Procjena unosa nutrijenata i toksičnih metala hranom morskoga podrijetla: usporedbe u zdravih rodilja iz kontinentalne i priobalne Hrvatske

Sulimanec Grgec, Antonija

Doctoral thesis / Disertacija

2019

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:276020

Rights / Prava: Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

Antonija Sulimanec Grgec

PROCJENA UNOSA NUTRIJENATA I TOKSIČNIH METALA HRANOM MORSKOGA PODRIJETLA: USPOREDBE U ZDRAVIH RODILJA IZ KONTINENTALNE I PRIOBALNE HRVATSKE

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2019.

Sveučilište u Zagrebu

PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

Antonija Sulimanec Grgec

PROCJENA UNOSA NUTRIJENATA I TOKSIČNIH METALA HRANOM MORSKOGA PODRIJETLA: USPOREDBE U ZDRAVIH RODILJA IZ KONTINENTALNE I PRIOBALNE HRVATSKE

DOKTORSKI RAD

Mentor:
dr. sc. Martina Piasek, dr. med.,
znanstveni savjetnik u trajnom zvanju

Zagreb, 2019.

Sveučilište u Zagrebu

FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Antonija Sulimanec Grgec

ASSESSMENT OF NUTRITIONAL AND TOXIC METAL INTAKE BY SEAFOOD: COMPARISONS IN HEALTHY POSTPARTUM WOMEN FROM CONTINENTAL AND COASTAL CROATIA

DOCTORAL THESIS

Supervisor:
Martina Piasek, MD, PhD,
Permanent Scientific Advisor

Zagreb, 2019

Ovaj doktorski rad izrađen je u Jedinici za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam, Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu, pod mentorstvom dr. sc. Martine Piasek, dr. med., znan. savjetnika u trajnom zvanju i tijekom poslijediplomskog studija Nutricionizam na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Rad je izrađen u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta „Izloženost metalima i njihovi učinci u graviditetu i postnatalnom razdoblju“ (MZOS br. 022-0222148-2135, 2007.-2013./14., voditelj Martina Piasek).

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu **Doktorski rad**
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni poslijediplomski studij Nutricionizam
UDK: 543.635.353:546.48/49/815:612.6:613.281(043.3)
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

PROCJENA UNOSA NUTRIJENATA I TOKSIČNIH METALA HRANOM MORSKOGA PODRIJETLA: USPOREDBE U ZDRAVIH RODILJA IZ KONTINENTALNE I PRIOBALNE HRVATSKE

Antonija Sulimanec Grgec, mag. nutr.

Rad je izrađen u Jedinici za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam, Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, Ksaverska cesta 2, Zagreb

Mentor: dr. sc. Martina Piasek, dr. med., znan. savj. trajno

U zdravih rodilja iz kontinentalne (n=197) i priobalne Hrvatske (n=203) procijenjen je unos omega-3 masnih kiselina (EPA+DHA), esencijalnih elementa Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu i Se, toksičnih metala Hg, Cd i Pb te polumetala As konzumacijom morske ribe. Određen je sastav masnih kiselina (metodom GC) u najčešće konzumiranih vrsta riba: srdeli, osliću, oradi i brancinu (n=84). Provedena je multielementna analiza (metodom ICP-MS) u ribama iz divljeg ulova (n=813) i uzgoja u istočnom Jadranskom moru (n=24) te u zamrznutoj (n=64) i konzerviranoj ribi (n=37). Izmjerene vrijednosti analita u ribama povezane su s podacima iz anketnih upitnika i utvrđeno je stanje elementa u majke i potomka s obzirom na unos hrane morskoga podrijetla i prije određenih koncentracija elementa u kosi, krvi i serumu majke te krvi iz pupkovine. Pokazano je da su srdele i inćuni vrijedan prehrambeni izvor Fe, Zn i Cu, a srdele i gire za Se. Procijenjeno je da se jednim obrokom ribe od 130 g unosi u prosjeku 956 mg EPA+DHA (što je oko 4 puta prehrambene referentne vrijednosti, DRV) i oko 10% DRV esencijalnih elemenata, a Se >60% DRV. U serumu majki iz kontinentalnog u odnosu na priobalno područje, utvrđene su veće koncentracije Fe, Zn i Cu (čiji su glavni izvor crveno meso i žitarice) i niže Se, jednako kao i niže Hg i Se u kosi majke te niže koncentracije Hg i As u krvi majke i krvi iz pupkovine. U svim mjerenim biološkim uzorcima koncentracije Hg, Se i As pozitivno su korelirale s učestalošću konzumacije ribe. S obzirom na prosječnu konzumaciju ribe na tjedan od 130 g i količine toksičnih metala u ribi od <0,16 mg Hg/kg (uz izuzetak trlje blatarice i orade iz divljeg ulova s >0,42 mg Hg/kg) i <0,02 mg/kg za Cd i Pb, zaključeno je da nema rizika povećanog unosa toksičnih metala, a As se u ribi u najvećem udjelu nalazi u obliku njegova netoksičnog organskog spoja arsenobetaina. Izvoran doprinos istraživanja jesu rezultati koji mogu poslužiti za izradu nacionalnih smjernica o konzumaciji ribe u žena tijekom reprodukcijskog razdoblja i djece zbog izloženosti Hg konzumacijom ribe, posebice za one vrste riba iz Jadranskog mora koje mogu imati povećane količine Hg.

Broj stranica: 96
Broj slika: 11
Broj tablica: 21
Broj literaturnih navoda: 206
Broj priloga: 9
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: omega-3 masne kiseline, esencijalni i toksični elementi, morska riba, reprodukcijsko razdoblje

Datum obrane: 5. srpnja 2019.

Stručno povjerenstvo za obranu:
1. dr. sc. Ivana Kmetič, izv. prof.
2. dr. sc. Ivana Rumora Samarin, doc.
3. dr. sc. Jasna Jurasović, znan. savj. trajno

Rad je pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu, Kačićeva 23, Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb, Sveučilištu u Zagrebu, Trg Republike Hrvatske 14 i u knjižnici Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu, Ksaverska cesta 2.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb **Doctoral Thesis**
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Postgraduate study in Nutrition
UDK: 543.635.353:546.48/49/815:612.6:613.281(043.3)
Scientific Area: Biotechnical Sciences
Scientific Field: Nutrition

ASSESSMENT OF NUTRITIONAL AND TOXIC METAL INTAKE BY SEAFOOD: COMPARISONS IN HEALTHY POSTPARTUM WOMEN FROM CONTINENTAL AND COASTAL CROATIA

Antonija Sulimanec Grgec, *M Nutr*

Thesis performed in Analytical Toxicology and Mineral Metabolism Unit, Institute of Medical Research and Occupational Health, Ksaverska cesta 2, Zagreb

Supervisor: Martina Piasek, MD, PhD, Permanent Scientific Advisor

In healthy postpartum women from continental (n=197) and coastal Croatia (n=203), the intake of omega-3 fatty acids (EPA+DHA), essential elements N, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Se, toxic metals Hg, Cd, Pb, and the metalloid As was assessed by marine fish consumption. The profile of fatty acids was determined (by GC) in the most commonly consumed fish species: sardine, European hake, gilthead seabream and seabass (n=84). Multielement analysis was carried out (by ICP-MS) in wild-caught (n=813) and farmed fish from the eastern Adriatic Sea (n=24) as well as in frozen (n=64) and canned fish (n=37). The results on analytes in fish were related to the data from the questionnaires and element status in mother and offspring was estimated in relation to sea food intake and predetermined element levels in maternal hair, blood and serum and umbilical cord blood. It was shown that sardines and anchovies are a valuable food source of Fe, Zn and Cu, and sardines and picarels for Se. The estimated intake through one fish meal of 130 g is on average 956 mg EPA+DHA (i.e. ca. 4 times the dietary reference value, DRV) and about 10% of the DRVs for essential elements, and for Se >60% DRV. Higher maternal serum concentrations of Fe, Zn and Cu (as red meat and cereals are their main sources) and lower serum Se, as well as lower Hg and Se in maternal hair and lower Hg and As in maternal and cord blood were found in the continental *vs.* coastal area. In all of the measured biological samples the levels of Hg, As and Se positively correlated with the frequency of fish consumption. Given the average fish consumption per week of 130 g and the content of toxic metals in fish with <0.16 mg Hg/kg (with the exception of >0.42 mg Hg/kg in wild red mullet and gilthead seabream) and <0.02 mg/kg for both Cd and Pb, it was concluded that there was no risk of increased toxic metal intake, whereas the main chemical form of As in marine fish is arsenobetaine which is non-toxic. The original contribution of this research are its results, which can serve in drawing up national guidelines on fish consumption in women during the reproduction period and for children due to exposure of Hg through fish consumption, especially by species from the Adriatic Sea, which have increased Hg content.

Number of pages: 96
Number of figures: 11
Number of tables: 21
Number of references: 206
Number of supplements: 9
Original in: Croatian

Key words: omega-3 fatty acids, essential and toxic elements, marine fish, reproductive period

Date of the thesis defence: 5th July 2019

Reviewers:

1. Ivana Kmetič, PhD, Associate Professor
2. Ivana Rumora Samarin, PhD, Assistant Professor
3. Jasna Jurasović, PhD, Permanent Scientific Advisor

Thesis deposited in: the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23; National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb, University of Zagreb, Trg Republike Hrvatske 14; and the library of the Institute of Medical Research and Occupational Health, Ksaverska cesta 2, Zagreb.

Tema doktorskog rada prihvaćena je na 7. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu za akademsku godinu 2013./2014. održanoj 18. lipnja 2014. godine. Pokretanje postupka stjecanja doktorata znanosti unutar doktorskog studija odobrio je Senat Sveučilišta u Zagrebu na svojoj 17. sjednici održanoj 16. rujna 2014. u 345. akademskoj godini (2013./2014.).

Podaci o mentoru

dr. sc. Martina Piasek, dr. med., znan. savjetnik u trajnom zvanju

Rođena u Zagrebu. Pohađala je V. gimnaziju u Zagrebu i Gimnaziju Varaždin i maturirala 1974. godine. Na Sveučilištu u Zagrebu diplomirala je 1980. na Medicinskom fakultetu, magistrirala 1986. (područje Biologija – smjer biomedicina, nakon završenog Postdiplomskog studija prirodnih znanosti) i doktorirala 1990. godine (područje Medicinske znanosti – polje medicina). U Medicinskom centru Varaždin u razdoblju 1980.-1982. obavila je jednogodišnji pripravnički staž, položila stručni ispit i vodila ambulantu za zdravstvenu zaštitu radnika u građevinarstvu. Od rujna 1982. zaposlena je u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada (IMI) u Zagrebu, u Laboratoriju za fiziologiju mineralnog metabolizma, koji je od 2007. godine sastavnica Jedinice za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam.

U razdoblju 1991.-1994. znanstveno se usavršavala u Sjedinjenim Američkim Državama tijekom dva jednogodišnja postdoktorska boravka s međunarodnim stipendijama (*IREX* i *Fogarty*) u laboratorijima *US Environmental Protection Agency*, *Health Effects Research Laboratory*, *Developmental Toxicology Division–Reproductive Toxicology Branch*, u Research Triangle Parku, Sjeverna Karolina. Od 1995. na Sveučilištu u Zagrebu sudjeluje kao vanjski suradnik u poslijediplomskoj nastavi na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu (Biologija; do 2005.) i Medicinskom fakultetu te od 2009. godine u diplomskoj i poslijediplomskoj nastavi Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, smjer Nutricionizam. Mentor je znanstvenih novaka i voditelj ukupno >15 kvalifikacijskih radova, pretežito unutar IMI-ja te vanjskih pristupnika. Njezini znanstveni interesi i ekspertize usredotočeni su na procjene unosa i izloženosti te razdiobu, zdravstvene učinke i međudjelovanje toksičnih i esencijalnih metala i polumetala (olova, kadmija i žive te željeza, cinka, bakra, selena i kalcija); reprodukcijske i perinatalne učinke onečišćivača ljudskog okoliša; procjenu izloženosti i zdravstvenih rizika u ranjivim skupinama stanovništva (žene fertilne dobi, posebice tijekom reprodukcijskog razdoblja). Autor ili ravnopravni koautor u >80 znanstvenih radova (>55 indeksirana u *SCI-CC*) i >20 stručnih radova (*WoS h*-indeks $_{5/2019}$ = 13). Istraživač na znanstvenim projektima (4 međunarodna i 4 domaća), voditelj 2 domaća znanstveno-istraživačka projekta (MZOŠ/MZOS; 2006. i 2007.-2014.) i istraživačkog projekta Hrvatske zaklade za znanost u tijeku (od 2017.) Djelatna na međunarodnoj i nacionalnoj razini kao vrednovatelj znanstvenih projekata i recenzent znanstveno-stručnih članaka, član nekoliko uredništva znanstvenih časopisa (od 1991.) od kojih najviše u uređivačkim poslovima *Arhiva za higijenu rada i toksikologiju* (1995.-2001. obavljala je dužnost zamjenice glavnog urednika); član više međunarodnih i domaćih stručnih udruga, različitih stručnih povjerenstava i odbora nacionalnih i međunarodnih kongresa u znanstvenim poljima/ granama fiziologija, farmakologija i toksikologija, medicina rada i nutricionizam. Od pridruživanja Hrvatske Okvirnim programima za znanstvena istraživanja u Europskoj Uniji, u razdoblju 2006.-2012 obnašala je dužnost eksperta imenovanog od strane MZOŠ-a u delegaciji Hrvatske u Programskim odborima za istraživanja hrane i srodnih područja Okvirnih programa *FP6* – tema 5 i *FP7* – tema 2.

Zahvala

mentorici dr. sc. Martini Piasek, dr. med., znan. savj. u tr. zv. za ukazano povjerenje, znanje i ljubavi za znanost koju mi svakodnevno prenosi. Svojom vjerom u mene, iskrenom podrškom i nesebičnim vođenjem tijekom izrade doktorskog rada zadužila me za cijeli život. Iskrena i najljepša hvala na svemu

voditeljici Jedinice za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam dr. sc. Jasni Jurasović, znan. sur. u tr. zv. za vrijedne savjete, konstruktivne kritike i svu pomoć tijekom izrade doktorskog rada, a posebice u njegovom analitičkom dijelu. Velika hvala

članicama Povjerenstva za ocjenu i obranu doktorskoga rada izv. prof. dr. sc. Ivani Kmetič i doc. dr. sc. Ivani Rumora Samarin za konstruktivne primjedbe, savjete i srdačnost

dr. sc. Tatjani Orct, znan. sur. i dr. sc. Ankici Sekovanić za savjete, objašnjenja i nesebičnu pomoć tijekom izrade doktorskog rada. Posebna im hvala za pomoć u provođenju eksperimentalnog dijela istraživanja, kao i za svakodnevnu podršku i toplinu na radnom mjestu, u sobi br. 1

tehničkim suradnicima, Snježani Mataušić, farm. tehn. i Mladenu Komesaru, struč. spec. ing. sec. za veliku pomoći pri pripremi uzoraka za analize. Uz vas je rad u laboratoriju bio brži, lakši i vedriji

suradnicima na projektu dr. sc. Sandri Stasenko, izv. prof. dr. sc. Marijani Matek Sarić i dr. sc. Juditi Grzunov Letinić za trud u prikupljanju bioloških uzoraka rodilja

dr. sc. Zorani Kljaković-Gašpić, znan. savj. za vrijedne savjete i pomoć pri pripremi uzoraka ribe

dr. sc. Vjekoslavu Tičini, znan. savj. za uzorke ribe iz divljeg ulova u Jadranskom moru

doc. dr. sc. Tiboru Jančі za susretljivost, pomoć i analize sastava masnih kiselina u mišićju ribe

dr. sc. Anji Mikolić, znan. sur. za iskrenu prijateljsku podršku od početka mog rada na Institutu

Šimi Sušiću, mag. educ. geogr. et hist. za zajedničko „ribarenje“ ribarnicama tržnice Dolac, Zagreb

Darijanu Kataru za nesebičan prijevoz u danima kad su vlakovi bili u kvaru

suradnicima Jedinice za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam i kolegama na Institutu, kao i svim dragim prijateljima za toplu podršku

Zagreb, u lipnju 2019.

Antonija Sulimanec Grgec

Mojim roditeljima, sestri, suprugu i sinovima
za svu pomoć i podršku, vjeru u mene, te bezuvjetnu i iskrenu ljubav.

Vi ste ta nit, taj rijetki začin koji daje poseban ton.

Lunjo, Đ. Balašević

EXTENDED SUMMARY

ASSESSMENT OF NUTRIENTS AND TOXIC METALS INTAKE BY SEAFOOD: COMPARISONS IN HEALTHY POSTPARTUM WOMEN FROM CONTINENTAL AND COASTAL CROATIA

Seafood, especially fish, contains highly valuable nutrients, including omega-3 fatty acids and mineral elements essential for physiological functions, particularly in the cardiovascular, reproductive and nervous systems and human development. However, fish, shellfish and cetaceans are also sources of exposure to several harmful environmental contaminants, including toxic metals Hg, Cd and Pb due to their bioaccumulation that increases in relation to the level in the food chain with the highest values found in large predators. Methylated Hg (methylmercury, MeHg) is a predominant chemical form of Hg in edible fish muscles (>90%). People are exposed to MeHg mainly by fish consumption with a gastrointestinal absorption of nearly 100%. It is highly toxic form of Hg and particularly harmful as a neurodevelopmental toxicant; it easily passes through the placental and blood-brain barrier with the potential to cause psychomotor retardation and irreversible neurological disorders if exposure occurs during the period of brain development and maturation from the third gestational trimester through the child's age of three years. Women during the reproductive period (childbearing age) and infants/ young children are the most vulnerable population groups for adverse health effects from MeHg.

The aim of this study was to assess the beneficial intake of omega-3 (EPA and DHA) and essential elements (Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu and Se) against oral exposure to toxic metals Hg, Cd and Pb, and metalloid As by fish in healthy postpartum women in continental (n=197) and coastal Croatia (n=203) with different dietary habits of seafood consumption. Furthermore, the profile of fatty acids of four of the most commonly consumed fish were determined in sardine, European hake, gilthead seabream and seabass (n=84; by GC). Essential and toxic elements were determined in edible tissue (after nitric acid digestion of the freeze-dried and homogenised fresh muscle samples by multielement analysis using ICP-MS) in 10 species of wild-caught (n=813) and two species of farmed fresh fish (n=24) from the eastern Adriatic Sea, two species of frozen fish (n=64) and 3 types of canned fish (n=37). The results on analytes in fish were related to the data from the questionnaires and element status in mother and offspring was estimated in relation to sea food intake and predetermined element levels in maternal hair and maternal blood and serum and umbilical cord blood.

It has been shown that sardines and anchovies are a valuable food source of Fe, Zn and Cu, and sardines and picarels for Se. The estimated intake by one meal of 130 g of fish is on average 956 mg EPA+DHA (approx. 4 times the dietary reference value, DRV) and about 10% of DRVs for essential elements, except for Se, which was >60% DRV. In the continental *vs.* coastal area, maternal serum concentrations of Fe, Zn and Cu were higher (as red meat and cereals are their main sources) and were determined lower Se in maternal serum, Hg and Se in maternal hair, and Hg and As in maternal and cord blood samples. In all of the measured biological samples, concentrations of Hg, As and Se positively correlated with the frequency of fish consumption. Given the average fish consumption per week of 130 g and the content of toxic metals in fish <0.16 mg Hg/kg (with the exception of >0.42 mg Hg/kg in wild red mullet and gilthead seabream) and <0.02 mg/kg for both Cd and Pb, it was concluded that there was no risk of increased toxic metal intake, whereas the main chemical form of As in marine fish is arsenobetaine which is non-toxic but readily bioavailable compound.

The original contribution of this research are its results that can serve in drawing up national guidelines on the fish consumption in women during the reproduction period and for young children in Croatia due to exposure to Hg in fish, especially by species from the Adriatic Sea which have increased Hg content.

KEY WORDS: omega-3 fatty acids, essential and toxic elements, marine fish, reproductive period

Sadržaj

POPIS KRATICA I
1. UVOD 1
2. LITERATURNI PREGLED 3
2.1. Važnost hrane morskoga podrijetla u ljudskoj prehrani 3
2.2. Nutritivna vrijednost morske ribe 3
2.3. Važnost unosa omega-3 masnih kiseline za zdravlje majke i potomka 6
2.4. Izvori izloženosti glavnim toksičnim elementima i njihovi štetni učinci na zdravlje 7
2.5. Smjernice konzumacije ribe u žena tijekom reprodukcijskog razdoblja s obzirom na rizike za zdravlje buduće majke i potomka zbog izloženosti metilživi u ribi 14
3. MATERIJALI I METODE 16
3.1. Ciljevi i plan istraživanja 16
3.2. Ispitanice 16
3.3. Razvrstavanje podataka o navikama prehrane – anketni upitnici 17
3.4. Procjena stanja elemenata u organizmu s obzirom na glavne izvore unosa i izloženosti 17
3.5. Prikupljanje uzoraka riba 19
3.6. Popis upotrijebljenih kemikalija, uređaja i opreme tijekom pripreme uzoraka i analize 20
3.7. Priprema uzoraka hrane morskoga podrijetla za analize 21
3.7.1. Priprema uzoraka ribe za analizu masnih kiselina 21
3.7.2. Priprema uzoraka ribe za analizu mineralnih elemenata 22
3.8. Analiza masnih kiselina u uzorcima ribe 23
3.9. Analiza mineralnih elemenata u uzorcima ribe 24
3.10. Statistička obrada podataka 25
3.11. Izračuni procjena koristi i mogućih rizika konzumacije ribe za zdravlje 26
4. REZULTATI 27
4.1. Opće značajke ispitanica i novorođenčadi 27
4.2. Navike konzumacije hrane morskoga podrijetla u Hrvatskoj 29
4.3. Procjena stanja esencijalnih i toksičnih elemenata u zdravih rodilja i njihovih prenatalno izloženih potomaka u kontinentalnom i priobalnom području Hrvatske 33
4.4. Povezanost konzumacije hrane morskoga podrijetla i biokemijskih pokazatelja izloženosti i unosa elementa u zdravih rodilja iz kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske 36
4.5. Masne kiseline u uzorcima morske ribe iz divljeg ulova u Jadranskome moru 38
4.6. Esencijalni elementi u uzorcima morske ribe i iz ribljih konzervi 39
4.7. Toksični elementi u uzorcima morske ribe i iz ribljih konzervi 41
4.8. Molarni omjeri Hg i Se u uzorcima morske ribe i iz ribljih konzervi 43
4.9. Procjena nutritivne koristi i zdravstvenog rizika zbog izloženosti toksičnim elementima konzumacijom hrane morskoga podrijetla 44

5. RASPRAVA 55
5.1. Navike konzumacije hrane morskoga podrijetla 56
5.2. Utjecaj unosa hrane morskoga podrijetla prema geografskom području prebivanja na koncentracije mineralnih elemenata u parovima majka-novorođenče 56
5.3. Omega-3 masne kiseline i mineralni elementi u morskoj ribi 61
5.4. Nutritivna korist i mogući rizici konzumacije hrane morskoga podrijetla buduće majke 64
6. ZAKLJUČCI 66
7. POPIS LITERATURE 69
8. PRILOZI 83
PRILOG 1 Usporedni trendovi konzumacije hrane morskoga podrijetla uključujući ribe, rakove, glavonošce i školjkaše izraženo u kilogramima svježe namirnice po glavi stanovnika na godinu tijekom razdoblja 1961. do 2013. godine u odabranim državama Europe i svijeta, Europskoj Uniji i Hrvatskoj 83
PRILOG 2 Anketni upitnik za procjenu unosa hrane morskoga podrijetla u rodilja koji je primijenjen u drugom dijelu istraživanja (skupina Zadar C) 84
PRILOG 3 Kvantitativni modeli obroka pojedinih vrsta hrane morskoga podrijetla 85
PRILOG 4 Podaci o temperaturnom programu tijekom razaranja uzoraka svježeg mišićja ribe te granicama detekcije i kvantifikacije tijekom multielementne analize tih uzoraka 87
PRILOG 5 Prehrambene referentne vrijednosti DRVi (eng. *dietary reference values*) za unos masti i mineralnih elemenata prema EFSA-i 88
PRILOG 6 Pregled istraživanja (2000. – 2010.): stanje esencijalnih elemenata (Fe, Cu, Zn, Se) u majke i potomka i normalni rasponi za elemenate u krvi žena u dobi 19 do 49 godina izvan trudnoće i dojenja 89
PRILOG 7 Pregled istraživanja (2000. – 2017.): biološki pokazatelji izloženosti niskim razinama Hg hranom morskoga podrijetla u žena tijekom trudnoće / parovi majka-novorođenče 90
PRILOG 8 Pregled istraživanja (2003. – 2018.): količine toksičnih elemenata u svježoj i konzerviranoj ribi 91
PRILOG 9 Karakteristike riba prema staništu i ishrani 93
ŽIVOTOPIS AUTORA 94
POPIS OBJAVLJENIH RADOVA I KONGRESNIH PRIOPĆENJA AUTORA 95

POPIS KRATICA

AI	odgovarajući unos (eng. *adequate intake*)
ANOVA	analiza varijance (eng. *analysis of variance*)
AR	prosječan unos (eng. *average requirement*)
ACS	Američko kemijsko društvo (eng. *American Chemical Society*)
CONTAM Panel	Radna skupina za onečišćivače u prehrambenom lancu Europske agencije za sigurnost hrane (eng. *EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain*)
DHA	dokozaheksaenska masna kiselina
DRI	prehrambeni referentni unos (eng. *dietary reference intake*)
DRV	prehrambena referentna vrijednost (eng. *dietary reference values*)
EDI	procjenjeni unos na dan (eng. *estimated daily intake*)
EFSA	Europska agencija za sigurnost hrane (eng. *European Food Safety Authority*)
EPA	eikozapentaenska masna kiselina
FAO	Organizacija za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda (eng. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*)
GC	plinska kromatografija (eng. *gas chromatography*)
HBV	vrijednost zdravstvene koristi (eng. *health benefit value*)
iAs	anorganski arsen (eng. *inorganic As*)
IL	interleukin (eng. *interleukin*)
ICP-MS	masena spektrometrija induktivno spregnute plazme (eng. *inductively coupled plasma mass spectrometry)*
IOM	Institut za medicinu (eng. *Institute of Medicine at US National Academy of Sciences*)
JECFA	Zajednički stručni odbor za aditive u hrani Organizacije za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda i Svjetske zdravstvene organizacije (eng. *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*)
MeHg	metilživa
MZOS	Ministarstvo znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske
NDA Panel	Radna skupina za dijetetske proizvode, prehranu i alergije Europske agencije za sigurnost hrane (eng. *EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies*)
PTWI	privremeni dopušteni unos na tjedan (eng. *provisional tolerable weekly intake*)
SAD	Sjedinjene Američke Države
SD	standardno odstupanje (eng. *standard deviation*)
THQ	kvocijent ciljne opasnosti (eng. *target hazard quotient*)
TM	tjelesna masa
TNFα	čimbenik nekroze tumora alfa (eng. *tumor necrosis factor alpha*)
TWI	dopušteni unos na tjedan (eng. *tolerable weekly intake*)
US EPA	Američka agencija za zaštitu okoliša (eng. *US Environmental Protection Agency)*
US FDA	Američka agencija za hranu i lijekove (eng. *US Food and Drug Administration*)
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (eng. *World Health Organisation*)

1. UVOD

1. UVOD

Hrana morskoga podrijetla, posebice riba, bogata je hranjivim tvarima važnim za zdravlje i neizostavan je dio različitih obrazaca prehrane. Omega-3 masne kiseline iz morskih riba, eikozapentaenska i dokozaheksaenska kiselina, potrebne su za odvijanje normalnih fizioloških funkcija i biokemijskih procesa u ljudskom organizmu, posebice za funkcije srca i krvnih žila, reprodukcijske funkcije i održavanje trudnoće te razvoj živčanog sustava (Mahaffey, 2004; Innis, 2007a, b, 2008). Morska riba je i vrijedan izvor esencijalnih mineralnih elemenata, makroelemenata nužnih za izgradnju kostiju i funkcije mišića (kalcij, fosfor i magnezij) i održavanje acido-bazne ravnoteže (elektroliti natrij, kalij i kalcij) te mikroelemenata koji su sastavni dijelovi hormona, enzima i enzimskih aktivatora [jod, selen, željezo, cink, krom (III) i drugi] i vitamina (A, D i E vitamin). Niska kalorijska vrijednost, visoko vrijedni proteini i vrijedan mikronutritivni sastav čine morsku ribu važnom sastavnicom pravilne i uravnotežene prehrane.

Međutim, konzumacijom ribe može se povećati i unos neželjenih tvari koje se nakupljaju u morskim organizmima i ulaze u lanac ljudske prehrane. To su razni ksenobiotici, patogeni i toksikanti, kao što su postojani organski onečišćivači okoliša i toksični metali, živa, kadmij, olovo te polumetal arsen (Dorea, 2008; Oken, 2012; EFSA NDA, 2014b; Vandermeersch i sur., 2015). Od štetnih tvari s mogućim toksičnim učincima, morska riba glavni je prehrambeni izvor visokotoksičnog kemijskog oblika žive, metilžive (Clarkson i Magos, 2006; Branco i sur., 2017). Povišene razine izloženosti živi mogu izazvati brojne toksične učinke, ponajprije nefrotoksične i neurotoksične. Izrazito su štetni učinci u uvjetima izloženosti metilživi tijekom bilo kojeg razdoblja od zadnjeg tromjesečja trudnoće do treće godine života kada se razvija i sazrijeva središnji živčani sustav, jer može doći do nepovratnih teških posljedica na neurološki razvoj potomka (Rice i Barone, 2000; Grandjean i sur., 2010; Sheehan i sur., 2014).

Ravnoteža unosa hranjivih i toksičnih tvari hranom morskoga podrijetla ovisi o raznim čimbenicima, među inima i o geografskom području prebivanja, zbog različitih navika i tradicije prehrane (Sioen i sur., 2009; Sulimanec Grgec i sur., 2012; Sekovanić, 2018). Procjene unosa i opasnosti od štetnih učinaka metala i polumetala potrebno je temeljiti na nutricionističkim i toksikološkim načelima, uzimajući u obzir preporučene i prihvatljive raspone unosa, odnosno doze izloženosti pojedinom elementu (Piasek, 2010; Ha i sur., 2017). Takva istraživanja u Hrvatskoj nisu se sustavno provodila. Dosadašnje procjene uglavnom su se temeljile na podacima o prosječnoj konzumaciji hrane morskoga podrijetla u općem stanovništvu (Čaldarović i sur., 2007), a u najnovije vrijeme provedena su istraživanja o prisutnosti žive, olova, kadmija i arsena u akvatičnim organizmima na tržištu Hrvatske (HAH, 2014) i biološki monitoring izloženosti živi u ispitanica obalne i kontinentalne Hrvatske (Capak i sur., 2017). Kako bi se utvrdile vrste riba i morskih plodova koje najviše pridonose izloženosti toksičnim metalima, ponajprije metilživi prehranom, potrebno je prikupiti detaljne podatke o učestalosti konzumacije, uključujući kategoriju i vrste konzumirane hrane morskoga podrijetla. To je iznimno važno procijeniti u skupinama stanovništva

najosjetljivijima za toksične učinke metala kao što su žene tijekom reprodukcijske dobi uključujući razdoblje trudnoće i dojenja, mala djeca, osobe starije životne dobi te kronični bolesnici. Na temelju znanstveno utemeljenih rezultata moguće je donijeti mjere za sprečavanje štetnih učinaka na zdravlje zbog izloženosti toksičnim elementima odnosno deficijencije nutrijenata, posebice omega-3 masnih kiselina i esencijalnih elemenata, vezano za navike konzumacije hrane morskoga podrijetla, uključujući morske ribe.

Svrha ovog istraživanja bila je procijeniti unos hranjivih tvari, omega-3 masnih kiselina, eikozapentaenske i dokozaheksaenske masne kiseline (EPA i DHA), esencijalnih makroelemenata kalija (K), natrija (Na), magnezija (Mg) i kalcija (Ca), esencijalnih mikroelemenata željeza (Fe), bakra (Cu), cinka (Zn) i elementa u ultra tragu selena (Se) te toksičnih mikroelemenata, metala žive (Hg), kadmija (Cd) i olova (Pb) i polumetala arsena (As), konzumacijom hrane morskoga podrijetla u zdravih rodilja iz kontinentalne i priobalne Hrvatske. Pored toga, svrha istraživanja bila je, na temelju kemijske karakterizacije usredotočeno na navedene tvari u najčešće konzumiranim vrstama morske ribe, procijeniti nutritivnu korist i moguće rizike štetnih učinaka konzumacije hrane morskoga podrijetla za buduću majku i njezinog potomka.

Hipoteza istraživanja

Izloženost metalima hranom morskoga podrijetla veća je u osoba koje prebivaju u priobalju nego u kontinentalnom dijelu Hrvatske zbog tradicionalnih razlika u prehrambenim navikama. Na temelju bioloških pokazatelja unosa odabranih makro- i mikronutrijenata i izloženosti glavnim toksičnim elementima te njihovom kemijskom karakterizacijom u najčešće konzumiranoj hrani morskoga podrijetla u Hrvatskoj očekuju se rezultati koji će pokazati da je konzumacija te hrane povezana s povoljnim unosom nutrijenata i nije izvor povećane štetne izloženosti toksičnim metalima za žene reprodukcijske dobi i tijekom reprodukcijskog razdoblja kao ni za njihovo potomstvo.

2. LITERATURNI PREGLED

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Važnost hrane morskoga podrijetla u ljudskoj prehrani

Hrana morskoga podrijetla je vrijedan izvor hranjivih tvari neophodnih za ljudsko zdravlje. Morska riba spada u osnovne skupine namirnica ljudske prehrane, posebice mediteranske, nordijske i japanske tradicionalne prehrane, zbog niske kalorijske vrijednosti, visoke proteinske gustoće i bogatog sadržaja omega-3 masnih kiselina. Na povećanje konzumacije hrane morskoga podrijetla tijekom posljednjih desetljeća utjecali su globalizacija, inovacije, napredak u proizvodnji, distribucija i dostupnost znanstveno i stručno utemeljenih podataka o hrani uz podizanje svijesti o zdravoj prehrani. Prema podacima iz 2013. godine (FAO, 2016, 2017), konzumacija ribe čini 20% ukupne količine svakodnevno unesenih proteina životinjskoga podrijetla u petini svjetskog stanovništva tj. 3,1 milijardi ljudi. Izuzetak su Island, Japan, Norveška, Republika Koreja i male otočne države s visokim unosom ribe od 30 do 60 kg ribe po glavi stanovnika na godinu, gdje zbog okolišnih uvjeta nije moguća proizvodnja dostatnih količina namirnica životinjskoga podrijetla za osnovne potrebe, pa je hrana morskoga podrijetla temeljna prehrana stanovništva. Godine 2013. konzumacija hrane morskoga podrijetla u Hrvatskoj bila je na razini svjetskog prosjeka od 19 kg po glavi stanovnika (WHO, 2008; FAO, 2016). Morska riba konzumira se u prosjeku jednom na tjedan, a najčešće konzumirane vrste jesu oslić ili mol (*Merluccius sp.*), srdela (*Sardina pilchardus*), tune *(Thunnus spp.)*, orada (*Sparus aurata*) i brancin (*Dicentrarchus labrax*), od morskih glavonožaca lignje i hobotnica, a od školjkaša mediteranska dagnja (*Mytilus galloprovincialis*) (Čaldarović i sur., 2007; EUROFISH, 2017). Konzumacija hrane morskoga podrijetla, uključujući ribe, rakove, glavonošce i školjkaše u Hrvatskoj u usporedbi s državama u okruženju (Austrija, Slovenija i Mađarska), državama mediteranskog bazena (Španjolska, Portugal, Italija i Grčka) i državama u kojima se tradicionalno konzumiraju veće količine takve hrane (Švedska, Norveška, Japan i Island) prikazana je u Prilogu 1.

2.2. Nutritivna vrijednost morske ribe

Morska riba glavni je izvor višestruko nezasićenih masnih kiselina u prehrani ljudi. Omega-3 masne kiseline, eikozapentaenska (20:5 n-3; EPA) i dokozaheksaenska masna kiselina (22:5 n-3; DHA) nužne su za normalne funkcije i prevenciju bolesti srca i krvnih žila tako što inhibiraju sintezu citokina i mitogena, sprječavaju stvaranje krvnih ugrušaka (tromboze) i snižavaju razine triacilglicerida i lipida vrlo niske gustoće u krvi što smanjuje upalni odgovor (Connor, 2000). Nadalje, DHA je osnovni građevni sastojak sive moždane tvari i mrežnice. Nizak unos EPA i DHA prehranom povezuje se s nastankom upalnih procesa, usporenim razvojem ploda *in utero*, bolestima srca i krvnih žila te s povećanim rizikom za nastanak Alzheimerove bolesti (Swanson i sur., 2012). Dva su razloga zašto je nužno unositi EPA i DHA hranom morskoga podrijetla: 1) namirnice biljnoga podrijetla, uključujući biljne masti, ulja, žitarice,

orašasti plodovi i sjemenke, ne sadrže DHA; 2) u ljudskom organizmu ne mogu se sintetizirati dovoljne količine omega-3 masnih kiselina iz α-linolenske kiseline (18:3 n-3; ALA) unesene iz biljnih izvora (Innis, 2008). Biološka dostupnost i iskoristivost EPA i DHA u plazmi i krvnim stanicama je veća ako se unose hranom nego dodacima prehrani (FAO/WHO, 2010). Najbogatiji prehrambeni izvor EPA i DHA jesu masne ili plave vrste riba, primjerice skuša, losos, srdela i haringa, u kojima je sadržaj ukupnih masnoća veći od 10 g masti na 100 g namirnice. Nadalje, masne kiseline su najnestabilniji nutritivni sastojak ribe. Na sadržaj masnih kiselina i kakvoću ribljih proteina utječu način rukovanja ribom tijekom ulova, prijevoza i skladištenja, a u riba iz uzgoja i vrsta ishrane, uključivo suplementacija biljnim uljima ili izgladnjivanje ribe zbog pročišćavanja organizma, primjerice kod lososa. Do promjena u kvaliteti mesa ribe dolazi i tijekom obrade namirnice u industriji i kućanstvu (Tilami i Sampels, 2017).

Morska riba je vrijedan izvor visokoprobavljivih proteina. Pojedini peptidi i aminokiseline dostupni su u prehrani ljudi isključivo konzumiranjem ribe, jer ih mesa kopnenih životinja ne sadrže, primjerice metionin i lizin. Aminokiseline arginin i taurin iz ribe, slično omega 3-masnim kiselinama, snižavaju razine čimbenika nekroze tumora alfa (TNFα; eng. *tumor necrosis factor alpha*) i upalnih čimbenika, interleukina IL-6 i IL-1β kod poremećaja regulacije glukoze u osoba s metaboličkim sindromom, inzulinskom rezistencijom i dijabetesom tipa 2 (Tilami i Samples, 2017). Ribe sadrže i peptid kalcitonin koji je važan za očuvanje kvalitete koštanog tkiva. Tijekom razdoblja trudnoće i dojenja kalcitonin djeluje na stvaranje kalcitriola u bubrezima i zajedno imaju ulogu u obnovi koštane mase majke koja se prolazno smanjuje (naročito u kralješcima) zbog preraspodijele kalcija iz pohrana majčinog organizma u fetus (Felsenfeld i Levine, 2015). Kalcitonin lososa je do 50 puta učinkovitiji od ljudskog kalcitonina, pa se primjenjuje u liječenju postmenopauzalne osteoporoze, Pagetove bolesti i hiperkalcemije (Chesnut i sur., 2008). Ergokalciferol (D_2) i kolekalciferol (D_3) poznatiji kao vitamin D, važni su za homeostazu kalcija (Ca) i fosfora (P) u organizmu. Snižene koncentracije vitamina D_3 u serumu povezuju se s povećanim rizikom nastanka bolesti srca i krvnih žila, metaboličkih poremećaja regulacije glukoze u organizmu i neurodegenerativnih bolesti (Autier i sur., 2014). Kronično pomanjkanje vitamina D, uz nedostatak Ca, jedan je od glavnih čimbenika smanjenja gustoće koštanog tkiva i nastanka osteopenije i osteoporoze u osoba starije životne dobi, posebice u žena tijekom postmenopauze (EFSA NDA, 2016a). Vitamin D_3 u riba istovjetan je s vitaminom D u ljudi i ima do tri puta jači učinak od vitamina D_2 iz drugih namirnica (npr. jestivih gljiva). Koncentracije vitamina D_3 u ribama su u rasponu od 0,5 do 30 μg na 100 g mišićja ribe, sa znatnim razlikama između jedinki pojedine vrste, što ovisi o vrsti ishrane i količinama unesenog planktona (Lu i sur., 2007; Lund, 2013; Tilami i Samples, 2017).

Riba je dobar izvor esencijalnih makroelementa Ca i P koji su nužni za sastav kostiju i mišićnu aktivnost, izgradnju staničnih membrana i brojne metaboličke procese. Važan je izvor joda (I), esencijalnog elementa u ultra tragu koji ima važnu ulogu u funkciji štitne žlijezde kao sastavni dio

hormona štitnjače, za rast i razvoj ploda te za neurološki razvoj (EFSA NDA 2014a, 2015a). U ljudi je želučano-crijevna apsorpcija Ca iz sitnih riba koštunjača (u koje spadaju i srdele) vrlo slična onoj iz mlijeka i mliječnih proizvoda (Hansen i sur., 1998), a oni su, pored tamnozelenog lisnatog povrća, grahorica i orašastih plodova, glavni izvori Ca u prehrani. U usporedbi s mesom kopnenih životinja, hrana morskoga podrijetla sadrži dvostruko veće količine Ca i P. Zahvaljujući visokoj biološkoj dostupnosti, Ca iz ribljih kostiju pogodan je za obogaćivanje funkcionalne hrane i dodataka prehrani (Tilami i Samples, 2017). Unos mineralnih elemenata ribom znatno je veći ako se sitna riba konzumira s kostima (FAO, 2016). U opsežnom višegodišnjem istraživanju u Europi pod nazivom EPIC–Oxford (eng. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition–Oxford study*), utvrđen je veći unos Ca (oko 3 – 4%) u osoba koje u prehranu uključuju namirnice morskoga podrijetla u usporedbi s osobama koje pretežito konzumiraju namirnice životinjskog podrijetla (Sobiecki i sur., 2016).

Selen (Se) je esencijalni element u ultra tragu koji je nužan za antioksidacijsku zaštitu i imunitet, a pored I, važan je i za homeostazu hormona štitnjače te za reprodukcijsko zdravlje. Sastojak je 25 različitih selenoproteina, među kojima glutation peroksidaza ima najvažniju ulogu u zaštiti od oksidacijskog stresa, posebice u živčanom sustavu (Ralston i Raymond, 2010). Morska riba najbogatiji je proteinski izvor Se u prehrani s rasponom koncentracija od 0,063 do 0,632 μg Se/g mišićja ribe, pored jaja i mesa te žitarica ako su uzgojene na tlima bogatim Se. Naime, sadržaj i bioraspoloživost Se u namirnicama ovise o geokemijskim obilježjima tla (pH, vlažnost, salinitet, sadržaj sulfata te prisutnost različitih anorganskih i organski tvari u tlu), oksidacijskom stanju i kemijskom obliku Se sadržanog u tlu te klimatskim uvjetima, pa je stanje Se u određenoj skupini stanovništva odraz sadržaja Se u tlu. Primjerice, deficijencija Se u stanovništvu Finske izravno je povezana s niskom bioraspoloživosti Se iz tla (<0,05 μg/kg) i njegovim slabim protokom hranidbenim lancem čemu bi znatno mogao pridonijeti veći unos morske ribe (Navarro-Alarcon i Cabrera-Vique, 2008).

Hrana morskoga podrijetla također je izvor mikronutrijenata željeza (Fe), cinka (Zn) i bakra (Cu). Iako je pokazano da je unos tih mikroelemenata veći u osoba koje konzumiraju hranu životinjskoga podrijetla i žitarice u odnosu na osobe čija se prehrana temelji pretežito na ribi i/ili hrani biljnoga podrijetla (Sobiecki i sur., 2016), dokazano je da je riba bogati izvor hem-Fe, a školjkaši Zn i Cu. Glavna uloga Fe u ljudskom organizmu je u stvaranju hemoglobina i mioglobina, enzima citokroma i željezo-sumpornih redoks proteina koji imaju važnu ulogu u prijenosu elektrona, regulaciji homeostaze i enzimskoj katalizi. Anemija zbog smanjenih pohrana Fe u organizmu najčešća je deficijencija u svijetu, i u stanovnika nerazvijenih, i razvijenih država, a sva tri mikronutrijenta, Fe, Zn i Cu svojim međudjelovanjima imaju važnu ulogu u stvaranju krvnih elemenata (hematopoezi). Cink i Cu nužni su za stvaranje velikog broja enzima i hormona (Zn za inzulin, Cu za adrenalin) i esencijalni su elementi za rast te stvaranje vezivnog i koštanog tkiva (Piasek i Mikolić, 2009; Johnson, 2018).

2.3. Važnost unosa omega-3 masnih kiseline za zdravlje majke i potomka

Omega-3 masne kiseline su esencijalne za normalne funkcije živčanog sustava i razvoj mozga. Nakupljanje DHA u mozgu započinje tijekom prenatalnoga razdoblja što je najviše u posljednjem tromjesečju trudnoće (60 do 70 mg na dan) i nastavlja se do treće godine života (Williams i Burdge, 2006). Nedostatak DHA tijekom kritičnog razdoblja razvoja i sazrijevanja mozga tijekom fetalnog razvoja i ranog djetinjstva može nepovoljno utjecati na brojne fiziološke funkcije kao što su neurogeneza, metabolizam serotonina i dopamina, sinteza fosfolipida i prijenos u neuronima. Dugoročno može utjecati na spoznajne procese i ponašanje djeteta (Mahaffey, 2004; Innis, 2007a; Loomans i sur., 2014) te povećati rizik za nastanak epilepsije u ranom djetinjstvu (Sun i sur., 2011). Zato je izuzetno važno da žene tijekom reprodukcijskog razdoblja unose dovoljne količine omega-3 masnih kiselina, posebice tijekom trećeg tromjesečja trudnoće kada se odvija prenatalni razvoj mozga i fotoreceptora u očima (Connor, 2000). Nadalje, smatra se da EPA i DHA djeluju na sniženje razina prostaglandina E_2 i $F_{2\alpha}$ te posljedično smanjuju rizik od prijevremenog porođaja (Swanson i sur. 2012). Pokazano je da su razine DHA u krvi iz pupkovine bile povezane s trajanjem trudnoće i boljom oštrinom vida i psihomotoričkim napretkom djece u dobi od 11 mjeseci (Jacobson i sur., 2008). Iako i niska konzumacija ribe tijekom trudnoće od jedan puta unutar dva tjedna djeluje povoljno na prenatalni neurološki razvoj ploda (Daniels i sur., 2004), na testiranju spoznajnih sposobnosti veće ocjene postigla su djeca majki koje su tijekom trudnoće i/ili dojenja konzumirale hranu morskoga podrijetla više od dva puta na tjedan u količini >340 g (Hibbeln i sur., 2007). Prijenos DHA od buduće majke do ploda započinje *in utero* preko α-fetoproteina posteljice, a nakon rođenja majčinim mlijekom kada se dijete doji. Potonje ovisi o prehrani majke; uz veće izlučivanje DHA u majčinom mlijeku bit će veće koncentracije DHA u krvi dojenčeta. Koncentracije DHA u majčinom mlijeku iznosi do 1% ukupne mliječne masti, a najniže vrijednosti izmjerene su u veganki i vegetarijanki (Innis, 2007b, 2008; Oken, 2008b).

Suzdržavanje od konzumacije ili smanjenje unosa morske hrane, prvenstveno ribe, tijekom trudnoće može imati nepovoljne učinke na zdravlje majke i neurološki razvoj potomka zbog gubitka vrijednih nutrijenata, posebice omega-3 masnih kiselina. Stoga su donesene opće smjernice o konzumaciji ribe za žene tijekom reprodukcijskog razdoblja koje za području Europe uključuju preporuke unosa najmanje jednog do dva obroka ribe na tjedan te 250 mg EPA+DHA na dan za opće zdravlje majke i dodatnih 100 do 200 mg DHA na dan za neurološki razvoj potomka (EFSA NDA, 2014b).

2.4. Izvori izloženosti glavnim toksičnim elementima i njihovi štetni učinci na zdravlje

Mineralni elementi za koje nisu poznate uloge u fiziološkim funkcijama i biokemijskim procesima, a dokazani su štetni učinci za ljudsko zdravlje smatraju se toksičnim elementima. Toksični metali živa (Hg), kadmij (Cd) i olovo (Pb) su zbog visoke toksičnosti, široke rasprostranjenosti u okolišu i visokog stupnja raspoloživosti u ljudi svrstani među deset najtoksičnijih supstancija uopće (ATSDR, 2012; Nordberg i sur., 2015a). U općem stanovništvu najvažniji izvori izloženosti toksičnim metalima jesu hrana i pitka voda. Metali u ljudski prehrambeni lanac dospijevaju iz prirodnih izvora i, koš više, kao posljedica ljudskih djelatnosti, primarno povezanih s otpuštanjima iz industrijskih proizvodnji, gomilanjem otpada i njegovim spaljivanjem te uporabom fosilnih goriva i goriva iz otpada.

Bioraspoloživost elementa ovisi o njegovom kemijskom obliku (anorganski ili organski oblik i oksidacijsko stanje), putu izloženosti, međudjelovanju s drugim elementima i posebnim značajkama osobe koja dolazi u dodir s elementom, a to su dob, spol, stupanj uhranjenosti, posebno fiziološko stanje (trudnoća i dojenje), razna patofiziološka stanja i bolesti te genetsko i epigenetsko nasljeđe pojedinca (Piasek i Mikolić, 2009; Nordberg i sur., 2015b; Broberg i sur., 2015). Reprodukcijsko razdoblje žene obuhvaća vrijeme kada osoba planira trudnoću te razdoblje trudnoće i dojenja. S povećanim nutritivnim potrebama organizma za održanje trudnoće i razvoj fetusa, u želučano-crijevnom sustavu buduće majke povećava se izražaj crijevnih prijenosnika i veća je apsorpcija esencijalnih kao i toksičnih elemenata, kako je pokazano u istraživanjima u ljudi i na pokusnim životinjama (Vahter i sur., 2002, 2007; Dorea i Donangelo, 2006; Sulimanec, 2010). Zbog toga je u žena tijekom reprodukcijskog razdoblja povećan rizik od štetnih učinaka toksičnih metala. Nakon ulaska u organizam, toksični metali se u većoj ili manjoj mjeri nakupljaju u organima, a tijekom trudnoće prolaze kroz posteljicu i mogu ugroziti vijabilnost ploda te izazvati poremećaje razvoja ploda *in utero* s mogućim štetnim posljedicama i nakon rođenja, od kojih su najopasniji poremećaji razvoja neurološkog sustava (Grandjean i Landrigan, 2006; Sheehan i sur., 2014). Iako Cd prolazi kroz posteljicu u vrlo malom udjelu, nakuplja se u svim unutarnjim organima tijekom cijeloga života (najviše u jetri i bubregu), a tijekom trudnoće i u posteljičnom tkivu, te međudjeluje s esencijalnim elementima, prvenstveno Fe, Zn, Cu i Ca. Tako Cd može imati neizravne štetne učinke i remetiti prijenos tih nutrijenata do fetusa. Pored navedenoga, u uvjetima izloženosti Cd može se remetiti i sinteza hormona koji se stvaraju u posteljici i koji su nužni za održanje trudnoće, kako je pokazano za steroidni hormon progesteron te leptin (Piasek i sur, 2001, 2011; Stasenko i sur., 2010; Henson i sur., 2010).

Živa je u okolišu široko rasprostranjena i prisutna u elementarnom obliku (Hg^0), različitim anorganskim oblicima (Hg^{2+}, Hg_2^{2+}) i organskim oblicima. Metilživa (MeHg) smatra se najopasnijim organskim oblikom Hg za opće stanovništvo zbog izloženosti prehranom. Živa u atmosferu dospijeva iz

antropogenih izvora (npr. industrijskom emisijom i iz rudnika zlata) i isparavanjem tijekom erupcija vulkana u obliku Hg^0. Nakon toga pretvara se u anorganski oblik Hg^{2+} koji oborinama dospijeva u površinske vode, mora i oceane gdje ga mikrobi u sedimentu biotransformiraju u kemijski oblik MeHg i u takvom obliku ulazi u morske organizme koji su i dio ljudskog prehrambenog lanca. Pri tome se MeHg nakuplja i količine mu se povećavaju, što je opisano kao pojave bioakumulacije i biomagnifikacije MeHg (WHO/IPCS, 1990; Liu i sur., 2012). Morska riba najvažniji je izvor izloženosti MeHg zbog visokog sadržaja u mišićju (u pojedinih vrsta >1 mg/kg) i visokog stupnja želučano-crijevne apsorpcije MeHg u ljudi (80-100%). Nakon unosa u organizam, MeHg se unutar nekoliko dana raznosi krvlju do svih organa i tkiva, od kojih su ciljni organi mozak, jetra i bubreg, a tijekom trudnoće i posteljica. Kroz posteljicu Hg prolazi do fetusa u većoj ili manjoj mjeri, ovisno o kemijskom obliku, a MeHg prolazi gotovo u cijelosti (Bernhoft, 2012). U jetri se stvara kompleks MeHg i reduciranog glutationa koji se izlučuje u žuč, glutation se potom hidrolizira u aminokiseline sastavnice pri čemu se oslobađa kompleks MeHg-cistein, koji iz žučnog mjehura ulazi djelomice natrag u krvni optok, a djelomice se izlučuje u crijeva, pored nehidroliziranih kompleksa glutationa. Dolaskom u crijeva, kompleks MeHg-cistein se jednim dijelom reapsorbira u jetrenu cirkulaciju (tzv. enterohepatičkom recirkulacijom), a djelomice se demetilira crijevnom mikroflorom i stolicom se izlučuje demetilirani, anorganski oblik Hg^{2+}. Važno je naglasiti da se tako fiziološki smanjuje opterećenost organizma MeHg, visokotoksičnim organskim oblikom Hg, odnosno da dolazi do njegove detoksikacije, što je jedan od glavnih razloga da se osobe s prehranom u kojoj je često ili pretežito zastupljena riba sustavno ne truju tim metalom (Clarkson i Magos, 2006).

Toksičnost MeHg po prvi puta je prepoznata 1950.-ih godina u Minamati (Japan) gdje je u trudnica zbog konzumacije ribe onečišćene visokim koncentracijama MeHg došlo do cerebralne paralize u najmanje 30-oro novorođene djece, a u izloženih majki bile su male ili nikakve štetne posljedice. Slično se dogodilo 1972. godine u Iraku kada je sjemenska pšenica tretirana fungicidom koji je sadržavao MeHg, umjesto da je zasijana, samljevena i upotrijebljena za proizvodnju kruha što je dovelo do otrovanja nekoliko tisuća osoba. Pri tome su ponovno najozbiljniji učinci bili u djece zbog povećane osjetljivosti mozga u razvoju (opisano u: Trasande i sur., 2005). Zbog visokog afiniteta za tiolne (-SH) skupine, MeHg može remetiti sintezu raznih proteina i makromolekula, utjecati na nestabilnost mikrotubula i remetiti razine unutarstaničnog Ca^{2+} te dovesti do oštećenja receptora živčanih stanica (Syversen i Kaur, 2012). U odraslih osoba, povišena izloženost MeHg povezuje se i s poremećajima rada srca i bolestima srca i krvnih žila. Nefrotoksični učinci češći su zbog povećane izloženosti anorganskoj Hg, a neurotoksični učinci zbog izloženosti MeHg. Već je naprijed istaknuto da je potonje naročito opasno ako se događa perinatalno, tijekom razdoblja razvoja i sazrijevanja mozga, koje počinje

u zadnjem tromjesečju trudnoće i traje nakon rođenja do treće godine života (Oken i sur., 2012; Karagas, 2012; Mahaffey i sur., 2011; Rice i Barone, 2000).

Povećana konzumacije ribe tijekom trudnoće, a posebice tijekom zadnjeg tromjesečja trudnoće povezuje se sa zdravstvenim poremećajima opaženima u djece tijekom prve tri godine života kao što su smetnje u razvoju govora, poremećaji pažnje i pamćenja te smanjena motorika (Oken i sur, 2005; Jedrychowski i sur., 2006; 2007; Oken i sur, 2008a-b). Mogući neurotoksični učinci izloženosti visokim koncentracijama MeHg ispoljavaju se i kao niži kvocijent inteligencije, otežano svladavanje zadaća i zaostajanje napredovanja tijekom školske dobi što sve može dugoročno negativno utjecati na socioekonomsko stanje u određenoj zajednici (Trasande i sur., 2005, Bellanger i sur., 2013). Od kraja sedamdesetih do devedesetih godina prošloga stoljeća provedeno je nekoliko opsežnih epidemioloških istraživanja s primjenom sofisticiranih metoda u skupinama odraslih i djece u stanovništvima koja redovito konzumiraju velike količine hrane morskoga podrijetla, uključujući ribe. Takva istraživanja provedena na Farojskom otočju i Sejšelima, u Kanadi (u Kri Indijanaca), Novom Zelandu, Peruu i bazenu Amazone bila su usredotočena na prenatalnu izloženost djece i moguće toksične učinke MeHg na mozak u razvoju s praćenjem neuroloških i psihičkih pokazatelja nakon rođenja do školske dobi. Nisu dobiveni ujednačeni rezultati kao ni čvrsti dokazi da niske do srednje razine izloženosti MeHg majčinom prehranom pridonose neurorazvojnim poremećajima u potomaka (opisano u: Myers and Davidson, 2000). Stoga se nastavljaju istraživanja i znanstvene rasprave o koristi i štetnosti konzumacije ribe za zdravlje žene tijekom reprodukcijske dobi, posebice tijekom reprodukcijskog razdoblja, zbog mogućih štetnih učinaka izloženosti majke tijekom trudnoće i dojenja na razvoj potomka *in utero* koji mogu ostaviti trajne štetne posljedice zbog perinatalne izloženosti (Mahhafey i sur., 2011; Karagas i sur., 2012; Ha i sur., 2017).

Multicentričnim epidemiološkim kohortnim istraživanjima u Španjolskoj, gdje je zastupljena pretežito mediteranska prehrana, pokazano je da je povećana perinatalna izloženost MeHg bila najviše povezana s majčinom konzumacijom ribe (Ramon i sur., 2008, 2011). Količina MeHg u ribama ovisi o stupnju onečišćenja okoliša te ishrani, metabolizmu i životnom vijeku vrste. Dugoživuće i krupne vrste riba grabežljivica kao što su sabljarka i morski pas imaju visoke količine Hg u mišićju (≥1 mg/kg) što je i do nekoliko desetaka puta više od količina Hg u mišićju sitnih riba (npr. skuša, srdela) (Mozaffarian i Rimm, 2006; Chen i sur., 2008; Mahaffey i sur., 2011; EFSA CONTAM, 2012b). Zbog iznimno visokog afiniteta Hg za Se, oni se vežu u slabo topljivi, metabolički inertan kompleks živin selenid (HgSe; konstanta stabilnosti 10^{45}) čime se smanjuje dostupnost Se za njegovu ugradnju i aktivnost esencijalnih selenoenzima. Ako je omjer Hg i Se manji od 1:1 dolazi do antagonističkog (zaštitnog) djelovanja Se na

toksičnost Hg. Unutarstanični suvišak Se moguće je postići konzumacijom ribe koja ima visoke količine Se čime se istodobno smanjuju i mogući štetni učinci MeHg iz iste vrste ribe (Ralston i Raymond, 2010).

Prisutnost metala u namirnicama biljnoga podrijetla, a posljedično time i u životinjskim namirnicama, u najvećoj mjeri ovisi o dostupnosti metala iz tla i površinskih voda. Usjevi iz tla apsorbiraju hranjive tvari potrebne za rast biljke (Se), ali i toksične metale (Cd, Pb) čiji se sadržaj povećava ako je tlo bilo obogaćivano fosfatnim gnojivima i kanalizacijskim muljem. Toksični metali nakupljaju se u korijenu i gomolju te rasprostranjuju u listove i plodove biljke. Prehrana je primarni izvor Cd u osoba koje ne puše cigarete i čini 90% unosa Cd u općem stanovništvu. Najčešći izvori izloženosti Cd prehranom jesu riža i pšenica (osobito neoljušteno zrnje), lisnato povrće, krumpir i jestive gljive, morski mekušci, školjkaši i ribe iz onečišćenih površinskih voda, mora i oceana te iznutrice stoke ukoliko su polja za ispašu bila onečišćena s Cd (Piasek, 2010; Pan i sur., 2010; EFSA CONTAM, 2012a). Apsorpcija Cd u crijevima vrlo je niska (prosječno oko 3 do 5% u odraslih osoba, izvan razdoblja trudnoće i dojenja). Za razliku od toga, apsorpcija Cd u plućima iz duhanskog dima višestruko je viša (40 do 60%), pa je pušenje cigareta najvažniji izvor unosa Cd u pušača. Pušenjem jedne cigarete udiše se 0,1 do 0,2 μg Cd i aktivni pušači imaju 2 do 3 puta veći unos Cd na dan te 4 do 5 puta veće koncentracije Cd u krvi nego nepušači (Järup i Åkesson, 2009; Piasek i sur., 2011). Dugotrajna izloženost Cd može uzrokovati ili pridonijeti razvoju kroničnih bubrežnih bolesti, povišenog krvnog tlaka, upala desni, zloćudnih bolesti (raka pluća, štitnjače, bubrega, mokraćnog mjehura, dojki i prostate te leukemije) i, zbog povećanog gubitka koštane mase, ubrzati osteomalaciju odnosno osteoporozu (opisano u: Chedrese i sur., 2006; Satarug i sur., 2010).

Žene tijekom reprodukcijskog razdoblja i mala djeca su ranjive skupine stanovništva jer imaju povećane fiziološke potrebe za hranjivim tvarima zbog fizioloških gubitaka i prijenosa u plod odnosno rasta i razvoja djeteta. Česte su deficijencije esencijalnih mineralnih elementa, naročito Ca, Fe i Zn, pa zbog homeostaze nastaje njihova povećana želučano-crijevna apsorpcija, ali istodobno dolazi i do povećane apsorpcije toksičnih elemenata iz hrane, uključujući i Cd, koji s njima međudjeluje (Piasek i Mikolić, 2009; Sulimanec, 2010; Mikolić i sur., 2016, 2017). Takva međudjelovanja odvijaju se tijekom želučano-crijevne apsorpcije (gdje se elementi natječu za vezna mjesta na zajedničkim prijenosnicima), nakon ulaska elemenata u organizam, u unutarnjim organima, jetri i bubrezima, a tijekom trudnoće i u posteljici. Pri tome je uključeno vezanje na metaloprotein metalotionein koji elemente prenosi u organizmu i čiju sintezu inducira prisutnost elemenata, najviše Zn i Cd, ali i drugih. Štetni perinatalni učinci Cd u uvjetima dugotrajne (kronične) izloženosti mogu nastati neizravno zbog manje dostupnosti esencijalnih elemenata „zarobljenih“ u unutarnjim organima, jetri, bubregu i posteljici, vezanih za metalotionein, čiju je povećanu sintezu izazvala izloženost i unos Cd, pa je moguć smanjeni posteljični

prijenos mikronutrijenata nužnih za razvoj ploda *in utero* i nakon rođenja (Brzóska i Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Piasek i sur., 2004; Kippler i sur., 2010; Mikolić i sur., 2015).

Olovo može dospjeti u hranu i vodu za piće u povećanim količinama iz keramičkog i kristalnog posuđa ako nije nadzirano te iz starih olovnih vodovodnih cijevi (ako se radi o mekoj pitkoj vodi), a može se pronaći i u nenadziranim pripravcima ljekovitog bilja i dodacima prehrani (Piasek, 2010). To je toksični metal koji može imati štetne učinke na praktički sve sustave organa i funkcije, a posebice krvotvorni, bubrežni i živčani sustav, središnji i periferni. Olovo je jedna od najotrovnijih supstancija za djecu. U državama u kojima se još uvijek upotrebljavaju olovne boje za premazivanje na kućama kao i četvrtima sa starim kućama gdje živi stanovništvo lošeg socioekonomskog stanja (kako je opisano u SAD-u i Australiji), pored izloženosti onečišćenom (mekom) pitkom vode iz starih olovnih cijevi, opasne su i onečišćene čestice prašine i zemlje ostacima oljuštenih premaza drvenih kuća zbog sklonosti male djece da stavljanju u usta različite nejestive stvari (naročito ako imaju poremećaj tzv. pika). U međudjelovanju s esencijalnim elementima Zn, Cu i Se, Pb ometa njihovu zaštitnu ulogu u organizmu i potiče nastanak oksidacijskog stresa što može dalje voditi do toksičnih učinaka. Dobro je poznato da Pb remeti sintezu hemoglobina tako što sprječava ugradnju Fe u njegovu molekulu, a štetnim učincima na stanične membrane eritrocita skraćuje njihov životni vijek (koji normalno traje 120 dana); obje vrste hemotoksičnih učinaka Pb dovode do raznih stupnjeva anemije. Nadalje, Pb štetno djeluje na reprodukcijske funkcije obaju spolova; izloženost povećanim koncentracijama smanjuje libido, remeti spermatogenezu i menstrualni ciklus, smanjuje plodnost i može izazvati spontani pobačaj ili prerani porođaj. Pored toga, sve je više dokaza da Pb i pri malim dozama može štetno djelovati kao tzv. endokrini disruptor ili hormonski otrov, slično kao što to mogu i Cd, i Hg. Budući da Pb prolazi gotovo u cijelosti posteljičnu prepreku, može dospjeti do fetusa i izravno štetiti rastu i razvoju nerođenog djeteta ili uzrokovati štetne učinke koji će se ispoljiti nakon rođenja (Dorea i Donangelo, 2006; Castro-González i Méndez-Armenta, 2008; Henson i sur., 2010; Pichery i sur. 2011).

Polumetal As prirodno je prisutan u cjelokupnom okolišu (tlo, vode, biljke i morske alge) u različitim kemijskim oblicima i oksidacijskim stanjima (-3, 0, +3 i +5) od kojih je najtoksičniji i za ljude najopasniji anorganski oblik As (iAs). U osoba izloženih iAs na radnom mjestu mogu nastati maligne bolesti, rak kože, pluća i mokraćnog mjehura. Na područjima gdje je As zastupljen u velikim količinama zbog geokemijskog sastava tla, kao što su Bangladeš, Indija, Kina, Mongolija, Vijetnam, Argentina, Čile, Kanada, SAD, a od europskih država Finska, Mađarska i Rumunjska te dijelovi Hrvatske na području bivše Panonske nizine, glavni izvori izloženosti općeg stanovništva iAs jesu voda za piće te usjevi i biljke koji dolaze u dodir s tako onečišćenom vodom, riža, zob i pojedine vrste gljiva (EFSA CONTAM, 2009; Fowler i sur., 2017). Namirnice morskoga podrijetla koje nakupljaju i sadrže najviše količine iAs

jesu smeđe alge, *Hizikia fusiformis* (>60 mg/kg) i plave školjke, *Mytilus edulis* (do 4,5 mg/kg). Osobe koje često konzumiraju morske trave i alge te djeca u područjima gdje je riža osnovna prehrambena namirnica posebno su ugrožene skupine za moguće toksične učinke iAs (van de Wiele i sur., 2015; Molin i sur., 2015). Površinske vode, uključujući vodu za piće, pripremu hrane i natapanje usjeva, sadrže do 200 μg iAs /L. U Hrvatskoj, na području Osječko-baranjske i Vukovarsko-srijemske županije, koncentracije iAs u površinskim vodama veće su od najveće dopuštene koncentracije za As u vodi za piće od 10 μg As/L (Ćavar i sur., 2005; Habuda-Stanić i sur., 2007; Ujević i sur., 2010). Dugotrajna izloženost povišenim koncentracijama iAs vodom za piće povezana je s nastankom oštećenja kože, malignim bolestima, poremećajima bubrežne funkcije i bubrežnim, srčanim i krvožilnim bolestima te mogućim poremećajima metabolizma glukoze i nastankom dijabetesa tipa 2 (EFSA CONTAM, 2009). Hrana morskoga podrijetla glavni je prehrambeni izvor izloženosti ljudi organskom As, morska riba primarno arsenobetainu za koji nisu dokazani toksični učinci, a morske trave i alge arsenošećerima i arsenolipidima čija se toksičnost tek u najnovije vrijeme istražuje. Razlog visokog sadržaja arsenobetaina u morskim organizmima, izuzev algi, je njegova strukturna sličnosti s glicin betainom, važnim sastojkom u održavanju osmotske ravnoteže u morskim organizmima u uvjetima promjenjivog saliniteta okoliša. Arsenobetain se metabolički nepromijenjen izlučuje mokraćom i nije štetan za zdravlje ljudi. Anorganski As kao i metaboliti arsenošećera i arsenolipida (npr. dimetilarsinat) jesu mogući kancerogeni kože i mokraćnog sustava, kako je pokazano u ljudi i istraživanjima na laboratorijskim životinjama (IARC, 1987; Yamamoto i sur., 1995; Wanibuchi i sur., 2004).

U tablici 1 prikazan je pregled dostupnih podataka o procijenjenoj izloženosti općeg stanovništva toksičnim elementima Hg i MeHg, Cd, Pb i As te vrijednosti dopuštenog tjednog unosa za pojedini element u stanovništvu Europe i svijeta objavljeni u izvješćima Zajedničkog stručnog odbora za aditive u hrani Organizacije za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda i Svjetske zdravstvene organizacije (*The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives,* JECFA) i radne skupine za onečišćivače u prehrambenom lancu (*The Panel on Contaminants in the Food Chain*, CONTAM) Europske agencije za sigurnost hrane (*European Food Safety Authority*, EFSA).

Tablica 1.
Unos glavnih toksičnih elemenata (Hg, MeHg, Cd, Pb i As) hranom i pitkom vodom uz vrijednosti podnošljivog unosa za te elemente prema procjenama radnih skupina FAO/WHO i EFSA.

	Hg	**MeHg**	**Cd**	**Pb**	**As**
Procijenjeni unos µg/kg TM na dan					
- Odrasli	0,07 do 5,81* 0,07 do 1,75**	0,1 do 2,0	0,07 do 0,4	0,02 do 3	0,21 do 0,61 (do 3)#
- Djeca (do 12 god.)			0,13 do 0,68	0,03 do 9	0,03 do 1,39#
- Vegetarijanci			0,76	/	/
Podnošljiv unos µg/kg TM na tjedan	4#	1,6	5,8	5,8	/
FAO/WHO JECFA dokument (godina)	(2011a)	(2006)	(2011b)	(2011b)	(2011a)
Procijenjeni unos µg/kg TM na dan					
- Odrasli	0,26 do 0,53#	0,07do1,08	0,16 do 1,73	0,36 do 2,43	0,13 do 1,22
- Dojenčad	0,17 do 1,94#	0,09 do 0,94		0,21 do 0,94	0,50 do 2,66
- Djeca (1 do 7 god.)	0,59 do 1,13#	0,14 do 1,49		0,80 do 4,83	/
Podnošljiv unos; µg/kg TM na tjedan	4#	1,3	2,5	/	/
EFSA CONTAM dokument (godina)	(2012b)	(2012b)	(2012a)	(2010)	(2009)

*ukupna Hg; **unos hranom morskoga podrijetla (MeHg); #anorganski oblik (Hg^{2+}, iAs); TM - tjelesna masa.
FAO/WHO JECFA – Zajednički stručni odbor za aditive u hrani Organizacije za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda i Svjetske zdravstvene organizacije.
EFSA CONTAM – Radna skupina za onečišćivače u prehrambenom lancu Europske agencije za sigurnost hrane.

2.5. Smjernice konzumacije ribe u žena tijekom reprodukcijskog razdoblja s obzirom na rizike za zdravlje buduće majke i potomka zbog izloženosti metilživi u ribi

Postojeće prehrambene smjernice za konzumaciju ribe u Europi i u svijetu za žene tijekom reprodukcijskog razdoblja razlikuju se od jednostavnih i lako pamtljivih do vrlo složenih s obzirom na količine i vrstu ribe koje se preporučuju za konzumaciju, kao i fiziološka stanja u kojima se žena nalazi tijekom navedenoga razdoblja (tablica 2). U Francuskoj i Ujedinjenom Kraljevstvu za trudnice i dojilje definirana je veličina obroka u gramima (150 g) na tjedan za određene vrste ribe, u usporedbi s Italijom, Irskom i Švedskom, gdje se konzumacija ribe preporučuje prema učestalosti serviranja (na tjedan, mjesec odnosno godinu) bez jasno definirane veličine obroka. Za razliku od Norveške gdje su smjernice za unos ribe namijenjene isključivo trudnicama, u Ujedinjenome Kraljevstvu i Kanadi preporuke su definirana za svaki od tri stanja tijekom reprodukcijskog razdoblja, tj. pripreme za trudnoću, trudnoća i dojenje (Taylor i sur., 2018).

Američka Agencija za zaštitu okoliša (US EPA) u suradnji s američkom Agencijom za hranu i lijekove (FDA) tijekom 2017. godine revidirala je preporuke o konzumaciji ribe za žene u dobi kada su sposobne za rađanje (16 do 49 godina) te za malu djecu (US EPA/FDA, 2017). Preporučuje se konzumacija od 2 do 3 obroka raznovrsnih riba na tjedan za žene reprodukcijske dobi, posebice za trudnice i dojilje te jedan do 2 obroka na tjedan za malu djecu u dobi 4 do 7 godina. Smjernice definiraju i količinu pojedene ribe u gramima po obroku: 113 g za žene i 56 g za djecu. Naznačene su i vrste ribe prema prihvatljivosti unosa na tjedan: 1) najbolji izbor za 2 do 3 obroka na tjedan; 2) dobar izbor za jedan obrok na tjedan; 3) vrste riba čiji je unos potrebno izbjegavati zbog visokog sadržaja Hg.

Količine konzumirane ribe u gramima po obroku definirane su smjernicama i u Australiji i Novom Zelandu, 150 g ribe i 95 g konzervirane ribe za odrasle osobe uključujući trudnice te 75 g ribe po obroku za djecu, s unosom 2 do 3 puta na tjedan za cjelokupno stanovništvo. Nadalje, ograničena je konzumacija morskog psa i sabljarke jednim obrokom na tjedan za sve, a somovki i Atlantskog zrclara do jedan obrok na tjedan za trudnice i malu djecu (FSANZ, 2011). U Japanu, trudnicama je ograničena konzumacija mesa kitova i dupina do najviše 2 obroka (od 80 g) na mjesec, a sabljarke, alfonsina, tunja i velikooke tune 80 g na tjedan (PAFSC, 2005). U europskim državama u kojima se tradicionalno konzumiraju veće količine hrane morskoga podrijetla ograničen je unos krupnih riba grabežljivica (sabljarka, morski pas, iglan, sluzoglavka, morska pastrmka, štuka, raža i druge) do 100 g na tjedan i tune na 2 obroka na tjedan za žene u reprodukcijskom razdoblju i malu djecu (HEAL/HCWH, 2006).

Preferencije potrošača, nejednaka dostupnost namirnica morskoga podrijetla i onečišćenost vodenog okoliša na lokalnim razinama, samo su neki od razloga neujednačenosti u sadržaju prehrambenih smjernica za konzumaciju ribe u Europi i u svijetu (tablica 2).

Tablica 2.
Razlike u prehrambenim smjernicama za konzumaciju ribe u žena tijekom reprodukcijskog razdoblja s obzirom na moguće opasnosti izloženosti metilživi iz ribe na zdravlje buduće majke i njenog potomstva (prema: Taylor i sur., 2018).

Karakteristike prehrambenih smjernica		Država
Konzumacija morske ribe		
do nekoliko puta na tjedan	Razne vrste riba	
	2 puta	Irska, Island, Francuska, Njemačka, Nizozemska
	2 do 3 puta	Finska, Norveška, Švedska
	3 do 4 puta	Španjolska, Italija
	350 g	Danska
	najmanje 150 g termički obrađene ribe	Kanada
	2 do 3 serviranja; 113 g po obroku	SAD
1 x na tjedan	tune raznih vrsta i ribe specifične za prehranu u pojedinoj državi	Danska, Finska, Francuska, Irska, Island, Japan, Norveška, Njemačka, Španjolska, SAD, Ujedinjeno Kraljevstvo
1 x na mjesec	morski pas, iglan, sabljarka, tuna (svježa i smrznuta) i druge	Kanada, Australija i Novi Zeland
2 – 3 x na godinu	morski pas, raža, sabljarka, tuna (svježa i smrznuta) i druge	Švedska
ne konzumirati	sabljarka, morski pas, iglan, somovke, atlantski zrclar, velikooka tuna, kraljevska skuša	Danska, Finska, Francuska, Irska, Island, Izrael, Norveška, Njemačka, SAD, Španjolska, Ujedinjeno Kraljevstvo,
Veličina obroka	80 g	Japan
	113 g	SAD
	125 g	Danska
	140 g termički obrađene ribe	Ujedinjeno Kraljevstvo
	150 g termički obrađene ribe	Australija i Novi Zeland, Kanada, Norveška
Skupina kojoj je namijenjena	žene u dobi 16 do 49 godina, posebice trudnice i dojilje	SAD
	žene koje planiraju trudnoću, trudnice i dojilje	Australija i Novi Zeland, Danska, Ujedinjeno Kraljevstvo
	trudnice i dojilje	Finska, Francuska, Italija
	trudnice	Irska, Island, Izrael, Japan, Nizozemska, Norveška, Njemačka, Španjolska, Švedska

Prehrambene smjernice trebale bi biti pregledne, lako pamtljive i na odgovarajući način predstavljene javnosti kako bi potaknule osobe na stjecanje pravilnih prehrambenih navika odnosno svjesnosti o lošim navikama te bile poticajne za usvajanje pravilnih obrazaca prehrane sa svrhom očuvanja zdravlja i prevencije mogućih zdravstvenih poremećaja i bolesti.

3. MATERIJALI I METODE

3. MATERIJALI I METODE

Za sva prethodno provedena istraživanja na koja su nastavljena istraživanja sadržana u doktorskom radu dobivene su potrebne suglasnosti nadležnih Etičkih povjerenstva i sve to konačno je razmatralo i potvrdilo Etičko povjerenstvo Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

3.1. Ciljevi i plan istraživanja

Plan istraživanja sadržavao je sljedeće točke:

1. Izdvojiti podatke o zdravim rodiljama kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske dobivene anketnim upitnicima o prehrambenim navikama, posebice o unosu hrane morskoga podrijetla;
2. Uporabom rezultata analiza metala u krvi i serumu majke, a djelomice i u kosi, procijeniti stanje toksičnih i esencijalnih elemenata u rodilja te zajedno s nalazima elemenata u krvi pupkovine procijeniti stanje elemenata u prenatalno izloženih potomaka s obzirom na razlike prehrambenih navika stanovništva u kontinentalnom i priobalnom dijelu Hrvatske;
3. Provesti kemijsku karakterizaciju najčešće konzumiranih vrsta hrane morskoga podrijetla usredotočeno na masne kiseline i esencijalne i toksične mineralne elemente;
4. Procijeniti i usporediti unos nutrijenata i štetnih toksičnih metala i polumetala morskom hranom u zdravih rodilja iz kontinentalne i priobalne Hrvatske;
5. Procijeniti nutritivnu korist i opasnost izloženosti toksičnim elementima najčešće konzumiranim namirnicama morskoga podrijetla u rodilja.

3.2. Ispitanice

U istraživanje su bili uključeni podaci i rezultati zdravih rodilja iz dva geografska područja u Hrvatskoj:

a) **ispitanice iz kontinentalnog dijela**

– ispitanice koje su rodile u Kliničkoj bolnici Merkur u Zagrebu:
skupina Zagreb (A), n = 197 ispitanica (rodile tijekom 2007./2008. godine)

b) **ispitanice iz priobalnog područja**

– ispitanice koje su rodile u Općoj bolnici Zadar:
skupina Zadar (B), n = 96 ispitanica (rodile tijekom 2010. godine)
skupina Zadar (C), n = 107 ispitanica (rodile tijekom 2012./2013. godine)

Kriterij za uključivanje u istraživanje bile su zdrave žene bez komplikacija u trudnoći, s jednoplodnom trudnoćom i rodničkim ročnim porođajem (37.- 42. tjedan trudnoće). Razgovor s ispitanicama obavile su suradnice na znanstvenom projektu (MZOS br. 022-0222148-2135) uz pomoć medicinskog osoblja u rodilištima suradnih ustanova. Ispitanice su bile upoznate sa sadržajem istraživanja i svaka ispitanica potvrdila je svoje sudjelovanja i dozvolu upotrebe osobnih podataka i rezultata te uzimanje bioloških uzoraka za analize planirane istraživanjem. Zajamčena je zaštita privatnosti izvora podataka i uzoraka tijekom svih faza istraživanja i objavljivanja rezultata tako da je svakoj ispitanici dodijeljen jedinstveni kod kojim su označavani podaci iz anketnih upitnika, biološki uzorci i izmjereni rezultati.

3.3. Razvrstavanje podataka o navikama prehrane – anketni upitnici

Podaci za istraživanja razvrstani su prema vrsti anketnih upitnika upotrijebljenih u prikupljanju podataka o unosu hrane morskoga podrijetla u ispitanica – zdravih rodilja tijekom istraživanja na projektu.

U **prvom dijelu** istraživanja (Sekovanić, 2018; Sekovanić i sur., 2018) obuhvaćene su ispitanice iz skupine Zagreb (A) i skupine Zadar (B). Anketni upitnik sadržavao je sljedeća pitanja o navikama konzumiranja hrane morskoga podrijetla:

1. vrsta prehrane: *miješana, vegetarijanska, vegetarijanska+jaja, vegetarijanska+jaja+mliječni proizvodi, makrobiotička;*
2. učestalost konzumacije (na tjedan / mjesec) morske ribe, školjki i konzervirane ribe.

U **drugom dijelu** istraživanja (Grzunov Letinić, 2014; Grzunov Letinić i sur., 2016) obuhvaćene su ispitanice iz skupine Zadar (C). Anketni upitnik bio je detaljan i izvorno kreiran (Prilog 2), temeljen na prethodno rabljenom obrascu koji je nadopunjen ciljanim pitanjima o učestalosti konzumacije hrane morskoga podrijetla (prema kategorijama i vrsti hrane) i procjenama veličina obroka na temelju fotografija posebno pripremljenih kvantitativnih modela obroka pojedinih vrsta hrane (Prilog 3). Vrste riba i morskih plodova koje su uvrštene u anketni upitnik bile su odabrane prema podacima istraživanja preferencija hrane morskoga podrijetla u stanovništvu Republike Hrvatska što su za potrebe Ministarstva poljoprivrede proveli Čaldarović i suradnici (2007). Anketni upitnik sadržavao je ova pitanja:

1. vrsta prehrane: *miješana (zastupljene namirnice i biljnog i životinjskog podrijetla); vegetarijanska (zastupljene namirnice samo biljnog podrijetla); vegetarijanska+jaja, vegetarijanska+jaja i mliječni proizvodi, makrobiotička*;
2. učestalost konzumacije žitarica, svježeg povrća i iznutrica (*na dan/tjedan/mjesec/godinu ili ne jede*);
3. učestalost konzumacije hrane morskoga podrijetla prema kategorijama i vrsti: morska riba plava (*srdela, i drugo*), morska riba bijela (*oslić, brancin, orada, i drugo*), školjkaši i mekušci (*dagnje, kozice, lignje, i drugo*), konzervirana riba (*sardina, skuša, tuna*), i drugo (*škampi, i drugo*);
4. mjesto nabave hrane (*ribarnica / tržnica / trgovina*) i svježina proizvoda (*svježa / zamrznuta*);
5. konzumacija posljednjeg obroka koji je sadržavao hranu morskoga podrijetla (24 h/ 48 h/ na tjedan)

3.4. Procjena stanja elemenata u organizmu s obzirom na glavne izvore unosa i izloženosti

Za procjenu utjecaja konzumacije hrane morskoga podrijetla na stanje elemenata u organizmu rodilje i njenog potomka upotrijebljeni su nalazi koncentracija esencijalnih elemenata Ca, Fe, Cu, Zn i Se, toksičnih metala Hg, Cd i Pb te polumetala As u biološkim uzorcima majke (kosi, punoj krvi i/ili serumu) i ploda (krv iz pupkovine). To su bili rezultati multielementnih analiza koje su provedene u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta (MZOS br. 022-0222148-2135) (Grzunov Letinić i sur. 2016; Sekovanić i sur., 2018, 2019).

Tijekom procjene utjecaja konzumacije hrane morskoga podrijetla na stanje elemenata u organizmu rodilje i njenog potomka vodilo se računa o sljedećim spoznajama: 1) glavni izvor izloženosti svim mineralnim elementima je prehrana, hrana i pitka voda; 2) u pušača cigareta glavni izvor izloženosti Cd, Pb i iAs je dim cigarete; 3) u hrani morskoga podrijetla u najvećem udjelu nalazi se organski oblik As, arsenobetain, koji je netoksičan u usporedbi s iAs (Piasek, 2001; Piasek i sur., 2010). Pored nekoliko tisuća štetnih kemijskih sastojaka, duhanski dim sadrži i oko 30 metalnih iona, među kojima su od toksičnih metala i polumetala najzastupljeniji Cd, Pb i iAs, a koji imaju dokazana i kancerogena svojstva. Toksični elementi dospijevaju u organizam ingestijom i/ili inhalacijom, pri čemu je apsorpcija u krv preko dišnog sustava do nekoliko desetaka puta veća nego nakon ingestije u želučano-crijevnom sustavu.

Tijekom trudnoće, toksični metali mogu prolaziti kroz posteljičinu prepreku gotovo u cijelosti (Pb i MeHg) ili se pretežito nakupljaju u posteljičinom tkivu (Cd) pa se, ovisno o tome, u većoj ili manjoj mjeri prenose u plod. Stanje esencijalnih i toksičnih elemenata nakon porođaja moguće je analitički precizno određivati u biološkim uzorcima majke (u kosi, krvi, serumu i drugim uzorcima) te u krvi iz pupkovine gdje pokazuju stanje elemenata u potomku zbog izloženosti majke. U procjenama izloženosti i unosa elemenata stoga je važno utvrditi životne navike svakog ispitanika/ce, što znači da pored prehrambenih navika treba utvrditi i navike pušenja cigareta. U istraživanjima u sklopu kojih su provedena istraživanja sadržana u ovom doktoratu, za sve ispitanice bili su prikupljeni detaljni podaci o navikama pušenja i prema tim podacima ispitanice su bile svrstane u podskupine (Piasek i sur., 2001, 2011):

- „nepušačice“ ispitanice koje nisu nikad pušile cigarete i one koje su prestale pušiti više od 12 mjeseci prije trudnoće iz koje su prikupljeni podaci i biološki uzorci za istraživanja;
- „pušačice“ ispitanice koje su pušile bilo kada tijekom i/ili prije trudnoće, unutar 12 mjeseci od sadašnje trudnoće iz koje su prikupljeni podaci i biološki uzorci za istraživanja.

Takvo razvrstavanje je važno jer pušenje cigareta u biološkim uzorcima pušačica i njihovih potomaka pridonosi značajnom povećanju koncentracija toksičnih metala Cd i Pb te može utjecati na ukupan As pa je procjenu utjecaja prehrane na koncentracije Cd, Pb i As najbolje provesti u osoba koje ne puše cigarete. Pušenje cigareta praktički nema utjecaja na koncentracije ukupne Hg, jer duhanski dim sadrži jako malo Hg. Također, toksični metali međudjeluju i s esencijalnim elementima koji se tijekom trudnoće prenose kroz posteljicu u fetus, pa je utjecaj prehrane najbolje procjenjivati u krvi (ili serumu) iz pupkovine potomaka ispitanica koje su nepušačice. Stoga su u ovom istraživanju koncentracije Cd, Pb i As u krvi majke i krvi iz pupkovine te koncentracije esencijalnih elemenata u krvi iz pupkovine iskazane samo u podskupinama nepušačica.

3.5. Prikupljanje uzoraka riba

U svrhu procijene unosa nutrijenata i toksičnih metala i polumetala hranom morskoga podrijetla u zdravih rodilja u Hrvatskoj prikupljeni su ovi riblji uzorci: svježa morska riba, zamrznuta riba i ribe iz konzervi. Većina uzoraka svježe morske ribe dobivena je zahvaljujući pomoći vanjskog suradnika (donacijom dr. sc. Vjekoslava Tičine, ribarstvenog biologa, iz Instituta za oceanografiju i ribarstvo u Splitu) nakon ulova na ukupno 33 različite lokacije u otvorenom moru i kanalima uz obalu istočnoga Jadranskog mora u hrvatskom teritorijalnom moru. Preostali uzorci svježe morske ribe iz divljeg ulova u Jadranskom moru kupljeni su u ribarnici (na tržnici Dolac u Zagrebu). Uzorci svježe morske ribe iz hrvatskoga uzgoja te zamrznute i konzervirane morske ribe kupljeni su u trgovačkim lancima u Zagrebu. Prikupljeno je ukupno 901 uzorak ulovljene, uzgojene i zamrznute morske ribe i 37 uzoraka konzervirane ribe. Značajke prikupljenih ribljih uzoraka prikazane su u tablici 3.

Tablica 3.
Značajke ribljih uzoraka upotrijebljenih u istraživanju

Vrsta ribe	Latinsko nazivlje	n	Duljina (mm)	Masa (g)	Podrijetlo (broj lokacija ulova)	Broj kompozita
Svježa morska riba iz divljeg ulova						
Inćun	*Engraulis encrasicolus*	255	85-177	5-19	Jadransko more (12)	21
Srdela	*Sardina pilchardus*	251	108-147	11-29	Jadransko more (11)	29
Srdela[a]	*Sardina pilchardus*	48	97-133	12-31	Jadransko more	9
Lokarda	*Scomber colias*	32	122-248	19-165	Jadransko more (9)	9
Šarun	*Trachurus trachurus*	40	126-231	20-151	Jadransko more (10)	10
Bukva	*Boops boops*	24	137-205	31-107	Jadransko more (11)	11
Gira	*Spicara maena flexuosa*	33	103-131	14-28	Jadransko more (10)	10
Trlja	*Mullus barbatus*	64	94-155	10-62	Jadransko more (13)	13
Oslić	*Merluccius merluccius*	17	138-231	19-102	Jadransko more (6)	6
Oslić[a]	*Merluccius merluccius*	12	139-181	122-224	Jadransko more, Srednji Jadran	/
Orada[a]	*Sparus aurata*	24	195-387	169-369		/
Brancin[a]	*Dicentrarchus labrax*	13	210-410	148-925		/
Svježa morska riba iz hrvatskog uzgoja						
Orada	*Sparus aurata*	12	220-240	293-427	Jadransko more, Srednji Jadran	/
Brancin	*Dicentrarchus labrax*	12	265-295	317-441		/
Zamrznuta riba					Oznaka na pakiranju	
Srdela	*Sardina pilchardus*	48	75-100	13-24	FAO 37.2.1[b]	2
Oslić (fileti)	*Merluccius hubbsi* *Merluccius capensis* *Merluccius paradoxus*	16	/	/	FAO 41, 47	4
Konzervirana riba						
Srdela	*Sardina pilchardus*	17	/	/	FAO 37.2.1[b]	6
Skuša	*Scomber japonicus*	9	/	/	FAO 27., 34., 37.2.1[b]	3
Tuna	*Thunnus albacares* *Euthynnus pelamis*	11	/	/	Indonezija, Italija, Španjolska	4

[a]Kupljeno u ribarnici; [b]FAO 37.2.1 – Jadransko more. Rezultati za duljinu i masu ribe prikazani su kao raspon.

3.6. Popis upotrijebljenih kemikalija, uređaja i opreme tijekom pripreme uzoraka i analize

Popis upotrijebljenih kemikalija

Analiza masnih kiselina

- destilirana voda, *Aqua purificata* (Yasenka, Hrvatska)
- izooktan (C_8H_{18} ACS stupanj, Carlo Erba Reagents, Italija)
- metanol (CH_3OH p.a.), izopropanol (C_3H_8O p.a.), cikloheksan (C_6H_{12} p.a), kalijev hidroksid (KOH p.a.), natrijevhidrogensulfat monohidrat ($NaHSO_4$ x H_2O p.a.) (Kemika, Hrvatska)
- standardna smjesa 37 masnih kiselina (F.A.M.E. Mix, C4-C24, Supelco, Sigma-Aldrich, SAD)

Analiza mineralnih elemenata

- ultra čista voda, specifične vodljivosti: 0,555 µS/cm (pri 25ºC; 18,2 MΩcm)
- koncentrirana dušična kiselina (HNO_3 konc 65 % p.a., Merck, Njemačka)
- standardne otopine pripremljene iz 1000 mg/L ICP multi-element standard solution IV (Merck)
- etanol (C_2H_5OH 96% p.a.) i Kemex A (Kemika, Hrvatska)

Uređaji i oprema rabljena u eksperimentalnom radu

- uređaj za plinsku kromatografiju (6890N Network GC System, Agilent Technologies, SAD)
- uređaj za masenu spektrometriju s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS, 7500cx, Agilent Technologies, Njemačka)
- uređaj za mikrovalnu razgradnju (UltraCLAVE, Milestone S.r.l., Italija)
- uređaj za ultra čistu vodu (Barnstead™Smart2Pure 6 UV/UF, Thermo Scientific, Njemačka)
- kvarcni sustav za pročišćavanje kiseline (SubPUR, Milestone S.r.l., Italija)
- uređaj za liofilizaciju (HETOSIC, Heto, Danska)
- sušionik (ST-01/02, Instrumentaria, Hrvatska)
- rotacijski otparivač (Rotavapor, Büchi, Švicarska)
- uređaj za homogenizaciju (T-25 Ultra-Turrax, IKA-Werke GmbH & Co.KG, Njemačka)
- kuglični mlin (MM 400, Retsch, Njemačka)
- laboratorijske vage: analitička vaga (New Classic MS303S, Mettler Toledo AG, Švicarska), tehnička vaga (E 1600, Mettler Toledo AG, Švicarska)
- mješalica (Vortex Genius 3, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Njemačka)
- Eppendorf pipete s nastavcima (200, 300, 1000 µL; 5 mL) (Eppendorf AG, Njemačka)
- kvarcne epruvete s čepovima rabljene tijekom razaranja uzoraka (12 mL, Milestone, Italija)
- polipropilenske (50 mL, Falcon; 100 mL, Sarstedt) i polietilenske posudice s čepovima (25 mL, Kartell), posudice za mikrocentrifugu (1,5 mL Safe-Lock, Eppendorf AG)

3.7. Priprema uzoraka hrane morskoga podrijetla za analize

3.7.1. Priprema uzoraka ribe za analizu masnih kiselina

Određivanje sastava masnih kiselina u mišićju ribe provedeno je u uzorcima ribe iz divljeg ulova u Jadranskom moru vrste srdela, oslić, orada i brancin. Za zamrznutu, uzgojenu i konzerviranu ribu količina omega-3 masnih kiselina (EPA+DHA) u mišićju ribe iskazana je deklaracijom na proizvodu.

Uzorci svježe ribe iz divljeg ulova kupljeni su na ribarnici tržnice Dolac u Zagrebu. Svakoj ribi odvojen je po jedan filet (mišićje očišćeno od kože i kostiju). Priređena su dva kompozitna uzorka po vrsti: 6 fileta po uzorku za krupniju (oslić, orada i brancin) i 24 fileta po uzorku za sitniju ribu (srdele). Uzorci su usitnjeni u uređaju za obradu hrane (Braun Multipractic Plus-basic, MGU C710, Iskra, Slovenija), spremljeni u vrećice za zamrzavanje, ispuhani dušikom i pohranjeni u zamrzivač (na -15°C). Svi postupci obrade uzoraka za analizu, koji uključuju izdvajanje masti iz uzorka i pripremu metilnih estera masnih kiselina i analiza masnih kiselina provedeni su u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe Zavoda za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu u Zagrebu (pod nadzorom dr. sc. Tibora Janči, dipl. ing. preh. teh.) desetak dana nakon prikupljanja uzoraka. Izdvajanje masti iz priređenih uzoraka mišićja ribe provedeno je postupkom ekstrakcije smjesom cikloheksana i izopropanola (Smedes, 1999). Na priređeni uzorak mase 2,5 g (± 0,2 g) u konične posudice za centrifugiranje s poklopcem na navoj (Falcon, PP, 50 mL) dodano je 18 mL otopine izopropanola u cikloheksanu (80% w/w). Smjesa je homogenizirana uređajem Ultra-Turrax (T-25, IKA, Njemačka) u trajanju 2 min. na 11000-13000 rpm. U sljedećem koraku dodano je 10 mL deionizirane vode i ponovno homogenizirano, 1 min. na 11000-13000 rpm. Uzorak je centrifugiran (5 min. na 2000 rpm) radi odvajanje organske faze. Odvojena gornja faza kvantitativno je kapaljkom (1 mL) odvojena u prethodno osušenu i izvaganu tikvicu za uparavanje. Na preostalu vodenu fazu dodano je 10 mL otopine izopropanola u cikloheksanu (13% w/w). Nakon homogenizacije (1 min. na 11000-13000 rpm) i centrifugiranja (5 min. na 2000 rpm), gornja faza je kvantitativno kapaljkom (1 mL) odvojena u tikvicu za otparavanje s prvim ekstraktom. Uparavanje otapala provedeno je u rotacijskom otparivaču (Rotavapor, Büchi, Švicarska) na temperaturi 51°C i pri tlaku 235 mbar. Tikvica s ekstraktom ostavljena je 1 h pri 105°C u sušioniku (ST-01/02, Instrumentaria, Hrvatska). Po završetku sušenja zabilježena je odvaga tikvice s ekstrahiranom masti i izračunat je udio ukupne masti prema formuli:

udio ukupne masti (%) = masa masti nakon vaganja (g) / masa uzorka (g) x 100.

Za pripremu uzorka prije analize masnih kiselina, ponovljen je prethodno opisani postupak do postupka sušenja. Nakon uparavanja otapala, zaostala ekstrahirana mast u tikvici otopljena je u izooktanu i prenesena kvantitativno pipetom u posudicu za mikrocentrifugu (Eppendorf Safe-Lock 1,5 mL). Otapalo je upareno u struji dušika i uzorak masti pohranjen u zamrzivač (na -15°C).

3.7.2. Priprema uzoraka ribe za analizu mineralnih elemenata

Uzorci svježe i zamrznute ribe priređeni su na jednaki način. Svakoj ribi ravnalom je izmjerena duljina od vrha glave do vrha repa i određena masa na tehničkoj vagi (PB602-S/A, Mettler Toledo, Švicarska). Za ribu iz divljeg ulova vrsta inćun, srdela, lokarda, šarun, bukva, gira, oslić i trlja blatarica oblikovan je tzv. kompozitni uzorak od 5-11 jedinki po svakoj lokaciji ulova u istočnom Jadranskom moru. S obzirom na to da jedno pakiranje zamrznute ribe sadrži više jedinki ribe (za srdelu) ili fileta (za oslić), kompozitni uzorci priređeni su i za zamrznutu ribu. Uzorci vrsta oslić, orada i brancin iz divljeg ulova (kupljeni na ribarnici) te orada i brancin iz hrvatskog uzgoja priređeni su bez spajanja jedinki u kompozitni uzorak.

Svakoj ribi odstranjen je filet mišića keramičkim nožem u jednom potezu, od završetka glave do repa, pazeći da se ne oštete unutarnji organi i uklonjena je koža. Uzorak ribljeg mišićja usitnjen je na manje komadiće, stavljen u posudicu na navoj (Sarstedt, PP, 100 mL), svježa masa izvagana na analitičkoj vagi (ca. 20 g) (New Classic MS303S, Mettler Toledo, Švicarska) do postupka liofilizacije (sušenja materijala sublimacijom leda u visokom vakuumu) i pohranjen u zamrzivač (na -15°C).

Uzorci iz ribljih konzervi priređeni su tako da je sadržaj konzerve (cijela riba, filet i/ili komadi ribe) izvađen iz limenke, ocijeđeno ulje i staničevinom uklonjeno preostalo ulje s uzoraka. Konzervirane srdele (sardine) prije vaganja su očišćene od kože, utrobe i kostiju te filetirane. Uzorak je usitnjen keramičkim nožem, stavljen u posudicu na navoj (Sarstedt, PP, 100 mL), svježa masa izvagana na analitičkoj vagi (ca. 20 g)(New Classic MS303S, Mettler Toledo, Švicarska) i do postupka liofilizacije je pohranjen u zamrzivač (na -15°C).

Zamrznuti riblji uzorci liofilizirani su tijekom 72 h pri temperaturi -50°C na uređaju HETOSIC (Heto, Danska). Nakon što su zabilježene vrijednosti suhe mase uzoraka, uzorci su u posudicama za pohranu uzoraka s poklopcem (Kartell, PE, 25 mL) homogenizirani u kugličnom mlinu pomoću volframovih kuglica (MM 400, Retsch, Njemačka) tijekom 4 min. pri frekvenciji vibriranja od 22,5 Hz, a uzorci iz ribljih konzervi tijekom 2 min. pri 19,5 Hz. U svrhu uklanjanja organske tvari prije multielementne analize, uzorci su razoreni u mikrovalnom visokotlačnom reaktoru UltraCLAVE IV (Milestone S.r.l., Italija) prema temperaturnom programu prikazanom u Prilogu 4. Odvagama od približno 0,250 g liofiliziranog i homogeniziranog uzorka dodano je 2 mL koncentrirane dušične kiseline dodatno pročišćene u sustavu SubPUR (Milestone S.r.l., Italija) i 2 mL ultra-čiste vode specifične vodljivosti 0,055 µS/cm dobivene na uređaju Barnstead^{TM}Smart2Pure 6 UV/UF (Thermo Scientific, Njemačka). Uzorci su priređeni u kvarcnim kivetama, poklopljeni teflonskim čepovima i ostavljeni u digestoru tijekom 24 h do postupka mikrovalne razgradnje pod tlakom. Nakon razgradnje kivete s uzorcima ohlađene su na sobnoj temperaturi, uzorci nadopunjeni ultra-čistom vodom do odvage od 6 g i kvantitativno preneseni u posudice s poklopcem na navoj (Kartell, PP, 15 mL) te čuvani na 4°C do multielementne analize.

3.8. Analiza masnih kiselina u uzorcima ribe

Neposredno prije analize masnih kiselina pripremljeni su metilni esteri masnih kiselina postupkom *trans*-esterifikacije s kalijevim hidroksidom metodom po Bannonu (ISO 5509, 2000).

Prethodno priređeni uzorci masti mišićja ribe odvage cca 60 mg otopljeni su u posudicama s po 4 mL izooktana uz dodatak 200 µL metanolne otopine kalijeva hidroksida (2 mol/L). Nakon brzog miješanja tijekom 30 s, otopina je neutralizirana s 1 g soli natrijeva hidrogensulfat monohidrata i ostavljena da se istaloži. Iz odvojene gornje faze uzet je 1 mL uzorka, prenesen u posudicu za mjerenje (2 mL) i analiziran na plinskom kromatografu 6890N Network GC System (Agilent Technologies, SAD) opremljenom plameno-ionizacijskim detektorom (FID) spojenim na računalo. Metilni esteri masnih kiselina analizirani su metodom ISO 5509 (1990). Uvjeti rada uređaja prikazani su u tablici 4.

Tablica 4.
Uvjeti rada uređaja 6890N Network GC System

Kolona	kapilarna DB-23 (Agilent); 60m x 0,25 mm, debljina filma 0,25 µm; stacionarna faza: cijanopropil-silikon
Temperatura kolone	programirana od 60°C do 220°C – 7°C/min, zadržava se 17 min
Plin nositelj	helij
Protok plina nositelj	1,5 mL/min
Temperatura injektora	250°C
Omjer razdjeljenja	1:30
Temperatura detektora	280°C
Količina injektiranog uzorka	1 µL

Identifikacija pojedinih masnih kiselina provedena je usporedbom vremena zadržavanja metilnih estera pojedine masne kiseline s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese 37 masnih kiselina poznatog sastava (F.A.M.E. Mix, C4-C24, Supelco, Sigma-Aldrich, SAD).

3.9. Analiza elemenata u uzorcima ribe

Određivanje koncentracija elementa (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Se, Hg, Cd, Pb, As) provedeno je primjenom tehnike spektrometrije masa induktivno spregnute plazme (ICP-MS) na uređaju Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Njemačka). Neposredno prije analize, prethodno pripremljeni uzorci razrijeđeni su 10 puta u otopini koja se sastojala od 1% (v/v) dušične kiseline i 3 µg/L internih standardi (Ge, Rh, Tb, Lu i Ir). Koncentracije elemenata u uzorcima izračunate su temeljem kalibracijskih krivulja multielementnih standarda priređenih u 1% (v/v) dušičnoj kiselini. Osim uzoraka mjerene su i slijepe probe kako bi se utvrdilo eventualno onečišćenje tijekom postupaka mikrovalne razgradnje i mjerenja. Uvjeti rada uređaja prikazani su u tablici 5.

Tablica 5.
Uvjeti rada ICP-MS uređaja Agilent 7500cx

RF snaga	1550 W		
Dubina uzorkovanja u plazmi plamenika	7,5 mm		
Horizontalni položaj plazma plamenika	0,3 mm		
Vertikalni položaj plazma plamenika	-0,8 mm		
Brzina pumpe raspršivača	0,07 rps		
Protok plazma plina	15 L/min		
Protok plina za razrjeđenje	0,17 L/min		
Protok plina nosioca	1 L/min		
Tip raspršivača	*MicroMist*, kvarc		
Tip komore za raspršivanje	*Scott* (kvarc), hlađena na 2°C		
Kolizijski / reakcijski plin	bez plina	helij	vodik
Protok kolizijskog reakcijskog plina	/	4,3 mL/min	4,5 mL/min
Napon ekstrakcijske leće 1	0 V	0,5 V	0 V
Napon ekstrakcijske leće 2	-133 V	-140 V	-135 V
Mjereni izotopi analita	^{202}Hg	^{23}Na, ^{24}Mg, ^{39}K, ^{43}Ca ^{56}Fe, ^{63}Cu, ^{68}Zn, ^{75}As, ^{114}Cd, ^{208}Pb	^{78}Se

Nadzor kakvoće mjerenja koncentracije elemenata proveden je određivanjem koncentracija mjerenih elemenata (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Se, Hg, Cd, Pb, As) u komercijalno dostupnim referentnim materijalima s potvrđenim vrijednostima za metale i polumetale. Upotrebljavani su sljedeći referentni materijali: NIST SRM 1566a tkivo kamenice (Nacionalni centar za standarde i tehnologiju, SAD), IAEA-407 riblji homogenat (Međunarodna agencija za atomsku energiju, Monako), NRC DORM-2 mišić morskoga psa (Nacionalno vijeće za istraživanje, Kanada) i IRMM ERM BB-422 mišić ribe (Institut za referentne materijale i mjerenja, Belgija).

3.10. Statistička obrada podataka

Razlike između skupina testirane su analizom varijance (ANOVA) nakon što su varijable s asimetričnom raspodjelom transformirane logaritmiranjem (ln) tako da slijede normalnu raspodjelu. Razlike između skupina za podatke s asimetričnom raspodjelom testirane su Mann-Whitneyovim *U* testom ili Kruskal-Wallisovim testom.

Korelacija između koncentracija elemenata u krvi ili serumu majke odnosno krvi iz pupkovine i učestalosti konzumacije hrane morskoga podrijetla prema vrsti hrane (svježa ulovljena ili uzgojena odnosno zamrznuta morska riba, školjkaši i konzervirana riba) i vrsti morske ribe (plava i bijela riba) analizirane su Spearmanovom korelacijom s obzirom na nenormalnu distribuciju većine promatranih varijabli.

Razina statističke značajnosti postavljena je na 5% (p<0,05) za sve analize, osim za analizu podatka o sadržaju elemenata u ribi iz divljeg ulova u Jadranskome moru i iz ribljih konzervi u kojoj je postavljena na 1% (p<0,01).

Primijenjene su standardne metode deskriptivne statistike (aritmetička sredina, medijan, raspon, standardna devijacija) i postotni broj (%) kako bi se opisale karakteristike ispitanika i analiziranih uzoraka hrane morskoga podrijetla. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost i standardna devijacija, medijan i međukvartilni raspon (25 do 75 %) ili raspon (najmanja i najveća vrijednost) te medijan i devedestpeti percentil (P95) za podatke o procijenjenom unosu nutrijenata i toksičnih metala i polumetala u ispitanica.

Za statističku obradu podataka upotrijebljen je program *Dell Statistica* (ver 13, Dell Inc., SAD).

Grafički prikazi priređeni su u programu *Microsoft Office Excel* (2010, Microsoft, SAD).

3.11. Izračuni procjena koristi i mogućih rizika konzumacije ribe za zdravlje

Za procjenu unosa esencijalnih i toksičnih elementa ribom i procjenu mogućih rizika konzumacije ribe zbog izloženosti Hg/ MeHg pretpostavljeno je da je unijeta doza elementa jednaka apsorbiranoj dozi te da termička obrada ne utječe na koncentraciju elementa u hrani (EFSA CONTAM, 2012b; Copat i sur., 2014). Provedene su sljedeće procjene prema formulama:

- Procjena unosa esencijalnih i toksičnih elemenata na dan, EDI (eng. *estimated daily intake*):

$$\mathbf{EDI = MS \times C}$$

- Procjena razine dosegnutosti preporučenih vrijednosti unosa esencijalnih mineralnih elementa na dan za trudnice DRV (eng. *dietary reference values*) za elemente K, Ca, Fe, Zn, Cu i Se (EFSA NDA, EFSA NDA, 2014c-d; 2015a-d; 2016b) i za element Na (IOM, 2010):

$$\mathbf{\%DRV = [(MS \times C) / DRV] \times 100}$$

- Procijenjeni unos toksičnih metala TWI (eng. *tolerable weekly intake*) za Hg/ MeHg, Cd i Pb prema dopuštenom tjednom unosu za MeHg i Cd (EFSA CONTAM, 2012a, 2012b) i privremeno dopuštenom Pb na tjedan PTWI (eng. *provisional tolerable weekly intake*) (FAO/WHO, 2011b):

$$\mathbf{\%TWI = \{ [(MS \times C) / BW] / TWI \} \times 100}$$

Vrijednost DRVi su izražene u mg na dan, a vrijednosti TWI u µg/kg TM na tjedan.

- Kvocijent ciljne opasnosti THQ (eng. *target hazard quotient*) za Hg (Copat i sur., 2014):

$$\mathbf{THQ = (EF \times ED \times MS \times C) / (RfDo_{MeHg} \times BW_a \times AT)}$$

Vrijednost THQ > 1 označavaju povećani rizik od mogućih štetnih učinaka Hg na zdravlje.

- Pokazatelj zdravstvene korist HBV (eng. *health benefit value*) za Se (Ralston, 2008):

$$\mathbf{HBV\ Se = [(\mu mol\ Se/kg) \times (Se/Hg)] - [(\mu mol\ MeHg/kg) \times (Hg/Se)]}$$

Pozitivna vrijednost HBV Se označava povoljan učinak konzumacije ribe, a negativna zdravstveni rizik.

Oznake u izračunima:

MS – količina unesene ribe (svježe, uzgojene, zamrznute ili konzervirane) prema podacima iz anketnih upitnika, preračunata prema srednjoj veličini obroka ribe (130 g) i izražena u gramima (g)
C – izmjerena koncentracija elementa u ribi izražena u mg/kg mokre mase ribljeg mišićja
BW – tjelesna masa (TM, eng. *body weight*) trudnice neposredno prije porođaja od prosječno 80 kg u ovom istraživanju
EF – učestalost izloženosti (eng. *exposure frequency)* 365 dana po godini
ED – trajanje izloženosti (eng. *exposure duration*) odnosno prosječna životna dob stanovnika
BW_a – tjelesna masa odrasle osobe od 70 kg
$RfDo_{MeHg}$ – referentna doza na dan od 0,186 µg MeHg/ kg TM na dan odnosno za izloženosti 1,3 µg MeHg/ kg TM na tjedan izraženo kao Hg (EFSA 2012b)
AT – prosječna izloženost za nekancerogene supstance (EF x ED)

4. REZULTATI

4. REZULTATI

4.1. Opće značajke ispitanica i novorođenčadi

Opće značajke skupine ispitanica iz kontinentalnog i dviju skupina ispitanica iz priobalnog područja Hrvatske prikazane su u tablici 6. Navedeni su podaci za dob, stupanj obrazovanja i opći klinički podaci o ispitanicama (tjelesna visina, tjelesna masa, prirast tjelesne mase tijekom trudnoće i indeks tjelesne mase prije trudnoće), broj porođaja, unos vitaminsko-mineralnih dodataka prehrani tijekom trudnoće, podskupine prema navici pušenja cigareta, broj amalgamskih zubnih ispuna i podaci o novorođenčadi.

Prosječna dob svih ispitanica bila je oko 29 godina (18-42 godine u kontinentalnom i 19-44 godine u priobalnom području). S obzirom na obrazovanje, većina ispitanica, (63-67%) imala je srednju stručnu spremu, otprilike trećina ispitanica višu (4-7%) i visoku stručnu spremu (21-30%), a samo mali broj osoba bio je bez kvalifikacije (1-6%). S obzirom na uhranjenost, većina ispitanica (>70%) imala je prije trudnoće vrijednosti indeksa tjelesne mase u normalnom rasponu (18,5 do 24,9 kg/m^2), oko 20% imalo je prekomjernu tjelesnu masu ili su bile pretile (8% pretilih osoba bilo je iz kontinentalnog i 5% pretilih osoba iz priobalnog područja), a mali broj ispitanica (5%) bio je pothranjen. Prosječni prirast tjelesne mase tijekom trudnoće bio je oko 15 kg. U oko 40% svih ispitanica to je bio prvi porođaj, u oko 40% drugi porođaj, a u preostalih (17-20%) treći porođaj ili više od toga. Većina ispitanica (60-80%) navela je da je uzimala neku vrstu vitaminsko-mineralnih dodataka prehrani tijekom trudnoće (preparati nisu poznati). U sve tri ispitivane skupine utvrđeno je oko 60% (51-63%) nepušačica i oko 40% (37-49%) pušačica. S obzirom na broj zubnih amalgamskih ispuna (koje sadrže anorgansku Hg), 30% ispitanica iz kontinentalnog i oko 60% ispitanica iz priobalnog područja imalo je barem jednu amalgamsku ispunu u zubima.

Sva novorođenčad bila je zdrava i vitalna, rođena spontano, rodničkim putem i kao donesena djeca (u roku, 37. – 42. tjedan trudnoće) što je i bio uvjet za uključivanje ispitanica, odnosno parova majka-novorođenče u istraživanje, s normalnim porođajnim duljinama i masama, koje su očekivano bile značajno više u dječaka nego u djevojčica.

Tablica 6.
Opće značajke ispitanica i njihove novorođenčadi u istraživanim područjima.

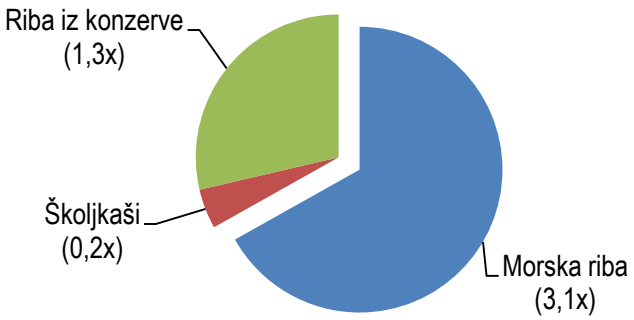
		Kontinentalno područje	**Priobalno područje**	
Ispitanice / skupine		Zagreb (A)	Zadar (B)	Zadar (C)
		n = 197	n = 96	n = 107
Dob (godine)		29,3 ± 4,62 (18-42)	29,3 ± 4,76 (19-39)	29,5 ± 4,92 (19-44)
Obrazovanje				
Bez kvalifikacije; NKV		11 (6)	6 (6)	1 (1)
Srednja stručna sprema; SSS		130 (66)	64 (67)	67 (63)
Viša stručna sprema, VŠS		14 (7)	4 (4)	7 (6)
Visoka stručna sprema, VSS		42 (21)	22 (23)	32 (30)
Opći klinički podaci				
Tjelesna visina (cm)		168 ± 6 (152-186)	169 ± 6 (153-187)	170 ± 6 (155-183)
Tjelesna masa (kg)		65 ± 12 (40-110)	64 ± 12 (45-98)	66 ± 11 (45-112)
Prirast tjelesne mase tijekom trudnoće (kg)		15,2 ± 4,83 (2-29)	14,8 ± 4,73 (3-32)	15,3 ± 4,60 (7-27)
Indeks tjelesne mase prije trudnoće [BMI, kg/m^2][a]				
Pothranjeno	[<18,5]	9 (5)	5 (5)	/
Normalno uhranjeno	[18,5-24,9]	146 (74)	73 (76)	76 (71)
Prekomjereno	[25,0-29,9]	24 (12)	14 (15)	19 (18)
Pretilo	[> 30,0]	15 (8)	4 (4)	5 (5)
Broj porođaja, paritet				
1		84 (43)	30 (31)	46 (43)
2		67 (34)	50 (52)	43 (40)
≥3		44 (22)	16 (17)	18 (17)
Uzimanje vitaminsko-mineralnih dodataka prehrani tijekom trudnoće		162 (82)	68 (71)	55 (51)
Podskupine prema navici pušenja cigareta				
Nepušačice		124 (63)	49 (51)	61 (57)
Pušačice		73 (37)	47 (49)	46 (43)
Broj amalgamskih zubnih ispuna				
0		11 (6)	31 (32)	42 (39)
1-3		25 (13)	46 (48)	36 (34)
>3		36 (18)	19 (20)	29 (27)
nije iskazano		125 (63)	/	/
Novorođenčad				
Dječaci		104 (53)	39 (41)	52 (49)
Porođajna duljina (cm)		51,9 ± 2,20	51,6 ± 1,96	52,1±1,90
Porođajna masa (g)		3596 ± 441	3574 ± 434	3562 ± 349
Djevojčice		93 (47)	57 (59)	55 (51)
Porođajna duljina (cm)		50,8 ± 1,82	50,7 ± 1,81	51,6 ± 1,92
Porođajna masa (g)		3431 ± 410	3368 ± 416	3457 ± 475

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± SD (raspon od-do) te broj i postotak u zagradi (%).

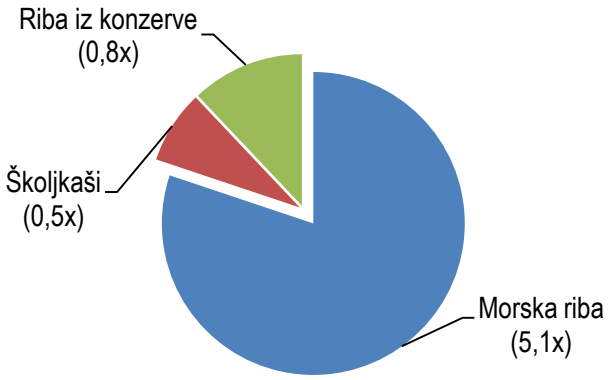
4.2. Navike konzumacije hrane morskoga podrijetla u Hrvatskoj

Učestalost konzumacije hrane morskoga podrijetla na mjesec (izraženo kao srednja vrijednost) prema kategorijama morska riba, školjkaši i riblje konzerve u ispitanica iz kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske u ovom istraživanju prikazana je na slici 1. U kontinentalnom području, u skupini Zagreb (A), prosječna konzumacija na mjesec za morsku ribu bila je oko 3 puta, za školjkaše <1 (0,2) i za ribe iz konzerve oko 1 puta. U priobalnom području prosječna konzumacija morske ribe bila je veća, 5 do 7 puta na mjesec. U skupini Zadar (C) bilo moguće razdvojiti unos plave ribe (prvenstveno srdele) na oko 2 puta i unos bijele ribe (prvenstveno oslić, orada i brancin) oko 5 puta na mjesec. Prosječna konzumacija na tjedan je za školjkaše <1 (0,3 do 0,5) puta, a konzervirane ribe oko 1 (0,8 do 1,3) puta.

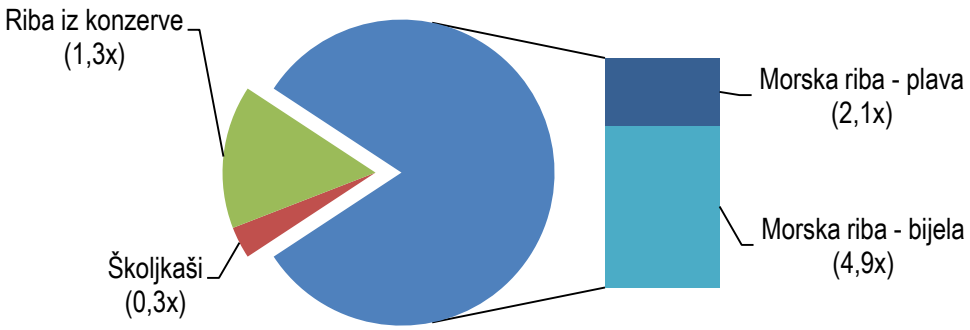
Na slici 2 prikazane su podskupine ispitanica s obzirom na učestalost konzumacije morske ribe, školjkaša i ribe iz konzerve, prema sljedećim kategorijama: ne konzumira hranu morskoga podrijetla (0); konzumira do jednom na mjesec (≤1 x mj); konzumira dva i više puta na mjesec (≥2 x mj); konzumira jedan puta na tjedan (1 x tj); konzumira više od jednom do dva puta na tjedan (>1-2 x tj); konzumira više od dva puta na tjedan (>2 x tj). Utvrđeno je da u kontinentalnom području, od ukupno 197 ispitanica, njih 88% konzumira morsku ribu, 12% konzumira školjkaše i 50% ribe iz konzerve, pritom morsku ribu konzumiraju do jednom na tjedan (80%), a ribe iz konzerve jednom do dva puta na mjesec (37%). U priobalnom području utvrđeno je da morsku ribu konzumira >90% ispitanica, školjkaše 32%, a ribe iz konzerve 30-70% ispitanica, ovisno o preferencijama ispitivane skupine; u skupini Zadar (B), morsku ribu konzumiralo je s učestalošću do najviše jednom na tjedan 64% ispitanica, >1 do 2 puta na tjedan 21% ispitanica te >2 puta na tjedan 8% ispitanica, a u skupini Zadar (C), morsku ribu konzumiralo je s učestalosti do najviše jednom na tjedan 36% ispitanica, više od jednom do 2 puta na tjedan 36% ispitanica te više od 2 puta na tjedan 28% ispitanica. Utvrđeno je da se školjkaši i ribe iz konzerve konzumiraju do najviše jednom na mjesec (28-50% ispitanica), s time da je više nego dvostruko veći broj ispitanica u skupini Zadar (C) naveo da konzumiraju ribe iz konzerve (70%) u usporedbi sa skupinom Zadar (B) (31%). Unos konzervirane ribe u priobalnom području od jednom na mjesec bio je sličan navedenom u kontinentalnom području: 13% ispitanica u skupini Zadar (B) i 40% u skupini Zadar (C). U 107 ispitanica iz priobalnog područja u skupini Zadar (C) procijenjen je unos ribe na mjesec za najčešće konzumirane vrste riba, srdela, tuna, oslić, orada i brancin (slika 3) te prosječan unos ribe po vrsti izražen brojem unosa na mjesec (slika 4). Utvrđeno je da srdele konzumira 67% i tunu 35% ispitanica, najčešće do jednom na mjesec (srdele 38% i tunu 21% ispitanica). Bijelu ribu konzumira 78% ispitanica najčešće jednom na mjesec (oslić 37%, oradu i brancin po 42% ispitanica), a u prosjeku 16% ispitanica više od 2 puta na mjesec. Prosječan unos ribe na mjesec je oko 1 puta: srdele 1,2 puta, tune 0,6 puta i po 1,5 puta za bijele ribe oslić, oradu i brancin.



Kontinentalno područje Hrvatske: skupina Zagreb (A)

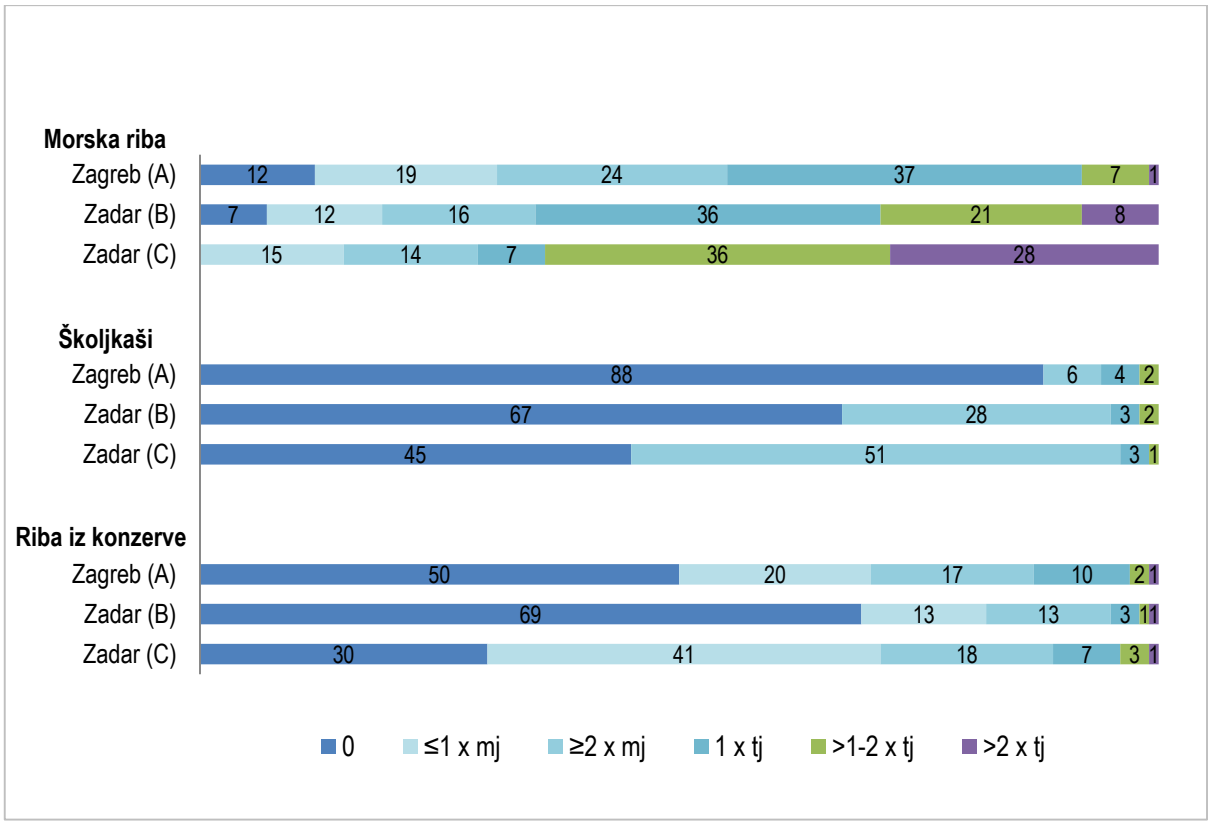


Priobalno područje Hrvatske: skupina Zadar (B)

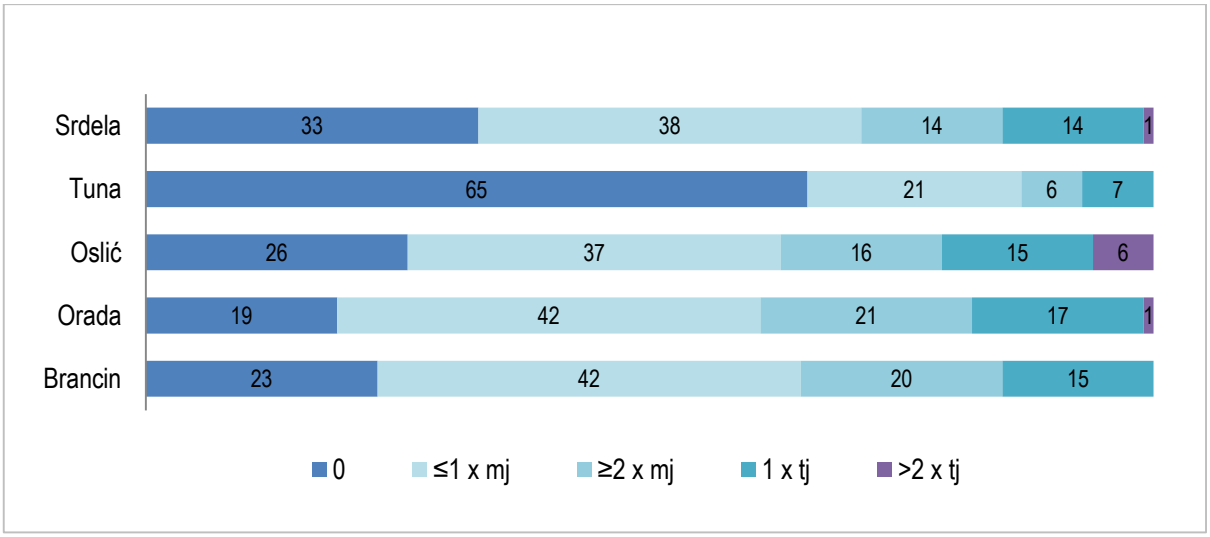


Priobalno područje Hrvatske: skupina Zadar (C)

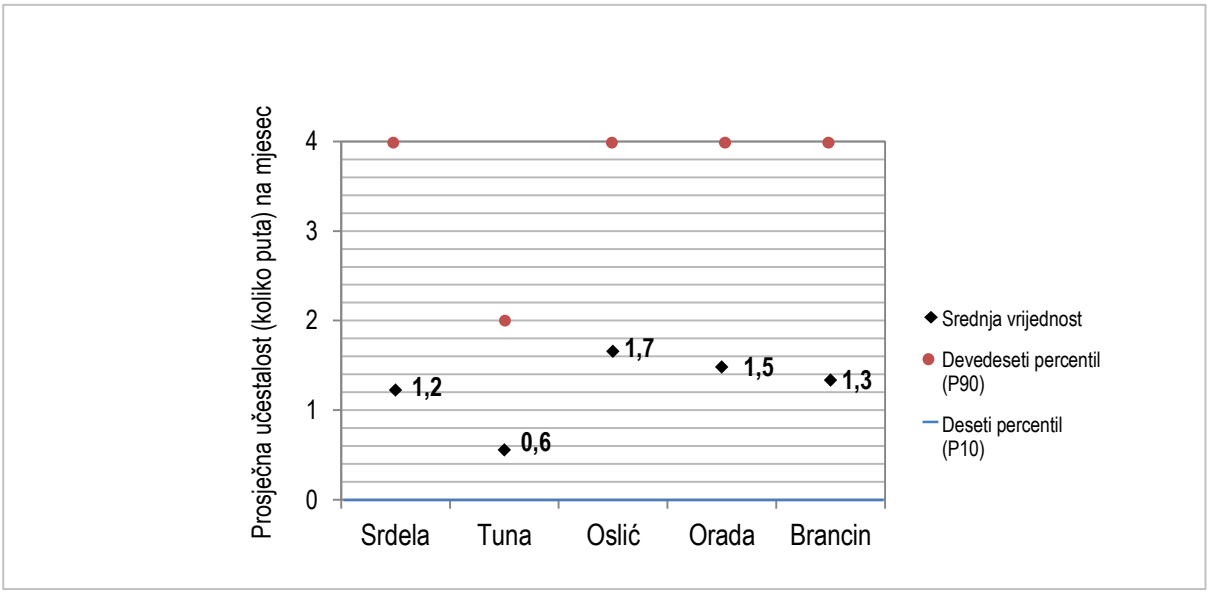
Slika 1. Učestalost konzumacije morske ribe, školjkaša i ribe iz konzerve u ukupnoj konzumaciji hrane morskoga podrijetla na mjesec u kontinentalnom i priobalnom područja Hrvatske (u zagradama je označena srednja vrijednost broja unosa na mjesec).



Slika 2. Postotak (%) ispitanica u ispitivanim skupinama s obzirom na učestalost konzumacije morske ribe, školjkaša i konzervirane ribe razvrstanih u podskupine prema kategorijama: 0 – ne konzumira; ≤1 x mj – konzumira do jednom na mjesec; ≥2 x mj – konzumira dva i više puta na mjesec; 1 x tj – konzumira jedan puta na tjedan; >1-2 x tj – konzumira više od jednom do dva puta na tjedan; >2 x tj – konzumira više od dva puta na tjedan.



Slika 3. Postotak (%) ispitanica s obzirom na učestalost konzumacije morske ribe vrste srdela, tuna, oslić, orada i brancin na mjesec u ispitivanoj skupini iz priobalnog područja Zadar (C) prema kategorijama: 0 – ne konzumira; ≤1 x mj – konzumira do jednom na mjesec; ≥2 x mj – konzumira dva i više puta na mjesec; 1 x tj – konzumira jedan puta na tjedan; >1-2 x tj – konzumira više od jednom do dva puta na tjedan;>2 x tj – konzumira više od dva puta na tjedan.



Slika 4. Učestalost konzumacije morske ribe vrste srdela, tuna, oslić, orada i brancin na mjesec u ispitivanoj skupini iz priobalnog područja Zadar (C).

4.3. Procjena stanja esencijalnih i toksičnih elemenata u zdravih rodilja i njihovih prenatalno izloženih potomaka u kontinentalnom i priobalnom području Hrvatske

Za procjenu stanja esencijalnih i toksičnih elemenata u zdravih rodilja i njihovih prenatalno izloženih potomaka u kontinentalnom i priobalnom području Hrvatske upotrijebljeni su rezultati koncentracija esencijalnih elemenata Ca, Fe, Zn, Cu i Se i toksičnih elemenata, metala Hg, Cd, i Pb i polumetala As u biološkim uzorcima majke, kosi, serumu i krvi te u krvi iz pupkovine, koji su prikazani u tablicama 7. i 8. Za procjenu stanja esencijalnih elementa Fe, Zn, Cu i Se u novorođenčadi s obzirom na prehranu majke, uzeti su nalazi koncentracija tih esencijalnih elemenata u krvi iz pupkovine ispitanica koje su se izjasnile da ne puše cigarete (temeljem činjenica koje su obrazložene u potpoglavlju 3.4).

Rezultati u tablici 7. pokazuju da su u kontinentalnom području Hrvatske bile veće koncentracije esencijalnih elemenata Fe, Cu i Zn u serumu majke te manje koncentracije Fe u krvi iz pupkovine u skupini nepušačica u usporedbi s koncentracijama Fe u krvi iz pupkovine nepušačica priobalnog područja. Za razliku od toga, ispitanice u priobalnom području imale su veće koncentracije Se u kosi i serumu i izmjeren je veći Se u krvi iz pupkovine nepušačica.

Rezultati u tablici 8. pokazuju veće koncentracije Hg i As u svim mjerenim uzorcima majke i iz krvi pupkovine ispitanica iz priobalnog područja u odnosu na kontinentalno područje. Nalazi Cd nisu se razlikovali, a nalaz Pb u krvi majke bio niži u skupini Zadar (C) prema skupini Zagreb (A).

Tablica 7.
Koncentracije esencijalnih elemenata Ca, Fe, Cu, Zn i Se u zdravih rodilja i njihovih prenatalno izloženih potomaka u kontinentalnom i priobalnom području Hrvatske.

	Kontinentalno područje	Priobalno područje	
	Zagreb (A)	Zadar (B)	Zadar (C)
Kosa majke[§]	n = 71	n = 96	
Se (mg/kg)	0,317 (0,276 – 0,365)	0,369 (0,295 – 0,450)*	/[a]
Serum majke	n = 194	n = 96	n = 102
Ca (mg/L)	89,9 (84,9 – 94,0)	89,6 (85,1 – 92,1)	92,9 (90,1 – 96,1)
Fe (mg/L)	1,21 (0,844 – 1,68)	0,598 (0,545 – 0,651)*	0,696 (0,466 – 0,881)*
Cu (mg/L)	2,27 (1,98 – 2,53)	1,95 (1,74 – 2,25)*	2,07 (1,89 – 2,31)*
Zn (mg/L)	0,579 (0,492 – 0,643)	0,465 (0,426 – 0,511)*	0,504 (0,451 – 0,559)*
Se (µg/L)	54,5 (46,4 – 62,1)	57,0 (49,5 – 67,61)*	65,8 (57,9 – 72,3)*
Krv iz pupkovine	n = 115	n = 49	
Fe (mg/L)[#]	526 (495 – 560)	569 (522 – 609)*	/[a]
Cu (mg/L)[#]	0,556 (0,503 – 0,609)	0,569 (0,540 – 0,621)	/
Zn (mg/L)[#]	2,76 (2,47– 3,14)	2,69 (2,40 – 2,29)	/
Se (µg/L)[#]	72,1 (66,2 – 80,5)	85,0 (75,9 – 94,9)*	/

Rezultati su prikazani kao medijan (međukvartilni raspon) i broj izmjerenih uzoraka (n) naveden je po skupinama.
[§]Uzorci kose nisu analizirani u svih ispitanica (razlozi su bili odbijanje davanja uzorka, nedostatna količina uzorka jer ih dio bio prije upotrijebljen i za analizu nikotina ili neodgovarajući uzorak zbog nedostatna dužine ili kemijski tretirane kose).
[#]Koncentracije su iskazane samo u nepušačica zbog međudjelovanja s toksičnim elementima u cigaretnom dimu.
*Statistički značajna razlika (p<0,05) prema skupini ispitanica Zagreb (A) iz kontinentalnog područja Hrvatske testirana analizom varijance (ANOVA) nakon logaritmiranja varijabli s nenormalno raspoređenim podacima.
[a]Nije određivano.

Tablica 8.
Koncentracije toksičnih elemenata Hg, Cd, Pb i As u zdravih rodilja i njihovih prenatalno izloženih potomaka u kontinentalnom i priobalnom području Hrvatske.

	Kontinentalno područje	Priobalno područje	
	Zagreb (A)	Zadar (B)	Zadar (C)
Kosa majke§	n = 71	n = 96	
Hg (mg/kg)	0,193 (0,107 – 0,346)	0,442 (0,209 – 1,05)*	[a] /
Krv majke	n = 184	n = 96	n = 102
Hg (µg/L)	0,959 (0,559 – 1,64)	2,39 (1,06 – 4,71)*	1,42 (0,767 – 3,29)*
Cd (µg/L)#	0,385 (0,300 – 0,490)	0,448 (0,294 – 0,609)	0,355 (0,210 – 0,438)
Pb (µg/L)#	11,4 (8,99 – 15,1)	11,0 (9,4 – 13,8)	7,10 (5,22 – 9,48)*
As (µg/L)#	0,601 (0,426 – 1,15)	2,02 (0,833 – 5,85)*	1,95 (0,999 – 4,28)*
Krv iz pupkovine	n = 184	n = 96	
Hg (µg/L)	1,06 (0,548 – 1,88)	3,74 (1,27 – 7,89)*	[a] /
Cd (µg/L)#	0,056 (0,031 – 0,082)	0,047 (0,036 – 0,059)	/
Pb (µg/L)#	6,76 (4,27 – 9,03)	5,63 (3,88 – 7,88)	/
As (µg/L)#	0,540 (0,403 – 1,02)	1,72 (0,586 – 5,43)*	/

Rezultati su prikazani kao medijan (međukvartilni raspon) i broj izmjerenih uzoraka (n) naveden je po skupinama
§Uzorci kose nisu analizirani u svih ispitanica (iz jednakih razloga kako je navedeno ispod tablice 7).
#Koncentracije su iskazane samo u nepušačica zbog visokog sadržaja Cd, Pb i As u cigaretnom dimu:
Zagreb (A), n = 115; Zadar (B), n = 49; Zadar (C), n = 58.
*Statistički značajna razlika (p<0,05) prema skupini ispitanica Zagreb (A) iz kontinentalnog područja Hrvatske testirana analizom varijance (ANOVA) nakon logaritmiranja varijabli s nenormalno raspoređenim podacima.
[a]Nije određivano.

4.4. Povezanost konzumacije hrane morskoga podrijetla i biokemijskih pokazatelja izloženosti i unosa elementa u zdravih rodilja iz kontinentalne i priobalne Hrvatske

U tablici 9. prikazani su koeficijenti Spearmanove korelacije između konzumacije hrane morskoga podrijetla (morske ribe, školjkaši i ribe iz konzerve) i koncentracija Hg, As i Se u zdravih rodilja i njihovih prenatalno izloženih potomaka iz kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske.

U svih ispitanica, neovisno o geografskom području prebivanja, konzumacija morske ribe pozitivno je korelirala s koncentracijama Hg, As i esencijalnim elementom u ultra tragu Se u ispitivanim biološkim matricama koje odražavaju stanje u organizmu majke i njezinog potomka, u krvi majke i krvi iz pupkovine. Pozitivno je bio povezan i unos školjkaša s koncentracijama Hg u krvi majke i koncentracijama Hg i As u krvi iz pupkovine, kao i unos ribe iz konzervi s koncentracijom ukupne Hg u krvi iz pupkovine u ispitanica iz kontinentalnog područja.

Za ispitanice iz priobalne Hrvatske u skupini Zadar (C) izdvojeni su podaci o stanju elemenata Hg i As u krvi majke s obzirom na učestalost konzumacije plave i bijele ribe na tjedan prema samoodređenju ispitanica (podacima iskazanim u anketnom upitniku) i izračunate korelacije (neparametrijskim testom po Spearmanu) u ukupno 102 ispitanice (tablica 10). Utvrđeno je da su se s porastom unosa i plave, i bijele ribe povećavale koncentracije Hg i As u krvi majke. Ispitanice koje konzumiraju plavu ribu (srdele i tunu) više od jedan do dva puta na tjedan imale su do tri puta veće koncentracije Hg u usporedbi s ispitanicama koje ne jedu plavu ribu. Nadalje, ispitanice koje konzumiraju bijelu ribu vrste oslić, orada i brancin više od dva puta na tjedan imale su dvostruko veće koncentracije Hg i As u krvi u usporedbi s ispitanicama koje su iskazale konzumaciju tih vrsta ribe do najviše jednom na tjedan. Utvrđena je linearna korelacija prosječnih (nekategoriziranih) vrijednosti unosa i plave, i bijele ribe na tjedan s koncentracijama Hg i As u uzorcima krvi majke.

Tablica 9.
Spearmanov koeficijent korelacije (r_s) između konzumacije triju skupina hrane morskoga podrijetla na tjedan i biokemijskih pokazatelja izloženosti/ unosa elemenata Hg, As i Se u zdravih rodilja i njihovih prenatalno izloženih potomaka iz kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske

	Kontinentalno područje			Priobalno područje					
	Zagreb (A) n = 184			Zadar (B) n = 96			Zadar (C) n = 102		
	Ribe	Školjke	Konzerve	Ribe	Školjke	Konzerve	Ribe	Školjke	Konzerve
Hg									
Krv majke	**0,388**	**0,265**	**0,254**	**0,652**	0,113	-0,193	**0,349**	0,073	-0,026
Krv iz pupkovine	**0,463**	**0,266**	0,247	**0,630**	0,097	-0,124	-	-	-
As									
Krv majke	**0,346**	0,180	0,171	**0,392**	0,068	-0,211	**0,336**	0,055	-0,134
Krv iz pupkovine	**0,329**	**0,273**	0,137	**0,438**	0,101	-0,233	-	-	-
Se									
Krv majke	**0,226**	0,171	0,039	**0,290**	0,170	-0,103	-	-	-
Krv iz pupkovine	0,185	0,216	0,021	**0,331**	0,060	0,052	-	-	-

Ribe – konzumacija morske ribe (ulovljene ili uzgojene svježe ribe i zamrznute ribe). Školjke – konzumacija školjkaša.
Konzerve – konzumacija konzervirane ribe.
Podebljane vrijednosti označavaju statistički značajne korelacije (*p*<0,05*)* kojima je $r_s \geq 0,25$.

Tablica 10.
Povezanost biokemijskih pokazatelja izloženosti/unosa Hg i As i učestalosti konzumacije plave i bijele ribe na tjedan u ispitanica priobalnog područja – skupina Zadar (C).

[a]Konzumacija ribe na tjedan	Hg u krvi majke (µg/L)				As u krvi majke (µg/L)			
	n	Plava riba	n	Bijela riba	n	Plava riba	n	Bijela riba
0	24	1,2 (0,76-1,8)	2	1,1 (0,52; 1,7)	24	1,4 (0,77-2,9)	2	2,3 (1,8; 2,8)
≤1 x	60	1,3 (0,69-3,3)	57	1,2 (0,62-2,7)	60	1,8 (0,72-4,5)	57	1,4 (0,61-2,7)
>1-2 x	14	3,2 (1,3-4,9)	24	1,4 (0,84-3,9)	14	2,5 (1,8-6,0)	24	2,0 (1,1-5,0)
>2 x	4	4,5 (2,2-6,6)	19	2,9 (1,4-4,8)	4	7,1 (3,5-11)	19	3,3 (1,5-7,5)
[b]Linearni trend u odnosu na unos ribe								
	n = 102		n = 102		n = 102		n = 102	
Spearmanov ρ	0,311		0,318		0,230		0,279	
p	*0,001*		*0,001*		*0,02*		*0,004*	

Rezultati su prikazani kao medijan i raspon međukvartilnih vrijednosti u zagradi.
Plava riba – srdela i tuna. Bijela riba – oslić, orada, brancin i druge vrste (ako su ih ispitanice navele).
[a]Oznake zastupljenosti ribe u prehrani razvrstane po kategorijama prosječnog unosa prema samoodređenju ispitanica:
0 – ne konzumira ribu; ≤1 x – konzumira ribu do jedan puta na tjedan;
>1-2 x – konzumira ribu više od jednom do dva puta na tjedan; >2 x – konzumira ribe više od dva puta na tjedan.
[b]Trend analiziran testom po Spearmanu (*p<0,05*) uzimajući u obzir nekategorizirane prosječne vrijednosti unosa ribe na tjedan.

4.5. Masne kiselina u uzorcima morske ribe iz divljeg ulova u Jadranskome moru

Udio ukupne masti i sastav masnih kiselina u mišićju ribe vrsta srdela, oslić, orada i brancin iz divljeg ulova u hrvatskim teritorijalnim vodama Jadranskoga mora prikazan je u tablici 11.

Tablica 11.
Udio ukupne masti (%) i sastav masnih kiselina (% udjeli u ukupnom sastavu masnih kiselina) mišićja ribe iz divljeg ulova u Jadranskom moru.

	Srdela n = 48	**Oslić** n = 12	**Orada** n = 12	**Brancin** n = 12
Ukupne masti (%)	1,75	1,10	3,47	2,44
Zasićene masne kiseline (SAFA) (%)				
C14:0	2,67	2,62	0,965	0,881
C15:0	0,718	0,544	0,289	0,383
C16:0	**22,7**	**18,80**	**19,9**	**21,7**
C17:0	0,910	0,933	0,544	0,740
C18:0	4,73	6,18	7,38	7,34
∑SAFA	31,7	29,1	29,1	31,0
Jednostruko nezasićene masne kiseline (MUFA) (%)				
C16:1	2,02	3,51	2,87	2,61
C17:1	0,208	0,520	0,375	0,423
C18:1*cis*	6,31	11,7	14,2	13,0
C20:1	0,567	0,601	0,634	0,815
C24:1	1,10	1,71	4,28	1,53
∑MUFA	10,2	18,04	22,4	18,4
Višestruko nezasićene masne kiseline (PUFA) (%)				
C18:2*cis*	1,16	1,51	1,30	1,32
C18:3 n-3	0,262	0,284	0,302	0,407
C20:2	0,737	0,500	0,263	0,229
C20:4 n-6	1,3	2,50	7,98	6,42
C20:5 n-3, EPA	**8,6**	**7,66**	**5,63**	**10,4**
C22:6 n-3, DHA	**41,2**	**33,8**	**27,24**	**28,0**
∑PUFA	53,2	46,2	42,7	46,8
Neidentificirane masne kiseline (n.i.) (%)	6,41	6,02	5,83	3,45
EPA+DHA (g/100 g)	**0,739**	**0,365**	**1,017**	**0,820**
DHA/EPA	4,82	4,41	4,83	4,74

Udio ukupne masti izražen je na svježu masu mišićja ribe.
Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost dvaju izmjerenih kompozita po vrsti (n = 6 po kompozitu, osim za srdele n = 24).
U izračunu EPA+DHA (g/100 g) upotrijebljen je čimbenik pretvorbe za sadržaj ukupnih masnih kiselina u ribama (prema Greenfield i Southgate, 2003).

4.6. Esencijalni elementi u uzorcima morske ribe i iz ribljih konzervi

Količine esencijalnih elemenata, makroelementa K, Na, Mg i Ca te mikroelementa Zn, Fe, Cu i elementa u ultra tragu Se (izraženih u miligramima na kilogram svježeg mišićja ribe) u analiziranim vrstama hrane morskoga podrijetla koja uključuje ribe iz divljeg ulova, iz hrvatskog uzgoja, zamrznutu ribu (srdele i oslić) i ribe iz konzervi prikazani su u tablicama 12. – 14.

Od osam vrsta ribe iz divljeg ulova u Jadranskom moru, u inćuna su izmjerene najveće količine Na, u gire i šaruna Ca, dok su u lokardi bile najniže količine Na, Mg i Ca. Inćun i srdela imale su 2 do 3 puta veće količine mikroelemenata Fe, Zn i Cu od ostalih analiziranih vrsta riba, a gira najveće količine Se.

Količine makroelementa K bile su veće u svježoj u usporedbi sa zamrznutom ribom u srdele i oslića, a Na u zamrznutoj srdeli. Količine mikroelemenata Fe, Zn, Cu i Se razlikovale su se između svježe i zamrznute ribe, s većim Fe, Zn i Cu u zamrznutoj srdeli i većim Se u zamrznutom osliću. U usporedbi s ribom iz uzgoja, u oradi je izmjereno više K, Na i Se, a u divljeg brancina više Se te manje Fe i Cu.

U uzorcima konzervirane skuše izmjerene su veće količine K i manje Na u usporedbi s uzorcima konzervirane srdele i tune. U srdela iz konzervi izmjerene su veće količine Ca i Zn nego u skuše i tune te veće količine Cu od tune dok je Se veći u konzerviranoj tuni u usporedbi sa skušom.

Tablica 12.
Količine esencijalnih elemenata (mg/kg svježe mase mišićja) u ribama iz divljeg ulova u Jadranskom moru.

	Inćun	**Srdela**	**Lokarda**	**Šarun**	**Bukva**	**Gira**	**Oslić**	**Trlja**
	n = 255	n = 251	n = 32	n = 40	n = 24	n = 33	n = 17	n = 64
K	4432±1224	4955±536	**5237±293**	5016±421	5062±585	4329±455	4695±348	4801±573
Na	**1373±353**	1112±179	804±173	1025±236	965±198	1211±152	1130±469	1138±230
Ca	718±130	782±150	233±123	1077±423	538±178	**1532±428**	777±653	422±178
Mg	458±73	427±47	433±23	473±48	434±43	429±70	426±94	428±64
Fe	**12,3±2,46**	**14,5±1,45**	8,27±1,22	5,42±2,16	3,78±0,947	2,18±0,405	1,49±0,776	3,98±0,683
Zn	**19,5±2,88**	**19,4±4,06**	8,43±1,73	10,9±2,90	9,07±2,74	6,29±1,92	3,77±0,880	4,93±0,839
Cu	**1,46±0,260**	**1,26±0,175**	1,19±0,252	0,665±0,249	0,381±0,070	0,276±0,047	0,178±0,092	0,384±0,046
Se	0,307±0,040	**0,715±0,158**	0,582±0,108	0,508±0,123	0,555±0,075	**0,743±0,146**	0,327±0,056	0,492±0,121

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ±SD.
Podebljane vrijednosti označavaju najveće izmjerene količine za pojedini element u mišićju ribe.

Tablica 13.
Količine esencijalnih elemenata (mg/kg svježe mase mišićja) u svježoj prema zamrznutoj ribi i u ribi iz divljeg ulova prema ribi iz uzgoja.

	Srdela		**Oslić**		**Orada**		**Brancin**	
	svježa	zamrznuta	svjež	zamrznut	divlji ulov	uzgojena	divlji ulov	uzgojen
	n = 48	n = 48	n = 12	n = 16	n = 24	n = 12	n = 13	n = 12
K	5463±85	4575±159*	4605±245	3769±436*	5380±289	3451±1950#	4446±590	4000±837#
Na	748±31	977±45*	1202±291	1052±356	643±248	343±189#	559±150	598±107
Ca	582±41	511±36	116±22	169±78	117±42	113±71	116±52	161±47
Mg	415±8,2	425±16	389±31	365±47	348±33	257±145	315±28	312±57
Fe	8,61±1,09	15,3±1,54*	0,935±0,159	1,12±0,243	1,56±0,484	1,15±0,654	1,66±0,411	2,25±0,488#
Zn	7,59±0,711	12,6±1,69*	3,08±0,237	3,29±0,460	3,80±0,423	2,97±1,67	3,81±0,585	4,13±0,738
Cu	0,923±0,117	1,89±0,173*	0,131±0,017	0,178±0,050	0,193±0,041	0,211±0,118	0,264±0,074	0,390±0,117#
Se	0,733±0,063	0,845±0,112	0,356±0,052	0,543±0,058*	0,352±0,058	0,154±0,087#	0,294±0,063	0,209±0,039#

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ±SD.
*Statistički značajna razlika između svježe i zamrznute ribe (p<0,01) analizirana Mann-Whitneyovim *U* testom.
#Statistički značajna razlika između ribe iz divljeg ulova i iz uzgoja (p<0,01) analizirana Mann-Whitneyovim *U* testom.

Tablica 14.
Količine esencijalnih elemenata (mg/kg svježe mase mišićja) u uzorcima konzerviranih morskih riba u biljnom ulju.

	Srdele (sardine bez glave)	**Skuša (fileti skuše)**	**Tuna (fileti ili komadići tune)**
	n = 17	n = 9	n = 11
K	4050±336[a]	4340±543[a]	3222±401[b]
Na	5076±1087[a]	2498±1055[b]	5411±775[a]
Ca	2245±244[a]	216±121[b]	146±151[bc]
Mg	450±101	353±27	389±39
Fe	15,4±1,50	13,3±3,09	12,2±2,96
Zn	14,1±1,73[a]	8,82±3,46[b]	9,84±5,34[bc]
Cu	1,32±0,190[a]	1,06±0,254[a]	0,636±0,110[b]
Se	0,770±0,070[ab]	0,662±0,275[a]	0,881±0,197[b]

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ±SD.
[a,b,c]Različita slova označavaju statistički značajne razlike u količinama esencijalnih elemenata između konzerviranih morskih riba (p<0,01) analizirane Kruskal-Wallisovim testom.

4.7. Toksični elementi u uzorcima morske ribe i iz ribljih konzervi

Količine toksičnih metala ukupne Hg, Cd i Pb, i polumetala As (izraženi u miligramima na kilogram svježeg mišićja ribe) u analiziranoj hrani morskoga podrijetla koja uključuje ribe iz divljeg ulova, hrvatskog uzgoja, zamrznutu ribu (srdela i oslić) i ribe iz konzervi prikazani su u tablicama 15.-17.

Izmjerene vrijednosti toksičnih metala u svim ribljim uzorcima bile su niže od najvećih dopuštenih količina (NDK) metala Hg, Cd i Pb u mesu ribe (izražena na svježu masu mišićja). Vrijednost NDK za Hg iznosi 0,50 mg/kg za sve vrste ribe i proizvode ribarstva te 1,0 mg/kg za pojedine vrste uključujući trlje (*Mullus spp.)* i tune (*Thunnus spp.*); za Cd 0,050 mg/kg za sve vrste riba te 0,10 mg/kg za pojedine vrste, uključujući inćune (*Engralis spp.*), srdelu (Sardina *pilchardus*) i šarun (*Trachurus sp.*) za Pb 0,30 mg/kg (Uredba EZ, 2006). Količine Hg >0,50 mg/kg svježeg mišićja izmjerene su u 2 uzorka brancina i 14 uzoraka orade iz divljeg ulova.

U orade i trlje blatarice izmjerene su do 5 puta veće količine Hg u mišićju ribe u usporedbi s ostalim vrstama ribe iz divljeg ulova i uzgoja u Jadranskom moru. U trlje je izmjereno i više As (do 20 puta veći medijan nego u drugim vrstama), a u inćunu i srdeli najviše razine toksičnih metala Cd i Pb.

Tablica 15.
Količine toksičnih elemenata (mg/kg svježe mase mišićja) u ribama iz divljeg ulova u Jadranskom moru.

	Inćun	**Srdela**	**Lokarda**	**Šarun**	**Bukva**	**Gira**	**Oslić**	**Trlja**
	n = 255	n = 251	n = 32	n = 40	n = 24	n = 33	n = 17	n = 64
Hg	0,068 0,015-0,126	0,081 0,037-0,151	0,023 0,014-0,084	0,071 0,034-0,494	0,164 0,042-0,242	0,118 0,040-0,249	0,156 0,058-0,400	**0,425** **0,178-0,996**
Cd	**0,004** **0,001-0,015**	**0,003** **0,001-0,005**	0,001 0,0007-0,002	0,001 0,0007-0,001	0,001 0,0007-0,003	0,0008 0,0006-0,003	<0,0006	<0,0006
Pb	0,005 0,003-0,026	**0,015** **0,009-0,025**	<0,002	0,004 0,003-0,038	<0,002	0,005 0,003-0,020	<0,002	0,009 0,003-0,055
As	5,92 3,33-14,5	5,42 2,05-18,5	3,47 1,33-5,15	7,87 2,21-15,6	2,98 1,80-4,68	4,59 2,59-11,4	9,04 6,01-18,3	**23,6** **8,44-75,7**

Rezultati su prikazani kao medijan i raspon.
Podebljane vrijednosti označavaju najveće izmjerene količine za pojedini element u mišićju ribe.

Za razliku od uzoraka svježe srdele, u zamrznutoj srdeli izmjerena je veća količina As. Količine Hg i As bile su veće u oslića iz divljeg ulova u Jadranskom moru nego u zamrznutom osliću kupljenom u trgovini podrijetlom iz južnog Atlantskog oceana. Orada i brancin iz divljeg ulova imaju više As, a orada i više Hg, u usporedbi s oradom i brancinom iz hrvatskog uzgoja. U uzorcima iz ribljih konzervi utvrđeno je da tune imaju više razine Cd od srdela, a srdele najveće količine As.

Tablica 16.
Količine toksičnih elemenata (mg/kg svježe mase mišićja) u svježoj u usporedbi sa zamrznutom ribom i u ribi iz divljeg ulova prema ribi iz uzgoja.

	Srdela		**Oslić**		**Orada**		**Brancin**	
	svježa	zamrznuta	svjež	zamrznut	svježa	iz uzgoja	svjež	iz uzgoja
	n = 48	n = 48	n = 12	n = 16	n = 24	n = 12	n = 13	n = 12
Hg	0,053 0,038-0,088	0,080 0,062-0,098	0,073 0,059-0,152	0,031* 0,009-0,063	0,531 0,196-1,98	0,046# 0,011-0,085	0,109 0,038-0,903	0,102 0,076-0,146
Cd	0,001 0,0006-0,003	0,001 0,001-0,002	<0,0006	0,002 0,001-0,007	<0,0006	<0,0006	<0,0006	<0,0006
Pb	0,014 0,009-0,024	0,009 0,007-0,012	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
As	5,77 4,44-6,07	7,02* 6,35-9,06	9,31 6,54-24,6	1,03* 0,339-2,35	4,59 0,891-37,9	0,156# 0,041-1,31	0,580 0,439-1,68	0,380# 0,198-0,480

Rezultati su prikazani kao medijan i raspon.
*Statistički značajna razlika između svježe i zamrznute ribe (p<0,01) analizirana Mann-Whitneyovim *U* testom.
#Statistički značajna razlika između ribe iz divljeg ulova i iz uzgoja (p<0,01) analizirana Mann-Whitneyovim *U* testom.

Tablica 17.
Količine toksičnih elemenata (mg/kg svježe mase mišićja) u uzorcima konzerviranih morskih riba u biljnom ulju.

	Sardine (sardine bez glave)	**Skuša (fileti skuše)**	**Tuna (fileti ili komadići tune)**
	n = 17	n = 9	n = 11
Hg	0,077[a] 0,055-0,138	0,049[a] 0,018-0,087	0,076[a] 0,016-0,357
Cd	0,006[a] 0,005-0,008	0,012[ab] 0,003-0,023	0,018[b] 0,008-0,033
Pb	0,029 0,022-0,048	<0,002	<0,002
As	3,97[a] 2,33-7,17	1,27[bc] 0,868-1,82	1,19[c] 0,493-1,53

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ±SD.
[a,b,c]Različita slova označavaju statistički značajne razlike između konzerviranih morskih riba (p<0,01) analizirane Kruskal-Wallisovim testom.

4.8. Molarni omjeri Hg i Se u uzorcima morske ribe i iz ribljih konzervi

Molarne koncentracije Hg i Se (izražene u mikromolima po kilogramu) i molarni omjeri Hg:Se i Se:Hg u uzorcima morske ribe i iz ribljih konzervi te izračunate vrijednosti zdravstvene koristi HBV (eng. *health benefit value*) za Se u analiziranim ribljim uzorcima prikazani su u tablici 18.

Molarni omjer Se:Hg bio je veći od 2:1 u svim analiziranim ribljim uzorcima, izuzev u oradi iz divljeg ulova s omjerom Se:Hg od 1,61. Najveća vrijednost omjera Se:Hg dobivena je za lokardu, 65,5. Dobivene HBV Se vrijednosti (medijani) kao pokazatelj povoljnog učinka Se iz riba na zdravlje ljudi bile su u rasponu 4,91 za orade iz divljeg ulova do 422 u lokarde. Najniže vrijednosti HBV Se dobivene su za trlju blatariću i oradu iz divljeg ulova, -42,0 i -27,4.

Tablica 18.
Molarne koncentracije i molarni omjer Hg i Se u uzorcima morske ribe i iz ribljih konzervi u Hrvatskoj.

		Molarne koncentracije		Slobodni Se	Molarni omjer		HBV Se
Vrsta	n	µmol Hg/kg	µmol Se/kg	µmol Se/kg	Se:Hg	Hg:Se	izračun[a]
Riba iz divljeg ulova u istočnom Jadranskom moru							
Inćun	255	0,303	3,75	3,57	9,66	0,105	36,9 (19,8 – 249)
Srdele	251	0,324	10,1	9,84	29,7	0,034	277 (191 – 617)
Lokarda	32	0,116	6,93	6,82	65,5	0,015	422 (137 – 693)
Šarun	59	0,348	5,85	5,50	18,7	0,054	63 (20,8 –185)
Bukva	24	0,817	6,85	6,08	8,15	0,123	111 (39,5 – 178)
Gira	38	0,602	9,33	8,62	15,6	0,064	152 (74,7 – 210)
Oslić	17	0,783	3,90	3,36	5,80	0,173	25,9 (4,64 – 84,3)
Trlja	64	2,19	5,79	3,35	2,56	0,391	13,7 (-42,0 – 38,8)
Orada	24	2,68	4,39	1,53	1,61	0,622	4,91 (-27,4 – 28,2)
Brancin	13	0,546	4,07	2,58	4,87	0,205	13,9 (-1,09 – 63,4)
Riba iz hrvatskog uzgoja							
Orada	12	0,229	2,65	2,24	9,90	0,101	17,3 (6,00 – 42,9)
Brancin	12	0,507	2,88	2,28	5,06	0,198	13,2 (8,91 – 21,7)
Zamrznuta riba							
Srdela	48	0,402	10,7	10,3	26,7	0,038	302 (183 – 421)
Oslić	16	0,156	6,60	6,39	47,0	0,022	277 (114 – 790)
Konzervirana riba u biljnom ulju							
Srdela	17	0,384	9,65	9,23	24,6	0,041	224 (132 – 383)
Skuša	9	0,245	7,78	7,34	41,0	0,024	340 (123 – 948)
Tuna	11	0,378	12,2	10,7	35,1	0,029	448 (71,2 – 730)

Rezultati su prikazani kao medijani kompozitnih uzoraka (raspon u zagradi dan je za HBV).
HBV Se (eng. *health benefit value selenium*) – vrijednost pokazatelja zdravstvene koristi Se iz ribe.
[a]Izračun: HBV Se = [(µmol Se/kg) x (Se/Hg)] - [(µmol MeHg/kg) x (Hg/Se)] (prema: Ralston, 2008)

4.9. Procjena nutritivne koristi i zdravstvenog rizika zbog izloženosti toksičnim elementima konzumacijom hrane morskoga podrijetla

U zdravih rodilja iz kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske procijenjen je unos esencijalnih makroelemenata K, Na, Ca, Mg i mikroelementa Fe, Zn, Cu i Se te toksičnih metala Hg (u najvećem dijelu kao MeHg), Cd i Pb te As s obzirom na dobivene vrijednosti o konzumaciji morske ribe na dan iz anketnih upitnika (tablica 19). Za ispitanice skupine Zadar (C) dobiveni su detaljni podaci o konzumaciji ribe prema vrstama, pa se jedino u toj skupini mogao dodatno procijeniti unos toksične Hg, polumetala As, esencijalnog elementa u ultra tragu Se i omega-3 masnih (EPA+DHA) za vrste srdela, oslića, orada i brancin (tablica 20). Izračunata je i vrijednost kvocijenta ciljne opasnosti THQ (eng. *target hazard quotient*) za Hg prema učestalosti konzumacije ribe na tjedan (1, 2 i 3 obroka) za četiri najčešće konzumirane vrste iz divljeg ulova u istočnom Jadranskom moru (srdela, oslić, orada i brancin). Vrijednost THQ prikazane su prema vrijednostima medijana i najveće izmjerene koncentracije Hg u promatranim vrstama ribe (tablica 21).

Tablica 19.
Procjena unosa esencijalnih i toksičnih elemenata konzumacijom morske ribe na dan u ispitanica iz kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske.

			Kontinentalno područje		Priobalno područje			
			Zagreb (A) n = 197		Zadar (B) n = 96		Zadar (C) n = 107	
Unos ribe (g/dan)			13,9 [37,1] (4,64 – 18,6)		18,6 [55,7]† (9,29 – 37,1)		21,4 [80,7]† (12,8 – 40,1)	
ESENCIJALNI ELEMENTI								
DRV (mg/dan)		mg/kg[a]	EDI (mg/dan)	%DRV	EDI (mg/dan)	%DRV	EDI (mg/dan)	%DRV
K	**3500**	4796	66,8 [178]	1,91 [5,09]	89,1 [267]	2,54 [7,63]	102 [387]	2,93 [11,1]
Na[#]	**1500**	986	14 [37]	0,92 [2,4]	18,3 [54,9]	1,22 [3,66]	21,1 [79,5]	1,41 [5,03]
Ca	**950**	491	6,84 [18,2]	0,72 [1,92]	9,11 [27,3]	0,96 [2,87]	10,5 [39,6]	1,11 [4,17]
Mg	**300**	404	5,6 [15]	1,87 [5,00]	7,49 [22,5]	2,50 [7,49]	8,63 [32,5]	2,89 [10,9]
Fe	**16**	3,82	0,05 [0,14]	0,33 [0,89]	0,07 [0,21]	0,44 [1,33]	0,08 [0,31]	0,51 [1,93]
Zn	**14,3**	6,52	0,09 [0,24]	0,63 [1,68]	0,12 [0,36]	0,84 [2,51]	0,14 [0,53]	0,98 [3,71]
Cu	**1,5**	0,409	0,006 [0,02]	0,38 [1,01]	0,008 [0,02]	0,51 [1,52]	0,01 [0,03]	0,58 [2,19]
Se	**0,070**	0,475	0,007[0,02]	9,45 [25,2]	0,009 [0,03]	12,6 [37,8]	0,01[0,04]	14,5 [54,8]
TOKSIČNI ELEMENTI								
TWI (µg/kg TM/ tj)		mg/kg[a]	EDI (µg/dan)	%TWI[b]	EDI (µg/dan)	%TWI	EDI (µg/dan)	%TWI
Hg	/	0,083	1,15 [3,07]	/	1,54 [4,61]	/	1,77 [6,67]	/
MeHg[§]	**1,3**	0,074	1,04 [2,76]	1,04 [3,28]	1,38 [4,15]	1,51 [5,00]	1,59 [6,00]	1,64 [6,65]
Cd	**2,5**	0,001	0,012 [0,03]	0,006 [0,02]	0,017 [0,05]	0,009 [0,03]	0,019 [0,07]	0,01[0,04]
Pb	**25**	0,010	0,139 [0,37]	0,007 [0,02]	0,186 [0,56]	0,010 [0,03]	0,214 [0,81]	0,001[0,04]
As	/	4,65	64,8 [173]	/	86,3 [259]	/	99,5 [375]	/

Rezultati su prikazani kao medijan [P95: devedesetpeti percentil] i kao međukvartilni raspon (u zagradi).
†Statistički značajna razlika (p<0,05) prema skupini ispitanica iz kontinentalnog područja Hrvatske – Zagreb (A) analizirana Mann-Whitneyovim *U* testom.
[a]Koncentracija elementa u mg/kg svježeg mišićja ribe (vrijednost medijana svih uzoraka ribe).
[b]U izračunu uzeta je u obzir prosječna tjelesna masa ispitanice prije porođaja dobivena u ovom istraživanju (80 kg)
[#]Vrijednosti DRI za Na preuzete su iz američkih prehrambenih smjernica (IOM, 2010).
[§]Količina MeHg u mišićju ribe preračunata iz vrijednosti za količinu Hg u mišićju ribe upotrebom čimbenika pretvorbe 0,9.
EDI – procijenjeni unos na dan.
DRV – prehrambene referentne vrijednosti za unos mineralnih elemenata u trudnica na dan (prema EFSA NDA 2014c-d, 2015a-d, 2016b).
TWI – vrijednosti dopuštenog tjednog unosa toksičnih metala Hg/MeHg i Cd (prema EFSA CONTAM 2009, 2010, 2012a-b).
PTWI – vrijednost privremeno dopuštenog tjednog unosa za Pb (FAO/WHO 2011b).

Tablica 20.
Procjena unosa elemenata Hg, As i Se te omega-3 masnih kiselina (EPA+DHA) konzumacijom ribe iz divljeg ulova u Jadranskom moru u ispitanica priobalnog područja Hrvatske [skupina Zadar (C)].

		Srdela	**Oslić**	**Orada**	**Brancin**
		Unos ribe (g/dan)			
		3,00 [17,1]	4,27 [37,5]	4,27 [17,1]	4,27 [17,1]
Hg	(µg/g svježeg mišićja ribe)	0,053 [0,088]	0,073 [0,152]	0,531 [1,79]	0,109 [0,903]
	EDI (µg/dan)	0,159 [0,906]	0,311 [2,74]	2,27 [9,08]	0,465 [1,86]
	%TWI (TWI_{MeHg} = 1,3 µg/kg TM/ tj)	0,152 [0,871]	0,299 [2,63]	2,18 [8,70]	0,447 [1,78]
As	(µg/g svježeg mišićja ribe)	5,77 [6,07]	9,31 [24,6]	4,59 [36,8]	0,580 [1,68]
	EDI (µg/dan)	17,3 [98,7]	39,7 [349]	19,6 [78,5]	2,48 [9,92]
Se	(µg/g svježeg mišićja ribe)	0,740 [0,804]	0,356 [0,481]	0,346 [0,453]	0,321 [0,373]
	EDI (mg/dan)	0,002 [0,012]	0,001 [0,013]	0,001 [0,006]	0,001 [0,005]
	%DRV (DRV_{Se} = 0,070 mg/dan)	3,13 [18,1]	2,17 [19,1]	2,11 [8,45]	1,96 [7,28]
EPA +DHA	(mg/g svježeg mišićja ribe)	7,39	3,65	10,17	8,20
	EDI (mg/dan)	21,9 [126]	15,6 [137]	43,4 [174]	35,0 [140]
	%DRV ($DRV_{EPA+DHA}$ = 250 mg/dan)	8,75 [50,5]	6,24 [54,7]	17,4 [69,5]	14,0 [56,0]

Rezultati su prikazani kao medijan i devedesetpeti percentil u uglatoj zagradi [P95].
Vrijednosti EDI i postoci TWI i DRI izračunati prema su vrijednostima medijana elementa odnosno omega-3 masnih kiselina u ribi.
U izračunu %TWI uzeta je u obzir prosječna tjelesna masa ispitanice prije poroñaja dobivena u ovom istraživanju (80 kg).
EDI – procijenjeni unos na dan; TM – tjelesna masa.
TWI – vrijednost dopuštenog unosa MeHg na tjedan (prema EFSA CONTAM 2012b).
DRV – prehrambena referentna vrijednost za unos nutrijenata na dan za trudnice (prema EFSA NDA 2010, 2014d).

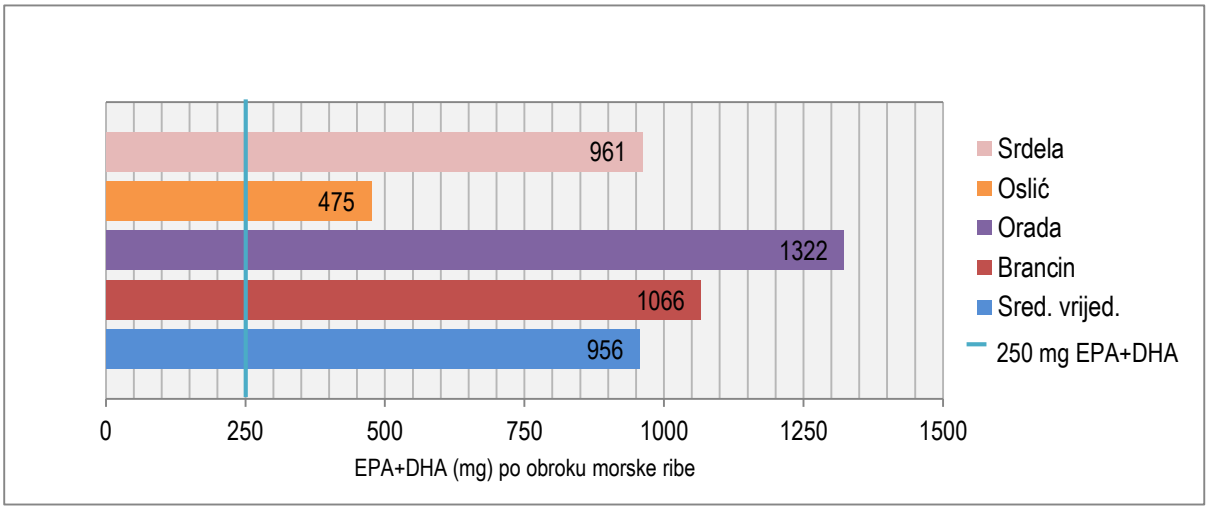
Tablica 21.
Procjena zdravstvenog rizika prema izmjerenoj koncentraciji Hg u četiri najčešće konzumirane vrste ribe izračunom kvocijenta ciljne opasnosti THQ (eng. *target hazard quotient*)

	Srdela	**Oslić**	**Orada**	**Brancin**
	Hg (µg/g svježe mase mišićja)			
	0,053 [0,088]	0,073 [0,152]	0,531 [1,98]	0,109 [0,901]
Prema učestalosti unosa ribe na tjedan	**THQ**			
1 obrok	0,076 [0,126]	0,104 [0,217]	0,760 **[1,77]**	0,156 **[1,29]**
2 obroka	0,151 [0,251]	0,208 [0,434]	**2,83 [5,65]**	0,311 **[2,57]**
3 obroka	0,227 [0,377]	0,313 [0,651]	**2,28 [8,49]**	0,467 **[3,87]**

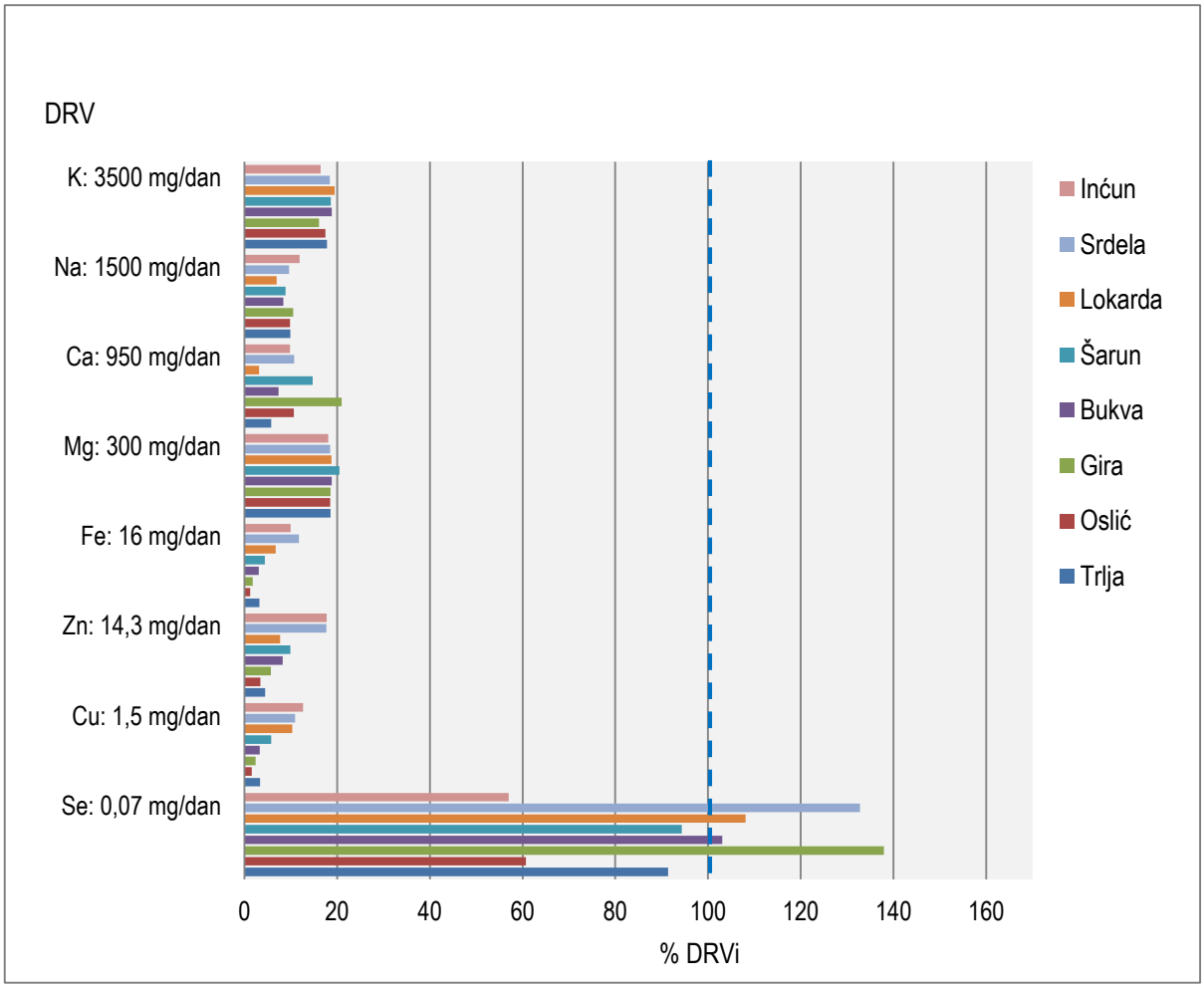
Rezultati su prikazani kao medijan i najviša vrijednost u uglatoj zagradi [max].
Podebljane vrijednosti (THQ >1) označavaju povećani rizik od mogućih štetnih učinaka Hg.
(Izračun prema Copat i sur., 2014; Barone i sur., 2015 za veličinu obroka morske ribe od 130 g).

Slika 5 pokazuje da se obrokom morske ribe od 130 g za vrste srdela, oslić, orada i brancin iz divljeg ulova u istočnom Jadranskom moru unosi u prosjeku 956 mg EPA+DHA što je do 4 puta više od DRV (EFSA NDA 2010). Najveći unos utvrđen je za oradu od 1322 mg EPA+DHA po obroku.

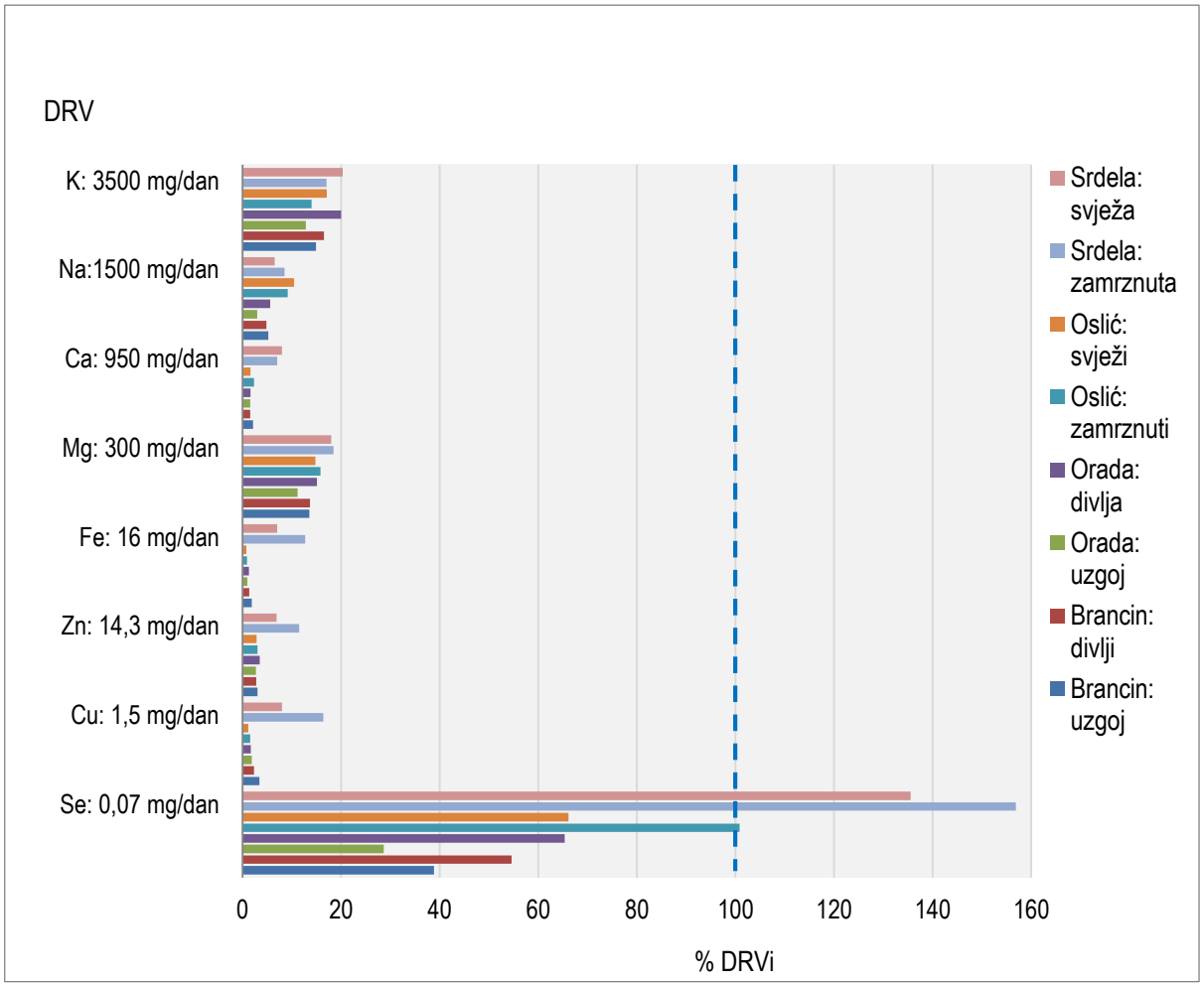
Prema srednjoj veličini obroka ribe od 130 g za svježu ili zamrznutu ribu te 80 g za konzerviranu ribu, za sve analizirane vrste riba procijenjene su razine dosegnutosti preporučenih vrijednosti unosa mineralnih elementa na dan za trudnice (DRVi) Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA 2014c-d; 2015a-d, 2016b), za Na američkog Instituta za medicinu (IOM 2006) (slike 6-8), za unose toksičnih metala Hg, Cd, Pb i polumetala As (izražene u µg/kg TM trudnice s tjelesnom masom pred porođaj 80 kg) prema dopuštenom unosu na tjedan za metale MeHg i Cd (TWI) Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA CONTAM, 2012a-b) te za Pb prema privremeno dopuštenom unos na tjedan (PTWI) Organizacije za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda i Svjetske zdravstvene organizacije (FAO/WHO, 2011b) (slike 9-11). Rezultati ovih procjena detaljno su opisani u poglavlju Rasprava.



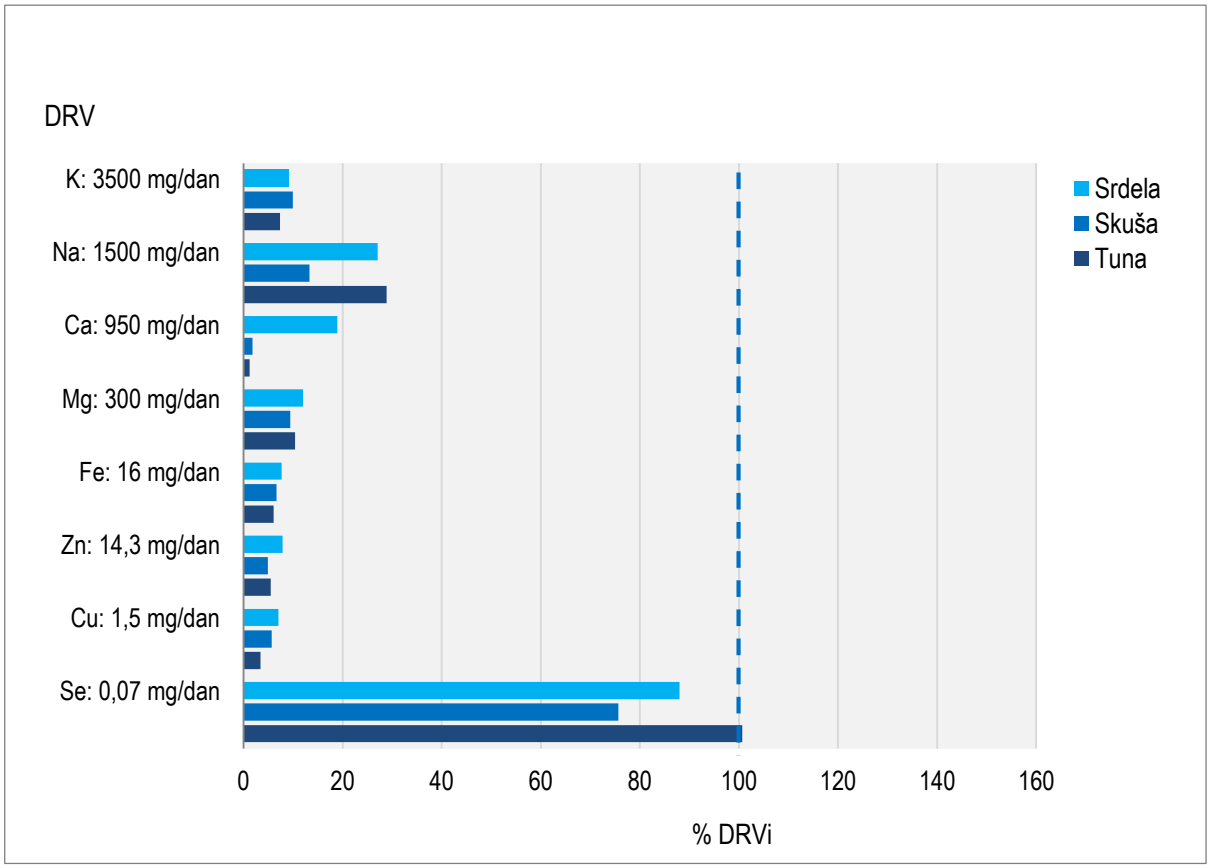
Slika 5. Procjena unosa EPA+DHA po obroku ribe (130 g) iz divljeg ulova u istočnom Jadranskom moru vrste srdela, oslić, orada i brancin prema preporuci unosa EPA+DHA od 250 mg na dan (EFSA NDA, 2010).



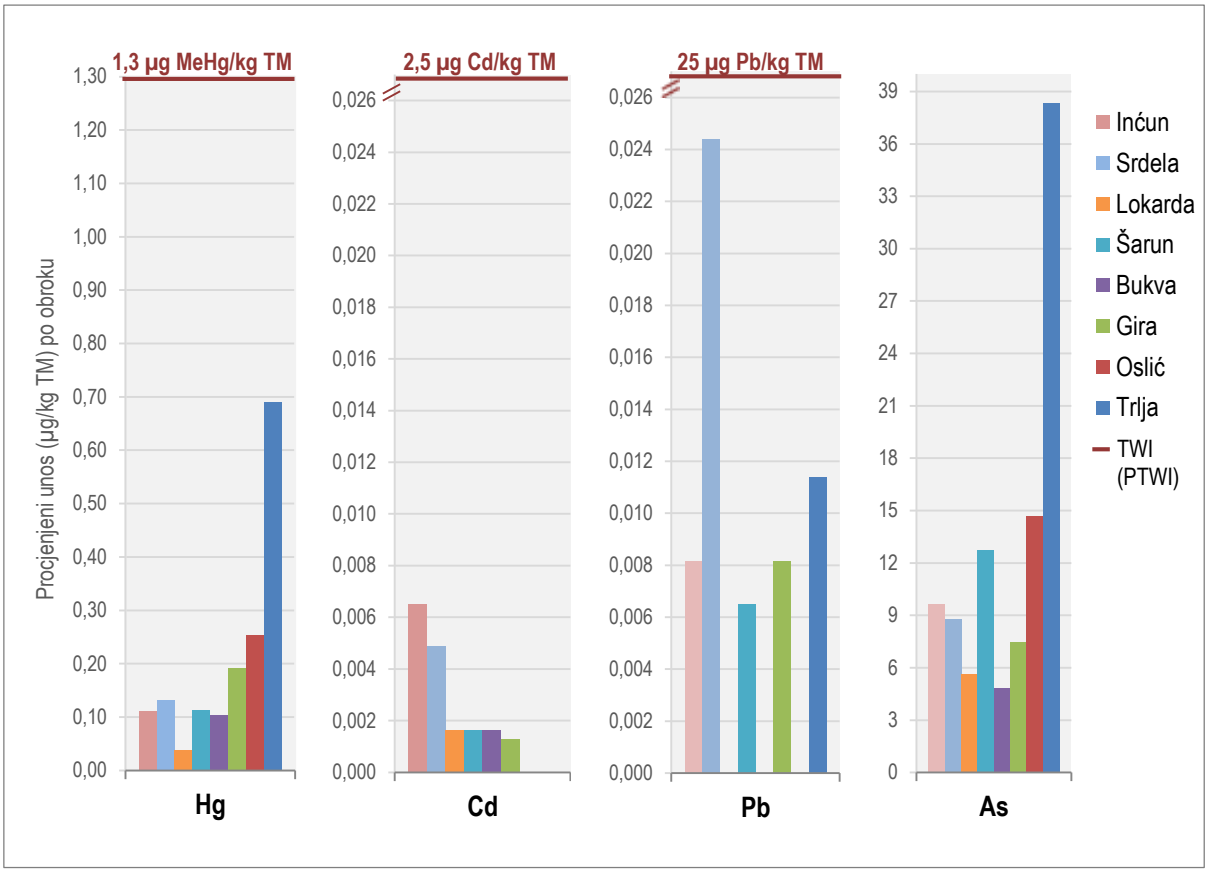
Slika 6. Razina dosegnutosti preporučenih vrijednosti unosa esencijalnih mineralnih elementa na dan za trudnice, DRVi (IOM 2006; EFSA NDA 2014c-d; 2015a-d; 2016b) konzumacijom obroka ribe (130 g) za vrste inćun, srdela, lokarda, šarun, bukva, gira, oslić i trlja blatarica iz divljeg ulova u istočnom Jadranskom moru.



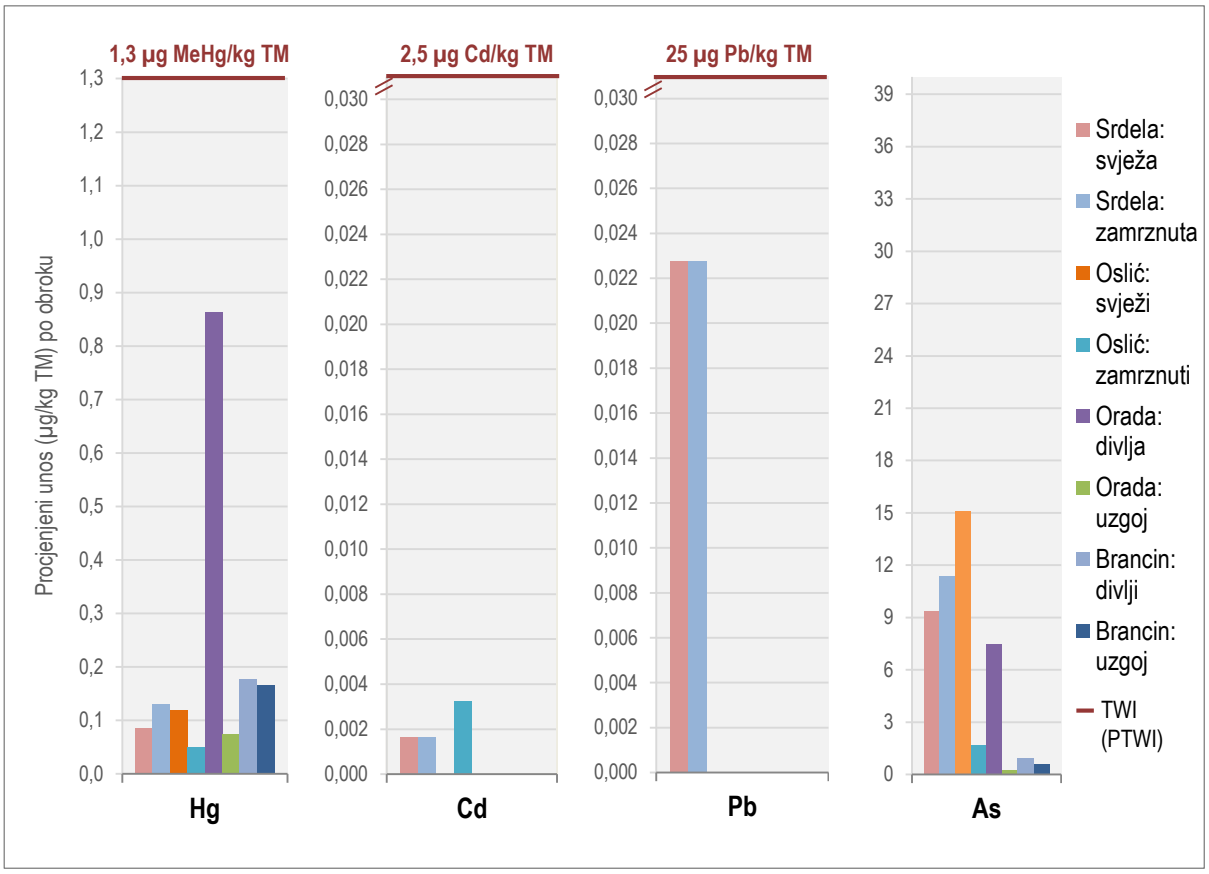
Slika 7. Razina dosegnutosti preporučenih vrijednosti unosa esencijalnih mineralnih elementa na dan za trudnice, DRVi (IOM 2006; EFSA NDA, 2014c-d; 2015a-d; 2016b) konzumacijom obroka (130 g) za svježu i smrznutu morsku ribu vrste srdela i oslić te ribe vrste orada i brancin iz divljeg ulova i iz uzgoja u istočnom Jadranskom moru.



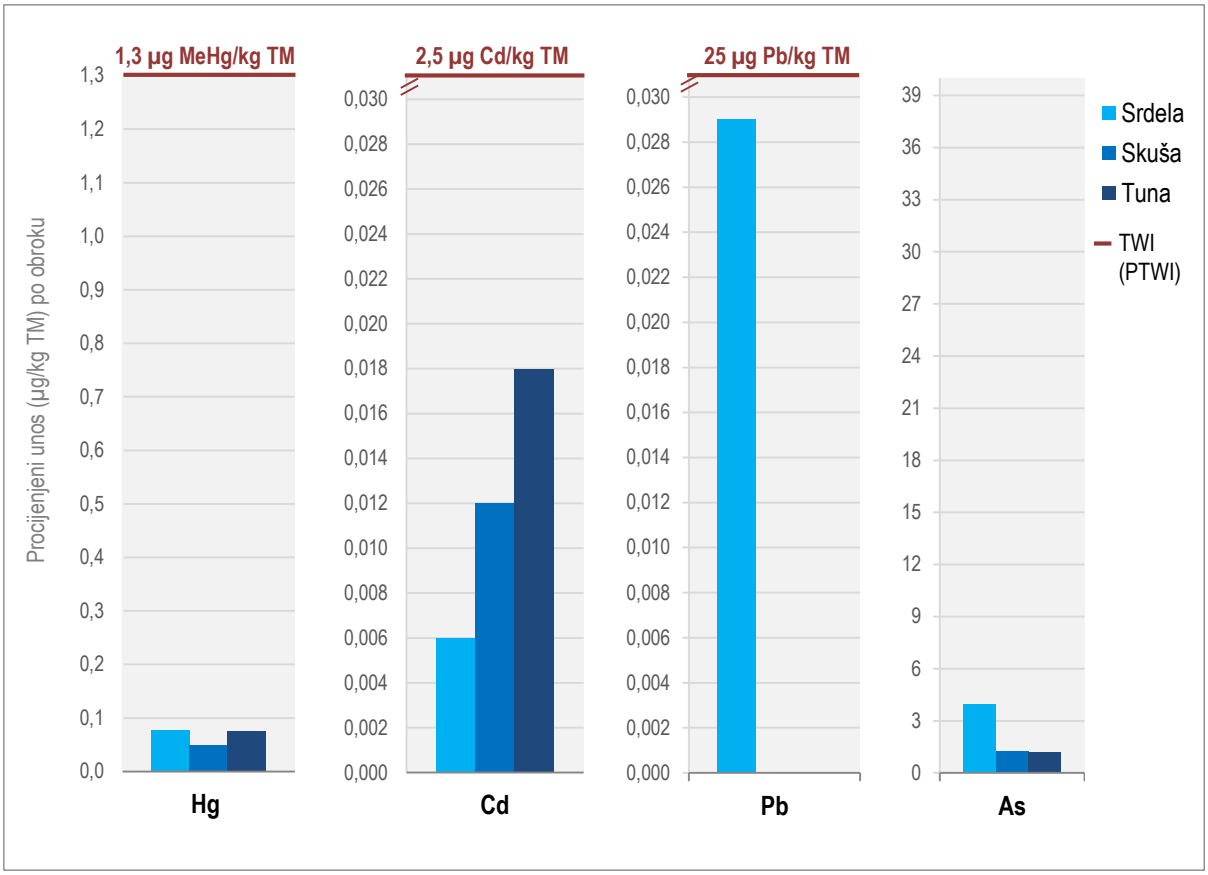
Slika 8. Razina dosegnutosti preporučenih vrijednosti unosa esencijalnih mineralnih elementa na dan za trudnice, DRVi (IOM 2006; EFSA NDA, 2014c-d; 2015a-d; 2016b) konzumacijom obroka konzervirane ribe u biljnom ulju (80 g) vrste srdela, skuša i tuna.



Slika 9. Procijenjeni unos toksičnih metala ukupne žive (Hg), kadmija (Cd), olova (Pb) i polumetala arsena (As) (izražene u µg/kg TM) za trudnice konzumacijom 130 g ribe iz divljeg ulova u istočnom Jadranskom moru vrste inćun, srdela, lokarda, šarun, bukva, gira, oslić i trlja (blatarica) prema dopuštenom tjednom unosu za MeHg i Cd (TWI) Europske agencije za sigurnosti hrane (EFSA CONTAM, 2012a-b) i privremeno dopuštenom tjednom unosu za Pb (PTWI) Organizacije za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda i Svjetske zdravstvene organizacije (FAO/WHO, 2011b) čije su vrijednosti označene iznad svakog elementa (a za As ne postoje).



Slika 10. Procijenjeni unos toksičnih metala ukupne žive (Hg), kadmija (Cd), olova (Pb) i polumetala arsena (As) (izražene u µg/kg TM) za trudnice konzumacijom 130 g svježe i zamrznute ribe vrste srdela i oslić te svježe orade i brancina iz divljeg ulova i iz uzgoja u istočnom Jadranskom moru prema dopuštenom tjednom unosu za MeHg i Cd (TWI) Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA CONTAM 2012a, 2012b) i privremeno dopuštenom tjednom unosu za Pb (PTWI) Organizacije za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda i Svjetske zdravstvene organizacije (FAO/WHO, 2011b) čije su vrijednosti označene iznad svakog elementa (a za As ne postoje).



Slika 11. Procijenjeni unos toksičnih metala metala ukupne žive (Hg), kadmija (Cd), olova (Pb) i polumetala arsena (As) (izražene u µg/kg TM) za trudnice konzumacijom 80 g konzervirane ribe u biljnom ulju za vrste srdela, skuša i tuna prema dopuštenom tjednom unosu za MeHg i Cd (TWI) Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA CONTAM, 2012a-b) i privremenom dopuštenom tjednom unosu za Pb (PTWI) Organizacije za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda i Svjetske zdravstvene organizacije (FAO/WHO 2011b) čije su vrijednosti označene iznad svakog elementa (a za As ne postoje).

5. RASPRAVA

5. RASPRAVA

Hrana i voda za piće najvažniji su izvori svakodnevne izloženosti niskim razinama različitih toksičnih tvari nakupljenih u okolišu. Morska riba, pored bogatog sadržaja omega-3 masnih kiselina, visokokvalitetnih proteina i esencijalnih elemenata, istodobno sadrži i brojne toksikante (poliklorirani bifenili, ostaci pesticida i farmaceutskih proizvoda, mikroplastika i drugo) uključujući toksične metale Hg, Cd, Pb. Među njima posebice je opasan organski kemijski oblik žive MeHg, naročito za žene tijekom reprodukcijskog razdoblja zbog mogućih toksičnih učinaka na razvoj živčanog sustava ploda. Nutritivna korist konzumacije morske ribe za razvoj živčanog sustava i drugog te moguće opasnosti izloženosti MeHg u trudnica i prenatalno izloženih potomaka zato su još uvijek predmet brojnih opsežnih istraživanja kojima se nastoje procijeniti povoljni i štetni učinci konzumacije morske ribe buduće majke za njezino zdravlje kao i za zdravlje potomka (opširnije opisano u poglavljima Uvod i Literaturni pregled).

U istraživanju sadržanom u ovom radu procijenjeni su unosi esencijalnih elemenata, makroelemenata K, Na, Ca i Mg, mikronutrijenata Fe, Zn, Cu i Se, toksičnih metala Hg, Cd i Pb te polumetala As konzumacijom morske ribe (samoodređenjem, zabilježeno anketnim upitnicima) u zdravih rodilja iz kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske. U ispitanica iz priobalnog područja nakon kemijske karakterizacije uzoraka riba procijenjeni su i unosi omega-3 masnih kiselina (EPA+DHA), esencijalnog elementa Se i toksičnih elemenata Hg i As konzumacijom četiri najčešće konzumirane vrste riba iz divljeg ulova, srdele, oslića, orade i brancina. Određene su količine mineralnih elemenata u mišićju 10 različitih vrsta morskih riba iz divljeg ulova i 3 vrste konzerviranih riba te sadržaj masnih kiselina u srdeli, osliću, oradi i brancinu iz divljeg ulova. Procijenjene su razine dosegnutosti preporučenih vrijednosti (prehrambenih referentnih vrijednosti, DRVi) za esencijalne mineralne elemente kao i udjeli procijenjenog unosa toksičnih elemenata na dan prema vrijednostima dopuštenog tjednog unosa (TWI) za tri najvažnija toksična metala Hg, Cd i Pb u trudnica tijekom zadnjeg tromjesečja trudnoće (prosječne tjelesne mase 80 kg) s obzirom na srednju veličinu obroka morske ribe (130 g) i konzervirane ribe (80 g). Procjena je napravljena za konzumaciju ukupno 10 različitih vrsta morske ribe i 3 vrste ribljih konzervi koje su dostupne u Hrvatskoj. Procijenjeno je i stanje odabranih esencijalnih makro- i mikroelemenata (Ca, Fe, Zn, Cu i Se) i glavnih toksičnih elemenata (Hg, Cd, Pb i As) u parovima majka-novorođenče s obzirom na razlike u unosu hrane morskoga podrijetla u kontinentalnom i priobalnom području temeljem nalaza koncentracija elemenata u kosi i/ili krvi/serumu majke te u krvi iz pupkovine. Morska riba jedan je od najbogatijih proteinskih izvora Se u prehrani. Budući da se konzumacijom ribe, uz povoljne nutrijente, istodobno unose i toksične supstancije kao što je MeHg, u ovom radu po prvi puta su izračunate vrijednosti molarnih omjera Hg i Se za različite vrste morskih riba iz istočnog Jadranskog mora i riblje konzerve te vrijednost zdravstvene koristi (HBV) za Se za svaku od analiziranih vrsta hrane morskoga podrijetla (u poglavlju Rezultati, potpoglavlje 4.8).

5.1. Navike konzumacije hrane morskoga podrijetla

Unos hrane morskoga podrijetla ovisi o dostupnosti hrane, tradiciji prehrane, demografskim čimbenicima kao što su socioekonomski status i stupanj obrazovanja, o rasi i mjestu prebivanja odnosno geografskoj regiji (Mahaffey i sur., 2008, Oken i sur., 2012). Konzumacija hrane morskoga podrijetla u Hrvatskoj za 2013. godinu (18,98 kg) bila je na razini prosjeka konzumacije hrane morskoga podrijetla u Europskoj uniji (22,05 kg), što je više nego u Austriji i Njemačkoj, ali manje nego u Italiji, Francuskoj i Švedskoj te do 2,5 puta manje u usporedbi s Portugalom i Španjolskom (Prilog 1).

U ovom istraživanju utvrđen je do 2 puta veći unos ribe u priobalnom području (Sjeverna Dalmacija – Zadar) u usporedbi sa središnjim kontinentalnim područjem u Hrvatskoj (grad Zagreb i okolica). Dobiveni podaci za unos ribe u priobalnoj Hrvatskoj od 148 g na tjedan slažu se s prethodno objavljenim podacima o unosu morske ribe u primorskoj Hrvatskoj (Rijeka), Italiji (područje Trsta) i na grčkim otocima, od 150 g na tjedan (Miklavčič i sur., 2013). Prosječna učestalost konzumacije ribe na tjedan u trudnica iz priobalja slaže se s prosječnom konzumacijom ribe u Europi od 1,5 puta na tjedan prema istraživanju u 59.445 rodilja iz 11 europskih država (Stratakis i sur., 2017). U usporedbi s Hrvatskom, trudnice u Velikoj Britaniji konzumiraju ribu u prosjeku do 3 puta na tjedan što odgovara ukupnom unosu od 340 g (Daniels i sur., 2004). U Španjolskoj i Portugalu to je više od 4 puta na tjedan, od čega se 2 puta na tjedan odnosi na unos bijele ribe (Stratakis i sur., 2017).

5.2. Utjecaj unosa hrane morskoga podrijetla prema geografskom području prebivanja na koncentracije mineralnih elemenata u parovima majka-novorođenče

Esencijalni mikroelementi Ca, Fe, Cu, Zn i Se

Koncentracije esencijalnih mikroelemenata Ca, Fe, Cu i Zn u serumu majke i krvi iz pupkovine u ovome istraživanju jesu unutar referentnog raspona esencijalnih elementa za žene tijekom zadnjeg tromjesečja trudnoće postavljenog na temelju literaturnih podataka za najčešće analite u kliničkoj praksi (Abbassi-Ghanavati i sur., 2009). Također, rezultati su u suglasju s prethodno objavljenim podacima iz istraživanja u parovima majka-novorođenče (Osman i sur., 2000; Izquierdo Alvarez i sur., 2007; Almeida i sur., 2008; Kilinc i sur., 2010) (Prilog 6).

Pokazano je da se koncentracije Cu u serumu povećavaju tijekom trudnoće i dosežu najvišu vrijednost krajem trudnoće, između 38. i 40. tjedna, kao posljedica porasta estrogena koji u trudnoći pospješuje sintezu ceruloplazmina u jetri, a time i koncentracije Cu u serumu (Lopes i sur., 2004). Za razliku od koncentracija Cu, vrijednosti Fe u krvi rodilja tijekom trudnoće su snižene. Potrebe majke za Fe tijekom trudnoće rastu srazmjerno s napredovanjem trudnoće zbog rasta fetusa i posteljice. Zbog povećanja volumena plazme koji je veći (oko 45%) od produkcije majčinih krvnih stanica, eritrocita i

leukocita (masa eritrocita povećava se 20 do 30%) tijekom trudnoće dolazi do smanjenja koncentracija hematokrita i hemoglobina odnosno pojave tzv. fiziološke anemije u trudnoći (Costantine, 2014). Ako je unos Fe u majke nedostatan ili smanjen, posebice tijekom zadnjeg tromjesečja trudnoće kada su potrebe za Fe najveće, dolazi do postupnog trošenja majčinih tjelesnih pohrana Fe, povećava se rizik za anemiju majke ali i potomka nakon rođenja. Posebno osjetljivije skupine za deficijenciju Fe tijekom trudnoće jesu osobe u adolescentnoj dobi te ako su niskog imovinskog stanja i s kratkim razdobljima između višestrukih trudnoća (Williamson, 2006; Scholl, 2017).

Deficijencija Se, uslijed koje se smanjuje aktivnosti selenoenzima, a time i antioksidacijska obrana organizma, može izazvati poremećaje tijekom trudnoće kao što su gestacijski dijabetes, kolestaza i preeklampsija te potaknuti prijevremeni porođaj (Mistry i sur., 2012). Zbog toga se tijekom trudnoće preporučuje unos 70 μg Se i tijekom dojenja 85 μg Se na dan (EFSA NDA 2014c). Vrijednosti koncentracija Se u serumu majke izmjerene u ispitanica u Hrvatskoj slažu se s objavljenim vrijednostima Se u rodilja u Sloveniji, Portugalu i Turskoj (19,6 do 98,4 μg/L seruma) (Kilinc i sur., 2010; Almeida i sur., 2008; Mičetić-Turk i sur., 2000). To je 1,5 do 2 puta manje od koncentracija Se izmjerenih u serumu rodilja u Španjolskoj (Izquierdo Alvarez i sur., 2007) i Švedskoj (Butler i Walker, 2006) i srazmjerno s ≥2 puta većim unosom hrane morskoga podrijetla u tim državama nego u Hrvatskoj (prema FAO, 2017; Prilog 1).

Razlike u koncentracijama esencijalnih elemenata u ispitanica iz kontinentalnog u usporedbi s priobalnim područjem u Hrvatskoj s većim koncentracijama Fe, Cu i Zn u serumu majke i nižim Se u serumu majke i krvi pupkovine mogu se povezati s većom konzumacijom žitarica i crvenoga mesa, te manjim unosom morske ribe u kontinentalnoj nego u priobalnoj Hrvatskoj utvrđeno u prethodnom istraživanju Sokolić i suradnika (2018). Žitarice, meso i mesne prerađevine su glavni prehrambeni izvori mikroelemenata Fe, Cu i Zn u općem stanovništvu u Europi. Ako se slijede smjernice uravnotežene prehrane i ne postoji opterećenje organizma visokim koncentracijama Fe i Zn, neće doći do međudjelovanja Fe i Zn s elementom Cu tijekom želučano-crijevne apsorpcije i drugih metaboličkih puteva u organizmu, a tako ni do smanjenih razina ili deficijencije Cu (EFSA NDA 2014c; 2015c,d).

Toksični metal Hg i polumetal As

Brojna istraživanja pokazala su povezanost učestalosti konzumacije hrane morskoga podrijetla i bioloških pokazatelja izloženosti Hg, koncentracija Hg u kosi i punoj krvi majke (što je dobar pokazatelj izloženosti MeHg hranom) i u krvi iz pupkovine (Ask Björnberg i sur., 2003; Unuvar i sur., 2007; Gundacker i sur., 2010; Ramon i sur., 2011; Golding i sur, 2013; Hsi i sur., 2014). Osobe koje konzumiraju ribu više od 1 puta na tjedan mogu imati od 2 do 3 puta veće koncentracije Hg u krvi od osoba koje ne konzumiraju ribu (Mahaffey i sur., 2004). Također, objavljene su veće koncentracije Hg u

krvi iz pupkovine, kako je pokazano u istraživanju provedenom u Španjolskoj (Ramon i sur., 2011). U istraživanju u Švedskoj pokazano je da su rodilje koje su konzumirale hranu morskoga podrijetla >2 puta na tjedan imale do 7 puta veće koncentracije Hg u krvi u usporedbi s rodiljama koje ne jedu takvu hranu (Ask Björnberg i sur., 2003, 2005). U ovom istraživanju utvrđeno je da su rodilje koje su konzumirale plavu ribu vrste srdela i tuna do najviše 2 puta na tjedan tijekom trudnoće imale do 3 puta veće koncentracije Hg u krvi u usporedbi s rodiljama koje ne konzumiraju plavu ribu. Slične razlike u koncentracijama Hg u krvi majke bile su u povezanosti s konzumacijom bijele ribe.

Dobivene vrijednosti za Hg u krvi majke iz priobalnog područja u rasponu od 0,767 do 4,71 μg/L slažu se s prethodno objavljenim vrijednostima ukupne Hg u krvi majke-rodilje u primorskoj Hrvatskoj i u Italiji (Miklavčič i sur., 2013; Snoj Tratnik i sur., 2017), a do 2 puta su manje od vrijednosti Hg u krvi majki (s rasponom srednjih vrijednosti 3,1 do 4,1 μg/L) u Španjolskoj, Japanu i Južnoj Koreji. U tim državama hrana morskoga podrijetla konzumira se u prosjeku 2 do 3 puta na tjedan (Kim i sur., 2011; Sakamoto i sur., 2012; Garciá-Esquinas i sur., 2013), a u Hrvatskoj je to 2 puta manje. Nadalje, vrijednosti Hg u krvi majke i krvi pupkovine u ispitanica iz kontinentalnog područja slažu s objavljenim podacima za Austriju, Poljsku, Slovačku i Sloveniju (Jedrychowski i sur., 2006; Gundacker i sur., 2010; Palkovicova, 2008; Jagodič i sur., 2016), u kojima se riba konzumira prosječno 1 puta na tjedan kao i u Hrvatskoj (Prilog 5).

Utvrđeno je da koncentracije Hg u majčinim uzorcima kose i pune krvi ovise o učestalosti i vrsti konzumirane ribe, osobnim značajkama, dobi i broju trudnoća, socioekonomskom stanju i stupnju obrazovanja te o mjestu nabave ribe (posebice ako je osobe same ulove) i geografskom području stanovanja (Jenssen i sur., 2012; Golding i sur., 2013). U ovom istraživanju dokazane su povezanosti koncentracija Hg u krvi majke i krvi iz pupkovine s majčinim unosom morske ribe na tjedan (r_s>0,35, p<0,05) i razlike u koncentracijama Hg u ispitanica u ovisnosti o geografskom području prebivanja za biološke matrice parova majka-dijete (p<0,05). U priobalnoj Hrvatskoj izmjerene koncentracije Hg u krvi ispitanica bile su do 2,5 puta veće nego u ispitanica u kontinentalnom području. Razlike u koncentracijama Hg u krvi ispitanika iz priobalne i kontinentalne regije pokazane su i u Norveškoj s izmjerenim vrijednostima Hg u krvi od 6,3 [0,8 – 30] i 3,1 [0,6 – 25] μg/L (Jenssen i sur., 2012), kao i u rodilja iz primorske Hrvatske i Slovenije s koncentracijama Hg u krvi pupkovine 2,9 ng/g i 1,5 ng/g (Miklavčič i sur., 2011a; 2013). S obzirom na to da je cca 90% Hg u ribi u obliku MeHg koja se lako prenosi kroz posteljicu do fetusa, vrijednosti Hg u krvi pupkovine mogu biti čak 20 do 65% veće nego u krvi majke (Dorea i Donangelo, 2006; Ou i sur., 2014). U ovom istraživanju koncentracije Hg u krvi iz pupkovine u ispitanica koje konzumiraju hranu morskoga podrijetla više od 2 puta na tjedan bile su do 1,5 puta veće nego u krvi majke, što se slaže s prethodno objavljenim rezultatima (Vahter i sur., 2000; Miklavčič i sur., 2013). U pojedinim istraživanjima pokazano je da povećana majčina izloženost Hg

prehranom s koncentracijama Hg u krvi majke 5,7 μg/L i većim, kao i konzumacija ≥2 obroka krupnih grabežljivih vrsta plave ribe na tjedan može povećati rizik smanjene porođajne mase djeteta (Ramon i sur., 2009; Kim i sur., 2011). U ovom istraživanju nije nađeno da majčina izloženost Hg konzumacijom ribe ima učinke na porođajnu masu i porođajnu duljinu. To se slaže s rezultatima istraživanja u parovima majka-novorođenče u Ujedinjenom Kraljevstvu (Drouille-Pinard i sur., 2010; Taylor i sur., 2016).

Referentna vrijednost za MeHg u krvi iz pupkovine iznosi 5,8 μg/L (US EPA, 1997; NRC 2000), a budući da MeHg čini više od 90% ukupne vrijednosti Hg u krvi, referentna vrijednost ukupne Hg u krvi iz pupkovine odgovara vrijednosti od 6,4 μg/L. Krv iz pupkovine može sadržavati od 20 do 65% veće koncentracije Hg od krvi majke, referentni raspon za Hg u krv majke odgovarao bi rasponu vrijednosti od 3,9 do 5,3 μg Hg/L (Mahaffey i sur., 2004; Dorea i Donangelo, 2006). U ovom istraživanju 8% ispitanica imalo je koncentracije Hg u krvi majke veće od 5,3 μg/L. Također, utvrđeno je da ispitanice koje konzumiraju ribu više od 2 puta na tjedan mogu imati koncentracije Hg u krvi veće od gornje granice referentnog raspona.

U ovom radu izmjerene koncentracije As u krvi majke i krvi iz pupkovine bile su na donjoj granici referentnih vrijednosti za As u krvi u općem stanovništvu koje iznose 0 do 12 μg/L krvi (Hall i sur., 2006). Bile su slične objavljenim vrijednostima (medijanima) As u krvi rodilja od 0,69 μg/L u Kanadi (Ettinger i sur., 2017) i 0,47 μg/L u Ujedinjenom Kraljevstvu (Luo i sur., 2017). Utvrđeno je da su koncentracije As u majčinoj krvi i krvi iz pupkovine u priobalnoj Hrvatskoj bile do 3 puta veće nego u kontinentalnom području i ti se podaci slažu se s prethodno izmjerenima koncentracijama As u krvi iz pupkovine u ispitanica iz primorske Hrvatske (1,6 ng/g) i Slovenije (0,6 ng/g) (Miklavčič i sur., 2013). Nalaz ukupog As u punoj krvi pokazatelj je nedavne izloženosti osobe As iz okoliša i/ili prehranom, što bi značilo da je, u slučajevima gdje postoji sumnja na kroničnu izloženost As, potrebno izmjeriti razine As u mokraći. Treba imati na umu da su različiti izvori izloženosti za različite kemijske oblike toga polumetala (kako je opisano u potpoglavljima 2.4. i 3.4.). Morska riba u najvećem udjelu sadrži arsenobetain, kemijski oblik As za koji nisu dokazani štetni učinci za zdravlje i smatra se netoksičnim (EFSA CONTAM, 2009). Utvrđena je pozitivna korelacija između koncentracija As u krvi majke i krvi iz pupkovine s unosom morske ribe i školjkaša. S obzirom na općenito niske koncentracije As u krvi majke i krvi iz pupkovine te pokazanu povezanost unosa hrane morskoga podrijetla i koncentracija As u biološkim matricama, pretpostavlja se da je prehrana primarni izvor izloženost majki-nepušačica tom polumetalu u priobalnoj i središnjoj Hrvatskoj, a prema literaturnim podacima poznato je da je As u ribama u najvećem udjelu u kemijskom obliku arsenobetaina, koji je netoksičan pa se može zaključiti da ne predstavlja opasnost za majčino zdravlje i zdravlje njenog potomka.

Toksični metali Cd i Pb

U Europi, konzumacija žitarica, povrća i krumpira čini 56% ukupnog prehrambenog unosa Cd u nepušača. Od hrane morskoga podrijetla, najvažniji je unos Cd školjkašima, iznosi u prosjeku 3,2%, a najveće vrijednosti utvrđene su u Italiji (23%) i u Španjolskoj (13%) (EFSA CONTAM, 2012a). U istraživanjima u Italiji na otoku Sardinija nisu utvrđene razlike u vrijednostima Cd u krvi osoba (nepušača) koje konzumiraju školjkaše (0,29±0,13 μg/L) u odnosu na osobe koje ih ne konzumiraju (0,32±0,17 μg/L), kao ni povezanost unosa školjkaša ili ribe s koncentracijama Cd u krvi ispitanika (Madeddua i sur., 2011). U istom istraživanju koncentracije Cd u krvi nepušača bile su 0,30±0,14 μg/L (n=143) i one se slažu s koncentracijama Cd u krvi majki nepušačica u priobalnom području u ovom istraživanju, u kojem također nije utvrđena korelacija unosa školjkaša ili morske ribe u nepušačica s koncentracijom Cd u krvi majke i krvi iz pupkovine.

Izmjerene koncentracije Pb u krvi majke s rasponom 2,94 do 43,6 μg/L pokazuju nisku razinu izloženosti Pb iz okoliša u oba geografska područja Hrvatske i slažu se s do sada objavljenim koncentracijama od 8,5 do 48 μg/L izmjerenima u žena s područja sjeveroistočne Hrvatske (n=59; Koprivnica) (Pawlas i sur., 2013). Važno je istaknuti da su izmjerene koncentracije Pb u krvi žena do 6 puta niže u odnosu na prethodno objavljene vrijednosti za Pb u žena iz seoskih područja u Hrvatskoj (Pizent i sur., 2001) i do 2,5 puta niže od koncentracija Pb u muškaraca izmjerenih 2006. i 2009. godine (Kljaković-Gašpić i sur., 2016). Utvrđeno je i dvostruko sniženje koncentracija Pb u krvi žena određenih 2013. godine (medijan: 6,99 μg/L) u odnosu na vrijednosti izmjerene 2009. godine (Stasenko i sur., 2010) što se može objasniti kao posljedica postepenog smanjivanja i konačne potpune zabrane uporabe olovnih benzina 2006. godine. Nadalje, koncentracije Pb u krvi iz pupkovine u ovome istraživanju, koje su svega 1,7 puta manje od koncentracija Pb u krvi majke, slažu se s rezultatima istraživanja provedenog u Austriji (Gundacker i sur., 2010) i potvrđuju da Pb u većoj mjeri prolazi kroz posteljicu do fetusa (Dorea i Donangelo, 2006; Grandjean i Landrigan, 2006).

5.3. Omega-3 masne kiseline i mineralni elementi u morskoj ribi

Omega-3 masne kiseline u morskoj ribi

U ovom radu određen je sastav masnih kiselina, uključujući omega-3 masne kiseline EPA i DHA, u mišićju srdela, oslića, orada i brancina iz divljeg ulova u istočnom Jadranskom moru, vrstama ribe za koje je već prije utvrđeno da su među najčešće konzumiranim vrstama morske ribe u Hrvatskoj (Čaldarović i sur., 2007). To smo dodatno potvrdili i podacima o prehrambenim navikama prikupljenima od ispitanica iz priobalnog područja [skupina Zadar (C)].

Udio omega-3 masnih kiselina EPA i DHA u srdela i oslića slaže se prethodno objavljenim vrijednostima za oslić iz divljeg ulova u Jadranskom moru, s iznimkom do 2 puta nižeg udjela DHA (25,8% od ukupnih masnih kiselina) u srdela (Özogul i sur., 2009.; Pacetti i sur., 2010), ali i niži udio EPA+DHA (1,81 g/ 100 g) od srdela koje se konzumiraju u Francuskoj (Sirot i sur., 2008). Za razliku od oslića ulovljenog u sjevernome Atlantskom oceanu (uz obale Portugala) sa 194 mg/ 100 g (Afonso i sur., 2013), jadranski oslić ima do 2 puta veći udio EPA+DHA (365 mg/ 100 g). Vrijednosti EPA+DHA izmjerene u orada i brancina iz divljeg ulova u Jadranskom moru slažu se s vrijednostima EPA i DHA (1,27 i 0,974 g/100 g) u istim vrstama ribe u Francuskoj (Sirot i sur., 2008). Slično kao za jadranski oslić, i brancin iz divljeg ulova u Jadranskom moru ima do 2 puta veći udio DHA od brancina ulovljenog u sjevernome Atlantskom oceanu (uz obale Španjolske) i Jonskom moru (Fuentes i sur., 2010; Lenas i sur., 2011; Prato i Biandolino, 2012). Veličina ribe, sezona u kojoj je riba ulovljena i razdoblje mriješćenja utječu na razlike u sastavu masnih kiselina u ribama iste vrste (Sirot i sur, 2008, Petrović, 2015). U usporedbi s ribom iz uzgoja, riba iz divljeg ulova je bogatija nezasićenim masnim kiselinama, a posebice DHA iz skupine omega-3 (Orban i sur., 2003. Fuentes i sur., 2010; Lenas i sur., 2011). Utvrđen je 4 do 8 puta veći udio DHA u orade i brancina iz divljeg ulova u Jadranskom moru od orade i brancina iz hrvatskoga uzgoja (3,58% u orada i 6,14% u brancina) (Petrović i sur., 2015) kao i do 2,5 puta veći udio EPA+DHA u brancinu iz divljeg ulova u usporedbi s uzgojenim (0,347 g/ 100g) (Barbir i sur., 2014).

Srdele imaju najniži udio masnih kiselina, a time i omega-3 masnih kiselina, krajem proljeća što uključuje razdoblje od travnja do lipnja (Zlatanos i Laskaridis, 2007). Budući da su u ovom istraživanju analizirani uzorci srdele ulovljeni početkom travnja, utvrđen je niži udio ukupnih masti i masnih kiselina od očekivanoga (3 do 20%) za plavu vrstu ribe (Cvrtila i Kozačinski, 2006). Također, utvrđeno je da morska riba iz divljeg ulova u Jadranskom moru, srdela, oslić, orada i brancin, pored EPA i DHA obiluje i palmitinskom kiselinom (C16:0) što se slaže s prethodnim istraživanjima (Zlatanos i Laskaridis, 2007; Sirot i sur, 2008.; Özogul i sur., 2009; Pacetti i sur., 2010, Lenas i sur., 2011).

Mineralni elemenata u morskoj ribi uključujući ribe iz konzervi

Određene su količine esencijalnih elemenata K, Na, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu i Se te toksičnih metala, ukupne Hg, Cd, Pb i polumetala As u mišićju riba iz divljeg ulova i uzgoja u istočnom Jadranskom moru, zamrznutoj srdeli i osliću i konzerviranoj ribi u biljnom ulju (srdela, skuša i tuna).

Količine Hg u mišićju svježe i zamrznute ribe iz divljeg ulova i iz uzgoja u istočnom Jadranu slažu se s prethodno objavljenim količinama Hg u mišićju riba za isto područje ulova i uzgoja (Storelli, 2008, 2009; Bilandžić i sur., 2011; Miklavčič i sur., 2011b; Di Lena i sur., 2017) i očekivano je veći od količina Hg u mišićju riba ulovljenih na području zapadnog Sredozemnog mora (Olmedo i sur., 2013; Barone i sur., 2015). Utvrđene količine Hg u srdeli, inćunu, osliću, bukvi i šarunu niže su od prije objavljenih za iste vrste riba iz istočnog Jadranskog mora ulovljene prije >15 godina (Jureša i Blanuša, 2003). U oradi i brancinu količine Hg u mišićju veće su u usporedbi s objavljenima za jednake vrste iz divljeg ulova za područje Jadrana (<0,25 mg/kg) (Di Lena i sur.; 2017, Bilandžić i sur., 2018) i zapadnog Sredozemlja (0,012 – 0,204 mg/kg) (Olmedo i sur, 2013). U konzerviranoj skuši i tunama koncentracije Hg od 0,018 do 0,357 mg/kg slažu se s literaturnim vrijednostima, osim za srdele u kojih je koncentracija Hg do 3 puta veća nego u konzerviranim srdelama analiziranim u Italiji (0,004 – 0,144 mg/kg), Španjolskoj (0,035 – 0,894) i Poljskoj (0,067 ± 0,026 mg/kg) (Usydus i sur., 2008; Storelli i sur., 2010; Miklavčič i sur., 2011b; Olmedo i sur., 2013). Konzervirana tuna dostupna na hrvatskom tržištu sadrži manji udio Hg od konzervirane tune u Turskoj (Mol, 2011). Količine toksičnih metala Cd i Pb u ribi iz divljeg ulova i iz uzgoja u istočnom Jadranskom moru, zamrznutog oslića i srdele te konzerviranoj ribi bile su u rasponu od 0,0006 do 0,015 mg/kg za Cd i od 0,002 do 0,055 mg/kg za Pb, s najvišim koncentracijama Cd izmjerenim u mišićju inćuna (0,001 – 0,015 mg/kg), a za Pb u srdela (0,009 – 0,025 mg/kg) i konzerviranoj srdeli (0,022 – 0,048 mg/kg). Izmjerene koncentracije Cd i Pb u mišićju ribe u ovom radu niže su od vrijednosti koncentracija Cd i Pb u riba objavljenih u posljednjih 15 godina za područje mediteranskog bazena uključujući Jadransko, Jonsko i Tirensko more te područje središnjeg i zapadnog bazena (raspon 0,001 – 0,1 mg/kg za Cd, 0,001 – 0,225 mg/kg za Pb) (Ersoy i Çelik, 2010; Bilandžić i sur., 2013; Copat i sur., 2013, 2014; Bilandžić i sur., 2011; Storelli i sur., 2008, 2009; Jureša i Blanuša, 2003; Kljaković-Gašpić i sur., 2002) što je detaljno prikazano u Prilogu 6. Također, količine Cd i Pb u konzerviranoj ribi niže su od prethodno objavljenih količina tih metala u konzerviranim ribama vrste srdela (0,041 ± 0,031 mg Cd/kg; 0,057 ± 0,035 mg Pb/kg) i tuna (0,036±0,015 mg Cd/kg; 0,010±0,001 mg Pb/kg) u Poljskoj (Usydus i sur., 2008), tuna u Italiji (0,01 – 0,14 mg Cd/kg; 0,02 – 0,16 mg Pb/kg) (Storelli i sur., 2010) i Turskoj, (0,245 ± 0,043 mg Cd/kg; 0,076 ± 0,030 mg Pb/kg) (Çelik i Oehlenschläger, 2008; Mol, 2011) i konzerviranim ribama u Španjolskoj: srdelama (0,001 – 0,067 mg Cd /kg, 0,004 – 0,026 mg Pb/kg), skuši (0,003 – 0,046 mg Cd/kg; 0,004 mg Pb/kg) i tuni (0,020 – 0,170 mg Cd/kg; 0,004 – 0,385 mg Pb/kg) (Olmedo i sur., 2013).

U ovom istraživanju utvrđene su količine As u morskoj ribi u rasponu od 0,041 do 75,7 mg/kg svježeg mišićja, s većim količinama As u ribi iz divljeg ulova (npr. 4,59 mg/kg orade) u usporedbi s istim vrstama iz uzgoja (npr. 0,156 mg/kg orade) u istočnom Jadranskom moru. Količine As u mišićju ribe slažu se s literaturnim podacima o količinama As u jadranskoj ribi za vrste srdela (2,4 – 4,6 mg/kg) (Bilandžić i sur., 2018), oslić (10,3 ± 0,82 mg/kg), šarun (6,85 ± 6,22 mg/kg) i bukva (2,21 ± 0,64 mg/kg) (Jureša i Blanuša, 2003). U lokarde, gire, brancina i trlje blatarice (0,439 – 11,4 mg/kg) utvrđene su niže količine As od prethodno objavljenih za iste vrste riba iz Jadranskog mora (0,01 – 54,6 mg/kg) (Bilandžić i sur., 2011; 2018). Utvrđene količine As u inćunu i šarunu slažu se s količinama As u inćunu (5,28±1,75 mg/kg) i šarunu (5,41 ± 2,11 mg/kg) iz Sredozemnoga mora (Copat i sur., 2013; 2014). U srdele, oslića i orade (0,891 – 18,5 mg/kg) količine As više su od količina As za iste vrste (0,082 – 0,959 mg/kg) objavljenih u istraživanju Olmedo i suradnika (2013). U ovom istraživanju najveće koncentracije As izmjerene su u mišićju trlje blatarice (8,44 – 75,7 mg/kg). Dobivene količine As za trlju blataricu slažu se s količinama As (0,01 – 70,9 mg/kg) utvrđenih za trlju kamenjarku iz Jadranskog mora (Bilandžić i sur., 2011). Pridnene vrste riba, uključujući ribe iz porodice trlja, imaju veće količine toksične Hg i polumetala As u mišićju, zbog specifične ishrane (algama i rakovima koji su izvor iAs) i staništa, što je posebno izraženo ako obitavaju na morskom dnu vulkanskoga podrijetla (specifično za područje mediteranskog bazena zbog čestih pomicanja tektonskih ploča (Kotnik i sur., 2014; Copat i sur., 2015). Nadalje, količine As u konzerviranoj srdeli i skuši (0,868 – 7,17 mg/kg) veće su od količina As u uzorcima konzervirane srdele i skuše analiziranim u Španjolskoj i Poljskoj (0,015 – 0,201 mg/kg) (Usydus, 2008; Olmedo i sur., 2013). Razlike u količinama Hg i As u konzerviranim srdelama mogu se pripisati podrijetlu proizvoda. U ovom istraživanju svi analizirani uzorci konzerviranih srdela (sardina) bili su hrvatskoga podrijetla (srdele ulovljene u istočnom Jadranskom moru) i u njima su utvrđene više količine Hg i As od srdela ulovljenih u morima središnjeg i zapadnog mediteranskog bazena (Copat i sur., 2012; Olmedo i sur., 2013; Copat i sur., 2015). Također, važno je istaknuti da su za područje sjevernog i središnjeg Jadranskog mora izmjerene najveće koncentracije Hg u mediteranskom bazenu što je posljedica utjecanja rijeka onečišćenih metalima, uključujući i toksičnu Hg, koja potječe iz prirodnih izvora (vulkana) te ispuštanjem iz industrijskih postrojenja (Kotnik i sur., 2014).

5.4. Nutritivna korist i mogući rizici konzumacije hrane morskoga podrijetla buduće majke

U ovom istraživanju procijenjena je nutritivna korist i mogući zdravstveni rizik konzumacije svježe ulovljene ili uzgojene, zamrznute i/ili konzervirane morske ribe u zdravih rodilja u Hrvatskoj prema dobivenim podacima o konzumaciji hrane morskoga podrijetla iz anketnih upitnika i određenim koncentracijama omega-3 masnih kiselina i mineralnih elemenata u analiziranim ribljim uzorcima. U izračune je uzeta u obzir srednja veličina obroka od 130 g fileta ribe. S obzirom na samodređenje ispitanica o učestalosti konzumacije morske ribe dobivena je prosječna konzumacija ribe na tjedan od 97 g u kontinentalnom i 130 g u priobalnom području Hrvatske.

Prema unosu ribe na dan i izmjerenoj prosječnoj koncentraciji elemenata u ribama dobiveni su sljedeći rezultati: do 3% DRVi za unos makroelemenata K, Na, Mg i Ca te do 1% DRVi za unos mikroelemenata Fe, Cu, Zn i Se (IOM 2006; EFSA NDA 2014c-d; 2015a-d; 2016b). Unos toksičnih metala na dan bio je: <1,77 µg Hg odnosno <1,69 µg MeHg, <0,02 µg Cd, <0,22 µg Pb i <100 µg As. Procijenjeni unos As odnosi se na kemijski spoj arsenobetaina koji se u najvećem udjelu nalazi u ribi i za koji nisu poznati štetni učinci na zdravlje (EFSA CONTAM, 2009).

Na temelju detaljnog, izvorno kreiranog upitnika za dio ispitanica iz priobalne Hrvatske [skupina Zadar (C)], dobiveni su vrijedni podaci o unosu srdele, oslića, orade i brancina kao četiri najčešće konzumirane ribe te je procijenjen unos omega-3 masnih kiselina (EPA+DHA), elementa u ultra tragu Se i elemenata u tragu Hg i As te izračunate vrijednosti kvocijenta ciljne opasnosti Hg (THQ-Hg) za zdravlje žene u tijekom reprodukcijskog razdoblja. Prema unosu srdele, oslića, orade i brancina iz divljeg ulova (medijan i P95) od 5 i 17 g/dan u trudnica, koji odgovara učestalosti konzumacije od 1 i 4 puta na mjesec po svakoj vrsti, utvrđen je povoljan unos EPA+DHA i Se. Nije utvrđena opasnost za zdravlje s obzirom na izloženost MeHg tim vrstama riba i vrijednost pokazatelja ciljne opasnosti THQ-Hg bila je <1. Vrijednost THQ-Hg>1, koja označava mogući povećani rizik od štetnih učinka Hg unesene ribom (Copat i sur., 2012), pokazana je samo za konzumaciju ≥2 obroka (≥260 g) orade iz divljeg ulova na tjedan (prema koncentracijama Hg od 0,53 mg/kg). To znači da bi ribe koje sadrže >0,5 mg Hg/kg trebalo konzumirati do jednom na tjedan što je u skladu s europskim i svjetskim preporukama (Taylor i sur., 2018). Prema sadržaju Hg <0,2 mg/kg, u većine analiziranih ribljih uzoraka, uz izuzetak orade i trlje blatarice iz divljeg ulova, konzumacija ribe od 1 do 3 puta na tjedan (130 do 390 g) ne predstavlja opasnost za zdravlje trudnica u Hrvatskoj.

Utvrđeno je da se jednim obrokom (130 g) ulovljene i uzgojene morske ribe iz istočnog Jadranskog mora, zamrznutom ribom (koja uključuje jadransku srdelu i oslić iz Atlantskog oceana) i konzerviranom ribom u biljnom ulju (srdela, skuša i tuna) dostupnim na hrvatskom tržištu unosi K, Na, Ca i Mg do 20% DRVi, Fe, Zn i Cu do 10% DRVi i Se više od 60% DRVi na dan prema smjernicama za unos mineralnih

elemenata (IOM 2006, EFSA NDA 2014d-c, 2015a-d, 2016b). U usporedbi s ostalim analiziranim vrstama ribe, utvrđeno je da je najveći unos mikroelemenata Fe, Zn i Cu (do 15% DRVi) konzumacijom male plave ribe vrste inćun i srdela, dok je najveći unos Se utvrđen za srdelu i giru (više od 120% DRV). Nadalje, najveći unos makroelementa Ca (do 18% DRV) moguć je konzumacijom konzervirane srdele i on je veći ako se riba jede cijela bez odvajanja kostiju (FAO 2016).

Prema izmjerenim koncentracijama toksičnih metala, Hg, Cd i Pb te polumetala As u analiziranim ribljim uzorcima, procijenjen je unos tih elementa jednim obrokom (od 130 g) svježe ili zamrznute ribe u trudnica prosječne tjelesne mase pred porođaj (koja je u ovom istraživanju bila 80 kg). Za unos Hg utvrđeno je da se jednim obrokom ribe unosi 0,037 do 0,253 mg Hg/kg TM, odnosno do 15% dopuštenog tjednog unosa za MeHg (TWI_{MeHg} =1,3 µg/kg TM na tjedan, prema EFSA CONTAM, 2012b), izraženog kao ukupna Hg, uz iznimku trlje blatarice i orade iz divljeg ulova s procijenjenim unosom od 0,691 µg Hg/kg TM za trlju (53% TWI_{MeHg}) i 0,863 µg Hg/kg TM za oradu (67% TWI_{MeHg}). Za konzerviranu ribu (80 g) procijenjeni unos Hg je manje od 0,1 µg Hg/kg TM, odnosno <8% TWI_{MeHg}. Nađeno je da je unos toksičnih metala Cd i Pb ulovljenom, uzgojenom i zamrznutom ribom u trudnica prosječne mase 80 kg pred porođaj <0,007 µg Cd/kg TM i <0,024 µg Pb/kg TM. Prema smjernicama EFSA i FAO/WHO (EFSA CONTAM 2010, 2012a; FAO/WHO 2011b), te su vrijednosti unosa 360 puta manje od TWI_{Cd} koji je 2,5 µg Cd/kg TM, na tjedan odnosno 1000 puta manje od $PTWI_{Pb}$ koji je 25 µg Pb/kg TM na tjedan. Procijenjeni unosi Cd i Pb konzumacijom ribljih konzervi od <0,018 µg kg TM za Cd i <0,028 µg/kg TM za Pb su 130 puta manji od TWI_{Cd} i 890 puta manje od $PTWI_{Pb}$.

6. ZAKLJUČCI

6. ZAKLJUČCI

U ispitanica, zdravih rodilja iz kontinentalnog i priobalnog područja Hrvatske, procjenom unosa hranjivih tvari omega-3 masnih kiselina (EPA+DHA) i esencijalnih elemenata K, Na, Mg, Ca, Fe, Cu, Zn i Se, toksičnih metala Hg, Cd i Pb te polumetala As, konzumiranjem morske ribe (ulovljene, uzgojene, zamrznute i/ili konzervirane) koja je najčešće zastupljena u prehrani u Hrvatskoj te stanja elemenata u rodilja i njihovih potomaka analizom bioloških uzoraka majke (kose, krvi i serumi) i potomka (krvi iz pupkovine) te ispitivanjem navika konzumiranja hrane morskoga podrijetla, dobiveni su sljedeći rezultati:

- U ispitanica iz kontinentalnog u odnosu na ispitanice iz priobalnog područja u Hrvatskoj
  - konzumacija morske ribe na dan u gramima manja je 1,5 puta;
  - koncentracije esencijalnih elemenata u serumu veće su za Fe, Cu i Zn (čiji su glavni izvor crveno meso i žitarice), a manje za Se (čiji je glavni izvor riba);
  - koncentracije toksičnog elementa Hg i polumetala As u krvi majke i u krvi iz pupkovine su manje i pozitivno koreliraju s unosom morske ribe i školjkaša
- U ispitanica iz priobalnog područja Hrvatske [skupina Zadar (C)]
  - koncentracije Hg i As srazmjerne su konzumaciji morske ribe (procjenom unosa na tjedan);
  - ispitanice koje konzumiraju plavu ribu (srdela i tune) do najviše 2 puta na tjedan imaju dvostruko veće koncentracije Hg u krvi nego ispitanice koje ne konzumiraju plavu ribu;
  - ispitanice koje konzumiraju bijelu ribu (oslić, orada i brancin) više od 2 puta na tjedan imaju do 3 puta veće koncentracije Hg i As u krvi nego ispitanice koje je konzumiraju do jednom na tjedan
- Analizom elemenata u uzorcima vrsta morskih riba iz divljeg ulova u Jadranskom moru (inćun, srdela, lokarda, šarun, bukva, gira, oslić, trlja blatarica, orada i brancin), iz hrvatskog uzgoja (orada i brancin) te zamrznute ribe (srdela i oslić) i ribe iz konzervi (srdela, skuša i tuna) pokazano je da
  - srdela i inćun iz divljeg ulova imaju najviše količine esencijalnih mikroelementa Fe, Cu i Zn, a srdela pored njih i Se, kao i najviše toksičnih metala Cd i Pb;
  - orada i brancin iz divljeg ulova imaju veće količine esencijalnih elementa K i Se, ali i veći Hg i As u usporedbi s jednakim vrstama iz uzgoja;
  - orada i trlja blatarica iz divljeg ulova imaju najveće količine Hg (s do 5 puta većim medijanom), a trlja blatarica i najveći As (s do 20 puta većim medijanom) u usporedbi s ostalim izmjerenim vrstama;
  - u uzorcima konzervirane morske ribe, srdela ima više Ca, Zn, Cu i As od skuše i tune dok tuna ima više Se od skuše, Cd od srdela i najviše Na među sve tri vrste konzerviranih riba

- U trudnica (prosječne tjelesne mase 80 kg tijekom zadnjeg tromjesečja trudnoće), konzumacijom obroka morske ribe (130 g) i/ili konzervirane ribe (80 g) unosi se na dan:
  - prosječno 956 mg omega-3 masnih kiselina (EPA+DHA) ribom iz divljeg ulova vrsta srdela, oslić, orada i brancin (dok je preporučeni unos EPA+DHA 250 mg/dan);
  - do 20% preporučenih vrijednosti esencijalnih makroelemenata Ca, Mg, Na i K;
  - do 10% preporučenih vrijednosti esencijalnih mikroelemenata Fe, Cu i Zn, a srdelom >15%;
  - >60% preporučenih vrijednosti esencijalnog elementa u ultra tragu Se, s najvećim unosom vrstama srdela i gira;
  - <15% od dopuštenog tjednog unosa toksične MeHg (TWI_{MeHg} je 1,3 μg/kg TM), uz izuzetke za dvije vrste iz divljeg ulova, trlje blatarice s 53% TWI_{MeHg} i orade sa 67% TWI_{MeHg};
  - <8% TWI_{MeHg} ribljim konzervama vrste srdela, skuša i tuna;
  - <0,007 μg Cd/kg TM i <0,024 μg Pb/kg TM obrokom morske ribe te 0,018 μg Cd/kg TM i 0,028 μg Pb/kg TM ribljim konzervama što je nekoliko stotina puta manje od dopuštenih vrijednosti na tjedan za oba toksična metala (TWI_{Cd} je 2,5 μg/kg TM, TWI_{Pb} je 25 μg/kg TM)

Morska riba čini glavninu ukupnog unosa hrane morskoga podrijetla kao namirnica visoke nutritivne vrijednosti, uključujući omega-3 masne kiseline (EPA+DHA) i esencijalne makro- i mikroelementa, što je potvrđeno i ovim istraživanjem, posebice za visok unos željeza, cinka, bakra i selena sitnom plavom ribom vrste srdela i inćun. Stoga se morska riba u Hrvatskoj može preporučiti kao vrijedna namirnica ženama tijekom reprodukcijskog razdoblja.

Budući da morski organizmi nakupljaju razne toksikante iz okoliša, uključujući toksične mineralne elemente, među kojima je najopasnija metilživa, za koju je dokazana bioakumulacija i biomagnifikacija u grabežljivih vrsta riba srazmjerno s razinom u prehrambenom lancu, te da u uvjetima visoke izloženosti prije i nakon rođenja djeteta može izazvati nepopravljive štetne učinke na neurološki razvoj, hrana morskoga podrijetla ima važnost za javno zdravlje ne samo s nutricionističkog, nego i s toksikološkog gledišta. Ovim istraživanjem utvrđeno je da konzumacija najčešćih vrsta ulovljene, uzgojene, zamrznute i konzervirane morske ribe u Hrvatskoj ne predstavlja rizik unosa metilžive, ni drugih glavnih toksičnih metala, kadmija i olova, dok je iz literature poznato da je najveći udjel arsena u ribi u obliku kemijskog spoja arsenobetaina koji je netoksičan. Zbog nalaza povećanih koncentracija žive (>0,5 mg/kg svježe mase mišćja) u vrstama orada i trlja blatarica iz divljeg ulova u istočnom Jadranskom moru, može se zaključiti da bi se za žene koje planiraju trudnoću, trudnice i dojilje te malu djecu do 3 godine života nacionalnim smjernicama trebale definirati vrsta i konzumirana količina ribe za one vrste ribe u Hrvatskoj za koje je dokazano povećano nakupljanje žive, naročito ako se konzumiraju više od jednom na tjedan.

7. POPIS LITERATURE

7. POPIS LITERATURE

Abbassi-Ghanavati, M., Greer, L. G., Cunningham, F. G. (2009) Pregnancy and laboratory studies. A reference table for clinicians. *Obstet. Gynecol.* **114** (6), 1326-1331.

Afonso, C., Lourenço, H.M., Cardoso, C., Bandarra, N.M., Carvalho, M.L., Castro, M., Nunes, M.L. (2013) From fish chemical characterisation to the benefit-risk assessment – Part A. *Food Chem*. **137**, 99-107.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2012) CERCLA Priority list of hazardous substances for 2007. Centers for disease control, SAD. Dostupno na: https://www.atsdr.cdc.gov/spl/previous/07list.html

Almeida, A. A., Lopes, C. M., Silva, A. M., Barrado, E. (2008) Trace elements in human milk: correlation with blood levels, inter-element correlations and changes in concentration during the first month of lactation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **22** (3), 196-205.

Ask Björnberg, A., Vahter, M., Petersson-Grawé, K., Glynn, A., Cnattingius, S., Darnerus, P. O., Atuma, S., Aune, M., Becker, W., Berglund M. (2003) Methyl mercury and inorganic mercury in Swedish pregnant women and in cord blood: Influence of fish consumption. *Environ. Health Perspect.* **111** (4), 637-641.

Ask Björnberg, A., Vahter, M., Petersson Grawé, K., Berglund M. (2005) Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Sci. Total Environ.* **341**, 44-52.

Autier, P., Boniol, M., Pizot, C., Mullie, P. (2014) Vitamin D status and ill health: a systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **2**, 76-89.

Barbir, T., Pleadin, J., Zrnčić, S., Oraić, D., Vulić, A., Milinović, I., Petrović, M. (2014) Udjel masti i sastav masnih kiselina tržišnog lubina (*Dicentrarchus labrax*) uzgojenog na području Jadrana. *Meso* **16** (4), 329-335.

Barone, G., Storelli, A., Garofalo, R., Busco, V. P., Quaglia, N. C., Centrone, G., Storelli, M. M. (2015) Assessment of mercury and cadmium via seafood consumption in Italy: estimated dietary intake (EWI) and target hazard quotient (THQ*). Food Addit. Contam. Part A* **32** (8):1277-1286.

Bellanger, M., Pichery, C., Aerts, D., Berglund, M., Castaño, A., Čejchanová, M., Crettaz, P., Davidson, F., Esteban, M., Fischer, M. E., Gurzau, A. E., Halzlova, K., Katsonouri, A., Knudsen, L. E., Kolossa-Gehring, M., Koppen, G., Ligocka, D., Miklavčič, A., Reis, M. F., Rudnai, P., Snoj Tratnik, J., Weihe, P., Budtz-Jørgensen, E., Grandjean, P. and DEMO/COPHES (2013) Economic benefits of methylmercury exposure control in Europe: Monetary value of neurotoxicity prevention. *Environ Health.* **12**, 3, Dostupno na: http://www.ehjournal.net/content/12/1/3

Bernhoft, R. A. (2012) Mercury toxicity and treatment: A review of the literature. *J. Environ. Public Health* 10 str.

Bilandžić, N., Đokić, M., Sedak, M. (2011) Metal content determination in four fish species from the Adriatic *Sea Food Chem*. **122**, 1005-1010.

Bilandžić, N., Sedak, M., Čalopek, B., Varenina, I., Solomun Kolanović, B., Božić Luburić, Đ., Varga, I., Benić, M., Roncarati, A. (2018) Element contents in commercial fish species from the Croatian market. *J. Food Compos. Anal.* **71**, 77-86.

Branco, V., Caito, S., Farina, M., da Rocha, J. B. T., Aschner, M., Carvalho, C. (2017) Biomarkers of mercury toxicity: Past, present and future trends. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev*. **20** (3), 119-154.

Broberg, K., Engström, K., Ameer, S. (2015) Gene-environment interactions for metals. U: *Handbook on the toxicology of metals*, 4. izd. (Nordberg, G. F., Fowler, B. A., Nordberg, M., ured.), Academic Press (Elsevier), London, UK, str. 239-264.

Brzóska, M. M., Moniuszko-Jakoniuk, J. (2001) Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food Chem. Toxicol.* **39** (10), 967–980.

Butler Walker, J., Houseman, J., Seddon, L., McMullen, E., Tofflemire, K., Mills, C., Corriveau, A., Weber, J. P., LeBlanc, A., Walker, M., Donaldson, S. G., Van Oostdam, J. (2006) Maternal and umbilical cord blood levels of mercury, lead, cadmium, and essential trace elements in Arctic Canada. *Environ. Res*. **100** (3), 295-318.

Capak, K., Janev Holcer, N., Jeličić, P., Šekerija, M., Jurasović, J., Bucić, L., Benutić, A., Trumbetić, I., Čukelj, P. (2017) Primjena biomonitoringa za procjenu izloženosti živi tijekom prenatalnog perioda u dvije Hrvatske regije uporabom standardizirane metodologije Svjetske zdravstvene organizacije. (Capak, K., Janev Holcer, N. ured.) Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb.

Castro-González M., I., Méndez-Armenta, M. (2008) Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **26** (3), 263-271.

Chedrese, P. J., Piasek, M., Henson, M. C. (2006) Cadmium as an endocrine disruptor in the reproductive system. *Immunol. Endocr. Metab., Agents Med. Chem.* **6,** 27-35.

Chen, C. Y., Serrell, N., Evers, D. C., Fleishman, B. J., Lambert, K. F., Weiss, J., Mason, R., Bank, M. S. (2008) Meeting report: Methylmercury in Marine Ecosystems – From sources to Seafood Consumers. *Environ. Health Perspect.***116** (12), 1706-1712.

Chesnut, C.H., Azria, M., Silverman, S., Engelhardt, M., Olson, M., Mindeholm, L. (2008) Salmon calcitonin: a review of current and future therapeutic indications. *Osteoporos. Int*. **19**, 479-491.

Clarkson T. W., Magos, L. (2006) The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit. Rev. Toxicol*. **36** (8), 609-662.

Clarkson, T. W., Magos, L., Myers, G. J. (2003) The toxicology of mercury – current exposures and clinical manifestations. *N. Engl. J. Med.* **349**, 1731-1737.

Connor, W. E. (2000) Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr*. **71** (Suppl), 171-175.

Copat, C., Arena, G., Fiore, M., Ledda, C., Fallico, R., Sciacca, S., Ferrante, M. (2013) Heavy metals concentrations in fish and shellfish from eastern Mediterranean Sea: composition advisories. *Food Chem. Toxicol.* **53**, 33–37.

Copat, C., Bella, F., Castaing, M., Fallico, R., Sciacca, S., Ferrante, M. (2012) Heavy metals concentrations in fish from Sicily (Mediterranean Sea) and evaluation of possible health risks to consumers. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **88**, 78–83.

Copat, C., Conti, G. O., Fallico, R., Sciacca, S., Ferrante, M. (2015) Heavy metals in fish from the Mediterranean Sea: Potential impact on diet. U: *The Mediterranean diet* (Preedy, V. R., Watson, R. R., ured.). Academic Press. str. 547-562.

Copat, C., Vinceti, M., D'Agati, M. G., Arena, G., Maucer, V., Grasso, A., Fallico, R., Sciacca , S., Ferrante, M. (2014) Mercury and selenium intake by seafood from the Ionian Sea: A risk evaluation. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **100**, 87-92.

Costantine, M. M. (2014) Physiologic and pharmacokinetic changes in pregnancy. *Front Pharmacol.* **5**, 65, doi: 10.3389/fphar.2014.00065

Cvrtila, Ž., Kozačinski, L. (2006) Kemijski sastav mesa ribe. *Meso* **7**, 365-370.

Çelik, U., Oehlenschläger, J. (2007) High contents of cadmium, lead, zinc and copper in popular fishery products sold in Turkish supermarkets. *Food Control.* **18**, 258-261.

Čaldarović, O. i sur. (2007) Sociološka studija o preferencijama u ishrani ribom i drugim proizvodima ribarstva stanovništva Republike Hrvatske. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva: Zagreb, 2007. Dostupno na:
http://europski-
fondovi.eu/sites/default/files/dokumenti/Sociolo%C5%A1ka_studija_o_preferencijama_u_ishrani_ribom.pdf

Čavar, S., Klapec, T., Jurišić Grubešić , R., Valek, M. (2005) High exposure to arsenic from drinking water from several localities in eastern Croatia. *Sci.Total Environ.* **339**, 277–282.

Daniels, J. L., Longnecker, M. P., Rowland, A. S., Golding, J. (ALSPAC Study Team) (2004) Fish intake during pregnancy and early cognitive development of offspring. *Epidemiology* **15** (4), 394-402.

Di Lena, G., Casini, I., Caproni, R., Fusari, A., Orban, E. (2017) Total mercury levels in commercial fish species from Italian fishery and aquaculture. *Food Addit. Contam*. *Part B* **10** (2), 118-127.

Dorea, J. G. (2008) Persistent, bioaccumulative and toxic substances in fish: Human health considerations. *Sci. Total Environ.* **400**, 93–114.

Dorea, J. G., Donangelo, C. M. (2006) Early (in uterus and infant) exposure to mercury and lead. *Clin. Nutr.* **25**, 369–376.

Drouillet-Pinard, P., Huel, G., Slama, R., Forhan, A., Sahuquillo, J., Goua, V., Thiebaugeorges, O., Foliguet, B., Magnin, G., Kaminski, M., Cordier, S., Charles, M-A. (2010) Prenatal mercury contamination: relationship with maternal seafood consumption during pregnancy and fetal growth in the 'EDEN mother–child' cohort. *Br. J. Nutr*. **104** (8), 1096-1100.

European Food Safety Authority Panel on Contaminants in the Food Chain (EFSA CONTAM) (2009) Scientific Opinion on Arsenic in Food. *EFSA Journal* **7** (10),1351.

EFSA CONTAM (2010). Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal* **8** (4),1570.

EFSA CONTAM (2012a) Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal* **10** (1), 2551.

EFSA CONTAM (2012b) Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal* **10** (12), 2985.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (EFSA NDA) (2010) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* **8** (3), 1461.

EFSA NDA (2014a) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for iodine. *EFSA Journal* **12** (5), 3660.

EFSA NDA (2014b) Scientific Opinion of health benefits of seafood (fish and shellfish) consumption in relation to health risks associated with exposure to methylmercury.*EFSA Journal* **12** (7), 3761.

EFSA NDA (2014c). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc. *EFSA Journal* **12** (10):3844,

EFSA NDA (2014d) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for selenium. *EFSA Journal* **12** (10), 3846.

EFSA NDA (2015a). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for calcium. *EFSA Journal* **13** (5), 4101.

EFSA NDA (2015b). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for magnesium. *EFSA Journal* **13** (7), 4186.

EFSA NDA (2015c). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. *EFSA Journal* **13** (10), 4253.

EFSA NDA (2015d). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for iron. *EFSA Journal* **13** (10), 4254.

EFSA NDA (2016a) Dietary reference values for vitamin D. *EFSA Journal* **14** (10), 4547.

EFSA NDA (2016b). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for potassium. *EFSA Journal* **14** (10), 4592.

Ersoy, B., Çelik, M. (2010) The essential and toxic elements in tissue of six commetcial demersal fish from Eastern mediterranean Sea. *Food Chem. Toxicol.* **48**, 1377-1382.

Ettinger, A. S., Arbuckle, T. E., Fisher, M., Liang, C. L., Davis, K., Cirtiu, C-M., Bélanger, P., LeBlanc, A., Fraser, W. D. (2017) Arsenic levels among pregnant women and newborns in Canada: Results from the Maternal-Infant Research on Environmental Chemicals (MIREC) cohort. *Environ. Res.* **153**, 8-16.

EUROFISH (2017) Konzumacija ribe u Hrvatskoj. EUROFISH i Uprava ribarstva, Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, 2017. Dostupno na: https://ribarstvo.mps.hr/default.aspx?id=5016

FAO (2017) Per capita trends in seafood consumption. Food balance sheets: fish, seafood – food supply quantity (kg/capita/yr). [U: Ritchie, H. i Roser, M. (2019) Meat and seafood production & consumption. Published online at OurWorldInData.org.] Dostupno na: https://ourworldindata.org/meat-and-seafood-production-consumption

FAO (2016) The state of world fisheries and aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rim, 200 str. Dostupno na: www.fao.org/3/a-i5555e.pdf

FAO/WHO (2006) Discussion paper on the guideline levels for methylmercury in fish. CX/FAC 06/38/37, 18 str.

FAO/WHO (2010) Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation, Geneve, 10 – 14 November, 2008. 166 str.

FAO/WHO (2011a) Evaluation of certain food additives and contaminants (Seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). *WHO Technical Report Series* **959**.

FAO/WHO (2011b) Evaluation of certain food additives and contaminants (Seventy-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). *WHO Technical Report Series* **960**.

Felsenfeld, A. J., Levine, B. S. (2015) Calcitonin, the forgotten hormone: does it deserve to be forgotten? *Clin. Kidney. J.* **8** (2), 180-187.

Food Standards Australia New Zealand, FSANZ (2011) Mercury in fish. Dostupno na: http://www.foodstandards.gov.au/consumer/chemicals/mercury/Pages/default.asp

Fowler, B. A., Chou, S.-H., S. J., Jones, R. L., Sullivan, D. W., Jr., Chen C.-J. (2017) Arsenic. U: *Handbook on the toxicology of metals,* 4. izd. (Nordberg, G. F, Fowler, B. A., Nordberg, M., ured.), Academic Press (Elsevier), London, UK, str. 581-624.

Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Serra, J. A., Barat, J. M. (2010) Comparison of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality. *Food Chem.* **119**, 1514-1518.

García-Esquinas, E., Pérez-Gómez, B., Fernández-Navarro, P., Fernández, M. A., de Paz, C., Pérez-Meixeira, A. M., Gil, E., Iriso, A., Sanz, J. C., Astray, J., Cisneros, M., de Santos, A., Asensio, Á., García-Sagredo, J. M., García, J. F., Vioque, J., López-Abente, G., Pollán, M., González, M. J., Martínez, M., Aragonés, N. (2013) Lead, mercury and cadmium in umbilical cord blood and its association with parental epidemiological variables and birth factors. *BMC Public Health,* **13**, 841. doi: 10.1186/1471-2458-13-841

Golding, J., Steer, C. D., Hibbeln, J. R., Emmett, P. M., Lowery, T., Jones, R. (2013) Dietary predictors of maternal prenatal blood mercury levels in the ALSPAC birth cohort study. *Environ. Health Perspect.* **121** (10),1214-1218.

Grandjean, P., Landrigan, P.J. (2006) Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* **368**, 2167-2178.

Grandjean, P., Satoh, H., Murata, K., Eto, K. (2010) Adverse effects of methylmercury: Environmental health research implications. *Environ. Health. Perspect*. **118** (8), 1137-1145.

Greenfield, H., Southgate, D. A. T (2003) Food composition data. 2. izd., Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rim, str. 223-224.

Grzunov Letinić, J. (2014) Biološki markeri učinaka toksičnih metala u dojilja na području Zadarske županije. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 104 str.

Grzunov Letinić, J., Matek Sarić, M., Piasek, M., Jurasović, J., Varnai, V. M., Sulimanec Grgec, A., Orct, T. (2016) Use of human milk in the assessment of toxic metal exposure and essential element status in breastfeeding women and their infants in coastal Croatia. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **38**, 117-125.

Gundacker, C., Fröhlich, S., Graf-Rohrmeister, K., Eibenberger, B., Jessenig, V., Gicic, D., Prinz, S., Wittmann, K. J., Zeisler, H., Vallant, B., Pollak, A., Husslein, P. (2010) Perinatal lead and mercury exposure in Austria. *Sci. Total. Environ*. **408**, 5744-5749.

Ha, E., Basu, N., Bose-O'Reilly, S., Dórea, J. G., McSorley; E., Sakamoto, M., Chan, H. M. (2017) Current progress on understanding the impact of mercury on human health. *Environ. Res*. **152**, 419-433.

Habuda-Stanić, M., Kuleš, M., Kalajdžić, B., Romić, Ž. (2007) Quality of groundwater in eastern Croatia. The problem of arsenic pollution. *Desalination* **210**, 157–162.

Hall, M., Chen, Y., Ahsan, H., Slavkovich, V., Geen, A., Parvez, F., Graziano, J. (2006) Blood arsenic as a biomarker of arsenic exposure. Results from a prospective study. *Toxicol.* **225**, 225-233.

Hansen, M., Thilsted, S. H., Sandstrom, B., Kongsbank, K., Larsen, T., Jensen, M., Sorensen, S. S. (1998) Calcium apsorbtion from small soft-boned fish. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **12**, 148-154.

Henson, M. C., Piasek, M., Chedrese, P. J., Castracane, V. D. (2010) Metal toxicity in mammalian reproduction. U: *Endocrine Toxicology*, 3. izd. (Eldridge J. C., Stevens, J. T., ured.). Informa Healthcare, NY, str. 256-279.

Health and Environment Alliance, Belgium / Health Care Without Harm, Czech Republic (HEAL/HCWH) (2006) Mercury and fish consumption. Dostupno na: http://www.env-health.org/IMG/pdf/Fish_consumption.pdf.

Hibbeln, J. R., Davis, J. M., Steer, C., Emmett, P., Rogers, I., Williams, C., Golding, J. (2007) Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. *Lancet* **369**, 578-585.

Hrvatska agencija za hranu (HAH) (2014) Znanstveno mišljenje o prisutnosti žive, olova, kadmija i arsena u akvatičnim organizmima na tržištu Republike Hrvatske. Zahtjev HAH–Z–20 14 -2.

Hsi, H-C., Jiang, C-B., Yang, T-H., Chien, L-C.(2014) The neurological effects of prenatal and postnatal mercury/ methylmercury exposure on three-year-old children in Taiwan. *Chemosphere* **100**, 71-76.

Innis, S. M. (2007a) Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *J. Nutr*. **137**, 855-59.

Innis, S. M. (2007b) Fatty acids and early human development. *Early Human Dev.* **83**, 761-766.

Innis, S. M. (2008) Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. *Brain. Res*. **127**, 35-43.

International Agency for Research on Cancer, IARC (1987) Arsenic and arsenic compounds. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans. *IARC Monographs* **84** (Suppl. 7), 100-106. Dostupno na: https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/Suppl7-19.pdf

Institute of medicine of the National Academies (IOM) (2006). Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements (Otten, J. J., Pitzi Hellwig, J., Meyers, L. D., ured.) Washington DC: National Academic Press. Dostupna na: https://www.nap.edu/catalog/11537/dietary-reference-intakes-the-essential-guide-to-nutrient-requirements

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

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

Izquierdo Alvarez, S., Castañón, S. G., Ruata, M. L., Aragüés, E. F., Terraz, P. B., Irazabal, Y. G., González, E. G., Rodríguez, B. G. (2007) Updating of normal levels of copper, zinc and selenium in serum of pregnant women. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **21** (suppl 1), 49-52.

Jacobson, J. L., Jacobson, S. W., Muckle, G., Kaplan-Estrin, M., Ayotte, P., Dewailly, E. (2008) Beneficial effects of a polyunsaturated fatty acid on infant development: Evidence from the Inuit of Arctic Quebec. *J. Pediatr.* **152,** 356-364.

Järup, L., Åkesson, A. (2009) Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **238,** 201-208.

Jagodič, M., Snoj Tratnik, J., Mazej, D., Stajnko, A., Pavlin, M., Krsnik, M., Kobal, A. B., Kononenko, L. J., Odland, J. Ø., Horvat, M. (2017) Birth weight in relation to maternal blood levels of selected elements in Slovenian populations: a cross-sectional study. *J. Health Sci.* **5**, 95-106.

Jedrychowski, W., Jankowski, J., Flak, E., Skarupa, A., Mroz, E., Sochacka–Tatara, E., Lisowska–Miszczyk, I., Szpanowska–Wohn, A., Rauh, V., Skolicki, Z., Kaim, I., Perera, F.(2006) Effects of prenatal exposure to mercury on cognitive and psychomotor function in one-year-old infants: Epidemiologic cohort study in Poland. *Ann. Epidemiol*. **16** (6), 439-447.

Jedrychowski, W., Perera, F., Jankowski, J., Rauh, V., Flak, E., Caldwell, K. L., Jones, R. L., Pac, A., Lisowska-Miszczyk, I. (2007) Fish consumption in pregnancy, cord blood mercury level and cognitive and psychomotor development of infants follow over the first three years of life Krakow epidemiological study. *Environ. Int*. **33**, 1057-1062.

Jensse, M. T. S., Brantsæter, A. L., Haugen, M., Meltzer, H. M., Larssen, T., Kvalem, H. E., Birgisdottir, B. E., Thomassen, Y., Ellingsen, D., Alexander, J., Knutsen, H. K. (2012) Dietary mercury exposure in a population with a wide range of fish consumption: Self-capture of fish and regional differences are important determinations of mercury in blood. *Sci. Total Environ*. **439**, 220-229.

Johnson, L. E. (2018) Overview of minerals: Trace minerals. U: *MSD Manual Professional Version*. Merck & Co., Inc. Kenilworth, NJ, SAD. Dostupno na: https://www.msdmanuals.com/professional/nutritional-disorders/mineral-deficiency-and-toxicity/overview-of-minerals#v885685

Jureša, D., Blanuša, M. (2003) Mercury, arsenic, lead and cadmium in fish and shellfish from the Adriatic Sea. *Food Addit. Contam*. **20**, 241-246.

Karagas, M. R., Choi, A. L., Oken, E. , Horvat, M., Schoeny, R., Kamai, E., Cowell, W., Grandjean, P., Korrick, S. (2012) Evidence on the human health effects of low-level methylmercury exposure. *Environ. Health Perspect.* **120**, 799-806.

Kilinc, M., Coskun, A., Bilge, F., SimsekImrek, S., Atli, Y. (2010) Serum reference levels of selenium, zinc and copper in healthy pregnant women at a prenatal screening program in south eastern Mediterranean region of Turkey. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **24***,* 152-156.

Kim, YM., Chung, JY., An, HS., Park, SY., Kim, BG., Bae, JW., Han, M., Cho, YJ., Hong, YS. (2015) Biomonitoring of lead, cadmium, total mercury, and methylmercury levels in maternal blood and in umbilical cord blood at birth in South Korea. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **12**, 13482-13493.

Kippler, M., Waheedul Hoque, A. M., Raqib, R., Öhrvik, H., Ekström, E-C., Vahter, M. (2010) Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients ti the fetus. *Toxicol. Lett.* **192**, 162-168.

Kljaković-Gašpić, Z., Pizent, A., Jurasović, J. (2016) Influence of abatement of lead exposure in Croatia on blood lead and ALAD activity. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **23**, 898-907.

Kljaković Gašpić, Z., Zvonarić, T., Vrgoč, N., Odžak, N., Barić, A. (2002) Cadmium and lead in selected tissues of two commercially important fish species from the Adriatic Sea. *Water Res*. **36**, 5023-5028.

Kotnik, J., Sprovieri, F., Ogrinc, N., Horvat, M., Pirrone, N. (2014) Mercury in the Mediterranean, part I: spatial and temporal trends. *Environ Sci Pollut Res.* **21** (6), 4063-4068.

Lenas, D., Chatziantoniou, S., Nathanailides, C., Triantafillou, D. (2011) Comparison of wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax L*) lipid quality. *Procedia Food Sci.* **1**, 1139-1145.

Liu, G., Cai, Y., O'Driscoll, N., ur. (2012) *Advances in environmental chemistry and toxicology of mercury*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, SAD, 574 str.

Loomans, E. M., Bergh, B. R. H., Schelling, M., Vrijkotte, T. G. M., Eijsden, M. (2014) Maternal long-chain polyunsaturated fatty acid status during early pregnancy and children's risk of problem behaviour at age 5-6 years. *J. Pediatr*. **164** (4), 762-768.

Lopes, P. A., Santos, M. C., Vicente, L., Rodrigues, M. O., Pavão, M. L., Nève, J., Viegas-Crespo, A. M. (2004) Trace element status (Se, Cu, Zn) in healthy Portuguese subjects of Lisbon population: a reference study. *Biol. Trace Elem. Res*. **101**, 1-17.

Lu, Z., Chen, T. C., Zhang, A., Persons, K. S., Kohn, N., Berkowitz, R., Martinello, S., Holick, M. F. (2007) An evaluation of the vitamin D3 content in fish: Is the vitamin D content adequate to satisfy the dietary requirement for vitamin D?. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*. **103** (3-5), 642-644.

Luo, Y., McCullough, L. E., Tzeng J-Y, Darrah, T., Vengosh, A., Maguire, R. L., Maity, A., Samuel-Hodge, C., Murphy, S. K., Mendez, M., Hoyo, C. (2017) Maternal blood cadmium, lead and arsenic levels, nutrient combinations, and offspring birthweight. *BMC Public Health* **17**, 345, doi: 10.1186/s12889-017-4225-8.

Lund, E. K. (2013) Health benefits of seafood; Is it just the fatty acids? *Food Chem.* **140**, 413-420.

Mahaffey, K. R. (2004) Fish and shellfish as dietary source of methylmercury and the *ω*-3 fatty acids, eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risks and benefits. *Environ. Res.* **95**, 404-428.

Mahaffey, K. R., Clickner, R. P., Bodurow, C. C. (2004) Blood organic mercury and dietary mercury intake: National health and nutrition examination survey, 1990 and 2000. *Environ. Health Perspect.* **112** (5), 562-570.

Mahaffey, K. R., Clickner, R. P, Jeffries, R. C. (2008) Adult women's blood mercury concentrations vary regionally in the United States: association with patterns of fish consumption (NHANNES 1999 – 2004). *Environ. Health Perspect.* **117** (1), 47-53.

Mahaffey, K. R., Sunderland, E. M., Man Chan, H., Choi, L. A., Grandjean, P., Mariën, K., Oken, E., Sakamoto, M., Schoeny, R., Weihe, P., Yan, C-H, Yasutake, A. (2011) Balancing the benefits of n-3 polyunsaturated fatty acids and the risks of methylmercury exposure from fish consumption. *Nutr. Rev.* **69** (9), 493-508.

Madeddua, R., Solinasc, G., Forted, G., Boccad, B., Asaraa, Y., Tolua, P., Delogue, P. L. G., Muresuc, E., Montellaf, E., Castigliac, A. P. (2011) Diet and nutrients are contributing factors that influence blood cadmium levels. *Nutr. Res.* **31**, 691-697.

Mičetić-Turk, D., Rossipal, E., Krachler, M., Li, F. (2000) Maternal selenium status in Slovenia and its impact on the selenium concentration of umbilical cord serum and colostrum. *Eur. J. Clin. Nutr.* **54**, 522-524.

Miklavčič, A., Casetta, A., Snoj Tratnik, J., Mazej, D., Krsnik, M, Mariuz, M., Sofianou, K., Špirić, Z., Barbone, F., Horvat, M. (2013) Mercury, arsenic and selenium exposure levels in relation to fish consumption in the Mediterranean area. *Environ. Res*. **120**, 7-17.

Miklavčič, A., Cuderman, P., Mazej, D., Snoj Tratnik, J., Krsnik, M., Planinšek, P., Osredkar, J., Horvat, M. (2011a) Biomarkers of low-level mercury exposure through fish consumption in pregnant and lactating Slovenian women. *Environ. Res*. **111**, 1201-1207.

Miklavčič, A., Stibilj, V., Heath, E., Polak, T., Snoj Tratnik, J., Klavž, J., Mazej, D., Horvat, M. (2011b) Mercury, selenium, PCBs and fatty acids in fresh and canned fish available on the Slovenian market. *Food Chem*. **124**, 711-720.

Mikolić, A., Schönwald, N., Piasek, M. (2016) Cadmium, iron and zinc interaction and hematological parameters in rat dams and their offspring. *J. Trace Elem. Med. Biol.*; 38; 108-116. [+Corrigendum (2017) *J. Trace Elem. Med. Biol.* **41**: 129.]

Mikolić, A., Piasek, M., Sulimanec Grgec A., Varnai, V. M., Stasenko, S., Kralik Oguić, S. (2015) Oral cadmium exposure during rat pregnancy: assessment of transplacental micronutrient transport and steroidogenesis at term. *J. Appl. Toxicol.* **35** (5): 508-519.

Mistry, H. D., Broughton Pipkin, F., Redman, C. W. G., Poston, L. (2012) Selenium in reproductive health. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **206** (1), 21-30.

Mol, S. (2011) Levels of selected trace metals in canned tuna fish produced in Turkey. *J. Composit. Anal.* **24**, 66-69.

Molin, M., Ulven, S. M., Meltzer, H. M., Alexander J. (2015) Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology- review focusing on seafood arsenic. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* **31**, 249-259.

Mozaffarian, D., Rimm, E.B. (2006) Fish intake, contaminants, and human health. Evaluating the risks and benefits. *JAMA* **296** (15),1885-1899.

Navarro-Alarcon, M., Cabrera-Vique, C. (2008) Selenium in food and the human body: A review. *Sci. Total Environ.* **400**, 115-141.

Nordberg, G. F., Fowler, B. A., Nordberg, M., ured. (2015a) *Handbook on the toxicology of metals*, 4. izd., Academic Press (Elsevier), London, UK, 1385 str. + i29 str.

Nordberg, G. F., Gerhardsson, L., Mumtaz, M. M., Ruiz, P., Fowler, B. A. (2015b) Interactions and mixtures in metal toxicology. U: *Handbook on the toxicology of metals*, 4. izd. (Nordberg, G. F, Fowler, B. A., Nordberg, M., ured.), Academic Press (Elsevier), London, UK, str. 213-238.

National Research Council, NRC (2000) Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury. Executive summary. Washington, DC. National Academies Press. Dostupno na: https://www.nap.edu/html/methylmercury/summary.pdf

Oken, E., Wright, R. O., Kleinman, K. P., Bellinger, D., Amarasiriwardena, C. J., Hu, H., Rich-Edwards, J. W., Gillman, M. W. (2005) Maternal fish consumption, hair mercury, and infant cognition in U.S. cohort. *Environ. Health Perspect*. **113** (10), 1376-1380.

Oken, E., Radesky, J. S., Wright, R. O., Bellinger, D. C., Amarasiriwardena, C. J., Kleinman, K. P., Hu, H., Gillman, M. W. (2008a) Maternal fish intake during pregnancy, blood mercury levels, and child cognition at age 3 years in a US cohort. *Am. J. Epidemiol*. **167**, 1171-1181.

Oken, E., Østerdal, M. L., Gillman, M. W., Knudsen, V. K., Halldorsson, I. T., Strøm, M., Bellinger, D. C., Hadders-Algra, M., Fleischer Michaelsen, K., Olsen, S. F. (2008b) Associations of maternal fish intake during pregnancy and breastfeeding duration with attainment of developmental milestones in early childhood: a study from the Danish national Birth Cohort. *Am. J. Clin. Nutr*. **88** (3), 789-796.

Oken, E., Choi, A.L., Karagas, M. R., Marien, K., Rheinberger, C. M., Schoeny, R., Sunderland, E., Korrick, S. (2012) Which fish should I eat? Perspectives influencing fish consumption choices. *Environ. Health Perspect.* **120** (6), 790-798.

Olmedo, P., Pla, A., Hernández, A. F., Barbier, F., Ayouni, L., Gil, F. (2013) Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. *Environ. Int*. **59**, 63-72.

Orban, E., Nevigato, T., Di Lena, G., Casini, I., Marzetti, A. (2003) Differentiation in the lipid quality of wild and farmed seabass (*Dicentratchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *J. Food Sci*. **68** (1), 128-132.

Osman, K., Akesson, A., Berglund, M., Bremme, K., Schütz, A., Ask, K., Vahter, M. (2000) Toxic and essential elements in placentas of Swedish women. *Clin. Biochem.* **33** (2), 131-138.

Ou, L., Chen, L., Chen, C., Yang, T., Wang, H.,Tong, Y., Hu, D., Zhang, W., Long, W., Wang, X. (2014) Associations of methylmercury and inorganic mercury between human cord blood and maternal blood: A meta-analysis and its application. *Environ. Pollut.* **191**, 25-30.

Özogul, Y, Özogul, F., ÇiÇek, E., Polat, A, Kuley, E. (2009) Fat content and fatty acid compositions of 34 marine water fish species from the Mediterranean Sea. *Int. J. Food. Sci. Nutr.* **60** (6), 464-475.

Pacetti, D., Alberti, F., Boselli, E., Frega, N. G. (2010) Characterisation of furan fatty acids in Adriatic fish. *Food Chem.* **122**, 209-215.

PAFSC, Pharmaceutical affairs and food sanitation council (2005) Advice for pregnant women on fish consumption and mercury. Ministry of health, labour and welfare, Japan. Dostupno na: https://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/suigin/dl/051102-1en.pdf

Palkovicova, L., Ursinyova, M., Masanova, V., Yu, Z., Hertz-Picciotto, I. (2008) Maternal amalgam dental fillings as the source of mercury exposure in developing fetus and newborn. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* **18** (3), 326-331.

Pan, J., Plant, J. A., Voulvoulis, N., Oates, J. C., Ihlenfeld, C. (2010) Cadmium levels in europe: implications for human health. *Environ. Geochem. Health* **32**, 1-12.

Pawlas, N., Strömberg, U., Carlbergm B., Cerna, M., Harari, F., Harari, R., Horvat, M., Hruba, F., Koppova, K., Krskova, A., Krsnik, M., Li, Y.F., Löfmark, L., Lundh, T., Lundström, N. G., Lyoussi, B., Markiewicz-Górka, I., Mazej, D., Osredkar, J., Pawlas, K., Rentschler, G., Spevackova, V., Spiric, Z., Sundkvist, A., Tratnik, J. S., Vadla, D., Zizi, S., Skerfving, S., Bergdahl, I. A. (2013) Cadmium, mercury and lead in the blood of urban women in Croatia, the Czech Republic, Poland, Slovakia, Slovenia, Sweden, China, Ecuador and Morocco. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* **26**, 58-72.

Petrović, M., Krešić, G., Zrnčić, S., Oraić, D. Džafić, N., Pleadin, J. (2015) Influence of season and farming location on the quality parameters of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). *Ital. J. Food Sci.* **27** (2), 151-159.

Piasek, M. (2010) Hrana kao izvor izloženosti toksičnim metalima i metaloidima i njihovi učinci na zdravlje ljudi. U: *Onečišćivači u okolišu, opasne i štetne tvari u hrani* (Vasić-Rački, Đ., ured.). Knjiga sažetaka HATZ, HAH i PBF, Zagreb, str. 15-18.

Piasek, M., Blanuša, M., Kostial, K., Laskey, J. W. (2001) Placental cadmium and progesterone concentrations in cigarette smokers. *Reprod. Toxicol.* **15**, 673-681.

Piasek, M., Blanuša, M., Kostial, K., Laskey, J. W. (2004) Low iron diet and parenteral cadmium exposure in pregnant rats: the effects on trace elements and fetal viability. *Biometals* **17**, 1-4.

Piasek, M., Mikolić, A. (2009) Minerals and physiology (From essentiality to toxicity: A review of important minerals and their major impact on the human body's physiology). U: *Role of minerals in food technology and nutrition* (Gašperlin, L., Žlender, B., ured.). Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, str. 9-19.

Piasek, M., Henson, M. C., Blanuša, M., Kostial, K. (2011) Assessment of steroid disruption and metal concentrations in human placenta: effects of cigarette smoking. U: *Public health in the 21st century. Handbook of smoking and health* (Koskinen, C.J., ured.). Nova Science Inc, New York, str. 325-365.

Pichery, C., Bellanger, M., Zmirou-Navier, D., Glorennec, P., Hartemann P., Grandjean, P. (2011) Childhood lead exposure in France: benefit estimation and partial cost-benefit analysis of lead hazard control. *Environ. Health* **10**, 44, doi: 10.1186/1476-069X-10-44.

Pizent, A., Jurasović, J., Telišman, S. (2001) Blood pressure in relation to dietary calcium intake, alcohol consumption, blood lead, and blood cadmium in female nonsmokers. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **15**,123-130.

Prato, E., Biandolino, F. (2012) Total lipid content and fatty acid composition of commercially important fish species from the Mediterranean, Mar Grande Sea. *Food Chem.* **131**, 1233-1239.

Ramon, R., Murcia, M., Ballester, F., Rebagliato, M., Lacasaña, M., Vioque, J., Llop, S., Amurrio, A., Aguinagalde, X., Marco, A., León, G., Ibarluzea, J., Ribas-Fitó, N. (2008) Prenatal exposure to mercury in a prospective mother-infant cohort study in a Mediterranean area, Valencia, Spain. *Sci. Total Environ*. **382**, 69-78.

Ramon, R., Ballester, F., Aguinagalde, X., Amurrio, A., Vioque, J., Lacasaña, M., Rebagliato, M., Murcia, M., Iñiguez, C. (2009) Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother-infant cohort study in Spain. *Am. J. Clin. Nutr.* **90** (4), 1047-1055.

Ramon, R., Murcia, M., Aguinagalde, X., Amurrio, A., Llop, S., Ibarlueza, J., Lertxundi, A., Alvarez-Pedrerol, M., Casas, M., Vioque, J., Sunyer, J., Tardon, A., Martinez-Arguelles, B., Ballester, F. (2011) Prenatal mercury exposure in a multicentre cohort study in Spain. *Environ. Int*. **37**, 597-404.

Ralston, N. V. C. (2008) Selenium health benefit values as seafood safety criteria. *Ecohealth* **5**, 442-455.

Ralston, N. V. C., Raymond, L. J. (2010) Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology* **278**, 112-123.

Rice, D., Barone, S. (2000) Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. *Environ. Health Perspect.* **108** (S3), 511-533.

Sakamoto, M., Chan, H. M., Domingo, J. L., Kawakami, S., Katsuyuki, M. (2012) Mercury and docosahexaenoic acid levels in maternal and cord blood in relation to segmental maternal hair mercury concentrations at parturition. *Environ. Int*. **44**,112-117.

Sakamoto, M., Yasutake, A., Domingo, J. L., Chan, H. M., Kubota, M., Murata, K. (2013) Relationships between trace element concentrations in chorionic tissue of placenta and umbilical cord tissue: potential use as indicators for prenatal exposure. *Environ. Int*. **60**, 106-111.

Satarug, S., Garrett, S. H., Sens, M. A., Sens, D. A. (2010) Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. *Environ. Health Perspect.* **118,** 182-190.

Scholl, T. O. (2011) Maternal iron status: relation to fetal growth, length of gestation, and iron endowment of the neonate. *Nutr. Rev.* **69** (suppl 1), S23-S29.

Sekovanić, A. (2018) Utjecaj polimorfizma metalotioneina 2A i izloženost cigaretnomu dimu na razinu toksičnih i esencijalnih metala u rodilja te na koncentraciju steroidnih hormona u posteljici. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 138 str.

Sekovanić, A., Jurasović, J., Piasek, M., Pašalić, D., Orct, T., Sulimanec Grgec, A., Stasenko, S., Branović Čakanić, K., Jazbec, A. (2018) Metallothionein 2A gene polymorphism and trace elements in mother-newborn pairs in the Croatian population. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **45**, 163-170.

Sekovanić, A., Orct, T., Jurasović, J., Piasek, M., Sulimanec Grgec A., Bošnjaković, A., Matek Sarić, M. (2019) Koncentracije žive u uzorcima majčine krvi i kose, posteljici i krvi iz pupčane vrpce u povezanosti s konzumacijom hrane morskoga podrijetla. 26. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera s međunarodnim sudjelovanjem, HSKIKI, Knjiga sažetaka, str. 66.

Sheehan, M. C., Burke, T. A., Navas-Acien, A., Breysse, P. N., McGready, J., Fox M. A. (2014) Global methylmercury exposure from seafood consumption and risk of developmental neurotoxicity: a systematic review. *Bull. World Health Organ.* **92**, 254–269F.

Sioen, I., De Henauw, S., Van Camp, J., Volatier, J.,Leblanc, J-C. (2009) Comparison of the nutritional-toxicological conflict related to seafood consumption in different regions worldwide. *Regul. Toxicol. Pharm.* **55**, 219-228.

Sirot, V., Oseredczuk, M., Bemrah-Aouachria, N., Volatier, J-L., Leblanc, J-C. (2008) Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France: CALIPSO study. *J. Food Compos. Anal.* **21**, 8-16.

Snoj Tratnik, J., Falnoga, I., Trdin, A., Mazej, D., Fajon, V., Miklavčič, A., Kobal, A. B., Osredkar, J., Sešek Briški, A., Krsnik, M., Neubauer, D., Kodrič, J., Stropnik, S., Gosar, D., Lešnik Musek, P., Marc, J., Jurkovič Mlakar, S., Petrović, O., Vlašić-Cicvarić, .I, Prpić, I., Milardović, A., Radić Nišević, J., Vuković, D., Fišić, E., Špirić, Z., Horvat, M. (2017) Prenatal mercury exposure, neurodevelopment and apolipoprotein E genetic polymorphism. *Environ. Res.* **152**, 375-385.

Smedes, F. (1999) Determination of total lipid using non-chlorinated solvents. *Analyst* **124**, 1711-1718.

Sobiecki, J. G., Appleby, P. N., Bradbury, K. E., Key, T. J. (2016) High compliance with dietary recommendations in a cohort of meat eaters, fish eaters, vegetarians, and vegans: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition–Oxford study. *Nutr. Res.* **36** (5), 464-477.

Sokolić, D. (2018) Što jedemo? Predstavljanja rezultata Nacionalnog istraživanja o prehrambenim navikama odrasle populacije (NIPNOP) u Hrvatskoj. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu (HAPH). Dostupno na: <https://www.hah.hr/wp-content/uploads/.../D.Sokolić_Što-jedemo-WHD-2018.pdf>

Syverson, T., Kaur, P. (2012) The toxicology of mercury and its compounds. *J. Trace Elem. Med. Biol*. **26** (4), 215-226.

Stasenko, S., Bradford, E. M., Piasek, M., Henson, M. C., Jurasović, J., Kušec, V. (2010) Metals in human placenta: focus on the effects of cadmium on steroid hormones and leptin. *J. Appl. Toxicol.* **30**, 242-253.

Storelli, M. (2008) Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: Estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food Chem. Toxicol*. **46**, 2782-2788.

Storelli, M. M. (2009) Intake of essential minerals and metals via consumption of seafood from the Mediterranean Sea. *J. Food Prot*. **72** (5),1116-1120.

Storelli, M. M., Barone, G., Cuttone, G., Giungato, D., Garofalo, R. (2010) Occurrence of toxic metals (Hg, Cd and Pb) in fresh and canned tuna: Public health implications. *Food Chem. Toxicol*. **48**, 3167-3170.

Stratakis, N., Roumeliotaki, T., Oken, E., Ballester, F., Barros, H., Basterrechea, M., Cordier, S., Groot, R., Dekker, H. T., Duijts, L., Eggesbø, M., Fantin, M. P., Forastiere, F., Gehring, U., Gielen, M., Gori, D., Govarts, E., Inskip, H. M., Iszatt, N., Jansen, M., Kelleher, C., Mehegan, J., Moltó Puigmartí, C., Mommers, M., Oliveira, A.,Olsen, S. F., Pelé, F., Pizzi, C., Porta, D., Richiardi, L., Rifas-Shiman, S. L., Robinson, S. M., Schoeters, G.,

Strøm, M., Sunyer, J., Thijs, C., Vrijheid, M., Vrijkotte, T. G. M., Wijga, A.H., Kogevinas, M., Zeegers, M. P., Chatzi, L. (2017) Fish and seafood consumption during pregnancy and the risk of asthma and allergic rhinitis in childhood: a pooled analysis of 18 European and US birth cohorts. *Int. J. Epidemiol.* **46** (5), 1465-1477.

Sulimanec, A. (2010) Međudjelovanje kadmija i esencijalnih mikroelemenata željeza i cinka u neskotnih i skotnih pokusnih štakorica. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 60 str.

Sulimanec Grgec, A., Sekovanić, A., Orct, T., Stasenko, S., Grzunov, J., Matek Sarić, M., Jurasović, J., Piasek, M. (2012) Assessment of dietary methylmercury intake and blood mercury values in women from continental versus coastal Croatia. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* **63** (S2), 38.

Sun, Y., Vestergaard, M., Christensen, J., Olsen, J., Olsen, S. J. (2011) Intake of marine n-3 fatty acids during pregnancy and risk for epilepsy in the offspring: A population-based cohort study. *Epilepsy Res.* **91**, 267-272.

Swanson, D., Block, R., Mousa, S. A. (2012) Omega-3 fatty acids EPA and DHA: Health benefits throughout life. *Adv. Nutr.* **3**, 1-7.

Taylor, C. M., Golding, J., Emon, A. M. (2016) Blood mercury levels and fish consumption in pregnancy: Risks and benefits for birth outcomes in a prospective observational birth cohort. *Int. J. Hyg. Envir. Heal*. **219**, 513–520.

Taylor, M. C., Emmett, P. M., Emond, A.M., Golding, J. (2018) A review of guidance on fish consumption in pregnancy: is it fit for purpose? *Public Health Nutr*. **21**(11), 2149-2159.

Tilami, S. K. i Sampels, S. (2017) Nutritional value of fish: Lipids, proteins, vitamins, and minerals. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* **26** (2), 243-253.

Trasande, L., landrigan, P. J., Schechter, C. (2005) Public health and economic consequences of methyl mercury toxicity to the developing brain. *Environ. Health Perspect.* **113**, 590-596.

Ujević, M., Duić, Ž., Casiot, C., Sipos, L., Santo, V., Dadić, Ž., Halamić, J. (2010) Occurence and geochemistry of arsenic in the groundwater of Eastern Croatia. *Appl. Geochem.* **25** (7), 1017-1029.

Unuvar, E., Ahmadov, H., Kızıler, A. R., Aydemir, B., Toprak, S., Ulker, V., Ark, C. (2007) Mercury levels in cord blood and meconium of healthy newborns and venous blood of their mothers: Clinical, prospective cohort study. *Sci. Total Environ.* **374**, 60-70.

Uredba komisije (EZ) br. 1881/2006 o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani. *Službeni list Europske unije.* L 364/5 (13/sv. 36).

US Environmental Protection Agency, US EPA (1997) Mercury Study Report to Congress. Volume I: Executive summary. Dostupno na: https://www.epa.gov/mercury/mercury-study-report-congress

US EPA, FDA (2017) Eating fish: What pregnant women and parents should know. Dostupno na: https://www.epa.gov/fish-tech/2017-epa-fda-advice-about-eating-fish-and-shellfish

Usydus, Z., Szlinder-Richert, L., Kanderska, J., Adamczyk, M., Malesa-Ciecwierz, M., Ruczynska, W. (2008) Food of marine origin: Between benefits and potential risks. Part I. Canned fish on the Polish market. *Food Chem.* **111**, 556-563.

Vahter, M., Åkesson, A., Lind, B., Björs, U., Schütz, A., Berglund, M. (2000) Longitudinal study of methylmercury and inorganic mercury in blood and urine of pregnant and lactating women, as well as in umbilical cord blood. *Environ. Res*. **84**,186-194.

Vahter, M., Berglund, M., Åkesson, A., Lidén, C. (2002) Metals and women's health. *Environ. Res*. **88**,145-155.

Vahter, M., Åkesson, A., Lidén, C., Ceccatelli, S., Berglund, M. (2007) Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environ. Res.* **104**, 85-95.

Van de Wiele, T., Laing, G. D., Calatayud, M. (2015) Arsenic from food: biotransformations and risk assessment. *Curr. Opin. Food Sci*. **6**, 1-6.

Vandermeersch, G., Lourenço, H. M., Alvarez-Muñoz, D., Cunha, S., Diogène, J., Cano-Sancho, G., Sloth, J. J., Kwadijk, C., Barcelo, D., Allegaert, W., Bekaert, K., Oliveira Fernandes, J., Marques, A., Robbens, J. (2015) Environmental contaminants of emerging concern in seafood – European database on contaminant levels. *Environ. Res.* **143,** 29-45.

Wanibuchi, H., Salim, E. I., Kinoshita, A., Shen, J., Wei, M., Morimura, K., Yoshida, K., Kuroda, K., Endo, G., Fukushima, S. (2004) Understanding arsenic carcinogenicity by the use of animal models. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. **198**, 366-376.

World Health Organisation, WHO (2008) Global and regional food consumption patterns and trends. Dostupno na: http://www.who.int/nutrition/topics/3_foodconsumption/en/index5.html

WHO / International Programme on Chemical Safety, IPCS (1990) Methylmercury. *Environmental Health Criteria 101*, World Health Organization, Geneva, 144 str. Dostupno na: inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc101.htm

Williams, C. M., Burdge, G. (2006) Long-chain n-3 PUFA: plant v. marine sources. *Proc. Nutr. Soc.* **65**, 42-50.

Williamson, C. W. (2006) Nutrition during pregnancy. *Nutr. Bulletin* **31**, 28–59.

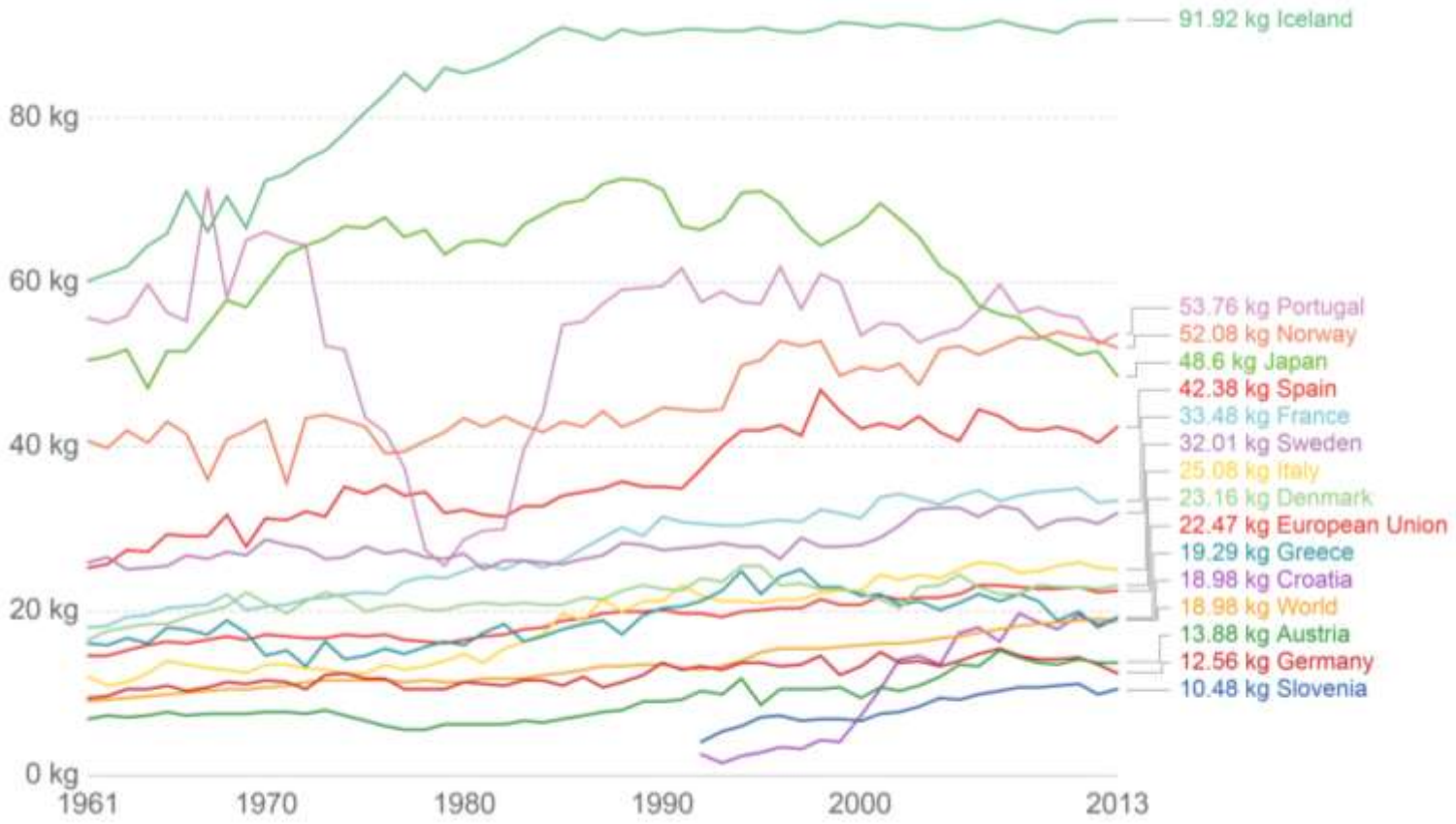
Xue, F., Holzman, C., Rahbar, M. H., Trosko, K., Fischer L. (2007) Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. *Environ. Health Perspect.* **115**, 42-47.

Yamamoto, S., Konishi, Y., Matsuda, T., Murai, T., Shibata, M. A., Matsui-Yuasa, I., Otani, S., Kuroda, K., Endo, G., Fukushima, S. (1995) Cancer induction by an organic arsenic compound, dimethylarsinic acid (cacodylic acid), in F344/DuCrj rats after pre-treatment with five carcinogens. *Canc. Res.* **55**, 1271 1276.

Zlatanos, S., Laskaridis, K. (2007) Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish – sardine *(Sardina pilchardus),* anchovy *(Engraulis encrasicholus)* and picarel *(Spicara smaris). Food Chem.* **103**, 725-728.

8. PRILOZI

PRILOG 1



Usporedni trendovi konzumacije hrane morskoga podrijetla uključujući ribe, rakove, glavonošce i školjkaše izraženo u kilogramima svježe namirnice po glavi stanovnika na godinu tijekom razdoblja 1961. do 2013. godine u odabranim državama Europe i svijeta, Europskoj Uniji i Hrvatskoj (interaktivni grafikoni preuzeti iz: dokument FAO, 2017, dostupno na: *https://ourworldindata.org/meat-and-seafood-production-consumption)*

PRILOG 2

Anketni upitnik za procjenu unosa hrane morskoga podrijetla u rodilja koji je primijenjen u drugom dijelu istraživanja (skupina Zadar C)

ID oznaka (KOD ispitanice)

PODACI O PREHRANI

Vaša prehrana je pretežito (zaokružite kategoriju):

a) miješana (zastupljene namirnice i biljnog i životinjskog podrijetla)
b) vegetarijanska (zastupljene namirnice samo biljnog podrijetla)
c) vegetarijanska + jaja
d) vegetarijanska + jaja i mliječni proizvodi
e) makrobiotička

Uz navedenu skupinu namirnica upišete koliko je puta konzumirate dnevno ili tjedno.

Žitarice ____ na dan; ____ na tjedan

Svježe povrće ____ na dan; ____ na tjedan

Iznutrice ____ ne jede; ____ na dan; ____ na tjedan; ____ na mjesec; ____ na godinu

U donju tablicu upišete vrstu morske hrane koju jedete; prema ponuđenim kategorijama procijenite koliko je često jedete i upišite količinu pojedene hrane (porcija).

Ispravno popunjavanja tablice za konzumaciju bijele ribe. Jednako ispunite tablicu za ostale namirnice.

PRIMJER : Osoba svaki petak jede oslića. Uobičajena porcija koju jede je 1 srednji file (130 g).

NAMIRNICE									KOLIČINA KONZUMIRANE NAMIRNICE?			
Kategorija namirnice	Vrsta namirnice	NIKAD	NA TJEDAN			NA MJESEC		NA GODINU	PORCIJA			
			1x	2-3x	4-6x	1x	≥2x		Mala	Srednja	Velika	Drugo (grami)
MORSKA RIBA BIJELA	Oslić		X							X		

NAMIRNICE		**KOLIKO ČESTO KONZUMIRATE NAMIRNICE?**							**KOLIČINA KONZUMIRANE NAMIRNICE?**			
Kategorija namirnice	**Vrsta namirnice**	**NIKAD**	**NA TJEDAN**			**NA MJESEC**		**NA GODINU**	**PORCIJA**			
			1x	**2-3x**	**4-6x**	**1x**	**≥2x**		**Mala**	**Srednja**	**Velika**	**Drugo** (grami)
MORSKA RIBA PLAVA	Srdela											
	Drugo:											
MORSKA RIBA BIJELA	Oslić											
	Brancin											
	Orada											
	Drugo:											
ŠKOLJKE I MEKUŠCI	Dagnje											
	Kozice											
	Lignje											
	Drugo:											
RIBLJE KONZERVE	Sardine											
	Skuša											
	Tuna											
	Drugo:											
DRUGO	Škampi											
	Drugo:											

Gdje najčešće nabavljate ribu i morske plodove? (označite sa X) ( ) na tržnici ( ) u ribarnici ( ) u trgovini

Kad kupujete ribu, najčešće izaberete (označite sa X) ( ) svježu ribu ( ) zamrznutu ribu

Kad ste pojeli posljednji obrok s ribom / morskim plodovima / ribljim konzervama? (označite sa X)

( ) unutar 24 sata ( ) unutar 48 sati ( ) unutar tjedan dana

PRILOG 3

Kvantitativni modeli obroka pojedinih vrsta hrane morskoga podrijetla

(nastavak 1/2)

KVANTITATIVNI MODELI OBROKA: morska riba i morski plodovi

MORSKA RIBA: srdele *(plava riba)*, **oslić na lešo** *(bijela riba)*



A) ˝mala˝ porcija (90 g) ili 7 komada ribe | B) ˝srednja˝ porcija (130 g) ili 10 komada ribe | C) ˝velika˝ porcija (200 g) ili 15 komada ribe | D) drugo _____



A) ˝mala˝ porcija (90 g) ili 1 komad ribe bez kostiju | B) ˝srednja˝ porcija (130 g) ili 1.5 komad ribe bez kostiju | C) ˝velika˝ porcija (200 g) ili 2 komada ribe bez kostiju | D) drugo _____

MORSKI PLODOVI: školjke (dagnje)

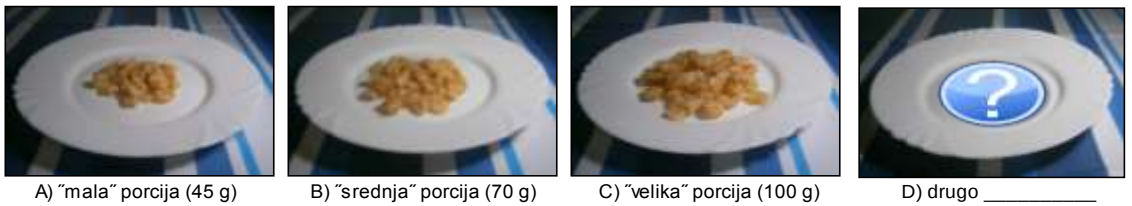


A) ˝mala˝ porcija (30 g) ili 8 komada dagnji | B) ˝srednja˝ porcija (50 g) ili 12 komada dagnji | C) ˝velika˝ porcija (75 g) ili 20 komada dagnji | D) drugo _____

MORSKI PLODOVI: cijele kozice s tjesteninom, repovi kozica i repovi kozica s tjesteninom



A) ˝mala˝ porcija (145 g) ili 13 komada kozica (45 g) | B) ˝srednja˝ porcija (220 g) ili 20 komada kozica (70 g) | C) ˝velika˝ porcija (325 g) ili 27 komada kozica (100 g) | D) drugo _____



A) ˝mala˝ porcija (45 g) | B) ˝srednja˝ porcija (70 g) | C) ˝velika˝ porcija (100 g) | D) drugo _____



A) ˝mala˝ porcija (145 g) ili repova kozica (45 g) | B) ˝srednja˝ porcija (220 g) ili repova kozica (70 g) | C) ˝velika˝ porcija (325 g) ili repova kozica (100 g) | D) drugo _____

PRILOG 3

KVANTITATIVNI MODELI OBROKA: morski plodovi i riblje konzerve

MORSKI PLODOVI: panirane lignje, lignje na žaru, rižoto s lignjama


A) ˝mala˝ porcija (90 g)


B) ˝srednja˝ porcija (130 g)


C) ˝velika˝ porcija (200 g)


D) drugo _____


A) ˝mala˝ porcija (90 g)


B) ˝srednja˝ porcija (130 g)


C) ˝velika˝ porcija (200 g)


D) drugo _____


A) ˝mala˝ porcija (145 g)*
ili lignji (45 g)


B) ˝srednja˝ porcija (220 g)*
ili lignji (70 g)


C) ˝velika˝ porcija (325 g)*
ili lignji (100 g)


D) drugo _____

***Rižoto s dagnjama i rižoto s kozicama**
˝mala˝, ˝srednja˝ i ˝velika˝ porcija nevedenih obroka jednake su količinom ˝maloj˝,˝srednjoj˝ i ˝velikoj˝ porciji rižota s lignjama

RIBLJE KONZERVE: Sardine iz konzerve


A) ˝mala˝ porcija (45 g)
ili 4 komada ribe


B) ˝srednja˝ porcija (80 g)
ili 7 komada ribe


C) ˝velika˝ porcija (140 g)
ili 11 komada ribe


D) drugo _____

Sardine iz konzerve

a) ˝**srednja porcija**˝ (80 g) ili 7 komada ribe za obrok sardine iz konzerve odgovara sadržaju prosječne konzerve sardina kada ocijedimo ulje iz konzerve



RIBLJE KONZERVE: Tuna iz konzerve


A) ˝mala˝ porcija (45 g)


B) ˝srednja˝ porcija (80 g)


C) ˝velika˝ porcija (140 g)


D) drugo _____

Tuna iz konzerve

a) ˝**mala porcija**˝ (45 g) za obrok tuna iz konzerve odgovara sadržaju prosječne male konzerve tune kada ocijedimo ulje iz konzerve

b) ˝**velika porcija**˝ (140 g) za obrok tuna iz konzerve odgovara sadržaju prosječne velike konzerve tune kada ocijedimo ulje iz konzerve



PRILOG 4

Podaci o temperaturnom programu tijekom razaranja uzoraka svježeg mišićja ribe te granicama detekcije i kvantifikacije tijekom multielementne analize tih uzoraka

Temperaturni program za razaranje bioloških uzoraka (mišićje ribe) u visokotlačnom mikrovalnom uređaju UltraCLAVE IV (Milestone, Italija)

	T (min:s)	E (W)	T1 (°C)	T2 (°C)	p (bar)
1.	3:30	700	70	70	100
2.	15	1000	180	70	100
3.	10	1000	250	70	140
4.	30	1000	250	70	140
5.	40	0	30	70	20

Granica detekcije i granica kvantifikacije za pojedine elemente određivane u razorenim uzorcima svježeg mišićja ribe metodom ICP-MS na uređaju 7500cx (Agilent Technologies, Njemačka)

Element	Koncentracija	Granica detekcije (LoD)	Granica kvantifikacije (LoQ)
K	mg/kg	0,041	0,049
Na	mg/kg	0,027	0,036
Ca	mg/kg	0,015	0,027
Mg	mg/kg	0,007	0,012
Fe	mg/kg	0,013	0,033
Zn	mg/kg	0,0002	0,0004
Cu	mg/kg	0,0007	0,0015
Se	mg/kg	0,00002	0,00004
Hg	µg/kg	0,024	0,049
Cd	µg/kg	0,001	0,003
Pb	µg/kg	0,026	0,064
As	µg/kg	0,013	0,019

Vrijednost LoD izračunata je kao srednja vrijednost slijepe probe uvećana za tri standardne devijacije (3σ).
Vrijednost LoQ izračunata je kao srednja vrijednost slijepe probe uvećana za dest standardne devijacija (10σ).

PRILOG 5

Prehrambene referentne vrijednosti DRVi (eng. *dietary reference values*) za unos masti i mineralnih elemenata prema EFSA-i

		Novorođenčad		Djeca i adolescenti							Odrasli		Starije osobe		Trudnice#			Dojilje		IZVOR
		0-6mj.	7-11mj.	1-3	4-6	7-10	11-14	11-14	15-17	15-17	18-59	18-59	≥60	≥60	1.	2.	3.	<6	>6 mj.	*EFSA*
					M (Ž)	M (Ž)	(M)	(Ž)	(M)	(Ž)	(M)	(Ž)	(M)	(Ž)	tromjesečje			*post partum*		*Journal*
MASTI I MASNE KISELINE																				
Masti	**ukupne-M (E%)**		40[a]	35-40	20-35		20-35				20-35				20-35					*2010*
SFA[1]	**AI ukupne masne kiseline (E%)**			što manje moguće			što manje moguće				što manje moguće				što manje moguće					*2010*
..LA			4	4			4				4				4					*2010*
..ALA			0,5	0,5			0,5				0,5				0,5					*2010*
..EPA+DHA	**AI (mg/dan)**	100 (DHA)		100 (DHA do 24mj); 250			250				250				250 +100-200 (DHA)					*2010*
MINERALNI ELEMENTI																				
Kalij[2]	**AI (mg/dan)**		750	800	1100	1800	2700	2700	3500	3500	3500	3500	3500	3500	3500			4000		*2016*
Kalcij	**AR (mg/dan)**		280[a]	390	680	680	960	960	960	960	750[b]	750[b]	750	750	750[f]			750[f]		*2015a*
	PRI (mg/dan)			450	800	800	1150	1150	1150	1150	950[b]	950[b]	950	950	950[f]			950[f]		
Magnezij	**AI (mg/dan)**		80	170	230	230	300	250	300	250	350	300	350	300	300			300		*2015b*
Željezo	**AR (mg/dan)**		8	5	5	8	8	7	8	7	6	7[c]	6	6	7			7		*2015d*
	PRI (mg/dan)		11	7	7	11	11	13	11	13	11	16[c]	11	11	16			16		
Cink[3]	**AI (mg/dan)**		2,9	4,3	5,5	7,4	10,7	10,7	14,2	11,9	9,4-16,3	7,5-12,7	9,4-16,3	7,5-12,7	+1,6			+2,9		*2014c*
Bakar	**AI (mg/dan)**		0,4	0,7	1,0	1,0	1,3	1,1	1,3	1,1	1,6	1,3	1,6	1,3	1,5			1,5		*2015c*
Selen	**AI (µg/dan)**		15	15	20	35	55	55	70	70	70	70	70	70	70			85		*2014d*

AR – prosječan unos (*eng. average requirement*); **AI** – odgovarajući unos (*eng. adequate intake*); **PRI** – referentni unos za populaciju (*eng. population reference intake*);
SFA – zasićene masne kiseline; **LA** – linolna kiselina; **ALA** – alfa linolenska kiselina; **EPA+DHA** – eikosapentaenska plus dokosaheksaenska kiselina;
[1] SFA uključuje preporuke za *trans* masne kiseline i kolesterol (ograničeni unos na što manje količine);
[2] Ekvivalenti: 19 mmol/dan za novorođenčad 7-11 mj.; 20 mmol/dan za djecu 1-3 g.; 28 mmol/dan za djecu 4-6 g.; 46 mmol/dan za djecu 7-10 g.; 69 mmol/dan za djecu 11-14 g.; 90 mmol/dan za djecu 15-17 god; 90 mmol/dan za odrasle, uključujući i trudnice; 102 mmol/dan za dojilje;
[3] U odraslih osoba (≥18) unos cinka (mg/dan) ovisi o količini unesenog fitata (mg/dan, vrijednost u zagradi): za muškarce 9,4 (300); 11,7 (600);14,0 (900); 16,3(1200); za žene 7,5(300); 9,3(600); 11,0 (900); 12,7 (1200); #Dodatni unos na preporučenu vrijednost za žene koje nisu trudne.
(a) AI za novorođenčad; (b) 860 mg/dan (AR), 1000 mg/dan (PRI) za odrasle osobe u dobi 18-24g. uključujući trudnice i dojilje u toj dobi; (c) 6 mg/dan (AR), 11 mg/dan (PRI) za žene u post-menopauzi.

PRILOG 6

Pregled istraživanja (2000. – 2010.): stanje esencijalnih elemenata (Ca, Fe, Cu, Zn, Se) u majke i potomka i normalni rasponi za elemenate u krvi žena u dobi 19 do 49 godina izvan trudnoće i dojenja

Država	**n**	**Serum majke**	**Krv iz pupkovine**	Literaturni izvori
		Parovi majka – novorođenče		
		Ca (mg/L)		
(referentni raspon)		82 – 97		*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
		Fe (mg/L)		
(referentni raspon)		0,30-1,93	/	*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
		Cu (mg/L)		
(referentni raspon)		1,30 – 2,40	/	*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
Turska	174	0,309 – 2,29	/	*Kilinc i sur., 2010*
Portugal	44	2,19 (1,48 – 2,95)	/	*Almeida i sur., 2008*
Španjolska	159	2,04 ± 0,042	/	*Izquierdo Alvarez i sur., 2007*
Kanada	385	2,16 (0,17 – 3,6)	0,41 (0,089 – 2,45)	*Butler Walker i sur., 2006*
		Zn (mg/L)		
(referentni raspon)		0,50 – 0,77	/	*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
Turska	174	0,308– 1,66	/	*Kilinc i sur., 2010*
Portugal	44	0,71 (0,41 – 1,03)	/	*Almeida i sur., 2008*
Španjolska	159	0,584 ± 0,115	/	*Izquierdo Alvarez i sur., 2007*
Kanada	385	0,58 (0,18 – 5,21)	0,95 (0,68 – 2,52)	*Butler Walker i sur., 2006*
Švedska	83/75	0,59 (0,44 – 1,02)	10,9 (8,2 – 19,0)	*Osman i sur., 2000*
		Se (µg/L)		
(referentni raspon)		71 – 133	/	*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
Turska	174	30,4 – 98,4	/	*Kilinc i sur., 2010*
Portugal	44	59,5 (19,6 – 93,7)	/	*Almeida i sur., 2008*
Španjolska	159	85,5 ± 12,81	/	*Izquierdo Alvarez i sur., 2007*
Švedska	385	121 (67 – 184)	79 (43-142)	*Butler Walker i sur., 2006*
Švedska	130/127	70 (46 – 154)	86 (43 – 233)	*Ask Björnberg i sur., 2003, 2005*
Švedska	74/74	70,9 (4,19 – 109)	52,3 (22,6 – 74,1)	*Osman i sur., 2000*
Slovenija	20	62 ± 10 (34 – 80)	34 ± 7 (20 – 48)	*Mičetić-Turk i sur., 2000*
		Žene u dobi 19 do 49 godina izuzev trudnoće i dojenja		
		Ca (mg/L)		
(referentni raspon)		87 – 102		*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
		Fe (mg/L)		
(referentni raspon)		0,41-1,41		*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
		Zn (mg(L)		
(referentni raspon)		0,75 – 1,20		*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
Turska	30	0,856 – 1,99		*Kilinc i sur, 2010*
		Cu (mg/L)		
(referentni raspon)		0,70 – 1,40		*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
Turska	30	0,558 – 1,99		*Kilinc i sur, 2010*
		Se (mg/L)		
(referentni raspon)		63 – 160		*Abbassi-Ghanavati i sur., 2009*
Turska	30	45 - 84		*Kilinc i sur, 2010*

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± SD ili medijan (raspon)

PRILOG 7

Pregled istraživanja (2000. - 2017.): biološki pokazatelji izloženosti niskim razinama Hg hranom morskoga podrijetla u žena tijekom trudnoće / parovi majka-novorođenče

Država	n[#]	Hg u krvi majke (µg/L)	Hg u krvi iz pupkovine (µg/L)	Hg u kosi majke (mg/kg)	Literaturni izvori
Austrija	52/43/30	0,7 (0,1-5,2)	1,1 (0,2-6,8)	0,18 (0,05-0,77)	*Gundacker i sur., 2010*
Francuska	691			0,52 (0,30-0,82)	*Drouillet-Pinard i sur.,2010*
Grčka	391	/	5,8 (0,2-33)		*Miklavčič i sur., 2013*
Hrvatska: Zagreb	53	/	1,65 (0,039-12,3)	0,34 (0,02-1,57)	*Capak i sur., 2017*
Hrvatska Zadar	29	/	4,18 (0,193-18,8)	0,58 (0,05-2,11)	*Capak i sur., 2017*
Hrvatska: Rijeka	139	2,36 (0,55-20,5)	3,43 (0,46-32,3)		*Snoj Tratnik i sur., 2017*
Hrvatska: Rijeka	255/210	2,0 (0,6-21)	2,9 (0,6-32)		*Miklavčič i sur., 2013*
Italija	871/614	2,4 (0,05-40)	3,9 (0,1-33)		*Miklavčič i sur., 2013*
Japan	54	4,1 ± 1,4	7,6 ± 2,6	1,43 ± 0,57	*Sakamoto i sur., 2012*
Južna Koreja	79/104	2,66 (1,36-8,50)	4,44 (2,61-12,1)		*Kim i sur., 2015*
	797	3,1 ± 1,7	5,2 ± 1,6		*Kim i sur., 2011*
Kanada	2001	0,56 (n.n.-12,4)	0,80 (n.n.-14,2)		*Arbuckle i sur., 2016*
	385/402	1,66 (n.n.-33,9)	2,7 (n.n.-75,8)		*Butler Walker i sur., 2006*
Poljska	233	/	0,8 (0,1-5,0)	/	*Jedrychowski i sur., 2006*
Slovenija	494	1,11 (0,20-10,2)	/		*Jagodić i sur., 2017*
Slovenija	574	/	1,5 (0,5 -4,2)	0,29 (0,07-0,78)	*Miklavčič i sur., 2011a*
Slovačka	99/99	0,63 (0,14-2,9)	0,80 (0,15-2,54)		*Palkovicova i sur., 2008*
Španjolska	140/114	3,9 (2,4-6,8)	6,7 (4,9-11,0)		*Garciá-Esquinas i sur.,2013*
	1883	/	11,0 (5,0-14)		*Ramon i sur., 2011*
Švedska	98/148	0,73 (0,20-2,0)[a]	1,4 (0,3-3,8)[a]		*Vahter i sur., 2000*
	130/127	/	1,3 (0,10-5,7)	0,35 (0,07-1,5)	*Ask Björnberg i sur., 2003, 2005*
Turska	143	0,38 ± 0,5 (0-2,3)	0,50 ± 0,64 (0-2,3)		*Unuvar i sur., 2007*
UK	4134	0,17-12,8	/		*Golding i sur., 2013*

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± SD i / ili medijan (raspon); n.n. nije naveden minimum.
[#]n – broj uzoraka krvi majke / krvi pupkovine / kose majke
[a]MeHg

PRILOG 8 (nastavak 1/2)

Pregled istraživanja (2003. – 2018.): količine toksičnih elemenata u mišićju svježe i konzervirane ribe

Vrsta	N	Hg (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)	As (mg/kg)	Literaturni izvori
Svježa morska riba iz divljeg ulova i iz uzgoja						
Srdela						
JM	7	0,020 – 0,029	0,0032 – 0,0080	0,01 – 0,015	2,4-4,6	*Bilandžić i sur., 2018*
JM, TM	90	0,0673 ± 0,0064	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
SM	30	0,04	0,10	n. o.	n. o.	*Barone i sur., 2015*
SM	11[a]	0,009 – 0,067	0,000 – 0,003	0,004 – 0,034	0,169-0,959	*Olmedo i sur. 2013*
SM	30	0,08±0,03	<0,001	<0,06	n.o.	*Copat i sur., 2012*
JM	40	0,02 – 0,08	0,02 – 0,11	0,04 – 0,11	n. o.	*Storelli, 2009*
JM	150	0,07 – 0,12	0,02 – 0,04	0,03 – 0,09	n. o.	*Storelli, 2008*
JM	10	0,142 ± 0,024	0,008 ± 0,002	0,021 ± 0,008	8,08±2,43	*Jureša i Blanuša, 2003*
JM	10	0,208 ± 0,037	0,007 ± 0,002	0,023 ± 0,007	2,82±0,56	*Jureša i Blanuša, 2003*
Inćun						
JM, TM	81	0,0812 ± 0,0286	n. o.	n.o.	n.o.	*Di Lena i sur., 2017*
SM	30	0,06	0,09	n.o.	n.o.	*Barone i sur., 2015.*
SM	30	n.o.	0,0010 ± 0,0003	0,005 ± 0,004	5,28 ± 1,75	*Copat i sur., 2015.*
JoM	30	0,065 ± 0,025	n. o.	n. o.	n. o.	*Copat i sur., 2014.*
SM	30	0,06 ± 0,03	0,332 ± 0,112	<0,06	n. o.	*Copat i sur., 2012.*
SM	11[a]	0,000 – 0,078	0,000 – 0,004	0,004 – 0,231	0,129 – 0,378	*Olmedo i sur., 2013*
JM	45	0,001 – 0,52	0,001 – 0,02	0,001 – 0,34	0,01 – 54,8	*Bilandžić i sur., 2011*
JM	40	0,02 – 0,11	0,02 – 0,10	0,02 – 0,07	n. o.	*Storelli, 2009*
JM	135	0,02 – 0,21	0,01 – 0,02	0,09 – 0,10	n. o.	*Storelli, 2008*
JM	10	0,154 ± 0,022	0,012 ± 0,002	0,017 ± 0,001	2,95 ± 0,57	*Jureša i Blanuša, 2003*
Oslić						
JM	7	0,012-0,051	0,0015 – 0,0068	0,002 – 0,004	0,89 – 2,0	*Bilandžić i sur., 2018*
JM	8	0,085 ± 0,078	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
JM	1	0,052	n. o.	n. o.	n. o.	*Miklavčič i sur., 2013*
SM	11[a]	0,007 – 0,012	0,000 – 0,000	0,004 – 0,225	0,082 – 0,282	*Olmedo i sur., 2013*
SM	15	n.o.	0,03 – 0,11	0,13 – 0,38	n.o.	*Ersoy i Çelik, 2010*
JM	40	0,04 – 0,30	0,04 – 0,09	0,02 – 0,07	n. o.	*Storelli, 2009*
JM	195	0,04 – 0,48	0,04 – 0,08	0,02 – 0,07	n. o.	*Storelli, 2008*
JM	3	0,275 ± 0,117	0,002 ± 0,001	0,007 ± 0,004	10,03 ± 0,82	*Jureša i Blanuša, 2003*
JM	3	0,373 ± 0,075	0,002 ± 0,001	0,023 ± 0,002	23,30 ± 3,56	*Jureša i Blanuša, 2003*
JM	138	n. o.	0,004 – 0,014	0,049 – 0,141	n. o.	*Kljaković-Gašpić i sur.,2002*
Orada						
JM_d	11	0,012 – 0,204	0,0015 – 0,0094	0,002 – 0,018	0,29 – 14	*Bilandžić i sur., 2018*
JM, TM_d	4	0,240 ± 0,057	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
JM_d	11[a]	0,020 – 0,121	0,001 – 0,006	0,004 – 0,004	0,007-0,043	*Olmedo i sur., 2013*
JM_d	2	0,103 – 0,159	n. o.	n. o.	n. o.	*Miklavčič i sur., 2011*
SM_d	15	n.o.	0,05-0,19	0,15 – 0,58	n.o.	*Ersoy i Çelik, 2010*
JM, TM_u	6	0,044 ± 0,029	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
JM, TM_u	3	0,070 ± 0,020	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
JM, TM_u	4	0,673 ± 0,290	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
Brancin						
JM_d	13	0,050 – 0,276	0,002 – 0,023	0,002 – 0,007	0,34 – 10	*Bilandžić i sur., 2018*
JM, TM_d	2	0,103 ± 0,033	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*

PRILOG 8 (nastavak 2/2)

Vrsta	N	Hg (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)	As (mg/kg)	Literaturni izvori
Svježa morska riba iz divljeg ulova i iz uzgoja						
Brancin						
SM_d	11[a]	0,000 – 0,111	0,000 – 0,014	0,004-0,035	0,028 – 0,281	*Olmedo i sur., 2013*
JM_d	2	0,137; 0,066	n. o.	n. o.	n. o.	*Miklavčič i sur., 2011*
JM, TM_u	4	0,044 ± 0,022	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
JM, TM_u	3	0,230 ± 0,108	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
JM, TM_u	5	0,898 ± 0,323	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
Lokarda						
JM	38	0,001 – 0,78	0,001 – 0,1	0,002 – 0,24	0,01 – 36,4	*Bilandžić i sur., 2011*
Bukva						
SM	30	0,15	0,05	n.o.	n.o.	*Barone i sur., 2015.*
JM	3	0,196 ± 0,026	0,007 ± 0,002	0,032 ± 0,011	2,21 ± 0,64	*Jureša i Blanuša, 2003*
Šarun						
JonM	30	0,090 ± 0,039	n. o.	n. o.	n. o.	*Copat i sur., 2014*
SM	30	n.o.	0,0009 ± 0,0002	0,004 ± 0,002	5,41 ± 2,11	*Copat i sur., 2013*
JM	40	0,15 – 2,38	0,01 – 0,03	0,01 – 0,06	n. o.	*Storelli, 2009*
JM	180	0,16 – 2,41	0,01 – 0,03	nd – 0,06	n. o.	*Storelli, 2008*
JM	3	0,218 ± 0,040	0,020 ± 0,025	0,025 ± 0,009	6,85 ± 6,22	*Jureša i Blanuša, 2003*
Gira oblica						
JM	33	0,001 – 2,06	0,001 – 0,097	0,001 – 0,46	0,01 – 54,6	*Bilandžić i sur., 2011*
Trlja						
JM, TM	25	0,236 ± 0,102	n. o.	n. o.	n. o.	*Di Lena i sur., 2017*
SM	30	0,281 ± 0,103	n. o.	n. o.	n. o.	*Copat i sur., 2014.*
JoM	30	n.o.	0,0004 ± 0,0002	0,005 ± 0,003	11,0 ± 3,96	*Copat i sur., 2013.*
SM	30	0,31 ± 0,26	0,084 ± 0,069	<0,06	n.o.	*Copat i sur., 2012*
JM	40	0,55 ± 0,33	0,01 – 0,05	0,04 – 0,11	n. o.	*Storelli, 2009*
JM	195	0,05 – 2,76	0,01 – 0,04	0,04 – 0,18	n. o.	*Storelli, 2008*
JM	99	n. o.	0,008 – 0,029	0,057 – 0,158	n. o.	*Kljaković-Gašpić i sur., 2002*
Tuna						
SM(i)	11	0,298 – 0,779	0,000 – 0,127	0,004 – 0,004	0,018-0,592	*Olmedo i sur., 2013*
JM	2	0,210; 0,108	n. o.	n. o.	n. o.	*Miklavčič i sur., 2011*
Konzervirane ribe						
Srdela						
Poljska	9	0,024 ± 0,017	0,041 ± 0,031	0,057± 0,035	1,9 ± 0,85	*Usydus i sur., 2008*
Slovenija	8	0,004 – 0,144	n.o.	n.o.	n.o.	*Miklavčič i sur., 2011*
Španjolska	12	0,000 – 0,012	0,001 – 0,067	0,004 – 0,026	0,015 – 0,185	*Olmedo i sur., 2013*
Skuša						
Slovenija	2	0,063; 0,046				*Miklavčič i sur., 2011*
Španjolska	12	0,000 – 0,039	0,003 – 0,046	0,004 – 0,004	0,033-0,201	*Olmedo i sur., 2013*
Tuna						
Italija	40	0,04 – 1,79	0,01 – 0,14	0,02 – 0,16	n.o.	*Storelli i sur., 2010*
Poljska	9	0,067 ± 0,026	0,036±0,015	0,010 ± 0,001	1,1 ± 0,39	*Usydus i sur., 2008*
Španjolska	12	0,035 – 0,894	0,020 – 0,170	0,004-0,385	0 – 0,044	*Olmedo i sur., 2013*
Turska	60	0,14 ± 0,18	0,01 ± 0,01	0,28 ± 0,15	n.o.	*Mol, 2011*
	3	n.o.	0,245±0,043	0,076 ± 0,030	n.o.	*Çelik i Oehlenschläger,2008*

Oznake: d – divlji ulov; u – uzgoj; JM – Jadransko more, JonM – Jonsko more, SM – Sredozemno more, TM – Tirensko more.

PRILOG 9

Karakteristike riba prema staništu i ishrani

	Latinski naziv	Vrsta ribe prema staništu	Ishrana
Inćun	*Engraulis encrasicolus*	pučinska / pelagijska, priobalna	plankton, ikra
Srdele	*Sardina pilchardus*	pučinska / pelagijska, priobalna	plankton
Lokarda	*Scomber colias*	pučinska / pelagijska, priobalna	rakovi, male ribe, lignje
Gira	*Spicara maena*	pučinska / pelagijska, priobalna	plankton, mali beskralješnjaci
Šarun	*Trachurus trachurus*	bentopelagijska	rakovi, škampi, sipe, male ribe,
Bukva	*Boops boops*	pridnena / demersalna	rakovi, školjke, trava, male ribe
Oslić	*Merluccius merluccius*	pridnena / demersalna danju pri dnu, noću seli na površinu	inćuni, srdele, rakovi
Trlja	*Mullus barbatus*	pridnena / demersalna	rakovi, školjke (kopa po mulju)
Orada	*Sparus aurata*	bentopelagijska s pridnenim (demersalnim) ponašanjem	rakovi, školjke, ribe
Brancin	Dicentrarchus labrax	pridnena / demersalna	male ribe, rakovi, školjke, lignje
Skuša	*Scomber japonicus*	pučinska / pelagijska priobalna	rakovi, male ribe, lignje
Tune	*Thunnus sp.*	pučinska / epipelagijska	ribe (manje i veće vrste)

Izvor: tražilica FAO FishFinder, dostupna na *www.fao.org/fishery/species/2291/en*

Životopis autora

Antonija Sulimanec Grgec rođena je 6. kolovoza 1986. godine u Zagrebu. Pohađala je Opću gimnaziju u Đurđevcu i maturirala 2000. godine. Na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirala je u prvoj generaciji studenata po Bolonjskom procesu 2010. godine i stekla titulu magistre nutricionizma (nakon obranjene teme diplomskog rada „Međudjelovanje kadmija i esencijalnih mikroelemenata željeza i cinka u neskotnih i skotnih pokusnih štakorica“, mentor M. Piasek).

Od veljače 2011. godine zaposlena je na mjestu stručnog suradnika u Jedinici za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu gdje je od lipnja iste godine zaposlena na mjestu znanstvenog novaka – asistenta na znanstveno-istraživačkom projektu „Izloženost metalima i njihovi učinci u graviditetu i postnatalnom razdoblju“ (MZOS br. 022-0222148-2135, 2007.-2013./14., voditelj M. Piasek). Poslijediplomski doktorski studij Nutricionizam upisala je na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u akademskoj godini 2011./2012. Godine 2014. prijavila je i uspješno obranila temu doktorskoga rada uz mentorstvo dr. sc. Martine Piasek, znan. savjetnika u trajnom zvanju.

Ravnopravni je koautor u pet izvornih znanstvenih radova u časopisima indeksiranim u bazi *Web of Science Core Collection/Current Contents* i prvi autor ili ravnopravni koautor 17 sažetaka priopćenja kongresa održanih u Hrvatskoj i inozemstvu. Dobitnica je nagrade Hrvatskoga toksikološkog društva mladom znanstveniku za sažetak izvornog priopćenja koji je usmeno izložila na 5. kongresu CROTOX 2016 u Poreču. Pohađala je dvije međunarodne radionice u područjima opće toksikologije i procjene rizika za zdravlje ljudi. Kontinuirano sudjeluje u aktivnostima popularizacije znanosti učenicima razne dobi (osnovnih i srednjih škola) i brucošima matičnoga fakulteta te raznim edukativnim događanjima koje se održavaju na Institutu.

Živi u Koprivnici sa suprugom i dvoje djece.

Popis objavljenih radova i kongresnih priopćenja autora

Znanstveni radovi objavljeni u časopisima indeksiranim u Current Contents (a1)

Sekovanić, A., Jurasović, J., Piasek, M., Pašalić, D., Orct, T., Sulimanec Grgec, A., Stasenko, S., Branović Čakanić, K., Jazbec., A. (2018) Metallothionein 2A gene polymorphism and trace elements in mother-newborn pairs in the Croatian population. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 45: 163-170.

Grzunov Letinić, J., Matek Sarić, M., Piasek, M., Jurasović, J., Varnai, V. M., Sulimanec Grgec, A., Orct, T. (2016) Use of human milk in the assessment of toxic metal exposure and essential element status in breastfeeding women and their infants in coastal Croatia. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **38**: 117-125.

Piasek, M., Jurasović, J., Sekovanić, A., Brajenović, N., Brčić Karačonji, I., Mikolić, A., Sulimanec Grgec, A., Stasenko, S. (2016) Placental cadmium as an additional noninvasive bioindicator of active maternal tobacco smoking. *J. Toxicol. Environ. Health Part A,* **79** (11): 443-446.

Mikolić, A., Piasek, M., Sulimanec Grgec, A., Varnai, V. M., Stasenko, S., Kralik Oguić, S. (2015) Oral cadmium exposure during rat pregnancy: assessment of transplacental micronutrient transport and steroidogenesis at term. *J. Appl. Toxicol*. **35** (5): 508-519.

Piasek, M., Mikolić, A., Sekovanić, A., Sulimanec Grgec, A., Jurasović, J. (2014) Cadmium in placenta – a valuable biomarker of exposure during pregnancy in biomedical research. *J. Toxicol. Environ. Health Part A,* **77** (18): 1071-1074.

Sažeci kongresnih priopćenja u časopisima čiji su redoviti brojevu indeksirani u Current Contents

Sulimanec Grgec, A., Orct, T., Kljaković-Gašpić, Z., Tičina, V., Jurasović, J., Piasek, M. (2017) Levels of essential macro- and trace elements in oily and lean fish species from the eastern Adriatic Sea. Joint 16th International Symposium on Trace Elements in Man and Animals (TEMA-16), 12th Conference of the International Society for Trace Element Research in Humans (ISTERH 2017) and 13th Conference of the Nordic Trace Element Society (NTES 2017). *J. Trace. Elem. Med. Biol.* **41** (S), s48.

Grzunov Letinić, J., Matek Sarić, M., Jurasović, J., Orct, T., Sulimanec Grgec, A., Varnai, V. M., Piasek, M. (2015) Cadmium and lead exposure and essential elements in breast feeding women from coastal Croatia. XI ISTERH Conference Recent Advances in Trace Element Research in Health and Disease. *J. Trace. Elem. Med. Biol*. **32** (S2), s15.

Mikolić, A., Sulimanec Grgec, A., Piasek, M. (2015) Cadmium, iron and zinc interaction in mother rats and the offspring: does it change if exposure starts at the beginning of gestation or earlier? XI ISTERH Conference Recent Advances in Trace Element Research in Health and Disease. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* **32** (S2), s25.

Matek Sarić, M., Grzunov Letinić, J., Jurasović, J., Orct, T., Sulimanec Grgec, A., Varnai, V. M., Piasek, M. (2015) Total antioxidant status of human colostrum, transitory milk and mature milk in healthy postpartum women from coastal Croatia. 51st Congress of the European Societies of Toxicology, EUROTOX. *Toxicol. Lett.* **238** (S2), s102.

Grzunov, J., Ivić, I., Sulimanec Grgec, A., Matek Sarić, M., Jurasović, J., Piasek, M. (2013) Assessment of dietary cadmium exposure in kindergarten children from Zadar County, Croatia. X ISTERH Conference Trace Element Research on Health and Diseases. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* **27** (S1), s48.

Sekovanić, A., Jurasović, J., Orct, T., Brajenović, N., Brčić Karačonji, I., Mikolić, A., Sulimanec Grgec, A., Stasenko, S., Piasek, M. (2013) Placental cadmium concentration as an indicator of maternal tobacco smoking. X ISTERH Conference Trace Element Research on Health and Diseases. *J. Trace. Elem. Med. Biol*. **27** (S1), s47.

Sažeci kongresnih priopćenja objavljeni u časopisu (indeksiranom u Science Citation Index Expanded)

Sulimanec (Grgec), A., Kljaković-Gašpić, Z., Tičina, V., Orct, T., Jurasović, J., Piasek, M. (2016) Essential and toxic elements in three fish species typical for the dietary pattern in coastal Croatia. Abstracts of the 5th Croatian Congress of Toxicology (CROTOX 2016). *Arh. Hig. Rada Toksikol*. **67** (S1), 28.

Sulimanec (Grgec), A., Sekovanić, A., Orct, T., Stasenko, S., Grzunov, J., Matek Sarić, M., Jurasović, J., Piasek, M. (2012) Assessment of dietary methylmercury intake and blood mercury values in women from continental versus coastal Croatia. Abstracts of the 4th Croatian Congress of Toxicology (CROTOX 2012). *Arh. Hig. Rada Toksikol.* **63** (S2), 38.

Sažeci u knjigama sažetaka

Sekovanić, A., Orct, T.; Jurasović, J., Piasek, M., Sulimanec Grgec, A., Bošnjaković, A., Matek Sarić, M. Koncentracije žive u uzorcima majčine krvi i kose, posteljici i krvi iz pupčane vrpce u povezanosti s konzumacijom hrane morskoga podrijetla. 26. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera s međunarodnim sudjelovanjem, Šibenik, Hrvatska 2019. Knjiga sažetaka, str. 66.

Mikolić, A., Piasek, M., Orct, T., Sulimanec Grgec, A., Prester, Lj., Jurasović, J. Effect of low oral cadmium exposure during pregnancy on steroid hormones in mother rats and female offspring. 10th Congress of Toxicology in Developing Countries (CTDC10) and 12th Congress of the Serbian Society of Toxicology (12th SCT), Beograd, Srbija 2018. Book of Abstracts, str. 105.

Grzunov, J., Matek Sarić, M., Sulimanec Grgec, A., Piasek, M. Estimate of omega-3 fatty acids dietary intake by fish consumption in preschool children of coastal Croatia. 7th Central European Congress on Food, CEFood Congress, Ohrid, Makedonija 2014. Book of Abstracts, str. 246.

Mikolić, A., Sulimanec Grgec, A., Piasek, M. Oral cadmium exsposure during pregnancy: Assessment of microelement distribution in mother rat and foetus at term. Drugi simpozij Hrvatskoga društva za znanost o laboratorijskim životinjama s međunarodnim sudjelovanjem „Pokusne životinje u znanstvenim istraživanjima“, Zagreb, Hrvatska 2014. Knjiga sažetaka, str. 72-73.

Sulimanec Grgec, A., Piasek, M., Sekovanić, A., Jurasović, J., Orct, T., Grzunov, J., Matek Sarić, M. Assessment of metal intakes via fish consumption in women from coastal Croatia. 8th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists (CROFOST), Opatija, Hrvatska 2014. Book of Abstracts, str. 50.

Grzunov, J., Ivić, I., Matek Sarić, M., Sulimanec Grgec, A., Piasek, M. Assessment of lead exposure by dietary intake in pre-school children from Zadar County, Croatia. 2nd International Conference on Occupational & Environmental Toxicology ICOETox, Porto, Portugal, 2013. Book of Abstracts, str. 102.

Mikolić, A., Sulimanec, A., Vihnanek Lazarus, M., Piasek, M. The comparison of the effects of cadmium exposure on trace element distribution in rats: oral versus parenteral exposure during pregnancy. Cadmium Symposium 2012 (ICS 2012), Sassari, Italija, 2012. Book of Abstracts, str. 62.

Sulimanec, A., Mikolić, A., Jurasović, J., Piasek, M. Interaction of cadmium with essential trace elements after oral cadmium exposure: comparing non-pregnant and pregnant rat. Cadmium Symposium 2012 (ICS 2012), Sassari, Italija, 2012. Book of Abstracts, str. 61.

Sulimanec, A., Mikolić, A., Piasek, M. Oral exposure to cadmium and its interaction with iron and zinc in non-pregnant and pregnant rats. 7th International Congress on Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists (CROFOST), Opatija, Hrvatska, 2011. Book of Abstracts, str. 50.

Neobjavljena sudjelovanja na skupovima

Sulimanec Grgec, A. Sadržaj elemenata u Jadranskoj ribi. Znanstveni razgovori mladih, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb 2018. (popularno znanstveno predavanje)

Orct, T., Sulimanec Grgec, A. Mineralni elementi – malo, više, previse! IMI Dani otvorenih vrata, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb 2016. (popularno znanstveno-stručno predavanje uz pokazivanje rada na uređajima u laboratorijima Jedinice za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam)

Sulimanec Grgec, A. Minerali – koji su korisni, a koji opasni. Dan za znanost, Gimnazija „Fran Galović˝ Koprivnica, 2014. (popularno znanstveno-stručno predavanje)