

UTJECAJ RAZINE ORGANSKOG SELENA U HRANI KOKOŠI NESILICA NA KVALITETU JAJA

INFLUENCE OF THE LEVEL OF ORGANIC SELENIUM IN FEED OF LAYING HENS ON EGG QUALITY

Zlata Kralik, Gordana Kralik, Manuela Košević, Mirela Samardžić

Izvorni znanstveni članak – Original scientific paper
Primljeno - Received: 30. kolovoz – August 2022

SAŽETAK

Jaje je animalna namirnica koja je nutritivno izbalansirana, a cjenovno je prihvatljiva da se svakodnevno koristi u domaćinstvu. Dizajniranjem smjese za nesilice moguće je jaje obogatiti različitim nutricinima. Stoga je cilj ovog rada bio proizvesti jaja obogaćena selenom, te ispitati njegov učinak na pokazatelje kvalitete i održivost svježine jaja tijekom skladištenja u trajanju od 28 dana u hladnjaku na 4 °C. U istraživanju je korišteno 120 nesilica hibrida Tetra SL. Pokus je trajao 5 tjedana. Na početku pokusa nesilice su bile u dobi od 30 tjedana. Formirane su dvije skupine P1 i P2, koje su hranjene s dvije smjese. Svaka skupina smještena je u 6 kaveza sa po 10 nesilica. Krmne smjese kojima su hranjene nesilice razlikovale su se u sadržaju organskog selena (Sel-Plex). Hrana nesilica iz skupine P1 sadržala je nižu razinu selena (0,348 mg Se/kg smjese), a nesilice skupine P2 konzumirale su hranu s višom razinom selena (0,447 mg Se/kg smjese). Na kraju pokusnog razdoblja uzorkovano je ukupno 120 jaja (P1 60 komada i P2 60 komada). Jaja su pripadala razredu L (masa jaja od 63-73 g). Promatrani efekti (hranidbeni tretmani, vrijeme skladištenja i interakcija) nisu imali utjecaja na vrijednosti indeksa oblika, masu jaja i ljuske, čvrstoću i debljinu ljuske ($P > 0,05$). Vrijeme skladištenja imalo je utjecaj na masu žumanjka ($P < 0,001$) i masu bjelanjka ($P = 0,010$). Razina selena u hrani i vrijeme skladištenja utjecali su na porast pH vrijednosti u žumanjcima i bjelanjcima ($P < 0,001$). Vrijeme skladištenja jaja statistički je značajno utjecalo na smanjenje visine bjelanjka (mm) i Hough jedinica (HJ) ($P < 0,001$), dok su na intenzitet boje utjecali vrijeme skladištenja i interakcija ($P < 0,05$). Oksidacija lipida u žumanjcima jaja ispitivanih skupina bila je ujednačena, nisu utvrđene statistički značajne razlike u dobivenim vrijednostima ($P > 0,05$). Razina Se u krmnim smjesama za nesilice značajno je utjecala na njegov sadržaj u bjelanjcima i žumanjcima jaja. Kod bjelanjka sadržaj selena se povećao sa 107,86 na 162,48 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (P1 u odnosu na P2; $P < 0,001$) i u žumanjcima sa 644,11 na 748,05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (P1 u odnosu na P2; $P = 0,032$). Istraživanjem je utvrđena mogućnost povećanja sadržaja selena u jajima korištenjem organskog oblika selena u krmnoj smjesi za nesilice. Također je uočeno da viša razina selena u hrani utječe na veće odlaganje selena u jestivom dijelu jaja, te pozitivno djeluje na pokazatelje kvalitete i svježine jaja.

Ključne riječi: selen, jaja, kvaliteta, vrijeme skladištenja, oksidacija lipida

Prof. dr. sc. Zlata Kralik, e-mail: zlata.kralik@fazos.hr, orcid.org/0000-0001-9056-9564, Doc. dr. sc. Manuela Košević, e-mail: manuela.kosevic@fazos.hr, orcid.org/0000-0002-5760-621X, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska, Znanstveni centar izvrsnosti za personaliziranu brigu o zdravlju, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Trg sv. Trojstva 3, 31000 Osijek, Hrvatska; Prof. dr. sc. Gordana Kralik, e-mail: gkralik@fazos.hr, orcid.org/0000-0003-1603-3440, Znanstveni centar izvrsnosti za personaliziranu brigu o zdravlju, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Trg sv. Trojstva 3, 31000 Osijek, Hrvatska, Nutricin j.d.o.o., Đ. Đakovića 6, 31326 Darda, Hrvatska, Doc. dr.sc. Mirela Samardžić, orcid.org/0000-0003-4300-6499, Znanstveni centar izvrsnosti za personaliziranu brigu o zdravlju, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Trg sv. Trojstva 3, 31000 Osijek, Hrvatska, Odjel za kemiju, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Cara Hadrijana 8a, 31000 Osijek, Hrvatska

UVOD

Selen je mikroelement koji sudjeluje u metabolizmu aminokiselina, hormona i antioksidansa (Navarro-Alarcon i López-Martines, 2000.). Sastavni je dio glutation peroksidaze (GSH-Px), enzima koji štiti stanice od oksidativnog razaranja (Heindl i sur., 2010.; Skřivan i sur., 2010.). Učinkovitost transporta Se u tijelu peradi ovisi o izvornom obliku, koncentraciji, starosti životinje i drugim čimbenicima. Arpášová i sur. (2009.) zaključili su da je organski oblik selena učinkovitiji u obogaćivanju jaja u odnosu na anorganski. Selen se resorbira u tankom crijevu, a učinkovitost apsorpcije ovisi o njegovom izvoru. Surai i Kochish (2019.) u svom istraživanju navode redosljed apsorpcije selena kako slijedi: SeMet > Selenat > Selenit. Osim što u organizmu kokoši ima važnu ulogu u različitim metaboličkim procesima, selen je važan za očuvanje kvalitete i svježine jaja. Tijekom skladištenja jaja kroz pore na ljusci odvija se izmjena plinova (O_2 i CO_2), dolazi do razgradnje bjelančevina, stvara se amonijak i povećava se pH bjelanjaka i žumanjka (Fernandes i sur., 2008.). Također događaju se i promjene u žumanjku, višestruko nezasićene masne kiseline oksidiraju (Pappas i sur., 2005.), membrana žumanjka gubi elastičnost i žumanjak postaje rjeđi čime se smanjuje njegova visina. Osim visine žumanjka smanjuje se i visina bjelanjaka, a samim tim i HJ (Kirunda i McKee, 2000.). Bjelanjak jajeta se fragmentira, smanjuje mu se visina, što utječe na vrijednosti indeksa bjelanjaka (Wang i sur., 2010.). Selen je esencijalni element za životinje i ljude, ali nije za biljke. Nedostatak Se u tlima rezultira njegovim nedostatkom u prehrambenom lancu, prvenstveno u hrani biljnog podrijetla (Lončarić i sur., 2018.). Na raspoloživost selena iz tla za biljku utjecaj ima vrsta tla, pH vrijednost, kao i sadržaj organske tvari u tlu (Popijač i Prpić-Majić, 2002.). Selen se iz tla u biljku apsorbira u dva anorganska oblika (selenit SeO_3^{2-} i selenat SeO_4^{2-}). Za biljke su značajniji selenati, jer imaju veću raspoloživost, koja proizlazi iz činjenice da su manje vezani za čestice tla te se lakše ispiru, dok se seleniti više vežu za čestice tla, osobito za okside aluminija i željeza. U samoj biljci nakon resorpcije i akumuliranja selena iz tla u obliku selenita ili selenata, dolazi do redukcije selenata u selenit. Selenit se zatim reducira u selenid, koji prelazi u organski oblik Sel-Cys i Sel-Met. Kod životinja se nakon konzumacije krmne smjese, selen ugradi u različite tkivne proteine, te se stvara njegova rezerva. Pohranjeni selen

u organizmu je u neaktivnom stanju da bi u slučaju oksidativnog stresa ili prilikom nedovoljne opskrbe selenom iz hrane, prešao u aktivno stanje. Nedostatak selena u prehrani negativno djeluje na zdravlje ljudi, utječe na pojavu različitih bolesti prvenstveno kardiovaskularnih (Nève, 1996.) i imunskih (Broome i sur., 2004.). Postoje mnoga mjesta u svijetu gdje je tlo suficitarno sa selenom, kao na primjer Kina, sjeveroistočna Azija i središnja Afrika (Holben, 1999., Hefnawy i Tórtora-Pérez 2010.). Lončarić i sur. (2018.) navode da su tla u području istočne Hrvatske manjkava sa selenom (ima ga $<500 \mu g/kg$). S obzirom na navode prethodnih autora o deficitu selena u tlu RH, proizvodi se hrana za životinje s malo selena. Stoga je nužno u krmne smjese dodati selen. Kako je organski selen bolje resorpcije u životinjskom organizmu, u gotove smjese preporuča se nadopuna upravo nekim organskim oblikom. Ovaj navod u svom istraživanju potvrđuju Asadi i sur. (2017.) koji su izvijestili da organski Se u hrani kokoši ima bolji učinak na odlaganje Se u jajetu i poboljšava njegovu kvalitetu u usporedbi s drugim izvorima Se. Ovo istraživanje je imalo za cilj obogatiti jaja organskim izvorom selena, te ispitati učinak Se na pokazatelje kvalitete i održivosti svježine jaja tijekom skladištenja u hladnjaku na $4^\circ C$.

MATERIJAL I METODE

U istraživanju je sudjelovalo 120 nesilica Tetra SL hibrida. Formirane su dvije skupine P1 i P2 koje su se razlikovale po količini selena u krmnoj smjesi. Nesilice iz skupine P1 hranjene su krmnom smjesom s nižom razinom selena u hrani, a P2 skupina s krmnom smjesom s višom razinom selena u hrani. U smjesama je korišten organski selen Sel-Plex® čiji je proizvođač Alltech. Nakon pripreme krmnih smjesa a prije početka hranidbe nesilica, obavljena je kemijska analiza sadržaja selena, te je utvrđeno da je u P1 smjesi bilo $0,348 \text{ mg Se/kg}$ a u P2 $0,447 \text{ mg Se/kg}$. Osnovni sastav krmne smjese prikazan je u tablici 1. Svaka grupa imala je 60 kokoši podijeljenih u 6 ponavljanja. Hranidba nesilica trajala je pet tjedana. Hranjenje i napajanje nesilica bilo je automatsko.

Obje skupine nesilica bile su smještene u obojačenim kavezima u istom peradarniku, u istim mikroklimatskim uvjetima. Na kraju pokusa analizirani su pokazatelji kvalitete svježih i 28. dana skladištenih jaja u hladnjaku na $4^\circ C$. Kvaliteta jaja određena

je na ukupno 80 jaja, odnosno analizirano je 40 svježih jaja (1. dan nakon sakupljanja, 20 po skupini), a preostalih 40 nakon 28 dana hlađenja na 4 °C (20 po skupini). Jaja i njihovi osnovni dijelovi vagani su na digitalnoj vagi PB 1502-S (Mettler Toledo, BBK 422-6 DXS). Duljina i širina jaja mjerena je pomičnom mjerkom s rasponom mjerenja 0-30 mm/0-12" (Insize, SAD). Indeks oblika jaja izračunat je prema sljedećoj jednadžbi: indeks oblika jaja (%) = širina jaja/duljina jaja*100. Čvrstoća ljuske jaja mjerena je automatskim uređajem Eggshell Force Gauge Model-II (Robotmation Co., LTD, Japan). Debljina ljuske jajeta mjerena je elektroničkim mikrometrom s preciznošću od 0,001 mm na sredini ljuske (Insize, SAD). Boja žumanjka, Houghove jedinice (HJ) i visina bjelanjka određeni su pomoću automatskog uređaja Egg Multi-Tester EMT-5200 (Robotmation Co., LTD, Japan). Vrijednosti pH bjelanjaka i žumanjka izmjerene su pH metrom MP 120 (Mettler Toledo, model SevenEasy). Oksidacija lipida u žumanjku određena je na svježim jajima i jajima čuvanim 28 dana u hladnjaku na 4 °C. Oksidacija lipida utvrđena je na ukupno 20 jaja (10 svježih i 10 čuvanih), odnosno po skupini je analizirano 5 svježih i 5 čuvanih jaja. Uzorci za analizu pripremljeni su na sljedeći način: 4 g žumanjka odvaže se u epruvetu i doda se 12 ml 10 %-tne trikloroctene kiseline, smjesa se homoge-

nizira i centrifugira 10 minuta na 10000 rpm i 4 °C. Nakon centrifugiranja otpipetira se 2.5 ml supernatanta kojemu se doda 1,5 ml otopine tiobarbiturne kiseline pH 2.5, epruvete se zatvore i urone u vodenu kupelj na 90 °C 30 minuta. Nakon hlađenja doda se 1 ml destilirane vode i smjesa centrifugira 5 minuta na 6000 rpm, 4 °C. Sadržaj obojenog produkta koji nastaje reakcijom produkata lipidne peroksidacije s tiobarbiturnom kiselinom mjeri se spektrofotometrijski na 534 nm. Dobivene vrijednosti uspoređene su sa standardnom krivuljom priređenom pomoću standarda malondialdehid tetrabutilamonijeve soli (Sigma-Aldrich, Švicarska), a iskazane u µg MDA/g žumanjka. Sadržaj selena u jajima određen je na ukupno 20 jaja, odnosno 10 jaja po skupini. Selen je analiziran zasebno u žumanjku i bjelanjku jajeta. Laboratorijska oprema i stakleno posuđe korišteno za analizu uronjeni su u 10 % otopinu HNO₃ 24 sata. Analizirani su uzorci težine 1 g. Svaki uzorak je nakon vaganja prebačen u teflonsku kivetu za razaranje, te je dodano 8 mL HNO₃ i 4 mL H₂O₂. Nakon 15 minuta, kivete su zatvorene i zagrijane u mikrovalnoj pećnici (CEM, model Mars 5). Nakon digestije od 25 minuta, sadržaj kivete je prebačen u tikvicu od 50 mL, a volumen tikvice je dopunjen destiliranom vodom. Zatim je 20 mL uzorka iz tikvice prebačeno u drugu tikvicu od 50 mL te je dodano 20 mL 36 % HCl.

Tablica 1. Sastav i kemijska analiza osnovne krmne smjese

Table 1 Composition and chemical analysis of basic diet

Sastojci / Ingredients	%	Kemijska analiza / Chemical analysis**	%
Kukuruz / Corn	48,47	Vlaga / Moisture	9,30
Sojina sačma / Soybean meal	22,33	Sirovi proteini / Crude protein	16,63
Tostirana soja / Toasted soybean	3,00	Sirova mast / Crude fat	7,30
Suncokretova sačma / Sunflower meal	5,00	Sirova vlaknina / Crude fiber	4,00
Lucerna / Alfalfa	1,67	Pepeo / Ash	16,54
Granule kalcija / Calcium granules	10,33		
Monokalcij fosfat / Monocalcium phosphate	1,33		
Kvasac / Yeast	0,50		
Sol / Salt	0,33		
Zakiseljivač / Acidifier	0,33		
Minerali / Minerals Nanofeed	0,33		
Metionin / Methionine	0,15		
Premiks / Premix*	1,20		
Sojino ulje / Soybean oil	5,00		
Ukupno / Total	100,00	ME, MJ/kg	11,60

*Premiks (1 kg) sadrži: vitamin A 834000 IU, vitamin D3 208500 IU, vitamin E3 2085 mg, vitamin K3 167 mg, vitamin B1 150 mg, vitamin B2 374 mg, vitamin B6 200 mg, vitamin B12 918 µg, vitamin C 1860 mg, niacin 2085 mg, pantotenska kiselina 584 mg, folna kiselina 75 mg, biotin 7 mg, kolin klorid 33600 mg, željezo 2520 mg, jod 76 mg, bakar 425 mg, mangan 5640 mg, cink 5175 mg, kantaksantin 300 mg, selen 0,30 mg (P1 skupina) i 0,45 mg (P2 skupina)
**Referentne metode primijenjene za kemijsku analizu hrane za životinje: vlaga HRN ISO 6496; pepeo HRN EN ISO 5984; sirove bjelanjčevine HRN ISO 5983-2; masti HRN; sirova vlaknina HRN EN ISO 6865, modificirano (RH standardi, 2001.; 2004.; 2010.).

Pripremljeni uzorci stavljeni su u sušilicu jedan sat na 90°C. Nakon sušenja, volumen tikvice je dopunjen destiliranom vodom. Kada su uzorci dosegli sobnu temperaturu, sadržaj selena je očitao na spektrometru (Perkin Elmer Optima 2100 DV0), prema Davidovskom (1993.). Rezultati istraživanja obrađeni su pomoću statističkog programa TIBCO Statistica Version 14.0.0. Od statističkih parametara prikazana je aritmetička sredina (\bar{x}) i standardna devijacija (sd). Ispitivanje značajnosti razlika između i unutar skupina utvrđeno je GLM postupkom multifaktorskom (ANOVA 2x2) analizom varijance. Izračunata vrijednost F uspoređena je s kritičnom teoretskom vrijednošću F na razini značajnosti od 5%. Značajnost razlika između srednjih vrijednosti testirana je Fisherovim LSD testom.

REZULTATI I RASPRAVA

Na tablici 2. prikazani su rezultati analize jaja ispitivanih skupina. Iz rezultata je uočeno da razina selena u hrani nema utjecaja na indeks oblika, masu

jaja, i masu osnovnih dijelova u jajima, te čvrstoću i debljinu ljuske. Liu i sur. (2020.) također navode da razina selena u hrani ne utječe na masu žumanjka ($P > 0,05$). Iako razlike u masi nisu značajne uočeno je da su svježija jaja P2 skupine teža u odnosu na skupinu P1. Pretpostavljamo da bi razina selena u hrani mogla djelovati na povećanje mase jaja. Takav navod u svom istraživanju ističu Arpášová i sur. (2012.). Navedeni autori zaključuju da je viša razina organskog selena u hrani za kokoši (0,4 mg/kg suhe tvari) značajno utjecala na povećanje mase jaja u usporedbi s kontrolnom skupinom koja je imala nisku razinu selena u hrani (0,1 mg/kg suhe tvari).

Vrijemeskladištenjajajana temperaturi hladnjaka od 4 °C, značajno je utjecalo na masu bjelanjka i žumanjka ($P < 0,05$). Masa bjelanjka se smanjivanja kod skladištenih jaja u odnosu na svježija jaja. Kod P2 skupine ovo smanjenje je bilo statistički značajno, dok kod P1 skupine značajnost nije utvrđena. Masa žumanjka se povećala kod skladištenih jaja u odnosu na svježija. Povećanje mase žumanjka bilo je izraženije kod jaja P1 skupine gdje je razlika u

Tablica 2. Utjecaj hranidbenih tretmana i vremena skladištenja na pokazatelje kvalitete jaja ($\bar{x} \pm sd$)

Table 2 Influence of feeding treatment and the storage time on egg quality indicators ($\bar{x} \pm sd$)

Skupina Group	Vrijeme skladištenja Storage time	Indeks oblika Sharpe index (%)	Masa jaja Egg weight (g)	Masa ljuske Shell weight (g)	Masa žumanjka Yolk weight (g)	Masa bjelanjka Albumen weight (g)	Čvrstoća ljuske Eggshell strength kg/cm ²	Debljina ljuske Eggshell thickness mm
P1	1 dan 1 day	76,13±2,30	63,79±5,34	8,28±1,03	16,83±1,10 ^b	38,67±4,44 ^a	2,86±0,57	0,421±0,02
	28 dan 28 days	76,17±4,79	63,53±4,17	8,27±0,75	18,17±1,74 ^a	37,08±3,86 ^{ab}	2,79±0,82	0,430±0,02
P2	1 dan 1 day	76,23±3,01	64,98±4,96	8,61±0,68	17,17±1,87 ^{ab}	39,19±3,80 ^a	3,08±0,60	0,430±0,02
	28 dan 28 days	75,36±1,76	62,12±4,76	7,94±0,73	18,14±1,45 ^a	36,04±3,88 ^b	3,13±0,91	0,426±0,01
Efekt / Effects								
Hranidbeni tretman Feeding treatment		0,620	0,917	0,985	0,671	0,771	0,130	0,585
Vrijeme skladištenja Storage time		0,564	0,153	0,062	<0,001	0,010	0,950	0,637
Interakcija Interaction		0,523	0,233	0,072	0,266	0,386	0,732	0,230

P1=niža razina organskog selena - lower level of organic selenium; P2=viša razina organskog selena - higher level of organic selenium; \bar{x} =srednja vrijednost - mean; sd=standardna devijacija - standard deviation;

^{ab} eksponenti iznad brojeva u stupcima označavaju razliku na razini $P < 0,05$ - ^{ab} the exponents above the numbers in the columns indicate the difference at the level of $P < 0,05$

masi žumanjka bila statistički značajna. Na ostale pokazatelje kvalitete ovaj efekt nije imao utjecaja ($P > 0,05$). Jin i sur. (2011.) navode da jaje gubi na masi (1,74-3,67 %), ovisno o vremenu i temperaturi skladištenja. Naši rezultati također ukazuju da se skladištenjem jaja smanjuje masa jaja, no kod nas taj gubitak nije statistički značajan ($P > 0,05$). Gubitak mase jaja povezan je s gubitkom vode, ugljičnog dioksida, amonijaka i hidrogen sulfida koji nastaju pri razgradnji proteina i masti, a posljedica su enzimatskih procesa (Alsobayel i Albadry, 2011.; Jin i sur., 2011.). Dinamika navedenih procesa ovisi o vremenu skladištenja jaja, ali veliki utjecaj na navedene procese ima i temperatura skladištenja. U našem istraživanju temperatura skladištenja jaja bila je ista (4 °C) tako da je na promjene u pokazateljima kvalitete i svježine jaja utjecalo isključivo vrijeme skladištenja. Stoga su i vrijednosti pokazatelja slabije opadale (masa jaja i osnovnih dijelova u jajima, visina bjelanjka, HJ, boja žumanjka) ili se povećavale (boja žumanjka, pH bjelanjka i žumanjka).

Na tablici 3. prikazani su rezultati utjecaja hranidbenog tretmana i vremena skladištenja jaja na pokazatelje njihove svježine. Iz rezultata je vidljivo

da vrijeme skladištenja statistički značajno utječe na visinu bjelanjka, boju žumanjka, HJ, pH bjelanjka i žumanjka. Visina bjelanjka se značajno smanjuje tijekom skladištenja jaja, tako u skupini P1 vrijednosti opadaju od 6,01 mm na 4,56 mm, a u skupini P2 od 6,44 mm na 4,64 mm. Boja žumanjka je intenzivnija kod svježih jaja, dok se stajanjem u hladnjaku boja smanjuje, i to značajno kod P1 skupine u odnosu na skupinu P2.

Svojstva bjelanjka mijenjaju se tijekom skladištenja jaja jer se razara kompleks lizozom-ovomucin, što dovodi do redukcije viskoziteta bjelanjka i smanjenja visine. Istovremeno se smanjuju HJ vrijednosti koje trebaju biti 80 i više kod svježih jaja ekstra kvalitete (Lomakina i Mikova, 2006.; Arpašová i sur., 2012.). Mikova i Davidek (2000.) navode da su jaja s 40-60 HJ granične kvalitete, a ispod 40 HJ nisu za ljudsku uporabu. Kako se skladištenjem jaja smanjuje masa jaja i visina bjelanjka, smanjuju se i vrijednosti HJ. Veće opadanje vrijednosti HJ uočeno je kod P2 skupine u odnosu na skupinu P1. Pretpostavljamo da je razlog tome manja masa skladištenih jaja u P2 skupini, jer je visina bjelanjka bila veća što znači da su procesi razgradnje bjelanjčevina u

Tablica 3. Utjecaj hranidbenih tretmana i vremena skladištenja na pokazatelje svježine jaja ($\bar{x} \pm sd$)

Table 3 Influence of feeding treatment and the storage time on egg freshness indicators ($\bar{x} \pm sd$)

Skupina Group	Vrijeme skladištenja Storage time	Visina bjelanjka Albumen height (mm)	Boja žumanjka Yolk colour	HJ / HU	pH bjelanjka Albumen pH	pH žumanjka Yolk pH
P1	1 dan / 1 day	6,01 ± 1,45 ^a	11.85 ± 0.67 ^a	74.79 ± 9.71 ^a	8.51 ± 0.11 ^d	5.81 ± 0.09 ^c
	28 dana 28 days	4,56 ± 0,76 ^b	11.05 ± 0.60 ^b	61.59 ± 7.91 ^b	8.80 ± 0.09 ^b	6.18 ± 0.12 ^a
P2	1 dan 1 day	6,44 ± 0,78 ^a	11.80 ± 0.52 ^a	78.05 ± 5.14 ^a	8.64 ± 0.11 ^c	5.73 ± 0.04 ^d
	28 dana 28 days	4,64 ± 0,67 ^b	11.55 ± 0.51 ^a	62.07 ± 6.71 ^b	8.93 ± 0.04 ^a	6.09 ± 0.02 ^d
Efekt / Effects						
Hranidbeni tretman Feeding treatment		0,243	0.087	0.273	<0,001	<0,001
Vrijeme skladištenja Storage time		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Interakcija Interaction		0,408	0.037	0.413	0.846	0.699

P1=niža razina organskog selena - lower level of organic selenium; P2=viša razina organskog selena - higher level of organic selenium; \bar{x} =srednja vrijednost - mean; sd=standardna devijacija - standard deviation; ^{a,b,c,d}eksponenti iznad brojeva u stupcima označavaju razliku na razini $P < 0,05$ - ^{a,b,c,d} the exponents above the numbers in the columns indicate the difference at the level of $P < 0,05$

bjelanjku bili manji radi bolje opskrbe jaja selenom. Gajčević i sur. (2009.) u svom istraživanju također su utvrdili opadanje HJ tijekom skladištenja jaja na 4 °C. U našem istraživanju hranidbeni tretman nije imao utjecaja na vrijednosti HJ ($P=0,273$), međutim treba istaknuti da je P2 skupina imala veće vrijednosti HJ kod svježih jaja u odnosu na skupinu P1 (78,05 odnosno 74,79). Isto je ustanovljeno i za skladištena jaja gdje su HJ u P2 skupini iznosile 62,07 a u P1 61,59. Da razina selena u hrani utječe na vrijednosti HJ u svježim jajima navode Arpašová i sur. (2012.). U njihovom istraživanju se navodi da se s povećanjem organskog selena u hrani za kokoši s 0,1 mg/kg suhe tvari na 0,4 mg/kg suhe tvari, u jajima značajno povećavaju vrijednosti HJ s 84,52 na 87,21 ($P=0,018$). U našem istraživanju intenzivniju boju žumanjaka imala su svježija jaja obje ispitivane skupine ($P1=11,85$ i $P2=11,80$) u odnosu na skladištena jaja ($P1=11,05$ i $P2=11,55$). Boja žumanjka u velikoj mjeri ovisi o hranidbi kokoši nesilica (Ren

i sur., 2010.), dok stabilnost pigmenata u žumanjku ovisi o oksidaciji lipida sadržanih u žumanjku jajeta (Seemann, 2000.; Mohiti-Asli i sur., 2010.). S obzirom da su vrijednosti oksidacije lipida u žumanjcima jaja u našem istraživanju kod obje ispitivane skupine u oba termina mjerenja (1. dan i 28. dan) ujednačene, dodatak više razine selena u hranu P2 nesilica u interakciji s vremenom skladištenja jaja, mogao je utjecati na stabilnost promjena u žumanjku kao i na sadržaj pigmenta a istovremeno i na intenzitet boje žumanjka ($P=0,037$).

S povećanjem sadržaja selena u hrani kokoši smanjuje se pH vrijednost svježih ($P1=5,81$ i $P2=5,73$) i skladištenih ($P1=6,18$ i $P2=6,09$) žumanjaka. Na vrijednosti pH bjelanjka hranidbeni tretman i vrijeme skladištenja jaja imaju značajan utjecaj ($P<0,05$). Povećanjem razine selena povećava se pH bjelanjka, veće vrijednosti pH bjelanjka su zabilježene kod skladištenih jaja ($P<0,05$).

Tablica 4. Pokazatelji oksidacije lipida u žumanjcima svježih i skladištenih jaja ($\bar{x}\pm sd$)

Table 4 Indicators of lipid oxidation in yolks of fresh and stored eggs ($\bar{x}\pm sd$)

Pokazatelj Indicator	Vrijeme skladištenja Storage time	N	μg MDA/g
P1	1 dan / 1 day	5	0,906 \pm 0,17
	28 dan / 28 days	5	0,991 \pm 0,22
P2	1 dan / 1 day	5	0,907 \pm 0,36
	28 dan / 28 days	5	0,983 \pm 0,04
Efekt / Effects			
Hranidbeni tretman / Feeding treatment			0,394
Vrijeme skladištenja / Storage time			0,891
Interakcija / Interaction			0,396

P1=niža razina organskog selena - lower level of organic selenium; P2=viša razina organskog selena - higher level of organic selenium; \bar{x} =srednja vrijednost - mean; sd=standardna devijacija - standard deviation; n.s. $P>0,05$

Tablica 5. Sadržaj selena u jestivom dijelu svježih jaja ($\mu g/kg$)

Table 5 Selenium content in the edible part of a fresh egg ($\mu g/kg$)

Dio jaja / Part of egg	N	P1	P2	P vrijednost / P value
Bjelanjak / Albumen	10	107,86 \pm 11,47 ^b	162,48 \pm 9,01 ^a	$P<0,001$
Žumanjak / Yolk	10	644,11 \pm 81,20 ^b	748,05 \pm 37,86 ^a	$P<0,032$

P1=niža razina organskog selena - lower level of organic selenium; P2=viša razina organskog selena - higher level of organic selenium; \bar{x} =srednja vrijednost - mean; sd=standardna devijacija - standard deviation;

^{a,b} eksponenti iznad brojeva u stupcima označavaju razliku na razini $P<0,05$ - ^{a,b} the exponents above the numbers in the columns indicate the difference at the level of $P<0,05$

Na tablici 4 prikazani su rezultati oksidacije lipida (TBARS) u žumanjcima svježih i skladištenih jaja. Vrijednosti oksidacije lipida prikazane su $\mu\text{g MDA/g}$ žumanjka. Utvrđene vrijednosti bile su ujednačene ($P > 0,05$). Veće vrijednosti MDA ($\mu\text{g/g}$ žumanjka) pokazuju intenzivniju oksidaciju u žumanjcima i gubitak kvalitete. Gajčević i sur. (2009.) izvijestili su da razina organskog selena u hrani kokoši imaju značajan utjecaj na intenzitet oksidacije lipida. Autori napominju da je u skupini kokoši koje su hranjene višom razinom organskog selena TBARS vrijednost u žumanjcima jaja 28. dana bila je značajno niža u usporedbi s jajima koja potječu iz skupine kokoši koje su hranjene nižom razinom organskog selena u smjesi za nesilice ($P < 0,05$). Njihovi rezultati nisu u skladu s rezultatima ovog istraživanja.

Na Tablici 5. prikazani su rezultati analize sadržaja Se ($\mu\text{g/kg}$) bjelanjka i žumanjka. Pri dodatku niže razine organskog Se kod skupine P1 proizvedena jaja sadržavala su $107,86 \mu\text{g Se/kg}$ bjelanjka odnosno $644,11 \mu\text{g Se/kg}$ žumanjka. Dodatak više razine organskog Se u hranu nesilica skupine P2, povećao se sadržaj Se u bjelanjku na $162,48 \mu\text{g/kg}$ odnosno u žumanjku na $748,05 \mu\text{g/kg}$. Razlike između skupina u sadržaju Se u bjelanjku i žumanjku bile su statistički značajne ($P < 0,001$ i $P < 0,032$). Iz podataka je vidljivo da je sadržaj Se veći u žumanjku nego u bjelanjku. Liu i sur. (2020.) istraživali su utjecaj dodatka različitih razina (0,3 i 0,5 mg/kg smjese) i izvora selena (anorganski -SS i organski -SY) na kvalitetu jaja i koncentraciju Se u jajima. S obzirom da je efikasnije djelovanje utvrđeno kod viših razina organskog oblika Se, navedeni autori preporučuju dodatak organskog selena od 0,5 mg/kg hrane za proizvodnju jaja obogaćenih ovim mikroelementom.

U istraživanju utjecaja dodatka organskog selena u hrani nesilica (0,2 ppm i 0,4 ppm) na svježinu i sadržaj selena u konzumnim jajima Gajčević i sur. (2009.) navode da razina selena u hrani kokoši statistički značajno utječe na njegov sadržaj u bjelanjcima i žumanjcima jaja ($P < 0,05$). Sadržaj selena u žumanjcima jaja povećava se s 584 ng/g (P1) na $779,5 \text{ ng/g}$ (P2), dok se kod bjelanjka vrijednosti povećava s $231,5 \text{ ng/g}$ (P1) na $345,0 \text{ ng/g}$ (P2). Njihovi rezultati sukladni su našima. Paton i sur. (2002.) također su utvrdili da se povećanjem razine selena u hrani za kokoši s $0,2 \text{ mg/kg}$ na $0,3 \text{ mg/kg}$ sadržaj selena u žumanjcima jaja povećava od 420 ng/g na 480 ng/g , a u bjelanjcima od 130 ng/g na 150 ng/g . Njihovi rezultati sukladni su našima.

ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata istraživanja može se zaključiti da su razine dodanog Se u smjese za kokoši nesilice utjecale na povećanje pH vrijednost bjelanjka i žumanjka kod skladištenih jaja u odnosu na svježa jaja. Hranidbeni tretmani, odnosno razina selena u hrani, utjecali su na sadržaj selena u žumanjcima i bjelanjcima jaja ($P < 0,05$). Sadržaj selena bio je statistički značajno veći u jajima P2 tretmana u odnosu na tretman P1. Vrijeme skladištenja jaja imalo je utjecaj na masu žumanjka i bjelanjka, visinu bjelanjka, HJ, boju žumanjka, te pH bjelanjka i žumanjka ($P < 0,05$). Interakcija ispitivana dva efekta utjecala je na povećanje boje žumanjka (P1 tretman) u skladištenim jajima u odnosu na svježa jaja ($P < 0,05$). Zaključno možemo istaknuti da dodatak organskog selena u hranu kokoši nesilica (viša razina), povećava njegov sadržaj u jestivom dijelu jaja, te pozitivno djeluje na neke pokazatelje kvalitete i svježine jaja. Jaja s višim sadržajem selena dobar su izvor ovog mikroelementa u ljudskoj prehrani.

ZAHVALA: Ovo istraživanje financirano je sredstvima Europskih strukturnih i investicijskih fondova, dodijeljenim hrvatskom nacionalnom Znanstvenom centru izvrsnosti za personaliziranu brigu o zdravlju (KK.01.1.1.01.0010).

LITERATURA

1. Alsobayel, A. A., Albadry, M. A. (2011.): Effect of storage period and strain of layer on internal and external quality characteristics of eggs marketed in Riyadh area. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10(1): 41-45.
2. Arpášová, H., Haščík, P., Kačániová, M., Gálik, B., Gollan, J., Mellen, M. (2012.): The effect of various forms and doses of selenium supplementation of the hens diet on selected qualitative parameters and freshness of table eggs. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 45(1): 11-16.
3. Arpášová, H., Mellen, M., Kačániová, M., Haščík, P., Petrovič, V., Čobanová, K., Leng, L. (2009.): Effects of dietary supplementation of sodium selenite and selenized yeast on selected qualitative parameters of laying hens eggs. *Slovak Journal of Animal Science*, 42(1): 27-33.

4. Asadi, F., Shariatmadari F., Karimitorshizi M.A., Mohiti-Asli M. (2017.): Comparison of Different Selenium Sources and Vitamin E in Laying Hen Diet and Their Influences on Egg Selenium and Cholesterol Content, Quality and Oxidative Stability. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.*, 7: 83–89.
5. Broome, C.S., McArdle, F., Kyle, J.A., Andrews, F., Lowe, N.M., Hart, C.A., Arthur, J.R., Jackson, M.J. (2004.): An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. *Am. J. Clin. Nutr.* 80(1): 154–162.
6. Croatian Standards, Determination of Ash: HRN EN ISO 5984. Croatian Standards Institute, Zagreb, 2004.
7. Croatian Standards, Determination of Crude Fiber Content: HRN EN ISO 6865 Mod., Determination of Moisture, HRN ISO 6496, Determination of Fat Content: HRN ISO 6492, Croatian Standards Institute, Zagreb, 2001.
8. Croatian Standards, Determination of Nitrogen Content and Calculation of Crude Protein Amount, HRN ISO 5983-2. Croatian Standards Institute, Zagreb, 2010.
9. Davidowski, L. (1993.): ICP application study number 67. São Paulo: Perkin Elmer.
10. Fernandes, J. I. M., Murakami, A. E., Sakamoto, M. I., Souza, L. M. G., Malaguido, A., Martins, E. N. (2008.): Effects of organic mineral dietary supplementation on production performance and egg quality of white layers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 10(1): 59-65.
11. Gajčević, Z., Kralik, G., Has-Schon E., Pavić V. (2009.): Effects of organic selenium supplemented to layer diet on table egg freshness and selenium content. *Italian Journal of Animal Science*, 8: 189–199.
12. Hefnawy A.E.G., Tórtora-Pérez J.L. (2010.): The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Rumin. Res.*, 89: 185–192.
13. Heindl, J., Ledvinka, Z., Tumova, E., Zita, L. (2010.): The importance, utilization and sources of selenium for poultry: a review. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 41(1): 55-64.
14. Holben, D. H. (1999.): The diverse role of selenium within seleno-proteins: A review. *J. Am. Diet. Assoc.*, 99: 836–843.
15. Jin, Y. H., Lee, K. T., Lee, W. I., Han, Y. K. (2011.): Effects of storage temperature and time on the quality of eggs from laying hens at peak production. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24 (2): 279-284.
16. Kirunda, D. F. K., McKee, S. R. (2000.): Relating quality characteristics of aged eggs and fresh eggs to telline membrane strength as determined by a texture analyzer. *Poultry Science*, 79(8): 1189-1193.
17. Liu, H., Yu, Q., Fang, C., Chen, S., Tang, X., Ajuwon, K. M., Fang, R. (2020.): Effect of selenium source and level on performance, egg quality, egg selenium content, and serum biochemical parameters in laying hens. *Foods*, 9(1): 68.
18. Lomakina, K., Mikova, K. (2006.): A study of the factors affecting the foaming properties of egg white – a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 24(3): 110-118.
19. Lončarić, Z., Ivezić, V., Kerovec, D., Popović, B., Karalić, K., Zebec, V., Rastija, D. (2018.): Selen u tlima istočne Hrvatske. Knjiga sažetaka "Potencijal tla i zemljišnih resursa: ključne uloge znanosti i učinkovitih politika" / Romić, Marija ; Rastija, Domagoj ; Popović, Brigita - Vukovar : Hrvatsko tloznanstveno društvo, str. 10.
20. Mikova, K., Davidek, J. (2000.): Criteria of quality and freshness of hen eggs. *Czech Journal of Food Sciences*, 18(6): 250-255.
21. Mohiti-Asli, M., Shariatmadari, F., Lotfollahian, H. (2010.): The influence of dietary vitamin E and selenium on egg production parameters, serum and yolk cholesterol and antibody response of laying hen exposed to high environmental temperature. *Arch Geflugelkd*, 74: 43-50.
22. Navarro-Alarcon, M., López-Martínez, M. C. (2000.): Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Science of the Total Environment*, 249(1-3): 347-371.
23. Nève, J. (1996.): Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases. *J. Cardiovascular Risk* 3: 42–47.
24. Pappas, A. C., Acamovic, T., Sparks, N. H. C., Surai, P. F., McDevitt, R. M. (2005.): Effects of supplementing broiler breeder diets with organic selenium and polyunsaturated fatty acids on egg quality during storage. *Poultry Science*, 84(6): 865-874.
25. Paton N. D., Cantor A. H., Pescatore A. J., Ford M. J., Smith C. A. (2002.): The effect of dietary selenium source and level on the uptake of selenium by developing chick embryos. *Poultry Science*, 81: 1548–1554.
26. Popijač, V., Prpić-Majić, D. (2002.): Soil and wheat grain selenium content in the vicinity of Koprivnica (Croatia). *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 53(2): 125-133.

27. Ren, Y., Perez, T. I., Zuidhof, M. J., Renema, R. A., Wu, J. (2013.): Oxidative stability of omega-3 polyunsaturated fatty acids enriched eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(47): 11595-11602.
28. Seemann, M. (2000.): Factors which influence pigmentation. *Lohmann Information* 24: 20-26.
29. Skřivan, M., Bubancová, I., Marounek, M., Dlouhá, G. (2010.): Selenium and α -tocopherol content in eggs produced by hens that were fed diets supplemented with selenomethionine, sodium selenite and vitamin E. *Czech Journal of Animal Science*, 55(9): 388-397.
30. Surai, P. F., Kochish, I. I. (2019.): Nutritional modulation of the antioxidant capacities in poultry: The case of selenium. *Poultry Science*, 98(10): 4231-4239.
31. TIBCO Software Inc. (2020.): *Statistica* Version 14.0.0.
32. Wang, Z. G., Pan, X. J., Zhang, W. Q., Peng, Z. Q., Zhao, R. Q., Zhou, G. H. (2010.): Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects antioxidant activity of breeding eggs. *Poultry science*, 89(5): 931-937.

SUMMARY

Egg is an animal food that is nutritionally balanced, and the price is acceptable for daily use in the household. By designing mixtures for laying hens, it is possible to enrich the egg with different nutrients. Therefore, the aim of this work was to produce eggs enriched with selenium, and to examine its effect on quality indicators and sustainability of egg freshness during storage for 28 days in a refrigerator at 4°C. In the research were used 120 layers of the Tetra SL hybrid. The experiment lasted 5 weeks. At the beginning of the experiment, the laying hens were 30 weeks old. Two groups P1 and P2 were formed, which were fed with two mixtures. Each group is placed in 6 cages with 10 layers each. The feed mixtures fed to laying hens differed in their content of organic selenium (Sel-Plex). The food of laying hens from group P1 contained a lower level of selenium (0.348 mg Se/kg mixture), and hens of group P2 consumed food with a higher level of selenium (0.447 mg Se/kg mixture). At the end of the experimental period, a total of 120 eggs were sampled (P1 60 pieces and P2 60 pieces). The eggs belonged to class L (egg weight of 63-73 g). The observed effects (feeding treatment, storage time and interaction) had no influence on the shape index values, egg and shell weight, shell strength and thickness ($P > 0.05$). Storage time had an effect on yolk weight ($P < 0.001$) and egg white weight ($P = 0.010$). Selenium levels in food and storage time influenced the increase in pH value in egg yolks and egg whites ($P < 0.001$). Egg storage time had a statistically significant effect on the reduction of egg white height (mm) and Haugh units/HU ($P < 0.001$), while the color intensity was influenced by storage time and interaction ($P < 0.05$). Lipid oxidation in egg yolks of the tested groups was uniform, no statistically significant differences were found in the obtained values ($P > 0.05$). The level of Se in feed mixtures for laying hens significantly influenced its content in egg whites and yolks. In egg whites, the selenium content increased from 107.86 to 162.48 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (P1 in relation to P2; $P < 0.001$) and in yolks from 644.11 to 748.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (P1 in relation to P2; $P = 0.032$). The research established the possibility of increasing the content of selenium in eggs by using the organic form of selenium in feed for laying hens. It was also observed that a higher level of selenium in food affects a greater deposition of selenium in the edible part of eggs, and has a positive effect on indicators of egg quality and freshness.

Keywords: selenium, eggs, quality, storage time, lipid oxidation