanțe industriale		
HCB	1,6	Jahed (2007)
PCB*	142,85–172,4	Chen ș.a. (2017)
	18,92	Ahmadkhaniha ș.a. (2017)
PAH	0,079	Lapole ș.a. (2017)
■ Substanțe din arderi incomplete		
PCDD/PCDFs	4,31	Piskorska–Pliszczynska ș.a. (2017)
	1,914	Desiato ș.a. (2014)
	1,77–5,84	Rezaei ș.a. (2014)
	0,74	Jirdeji ș.a. (2015)
DL-PCBs	0,71	Piskorska–Pliszczynska ș.a. (2017)
	5,18	Desiato ș.a. (2014)
	0,492	Ahmadkhaniha ș.a. (2017)
	0,137	Jirdeji ș.a. (2015)

DDT=diclor-difenil-tricloreran; HCHs=hexaciclohexan; DDE=diclor-difenil-diclorețan; HCB=hexaclorobenzen; POPs=poluanti organici persistenti; PCDD=dibenzo-p-dioxine policlorurate; PCDF=dibenzofurani policlorurați; PAH=hidrocarburi aromatice policiclice; PCB=bifenili policlorurați; DL-PCBs=PCB asemănători dioxinelor

Mențiuni importante expuse de către Rowlinson (2008) evidențiază totodată importanța schimbărilor climatice pentru animale și producțiile lor întrucât favorizează răspândirea și transmiterea prin vectorii de poluare a diferiților agenți dăunători, ceea ce contribuie la pătrunderea contaminanților în lanțul trofic.

Obținerea unor producții animale superioare calitativ, în condițiile unui mediu poluat reprezintă doar una dintre diversele provocări ale relației dintre mediu și producția animală. Adaptarea producției animale ca urmare a creșterii intensive și diversificării producțiilor a făcut ca animalele să devină ele înșăși o problemă importantă în interrelația cu poluarea mediului.

Deși contează pe relația cu mediul înconjurător, în mod paradoxal, creșterea animalelor reprezintă o sursă de poluare, animalele fiind dăunătoare mediului prin prisma deșeurilor și a emisiilor gazoase, dar și prin prisma reziduurilor de substanțe rezultate în urma tratamentelor aplicate pentru îngrijirea curentă (Dumitraș, 2008).

Potențialul poluant al deșeurilor animale este dat în general de totalitatea substanțelor din dejecțiile animalelor, aflate în cantități mai mari decât cele tolerabile de mediu, moment în care încep să contribuie la degradarea progresivă a acestuia. Conform U.S.EPA (2019), din dejecțiile animalelor, excesul de fosfor și azot pot avea un potențial poluant important asupra mediului.

Pentru evidențierea conținutului de nutrienți eliminați prin dejecții, Carter & Kim (2013) au studiat legătura dintre procesul de hrănire a animalelor pentru a asigura producții ridicate, procesul de eliminare a substanțelor neabsorbite și efectele negative asupra mediului. În studiul lor, cei doi autori au evidențiat modul în care

neoptimizarea rațiilor în funcție de cerințele animalului și administrarea unor cantități prea ridicate de nutrienți, pentru a obține producții cât mai mari, poate determina poluarea cu azot și fosfor a mediului, demonstrând astfel că surplusul administrat animalelor este de cele mai multe ori eliminat și nu asimilat în favoarea productivității. De asemenea, aceiași autori au evidențiat că din dorința de a reduce costurile cu hrana, tendința crescătorilor este de a include în alimentația animalelor diferite tipuri de nutrețuri cu digestibilitate mică, însă bogate în azot și fosfor, crescând astfel proporțiile de substanțe cu caracter poluant excretate în mediu.

Studii anterioare în același context au fost realizate de Hristov ș.a. (2006) privind controlul cantitativ al substanțelor nutritive potențial poluante din dejecții; în urma studiului, 90 % din excesul de azot și fosfor identificat a fost asociat cu un exces de nutrețuri administrate. Knowlton ș.a. (2004) au evidențiat, în cazul unor vaci de lapte, că majoritatea rațiilor administrate conțineau cantități de fosfor peste cerințele animalelor, în timp ce Wu ș.a. (2001) au stabilit, prin cercetări, relația dintre aportul și excreția de fosfor, estimând că o scădere a proporțiilor de fosfor din rația zilnică de la 0,47 % la 0,31 %, poate determina reducerea fosforului eliminat prin dejecții cu aproximativ 50 %.

În categoria constituenților reziduali ai animalelor, Neumeier & Mitloehner (2013) au inclus o serie de emisii importante din punct de vedere al poluării mediului: gazele cu efect de seră, hidrogenul sulfurat, amoniacul sau compușii organici volatili. În practică, la nivel de producții animale, amoniacul, metanul și oxidul de azot constituie principalele surse de interes privind poluarea mediului sub aspectul schimbărilor climatice, a calității aerului sau a apei.

În ordinea aportului lor la efectul de seră, cele patru gaze majore includ dioxidul de carbon (CO₂), metanul (CH₄), protoxidul de azot (N₂O) și gazele fluorurate; contribuțiile procentuale la nivel mondial, raportate în 2019, de Agenția pentru Protecția Mediului a Statelor Unite au fost prezentate în tabelul 1.7, comparativ cu proporțiile înregistrate în 2014 de IPCC (2014).

Tabelul 1.7/Table 1.7

Contribuțiile diferitelor sectoare la emisiile de gaze cu efect de seră în perioada 2014–2019

Contributions of different sectors to greenhouse gas emissions in 2014–2019

(original – date prelucrate)

TIPURI DE GAZE	2014	2019	SECTOARE DE EMISIE	2014	2019
	IPCC, 2014	U.S.EPA, 2021		IPCC, 2014	U.S.EPA, 2021
% din total gaze			% din total emisii		
CO ₂	76	80	Transport	14	28
CH ₄	16	10	Energie	25	27
N ₂ O	6	7	Industrie	21	22
Gaze fluorurate	2	3	Activitate urbană	6	12
			Agricultură	24	10

Potrivit U.S.EPA (2021), emisiile de metan s-au diminuat în perioada anilor 1990–2019, aspecte pozitive fiind remarcate în privința reducerii emisiilor poluante din agricultură, în special ca urmare a utilizării unor practici mai puțin dăunătoare, a reducerii utilizării și gestionării optime a îngrășămintelor organice de sinteză, dar și gestionării raționale a dejecțiilor și reziduurilor agricole.

Pe sectoare de activitate, Okshevsky (2020) și U.S. EPA (2021) au raportat că cea mai mare proporție de metan a fost eliberată din agricultură (35–40 %), inclusiv din creșterea animalelor (tabelul 1.8), urmată îndeaproape de emisiile din surse naturale (30 %). Anterior, IEA (2018) a estimat că 41 % din emisiile globale de metan au provenit din surse biogene, iar 59 % din emisii au provenit din surse antropice, reprezentate în proporție de 40–53 % de producțiile intensive din agricultură, 19–30 % de producția și utilizarea combustibililor și 20–26 % de deșeuri (EC, 2020).

Tabelul 1.8/Table 1.8

Emisiile de gaze cu efect de seră în perioada 1990–2019 pe sectoare de activitate
Greenhouse gas emissions in 1990–2019 by activity branch
(original – date prelucrate după U.S.EPA, 2021)

TIPURI DE GAZE					
Sector de emisie	CO ₂	Sector de emisie	CH ₄	Sector de emisie	N ₂ O
% din total emisii					
Transport	35	Gaze naturale și petrol	30	Sectorul agricol	75
Energie	31	Fermentație enterică	27	Epurarea apelor uzate	6
Industrie	16	Deșeuri	17	Combustie	5
Activități urbane	11	Dejecții animale	9	Industrie chimică	5
Alte surse	8	Extracția cărbunelui	7	Dejecții animale	4
		Alte surse	9	Transport	4
-		-	-	Alte surse	1

Din sectorul de creștere a animalelor, metanul provine în special de la bovine, fiind eliberat în urma proceselor de fermentație și eructație sau din dejecții. Întrucât producția medie de metan a unei singure vaci este de 70–120 kg/an, Wallace ș.a. (2019) au descris bovinele ca fiind importante generatoare de metan, furnizând 37 % din emisiile antropice. Cu toate acestea, U.S. EPA (2011) a estimat că ~25 % din emisiile de metan ale unei vaci pot proveni din dejecții, însă marea lor majoritate, respectiv 71 %, sunt în general atribuite fermentației enterice.

Protoxidul de azot constituie unul dintre cele mai importante gaze cu efect de seră rezultat din diverse activități agricole cum ar fi aplicarea îngrășămintelor organice din gunoiul de grajd sau arderea deșeurilor din agricultură (U.S. EPA, 2021), 8 % din emisiile de protoxid de azot ale animalelor fiind în general asociate cu gestionarea inadecvată a dejecțiilor (Pardo ș.a., 2015).

Evaluarea impactului determinat de practicile agricole și zootehnice asupra mediului constituie unul dintre subiectele esențiale ale planurilor strategice de reducere a poluării, mai ales ținând cont de necesitatea eficientizării producțiilor animale în raport cu cerințele tot mai mari ale consumatorilor (FAO, 2015).

Pentru reducerea impactului asupra mediului, în sectorul producțiilor animale, s-au conturat de-a lungul timpului diferite strategii și acțiuni. Cele mai multe dintre aceste strategii înglobează inițiative și demersuri specifice fermelor de creștere a animalelor (tabelul 1.9), iar posibilitățile nutriționale de reducere a incidenței poluării în producția animală pot include: măsuri pentru îmbunătățirea eficienței conversiei nutrețurilor în produse animale, prin administrarea hranei de calitate superioară cu digestibilitate ridicată, precum și reducerea risipei de nutrețuri și formularea unor rații echilibrate, care să satisfacă mai îndeaproape cerințele animalelor în nutrienți specifici.

Tabelul 1.9/Table 1.9

Posibilități nutriționale de reducere a incidenței poluării în producția animală
Nutritional possibilities for reducing the incidence of pollution in animal production
 (prelucrare originală)

Măsuri nutriționale	Acțiune	Sursa bibliografică
Strategii de hrănire optime		
Menținerea echilibrului între importul și exportul de nutrienți; corelarea hranei cu necesitățile nutritive	Reducerea excrețiilor de azot și fosfor prin dejecții	Carter & Kim, 2013
Îmbunătățirea conversiei nutrețurilor: enzime (xilanaza, fitaza, proteaza)	Reducerea dejecțiilor animale	Monsan & Donohue, 2010; Jegannathan & Nielsen, 2013
Modificarea structurii fizice a nutrețurilor (măcinare, peletizare) pentru a crește disponibilitatea nutrienților	Utilizarea optimă a nutrienților și reducerea dejecțiilor animale	Burkholder ș.a., 2004
Diminuarea conținutului proteic din rație	Reducere excreției de azot	Agle ș.a., 2010
Includerea în alimentație a unor coproduse (ionofori, implanturi hormonale, β-agoniști, somatotropină bovină recombinată)*	Reducerea excrețiilor Îmbunătățirea conversiei nutrețurilor	Johnson, 2013; Neumeier & Mitloehner, 2013
Adaptarea alimentației – alternative de hrană (macroalgele roșii <i>Asparagopsis taxiformis</i>)	Reducerea producției de metan în timpul fermentației ruminale (bovine)	Okshevsky, 2020 Machado ș.a., 2018

* Decizia 1999/879/CE a Consiliului UE interzice comercializarea și utilizarea pe teritoriul Uniunii Europene

Conform Sofia ș.a. (2020), indiferent de varianta aplicată, măsurile de combatere a poluării mediului în producția animală trebuie să fie optime și să determine reducerea sau atenuarea efectelor poluante; totodată, implementarea acestor metode trebuie să realizeze și eficientizarea producției, iar pe lângă reducerea poluării, practicile aplicate trebuie să aibă și alte beneficii asupra mediului sau beneficii din punct de vedere economic.

CAPITOLUL 2. HIDROCARBURI DIN ULEIURI MINERALE ÎN PRODUȚIA VEGETALĂ ȘI PRODUȚIA ANIMALĂ

CHAPTER 2. MINERAL OIL HYDROCARBONS OCCURRENCE ON VEGETAL PRODUCTION AND ANIMAL PRODUCTION

Studiul contaminării cu hidrocarburi din uleiuri minerale înglobează un concept complex, ce implică nu numai monitorizarea și cuantificarea contaminanților din alimente, dar și conștientizarea efectelor negative generate de contaminarea producțiilor vegetale utilizate ca hrană pentru animale, esențiale pentru calitatea și siguranța producțiilor obținute și pentru siguranța consumatorilor.

În relația cu mediul, hidrocarburile din uleiuri minerale (MOH) reprezintă o clasă nouă de contaminanți, astfel încât, în cadrul acestui capitol au fost descrise principalele particularități ale acestora, centrate pe incidența lor pe lanțul agro-alimentar și toxicitatea pentru organismele animale și umane, toate acestea prin raportarea la cadrele legislative aplicabile și la posibilitățile de confirmare a prezenței lor în producția vegetală și în producția animală.

2.1 Hidrocarburile din uleiurile minerale: descriere, particularități

Cu relevanță ecotoxicologică deosebită pentru sănătatea consumatorilor, hidrocarburile din uleiuri minerale (MOH) sunt produse de distilare a petrolului sau produse sintetice obținute din extracția cărbunelui și a gazelor naturale (EFSA, 2012; Bratinova & Hoekstra, 2019; Menegoz Ursol ș.a., 2023), ce alcătuiesc o clasă importantă de contaminanți de origine petrogenă, prezenți în substraturile de mediu fie ca rezultat al poluării, fie ca rezultat al contaminării pe ciclul de producție (EFSA, 2012; Biedermann & Grob 2012a; Grob, 2014; Bruhl, 2016; Canavar ș.a. 2018).

Structural, hidrocarburile din uleiuri minerale sunt formate din amestecuri complexe de hidrocarburi saturate (MOSH–eng. *Mineral Oil Saturated Hydrocarbons*) sau aromatice (MOAH–eng. *Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons*); exemple de structuri chimice ale MOSH și MOAH au fost redată în fig. 2.1.

Hidrocarburile saturate din uleiurile minerale (MOSH) cuprind hidrocarburi cu lanț deschis (parafine), cu diferiți compuși chimici liniari și ramificați (alcani, izoalcani) sau naftene, un grup de hidrocarburi ciclice (cicloalcani), preponderent alchilate, ce pot proveni fie din uleiul mineral brut, fie se pot forma ca produse secundare din hidrogenarea compușilor aromatici (Biedermann & Grob, 2012; Gomez-Coca ș.a., 2016).

Metodologic, fracțiunea de masă totală pentru MOSH se exprimă în mg, raportate la masa probei studiate (exprimată în kg), după separarea și îndepărtarea tuturor interferențelor posibile din extract, cuantificarea și integrarea întregului interval de semnal cromatografic, între timpii de retenție ai n-C₁₀ și n-C₅₀, folosind ciclohexilciclohexan (CyCy) ca standard intern (IS–eng. *Internal Standard*).

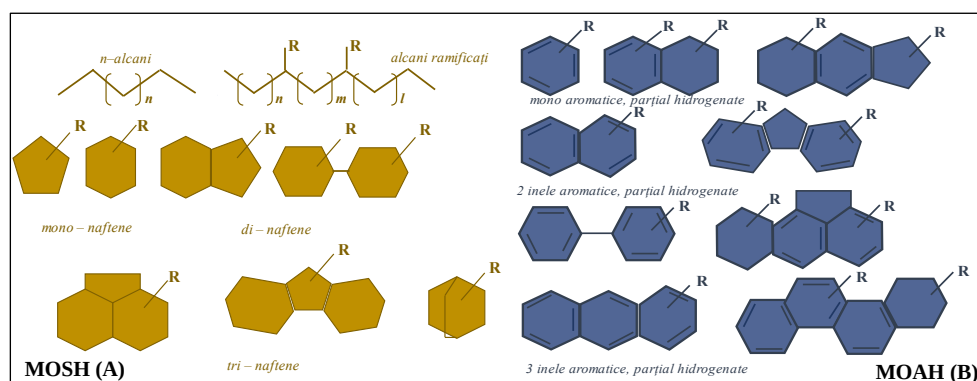


Figura 2.1 Exemple de structuri chimice ale MOSH (A) și MOAH (B)
 Figure 2.1 Examples of chemical structures of MOSH (A) and MOAH (B)
 (prelucrare originală după Hohegger ș.a., 2021)

Diferite hidrocarburi liniare endogene mai pot fi regăsite în fracțiunea MOSH și ale căror particularități chimice nu trebuie confundate cu cele ale hidrocarburilor saturate de contaminare (fig. 2.2).

Prezenți în mod natural atât în plante, cât și în alte organisme vii, n-alkanii cuprind o serie de compuși organici nepolari, puțini reactivi și cu afinitate chimică redusă (Giuffrè & Capocasale, 2016), ce constau în hidrocarburi saturate cu atomi de carbon cu numere impare (C_nH_{2n+2}), predominant variabile între $n-C_{21}$ și $n-C_{35}$ și care, împreună cu olefinele naturale de origine terpenă (squalene, sterene sau carotenoidele), formează principalele componente nesaponificabile ale fracției MOSH (Bratinova & Hoekstra, 2019; Srbinovska ș.a., 2020).

Perez-Camino ș.a. (2013) au menționat despre prezența în mod natural a n-alkanilor la nivelul plantelor, unde, împreună cu cerurile naturale, formează cuticula externă a epidermei plantei, ce acționează ca o barieră împotriva umidității excesive. Dincolo de plante, Nartea (2017) menționează despre prezența importantă a n-alkanilor în sol, unde aceste tipuri de hidrocarburi au chiar un interval molecular mai larg, de la $n-C_{21}$ la $n-C_{47}$.

Alte hidrocarburi de tipul hidrocarburilor oligomerice saturate din poliolefine (POSH–eng. *Polyolefinic Oligomeric Saturated Hydrocarbons*) sau polialfaolefinele (PAO–eng. *Poly Alpha Olefines*) mai pot migra din diferite ambalaje de polietilenă (PE–eng. *Polyethylene*) sau polipropilenă (PP–eng. *Polypropylene*), precum și din diferiți adezivi și plastifianți, dar care nu trebuie asociate contaminării cu MOSH (Biedermann & Grob, 2012). Dacă PAO pot fi identificate după modelul lor cromatografic caracteristic, POSH sunt dificil de diferențiat și separat (Biedermann & Grob, 2012), astfel încât, prezența acestora este deseori confundată cu fracția de contaminare MOSH.

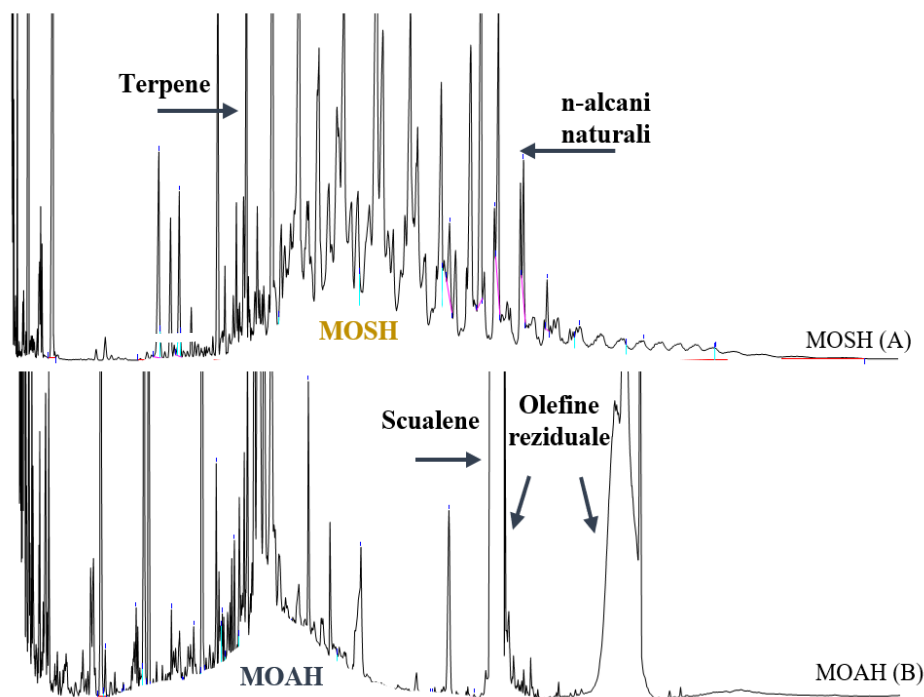


Figura 2.2 Cromatogramele LC-GC-FID ale unei selecții de probe cu hidrocarburi liniare endogene; fracția MOSH (A) conține terpene și n-alcani naturali și fracția MOAH (B) conține olefine reziduale (squalene) care ar putea perturba integrarea și cuantificarea MOSH/MOAH
 Figure 2.2 LC-GC-FID chromatograms of a selection of samples with endogenous linear hydrocarbons; MOSH fraction (A) contained natural terpenes and n-alkanes and MOAH fraction (B) contained residual olefins (squalenes) that could disrupt MOSH/MOAH integration and quantification
 (original)

Hidrocarburile aromatice din uleiuri minerale (MOAH) conțin sisteme de inele aromatice unice sau multiple, fiind așadar hidrocarburi poliaromatice substituie cu alchil, cu un număr diferite de cicluri condensate. Asemănătoare din punct de vedere chimic cu hidrocarburile aromatice policiclice (PAH-eng. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) prin prisma compușilor poliaromatici, MOAH se deosebesc de PAH atât prin faptul că se pot forma la temperaturi mai scăzute, dar în special prin gradul ridicat de alchilare, de peste 98 %, la analiza chimică fiind recunoscute după proeminențe și semnalele lor cromatografice ample (Biedermann & Grob, 2012; Bratinova & Hoekstra, 2019; Menegoz Ursol ș.a., 2023).

Definită ca fracțiune de masă totală, MOAH se exprimă, similar fracțiunii MOSH, în mg raportate la masa probei studiate (kg), separarea interferențelor din extract, cuantificarea și integrarea semnalului cromatografic între timpii de retenție având loc, de asemenea între n-C₁₀ și n-C₅₀, cu deosebirea că standardul intern (IS) este reprezentat de 1- sau 2- metilnaftalenă (1-MN; 2-MN).

Atât pentru MOSH, cât și pentru MOAH, standardele interne necesare cuantificării, dar și structura amestecului standard, pe subfracțiuni n-C au fost reprezentate în fig. 2.3, respectiv fig. 2.4.

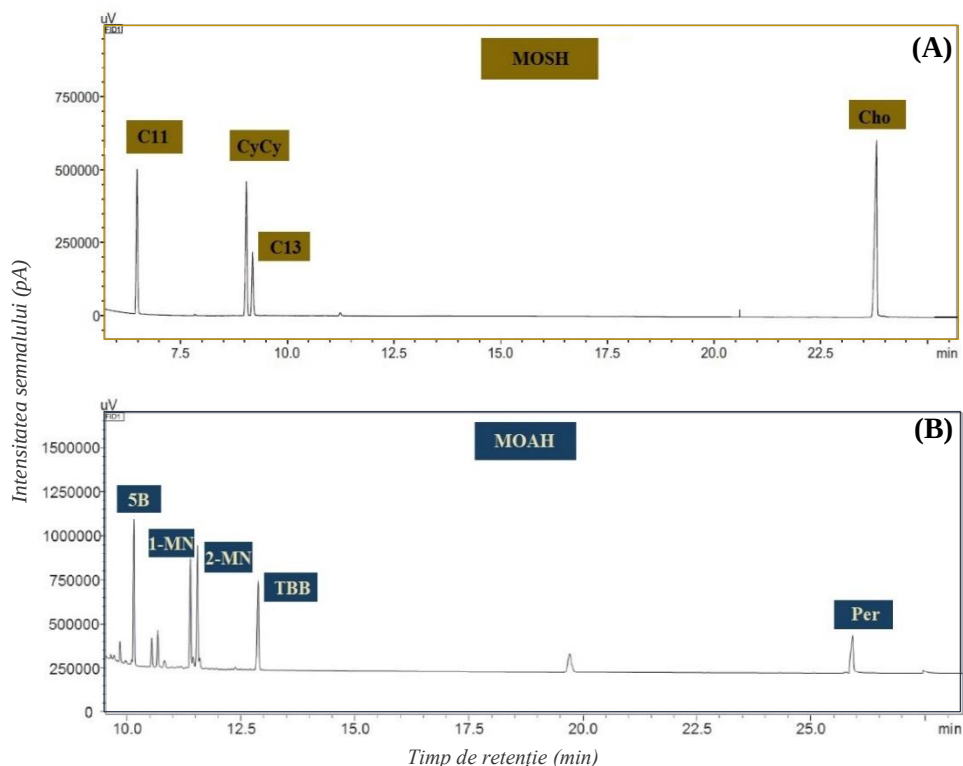


Figura 2.3 Reprezentarea LC-GC-FID a standardului intern (IS): MOSH (A) și MOAH (B); sfârșitul fracției MOSH este marcat de colestan (Cho); începutul și sfârșitul fracției MOAH sunt marcate de terțbutilbenzen (TBB) și perilenă (Per); ciclohexilciclohexan (CyCy) pentru cuantificarea MOSH; 1-metilnaftalină (1-MN) și 2-metilnaftalină (2-MN) pentru cuantificarea MOAH
 Figure 2.3 LC-GC-FID representation of internal standard (IS): MOSH (A) and MOAH (B); the end of the MOSH fraction is marked by cholestane (Cho); the beginning and end of the MOAH fraction are marked by tert-butylbenzene (TBB) and perylene (Per); cyclohexylcyclohexane (CyCy) for MOSH quantification; 1-Methylnaphthalene (1-MN) and 2-Methylnaphthalene (2-MN) for MOAH quantification
 (prelucrare originală după Zoccali ș.a., 2021; descriere după Sdrigotti ș.a., 2021)

Caracterul nepolar conferit de structura lor chimică, fac ca MOSH și MOAH să aibă o afinitate deosebită pentru substraturile grase, astfel încât prezența lor a fost confirmată în numeroase matrici vegetale sau animale, iar apariția și posibilele surse de contaminare au fost descrise și discutate pe larg în literatură în numeroase lucrări de specialitate (Moret ș.a., 2009; EFSA, 2012; Bruhl, 2016; Gharbi ș.a., 2017; Purcaro ș.a., 2016; Gomez-Coca ș.a., 2016; Matei & Pop, 2023).

În lanțul trofic, hidrocarburile din uleiurile minerale pătrund de cele mai multe ori ca urmare a poluării mediului, a aplicării unor practici incorecte de recoltare și prelucrare (în special a materiilor prime vegetale), din utilizarea

intenționată a uleiurilor minerale sub formă de lubrifianți sau agenți de degajare, ca urmare a contaminării accidentale și nu în ultimul rând, în urma contactului cu materiale în componența cărora se găsesc uleiuri minerale (Srbinovska ș.a., 2022).

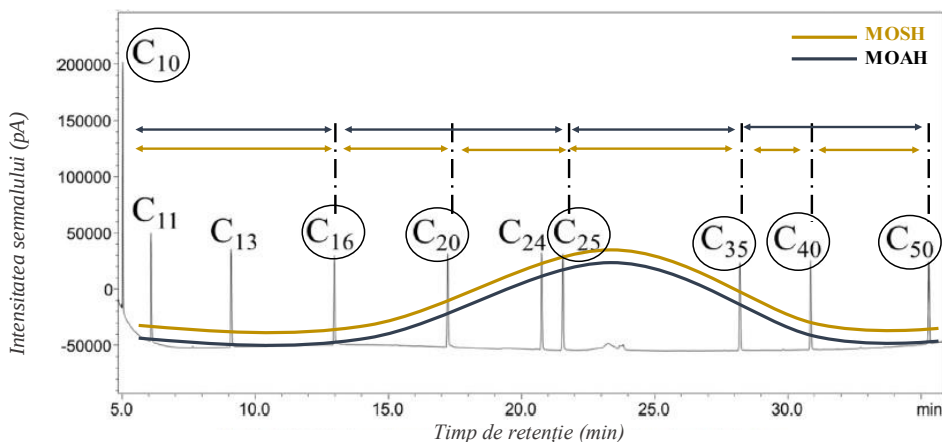


Figura 2.4 Reprezentarea cromatogramelor LC-GC-FID al amestecului standard pe categorii de sub-fracții n-C: fracția MOSH (galben) și fracția MOAH (albastru)

Figure 2.4 Representation of the LC-GC-FID chromatograms of the standard mixture by categories of n-C sub-fractions: MOSH fraction (yellow) and MOAH fraction (blue)

(prelucrare originală după Zoccali ș.a., 2021; Hidalgo Luiz ș.a., 2021)

Data fiind importanța mediului înconjurător în contextul poluării, impactul contaminării cu MOSH/MOAH a fost analizat cu interes deosebit în ultimii ani. Dacă pentru MOSH, Menegoz Ursol ș.a. (2022) au confirmat printr-un studiu recent că poluarea mediului a fost considerată principala cauză a contaminării unor matrici vegetale, pentru MOAH, nu există până în prezent dovezi științifice suficient de puternice care să coreleze nivelul de poluare cu proporțiile de contaminanți din diferite substraturi, aspect argumentat fie de proporțiile reduse de MOAH eliberate în mediu, fie de faptul că în momentul contactului cu aerul atmosferic acestea suferă un proces de oxidare.

În privința utilizării intenționate, în prezent, în prelucrarea alimentelor sau în alte industrii asociate, pot fi utilizate diferite uleiuri minerale lubrifiante de calitate alimentară, în componența cărora se găsesc doar MOSH, în timp ce utilizarea uleiurilor de calitate tehnică (ex. lubrifianți), nerafinate sau parțial rafinate, nu este permisă în lanțul de producție a alimentelor, ca urmare a conținutului de 30 % MOAH, a căror prezență în alimente poate afecta siguranța produsului și sănătatea potențialilor consumatori (EFSA, 2012; Menegoz Ursol ș.a., 2022).

Deși apariția MOH și primele studii referitoare la acestea sunt cunoscute încă de acum aproximativ 30 de ani (Grob ș.a., 1991), prezența hidrocarburilor din uleiuri minerale în lanțul de producție alimentar a devenit cu adevărat o problemă în urmă cu mai bine de un deceniu (Bauwens ș.a., 2022; Nestola, 2022), în anul 2008, când un caz sever de contaminare cu MOH a fost raportat în Ucraina, pentru

numeroase loturi de ulei de floarea soarelui pentru care s-au detectat concentrații de MOSH și MOAH de până la 3100 mg/kg (Grob, 2008; Biedermann & Grob, 2009).

Raportat la relevanța toxicologică, toxicitatea și efectele MOH asupra organismelor vii rămân în continuare incerte, însă reprezintă subiecte primordiale de studiu în domeniu (Foodwatch, 2021; Nestola, 2022).

Descoperiri constante ce au avut în prim-plan influența MOH asupra organismelor vii evidențiază că, din punct de vedere al toxicității, MOSH au o capacitate ridicată de a se acumula în organele și țesuturile umane (Grob, 2018b; Bruhl, 2016; Hidalgo Ruiz ș.a., 2021), în timp ce MOAH, din cauza asemănărilor structurale cu PAH, sunt susceptibile în a avea potențial cancerigen (Nestola, 2022; Menegoz Ursol ș.a., 2023). Numeroase investigații realizate prin intermediul EFSA, (2012); EFSA ș.a. (2019) sau în cercetări de profil (Weber ș.a., 2018; Tarnow ș.a., 2016; Grob, 2018b;) au raportat despre MOAH că pot imprima caractere genotoxice și acțiuni mutagene, mai ales în variantele cu trei sau mai multe inele aromatice.

În relație cu toxicitatea potențială evidențiată pentru MOSH și MOAH, încă din anii 2011–2012, numeroase cadre legislative au inițiat investigații referitoare la apariția acestor contaminanți în lanțul alimentar (EFSA, 2012).

În lipsa datelor concludente pentru evaluarea riscurilor, de-a lungul timpului, diferite limite, stabilite de autorități legislative (EU Recommendation 2017/84; Ministerul Federal German pentru Alimentație, Agricultură și Protecția Consumatorului–BMEL, 2020; Consorțiul pentru Protecția Consumatorului din Statele Federale–LAV și Federația Alimentară Germană–BLL, 2022) au fost utilizate ca referințe, până la noi schimbări.

Recent, atenția privind MOSH și MOAH s-a concentrat în principal asupra fracțiunii MOAH ca urmare a toxicității mai ridicate (EFSA ș.a., 2019); deși până în prezent nu au fost stabilite limite legale, identificarea MOAH a fost considerată o prioritate în controlul acestor tipuri de contaminanți pe lanțul alimentar.

Diferite măsuri privind nivelurile maxime de contaminare acceptate au fost inițiate, una dintre cele mai eficiente fiind elaborarea Ghidului de recomandări al Centrului Comun de Cercetare (JRC–eng. *Journal Research Council*), realizat de Bratinova & Hoekstra (2019), prin care s-au stabilit, procedural și etapizat, măsurile necesare pentru menținerea unui nivel acceptabil de contaminare cu MOSH și MOAH al diferitelor produse. Cu toate acestea, în ciuda tuturor eforturilor comune, lipsa armonizării protocoalelor, a validării și confirmării unor metode de lucru comune, fac dificilă interpretarea și integrarea datelor analitice, existând încă aspecte care subminează fiabilitatea controlului contaminării (Bratinova ș.a. 2020).

Încercări recente de elaborare a unor măsuri care să definească limitele superioare pentru MOSH și MOAH în alimente au fost elaborate de către Comitetul permanent pentru plante, animale, alimente și furaje, de la nivelul Comisiei Europene (SCoPAFF, 2022), fiind astfel așteptate rezultate pozitive care să faciliteze consolidarea protocolului de menținere sub control a acestui tip de contaminare.

2.2 Incidența hidrocarburilor din uleiuri minerale în producția vegetală și producția animală

Hidrocarburile din uleiurile minerale (MOH) sunt contaminanți omniprezenți în mediu, iar apariția lor pe lanțul alimentar este o problemă ce persistă de mai bine de un deceniu și ridică serioase preocupări ca urmare a potențialelor efecte ale MOH asupra sănătății (Barp ș.a., 2014; Barp ș.a., 2017a; 2017b). Deși toxicitatea și efectele clare ale acestora nu au fost concretizate până în prezent, constatările din ultimii ani, ce au avut loc pe baza a diferite situații de contaminare cu MOSH și MOAH, au îndemnat publicul interesat să gestioneze mai profund problemele legate de incidența MOH în mediu (Nestola, 2022).

În mediu, MOH pot pătrunde prin mai multe căi, iar prezența acestora poate fi atribuită mai multor surse (Srbínovska ș.a., 2023; Purcaro ș.a., 2016).

Conform Van Heyst ș.a. (2018); (2019), hidrocarburile din uleiuri minerale pot proveni, în primul rând, din poluarea atmosferică sau poluarea acvatică determinată de diferite activități antropice industriale sau urbane (industrie chimică, trafic auto). Impactul contaminării de fond cu MOH a mediului înconjurător a fost considerat, de-a lungul timpului, deosebit de important, în special pentru unele producții vegetale (Menegoz Ursol ș.a., 2023), dar, cu toate acestea, până în prezent nu sunt disponibile dovezi suficient de puternice care să considere prezența MOSH/MOAH din diferite substraturi rezultatul exclusiv al contaminării mediului. Niveluri ridicate de MOSH și MOAH pot însă contamina mediul atunci când acestea se eliberează sub formă de reziduuri, în special din utilizarea uleiurilor lubrifiante în diferite fabrici de procesare (Van Heyst ș.a., 2019; Hoccegher ș.a., 2021).

În privința uleiurilor de lubrifiere utilizate pentru funcționarea diferitelor utilaje agricole sau echipamente de procesare, încă de la primele menționări ale MOH în studii de profil, Grob ș.a. (2001) descria situațiile alarmante pe care le pot genera uleiurile minerale pentru mediul înconjurător, mai ales atunci când acestea pătrund în mediu în componența uleiurilor uzate (uleiuri de motor, uleiuri hidraulice) în formă nerafinată sau parțial rafinată și, mai mult de atât, însoțiți o gamă largă de alți compuși secundari: polialfaolefine, compuși cu greutate moleculară mare ($n\text{-C}_{25}\text{--C}_{30}$; pot ajunge până la $n\text{-C}_{45}$); poliesteri; diferite proporții de aditivi (~ 10 %) cu potențial toxic, dar și o mare varietate de substanțe chimice, inclusiv solvenți și diluanți de curățare, uleiuri pentru curățarea pieselor constructive ale utilajelor, vopsele sau alte substanțe de protecție.

Cu toate acestea, studiile recente realizate de Van Heyst (2019); Hoccegher ș.a. (2021) raportează că preocupări majore privind contaminarea cu MOH sunt generate de utilizarea permisă a uleiurilor minerale ca și componente ale diferitelor produse. Pe baza reglementărilor generale ale Comisiei Europene (EC, 2008; EC, 2011), uleiurile minerale au o serie de utilizări aprobate, astfel că unele clase specificate de uleiuri minerale pot fi folosite în alimente, ca aditivi și adjuvanți

tehnologici, așa cum este ceara microcristalină sau aditivul codificat E905, aprobat pentru utilizare ca agent de tratare a suprafeței unor produse de cofetărie.

Ca adjuvanți de prelucrare, uleiurile minerale pot fi utilizate ca agenți de eliberare a matrițelor de panificație sau agenți de desprăfuire în prelucrarea cerealelor. În conformitate cu Regulamentul (CE) 1107/2009 și Regulamentul de punere în aplicare al Comisiei, respectiv Regulamentul (UE) 540/2011, uleiurile minerale parafinice sunt autorizate, de asemenea, ca insecticide și acaricide pentru tratarea culturilor agricole (EC, 2009a; 2011a).

În Regulamentul (UE) 10/2011 al Comisiei, uleiurile minerale au fost, de asemenea, autorizate ca aditivi pentru ambalaje polimerice. Mai mult, unele uleiuri minerale derivate din petrol sau din materii prime sintetice au fost incluse în Lista de aditivi a Uniunii Europene, aprobați pentru utilizare ca materiale de contact pentru alimente, așa cum sunt uleiurile minerale parafinice (FCM 95), ceara rafinată de înaltă vâscozitate (FCM 94) și ceara rafinată parafinică cu vâscozitate scăzută (FCM 93), toate cu capacități aparte de migrație în alimente (EC, 2011b).

Activitățile agricole pot fi, în același timp, surse majore de contaminare cu MOH, uleiurile minerale fiind ingrediente ale unor substanțe cu destinație agricolă (ex. pesticide). Etape tehnologice importante pentru ambalarea sau transportul materiilor prime pot avea, de asemenea, relevanță deosebită pentru contaminarea cu MOSH și MOAH întrucât acestea intră în componența unor materiale de ambalare și transport (ex. saci de iută) sau în compoziția cernelurilor de imprimare ale materialelor de ambalare, așa cum sunt ambalajele din hârtie și carton (Bierdermann & Grob, 2015; Van Heyst ș.a. 2018; 2019; Menegoz Ursol ș.a., 2023).

Fie că sunt contaminanți de procesare, fie că sunt poluanți, subiectele privind incidența MOSH și MOAH se concentrează în principal pe siguranța alimentelor și siguranța consumatorilor, deși producția vegetală utilizată ca hrană pentru animale poate avea o contribuție indirectă importantă la expunerea umană la acest tip de contaminare (Bauwens ș.a., 2022).

Consumatorii sunt expuși la contaminarea cu MOH prin intermediul alimentelor (Bratinova & Hoekstra, 2019), cei mai importanți contributory de MOSH și MOAH în aportul alimentar fiind produsele pe bază de cereale, produsele din pește, produsele de origine animală și uleiurile vegetale (EFSA, 2012; Srbinovska ș.a., 2023).

Conform studiilor anterioare descrise de Zhang ș.a. (2019), surse majore de unde MOH pot migra în alimente în toate etapele lanțului de prelucrare (fig. 2.5), de la recoltare, procesarea ulterioară, transport și ambalare, pot include aditivii și adjuvanții de prelucrare sau lubrifianți pentru mașinile de procesare (EFSA 2012; Biedermann & Grob 2012a; Grob, 2014; Brühl 2016; Canavar ș.a., 2018). Nu în ultimul rând, materialele cu care alimentele intră în contact și în a căror componență se găsesc uleiuri minerale (ex. carton, hârtie reciclată, cerneluri) sunt surse importante de contaminare cu MOH (Hidalgo Ruiz ș.a., 2021; Srbinovska ș.a., 2022), fie prin contact direct cu alimentele, fie în faza gazoasă, prin migrare (Foodwatch, 2021).

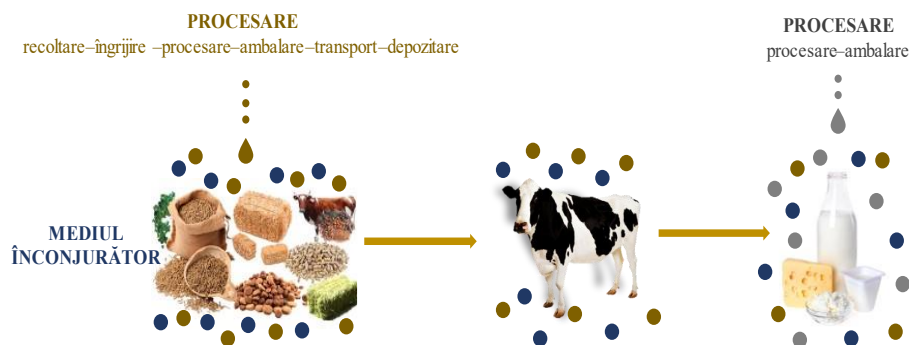


Figura 2.5 Model de migrare a contaminanților în alimente pe parcursul lanțului de prelucrare
 Figure 2.5 Migration model of contaminants into food along the processing chain
 (original)

Ca urmare a naturii lipofile și a utilizării lor pe scară largă în diferite procese de prelucrare, MOH pot contamina cu ușurință și producțiile vegetale, uleiurile vegetale fiind printre cele mai contaminate matrici alimentare, așa cum a fost redat de-a lungul timpului în numeroase cercetări (Moret ș.a., 2003; EFSA, 2012; Luisi, 2019; Conte, 2020; Menegoz Ursol ș.a., 2022; Zoccali ș.a., 2016; Hidalgo Ruiz ș.a., 2021).

Deși studiile au evoluat în timp, datele privind apariția MOSH/MOAH sunt în prezent disponibile doar pentru un număr limitat de matrici și doar la nivelul câtorva țări; tabelul 2.1 rezumă proporțiile de MOSH/MOAH raportați de diverși autori în diferite tipuri de producții vegetale și animale.

În ciuda conținutului de grăsimi, care poate favoriza prezența contaminanților lipofili, în literatură sunt disponibile prea puține date despre contaminarea cu MOH a nutrețurilor vegetale; prezența interferențelor de tipul trigliceride, olefine sau n-alcani endogeni complică cu atât mai mult cuantificarea corectă a acestei contaminări și face din nutrețuri o matrice dificilă pentru determinarea hidrocarburilor din uleiuri minerale (Srbínovska ș.a., 2023).

Conform Grob ș.a. (2001), doar controlul privind absența unei categorii restrânse de poluanți cu potențial toxic a fost considerat insuficient, din moment ce tolerarea prezenței diferiților poluanți în hrana animalelor nu induce riscuri doar pentru animale, ci unele componente pot fi transferate în produsele alimentare de origine animală (carne, ouă, lapte), cu transmiterea riscurilor către oameni; deși hidrocarburile din uleiuri minerale sunt printre cei mai puțin toxici contaminanți ai nutrețurilor, transferul lor în organismul animal și prezența lor în producțiile animale pot împiedica consumatorii să aleagă astfel de produse.

Conform Bauwens ș.a. (2022), prezența MOH în alimente poate fi deseori un rezultat al transferului contaminanților din nutrețuri în organismul animal, ca urmare a conținutului ridicat de grăsimi și în lipsa unor bariere funcționale specifice, producțiile alimentare de origine animală fiind predispuse la contaminarea cu MOSH și MOAH prin migrarea acestora din organismul animal.

Tabelul 2.1/Table 2.1

Prezența MOSH și MOAH în producția vegetală și în producția animală
Literature survey on presence of MOSH and MOAH in vegetal and animal production
 (prelucrare originală)

Probă analizată	Origine/ Proveniență	Expunere la contaminare	N	MOSH total (mg/kg)	MOAH total (mg/kg)	Sursă bibliografică
Producții animale						
Ouă	Elveția	Transfer metabolic	ns.	9,0 – 18,0		Grob ș.a., 2001
Carne de vită	China	Lanțul de producție	3	5,6	< LOQ	Zhang ș.a., 2019
Carne de pui	China	Lanțul de producție	3	< LOQ	< LOQ	Zhang ș.a., 2019
Producții vegetale						
Pâine albă de grâu	China	Lanțul de producție	5	1,5	< LOQ	Zhang ș.a., 2019
Paine neagră	China	Lanțul de producție	5	5,0	< LOQ	Zhang ș.a., 2019
Ovăz	China	Lanțul de producție	5	1,9	-	Zhang ș.a., 2019
Tărâte de grâu	China	Lanțul de producție	4	2,4	< LOQ	Zhang ș.a., 2019
Ulei măslină	China	Lanțul de producție	4	6,4	1,0	Zhang ș.a., 2019
Ulei floarea soarelui	China	Lanțul de producție	4	2,9	0,5	Zhang ș.a., 2019
Ulei de floarea soarelui	Spania	Lanțul de producție: recoltare, procesare	6	4,4	1,5	Hidalgo Ruiz ș.a., 2021
Ulei de măsline rafinat	Spania	Lanțul de producție: recoltare, procesare	4	6,1	2,5	Hidalgo Ruiz ș.a., 2021
Ulei de tescovină	Spania	Lanțul de producție: recoltare, procesare	5	51,0	17,8	Hidalgo Ruiz ș.a., 2021
Pesto de busuioc	Italia	Lanțul de producție: materiale de contact, uleiuri minerale pentru utilaje de recoltare	24	5,6 ^x	1,0 ^x	Srbínovska ș.a., 2023
Ulei de măsline	Italia	Tratamente fitosanitare și de fertilizare; echipamente agricole (*)	8	4,2	< LOQ	Menegoz Ursol ș.a., 2023
		Operațiuni mecanizate de recoltare, utilizarea lubrifianților, gazele de evacuare emise de mașinile agricole, materiale de contact	9	50,27	21,96	
Nutreț combinat	Elveția	Lanțul de producție: recoltare, procesare	ns.	60,0 – 80,0		Grob ș.a., 2001

x –datele reprezintă media conținutului de MOSH/MOAH pentru 12 tipuri de probe de pesto de busuioc de la diferite branduri; ns. = nespecificat; N= nr. probe; LOQ = limita de cuantificare;

* au fost selectate produsele de origine animală și vegetală relevante pentru studiu

Proportii diferite de hidrocarburi din uleiuri minerale au fost identificate, de-a lungul tipului, în numeroase alimente de origine animală și nu numai (Foodwatch, 2021). Conform Bratinova & Hoekstra (2019), în Recomandarea (UE) 2017/84 a Comisiei se evidențiază necesitatea monitorizării, în special a grăsimilor animale, a cărnii și produselor din carne, a lactatelor, a peștelui și produselor din pește, a produselor de panificație (pâine, cereale, paste), a semințelor de oleaginoase și, nu în ultimul rând, a uleiurilor vegetale.

Dintre producțiile animale, laptele și produsele din lapte joacă un rol important în furnizarea de nutrienți pentru oameni, în special pentru categoriile sensibile de consumatori, cum ar fi copiii, bătrânii sau persoanele bolnave, astfel că inocuitatea laptelui și produselor lactate devine o problemă deosebit de importantă în ceea ce privește siguranța alimentară.

Contaminarea laptelui cu uleiuri minerale a câștigat până în prezent atenția doar prin prisma potențialelor riscuri induse de ambalaje, câteva articole raportând prezența uleiurilor minerale în produse de lapte pentru bebeluși (Biedermann–Brem ș.a., 2012; Zhang ș.a., 2019).

Prezența hidrocarburilor din uleiuri minerale ca răspuns al transferului metabolic al contaminanților din organismul animal, contaminat prin intermediul nutrețurilor, nu a fost raportată în mod special în literatura de profil. Studii care să evidențieze posibilitatea transferului metabolic al MOSH și MOAH au fost efectuate, în schimb, de Bauwens ș.a. (2022) pentru hrana peștilor și carnea de pește obținută. Analizând profilele comune ale coloanelor cromatografice identificate, a fost confirmată posibila contribuție a hranei în contaminarea cu MOSH și MOAH a cărnii de pește, indicându-se astfel posibilitatea transferului metabolic.

Diverși autori menționează despre necesitatea unor studii suplimentare pentru a evalua impactul hidrocarburilor din uleiuri minerale și pentru a identifica cele mai importante surse de contaminare (Srbínovska ș.a., 2022; Menegoz Ursol ș.a., 2023). Deși incidența MOSH și MOAH pare în prezent relativ scăzută, iar expunerea la poluare modestă, e necesar să se ia în considerare efectul cumulativ și să se țină cont de existența mai multor produse ce pot contribui la acumularea MOH.

2.3 Toxicitatea hidrocarburilor din uleiuri minerale pentru organismele animale și umane

Prezența hidrocarburilor din uleiuri minerale în numeroase matrici și potențiala lor toxicitate pentru organismele animale și umane reprezintă preocupări constante în multe domenii, de la produse alimentare, cosmetice sau alte produse de larg consum (Pirow ș.a., 2019; Nestola, 2022).

Odată cu trecerea anilor, percepția publicului privind uleiurile minerale s-a schimbat radical, evaluările toxicologice ducând la schimbarea atitudinilor, de la uleiuri minerale de calitate alimentară, acceptate cu ușurință de consumatori, până la percepția unei contaminări deosebit de periculoase (Grob, 2018).

Cele mai recente crize din Europa privind MOH au fost legate de detectarea uleiului mineral în diferite produse alimentare (Vollmer ș.a., 2011; Biedermann ș.a., 2013; Foodwatch, 2019). Cu toate acestea, incertitudinile legate atât de expunere, cât și cele legate de pericolele și riscurile reale pentru populația umană, nu au fost încă clarificate, potențialul bioacumulativ, efectele histopatologice asociate și potențialul cancerigen și genotoxic al MOH fiind două dintre principalele preocupări toxicologice (Grob, 2018; Pirow ș.a., 2019; Nestola, 2022; Srbinovska ș.a., 2022).

Toxicitatea uleiurilor minerale este studiată de aproximativ trei decenii, iar subiectul toxicității nu a fost închis până în prezent. Incertitudinea privind MOH este indusă în general de profilul toxicologic variabil al hidrocarburilor saturate și aromatice din uleiuri minerale (MOSH; MOAH), întrucât acestea sunt substanțe extrem de complexe, iar fiecare substanță de ulei mineral poate fi compusă din mai mulți constituenți diferiți, cu structuri de hidrocarburi și numere de atomi de carbon variate (Mertens ș.a., 2021). Pericolul uleiurilor minerale pentru sănătatea animală și umană depinde astfel de distribuția greutatei moleculare a hidrocarburilor și de prezența MOAH, considerate cele mai toxice dintre fracțiuni.

Ca urmare a caracteristicilor diferite, evaluarea toxicologică asociată expunerii la contaminarea cu MOH debutează cu evaluarea toxicologică pentru MOSH, recunoscute în numeroase cercetări în special pentru capacitatea ridicată de acumulare în țesuturile umane; referințe relevante cu privire la potențialul bioacumulativ și efectele histopatologice asociate ale MOSH pentru animale și oameni au fost menționate de EFSA (2012); Grob (2018); Pirow ș.a. (2019); Li ș.a. (2020).

Punctul de plecare în studiul MOSH a fost, în majoritatea cazurilor, avizul publicat de EFSA (2012) privind hidrocarburile din uleiuri minerale din alimente, efectele bioacumulative ale MOSH, împreună cu cele potențial cancerigene ale MOAH și PAH fiind incluse în lista inițială de referințe, parte a avizului științific al EFSA. Efectele asociate cu acumularea de MOSH în țesuturile animale și umane și inițierea în evaluarea riscurilor a fost declanșată de detectarea unor loturi de ulei de floarea soarelui importate în Uniunea Europeană, din Ucraina, cu un grad de contaminare cu MOH de peste 1000 mg/kg, moment în care s-a stabilit o limită legală unică pentru conținutul de uleiuri minerale, atât din ambalaje, cât și din alimente, respectiv 50 mg/kg, limită care a fost însă retrasă ulterior, în anul 2014, conform Regulamentului nr. 853 al Comisiei (CE) (EC, 2014).

În privința acumulării de MOSH în țesuturile animalelor, după ingerare, MOSH urmează calea absorbției lipidelor ingerate (Pirow ș.a., 2019), date concrete privind absorbția MOSH în tractul gastrointestinal fiind rare (Bevan ș.a., 2020).

Studii care demonstrează apariția diverselor patologii la animale după administrarea de hrană ce conține uleiuri minerale au fost efectuate cu ani în urmă (Nash ș.a., 1996; Shoda ș.a., 1997), când s-a demonstrat că dependent de uleiul mineral și de vâscozitatea acestuia, o cantitate de 0,01–20 mg/kg greutate corporală MOSH poate provoca reacții nedorite pentru rozătoarele analizate, precum formarea

de granuloame în ficat și inflamații ale ganglionilor limfatici mezenterici. Aceleași studii au evidențiat că histiocitoza cu proliferare focală, microgranuloamele sau creșterea greutateii ficatului fac parte totuși din categoria celor mai reduse efecte observate la animale în timpul testelor toxicologice pe uleiuri minerale, iar riscurile pot fi mai grave de atât.

Acumularea și toxicitatea MOSH la animale a fost studiată mai recent, Cravedi ș.a. (2017); Barp ș.a. (2017a); Barp ș.a. (2017b), publicând rezultate comparabile cu datele de biomonitorizare umană existente în studii anterioare (Barp ș.a., 2014; Bierdermann ș.a., 2015). Autorii menționați (Cravedi ș.a., 2017; Barp ș.a., 2017a; Barp ș.a., 2017b) au investigat efectul dozei MOSH, respectiv al greutateii moleculare, al structurii și vâscozității lor, în acumularea în țesuturile unor rozătoare, în condițiile administrării de hrană contaminată timp de 120 de zile. Prin experiențele realizate s-a raportat o amploare a acumulării MOSH mai mare în ficat, comparativ cu țesutul adipos și splină, în timp ce în cazul investigației similare, realizate anterior de Barp ș.a. (2014); Bierdermann ș.a. (2015), pentru țesuturile umane, distribuția MOSH a fost similară în țesutul adipos, ficat și splină.

Distribuția diferită a MOSH în țesuturile animale și umane arată astfel că acest comportament este datorat, în cea mai mare măsură, diferențelor de expunere la contaminare dintre oameni și animale (expunere cronică vs. expunere subcronică). Pe baza rezultatelor obținute, autorii care au studiat efectele contaminării cu MOSH în țesuturile animale și umane au stabilit de asemenea că după ce expunerea la contaminare s-a redus, o scădere mare a concentrației de MOSH a fost observată în ficat, nu aceleași lucruri fiind evidențiate la nivelul țesutului adipos.

Alte studii privind evaluarea efectelor negative ale MOSH, efectuate pe rozătoare cărora li s-au administrat diferite cantități de MOSH de calitate alimentară evidențiază, în mod similar, că expunerea orală la contaminare a fost asociată cu bioacumulări tisulare, modificări inflamatorii ale ficatului sau importante modificări hematologice (EFSA, 2012; Bevan ș.a., 2020), de aceste consecințe negative fiind incriminate, în mod special, subfracțiunile carbonice cuprinse între $n-C_{16}$ și $n-C_{35}$.

În continuarea identificării evaluării efectelor MOSH asupra organismului animal și a identificării modelului adecvat pentru oameni, Nygaard ș.a. (2019) au investigat efectele toxice ale MOSH în relație cu modificările hepatice și au evidențiat că principalele afecțiuni induse sunt legate în special de izoalcani și cicloalcanii substituiți, astfel încât s-a stabilit că modificările negative generate pot fi asociate preponderent cu n -alcanii $> n-C_{25}$.

Conform Li ș.a. (2020), studiile de autopsie și biopsie au demonstrat, de asemenea, prezența MOSH în țesuturile umane, acumularea fiind mai evidentă la nivelul ganglionilor limfatici mezenterici, sugerând astfel o expunere la contaminare pe cale orală. Consecințe importante ale MOSH au fost evidențiate, de asemenea, asupra ficatului, însă date justificative în acest sens nu au fost prezentate, astfel încât aceste detalii rămân însă la nivel speculativ.

În contextul acumulării MOH în țesuturile umane, Noti ș.a. (2003) au studiat laptele uman unde au detectat concentrații de MOH de la 95 mg/kg până la 1300 mg/kg. Concentrații cuprinse între 15–360 mg/kg grăsime au fost, de asemenea, identificate în țesuturile adipoase ale femeilor, analizate în timpul nașterii, compoziția MOH fiind identică atât la nivelul țesuturilor adipoase, cât și în mostrele de lapte analizate.

Deși s-a considerat că metabolismul rozătoarelor privind comportamentul MOSH poate fi similar cu metabolismul uman, pe baza dovezilor disponibile la momentul studiului, s-a concluzionat că nu există date suficiente pentru a confirma sau respinge relevanța pentru oameni a leziunilor hepatice observate la șobolani. Datele toxicologice obținute din testările pe animale pentru evaluarea siguranței umane rămân așadar incerte întrucât, atât experiențele pe animale, cât și greutatea animalelor, sunt mult mai mici decât cele ale corpului uman.

O proporție considerabilă de MOSH ce contribuie la expunerea umană la contaminare poate fi reprezentată de MOSH predigerate (Grob, 2018), respectiv MOSH ce provin din poluarea mediului și care pătrund în organismul uman printr-o succesiune de etape. Organismele vegetale pot fi contaminate pe calea aerului, prin mecanisme de oxidare parțială a MOH, deși marea majoritatea par să fie absorbite de plante prin rădăcini, contaminarea având astfel loc prin intermediul reziduurilor eliberate de microorganismele din sol. Animalele consumă materialul vegetal contaminat și digeră MOH, concentrându-i în țesuturile umane pe cei predispuși la acumulare; prin intermediul producțiilor animale și sub incidența unei compoziții ușor modificate, MOSH predigerate pot ajunge astfel în organismul uman.

Evaluarea potențialelor riscuri privind MOAH are în vedere clarificarea efectelor sale cancerigene și genotoxice, principalele aspecte toxicologice fiind evidențiate în cercetările de profil (EFSA, 2012; Grob, 2018; Hoccheher ș.a., 2021).

Similar MOSH, cele mai relevante informații toxicologice privind MOAH au fost prevăzute de EFSA (2012), când s-au raportat primele riscuri potențiale ale MOH în alimente. În mod particular, potențialul mutagen și cancerigen descris de EFSA (2012) în avizul elaborat a fost asociat preponderent cu grupările MOAH policiclice, respectiv cu trei până la șapte inele aromatice sau cu un grad limitat de alchilare (Mackerer ș.a., 2003; EFSA, 2012; Carrillo ș.a., 2019).

Conform Grob (2018), faptul că pentru MOAH nu există date suficiente referitoare la carcinogenitate privind relația doză–răspuns, nu permite stabilirea unor efecte negative concrete, mai ales că diferențele date de structura chimică a MOAH pot imprima caractere genotoxice diverse. Dacă potențialul cancerigen este mai popularizat în rândul MOAH policiclice, unele MOAH puternic alchilate pot acționa ca promotori ai tumorilor (Rundhaug & Fischer, 2010; Carrillo ș.a., 2019), în timp ce unele MOAH simple, așa cum este exemplul naftalinei, pot fi cancerigene prin mecanisme non-genotoxice, implicând citotoxicitate și regenerare proliferativă (IARC, 2002; Grob, 2018).

În ceea ce privește țesuturile animale și umane, datele disponibile privind comportamentul MOAH după ingestie sunt limitate (Bevan ș.a., 2020), fiind cunoscut însă faptul că, după absorbție, datorită caracterului oxidativ, hidrocarburile aromatice sunt metabolizate de Cytochrome P450, ceea ce explică parțial imposibilitatea acumulării lor în corp. Barp ș.a. (2014) au susținut aceste idei, raportând că în investigațiile elaborate pe țesuturi umane nici o grupare MOAH nu a fost detectată.

Detalii despre profilul toxicologic al MOAH au fost raportate pe parcursul anilor în diverse alte revizuri elaborate de Grob (2018); Pirow ș.a. (2019); Sui ș.a. (2020); Buist ș.a. (2020); Nestola (2022).

Diferite produse alimentare au fost analizate privind conținutul de MOSH și MOAH, însă în ultimii ani, ca urmare a preocupărilor privind prezența substanțelor genotoxice și cancerigene, numeroase studii și-au îndreptat atenția îndeosebi către produsele din lapte pentru copii (formule de lapte). Evaluări recente privind impactul MOAH asupra sănătății au fost efectuate de EFSA (2019), pentru estimarea contaminării formulelor pentru sugari și Zhu ș.a. (2019), pentru evaluarea riscului de expunere alimentară la MOAH pentru copii. Expunerea alimentară la MOAH a mai fost analizată anterior în Olanda (Van-de-Ven ș.a., 2018) și Belgia (Van-Heyst ș.a., 2020).

Odată cu investigarea primelor semne de toxicitate ale MOH, expunerea umană la contaminare a devenit un subiect de interes. Încă din 2002, pe baza experimentelor cronice efectuate pe rozătoare și în raport cu vâscozitatea și greutatea moleculară a compușilor, Comitetul FAO/OMS a introdus necesitatea stabilirii unei doze zilnice acceptabile (DZA) pentru uleiurile minerale (FAO/WHO, 2002).

În 2009, EFSA stabilește pentru uleiurile minerale cu vâscozitate mare o doză zilnică acceptabilă de 12 mg/kg greutate corporală, fără efecte adverse observate, aceleași limite fiind susținute în 2011, de către Institutul Federal German pentru Evaluarea Riscurilor, după efectuarea de studii toxicologice pe șobolani.

La nivelul anului 2012, EFSA a introdus punctul de referință (PR) ca indicator de calcul pentru marja de expunere umană la contaminare (ME), respectiv cantitatea de ulei mineral la care consumatorii sunt expuși ca urmare a aportului alimentar și care se calculează urmând formula (1), prezentată de Li ș.a. (2020):

$$ME = RP/EXP \quad (1)$$

ME = marja de expunere;

PR = punct de referință;

Exp = expunerea zilnică la MOH/kg greutate corporală.

Pentru punctul de referință au fost individualizate valori diferite, de la expunerea de bază, unde valoarea a fost limitată la 19 mg/kg greutate corporală/zi până la o expunere ridicată, valoarea de 45 mg/kg greutate corporală/zi fiind valoarea cu cele mai mici riscuri observată.

Transferul MOSH și MOAH din țesuturile animale și excreția în alimente poate fi, de asemenea, cuantificată, la baza calculelor fiind regăsite două raționamente care se axează fie pe rata de transfer (TR), atunci când se discută despre excreția contaminanților în producțiile animalelor sau ca factor de bioconcentrație (BCF) atunci când transferul este cuantificat prin gradul de acumulare al contaminanților în țesuturile corpului, ficat, țesut muscular sau grăsime corporală (Amutova ș.a., 2021).

Conform Richter & McLachlan (2001), rata de transfer definește raportul dintre cantitatea de poluant ingerat și cantitatea de poluant excretat și poate fi calculată conform formulei (2):

$$TR \text{ product} = \frac{\text{Poluant/grăsime produs} * \text{Excreția zilnică de grăsime}}{\text{Poluant/hrană} * \text{Aportul alimentar}} \quad (2)$$

Poluant/grăsime produs = concentrația de poluant raportată la grăsimea produsului alimentar analizat (pg/g);
Poluant/hrană = concentrația de poluant raportată la substanța uscată a produsului analizat (pg/g).

Amploarea acumulării poluanților în organismul animal poate fi exprimată prin intermediul factorului de bioconcentrație (BCF), conform formulei (3):

$$BCF = \frac{\text{Poluant/țesut}}{\text{Poluant/consumat}} \quad (3)$$

Poluant/țesut = concentrația poluantului în țesutul adipos (pg/g grăsime);
Poluant/consumat = concentrația poluantului în hrana consumată (pg/g substanță uscată)

Din anul 2018, expunerea alimentară la MOH pentru populația din Europa este de la 0,03–0,3 mg/kg greutate corporală/zi, însă monitorizarea MOH din alimente sau din materialele de contact a devenit esențială (EC, 2018). Constatările studiilor elaborate până în prezent și absența informațiilor privind MOH cu potențial toxicologic ridicat au condus către aprofundarea acestor probleme îngrijorătoare, însă eforturi consistente sunt necesare până la definirea unor limite de toxicitate concrete.

2.4 Posibilități de evaluare a prezenței hidrocarburilor din uleiuri minerale în producția vegetală și producția animală

Evaluarea prezenței hidrocarburilor din uleiuri minerale a fost dintotdeauna o analiză solicitantă prin prisma complexității structurale a constituenților minerali și a selectivității insuficiente pentru separarea hidrocarburilor de altă origine decât cea minerală (Biedermann ș.a., 2020).

Mai multe metode au fost dezvoltate și raportate pentru izolarea și analiza MOH din diferite matrici vegetale și animale (Van Heyst ș.a., 2018; Bratinova & Hoekstra, 2019). Pe parcursul timpului, avantajele și neajunsurile fiecărei metode utilizate pentru detecția MOH au indicat orientativ care ar putea fi cerințele pentru definirea unei metode cu beneficii și performanțe maxim posibile, astfel încât,

diferiți autori și-au concentrat eforturile pentru optimizarea diferitelor metode analitice existente (Srbinovska ș.a., 2022; Moret ș.a., 2019; Bauwens ș.a., 2022; Menegoz Ursol ș.a., 2022; Nestola, 2022).

În concordanță cu orientările recente ale Centrului Comun de Cercetare (JRC) privind eșantionarea și analiza MOH (Bratinova & Hoekstra, 2019), autori precum Nestola, (2022); Srbinovska ș.a. (2022); Menegoz Ursol ș.a. (2022); (2023) menționează în lucrările lor că metoda oficială actuală pentru determinarea MOSH/MOAH și a hidrocarburilor sintetice aferente (POSH/PAO), este standardul EN 16995:2017 sau metoda de separare dezvoltată de Biedermann ș.a. (2009) și îmbunătățită de Biedermann & Grob (2012), bazată pe cromatografie lichidă de înaltă performanță on-line (HPLC)–cromatografie gazoasă (GC), cuplată la detector de ionizare în flacără (FID).

Pentru analiza LC-GC și determinarea MOSH și MOAH, extractele de probă se obțin din matricea probei, folosind un solvent organic, în extractul obținut fiind adăugat, anterior analizei propriu-zise, standardarele interne și de verificare (Bratinova & Hoekstra, 2019).

Principiul de lucru al analizei LC-GC (fig. 2.6) presupune injectarea extractelor de probă în cadrul sistemului, unde MOSH/MOAH sunt purificate și separate printr-o coloană lichid-cromatografică, urmată de concentrarea lor de interfața LC-GC și analiza simultană GC-FID, respectiv prin cromatografie gazoasă cu două canale și detecție cu ionizare în flacără (Biedermann ș.a., 2012a; 2013).

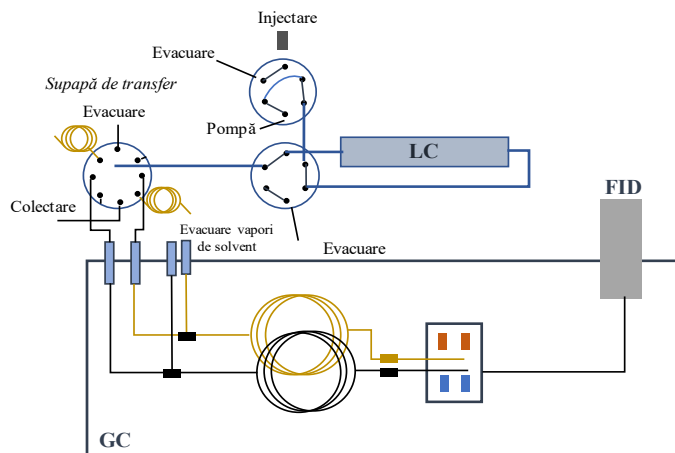


Figura 2.6 Principiul de lucru simplificat al sistemului LC-GC-FID

Figure 2.6 Simplified working principle of the LC-GC-FID system

(adaptare și prelucrare originală după Bauwens ș.a. 2022; Apedo & Snow, 2019)

Avantajele deosebite ale metodei on-line LC-GC-FID sunt date de faptul că este o tehnică cuplată, fiind așadar foarte reproductibilă, asigurând randament ridicat în prelucrarea zilnică a probelor (Biedermann ș.a., 2017; Van Heyst ș.a., 2018), concretizată prin eficiență ridicată de separare, debit ridicat de prelucrare a probelor și

consum redus de solvenți, toate acestea în condiții de manipulare minimă a probelor (Bratinova & Hoekstra, 2019). Atât Van Heyst ș.a. (2018), cât și în Ghidul JRC publicat de Bratinova & Hoekstra (2019) se menționează despre avantajele cuplării GC on-line pentru integrarea pregătirii probei în analiza finală și pentru automatizarea unor proceduri suficient de complexe. Un aspect la fel de important menționat de aceleași surse pune în prim-plan avantajul utilizării unui sistem închis de analiză, ce face ca probele să fie mai puțin susceptibile la contaminare în timpul pregătirii.

Pe lângă toate avantajele ce definesc metoda LC-GC-FID, nu trebuie neglijat însă faptul că, dincolo de toate, evaluarea prezenței MOSH și MOAH în diferite matrici implică proceduri complexe, instrumente dedicate și operatori calificați, cerințe ce nu sunt întotdeauna disponibile în mod obișnuit în laboratoarele analitice (Van Heyst ș.a., 2018; Zhang ș.a., 2019).

Alternativ, metoda LC-GC-FID on-line poate fi înlocuită de separarea HPLC off-line a MOSH/MOAH, automatizat sau manual, urmată de GC-FID (Van Heyst ș.a., 2018; Bratinova & Hoekstra, 2019). Spre deosebire de tehnica on-line, metoda off-line presupune înlocuirea coloanei LC cu extracția MOSH/MOAH în fază solidă (*SPE-eng. Solid Phase Extraction*), prin intermediul unui cartuș de sticlă a cărui sorbent are capacitatea de a reține substanțele interferente și de a separa eficient compușii, urmată de re-concentrarea probelor și analiza GC-FID (Van Heyst ș.a., 2018).

Metoda off-line GC-FID prezintă însă dezavantajul că implică o durată prea mare de execuție, alături de eforturi consistente de prevenire a contaminării probelor din mediu (Bratinova & Hoekstra, 2019). Cu toate acestea, dezavantajele nu i-au împiedicat pe Moret ș.a. (2011) să optimizeze o astfel de metodă, în aceeași măsură în care s-a considerat important, chiar și în aceste condiții, să se creeze un kit de dezvoltare a metodei SPE-GC-FID (Van Heyst ș.a., 2018).

Mai mult de atât, unele neajunsuri ale metodei pot fi soluționate fie prin injecția unui volum mai mare de probă, atât pentru atingerea unei sensibilități mai ridicate, dar și pentru a reduce pierderile prin volatilizare. În literatura de profil, sunt prezente studii complexe care au utilizat separarea off-line a MOSH/MOAH prin SPE în diferite matrici, de la alimente (Fiselier ș.a., 2013; Moret ș.a., 2012; Pan ș.a., 2021; Purcaro ș.a., 2013; Spack ș.a., 2017), produse cosmetice (Niederer ș.a., 2016) sau ambalaje (Wagner & Oellig, 2019).

Având în vedere complexitatea matricilor vegetale și animale, o caracterizare suplimentară a fracțiilor MOSH/MOAH poate fi realizată prin tehnici analitice suplimentare, așa cum sunt gaz-cromatografia cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS), LC-GC-FID/MS sau cromatografia integrală gazoasă bidimensională cuplată la spectrometrul de masă, cu detecție cu ionizare în flacără GCxGC-FID/MS, însă necesită implicarea unui analist cu o vastă experiență (Menegoz Ursol ș.a., 2023). Fiabilitatea metodei GC-MS a fost evidențiată de Populin ș.a. (2004) pentru obținerea unor informații calitative privind contaminarea de origine petrogenă și, ulterior, de către Jaen ș.a. (2022), pentru identificarea compușilor aromatici.

În ciuda eforturilor de optimizare a diferitelor metode de evaluare a prezenței MOH în matricile vegetale și animale, specialiștii s-au raportat întotdeauna la faptul că structura fracțiunilor MOSH și MOAH este alcătuită din amestecuri de compuși, iar unul dintre neajunsurile oricărei dintre metodele aplicate până în prezent face referire la riscul de supraestimare a rezultatelor, ca urmare a interferențelor induse de compușii de altă natură decât cea minerală (Hidalgo Ruiz ș.a., 2021).

În timpul separării uleiurilor minerale, n-alkanii cu numere impare ($n-C_{21}$ la $n-C_{35}$), respectiv o serie de hidrocarburi liniare de natură biogenă, diferiți de MOSH, dar cu comportament cromatografic similar, pot supraîncărca puternic fracția MOSH datorită abundenței lor naturale, iar suprapunerea semnalelor lor cromatografice cu cele ale uleiurilor minerale pot duce la perturbarea rezultatelor de cuantificare obținute (Srbínovska ș.a., 2020; Nestola, 2022). În schimb, pentru analiza MOAH, principalele interferențe care pot perturba cromatogramele probelor ce conțin uleiuri minerale sunt olefinele de origine naturală, derivate din matrice, ce acoperă semnalele cromatografice de interes și necesită îndepărtate înainte de determinarea cromatografică. După cum raportează Bierdermann ș.a. (2020), Menegoz Ursol ș.a. (2022), olefinele dominante și care implică o atenție particulară sunt scualenele și carotenii, dar și izomerii ai acestora, rezultați din rafinarea uleiurilor comestibile și sterenele din sterolii dehidroxilați în timpul rafinării; exemple de cromatograme LC-GC-FID ale unei selecții de probe cu hidrocarburi liniare endogene care ar putea perturba integrarea și cuantificarea MOSH/MOAH pot fi regăsite la secțiunea 2.1.

Reducerea sau îndepărtarea interferențelor potențiale (olefine, n-alkanii) reprezintă o condiție prealabilă obligatorie pentru obținerea unor cromatograme interpretabile și a unui nivel ridicat de sensibilitate a metodei (Fiselier ș.a. 2009; European Committee for Standardization, 2017; Nestola & Schmidt, 2017; Bierdermann ș.a., 2020). Din aceste motive, protocolul de pregătire a probei devine un pas critic pentru acuratețea rezultatelor obținute, impunându-se totodată asigurarea unui randament adecvat de extracție și purificare, dar și limitarea la minim a contaminării procedurale (Bauwens ș.a., 2022).

În raport cu metoda dezvoltată de Bierdermann ș.a. (2009), protocolul analitic este precedat de o pregătire adecvată a probei prin aplicarea a diferite tehnici suplimentare de curățare (Grob, 2018; Bratinova & Hoekstra, 2019; Moret ș.a., 2019; Sdrigotti ș.a., 2021; Srbínovska ș.a., 2022), saponificarea, epoxidarea sau curățarea pe coloană de oxid de aluminiu ($AlOx$), dovedindu-se a fi printre cele mai eficiente instrumente în ceea ce privește randamentul, eficiența și consumul de solvenți (Moret ș.a., 2016; Srbínovska ș.a., 2021).

Saponificarea este o metodă de extracție aplicabilă cu precădere probelor bogate în grăsimi, fiind avantajoasă ca urmare a faptului că se pretează pe toate tipurile de matrici, fie că sunt uscate sau umede, fără să implice anterior o etapă de extracție, eliminând eficient grăsimile, însă cu un consum suficient de mare de solvenți și o durată considerabilă de execuție (Bratinova & Hoekstra, 2019). O alternativă

convenabilă și eficientă pentru extracția probelor pentru determinarea uleiurilor minerale a fost raportată de Moret ș.a. (2019); Menegoz Ursol ș.a. (2022); Srbinovska ș.a. (2022), respectiv saponificarea asistată cu microunde (MAS), ce a fost aplicată anterior pentru alimente pe bază de cereale (Moret ș.a., 2016) sau produse din pește (Srbinovska ș.a., 2021) și care permite procesarea unui număr important de probe simultan, cu un consum minim de solvenți, fără etape de post-tratare a probei.

Pentru eliminarea componentelor interferente, abordări anterioare propuneau trecerea probelor prin coloane de sticlă echipate cu silice sau alumina pentru reținerea grăsimii (Zurfluh ș.a., 2014), însă cu aceleași dezavantaje privind consumul mare de timp, etape laborioase de execuție, volume mari de solvenți utilizați și risc ridicat de contaminare procedurală (Menegoz Ursol ș.a., 2022).

Purificarea pe coloană de oxid de aluminiu implică o reacție prin care n-alkanii cu lanț lung, în special cerurile ce conțin cantități $>n-C_{25}$ sunt puternic reținute pe sorbentul de oxid de aluminiu, facilitând astfel eliminarea semnalelor interferente din cadrul fracțiunii MOAH (Bratinova & Hoekstra, 2019; Nestola, 2022).

În vederea analizei și cuantificării fracțiunii MOAH, pentru îndepărtarea olefinelor, cea mai potrivită procedură de purificare și îmbunătățire a selectivității disponibilă este epoxidarea (Biedermann ș.a., 2009; Nestola & Schmidt, 2017; Hidalgo Ruiz ș.a., 2021), o reacție în măsură să oxideze olefinele prin creșterea polarității lor și reținerea lor în coloanele cromatografice astfel încât să nu mai elueze și să nu mai interfereze cu semnalele MOAH.

Deși utilizată pentru eliminarea interferențelor pentru MOAH, conform Bratinova & Hoekstra (2019), epoxidarea poate elimina, de asemenea, anumite olefine care co-eluează cu fracția MOSH, astfel încât poate fi aplicată cu bune rezultate și ca etapă de purificare a MOSH.

Potrivit Menegoz Ursol ș.a. (2022), criticitatea protocolului privind epoxidarea se referă la incertitudinile induse de condițiile de reacție, ce pot determina atât supraestimarea, cât și subestimarea contaminării. Chiar dacă în unele cazuri nu este complet cantitativă și eficiența este dependentă de probă, conform Nestola & Schmidt (2017); Biedermann ș.a. (2020), având în vedere avantajele practice, epoxidarea poate fi considerată indicată pentru îndepărtarea olefinelor.

În vederea standardizării procedurilor de lucru și a limitării variabilității rezultatelor, Bratinova & Hoekstra (2019) au cuprins în Ghidul JRC un arbore decizional pentru a decide dacă este necesară o etapă suplimentară de purificare pentru eliminarea interferențelor din fracția MOSH/MOAH și obținerea sensibilității, dar și pentru a facilita alegerea metodelor auxiliare selectate (fig. 2.7).

Arborele de decizie propus reprezintă indicatorul esențial al protocolului de lucru pentru analiza MOSH/MOAH, fiecare etapă fiind însoțită de un exemplu de cromatogramă înainte și după reacție, astfel încât relevanța reacției și diferențele să fie bine evidențiate, iar metodele auxiliare să fie optim selectate; plauzibilitatea interferențelor și rezultatele obținute pot fi verificate astfel în Anexa 2 din ghidul

JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019). Aspecte cromatografice privind importanța metodelor auxiliare de eliminare a interferențelor pentru evidențierea relevanței etapelor de purificare au fost publicate și prezentate, în acord cu mențiunile JRC, de către Biedermann ș.a. (2020) sau Menegoz Ursol (2022).

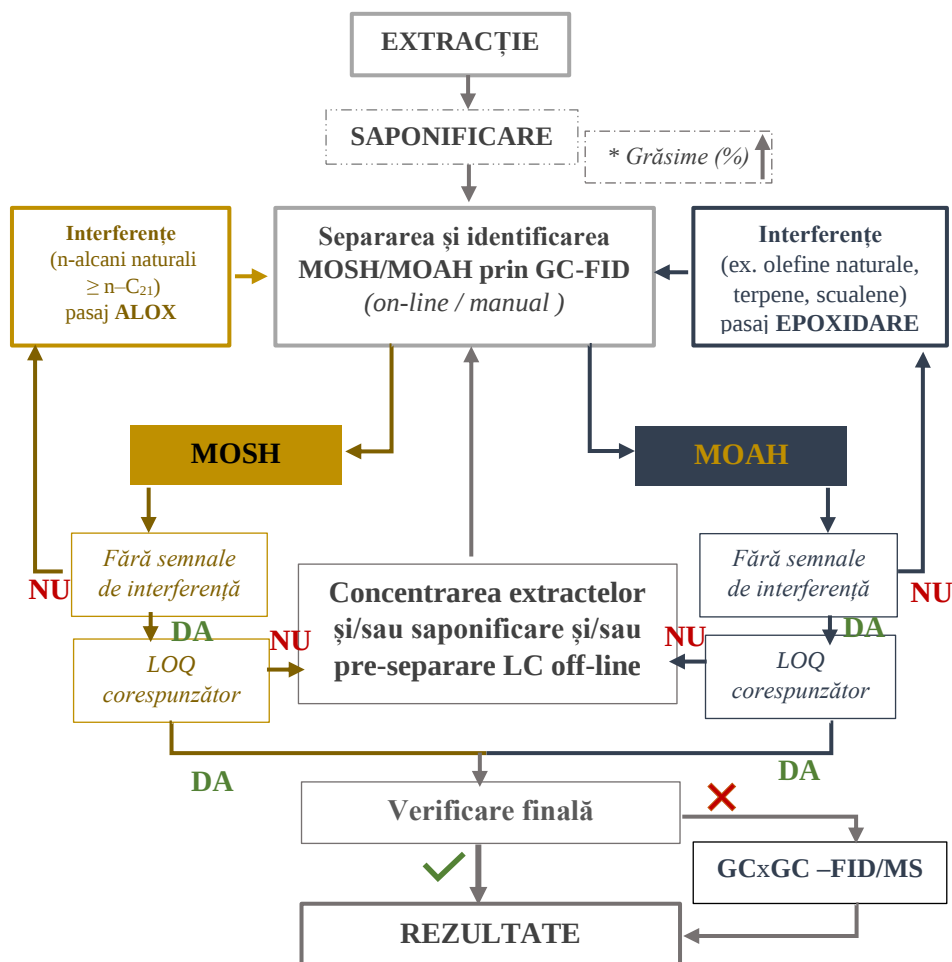


Figura 2.7 Arborele de decizie propus de JRC (2019) privind protocolul de lucru și metodele auxiliare de analiză a MOSH/MOAH

Figure 2.7 Decision tree on MOSH/MOAH working protocol and ancillary methods of analysis proposed by JRC (2019)

(prelucrare după Bratinova & Hoekstra, 2019)

Indiferent de metoda de purificare aplicată, suspectarea oricărei interferențe ulterioare presupune verificarea fracțiilor MOSH și MOAH prin metode analitice suplimentare (Bratinova & Hoekstra, 2019). Comparățiile între laboratoare în ultimii ani au arătat că precizia LC-GC-FID este adesea insuficientă, iar rezultate fals-pozitive, care pot devia chiar și cu peste 50 %, au fost evidențiate (Lommatzsch ș.a., 2016; Biedermann ș.a., 2017; Lachenmeier ș.a. 2017; Spack ș.a. 2017; Weber ș.a., 2018).

Chiar dacă metoda LC-GC-FID este o metodă standardizată, care urmărește în ansamblul său un flux optim de lucru, aceasta este însă prea complexă și induce o predispoziție ridicată la erori pentru personalul de laborator fără experiență.

Mai multe metode de confirmare, precum cromatografia gazoasă cuplată la spectrometria de masă (GC-MS), cromatografia integrală gazoasă bidimensională cuplată la spectrometrul de masă, cu analizor cu timp de zbor (GC×GC-TOF/MS) și rezonanță magnetică nucleară (RMN) au fost propuse în ultimii ani pentru a soluționa aceste neajunsuri.

Dintre metodele aflate în discuție, Menegoz Ursol ș.a. (2023) au descris cromatografia integrală gazoasă bidimensională cuplată la spectrometrul de masă, cu detecție cu ionizare în flacără (GC × GC-FID/MS), ca fiind unul dintre cele mai utile instrumente de caracterizare în profunzime a profilurilor de hidrocarburi și de identificare a surselor de contaminare (Biedermann & Grob, 2009a, 2015, 2019); cele menționate pot fi dovedite prin faptul că prin GC×GC se poate mări rezoluția cromatografică, oferind o caracterizare detaliată prin exploatarea a două coloane analitice diferite, în mod independent în cadrul unei analize, dar și prin intermediul profilurilor 2D, informative și foarte structurate, care permit amprentarea vizuală și identificarea ușoară și eficientă a surselor de contaminare.

În procesul de colaborare al diferitelor autorități, pentru determinarea MOSH/MOAH, în 2018, ITERG (*eng. French Institut for Fats, Oils and Related Products*) a propus o metodă, testată în alte 16 laboratoare, pe probe de hrană pentru animale (premixuri, făină de soia, semințe de floarea soarelui, nutrețuri combinate pentru pui și porci), care s-a dovedit a fi precisă și adecvată pentru o detecție sensibilă a MOSH/MOAH din nutrețuri, metoda validată fiind publicată recent, respectiv EN 17517:2021 Hrană pentru animale. Metode eșantionare și analiză–Determinarea MOSH/MOAH prin LC-GC-FID on-line (Bauwens ș.a., 2022).

Pentru cuantificarea MOH, interpretarea corectă a cromatogramelor a devenit o condiție esențială. Prin analiza LC-GC-FID se obține un semnal cromatografic al cărui arie, atribuită MOSH/MOAH, este calculată prin integrarea cromatogramei care acoperă intervalul de la $\geq n-C_{10}$ la $\leq n-C_{50}$, inclusiv linia de bază martor, după eliminarea cât mai complet posibil a coloanelor aparținând hidrocarburilor endogene liniare (Bratinova & Hoekstra, 2019); ariile fracțiilor MOSH și MOAH vor fi calculate după următoarea formulă.

$$W_{\text{MOSH/MOAH}} = \frac{A_i \times m_{\text{IS}} \times 100}{A_{\text{IS}} \times m} \quad (4)$$

A_i = zona de semnal atribuită MOSH/MOAH (total/ fracție n-C) după eliminarea interferențelor și a semnalelor POH/POA;

A_{IS} = aria standardului intern CyCy (MOSH) sau 2-MN (MOAH);

m_{IS} = masa standardului intern (IS) adăugată în probă (mg);

m = masa probei de testat (g).

În privința standardelor interne (IS) pentru MOSH, CyCy și n-C₁₃ sunt două dintre standarde care creează coloane tipice, ușor de recunoscut și permit verificarea separării cromatografice pentru fiecare analiză. Pentru MOAH, standardele interne pot fi selectate în mod analog, dintre cele propuse, 1-metilnaftalenă (1-MN), 2-metilnaftalenă (2-MN) și n-pentilbenzen (5B) dovedindu-se potrivite pentru a monitoriza uleiurile minerale, în timp ce 1,3,5-tri-terț-butil-benzen (TBB) și perilena (Per) indică începutul și sfârșitul fracțiunii MOAH (Bratinova & Hoekstra, 2019).

Pentru a dovedi integritatea rezultatelor obținute, procedura analitică trebuie supusă unei validări, conform unor criterii de performanță prestabilite, îndrumări importante privind validarea metodelor fiind cuprinse în Ghidul de laborator Eurachem, pentru validarea metodelor, elaborat de Magnusson & Ornemark (2014).

Tabelul 2.2 prezintă criteriile de performanță pentru validarea rezultatelor obținute, ce includ limitele maxime admisibile de cuantificare pentru fiecare fracție n-C (LOQ-max), LOQ țintă pentru fiecare fracție n-C (LOQ-t), intervale acceptabile pentru recuperarea uleiului mineral din probe (R_{rec}, %) și precizia intermediară pentru diferite tipuri de probe (%).

Tabelul 2.2/ Table 2.2

Criteriile de performanță pentru analiza MOSH și MOAH
Performance requirements for MOSH and MOAH analysis
 (după Bratinova & Hoekstra, 2019)

Categorii	LOQ-max	LOQ-t	R _{rec}	Precizie intermediară
	mg/kg			%
Conținut uscat, scăzut în grăsimi (< 4 %) ex. cereale și produse derivate	0,5	0,1	80 – 110	15
Conținut mai mare de grăsimi (> 4 %) ex. produse din carne, pește	1,0	0,2	70 – 120	20
Grăsimi animale / Uleiuri vegetale	2,0	0,5	70 – 120	20
Hârtie și carton	10,0	5,0	80 – 110	10

Dintre criteriile de performanță, LOQ este puternic influențată de conținutul în grăsime al probei ca urmare a limitării capacității coloanei LC de a reține lipidele, iar din punct de vedere procedural, LOQ-t este limita ce trebuie atinsă.

2.5 Aspecte legislative privind prezența hidrocarburilor din uleiuri minerale în hrana pentru animale și în producțiile de origine animală

Prezența hidrocarburilor din uleiuri minerale în mediu a fost confirmată de peste trei decenii (Grob ș.a., 1991), însă o perioadă considerabilă de timp comportarea lor nu a impus o atenție particulară.

Începând cu anul 2008, ca urmare a notificării unui grad ridicat de contaminare cu MOH a unor alimente și materiale de contact, schimbări importante au avut loc în ceea ce privește percepția hidrocarburilor din uleiuri minerale. Momentul în care loturi de ulei de floarea soarelui exportat din Ucraina către țări din

Uniunea Europeană au fost detectate ca fiind contaminate cu MOH, a fost momentul în care autoritățile au înțeles necesitatea unor limite maxime de contaminare, stabilite la nivelul acelei perioade la 50 mg/kg de produs.

Ca răspuns la situația cu care s-au confruntat în anii anteriori, în 2012, EFSA a publicat un aviz referitor la prezența MOH în alimente prin care a conturat urgența de a investiga apariția și manifestările acestei clase de contaminanți, mai ales în condițiile unor date concludente aproape înfime pentru evaluarea riscurilor (EC, 2017). Publicarea acestui aviz a făcut ca anul 2012 să devină un an de referință pentru studiul MOH, fiind momentul în care subiectul contaminării cu MOSH și MOAH a început să fie abordat la nivel legislativ din numeroase perspective, fiind luate în calcul, într-un mod rațional, și efectele toxicologice potențiale ale acestora.

Până în 2012, Germania a fost unul din statele cele mai preocupate privind contaminarea cu MOH, propuneri legislative și opinii privind MOSH și MOAH fiind prezentate în 2011 de către Ministerul Federal German al Alimentației și Agriculturii (BMEL) și Institutul Federal German pentru Evaluarea Riscurilor (BfR).

Propuneri legislative și opinii specializate referitoare la nivelurile de referință în decursul anilor au fost prezentate în tabelul 2.3. Parte din propunerile legislative prezentate nu au intrat niciodată oficial în vigoare, în timp ce proiectele propuse mai recent, precum Ghidul JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019) sau proiectele elaborate la nivelul EC (2022), respectiv EFSA (2023), constituie chiar și în prezent modele de referință privind limitele de siguranță pentru MOSH și MOAH.

Din anul 2011 până în anul 2017, Ministerului Federal German al Alimentației și Agriculturii (BMEL) a mai elaborat încă trei ordonanțe legislative prin care a propus diferite limite maxime recomandate pentru MOSH și MOAH din produsele alimentare. La Recomandarea Comisiei 84/2017, Uniunea Europeană (UE) a solicitat colectarea de date suplimentare, concentrându-se în special pe cele mai toxice fracțiuni ale MOAH.

Așa cum este perceput în literatura de profil, probabil demersul cel mai important privind stabilirea unor criterii legislative privind MOSH și MOAH a fost atins în anul 2019, prin realizarea rapoartelor tehnice JRC (cunoscute ca Ghidul JRC) cuprinzând o serie de orientări privind detectarea MOH, alături de o serie de limite recomandate. De la elaborarea lui, de către Bratinova & Hoekstra (2019), sub egida Comisiei Europene, Ghidul JRC a devenit elementul de referință pentru monitorizarea sau cuantificarea MOSH/MOAH.

În contextul dat, în Germania, reprezentanți ai autorităților de control din Grupul de lucru de stat pentru protecția consumatorilor, împreună cu Federația Alimentară au recomandat utilizarea ca limită de siguranță a nivelurilor de referință dezvoltate ca parte a unui proiect comun de colectare a datelor, lansat încă din 2016, niveluri de referință care nu s-au bazat însă pe toxicologie sau evaluări ale expunerii, dar care puteau reproduce limite considerate ca fiind de siguranță pentru numeroase grupuri de alimente (Menegoz Ursol, 2022).

Tabelul 2.3/Table 2.3

Propuneri legislative privind nivelurile de referință MOSH/MOAH
 Legislative proposals on MOSH/MOAH reference levels
 (prelucrare originală)

AN	AUTORITATE / PROPUNERE LEGISLATIVĂ	LIMITĂ MAXIMĂ (mg/kg)	SURSA BIBLIOGRAFICĂ
2011	Ordonanța I a Ministerului Federal German al Alimentației și Agriculturii (BMEL)	MOSH < 0,6 MOAH nd (< 0,15)	Menegoz Ursol, 2022 Luisi, 2019
2011	Opinia Institutului Federal German pentru Evaluarea Riscurilor (BfR)	MOSH C ₁₀₋₁₆ < 12,0 MOSH C ₁₆₋₂₀ < 4,0	
2012	Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentelor (EFSA)	-	EFSA, 2012
2013	Ordonanța II a Ministerului Federal German al Alimentației și Agriculturii (BMEL)	MOAH nd (< 0,15)	Menegoz Ursol, 2022 Luisi, 2019
2014	Ordonanța III a Ministerului Federal German al Alimentației și Agriculturii (BMEL)	MOSH C ₂₀₋₃₅ < 2,0 MOAH C ₁₆₋₃₅ < 0,5	
	Ordonanța IV a Ministerului Federal German al Alimentației și Agriculturii (BMEL)	MOAH < 0,5	
2017	Prevederile Comitetului științific al Agenției Federale Belgiene pentru siguranța lanțului alimentar (FASFC) privind pragurile de acțiune	MOSH C ₁₆₋₃₅ = 5,0 – 150,0 MOAH C ₁₆₋₃₅ < 0,5	Bratinova & Hoekstra, 2019
2019	Rapoarte tehnice JRC „Orientări privind eșantionarea, analiza și raportarea datelor pentru monitorizarea hidrocarburilor din uleiuri minerale din alimente și materialele care vin în contact cu alimentele	MOSH & MOAH 0,5 mg/kg (< 4 % GB) 1,0 mg/kg (> 4 % GB) 2,0 mg/kg (grăsimi, uleiuri)	
2020	Prevederi Federației Alimentare Germane (BLL) privind nivelurile de referință	MOSH = 4,0–13,0	
2020	Ordonanța V a Ministerului Federal German al Alimentației și Agriculturii (BMEL)	MOAH < 0,5	Menegoz Ursol, 2022
2021	Grupul de lucru de stat pentru protecția consumatorilor (LAV) & Federația Alimentară Germană (BLL)	MOSH = 13,0 MOAH < LOQ	
2022	Comisia Europeană, Comitetul permanent pentru plante, animale, alimente și furaje, Secțiunea Alimente noi și siguranța toxicologică a lanțului alimentar	MOSH & MOAH 0,5 mg/kg (< 4 % GB) 1,0 mg/kg (> 4 % GB) 2,0 mg/kg (grăsimi, uleiuri)	EC, 2022
2023	Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentelor (EFSA) (proiect în dezbateri actuală)	MOSH & MOAH 0,5 mg/kg (< 4 % GB); 1,0 mg/kg (> 4 % GB; ≤ 50 % GB) 2,0 mg/kg (grăsimi, uleiuri; > 50 % GB)	EFSA, 2023

La nivelul anului 2022, ca urmare a distribuției pe scară largă și a necesității unor niveluri de siguranță deosebit de restrictive, nu au fost concretizate limite legale pentru MOSH și MOAH (Srbinovska ș.a., 2023). Cu toate acestea, chiar și în lipsa unor limite legale care să definească prezența acestor contaminanți în alimente, presiunile din partea consumatorilor i-au îndemnat pe producători să se alinieze unor limite deosebit de scăzute pentru a asigura gradul de siguranță solicitat.

Atât în favoarea producătorilor, dar cu atât mai mult în favoarea consumatorilor, în mai 2022, Comitetul Permanent pentru Plante, Animale, Alimente și Furaje, Secțiunea Alimente noi și Siguranța Toxicologică a Lanțului Alimentar (ScoPAFF), sub egida Comisiei Europene, a intervenit cu o serie de recomandări importante privind cantitatea maximă de MOAH admisibilă în alimente, de la 0,5 mg/kg, până la 2 mg/kg, în funcție de conținutul lor în grăsime, la depășirea acestor limite Comisia Europeană solicitând rechemarea sau retragerea produselor de pe piață (Srbinovska ș.a., 2023).

Ca un paradox însă, deși Comisia impune măsuri la depășirea limitelor astfel stabilite, similar situațiilor anterioare, acestea nu sunt obligatorii din punct de vedere juridico-legislativ, iar aplicarea și respectarea lor este la latitudinea statelor membre. Cele mai recente prevederi legislative privind MOSH și MOAH din alimente sunt incluse în proiectul de aviz științific privind evaluarea riscurilor hidrocarburilor din uleiuri minerale, lansat în martie 2023, de către Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară (EFSA).

Experții EFSA (2023) au concluzionat în rapoartele provizorii că MOSH nu ar reprezenta un pericol pentru sănătate și doar MOAH ar putea indica un posibil risc toxicologic. Astfel, raportat la avizele deja publicate în 2012 și 2019, EFSA a propus evaluarea, prin consultare publică, a riscurilor MOH din alimente, iar în funcție de valorile recomandate în luna mai 2022 de către Comisia Europeană, prin ScoPAFF, limitele analitice de cuantificare orientative (LOQ) au fost actualizate și readaptate (tabelul 2.3), după aprobarea proiectului urmând ca acestea să devină obligatorii, iar depășirea lor să impună retragerea parțială sau totală a produselor de pe piață.

Disponibilitatea minimă a informațiilor privind apariția MOAH în alimente a condus către conturarea a două scenarii predictive privind măsurile ce urmează să fie luate, iar pe baza acestor scenarii, specialiștii EFSA (2023) au recomandat colectarea a cât mai multe date privind prezența MOAH în alimente și toxicitatea acestora, precum și studii care să dovedească efectele pe termen lung asupra sănătății umane. Până în aprilie 2023, sfaturile științifice primite vor sprijini Comisia Europeană și statele membre ale UE în gestionarea corectă a riscurilor.

**PARTEA A II-A
CERCETĂRI PROPRII**

***PART II
PERSONAL RESEARCH***

CAPITOLUL 3. SCOPUL ȘI METODOLOGIA CERCETĂRII

CHAPTER 3. AIM AND METHODOLOGY OF RESEARCH

Poluarea modernă și clasele de poluanți actuali antrenează noi provocări pentru sectorul producției animaliere. Contaminarea nutrețurilor ridică probleme importante în ceea ce privește siguranța producțiilor animale, dar cu toate acestea, studiul trasabilității nu este suficient de riguros, puținele prevederi legislative existente limitându-se asupra sectorului alimentar, subestimând importanța sectorului agro-alimentar în ansamblu, în special importanța alimentației animalelor.

În contextul menționat, acest capitol include metodologia aplicată pentru analiza și confirmarea contaminării cu hidrocarburi din uleiuri minerale a diferitelor probe de nutrețuri și lapte, cu scopul final de a evalua posibilitatea transferului contaminanților din nutrețuri în lapte. În acord cu protocolul stabilit, au fost descrise materialul și organizarea cercetării, cu descrierea amplă a tehnicii de detecție LC-GC-FID ce a stat la baza confirmării prezenței contaminanților în probele studiate.

3.1 Scopul și obiectivele cercetării

În procesul de monitorizare a contaminării nutrețurilor și producției animale, limitele de siguranță și toxicitatea poluanților moderni nu beneficiază de un cadru legislativ bine statuat, iar datele ce includ cercetări privind noile clase de poluanți sunt încă insuficiente la nivel mondial, cu atât mai mult, la nivelul țării noastre; fără un cadru legislativ riguros și fără referințe de specialitate bine argumentate, episoade de contaminare a nutrețurilor și a producțiilor animale obținute sunt foarte probabile.

Evoluția problematicii privind poluarea și contaminarea modernă pe lanțul agro-alimentar au condus către o serie de investigații privind riscurile de expunere la contaminarea din mediu. Importante caractere cancerigene și genotoxice, precum și un potențial ridicat de bioacumulare al contaminanților în organismele umane și animale au fost evidențiate pentru hidrocarburile din uleiuri minerale (MOH).

Datele insuficiente și caracterul toxic al hidrocarburilor din uleiuri minerale au condus către nevoia de a investiga incidența episoadelor de contaminare și poluare cu MOSH și MOAH în sectorul producției animaliere.

În contextul dat, scopul tezei de doctorat este centrat pe analiza contaminării nutrețurilor prin monitorizarea, cuantificarea și prezentarea profilului de hidrocarburi din uleiuri minerale (MOH) și evaluarea transferului contaminanților din nutrețuri în laptele de vacă, în raport cu specificul unităților luate în studiu.

Pentru a răspunde favorabil scopului indicat, s-a realizat o analiză calitativă și cantitativă privind contaminarea cu hidrocarburi saturate (MOSH) și aromatice (MOAH) a unor probe de nutrețuri și lapte prelevate din trei ferme zootehnice. Pe baza datelor obținute au fost dezvoltate strategii de confirmare a contaminării

nutrețurilor și laptelui, pentru a evalua principalele surse care afectează inocuitatea nutrețurilor și a laptelui și pentru a înțelege mecanismele care facilitează transferul acestor substanțe din nutrețuri în lapte.

Principalele obiective asociate scopului propus vizează aspecte referitoare la:

- fixarea cadrului metodologic și evaluarea surselor de poluare și contaminare specifice unităților studiate;
- prelevarea și pregătirea probelor pentru analize;
- caracterizarea compoziției chimice a nutrețurilor și a laptelui;
- analiza nivelului de contaminare cu MOSH/MOAH al nutrețurilor și al laptelui în raport cu unitățile studiate (monitorizare și cuantificare);
- caracterizarea profilului de contaminare pentru identificarea surselor potențiale de poluare și/sau contaminare;
- elaborarea unor strategii de confirmare a transferului MOSH/MOAH din nutrețuri în lapte: analiza comparativă a profilurilor de contaminare.

3.2 Planul experimental și organizarea cercetărilor

Cercetarea a fost organizată în cinci etape de lucru argumentate de scopul și obiectivele propuse, conform planului experimental din fig. 3.1.

Materialul de cercetare a fost reprezentat de 38 probe de nutrețuri și probe de lapte, prelevate pe parcursul anilor 2021-2022 din trei ferme de vaci de lapte, selectate în funcție de nivelul de poluare preconizat în arealul lor geografic:

- Ferma Best Cows Sadova, Suceava (Unitatea S–Mo) = Fermă de bovine de lapte, cu nivel potențial de poluare scăzut (S), situată în zona montană (Mo);
- Stațiunea Didactică – Ferma Rediu, Iași (Unitatea M–Rr) = Fermă de bovine de lapte, cu nivel potențial de poluare mediu (M), situată în zona rurală (Rr);
- Stațiunea de Cercetare-Dezvoltare pentru Creșterea Bovinelor Dancu, Iași (Unitatea R–U) = Fermă de bovine de lapte, cu nivel potențial de poluare ridicat (R), situată în zona urbană (U).

Numărul total de probe a rezultat în urma prelevării unui număr reprezentativ de eșantioane, în raport cu dimensiunea loturilor de eșantionare din cadrul fiecărei ferme, având astfel spre analiză 30 de probe de nutrețuri verzi, nutrețuri de volum uscate, nutrețuri murate, nutrețuri concentrate și nutrețuri combinate și opt probe de lapte.

Fixarea cadrului metodologic și conturarea ipotezelor de cercetare s-au realizat prin metoda observației și a interviului individual. Ipotezele de cercetare susțin existența unui nivel de poluare diferit pentru fiecare fermă, în raport cu sursele de poluare și contaminare identificate pentru fiecare areal geografic studiat și care pot contribui la nivelul de contaminare al probelor analizate.

Eșantionarea, protocolul analitic, dar și raportarea rezultatelor au urmărit standardele și criteriile de performanță ale abordărilor analitice, dar și diferite protocoale de lucru dezvoltate și adaptate de diferiți autori.

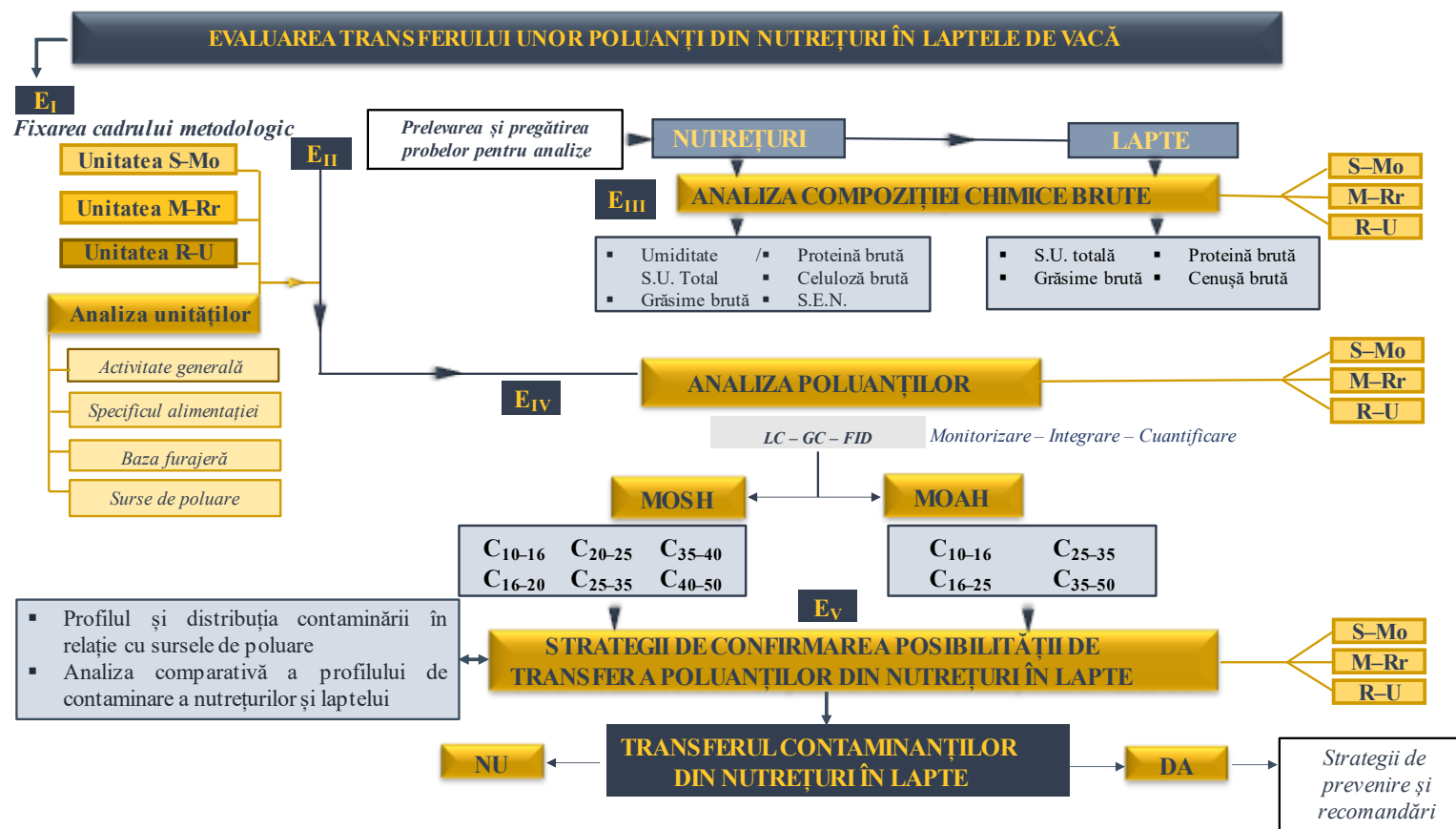


Figura 3.1 Planul experimental al cercetării

Figure 3.1 Experimental plan of the research

Pentru determinarea analiților de interes MOSH și MOAH din probele de nutrețuri și lapte a fost aplicată o metodă de lucru bazată de LC-GC-FID, alături de proceee specifice de extracție și purificare a probelor. Datele au fost cuantificate pe baza standardelor interne ale metodologiei de lucru, ulterior sistematizate și prelucrate în acord cu criteriile de performanță recomandate pentru analiza MOH.

În raport cu variabilele luate în considerare prin ipoteza de cercetare, prin analiza comparativă a profilului și distribuției contaminanților, s-au elaborat diferite strategii de confirmare a posibilității de transfer a poluanților din nutrețuri în lapte.

3.2.1 Cadrul organizatoric de desfășurare a cercetării

Desfășurarea cercetărilor privind prezența hidrocarburilor din uleiuri minerale (MOH) din nutrețuri și lapte au avut în vedere selectarea unui cadru organizatoric pentru asigurarea materialului de cercetare și a unui cadru instituțional adecvat pentru realizarea determinărilor analitice de laborator.

Argumentat de contextul cercetării, fixarea cadrului organizatoric pentru asigurarea materialului de cercetare a urmărit selectarea a trei ferme de creștere a vacilor pentru producția de lapte, situate în areale geografice diferite din punct de vedere al expunerii la poluare: zonă montană, zonă rurală, zonă urbană (fig. 3.2).

Unitatea S–Mo este localizată geografic în zona montană, în arealul localității Sadova, județul Suceava (47°34'N, 25°19'E) și este o unitate de mici dimensiuni, cu activități zootehnice și agricole practicate la nivel semi-extensiv.

Ca efective în lactație, unitatea deține în total 40 de capete din Rasa Brună și Rasa Bălțată cu Negru Românească, ale căror producții medii ating aproximativ 3500 L lapte/vacă/lactație. Hrănirea animalelor se realizează pe sistemul de hrănire diferențiat sezonier, hrana fiind asigurată preponderent prin baza furajeră proprie; unitatea exploatează în acest sens 100 ha suprafață agricolă productivă: terenuri cu pajiști naturale pentru producerea fânului natural, administrat în perioada de stabulație (septembrie–mai) și terenuri cu pajiști naturale pentru pășunat (mai–septembrie).

Unitatea M–Rr este o stațiune didactică specializată în creșterea bovinelor pentru lapte, situată în zona rurală, la aproximativ 8 km Nord de Municipiul Iași (47.2134° N, 27.5066° E). Modernizată în anul 2016 și dotată cu echipamente agro-zootehnice moderne, stațiunea este un important centru de instruire practică pentru viitorii specialiști în zootehnie și cuprinde ferma zootehnică, cu un efectiv lactant de 55 de capete din Rasa Fleckvieh și 47 de capete de tineret bovin, dar și o suprafață agricolă de 147 ha, cultivată cu porumb pentru însilozare, porumb pentru boabe și lucernă pentru fân.

La nivelul unității, hrana efectivelor în lactație este asigurată prin sistem de furajare unic, rația fiind formată din nutrețuri murate (siloz de porumb), nutrețuri de volum uscate (fân de lucernă), nutrețuri concentrate (porumb boabe, șrot soia) și premixuri vitamino-minerale; cu excepția șrotului de soia și al premixului vitamino-mineral, baza furajeră este asigurată în regim propriu.

Unitatea R-U este o stațiune de cercetare în domeniul creșterii bovinelor, ce integrează în structura sa organizatorică: (I) ferma zootehnică, cu un efectiv lactant de aproximativ 400 de capete din rasele Friză, Bălțată Germană și Sură de Stepă (aflată în conservare de fond genetic), pentru cea din urmă, stațiunea de cercetare fiind proprietara Registrului Genealogic Național; (II) ferma vegetală, cu o suprafață agricolă de aproximativ 650 ha, distribuită în 515 ha teren arabil, cultivat cu lucernă pentru semisiloz și fân, porumb boabe, porumb pentru însilozare și triticale, la care se adaugă 90 ha pășuni.

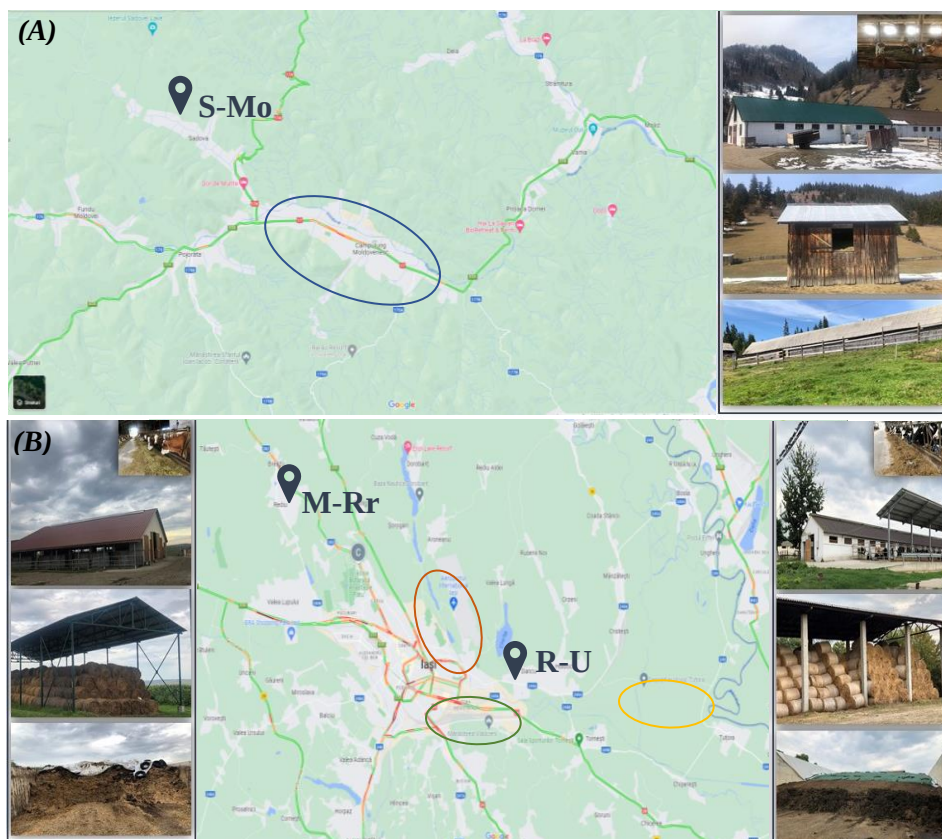


Figura 3.2 Amplasarea unităților luate în studiu: (A) unitatea din zona montană S-Mo; (B) unitatea din zona rurală M-Rr și unitatea din zona urbană R-U; simbolurile indică principalele surse de poluare din proximitatea unităților

Figure 3.2 Location of the studied farms: (A) S-Mo farm from mountain area; (B) M-Rr farm from rural area and the R-U farm from urban area; symbols shows the main sources of pollution in the vicinity of the farms

Hrana animalelor este asigurată prin baza furajeră proprie pentru nutrețurile murate (siloz de porumb, semisiloz de lucernă), nutrețurile de volum uscate (fân de lucernă) și nutrețurile concentrate (porumb boabe măcinat, triticale măcinate), cât și de la surse terțe, pentru nutrețuri precum borhotul de bere și șrotul de soia. Furajarea

animalelor se realizează cu amestec unic, proporțiile nutrețurilor din fiecare rație fiind structurate pe categorii de vârstă, status fiziologic și nivel productiv.

În ceea ce privește organizarea cercetării de laborator, pregătirea și prelucrarea probelor pentru analize, dar și analiza compoziției chimice brute a nutrețurilor și laptelui au fost realizate la Universitatea pentru Științele Vieții "Ion Ionescu de la Brad" din Iași (USV), Facultatea de Ingineria Resurselor Animale și Alimentare (FIRAA), în cadrul Laboratorului de Cercetare Nutriție și Alimentație și a Laboratorului Procesarea Producțiilor Animale.

Laboratorul de Cercetare Nutriție și Alimentație al Facultății de Ingineria Resurselor Animale și Alimentare reprezintă un nucleu de cercetare ce pune la dispoziție o gamă largă de analize chimice pentru nutrețuri; echipamentele specializate ale laboratorului au permis determinarea tuturor componentelor chimice brute pentru probele de nutrețuri recoltate de la toate cele trei unități.

Laboratorul Procesarea Producțiilor Animale are atât destinație didactică, cât și pentru cercetarea specializată, deținând echipamente destinate în special analizelor curente ale laptelui și produselor derivate, ce au fost utilizate pentru caracterizarea compoziției chimice brute a probelor de lapte.

Pentru realizarea determinărilor analitice privind prezența poluanților, cea mai mare parte a activității de cercetare a fost susținută de o colaborare între Universitatea pentru Științele Vieții "Ion Ionescu de la Brad" din Iași, România și Universitatea de Studii "Polo Rizzi" din Udine (UniUD), Italia, logistica și metodologia de studiu fiind asigurată din resursele Laboratorului Chimia Alimentelor.

Laboratorul Chimia Alimentelor al Universității din Udine (fig. 3.3) este unul dintre cele mai performante laboratoare din cadrul departamentului de cercetare aparținând UniUD, cu o vastă activitate pe tema contaminanților și o largă recunoaștere la nivel național și internațional datorită numeroaselor colaborări cu asociații comerciale și companii alimentare cu preocupări asupra monitorizării contaminării.



Figura 3.3 Laboratorul Chimia Alimentelor, Departamentul de Științe Agroalimentare, Mediu și Animale, Universitatea din Udine (UniUd)

Figure 3.3 Food Chemistry Laboratory, Department of Agricultural, Environmental and Animal Sciences, University of Udine

Din punct de vedere al logisticii, laboratorul cuprinde sisteme HPLC și sisteme de cromatografie lichidă de ultra performanță (UPLC), spectrofluorimetrice (FLD), cu indice de refracție (IR) sau cu spectrometru de masă (MS) și sisteme GC combinate cu detectoare FID sau MS. O atenție deosebită este acordată, de asemenea, dezvoltării metodelor cromatografice cuplate, cum ar fi LC-GC, LC-LC-GC și GC multidimensional (GCxGC).

În particular, grupul de cercetare al laboratorului are o experiență în analiza uleiurilor minerale și în dezvoltarea și utilizarea tehnicilor LC-GC cuplate online și off-line dedicate acestei analize. Metodele dezvoltate de către aceștia sunt validate intern, publicate în reviste științifice internaționale, iar unele au fost supuse unor procese de evaluare externă la nivel național și european.

3.2.2 Preluarea datelor de cercetare

În contextul cercetării, pentru obiectivitatea rezultatelor, cele trei unități au fost monitorizate și analizate pe perioada studiului privind derularea activității, baza furajeră și specificul alimentației, fertilizarea solului și tratamentele fitosanitare aplicate culturilor (tabelul 3.1), prezența surselor de poluare și factorii de risc privind contaminarea (tabelul 3.2), conform protocolului elaborat de Matei & Pop (2022).

Ca factori variabili privind contaminarea, cu relevanță pentru studiul poluanților s-au monitorizat tratamentele chimice aplicate culturilor. Unitatea din zona montană S–Mo utilizează îngrășământul natural provenit din dejecțiile animalelor ca unic fertilizator, în timp ce unitățile din zona rurală M–Rr și urbană R–U, utilizează îngrășămintele pe bază de N, P, K, dar aplică și diferite tratamente fitosanitare (tabelul 3.3).

Amplasată într-un areal lipsit de surse importante de poluare, unitatea din zona montană S–Mo a fost considerată, conform ipotezelor de cercetare, cu nivel potențial de poluare scăzut. Singurele surse potențiale de poluare pot fi date, în schimb, de poziționarea unității la aproximativ 6 km de sud-est-ul municipiului Câmpulung Moldovenesc (al patrulea centru urban ca mărime al județului Suceava, însă cu activitate antropică puțin dezvoltată), de traficul auto intens (unitatea este situată la 2 km de DN17) sau de istoricul zonal, localitățile din proximitatea fermei, Sadova, Mestecăniș și Mănăila, fiind importante foste zone miniere, activitatea minieră fiind însă sistată în jurul anilor 2002.

Tabelul 3.1/Table 3.1

Elemente de monitorizare a unităților pe perioada studiului
Monitoring elements during the study

	Aspecte urmărite	Semnificație
Date de identificare a unității și a efectivului de animale	Localizarea geografică	Corelarea localizării geografice cu condițiile climatice (temperatură, direcția dominantă a vântului)
	Activități poluante din proximitate	Identificarea principalelor surse de poluare
	Efective de bovine și rase din fermă (<i>inclusiv producția zilnică de lapte</i>)	Evaluare informativă privind producția de lapte posibil contaminată
	Sistemul de întreținere al animalelor	Expunerea directă la sursele de poluare
	Tehnica operațiunii de muls	Evaluarea posibilităților de contaminare
Specificul alimentației	Tipuri de nutrețuri și structura rațiilor administrate	Selectarea materialului de cercetare
	Realizarea pășunatului liber	Expunerea directă la sursele de poluare
	Numărul de tainuri administrate	Frecvența contaminării
	Modalitatea de administrare a hranei	Evaluarea posibilităților de contaminare
	Modificarea rației în funcție de statusul fiziologic al animalelor	Corelarea statusului fiziologic al animalelor cu mecanismele de acțiune ale poluanților
Baza furajeră și nutrețurile administrate	Proveniența nutrețurilor (<i>obținere în regim propriu; surse externe</i>)	Evaluarea trasabilității (controlul surselor de poluare)
	Analize de calitate ale nutrețurilor administrate	Obținerea unor date comparative privind caracteristicile nutrețurilor administrate
	<i>Obținere nutrețuri în regim propriu</i>	
	Modalitatea de recoltare și depozitare	Evaluarea posibilităților de contaminare accidentală
	Localizarea culturilor de proveniență a nutrețurilor –suprafața cultivată, tratamente aplicate culturilor, rotația culturilor	Identificarea surselor potențiale de poluare din proximitatea culturilor; evaluarea contaminării potențiale dată de fertilizatorii utilizați
	* <i>pășunat</i> – localizarea pajiștilor	Expunerea directă la surse de poluare
	Activități poluante din proximitatea parcelelor de cultură a nutrețurilor	Identificarea principalelor surse de poluare
	<i>Achiziționarea nutrețurilor din surse externe</i>	
	Sursa de proveniență	Evaluarea trasabilității
	Modalitățile de depozitare a hranei	Expunerea directă la sursele de poluare
Apa administrată	Surse de apă neconvenționale în proximitatea pășunilor	Evaluarea surselor de poluare externă (cu excepția celor identificate)
Alte date	Substanțe utilizate pentru îngrijirea animalelor și adăposturilor	Evaluarea posibilităților de contaminare accidentală
	Depozitarea și valorificarea gunoiului de grajd	Evaluarea posibilităților de contaminare a culturilor vegetale

Tabelul 3.2/Table 3.2

Surse de poluare și încadrarea unităților pe nivel de poluare preconizat
Sources of pollution and classification of units by expected level of pollution

UNITATEA		S-Mo	M-Rr	R-U
Localizare și nivel de poluare preconizat		zona montană-S	zona rurală-M	zona urbană-R
Surse de poluare - primare				
Surse staționare	Combustia deșeurilor			●
	Industria chimică și siderurgică			●
	Activitate minieră	●		
Surse mobile și de suprafață	Transport rutier (aerosolii automobilelor, uzura cauciucurilor)		●	●
	Transport aerian (ciclurile de aterizare-decolare)			●
	Industria construcțiilor			●
	Stație de epurare			●
	Îngrășăminte organice/composturi	●	●	●
Activități agricole	Tratamente aplicate culturilor		●	●
	Îngrășăminte minerale		●	●
	Pesticide			●
	Amendamente			●
Factori de contaminare				
Pășunatul liber		●		
Surse neconvenționale de apă		●		
Nutrețuri din surse terțe			●	●
Substanțe chimice pentru îngrijirea animalelor, adăposturilor și instalațiilor			●	●

S=scăzut; M=mediu; R=ridicat/ nivel de poluare; Mo=zonă montană; Rr=zonă rurală; U=zonă urbană

Poziționarea unității din zona rurală, în proximitatea municipiului Iași, devenit în ultimii ani unul dintre cele mai poluate orașe ale țării, dar și amplasarea principalelor obiective de poluare din zona urbană pe direcția dominantă a vântului (nord-vest/sud-est), conturează ca potențiale surse de poluare ale unității M-Rr, activitățile antropice și emisiile autovehiculelor ca urmare a traficului auto intens de la nivelul orașului Iași, la care se adaugă practicarea agriculturii intensive la nivelul unității.

Deși din punct de vedere teritorial-administrativ, unitatea R-U este asociată zonei rurale, apropierea acesteia de orașul Iași a făcut ca suprafața să fie considerată ca apartenență a zonei metropolitane, de unde și încadrarea unității ca localizare în zona urbană, cu nivel potențial de poluare ridicat.

Tabelul 3.3/Table 3.3

Tratamente chimice aplicate culturilor vegetale
Chemical treatments applied to vegetal crops

	Cultura vegetală	Tip tratament	Formula comercială	Cantitate /ha	Substanța activă
M-Rr	Lucernă	Combatere (erbicidare)	Pulsar 40	1,1 L	40 g/litru Imazamox
	Porumb pentru însilozare	Fertilizare	Sulfammo–25–MPPA–1	170 kg	25 % N (18 % N amoniacal; 7% N nitric); 31 % SO ₃ ; 2 % MgO
		Combatere (erbicidare)	Principal Plus	440 g	9,2 % Nicosulfuron; 55% Dicamba; 2.3% Rimsulfuron
	Porumb boabe		DAP 18-46-0	250 kg	18% NH ₄ ; 46% P ₂ O ₅
		Fertilizare	Sulfammo–25–MPPA–1	250 kg	25 % N (18 % N amoniacal; 7% N nitric); 31 % SO ₃ ; 2 % MgO
		Combatere (erbicidare)	Principal Plus	440 g	9,2 % Nicosulfuron; 55 % Dicamba; 2,3 % Rimsulfuron
R-U	Porumb pentru însilozare Porumb boabe	Fertilizare	Uree	100 kg	CO(NH ₂) ₂
			Complex		20 % N total; 20 % P ₂ O ₅ total; 60 %
			Azomures	100 kg	P ₂ O ₅ solubil în apă; 98 % P ₂ O ₅ solubil în acid citric 2 %; max. 0,6 % apă
			NPK 20-20-0		
		Combatere (erbicidare)	Nitrocalcar	150 kg	27 % N; 7 % CaO; 5 % MgO
			Henik	1,5 L	40 g/L Nicosulfuron
			Mustang	0,6 L	6,25 % Florasulfam; 30 % Acid 2,4D EHE
			Adengo	0,4 L	225 g/l Isoxaflutol; 90 g/l Tiencarbazon-metil; 150 g/l Ciprosulfamide (safener)
	Lucernă	Fertilizare	Complex 16-16-16	250 kg	16:16:16 N:P:K
		Combatere (erbicidare)	Corum	1,2 L	480 g/l Bentazon 22,4 g/l Imazamox
	Triticale	Fertilizare	Uree	150 kg	CO(NH ₂) ₂
			Nitrocalcar	150 kg	27 % N; 7 % CaO; 5 % MgO
		Fertilizare	Lebosol – Mix Cereale	1,5 L	1,6 % Cu – Cu ₂ Cl(OH) ₃ 25 g/l; 11,5 % Mn – MnO ₂ 183 g/l; 4,9 % Zn – ZnO 78 g/l.
		Combatere (erbicidare)	Pixxaro Super	0,3 L	12 g/l Halauxifen-metil; 280 g/l Fluroxipir meptil; 12 g/l Cloquintocet-mexil
		Combatere (fungicid)	Orius	0,5 L	250 g/L Tebuconazol
			Falcon Pro	0,5 L	53 g/l Protiocanazol; 224 g/l Spiro-xamină; 148g/l Tebuconazol
		Combatere (insecticid)	Mospilan	0,15	20 % Acetamiprid

N=azot; SO₃=anhidridă sulfurică; MgO=oxid de magneziu; P₂O₅=pentaoxid de fosfor; NH₄=azot amoniacal; EHE (2-etilhexil-ester); Cu₂Cl(OH)₃= oxichlorură de cupru; CaO=oxid de calciu

Spre deosebire de celelalte două unități, potențialul poluant preconizat pentru unitatea din zona urbană R-U nu este dat doar de poziționarea în proximitatea centrului urban, ci este amplificat în special de concentrarea în vecinătatea unității a numeroase unități industriale (Arcelor Mittal Products, Technosteel, Rancon SA, Chemical Company), depozite de deșeuri municipale (Țuțora) sau activități de transport aerian (Aeroportul Internațional Iași), la care se adaugă și activități intense derulate în ultimii ani în domeniul construcțiilor sau infrastructurii rutiere, la o distanță relativ mică față de unitatea de interes.

3.3 Materialul de cercetare

Pentru evaluarea transferului poluanților din nutrețuri în laptele de vacă, materialul de cercetare a fost reprezentat dintr-un total de 38 probe cuprinzând 30 de probe de nutrețuri și opt probe de lapte. Materialul de cercetare a fost prelevat pe parcursul anilor 2021–2022 din trei ferme de vaci de lapte, în raport cu dimensiunea loturilor de eșantionare din cadrul fiecărei ferme, situația probelor prelevate fiind prezentată în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4/ Table 3.4

Materialul de cercetare și situația probelor prelevate
Material and samples

PROBE PRELEVATE						
NUTREȚURI				LAPTE		
	Tip	% din rație	Cod probă	Nr.	Cod probă	Nr.
S-Mo	Fân natural	100	S-FN	x 2	S-L _i	x 2
	Nutreț verde	100	S-PM		S-L _v	x 2
	TOTAL PROBE (S)				4	TOTAL PROBE (S)
M-Rr	Fân lucernă	22,4	M-FL	x 2	M-L	x 2
	Siloz porumb	56	M-SP			
	Porumb boabe	11,20	M-PB			
	Șrot soia	8,40	M-SS			
	Nutreț amestec	100	M-AU			
TOTAL PROBE (M)				10	TOTAL PROBE (M)	2
R-U	Semisiloz lucernă	10,9	R-SSL	x 2	R-L	x 2
	Fân lucernă	5,45	R-FL			
	Siloz porumb	45,45	R-SP			
	Porumb boabe	6,35	R-PB			
	Triticale	4,54	R-T			
	Borhot de bere	18,18	R-BB			
	Șrot soia	4,54	R-SS			
	Nutreț amestec	100	R-AU			
TOTAL PROBE (R)				16	TOTAL PROBE (R)	2
PROBE: 30				PROBE: 8		
TOTAL PROBE: 38						

AU=nutreț amestec; BB=borhot de bere; FL=fân lucernă; FN=fân natural; PB=porumb boabe; PM=pajiște montană; SP=siloz porumb; SS=șrot de soia; SSL=semisiloz lucernă; T=triticale; *nivel poluare: S=scăzut; M=mediu; R=ridicat; N=nutreț; L=lapte; R_i = rație iarnă; R_v=rație vară

Recoltarea probelor de nutrețuri s-a realizat în conformitate cu normele prevăzute în standardul SR EN ISO 6497:2005 și cu prevederile Regulamentului (CE) 152/2009–Anexa I. Nutrețurile prelevate de la cele trei unități au fost preluate din spații de depozitare acoperite, silozuri, magazii sau direct din câmp (fig. 3.4.A), în raport cu dimensiunea loturilor de eșantionare și în cantități suficiente astfel încât să permită obținerea unui eșantion mediu de 1–2 kg (în funcție de tipul de probă); probele astfel prelevate au fost ambalate în ambalaje de polietilenă (PE) sau hârtie, etichetate și transportate la laborator în vederea prelucrării pentru analize.

În funcție de specificitatea și felul nutrețurilor, totalitatea probelor de nutrețuri recoltate au fost pregătite pentru analiză conform liniilor directoare menționate în SR EN ISO 6498:2012 și prevederilor Regulamentului (CE) 152/2009–Anexa II, utilizând aparatură și ustensile care să nu cauzeze încălzirea masei de produs sau care să nu constituie o sursă de contaminare cu uleiuri minerale.

Nutrețurile au fost pregătite pentru analiză în funcție de specificul lor, prin tăiere la dimensiuni de 1–2 cm, uscare la 8–12 % umiditate (etuvă termoreglabilă ESAC–100; 60 °C) și măcinare (moară de laborator Grindomix GM 200) până la stadiul de pulbere fină (fig. 3.4.B); probele astfel pregătite au fost stocate în ambalaje din polipropilenă (PP) și ulterior de aluminiu, până la momentul efectuării analizelor.

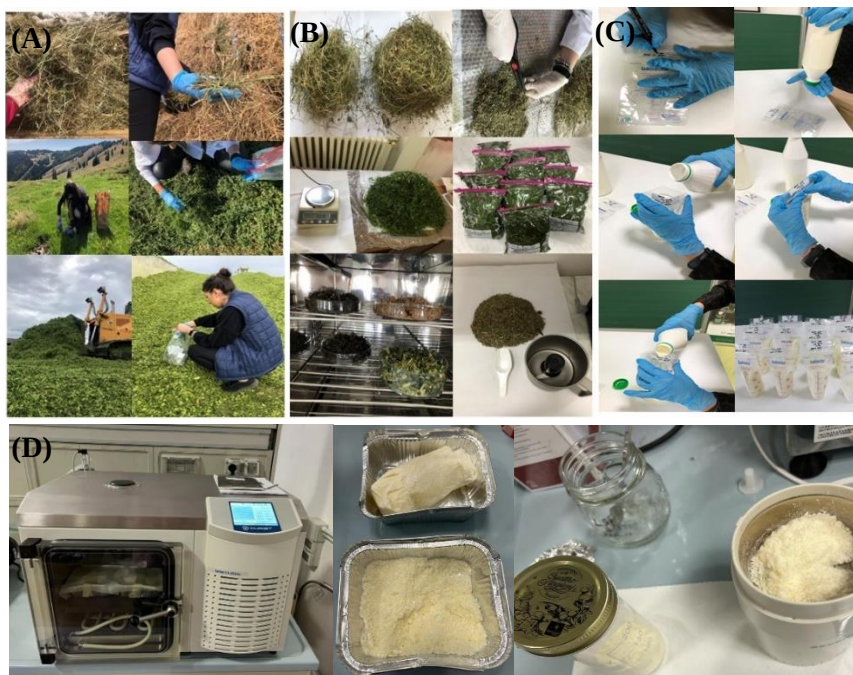


Figura 3.4 Prelevarea și pregătirea probelor pentru analize: (A) prelevare probe de nutrețuri; (B), (C) pregătire probe de laborator (nutrețuri, lapte); (D) liofilizare probe de lapte

Figure 3.4 Sampling and preparation of samples for analysis: (A) sampling of feed; (B), (C) laboratory samples preparation (feed, milk); (D) lyophilization of milk samples

Recoltarea probelor de lapte s-a realizat conform metodelor descrise de Rațu & Usturoi (2019) și a avut loc în fermă, imediat după momentul colectării laptelui de la animale, prin prelevarea, direct din bazinele sau recipientele de stocare, a probelor elementare, din care s-au obținut în final probe medii cuprinse între 500–1000 mL; probele de lapte astfel prelevate au fost etichetate și transportate la laborator pentru analiză, în condiții de refrigerare, la temperaturi de +4 ...+6 °C.

În vederea analizei chimice, probele de lapte au fost pregătite conform normelor prevăzute în STAS 6343-81. Pentru analiza poluanților, probele de lapte prelevate au fost stocate în pungi sterile (fig. 3.4.C), menținute la temperaturi de congelare (– 20 °C) și transportate în condiții de refrigerare, cu precauțiile necesare.

Probele în stare congelată au fost supuse liofilizării la -30 °C....-70 °C, timp de șapte zile, în condiții de 0.200 mbar vid și 1.65 mbar presiune de siguranță, cu ajutorul liofilizatorului model Epsilon 2-4 LSC plus, după acest proces, probele fiind aduse în stadiul de pulbere fină, cu ajutorul morii electrice model Severin 3872 (fig. 3.4.D).

În vederea asigurării calității și reproductibilității analizelor, pentru toate probele, procedura de prelevare a fost executată cu precauțiile necesare pentru împiedicarea modificării sau contaminării de orice fel a probelor.

3.4 Metode de cercetare

Protocolul analitic al cercetării presupune determinarea compoziției chimice brute a nutrețurilor și a laptelui, precum și monitorizarea și cuantificarea hidrocarburilor din uleiuri minerale prin tehnica cuplată LC-GC-FID.

3.4.1 Determinarea compoziției chimice brute a nutrețurilor și a laptelui

Determinarea compoziției chimice brute a nutrețurilor s-a efectuat în acord cu metodele descrise în Anexa III a Reg. (CE) 152/2009, corelate cu etapele prevăzute în standardele aplicabile pentru fiecare constituent: SR ISO 6496:2001; SR EN ISO 6540:2021; SR ISO 712:2010 (umiditate); SR EN ISO 2171:2010 (cenușă brută); SR EN ISO 5983-1:2006/AC:2019 (proteină brută); SR ISO 6492:2001/AC:2016 (grăsime brută); SR EN ISO 6865:2002/AC:2017 (celuloză brută).

Determinarea proprietăților fizico-chimice pentru probele de lapte s-au efectuat atât prin procedee de lucru clasice, prin metodele descrise de Rațu & Usturoi (2019), pentru determinarea substanței uscate totale, a conținutului în cenușă brută și a conținutului de grăsime (fig. 3.5), dar și prin procedee avansate de analiză, prin metode bazate pe transmitanța ultrasonometrică, pentru conținutul de proteină brută.



Figura 3.5 Determinarea compoziției chimice brute: grăsimea brută din nutrețuri (A) și lapte (B)
 Figure 3.5 Determination of crude chemical composition: feed (A) and milk (B) fat composition

3.4.2 Monitorizarea și cuantificarea hidrocarburilor din uleiuri minerale prin tehnica LC-GC-FID

Pentru determinarea analiților de interes ai fiecărei fracțiuni carbonice MOSH și MOAH, pentru probele de nutrețuri și lapte, a fost aplicată o metodă bazată pe LC-GC-FID, precedată de o etapă de saponificare asistată cu microunde (MAS).

Optimizarea metodei de lucru și dezvoltarea protocolului de lucru aparține în totalitate Laboratorului de Chimia Alimentelor din cadrul UniUD, adaptate și modificate după Biederman ș.a. (2009); Bierdemann & Grob (2012) și îndeplinește criteriile de performanță analitică menționate în Ghidul JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019). Punctul de plecare în optimizarea metodei a fost protocolul elaborat de Moret ș.a. (2016), metoda fiind ulterior aplicată cu bune rezultate în numeroase lucrări de specialitate, precum cele elaborate de Srbinovska ș.a. (2023); Menegoz Ursol ș.a. (2022), Srbinovska ș.a. (2022).

Cu mici modificări, având în vedere specificitatea probelor, protocolul de lucru aplicat (fig. 3.6) corespunde cu metoda de lucru aplicată anterior de Bauwens ș.a. (2022) pentru determinarea MOSH și MOAH în hrana pentru pești.

Ca urmare a interferenței n-alkanilor naturali și a olefinelor, etape suplimentare de purificare a probelor (epoxidare, pasaj AlOx) au fost necesare, fiind realizate în acord cu protocolului descris de Nestola & Schmidt (2017).

Pentru pregătirea și analiza probelor de nutrețuri și lapte au fost utilizați numeroși solvenți și reactivi, dintre care enumerăm: n-hexan (≥ 95 %; CAS: 110-54-3), metanol ($\geq 99,9$ %; CAS: 67-56-1); KOH saturat (CAS: 1310-58-3), acid metacloroperoxibenzoic (mCBPA, 70–75 %; CAS: 937-14-4) soluție 200 mg/ mL etanol, tiosulfat de sodiu anhidru (CAS 7772-98-7), oxid de aluminiu (CAS: 1344-28-1) și sulfat de sodiu (CAS: 7757-82-6). Cea mai mare parte a reactivilor au fost achiziționați de la grupul Merck Millipore (Massachusetts, SUA), respectiv Sigma-Aldrich, Supelco sau Milli-Q (apa pură), cu excepția mCBPA, achiziționat de la Acros Organics, parte a grupului Thermo Fisher Scientific.

Pentru a verifica performanța LC-GC, atât pentru separarea fracțiunilor MOSH și MOAH, cât și pentru integrarea și cuantificarea rezultatelor, s-a utilizat standardul intern (IS) #31070 (150-600 $\mu\text{g/ml}$ în toluen 99 %), achiziționat de la Restek (Bellefonte, PA, SUA), ce include: n-Undecan (C_{11} ; 99 %; CAS 1120-21-4); ciclohexilciclohexan (CyCy); n-pentilbenzen (5B; 99%; CAS 538-68-1); 1-metil naftalină (1-MN; 98 %; CAS: 629-50-5); 2-metil naftalină (2-MN; 96 %; CAS: 91-57-6); 1,3,5-tritertbutilbenzen (TBB; 99 %; CAS: 1460-02-2) cu 0,30 mg/mL; n-tridecan (C_{13} ; 99 %; CAS: 629-50-5) cu 0,15 mg/mL; 5- α -cholestane (Cho; 99 %; CAS: 481-21-0) și perilenă (Per; 99 %; CAS: 198-55-0) cu 0,6 mg/mL.

Separarea fazei organice sau saponificarea probelor a urmat protocolul de lucru utilizat pentru extracția MOH din produsele pe bază de cereale optimizat de Moret ș.a. (2016). Saponificarea a presupus utilizarea unui sistem de microunde (MARS 5, CEM Corporation, SUA), dotat cu 14 porturi cuprinzând fiole căptușite cu teflon, anterior supuse purificării unui ciclu la microunde cu 10 mL hexan și 10 mL KOH saturat în metanol, în care au fost introduse câte 5 g din probele de nutreț sau 4 g din probele de lapte liofilizat, 10 mL KOH (40 %), 10 mL n-hexan și 20 μL de standard intern (IS); amestecul astfel format a fost supus extracției fazei organice la microunde, timp de 20 de minute, la 120 $^{\circ}\text{C}$ (MAS).

Finalizarea etapei de extracție la microunde a fost urmată de adăugarea în amestecul din fiole a 40 ml apă ultrapură Milli-Q, 2 mL metanol și păstrarea amestecului în repaus, timp de 20-30 minue la -18 $^{\circ}\text{C}$ -20 $^{\circ}\text{C}$ și încă 10 minute la temperatura camerei, până la separarea completă a fazelor. Odată separate fazele, extractul obținut a fost prelevat și concentrat la vacuum până la 4 mL (75 mbar), utilizând centrifuga cu vacuum Uniequip, model UNIVAPO–100H, cuplat cu pompa de vacuum V-700 și controller-ul V-850 (Buchi).

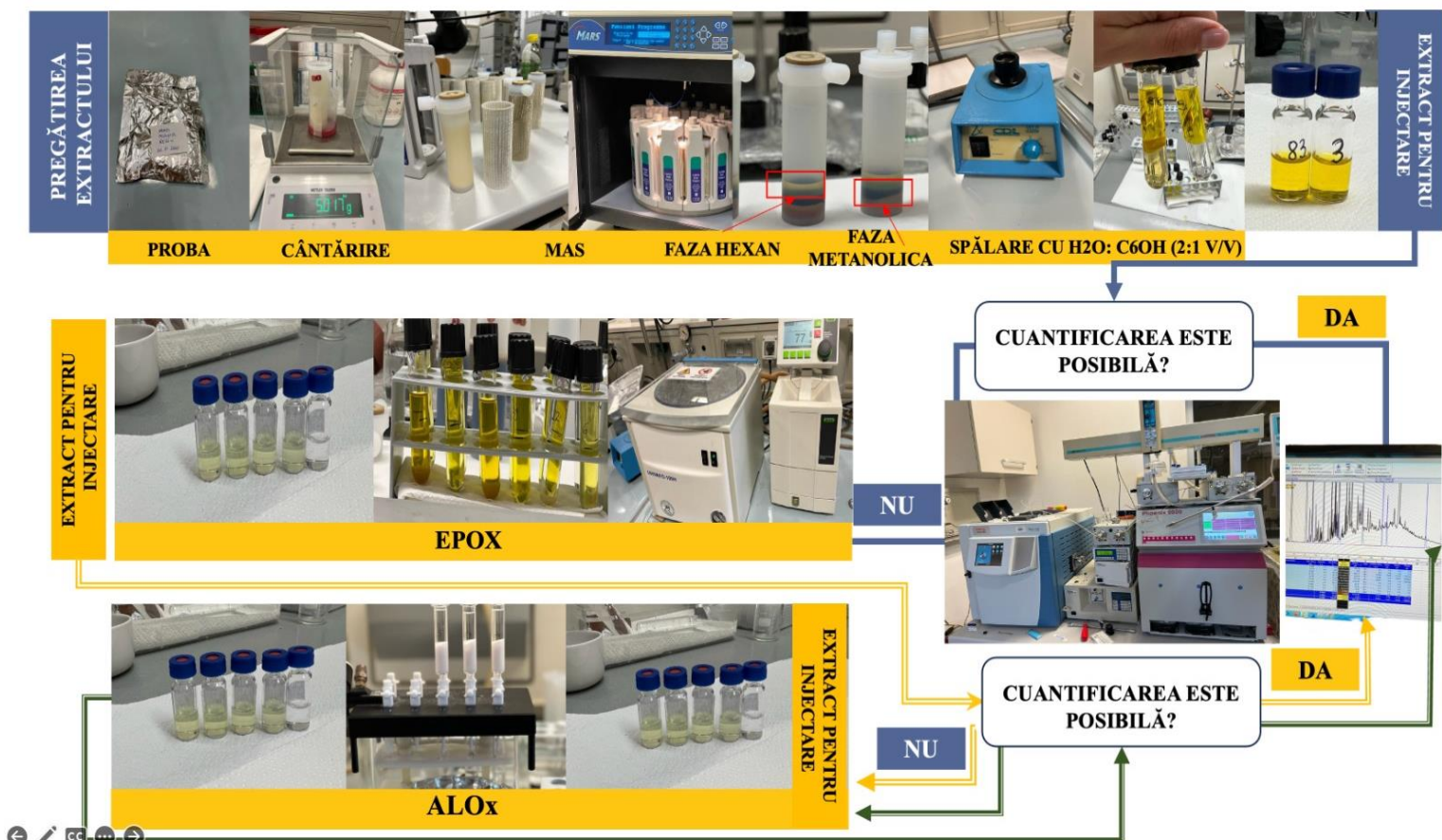


Figura 3.6 Protocolul de lucru aplicat pentru determinarea MOSH/MOAH prin tehnica de detecție LC-GC-FID
 Figure 3.6 Working protocol applied for the determination of MOSH/MOAH by the LC-GC-FID detection technique

Pentru obținerea unui extract cât mai pur, o etapă suplimentară de spălare cu o misclă formată din CH₃OH:H₂O (2:1 v/v) a fost aplicată tuturor probelor de nutrețuri analizate; cu ajutorul agitatorului Vortex Velp Scientifica, model ZX3, s-a realizat agitarea probelor la 40 Hz până la formarea unei miscele albe (30-60 secunde), urmate de centrifugare la 4000 rpm, timp de 5 minute, cu ajutorul centrifugii Hermle, model Z206A; extractul purificat obținut după această etapă a fost concentrat la vacuum până la 700 μL.

Cu excepția probelor de porumb boabe, șrot de soia, triticale și borhot de bere, pentru care volumul de extract obținut a fost direct injectat pentru analiza MOSH și MOAH, celelalte probe de nutrețuri (fân de lucernă, semisiloz de lucernă, siloz de porumb, nutreț combinat), dar și probele de lapte, au suferit o purificare auxiliară prin epoxidare, conform metodei descrisă de Nestola & Schmidt (2017), cu relative modificări, pentru analiza MOAH și o purificare cu AlOx, conform protocolului EN 16995:2017, pentru analiza MOSH.

La etapa de epoxidare, extractul obținut în etapa anterioară de saponificare este suplimentat cu 500 μL mCBPA (soluție etanolică, 20 %), urmat de menținere timp de 15 minute la temperatura camerei în stare de agitație magnetică la 500 rpm; 2 mL de soluție de tiosulfat de sodiu (soluție apoasă, 10 %) și 500 μL etanol au fost adăugați peste amestecul anterior format, urmat de agitație magnetică alte 30 secunde. Din această fază, s-a extras 500 μL de extract și s-a transferat într-un autosampler pentru injecția în sistemul LC-GC-FID; în autosampler a fost adăugat anterior un vârf de spatulă de sulfat de sodiu.

Pentru pasajul de purificare cu AlOx, 40 μL din extractul obținut după epoxidare a fost condiționat la 100 μL cu n-hexan (distilat în prealabil) și trecut printr-un cartuș în care au fost puse 3 g AlOx (menținut 24 h la 500 °C și răcit în excicator) și 0,5 g sulfat de sodiu. Extractul spălat a fost colectat și concentrat până la 250 μL, din volumul obținut, 75 μL de extract fiind injectat în sistemul LC-GC-FID.

Determinarea analitică a fost efectuată cu un LC-GC 9000 de la Brechbuhler (Zurich, Elveția) format dintr-un HPLC Phoenix 9000 cuplat la un GC model Trace 1310 de la Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, SUA), configurat cu un dublu canal, pentru ca fracțiile MOSH și MOAH să poată fi analizate în același timp. Ambele canale au fost formate dintr-o linie de gaz purtător, interfață Y, spațiu de retenție și coloană GC, transferul fracției LC în GC fiind efectuat prin interfața Y (Biedermann & Grob, 2009b; Biedermann ș.a., 2009), utilizând tehnica decalajului de retenție în condiții de evaporare parțială concomitentă a eluantului.

Coloana HPLC utilizată a fost de 25 cm×2,1 mm i.d. cu Lichrospher Si 60,5 μm dimensiunea particulei (DGB, Schlossboeckelheim, Germania). Canalul dublu al GC a constat din două coloane PS-255 (1 % vinil, 99 % metil), cu dimensiunea de 15 m×0,25 mm i.d. și o grosime a peliculei de 0,15 μm (Mega, Milano, Italia), conectate printr-o îmbinare în T la precoloanele decalajului de retenție (10 m×0,53 mm i.d.) și la ieșirea de vapori a solventilor (SVE).

Fluxul HPLC a început cu 100 % n-hexan menținut timp de 1 min, atingând după 0,5 min un raport n-hexan/diclorometan de 70/30. Eluția a avut loc la 300 $\mu\text{L}/\text{min}$, în timp ce fracțiile MOSH și MOAH au fost transferate la GC între minutele 2,1–3,6, respectiv 3,8–5,3 minute. După 9 minute de spălare inversă la 500 $\mu\text{L}/\text{min}$, acesta a urmat recondiționarea cu n-hexan (700 $\mu\text{L}/\text{min}$ la 6,5 min și 300 $\mu\text{L}/\text{min}$ la 1,5 min.) înainte de următoarea injecție.

Purtătorul (H_2) a fost setat la presiune constantă (60 kPa), iar la 8,5 min după începerea transferului fracției MOSH (care a avut loc la 51 $^{\circ}\text{C}$), temperatura gradientul a ajuns la 350 $^{\circ}\text{C}$, cu o rată de 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.; FID a fost încălzit la 350 $^{\circ}\text{C}$ și setată la o rată de colectare a datelor de 10 Hz.

Datele au fost colectate și procesate de software-ul Chromeleon (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SUA). Pentru preluarea datelor, cuantificarea s-a bazat pe standardele interne n-C_{13} pentru MOSH și 5B pentru MOAH. Zonele aferente fracțiilor MOSH/MOAH au fost determinate de integrarea coloanelor, după eliminarea interferențelor. Poziția liniei de bază a fost evaluată prin procedura probelor oarbe obținute în aceeași zi, rulând fiecare lot de 6–8 probe/zi.

Adecvarea performanței metodei analitice a fost evaluată în acord cu orientările ghidului JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019) și ale ghidului Eurachem (2014), prin intermediul probelor oarbe, ce presupune verificarea contribuției reactivilor utilizați în timpul procesului analitic la semnalul de măsurare. LOQ-ul pentru o singură fracție n-C și pentru totalul MOSH/MOAH a fost evaluat în conformitate cu ghidul SANTE (SANTE/12682/2019), performanța și criteriile fiind cele raportate în ghidul JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019), respectiv recuperări cuprinse între 70 și 120 % și repetabilitate intermediară.

CAPITOLUL 4. REZULTATE PRIVIND CARACTERIZAREA COMPOZIȚIEI CHIMICE BRUTE A NUTREȚURILOR ȘI A LAPTELUI

CHAPTER 4. RESULTS ON CHARACTERIZATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF FEED AND MILK

Pentru evaluarea posibilității și potențialului de transfer al poluanților din nutrețuri în laptele de vacă s-a determinat compoziția chimică brută a nutrețurilor și s-au analizat comparativ parametri urmăriți, în funcție de unitățile studiate, valorile analitice obținute în urma determinărilor fiind interpretate în concordanță cu valorile stabilite pe baza unor experiențe similare din literatura de specialitate.

Prin caracteristicile sale, laptele este un produs ce se pretează bine condițiilor necesare stocării poluanților, conținutul de grăsime având în special aplicabilitate directă asupra fenomenelor studiate. Astfel, s-a realizat caracterizarea fizico-chimică a probelor de lapte luate în studiu, fiind prezentate cele mai relevante rezultate pentru analiza comparativă realizată, în raport cu specificul alimentației asigurate animalelor în fiecare dintre cele trei unități studiate.

4.1 Rezultate obținute pentru unitatea din zona montană

Probele de nutrețuri au fost caracterizate în funcție de componentele chimice brute determinate, respectiv conținutul în substanță uscată (SU), conținutul în substanțe anorganice (CenB) și conținutul în substanțe organice (PB, GB, CB, SEN).

Rezultatele obținute pentru unitatea din zona montană (S-Mo) au fost structurate în tabelul 4.1 și analizate la nivel de unitate studiată, raportat la SU a probei.

Tabelul 4.1/Table 4.1

Rezultate privind compoziția chimică brută a nutrețurilor pentru unitatea din zona montană
Results on crude chemical composition of feed in the mountain area farm

		SU	CenB	SO	PB	GB	CB	SEN
		%	% SU	% SU	% SU	% SU	% SU	% SU
S–	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	94,0±0,04	8,6±0,1	91,3±0,07	9,7±0,03	0,8±0,05	30,0±0,13	50,8±0,16
FN	CV %	0,1	2,1	-	0,7	16,1	1,0	0,7
S–	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	21,3±0,01	11,2±0,04	88,8±0,03	24,2±0,03	4,6±0,08	20,7±0,03	39,2±0,08
PM	CV %	0,2	0,8	-	0,3	4,2	0,4	0,5

Nutrețurile care alcătuiesc rația animalelor din cadrul unității S-Mo, respectiv fânul natural (rația de iarnă) și pajiștea montană (rația de vară), au avut conținuturi medii de substanță uscată de 94,0±0,04 % (S-FN), respectiv 21,3±0,01 % (S-PM). Comparativ cu valorile regăsite în literatura de specialitate, atât valorile medii obținute pentru probele de fân natural S-FN, cât și valorile medii obținute

pentru probele de pajiște montană S-PM au fost ușor mai mari decât valorile obținute în experiențe similare realizate de Burlacu ș.a. (2002); Avci ș.a. (2006); Pop ș.a. (2006); Preston (2010); Lestingi ș.a. (2012); Aioanei (2013); Van Saun (2013), care au raportat conținuturi medii de substanță uscată de 85,0–92,4 % pentru probe de fân natural și 15,3–20,0 % pentru probe de pajiște montană. Diferențele dintre valorile obținute și valorile considerate referință au o influență minimă asupra rezultatelor obținute, având drept cauze potențiale condițiile de obținere (proces de uscare mai îndelungat) sau de depozitare, în cazul fânului, de stadiul de vegetație al plantei la momentul prelevării probei și condițiile de transport, în cazul pajiștii montane.

Conținutul mediu de cenușă brută al probelor din unitatea S-Mo a fost de $8,6 \pm 0,1$ % pentru probele de fân natural S-FN și $11,2 \pm 0,04$ % pentru probele de pajiște montană S-PM. În cazul fânului natural, valorile obținute au fost mai mari decât cele menționate în literatura de specialitate de către Stanton & LeValley (2010); Aioanei (2013); Van Saun (2013), respectiv 6,46 % , însă s-au încadrat în limitele de valori menționate de Burlacu (1983) pentru fânul natural cu compoziție floristică variată, respectiv 7,2–9,2 %. Pentru pajiștea montană, rezultatele medii obținute au fost în acord cu intervalul 8,0–11,6 %, menționat de Burlacu (1983), Stanton & LeValley (2010); Aioanei (2013); Van Saun (2013).

Valorile privind conținutul în substanță organică raportate în literatura de specialitate de către Burlacu (1983), 89,8–93,6 % pentru nutrețuri verzi și 88,2–91,85 % pentru fânuri au inclus atât valorile medii obținute în rezultatele proprii pentru probele de fân natural S-FN ($91,3 \pm 0,07$ %), cât și valorile medii obținute în rezultatele proprii pentru probele de pajiște montană ($88,8 \pm 0,03$ %).

Valorile privind conținutul de grăsime brută obținute pentru probele de fân natural din unitatea S-Mo au evidențiat conținuturi ușor mai mici de grăsime brută ($0,8 \pm 0,05$ %) față de conținuturile medii de 1,04–1,36 % menționate în alte cercetări similare (Pop ș.a., 2006; Aioanei, 2013; Van Saun, 2013), diferențele având drept cauză eventuale condiții de obținere necorespunzătoare. Pe de altă parte, conținutul mediu de grăsime brută obținut pentru pajiștea montană ($4,6 \pm 0,08$ %) a fost mai ridicat decât cel raportat de Pop ș.a. (2006); Aioanei (2013), pentru același tip de probă (1,97–2,51 %), ceea ce evidențiază astfel o pajiște naturală de bună calitate.

Conținutul mediu de proteină brută obținut pentru probele de fân natural S-FN a fost de $9,7 \pm 0,03$ %, iar pentru probele de pajiște montană S-PM a fost de $24,2 \pm 0,03$ %. Comparativ, valorile medii obținute se încadrează în intervalele menționate în literatura de profil (Burlacu, 1983) pentru fânul natural (9,4–12,9 %), însă sunt mai mari decât cele raportate, pentru pajiștea montană (10,4–17,5 %).

Nutrețurile din unitatea S-Mo au fost caracterizate ca având un conținut de celuloză brută de $30,0 \pm 0,13$ % fânul natural (S-FN) și $20,7 \pm 0,03$ % pajiștea montană (S-PM), pentru ambele probe analizate, valorile medii încadrându-se în intervalele optime menționate de Burlacu (1983); Preston (2010); Stanton & LeValley (2010);

Aioanei (2013); Van Saun (2013), care au raportat conținuturi medii de celuloză brută de 28,4–32,6 % pentru fânul natural și 20,2–27,4 % pentru pajiștea montană.

În ceea ce privește conținutul de substanțe extractive neazotate, s-au obținut valori medii de $50,8 \pm 0,16$ % pentru probele de fân natural S-FN și $39,20 \pm 0,08$ % pentru probele de pajiște montană S-PM.

Pentru caracterizarea laptelui în raport cu studiul poluanților, s-a determinat compoziția chimică brută a probelor de lapte corespunzătoare fiecărei rații; rezultatele medii obținute au fost prezentate în tabelul 4.2, raportat la SU a probei.

Tabelul 4.2/Table 4.2

Rezultate privind compoziția chimică brută a laptelui pentru unitatea din zona montană
Results on chemical composition of milk from the mountain area farm

		SU	CenB	SO	GB		SUn	PB
		%	% SU	% SU	% SU	%	% SU	% SU
S–	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	12,3±0,07	3,8±0,44	96,2±0,1	37,3±0,25	4,6	62,7±0,25	29,3±1,07
L _i	CV (%)	1,4	5,1	-	1,5	-	0,9	8,2
S–	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	11,9±0,05	3,6±0,33	96,3±0,35	35,4±0,6	4,2	64,6±0,6	31,2±1,25
L _v	CV (%)	1,0	0,2	-	3,8	-	2,1	8,9

Determinarea conținutului de substanță uscată din lapte a evidențiat valori medii de $12,3 \pm 0,07$ % SU totală pentru probele de lapte din rația de iarnă S-L_i și valori medii de $11,9 \pm 0,05$ % SU totală pentru probele de lapte din rația de vară S-L_v, raportarea valorilor obținute la valorile din alte experiențe similare indicând conținuturi normale de substanță uscată totală pentru ambele probe analizate.

În ceea ce privește conținutul în grăsime brută, probele de lapte din rația de iarnă S-L_i și cele din rația de vară S-L_v au avut un conținut mediu de grăsime brută de 4,6 %, respectiv 4,2 %. Raportat la conținutul de substanță uscată totală, conținutul de grăsime brută al celor două probe de lapte a fost de $37,3 \pm 0,25$ % pentru S-L_i, respectiv $35,4 \pm 0,6$ % pentru S-L_v. Având în vedere că în medie, conform literaturii de specialitate, conținutul de grăsime brută al laptelui de vacă este cuprins între 3,2–6 %, s-a raportat că valorile obținute s-au încadrat în limitele de variație stabilite.

În inversă proporționalitate cu conținutul de grăsime brută, conținutul de substanță uscată negrasă raportat la substanța uscată totală a laptelui a fost de $62,7 \pm 0,25$ % pentru probele S-L_i și $64,6 \pm 0,6$ % pentru probele S-L_v, aprecierea parametrului fiind încadrată în limite normale.

În privința conținutului de proteină brută, pentru probele S-L_i și S-L_v s-au obținut valori medii de $29,3 \pm 1,07$ %, respectiv $31,2 \pm 1,25$ %.

În ceea ce privește componenta anorganică, respectiv conținutul mediu de cenușă brută, probele de lapte analizate au avut un conținut mediu de cenușă brută de $3,8 \pm 0,44$ % pentru probele de lapte din rația de iarnă (S-L_i) și $3,6 \pm 0,33$ % pentru probele de lapte din rația de vară (S-L_v).

4.2 Rezultate obținute pentru unitatea din zona rurală

În cazul unității din zona rurală M-Rr, a fost analizată compoziția chimică brută a cinci tipuri de nutrețuri: fân de lucernă M-FL, siloz de porumb M-SP, porumb boabe M-PB, șrot de soia M-SS și nutreț amestec M-AU; rezultatele obținute au fost structurate în tabelul 4.3 și analizate la nivel de unitate studiată, raportat la SU a probei.

Tabelul 4.3/Table 4.3

Rezultate privind compoziția chimică brută a nutrețurilor pentru unitatea din zona rurală
Results on crude chemical composition of feed in the rural area farm

		SU	CenB	SO	PB	GB	CB	SEN
		%	% SU	% SU	% SU	% SU	% SU	% SU
M-FL	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	92,1 $\pm$ 0,04	10,1 $\pm$ 0,3	89,9 $\pm$ 0,25	18,5 $\pm$ 0,04	1,7 $\pm$ 0,2	34,9 $\pm$ 0,2	34,8 $\pm$ 0,34
	CV (%)	0,1	6,1	-	0,5	26,1	1,4	2,2
M-SP	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	35,8 $\pm$ 0,01	3,6 $\pm$ 0,06	96,3 $\pm$ 0,06	9,3 $\pm$ 0,04	2,7 $\pm$ 0,1	17,6 $\pm$ 0,6	66,7 $\pm$ 0,18
	CV (%)	0,1	4,0	-	1,0	10,2	0,8	0,6
M-PB	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	83,8 $\pm$ 0,51	1,2 $\pm$ 0,1	98,8 $\pm$ 0,9	10,7 $\pm$ 0,08	4,6 $\pm$ 0,04	2,0 $\pm$ 0,2	81,5 $\pm$ 0,1
	CV (%)	1,4	2,5	-	1,8	2,0	2,5	0,3
M-SS	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	88,7 $\pm$ 0,02	7,0 $\pm$ 0,01	92,9 $\pm$ 0,01	53,8 $\pm$ 0,06	0,9 $\pm$ 0,06	5,1 $\pm$ 0,05	33,1 $\pm$ 0,1
	CV (%)	0,06	0,4	-	0,3	14,8	2,2	0,7
M-AU	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	46,2 $\pm$ 0,01	7,5 $\pm$ 0,12	92,5 $\pm$ 0,11	14,4 $\pm$ 0,06	2,4 $\pm$ 0,02	22,9 $\pm$ 0,6	52,7 $\pm$ 0,2
	CV (%)	0,04	3,7	-	1,0	1,8	0,6	0,9

Pentru probele de fân de lucernă M-FL, s-a obținut un conținut mediu de substanță uscată de 92,1 $\pm$ 0,04 %, rezultatele fiind similare cu limitele indicate în literatura de specialitate pentru aceleași tipuri de probe, respectiv între 83,0–92,5 %, valori raportate de autori precum Pop ș.a. (2006); Preston (2010); Stanton & LeValley (2010); Donosă (2011); Aioanei (2013); Coșman ș.a. (2018).

Pentru probele de siloz de porumb M-SP, conținutul în substanță uscată, de 35,8 $\pm$ 0,01 % a fost în concordanță cu limitele de variație de 20,4–55,1 % evidențiate de Martin ș.a. (2004); Pop ș.a. (2006); Tassoul ș.a. (2007); Preston (2010); Stanton & LeValley (2010); Aioanei (2013); Coșman ș.a. (2018).

Evaluând prin prisma literaturii de profil, conținutul de substanță uscată al probelor de porumb boabe M-PB (83,8 $\pm$ 0,51 %) a fost ușor mai redus în comparație cu limitele de variație 87,0–90,0 % stabilite pentru probele de porumb boabe analizate în alte studii (Burlacu ș.a., 2002; Pop ș.a., 2006; Tassoul ș.a., 2007; Aioanei, 2013; Coșman ș.a., 2018), diferențele evidențiate fiind în general o consecință a momentului de recoltare a culturii în sine.

Dacă pentru porumbul boabe s-au identificat mici diferențe între valorile obținute față de cele raportate în literatura de specialitate, în cazul probelor de șrot de soia M-SS, valorile obținute în urma determinărilor efectuate (88,7 $\pm$ 0,02 %) au fost în concordanță cu valorile raportate de Coșman ș.a. (2018), care au evidențiat un conținut mediu de substanță uscată pentru șrotul de soia între 86,86–93,26 %.

Nutrețul amestec administrat animalelor M-AU a fost caracterizat de un conținut mediu de substanță uscată de $46,2 \pm 0,01$ %, în concordanță cu valorile medii privind conținutul în substanță uscată obținute pentru fiecare nutreț constituent.

În ceea ce privește conținutul de cenușă brută, pentru probele de fân de lucernă M-FL s-au obținut valori medii de $10,1 \pm 0,3$ %, valorile obținute fiind corespunzătoare celor raportate în literatura de profil, respectiv de 6,75–12,5 % (Burlacu, 1983; Martin ș.a., 2004; Pop ș.a., 2006; Donosă, 2011; Aioanei, 2013).

Analiza conținutului de cenușă brută pentru silozul de porumb M-SP a evidențiat valori medii de $3,6 \pm 0,06$ %, ușor mai mici față de cele obținute de Burlacu (1983); Tassoul ș.a. (2007); Coșman ș.a. (2018), respectiv între 4,11–5,6 %.

Determinarea conținutului de cenușă brută pentru probele de porumb boabe M-PB și probele de șrot de soia M-SS au evidențiat valori medii cuprinse între $1,1 \pm 0,01$ % și $7,0 \pm 0,01$ %. Raportat la literatura de specialitate (Burlacu ș.a., 2002; Pop ș.a., 2006; Aioanei, 2013; Coșman ș.a., 2018), valorile medii obținute coincid cu valorile medii raportate pentru aceleași tipuri de nutrețuri, respectiv 1,6 % pentru porumbul boabe și 6,8 % pentru șrotul de soia.

În privința conținutului de cenușă brută al probelor de nutreț amestec M-AU, valorile medii obținute ($7,5 \pm 0,12$ %) au fost în concordanță cu valorile medii ale aceluiași parametru obținute pentru nutrețurile constituențe.

Valorile procentuale ale conținutului în substanță organică au variat între $89,9 \pm 0,25$ – $98,8 \pm 0,09$ %, datele obținute fiind în acord cu valorile menționate de către Burlacu (1983), respectiv 88,2–91,85 % pentru fânuri, 87,05–93,85 % pentru silozul de porumb și 96,5 % pentru porumbul boabe și șrotul de soia.

Din punct de vedere al conținutului de grăsime brută, pentru fânul de lucernă M-FL s-au obținut valori medii de $1,7 \pm 0,2$ %, în concordanță cu limitele de variație 0,9–2,5 %, menționate de Pop ș.a. (2006); Stanton & LeValley (2010); Donosă (2011); Aioanei (2013). De asemenea, valori medii în concordanță cu valorile obținute în experiențe similare (1,31–2,19 %) au fost evidențiate pentru probele de siloz de porumb M-SP, pentru care s-a obținut în urma determinărilor un conținut mediu de grăsime brută de $2,7 \pm 0,1$ %.

Pentru probele de porumb boabe M-PB și șrot de soia M-SS s-au evidențiat conținuturi medii de grăsime brută de $4,6 \pm 0,04$ %, respectiv $0,9 \pm 0,06$ %, valorile determinate fiind în acord cu literatura de specialitate consultată (Pop ș.a., 2006; Aioanei, 2013; Coșman ș.a., 2018) pentru porumbul boabe (3,9–4,3 %), însă mai mici decât cele menționate în alte cercetări pentru șrotul de soia (1,8–2,0 %).

Probele de nutreț amestec M-AU au avut un conținut mediu de grăsime brută de $2,4 \pm 0,02$ %, valori ce coincid cu valorile medii ale conținutului de grăsime brută obținute pentru nutrețurile componente ale amestecului.

În ceea ce privește conținutul de proteină brută, pentru fânul de lucernă M-FL, valorile medii obținute ($18,5 \pm 0,04$ %) au fost considerate optime în raport cu intervalul 14,0–22,5 % menționat în literatura de specialitate pentru același tip de

nutrețuri (Burlacu, 1983). În acord cu alte cercetări similare a fost și conținutul de proteină brută de $9,3 \pm 0,04$ %, evidențiat pentru probele de siloz de porumb (M-SP), raportat la 7,5–10,9 %, valori medii menționate de Pop ș.a. (2006); Aioanei (2013).

Pentru probele de porumb boabe M-PB și șrot de soia M-SS s-au obținut valori medii ale conținutului de proteină brută de $10,7 \pm 0,08$ % și $53,8 \pm 0,06$ %, ambele valori fiind similare celor menționate de către Burlacu (1983); Coșman ș.a. (2018); autorii menționați au raportat un conținut mediu de proteină brută de 10,6 % pentru porumbul boabe și 50,6–54,2 % pentru șrotul de soia.

Amestecul de nutrețuri M-AU a avut un conținut mediu de proteină brută de $14,4 \pm 0,06$ %, în acord cu valorile medii obținute pentru nutrețurile componente.

În urma determinărilor conținutului de celuloză brută, pentru probele de nutrețuri s-au obținut valori medii de $34,9 \pm 0,2$ % în fânul de lucernă M-FL; $17,6 \pm 0,6$ % în silozul de porumb M-SP; $2,0 \pm 0,2$ % în porumbul boabe M-PB, $5,1 \pm 0,05$ % M-SS în șrotul de soia, respectiv $22,9 \pm 0,6$ % în nutrețurile amestec.

Raportat la literatura de profil, valorile astfel obținute corespund în marea lor majoritate cu valorile menționate în lucrări similare realizate de Pop ș.a. (2006); Preston (2010); Stanton & LeValley (2010); Aioanei (2013); Coșman ș.a. (2018), respectiv 22,4–39,8 % pentru fânul de lucernă; 2,5 % pentru porumbul boabe sau 4,1–6,3 % pentru șrotul de soia; pentru probele de siloz de porumb, valorile medii obținute au fost mai mici decât valorile raportate ca referință (20,5–29,4 %).

Valorile medii obținute pentru conținutul de substanțe extractive neazotate au fost de $34,8 \pm 0,34$ % pentru fânul de lucernă M-FL; $66,7 \pm 0,18$ % pentru silozul de porumb M-SP; $81,5 \pm 0,1$ % pentru porumbul boabe M-PB; $33,1 \pm 0,1$ % pentru șrotul de soia M-SS, respectiv $52,7 \pm 0,2$ % pentru nutrețurile amestec M-AU.

A fost analizată compoziția chimică brută a probelor de lapte ale unității din zona rurală; rezultatele medii au fost structurate în tabelul 4.4, raportat la SU a probei.

Tabelul 4.4/ Table 4.4

Rezultate privind compoziția chimică brută a laptelui pentru unitatea din zona rurală
Results on chemical composition of milk from the rural area farm

		SU	CenB	SO	GB	SUn	PB
		%	% SU	% SU	% SU	%	% SU
M	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	$13,1 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,3$	$96,7 \pm 0,01$	$29,6 \pm 0,53$	3,9	$70,4 \pm 0,5$
- L	CV (%)	1,7	8,9	-	4,0	-	4,1

Pentru probele de lapte M-L ale unității din zona rurală s-au obținut valori medii ale conținutului de substanță uscată totală de $13,1 \pm 0,1$ %, valorile obținute încadrându-se în intervalul de raportare 10,5–14,0 % substanță uscată totală a laptelui.

Probele de lapte M-L au fost caracterizate în urma determinărilor efectuate ca având un conținut mediu de grăsime brută de 3,9 %, respectiv $29,6 \pm 0,53$ %

grăsimă brută raportată la conținutul de substanță uscată totală; valorile obținute au fost în concordanță cu intervalul valoric indicat în alte cercetări similare.

Conținutul de substanță uscată negrasă în cazul probelor M-L a fost de $70,4 \pm 0,5$ %, din care proteină brută de $29,5 \pm 0,54$ %, în timp ce valorile medii ale conținutului de cenușă brută au fost de $3,2 \pm 0,3$ %, totalitatea valorilor obținute fiind corespunzătoare intervalului de raportare menționat în literatura de specialitate.

4.3 Rezultate obținute pentru unitatea din zona urbană

Pentru unitatea din zona urbană R-U a fost analizată compoziția chimică brută a nutrețurilor ce alcătuiesc rația animalelor: fân de lucernă R-FL; semisiloz de lucernă R-SSL; siloz de porumb R-SP; porumb boabe R-PB; șrot de soia R-SS; triticales R-T; borhot de bere R-BB și nutrețuri amestec R-AU; rezultatele obținute au fost structurate în tabelul 4.5 și analizate la nivel de unitate studiată, raportat la SU a probei.

Tabelul 4.5/Table 4.5

Rezultate privind compoziția chimică brută a nutrețurilor pentru unitatea din zona urbană
Results on crude chemical composition of feed in the urban area farm

		SU	CenB	SO	PB	GB	CB	SEN
		%	% SU	% SU	% SU	% SU	% SU	% SU
R-FL	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	92,7 $\pm$ 0,02	13,2 $\pm$ 0,1	86,7 $\pm$ 0,1	21,9 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,07	28,2 $\pm$ 0,1	34,8 $\pm$ 0,08
	CV (%)	0,05	1,7	-	1,1	8,8	0,9	0,6
R-SSL	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	26,8 $\pm$ 0,02	13,5 $\pm$ 0,1	86,4 $\pm$ 0,1	14,1 $\pm$ 0,6	2,0 $\pm$ 0,06	36,3 $\pm$ 0,1	34,2 $\pm$ 0,2
	CV (%)	0,2	2,4	-	1,0	7,4	0,6	1,4
R-SP	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	34,9 $\pm$ 0,01	3,3 $\pm$ 0,03	96,7 $\pm$ 0,3	8,7 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,1	18,4 $\pm$ 0,1	65,8 $\pm$ 0,2
	CV (%)	0,1	2,4	-	2,6	5,7	1,1	0,7
R-PB	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	86,9 $\pm$ 0,07	1,3 $\pm$ 0,01	98,6 $\pm$ 0,1	10,6 $\pm$ 0,1	4,3 $\pm$ 0,07	2,0 $\pm$ 0,03	81,7 $\pm$ 0,16
	CV (%)	0,2	2,1	-	2,7	3,9	3,5	0,4
R-SS	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	89,3 $\pm$ 0,03	7,3 $\pm$ 0,01	92,7 $\pm$ 0,1	54,6 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,07	3,8 $\pm$ 0,07	33,1 $\pm$ 0,2
	CV (%)	0,1	0,3	-	0,5	13,9	4,5	1,3
R-T	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	84,1 $\pm$ 0,01	2,2 $\pm$ 0,02	97,7 $\pm$ 0,3	15,4 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,04	77,7 $\pm$ 0,1
	CV (%)	0,03	2,8	-	0,6	17,5	3,4	0,3
R-BB	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	25,0 $\pm$ 0,05	4,0 $\pm$ 0,03	95,9 $\pm$ 0,3	34,1 $\pm$ 0,3	9,0 $\pm$ 0,17	15,1 $\pm$ 0,1	37,7 $\pm$ 0,2
	CV (%)	0,05	2,1	-	0,2	4,3	1,9	1,1
R-AU	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	37,1 $\pm$ 0,01	4,3 $\pm$ 0,04	95,6 $\pm$ 0,4	10,1 $\pm$ 0,1	2,9 $\pm$ 0,07	18,3 $\pm$ 0,4	64,3 $\pm$ 0,1
	CV (%)	0,1	2,2	-	1,6	6,0	0,5	0,41

Probele de fân de lucernă R-FL au fost caracterizate de un conținut mediu de substanță uscată de $92,7 \pm 0,02$ %, valorile medii obținute prezentând similarități cu valorile raportate în literatura de specialitate (83,0–92,5 %) pentru fânul de lucernă analizat în alte studii (Preston, 2010; Donosă, 2011; Aioanei, 2013).

Pentru probele de semisiloz de lucernă R-SSL s-a obținut un conținut mediu de substanță uscată de $26,8 \pm 0,02$ %, în timp ce pentru probele de siloz de porumb R-SP s-a obținut un conținut mediu de substanță uscată de $34,9 \pm 0,01$ %. Comparativ,

valorile medii obținute pentru probele R-SSL și valorile medii obținute pentru probele R-SP privind conținutul de substanță uscată se încadrează în intervalele menționate în literatura de specialitate de către Pop ș.a. (2006); Aioanei (2013); Coșman ș.a. (2018), respectiv de 26,5–27,5 % pentru semisilozul de lucernă și 20,4–55,1 % pentru silozul de porumb.

Valorile privind conținutul în substanță uscată pentru probele de porumb boabe R-PB au fost de $86,9 \pm 0,07$ %; pentru probele de șrot de soia R-SS s-a obținut $89,3 \pm 0,03$ % conținut mediu de substanță uscată, în timp ce conținutul de substanță uscată al probelor de triticales R-T a fost de $84,1 \pm 0,01$ %. Conform datelor din literatura de specialitate (Pop ș.a., 2006; Tassoul ș.a., 2007; Coșman ș.a., 2018), valorile medii ale conținutului de substanță uscată obținute pentru aceste probe au fost în acord cu cele regăsite în experiențe similare, respectiv 87,0–90,0 % pentru porumbul boabe; 86,86–93,26 % pentru șrotul de soia; 87,34 % pentru triticales.

Probele de borhot de bere R-BB au evidențiat în general conținuturi medii de substanță uscată de $25,0 \pm 0,05$ %, din analiza comparativă cu rezultatele regăsite în literatura de specialitate, rezultând că valorile obținute au fost similare cu valorile menționate pentru același tip de probă de Pop ș.a. (2006).

Nutrețurile amestec R-AU au evidențiat în urma determinărilor efectuate un conținut mediu de substanță uscată de $37,1 \pm 0,01$ %, în concordanță cu valorile medii privind conținutul în substanță uscată obținute pentru fiecare nutreț constituent.

Conținutul de cenușă brută obținut pentru probele de fân de lucernă R-FL a fost de $13,2 \pm 0,1$ %, fiind aproximativ de două ori mai mare decât valoarea raportată (6,75 %) de Pop ș.a. (2006); Lestingi ș.a. (2012); Aioanei (2013); Van Saun (2013), însă în acord cu intervalul valoric menționat de Burlacu (1983), de 8,5–12,5 %.

În comparație cu literatura de profil, valorile obținute în urma determinărilor conținutului de cenușă brută pentru probele de semisiloz de lucernă R-SSL ($13,5 \pm 0,1$ %) și pentru probele de siloz de porumb R-SP ($3,3 \pm 0,03$ %), nu prezintă diferențe importante față de valorile obținute de Burlacu (1983); Pop ș.a. (2006); Aioanei (2013); Van Saun (2013); Coșman ș.a. (2018), respectiv 9,8–14,2 % pentru semisilozul de lucernă, fiind ușor mai mici decât intervalul 4,11–5,6 %, menționat de aceiași autori, doar pentru silozul de porumb.

Pentru probele din unitatea R-U s-au mai obținut valori medii ale conținutului de cenușă brută de $1,3 \pm 0,01$ % pentru probele de porumb boabe R-PB; $7,3 \pm 0,01$ % pentru probele de șrot de soia R-SS; $2,2 \pm 0,02$ % pentru probele de triticales R-T. Comparând valorile medii obținute cu datele menționate în literatura de specialitate pentru același parametru, nu s-au evidențiat diferențe importante, fiind situate pe un interval valoric similar, 1,2–1,6 % pentru porumb boabe; 6,80 % pentru șrot de soia; 2,2 % pentru triticales.

Evaluând conținutul de cenușă brută al probelor de borhot de bere R-BB, s-au evidențiat valori medii de $4,0 \pm 0,03$ %, raportat la literatura de specialitate, valorile obținute fiind mai mici decât valorile evidențiate în alte experiențe similare (5,2 %).

În ceea ce privește probele de nutreț amestec R-AU, conținutul mediu de cenușă brută a fost în acord cu valorile medii obținute pentru nutrețurile constitutive ale amestecului, fiind raportate astfel valori medii de $4,3 \pm 0,04$ % SU.

Valorile procentuale ale conținutului în substanță organică au variat între $86,4 \pm 0,14$ – $98,6 \pm 0,01$ %, datele obținute fiind în acord cu cele menționate în literatura de specialitate de către Burlacu (1983), respectiv $88,2$ – $91,85$ % pentru fânuri, $87,05$ – $93,85$ % pentru siloz de porumb și semisiloz de lucernă, $96,5$ % pentru porumb boabe, șrot de soia sau triticales, respectiv $89,8$ – $93,6$ % pentru borhot de bere.

Analiza fânului de lucernă R-FL a evidențiat un conținut mediu de grăsime brută de $1,8 \pm 0,07$ %, în acord cu valorile medii ($0,9$ – $2,5$ %) raportate în cercetări similare efectuate de Preston (2010); Stanton & LeValley (2010) sau menționate în literatura de specialitate de către Pop ș.a. (2006); Coșman ș.a. (2018).

Semisilozul de lucernă R-SSL și silozul de porumb R-SP din unitatea R-U au fost caracterizate de un conținut mediu de grăsime brută de $2,0 \pm 0,06$ %, respectiv $3,6 \pm 0,1$ %. Analiza comparativă a datelor obținute cu cele raportate în literatura de specialitate evidențiază concordanțe din punct de vedere valoric pentru probele de semisiloz de lucernă, valorile obținute pentru silozul de porumb fiind însă mai mari decât valorile obținute de Aioanei (2013) într-o cercetare similară ($1,31$ – $2,19$ %).

Conținutul determinat de grăsime brută s-a situat în jurul valorilor de $4,3 \pm 0,07$ % pentru probele de porumb boabe R-PB; $1,2 \pm 0,07$ % pentru probele de șrot de soia R-SS și $1,6 \pm 0,1$ % pentru probele de triticales R-T. Evaluând comparativ cu datele regăsite în literatura de specialitate, toate valorile determinate au coincis cu intervalul mediu obținut pentru aceleași tipuri de probe, respectiv $3,9$ – $4,3$ % pentru porumbul boabe; $1,08$ – $2,0$ % pentru șrotul de soia și $1,9$ % pentru triticales.

Determinarea conținutului de grăsime brută pentru probele de borhot de bere R-BB au evidențiat valori medii de $9,0 \pm 0,17$ %; valorile obținute au coincis cu valorile raportate pentru același tip de nutreț ($8,6$ %) de către Avci ș.a. (2006); Pop ș.a. (2006); Aioanei (2013); Coșman ș.a. (2018).

Analiza nutrețurilor amestec au evidențiat un conținut mediu de grăsime brută de $2,9 \pm 0,07$ %, valorile medii obținute fiind în concordanță cu valorile medii obținute pentru nutrețurile componente ale amestecului.

Probele de fân de lucernă R-FL au fost caracterizate de un conținut mediu de proteină brută de $21,9 \pm 0,1$ %, valorile încadrându-se în intervalul $14,0$ – $22,5$ %, menționat de către Burlacu (1983); Preston (2010); Stanton & LeValley (2010).

Valorile privind conținutul de proteină brută au fost de $8,7 \pm 0,1$ % pentru probele de siloz de porumb R-SP și $14,1 \pm 0,6$ % pentru probele de semisiloz de lucernă R-SSL. Dacă pentru probele R-SP, valorile obținute au coincis cu cele din literatura de specialitate ($7,5$ – $10,9$ %), pentru probele R-SSL, valorile obținute au fost mai mici decât cele menționate de Burlacu (1983), respectiv $17,9$ – $20,2$ %.

S-au mai obținut valori medii ale conținutului de proteină brută de $10,6 \pm 0,1$ % pentru probele de porumb boabe R-PB; $54,6 \pm 0,1$ % pentru probele de

șrot de soia R-SS și $15,4 \pm 0,4$ % pentru probele de triticele R-T. Valorile obținute au fost corespunzătoare pentru toate probele analizate, fiind incluse în intervalele valorice menționate în literatura de profil pentru aceleași tipuri de probe (10,6 % pentru porumb boabe; 50,6–54,2 % pentru șrot de soia; 13,8 % pentru triticele).

Pentru probele de borhot de bere R-BB, s-au determinat conținuturi medii de proteină brută de până la $34,1 \pm 0,3$ %, nefiind evidențiate neconcordanțe din punct de vedere valoric în ceea ce privește datele obținute raportat la conținutul de proteină brută menționat de Burlacu (1983); Pop ș.a., (2006) pentru aceleași tipuri de probe.

Pentru probele de nutreț amestec R-AU s-au evidențiat valori medii ale conținutului de proteină brută de $10,1 \pm 0,1$ %, valori medii ce corespund cu valorile obținute pentru nutrețurile ce formează amestecul analizat.

În ceea ce privește conținutul de celuloză brută, pentru fânul de lucernă R-FL s-au obținut valori medii de $28,2 \pm 0,1$ %, încadrându-se în intervalul menționat de Pop ș.a. (2006); Coșman ș.a. (2018) pentru fânul de lucernă (22,4–39,8 %).

În cazul probelor de siloz de porumb R-SP și semisiloz de lucernă R-SSL, conținutul mediu de celuloză brută determinat a fost de $18,4 \pm 0,1$ %, respectiv $36,3 \pm 0,1$ %. Dacă pentru probele R-SSL valorile obținute au fost considerate optime pentru intervalul 21,6–37,0 %, raportat de Burlacu (1983), pentru probele R-SP, valorile obținute au fost mai mici decât intervalul de referință 21,2–29,4 %.

Valorile obținute pentru porumbul boabe R-PB ($2,0 \pm 0,03$ %); șrotul de soia R-SS ($3,8 \pm 0,07$ %) și triticele R-T ($3,1 \pm 0,04$ %) au fost situate sub media valorilor raportate de Burlacu (1983); Pop ș.a. (2006); Coșman ș.a. (2018), respectiv 2,5 % pentru porumbul boabe; 4,1–6,3 % pentru șrotul de soia și 3,7 % pentru triticele.

Probele de borhot de bere R-BB au avut un conținut mediu de celuloză brută de $15,1 \pm 0,1$ %, similar conținutului mediu de 15,0 % celuloză brută menționat de Burlacu (1983); Aioanei (2013). Pentru nutrețul amestec R-AU s-a evidențiat un conținut mediu de celuloză brută de $18,3 \pm 0,4$ %, valorile obținute fiind în concordanță cu valorile obținute pentru nutrețurile constitutive.

Pentru fânul de lucernă R-FL s-au obținut valori medii ale conținutului de substanțe extractive neazotate de $34,8 \pm 0,08$ %, în timp ce pentru semisilozul de lucernă R-SSL și silozul de porumb R-SP s-au obținut valori medii ale conținutului de substanțe extractive neazotate de $34,2 \pm 0,2$ %, respectiv $65,8 \pm 0,2$ %.

Determinarea conținutului de substanțe extractive neazotate a mai evidențiat valori medii de $81,7 \pm 0,16$ % pentru probele de porumb boabe R-PB; $33,1 \pm 0,2$ % pentru probele de șrot de soia R-SS și $77,7 \pm 0,1$ % pentru probele de triticele R-T.

Pentru borhotul de bere R-BB, conținutul mediu de substanțe extractive neazotate a fost de $37,7 \pm 0,2$ %, în timp ce nutrețurile amestec R-AU au fost caracterizate de un conținut mediu de substanțe extractive neazotate de $64,3 \pm 0,1$ %, în acord cu valorile medii obținute pentru nutrețurile componente.

Valorile medii privind ponderea componentelor chimice brute ale probelor de lapte ale unității R-U au fost prezentate în tabelul 4.6, raportat la SU a probei.

Tabelul 4.6/Table 4.6

Rezultate privind compoziția chimică brută a laptelui pentru unitatea din zona urbană
Results on chemical composition of milk from the urban area farm

		SU	CenB	SO	GB		SUn	PB
		%	% SU	% SU	% SU	%	% SU	% SU
R	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	12,5±0,1	4,6±0,6	95,4±0,02	29,6±0,4	3,7	70,3±0,4	30,2±0,9
-L	CV (%)	1,9	7,9	-	3,3	-	1,4	7,0

Probele de lapte R-L au obținut în urma determinărilor valori medii ale conținutului de substanță uscată totală de 12,5±0,1 %; raportarea valorilor obținute la intervalele indicate în literatura de specialitate au evidențiat că valorile parametrilor determinați au fost considerate normale.

Pentru probele de lapte R-L s-a evidențiat un conținut mediu de grăsime brută de 3,7 %, respectiv 29,6±0,4 % din substanța uscată totală, rezultatele obținute fiind în concordanță cu valorile menționate în literatura de specialitate, ceea ce permite astfel caracterizarea parametrului analizat ca fiind situat în limite normale.

Conținutul mediu de proteină brută al probelor R-L a fost de 30,2±0,95 %, în timp ce conținutul mediu de cenușă brută a fost de 4,6±0,6 %, valorile obținute fiind în acord cu valorile obținute în alte experiențe similare.

4.4 Analiza comparativă privind compoziția chimică brută a nutrețurilor și a laptelui

În vederea evaluării relației dintre componentele nutritive ale nutrețurilor și procesul de acumulare al poluanților, din totalitatea componentelor chimice brute ale nutrețurilor au fost analizate comparativ ponderile privind conținutul de substanță uscată (SU), substanțe organice (SO) și grăsime brută (GB) din cadrul celor trei unități, iar rezultatele medii au fost prezentate în fig. 4.1, raportat la SU a probelor.

Analiza comparativă privind conținutul de substanță uscată a nutrețurilor a arătat în general o uniformitate la nivelul fiecărei unități studiate, cu o distribuție echilibrată între nutrețurile cu un conținut mai mare de substanță uscată și nutrețurile cu umiditate mai ridicată.

Dacă pentru unitatea din zona montană S-Mo, rația animalelor este reprezentată de o singură categorie de nutreț pe sezon, în unitatea din zona rurală M-Rr și unitatea din zona urbană R-U s-a evidențiat că predomină nutrețurile cu un conținut ridicat de substanță uscată, precum fânul de lucernă, porumbul boabe, șrotul de soia, valorile medii fiind situate în general în intervalul 85,0–92,0 % SU. În cadrul unităților M-Rr și R-U, conținuturi mai reduse de substanță uscată au fost raportate pentru probele de silozuri și borhot, în medie 25,0–35,0 %, precum și pentru nutrețurile amestec, pentru care s-au obținut o medie în jurul valorilor de 40 % SU.

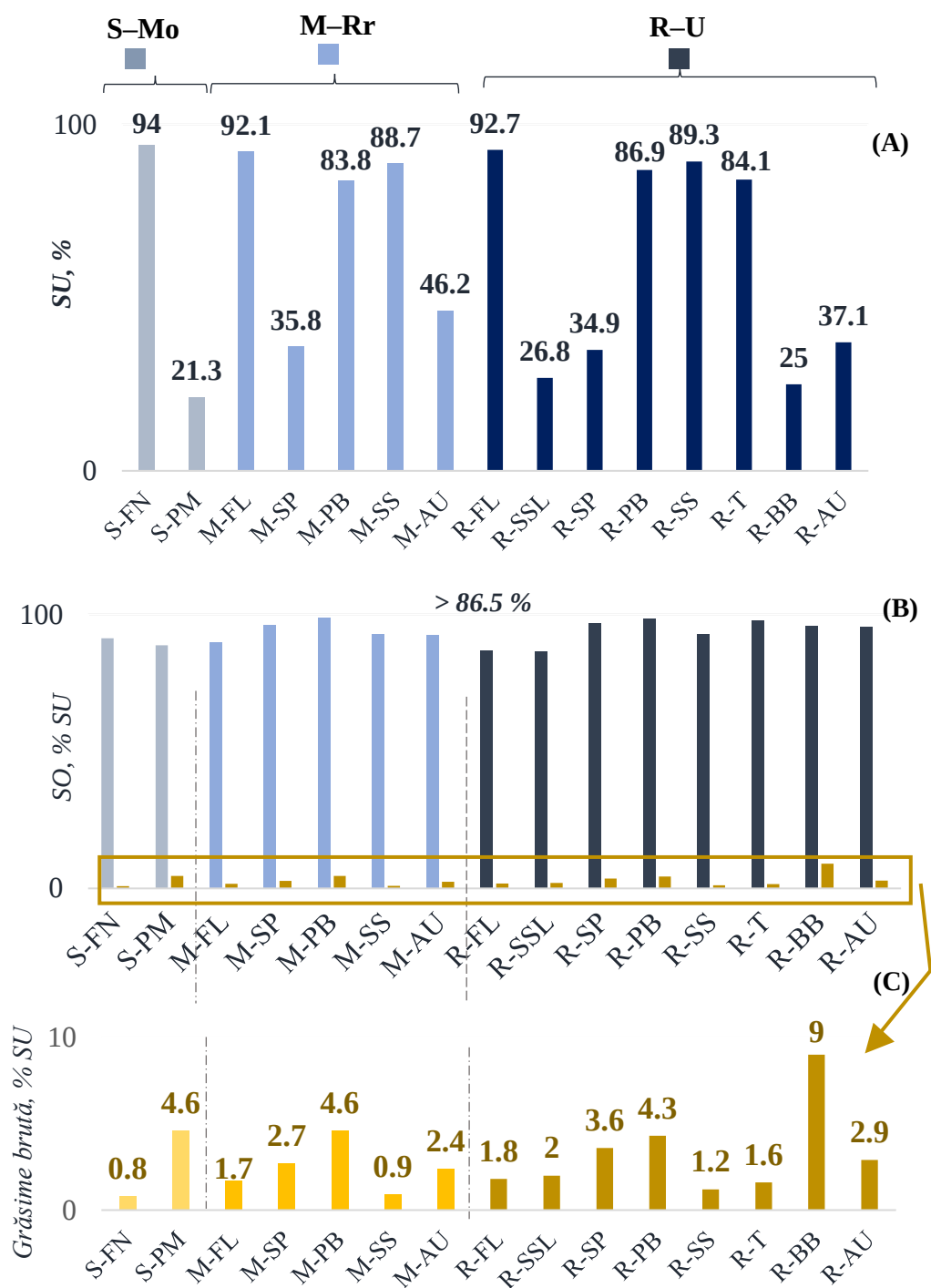


Figura 4.1 Conținutul mediu de substanță uscată (A, %), substanțe organice (B, % SU) și grăsime brută (C, % SU) al nutrețurilor

Figure 4.1 The average content of dry matter (A, %), organic matter (B, % DM) and crude fat (C, % DM) of the feeds

Deși unitatea din zona montană este reprezentată de cele mai puține probe, în urma determinărilor conținutului de substanță uscată, unitatea S-Mo a fost situată la extreme, probele reprezentative ale acesteia fiind cele care au avut conținutul cel mai ridicat de substanță uscată dintre toate probele analizate (94 % SU în fânul de lucernă), precum și conținutul cel mai redus de substanță uscată dintre toate probele analizate (21,3 % SU în pajiștea montană).

Între unitatea din zona rurală și unitatea din zona urbană, valorile obținute privind conținutul de substanță uscată au fost ușor mai ridicate pentru probele de nutrețuri din unitatea R-U, cu valori maxime obținute la nivel de unitate de 84,1–92,7 % SU, comparativ cu probele de nutrețuri din unitatea M-Rr, unde la nivel de unitate valorile maxime obținute s-au situat în intervalul 83,8–92,1 % pentru categorii similare de nutrețuri. În urma analizei, s-a constatat că diferențele evidențiate pot fi în general explicate de condițiile diferite de obținere sau depozitare a nutrețurilor, așa cum nu pot fi excluși factorii subiectivi ce pot interveni pe durata prelucrării și analizei probelor.

Analiza conținutului nutrețurilor în substanță organică a evidențiat că s-au obținut în general valori peste 86,5 % conținut de substanță organică în toate probele analizate, valori în acord cu grupele de nutrețuri caracteristice din fiecare unitate.

În ceea ce privește analiza comparativă privind conținutul în grăsime brută, valorile medii obținute pentru nutrețurile din cele trei unități s-au situat între 0,8 %, minimul obținut, în cazul probelor de fân natural S-FN și 9,0 %, maximul obținut, în cazul probelor de borhot de bere R-BB. În general, la nivelul fiecărei unități s-a constatat o distribuție echilibrată privind conținutul în grăsime brută al nutrețurilor; cu toate acestea, probele de nutrețuri din unitatea din zona urbană R-U ies în evidență prin valorile mai ridicate obținute. Un conținut important de grăsimi a fost de asemenea obținut pentru probele de pajiște montană ale unității S-Mo, valoarea de 4,6 % fiind printre valorile cele mai ridicate obținute pe parcursul analizei.

Generalizând, conținutul în grăsime brută al nutrețurilor unității din zona montană S-Mo este ridicat în sezonul de vară și redus în rația de iarnă, în timp ce în unitățile din zona rurală M-Rr și zona urbană R-Ur conținutul nutrețurilor în grăsime brută este apreciat ca fiind mediu, cu valori similare între cele două unități.

În raport cu studiul relației dintre poluare și producția animală, s-au analizat comparativ rezultatele medii obținute pentru compoziția chimică brută a laptelui din cele trei unități, în fig. 4.2 fiind prezentată, în mod punctual, în special analiza comparativă privind conținutul în substanță uscată și conținutul în grăsime brută.

Analiza comparativă a probelor de lapte analizate arată că cel mai mic conținut de substanță uscată totală (11,9 %) a fost obținut de probele de lapte S-L_v din rația de vară. În ceea ce privește conținutul cel mai mare de substanță uscată totală, acesta a fost raportat în cazul probelor M-L, respectiv 13,1 %.

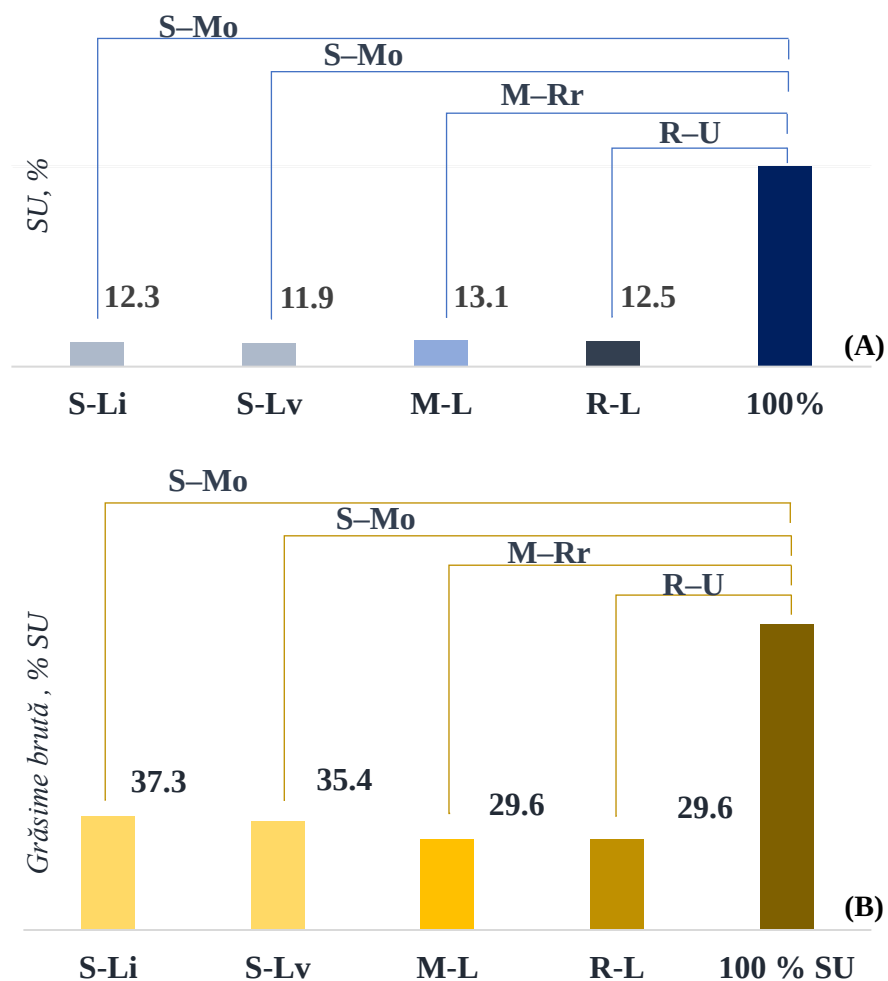


Figura 4.2 Conținutul mediu de substanță uscată totală (A, %) și grăsime brută (B, % SU) a laptelui
 Figure 4.2 Average content of total dry matter (A, %) and crude fat (B, % DM) of milk

Raportând valorile obținute la intervalul optim de valori din literatura de specialitate (10,5–14,0 %), s-a evidențiat că probele de lapte analizate pot fi caracterizate ca având conținuturi normale de substanță uscată totală.

În ceea ce privește conținutul de grăsime brută, s-a evidențiat că pentru probele de lapte S-L_i s-au obținut cele mai ridicate valori, respectiv 37,3 %, în timp ce valorile minime au fost raportate în cazul probelor M-L (29,6 %).

Chiar dacă diferențele evidențiate între cele patru probe de lapte analizate nu sunt consistente, valorile analitice obținute la determinarea conținutului de grăsime brută indică un potențial nivel de acumulare cantitativă a poluanților cu precădere în cazul probelor cu conținuturi mai mari de grăsime, așa cum sunt probele S-L_i și S-L_v și mai puțin în cazul probelor cu conținuturi mai mici de grăsime, așa cum sunt probele M-L și probele R-L.

CAPITOLUL 5. REZULTATE PRIVIND CONTAMINAREA NUTREȚURILOR CU HIDROCARBURI DIN ULEIURI MINERALE

CHAPTER 5. RESULTS ON FEED CONTAMINATION WITH MINERAL OIL HYDROCARBONS

În cadrul acestui capitol au fost evaluate rezultatele medii obținute în urma monitorizării și confirmării prezenței MOH în probele de nutrețuri aparținând unităților din cele trei zone selectate (montană, rurală, urbană). În raport cu implicațiile diferiților factori poluanți sau contaminanți, rezultatele obținute au permis analiza comparativă a contaminării nutrețurilor din cele trei unități studiate.

5.1 Rezultate obținute pentru unitatea din zona montană

Nivelul de contaminare cu MOSH și MOAH al probelor de nutrețuri ce alcătuiesc rațiile animalelor din unitatea din zona montană S–Mo a fost prezentat în tabelul 5.1, concentrațiile contaminanților fiind exprimate în mg/kg. Conform mențiunilor ghidului JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019), cuantificarea MOSH/MOAH s-a realizat pentru fiecare fracțiune carbonică, fiind raportate de asemenea concentrațiile totale de n-C₁₀₋₅₀.

Tabelul 5.1/Table 5.1

Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH* (mg/kg) din nutrețuri pentru unitatea din zona montană
Results on MOSH/MOAH (mg/kg) concentrations in feed for mountain area farm*

Probă	MOSH (mg/kg)							EU-RL (n-C ₁₀₋₅₀)**
	C ₁₀₋₁₆	C ₁₆₋₂₀	C ₂₀₋₂₅	C ₂₅₋₃₅	C ₃₅₋₄₀	C ₄₀₋₅₀	C ₁₀₋₅₀	
S-FN	5,2	7,1	4,7	3,9	0,5	0,2 ^{LQ}	21,6	0,5
S-PM	10,8	8,5	5,0	2,6	0,2 ^{LQ}	0,3 ^{LQ}	27,4	mg/kg
Probă	MOAH (mg/kg)						EU-RL (n-C ₁₀₋₅₀)**	
	C ₁₀₋₁₆	C ₁₆₋₂₅	C ₂₅₋₃₅	C ₃₅₋₅₀	C ₁₀₋₅₀			
S-FN	nd.	1,4	0,2 ^{LQ}	nd.	1,6	0,5		
S-PM	0,1 ^{LQ}	1,0	0,1 ^{LQ}	nd.	1,2	mg/kg		

* Cuantificare bazată pe standardele interne CyCy (MOSH); media standardelor interne 5B, 1–MN, 2–MN, TBB (MOAH). Valorile sunt media a 2 repetări/probă, exprimate pe fracțiuni carbonice (n–C) și sub formă de conținut total.

** EU-RL=Limite recomandate de Comisia Europeană (SCOPAFF) pentru produse alimentare cu ≤ 4 % grăsime; criterii de performanță pentru analiza MOSH/MOAH: LOQ < 0,5 mg/kg; LQ = valori sub limita de cuantificare. nd. = nedetectat.

Pentru probele de nutrețuri din unitatea din zona montană S–Mo, contaminarea cu MOSH a variat între 21,6 mg/kg și 27,4 mg/kg, în timp ce contaminarea cu MOAH a variat între 1,2 mg/kg și 1,6 mg/kg. Ambele probe analizate au prezentat un profil de contaminare tipic, centrat la nivelul fracțiunilor carbonice n-C₁₀₋₃₅, atât pentru probele de fân natural S–FN, cât și pentru probleme

de pajiște montană S-PM fiind depășite limitele recomandate de Comitetul permanent pentru plante, animale și furaje pentru produsele uscate cu $\leq 4\%$ grăsime, respectiv 0,5 mg/kg.

Probele de fân natural S-FN care alcătuiesc rația de iarnă pentru animalele din unitatea S-Mo au avut o concentrație totală de MOSH de 21,6 mg/kg și o concentrație totală de MOAH de 1,6 mg/kg, în timp ce probele de pajiște montană care alcătuiesc rația de vară pentru animalele din unitatea S-Mo au avut o concentrație totală de 27,4 mg/kg MOSH și 1,2 mg/kg MOAH.

Cromatogramele redată în fig. 5.1 și 5.2 confirmă prezența MOSH și MOAH în probele de nutrețuri din unitatea din zona montană, cu un profil de contaminare cu MOSH concentrat la nivelul fracțiunilor n-C₁₆₋₃₅ pentru S-FN și la nivelul fracțiunilor n-C₁₀₋₂₅ pentru S-PM, ambele centrate pe C₁₈, însoțite de MOAH din același interval molecular. Analizând profilele de contaminare comune ale celor două tipuri de probe, a fost evidențiată o corespondență cu un profil tipic de contaminare cu uleiuri hidraulice utilizate pentru utilajele agricole, așa cum Srbinovska ș.a. (2023) redau într-o analiză similară efectuată pentru probe de caju. Deși ambele probe au prezentat o contaminare relativ uniformă la nivel de fracțiuni carbonice, în mod particular, un profil tipic de contaminare cu lubrifianți și uleiuri de motor a fost evidențiat pentru probele S-FN care au prezentat un profil de contaminare mai accentuat la nivelul fracțiunii n-C₂₅₋₃₅ (3,9 mg/kg).

Raportat la concentrațiile suficient de ridicate de MOSH și MOAH detectate în probele de nutrețuri din unitatea din zona montană S-Mo, corelarea profilelor de contaminare al probelor analizate cu profilele tipice din literatura de specialitate asociate generic contaminării cu uleiuri hidraulice și uleiuri de motor nu poate fi considerată suficientă pentru a justifica concentrațiile ridicate de MOSH și MOAH evidențiate pentru fiecare fracțiune carbonică. Mai mult de atât, fracțiuni carbonice cu arii de contaminare importante, dar încă necunoscute, sugerează existența unor surse de contaminare multiple.

În general, parte a contaminării cu hidrocarburi din uleiuri minerale poate fi atribuită unor surse de poluare sau contaminare diverse. Dată fiind poziționarea unității în zona montană, riscul de poluare a mediului a fost considerat improbabil, însă, pe baza informațiilor colectate prin fișele de eșantionare, locurile de prelevare a probelor au fost expuse unor surse potențiale de contaminare, astfel încât contribuția factorilor poluanți a fost luată în considerare la stabilirea nivelului de contaminare al probelor de fân natural S-FN și pajiște montană S-PM.

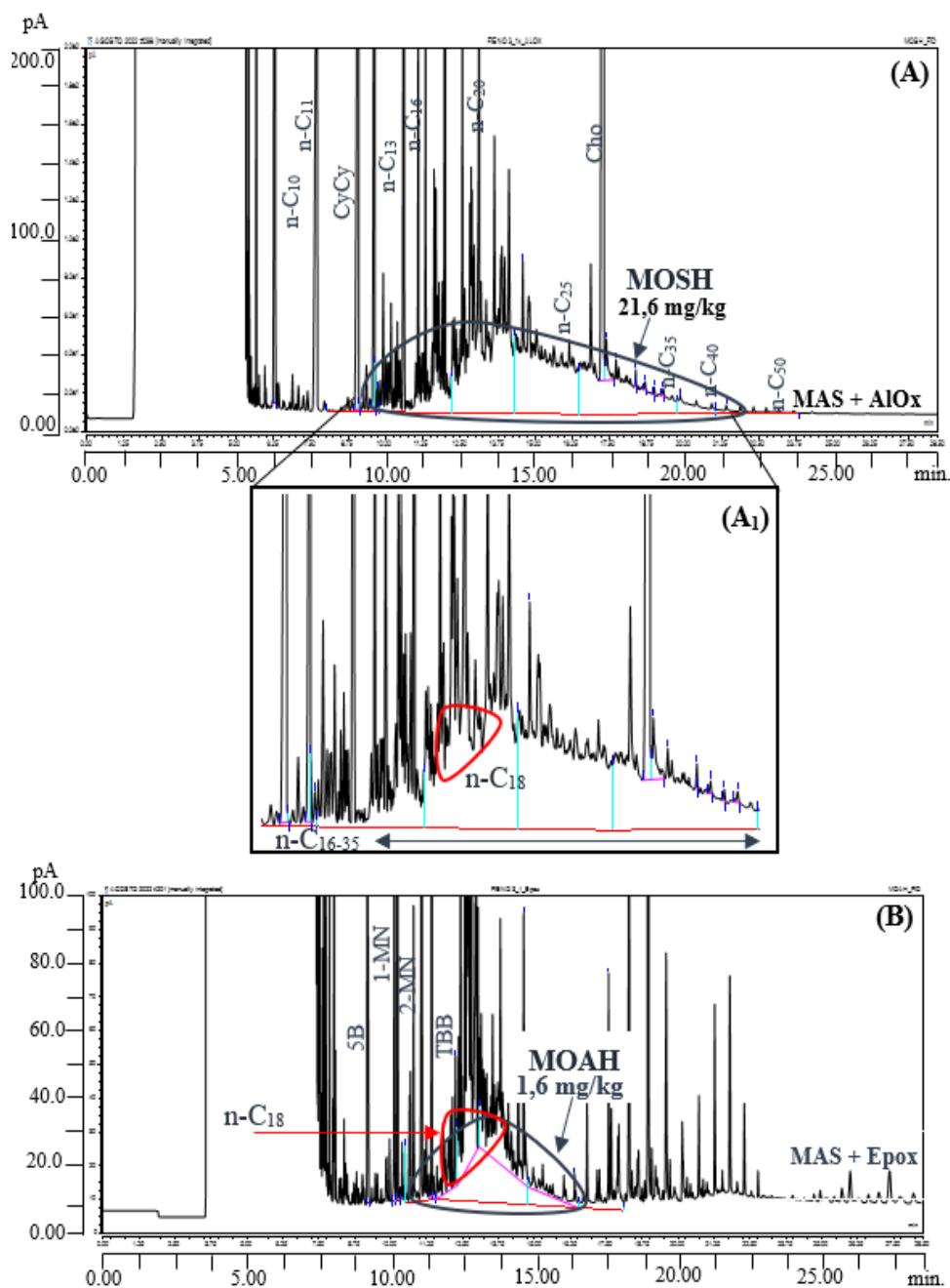


Figura 5.1 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de fân natural S–FN; albastru și roșu indică nivelul de contaminare pentru MOSH/MOAH centrat pe n–C₁₈; (A₁) indică profilul de contaminare cu MOSH centrat pe n–C₁₆₋₃₅; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.1 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for S–FN natural hay samples; blue and red shows contamination level for MOSH/MOAH fraction centered on n–C₁₈; (A₁) shows the MOSH contamination profile centered on n–C₁₆₋₃₅; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

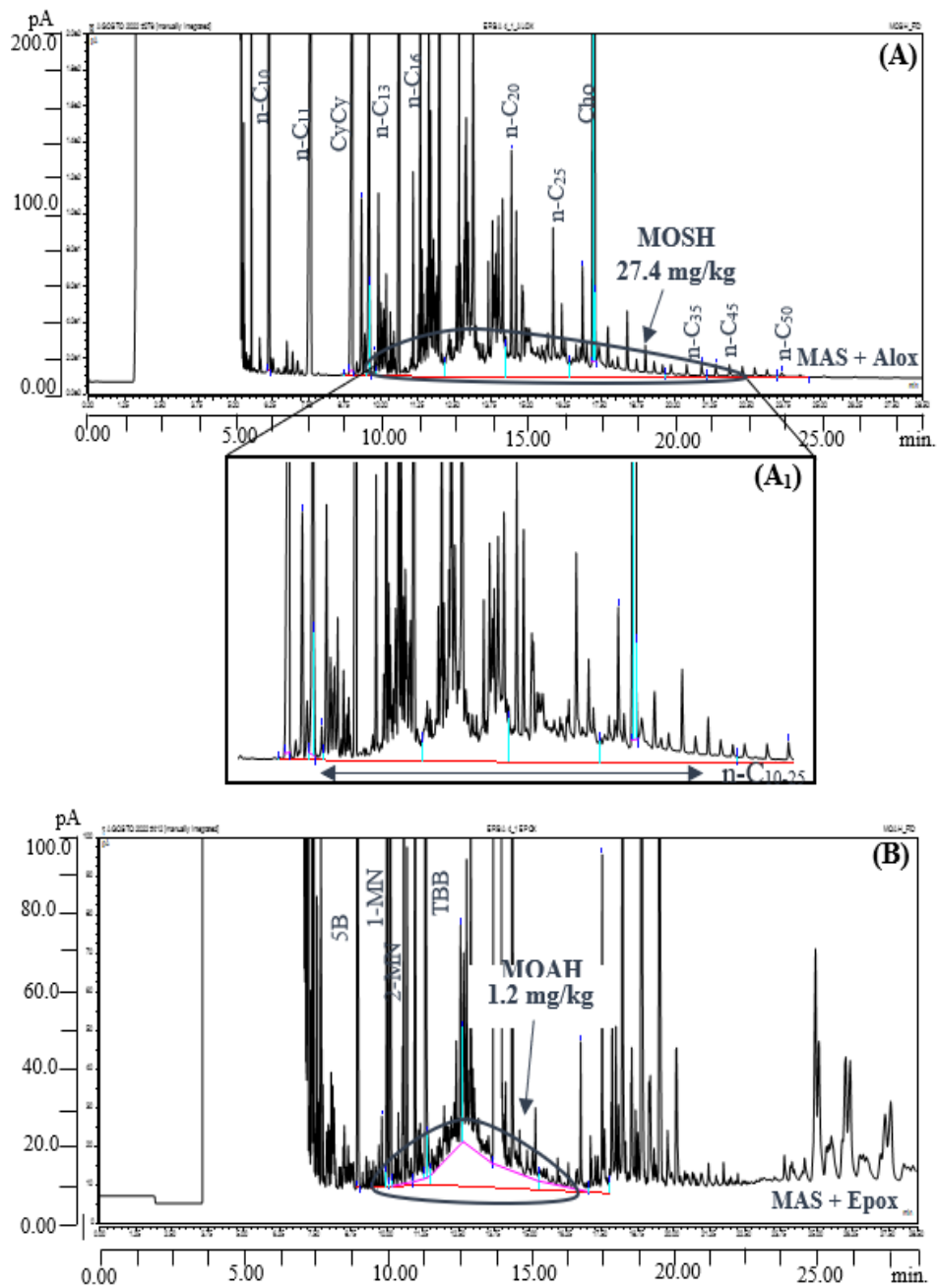


Figura 5.2 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de pajiște montană S–PM; albastru indică nivelul de contaminare pentru MOSH/MOAH; (A₁) indică profilul de contaminare cu MOSH centrat pe n–C₁₀₋₂₅; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.2 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for S–PM mountain pasture samples; blue indicates contamination level for MOSH/MOAH; (A₁) shows the MOSH contamination profile centered on n–C₁₀₋₂₅; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Aspectele privind nivelul de contaminare și factorii poluanți, redate în tabelul 5.2, evidențiază pentru probele de nutrețuri din unitatea din zona montană S–Mo aspecte interesante și în același timp contradictorii atunci când se analizează concentrațiile de MOSH și MOAH detectate în raport cu sursele de poluare.

Tabelul 5.2/ Table 5.2

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona montană și relația cu factorii poluanți

The level of MOSH/MOAH contamination (mg/kg) of feed for mountain area farm and the relationship with polluting factors

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Locația culturii		
			d – drumuri/trafic*	d – zone populate (nr. locuitori)	d – alte surse poluare
Loc prelevare nutrețuri: zonă de deal + zonă montană					
S–FN	21,6	1,6	500 m /mediu (DN) ~ 6 km /intens (urban)	< 100 m (2285)/ rural ~ 6 km (16722)/ urban	-
S–PM	27,4	1,2	~ 5 km / mediu (DN)	> 7 km (269)	Perimetru de exploatare minieră

* Condiții de trafic asociate zonelor urbane.; d=distanța; DN = drum național.

Probele de fân natural (S–FN) a căror concentrație de MOSH și MOAH au fost de 21,6 mg/kg, respectiv 1,6 mg/kg, depășind limitele recomandate EU-RL, au fost colectate de pe parcele situate în proximitatea unor zone cu trafic urban mediu spre intens (d=0,5–6 km) și în imediata apropiere a zonelor populate (d< 100 m), sugerând o posibilă contaminare a nutrețurilor prin prisma emisiilor poluante de la autovehicule ca principale surse de poluare specifice zonei. Activitățile antropice ale populației au fost considerate în schimb ca având o contribuție minimă la poluarea nutrețurilor analizate, dat fiind specificul zonal montan și desfășurarea majorității activităților la nivel gospodăresc–tradițional.

Analizând nivelul de contaminare al probelor de pajiște montană (S–PM), dată fiind poziționarea parcelelor de colectare a probelor în zone lipsite de surse cuantificabile de poluare, la distanțe mari față de traficul urban sau de populație, concentrațiile de 27,4 mg/kg (MOSH) și 1,2 mg/kg (MOAH) detectate pentru S–PM ar putea fi explicate din punct de vedere al poluării, în particular de istoricul zonal al arealului de colectare, respectiv includerea zonei de prelevare a probelor într-un important perimetru minier, însă fără activitate de exploatare recentă.

Comparativ între cele două tipuri de nutrețuri, probele de fân natural recoltate din apropierea zonelor cu trafic urban mediu spre intens (< 500 m) au conținut niveluri de MOSH mai mici (21,6 mg/kg) spre deosebire de probele de pajiște montană localizate mai departe de sursele potențiale de contaminare (27,4 mg/kg) astfel că nu se poate stabili o relație precisă între nivelul de contaminare, locația culturii și sursele de poluare asociate.

În ceea ce privește MOAH, pe baza concentrațiilor evidențiate pentru probele S–FN și S–PM, nivelul de contaminare și sursele de poluare identificate ar putea avea o legătură directă, respectiv concentrațiile de MOAH au fost mai ridicate pentru probele cele mai expuse la contaminarea din mediu, dar și cele mai expuse la contaminare în raport cu sursele identificate (S–FN; 1,6 mg/kg).

În mod similar, contribuția diferiților factori de contaminare a fost analizată în raport cu nivelul de contaminare al probelor de nutrețuri din unitatea din zona montană S–Mo, caracteristicile operațiunilor desfășurate care ar putea explica concentrațiile ridicate de MOSH și MOAH regăsite în probele de fân natural și pajiște montană fiind rezumate în tabelele 5.3 și 5.4.

Tabelul 5.3/Table 5.3

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona montană și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of feed for mountain area farm and the relationship with the technological factors of contamination

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Operațiuni tehnologice aplicate culturilor		
			Tratamente fitosanitare și de fertilizare	Recoltare	Depozitare
S–FN	21,6	1,6	Organic / Mod aplicare: Manual	Mecanizat/ (a) mașină cosit/recoltat; (b) autovehicul transport	Construcție tradițională din lemn / Spațiu închis
S–PM	27,4	1,2	-	Pășunat liber	-

Tabelul 5.4/Table 5.4

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona montană și relația cu factorii contaminanți de natură analitică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of feed for mountain area farm and the relationship with the analytical factors of contamination

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Prelevare, pregătire și stocare probe		
			MOSH/MOAH în materialele de contact*		Pregătire probe
S–FN	21,6	1,6	211,6 mg/kg	32,2 mg/kg	Tăiere/ Măcinare
S–PM	27,4	1,2			Tăiere/ Uscare/ Măcinare

* Materiale de recoltare și stocare (ambalaj polietilenă= 1,8 g; recipient polipropilenă= 7,7 g). Datele reprezintă media valorilor obținute în urma analizei celor două tipuri de materiale/2 repetări, raportat la greutatea totală a ambalajelor.

Din analiza concentrațiilor MOSH/MOAH, nivelul de contaminare ridicat detectat pentru probele de fân natural S–FN și pajiște montană S–PM nu poate fi atribuit în totalitate poluării mediului astfel încât s-a avut în vedere ipoteza

contaminării probelor prin prisma operațiunilor tehnologice aplicate sau ipoteza contaminării accidentale a probelor pe parcursul prelucrării lor pentru analiză.

Conform fișelor de eșantionare, nu au fost evidențiate operațiuni specifice care să influențeze nivelul de contaminare al probelor S-PM întrucât animalele valorifică acest tip de nutreț prin pășunat liber astfel că orice ipoteză a contaminării acestei probe rămâne neconfirmată.

Deși mai puțin expus la surse potențiale de contaminare, probele de fân natural au avut în schimb o concentrație mai redusă de MOSH (21,6 mg/kg). S-a evidențiat în acest sens că tratamentele aplicate și modul de desfășurare al operațiunilor tehnologice specifice ar putea avea o contribuție considerabilă asupra nivelului de contaminare al probelor S-FN. Deși singurul tratament de fertilizare aplicat este îngrășământul organic, aplicat manual și aparent lipsit de MOH, iar prezența uleiurilor minerale nu a fost confirmată din alte substanțe, nu la fel de transparente în privința contaminării pot fi considerate acțiunile de recoltare și de prelucrare a fânului în vederea depozitării pentru care s-au utilizat mașini de cosit și recoltat, dar și autovehicule de transport. Utilizarea de utilaje sau mașini implică de regulă utilizarea compuşilor ce conțin în mod specific uleiuri minerale și care pot contamina produsul supus prelucrării, de la scurgeri accidentale de uleiuri de motor și lubrifianți, până la contactul cu piesele mecanice lubrificate.

Contaminarea rezultată din gazele de evacuare emise de mașina de cosit și recoltat sau autovehiculul de transport pot reprezenta alte surse posibile de contaminare cu MOSH/MOAH, însă al căror impact a fost considerat minim în cazul unității din zona montană. De asemenea, depozitarea nutrețurilor într-o construcție tradițională din material lemnos, într-un spațiu închis a fost considerată ca având o influență minoră asupra nivelului de contaminare detectat.

Din punct de vedere al ipotezei contaminării probelor de nutrețuri pe perioada prelucrării acestora pentru analiză, operațiunile aplicate atât pentru probele S-FN (tăiere, măcinare), cât și operațiunile aplicate pentru probele S-PM (tăiere, uscare, măcinare) nu au fost considerate vectori importanți de contaminare întrucât acestea s-au realizat utilizând în special instrumentar de sticlă sau metal, iar prelucrarea probelor s-a făcut cu precauțiile necesare pentru evitarea contaminării; cu toate acestea, prelucrarea probelor prin tăiere și contactul cu echipamentul de protecție (mănuși nitril/cauciuc) pot indica probabilitatea unei minime contaminări cu MOSH/MOAH.

Fig. 5.3 și 5.4 prezintă cromatogramele LC-GC-FID ale probelor de fân natural S-FN și pajiște montană S-PM cu diferite tipuri de ambalaje cu care probele au intrat în contact, respectiv recipient de stocare din polipropilenă și ambalaj din polietilenă. Urmele contaminării, în special ale MOSH sunt tipice, iar profilele cromatografice ale probelor de nutreț comparate cu cele ale materialelor de contact au evidențiat ca interval comun n-C₁₃₋₂₅, centrat pe n-C₁₈, confirmând posibilitatea migrării MOH din ambalaje în produs.

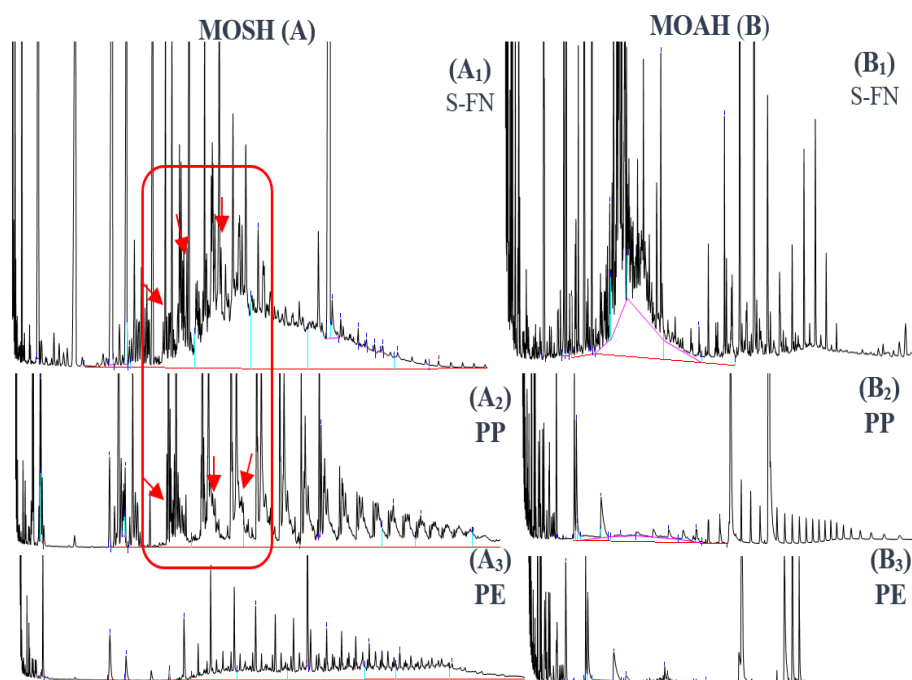


Figura 5.3 Cromatogramele LC-GC-FID ale probelor de fân natural S-FN exemplificând modele de migrare ale MOSH (A) și MOAH (B) din materialele de contact: fân natural S-FN (A₁; B₁); recipient polipropilenă PP (A₂; B₂); ambalaj polietilenă PE (A₃; B₃)

Figure 5.3 LC-GC-FID chromatograms of S-FN natural hay samples with migration patterns of MOSH (A) and MOAH (B) from packaging materials: natural hay S-FN (A₁; B₁); polypropylene container PP (A₂; B₂); polyethylene packaging PE (A₃; B₃)

Contaminarea prin contactul cu materialele utilizate la prelevarea, pregătirea și stocarea probelor a fost investigată în cadrul acestui studiu. Suma medie a concentrației MOSH din ambalajul de polietilenă utilizat la prelevarea și transportul probelor și a recipientului din polipropilenă utilizat pentru stocare a fost de 211,6 mg/kg, respectiv 32,2 mg/kg MOAH raportat la masa totală a ambalajelor, astfel că nu se exclude ca nivelul ridicat de contaminare al probelor de nutrețuri analizate să poată fi atribuită într-o relativă proporție materialelor de contact.

Suplimentar surselor de contaminare menționate, nu se exclude ca nivelul ridicat de contaminare al probelor de fân natural și pajiște montană caracteristice unității din zona montană S–Mo să poată fi atribuite etapelor de pregătire a analitului în vederea detectării MOSH/MOAH (reactivi/instrumentar) sau unor practici de lucru neraportate și nedeclarate de fermieri, mai ales că nivelul de contaminare specific fiecărei probe nu poate fi corelat direct cu nivelul potențial de contaminare la care a fost expus.

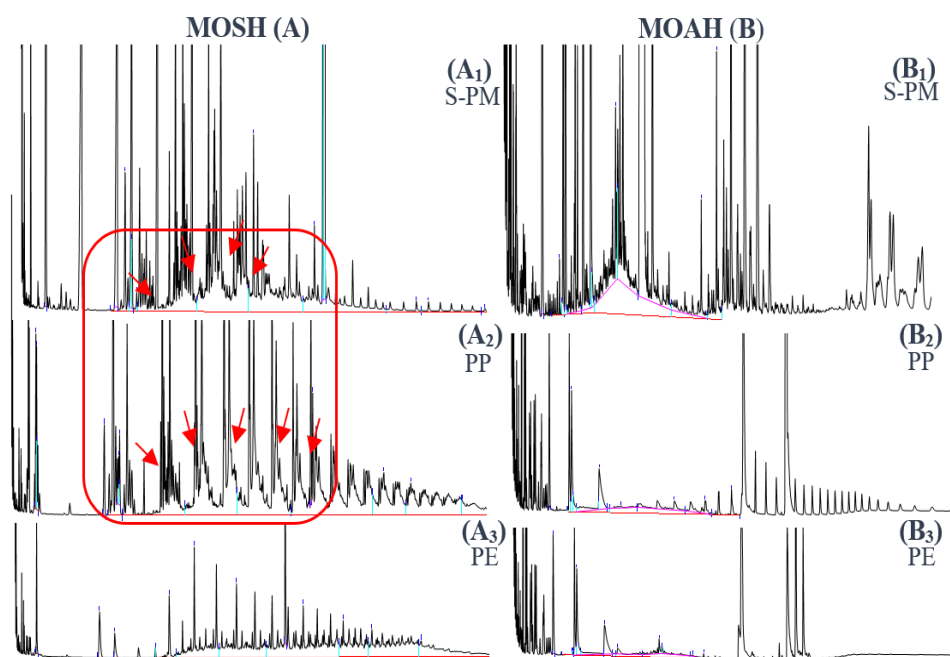


Figura 5.4 Cromatogramele LC-GC-FID ale probelor de pajiște montană S-PM exemplificând modele de migrare ale MOSH (A) și MOAH (B) din materialele de contact: pajiște montană S-PM (A₁; B₁); recipient polipropilenă PP (A₂; B₂); ambalaj polietilenă PE (A₃; B₃)

Figure 5.4 LC-GC-FID chromatograms of S-PM mountain pasture with migration patterns of MOSH (A) and MOAH (B) from packaging material: mountain pasture S-PM (A₁; B₁); polypropylene container PP (A₂; B₂); polyethylene packaging PE (A₃; B₃)

5.2 Rezultate obținute pentru unitatea din zona rurală

Datele obținute la determinarea contaminanților MOSH/MOAH din nutrețurile ce alcătuiesc rația animalelor din unitatea din zona rurală M–Rr au indicat în mod evident o contaminare considerabilă cu MOH a tuturor probelor analizate.

În conformitate cu Ghidul JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019), cuantificarea s-a realizat pentru fiecare fracțiune carbonică cuprinsă în intervalul n–C_{10–50}, folosind CyCy ca standard intern pentru cuantificarea MOSH și toate cele patru standarde investigate (5B, 1–MN, 2–MN, TBB) pentru cuantificarea MOAH. Valorile medii obținute pentru fiecare fracțiune carbonică n–C și concentrațiile totale de MOSH și MOAH, exprimate în mg/kg, au fost prezentate în tabelul 5.5.

Probele de nutrețuri specifice unității din zona rurală M–Rr au evidențiat în medie un nivel important de contaminare cu MOSH. Deși diferite proporțional, toate probele de nutrețuri din unitatea M–Rr au înregistrat concentrații de MOSH peste limitele recomandate de Ghidul JRC și Comisia Europeană (2022), datele obținute indicând niveluri de contaminare moderată, de la 11,4 mg/kg, până la o contaminare deosebit de ridicată, respectiv 35,0 mg/kg. Contrar fracțiunii MOSH, o contaminare

minimă a fost evidențiată pentru fracțiunea MOAH, de la limita de cuantificare (< LOQ) până la 2,5 mg/kg cele mai ridicate valori detectate; astfel, doar două din cele cinci probe analizate au înregistrat valori peste limitele recomandate (EU-RL) în contextul anterior menționat.

Tabelul 5.5/Table 5.5

Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH* (mg/kg) din nutrețuri pentru unitatea din zona rurală
Results on MOSH/MOAH* (mg/kg) concentrations in feed for rural area farm

Probă	MOSH (mg/kg)							EU-RL (n-C ₁₀₋₅₀)**
	C ₁₀₋₁₆	C ₁₆₋₂₀	C ₂₀₋₂₅	C ₂₅₋₃₅	C ₃₅₋₄₀	C ₄₀₋₅₀	C ₁₀₋₅₀	
M-FL	5,9	7,5	5,0	4,2	0,4 ^{LQ}	0,3 ^{LQ}	23,3	0,5 mg/kg
M-SP	8,2	6,9	4,7	5,0	1,0	0,7	26,5	
M-PB	14,4	9,9	4,4	5,2	0,6	0,5	35,0	
M-SS	3,0	3,8	2,1	1,8	0,4 ^{LQ}	0,3 ^{LQ}	11,4	
M-AU	5,6	8,5	6,4	5,7	1,0	0,9	28,1	
	MOAH (mg/kg)							EU-RL (n-C ₁₀₋₅₀)**
	C ₁₀₋₁₆	C ₁₆₋₂₅	C ₂₅₋₃₅	C ₃₅₋₅₀	C ₁₀₋₅₀			
M-FL	nd.	1,2	0,5	nd.	1,7	0,5 mg/kg		
M-SP	nd.	0,5	nd.	nd.	0,5			
M-PB	0,5	1,8	0,2 ^{LQ}	nd.	2,5			
M-SS	nd.	0,5	0,1 ^{LQ}	nd.	0,6			
M-AU	0,1 ^{LQ}	0,7	nd.	nd.	0,8			

* Cuantificare bazată pe standardele interne CyCy (MOSH); media standardelor interne 5B, 1-MN, 2-MN, TBB (MOAH). Valorile sunt media a 2 repetări/probă, exprimate pe fracțiuni carbonice (n-C) și sub formă de conținut total.

** EU-RL=Limite recomandate de Comisia Europeană (ScoPAFF) pentru produse alimentare cu ≤ 4 % grăsime; criterii de performanță pentru analiza MOSH/MOAH: LOQ < 0,5 mg/kg; LQ = valori sub limita de cuantificare. nd. = nedetectat.

Pentru evaluarea specificului contaminării, a fost redat un model de profil de contaminare cu MOSH/MOAH pentru probele de porumb boabe M-PB (fig. 5.5).

Cromatogramele prezentate reprezintă un exemplu prin care se confirmă prezența MOSH și MOAH în probele de nutrețuri analizate, indicând profiluri de contaminare centrate în intervalul n-C₁₀₋₃₅ pentru MOSH și n-C₁₆₋₂₅ pentru MOAH și care sugerează așadar o posibilă contaminare tipică cu reziduuri de lubrifianți, ulei de motor, ulei hidraulic sau reziduuri din emisii auto, contaminanți cu influență inclusiv asupra celorlalte tipuri de nutrețuri din unitatea M-Rr.

În fig. 5.6 a fost prezentat, în schimb, un model de profil de contaminare doar cu MOSH și valori minime ale conținutului de MOAH, așa cum este exemplul probelor de nutreț amestec M-AU. Pentru probele de nutreț amestec M-AU, un profil accentuat de contaminare cu MOSH a fost evidențiat în particular în intervalul n-C₁₀₋₃₅, astfel că surse de contaminare de origine diferită celor deja anticipate pot fi asociate nutrețurilor componente ale amestecului.

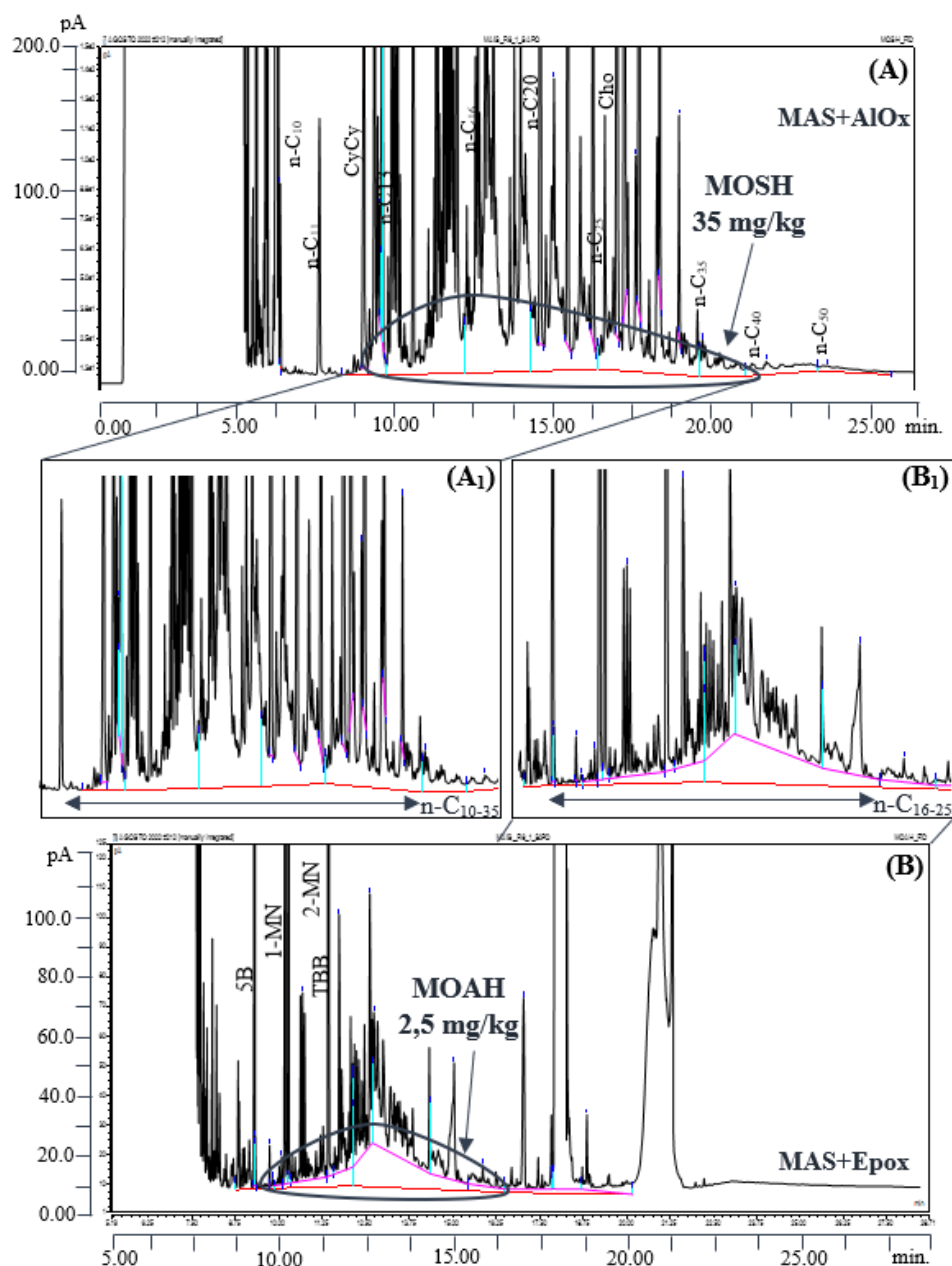


Figura 5.5 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de porumb boabe M-PB; albastru indică nivelul de contaminare pentru MOSH/MOAH; (A₁) (B₁) indică profilul de contaminare cu MOSH centrat pe n–C₁₀₋₃₅ și MOAH centrat pe n–C₁₆₋₂₅; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.5 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) fractions for M-PB corn grain samples; blue indicates contamination level for MOSH/MOAH; (A₁) (B₁) shows the MOSH contamination profile centered on the n–C₁₀₋₃₅ and MOAH contamination centered on n–C₁₆₋₂₅; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

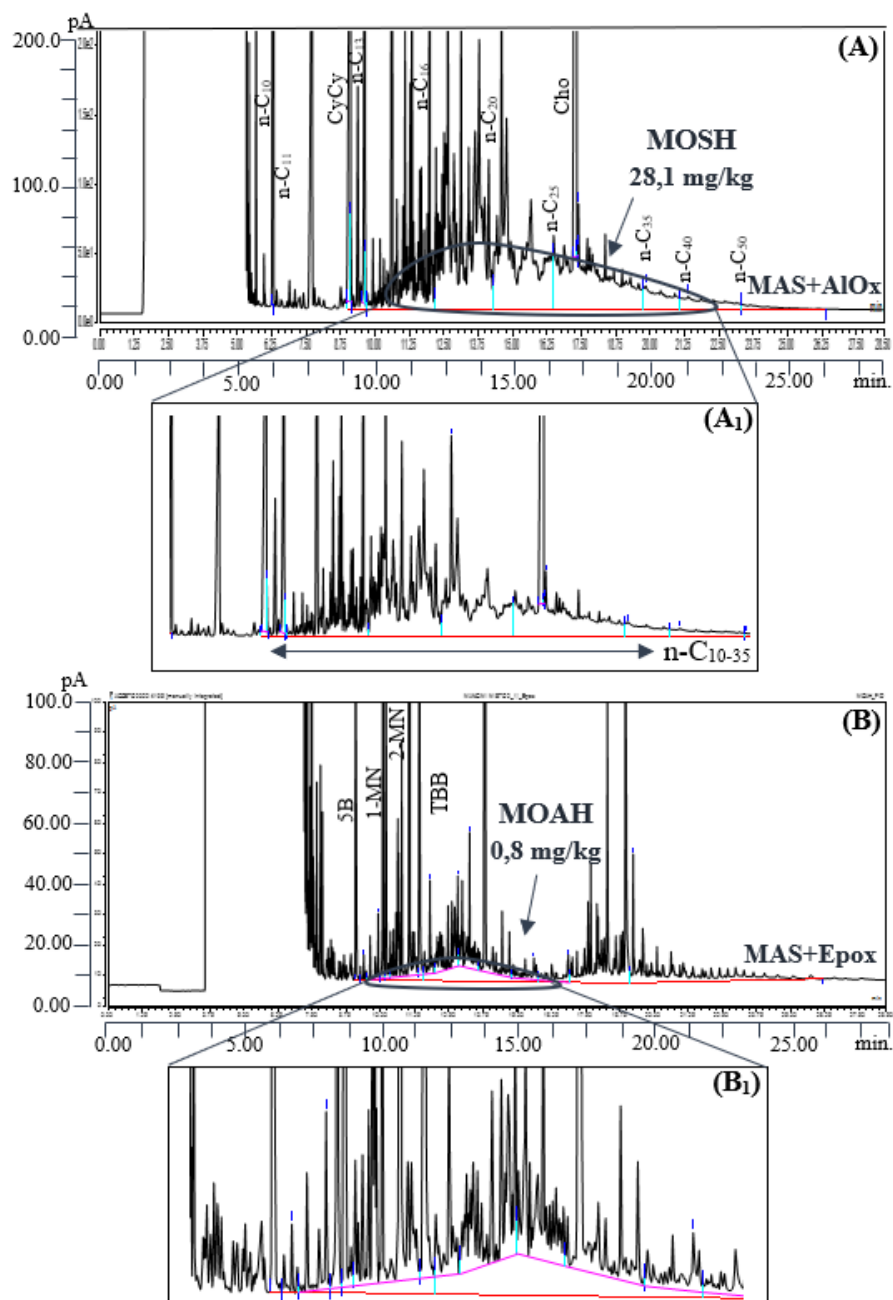


Figura 5.6 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de nutreț amestec M-AU; albastru indică nivelul de contaminare pentru MOSH/MOAH; (A₁) indică profilul de contaminare cu MOSH centrat pe n–C₁₀₋₃₅; (B₁) indică o contaminare minimă cu MOAH; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH/0_100 pA MOAH

Figure 5.6 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) fractions for M-AU combined feed samples; blue shows contamination level for MOSH/MOAH; (A₁) shows the MOSH contamination profile centered on n–C₁₀₋₃₅; (B₁) shows MOAH minimum contamination; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Cu toate că profilul de contaminare cu MOSH și MOAH al nutrețurilor din unitatea din zona rurală M–Rr a fost considerat similar și corespunde unui profil generic de contaminare cu substanțe specifice utilajelor sau altor echipamente de uz tehnologic, profilul comun nu este suficient pentru a caracteriza complet reziduurile de lubrifianți, uleiurile hidraulice și uleiurile de motor ca fiind unica sursă de contaminare a nutrețurilor și astfel nu poate explica în totalitate concentrațiile de MOSH > 20,0 mg/kg și MOAH > 1,0 mg/kg regăsite.

Pentru a identifica proveniența și a explica concentrațiile ridicate de MOSH/MOAH din nutrețurile analizate, a fost evaluată posibilitatea contaminării nutrețurilor în condiții de expunere a zonelor de prelevare a probelor la unele surse potențiale de poluare care au fost identificate la momentul eșantionării. Pe baza informațiilor obținute din fișele de eșantionare a fost evaluată contribuția poluării la contaminarea cu MOSH/MOAH a nutrețurilor obținute în regim propriu (M–FL, M–SP, M–PB și M–AU); tabelul 5.6 rezumă principalele aspecte referitoare la nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH în relație cu expunerea nutrețurilor la poluare.

Tabelul 5.6/ Table 5.6

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona rurală și relația cu factorii poluanți

The level of MOSH/MOAH contamination (mg/kg) of feed for rural area farm and the relationship with polluting factors

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Locația culturii		
			d – drumuri/trafic*	d – zone populate (nr. locuitori)	d – alte surse poluare
Loc prelevare nutrețuri: zonă de câmpie					
M–FL	23,3	1,7	>10 km/intens (S ₁) ~ 2 km /intens (S ₂)	~ 6 km (4577) / rural ~ 4 km (507100)/ urban	Amplasarea principalelor obiective de poluare din zona urbană pe direcția dominantă a vântului (NV-SE)
M–SP	26,5	0,5	~ 6 km / intens	~ 6 km (507100)/ urban	
M–PB	35,0	2,5	< 15 km / intens	~ 4 km (4577) / rural	
M–SS	11,4	0,6	Ns.	Ns.	
M–AU	28.1	0.8	FL, SP, PB,SS	FL, SP, PB,SS	

* Condiții de trafic asociate zonelor urbane; Ns.–lipsă specificații (nutreț de proveniență externă); d=distanța; S_{1,2}=zona de parcelare.

Unitatea M–Rr este poziționată într-o zonă rurală unde riscul de contaminare a fost considerat minim, spre puțin probabil, dată fiind lipsa unor surse concrete de poluare. Cu toate acestea, vecinătatea cu unul dintre cele mai poluate orașe ale țării și amplasarea principalelor obiective de poluare din zona urbană imediat învecinată pe direcția dominantă a vântului (NV–SE) implică posibilitatea de transfer atmosferic al poluanților, astfel încât contribuția potențialilor factori poluanți a fost luată în considerare.

Raportat la concentrațiile de contaminanți identificați, pentru toate cele patru probe de nutrețuri obținute în ferma vegetală din cadrul unității din zona rurală (M–FL, M–SP, M–PB, M–AU, prelevate din apropierea drumurilor cu trafic intens ($d=2,0-15,0$ km) și situate la mai puțin de 5 km de zone urbane intens populate (~ 507.100 locuitori), s-au raportat concentrații de MOSH ridicate, cu niveluri cuprinse între 23,3 mg/kg și 35,0 mg/kg, însă, în mod contrar, cu niveluri de MOAH suficient de reduse, de la 2,5 mg/kg cea mai mare concentrație identificată, până la valori sub limita de cuantificare de 0,5 mg/kg (LOQ).

Prelevate din zone relativ similare din punct de vedere al expunerii la potențialii factori poluanți de la nivelul zonelor urbane intens populate și al traficului auto, probele de fân de lucernă M–FL au avut un conținut de MOSH de 23,3 mg/kg, iar probele de siloz de porumb M–SP au avut un conținut de MOSH de 26,5 mg/kg, nivelurile de contaminare fiind ușor similare (fig. 5.7), ceea ce putea incrimina poluarea urbană ca sursă comună de contaminare cu MOSH pentru cele două tipuri de probe. Nu aceleași aspecte au putut fi evidențiate pentru MOAH (fig. 5.8) întrucât probele de fân de lucernă au avut un conținut mediu de 1,7 mg/kg, în timp ce pentru probele de siloz de porumb nivelul de contaminare cu MOAH a fost la limita de cuantificare, astfel încât poluarea urbană nu poate fi considerată responsabilă în mod particular de contaminarea celor două probe de nutrețuri.

Pe de altă parte, pentru probele de porumb boabe M–PB, situația contaminării cu MOSH raportată la sursele de poluare asociate s-a dovedit contrară așteptărilor întrucât, deși cultura de porumb pentru boabe a fost poziționată la distanțele cele mai ridicate de sursele potențiale de poluare, pentru acestea s-au înregistrat nivelurile cele mai mari de contaminare cu MOSH, respectiv 35,0 mg/kg. Aspecte similare au fost evidențiate și pentru contaminarea cu MOAH; probele M–PB au avut concentrația cea mai ridicată de MOAH din totalitatea probelor analizate, respectiv 2,5 mg/kg.

Conform ideilor menționate, nivelurile de MOSH raportate pentru M–FL, M–SP, M–PB în asociere cu sursele de poluare identificate nu confirmă ipoteza că nutrețurile cele mai expuse la contaminare pot avea și concentrațiile cele mai ridicate de MOSH, astfel că nu poate fi stabilită o relație directă între nivelul de contaminare al nutrețurilor din unitatea din zona rurală M–Rr, locația culturii și sursele de poluare, deși indicii importante au fost atribuite poluării din zona urbană.

Analizând contaminarea nutrețurilor care intră în componența rației animalelor din unitatea M–Rr (22,4 % M–FL; 56,0 % M–SP; 11,20 % M–PB; 8,40 % M–SS) nivelul de contaminare al probelor de nutreț amestec M–AU a fost considerat relativ proporțional cu contribuția nutrețurilor din amestec. În ceea ce privește probele de șrot de soia M–SS, conținuturile de MOSH (11,4 mg/kg) și MOAH (0,6 mg/kg) identificate nu pot fi atribuite unei surse de contaminare concrete, dată fiind lipsa informațiilor necesare, întrucât nutrețul a fost achiziționat din surse externe, neevaluate în prezenta cercetare.

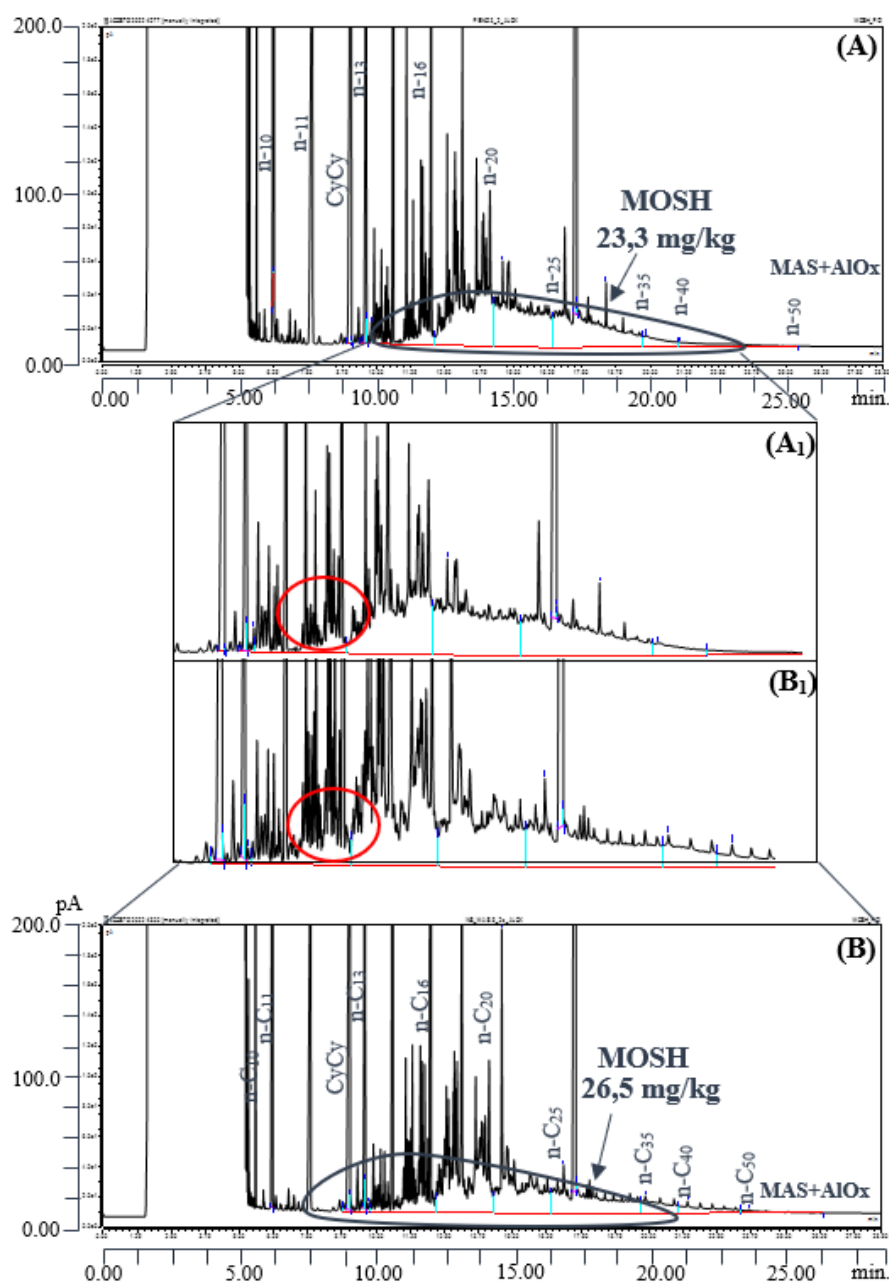


Figura 5.7 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH pentru probe de fân de lucernă M-FL (A) și siloz de porumb M-SP (B); albastru indică nivelul de contaminare pentru fracțiunea MOSH; (A₁), (B₁) indică profilul similar de contaminare cu MOSH centrat pe n-C₁₀₋₃₅; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.7 LC-GC-FID chromatograms of MOSH fractions for alfalfa hay M-FL (A) and corn silage M-SP (B) samples; blue indicates contamination level for MOSH fraction; (A₁), (B₁) shows the MOSH similar contamination profile centered on n-C₁₀₋₃₅; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH

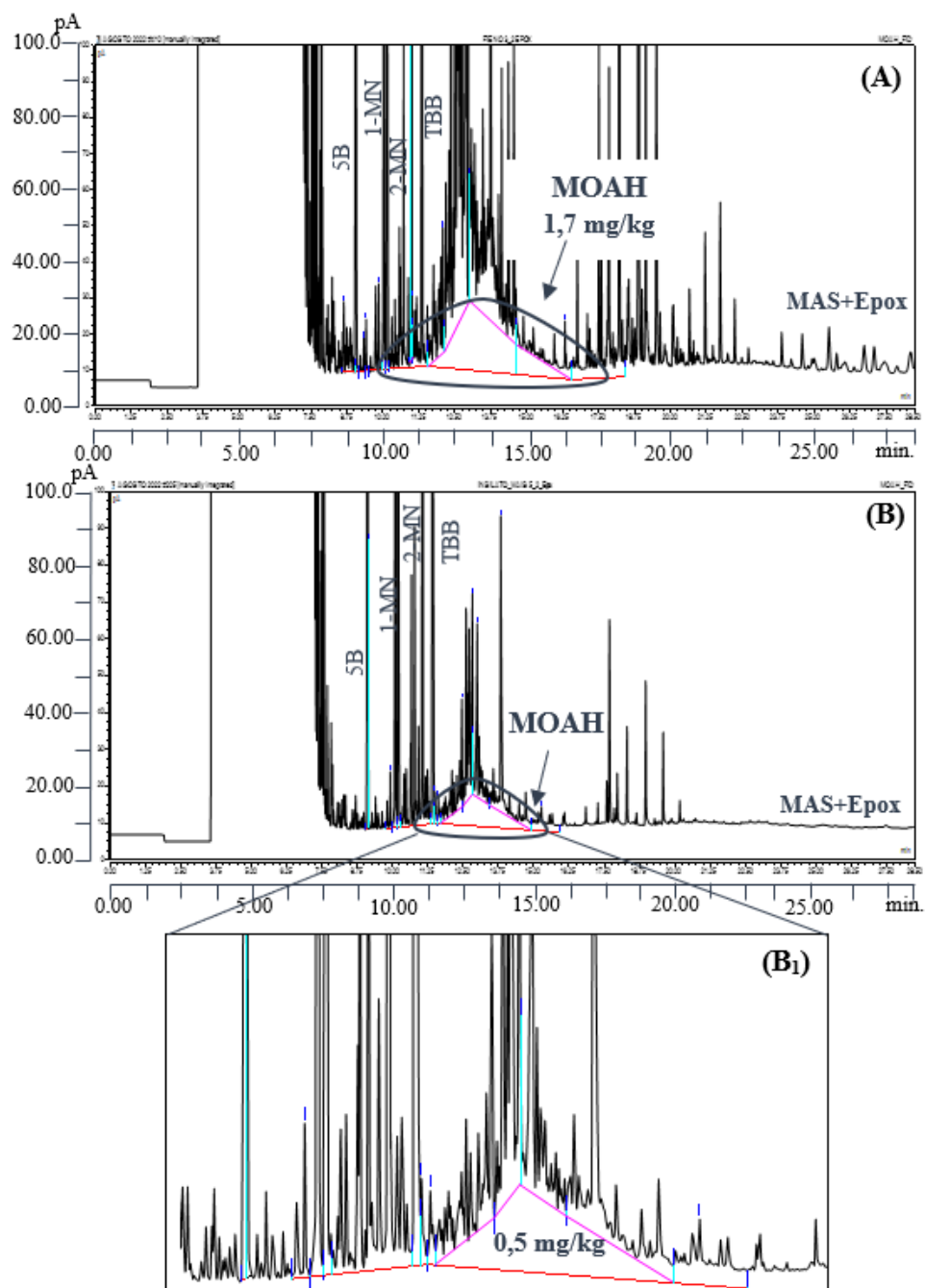


Figura 5.8 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOAH pentru probe de fân de lucernă M-FL (A) și siloz de porumb M-SP (B); albastru și (B₁) indică nivelul minim de contaminare cu MOAH; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.8 LC–GC–FID chromatograms of MOAH fractions for alfalfa hay M-FL (A) and corn silage M-SP (B) samples; blue and (B₁) shows a minimum contamination level for MOAH fraction; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_100 pA MOAH

Imposibilitatea stabilirii unei legături concrete între nivelul de contaminare al nutrețurilor și sursele de poluare asociate unității din zona rurală M–Rr a condus la necesitatea evaluării contribuției potențialilor factori contaminanți ai nutrețurilor, factori predictibili care țin în general de specificitatea și gradul de tehnologizare al operațiunilor din cadrul unității analizate sau de metodologia de prelevare și pregătire a probelor în vederea analizei. Tabelele 5.7 și 5.8 rezumă principalele activități a căror contribuție potențială la contaminarea nutrețurilor cu MOSH/MOAH a fost evaluată.

Tabelul 5.7/Table 5.7

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona rurală și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of feed for rural area farm and the relationship with the technological factors of contamination

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Operațiuni tehnologice aplicate culturilor		
			Tratamente fitosanitare și de fertilizare*	Recoltare	Depozitare
M–FL	23,3	1,7	Organic + Chimic/ Mod de aplicare: mecanizat – pompă de stropit	Mecanizat/ (a) mașină cosit/recoltat; (b) autovehicul transport (c) presă de balotat	Baloturi nefoliolate/ Spațiu deschis
M–SP	26,5	0,5		Mecanizat/ (a) combină de recoltare; (b) autovehicul transport (c) tractor cu șenile	Celulă beton, folie polietilenă/ Spațiu deschis
M–PB	35,0	2,5		Mecanizat/ (a) combină de recoltare (b) autovehicul transport	Saci din polipropilenă/ Spațiu închis
M–SS	11,4	0,6	Ns.	Mecanizat: transport auto	Saci din polipropilenă
M–AU	28,1	0,8	FL, SP, PB,SS	Mecanizat: remorca tehnologică**	-

* Tipul tratamentului, formula comercială, cantitatea aplicată și substanța activă pot fi consultate în secțiunile anterioare;

** Activitatea se referă la pregătirea amestecului unic în vederea administrării către animale;

Ns. – lipsă specificații (nutreț de proveniență externă).

În conformitate cu datele menționate în fișele de eșantionare, operațiunile tehnologice aplicate culturilor vegetale și gradul de tehnologizare ridicat caracteristic unității M–Rr ar putea avea o contribuție substanțială la contaminarea nutrețurilor cu MOSH/MOAH, deși aceasta nu poate fi confirmată în totalitate.

Evaluarea globală a datelor obținute prin fișele de eșantionare sugerează că tratamentele fitosanitare sau de fertilizare au avut în general un efect neglijabil asupra nivelului de contaminare cu MOSH și MOAH al nutrețurilor din unitatea din zona rurală M–Rr. Informațiile disponibile au evidențiat în schimb că, deși îngrijirea și protecția culturilor de lucernă, porumb pentru siloz și porumb boabe s-a realizat prin aplicarea de tratamente chimice, în componența substanțelor utilizate pentru

erbicidare sau a fertilizatorilor aplicați, nu s-au identificat în mod particular prezența MOH (conform etichetei). Cu toate acestea, acest lucru nu exclude o posibilă prezență a MOH sub formă de co-formulanți întrucât reglementările actuale nu prevăd obligativitatea declarării acestora pe etichetă. De asemenea, nu se exclude posibilitatea ca prezența uleiurilor minerale să poate fi confirmată ca urmare a contaminării pe perioada aplicării tratamentelor de îngrijire și protecție, prin prisma utilajelor și echipamentelor folosite.

Tabelul 5.8/ Table 5.8

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona rurală și relația cu factorii contaminanți de natură analitică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of feed for rural area farm and the relationship with the analytical factors of contamination

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Prelevare, pregătire și stocare probe		
			MOSH/MOAH în materialele de contact*	Pregătire probe	
M-FL	23,3	1,7	211,6	32,2	Tăiere/ Măcinare
M-SP	26,5	0,5			Uscare/ Măcinare
M-PB	35,0	2,5			Măcinare
M-SS	11,4	0,6			Măcinare
M-AU	28,1	0,8			Uscare/ Măcinare

* Materiale de recoltare și stocare (ambalaj polietilenă= 1,8 g; recipient polipropilenă=7,7 g). Datele reprezintă media valorilor obținute în urma analizei celor două tipuri de materiale/2 repetări

Având în vedere că una dintre cele mai importante surse de contaminare cu MOSH și MOAH sunt reziduurile și emisiile generate de echipamentele și utilajele folosite, iar gradul de tehnologizare al operațiunilor desfășurate în unitatea din zona rurală M-Rr este unul ridicat, o contaminare importantă cu MOSH și MOAH poate fi confirmată în această etapă.

Utilizarea unui grup complex și numeros de utilaje agricole pentru recoltarea și pregătirea culturilor vegetale în vederea obținerii nutrețurilor sugerează o posibilitate ridicată de contaminare cu MOSH și MOAH, mai ales având în vedere că fiecare dintre utilajele anterior menționate utilizează pentru buna funcționare substanțe cunoscute ca având în componența lor uleiuri minerale (uleiuri de motor, lubrifianți, uleiuri hidraulice). Pentru fânul de lucernă M-FL și silozul de porumb M-SP, contaminarea poate fi confirmată cu atât mai mult prin specificitatea metodelor de prelucrare tehnologică a acestora, respectiv balotarea pentru fân și tasarea pentru siloz, operațiuni care implică utilizarea suplimentară a două utilaje ce intră în contact direct cu masa de produs, dar și a unor materiale cu risc de contaminare (ex. folie polietilenă).

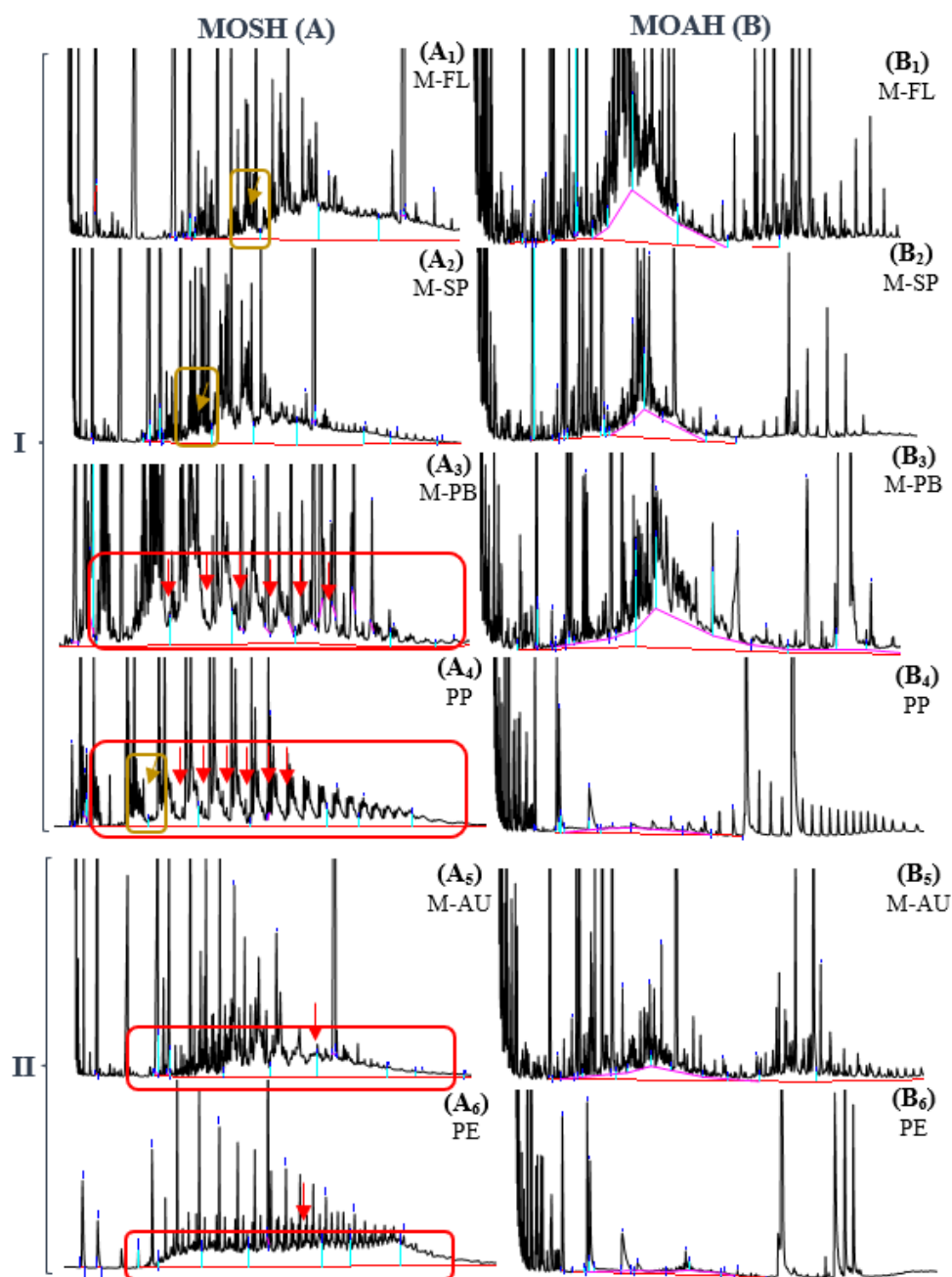


Figura 5.9 Cromatogramele LC-GC-FID exemplificând modele de migrare ale MOSH (A) și MOAH (B) din materialele de contact în nutrețurile unității din zona rurală M-Rr: fân de lucernă M-FL (A₁; B₁); siloz de porumb M-SP (A₂; B₂); porumb boabe M-PB (A₃; B₃); recipient polipropilenă PP (A₄; B₄); nutreț amestec M-AU (A₅; B₅); ambalaj polietilenă PE (A₆; B₆)

Figure 5.9 LC-GC-FID chromatograms showing migration patterns of MOSH (A) and MOAH (B) from packaging materials to feed from M-Rr rural farm: alfalfa hay M-FL (A₁; B₁); corn silage M-SP (A₂; B₂); corn grains M-PB (A₃; B₃); polypropylene container PP (A₄; B₄); combined feed M-AU (A₅; B₅); polyethylene packaging PE (A₆; B₆)

În ceea ce privește etapa de prelevare și pregătire a probelor de nutrețuri, operațiunile aplicate pentru toate tipurile de probe (în general tăiere-uscarea-măcinare) au fost realizate utilizând în general instrumentar de sticlă sau metal, astfel încât probabilitatea contaminării nutrețurilor în această etapă a fost considerată neglijabilă.

Referitor la contactul cu diferite materiale utilizate la recoltare și pe perioada prelucrării probelor, nu se exclude o posibilă contaminare cu MOSH/MOAH prin contactul cu echipamentul de protecție utilizat (mănuși nitril/cauciuc) sau prin materialele de ambalare utilizate (ambalaj polietilenă, recipient polipropilenă), a căror concentrație de MOSH și MOAH au fost cuantificate în vederea corelării profilului de contaminare obținut cu profilul de contaminare al nutrețurilor (fig. 5.9) și astfel confirmarea contaminării probelor prin intermediul acestora.

Pentru probele de șrot de soia M–SS, pentru care nu sunt cunoscute informații referitoare la procesul tehnologic (dată fiind achiziționarea lor din surse externe), dar și pentru probele de nutreț amestec M–AU, o posibilă contaminare cu MOSH/MOAH ar fi putut avea loc pe perioada transportului, prin intermediul autovehiculului utilizat (M–SS) sau în momentul formării amestecului în vederea administrării, prin intermediul remorcii tehnologice utilizate (M–AU).

Având în vedere complexitatea etapelor de analiză, nu se exclude contaminarea cu MOSH/MOAH pe perioada pregătirii analitului, în aceeași măsură în care nu se exclude existența unor practici de lucru nedeclarate de fermieri și care ar putea avea o contribuție esențială la nivelul de contaminare identificat.

Deși s-a evidențiat că operațiunile tehnologice aplicate în cadrul unității din zona rurală M–Rr pot avea o contribuție substanțială la contaminarea nutrețurilor cu MOSH/MOAH, stabilirea unei relații între nivelul de contaminare și expunerea la contaminare nu a fost posibilă pe deplin; în mod contrar, probele de nutrețuri expuse la un nivel de contaminare potențial mai ridicat (M–FL, M–SP) au fost caracterizate de concentrații mai mici de contaminanți (23,3 mg/kg–26,5 mg/kg MOSH și 0,5–1,7 mg/kg MOAH) în raport cu probele pentru care contaminarea aparentă a fost considerată mai redusă (M–PB), dar care au evidențiat concentrații de MOSH și MOAH mult superioare (35,0 mg/kg MOSH și 2,5 mg/kg MOAH).

5.3 Rezultate obținute pentru unitatea din zona urbană

Nutrețurile ce alcătuiesc rația animalelor din unitatea din zona urbană R–U au fost analizate din punct de vedere al contaminării cu MOSH/MOAH, datele obținute indicând prezența unor niveluri de contaminare cu MOH deosebit de ridicate pentru o proporție importantă din probele analizate.

Rezultatele privind concentrațiile de contaminanți de tip MOH obținute pentru probele de nutrețuri analizate au fost cuantificate și raportate folosind intervalele recomandate de ghidul JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019). Cuantificarea a fost realizată în conformitate cu criteriile de performanță stabilite de ghidul JRC în corespondență cu Comisia Europeană, utilizând standardul intern CyCy pentru

cuantificarea MOSH și media standardelor interne 5B, 1–MN, 2–MN și TBB pentru cuantificarea MOAH. În conformitate cu acestea, tabelul 5.9 prezintă sintetic rezultatele medii obținute pentru probele de nutrețuri din unitatea din zona urbană R–U pe interval de hidrocarburi (n–C) și la nivel de conținut total (n–C_{10–50}).

Tabelul 5.9/Table 5.9

Rezultatele privind concentrațiile de MOSH/MOAH* (mg/kg) din nutrețuri pentru unitatea din zona urbană
Results on MOSH/MOAH* (mg/kg) concentrations in feed for urban area farm

Probă	MOSH (mg/kg)							EU-RL (n–C _{10–50})**
	C _{10–16}	C _{16–20}	C _{20–25}	C _{25–35}	C _{35–40}	C _{40–50}	C _{10–50}	
R–FL	11,6	8,8	5,1	2,9	0,3 ^{LQ}	0,3 ^{LQ}	29,0	0,5 mg/kg
R–SSL	9,3	10,3	8,5	11,6	1,6	1,3	42,6	
R–SP	7,3	6,6	4,5	4,8	1,0	0,7	24,9	
R–PB	11,2	27,3	24,7	13,6	2,2	2,4	81,4	
R–SS	4,1	4,2	3,1	5,2	0,2 ^{LQ}	0,1 ^{LQ}	16,9	
R–T	2,3	3,2	2,4	12,9	5,2	4,4	30,4	
R–BB	14,4	8,3	8,7	23,8	1,5	0,6	57,3	
R–AU	7,0	11,2	10,6	17,7	2,7	1,7	50,9	
	MOAH (mg/kg)						EU-RL (n–C _{10–50})**	
	C _{10–16}	C _{16–25}	C _{25–35}	C _{35–50}	C _{10–50}			
R–FL	0,1 ^{LQ}	1,1	0,1 ^{LQ}	nd.	1,3	0,5 mg/kg		
R–SSL	0,1 ^{LQ}	1,8	0,3 ^{LQ}	nd.	2,2			
R–SP	nd.	0,45 ^{LQ}	nd.	nd.	0,45 ^{LQ}			
R–PB	0,6	3,8	0,1 ^{LQ}	nd.	4,5			
R–SS	0,2 ^{LQ}	0,8	nd.	nd.	1,0			
R–T	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.			
R–BB	0,2 ^{LQ}	2,9	0,3 ^{LQ}	nd.	3,4			
R–AU	nd.	0,5	nd.	nd.	0,5			

* Cuantificare bazată pe standardele interne CyCy (MOSH); media standardelor interne 5B, 1–MN, 2–MN, TBB (MOAH). Valorile sunt media a 2 repetări/probă, exprimate pe fracțiuni carbonice (n–C) și sub formă de conținut total.

** EU-RL=Limite recomandate de Comisia Europeană (ScOPAFF) pentru produse alimentare cu ≤ 4 % grăsime; criterii de performanță pentru analiza MOSH/MOAH: LOQ < 0,5 mg/kg; LQ = valori sub limita de cuantificare. nd. = nedetectat.

Pentru unitatea R–U s-au analizat probe de fân de lucernă R–FL, semisiloz de lucernă R–SSL, siloz de porumb R–SP, porumb boabe R–PB, șrot de soia R–SS, triticale R–T, borhot de bere R–BB și nutreț amestec R–AU pentru care s-au evidențiat niveluri deosebit de ridicate de MOSH, de la 16,9 mg/kg până la conținuturi de 81,4 mg/kg, însă cu niveluri minime de MOAH, pentru care s-au înregistrat valori medii de la 1,0 mg/kg până la 4,6 mg/kg sau chiar valori sub limita de cuantificare. Raportat la recomandările ghidului JRC (2019) și ale Comisiei Europene (2022), s-a observat că toate probele de nutrețuri asociate unității din zona urbană R–U au depășit considerabil limitele recomandate EU-RL de 0,5 mg/kg MOSH, stabilite pentru produsele cu un conținut < 4 % grăsime, în timp ce pentru MOAH, limitele recomandate EU-RL au fost depășite de cinci din probele analizate.

Cromatogramele obținute în urma analizei contaminanților confirmă prezența MOSH și MOAH în toate probele de nutrețuri din unitatea din zona urbană; fig. 5.10 și 5.11 prezintă o selecție de probe pentru care s-au observat în general profiluri de contaminare tipice cu lubrifianți, uleiuri de motor și uleiuri hidraulice, centrată la nivelul fracțiunilor $n-C_{10-35}$ pentru MOSH și $n-C_{16-25}$ pentru MOAH.

Nivelul de contaminare deosebit de ridicat ce a fost evidențiat în cazul ambelor probe de nutrețuri nu poate fi explicat pe deplin doar de prezența contaminării cu uleiuri auto și lubrifianți. Prezența unor concentrații suficient de ridicate de MOSH la nivelul fracțiunilor $n-C_{10-35}$ și în general, concentrațiile mari de MOSH detectate în cele două probe de nutrețuri oferă indicii despre existența unor surse de contaminare numeroase și cu origini diverse față de cele deja anticipate.

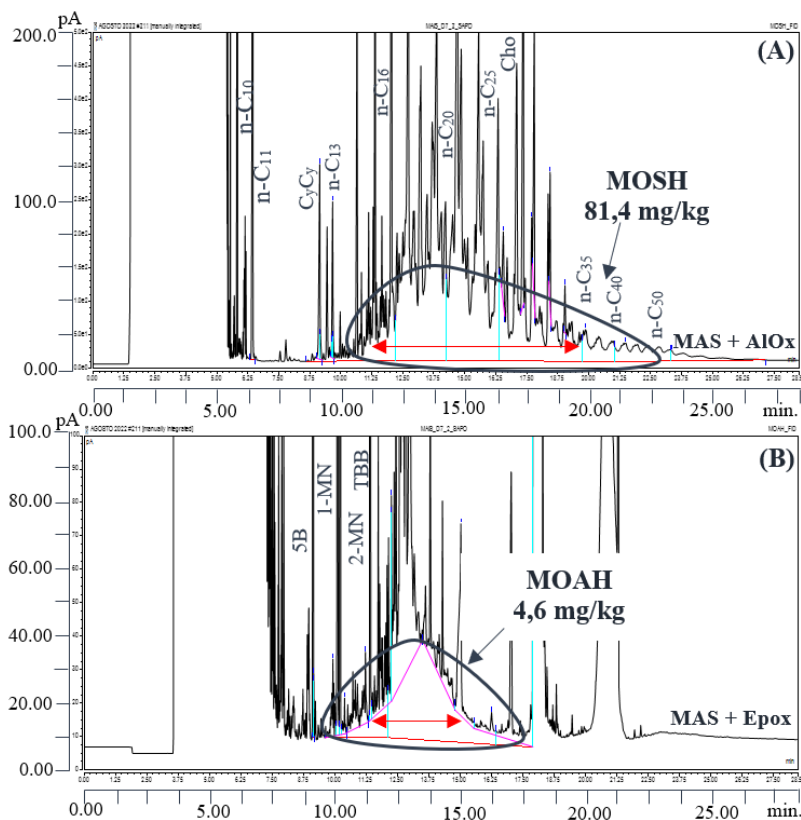


Figura 5.10 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de porumb boabe R–PB; albastru indică nivelul de contaminare pentru MOSH/MOAH; roșu indică profilul de contaminare cu MOSH centrat pe $n-C_{10-35}$ și MOAH centrat $n-C_{16-25}$; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.10 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for R–PB corn grain samples; blue shows contamination level for MOSH/MOAH; red shows contamination profile centered on $n-C_{10-35}$ for MOSH and on $n-C_{16-25}$ for MOAH; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

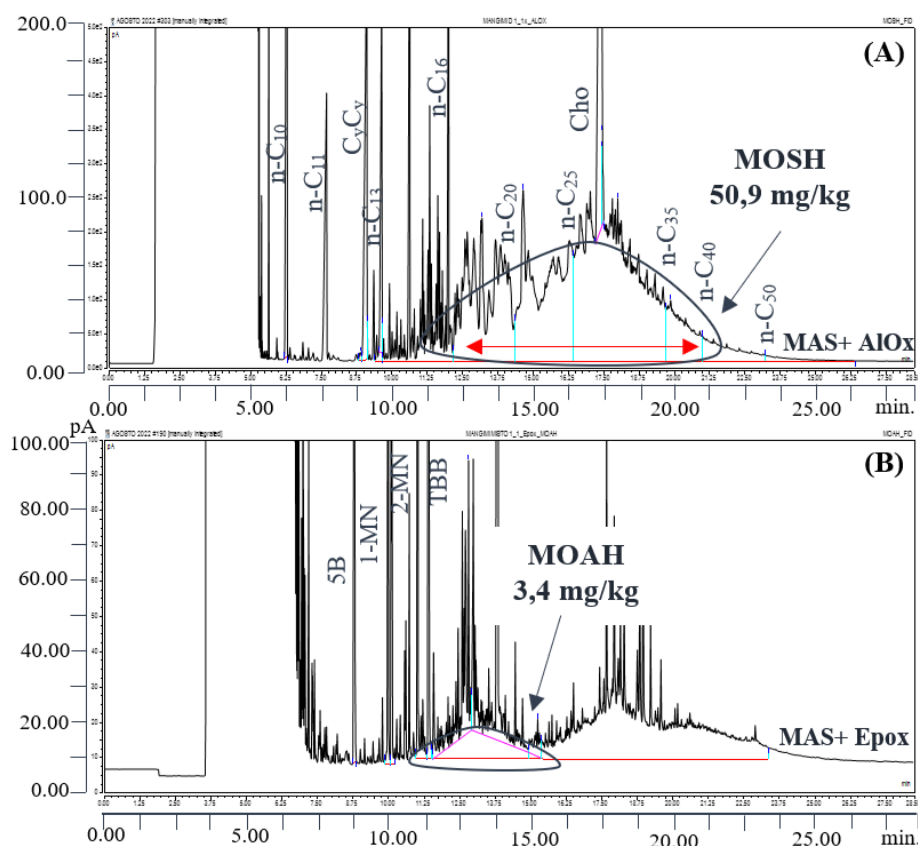


Figura 5.11 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de nutreț amestec R–AU; albastru indică nivelul de contaminare pentru MOSH/MOAH; roșu indică profilul de contaminare cu MOSH centrat pe n–C₁₀₋₃₅; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.11 LC-GC-FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for R-AU combined feed samples; blue shows contamination level for MOSH/MOAH; red shows MOSH contamination profile centered on n-C₁₀₋₃₅; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

În acest sens, a fost evaluată influența surselor potențiale de poluare asociate zonelor de prelevare a probelor de nutrețuri obținute în ferma vegetală proprie a unității din zona urbană; aspectele observate au fost rezumate în tabelul 5.10.

Poziționată în zona urbană, în imediata vecinătate a unuia dintre cele mai aglomerate centre urbane ale țării și în cadrul unui areal cu numeroase surse de poluare (activități industriale, construcții și infrastructură rutieră, deșeuri municipale, trafic terestru și aerian intens), unitatea R–U a fost evaluată ca fiind expusă unui risc ridicat în ceea ce privește efectele potențiale ale poluării astfel încât, concentrațiile ridicate de MOSH și MOAH identificate în nutrețuri au confirmat ipoteza inițială privind nivelul de poluare al mediului din arealul de referință.

Tabelul 5.10/Table 5.10

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona urbană și relația cu factorii poluanți

The level of MOSH/MOAH contamination (mg/kg) of feed for urban area farm and the relationship with polluting factors

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Locația culturii		
			d – drumuri/trafic*	d – zonele populate (nr. locuitori)	d – alte surse poluare
Loc prelevare nutrețuri: zonă de câmpie					
R–FL	29,0	1,3	~ 1 km / intens	~ 2 km (507100)	unități industriale (chimice); depozite de deșeuri municipale; construcții imobiliare și de infrastructură rutieră
R–SSL	42,6	2,2	~ 1 km/ mediu**		
R–SP	24,9	< LOQ	~ 4 km / intens ~ 1 km/ mediu**	~ 2 km (507100)	
R–PB	81,4	4,6	~ 1 km / intens ~ 1 km/ mediu**	~ 2 km (507100)	
R–SS	16,9	1,0	ns.	ns.	
R–T	30,4	< LOQ	~ 5 km / mediu	~ 4 km (2067)	
R–BB	57,3	3,4	ns.	ns.	
R–AU	50,9	0,5	FL, SSL, SP, PB, SS, T, BB	FL, SSL, SP, PB, SS, T, BB	

* Condiții de trafic asociate zonelor urbane; ** Transport aerian (25 cicluri de aterizare-decolare); d=distanța; ns.= lipsă specificații (nutreț de proveniență externă); LQ = valori situate sub limita de cuantificare.

Cu excepția probelor de triticale R-T, a căror parcele au fost situate într-o zonă rurală, cu densitate redusă a traficului și la ~ 5 km de zonele populate, toate celelalte probe de nutrețuri obținute în ferma vegetală proprie a unității din zona urbană (R-FL, R-SSL, R-SP, R-PB) corespund unor zone de cultură aproximativ similare, fiind expuse acelorași surse de poluare, pentru toate aceste probe fiind observat un nivel ridicat de contaminare cu MOSH (24,9–81,4 mg/kg) și MOAH (<0,5–4,6 mg/kg). Cu toate acestea, pentru probele de nutrețuri expuse la aceleași surse de poluare nu s-a observat o uniformitate în ceea ce privește concentrațiile de MOSH și MOAH detectate (fig. 5.12); exemplificând concret, nivelul de contaminare al probelor de porumb boabe R-PB cu 81,4 mg/kg MOSH, respectiv 4,6 mg/kg MOAH, a fost considerabil mai mare față de cele evidențiat pentru semisilozul de lucernă R-SSL (42,6 mg/kg MOSH; 2,2 mg/kg MOAH), fânul de lucernă (29,0 mg/kg MOSH; 1,3 mg/kg MOAH) sau silozul de porumb (24,9 mg/kg MOSH; < 0,5 mg/kg MOAH), ceea ce indică astfel existența unor surse de contaminare suplimentare, cel puțin pentru probele R-PB și R-SSL.

Pe baza informațiilor observate și prin analiza concentrațiilor ridicate de MOSH și MOAH identificate în raport cu sursele de poluare, nu se poate confirma în mod cert că sursele de poluare raportate în arealul de referință al unității din zona urbană R-U pot fi responsabile în totalitate de nivelul de contaminare regăsit pentru nutrețurile analizate, însă influența lor nu poate fi considerată neglijabilă.

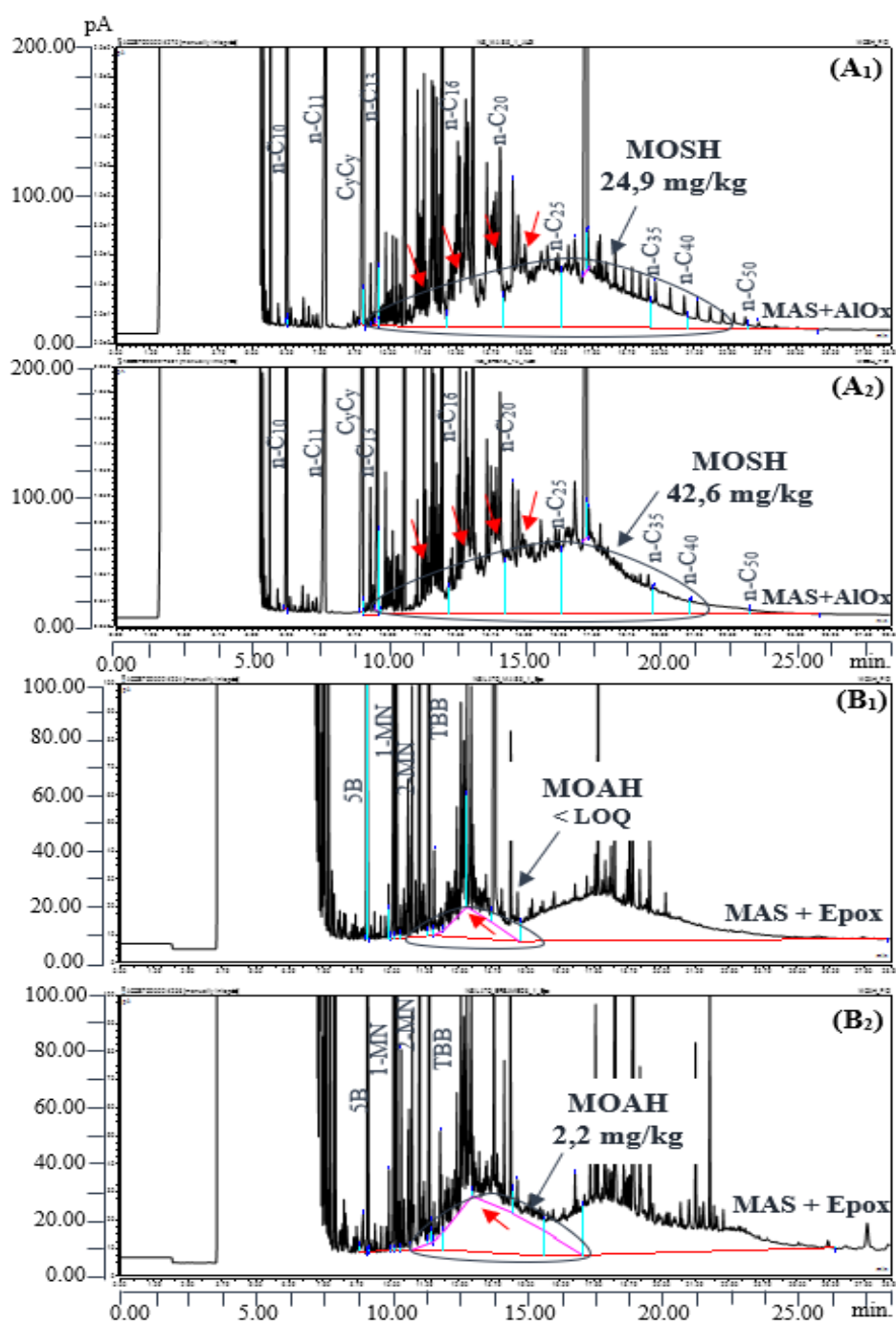


Figura 5.12 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de siloz de porumb R–SP (A₁; B₁) și semisiloz de lucernă R–SSL (A₂; B₂); timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH
 Figure 5.12 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for R–SP ((A₁; B₁) corn silage and R–SSL alfalfa silage (A₂; B₂) samples; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Deși sunt probe de proveniență externă pentru care nu există informații referitoare la locația culturii și sursele de poluare potențiale asociate, nivelul de contaminare cu MOSH și MOAH al șrotului de soia R-SS (16,9 mg/kg MOSH; 1,0 mg/kg MOAH; fig. 5.13) și al borhotului de bere R-BB (57,3 mg/kg MOSH; 3,4 mg/kg MOAH; fig. 5.14) nu trebuie neglijat întrucât acestea contribuie indirect la nivelul de contaminare al nutrețului amestec format. Raportat la contribuția nutrețurilor la formarea amestecului, cele 50,9 mg/kg MOSH și 0,5 mg/kg MOAH identificate pentru nutrețul amestec nu poate fi considerat proporțional cu valorile obținute individual pentru nutrețurile componente, sugerând astfel prezența unor surse suplimentare de contaminare față cele raportate pentru nutrețurile componente.

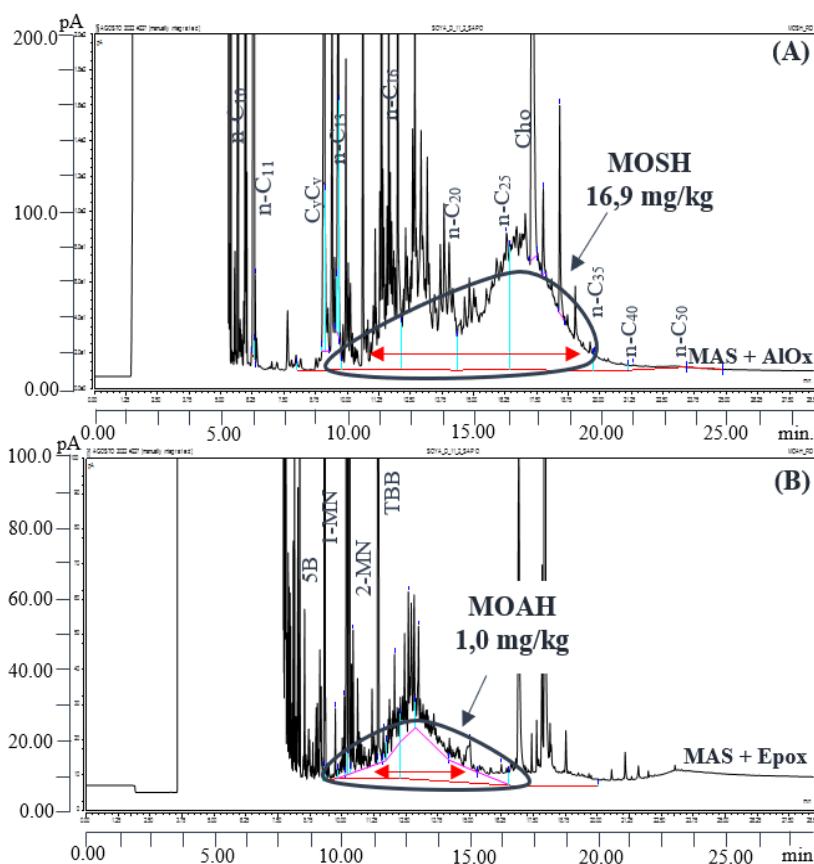


Figura 5.13 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de șrot de soia R-SS; albastru indică nivelul de contaminare pentru MOSH/MOAH; roșu indică profilul de contaminare cu MOSH centrat pe n-C₁₀₋₃₅ și MOAH centrat n-C₁₆₋₂₅; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.13 LC-GC-FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for R-PB corn grain samples; blue shows contamination level for MOSH/MOAH; red shows MOSH contamination profile centered on n-C₁₀₋₃₅ and MOAH centered on n-C₁₆₋₂₅; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

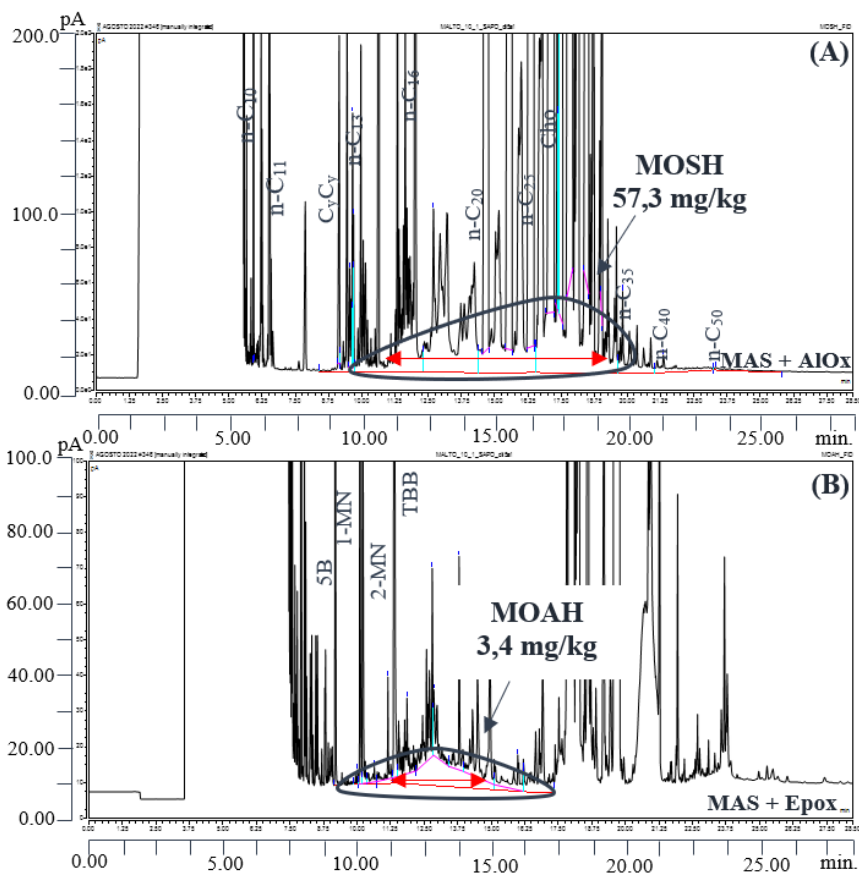


Figura 5.14 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de borhot de bere R–BB; albastru indică nivelul de contaminare pentru MOSH/MOAH; roșu indică profilul de contaminare cu MOSH centrat pe n–C₁₀₋₃₅ și MOAH centrat n–C₁₆₋₂₅; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.14 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for R–BB brewer spent grain samples; blue shows contamination level for MOSH/MOAH; red shows MOSH contamination profile centered on n–C₁₀₋₃₅ and MOAH centered on n–C₁₆₋₂₅; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Informațiile obținute prin evaluarea relației dintre contaminarea nutrețurilor și factorii poluanți au indicat în mod clar că sursele de poluare asociate zonelor de prelevare a probelor analizate au avut o contribuție importantă la contaminarea nutrețurilor din unitatea R–U. Cu toate acestea, cauzele contaminării nu s-au rezumat doar la nivelul surselor de poluare întrucât o arie largă de factori suplimentari pot contribui negativ la acumularea de MOSH și MOAH.

În acest sens, în vederea identificării cât mai clare a cauzelor care au dus la concentrațiile ridicate de MOSH/MOAH din nutrețurile unității din zona urbană, au fost previzionate cele mai importante activități de natură tehnologică (tabelul 5.11) sau analitică (tabelul 5.12) care ar fi putut contribui la contaminarea nutrețurilor.

Tabelul 5.11/Table 5.11

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona urbană și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of feed for urban area farm and the relationship with the technological factors of contamination

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Operațiuni tehnologice aplicate culturilor		
			Tratamente fitosanitare și de fertilizare*	Recoltare	Depozitare
R-FL	29,0	1,3	Organic / Mecanizat Chimic/ Mecanizat: pompa de stropit	Mecanizat (a) mașină de cosit/ recoltat (b) autovehicul transport (c) presă de balotat și foliat	Baloturi foliate/ Spațiu deschis
R-SSL	42,6	2,2		Mecanizat (a) combină de recoltare (b) autovehicul transport (c) tractor cu șenile	Celulă beton, folie polietilenă/ Spațiu deschis
R-SP	24,9	< LOQ		Mecanizat (a) combină de recoltare (b) autovehicul transport (c) tractor cu șenile	Siloz cereale /Spațiu închis
R-PB	81,4	4,6	ns.	Mecanizat (a) combină de recoltare (b) autovehicul transport	Siloz cereale /Spațiu închis
R-SS	16,9	1,0		Mecanizat: transport auto	Siloz cereale
R-T	30,4	< LOQ		Mecanizat (a) combină de recoltare (b) autovehicul transport	Siloz cereale /Spațiu închis
R-BB	57,3	3,4	ns.	Mecanizat: transport auto	Platformă betonată
R-AU	50,9	0,5	FL, SSL, SP, PB, SS, T, BB	Mecanizat: remorca tehnologică **	-

* Tipul tratamentului, formula comercială, cantitatea aplicată și substanța activă pot fi consultate la secțiunea anterioară.

** Activitatea se referă la pregătirea amestecului unic în vederea administrării către animale;

ns. – lipsă specificații (nutreț de proveniență externă); nd.=nedetectat; LOQ= valori situate sub limita de cuantificare

Având în vedere nivelul ridicat de contaminare cu MOSH și MOAH detectat pentru probele de nutrețuri și în raport cu informațiile obținute prin fișele de eșantionare, se poate afirma că nivelul de contaminare al nutrețurilor din unitatea R-U s-ar putea afla în relație directă cu diversitatea și complexitatea acțiunilor desfășurate în fermă astfel că, operațiunile tehnologice aplicate pentru obținerea nutrețurilor ar putea avea o contribuție esențială la contaminarea cu MOSH/ MOAH.

În ceea ce privește tratamentele fitosanitare și de fertilizare aplicate culturilor vegetale pentru îngrijire și protecție, conform fișelor de eșantionare, acestea pot fi considerate ca având efect neglijabil în ceea ce privește contaminarea cu MOSH și MOAH, considerând că se aplică în general tratamente comune de fertilizare sau combatere a dăunătorilor ale căror substanțe au fost declarate și pentru care nu s-au identificat elemente particulare de risc. Cu toate acestea, diversitatea substanțelor folosite pentru fiecare cultură (în medie 6–7 tipuri diferite de substanțe) sugerează că tratamentele aplicate nu pot fi considerate pe deplin surse neglijabile de contaminare cu MOSH și MOAH, aspect justificat suplimentar de contextul legislativ insuficient de riguros pentru acest subiect.

Tabelul 5.12/Table 5.12

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al nutrețurilor unității din zona urbană și relația cu factorii contaminanți de natură analitică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of feed for urban area farm and the relationship with the analytical factors of contamination

Probă	MOSH (mg/kg)	MOAH (mg/kg)	Prelevare, pregătire și stocare probe		Pregătire probe
			MOSH/MOAH în materialele de contact*		
R-FL	29,0	1,3	211,6 mg/kg	32,2 mg/kg	Tăiere / Măcinare
R-SSL	42,6	2,2			Uscare / Măcinare
R-SP	24,9	< LOQ			Uscare / Măcinare
R-PB	81,4	4,6			Măcinare
R-SS	16,9	1,0			Măcinare
R-T	30,4	< LOQ			Măcinare
R-BB	57,3	3,4			Măcinare
R-AU	50,9	0,5			Uscare / Măcinare

* Materiale de recoltare și stocare (ambalaj polietilenă= 1,8 g; recipient polipropilenă=7,7 g). Datele reprezintă media valorilor obținute în urma analizei celor două tipuri de materiale/2 repetări

Privind concentrațiile de MOSH și MOAH raportate la contaminarea potențială prin prisma tratamentelor fitosanitare și de fertilizare, nu se poate stabili o legătură evidentă între nivelul de contaminare și diversitatea tratamentelor aplicate întrucât, chiar și pentru probele de nutrețuri pentru care s-au aplicat mai puține tratamente (ex. cultura de lucernă), s-a evidențiat un nivel de contaminare la fel de ridicat (29,0–42,6 mg/kg MOSH; 1,3–2,2 mg/kg MOAH) ca cel al probelor unde tratamentele aplicate au fost mult mai numeroase și mai diversificate (24,9–81,4 mg/kg MOSH; 0,5–4,6 mg/kg MOAH).

Pe lângă tratamentele fitosanitare și de fertilizare, gradul ridicat de mecanizare al operațiunilor din cadrul unității din zona urbană R-U indică o posibilă contaminare cu MOSH și MOAH prin intermediul emisiilor și lichidelor tehnice ale echipamentelor și utilajelor agricole utilizate la obținerea nutrețurilor.

Diversitatea utilajelor agricole folosite la recoltarea și obținerea nutrețurilor indică un risc ridicat de contaminare cu MOSH și MOAH, mai ales având în vedere că pentru fiecare dintre utilajele menționate se utilizează uleiuri de motor, lubrifianți sau uleiuri hidraulice, cunoscute ca principali contaminanți cu MOH. Pentru fânul de lucernă R-FL, semisilozul de lucernă R-SSL și silozul de porumb R-SP, riscul de contaminare crește cu atât mai mult, dată fiind specificitatea metodelor de prelucrare tehnologică a acestor tipuri de nutrețuri, respectiv balotarea pentru fân și tasarea pentru silozuri, operațiuni care implică utilizarea suplimentară a două tipuri de utilaje care intră în contact direct cu nutrețurile, dar și a unor materiale ce pot avea în compoziția lor MOH (ex. folie polietilenă).

Cu toate acestea, atât în ceea ce privește contribuția operațiunilor tehnologice, cât și în ceea ce privește particularitatea probelor R-FL, R-SSL și R-SP, în situația dată, valorile MOSH/MOAH din nutrețuri nu reflectă o diferențiere

evidență raportată la gradul de expunere la contaminare, astfel încât nu poate fi confirmată o relație directă între nivelul de contaminare observat și gradul de expunere la contaminarea prin prisma operațiunilor tehnologice.

Un risc minim de contaminare cu MOSH și MOAH a fost însă evidențiat pe perioada pregătirii probelor pentru analize, având în vedere că nu s-au utilizat materiale sau instrumente care ar fi putut să influențeze în mod nedorit concentrațiile de contaminanți din probele analizate. Nu se poate afirma pe deplin același lucru pentru etapa de prelevare a probelor, unde nu se exclude contaminarea cu MOSH și MOAH prin contactul cu echipamentele de protecție (mănuși cauciuc/nitril) sau a materialelor de ambalare utilizate (fig. 5.15), în aceeași măsură în care nu se exclude contaminarea potențială cu MOSH și MOAH pe perioada pregătirii analitului prin prisma reactivilor sau a instrumentarului folosit.

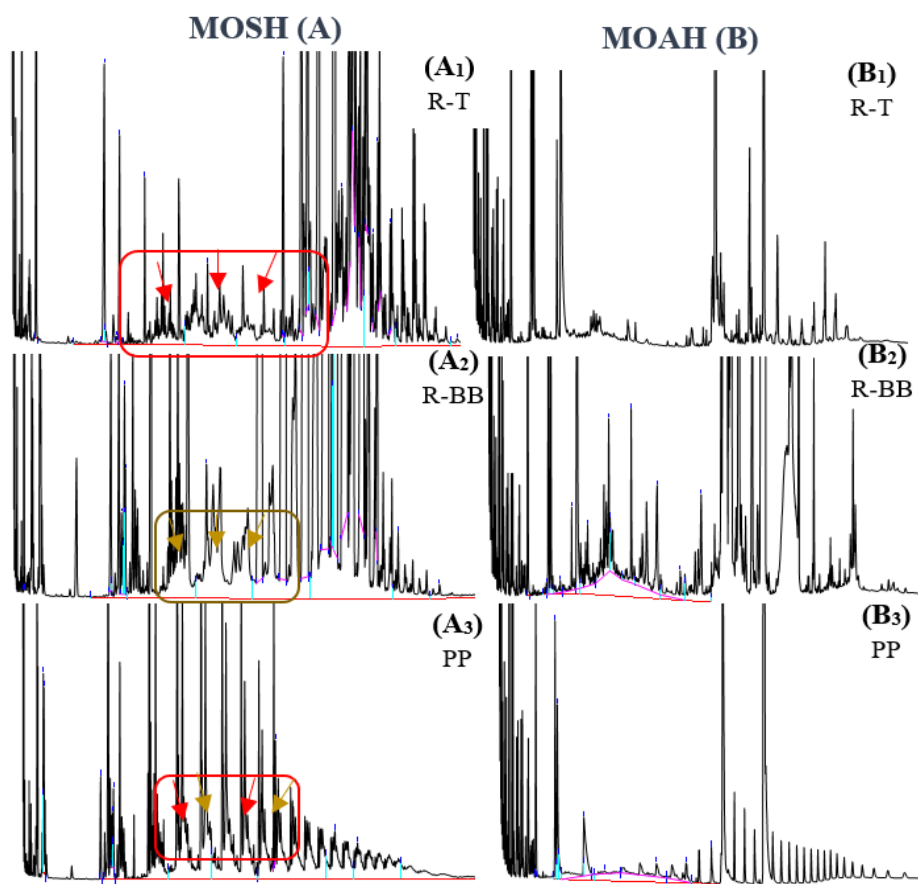


Figura 5.15 Cromatogramele LC-GC-FID exemplificând modele de migrare ale MOSH (A) și MOAH (B) din materialele de contact în nutrețurile unității din zona urbană R-U: triticale R-T (A₁; B₁); borhot de bere R-BB (A₂; B₂); recipient polipropilenă PP (A₃; B₃)

Figure 5.15 LC-GC-FID chromatograms showing migration patterns of MOSH (A) and MOAH (B) from packaging materials to feed from urban farm R-U: triticale R-T (A₁; B₁); brewers spent grain R-BB (A₂; B₂); polypropylene container-PP (A₃; B₃)

Pentru probele de șrot de soia R–SS și borhot de bere R–BB, pentru care nu sunt cunoscute informații referitoare la specificul operațiunilor desfășurate pentru obținerea lor, o posibilă contaminare cu MOSH și MOAH ar fi putut avea loc pe perioada transportului, prin intermediul vehiculului utilizat. Cu toate acestea, deși emisiile autovehiculelor și lichidele tehnice utilizate pentru autovehicule, cunoscute ca având în componență MOH, sunt considerate principalii contaminanți, nu se justifică nivelul ridicat de contaminare al celor două tipuri de probe, astfel încât o contaminare din surse necunoscute a fost luată în considerare pentru aceste probe.

În ceea ce privește nutrețul amestec R–AU, în a cărui componență intră toate nutrețurile menționate până la această etapă, având în vedere că prezența celor 50,9 mg/kg MOSH și 0,5 mg/kg MOAH nu a putut fi justificată în totalitate de contaminarea dată de poluarea mediului, se poate lua în considerare contribuția potențială a operațiunilor de pregătire a amestecului și o posibilă contaminare (în special cu MOSH) la momentul administrării hranei. Practicile de lucru nedeclarate de fermieri și care pot contribui substanțial la contaminarea cu MOSH și MOAH a nutrețurilor au fost, de asemenea, luate în considerare.

5.4 Analiza comparativă privind contaminarea nutrețurilor cu hidrocarburi din uleiuri minerale

Evaluarea comparativă a nivelurilor de contaminare a nutrețurilor reflectă în general prezența MOSH și MOAH pentru toate tipurile de nutrețuri analizate de la nivelul fiecărei unități studiate, diferențele proporționale fiind date de specificul fiecărei unități în raport cu expunerea la diferite surse de poluare, de poziționarea unității și a locației culturilor de proveniență a nutrețurilor sau de gradul de tehnologizare a operațiunilor din fermă.

Datele prezentate în fig. 5.16 și 5.17 rezumă situația generală a nivelului de contaminare cu MOSH și MOAH (mg/kg) al fiecărui tip de nutreț.

Din punct de vedere al conținutului de grăsime brută, toate probele de nutrețuri analizate au avut un conținut de grăsime ≤ 4 %. Din datele raportate, în comparație cu limitele recomandate pentru MOSH și MOAH de către Ghidul JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019), în corespondență cu Comisia Europeană (2022), s-a observat că toate probele de nutrețuri analizate ale fiecărei unități au fost contaminate cu MOSH, iar cantitățile regăsite, cuprinse în medie între 11,4–81,4 mg/kg, au depășit limitele recomandate EU-RL pentru produsele alimentare ≤ 4 % grăsime, respectiv 0,5 mg/kg MOSH. O situație similară a fost reflectată în ceea ce privește contaminarea cu MOAH, unde, cu excepția a 4 tipuri de probe (1–unitatea din zona rurală M–Rr; 3–unitatea din zona urbană R–U), unde valorile au fost sub limita de cuantificare, toate celelalte probe au avut cantități de MOAH cuprinse între 0,6–4,6 mg/kg, depășind de asemenea limitele recomandate.

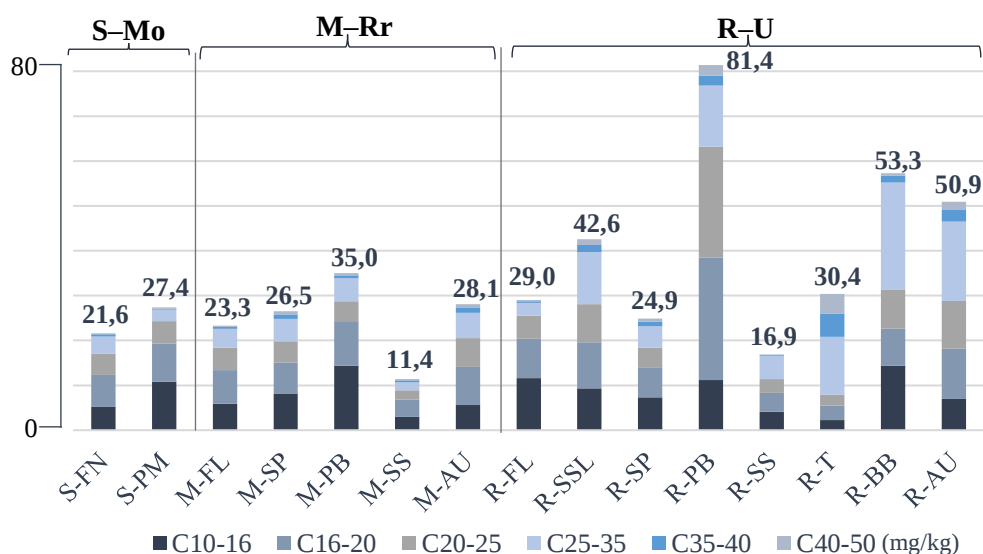


Figura 5.16 Concentrațiile MOSH din probele de nutrețuri; valorile min./max. au fost raportate la EU-RL ($n-C_{10-50}$)–0,5 mg/kg pentru produse alimentare cu $\leq 4\%$ grăsime

Figure 5.16 MOSH concentrations of all feed samples; min./max. values were reported at EU-RL ($n-C_{10-50}$)–0,5 mg/kg for food products with $\leq 4\%$ fat

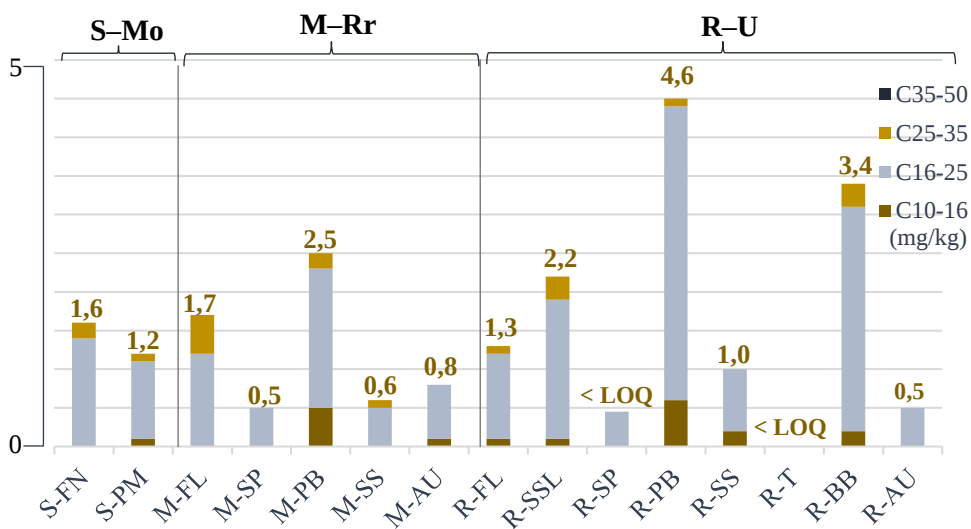


Figura 5.17 Concentrațiile MOAH din probele de nutrețuri; valorile min./max. au fost raportate la EU-RL ($n-C_{10-50}$)–0,5 mg/kg pentru produse alimentare cu $\leq 4\%$ grăsime.

Figure 5.17 MOAH concentrations of all feed samples; min./max. values were reported at EU-RL ($n-C_{10-50}$)–0,5 mg/kg for food products with $\leq 4\%$ fat

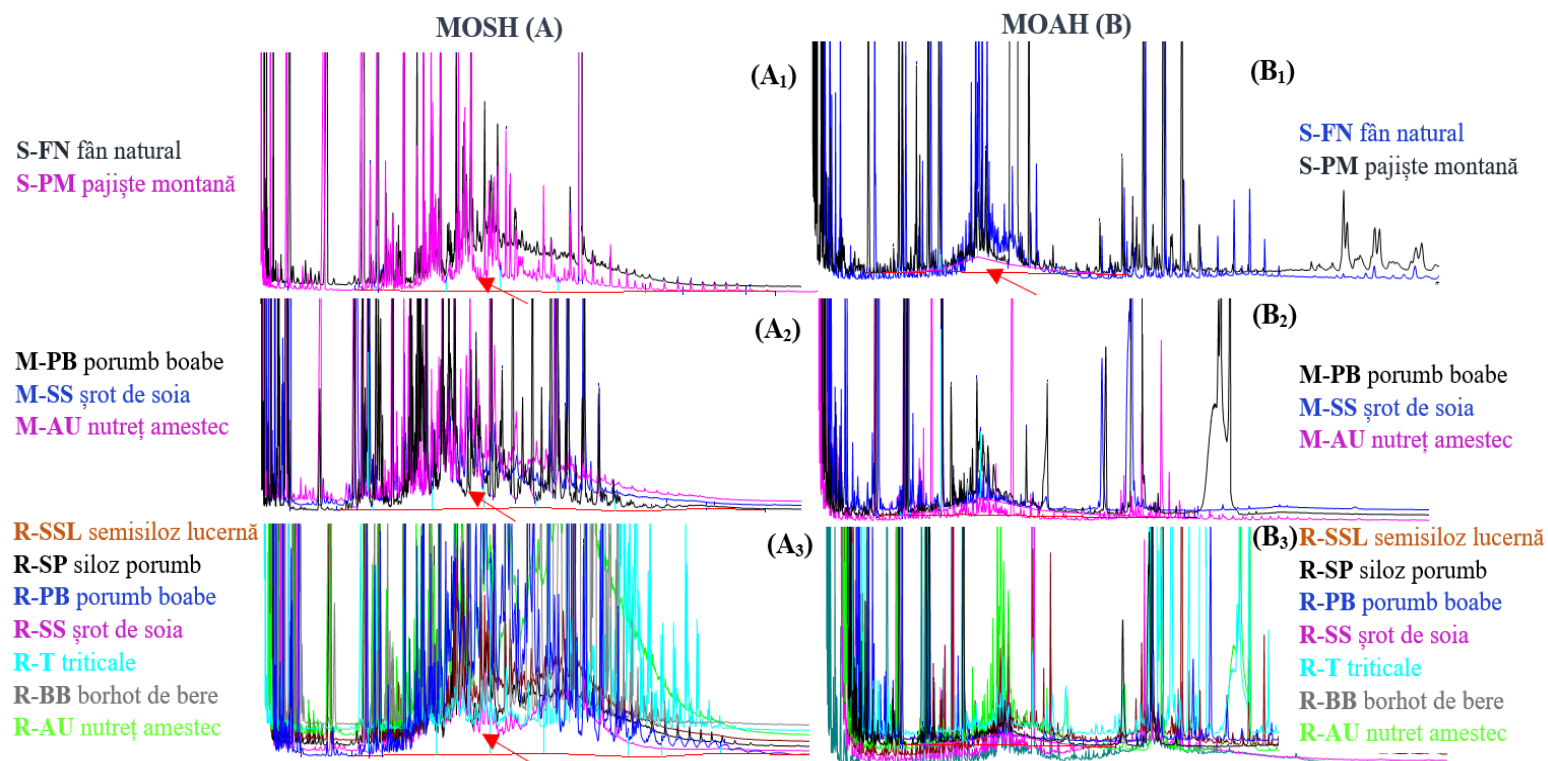


Figura 5.18 Nivelul comparativ de contaminare al probelor de nutrețuri din unitatea montană (A₁; B₁), unitatea rurală (A₂; B₂) și unitatea urbană (A₃; B₃) redat prin suprapunerea cromatogramelor LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B); legenda fiecărei figuri include interpretarea referințelor de culoare; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 5.18 Overlay of MOSH (A) and MOAH (B) chromatograms of feed samples from S–Mo mountain farm (A₁; B₁), M–Rr rural farm (A₂; B₂) and R–U urban farm (A₃; B₃); the legend of each figure includes the interpretation of the color references, retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Dat fiind caracterul lipofil al contaminanților, a fost analizată relația dintre nivelul de contaminare și conținutul de grăsime brută al nutrețurilor, aspect în urma căruia s-a confirmat că nivelurile cele mai ridicate de contaminare cu MOSH/MOAH au fost în cazul probelor cu cele mai ridicate conținuturi de grăsime brută, așa cum sunt exemplele probelor de porumb boabe M–PB ale unității din zona rurală, cu 3,75 % grăsime; 35,0 mg/kg MOSH și 2,5 mg/kg MOAH; probele de porumb boabe R–PB cu 3,74 % grăsime brută; 81,4 mg/kg MOSH și 4,6 mg/kg MOAH, dar și probele de borhot de bere R–BB cu 2,24 % grăsime; 57,3 mg/kg MOSH și 3,4 mg/kg MOAH, cele din urmă aparținând unității din zona urbană R-U.

Analizând nivelul de contaminare al fiecărei unități studiate în funcție de specificul fiecărei unități și în funcție de poziționarea și locația culturilor în raport cu gradul de expunere la diferitele surse de poluare identificate, nivelul de contaminare observat a fost considerat proporțional cu gradul și intensitatea de expunere la diferitele surse de poluare identificate prin fișele de eșantionare aplicate fiecărei unități. În acest fel, așa cum este redat în fig. 5.18, atât pentru MOSH, cât și MOAH, nivelul cel mai mic de contaminare al nutrețurilor a fost identificat pentru unitatea din zona rurală M–Rr, urmat de o contaminare medie identificată pentru nutrețurile din unitatea din zona montană S-Mo, nivelul cel mai ridicat de contaminare fiind atribuit în final nutrețurilor din unitatea din zona urbană R–Ur.

În mod specific, pentru unitatea din zona montană S-Mo, nivelul considerabil de contaminare a nutrețurilor cu MOSH/MOAH a fost atribuit în special istoricului zonal ce a inclus activități de exploatare minieră, în timp ce în cazul unității din zona rurală M–Rr, o contribuție potențială la contaminarea nutrețurilor cu MOSH/MOAH a fost atribuită transferului atmosferic al poluanților din zona urbană învecinată. În mod particular, în cazul unității din zona urbană R–Ur, dintre numeroasele surse potențiale de poluare asociate zonei, traficul intens (terestru și aerian) ar fi fost principalul factor ce ar fi contribuit la contaminarea cu MOSH/MOAH a nutrețurilor.

La evaluarea contribuției factorilor contaminanți la nivelul de contaminare al probelor de nutrețuri s-a evidențiat că informațiile rezultate au fost conform preconizărilor efectuate, respectiv a fost posibilă corelarea nivelului de contaminare al nutrețurilor cu gradul de tehnologizare al activităților specifice unităților studiate, concentrațiile de MOSH/MOAH fiind mai mari pentru probele de nutrețuri la care s-au aplicat acțiuni de îngrijire sau prelucrare mai numeroase și mai diversificate.

CAPITOLUL 6. REZULTATE PRIVIND CONTAMINAREA LAPTELUI CU HIDROCARBURI DIN ULEIURI MINERALE

CHAPTER 6. RESULTS ON MILK CONTAMINATION WITH MINERAL OIL HYDROCARBONS

Pe parcursul obținerii sale, laptele poate fi contaminat cu hidrocarburi din uleiuri minerale pe cale exogenă, dar și pe cale endogenă, prin transferul metabolic al contaminanților din organismul animal, în urma ingestiei de nutrețuri contaminate.

În contextul dat, în cadrul acestui capitol a fost analizat nivelul de contaminare cu MOSH și MOAH a probelor de lapte din cele trei unități selectate (zona montană, zona rurală, zona urbană), rezultatele medii obținute fiind analizate comparativ între unități, dar și în raport cu nivelul de contaminare al nutrețurilor din unitatea de proveniență.

6.1 Rezultate obținute pentru unitatea din zona montană

Pentru unitatea din zona montană S–Mo, două tipuri de probe de lapte de vacă reprezentând laptele din rația de vară (S–L_v) și laptele din rația de iarnă (S–L_i) au fost analizate din punct de vedere al contaminării cu MOH. Tabelul 6.1 prezintă concentrațiile MOSH și MOAH (exprimate în mg/kg) din probele de lapte analizate, rezultate fiind media a două replici pentru fiecare dintre probe.

Tabelul 6.1/ Table 6.1

Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH* (mg/kg) din probele de lapte
ale unității din zona montană
Results on MOSH/MOAH (mg/kg) concentrations in milk for mountain area farm*

Probă	MOSH (mg/kg)						EU-RL (n–C _{10–50})**
	C _{10–16}	C _{16–20}	C _{20–25}	C _{25–35}	C _{35–40}	C _{40–50}	
S–L _i	0,3 ^{LQ}	2,3	0,8 ^{LQ}	0,3 ^{LQ}	nd.	nd.	1,0 mg/kg
S–L _v	0,6 ^{LQ}	4,5	2,4	1,7	0,4 ^{LQ}	0,3 ^{LQ}	
	MOAH (mg/kg)						EU-RL (n–C _{10–50})**
	C _{10–16}	C _{16–25}	C _{25–35}	C _{35–50}	C _{10–50}		
S–L _i	nd.	1,7	0,9 ^{LQ}	nd.	2,6		1,0 mg/kg
S–L _v	nd.	3,5	2,0	0,2 ^{LQ}	5,7		

* Cuantificare bazată pe standardele interne CyCy (MOSH); media standardelor interne 5B, 1–MN, 2–MN, TBB (MOAH). Valorile sunt media a 2 repetări/probă, exprimate pe fracțiuni carbonice (n–C) și sub formă de conținut total.

** EU-RL=Limite recomandate de Comisia Europeană (ScoPAFF) pentru produse alimentare cu > 4 % grăsime; criterii de performanță pentru analiza MOSH/MOAH: LOQ < 1,0 mg/kg; LQ = valori sub limita de cuantificare. nd. = nedetectat.

În vederea evaluării prezenței MOSH/MOAH, urmând indicațiile ghidului JRC privind eșantionarea, analiza și raportarea datelor (Bratinova & Hoekstra, 2019), rezultatele medii au fost grupate în șase subfracțiuni pentru MOSH și patru subfracțiuni pentru MOAH, prin integrarea semnalului pe întregul interval de atomi de n–C, fiind calculată și concentrația totală de n–C_{10–50}.

Conform datelor raportate în tabelul 6.1, o contaminare importantă a fost evidențiată pentru probele de lapte din rația de vară S–L_v, unde cantitatea medie de MOSH a fost de 9,9 mg/kg, cu o contaminare centrată în intervalul n–C_{16–25}, în timp ce cantitatea medie de MOAH a fost de 5,7 mg/kg, cu o contaminare principală în același interval molecular (fig. 6.2). Deși mai redus, un nivel de contaminare important a fost observat și pentru probele de lapte din rația de iarnă S–L_i (fig. 6.1), pentru care s-au obținut valori de 3,7 mg/kg MOSH și 2,6 mg/kg MOAH.

În comparație cu nivelurile de referință convenite prin Ghidul JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019), în corespondență cu Secțiunea Alimente noi și Siguranța Toxicologică a Lanțului Alimentar din Comitetul Permanent al Comisiei Europene, ambele probe de lapte au depășit nivelul de 1,0 mg/kg stabilit pentru MOSH și MOAH pentru produsele alimentare cu > 4 % grăsime.

Întrucât laptele este un produs cu o predispoziție ridicată la contaminarea exogenă, tabelele 6.2 și 6.3 cuprind o descriere detaliată a potențialelor surse de contaminare a probelor de lapte din unitatea din zona montană S–Mo astfel încât o evaluare obiectivă a nivelului de contaminare să poată fi realizată ulterior.

Tabelul 6.2/Table 6.2

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al laptelui unității din zona montană și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of milk from mountain area farm and the relationship with the technological factors of contamination

Probă	MOSH mg/kg	MOAH mg/kg	Operațiuni tehnologice aplicate		
			Tip de muls	Colectare și stocare	Igienizare
S–L _i	7,1	2,7	Mecanic, instalație de muls la bidon	Bidon de colectare aluminu	Spălare
S–L _v	13,4	5,8			

Tabelul 6.3/Table 6.3

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al laptelui unității din zona montană și relația cu factorii contaminanți de natură analitică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of milk from mountain area farm and the relationship with the analytical factors of contamination

Probă	MOSH mg/kg	MOAH mg/kg	Prelucrare probă* MOSH/MOAH		MOSH /MOAH ** mg/kg	
S–L _i	7,1	2,7	3,4	< LOQ	Liofilizare, Mărunțire, Măcinare	3,7
S–L _v	13,4	5,8				2,6
						9,9
						5,7

* Materiale de contact (hârtie cerată = 1,3 g; ambalaj polietilenă = 2,2 g). Datele reprezintă media valorilor obținute în urma analizei celor două tipuri de materiale/2 repetări; LOQ = valori sub limita de cuantificare.

** Valori corectate în funcție de contaminarea cuantificată a materialelor de contact la un transfer potențial de 100 %.

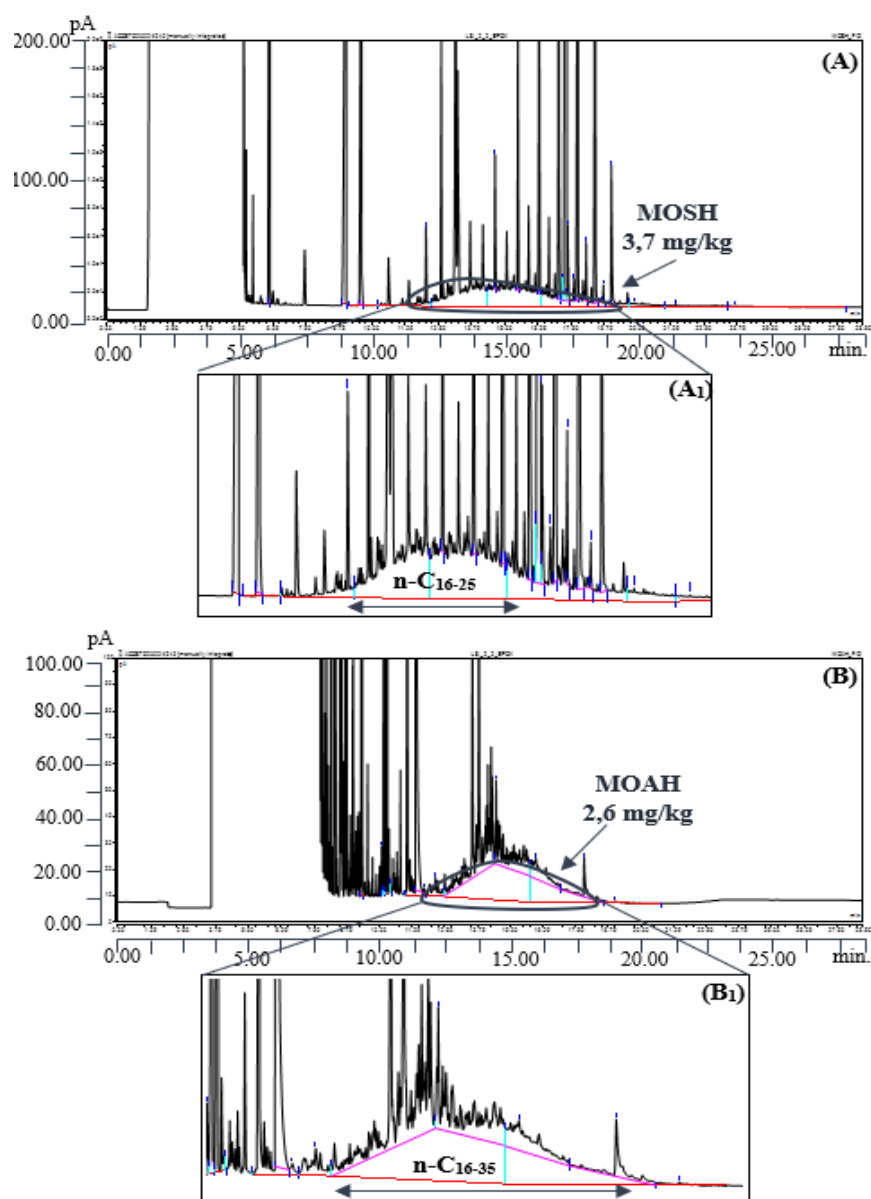


Figura 6.1 Cromatogramele LC-GC-FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probele de lapte din rația de iarnă S-Li; (A₁), (B₁) indică profilul de contaminare cu MOSH/MOAH centrat pe n-C₁₆₋₂₅ / n-C₁₆₋₃₅; timp de retenție (x): 0-28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 6.1 LC-GC-FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for S-Li milk samples from S-Mo mountain farm; (A₁), (B₁) shows the MOSH contamination profile centered on n-C₁₆₋₂₅ / n-C₁₆₋₃₅; retention time (x): 0-28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

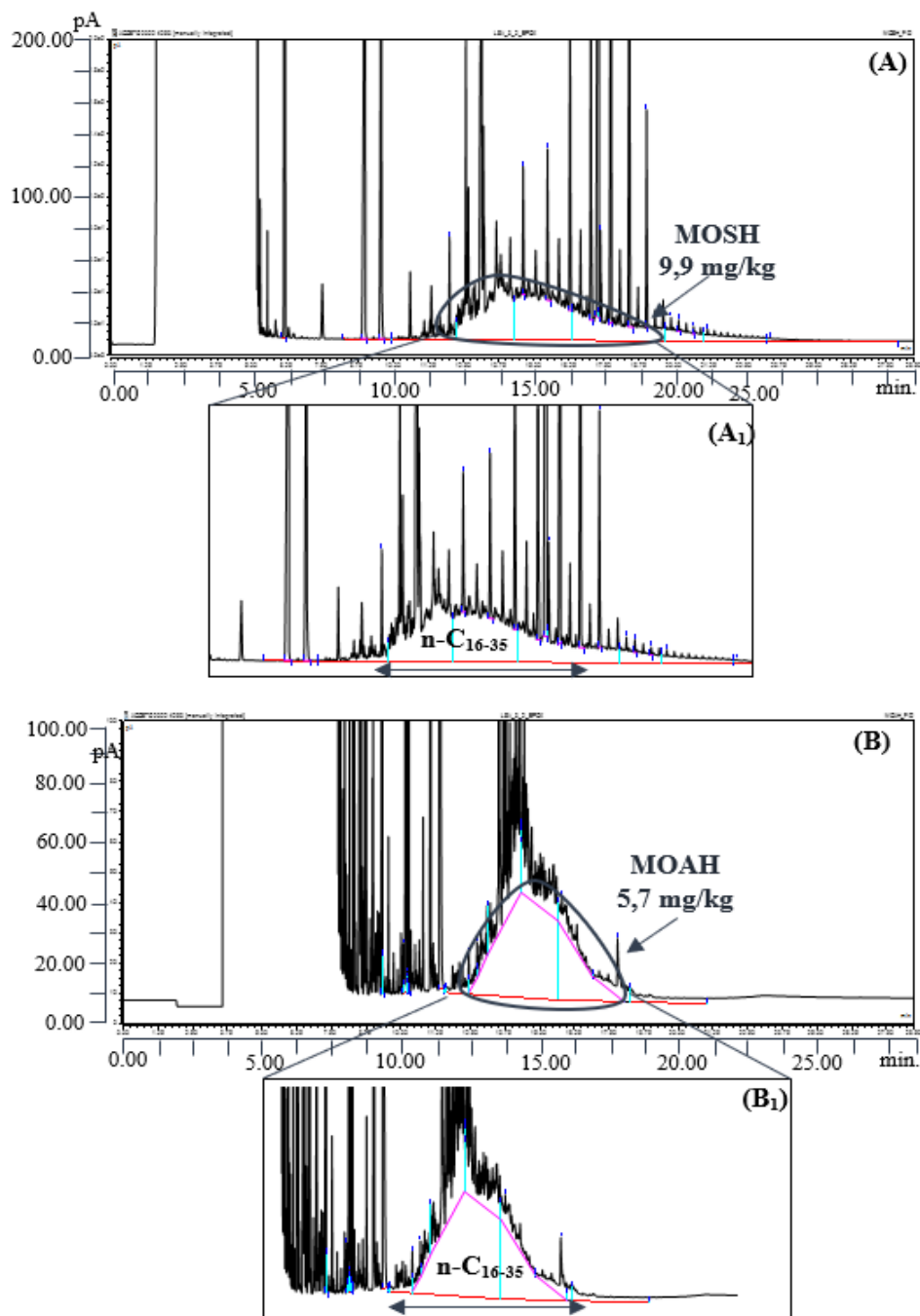


Figura 6.2 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de lapte din rația de vară S-Lv; (A₁), (B₁) indică profilul de contaminare cu MOSH/MOAH centrat pe n-C₁₆₋₃₅; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 6.2 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for S-Lv milk samples from S-Mo mountain farm; (A₁), (B₁) shows the MOSH/MOAH contamination profile centered on n-C₁₆₋₃₅; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Atât pentru probele de lapte din rația de iarnă S–L_i, cât și pentru probele de lapte din rația de vară S–L_v, din datele obținute din fișele de eșantionare se observă că operațiunile tehnologice la care este supus laptele pe parcursul obținerii și procesării sale au un efect neglijabil în ceea ce privește contaminarea cu MOSH/MOAH, nefiind raportate surse sau substanțe care ar fi putut contribui la contaminarea probelor. Deși operațiunile realizate în cadrul unității S–Mo cu privire la obținerea laptelui nu implică în general utilizarea unor echipamente și utilaje care ar putea contribui la contaminarea cu MOSH și MOAH, nu se exclude riscul contaminării potențiale ce poate avea loc pe timpul transportului, în special pentru probele de lapte din rația de vară S–L_v, transportate din locul de colectare spre unitatea de procesare fără măsuri speciale de precauție.

Dacă în timpul obținerii și procesării riscul de contaminare cu MOSH și MOAH al probelor de lapte din unitatea S–Mo a fost considerat neglijabil, pentru a evalua riscul de contaminare al probelor în timpul prelucrării pentru analiză, materialele cu care probele de lapte au intrat în contact direct au fost analizate din punct de vedere al conținutului de MOSH și MOAH. Valorile obținute în urma analizei hârtiei cerate și a ambalajului de polietilenă în care au fost stocate probele anterior analizelor de laborator au indicat concentrații medii de 3,4 mg/kg MOSH, în timp ce MOAH au fost sub limita de cuantificare.

Imediat după colectare, laptele a fost stocat în condiții de congelare în pungi sterile de polietilenă până la etapa de liofilizare, unde s-au utilizat recipiente din aluminiu și hârtie cerată a căror compoziție nu a fost declarată de producător. Informații privind nivelul de MOSH/MOAH conținut de hârtia alimentară cerată au fost obținute din profilul cromatografic determinat, ce a fost analizat în raport cu profilurile cromatografice ale celor două probe de lapte S–L_i și S–L_v (fig. 6.3).

Deoarece în procesul de liofilizare, sub influența temperaturii, uleiurile minerale se pot volatiliza, transferul MOSH din hârtia cerată a fost observat în cazul ambelor probe de lapte, mai evident în special în cazul probelor din rația de vară S–L_v; pe de altă parte, contribuția ambalajului de stocare la contaminarea probelor de lapte cu MOSH/MOAH a fost considerată neglijabilă.

Având în vedere confirmarea profilului de contaminare comun dintre probele de lapte și materialul de contact din etapa de liofilizare, s-a avut în vedere probabilitatea unui transfer de 100 % al contaminanților. Astfel, nivelul de MOSH și MOAH detectat în probele S–L_i (13,4 mg/kg MOSH; 5,8 mg/kg MOAH) și S–L_v (7,1 mg/kg MOSH; 2,7 mg/kg MOAH) a fost corectat în funcție de concentrațiile de MOSH și MOAH ale hârtiei cerate (3,4 mg/kg MOSH; < 0,5 mg/kg MOAH) pentru evaluarea concentrației reale a probelor de lapte analizate.

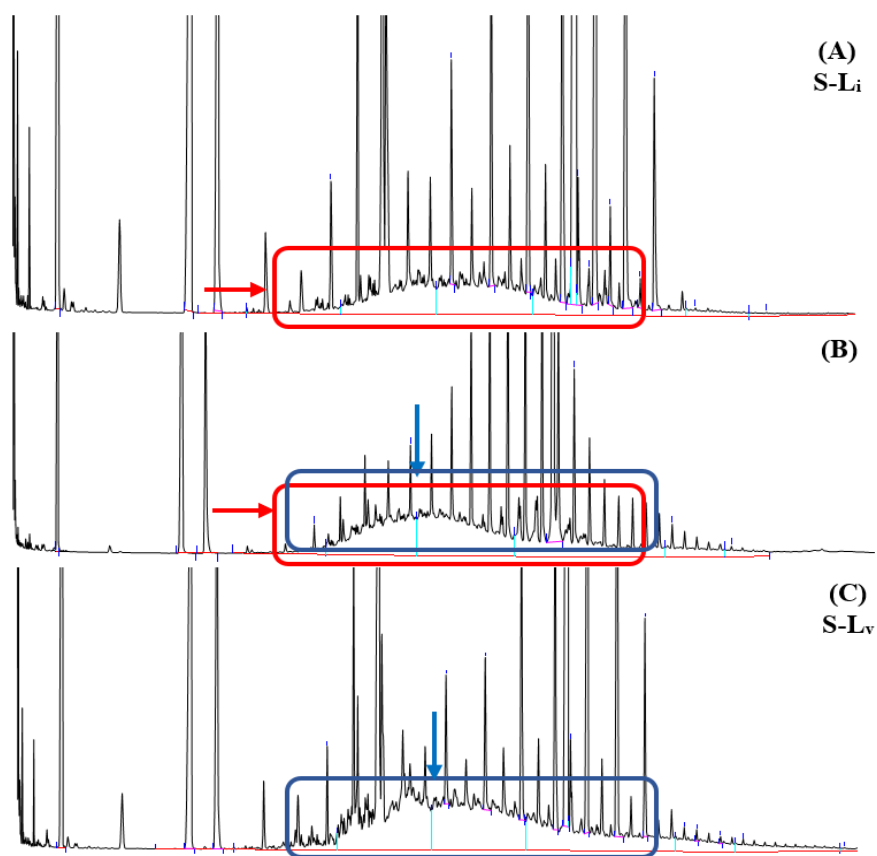


Figura 6.3 Cromatogramele LC–GC–FID ale probelor S–L_i (A) și S–L_v (C) cuprinzând fracțiunile MOSH în relație cu distribuția MOSH în hârtia cerată (B); simbolurile roșu și albastru evidențiază fracțiunea MOSH migrată din hârtia cerată în probele de lapte (transferul MOAH slab evidențiat); timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 6.3 LC–GC–FID chromatograms of S–L_i (A) and S–L_v (C) samples on MOSH fractions in relation to the MOSH distribution in the waxed paper (B); red and blue shows the MOSH fraction migrated from the waxed paper into the milk samples (MOAH transfer weakly highlighted); retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

În ciuda profilului de contaminare comun observat, nivelul de MOSH și MOAH al probelor de lapte nu poate fi atribuit pe deplin contaminării exogene astfel încât se va evalua probabilitatea transferului metabolic al contaminanților din organismul animal ca urmare a consumului de nutrețuri contaminate.

6.2 Rezultate obținute pentru unitatea din zona rurală

Rezultatele medii privind contaminarea cu MOSH și MOAH a probelor de lapte caracteristice unității din zona rurală M–Rr, considerată ca având risc mediu de expunere la poluare, au fost prezentate în tabelul 6.4 în raport cu recomandările ghidului JRC privind raportarea datelor (Bratinova & Hoekstra, 2019).

Cuantificarea concentrațiilor de contaminanți monitorizați s-a realizat pentru fiecare subfracțiune n-C cuprinsă în intervalul n-C₁₀₋₅₀ (6 subfracțiuni MOSH; 4 subfracțiuni MOAH), folosind CyCy ca standard intern pentru MOSH și standardele 5B, 1-MN, 2-MN, TBB pentru cuantificarea MOAH. Valorile medii obținute pentru probele de lapte M-L pentru fiecare fracțiune n-C și concentrațiile totale de MOSH și MOAH au fost exprimate în mg/kg.

Tabelul 6.4/ Table 6.4

Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH* (mg/kg) din probele de lapte ale unității din zona rurală
Results on MOSH/MOAH* (mg/kg) concentrations in milk for rural area farm

Probă	MOSH (mg/kg)							EU-RL (n-C ₁₀₋₅₀)**
	C ₁₀₋₁₆	C ₁₆₋₂₀	C ₂₀₋₂₅	C ₂₅₋₃₅	C ₃₅₋₄₀	C ₄₀₋₅₀	C ₁₀₋₅₀	
M-L	0,3 ^{LQ}	1,9	1,0	0,1 ^{LQ}	nd.	nd.	3,3	0,5 mg/kg
	MOAH (mg/kg)							
	C ₁₀₋₁₆	C ₁₆₋₂₅	C ₂₅₋₃₅	C ₃₅₋₅₀	C ₁₀₋₅₀			
	nd.	3,1	1,2	nd.	4,3			

* Cuantificare bazată pe standardele interne CyCy (MOSH); media standardelor interne 5B, 1-MN, 2-MN, TBB (MOAH). Valorile sunt media a 2 repetări/probă, exprimate pe fracțiuni carbonice (n-C) și sub formă de conținut total.

** EU-RL=Limite recomandate de Comisia Europeană (SCOPAFF) pentru produse alimentare cu ≤ 4 % grăsime; criterii de performanță pentru analiza MOSH/MOAH: LOQ < 0,5 mg/kg; LQ = valori sub limita de cuantificare. nd. = nedetectat.

Tabelul 6.4 și profilul cromatografic din fig. 6.4 evidențiază un nivel de contaminare important al probelor de lapte M-L ale unității din zona rurală, pentru care au fost detectate cantități medii de 3,3 mg/kg MOSH, în timp ce conținutul de MOAH a fost de 4,3 mg/kg. În conformitate cu limitele recomandate de Ghidul JRC în corespondență cu Comitetul Permanent pentru Plante, Animale, Alimente și Furaje al Comisiei Europene, pentru probele de lapte M-L din unitatea M-Rr au fost raportate valori ale conținutului de MOSH și MOAH peste limitele EU-RL recomandate, astfel încât identificarea și descrierea diferitelor surse de contaminare a fost considerată necesară.

Tabelele 6.5 și 6.6 descriu principalii factori previzionați că ar fi putut contribui la contaminarea laptelui. În vederea identificării surselor de contaminare a laptelui unității din zona rurală s-au avut în vedere operațiunile tehnologice specifice obținerii și prelucrării laptelui, etapele de prelevare și pregătire a probelor, dar și contribuția la contaminarea cu MOSH/MOAH a diferitelor materiale cu care probele de lapte au intrat în contact pe parcursul pregătirii pentru analiză și a căror conținuturi de MOSH/MOAH au putut fi cuantificate.

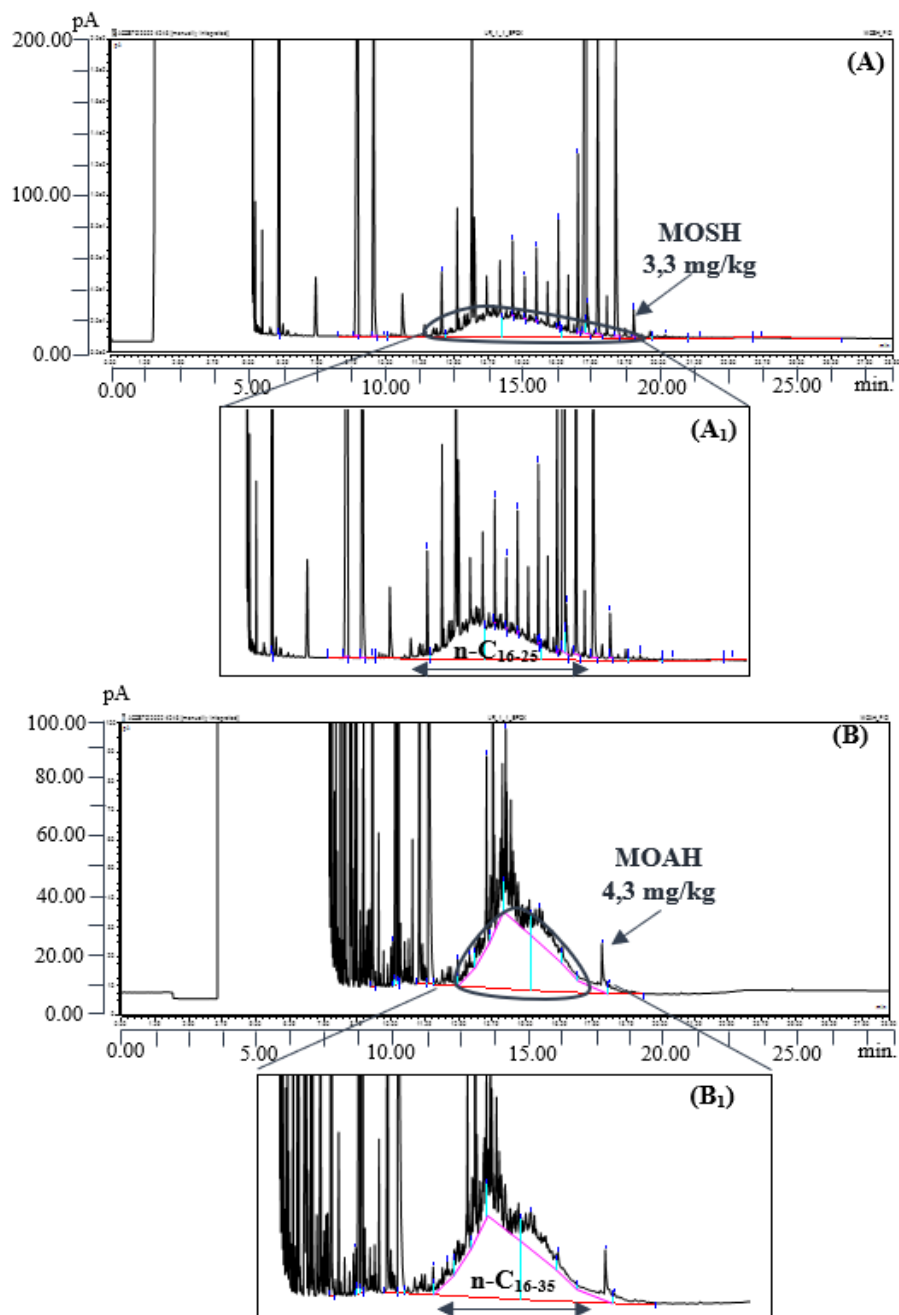


Figura 6.4 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de lapte M-L; (A₁), (B₁) indică profilul de contaminare cu MOSH/MOAH centrat pe $n\text{-C}_{16-25}$ / $n\text{-C}_{16-35}$; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 6.4 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for M-L milk samples; (A₁), (B₁) shows the MOSH/MOAH contamination profile centered on $n\text{-C}_{16-25}$ / $n\text{-C}_{16-35}$; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Tabelul 6.5/Table 6.5

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al laptelui unității din zona rurală și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of milk for rural area farm and the relationship with the technological factors of contamination

Probă	MOSH mg/kg	MOAH mg/kg	Operațiuni tehnologice aplicate		
			Tip de muls	Colectare și stocare	Igienizare
M-L	6,5	4,4	Mecanic, sistem centralizat	Instalație – tanc colectare	Spălare - Dezinfectare

Din datele obținute din fișele de eșantionare în ceea ce privește modalitatea de obținere a laptelui se observă existența la nivelul unității din zona rurală M-Rr a unui sistem mecanizat-centralizat de colectare a laptelui, cu tanc de colectare, ceea ce împiedică contactul produsului cu mediul extern și astfel contaminarea exogenă a acestuia pe parcursul obținerii, motiv pentru care, o contaminare potențială cu MOSH/MOAH a fost considerată improbabilă în această etapă. În ceea ce privește igienizarea adăposturilor, a animalelor sau a instalațiilor de colectare a laptelui, având în vedere substanțele utilizate, nu s-au raportat riscuri de contaminare cu MOSH/MOAH astfel încât, inclusiv în această etapă, riscul de contaminare al probelor de lapte a fost considerat improbabil.

Tabelul 6.6/Table 6.6

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al laptelui unității din zona rurală și relația cu factorii contaminanți de natură analitică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of milk for rural area farm and the relationship with the analytical factors of contamination

Probă	MOSH mg/kg)	MOAH mg/kg	Prelucrare probă* MOSH/MOAH			MOSH /MOAH ** mg/kg	
M-L	6,5	4,4	3,3	< LOQ	Liofilizare, Mărunțire, Măcinare	3,3	4,3

* Materiale de contact (hârtie cerată=1,3 g; recipient polipropilenă=2,2 g). Datele reprezintă media valorilor obținute în urma analizei celor două tipuri de materiale/2 repetări; LOQ=valori sub limita de cuantificare.

** Valori corectate în funcție de contaminarea cuantificată a materialelor de contact la un transfer potențial de 100 %.

Cuantificarea MOH din materialele cu care probele de lapte au intrat în contact pe perioada stocării și materialele de protecție utilizate pe durata procesului de liofilizare a evidențiat un conținut important de MOSH, respectiv 3,3 mg/kg (MOAH < 0,5 mg/kg), în special pentru hârtia alimentară cerată, a cărei contribuție la contaminarea probelor de lapte a fost luată în considerare în particular, dat fiind profilul cromatografic similar cu cel al probelor de lapte analizate, în special la nivelul fracțiunii MOSH; din fig. 6.5 se observă profilul cromatografic al probelor de lapte M-L cu o distribuție MOSH similară hârtiei cerate utilizate.

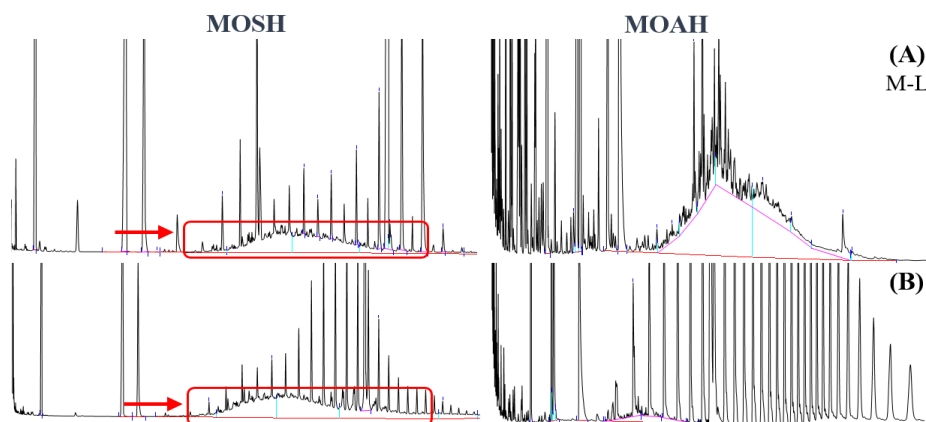


Figura 6.5 Cromatogramele LC–GC–FID ale probelor de lapte M–L (A) cuprinzând fracțiunile MOSH/MOAH în relație cu distribuția MOSH/MOAH în hârtia cerată (B); simbolul roșu evidențiază conținutul de MOSH migrat din hârtia cerată în lapte (transferul MOAH slab evidențiat); timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 6.5 LC–GC–FID chromatograms of M–L samples (A) on MOSH/MOAH in relation to MOSH/MOAH distribution in the waxed paper (B); red symbol shows the MOSH fraction migrated from the waxed paper into the milk samples (MOAH transfer weakly highlighted); retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Pe baza profilului de contaminare comun dintre probele de lapte și materialele utilizate în etapa de liofilizare, s-a luat în considerare probabilitatea unui transfer al contaminanților de 100 %; astfel, pentru stabilirea contaminării reale a probelor de lapte analizate (3,3 mg/kg MOSH; 4,3 mg/kg MOAH), nivelul de MOSH și MOAH detectat în probele de lapte M–L (6,5 mg/kg MOSH; 4,4 mg/kg MOAH) a fost corectat în funcție de cantitățile de MOSH și MOAH ale hârtiei cerate.

În ciuda profilului de contaminare comun observat, nivelul de MOSH și MOAH al probelor de lapte nu poate fi atribuit pe deplin contaminării exogene astfel încât, se va evalua probabilitatea transferului metabolic al contaminanților din organismul animal ca urmare a consumului de nutrețuri contaminate.

6.3 Rezultate obținute pentru unitatea din zona urbană

Preconizarea unui nivel specific de poluare asociat unității din zona urbană R–U, a condus către analiza nivelului de contaminare cu MOSH și MOAH al probelor de lapte. Valorile medii, exprimate în mg/kg, au fost prezentate în tabelul 6.7 pe subfracțiuni carbonice (n–C) și la nivelul întregului interval molecular de n–C, pentru determinarea concentrației totale (n–C_{10–50}). Datele raportate reprezintă valorile medii obținute în urma cuantificării MOSH, folosind CyCy ca standard intern și a cuantificării MOAH, folosind standardele 5B, 1–MN, 2–MN, TBB; indicațiile ghidului JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019) privind eșantionarea, analiza și raportarea datelor au fost de asemenea urmărite.

Tabelul 6.7/Table 6.7

Rezultate privind concentrațiile de MOSH/MOAH* (mg/kg) din probele de lapte ale unității din zona urbană
Results on MOSH/MOAH (mg/kg) concentrations in milk for urban area farm*

Probă	MOSH (mg/kg)							EU-RL (n-C ₁₀₋₅₀)**
	C ₁₀₋₁₆	C ₁₆₋₂₀	C ₂₀₋₂₅	C ₂₅₋₃₅	C ₃₅₋₄₀	C ₄₀₋₅₀	C ₁₀₋₅₀	
	0,5	2,8	1,0	0,5	0,2 ^{LQ}	0,1 ^{LQ}	5,1	
R-L	MOAH (mg/kg)							0,5 mg/kg
	C ₁₀₋₁₆	C ₁₆₋₂₅	C ₂₅₋₃₅	C ₃₅₋₅₀	C ₁₀₋₅₀			
	nd.	3,2	1,1	nd.	4,3			

* Cuantificare bazată pe standardele interne CyCy (MOSH); media standardelor interne 5B, 1-MN, 2-MN, TBB (MOAH). Valorile sunt media a 2 repetări/probă, exprimate pe fracțiuni carbonice (n-C) și sub formă de conținut total.

** EU-RL=Limite recomandate de Comisia Europeană (ScoPAFF) pentru produse alimentare cu ≤ 4 % grăsime; criterii de performanță pentru analiza MOSH/MOAH: LOQ < 0,5 mg/kg; LQ = valori sub limita de cuantificare. nd. = nedetectat.

În conformitate cu previziunile privind gradul de expunere al unității din zona urbană R-U la poluarea din mediu, nivelul de contaminare cu MOSH și MOAH pentru probele de lapte R-L a fost raportat ca fiind ridicat (fig. 6.6), probele de lapte analizate conținând în medie 5,1 mg/kg MOSH și 4,3 mg/kg MOAH, cu o contaminare principală în intervalul n-C₁₆₋₂₀ (MOSH), respectiv n-C₁₆₋₂₅ (MOAH).

Raportat la valorile de referință indicate de Ghidul JRC și Comitetul Permanent pentru Plante, Animale, Alimente și Furaje din cadrul Comisiei Europene, conținutul de MOSH și MOAH evidențiat pentru probele de lapte R-L au depășit considerabil limitele maxime de 0,5 mg/kg MOSH/MOAH recomandate; în acest sens, confirmarea prezenței MOSH/MOAH în concentrații ridicate indică necesitatea evaluării detaliate a surselor de contaminare ce pot fi asociate.

Tabelele 6.8 și 6.9 descriu principalii factori a căror contribuție potențială a fost luată în considerare pentru a explica nivelul ridicat de contaminare cu MOSH/MOAH al probelor de lapte R-L ale unității din zona urbană.

În unitatea din zona urbană R-U, colectarea laptelui se realizează prin intermediul unui sistem centralizat de colectare pentru care se utilizează soluții de igienizare pe bază de acizi (lactic, propionic, peracetic). Analiza factorilor care ar fi putut contribui la contaminarea cu MOSH și MOAH a probelor de lapte R-L evidențiază astfel că, atât în etapele specifice de colectare și stocare a laptelui, cât și în decursul proceselor de igienizare a instalațiilor de transport, riscul de contaminare al probelor de lapte ale unității din zona urbană a fost minim în raport cu nivelul de MOSH/MOAH regăsit.

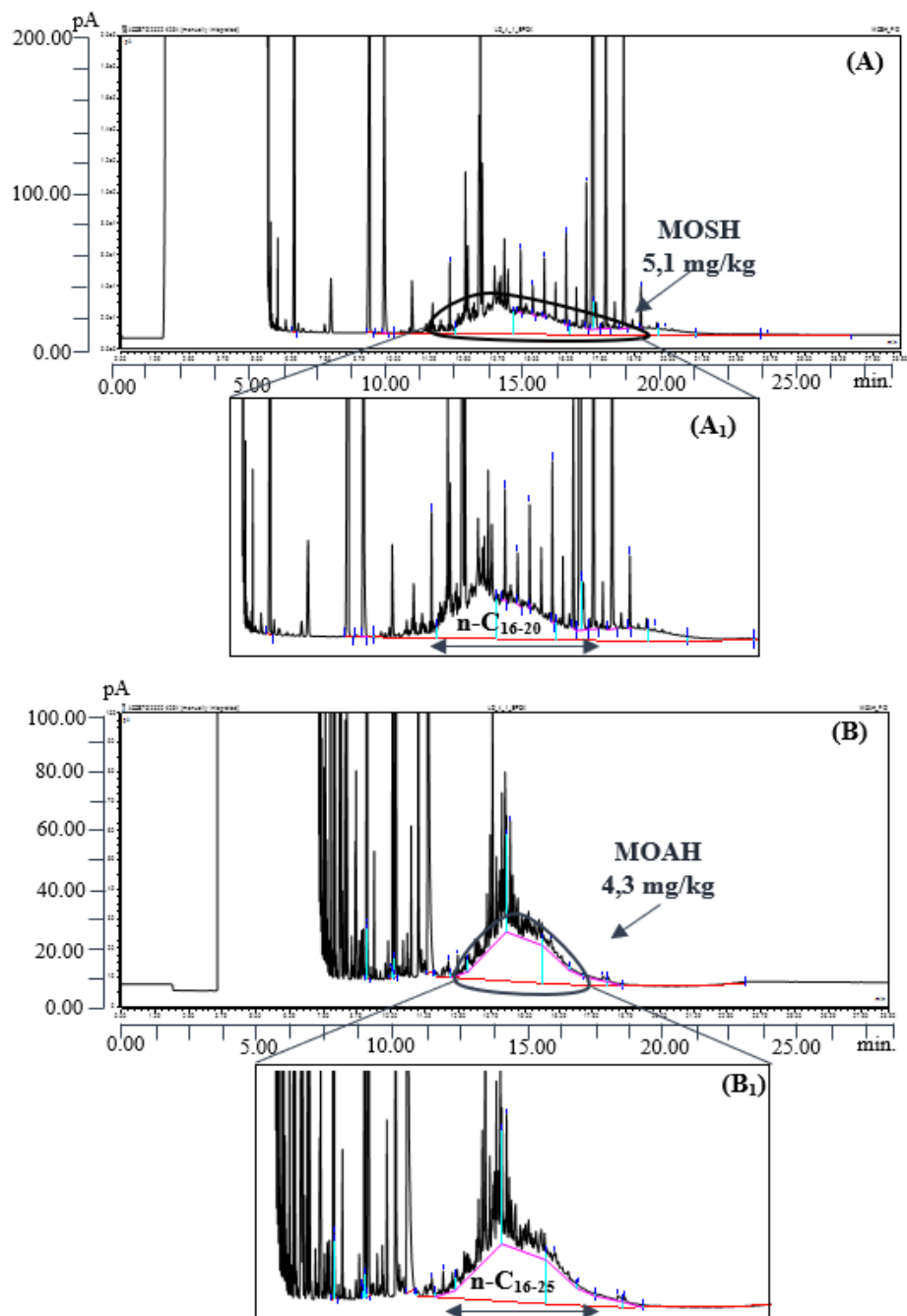


Figura 6.6 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) pentru probe de lapte R-L; (A₁), (B₁) indică profilul de contaminare cu MOSH/MOAH centrat pe $n-C_{16-20}$ / $n-C_{16-25}$; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 6.6 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) for R-L milk samples; (A₁), (B₁) shows the MOSH/MOAH contamination profile centered on $n-C_{16-20}$ / $n-C_{16-25}$; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Tabelul 6.8 / Table 6.8

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al laptelui unității din zona urbană și relația cu factorii contaminanți de natură tehnologică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of milk for urban area farm and the relationship with the technological factors of contamination

Probă	MOSH mg/kg)	MOAH mg/kg	Operațiuni tehnologice aplicate		
			Tip de muls	Colectare și stocare	Igienizare
R-L	8,2	4,3	Mecanic, sistem centralizat	Instalație – tanc colectare	Spălare - Dezinfectare

Materialele auxiliare cu care probele de lapte au intrat în contact pe perioada stocării sau a pregătirii pentru analiză au fost de asemenea investigate din punct de vedere al conținutului de MOSH și MOAH. Niveluri de 3,0 mg/kg MOSH și MOAH < 0,5 mg/kg au fost observate pentru hârtia alimentară cerată utilizată la acoperirea probelor de lapte pe durata liofilizării, proces în timpul căruia, ca urmare a influenței temperaturii, uleiurile minerale conținute de hârtia cerată s-au volatilizat și s-au transferat în probele de lapte. Transferul contaminanților MOSH/MOAH din hârtia cerată în probele de lapte R-L a fost confirmat în urma analizei profilului de contaminare al celor două matrici, unde s-a evidențiat o distribuție similară a fracțiunii MOSH; fig. 6.7 redă profilurile de contaminare comune identificate pentru hârtia cerată și probele de lapte R-L.

Tabelul 6.9/ Table 6.9

Nivelul de contaminare cu MOSH/MOAH (mg/kg) al laptelui unității din zona urbană și relația cu factorii contaminanți de natură analitică

The level of contamination with MOSH/MOAH (mg/kg) of milk for urban area farm and the relationship with the analytical factors of contamination

Probă	MOSH mg/kg)	MOAH mg/kg	Prelevare, pregătire și stocare probe* MOSH/MOAH		Prelucrare probă	MOSH /MOAH ** mg/kg	
R-L	8,2	4,3	3,0	< LOQ	Liofilizare, Mărunțire, Măcinare	5,1	4,3

* Materiale de contact (hârtie cerată=1,3 g; ambalaj din polipropilenă=2,2 g). Datele reprezintă media valorilor obținute în urma analizei celor două tipuri de materiale/2 repetări; LOQ = valori sub limita de cuantificare.

** Valori corectate în funcție de contaminarea cuantificată a materialelor de contact la un transfer potențial de 100 %.

Pe baza profilului de contaminare comun dintre probele de lapte și materialul de contact din etapa de liofilizare s-a luat în considerare probabilitatea unui transfer de 100 % al contaminanților. Astfel, pentru stabilirea contaminării reale a probelor de lapte analizate (5,1 mg/kg MOSH; 4,1 mg/kg MOAH), nivelul de MOSH și MOAH detectat în probele R-L (8,2 mg/kg MOSH; 4,3 mg/kg MOAH) a fost corectat în funcție de concentrațiile de MOSH și MOAH ale hârtiei cerate.

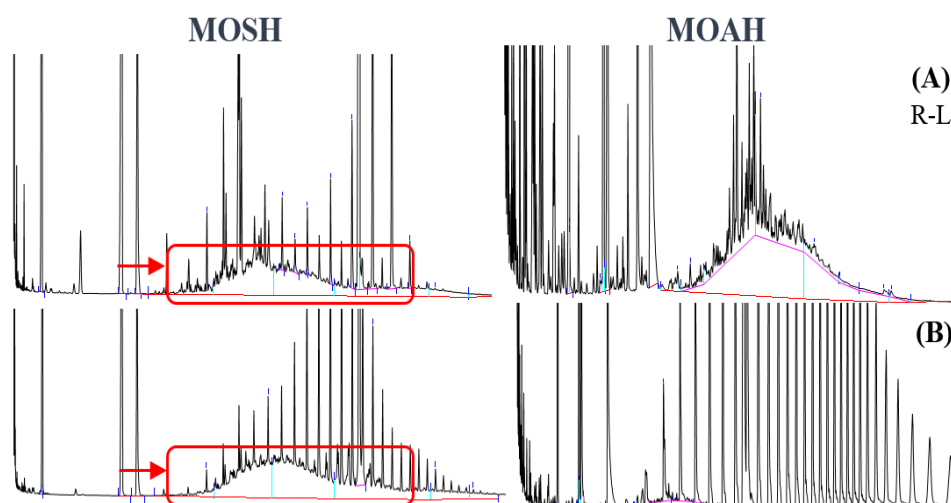


Figura 6.7 Cromatogramele LC–GC–FID ale probelor de lapte R–L (A) cuprinzând fracțiunile MOSH/MOAH în relație cu distribuția MOSH/MOAH în hârtia cerată (B); simbolul roșu evidențiază conținutul de MOSH migrat din hârtia cerată în lapte (transferul MOAH slab evidențiat); timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 6.7 LC–GC–FID chromatograms of R-L samples (A) on MOSH/MOAH in relation to MOSH/MOAH distribution in the waxed paper (B); red symbol shows the MOSH fraction migrated from the waxed paper into the milk samples (MOAH transfer weakly highlighted); retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

În ciuda profilului de contaminare comun observat, nivelul de MOSH și MOAH al probelor de lapte nu poate fi atribuit pe deplin contaminării exogene astfel încât, se va evalua probabilitatea transferului metabolic al contaminanților din organismul animal ca urmare a consumului de nutrețuri contaminate.

6.4 Analiza comparativă privind contaminarea laptelui cu hidrocarburi din uleiuri minerale

Analiza comparativă a contaminării cu MOSH/MOAH a laptelui din unitățile din zona montană S–Mo, zona rurală M–Rr și zona urbană R–U a fost realizată în acord cu datele și concentrațiile de MOSH/MOAH cuantificate pentru nutrețurile specifice fiecărei unități astfel încât, pe baza acestora, prezența contaminanților să fie raportată la posibilitatea de transfer metabolic sau la sursele de contaminare preexistente.

În asociere cu conținutul de grăsime brută identificat pentru probele de lapte analizate, fig. 6.8 prezintă analiza comparativă a conținuturilor de MOSH/MOAH (mg/kg) obținute în urma determinărilor efectuate. Atât raportat la conținutul de grăsime brută, cât și la gradul de tehnologizare al operațiunilor din fiecare unitate, nivelul de contaminare al laptelui cu MOSH/MOAH a fost contrar scenariului stabilit, astfel încât ipotezele de cercetare nu au fost confirmate în acest caz.

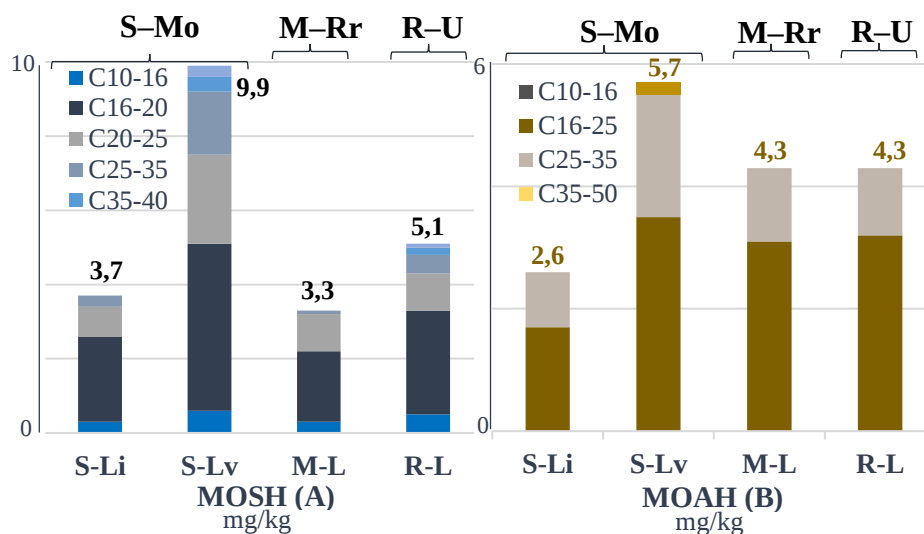


Figura 6.8 Concentrațiile MOSH (A) și MOAH (B) din probele de lapte; valorile min./max. au fost raportate la EU-RL ($n-C_{10-50}$)

Figure 6.8 MOSH (A) and MOAH (B) concentrations of all milk samples; min./max. values were reported at EU-RL ($n-C_{10-50}$)

Cu certitudine, nivelul de contaminare al laptelui cu MOSH/MOAH nu poate fi atribuit în totalitate transferului metabolic din nutrețuri; astfel, fig. 6.9 prezintă cromatogramele LC–GC–FID ce redau profilul de contaminare al probelor de lapte și al materialelor de contact, ce reflectă că probele de lapte au fost predispuse la o contaminare evidentă cu MOSH/MOAH pe perioada pregătirii pentru analiză, aspecte evidențiate pentru toate cele patru probe de lapte analizate.

În conformitate cu sursele de poluare și concentrațiile de MOSH/MOAH identificate, probele de lapte caracteristice unității din zona urbană R–U au fost, în mod evident, mai predispuse la contaminare cu MOSH/MOAH, chiar dacă pe baza rezultatelor finale obținute s-a demonstrat că nu se poate stabili o legătură clară între nivelul de contaminare și gradul de expunere la diferite riscuri de contaminare.

Probele de lapte din unitățile unde nutrețurile au fost expuse la surse de poluare aparent neglijabile (S–PM/S–Lv) au avut însă cel mai ridicat conținut de MOSH/MOAH (9,9 mg/kg MOSH; 5,7 mg/kg MOAH), în timp ce probele de lapte din unitățile unde nutrețurile au fost expuse la surse de poluare importante (R–L) au evidențiat un nivel de contaminare mediu (5,1 mg/kg MOSH; 4,1 mg/kg MOAH).

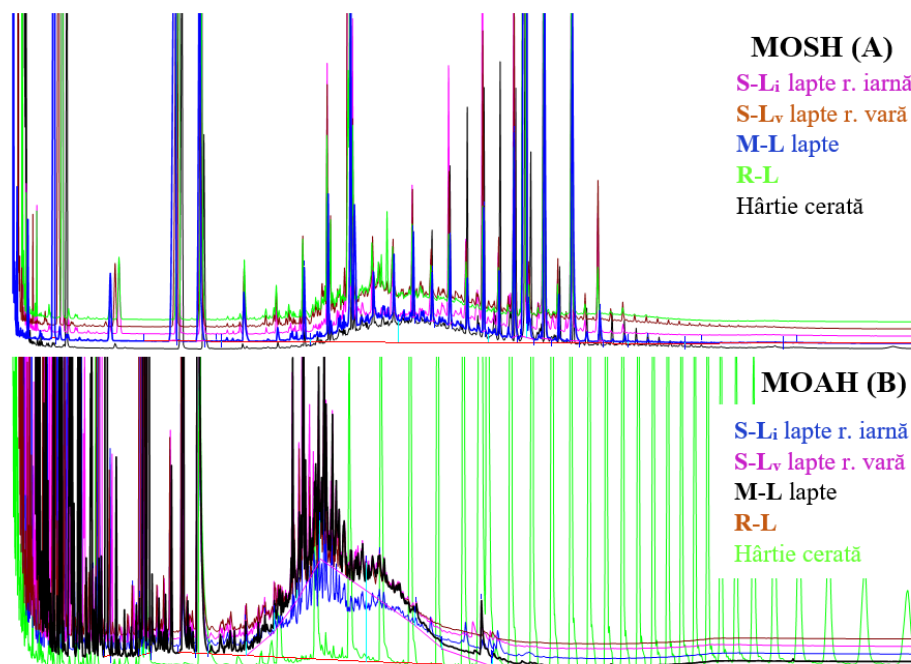


Figura 6.9 Cromatogramele LC–GC–FID ale fracțiunilor MOSH (A) și MOAH (B) ce redau exemple de migrare ale MOH din materialele de contact în probele de lapte; legenda fiecărei figuri cuprinde interpretarea referințelor de culoare; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 6.9 LC–GC–FID chromatograms of MOSH (A) and MOAH (B) showing examples of migration of MOH from contact materials into milk samples; the legend of each figure includes the interpretation of the color references; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Deși în probele de lapte din fiecare unitate analizată nu s-au înregistrat conținuturi de MOSH/MOAH care să fie în raport cu concentrațiile ridicate de MOSH/MOAH identificate pentru probele de nutrețuri din aceiași unitate, toate probele de lapte au avut un nivel de contaminare cu MOSH și MOAH mai mare decât limitele recomandate (EU-RL) de Ghidul JRC (Bratinova & Hoekstra, 2019) și Comisia Europeană, respectiv 1,0 mg/kg MOSH/MOAH pentru probele cu > 4 % grăsime și 0,5 mg/kg pentru probele cu ≤ 4 % grăsime.

CAPITOLUL 7. REZULTATE PRIVIND EVALUAREA POSIBILITĂȚII DE TRANSFER A HIDROCARBURILOR DIN ULEIURI MINERALE DIN NUTREȚURI ÎN LAPTE

CHAPTER 7. RESULTS ON ASSESSMENT OF POSSIBILITY OF TRANSFER OF MINERAL OIL HYDROCARBONS FROM FEED TO MILK

În vederea confirmării posibilității de transfer pe cale metabolică a contaminanților din nutrețuri în lapte, în cadrul acestui capitol s-au analizat rezultatele medii privind conținutul de MOSH și MOAH al probelor de nutrețuri și de lapte din cele trei unități selectate și s-au analizat profilurile de contaminare pentru identificarea interferențelor comune care ar putea confirma transferul.

7.1 Rezultate obținute pentru unitatea din zona montană

Analiza conținutului de MOSH și MOAH al probelor de lapte din cadrul unității din zona montană S–Mo sugerează că nivelul ridicat de contaminare al probelor nu poate fi atribuit în totalitate contaminării preexistente datorată migrării poluanților din materialele de contact, contaminarea exclusivă prin intermediul materialelor de contact fiind confirmată în particular în cazul probelor de lapte din rația de vară S–L_v, așa cum s-a evidențiat anterior.

În ceea ce privește evaluarea profilului general de contaminare al nutrețurilor cu MOSH/MOAH, în raport cu profilul de contaminare al laptelui asociat fiecărui tip de rație, identificarea similarităților și confirmarea unei contaminări comune a fost dificilă pentru probele de pajiște montană S-PM și probele de lapte din rația de vară S–L_v (fig. 7.1), astfel încât transferul MOSH/MOAH nu poate fi confirmat în totalitate în această situație, indicându-se mai curând o contaminare a laptelui din alte surse și mai puțin ca urmare a transferului metabolic din organismul animal. Contrar acestora, distribuția uniformă a contaminării cu MOSH la nivel de subfracțiuni n-C, ce a avut loc în medie până la n-C₃₅, însoțită de MOAH din același interval molecular, ar putea indica condiții comune de contaminare atât pentru probele S-PM, cât și pentru probele de lapte S-L_v.

Prezența unui profil de contaminare comun și o potrivire deplină a fost observată în cazul probelor de fân natural (S–FN) și a probelor de lapte din rația de iarnă (S–L_i), cu o contaminare evidentă în intervalele cuprinse între n–C₁₆ și n–C₃₅.

În fig. 7.2 a fost prezentată comparația cromatogramelor LC–GC–FID ale fracțiilor MOSH și MOAH ale probelor de nutreț S-FN cu probele de lapte S-L_i; s-au evidențiat interferențe comune pentru cele două fracțiuni MOH și astfel a fost prezentat un model de migrare pe cale metabolică a contaminanților din nutrețurile ingerate de animale către producția de lapte obținută.

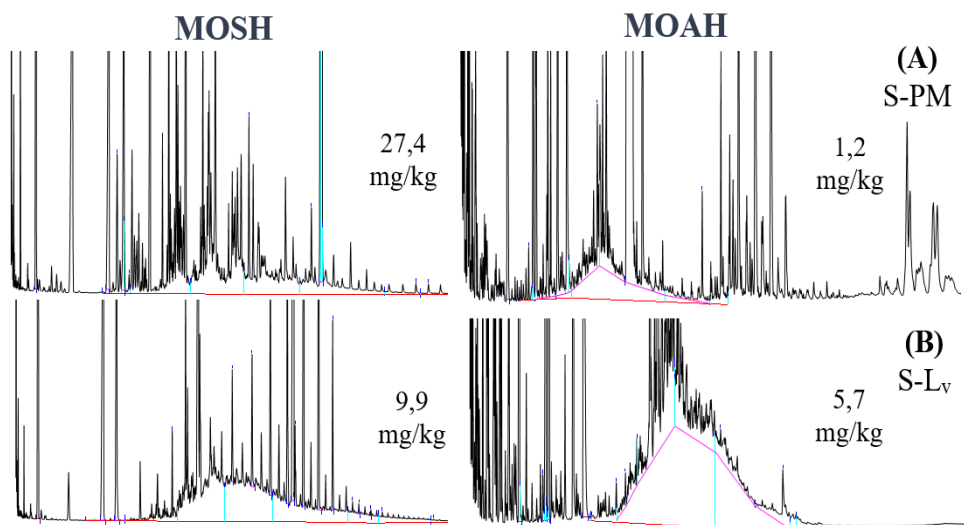


Figura 7.1 Comparația cromatogramelor LC–GC–FID ale fracțiilor MOSH și MOAH pentru pășuni montane S–PM (A) și probe de lapte S–L_v (B); MOSH/MOAH fără interferențe comune; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 7.1 Comparison of LC–GC–FID chromatograms of MOSH and MOAH for mountain pasture S–PM (A) and milk samples S–L_v (B); no common interference for MOSH/MOAH; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

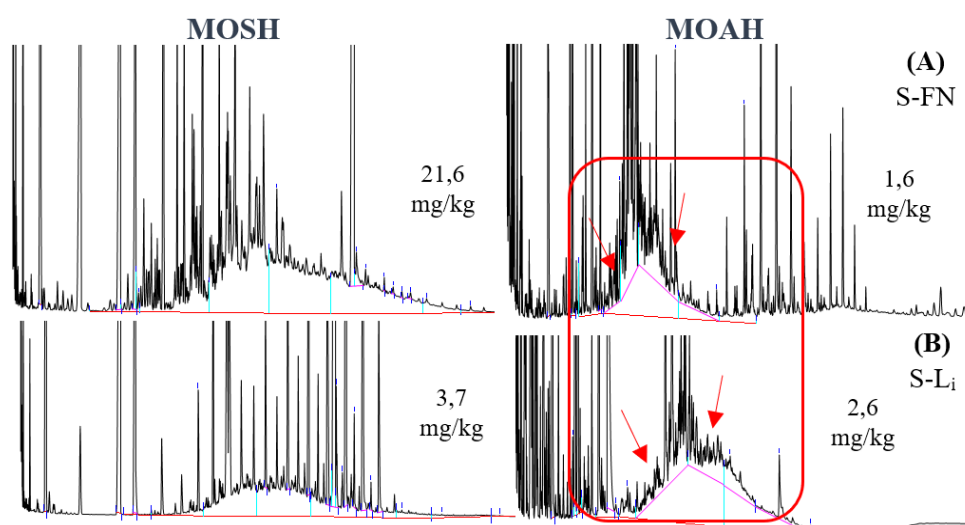


Figura 7.2 Comparația cromatogramelor LC–GC–FID ale fracțiilor MOSH și MOAH pentru fân natural S–FN (A) și probe de lapte S–L_i (B); simbolul roșu evidențiază interferențele comune și posibila migrare MOAH din nutreț în lapte (transferul MOSH slab evidențiat); timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 7.2 Comparison of LC–GC–FID chromatograms of MOSH and MOAH for S–FN natural hay (A) and S–L_i milk samples (B); red symbol shows common interferences and possible MOAH migration from feed to milk (MOSH transfer weakly highlighted); retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Analizând din punct de vedere cantitativ posibilitatea transferului metabolic al contaminanților, din nutrețuri, în organismul animal și în producția de lapte, în cazul fracțiunii MOSH, datele obținute se află într-un acord firesc din punct de vedere proporțional (fig. 7.3); s-au obținut valori mai mari ale conținutului de MOSH în nutrețuri (21,6 mg/kg S–FN; 27,4 mg/kg S–PM) comparativ cu valorile obținute pentru laptele asociat fiecărei rații (3,7 mg/kg S–L_i; 9,9 mg/kg S–L_v), ceea ce poate corespunde unui scenariu de transfer al contaminanților din nutrețuri în lapte.

În mod contrar, în ceea ce privește conținutul de MOAH, probele de lapte au evidențiat niveluri comparativ mai mari decât nivelurile observate pentru nutrețuri (1,6 mg/kg S–FN vs. 2,6 mg/kg S–L_i; 1,2 mg/kg S–PM vs. 5,7 mg/kg S–L_v), ceea ce poate indica atât un transfer integral al contaminanților din nutrețuri în lapte, dar și o contaminare suplimentară care ar putea proveni de pe durata operațiunilor tehnologice de prelucrare a laptelui sau de pe parcursul etapelor de pregătire a probelor de lapte pentru analizele de laborator.

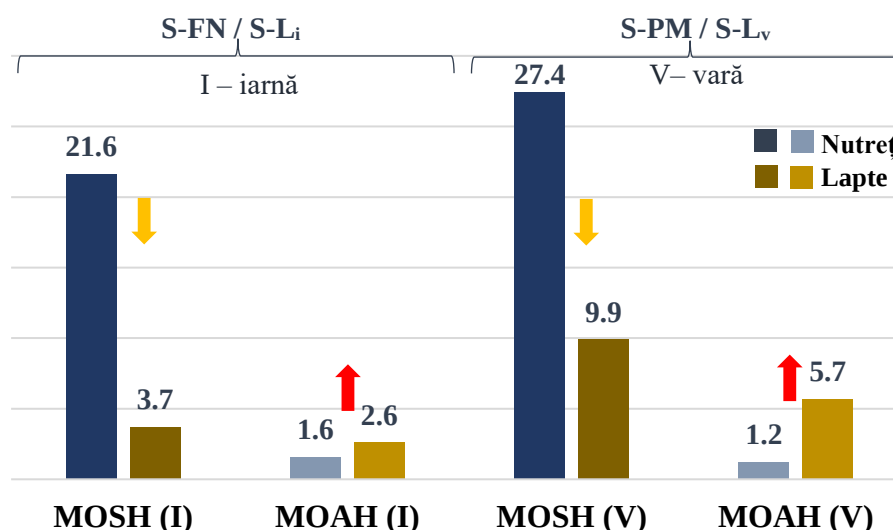


Figura 7.3 Estimarea nivelului de contaminare cu MOSH/MOAH din probele de nutrețuri și probele de lapte ale unității din zona montană S–Mo; simbolurile evidențiază concentrații de contaminanți mai mici (MOSH, galben) sau mai mari (MOAH, roșu) în lapte în raport cu nutrețurile asociate

Figure 7.3 Estimation of MOSH/MOAH contamination level from feed samples and milk samples for S–Mo mountain farm; symbols highlight lower (MOSH, yellow) or higher (MOAH, red) contaminant concentrations in milk compared to associated feeds

Comparativ, nivelul de contaminare al probelor de lapte analizate corespund gradului de contaminare al nutrețurilor administrate animalelor, în special pentru fracțiunea MOSH. Pentru probele de lapte din rația de vară S–L_v, nivelul de contaminare cu MOSH a fost mai ridicat comparativ cu probele de lapte din rația de iarnă S–L_i, așa cum nivelul de contaminare cu MOSH al probelor de pajiște montană S–PM a fost mai ridicat comparativ cu cel al probelor de fân natural S–FN.

În ceea ce privește contribuția potențială a nutrețurilor la contaminarea laptelui, pentru evaluarea transferului a fost estimat un transfer potențial al contaminanților din nutrețuri de 100 %. Pe baza rezultatelor estimate, s-a observat o migrație mai mare a contaminanților MOSH/MOAH în cazul probelor de pajiște montană și lapte din rația de vară, pentru care s-a raportat deja o contaminare cu MOSH și MOAH din diferite surse preexistente, comparativ cu probele de nutrețuri și de lapte din rația de iarnă, aspect explicat fie de gradul mai ridicat de contaminare al probelor de pajiște montană, de conținutul mai ridicat de grăsimi al acestora sau de acțiunea diferiților factori metabolici favorizanți.

7.2 Rezultate obținute pentru unitatea din zona rurală

În vederea confirmării transferului metabolic al contaminanților MOSH/MOAH din organismul animal în producția din lapte ca urmare a ingestiei de nutrețuri contaminate, pentru identificarea interferențelor comune care ar putea indica transferul MOSH/MOAH, s-a evaluat comparativ profilul de contaminare al probelor de lapte cu profilurile de contaminare ale fiecărui tip de nutreț ce intră în alcătuirea amestecului administrat animalelor unității din zona rurală M–Rr, implicit și profilul de contaminare al nutrețului amestec M–AU.

Contrar previziunilor, din analiza profilurilor de contaminare ale nutrețurilor și ale laptelui din unitatea M–Rr, nu a fost posibilă identificarea unui profil de contaminare comun care să poată confirma în totalitate migrarea pe cale metabolică a contaminanților din nutrețuri în lapte, indicându-se mai curând o contaminare a laptelui (în special cu MOAH) din alte surse, rămase încă necunoscute.

Din analiza surselor exogene de contaminare a laptelui, pe baza cromatogramelor MOSH și MOAH ale probelor, a fost confirmată migrarea contaminanților din hârtia cerată utilizată pe durata procesului de liofilizare. Pe lângă migrarea din materialul de contact, profilul cromatografic al probelor de lapte a evidențiat, în particular pentru fracțiunea MOSH, prezența unor coloane de diferite game moleculare, sugerând astfel prezența unei contaminări din diferite surse și care nu pot fi atribuite în totalitate transferului metabolic din organismul animal.

Cu toate acestea, în fig. 7.4 se prezintă o suprapunere a cromatogramelor LC–GC–FID ale fracțiilor MOSH și MOAH pentru trei dintre probele de nutrețuri ale unității din zona rurală M–Rr (M–PB, M–SS, M–AU) și probele de lapte M–L, pentru care s-au identificat mici similarități și profiluri comune de contaminare, mai evidente în special pentru perechile de probe M–PB /M–L sau M–SS/M–L.

În lipsa unei potriviri depline a profilurilor de contaminare, distribuția similară a contaminanților MOSH/MOAH în același interval molecular ($n-C_{16-25}$) observată atât în cazul probelor de nutrețuri, cât și în cazul probelor de lapte, poate sugera un model de migrare pe care metabolică a contaminanților din nutrețurile ingerate în lapte și poate indica condiții comune de contaminare, însă într-o proporție redusă din punct de vedere cantitativ.

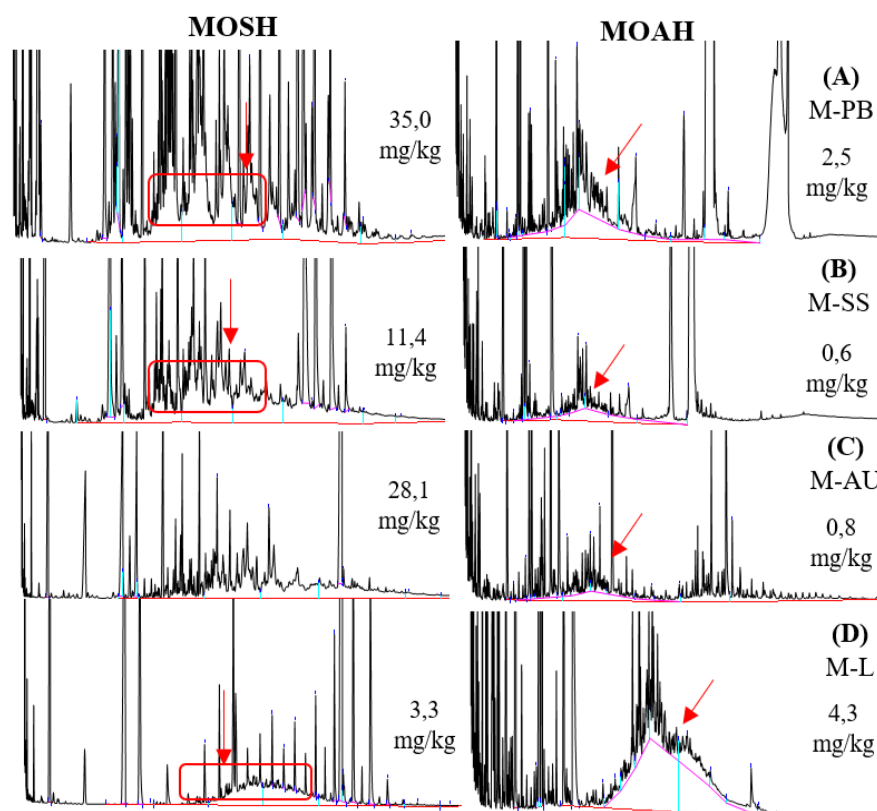


Figura 7.4 Comparația cromatogramelor LC–GC–FID ale fracțiilor MOSH și MOAH pentru porumb boabe M–PB (A), șrot de soia M–SS (B), nutreț amestec M–AU (C) și probe de lapte M–L (D); simbolul roșu evidențiază interferențele comune și posibila migrare MOSH/MOAH din nutrețuri în lapte; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 7.4 Comparison of LC–GC–FID chromatograms of MOSH and MOAH fractions for M–PB corn grain (A), M–SS soya meal (B), M–AU combined feed (C) and M–L milk samples (D); red symbol shows common interferences and possible MOSH/MOAH migration from feed to milk; retention time (x):0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Contrar ipotezelor stabilite, raportat la nivelul ridicat de MOSH/MOAH identificat pentru probele de nutrețuri din unitatea M–Rr (în medie 25,0 mg/kg MOSH; 1,0 mg/kg MOAH), probele de lapte M–L s-au dovedit a avea un nivel de contaminare cu MOSH mult mai redus (3,3 mg/kg). Pe de altă parte, nivelul de contaminare cu MOAH raportat a fost considerabil mai mare în probele de lapte M–L (4,2 mg/kg) comparativ cu probele de nutrețuri asociate (fig. 7.5), originea acestei contaminări fiind în mare măsură necunoscută, deși contaminarea potențială pe parcursul obținerii și prelucrării probelor de lapte nu a fost în totalitate exclusă.

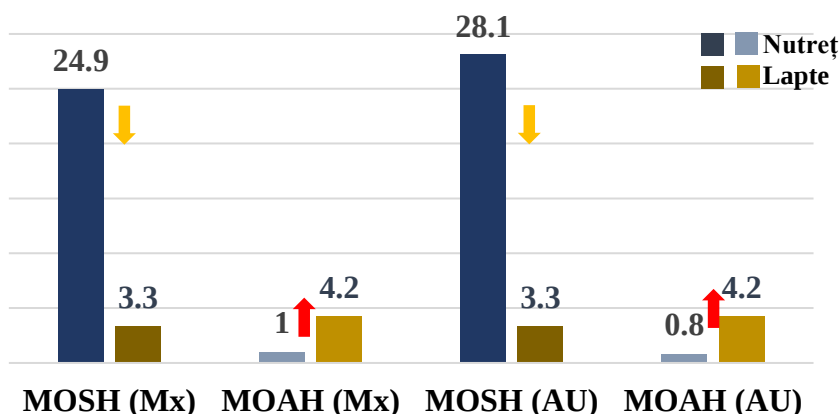


Figura 7.5 Estimarea nivelului de contaminare cu MOSH/MOAH din probele de nutrețuri și probele de lapte ale unității din zona rurală M–Rr; simbolurile evidențiază concentrații de contaminanți mai mici (MOSH, galben) sau mai mari (MOAH, roșu) în lapte în raport cu valorile medii obținute pentru nutrețuri, conform proporției din rații (Mx) și în raport cu nutrețul amestec (AU)

Figure 7.5 Estimation of MOSH/MOAH contamination level from feed and milk samples for M–Rr rural farm; symbols highlight lower (MOSH, yellow) or higher (MOAH, red) contaminant concentrations in milk compared to average values of feed included in the ration (Mx) and combined feed (AU)

Pentru evaluarea transferului, a fost luată în considerare probabilitatea unui transfer potențial al contaminanților din nutrețuri de 100 %. Pe baza rezultatelor estimate, s-a observat o migrație medie a contaminanților MOSH din nutrețuri în lapte, comparativ cu MOAH, unde, ca urmare a diferitelor surse de contaminare preexistente, concentrațiile au fost considerabil mai ridicate iar procentul de transfer nu a putut fi estimat.

7.3 Rezultate obținute pentru unitatea din zona urbană

Rezultatele privind transferul contaminanților MOSH/MOAH din nutrețuri în laptele de vacă pentru probele asociate unității din zona urbană R–U, obținute în urma evaluării similarității dintre profilurile de contaminare ale probelor menționate, au evidențiat în general un tablou comun al contaminării, astfel încât migrarea contaminanților din nutrețuri în lapte poate fi confirmată în cazul acestei unități. Având în vedere nivelul preconizat de poluare caracteristic unității R–U și concentrațiile ridicate de MOSH/MOAH identificate în etapele anterioare pentru probele de nutrețuri, similaritățile obținute între probele de nutrețuri și probele de lapte corespund previziunilor.

Pentru identificarea interferențelor comune care ar putea indica transferul MOSH/MOAH din nutrețuri în lapte au fost evaluate profilurile de contaminare ale nutrețurilor ce intră în alcătuirea rației animalelor din unitatea R–U, precum și profilul de contaminare al nutrețului amestec.

Deși pentru unitatea din zona urbană R-U s-a preconizat un nivel potențial de contaminare ridicat, doar pentru trei din cele opt tipuri de nutrețuri (inclusiv R-AU) au fost confirmate similarități privind distribuția contaminanților MOSH, indicându-se astfel existența unor surse de contaminare a laptelui a căror proveniență este necunoscută, deși contaminarea potențială de pe parcursul obținerii laptelui și a pregătirii probelor pentru analiză nu a fost exclusă în totalitate.

În fig. 7.6 au fost prezentate cromatogramele LC-GC-FID ce redau profilul comun de contaminare care ar putea confirma transferul MOSH/MOAH din nutrețuri în lapte, particularizat pentru probe de semisiloz de lucernă R-SSL, porumb boabe R-PB, nutreț amestec R-AU și probe de lapte R-L.

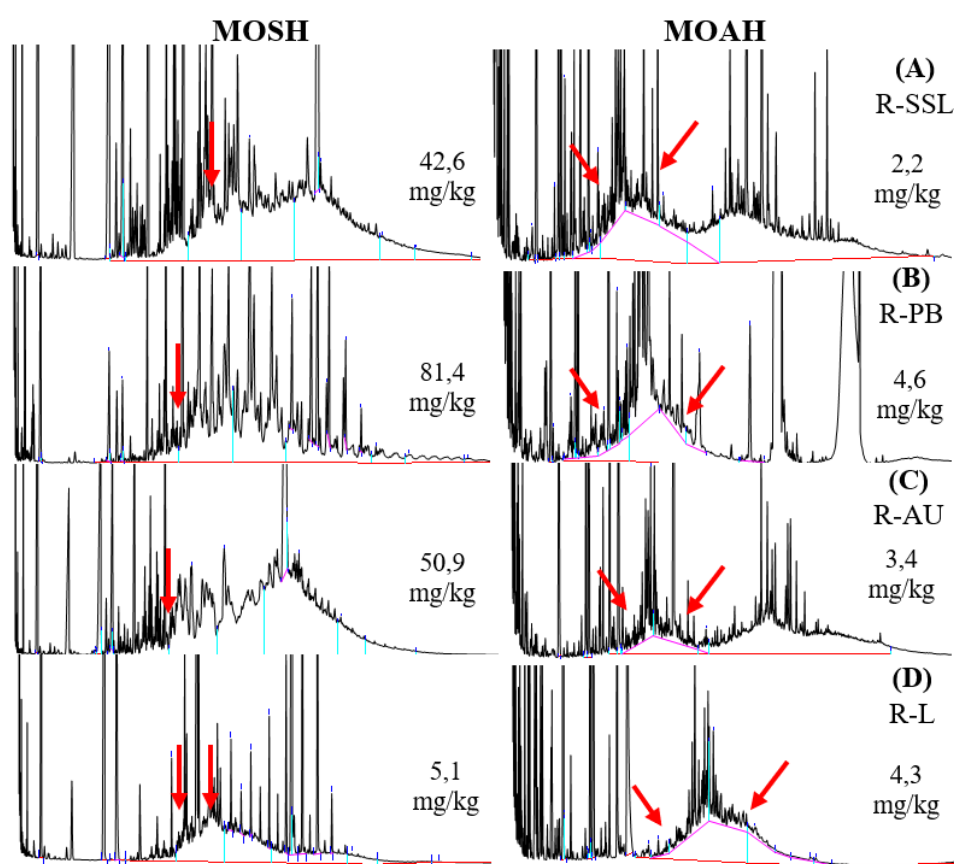


Figura 7.6 Comparația cromatogramelor LC-GC-FID ale fracțiilor MOSH și MOAH pentru semisiloz de lucernă R-SSL (A), porumb boabe R-PB (B), nutreț amestec R-AU (C) și probe de lapte R-L (D); simbolul roșu evidențiază interferențele comune și posibila migrare MOSH/MOAH din nutrețuri în lapte; timp de retenție (x): 0–28,5 min; semnal detector (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Figure 7.6 Comparison of LC-GC-FID chromatograms of MOSH and MOAH for R-SSL alfalfa silage (A), R-PB corn grain (B), R-AU combined feed (C) and R-L milk samples (D); red symbol shows common interferences and possible MOSH/MOAH migration from feed to milk; retention time (x): 0–28,5 min; detector signal (y): 0_200 pA MOSH / 0_100 pA MOAH

Conform cromatogramelor prezentate, având în vedere lipsa unei potriviri depline a profilurilor de contaminare, distribuția similară a MOSH la nivelul fracțiunilor n-C₁₆₋₂₅, urmate de MOAH în același interval molecular, au confirmat condițiile comune de contaminare a probelor de nutrețuri și a probelor de lapte.

Evaluarea proporțională a transferului contaminanților MOSH și MOAH din nutrețuri în lapte a reflectat, contrar previziunilor, o probabilitate redusă de transfer, comparativ cu gradul de expunere la poluare al unității R-U și cu nivelul deosebit de ridicat de contaminare al probelor de nutrețuri aferente unității.

În ceea ce privește transferul cantitativ al contaminanților din nutrețuri în lapte (fig. 7.7), pentru MOSH, rezultatele obținute au fost în corespondență cu ceea ce s-ar putea considera transferul metabolic al contaminanților, rezultatele medii obținute pentru nutrețuri (35,2 mg/kg) fiind mai mari decât cele obținute pentru lapte (5,1 mg/kg). Pe de altă parte, în ceea ce privește MOAH, rezultatele obținute pentru nutrețuri (în medie 1,5 mg/kg) au fost considerabil mai mici decât cele obținute pentru probele de lapte (4,1 mg/kg) astfel încât se poate raporta fie un transfer integral al contaminanților, însoțit de o contaminare suplimentară, fie transferul a fost mai redus din punct de vedere proporțional iar contaminarea din surse adiacente a dus la acumularea ridicată de MOAH din lapte.

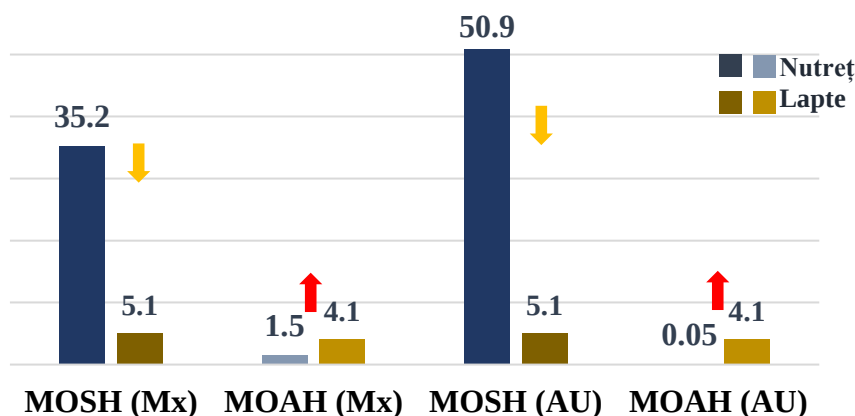


Figura 7.7 Estimarea nivelului de contaminare cu MOSH/MOAH din probele de nutrețuri și probele de lapte ale unității din zona urbană R-U; simbolurile evidențiază concentrații de contaminanți mai mici (MOSH, galben) sau mai mari (MOAH, roșu) în lapte în raport cu valorile medii obținute pentru nutrețuri, conform proporției din rații (Mx) și în raport cu nutrețul amestec (AU)

Figure 7.7 Estimation of MOSH/MOAH contamination level from feed and milk samples for R-U urban farm; symbols highlight lower (MOSH, yellow) or higher (MOAH, red) contaminant concentrations in milk compared to average values obtained for feed included in the ration (Mx) and combined feed (AU)

Având în vedere contribuția proporțională a nutrețurilor analizate la formarea amestecului, datele privind conținutul de MOSH și MOAH din probele R-AU au evidențiat diferențe importante între rezultatele obținute pentru nutrețuri și cele obținute pentru lapte. Estimarea posibilității de transfer pe cale metabolică a

contaminanților din nutrețuri în lapte, a reflectat, în general, o migrație medie spre redusă a contaminanților urmăriți, având în vedere numeroasele surse de contaminare ce pot contribui suplimentar la contaminarea cu MOSH/MOAH, cuantificarea reală a transferului fiind însă imposibilă.

7.4 Considerații privind transferul hidrocarburilor din uleiuri minerale din nutrețuri în lapte

În urma evaluării similarității profilurilor de contaminare și a nivelului de contaminare a probelor de nutrețuri și de lapte analizate, la nivelul fiecărei unități din cele trei zone studiate (montană, rurală, urbană) s-au observat aspecte comune care pot duce la confirmarea transferului metabolic al contaminanților ingerați.

În vederea aprecierii posibilității de transfer a hidrocarburilor din uleiuri minerale din nutrețuri în lapte, fig. 7.8 prezintă cantitățile de MOSH/MOAH, exprimate în mg/kg pentru perechile de probe nutreț-lapte, din cadrul fiecărei unități.

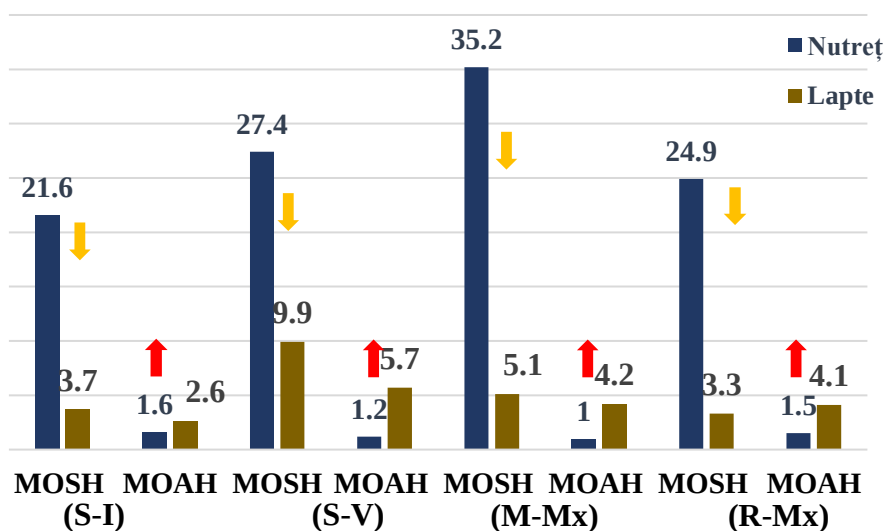


Figura 7.8 Conținutul de MOSH/MOAH (mg/kg) pentru perechi de probe nutreț-lapte din cadrul fiecărei unități (S-Mo, iarnă și vară/M-Rr/R-U); valorile prezentate pentru probele de nutreț din M-Rr și R-U reprezintă valorile medii ale mixului de nutrețuri (Mx) în raport cu proporția lor în rație

Figure 7.8 MOSH/MOAH (mg/kg) content for feed-milk samples pair from each farm (S-Mo, two ration/M-Rr/R-U); the values shown for the feed samples from M-Rr and R-U represent the average values for mixed feed (Mx) in relation to their proportion in the ration

Pentru MOSH, din punct de vedere cantitativ, s-au obținut valori mai mari pentru probele de nutrețuri, comparativ cu valorile obținute pentru probele de lapte asociate fiecărei rații, ceea ce poate indica un anumit grad de transfer al contaminanților. În schimb, în ceea ce privește MOAH, probele de lapte au evidențiat niveluri de contaminare comparativ mai mari decât cele evidențiate pentru nutrețuri,

ceea ce poate indica în mod clar că prezența contaminanților din lapte ar putea fi o consecință a transferului metabolic al acestora din nutrețuri, însă poate confirma și o contaminare exogenă a probelor de lapte analizate.

Estimarea posibilității de transfer pe cale metabolică a contaminanților din nutrețuri în lapte, pe baza rezultatelor cantitative obținute, a reflectat, în general, o migrație medie spre redusă a contaminanților urmăriți. Analizând proporțional, unitatea la care cantitatea de MOSH din nutrețuri este la fel de ridicată proporțional cu cantitatea de MOSH din lapte a fost unitatea din zona montană S-Mo, pe baza acestei evaluări apreciindu-se că transferul contaminanților a fost mai evident la nivelul acestei unități, urmată de unitatea din zona rurală M-Rr și, în final, unitatea din zona urbană R-U; pe baza acestora, s-a evidențiat totodată că unitatea expusă la nivelul de poluare cel mai ridicat nu a fost și unitatea la care posibilitatea de transfer a fost cea mai evidentă.

Dacă pe baza rezultatelor cantitative, posibilitatea de transfer a contaminanților din nutrețuri în lapte a putut fi evaluată doar la nivel de supoziție, în ceea ce privește profilurile de contaminare, analiza cromatogramelor obținute pentru probele asociate fiecărei unități au evidențiat că o rată minimă de transfer metabolic al contaminanților din nutrețuri în lapte a fost confirmată pentru toate cele trei unități.

Similitudini ale profilurilor de contaminare și o distribuție similară a MOSH/MOAH a fost evidențiată pentru mai multe grupuri de probe nutreț-lapte; chiar și în lipsa unei potriviri depline a profilurilor de contaminare, distribuția similară a contaminanților MOSH/MOAH în același interval molecular ($n-C_{16-25}$) observată atât în cazul probelor de nutrețuri, cât și în cazul probelor de lapte, a sugerat existența unui model de migrare pe cale metabolică a contaminanților din nutrețurile ingerate în lapte și a indicat condiții comune de contaminare.

Cele mai evidente asemănări între profilurile de contaminare prin care posibilitatea contaminării laptelui cu MOSH/MOAH prin transferul metabolic al contaminanților în urma ingestiei de nutrețuri contaminate a putut fi confirmată la nivelul fiecărei unități au fost între probele de fân natural S-FN și laptele din rația de iarnă S-Li ale unității din zona montană; probele de porumb boabe M-PB, șrot de soia M-SS, nutreț amestec M-AU și probe de lapte M-L ale unității din zona rurală, respectiv probele de siloz de porumb R-SP, semisiloz de lucernă R-SSL, porumb boabe R-PB și probe de lapte R-L ale unității din zona urbană.

Fie că transferul a fost confirmat cu un grad mai ridicat de certitudine, fie că nu au fost identificate asemănări evidente între profilurile de contaminare ale nutrețurilor și laptelui astfel încât posibilitatea transferului să fie confirmată, având în vedere numeroasele surse ce pot contribui suplimentar la contaminarea cu MOSH/MOAH, cuantificarea certă a transferului metabolic al contaminanților din nutrețuri în producția de lapte rămâne însă dificil de realizat.

CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI

În prezenta cercetare a fost abordată problematica contaminării nutrețurilor și a laptelui cu hidrocarburi saturate și aromatice din uleiuri minerale pentru a evalua posibilitatea de transfer a poluanților pe ciclul producție vegetală–producție animală.

Au fost dezvoltate strategii de confirmare a contaminării nutrețurilor și laptelui și au fost evaluate principalele surse care pot afecta inocuitatea acestora, în vederea identificării mecanismelor care pot facilita transferul poluanților din nutrețuri în lapte. Principalele concluzii asupra rezultatelor obținute au fost formulate în acord cu obiectivele propuse, după cum urmează:

- A fost fixat cadrul metodologic al cercetării și au fost evaluate sursele de poluare și contaminare specifice; au fost caracterizate unitățile studiate în raport cu nivelul potențial de poluare preconizat în arealul geografic selectat: scăzut (S) în zona montană (Mo), mediu (M) în zona rurală (Rr) și ridicat (R) în zona urbană (U).
- S-a determinat compoziția chimică brută a nutrețurilor și a laptelui și s-au analizat parametri urmăriți, în raport cu specificul alimentației animalelor din fiecare unitate studiată. Dintre componentele chimice brute, conținutul de grăsime a avut în special aplicabilitate în relație cu studiul contaminanților.

Analiza compoziției chimice a probelor de nutrețuri a arătat în general o uniformitate la nivelul fiecărei unități studiate, cu o distribuție echilibrată a nutrienților în toate probele analizate, diferențele dintre valorile obținute și valorile considerate referință, sesizate în cazuri particulare, fiind explicate fie condițiile diferite de obținere, depozitare și transport a nutrețurilor, stadiul de vegetație al culturii la momentul prelevării probei sau condițiile de prelucrare a probei.

În unitatea din zona montană S-Mo, rația animalelor a fost reprezentată de o singură categorie de nutreț pe sezon, a căror conținuturi medii de substanță uscată au variat între 21,3-94,0 %, cu peste 86,5 % substanță organică, din care 0,8–4,6 % conținut de grăsime brută. Comparativ la nivel de unitate, conținutul în grăsime brută al nutrețurilor a fost mai redus în rația de iarnă și mai ridicat în rația de vară, în probele de pajiște montană, caracterizate ca având printre cele mai mari cantități de grăsime brută din totalitatea probelor de nutrețuri analizate.

Analiza compoziției chimice brute a probelor de lapte ale unității din zona montană a evidențiat că probele de lapte analizate au fost caracterizate ca având conținuturi normale de substanță uscată totală, chiar dacă probele de lapte S-L_v din rația de vară au avut cel mai mic conținut de substanță uscată totală (11,9 %) din totalitatea probelor analizate. În schimb, în ceea ce privește conținutul de grăsime brută, s-a evidențiat că pentru probele de lapte S-L_i din rația de iarnă s-au obținut cele mai ridicate valori, respectiv 37,3 %, indicând astfel un nivel potențial de acumulare cantitativă a poluanților mai mare în cazul acestor probe, comparativ cu probele cu conținuturi mai mici de grăsime (M-L; R-L).

În unitatea din zona rurală M-Rr, rezultatele privind compoziția chimică brută au evidențiat o dominanță a nutrețurilor cu un conținut ridicat de substanță uscată, precum fânul de lucernă, porumbul boabe sau șrotul de soia, cu valorile medii situate în intervalul 84,0–92,0 %, cu peste 86,5 % conținut de substanță organică. La nivel general, rația animalelor din această unitate a inclus în componența sa nutrețuri cu un conținut de grăsime brută echilibrat și suficient de ridicat (siloz de porumb, porumb boabe, nutreț amestec), valorile medii fiind situate în intervalul 1,7–4,6 %.

Analiza compoziției chimice a probelor de lapte ale unității din zona rurală a arătat că probele M-L au fost caracterizate ca având cel mai ridicat conținut de substanță uscată totală (13,1 %), dar și cel mai redus conținut de grăsime brută (29,6 %) din totalitatea probelor analizate.

În unitatea din zona urbană R-U, în rația animalelor au predominat nutrețurile bogate în substanță uscată, valorile medii obținute fiind cuprinse între 84,0–92,7 %, cu peste 86,5 % conținut de substanță organică în toate probele analizate și uniformitate în ceea ce privește conținutul în grăsime brută (1,6–9,0 %). Comparativ cu unitățile din zona montană și zona rurală, probele de nutrețuri din unitatea din zona urbană R-U au ieșit în evidență, în schimb, prin valorile cele mai ridicate obținute pentru conținutul în grăsime brută al nutrețurilor caracteristice.

Analiza compoziției chimice a laptelui a evidențiat că probele asociate unității din zona urbană au fost caracterizate de conținut mediu de 12,5 % substanță uscată totală, din care 29,6 % conținutul mediu în grăsime brută. Comparativ la nivelul unităților, valorile privind conținutul în grăsime brută obținute pentru laptele R-L au fost cele mai mici din totalitatea probelor analizate.

- A fost monitorizată și confirmată prezența MOSH și MOAH din probele de nutrețuri și a fost caracterizat profilul de contaminare în raport cu implicațiile diferiților factori poluanți sau contaminanți; rezultatele obținute au permis analiza comparativă a contaminării nutrețurilor din cele trei unități studiate.

Atât pentru MOSH, cât și pentru MOAH, s-au obținut în general rezultate cantitative și de confirmare a prezenței acestora, importante pentru a dovedi fiabilitatea metodei de detecție LC–GC–FID utilizată, pentru care s-au demonstrat bune performanțe în ceea ce privește cuantificarea rezultatelor (LOQ).

În urma determinărilor cantitative s-a observat că rezultatele obținute la evaluarea nivelurilor de contaminare a nutrețurilor au evidențiat în general prezența contaminanților MOSH și MOAH pentru majoritatea probelor analizate de la nivelul fiecărei unități. Nivelurile de contaminare cu MOSH și MOAH a nutrețurilor din cele trei unități studiate au variat în limite largi, mai evidente pentru MOSH, cuprinse în medie între 11,4–81,4 mg/kg și mai reduse pentru MOAH, în medie, cu limite între 0,6–4,6 mg/kg.

Au fost evidențiate diferențe privind nivelul de contaminare al nutrețurilor între cele trei unități studiate, argumentate în general de specificul unităților în raport cu expunerea la poluare, de poziționarea unității și locația culturilor vegetale sau de

gradul de tehnologizare a operațiunilor din fermă. Cu excepția a patru tipuri de probe, ale unităților din zona rurală și urbană, toate probele de nutrețuri au avut niveluri de MOSH și MOAH de câteva zeci de ori peste limita recomandată EU-RL (0,5 mg/kg).

Au fost analizate sursele de contaminare în relație cu nivelul de contaminare al nutrețurilor fiecărei unități. Contaminarea considerabilă cu MOSH/MOAH a nutrețurilor a fost atribuită în general traficului terestru și aerian, activităților industriale, precum și contaminării tehnologice prin prisma emisiilor și lichidelor tehnice ale echipamentelor și utilajelor agricole utilizate la obținerea nutrețurilor.

Cromatografic, profilurile de contaminare au confirmat, de asemenea, prezența MOSH și MOAH în probele de nutrețuri analizate, însă ca urmare a instabilității poluării, relația dintre nivelul de contaminare al nutrețurilor, locația culturilor vegetale și sursele de poluare asociate își păstrează subiectivitatea.

Rezultatele obținute pentru unitatea din zona montană S-Mo au arătat că în nutrețuri, nivelul de contaminare a fost cuprins între 21,6–27,4 mg/kg pentru MOSH, respectiv 1,2–1,6 mg/kg pentru MOAH.

În mod specific, nivelul considerabil de contaminare a fost atribuit istoricului zonal ce a inclus activități de exploatare minieră sau operațiunilor tehnologice de obținere a nutrețurilor. Nu s-a exclus riscul de contaminare ca urmare a contactului cu diferite materiale utilizate la prelevarea, pregătirea și stocarea probelor, a căror conținuturi medii de MOSH și MOAH au variat între 211,6 mg/kg, respectiv 32,2 mg/kg, așa cum nu a fost exclus ca nivelul ridicat de contaminare să poată fi atribuit unor practici de lucru neraportate și nedeclarate de fermieri.

Dat fiind specificul zonal montan și desfășurarea majorității activităților la nivel gospodăresc-tradițional, activitățile antropice au avut o contribuție minimă la contaminarea nutrețurilor; tratamentele de îngrijire a culturilor, depozitarea nutrețurilor, dar și operațiunile de pregătire a analitului pentru analize au avut, de asemenea, un impact minim asupra nivelului de contaminare al nutrețurilor.

În unitatea din zona rurală M-Rr, probele de nutrețuri au evidențiat în medie un nivel de contaminare cu MOSH moderat, de la 11,4 mg/kg, până la ridicat, respectiv 35,0 mg/kg, în timp ce pentru MOAH a fost evidențiată o contaminare minimă, de la limita de cuantificare (< LOQ) până la 2,5 mg/kg.

La evaluarea factorilor de poluare și contaminare, o contribuție potențială la contaminarea nutrețurilor cu MOSH/MOAH ar fi avut-o transferul atmosferic al poluanților din zona urbană învecinată sau diferitele operațiuni tehnologice aplicate în cadrul unității. Contaminarea ca urmare a existenței unor practici de lucru nedeclarate de fermieri, precum și contaminarea ca și consecință a contactului cu diferite materiale utilizate la pregătirea probelor nu au fost excluse.

Din punct de vedere tehnologic, impactul tratamentelor fitosanitare și de îngrijire a culturilor a fost considerat neglijabil, așa cum impactul factorilor de natură analitică (pregătirea analitului pentru detecție) a fost considerat minim.

În cazul unității din zona urbană R-U, nivelul de contaminare al nutrețurilor a variat de la 16,9–81,4 mg/kg MOSH până la 0,5–4,5 mg/kg MOAH, traficul urban intens (terestru și aerian), alături de alte activități antropice (industrie chimică, infrastructură rutieră, depozite de deșeuri) fiind printre factorii cu o contribuție evidentă la contaminarea cu MOSH/MOAH a nutrețurilor.

În raport cu sursele de poluare, nivelul de contaminare nu a fost în totalitate conform preconizărilor efectuate, respectiv nu a fost în totalitate proporțional cu gradul și intensitatea de expunere la sursele de poluare identificate prin fișele de eșantionare aplicate fiecărei unități. Atât pentru MOSH, cât și MOAH, nivelul cel mai redus de contaminare al nutrețurilor a fost evidențiat pentru unitatea din zona rurală M-Rr, urmat de o contaminare mai ridicată evidențiată pentru nutrețurile unității din zona montană S-Mo, nivelul cel mai ridicat de contaminare fiind atribuit nutrețurilor unității din zona urbană R-U.

- Dat fiind caracterul lipofil al contaminanților, a fost analizată relația dintre nivelul de contaminare și conținutul de grăsime brută al nutrețurilor, aspect în urma căruia s-a confirmat că nivelurile cele mai ridicate de contaminare cu MOSH/MOAH au fost în cazul probelor cu cele mai ridicate conținuturi de grăsime brută.

- A fost monitorizată și confirmată prezența MOSH și MOAH din probele de lapte și a fost caracterizat profilul de contaminare în raport cu implicațiile diferiților factori poluanți sau contaminanți; rezultatele obținute au permis analiza comparativă a contaminării laptelui din cele trei unități studiate.

Rezultatele privind contaminarea laptelui din cele trei unități au evidențiat, în general, un nivel de contaminare cu MOSH/MOAH ridicat pentru toate probele de lapte analizate, cu valori cuprinse între 3,3–9,9 mg/kg MOSH, respectiv 2,6–5,7 mg/kg MOAH. Nivelul de contaminare evidențiat pentru toate cele patru probe de lapte a fost de câteva ori mai ridicat față de limitele recomandate EU-RL (0,5–1,0 mg/kg), cu diferențe mici între unitățile studiate.

Atât pentru probele de lapte ale unității din zona montană, cât și pentru probele de lapte ale unităților din zona rurală și zona urbană, nu au fost raportate surse care ar fi putut contribui la contaminarea probelor, astfel încât contaminarea potențială cu MOSH/MOAH a fost considerată improbabilă în această etapă.

Cuantificarea MOH din materialele cu care probele de lapte au intrat în contact pe perioada stocării și materialele de protecție utilizate pe durata procesului de liofilizare a evidențiat un conținut important de MOSH, respectiv 3,3 mg/kg (MOAH < 0,5 mg/kg), contaminarea preexistentă a materialelor de contact fiind una dintre cele mai importante surse de contaminare pentru toate probele de lapte.

- Au fost elaborate strategii de confirmare a transferului MOSH/MOAH din nutrețuri în lapte prin analiza rezultatelor medii și analiza profilurilor de contaminare, pentru identificarea interferențelor comune.

Analiza profilurilor de contaminare pentru identificarea interferențelor care ar putea confirma transferul a evidențiat în general un tablou comun al contaminării, astfel încât migrarea contaminanților din nutrețuri în lapte a fost confirmată.

Asemănări ale profilurilor de contaminare și o distribuție similară a MOSH/MOAH au fost observate pentru mai multe grupe de probe nutreț-lapte; chiar și în lipsa unei potriviri depline a profilurilor de contaminare, distribuția similară a contaminanților MOSH/MOAH în același interval molecular ($n-C_{16-25}$) observată atât în cazul probelor de nutrețuri, cât și în cazul probelor de lapte, a sugerat existența unui model de migrare pe cale metabolică a contaminanților din nutrețurile ingerate în lapte și a indicat condiții comune de contaminare.

Estimarea posibilității de transfer pe cale metabolică a contaminanților din nutrețuri în lapte, pe baza rezultatelor cantitative obținute, a reflectat, în general, o migrație medie spre redusă a contaminanților urmăriți. Pe baza evaluării profilurilor de contaminare s-a apreciat că transferul contaminanților a fost mai evident la nivelul unității din zona montană S-Mo, urmată de unitatea din zona rurală M-Rr și, în final, unitatea din zona urbană R-U; s-a evidențiat astfel că unitatea expusă la nivelul de poluare cel mai ridicat nu a fost și unitatea la care transferul a fost cel mai evidentă.

Interferențe comune ce confirmă transferul metabolic al MOSH/MOAH în lapte, în urma ingestiei de nutrețuri contaminate, au fost observate, în special, între probele de fân natural și laptele din rația de iarnă ale unității din zona montană; probele de porumb boabe, șrot de soia, nutreț amestec și probele de lapte ale unității din zona rurală, respectiv probele de siloz de porumb, semisiloz de lucernă, porumb boabe și probele de lapte ale unității din zona urbană.

Managementul strategic prin care s-au realizat conexiuni între rezultatele obținute a permis evidențierea transferului contaminanților din nutrețuri în lapte, pe baza interferențelor comune și au pus în valoare capacitatea de a identifica soluții optime pentru abordarea problemelor de siguranță a hranei pentru animale, ca factor esențial pentru siguranța producțiilor animale.

Fiind fundamentată pe baza unor referințe de specialitate bine argumentate și adaptată astfel încât să ofere conținut original și valoare adăugată cercetării internaționale, prezenta teză de doctorat reprezintă forma primară a unei realizări care, prin rezultatele sale, poate servi la implementarea unor bune practici de producție pentru minimizarea riscurilor de contaminare și poate deschide noi orizonturi de colaborare cu unități cu preocupări teoretice și aplicative în domeniu.

Abordarea problematicii privind contaminarea cu hidrocarburi din uleiuri minerale pe lanțul agro-alimentar, în relație cu sursele moderne de poluare, a condus, printr-un raționament analitic, la asocierea de concepte și idei cu o serie de soluții de o reală utilitate pentru dezvoltare și noi perspective.

Având în vedere că animalele ingeră o varietate largă de nutrețuri, respectiv, laptele este un aliment cu o contribuție importantă în dieta oamenilor, în urma

cercetării efectuate, considerăm că este important să se țină cont, în primul rând, de frecvența contaminării și de riscul cumulativ suficient de ridicat al MOSH/MOAH.

Nivelul de contaminare identificat indică necesitatea unor acțiuni importante de reducere a poluării, conștientizarea problemelor și adoptarea de bune practici de producție fiind o soluție accesibilă pentru minimizarea riscurilor de contaminare.

În urma cercetării elaborate, recomandările practice se îndreaptă către operațiunile tehnologice de obținere și prelucrare a nutrețurilor. Dată fiind contaminarea nutrețurilor inclusiv pe perioada recoltării, transportului sau depozitării, este importantă prioritizarea și conștientizarea problemelor asociate contaminării prin prisma lichidelor tehnice ale echipamentelor agricole. În prezent, o abordare rezonabilă privind prevenirea contaminării cu MOSH/MOAH poate fi înlocuirea lubrifianților și uleiurilor utilizate cu produse de calitate tehnică ridicată, cu produse rafinate, produse de calitate alimentară care să nu conțină MOSH/MOAH sau cu produse alternative fără MOH.

De asemenea, o bună întreținere a utilajelor și echipamentelor utilizate în timpul recoltării, utilizarea corectă a acestora și curățarea ar putea avea o importanță fundamentală în reducerea riscului de contaminare, așa cum proiectarea constructivă diferită a echipamentelor și utilajelor agricole poate fi o metodă utilă de prevenție, chiar dacă acest lucru implică schimbări și procese pe termen lung.

Rezultatele obținute confirmă prezența MOSH/MOAH în nutrețuri sau lapte și sunt comparabile cu rezultate anterioare obținute în cercetări similare. Valorificarea cercetării a fost realizată prin obținerea de rezultate concrete în diferite zone de cercetare, oferind modele de migrare a contaminanților din nutrețuri în lapte ca rezultat al transferului metabolic din organismul animal, contrar sensibilității subiectului și variabilității existente.

În privința identificării celor mai importante surse de contaminare și pentru a evalua posibila contribuție a nutrețurilor în contaminarea laptelui prin transferul metabolic a MOSH/MOAH, pentru abordările viitoare și pentru confirmarea cercetării derulate, se recomandă studii suplimentare cu un grad de obiectivitate deosebit de ridicat, care să vizeze în mod punctual fiecare element implicat. Elaborarea unor algoritmi de calcul, prin care să se evidențieze transferul potențial al contaminanților din nutrețuri în lapte, pe baza rezultatelor cantitative și nu doar prin analiza și compararea interferențelor comune ale probelor studiate, ar putea constitui un prim pas spre obținerea unor rezultate din ce în ce mai valoroase.

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

In this research, the problem of contamination of feed and milk with saturated and aromatic mineral oil hydrocarbons was addressed in order to evaluate the possibility of pollutant transfer on vegetal production-animal production cycle.

Based on the data obtained from the research carried out in the units in the three selected geographical areas (mountainous, rural, urban), strategies to confirm contamination of feed and milk have been developed and the main sources that can affect their innocuity have been evaluated in order to identify the mechanisms of transfer of pollutants from feed to milk. The main conclusions on the results obtained were formulated according the proposed objectives, as follows:

- The methodological framework of the research was fixed and sources of pollution and contamination were evaluated; the farms were characterized in relation to potential level of pollution expected in the selected geographical area: low (S) in mountain area (Mo), medium (M) in rural area (Rr) and high (R) in urban area (U).

- The crude chemical composition of feed and milk was determined and the monitored parameters were analyzed, in relation to specifics of feeding of animals in each farm. Among the crude chemical components, fat content has had particular applicability in relation to the study of contaminants.

The analysis of the chemical composition of the feed samples generally showed a uniformity at the level of each unit studied, with a balanced distribution of nutrients in all the analyzed samples, the differences between the values obtained and the values considered as reference, noticed in particular cases, being explained either by the different conditions of obtaining, storing and transporting the fodder, the vegetation stage of the crop at the time of sampling or the sample processing conditions.

In the mountain farm, animal ration was represented by one feed category per season, whose average dry matter contents ranged between 21,3-94,0 %, with over 86,5% organic matter, of which 0,8-4,6% crude fat content. Compared at the unit level, the crude fat content of the forages was lower in the winter ration and higher in the summer ration, in the mountain meadow samples, characterized as having among the highest amounts of crude fat of all the forage samples analyzed.

Analysis of the gross chemical composition of the milk samples of the mountain area unit revealed that the analyzed milk samples were characterized as having normal contents of total dry matter, even though the S-L_v milk samples from the summer ration had the lowest content of total dry matter (11,9 %) from all analyzed samples. On the contrary, regarding the crude fat content, it was highlighted that the highest values were obtained for the S-L_i milk samples from the winter ration, respectively 37,3 %, thus indicating a potential level of quantitative accumulation of pollutants higher in these samples compared to samples with lower fat contents (M-L; R-L).

In the M-Rr rural farm, the results regarding the crude chemical composition revealed a dominance of forages with a high dry matter content, such as alfalfa hay, grain corn or soybean meal, with average values in the range of 84,0–92,0 %, with over 86.5% organic matter content. On a general level, the ration of the animals in this unit included in its composition forage with a balanced and sufficiently high crude fat content (corn silage, grain corn, mixed feed), the average values being in the range of 1,7–4,6 %.

The analysis of the chemical composition of the milk samples of rural farm showed that the M-L samples were characterized as having the highest content of total dry matter (13,1 %), but also the lowest content of crude fat (29,6 %) of all samples analyzed.

In R-U urban farm, in the animal ration, forages rich in dry matter predominated, the average values obtained being between 84,0–92,7 %, with over 86,5 % content of organic matter in all analyzed samples and uniformity in terms of crude fat content (1,6–9,0 %). Compared to mountain farm and rural farm, the feed samples from R-U urban farm stood out, instead, by the highest values obtained for the crude fat content of the characteristic feeds.

The analysis of the chemical composition of the milk revealed that the samples associated with the unit in the urban area were characterized by an average content of 12,5 % total dry matter, of which 29,6 % average content in crude fat. Compared to the units, the values regarding the crude fat content obtained for R-L milk were the lowest of all the analyzed samples.

▪ The presence of MOSH and MOAH in feed samples was monitored and confirmed and contamination profile was characterized in relation to implications of different pollutant or contaminant factors; the results obtained allowed the comparative analysis of feed contamination from the three farms.

For both MOSH and MOAH, important quantitative and confirmatory results were generally obtained to prove the reliability of LC–GC–FID detection method used, for which good performance was demonstrated in terms of concerns the quantification of results (LOQ).

The results obtained about levels of feed contamination generally revealed the presence of MOSH and MOAH contaminants for most of analyzed samples from each farm. the proportional differences being given by the specifics of each unit in relation to the exposure to different sources of pollution, the positioning the unit and the location of the crops from which the feed is sourced or the level of technology of the operations on the farm.

Following quantitative determinations, it was observed that the levels of MOSH and MOAH contamination of feed in the three farms varied widely, more evident for MOSH, ranging on average between 11,4–81,4 mg/kg, and lower for MOAH, with limits between 0,6–4,6 mg/kg.

Differences were highlighted regarding the level of contamination of feed between the three farms, generally explained by the specifics of farms in relation to exposure to pollution, the positioning of farm and location of vegetal crops or the technologization in farms. Except four sample types, from rural and urban farms, all feed samples had MOSH and MOAH levels several times above the EU-RL recommended limit (0,5 mg/kg).

Chromatographically, the contamination profiles also confirmed the presence of MOSH and MOAH in feed samples analyzed, but due to the instability of pollution, the relationship between contamination level of feed, location of vegetal crops and associated pollution sources remains subjective.

The sources of contamination were analyzed in relation to contamination level of feed of each farm. Considerable MOSH/MOAH contamination of feed has been generally attributed to land and air traffic, industrial activities, as well as technological contamination through emissions and technical fluids of agricultural equipment and machinery used to obtain feed.

The results obtained for S-Mo mountain farm showed that in the feed the contamination level was between 21,6–27,4 mg/kg for MOSH, respectively 1,2–1,6 mg/kg for MOAH.

The level of contamination was attributed to the zonal history that included mining activities or technological operations to obtain feed (harvesting, processing). The risk of contamination as a result of contact with different materials used in sampling, preparation and storage of the samples, whose average contents of MOSH and MOAH varied between 211,6 mg/kg and 32,2 mg/kg, respectively, was not excluded, as it was not excluded that the high level of contamination could be attributed to unreported and undeclared work practices by farmers.

In rural farm, feed samples showed an moderate level of MOSH contamination, from 11,4 mg/kg, to high, respectively 35,0 mg/kg, while for MOAH, minimal contamination was detected, from < LOQ to 2,5 mg/kg.

When assessing pollution and contamination factors, a potential contribution to the contamination of feed with MOSH/MOAH would have been the atmospheric transfer of pollutants from the surrounding urban area or the various technological operations applied within the facility.

From a technological point of view, the impact of phytosanitary and crop care treatments was considered minimal.

For the R-U urban farm, the level of feed contamination ranged from 16,9–81,4 mg/kg MOSH to 0,5–4,5 mg/kg MOAH, urban traffic (terrestrial or land), along with other anthropogenic activities (chemical industry, road infrastructure, landfills) being among the factors with an obvious contribution to MOSH/MOAH contamination of feed.

From the point of view of the contamination factors, it was highlighted that the technological operations applied to obtain feed could have an essential

contribution to contamination with MOSH/MOAH, as the possible contribution to contamination as a result of contact with different materials was not excluded, on the period of sample collection and preparation.

In relation to sources of pollution, the level of contamination was not entirely in accordance with the predictions made because it was not entirely proportional to the degree and intensity of exposure to the sources of pollution identified through the sampling sheets applied to each farm. For both MOSH and MOAH, the lowest level of feed contamination was found for rural farm M–Rr, followed by a higher contamination found for feed of mountain farm S–Mo, the highest level of contamination being assigned to feed of urban farm R–U.

- Given the lipophilic nature of the contaminants, the relationship between the level of contamination and the crude fat content of the feed was analyzed, which confirmed that the highest levels of contamination with MOSH/MOAH were in the case of samples with the highest crude fat contents.

- The presence of MOSH and MOAH in milk samples was monitored and confirmed and contamination profile was characterized in relation to the implications of different pollutant or contaminant factors; the results obtained allowed the comparative analysis of milk contamination from the three farms.

Milk contamination results from the three farms generally revealed a high level of MOSH/MOAH for all milk samples analyzed, with values between 3,3–9,9 mg/kg MOSH and 2,6–5,7 mg/kg MOAH. The level of contamination revealed for all four milk samples was several times higher than EU-RL recommended limits (0,5–1,0 mg/kg), with small differences between the farms.

The contamination profile confirmed considerable level of MOSH and MOAH identified in the milk samples analyzed and highlighted the quantified pre-existing contamination of contact materials of milk as an important source of MOSH and MOAH contamination.

Milk samples from units where feed was exposed to apparently negligible sources of pollution (S–PM/S–Lv) had a high content of MOSH/MOAH (9,9 mg/kg MOSH; 5,7 mg/kg MOAH), while milk samples from units where feed was exposed to important sources of pollution (R–L) revealed a lower level of contamination (5,1 mg/kg MOSH; 4,1 mg/kg MOAH).

For both the milk samples from the unit in the mountain area and the milk samples from the units in the rural area and the urban area, no sources that could have contributed to the contamination of the samples were reported, so that potential contamination with MOSH/MOAH was considered unlikely at this stage.

The quantification of MOH from the materials with which the milk samples came into contact during the storage period and the protective materials used during the freeze-drying process revealed an important content of MOSH, respectively 3,3 mg/kg (MOAH < 0,5 mg/kg), pre-existing contamination of contact materials being

one of the most important sources of contamination from a quantitative point of view for all milk samples.

- Strategies were developed to confirm the transfer of MOSH/MOAH from feed to milk through analysis of mean results and analysis of contamination profiles, to identify common interferences.

Analysis of contamination profiles to identify interferences that could confirm the transfer generally revealed a common pattern of contamination, such that migration of contaminants from feed to milk was confirmed.

Similar contamination profiles and a similar distribution of MOSH/MOAH were observed for several feed–milk sample groups; even in the absence of a complete match of contamination profiles, the similar distribution of MOSH/MOAH contaminants in same molecular range (n–C_{16–25}) observed in both feed and milk samples shows the existence of a model of metabolic migration of feed contaminants into milk and indicated common conditions of contamination.

The estimation of the possibility of metabolic transfer of contaminants from feed to milk, based on the quantitative results obtained, generally reflected a medium to low migration of the tracked contaminants. Based on the evaluation of the contamination profiles, it was appreciated that the transfer of contaminants was more obvious at the level of the unit in the mountain area S-Mo, followed by the unit in the rural area M-Rr and, finally, the unit in the urban area R-U; it was thus highlighted that the unit exposed to the highest pollution level was not the unit where the transfer was the most obvious.

Common interferences confirming the metabolic transfer of MOSH/MOAH into milk, following the ingestion of contaminated feed, were observed, in particular, between samples of natural hay and milk from winter ration from mountain farm; grain corn, soybean meal, mixed feed and milk samples from rural farm, and also corn silage, alfalfa silage, grain corn and milk samples from urban farm.

The strategic management through which connections were made between results allowed highlighting the transfer of contaminants from feed to milk, based on common interferences; optimal solutions to address feed safety issues, as an essential factor for safety of animal productions, was also highlighted.

Being substantiated on the basis of well-argued references and adapted in such a way as to provide original content and added value to international research, this thesis represents the primary form of an achievement that, through its results, can serve to implement good production practices for minimizing the risks of contamination and can open new perspectives of collaboration with factories with similar concerns in the field.

Addressing the problem of contamination with mineral oil hydrocarbons in the agro-food chain, in relation to modern sources of pollution, led, through an analytical reasoning, to association of some ideas with some useful solutions for development and new perspectives.

Given that animals ingest a wide variety of feeds and also milk is a food with an important contribution to the human diet, following the research carried out, we consider, first of all, the importance of frequency of contamination and the high cumulative risk of MOSH/MOAH.

The level of contamination identified showed the need for important actions to reduce pollution, awareness of problems and adoption of good production practices being an accessible solution to minimize the risks of contamination.

Following the research, practical recommendations go towards technological operations for obtaining and processing feeds. Given the contamination of feed during harvesting, transport or storage, it is important to prioritize and raise awareness of the problems associated with contamination through the lens of technical liquids of agricultural equipment. Currently, a reasonable approach to preventing MOSH/MOAH contamination may be to replace used lubricants and oils with high technical grade products, refined products, food grade products that do not contain MOSH/MOAH, or alternative MOH free products.

Good maintenance of machinery and equipment used during harvesting, their correct use and cleaning could be of fundamental importance in reducing the risk of contamination; different constructive design of agricultural machinery and equipment can be also a useful method of prevention, even if this involves long-term changes and processes.

The results confirm the presence of MOSH/MOAH in feed or milk and are comparable to previous results from similar research. The valorization of research was achieved by obtaining specific results in different research areas, providing models of migration of contaminants from feed into milk as a result of metabolic transfer from animal body, contrary to the sensitivity and variability of the subject.

Regarding the identification of the most important sources of contamination and to evaluate the possible contribution of feed to milk contamination through metabolic transfer of MOSH/MOAH, for future approaches and to confirm ongoing research, additional studies with a particularly high degree of objectivity are recommended, that specifically target each element involved. The development of some algorithms, through which to highlight the potential transfer of contaminants from feed to milk, based on the quantitative results and not only by analyzing and comparing the common interferences of samples, could be a first step towards obtaining results more and more valuable.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS

Poluarea modernă și poluanții actuali reprezintă un subiect delicat, ce antrenează numeroase provocări pentru sectorul agro-alimentar, cu atât mai mult pentru sectorul producției animaliere.

Datele insuficiente, nivelul și tendințele de evoluție ale problemicii privind poluarea și contaminarea modernă pe lanțul agro-alimentar au condus către nevoia de a investiga, în mod științific, tehnic, sistematic și critic, incidența episoadelor de contaminare și poluare în sectorul producției animaliere.

Printr-o abordare convergentă și un raționament analitic, o intensă activitate de cercetare a fost realizată pentru monitorizarea și cuantificarea hidrocarburilor din uleiuri minerale, în vederea evaluării posibilității de migrare a acestora din nutrețuri în lapte, ca rezultat posibil al transferului metabolic din organismul animal.

Prezenta teză de doctorat a fost susținută de un suport material adecvat asigurat din cadrul a trei unități cu profil zootehnic situate în areale geografice diferite, astfel încât, valorificarea cercetării a fost realizată prin obținerea de rezultate concrete în diferite zone de cercetare.

Pentru a evalua principalele surse care afectează inocuitatea nutrețurilor și a laptelui și pentru a înțelege mecanismele care facilitează transferul acestor substanțe din nutrețuri în lapte, cercetarea a fost orientată pe obiective concrete, materializate prin dezvoltarea unor strategii eficiente de reducere a poluării și de păstrare a unei relații armonioase a animalelor cu mediul înconjurător.

În ciuda impactului lor toxicologic, problematica contaminării cu hidrocarburi din uleiuri minerale a captat atenția cu puțini ani în urmă, până la momentul actual, la nivel internațional, deosebit de puține abordări privind incidența contaminării cu hidrocarburi din uleiuri minerale în nutrețuri fiind elaborate.

Originalitatea tezei de doctorat a fost asigurată în exclusivitate de abordarea problemicii privind contaminarea cu hidrocarburi din uleiuri minerale pe lanțul agro-alimentar, în relație cu sursele moderne de poluare, ca obiectiv de maximă actualitate la nivel național, internațional și pentru domeniul alimentației animalelor.

Gradul de noutate și de complexitate al tezei a fost argumentat suplimentar de plurivalența metodelor de investigare, selectivitatea insuficientă de separare a hidrocarburilor minerale făcând ca această analiză să fie considerată deosebit de solicitantă. Mai mult de atât, desfășurarea activității de cercetare într-un cadru instituțional de o largă recunoaștere la nivel internațional datorită vastei activități pe tema contaminanților și contribuțiilor importante în optimizarea metodelor de

detecție a hidrocarburilor din uleiuri minerale, imprimă acestei lucrări un caracter viabil și verosimil.

Managementul strategic prin care s-au realizat conexiuni între rezultatele obținute a permis evidențierea transferului contaminanților din nutrețuri în lapte și au pus în valoare capacitatea de a identifica soluții optime pentru abordarea problemelor de siguranță a hranei pentru animale ca factor esențial pentru siguranța producțiilor animale.

Fiind fundamentată pe baza unor referințe de specialitate bine argumentate și adaptată astfel încât să ofere conținut original și valoare adăugată cercetării internaționale, prezenta teză de doctorat reprezintă forma primară a unei realizări care, prin rezultatele sale, poate servi la implementarea unor bune practici de producție pentru minimizarea riscurilor de contaminare și poate deschide noi orizonturi de colaborare cu unități cu preocupări teoretice și aplicative în domeniu, fie unități de producție, fie ele însăși instituții de cercetare.

La nivel pluridisciplinar, structura dinamică a tezei de doctorat facilitează transpunerea și integrarea rezultatelor în domenii științifice variate, de la nutriție și alimentație animală, poluarea mediului, agricultură, toxicologie, managementul calității și siguranței alimentelor sau protecția consumatorilor.

Pentru ca realizările și valoarea tezei de doctorat să fie confirmate la nivel național și internațional de comunitățile de specialiști în domeniu, pe parcursul desfășurării cercetării, vizibilitatea a fost asigurată prin publicarea a opt lucrări științifice din domeniul de cercetare în reviste internaționale cotate ISI, cu factor de impact în zona roșie, reviste internaționale indexate ISI și BDI; șase din cele opt lucrări publicate au fost elaborate cu contribuția directă a autorului tezei.

**LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE
în perioada stagiului de doctorat**

**LIST OF SCIENTIFIC PUBLISHED PAPERS
during Ph.D .internship**

Articole publicate în reviste cotate ISI cu factor de impact

1. **Matei M.**, Zaharia R., Petrescu S.-I., Radu-Rusu C.-G., Simeanu D., Mierliță D., Pop I.M., 2023 – *Persistent Organic Pollutants (POPs): A Review Focused on Occurrence and Incidence in Animal Feed and Cow Milk*, Special Issue Animal Nutrition and Productions: Series II, Agriculture, 13(4), 873, ISSN 2077-0472, WOS:000982801800001, IF 3,408, available on-line at <https://doi.org/10.3390/agriculture13040873>

2. Ciobanu M.-M., Manoliu D.-R., Ciobotaru M.-C., Anchidin B.-G., **Matei M.**, Munteanu M., Frunză G., Murariu O.C., Flocea E.-I., Boișteanu P.-C., 2023 – *The Influence of Sensory Characteristics of Game Meat on Consumer Neuropception: A Narrative Review*, Foods, 12, 1341, ISSN 2304-8158, WOS:000956030800001, IF 5,561, available on-line at <https://doi.org/10.3390/foods12061341>

Articole publicate în reviste indexate ISI

1. **Matei M.**, Pop I.M., 2021 – *Traceability of POPs and Heavy Metals along the Agri–Food chain–assessment of soil, feed and milk pollution: A review*, The Eurobiotech Journal, vol. 5 (s2), p. 106, eISSN 2564-615X, available on-line at <https://doi.org/10.2478/ebtj-2021-0031>.

2. **Matei M.**, Pop I.M., 2022 – Monitoring of dairy farms to assess the potential level of pollution of animal feed and animal production, International Congress “Agriculture for Life, Life for Agriculture”, USAMV Bucharest, Scientific Papers. Series D. Animal Science, vol. LXV, Issue 2, pp. 129-136, ISSN 2285-5750, WOS:000914162300072, available on-line at https://animalsciencejournal.usamv.ro/pdf/2022/issue_2/Art17.pdf.

3. **Matei M.**, Pop I.M., 2023 – Mineral oil hydrocarbons (MOH) analysis in animal feed: a characterization based on modern pollution. International Congress “Agriculture for Life, Life for Agriculture”, USAMV Bucharest, Scientific Papers. Series D. Animal Science (*acceptată spre publicare*).

4. Petrescu S.I., Radu-Rusu C.-G., **Matei M.**, Zaharia R., Pop I.M., 2023 – *Commercial and natural dog and cat food: studying the benefits and inconveniences of using current types of feed*, International Congress “Agriculture for Life, Life for Agriculture”, Scientific Papers. Series D. Animal Science (*acceptată spre publicare*).

Articole publicate în reviste indexate BDI

1. **Matei M.**, Pop I.M., Simeanu D., Albu A., Lăpușneanu D., Miron R., 2022 – *Milk contamination with heavy metals as a result of environmental pollution*, Life sciences today for tomorrow”, IULS. Animal & Food Sciences Journal Iasi, vol. 78 (2), pp. 193–200, ISSN 2821–6644, available on-line at http://www.uaiasi.ro/firaa/Pdf/Pdf_Vol_78/M_Matei1.pdf
2. **Matei M.**, Pop I.M., Radu-Rusu C.G., Lăpușneanu D., Zaharia R., 2022 – *The fat content of animal feed and the relationship with the study of the possibility of transfer of organic pollutants in cow`s milk*. International Congress ”Life sciences today for tomorrow”, IULS. Animal & Food Sciences Journal Iasi, vol. 78 (2), pp. 208–215, ISSN 2821–6644, available on-line at http://www.uaiasi.ro/firaa/Pdf/Pdf_Vol_78/M_Matei2.pdf
3. Lăpușneanu D.M., Pop I.M., Simeanu D., Radu-Rusu C.G., **Matei M.**, 2021 – *Analysis of contamination with heavy metals and polychlorinated biphenyls of broiler compound feed*. International Congress “Life sciences today for tomorrow”, IULS. Scientific Papers-Animal Science Series, vol. 76 (26), ISSN 1454-7368, pp. 122–127, available on-line at http://www.uaiasi.ro/firaa/Pdf/Pdf_Vol_76/D_Lapusneanu.pdf
4. Lăpușneanu D.M., Zaharia R., Pop I.M., **Matei M.**, Radu-Rusu C.G., 2022 – *A study on incidence of Salmonella contamination on the surface of feed mill equipments*. International Congress ”Life sciences today for tomorrow”, IULS. Animal & Food Sciences Journal Iasi, ISSN 2821-6644, vol. 78 (2) , pp. 124-128, available on-line at http://www.uaiasi.ro/firaa/Pdf/Pdf_Vol_78/D_Lapusneanu.pdf.

BIBLIOGRAFIE

BIBLIOGRAPHY

1. Academia Română, Institutul de Lingvistică, 2009 – *Dicționarul explicativ al limbii române*, ediția a II – a. Editura Univers Enciclopedic Gold, București.
2. Agle M., Hristov A.N., Zaman S., Schneider C., Ndegwa P., Vaddella V.K., 2010 – *The effects of ruminally degraded protein on rumen fermentation and ammonia losses from manure in dairy cows*, Journal of Dairy Science, vol. 93, nr. 4, p. 1625–1637.
3. Ahmadkhaniha R., Nodehi R.N., Rastkari N., Aghamirloo H.M., 2017 – *Polychlorinated biphenyls (PCBs) residues in commercial pasteurized cows' milk in Tehran, Iran*, Journal of Environmental Health Science & Engineering, vol. 15, nr. 1, p. 15.
4. Aioanei N.M., 2013 – *Evaluarea nutrițională a unor categorii de nutrețuri utilizate în obținerea producției ecologice la taurine*, Teză de doctorat, USAMV Iași.
5. Ali H., Khan E., Ilahi I., 2019 – *Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation*, Hindawi Journal of Chemistry, vol. 2019, nr. 4, p. 1–14.
6. Amutova F., Delannoy M., Baubekova A., Konuspayeva G., Jurjanz S., 2020 – *Transfer of persistent organic pollutants in food of animal origin - meta-analysis of published data*, Chemosphere, vol. 262, 128351.
7. Amutova F., Delannoy M., Baubekova A., Konuspayeva G., Jurjanz S., 2021 – *Transfer of persistent organic pollutants in food of animal origin – Meta-analysis of published data*, Chemosphere, vol. 262, 128351.
8. Andretta I., Kipper M., Lehnen C.R., Hauschild L., Vale M.M., Lovatto P.A., 2012 – *Metaanalytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in growing pigs*, The International Journal of Animal Biosciences, vol. 6, p. 1476–1482.
9. Apedo A., Snow N.H., 2019 – *Online LC-GC: The Ultimate "GC Connection"*, available on-line at <https://www.chromatographyonline.com/view/online-lc-gc-ultimate-gc-connection-0>, Aprilie 2023.
10. Avci M., Kaplan O., Yerturk M., Aslan M., 2006 – *Nutrient and Botanical Composition of Pasture in Celysnpinar Agriculture Farm*, Veteriner Fakultesi Dergisi, vol. 17, nr. 1–2, p. 9–13.
11. Aytenfsu S., Mamo G., Kebede B., 2016 – *Review on Chemical Residues in Milk and Their Public Health Concern in Ethiopia*, Journal of Nutrition & Food Sciences, vol. 6, nr. 4, p. 524.
12. Baklanov A., Hanninen O., Slordal L.H., Kukkonen J., Bjergene N., Fay B., 2007 – *Integrated systems for forecasting urban meteorology, air pollution and population exposure*, Atmospheric Chemistry and Physics, vol. 7, p. 855–874.
13. Barp L., Biedermann M., Grob K., Blas-Y-Estrada F., Nygaard U.C., Alexander J., Cravedi J.P., 2017a – *Accumulation of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) in female Fischer344 rats: comparison with human data and consequences for risk assessment*, Science of The Total Environment, vol. 575, p. 1263–1278.
14. Barp L., Biedermann M., Grob K., Blas-Y-Estrada F., Nygaard U.C., Alexander J., Cravedi J.P., 2017b – *Mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) in female Fischer 344*

rats; accumulation of wax components; implications for risk assessment, Science of The Total Environment, vol. 583, p. 319–333.

15. Barp L., Kornauth C., Würger T., Rudas M., Biedermann M., Reiner A., Concini N., Grob K., 2014 – *Mineral oil in human tissues, part I: concentrations and molecular mass distributions*, Food and Chemical Toxicology, vol. 72, p. 312–321.

16. Bauman D.E., Harvatine K.J., Lock A.L., 2011 – *Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis*, Annual Review of Nutrition, vol. 31, p. 299–319.

17. Baumgard L.H., Collier R.J., Bauman D.E., 2017 – *A 100-Year Review: Regulation of nutrient partitioning to support lactation*, Journal of Dairy Science, vol. 100, p. 10353–10366.

18. Bauwens G., Conchione C., Sdrigotti N., Moret S., Purcaro G., 2022 – *Quantification and characterization of mineral oil in fish feed by liquid chromatography-gas chromatography-flame ionization detector and liquid chromatography-comprehensive multidimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometer/flame ionization detector*, Journal of Chromatography A, vol. 1677, 463208, p. 1–13.

19. Bedi J.S., Gill J.P.S., Kaur P., Aulakh R.S., 2018 – *Pesticide residues in milk and their relationship with pesticide contamination of feedstuffs supplied to dairy cattle in Punjab (India)*, Journal of Animal and Feed Sciences, vol. 27, p. 18–25.

20. Bevan R., Harrison P.T.C., Jeffery B., Mitchell D., 2020 – *Evaluating the risk to humans from mineral oils in foods: Current state of the evidence*, Food and Chemical Toxicology, vol. 136, 110966.

21. Biedermann M., Grob K., 2012a – *On-line coupled high performance liquid chromatography- gas chromatography for the analysis of contamination by mineral oil. Part 1: method of analysis*, Journal of Chromatography A, vol. 1255, p. 56–75.

22. Biedermann M., Grob K., 2012b – *On-line coupled high performance liquid chromatography- gas chromatography for the analysis of contamination by mineral oil. Part 2: migration from paperboard into dry foods: interpretation of chromatograms*, Journal of Chromatography A, vol. 1255, p. 76–99.

23. Biedermann M., Barp L., Kornauth C., Würger T., Rudas M., Reiner A., Concini N., Grob K., 2015 – *Mineral oil in human tissues, Part II: Characterization of the accumulated hydrocarbons by comprehensive two-dimensional gas chromatography*, Science of the Total Environment, vol. 506–507, nr. 644–655.

24. Biedermann M., Fiselier K., Grob K., 2009 – *Aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in foods: method for determining the total concentration and first result*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 57, p. 8711–8721.

25. Biedermann M., Fiselier K., Grob K., 2009 – *Aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in foods: method for determining the total concentration and first result*, Journal of Agricultural Food Chemistry, vol. 57, 8711–8721.

26. Biedermann M., Grob K., 2009 – *How “white” was the mineral oil in the contaminated Ukrainian sunflower oils?*, European Journal of Lipid Science and Technology, vol. 111, p. 313–319.

27. Biedermann M., Grob K., 2015 – *Comprehensive two-dimensional gas chromatography for characterizing mineral oils in foods and distinguishing them from synthetic hydrocarbons*, Journal of Chromatography A, 1375, p. 146–153.

28. Biedermann M., Ingenhoff J.E., Dima G., Zurfluh M., Biedermann-Brem S., Richter L., Simat T., Harling A., Grob K., 2013 – *Migration of mineral oil from printed paperboard into dry foods: survey of the German market. Part II: advancement of migration during storage*, European Food Research and Technology, vol. 236, p. 459–472.
29. Biedermann M., Munoz C., Grob K., 2017 – *Update of on-line coupled liquid chromatography– gas chromatography for the analysis of mineral oil hydrocarbons in foods and cosmetics*, Journal of Chromatography A, vol. 1521, p.140–149.
30. Biedermann M., Munoz C., Grob K., 2020 – *Epoxidation for the analysis of the mineral oil aromatic hydrocarbons in food. An update*, Journal of Chromatography A, 1624, 461236.
31. Biedermann-Brem S., Kasprick N., Simat T., Grob K., 2012 – *Migration of polyolefin oligomeric saturated hydrocarbons (POSH) into food*, Food Additives and Contaminants: Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, vol. 29, p. 449–460.
32. BMEL, 2020 – *Draft of the Federal Ministry of Food and Agriculture. Twenty-Second Ordinance amending the Consumer Goods Ordinance*, available on-line at <https://ec.europa.eu/growth/toolsdatabases/tris/en/index.cfm/search/?trisaction=search.detail&year=2020&num=510&mLang=EN>.
33. Bogdal C., Züst S., Schmid P., Gyalpo T., Zeberli A., Hungerbühler K., Zennegg M., 2017–*Dynamic transgenerational fate of polychlorinated biphenyls and dioxins/ furans in lactating cows and their offspring*, Environmental Science&Technology, vol. 51, p. 536–545.
34. Bratinova S., Hoekstra E., Emons H., Hutzler C., Kappenstein O., Biedermann M., McCombie G., 2020 – *The reliability of MOSH/MOAH data: a comment on a recently published article*, Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, vol. 2–4.
35. Bratinova S., Hoekstra S., 2019 – *Guidance on sampling, analysis and data reporting for the monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and food contact materials*, Publications Office of the European Union, Luxembourg, JRC115694.
36. Bromilow R.H., 2005–*Pesticides*, Encyclopedia of Soils in the Environment, p. 188–195.
37. Brühl L., 2016–*Occurrence, determination, and assessment of mineral oils in oilseeds and vegetable oils*, European Journal of Lipid Science and Technology, vol. 118, p. 361–372.
38. Buist H., van Harmelen T., van den Berg C., Leeman W., Meima M., Krul L., 2020 – *Evaluation of measures to mitigate mineral oil migration from recycled paper in food packaging*, Packaging Technology and Science, p. 1–16.
39. Burkholder K.M., Guyton A.D., Mckinney J.M., Knowlton K.F., 2004 – *The effect of steam flaked or dry ground corn and supplemental phytic acid on nitrogen partitioning in lactating cows and ammonia emission from manure*, Journal of Dairy Science, vol. 87, nr. 8, p. 2546–2553.
40. Burlacu Gh., Cavache A., Burlacu R., 2002 – *Potențialul productiv al nutrețurilor și utilizarea lor*. Editura CERES, București.
41. Calvelo Pereira R., Monterroso Martínez M.C., Martínez Cortizas A., Macías F., 2010–*Analysis of composition, distribution and origin of hexachlorocyclohexane residues in agricultural soils from NW Spain*, Science of The Total Environment, vol. 408, nr. 22, p. 5583–5591.
42. Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME), 2010 – *Canadian Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health*, accesat on-line <http://ceqg-rcqe.ccme.ca/download/en/320>, Octombrie 2020.

43. Canavar Ö., Kappenstein O., Luch A., 2018 – *The analysis of saturated and aromatic mineral oil hydrocarbons in dry foods and from recycled paperboard packages by online HPLC-GC-FID*, Food Additives & Contaminants Part A, vol. 35, nr. 12, p. 2471-2481.
44. Carrillo J.C., Shen H., Momin F., Kral O., Schnieder H., Kühn S., 2022 – *GTL synthetic paraffin oil shows low liver and tissue retention compared to mineral oil*, Food and Chemical Toxicology, vol. 159, 112701.
45. Carrillo J.C., van der Wiel A., Danneels D., Kral O., Boogaard P.J., 2019 – *The selective determination of potentially carcinogenic polycyclic aromatic compounds in lubricant base oils by the DMSO extraction method IP346 and its correlation to mouse skin painting carcinogenicity assays*, Regulatory Toxicology and Pharmacology, vol. 106, p. 316–333.
46. Carter S., Kim H., 2013 – *Technologies to reduce environmental impact of animal wastes associated with feeding for maximum productivity*, Animal Frontiers, vol. 3, nr. 3, p. 42-47.
47. Casarett L.J., Doull J., 2008 – *Casarett and Doull's Toxicology: the Basic Science of Poisons*, 6th ed. McGraw-Hill Medical Pub. Division, Curtis D. Klaassen.
48. Cetingul I.S., Yardimci M., 2008 – *The importance of fats in farm animal nutrition*, Kocatepe Veterinary Journal, nr. 1, p. 77–81.
49. Chavoshani A., Hashemi M., Amin M.M., Ameta S.C., 2020 – *Risks and challenges of pesticide in aquatic environments*, Elsevier, p. 179 – 213.
50. Chen X., Lin Y., Dang K., Puschner B., 2017 – *Quantification of Polychlorinated Biphenyls and Polybrominated Diphenyl Ethers in Commercial Cows' Milk from California by Gas Chromatography–Triple Quadruple Mass Spectrometry*, PLoS ONE, vol. 12, nr. 1, p. 1–8.
51. Cherian G., 2020 – *A Guide to the Principles of Animal Nutrition*, ed. 1, Oregon State University Corvallis, accesat on-line at <https://open.oregonstate.education/animalnutrition/>, Decembrie 2020.
52. Combs G.F., McClung J.P., 2017 – *The Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, ed. 5, p. 501–530.
53. Comisia Europeană, 2020 – *Comunicare a Comisiei către Parlamentul European, Consiliu, Comitetul Economic și Social European și Comitetul Regiunilor privind o strategie a UE de reducere a emisiilor de metan*, accesat on-line <https://data.consilium.europa.eu/doc/document/ST-11856-2020-INIT/ro/pdf>, Decembrie 2020.
54. Conte L., 2020 – *On the presence of Mineral Oil Hydrocarbons (MOSH and MOAH) in edible fats and oils: a report from the SISSG related Workshop*, La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, vol. XCVII.
55. Costera A., Feidt C., Marchand P., Le Bizec B. and Rychen G., 2006 – *PCDD/F and PCB transfer to milk in goats exposed to a long-term intake of contaminated hay*, Chemosphere, vol. 64, nr. 4, p. 650–657.
56. Coșman S., Bahcivanji M., Coșman V., Garaeva S., Mitina T., 2018 – *Cerințe zootehnice, componența chimică și valoarea nutritivă a nutrețurilor din Republica Moldova*. Editura Prin–Caro, Maximovca.
57. Covaci A., Manirakiza P., Schepens P., 2002 – *Persistent organochlorine pollutants in soils from Belgium, Italy, Greece, and Romania*, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, vol. 68, nr. 1, p. 97-103.
58. Cravedi J., Grob K., Nygaard U.C., Alexander J., 2017 – *Bioaccumulation and toxicity of mineral oil hydrocarbons in rats–specificity of different subclasses of a broad*

mixture relevant for human dietary exposures, EFSA Supporting Publications, vol. 14, nr. 2, p. 1090E.

59. Crepineau-Ducoulombier C., Rychen G., 2003 – *Assessment of soil and grass polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) contamination levels in agricultural fields located near a motorway and an airport*, Agronomie, vol. 23, nr. 4, p. 345–348.

60. Curtean-Bănăduc A., Burcea A., Bănăduc D., 2016 – *Impactul poluanților organici persistenți asupra ecosistemelor acvatice continentale și sănătății umane*. Editura Universității "Lucian Blaga", Sibiu, p. 95–108.

61. Deng J., Zhao L., Zhang N.-Y., Karrow N.A., Krumm C.S., Qi D.-S., Sun L.-H., 2018 – *Aflatoxin B1 metabolism: Regulation by phase I and II metabolizing enzymes and chemoprotective agents*, Mutation Research, vol. 778, p. 79–89.

62. Desiato R., Bertolini S., Baioni E., Crescio M.I., Scortichini G., Ubaldi A., Sparagna B., Cuttica G., Ru G., 2014 – *Data on milk dioxin contamination linked with the location of fodder croplands allow to hypothesize the origin of the pollution source in an Italian valley*, Science of the Total Environment, vol. 499, p. 248–256.

63. Ding L., Li Y., Wang P., Li X., Zhao Z., Ruan T., Zhang Q., 2013 – *Spatial concentration, congener profiles and inhalation risk assessment of dioxins/furans and PCBs in the atmosphere of Tianjin, China*, Chinese Science Bulletin, vol. 58, nr. 9, p. 971–978.

64. Domingo J.L., Schuhmacher M., Agramunt M.C., Llobet J.M., Rivera J., Muller L., 2002 – *PCDD/F levels in the neighbourhood of a municipal solid waste incinerator after introduction of technical improvements in the facility*, Environment International, vol. 28, nr. 1 – 2, p. 19–27.

65. Donosă R.E., 2011 – *The nutritive value of alfalfa hay in some dairy cow farms from Moțca village (Iași county)*, Lucrări științifice – Seria Zootehnie, vol. 56, p. 191–194.

66. Drăgan D., Cucu-Man S., Mocanu R., Covaci A., 2007 – *Accelerated solvent extraction method for the determination of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in soils*, Revue Roumaine de Chimie, vol. 52, nr. 6, p. 597–601.

67. Driesen C., Lerch S., Siegenthaler R., Silacci P., Hess H.D., Nowack B., Zennegg M., 2022 – *Accumulation and decontamination kinetics of PCBs and PCDD/Fs from grass silage and soil in a transgenerational cow-calf setting*, Chemosphere, vol. 296, 133951.

68. Driesen C., Zennegg M., Morel I., Hess H.D., Nowack B., Lerch S., 2021 – *Average transfer factors are not enough: The influence of growing cattle physiology on the transfer rate of polychlorinated biphenyls from feed to adipose*, Chemosphere, vol. 270, 129698.

69. Dumitraș A., 2008 – *Efectele poluării asupra degradării mediului înconjurător*, ProEnvironment, vol. 2, p. 110–113.

70. EFSA, 2012 – *European Food Safety Authority, Scientific opinion on mineral oil hydrocarbons in food*, EFSA Journal, vol. 10, nr. 6, p. 1–185.

71. EFSA, 2018 – *Risk for animal and human health related to the presence of dioxins and dioxin-like PCBs in feed and food*, EFSA Journal, vol. 16, p. 331.

72. Ene A., Bogdevich O., Sion A., 2012 – *Levels and distribution of organochlorine pesticides (OCPs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in topsoils from SE Romania*, Science of the Total Environment, vol. 439, p. 76–86.

73. Engelking P., 2000 – *Pollution*, Microsoft Encarta Online Encyclopedia.

74. Erickson P.S., Kalscheur K.F., 2020 – *Nutrition and feeding of dairy cattle*, Animal Agriculture, Chapter 9, p. 157–180.

75. Esmail S.H., 2018 – *Fats in cattle feed: What to consider*, All About Feed, accesat on-line <https://www.allaboutfeed.net/animal-feed/feed-additives/fats-in-cattle-feed-what-to-consider/>, Mai 2021.
76. European Chemical Agency (ECHA), 2021 – *List of substances subject to pops regulation*, accesat on-line <https://echa.europa.eu/ro/list-of-substances-subject-to-pops-regulation>, 2 Iunie 2021.
77. European Commission (EC), 2014 – Commission Implementing Regulation (EU) No. 853/2014 of 5 August 2014 repealing Regulation (EC) No 1151/2009 imposing special conditions governing the import of sunflower oil originating in or consigned from Ukraine.
78. European Commission (EC), 2008 – Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives, The Official Journal of the European Union, vol. 351, p. 16–33.
79. European Commission (EC), 2009a – Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC, The Official Journal of the European Union, vol. 309, p. 1–50.
80. European Commission (EC), 2011a – Commission implementing regulation (EU) No 540/2011 of 25 May 2011 implementing regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards the list of approved active substances, The Official Journal of the European Union, vol. 153, p. 1–186.
81. European Commission (EC), 2011b – Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food, The Official Journal of the European Union, vol. 10, p. 1–89.
82. European Commission (EC), 2017 – Commission Recommendation (EU) 2017/84. Official Journal of the European Communities, available on-line at <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017H0084&from=EN>, Aprilie 2023.
83. European Commission (EC), 2018 – Summary Report of the Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed Held in Brussels on 11 June 2018, Section Novel Food and Toxicological Safety of the Food Chain.
84. European Commission (EC), 2022 – Summary Report. Standing committee on Plants, Animals, Food and Feed. Section Novel Food and Toxicological Safety of the Food Chain, 21 April 2022, available on-line at <https://ec.europa.eu/transparency/comitology-register/core/api/integration/ers/281161/081467/1/attachment>, 25 Martie 2023.
85. European Commission, Commission recommendation (EU) 2017/84 of 16 January 2017 on the monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and in materials and articles intended to come into contact with food, Official Journal of the European Union, L12, p. 95–96.
86. European Committee for Standardization, 2017 – Foodstuffs - Vegetable oils and foodstuff on basis of vegetable oils - Determination of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) and mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH) with on-line HPLC-GC-FID analysis. EN, 16995, 2017.
87. European Communities, 2001 – *Ambient Air Pollution by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)* – Position Paper Annexes, prepared by the Working 70 Group on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, accesat on-line at https://ec.europa.eu/environment/air/pdf/pp_pah.pdf, Noiembrie 2020.

88. European Economic Area (EEA), 2017 – *Cleaner air benefits human health and climate change*, EEA Newsletter, nr. 4.
89. European Food Safety Authority (EFSA), 2005 – *Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the presence of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in feed and food*, The EFSA Journal, vol. 284, p. 1–137.
90. European Food Safety Authority (EFSA), 2023 – *Mineral oil hydrocarbons in food—have your say on the draft*, available on-line at <https://www.efsa.europa.eu/en/news/mineral-oil-hydrocarbons-food-have-your-say-draft>, Aprilie 2023.
91. European Food Safety Authority (EFSA), Arcella D., Baert K., Binaglia M., 2019 – *Rapid risk assessment on the possible risk for public health due to the contamination of infant formula and follow-on formula by mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH)*, EFSA Supporting Publications, vol. 16.
92. FAO/WHO Food and Agriculture Organization/World Health Organization, 2002 – *Evaluation of certain food additives: fifty-ninth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives*, World Health Organ Technical Report Series, vol. 913, nr. i–viii, p. 1–153.
93. Fernandes A.R., Foxall C., Lovett A., Rose M., Dowding A., 2011 – *The assimilation of dioxins and PCBs in conventionally reared farm animals: occurrence and biotransfer factors*, Chemosphere, vol. 83, p. 815–822.
94. Fink-Gremmels J., 2008 – *The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows*, Journal of Veterinary Science, 176, p. 84–92.
95. Fiselier K., Fiorini D., Grob K., 2009 – *Activated aluminum oxide selectively retaining long chain n-alkanes. Part I, description of the retention properties*, Analytica Chimica Acta, vol. 634, p. 96–101.
96. Fiselier K., Grundböck F., Schön K., Kappenstein O., Pfaff K., Hutzler C., Luch A., Grob K., 2013 – *Development of a manual method for the determination of mineral oil in foods and paperboard*, Journal of Chromatography A, vol. 1271, p. 192–200.
97. Food and Agriculture Organization (FAO), 2015 – FAOSTAT Database, <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/>, Decembrie 2020.
98. Foodwatch, 2019 – *International Test of Various Canned Baby Milk Products for Their Content of Mineral Oil Hydrocarbons (MOSH/MOAH)*, available on-line <https://www.foodwatch.org/en/news/2019/foodwatch-laboratory-tests-suspected-carcinogenic-mineral-oil-residues-in-baby-milk/>, Aprilie 2023.
99. Foodwatch, 2021 – *International tests of various food products for their contamination by mineral oil hydrocarbons (MOSH/MOAH)*, Project-report available on-line at https://www.foodwatch.org/fileadmin/-INT/mineral_oil/documents/2021-12-03_technical__minoil__project_report.pdf, Aprilie 2023.
100. Fournier A., Feidt C., Marchand Ph., Venisseau A., Le Bizec B., Seiller N., Engel E., Ratel J., Travel A., Jondreville C., 2011 – *Kinetic study of g hexabromocyclododecane orally given to laying hens (Gallus domesticus)*, Environmental Science and Pollution Research, vol. 19, p. 440–447.
101. Gallo A., Giuberti G., Frisvad J.C., Bertuzzi T., Nielsen K.F., 2015 – *Review on mycotoxin issues in ruminants: Occurrence in forages, effects of mycotoxin ingestion on*

health status and animal performance and practical strategies to counteract their negative effects, *Toxins*, 7, p. 3057–3111.

102. Gallo A., Minuti A., Bani P., Bertuzzi T., Cappelli F.P., Doupovec B., Faas J., Schatzmayr D., Trevisi E., 2020 – *A mycotoxin-deactivating feed additive counteracts the adverse effects of regular levels of Fusarium mycotoxins in dairy cows*, *Journal of Dairy Science*, vol. 103, p. 11314–11331.

103. Gharbi I., Moret S., Chaari O., Issaoui M., Conte L.S., Lucci P., Hammami M., 2017 – *Evaluation of hydrocarbon contaminants in olives and virgin olive oils from Tunisia*, *Food Control*, vol. 75, p. 160–166.

104. Giuffrè A.M., Capocasale M., 2016 – *N-Alkanes in tomato (Solanum lycopersicum L.) seed oil: The cultivar effect*, *International Food Research Journal*, vol. 23, p. 979–985.

105. Gómez-Coca R.B., Cert R., Pérez-Camino M.C., Moreda W., 2016 – *Determination of saturated aliphatic hydrocarbons in vegetable oils*, *Grasas Y Aceites*, vol. 67, p. e127.

106. Grob K., 2008 – *Could the Ukrainian sunflower oil contaminated with mineral oil wake up sleeping dogs?*, *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 110, p. 979–981.

107. Grob K., 2014 – *Update on recycled paperboard and its compliance for food contact*, *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, vol. 9, p. 213–219.

108. Grob K., 2018 – *Toxicological Assessment of Mineral Hydrocarbons in Foods: State of Present Discussions*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 66, nr. 27, p. 6968–6974.

109. Grob K., Lanfranchi M., Egli J., Artho A., 1991 – *Determination of food contamination by mineral oil from jute sacks using coupled LC-GC*, *Journal – Association of Official Analytical Chemists*, vol. 74, nr. 3, p. 506–512.

110. Grob K., Vass M., Biedermann M., Neukom H.-P., 2001 – *Contamination of animal feed and food from animal origin with mineral oil hydrocarbons*, *Food Additives and Contaminants*, vol. 18, nr. 1, p. 1–10.

111. Hidalgo Ruiz J.L., Arrebola Liebanas J., Martinez Vidal J.L., Garrido Frenich A., Romero Gonzalez R., 2021 – *Offline Solid-Phase Extraction and Separation of Mineral Oil Saturated Hydrocarbons and Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons in Edible Oils, and Analysis via GC with a Flame Ionization Detector*, *Foods*, vol. 10, p. 1–12, 2026.

112. Hochegger A., Moret S., Geurt L., Gude T., Meitner E., Mertens B., O'Hagan S., Poças F., Simat T., Purcaro G., 2021 – *Mineral oil risk assessment : knowledge gaps and roadmap. Outcome of a multi-stakeholders workshop*, *Trends in Food Science and Technology*, vol. 113, p. 151–166.

113. Holoubek I., Dusek L., Sanka M., Hofman J., Cupr P., Jarkovsky J., Zbiral J., Klanova J., 2009 – *Soil burdens of persistent organic pollutants — their levels, fate and risk. Part I. Variation of concentration ranges according to different soil uses and locations*, *Environmental Pollution*, vol. 157, nr. 12, p. 3207–3217.

114. Hooton D., Lentle R., Monro J., Wickham M., Simpson R., 2015 – *The secretion and action of brush border enzymes in the mammalian small intestine*, *Reviews Physiology Biochemistry and Pharmacology*, vol. 168, p. 59–118.

115. Hristov A.N., Hazen W., Ellsworth J.W., 2006 – *Nitrogen, phosphorus, and potassium balance and potentials for reducing phosphorus imports in Idaho dairy farms*, *Journal of Dairy Science*, vol. 89, nr. 9, p. 3702–3712.

116. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2002 – *Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene*, IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 82, Lyon: IARC Press.
117. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2014–Climate Change 2014, Mitigation of Climate Change, Cambridge University Press, available on-line at https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/ipcc_wg3_ar5_frontmatter.pdf, Decembrie 2020.
118. International Energy Agency (IEA), 2018 – World Energy Outlook, accesat on-line at, <https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2020/achieving-net-zero-emissions-by-2050#abstract>, Decembrie 2020.
119. Iqbal J., Hussain M.M., 2009 – *Intestinal lipid absorption*, American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, vol. 296, p. E1183–1194.
120. Jaen J., Domeno C., Nerin C., 2022 – *Development of an analytical method for the determination of mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH) from printing inks in food packaging*, Food Chemistry, vol. 397, 133745.
121. Jahed Khaniki Gh.R., 2007 – *Chemical Contaminants in Milk and Public Health Concerns: A Review*, International Journal of Dairy Science, vol. 2, p. 104–115
122. Jandacek R.J., Tso P., 2001 – *Factors affecting the storage and excretion of toxic lipophilic xenobiotics*, Lipids, vol. 36, nr. 12, p. 1289–1305.
123. Jaspers V., Megson D., O’Sullivan G., 2014 – *POPs in the Terrestrial Environmental*, Environmental Forensics for Persistent Organic Pollutants, p. 291–356.
124. Jegannathan K.R., Nielsen P.H., 2013 – *Environmental assessment of enzyme use in industrial production – a literature review*, Journal of Cleaner Production, vol. 42, p. 228–240.
125. Jirdeji Z.S., Qajarbeygi P., Hosseini H., Babaei A.H.H., 2015 – *The survey of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls levels in pasteurized cow’s milk collected in Qazvin*, Journal of Food Safety and Hygiene, vol. 1, nr. 1, p. 8–12.
126. Johnson B., 2013 – *Role of technology in enhancing food security and sustainability*, Animal Frontiers, vol. 3, nr. 3, p. 8–13.
127. Jondreville C., Cariou R., Meda B., Dominguez-Romero E., Omer E., Dervilly-Pinel G., Le Bizec B., Travel A., Baeza E., 2017 – *Accumulation of α -hexabromocyclododecane (α -HBCDD) in tissues of fast- and slow-growing broilers (*Gallus domesticus*)*, Chemosphere, vol. 178, p. 424–431.
128. Kelly B.C., Gobas F.A.P.C., McLachlan M.S., 2004 – *Intestinal absorption and biomagnification of organic contaminants in fish, wildlife, and humans*, Environmental Toxicology and Chemistry, vol. 23, nr. 10, p. 2324–2336.
129. Kerr B.J., Kellner T.A., Shurson G.C., 2015 – *Characteristics of lipids and their feeding value in swine diets*, Journal of Animal Science Biotechnology, vol. 6, nr. 1, p. 30.
130. Kiela P.R., Ghishan F.K., 2016 – *Physiology of Intestinal Absorption and Secretion*, Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 30, p. 145–159.
131. Kierkegaard A., Asplund L., de Wit C.A., McLachlan M.S., Thomas G.O., Sweetman A.J., Jones K.C., 2007 – *Fate of higher brominated PBDEs in dairy cows*, Environmental Science & Technology, vol. 41, p. 417–423.
132. Kim M., Cho B.H., Lim C.M., Kim D.G., Yune S.Y., Shin J.Y., Bong Y.H., Kang J., Kim M.A., Son S.W., 2013 – *Chemical residues and contaminants in foods of animal*

origin in Korea during the past decade, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 61, nr. 10, p. 2293–2298.

133. Knowlton K.F., Radcliffe J.S., Novak C.L., Emmerson D.A., 2004 – *Animal management to reduce phosphorus losses to the environment*, *Journal of Animal Science*, vol. 82, p. E173–E195.

134. Kulkarni P., 2019 – *Dioxins*, *Encyclopedia of Environmental Health*, vol. 2, nr. 2, p. 125–134.

135. Kumar M., Dwivedi P., Sharma A.K., Telang A.G., Patil R.D., Singh N.D., 2008 – *Immunotoxicity of ochratoxin A and citrinin in New Zealand white rabbits*. *World Rabbit Science*, vol. 16, p. 7–12.

136. Kwakman R., 2020 – *Dairy cows benefit from fatty acids in early lactation*, All About Feed, accesat on-line <https://www.allaboutfeed.net/animal-feed/feed-additives/dairy-cows-benefit-from-fatty-acids-in-early-lactation/>, Mai 2021.

137. Lachenmeier D.W., Mildau G., Rullmann A., Marx G., Walch S.G., Hartwig A., Kuballa T., 2017 – *Evaluation of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) and mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH) in pure mineral hydrocarbon-based cosmetics and cosmetic raw materials using HNMR spectroscopy*, *F1000 Research*, vol. 6, nr. 682.

138. Lake I.R., Foxall C.D., Fernandes A., Lewis M., Rose , White O., Dowding A., 2013 – *Seasonal variations in the levels of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in cows' milk*, *Chemosphere*, vol. 90, nr. 1, p. 72–79.

139. Landrigan P.J., Fuller R., Acosta N.J.R., Adeyi O., Arnold R., Basu N., 2017 – *The Lancet Commission on pollution and health*, *Lancet*, nr. 391, p. 462–512.

140. Lapole D., Rychen G., Grova N., Monteau F., Le Bizec B., Feidt C., 2007 – *Milk and urine excretion of polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites after a single oral administration in ruminants*, *Journal of Dairy Science*, vol. 90, nr. 6, p. 2624–2629.

141. Laswai G., Mgheni D.M., Mtenga L.A., Ndikumana J., Zziwa E., 2013 – *Chemical composition and nutritional values of feed resources for ruminants*, Association for Strengthening Agricultural Research in Eastern and Central Africa (ASARECA), Entebbe, Uganda.

142. LAV–BLL, 2022 – *Update Benchmark levels for mineral oil hydrocarbons (MOH) in foods*, September 2022, available on-line at <https://www.lebensmittelverband.de/download/>, Martie 2023.

143. Lerch S., Guidou C., Thome J.P., Jurjanz S., 2016 – *Non-dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) and chlordecone release from adipose tissue to blood in response to body fat mobilization in Ewe (Ovis aries)*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 64, p. 1212–1220.

144. Lerch S., Oberson J.L., Silacci P., Morel I., 2020a – *Performances du systeme d'alimentation Suisse "Livre vert" pour le bovin a l'engrais*, *Recherche Agronomique Suisse*, vol. 11, p. 252–260.

145. Lerch S., Rey-Cadilhac L., Cariou R., Faulconnier Y., Jondreville C., Roux D., Dervilly-Pinel G., Le Bizec B., Jurjanz S., Ferlay A., 2020b – *Undernutrition combined with dietary mineral oil hastens depuration of stored dioxin and polychlorinated biphenyls in ewes. Tissue distribution, mass balance and body burden*, *PloS One*, vol. 15.

146. Lestingi A., Bovera F., Carolina V., Montemurro F., Tateo A., 2012 – *Effects of anaerobic digestates application on chemical composition and in vitro digestibility of alfalfa (Medicago sativa L.)*, Journal of Food, Agriculture & Environment, vol. 10, nr.1, p. 316–319.
147. Li M., Ying X., Yang C., Li J., Gao J., Sui H., Qian Z., 2020 – *Dietary exposure to mineral oil hydrocarbons of Chinese infants aged 0-6 months*, Food Additives & Contaminants: Part A, p. 1–12.
148. Liu N., Ding K., Wang J., Deng Q., Gu K., Wang J., 2018 – *Effects of lactic acid bacteria and smectite after aflatoxin B1 challenge on the growth performance, nutrient digestibility and blood parameters of broilers*, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, vol. 102, p. 953–961.
149. Lommatzsch M., Biedermann M., Grob K., Simat T.J., 2016 – *Analysis of saturated and aromatic hydrocarbons migrating from a polyolefin-based hot-melt adhesive into food*, Food Additives and Contaminants: Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, vol. 33, p. 473–488.
150. Luisi A., 2019 – *MOSH and MOAH: validation of the analytical method and occurrence on oils*, Presentation at the SISSG Workshop "MOSH&MOAH negli Oli e Grassi Alimentari: Aspetti Tossicologici e Analitici, Fonti di Contaminazione" 12-13 December 2019, Chemiservice, Bologna, Italy, available on-line at https://www.sissg.it/wp-content/uploads/LUISI-Chemiservice-bologna-12-12-rev_compressed.pdf, Martie 2023.
151. Lupton S., Kishore R., Ou O., Johnston J., 2019 – *Levels and Trends of Dioxins, Dioxin-like Compounds and PBDEs in the U.S: Domestic Meat Supply, Mid-1990s to 2019*, 39th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2019), Kyoto, Japan.
152. Machado L., Tomkins N., Magnusson M., Midgley D.J., de Nys R., Rosewarne C.P., 2018 – *In Vitro Response of Rumen Microbiota to the Antimethanogenic Red Macroalga Asparagopsis taxiformis*, Microbial Ecology, vol. 75, p. 811–818.
153. Mackerer C.R., Griffis L.C., Grabowski Jr. J.S., Reitman F.A., 2003 – *Petroleum mineral oil refining and evaluation of cancer hazard*, Applied Occupational and Environmental Hygiene, vol. 18, p. 890–901.
154. Magnusson B., Ornemark U., 2014 – *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods–A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, available on-line at https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf, Aprilie 2023.
155. Manciulea I., Dumitrescu L., 2016 – *Poluanți organici persistenți – Introducere*. Transilvania University of Brașov. Project "Learning Toxicology through Open Educational Resources (TOX-OER), accesat on-line at http://moodle.toxoer.com/pluginfile.php/3555/mod_page/content/1/POPs_Introducere_RO.pdf, Septembrie 2020.
156. Maresca M., 2013–*From the gut to the brain: journey and pathophysiological effects of the food-associated trichothecene mycotoxin deoxynivalenol*, Toxins, vol. 5, p. 784-820.
157. Martin N.P., Mertens D.R., Weimer P.J., 2004 – *Alfalfa: hay, haylage, baleage and other novel products*, Alfalfa and Forage Conference.
158. Matei M., Pop I.M., 2021 - *Traceability of POPs and Heavy Metals along the Agri-Food chain–assessment of soil, feed and milk pollution: A review*. The Eurobiotech Journal, vol. 5 (s2), p. 106.

159. Matei M., Pop I.M., 2022 – *Monitoring of dairy farms to assess the potential level of pollution of animal feed and animal production*, International Conference “Agriculture for Life, Life for Agriculture”, USAMV Bucharest. Scientific Papers. Series D. Animal Science, vol. LXV, nr. 2, p. 129–136.
160. Matei M., Pop I.M., Radu-Rusu C.G., Lăpușneanu D., Zaharia R., 2022 – *The fat content of animal feed and the relationship with the study of the possibility of transfer of organic pollutants in cow’s milk*, International Congress “Life sciences today for tomorrow”, IULS, Animal & Food Sciences Journal Iasi, vol. 78, nr. 2, p. 208–215.
161. Matei M., Pop I.M., 2023 – *Mineral oil hydrocarbons (MOH) analysis in animal feed: a characterization based on modern pollution*, International Congress “Agriculture for Life, Life for Agriculture”, USAMV Bucharest, Scientific Papers. Series D. Animal Science (în curs de publicare).
162. Matei M., Zaharia R., Petrescu S.-I., Radu-Rusu C.-G., Simeanu D., Mierliță D., Pop I.M., 2023 - *Persistent Organic Pollutants (POPs): A Review Focused on Occurrence and Incidence in Animal Feed and Cow Milk*, Agriculture, vol. 13, nr. 4, p. 873.
163. Menegoz Ursol L., 2022 – *Solvent-saving sample preparation for high-sensitivity determination of MOSH and MOAH in vegetable oils*, Congress SISSG “Edible oils and fats: innovation and sustainability in production and control”.
164. Menegoz Ursol L., Conchione C., Peroni D., Carretta A., Moret S., 2023 – *A study on the impact of harvesting operations on the mineral oil contamination of olive oils*, Food Chemistry, vol. 406, p. 1–11, 135032.
165. Menegoz Ursol L., Conchione C., Srbinovska A., Moret S., 2022 – *Optimization and validation of microwave assisted saponification (MAS) followed by epoxidation for high-sensitivity determination of mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH) in extra virgin olive oil*, Food Chemistry, vol. 370, 130966.
166. Mertens B., Van Heyst A., Demaegdt H., Boonen I., Van Den Houwe K., Goscinny S., Elskens M., Van Hoeck E., 2021 – *Assessment of hazards and risks associated with dietary exposure to mineral oil for the Belgian population*, Food and Chemical Toxicology, vol. 149, 112034.
167. Mitchell A.D., 2007 – *Impact of Research with Cattle, Pigs, and Sheep on Nutritional Concepts: Body Composition and Growth*, The Journal of Nutrition, vol. 137, nr. 3, p. 711–714.
168. Monsan P., Donohue M.J.O., 2010 – *Industrial biotechnology in the food and feed sector*. In: Soetaert, W., Vandamme, E.J. (Eds.), Industrial Biotechnology. Wileyvch Verlag GmbH and Co, Weinheim, p. 351–383.
169. Monson M., Coulombe R., Reed K., 2015 – *Aflatoxicosis: Lessons from toxicity and responses to aflatoxin B1 in poultry*, Agriculture, vol. 5, p. 742–777.
170. Moret S., Barp L., Grob K., Conte L.S., 2011 – *Optimised off-line SPE-GC-FID method for the determination of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) in vegetable oils*, Food Chemistry 2011, vol. 129, p. 1898–1903.
171. Moret S., Barp L., Purcaro G., Conte L.S., 2012 – *Rapid and sensitive solid phase extraction-large volume injection-gas chromatography for the analysis of mineral oil saturated and aromatic hydrocarbons in cardboard and dried foods*, Journal of Chromatography A, vol. 1243, p. 1–5.

172. Moret S., Conchione C., Srbinovska A., Lucci P., 2019 – *Microwave-based technique for fast and reliable extraction of organic contaminants from food, with a special focus on hydrocarbon contaminants*, Foods, vol. 8, nr. 503.
173. Moret S., Popilin T., Conte L.S., Grob K., Neukom H.P., 2003 – *Occurrence of C15-C45 mineral paraffins in olives and olive oils*, Food Additives & Contaminants, vol. 20, p. 417–426.
174. Moret S., Populin T., Conte L.S., 2009 – *La contaminazione degli oli vegetali con oli minerali*, La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse, LXXXVI, p. 3–14.
175. Moret S., Scolaro M., Barp L., Purcaro G., Conte L.S., 2016 – *Microwave assisted saponification (MAS) followed by on-line liquid chromatography (LC)-gas chromatography (GC) for high-throughput and high-sensitivity determination of mineral oil in different cereal-based foodstuffs*, Food Chemistry, vol. 196, p. 50–57.
176. Mwaniki A.W., Buis Q.R., Trott D., Huber L.-A., Yang C., Kiarie E.G., 2021 – *Comparative efficacy of commercially available deoxynivalenol detoxifying feed additives on growth performance, total tract digestibility of components, and physiological responses in nursery pigs fed diets formulated with naturally contaminated corn*, Translational Animal Science, vol. 5, p. 1–13.
177. Nartea A., 2017 – *A Study on Possible Sources of Mineral Oil Contamination in Olive and Extra Virgin Olive Oil*, Master's Thesis, University of Udine, Udine, Italy.
178. Nash J.F., Gettings S.D., Diembeck W., Chudowski M., Kraus A.L., 1996 – *A toxicological review of topical exposure to white mineral oils*, Food and Chemical Toxicology, vol. 34, nr. 2, p. 213–225.
179. Nathanson J.A., 2021 – *Pollution*, Encyclopedia Britannica, available on-line at <https://www.britannica.com/science/pollution-environment>, Iunie 2021.
180. National Research Council (NRC), 2001 – *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. National Academy Press, Washington., accesat on-line, Octombrie 2020, <https://profsite.um.ac.ir/~kalidari/software/NRC/HELP/NRC%202001.pdf>.
181. Nestola M., 2022 – *Automated workflow utilizing saponification and improved epoxidation for the sensitive determination of mineral oil saturated and aromatic hydrocarbons in edible oils and fats*, Journal of Chromatography A, vol. 1682, 463523.
182. Nestola M., Schmidt T.C., 2017 – *Determination of mineral oil aromatic hydrocarbons in edible oils and fats by online liquid chromatography–gas chromatography–flame ionization detection – evaluation of automated removal strategies for biogenic olefins*, Journal of Chromatography A, vol. 1505, nr. 69–76.
183. Neumeier C.J., Mitloehner F.M., 2013 – *Cattle biotechnologies reduce environmental impact and help feed a growing planet*, Animal Frontiers, vol. 3, nr. 3, p. 36–41.
184. Niederer M., Stebler T., Grob K., 2016 – *Mineral oil and synthetic hydrocarbons in cosmetic lip products*, International Journal of Cosmetic Science, vol. 38, p. 194–200.
185. Noti A., Grob K., Biedermann M., Deiss U., Brüscheweiler B.J., 2003 – *Exposure of babies to C15-C45 mineral paraffins from human milk and breast salves*, Regulatory Toxicology and Pharmacology, vol. 38, nr. 3, p. 317–325.
186. Nygaard U.C., Vege Å., Rognum T., Grob K., Cartier C., Cravedi J.P., Alexander J., 2019 – *Toxic effects of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) and relation to accumulation in rat liver*, Food and Chemical Toxicology, vol. 123, p. 431–442.

187. Okshevsky M., 2020 – *Cows, Methane and Climate Change, Let`s talk science*, accesat on–line <https://letstalkscience.ca/educational-resources/stem-in-context/cows-methane-and-climate-change>, Decembrie 2020.
188. Pan J.J., Chen Y.F., Zheng J.G., Hu C., Li D., Zhong H.N., 2021 – *Migration of mineral oil hydrocarbons from food contact papers into food simulants and extraction from their raw materials*, Food Additives and Contaminants Part A, vol. 38, p. 870–880.
189. Pardo G., Yañez–Ruiz D., Martín–García I., Arco A., Moral R., del Prado A., 2015 – *Modelling the impact on greenhouse gas emissions of using underutilized feed resources in dairy goat systems*, Advances in Animal Biosciences, vol. 6, p. 40–42.
190. Pèrez–Camino M.C., Gòmez–Coca R.B., MoredaW., 2013 – *Update on aliphatic aldehydes in lipid foods*, New Developments in Aldehydes Research, 3rd ed., Nova Science Publishers, London, UK, vol. 3, p. 81–100.
191. Pinton P., Oswald I.P., 2014 – *Effect of deoxynivalenol and other Type B trichothecenes on the Intestine: A review*, Toxins, vol. 6, p. 1615–1643.
192. Pirow R., Blume A., Hellwig N., Herzler M., Huhse B., Hutzler C., Pfaff K., Thierse H.-J., Tralau T., Vieth B., Luch A., 2019 – *Mineral oil in food, cosmetic products, and in products regulated by other legislations*, Critical Reviews in Toxicology, vol. 49, nr. 9, p. 742–789.
193. Piskorska–Pliszczynska J., Maszewski S., Mikolajczyk S., Pajurek M., Strucinski P., Olszowy M., 2017 – *Elimination of dioxins in milk by dairy cows after the long–term intake of contaminated sugar beet pellets*, Food Additives & Contaminants: Part.A, vol. 34, nr. 5, p. 842–852.
194. Polder A., Savinova T.N., Tkachev A., Leken K.B., Odland J.O., Skaare J.U., 2010 – *Levels and patterns of Persistent Organic Pollutants (POPS) in selected food items from Northwest Russia (1998–2002) and implications for dietary exposure*, Science of the Total Environment, vol. 408, nr. 22, p. 5352–5361.
195. Pop I.M., Halga P., Avarvarei T., 2006 – *Nutriția și alimentația animalelor*, Vol. I. Editura TipoMoldova, Iași.
196. Populin T., Biedermann M., Grob K., Moret S., Conte L., 2004 – *Relative hopane content confirming the mineral origin of hydrocarbons contaminating foods and human milk*, Food Additives & Contaminants, vol. 21, p. 893–904.
197. Preston R.L., 2010 – *What`s the feed composition value of that cattle feed?*; Beef Magazine.
198. Pu J., Yuan Q., Yan H., Tian G., Chen D., He J., Zheng P., Yu J., Mao X., Huang Z., Luo J., Luo Y., Yu B., 2021 – *Effects of chronic exposure to low levels of dietary Aflatoxin B1 on growth performance, apparent total tract digestibility and intestinal health in pigs*, Animals, vol. 11, p. 336.
199. Purcaro G., Barp L., Moret S., 2016 – *Determination of hydrocarbon contamination in foods. A review*, Analytical Methods Journal, vol. 8, p. 5755–5772.
200. Purcaro G., Zoccali M., Tranchida P.Q., Barp L., Moret S., Conte L., Dugo P., Mondello L., 2013 – *Comparison of two different multidimensional liquid-gas chromatography interfaces for determination of mineral oil saturated hydrocarbons in foodstuffs*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, vol. 405, p. 1077–1084.
201. Rey–Cadilhac L., Cariou R., Ferlay A., Jondreville C., Delavaud C., Faulconnier Y., Alcouffe S., Faure P., Marchand P., Le Bizec B., Jurjanz S., Lerch S., 2020 – *Undernutrition*

combined with dietary mineral oil hastens depuration of stored dioxin and polychlorinated biphenyls in ewes. 1. Kinetics in blood, adipose tissue and faeces, PloS One, vol. 15.

202. Rezaei M., AkbariDastjerdi H., Jafari H., Farahi A., Shahabi A., Javdani H., Teimoory H., Yahyaei M., Malekirad A.A., 2014 – *Assessment of dairy products consumed on the Arakmarket as determined by heavy metal residues*, Health, vol. 6, nr. 5, p. 323–327.

203. Richter W., McLachlan M.S., 2001 – *Uptake and transfer of PCDD/Fs by cattle fed naturally contaminated feedstuffs and feed contaminated as a result of sewage sludge application. 2. Non lactating cows*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 49, p. 5857–5865.

204. Robertson G., Lebwitz M., Needham L., O'Rourke M.K., Rogan S., 2002 – *Distribution of residential organochlorine pesticide residues along Arisona/Mexico border*, Proceeding: USA, Indoor Air, vol. 63, p. 6–68.

205. Rowlinson P., 2008 – *Adapting livestock production systems to climate change-temperate zones*. In: Rowlinson P., Steele M., Nefzaoui A., eds. *Livestock and global change*. Proceedings of an international conference, Hammamet, Tunisia, 17–20 May 2008. Cambridge, UK, Cambridge University Press, p. 61-63.

206. Rundhaug J.E., Fischer S.M., 2010 – *Molecular mechanisms of mouse skin tumor promotion*, Cancers, vol. 2, nr. 2, p. 436–482.

207. Rusu L., Harja M., Suteu D., Dabija A., Favier L., 2016 – *Pesticide Residues Contamination of Milk and Dairy Products. A case study: Bacău District Area, Romania*, Journal of Environmental Protection and Ecology, vol. 17, nr. 3, p. 1229–1241.

208. Rychen G., Jurjanz S., Toussaint H., Feidt C., 2008 – *Dairy ruminant exposure to persistent organic pollutants and excretion to milk*, The Animal Consortium, vol. 2, nr. 2, p. 312–323.

209. Rye C., Wise R., Jurukovski V., DeSaix J., Choi J., Avissar Y., 2016 – *Biology, Georgia Tech Biological Sciences*, OpenStax., available on-line <https://openstax.org/books/biology/pages/34-1-digestive-systems>, Mai 2021.

210. Sajid M.W., 2015 – *Pesticides residues and aflatoxins in milk and their dissipation during processing*, National Institute of Food Science and Technology–Faculty of Food, Nutrition and Home Sciences, University of Agriculture, Faisalabad, PhD thesis.

211. Schuhmacher M., Nadal M., Domingo J.L., 2004 – *Levels of PCDD/Fs, PCBs, and PCNs in soils and vegetation in an area with chemical and petrochemical industries*, Environmental Science and Technology, vol. 38, nr. 7, p. 1960–1969.

212. Sdrigotti N., Collard M., Purcaro G., 2021 – *Evolution of hyphenated techniques for mineral oil analysis*, Journal of Separation Science, vol. 44, p. 464–482.

213. Senthilkumar K., Naveen Kumar M., 2020 – *Refining Biomass Residues for Sustainable Energy and Bioproducts – Generation of bioenergy from industrial waste using microbial fuel cell technology for the sustainable future*, Technology, Advances, Life Cycle Assessment and Economics, p. 183–193.

214. Shafy H., Mansour M.S.M., 2016 – *A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation*, Egyptian Journal of Petroleum, vol. 25, nr. 1, p. 107–123.

215. Shoda T., Toyoda K., Uneyama C., Takada K., Takahashi M., 1997 – *Lack of carcinogenicity of medium-viscosity liquid paraffin given in the diet to F344 rats*, Food and Chemical Toxicology, vol. 35, nr. 12, p. 1181–1190.

216. Singh R., 2022 – *The consequences of Pollution on Livestock and Livestock Products, Environment & Livestock*, available on-line <https://www.pashudhanpraharee.com/the-consequences-of-pollution-on-livestock-and-livestock-products/>, Martie 2023.
217. Singh R., Park S., Koo J.S., Balasubramanian B., 2020 – *Influence of various concentrations of aflatoxin B1 on in vitro rumen fermentation of a buffalo diet*, Korean Journal of Agricultural Science, vol. 47, p. 131–138.
218. Sofia D., Gioiella F., Lotrecchiano N., Giuliano A., 2020 – *Mitigation strategies for reducing air pollution*, Environmental Science and Pollution Research, vol. 27, p. 19226–19235.
219. Spack L.W., Leszczyk G., Varela J., Simian H., Gude T., Stadler R.H., 2017 – *Understanding the contamination of food with mineral oil: the need for a confirmatory analytical and procedural approach*, Food Additives and Contaminants: Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, vol. 34, p. 1052–1071.
220. Srbinovska A., Conchione C., Celaj F., Menegoz Ursol L., Moret S., 2022 – *High sensitivity determination of mineral oils and olefin oligomers in cocoa powder and related packaging: Method validation and market survey*, Food Chemistry, vol. 396, 133686, p. 1–8.
221. Srbinovska A., Conchione C., Lucci P., Moret S., 2021 – *On-line HP(LC)-GC-FID determination of hydrocarbon contaminants in fresh and packaged fish and fish products manuscript*, Journal of AOAC International, vol. 104, p. 267–273.
222. Srbinovska A., Conchione C., Menegoz Ursol L., Lucci P., Moret S., 2020- *Occurrence of n-alkanes in vegetable oils and their analytical determination*, Foods, vol. 9, 1546.
223. Srbinovska A., Gasparotto L., Conchione C., Menegoz Ursol L., Lambertini F., Suman M., Moret S., 2023 – *Mineral oil contamination in basil pesto from the Italian market: Ingredient contribution and market survey*, Journal of Food Composition and Analysis, vol. 115, 104914.
224. Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed (ScoPAFF), 2022 – Draft joint statement of the Member States regarding the presence of Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons (MOAH) in food, including food for infants and young children.
225. Stanton T.L., LeValley S., 2010 – *Feed composition for cattle and sheep*, Livestock Series, FactSheet, nr. 1, p. 1615.
226. Starek-Swiechowicz B., Budziszewska B., Starek A., 2017 – *Hexachlorobenzene as a persistent organic pollutant: Toxicity and molecular mechanism of action*, Pharmacological Reports, vol. 69, nr. 6 p. 1232 – 1239.
227. Sui H., Gao H., Chen Y., Ke R., Zhong H., Zhong Q., Liu Z., Song Y., 2020 – *Survey of mineral oil hydrocarbons in infant formula from the Chinese market*, Food Additives & Contaminants: Part A, p. 1–9.
228. Szeffel J., Kruszewski W.J., Buczek T., 2015 – *Enteral feeding and its impact on the gut immune system and intestinal mucosal barrier*, Przegląd Gastroenterologiczny, vol. 10, nr. 2, p. 71-77.
229. Tao S., Liu W.X., Li X.Q., Zhou D.X., Li X., Yang Y.F., 2009 – *Organochlorine pesticide residuals in chickens and eggs at a poultry farm in Beijing, China*, Environmental Pollution, vol. 157, nr. 2, p. 497–502.
230. Tarnow P., Hutzler C., Grabiger S., Schön K., Tralau T., Luch A., 2016 – *Estrogenic activity of mineral oil aromatic hydrocarbons used in printing inks*, PloS One, vol. 11, nr. 1, p. 1–15.

231. Tassoul M., Shaver R., Barmore J., Taysom D., Hoffman P., 2007 – *Case study: Laboratory Evaluation of Corn Grain and Silage Digestibility*, The Professional Animal Scientist, vol. 23, p. 702–708.
232. Teil M.J., Blanchard M., Chevreuil M., 2004 – *Atmospheric deposition of organochlorines (PCBs and pesticides) in northern France*, Chemosphere, vol. 55, nr. 4, p. 501–514.
233. The World Bank, 2022 – *Pollution – context, strategy, results*, available on-line at <https://www.worldbank.org/en/topic/pollution#1>, Martie 2023.
234. Tremolada P., Guazzoni N., Parolini M., Rossaro B., Bignazzi M.M., Binelli A., 2014 – *Predicting PCB concentrations in cow milk: validation of a fugacity model in high-mountain pasture conditions*, Science of the Total Environment, vol. 487, p. 471–480.
235. U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA), 2019 – *Nutrient pollution: The problem*, accesat on-line <https://www.epa.gov/nutrientpollution/problem>, Decembrie 2020.
236. U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA), 2021 – *Inventory of U.S. Greenhouse Gas emissions and Sinks: 1990–2019*, available on-line <https://www.epa.gov/ghgemissions/overview-greenhouse-gases>, Iunie 2021.
237. Ukaogo P.O., Ewuzie U., Onwuka C.V., 2020 – *Environmental pollution: causes, effects and the remedies*, Microorganisms for Sustainable Environment and Health, vol. 21, p. 419–429.
238. United Nation Environmental Programme (UNEP), 2022 – *Pollution Action Note – Data you need to know*, available on-line at <https://www.unep.org/interactive/air-pollution-note/>, Martie 2023.
239. United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA), 2011 – *Inventory of U.S. greenhouse gas emissions and sinks: 1990–2009*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, available on-line, https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/us-ghg-inventory-2011_complete_report.pdf, Octombrie 2020.
240. Van Heyst A., Goscinny S., Bel S., Vandevijvere S., Mertens B., Elskens M., Van Hoeck E., 2019 – *Dietary exposure of the Belgian population to mineral oil*, Food Additives & Contaminants: Part A, p. 1–13.
241. Van Heyst A., Vanlancker M., Vercammen J., Van den Houwe K., Mertens B., Elskens M., Van Hoeck E., 2018 – *Analysis of mineral oil in food: results of a Belgian market survey*, Food Additives & Contaminants Part A, vol. 35, p. 2062–2075.
242. Van Saun R.J., 2013 – *Determining forage quality: Understanding feed analysis, PennState Extension*, accesat on-line <https://extension.psu.edu/determining-forage-quality-understanding-feed-analysis>, Decembrie 2020.
243. Van-de-Ven B.M., Fragki S., Te Biesebeek J.D., Rietveld A., 2018 – *Mineral oil in food; a review of toxicological data and an assessment of the dietary exposure in the Netherlands*, RIVM Letter Report, 2017-0182.
244. Van-Heyst A., Goscinny S., Bel S., Vandevijvere S., Mertens B., Elskens M., Van Hoeck E., 2020 – *Dietary exposure of the Belgian population to mineral oil*, Food Additives & Contaminants Part A, vol. 37, p. 267–279.
245. Volac, 2013 – *Fat Guide*. Volac International Ltd, Hertfordshire, accesat on-line <http://www.volac.cz/pdf/product/product-61.pdf>, Decembrie 2020.

246. Vollmer A., Biedermann M., Grundböck F., Ingenhoff J.-E., Biedermann-Brem S., Altkofer W., Grob K., 2011 – *Migration of mineral oil from printed paperboard into dry foods: survey of the German market*, European Food Research and Technology, vol. 232, p. 175–182.
247. Wagner M., Oellig C., 2019 – *Screening for mineral oil saturated and aromatic hydrocarbons in paper and cardboard directly by planar solid phase extraction and by its coupling to gas chromatography*, Journal of Chromatography A, vol. 1588, nr. 48–57.
248. Wallace J.R., Sasson G., Garnsworthy P.C., Tapio I., , 2019 – *A heritable subset of the core rumen microbiome dictates dairy cow productivity and emissions*, Science Advances, vol. 5, p. 1–12.
249. Weber R., Herold C., Hollert H., Kamphues J., Blepp M., Ballschmiter K., 2018 – *Reviewing the relevance of dioxin and PCB sources for food from animal origin and the need for their inventory, control and management*, Environmental Sciences Europe, vol. 30.
250. Weber S., Schrag K., Mildau G., Kuballa T., Walch S.G., Lachenmeier D.W., 2018 – *Analytical Methods for the Determination of Mineral Oil Saturated Hydrocarbons (MOSH) and Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons (MOAH)—A Short Review*, Analytical Chemistry Insights, vol. 13.
251. Wielsoe M., Kern P., Bonefeld-Jørgensen, E., 2017 – *Serum levels of environmental pollutants is a risk factor for breast cancer in Inuit: a case control study*, Environmental Health, vol. 16, nr. 1, p. 56.
252. World Health Organization (WHO), 2010 – *Preventing disease through healthy environments – Exposure to dioxins and dioxin-like substances: a major public health concern*, accesat on-line <https://www.who.int/ipcs/features/dioxins.pdf?ua=1>, Octombrie 2020.
253. Wu Z., Satter L.D., Blohowiak A.J., Stauffacher R.H., Wilson J.H., 2001 – *Milk production, estimated phosphorus excretion, and bone characteristics of dairy cows fed different amounts of phosphorus for two or three years*, Journal of Dairy Science, vol. 84, nr. 7, p. 1738–1748.
254. Xu R., Kiarie E.G., Yiannikouris A., Sun L., Karrow N.A., 2022 – *Nutritional impact of mycotoxins in food animal production and strategies for mitigation*, Journal of Animal Science and Biotechnology, vol. 13, nr. 69, p. 1–19.
255. Yang Z., Zhu L., 2007 – *Performance of the partition-limited model on predicting ryegrass uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons*, Chemosphere, vol. 67, nr. 2, p. 402–409.
256. Zhang S., Liu L., Li B., Xie Y., Ouyang J., Wu Y., 2019 – *Concentrations of migrated mineral oil/polyolefin oligomeric saturated hydrocarbons (MOSH/POSH) in Chinese commercial milk powder products*, Food Additives & Contaminants: Part A, p. 1- 12.
257. Zhu L., Zhang H., Chen Y.F., Pan J.J., Liu A.D., Pan F., Zhang J.B., Zhong H.N., 2019 – *Risk Assessment of MOAH and MOSH in Infants and Young Children*, Biomedical and Environmental Sciences, vol. 32, nr. 2, p. 30–133.
258. Zoccali M., Salerno T.M.G., Tranchida P.Q., Mondello L., 2021 – *Use of a low-cost, lab-made Y-interface for liquid-gas chromatography coupling for the analysis of mineral oils in food samples*, Journal of Chromatography A, 1648, 462191.
259. Zurfluh M., Biedermann M., Grob K., 2014 – *Enrichment for reducing the detection limits for the analysis of mineral oil in fatty foods*, Journal of Consumer Protection and Food Safety, vol. 9, p. 61–69.

260. *** EN 16995:2017 - Foodstuffs - Vegetable oils and foodstuff on basis of vegetable oils - Determination of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) and mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH) with on-line HPLC-GC-FID analysis.
261. *** European Commission, 2020 – Communication from the Commission to the European Parliament, The Council, The European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions -Stepping up Europe`s 2030 climate ambition, Investing in a climate-neutral future for the benefit of our people, accesat on-line https://ec.europa.eu/clima/sites/clima/files/eu-climate-action/docs/impact_en.pdf, Ianuarie 2021.
262. *** Regulamentul de punere în aplicare (UE) nr. 230/2013 al Comisiei din 14 martie 2013 – privind retragerea de pe piață a anumitor aditivi furajeri.
263. *** SANTE/12682/2019. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed, available on-line at https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf
264. *** Regulamentului (CE) nr. 152/2009 al Comisiei de stabilire a metodelor de eșantionare și analiză pentru controlul oficial al furajelor.
265. *** SR EN ISO 6497:2005 Hrană pentru animale. Eșantionare.
266. *** SR EN ISO 6498:2012 Hrană pentru animale. Linii directe pentru pregătirea eșantioanelor.
267. *** SR ISO 6496:2001 Nutrețuri. Determinarea conținutului de umiditate și de alte substanțe volatile.
268. *** SR EN ISO 6540:2021 Porumb. Determinarea umidității (pentru boabe măcinate și pentru boabe întregi).
269. *** SR EN ISO 712:2010 Cereale și produse cerealiere. Determinarea umidității. Metoda de referință.
270. *** SR EN ISO 2171:2010 Cereale, leguminoase și produse derivate. Determinarea conținutului de cenușă prin calcinare.
271. *** SR EN ISO 5983-1:2006/AC:2019 Nutrețuri. Determinarea conținutului de azot și calculul conținutului de proteină brută. Partea 1: Metoda Kjeldahl.
272. *** SR ISO 6492:2001/AC:2016 Nutrețuri. Determinarea conținutului de grăsime.
273. *** SR EN ISO 6865:2002/AC:2017 Nutrețuri. Determinarea conținutului de fibră brută. Metoda cu filtrare intermediară.
274. *** STAS 6343-81 Lapte și produse lactate. Pregătirea probelor pentru analiză.