

Univerzitet u Sarajevu
Poljoprivredno-prehrambeni
fakultet
Master studij

Toksikologija hrane
Interna skripta

Autor:
prof. dr. Nermina Đulančić

Sarajevo, 2016. godine

Sadržaj

Uvod	5
2. Hrana i osnove toksikologije hrane	6
3. Osnovni pojmovi u toksikologiji	6
4. Sudbina otrova u organizmu.....	9
4. 1. Apsorpcija toksinata.....	10
4. 1. 1. Transport toksičnih supstanci kroz ćelijsku memranu	10
4. 1. 2. Mjesta apsorpcije.....	13
4. 2. Raspodjela.....	16
4. 2. 1. Vezanje za makromolekule	18
4. 2. 2. Prolazak kroz biološke membrane	18
4. 3. Metabolizam toksičnih materija.....	19
4. 3. 1. Enzimske reakcije I faze	21
4. 3. 2. Reakcije II faze.....	23
4. 3. 3. Faktori koji utječu na raspodjelu i metabolizam	25
4. 4. Izlučivanje.....	26
5. Rizična hrana i procjena rizika	26
6. Kontaminanti (toksične materije) u hrani	28
6. 1. Toksikanti iz industrijskog otpada i prirodnog okoliša	28
6. 1. 1. Hlorirani ugljikovodici	29
6. 1. 2. Policiklični aromatski ugljikovodici (PAH-ovi)	35
6. 1. 3. Teški metali	38
6. 2. Ostaci (rezidui) od tretiranja biljaka i životinja	49
6. 2. 1. Ostaci (rezidui) pesticida.....	49
6. 2. 2. Ostaci (rezidui) veterinarskih lijekova	54
6. 3. Toksini biljnog porijekla.....	55
6. 4. Toksini životinjskog porijekla	63
6. 5. Toksini gljiva	65
6. 6. Mikotoksini	66
6. 6. Materije koje nastaju tokom prerađe hrane.....	72
6. 7. Materija koja se namjerno dodaju u hranu.....	90

Uvod

Termin toksičologija, „nauka o otrovima“, potječe iz latinskog i grčkog jezika (lat. toksikon-otrov, grč. logos-nauka). Prema tome, toksičologija je naučna disciplina koja se bavi proučavanjem štetnih efekata raznih supstanci i njihovih smjesa na žive organizme, kao i moguće posljedice tih efekata. To je nauka o interakcijama supstanci različitog porijekla i bioloških sistema, koja kvantitativno određuje sposobnost neke supstance **da izazove promjene koje uzrokuju štetne efekte na žive organizme. Također, toksičologija proučava prirodu, učestalost i mehanizme nastanka tih promjena, faktore koji utječu na njihov razvoj i eventualnu reverzibilnost tih efekata.**

Otrovne materije prodiru u organizam u relativno malim količinama. Posljedica djelovanja otrova na organizam su razna hronična, degerativna oboljenja, npr. profesionalne bolesti. Toksični efekti (tj. uočljive promjene anatomije, ili tjelesnih funkcija ili nevidljiva oštećenje se mogu svrstati na promjene na specifičnim molekulama organizma).

U toksičologiji postoje različite podjele. Jedna od njih je podjela prema području djelovanja, prema kojem se toksičologija dijeli na :

- kliničku toksičologiju,
- forenzičnu toksičologiju,
- ekotoksičologiju i
- toksičologiju hrane.

2. Hrana i osnove toksičologije hrane

Hrana je bez sumnje uvjet života i treba joj posvetiti posebnu pažnju. Postoji čitav niz hemijskih i bioloških materijala koje se mogu naći u hrani i izazvati negativne efekte na ljudsko zdravlje, a javljaju se u slobodnom obliku u hrani nakon hemijskih procesa, ili uslijed neadekvatnog rukovanja, tehnoloških postupaka u uzgoju, proizvodnji, pakovanju, prometu i skladištenju hrane.

Toksični mogu biti prisutni u hrani i vodi za piće kao rezultat metaboličkih procesa kod životinja i biljaka. Posebnu opasnost za zdravlje ljudi predstavljaju namirnice zagađene patogenim mikroorganizmima. Namirnice zagađene plijesnima mogu da sadrže njihove metabolite, veoma toksične i kancerogene supstance poznate kao mikotoksini.

Hemski kontaminacija hrane i vode potječe od:

- namjernih i nemjernih ljudskih aktivnosti (tzv. antropogena kontaminacija) i
- iz prirodnih izvora (voda, vazduh, zemljište).

Tokom proizvodnje, prerade, prometa i čuvanja namirnica koristi se veliki broj hemijskih sredstava (sredstva za zaštitu biljaka od izazivača raznih bolesti i štetočina), kao i sredstva koja štite proizvedene namirnice od kvarenja (aditivi). U samom procesu industrijske proizvodnje hrane uređaji, ambalaža, pribor i posuđe za jelo mogu također da budu izvor kontaminacije različitim hemikalijama.

Prema tome, **toksičologija hrane** je nauka o prirodi, svojstvima, efektima i otkrivanju toksičnih materijala u hrani.

3. Osnovni pojmovi u toksičologiji

Šta je toksičant (otrov)?

Toksičant (otrov) je materija koja je s obzirom na kvalitetu, količinu i koncentraciju strana organizmu, a na bilo koji način je dospjela u organizam ili je u njemu nastala, te remeti normalne životne procese i funkcije i izaziva druga oštećenja, a ne djeluje mehanički niti termički.

Toksini su otrovi koje proizvode živi organizmi. Češće korišten pojam je **biotoksini**:

- ⊕ **zootoksini**-životinjskog porijekla
- ⊕ **fitotoksini**-biljnog porijekla
- ⊕ **bakteriotoksini**-nastaju u bakterijama
 - endotoksini, npr. Salmonela (toksin nastaje i pripada samom mikroorganizmu)
 - egzotoksini, npr. aflatoksin, botulinum toksin (izlučuju se iz bakterije)
- ⊕ **mikotoksini**-stvaraju ih gljivice.

Strane materije se još nazivaju i **ksenobiotici** (materija strana biološkom sistemu), a imaju mali ili nikakav značaj u održavanju normalnih biohemski/ćelijskih funkcija.

Toksikoze su oboljenja izazvana toksičantom (otrovanja). Sinonim je **intoksikacija**.

Toksične infekcije su bolesti izazvane endotoksinima, koji se oslobođaju u probavnom traktu (Salmonela).

Toksicitet je relativan pojam, a označava "stepen toksičnosti" neke supstance u odnosu na drugu. Stepen toksičnosti određene tvari **definisan je toksičnom dozom**. Doza se izražava kao težina štetne materije na jedinicu težine eksperimentalne životinje (tj. miligrami na

kilogram tjelesne težine) ili kao konstantna dijetna koncentracija (dijelovi na milion ili miligrami na kilogram hrane).

Određivanje **srednje letalne doze** (LD_{50}) je najčešće prvi test koji se radi sa svakom novom supstancicom. LD_{50} se uglavnom određuje u ispitivanju akutne toksičnosti kad se daje samo jedna doza. Izračunava se statistički i predstavlja dozu supstance koja bi trebala da uzrokuje uginuće u 50% tretiranih životinja. Obično se izražava u mg/kg tjelesne težine ili mg/cm^3 površine.

LD_{50} -mg otrova/kg tjelesne mase životinje:

1. skupina- LD_{50} do 50 mg/kg
2. skupina- LD_{50} 50-250 mg/kg
3. skupina- LD_{50} 250-1000 mg/kg
4. skupina- LD_{50} 1000-5000 mg/kg

Pod određenim okolnostima

- najčešća eksperimentalna životinja-štakor
- jednokratne peroralne doze
- praćenje efekta tokom 24 sati
- LC_{50} (za ptice i ribe): mg otrova/kg hrane (ptice) ili litri vode (ribe)

Mnogi naučnici smatraju neostvarljivim koncept „nultog rizika“ od djelovanja kontaminanata i aditiva. Prema ovom principu toksičnost je osobina vezana za koncentraciju i ukoliko prag toksičnosti nije prekoračen, nikakav toksični efekat se neće ispoljiti.

Šta predstavlja rizik i sigurnost?

Rizik predstavlja vjerovatnoću da će neka materija pod određenim okolnostima u životnom organizmu ili na njemu izazvati štetu.

Sigurnost je vjerovatnoća da neka materija neće izazvati štetni efekat pod određenim okolnostima, a uključuje primjenu svih mjera i preporuka propisanih zakonom u svrhu sprječavanja djelovanja otrova.

Da bi se pravilno procjenio rizik koji pojedini ksenobiotici ili aditivi predstavljaju za čovjeka, potrebno je izvršiti toksikološka ispitivanja svake takve pojedinačne supstance prisutne u životnoj sredini. Na osnovu rezultata toksikoloških ispitivanja na eksperimentalnim životinjama, cilj istraživanja je utvrditi količinu štetne materije koju čovjek može unositi u organizam bez posljedica narušavanja zdravlja (MDK).

MDK (maximum tolerance dose) je maksimalno dozvoljena doza.

Temelj za izračunavanje MDK je krivulja doza/efekat, ali se pri tome ne posmatra najteži mogući efekat ili smrt, nego drugi prolazni ili neprolazni štetni efekti. Najvažniji podatak je najviša doza uz koju se ne pojavljuje štetni efekat (NOAEL).

NOAEL (no observed adverse effect level) je najviša doza koja ne uzrokuje štetan efekat (nikakva oštećenja). Naziva se i **maksimalna netoksična doza ili MNTD**.

NOAEL vrijednost se koristi kao osnova da bi se napravili standardi za ljudsku sigurnost, što se tiče prisutnosti hemijskih materija u prehrani.

Ti standardi su:

- **tolerišući dnevni unos (TDU)** ili **TDI (tolerably daily intake)** i
- **ADI (acceptable daily intake)**.

TDI se koristi za kontaminante, a ADI za aditive i rezidue.

ADI (Acceptable Daily Intake) predstavlja dozu toksične materije koja se smatra prihvatljivim dnevnim unosom, a da pri tome ne predstavlja opasnost za živi organizam. Izračunava se prema jednačini:

$$\text{ADI} = \text{NOEL}/\text{faktor sigurnosti}$$

Faktor sigurnosti može biti od 10 do 10.000. Za materije sa blagim djelovanjima na čovjeka faktor sigurnosti je nizak, što rezultira visokim vrijednostima za ADI i obratno, materije sa izrazito štetnim djelovanjima imaju visok faktor sigurnosti, te time i niske vrijednosti za ADI.

Mora se, međutim, napomenuti da praktično svaka poznata supstanca može da izazove toksične efekte ako se da u dovoljnoj količini. U ovom smislu često se navodi stav Paracelzusa (1493-1541), koji predstavlja jedan od osnova savremene toksikologije i farmakologije: „Šta nije otrov? Sve je otrov i ništa ne postoji što nije otrov“. Dakle, ovaj stav podrazumjeva da postoje najmanje dvije doze:

- prva, koja ne izaziva nikav efekat i
- druga, veća, koja uzrokuje najveći toksični efekat.

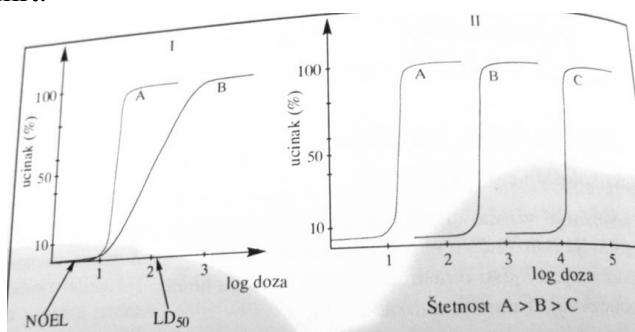
Odnos primjenjene doze i njenog efekta u nekom biološkom sistemu, koji predstavlja mjeru efikasnosti te doze, je od suštinskog značaja u toksikologiji.

Među raznim agensima postoji veoma širok spektar doza u kojima oni izazivaju toksične efekte. Čak i supstance koje svakodnevno unosimo (NaCl-kuhinjska so) mogu da izazovu toksične efekte, ali u mnogo većim dozama od onih koje se koriste u ishrani.

Koncentracije toksičnih materija u hrani, vodi, tkivima i tekućinama živih organizama, kao i u nekim drugim medijima izražava se jedinicama:

- **ppm** (parts per million) koeficijent 10^{-6} mg/kg ili $\mu\text{l/l}$
- **ppb** (parts per billion) koeficijent 10^{-9} $\mu\text{g/kg}$
- **ppt** (parts per trillion) koeficijent 10^{-12} ng/kg ili ng/l

Klasifikacija štetnih materija određuje se prema LD₅₀ vrijednostima, dobivenim nakon jednokratne peroralne doze kod štakora, praćene tokom 24 sahata, kod kojih nastaju teške neprolazne funkcionalne i/ili morfološke promjene organa ili bioloških sistema, uzrokujući trajno oštećenje ili smrt.



Slika 1. Krivulja doza-odgovor za dvije materije različite otrovnosti (različitog nagiba).

Otrovnija materija (A) kod niže doze postiže viši efekta (odgovor) za razliku od manje otrovne materije (B).

Osnovna klasifikacija toksikanata je na:

- hemijske i
- biološke.

Druga klasifikacija toksičnih materija je na:

- one koje podliježu biotransformacijama u organizmu i
- materije koje ne podliježu biohemiskim transformacijama u organizmu.

Obzirom na koji organ ispoljavaju svoje toksično dejstvo, toksične materije se dijele na:

- neurotrofne
- hepatotrofne
- nefrotoksične
- kardiotoksične

Djelovanje toksičnih materija može biti:

- opće i
- lokalno.

Trovanja mogu biti:

- akutna,
- subakutna i
- hronična.

Akutna trovanja odlikuju se kratkotrajnim djelovanjem toksikanta na organizam djelovanjem velikih koncentracija.

Hronična trovanja nastupaju postepeno, tj. postepenim nakupljanjem toksikanata u organizmu (materijalna kumulacija). Funkcionalana kumulacija je kada dođe do pojave oboljenja.

Akutna trovanja opasnija su od hroničnih. Npr. akutnim trovanjem benzolom strada nervni sistem, a pri hroničnom trovanju pretežno eritropoetični sistem.

4. Sudbina otrova u organizmu

Putevi prodiranj raznih toksikanata u organizam su:

- respiratori
- digestivni i
- površinski (koža)

Dva su glavna puta prodiranja materija kroz biološke opne:

- fizički proces pasivnog prenosa bez utroška energije baziran na zakonitostima difuzije i osmoze
- fiziološki proces aktivnog transporta uz utrošak energije (energija aktivnog transporta)

Pasivni prenos materija-materije koje su rastvorljive u lipidima.

Aktivni prenos materija-materije koje nisu rastvorljive u lipidima.

Raspodjela toksične materije u životnom organizmu odvija se u četiri međusobno povezana procesa:

- apsorpcija (absorption)
- raspodjela (distribution)
- metabolizam (metabolism) i

- izlučivanje (ARMI) ili Excretion (ADME)

4. 1. Apsorpcija toksinata

Toksična materija u većini slučajeva neće imati toksični efekat ako nije unesena u organizam. Prolazak toksične materije s mjesta djelovanja u krvotok naziva se **apsorpcija**. Apsorpcija predstavlja nepovratan proces, u kojem toksična materija raznim mehanizmima prelazi u krvotok.

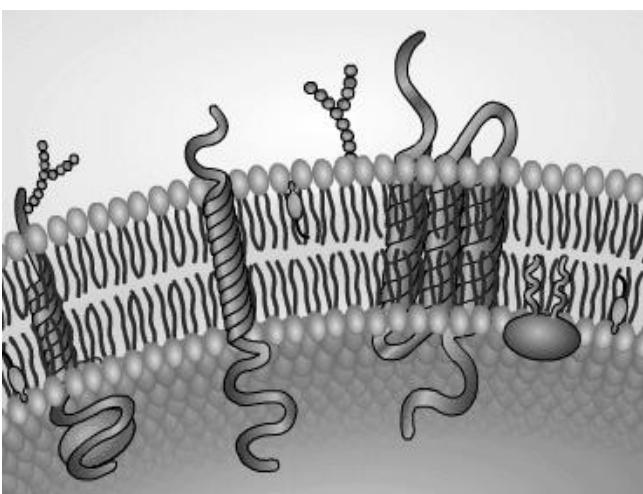
Mnogi faktori utječu na „ulazak“, tj. apsorpciju toksikanta u organizmu, te konačno njegov toksični efekat. Među najvažnijim su:

- koncentracija ili doza tvari,
- dužina izloženosti,
- fizikalno-hemijska svojstva tvari,
- put ulaska,
- individualna otpornost ovisna o fiziologiji i drugo.

Čestice toksikanta (atomi, ioni, molekule) moraju proći kroz granične površine poput kože, te epitela probavnog ili respiratornog trakta. Očito je stoga da osnovni mehanizam apsorpcije toksikanata polazi od prodiranja čestica toksikanta kroz membranu ćelija.

4. 1. 1. Transport toksičnih supstanci kroz ćelijsku membranu

Ćelijska membrana predstavlja glavnu barijeru prolazu stranih materija na putu toksikanta iz vanjske sredine do ciljnog mjestu u organizmu.



Slika 2. Osnovna struktura ćelijske membrane

što je **veći**, to je membrana **fluidnija**, te je brži i transport kroz membranu.

Membrane sadrže i dosta proteina. Razlikujemo:

- integralne proteine, koji stvaraju hidrofobne interakcije s ugljikovodičnim područjem dvosloja,
- te periferne, koji se vežu na površinu integralnih proteina.

Udio proteina je najčešće oko 50%, a povećava se i na 75% kod membrana uključenih u proizvodnju energije (unutarnja membrana mitohondrija).

Postoji nekoliko načina prolaska materija kroz membranu:

- filtracijom kroz pore

Ćelijska membrana je tanak sloj (debljine 7-9 nm), građen od različitih vrsta molekula, koji odvaja unutrašnjost ćelije od vanjskog okruženja. Ona je u pravilu polupropusni lipidni dvosloj izgrađen od proteina i fosfolipida (slika 2). Lanci masnih kiselina membrane su u polutekućem stanju, pri čemu na **fluidnost membrane** značajno utječe **udio nezasićenih masnih kiselina**:

- pasivnom difuzijom
- aktivnim transportom
- olakšanom difuzijom
- fagocitozom/pinocitozom

4. 1. 1. 1. Filtracija kroz pore

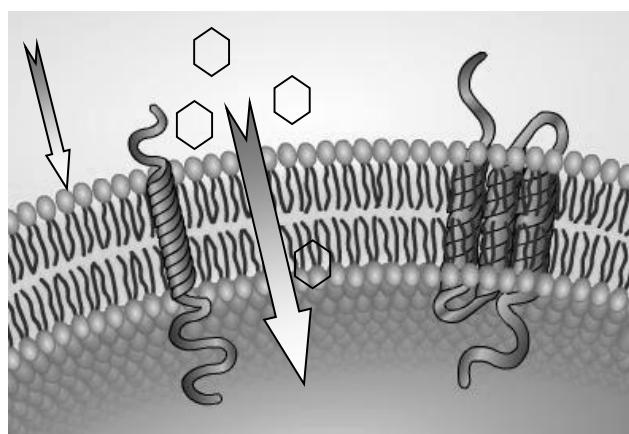
Zasniva se na prolasku toksične materije **kroz pore na membrani**, tj. proteinske kanale dok postoji **razlika u koncentracijama** s dvaju strana membrane (niz koncentracijski gradijent, od više koncentracije prema nižoj). Samo male hidrofilne molekule, molekularne mase 100 ili manje filtracijom će normalno prolaziti kroz membranu. Ionizirane materije, pa čak i ioni male mase, poput iona natrija, neće proći kroz pore membrane, jer će u vodenom okruženju biti hidratizirane, te time i prevelike molekule za prolaz kroz membranske pore.

4. 1. 1. 2. Pasivna difuzija

Pasivna difuzija predstavlja najvažniji mehanizam transporta toksičnih materija kroz membranu i odvija se **niz koncentracijski gradijent**. Temelji se na prolazu kroz membranu **običnom difuzijom preko hidrofobnog lipidnog sloja** (slika 3). Ne pokazuje specifičnost za supstrat.

Brzina prolaska ovisi o:

- koncentracijskom gradijentu,
- topljivosti toksične materije u mastima,
- ioniziranosti, koncentraciji ioniziranog oblika toksične materije.



Slika 3. Pasivna difuzija

Toksična materija prolazi kroz lipidnu membranu između dvaju vodenih faza zbog razlika u koncentracijama s dviju strana membrane (koncentracijski gradijent).

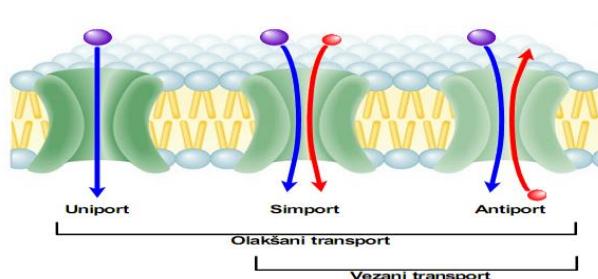
4. 1. 1. 3. Aktivni transport

Aktivni transport odvija se **uz utrošak energije** i (najčešće) **uz koncentracijski gradijent**. Karakterističan je za toksične materije **slične strukture** kao fiziološke materije koje tim putem inače prolaze membranu. Primjer takvog transporta je prijenos olova iz crijeva

putem transportnog sistema kalcija. Kao izvor energije može koristiti ATP ili neki drugi izvor energije.

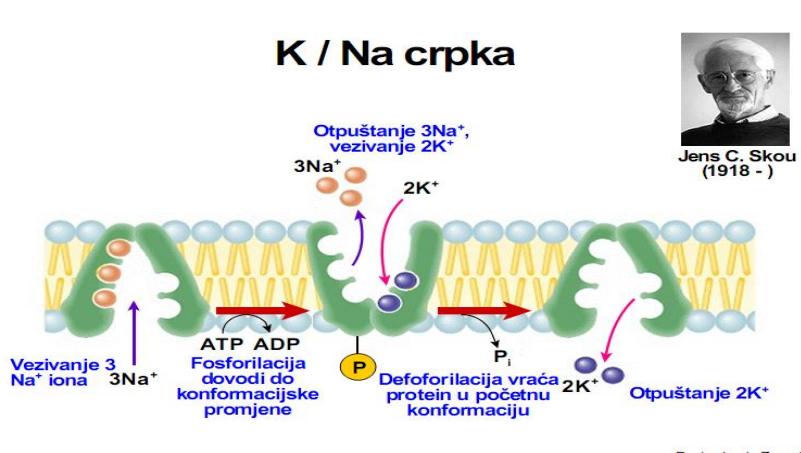
Transport materija može ići (slika 4) u:

- suprotnom smjeru (antiport) ili
- u istom smjeru (simport).



Slika 4. Smjer kretanja toksičnih materija

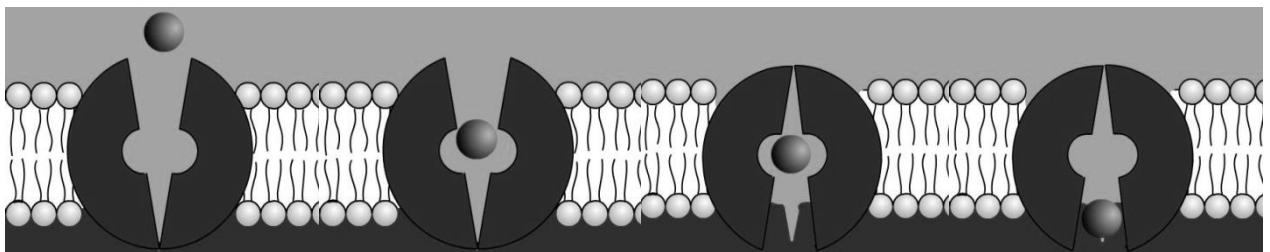
Tipičan primjer ovakvog transporta je K^+/Na^+ pumpa, koja iz ćelija izbacuje 3 iona natrija (slika 5), istovremeno ubacujući 2 iona kalija, uz utrošak ATP-a.



Slika 5. K/NA pumpa

4. 1. 1. 4. Olakšana difuzija

Olakšana difuzija predstavlja mehanizam prolaza toksičnih materija kroz membranu posredovanjem **molekula prijenosnika**. To su transmembranski proteini koji na sebe vežu jednu ili više molekula ili iona (slika 6), mijenjaju svoju konformaciju i otpuštaju molekule na drugu stranu membrane. Takvi sistemi funkcionišu pasivno bez utroška energije. Oni olakšavaju postizanje transmembranske ravnoteže prenoseći molekule niz elektrohemski gradijent. Tim sistemom regulisan je ulaz i izlaz fiziološki važnih molekula kao što su šećeri, aminokisline i ion metalova.

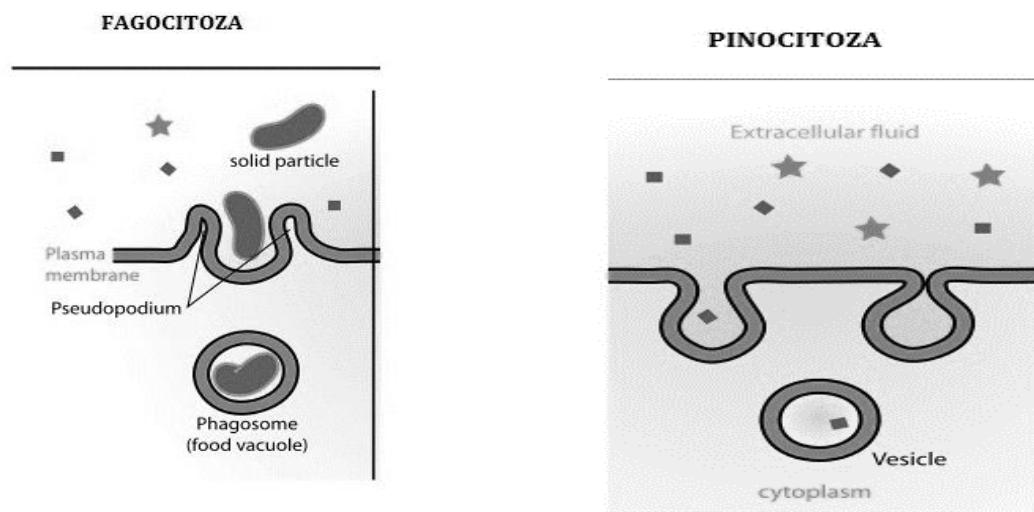


Slika 6. Olakšana difuzija

4. 1. 1. 5. Fagocitoza/pinocitoza

Endocitoza je **tip aktivnog transporta**, uključuje uvijanje i zatvaranje ćelijske membrane oko čestica, koje time ulaze u ćeliju nasuprot koncentracijskom gradijentu. Riječ je o krupnijim česticama i/ili većoj količini tvari u odnosu na ostale načine aktivnog transporta. Razlikuju se:

- **fagocitoza** (vrsta endocitoze, pri čemu ćelija aktivnim transportom unosi molekulu **veće mase** kroz membranu u unutrašnjost ćelije (slika 7) i
- **pinocitoza** (oblik endocitoze pri čemu ćelija aktivnim transportom kroz ćelijsku membranu unosi molekule **manje mase** (slika 8)



Slika 7. Fagocitoza

Slika 8. Pinocitoza

4. 1. 2. Mjesta apsorpcije

Ako toksična materija nije ušla u organizam, neće biti toksičnog djelovanja.

Tri su glavna puta apsorpcije:

- koža,
- pluća i
- probavni sistem.

U ovom poglavlju detaljnije će se objasniti ulazak putem probavnog sistema, jer je to put ulaska hrane u živi organizam.

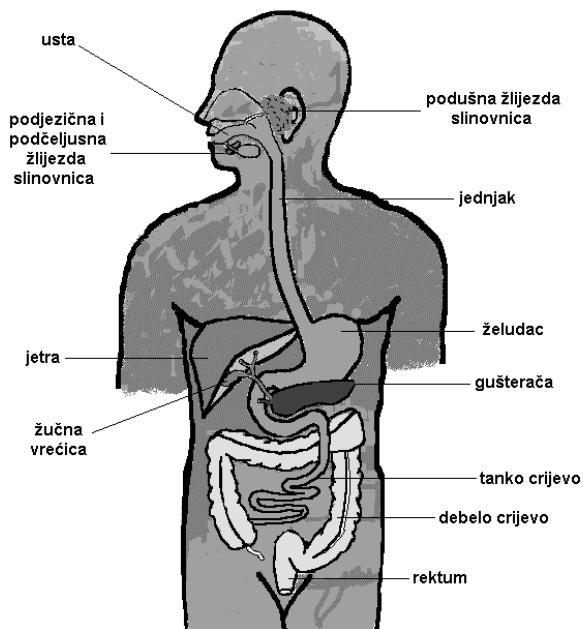
4. 1. 2. 1. Apsorpcija preko GIT-a

Toksične materije iz prehrabrenih poizvoda najčešće se unose oralnim putem. Apsorpcija se može dogoditi duž cijelog probavnog trakta (slika 9), od usta do rektuma, iako je najvjerojatnija u crijevima zbog vrlo velike površine apsorpcije. U kojem će dijelu doći do apsorpcije, u kojem će dijelu apsorpcija započeti, a u kojem završiti, ovisi od više faktora. To su:

- **fizikalno-hemijska svojstva** toksične materije i
- utjecaj **stanja organizma** u koji je unesena toksična supstanca.

Probavni sistem počinje u usnoj šupljini koja je dobro prokrvljena, a sluznice su dobro propusne, bez obzira što one imaju ulogu barijere za ulazak stranih supstanci u krvotok. Kako su vrijednosti pH sline i krvi slične, prolazak u krvotok će ovisiti samo o razlikama koncentracija toksične supstance u dvjema tjelesnim tekućinama.

Želudac je dio probavnog trakta u kojem često počinje, a ponekad i završava proces oslobađanja toksične materije. Želudac je ispunjen tekućinom pH vrijednosti oko 2, te otopljenim i neotopljenim supstancama različitih molekulskih masa. Zid želuca je dobro prokrvljen, ali je njegova površina relativno mala. I u ovom dijelu probavnog sistema apsorpcija se odvija **pasivnom difuzijom kroz membrane**, a ovisna je o **lipofilnosti toksične materije i koncentracijskom gradijentu**. Ionizirajuće materije će se apsorbirati kada nisu ionizirane, što znači da će se u želucu bolje apsorbirati kiseline. Kod takvih ionizirajućih materija, razlika pH vrijednosti tekućina s dviju strana membrane ima značajan utjecaj na prolaz kroz membranu. Tanko crijevo, zahvaljujući tankim crijevnim resicama, ima veliku apsorpcijsku površinu, dobro je prokrvljeno, pH vrijednosti oko 6.



Slika 9. Probavni sistem

Probavni trakt sisavaca ima specijalizirane transportne sisteme za apsorpciju hranjivih materija i elektrolita (glukoza, galaktoza, aminokiseline, pirimidini, Fe, Ca, Na i dr.). Neki toksikanti se mogu apsorbirati tim sistemima **aktivnog transporta** ukoliko su hranjivim tvarima slični po veličini, obliku, naboju... (Mn umjesto Fe, Pb umjesto Ca i drugo) Moguća je i apsorpcija većih (hidrofilnih) spojeva. Najvjerojatnije je riječ o **pinocitozi** ili

mehanizmu koji uključuje posebne proteine (zonulin i zot), koji vezanjem za određene receptore na površini ćelija, dovode do otvaranja prolaza između ćelija. Epitel GIT-a može apsorbirati i čestice **endocitozom**.

Iako se uopćeno može reći da lipofilnost toksikanta povećava apsorpciju, ekstremno hidrofobni spoj se neće otopiti u tekućinama probavnog trakta i apsorpcija će biti slaba.

Lipofilnost se obično izražava kao partijski koeficijent, $K_{o/w}$, tj. odnos tvari raspodijeljene između organskog otapala (oktanola) i vode; povećava se s povećanjem hidrofobnosti tvari.

Također, ako je toksikant u obliku čestica koje su relativno netopljive u tekućinama GIT-a, spoj će imati ograničen kontakt sa sluznicom GIT-a, pa se neće dobro apsorbirati (zato je metalna Hg slabo toksična poslije oralnog unosa).

Razlika pH tekućina gastrointestinalnog trakta (GIT) može značajno utjecati na apsorpciju molekula difuzijom (koja je najjača kad je molekula neionizirana zbog lipidne prirode membrane). Na stepen apsorpcije utječe Henderson-Hasselbalchova jednačina:

$$pK_a - pH = \log \frac{[neioniz.\text{oblik}]}{[ioniz.\text{oblik}]}$$

Npr. benzoeva kiselina, slaba kiselina, čija je vrijednost $pK_a=4$, pH želuca je otprilike 2, pa je:

$$\begin{aligned} 4 - 2 &= \log \frac{[neioniz.\text{oblik}]}{[ioniz.\text{oblik}]} \\ 2 &= \log \frac{[neioniz.\text{oblik}]}{[ioniz.\text{oblik}]} \\ 10^2 &= \log \frac{[neioniz.\text{oblik}]}{[ioniz.\text{oblik}]} \\ 100 &= \log \frac{[neioniz.\text{oblik}]}{[ioniz.\text{oblik}]} \end{aligned}$$

→ 100 puta više neioniziranog, što podrazumjeva **slabu apsorpciju difuzijom u crijevima**.

Kod organskih baza je obratno, tj. apsorpcija difuzijom je favorizirana u tankom crijevu:

$$pK_b - pH = \log \frac{[ioniz.\text{oblik}]}{[neioniz.\text{oblik}]}$$

Na količinu toksikanta koju ćelije epitela probavnog trakta apsorbiraju velik utjecaj ima i:

- **otpornost hemikalija na kiseli pH u želucu** (npr. penicilin je osjetljiv na kiseli pH),
- enzimi (u odnosu na intravenozni unos, zmijski otrov (polipeptid) je netoksičan oralno jer ga razgrađuju probavni enzimi) i
- mikroorganizmi crijeva.

Osim toga, djelovanjem crijevnih mikroorganizama mogu nastati toksikanti drukčijeg toksiciteta (djeca su podložnija methemoglobinemiji nakon unosa vode s puno nitrata, jer imaju viši pH u GIT-u i jače razvijenu E. coli koja reducira NO_3^- u NO_2^- ; intestinalni mikroorganizmi mogu reducirati aromatske nitroskupine u aromatske amine, koji mogu biti goitrogeni ili karcinogeni).

Pri prvom prolasku kroz jetru, djelovanjem mikrosomalnih oksidaza, uveliko nastupi biotransformacija, koja može promijeniti strukturu toksične materije mijenjajući je u više ili manje toksičnu. Brzina ulaska u krvotok vezana je sa:

- zasićenjem metaboličkih enzima ili
- promjenom njihove funkcije.

4. 2. Raspodjela

Raspodjela toksičnih materija unutar živog organizma vezana je za **sadržaj ukupne tjelesne vode** koja je podijeljena u četiri glavna odjelka.

Vanćelijsku tekućinu čine:

- krvna plazma,
- međućelijska (intersticijska) tekućina i
- limfa.

Unutarćelijska tekućina je zbir tekućina koje sadržavaju sve ćelije u tijelu. Ukupna tjelesna voda čini od 50 do 70% tjelesne težine.

Unutar odjeljaka molekule toksičnih materija mogu biti:

- vezane i
- slobodne,

što ovisi o:

- koncentraciji (dozi) unsene materije
- propusnosti barijera
- vezanju na molekule unutar odjeljka
- pH
- razdiobi mast/voda

Nakon apsorpcije, toksikanti ulaze u **krv** (samo **vrlo lipofilni spojevi** se nakon apsorpcije transportiraju **limfom**), koja ih brzo raznosi po cijelom organizmu. Visoka koncentracija materije najbrže se postiže u onim organima koji su dobro prokrvljeni (pluća, bubrezi, jetra, žlijezde), dok slabo prokrvljena tkiva (masno tkivo, mišićno i vezivno tkivo) u početku preuzimaju malu količinu supstanci.

Poslije se uloga krvotoka smanjuje, a više dolaze do izražaj **fizikalno-hemijska svojstva materija**, koja utječu na prelaz preko ćelijskih membrana i afinitet vezanja materija za pojedine sastavne dijelove u organizmu. Prolaskom kroz zidove kapilara, jedan dio

toksičnih materija dolazi do različitih mesta djelovanja u tkivima organizma, a drugi dio se metabolizira i izlučuje iz organizma (slika 10).

Toksična materija unešena u organizam, nekim od opisanih načina apsorcije, ulazi u krvotok (središnji prostor).

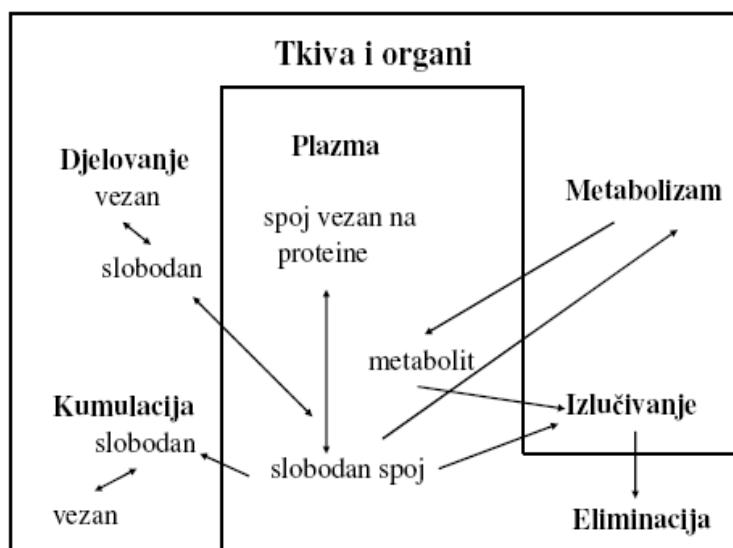
Iz krvotoka:

- **prije ulaska u ćelije**, toksična materija, dolazi u dodir sa različitim makromolekulama (bjelančevinama i drugim komponentama protoplazme, što mijenja aktivnost enzima),
- te stupajući u određene **interakcije**, prelazi u međućelijsku tekućinu i ćelije.

Nakon oralnog unosa, jedan dio toksične materije djelimično se apsorbira preko probavnog trakta, a jedan dio portalnom venom (velika vena koja nosi krv iz crijeva u jetru) dolazi do jetre. Jetra je glavni organ za detoksifikaciju, a metabolizam u jetri naziva se i tzv. **efektom prvog prolaza**.

Iz krvotoka toksične materije se različitim procesima raspoređuju u periferno tkivo. Tim prelaskom toksične materije dolazi do smanjenja koncentracije u središnjem prostoru i obratno. Procesi raspodjele su povratni, a periferni prostori sa malim konstantama brzine povratka u središnji prostor nazivaju se **depoima**. Tako dio toksikanata dolazi do mesta djelovanja (ollovo u krvi), dok se dio skladišti u skladišnim depoima (ollovo u kostima).

Shematski prikaz raspodjele toksikanata u organizmu



Slika 10. Raspodjela toksikanata u organizmu

Izlucičivanjem toksikanata iz plazme, a zbog postizanja ravnotežne koncentracije u plazmi i tkivima, toksikanti se oslobođaju iz skladišnih depoa i prelaze u plazmu. Na taj način toksične materije koje su **pohranjene u depoima**, zapravo **smanjuju** svoj **toksični efekat** u organizmu, smanjujući visoku koncentraciju toksikanta na mjestu toksičnog djelovanja. Koncentracija toksičnih materija plazmi može se izraziti i volumenom raspodjele toksične materije (V_D), koji je jednak odnosu količine toksične materije (doze) i koncentracije te materije u plazmi.

$$V_D(l) = Q_1 \text{ (mg)} / C_1 \text{ (mg l}^{-1}\text{)}$$

gdje je V_D zapremina tekućine u tijelu koja sadrži ukupnu količinu toksične materije (Q_1) u koncentraciji koja je postignuta u plazmi (C_1).

Ukupna tjelesna voda čini oko 55 l. To je otprilike V_D relativno lipotopljivih materija koje dobro prolaze ćelijsku membranu (primjer etanol). Vezanje toksičnih materija izvan plazme u depoima ili nakupljanje u masnom tkivu, povećava V_D preko zapremine ukupne tjelesne vode. Toksične materije kojima je V_D veći od ukupne zapremine ne odstranjuju se dobro hemodijalizom, stoga je teško liječiti otrovanje takvim toksičnim supstancama.

4. 2. 1. Vezanje za makromolekule

Jedan od glavnih događaja u biološkim tekućinama je **vezivanje toksičnih supstanci na proteinske frakcije, makromolekule**, kojih u organizmu ima u krvotoku i u ekstracelularnim tekućinama. Najvažnija proteinska frakcija su albumini, koji sačinjavaju 50% ukupne mase proteina u plazmi. Zbog svojih pozitivnih i negativnih naboja mogu vezati kisele i bazne toksične supstance.

Vezivanje se ostvaruje preko hemijskih veza. Veza toksikant-receptor može biti:

- ionska (veliki broj supstanci je ioniziran kod fiziološkog pH; pretpostavlja se da je to prva veza koja postoji kod interakcije ksenobiotika i receptora, privlače ksenobiotik kad se nađe u blizini receptora)
- kovalentna-ireverzibilna (ovdje spada i koordinativna veza, kod koje elektronski par neke veze potječe od samo jednog atoma, npr. jedna od N-H veza u NH₄⁺)
- vodikova (H⁺ je raspoređen između dva elektronegativna atoma (O, S, N), topljivost u vodi je uvjetovana vodikovim vezama)
- hidrofobna (između nepolarnih dijelova molekule)
- Van der Waalsova veza (prisan dodir neutralnih atoma ili skupina, pri čemu jezgra jednog atoma privlači elektrone drugog atoma i obratno)

Veza između toksikanta i receptora je uglavnom slaba i **reverzibilna**. Promjene koje nastaju su prolaznog karaktera, te traju dok je supstanca prisutna u organizmu u aktivnoj koncentraciji.

Toksične supstance u plazmi uvjek se nalaze u ravnoteži između oblika vezanog za proteine u plazmi i nevezanog oblika. Nagla disocijacija toksikanta s proteina plazme može izazvati toksične reakcije. Najčvršća je kovaletna veza, koja je i veoma rijetka. Zbog velike energije veze proces je **ireverzibilan**. Reakcija se obično odvija na nekom mjestu akceptora koje ima elektron donorsklu grupu. Primjer takve veze je vezanje organofosfornih insekticida i holinesteraze, veže se serin holinesteraza na organofosforne molekule. Reveribilno vezanje za proteine plazme uključuje ionske veze, Van der Waalsove ili vodikove veze. Ionska veza je za oko 20 puta slabija od kovalentne. Na taj način vezuju se toksične materije koje su u fiziološkim uvjetima ionizirane.

4. 2. 2. Prolazak kroz biološke membrane

Toksične materije moraju proći ćelijsku membranu, kako bi iz vanćelijskog dijela prešle u transcelularni dio. Brzina prolaska u razna tkiva ovisi o:

- brzini protoka kroz odgovarajuće kapilare i
- permeabilnosti tih kapilara za određenu vrstu molekula.

Supstance koje su topljive u lipidima (mastima) gotovo trenutačno prelaze iz krvi u tkivo. Hidrofilne molekule, koje su slabo topljive u lipidima, slabije će prolaziti kroz kapilare. Isto tako, postoje tkiva koja su manje propusna za supstance poput krvno-moždane barijere ili pak placente. Ukoliko neka supstanca ne prelazi placentalnu barijera, može se reći da ta materija nije toksična za embrij.

4. 3. Metabolizam toksičnih materija

Odstranjanje toksičnih kao i drugih supstanci unesenih izvana u organizam odvija se preko dvaju procesa i to:

- metabolizmom i
- izlučivanjem.

Metabolizam je pretvaranje jednog hemijskog spoja u drugi (skup enzimskih reakcija sa stranim materijama), dok pod izlučivanjem podrazumijevamo izbacivanje iz organizma hemijskih nepromijenjenih toksičnih supstanci.

Prema tome, toksične materije u organizmu podliježu hemijskim promjenama-**biotransformaciji** pod utjecajem različitih enzimskih reakcija.

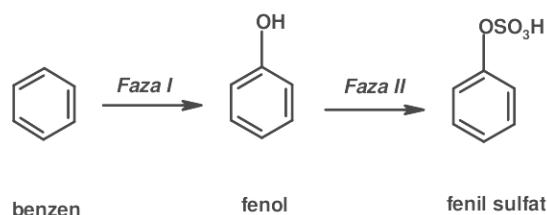
Biotransformacija (metabolička aktivacija) je rakačija koja se odvija pod utjecajem enzima u svrhu smanjenja toksičnosti, a rezultira pretvaranjem lipofilnih spojeva u polarnije metabolite, topljivije u vodi, koji se potom izlučuju urinom.

Biotransformacija se obično odvija u dvije faze. Te dvije reakcije se najčešće odvijaju jedna za drugom:

- ⊕ I faza—uvodenje funkcionalnih skupina ili njihovo oslobađanje, što omogućuje drugu fazu; ipak, i prvom fazom se već ponekad dobiju spojevi topljiviji u vodi (polarni), koji se mogu brzo izlučiti iz organizma,
- ⊕ II faza—kovalentno vezanje na endogene molekule, pri čemu nastaju konjugati sa sulfatom, glukuronatom, acetatom ili aminokiselinama; riječ je o većim molekulama ioniziranim kod fiziološkog pH (tj. hidrofilnim); ujedno, neki transportni sistemi (proteinske molekule nosača koji posreduju olakšanu difuziju ili aktivni transport) prepoznaju ove konjugate.

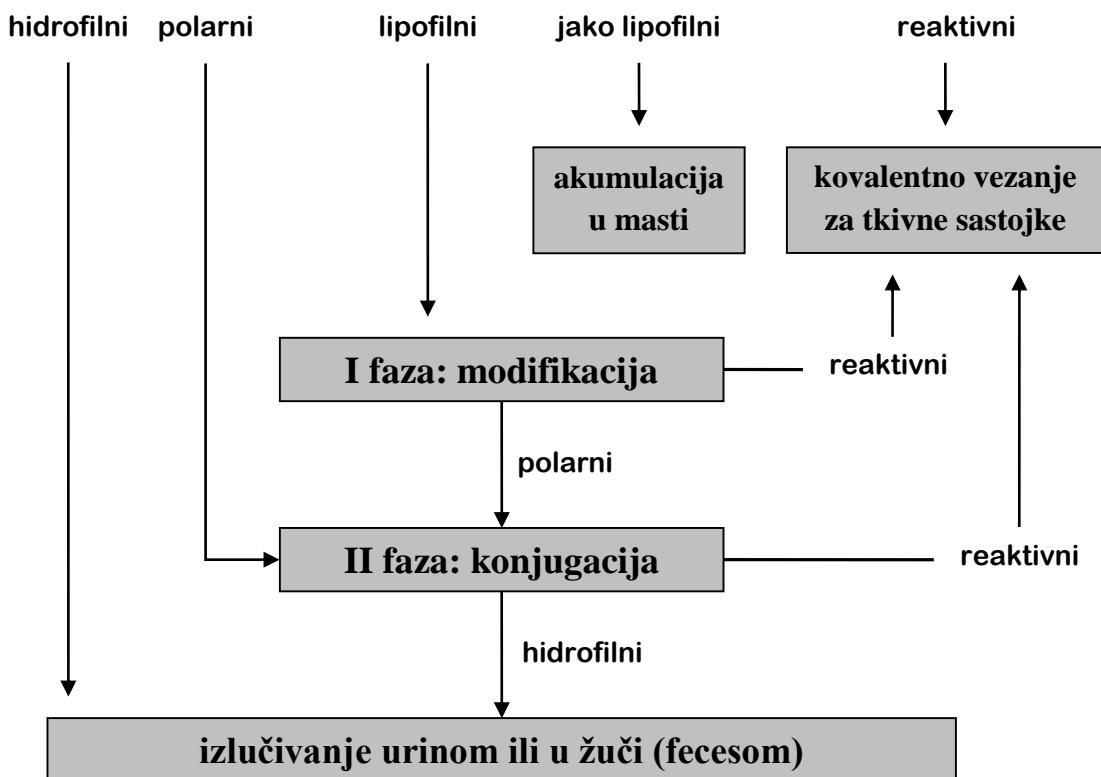
Biotransformacija se uglavnom odvija u jetri i to ponajviše pomoću sistema citohroma P-450 (CYP). Enzimi citohrom P-450 su hemoproteini, u koje spadaju različiti enzimi, koji se označavaju citohrom P, a poslije slijedi brojka i slovo. Razlikuju se prema slijedu aminokiselina, te specifičnim reakcijama.

Neke toksične materije mogu se metabolizirati i u plazmi, plućima ili crijevima.



Slika 11. Reakcija biotransformacije benzena, faza I i faza II

Po nekim autorima postoji i III faza biotransformacije, koja uključuje proteinske transportere organskih molekula iz jetre u žuč, poput P-glikoproteina i MRP.



Slika 12. Biotransformacija

Reakcije biotransformacije ne završavaju uvijek detoksikacijom, te produkt biotransformacije ponekad može biti toksičniji od izvorne tvari. To je tzv. **metabolička aktivacija ili bioaktivacija**.

Jetra je prvi i najvažniji organ koji provodi ove procese. Kao što je već rečeno gore, krv prvo prolazi kroz jetru nakon apsorpcije u probavnom traktu. **Jetra toksikante ekstrahira i hemijski mijenja prije njihove pohrane**, izlučivanja u žuč ili oslobođanja u opću cirkulaciju. Manji značaj u biotransformaciji također imaju: pluća, bubreg, crijeva, koža i spolne žlijezde. Brzina i ukupni kapacitet biotransformacije ostalih organa su znatno manji od jetrenog.

Crijevni mikroorganizmi također imaju nezanemariv kapacitet niza biotransformacijskih reakcija. Najvažnije su:

- ⊕ **reduktivne reakcije** zbog anaerobnih uvjeta, te
- ⊕ **reakcije hidrolize** (poput štetne hidrolize konjugata izlučenih u žuči, koja ima za posljedicu enterohepatiko kruženje, o kojem će biti više riječi u poglavju „Izlučivanje toksikanata“) i
- ⊕ **dehidroksilacije**.

Utvrđeno je da je toksičnost nekih ksenobiotika izravno ovisna o metaboličkim reakcijama koje provode crijevni mikroorganizmi. Moguće je da se uočena antikarcinogena svojstva

probiotskih mlijecnih bakterija, između ostalog, osnivaju na promjeni biotransformacijskih svojstava crijevnih mikroorganizama.

4. 3. 1. Enzimske reakcije I faze

U reakcijama I faze događaju se **promjene u strukturi toksične materije**. U te reakcije spadaju reakcije:

- ✚ oksidacije
- ✚ redukcije
- ✚ hidrolize

Dolazi do uvođenja relativno reaktivne grupe u molekulu (ponekad i otpuštanje skupina), koja kasnije služi kao mjesto gdje će sistem za konjugaciju vezati odgovarajuću molekulu, kao što je npr. glukuronska kiselina. Ponekad su produkti I faze:

- ✚ **topljiviji u vodi** i mogu se brzo izlučiti iz organizma,
- ✚ a ponekad su produkti **hemski reaktivniji** i zbog toga više toksični od polazne toksične supstance (metabolička aktivacija).

Metabolička sudbina ksenobiotika u organizmu ovisi u prvom redu o fizikalno-hemiskim svojstavima ksenobiotika.

4. 3. 1. 1. Reakcije oksidacije

Pomoću sistema citohroma P-450 odvijaju se procesi oksidacije (označavaju se CYP), koji se razlikuju prema specifičnosti prema supstratu, a time i specifičnim reakcijama. Za reakciju oksidacije pomoću sistema monooksigenaza P-450, potrebni su:

- toksična materija-supstrat,
- enzim P-450,
- molekularni kisik,
- NADPH (nikotinamid adenin dinukleotid fosfat) i
- flavoprotein (NADPH-P459 reduktaza).

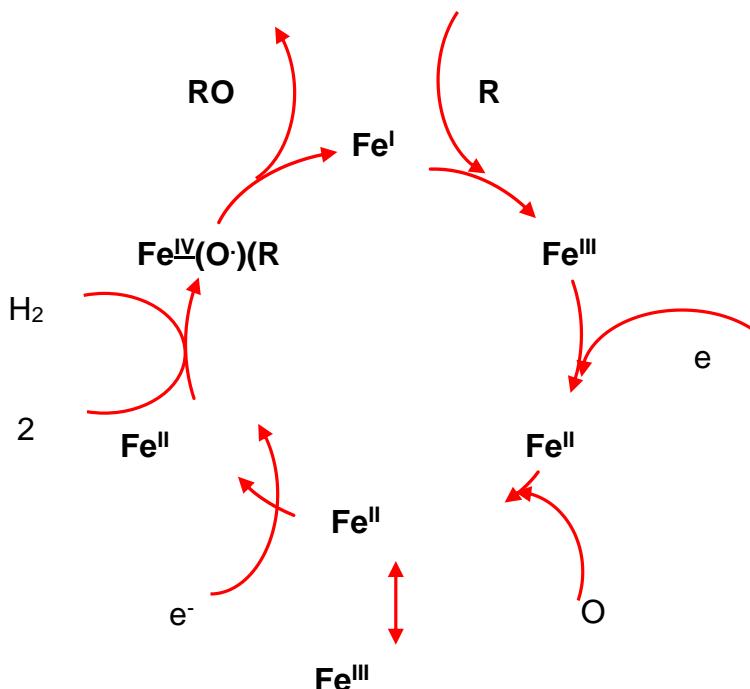
Sistem je poznat kao miješanje monooksigenaze ili oksidaze. Naime, na toksičnu materiju se dodaje jedan atom kisika (iz molekule kisika), tako da nastaje hidroksilna skupina. U reakciji sa NADPH reducira se enzimsko aktivno mjesto u reducirani oblik uz nastanak NADP^+ . Reducirani oblik citohroma reaguje sa kiseonikom, dajući kiseonikov aktivni kompleks, koji kasnije u reakciji oksidira molekulu.



gdje je R-supstrat.

Princip djelovanja:

- oksidirani citohrom P-450 (Fe^{3+}) se povezuje s toksikantom u kompleks;
- NADPH daje elektron flavoprotein reduktazi, koja zatim reducira nastali kompleks (Fe^{2+});
- drugi elektron iz NADPH preko iste flavoprotein reduktaze (ili preko citohroma b5 uz citohrom P-450 reduktazu ili citokrom b5 reduktazu) reducira molekularni kisik, pri čemu nastaje kompleks tzv. aktiviranog kisika, spoja i citohroma P-450;
- dolazi do prijenosa aktiviranog kisika na toksikant uz nastanak oksidiranog produkta, dok dva elektrona ostaju na drugom atomu kisika, koji uz dva protiona daje molekulu vode.



Slika 13. Aktivirani kiseonik

Snažna oksidacijska moć „aktiviranog kisika“ omogućava oksidaciju širokog opsega supstrata.

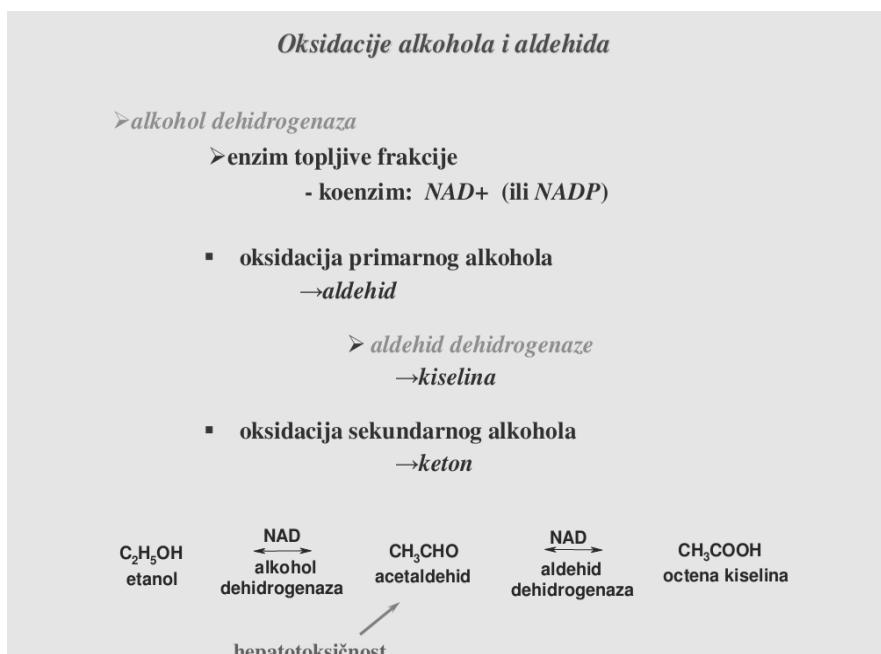
Jedino zajedničko strukturno svojstvo toksikanata koje metabolizira ovaj enzimski kompleks je velika lipofilnost. Specifičnost za supstrate je vrlo mala.

Postoji niz različitih reakcija oksidacije koje se odvijaju na prethodno spomenuti način.

4. 3. 1. 2. Nemihrosomske oksidacije

Kao što su mikrosomalni enzimi (endoplazmatični retikulum) uključeni u oksidaciju amina, postoje brojni drugi nemikrosomalni enzimi. Najvažniji je monoaminooksidaza i diaminooksidaza (smješteni su u mitohondrijskoj membrani). Pronalaze se u tkivu jetre, srcu, centralnom nervnom sistemu (CNS) i u krvožilnom tkivu. Pripadaju skupini flavoproteinskih enzima s kojima pokazuju preklapanje u specifičnosti prema supstratu. Monoaminooksidaze obično kataliziraju reakcije oksidacije na N ili S atomu, oksidativne deaminacije i neke druge reakcije. Sudjeluju u biotransformaciji brojnih amina, prevodeći ih u odgovarajuće aldehide, koji se dalje oksidiraju u kiseline slično kao i u biogenih amina.

Oksidacija alkohola i aldehida (slika 14) se odvija uz enzime poput aldehid/keton reduktaze, te alkohol i aldehid dehidrogenaze. Oksidacija alkoholdehidrogenazom je veoma značajan put oksidacije etanola u čovjeka i sisavaca. Enzimski sistem je nespecifičan i oksidira veliki broj alkohola i aldehida. Nalazi se u topljivoj frakciji različitih tkiva (jetra). Učestvuje u normalnim metaboličkim procesima (oksidacija vitamina A). Etanol se tim putem oksidira u acetaldehid.



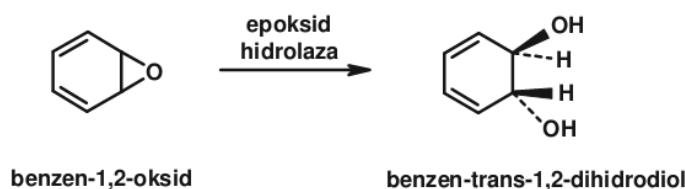
Slika 14. Oksidacija alkohola i aldehida

4.3.1.3. Reakcije redukcije

Kod reduktivne biotransformacije uz sistem citohroma P-450, elektrone prima supstrat, a ne kisik, te su ovakve reakcije moguće jedino u uvjetima niskog parcijalnog pritiska kisika. Pod pojmom redukcije najčešće se misli na azo-redukcije i nitro-redukcije. Između njih je mala razlika i u oba slučaja reakcija je anaerobna.

4.3.1.4. Reakcije hidrolize

Reakcije se odnose na hidrolizu estera, amida, hidrazida i karbamata. Katalizirane su esterazama i amidazama koje se mogu nalaziti u mukozi crijeva, plazmi i različitim tkivima. Amidi se uglavnom sporije i slabije hidroliziraju nego esteri, ali postoje i epoksid hidrolaze (mikrosomska frakcija ćelije) koje kataliziraju hidraciju aren oksida (benzen je najjednostavniji predstavnik arena) i alifatskih epoksida (epoksi su reaktivni elektrofilni spojevi koji s nukleofilima stvaraju kovalentene veze).



Slika 15. Hidroliza epoksida katalizirana epoksid hidrolazom

Hidracijom nastaju dioli, koji su manje elektrofilni i time manje reaktivni od epoksida.

4.3.2. Reakcije II faze

Reakcije II faze su poznate i kao **reakcije konjugacije**. Uključuju **kovalentno vezivanje malih polarnih endogenih molekula**, kao što su glukuronska i sulfatna kiselina, te

metilna i acetilna skupina, kao i konjugacija s glicinom i glutationom, što obično dovodi do stvaranja spojeva veće molekulske mase topljivih u vodi i inaktivaciji spoja.

4.3.2.1. Glukoronidacija

Nastajanje glukoronida važan je metabolički put, kojim se eliminiše veliki broj otrova. Metabolički put nastajanja glukoronida najvažniji je mehanizam eliminacije alkohola i karboksilnih kiselina. Aktivni oblik glukuronske kiseline reaguje sa supstratom, stvarajući konjugat. Karboksilne kiseline konjugiraju se u ester-glukoronide, alkoholi u eter-glukoronide, a amini u N-glukoronide. Paracetamol se pretežno metabolizira glukoronidacijom i sulfatacijom.

4.3.2.2. Sulfokonjugacija

Esteri sulfata nastaju konjugacijom aktivirane forme sulfata (donor sulfata: 3'-fosfoadenozin-5'-fosfatosulfat PAPS) sa supstratima kao što su alifatski alkoholi, fenoli, aromatski amini, te endogeni spojevi (steroidi, ugljikohidrati). Konjugacija je katalizirana enzimom sulfotransferazom. Enzim se nalazi u citostolu jetre, bubregu i GIT-u.

4.3.2.3. Konjugacija s glutationom (nastajanje merkaptturnih kiselina)

U reakcijama konjugacije s glutationom učestvuju mnogi supstrati, različiti kseno i endobiotici elektrofilnih svojstava, kao što su epoksidi (aromatski, alifatski, heterociklični i aciklični), halogenirani alifatski i aromatski spojevi, aromatski nitro, nezasićeni alifatski spojevi, te alkilhalogenidi. Glutation je tripeptid (glutaminska kiselina-cistein-glicin) s važnom ulogom u zaštitu ćelija od toksičnih spojeva. Cistein sadrži nukleofilnu SH skupinu, koja reaguje sa elektrofilom uz djelovanje enzima glutation-S-transferaze.

4.3.2.4. Reakcije acetiliranja (biološka acetilacija)

Ovo je vrlo važan put metabolizma aromatskih amina, sulfonamida, hidrazina i hidrazida. U reakcije je uključen acetil koenzimA (acetil CoA). Reakcije aciliranja katalizirane su acetiltransferazama. To su enzimi citosola jetre, mukoze GIT-a i bijelih krvnih zrnaca. Acetiliranjem mogu nastati produkti koji su manje topljni u vodi od prvobitnog spoja, što predstavlja problem kod predoziranja sulfonamidima. Naime, acetlirani metaboliti kristaliziraju u tubulama bubrega i uzrokuju tubularnu nekrozu.

4.3.2.5. Biološka metilacija

Reakcije metilacije kataliziraju metiltransferaze, koje se najvećim dijelom nalaze u citostolu, ali se mogu naći i u ER. Supstrati su spojevi s amino, hidroksilnim i tiolnim skupinama. Donor metila je S-adenozinmetionin.

Sažetak

Biotransformacija je reakcija koja se odvija pod utjecajem enzima u svrhu smanjenja toksičnosti, a rezultira pretvaranjem lipofilnih spojeva u polarnije metabolite topljive u vodi, koji se potom izlučuju urinom. Biotransformacija se odvija preko dvaju vrsta biohemijskih reakcija poznatih kao reakcije faze I i reakcije faze II. Te dvije reakcije se najčešće zbivaju jedna za drugom.

Reakcijama faze I dogadaju se promjene u strukturi toksične materije. Reakcije II faze, poznate i kao reakcije konjugacije, uključuju kovalentno vezivanje malih polarnih endogenih molekula, kao što su glukuronska i sulfatna kiselina, te metilna i acetilna skupina, kao i konjugacija s glicinom i glutationom, što obično dovodi do stvaranja spojeva veće molekularne mase topljivih u vodi i inaktivaciji spoja.

4. 3. 3. Faktori koji utječu na raspodjelu i metabolizam

Raspodjela i metabolizam toksične materije određeni su **toksičnim odgovorom** te materije. Na toksični odgovor utječe niz različitih faktora koji se mogu podijeliti na:

- hemijske i
- biološke.

4. 3. 3. 1. Hemijski faktori

U hemijske faktore spadaju:

- lipofilnost,
- veličina čestice,
- struktura,
- pK_a ,
- ionizacija i
- hiralnosti.

Lipofilnost je najvažniji faktor za apsorpciju, raspodjelu, metabolizam i izlučivanje toksične materije. Lipofilne toksične materije se mnogo brže apsorbiraju, raspodjeljuju i metaboliziraju, dok se sporije izlučuju. Kao takve pogodnije su za distribuciju u druga tkiva od hidrofilnih toksičnih materija.

4. 3. 3. 2. Biološki faktori

U biološke faktore spadaju:

vrsta	patološko stanje	prehrana
spol	hormonalni status	tkivo i specifični organ
genetski faktori	dob	doza
oboljenja	stres	enzimska indukcija i inhibicija

Različite vrste imaju različitu apsorpciju, raspodjelu, metabolizam i izlučivanje toksične materije. Stoga, **što je otrovno za jednu vrstu, ne mora biti i za neku drugu**. Dobiveni rezultati istraživanja na eksperimentalnim životinjama mogu predstavljati rizik ako se ekstrapoliraju na ljudе.

Građa prosječnih žena i muškaraca razlikuje se po količini tjelesne vode, po hormonalnom statusu itd, a koji uslovjavaju i različitu apsorpciju, npr. etanola.

Utjecaj genetskog faktora uočen je kod postojanja polimorfizma biotransformacijskih enzima. Tako postoji razlika u populacijama koje posjeduju veći nivo alkohol

dehidrogenaze u odnosu na neku drugu populaciju, te time i razliku koncentracije etanola u krvi uz istu količinu konzumiranog alkoholnog pića.

Oboljenja i patološko stanje značajno utječe na ADMR toksične materije. Najvažniji je utjecaj bolesti GIT-a, ali i druge bolesti mogu utjecati na ADME (kožne bolesti, bolesti dišnih organa itd). Hrana potječe izlučivanje probavnih sokova, od kojih je najvažniji hloridna kiselina u želucu. Kiselina će povećati otapanje baze, ali može utjecati na kiselolabilne materije u GIT-u.

Enzimska indukcija i inhibicija utječe na tok metabolizma toksične materije. Ako neka materija prelazi u više različitih spojeva, od kojih je neki spoj toksičniji od početnog spoja, enzimska indukcija i inhibicija utječu na omjere stvaranja tih spojeva.

4. 4. Izlučivanje

Izlučivanje toksičnih materija iz organizma obuhvaća sve procese koji vode (trajnom) nestanku, eliminaciji otrova iz organizma. Obuhvaća proces:

- biotransformacije (metabolizma) i
- izlučivanja,

osim kod pojave enterohepatičke cirkulacije, ugradnje otrova u kosti, dlaku, nokte i drugo.

Izlučivanje toksičnih materija iz organizma odvija se različitim putevima, a najviše putem:

- bubrega (urinom),
- pri čemu su u početnom obliku bile hidrofilne molekule ili se prethodno prevode u vodotopljive oblike
 - preko jetre,
 - putem žući (stolicom, tj. fecesom),
 - te gasovima i
 - isparljivim supstancama putem pluća.

Male količine se izlučuju ostalim putevima kao što su znoj, majčino mlijeko, suze, sjemena tekućina, ugrađivanje u dlake. Fizikalno-hemijska svojstva materije i metabolita su najvažnije odrednice načina i brzine izlučivanja.

5. Rizična hrana i procjena rizika

Većina hrane koju konzumiramo sadrži određene potencijalno štetne materije, bilo da se radi o supstancama koje su prirodni sastojci hrane ili se radi o materijama koje su namjerno dodane u hranu, odnosno o materijama koje su nalaze u hrani kao posljedica kontaminacije hrane nekim vanjskim faktorom ili na neki drugi način. Međutim, prisutnost štetnih materija u hrani ne znači nužno da je hrana koju konzumiramo štetna za naše zdravlje. Kada govorimo o sigurnosti hrane moramo razlikovati dva osnovna termina:

- ⊕ **zdravstveno ispravna (bezbjedna) i**
- ⊕ **zdravstveno neispravna hrana.**

Hrana se smatra zdravstveno ispravnom ukoliko ne može prouzrokovati štetne utjecaje na zdravlje ljudi ako je proizvedena, pripremljena i konzumirana u skladu sa njezinom namjenom, dok se hrana smatra zdravstveno neispravnom ukoliko je štetna za zdravlje ljudi i neprikladna za ljudsku konzumaciju (Zakon o hrani).

Kako je važnost hrane u našem svakodnevnom životu neupitna, tako su zdravstvena ispravnost i neškodljivost hrane posljednjih godina postale bezuvjetovan zahtjev, kako od

kupaca, tako i domaćeg i međunarodnog zakonodavstva. Programi sigurnosti hrane se sve više fokusiraju na kontrolu hrane, tzv. pristupom «od farme do stola» (eng. Farm to table approach). Ovakvim pristupom se nastoji kontrolirati svaki korak vezan uz proizvodnju, skladištenje/čuvanje, distribuciju i pripravu hrane. Bez obzira na postupke kontrole hrane od proizvodnje do prerade, distribucije, skladištenja hrane, prisutnost štetnih materija u hrani je neizbjegljiva. Upravo zbog činjenice da ne postoji hrana koja ne sadrži bar jednu štetnu materiju, nužno je za potencijalno štetnu materiju napraviti ispitivanje procjene rizika i određivanje maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) koja se smije naći u hrani, odnosno vrsti hrane.

U svrhu procjene koliko prisutnost neke štetne materije ima utjecaj na sigurnost konzumiranja hrane, odnosno na zdravlje ljudi koji konzumiraju hranu, definisan je pojam „rizik“.

Procjena rizika je naučno utemeljeni proces koji se sastoji od:

- + identifikacije opasnosti,
- + karakterizacije opasnosti,
- + procjene izloženosti i
- + karakterizacije rizika

...a koji ima za **cilj** određivanje mogućeg štetnog utjecaja prilikom izloženosti određene populacije štetnoj materiji.

Identifikacija opasnosti je prvi korak u procjeni rizika, a uključuje:

- detektiranje i
- identifikaciju potencijalno štetne materije.

Drugi korak je **karakterizacija opasnosti** koja uključuje:

- određivanje toksikoloških svojstava potencijalno štetne materije,
- kao i utvrđivanje odnosa između količine štetne materije koja je unesena u organizam i pojavljivanja štetnih utjecaja, odnosno određivanje odnosa doza/reakcija i doza/štetni utjecaj.

Različiti internacionalni naučni odbori kao što su npr. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) i Joint FAO/WHO Meeting on Pesticides Residues (JMPR), naučni odbori Evropske Unije itd, utvrđuju **prihvatljivi dnevni unos** (eng. **ADI-Acceptable Daily Intake**) ili „**podnošljivi dnevni unos** (eng. **TDI-Tolerable Daily Intake**) za materiju koja prelazi određeni prag toksičnosti.

ADI se najčešće koristi da bi se opisao „siguran“ nivo unosa potencijalno štetne tvari, dok se drugi termin TDI može izraziti na dnevnoj ili sedmičnoj bazi. ADI i TDI se obično određuju na osnovu **najnižeg nivoa štetne supstance pri kojem nije uočeno štetno djelovanje** (eng. **NOAEL-No-Observed-Adverse-Effect-Level**).

Treći korak u procjeni rizika je **procjena izloženosti** koja uključuje:

- kombinaciju podataka kontaminiranosti hrane sa određenom štetnom materijom i
- podataka o konzumaciji navedene vrste hrane, uzimajući u obzir prehrambene navike određene populacije u svrhu procjene dnevnog unosa štetne tvari od interesa.

Podaci o kontaminiranosti hrane određenom štetnom materijom temelje se na analitičkom određivanju štetne materije u pojedinim vrstama hrane, odnosno hrani od interesa, dok se

podaci o unosu štetne materije u organizam temelje na ispitivanjima prehrambenih navika određene populacije.

Postoje **tri različita pristupa procjene izloženosti određenoj štetnoj materiji putem hrane**, a to su:

- ispitivanje ukupne prehrane,
- ispitivanje dvostrukog obroka i
- selektivna analiza pojedinačnih namirnica.

Procjena unosa štetne materije hranom povezuje podatke o udjelu štetne materije u određenoj vrsti sa količinom hrane koju je konzumirala određena populacija koja se ispituje.

Unos (mg/kg)=udio štetne tvari (mg/kg) x količina konzumirane hrane (kg/dan)

Zadnji korak u procjeni rizika je **karakterizacija rizika** koja se sastoji od:

- **usporedbe procjene unosa sa ADI, odnosno TDI,**
- **te evaluiranja dobivenih podataka i procjene da li štetna materija može, i u kolikoj mjeri, imati štetne utjecaje na zdravlje.**

6. Kontaminanti (toksične materije) u hrani

Povećava se rizik kontaminacije hrane i vode stranim materijama zbog povećanog opsega proizvodnje hrane, što podrazumijeva upotrebu zaštitnih sredstava u zemljoradnji, te biostimulatora u stočarstvu. Na zagađenje hrane velik utjecaj ima i opće zagađenje okoliša, neodgovarajuće rukovanje sirovinama i namirnicama (rezultirajući toksikoinfekcijama i alimentarnim intoksikacijama biološkog porijekla zemljišta) kao i dodatak aditiva u industrijske proizvode. Općenito se toksikanti koji uzrokuju zagađenje hrane i vode mogu podijeliti u sljedeće skupine:

- ⊕ toksikanti iz industrijskog otpada i prirodnog okoliša
- ⊕ ostaci od tretiranja životinja i biljaka
- ⊕ prirodni toksikanti iz biljnih i životinjskih namirnica
- ⊕ toksini mikrobnog porijekla
- ⊕ aditivi u hrani i materije u dodiru s hranom i vodom
- ⊕ toksikanti koji nastaju obradom hrane i vode

Pojedini toksikanti su prisutni u više kategorija.

6. 1. Toxikanti iz industrijskog otpada i prirodnog okoliša

Glavni uzrok kontaminacije hrane je zagađenost zraka, vode i zemljišta. Kako okoliš postaje zagađeniji, tako se povećava rizik od kontaminacije hrane. Emisija gasova iz industrijskih postrojenja i ispušni gasovi iz motornih vozila glavni su zagađivači zraka, a toksične čestice iz zraka se apsorbiraju u voće, povrće, žitarice i slično. Industrijski i otpad iz domaćinstava često završava u vodi, toksične hemikalije se apsorbiraju u ekosistem i na taj način ulaze u hranidbeni lanac.

Zagadenost zemljišta i biljaka često je rezultat industrijskih aktivnosti koje proizvode otrovni otpad koji se ne zbrinjava na adekvatan način. Doprinos u zagadenosti zemljišta svakako ima i upotreba pesticida i umjetnih gnojiva, koji se mogu u tlu zadržati i po nekoliko godina.

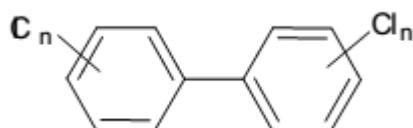
Putem vazduha, iz zemljišta, zagadenih vodotokova u hranu može dospijeti veliki broj zagađivača koje emituju industrijska postrojenja (hemijska, naftna, elektro, drvna) i izduvni gasovi motornih vozila. Neki od najčešćih ksenobiotika ove skupine prisutni u hrani su:

- ⊕ hlорirani ugljikovodici
- ⊕ policiklični aromatski ugljikovodici
- ⊕ teški metali
- ⊕ radiokativni elementi
- ⊕ ostali elementi

6. 1. 1. Hlorirani ugljikovodici

Polihlorirani bifenili (PCB)

Polihlorirani bifenili ($C_{12}H_{10}Cl_n$) su aromatski ugljikovodici kod kojih je jedan ili svih deset atoma vodika iz bifenilne molekule zamijenjeno sa atomom hlora. Na slici prikazana je hemijska struktura PCB-a.



Slika 16. Hemijska struktura PCB-a

Postoji 209 teoretski mogućih kongerena¹ PCB-a koji se prema biohemijskim i toksikološkim svojstvima mogu svrstati u različite skupine (Marinković i sar, 2010). Polihlorirani bifenili koji nisu supstituirani u orto-položaju i koji su monosupstituirani u orto-položaju pokazuju toksikološka svojstva slična dioksinima. Zbog toga se takvi PCB često zovu PCB slični dioksinima.

Od 1970. godine započela je zabrana proizvodnje polihloriranih bifenila, ali time nije riješen problem kontaminacije okoliša navedenim spojevima. Kako su polihlorirani bifenili imali široku primjenu, a kako se apsorbiraju u tlu i imaju vrlo spori proces biorazgradnje, još uvijek su uzrok onečišćenja okoliša, a time i hrane. Taj proces je poznat pod nazivom bioakumulacija² i biomagnifikacija³ (Marinković i sar, 2010).

Izvori PCB-a u hrani

PCB-i se nalaze najviše u tlu, jer se isto kao i dioksini dobro apsorbiraju na sitne mineralne i organske čestice, te se tako rasprostranjuju u okoliš. Domaće su životinje izložene PCB-

¹ kongener je jedna od dvije ili više supstanci koje su nastale (kongenerisane) ili su sintetizovane iz istih reakcija ili iz istog postupka, a često i kao jedna od dvije ili više supstanci koje imaju isto porijeklo, strukturu ili funkciju

² bioakumulacija je proces nakupljanja određenih supstanci, kao što su toksične hemikalije, u različitim tkivima živih organizama uslijed njihovog unosa preko ishrane ili iz okoline

³ biomagnifikacija se opisuje kao proces nakupljanja određenih supstanci u organizmima živih bića u daleko većim koncentracijama nego što su koncentracije istih supstanci u organizmima koji se nalaze ispod njih u lancu ishrane

ima uzimanjem stočne hrane s onečišćenoga zemljišta, te PCB-e akumuliraju u mesu, jetri i posebno u masnome tkivu. Mogu biti preneseni u mlijeko i jaja. U žena koje su bile izložene PCB-ima u vrijeme trudnoće, pronađeni su PCB-i u majčinom mlijeku.

Prosječni sadržaj PCB-ova u svježoj ribi je 12,5 ng/g riblje težine, a u ribljem ulju čak 70,2 ng/g masti. Stoga je riba veoma značajan izvor PCB-a. Više od 90% izloženosti „PCB-ima koji nisu slični dioksinima“ je putem hrane. Za tu je grupu hemikalija prosječni dopušten dnevni unos putem hrane od 10 do 45 ng/kg tjelesne težine.

Najviši nivo onečišćenja hrane PCB-ima je određen za ribu i riblje proizvode, a zatim su slijedila jaja, mlijeko i mliječni proizvodi, te meso i mesne prerađevine. Najmanja razina kontaminacije određena je u namirnicama biljnog porijekla. Jednom apsorbirani, skloni su akumuliranju u tkivima sa visokom koncentracijom masnoća, ali su detektirani i u drugim tkivima. (Šarkanj i sar, 2010)

Toksičnost PCB-a u hrani spoznata je već dosta rano prilikom industrijskih incidenata koji su se dogodili. Između 1947. i 1977. godine General Electric, kompanija iz SAD-a, je u rijeku Hudson ispustila 590.000 kg PCB-a, a 1976. zabranjen je ribolov na toj rijeci, jer se utvrdilo da ribe sadrže visoku razinu PCB-a i predstavljaju nedopušten rizik za zdravlje ljudi. PCB-i su se nataložili u riječnome sedimentu. Poznato je trovanje PCB-ima tzv. Yusho, koje se dogodilo u Japanu 1968., i Yu-Ch-eng u Tajvanu 1979. Rižino je ulje bilo onečišćeno Kanechlorom 400, japanski komercijalni proizvod PCB-a, te polihloriranim dibenzofuranima i polihloriranim kvartarnim fenilima.

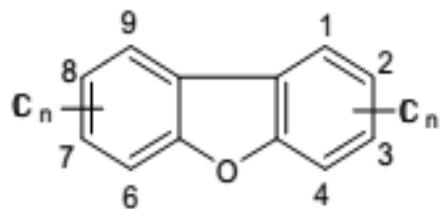
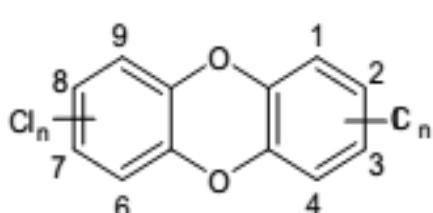
Strategija smanjenja rizika

Kod PCB-a treba smanjiti konzumaciju masti i ulja, te ribe, posebno ribe predatora (grabežljivaca). Istraživači su izračunali, na temelju nivoa onečišćenja s PCB-ovima, da nakon 70 godina redovitog uzimanja 200 g lososa sedmično, rizik da se razvije rak kod rizične skupine, npr. trudnica, djece i dojilja je hiljadu puta veći, što je jednako povećanju rizika od 0,0001%. Usporedbe radi, rizik od kardizobukalnih bolesti ako se riba izbaci iz prehrane, je 30%.

Dioksimi u hranidbenom lancu

Kada se govori o dioksinima, onda se misli na grupu stabilnih, polihloriranih kompleksnih organskih hemijskih spojeva:

- 1) polihloriranih dibenzo-p-dioksina (engl. polychlorinated dibenzodioxins-PCDD) i
- 2) polihloriranih dibenzo-furana (polychlorinated dibenzofurans-PCDF) (slika), koji su slične strukture i fizikalno-hemijskih svojstava (slika).



Slika 16. i 17. Hemijska struktura PCDD i PCDF

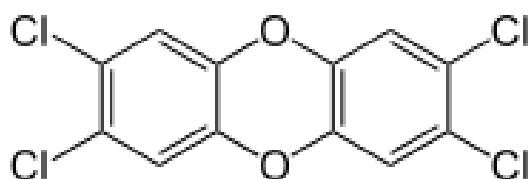
(Knežević i sar, 2011)

Dioksini su bezbojne, bezmirisne organske supstance koje sadrže ugljik, vodik, kisik i hlor. Ukupan mogući broj homologa, na osnovu broja atoma hlora koje sadrže, za obje grupe jedinjenja je 8, od monohloro- do oktahloro-derivata. Međutim ukupan broj izomera-kongenera je za PCDDs 75, a za PCDFs 135. Osim po sadržaju hlora pojedini homologi i kongeneri PCDDs i PCDFs se po fizičkim i hemijskim osobinama mnogo ne razlikuju i karakteristična svojstva su (Fedler, 2003):

- nizak napon pare
- ekstremno mala rastvrljivost u vodi
- dobra rastvrljivost u organskim rastvaračima, posebno u lipidnim matriksima
- težnja da se vezuju za organsku supstancu u zemljištu i sedimentima

Izrazito su toksični samo oni koji kod kojih su aromatski prsteni supstituirani na pozicijama 2, 3, 7 i 8. Najproučavaniji i najtoksičniji kongener dioksina je 2, 3, 7, 8-tetrahlorodibenzo-p-dioksin (engl. 2, 3, 7, 8-tetrachlordibenzo-p-dioxin-TCDD).

(Marinković i sar. 2010)



Slika 18. 2, 3, 7, 8-TCDD

Dioksini su široko rasprostranjeni kontaminanti koji nemaju određenu upotrebu i ne proizvode se. Najvećim dijelom nastaju kao neželjeni nus-prodукti različitih industrijskih procesa (sagorijevanja prilikom spaljivanja otpada, te u proizvodnji određenih hemikalija, npr. organohlornih pesticida i herbicida). Šumski požari i erupcije vulkana također su izvori dioksina. Smatra se da je najveći uzročnik kontaminacije okoliša spaljivanje otpada i zbog toga se primarno dioksini nalaze u zraku. Zbog stroge regulative koja se primjenjuje na industrije iz kojih mogu izaći dioksini, te na spalionice komunalnog i opasnog otpada, u SAD je npr. od 1980. do 2003. smanjena emisija dioksina za 90%. (Vasić-Rački, 2011)

Dioksini se obično nalaze kao kompleksne smjese kongenera PCDD-a, PCDF-a i PCB-a. Stoga je u svrhu procjene rizika razvijen **koncept faktora ekvivalentne toksičnosti** (prema engl. Toxicity Equivalency Factor, TEF), kako bi se mogla procjeniti kumulativna toksičnost smjese dioksina i PCB-a sličnih dioksimima. Kao **referentni kongener** uzet je najtoksičniji kongener **2, 3, 7, 8-TCDD**, a njegova TEF vrijednost je 1. Relativna toksičnost svih ostalih dioksina (PCDD, PCDF i PCB) prikazuje se u odnosu na referentni kongener. Toksični efekat smjese dioksina je zbroj TEF vrijednosti pojedinačnih spojeva pomnožen s njihovom koncentracijom. Jednačina se naziva toksični ekvivalent, prema eng. Toxic equivalency, TEQ. (Šarkanj i sar, 2010)

$$TEQ = \sum_{i=1}^n |c_i| \cdot TEF_i$$

gdje je:

- teQ-toksični ekvivalent
- c_i -koncentracija pojedinog kongenera
- TEF-faktor ekvivalentne toksičnosti

Zadnja dva desetljeća WHO kroz međunarodni program hemijske sigurnosti (prema eng. International Program on Chemical Safety, IPAC) postavlja i reevaluira TEF vrijednosti za dioksine i dioksinima slične spojeve. Zadnja revaluacija provedena je 2005. godine kada su promjenjene TEF vrijednosti za oktahlorirani dioksin i furan, te za polihlorirane bifenile. U tablici prikazani su faktori ekvivalentne toksičnosti utvrđeni pri zadnjoj revaluaciji WHO-a 2005. godine. Kako je došlo do promjene TEF vrijednosti za neke spojeve, radi boljeg razumjevanja prikazane su i TEF vrijednosti utvrđene 1998. godine (Anon, 2010).

Tabela 1. Vrijednosti faktora ekvivalentne toksičnosti utvrđene 1998. godine (TEF), te pri zadnjoj revaluaciji 2005. godine (TEF) (EFSA, 2010)

Hemijski spoj	TEFWHO 98	TEFWH 005	Hemijski spoј	TEFWHO98	TEFWHO05
Hlorirani dibenzo-p-dioksini			Nesupstituirani PCB na orto položaju		
2,3,7,8-TCDD	1	1	PCB-77	0,0001	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1	PCB-81	0,0001	0,0003
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	0,1	PCB-126	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	0,1	PCB-169	0,01	0,03
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	0,1			
1,2,3,4,6,7,8,-HpCDD	0,1	0,1			
OCDD	0,0001	0,0003			
Hlorirani dibenzofurani			Mono-ortho supstituirani PCB		
2,37,8-TCDF	0,1	0,1	PCB-105	0,0001	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	0,03	PCB-114	0,0005	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	0,3	PCB-118	0,0001	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	0,1	PCB-123	0,0001	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1	PCB-156	0,0005	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	0,1	PCB-157	0,0005	0,00003
2,3,4,6,7,8,-HxCDF	0,1	0,1	PCB-167	0,00001	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,1	0,01	PCB-189	0,0001	0,00003
1,2,3,4,6,7,8,9-HpCDF	0,01	0,01			
OCDF	0,0001	0,0003			

Zdravstveni rizici

Smatra se da se **oko 95%** izloženosti ljudi dioksinama događa **preko hrane životinjskog porijekla**, pri čemu su meso, mlijecni proizvodi, jaja i riba glavni izvori dioksina (Knežević i sar. 2011). Kada dioksini dospiju u ljudski organizam, jedan dio se

metabolizira i izluči iz organizma, a drugi dio se **akumulira u masnom tkivu**. Da bi se dioksini izlučili iz organizma, moraju se prevesti u **polarne derivate**.

Proces izlučivanja iz organizma ovisi o:

- dozi unesenog u organizam,
- starosnoj dobi i
- količini masnog tkiva. (Marinković i sar. 2010)

Ispitivanja izlučivanja TCDD iz organizma pokazala su određene razlike unutar ljudske populacije. Prema tim ispitivanjima, TCDD se brže izlučuje iz organizma muškaraca i mlađe populacije, dok je sporije izlučivanje uočeno kod žena i starije populacije. (Aylward i sar. 2005)

Dioksini spadaju među najtoksičnije organske spojeve. Ispitivanja na životinjama pokazala su da hronična izloženost dioksinima može izazvati nekoliko vrsta karcinoma. Kratkoročna izloženost velikim koncentracijama dioksina može izazvati lezije na koži, kao što su hlorakne i tamne mrlje na koži, te izazvati promjene u funkciji jetre. Dugoročna izloženost vezana je za slabljenje imunog sistema, oštećenja nervnog i endokrinog sistema, te reproduktivne funkcije. Svjetska zdravstvena organizacija (prema engl. World Health Organization, WHO), odnosno Međunarodna agencija za istraživanje raka (prema engl. International Agency for Research on Cancer, IARC) 1977. godine je, na temelju tih studija i dostupnih epidemioloških podataka, 2, 3, 7, 8-TCDD svrstala (slika) u spojeve koji su **karcinogeni za ljude (skupina 1)**. Međutim, treba napomenuti da 2, 3, 7, 8-TCDD ne utječe direktno na genetski materijal, te da postoji nivo izloženosti ispod koje je rizik od karcinoma zanemariv. (Anon, 2010)

Izvori u hrani

Dioksini mogu dospjeti u hranu na različite načine. Iako se primarno nalaze u zraku, dioksini se iz zraka deponuju u zemljište, vodu, biljke i životinje. U zemljište mogu dospjeti i kroz onečišćeni mulj ili kompost, izlijevanjem ili erozijom iz onečišćenih područja. Kako nisu topljivi u vodi, apsorbiraju se na mineralne i organske čestice koje se suspendiraju u vodu.

Glavni izvori izloženosti humane populacije dioksinima (**90%**) su namirnice životinjskog porijekla, kao što su mliječni proizvodi, govedina, svinjetina, piletina i riba. Povrće i voće može biti izvor dioksina ukoliko su korišteni pesticidi sadržavali ove supstance kao onečišćenja, ali u znatno manjoj mjeri nego životinjske namirnice. Masnije ribe sadrže veće količine ovih supstanci. Poseban rizik predstavlja prisustvo PCDD i PCDF u humanom mlijeku (10-100 puta veće količine nego u kravljem mlijeku).

Strogi sistem kontrole hrane nisu dovoljno jamstvo sigurnosti hrane. Pokazala je to i najnovija afera vezana uz prisutnost dioksina u hrani i hrani za životinje okrivena u Njemačkoj. Hrana za životinje kontaminirana je dioksinima dodavanjem masnih kiselina namijenjenih tehničkoj upotrebi. Utvrđeno je da su masne kiseline onečišćene dioksinima, te da je njihovo ulje porijeklom iz proizvodnje biodizela. Prepostavlja se da je ovom aferom obuhvaćeno oko 4.800 farmi u Njemačkoj. Za sada nema informacija da se kontaminirane masne kiseline isporučene izvan Njemačke. (Anon, 2011)

Incidenti vezani uz otkrivanje dioksina u hrani često su posljedica kontaminacije hrane za životinje. U Irskoj je krajem 2008. godine otkrivena 200 puta veća količina dioksina od

dozvoljene. Zbog toga je povučena velika količina svinjetine i proizvoda od svinjetine, što je do sada najveće povlačenje hrane sa tržišta uzrokovano hemijskom kontaminacijom. I u ovom slučaju primarni izvor kontaminacije dioksinima bila je hrana za životinje. U julu 2007. godine otkriveno su velike koncentracije dioksina u prehrambenom aditivu „guar guma“, koji se u malim količinama koristi kao zgušnjivač u mesnim proizvodima, mlijecnim proizvodima, desertima i delikatesnim proizvodima. Izvor kontaminacije je spomenuti zgušnjivač porijeklom iz Indije, koji je sadržavao i velike količine **zabranjenog pesticida pentahlorfenola**. Pentahlorfenol bio je kontaminiran dioksinima vjerovatno nastalim tokom njegove proizvodnje. U Nizozemskoj su 2004. godine i 2006. godine zabilježena dva incidenta vezana uz povećane količine dioksina. U jednom slučaju se radilo o povećanoj koncentraciji dioksina u mlijeku, a uzrok kontaminacije je hrana za životinje, odnosno glina koja se koristila pri proizvodnji hrane za životinje. I drugi incident sa dioksinima odnosio se na kontaminaciju hrane za životinje, a izvor dioksina bile su masti koje su se dodavale u hranu za životinje (Knežević i sar, 2011). U Belgiji su 1999. godine otkriveno velike koncentracije dioksina u piletini i jajima, a u Njemačkoj je 1998. godine otkriven dioksin u mlijeku. U oba slučaja izvor kontaminacije je bila hrana za životinje (Anon, 2010).

Strategija smanjenja rizika

Na osnovu toksikoloških značaja dioksina, granica dopuštenoga dnevног unosa je u području **1-10 pg TCDD/kg tjelesne težine**. Kako se dioksimi **akumuliraju u masnome tkivu**, treba izbjegavati masno meso, masno mlijeko i mlijecne proizvode, a pri konzumaciji riba i peradi treba uklanjati **kožu**. Nažalost, **pranjem**, posebno voća i povrća, dioksimi **se ne mogu ukloniti**. Kontaminacija hrane dioksinima može se smanjiti i sprječavanjem ispaše stoke u zagađenim područjima i kontrolom sirovina u proizvodnji krmiva (naročito u akvakulturi, zbog korištenja ribljeg brašna i ulja i tendencije nakupljanja ovih spojeva u ribi). Kod životinjskih masti, naročito ribljeg ulja, koji često sadrži visoke količine dioksina, efikasnim se pokazalo uklanjanje masti iz ribljeg brašna. Moguće je i odabrati sirovinu s manje dioksina da koncentracija u konačnom proizvodu ne pređe zadana zakonska ograničenja ili zamijeniti dio ribljeg ulja s biljnim uljem (što za posljedicu može imati manji sadržaj omega-3 masnih kiselina u ribi). Postoje uspješne metode dekontaminacije ribljeg ulja primjenom destilacije kratkog puta (short-path distillation, SPD) ili tretmanom superkritičnim fluidima, aktivnim ugljenom ili kombinacijama ovih i onih tehnika.

Nužno je podrobno podešavanje procesnih parametara da se spriječi gubitak prehrambeno važnih masnih kiselina i vitamina. Priprema hrane, poput pranja, guljenja voća i povrća ili uklanjanje životinjske masti, može pridonijeti manjem izlaganju, kao i prilagodba prehrane osjetljivih populacija (edukacijom i/ili poticajima proširenju izbora hrane). Istovremeni unos prehrambenih vlakana, naročito **bogatih ligninom** poput sjemenki lana ili rižinih mehkinja, može znatno smanjiti apsorpciju dioksina iz hrane. Izračunato je također da potpuno izuzeće ribe iz prehrane nije dobro, jer je ona, pored eventualne kontaminacije metilživotom ili halogeniranim ugljikovodicima, važan izvor korisnih nutrijenata poput **joda, omega-3 masnih kiselina i vitamina A**. Npr, 70-godišnja izloženost PCB-ovima (u prosječnim koncentracijama) unosom 200 g lososa sedmično, povećala bi rizik raka

visokorizičnih skupina za 0,0001%, dok bi rizik smrti od kardiovaskularnih bolesti porastao za 30% ukoliko bi se riba potpuno izbacila sa menija.

6. 1. 2. Policiklični aromatski ugljikovodici (PAH-ovi)

Policiklični aromatski ugljikovodici predstavljaju veliku skupinu organskih spojeva, koji sadrže **dva ili više spojenih aromatskih prstenova**, koji se sastoje **samo od atoma ugljika i vodika**. Ovim komponentama danas se pripisuje velika važnost zbog potvrđene kancerogene aktivnosti nekih njihovih članova. Formiraju se tokom nepotpunog sagorijevanja ili pirolize organske materije za vrijeme industrijskih procesa i drugih aktivnosti.

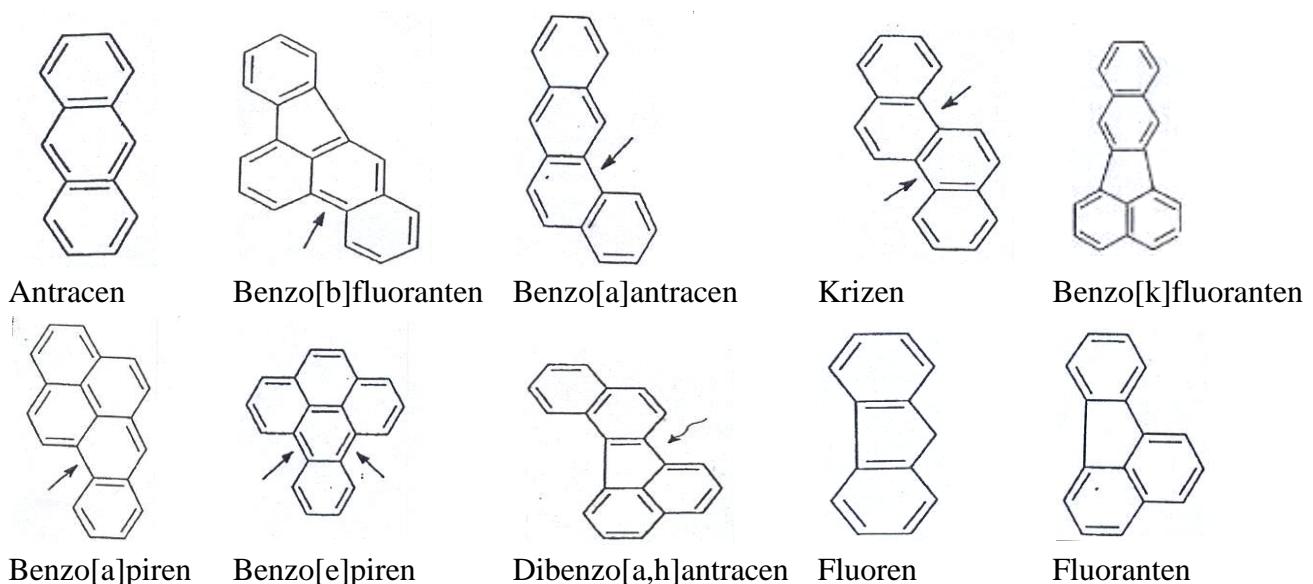
Kao čiste hemikalije PAH-ovi se uopćeno javljaju **obojeni, bijeli ili bijedlo žuto-zeleni kristali**. Mogu imati **slab, prijatan miris**. Sa **porastom molekulske težine PAH-ova, rastvorljivost u vodi opada, rastvorljivost u mastima raste i tačke topljenja i ključanja rastu**. U tabeli data je lista najzastupljenijih PAH-ova, za koje se smatra da su štetniji po zdravlje u odnosu na ostale PAH-ove.

Tabela 2. Lista najzastupljenijih PAH-ova

PAH	Molekulska formula	Molekulska težina
Naftalen	C ₁₀ H ₈	128
Fenantren	C ₁₄ H ₁₀	178
Antracen	C ₁₄ H ₁₀	178
Fluoranten	C ₁₆ H ₁₀	202
Piren	C ₁₆ H ₁₀	202
Krizen	C ₁₈ H ₁₂	228
Benzo[a]antracen	C ₁₈ H ₁₂	228
Benzo[b]fluoranten	C ₂₀ H ₁₂	252
Benzo[k]fluoranten	C ₂₀ H ₁₂	252
Benzo[e]piren	C ₂₀ H ₁₂	252
Benzo[a]piren	C ₂₀ H ₁₂	252
Perilen	C ₂₀ H ₁₂	252
Benzo[g,h,i]perilen	C ₂₂ H ₁₂	276
Dibenzo[a,h]antracen	C ₂₂ H ₁₄	278
Indeno[d]piren	C ₂₂ H ₁₂	276
Koronen	C ₂₄ H ₁₂	300

(Roddman et Perfetti, 2006)

Molekuli PAH-ova sastoje se od dva ili više kondenzovanih benzenovih prstenova. Imaju planarne strukture i javljaju se u raznim oblicima i veličinama. Struktura nekih PAH-ova prikazana je na slici.



Slika 19. Tipična struktura nekih PAH-ova

PAH-ovi su značajni zagađivači životne sredine. Osim **duhanskog dima**, značajan izvor PAH-ova nastaje **nepotpunim sagorijevanjem uglja, nafte, gasa, đubriva**. Prirodni izvori PAH-ova su vulkani i šumski požari. Veliku količinu PAH-ova također sadrže i izduvni gasovi automobila. Prisutni u malim koncentracijama svuda oko nas, PAH-ovi povremeno dostižu i veoma velike koncentracije kao rezultat **sve bržeg razvoja industrije**. PAH-ovi se nalaze u atmosferi u gasnoj fazi ili mogu biti adsorbirani u česticama. Fazna raspodjela PAH-ova zavisi od:

- napona pare pojedinačnog PAH-a,
- koncentracije PAH-ova,
- afiniteta PAH-ova prema česticama raspršenim u atmosferi,
- prirode i koncentracije čestica i
- od atmosferske temperature.

Dosadašnjim istraživanjima je utvrđeno da su PAH-ovi sa **dva ili tri prstena** (naftalen, acenaften, acenafilen, antracen, fluoren, fenantren) prisutni **u vazduhu u parnoj fazi**. PAH-ovi koji u svom sastavu imaju **četiri prstena** (fluoranten, piren, krizen, benzo[a]antracen), prisutni su **i u parnoj i u čestičnoj fazi**. PAH-ovi sa **pet ili više prstenova** (benzo[a]piren, dibenzo[g,h,i]piralen) su **pretežno** prisutni **u čestičnoj fazi**.

U zemlji PAH-ovi su uglavnom adsorbovani od strane nepropustljivih čestica i svojim kretanjem kontaminiraju i podzemne vode. Prosječna koncentracija kancerogenih PAH-ova u šumskom zemljištu kreće se od 5 µg do 100 µg/kg, dok ih poljoprivredna zemljišta sadrže u količini od 10 µg do 100 µg/kg. Najveća koncentracija kancerogenih PAH-ova registrovana je u ruralnim zemljištima u iznosu od 600 do 3.000 µg/kg. U vodu PAH-ovi dospijevaju navodnjavanjem i prihranjivanjem biljnih kultura i kroz industrijske otpadne vode. Većina PAH-ova **nije lahko rastvorljiva u vodi**. Oni se adsorbuju na čvrstim površinama i talože na dnu jezera ili rijeka.

Zdravstveni rizici

Kancerogena aktivnost pojedinih PAH-ova veoma je zavisna od njihove strukture. PAH-ovi koji su građeni od 5 i 6 prstenova su **više kancerogeni** u odnosu na PAH-ove koji sadrže 2 ili 3 prstena. Međutim, za neke predstavnike PAH-ova, koji su obično prisutni u duhanskom dimu, kao što su fenantren, fluoranten, piren i benzo(e)piren, pronađeno je da imaju **antitumorogenu aktivnost** za neka oboljenja kože. Od PAH-ova kancerogenost je potvrđena za benzo(a)piren, benzo(a)antracen i benzo(a,h)antracen, dok je kancerogenost moguća za benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(j)fluoranten, dibenzo(a,e)piren, dibenzo(a,h)piren, dibenzo(a,i)piren, dibenzo(a,l)piren, indeno(1,2,3-c,d)piren i 5-metilkrizen. Američka agencija EPA ne svrstava antracen, fluoranten, fluoren i piren u kancerogene zbog nedostatka dokaza. **Benzoapiren** je jedan od najpoznatijih kancerogena među PAH-ovima i svrstan je u **grupu 2A kancerogena** (IARC).

Ciljna tkiva za kancerogeno djelovanje benzoapirena su **aktivna i brzoproliferišuća tkiva** (epitel, GIT, kosna srž, limfoidni organi).

Apsorbiraju se difuzijom na koju utječe **lipofilnost** konkretnog spoja i prisustvo masnih materija u hrani koje poboljšavaju stopu apsorpcije. Nakon apsorpcije je utvrđena raspodjela PAH u cijelom organizmu. Najvećim dijelom PAH-ovi se metabolišu u **jetri**, ali dijelom i u plućima, GIT-u, placenti, koži i bubrežima.

Metabolizmom mogu nastati **primarni metaboliti (epoksidi)** koji, ukoliko se razgrade epoksid hidrolazama, daju diole, koji zatim mogu ponovno biti supstrati citohroma P-450 uz nastanak epoksidne veze, te je konačni spoj diolepoksid koji je izuzetno reaktivni elektrofil. PAH poput benzo[a]pirena, krizena ili fenantrena, koji imaju tzv. zaljevsko područje (bay region) molekule su naročito skloni formiranju diolepoksida. Potom slijedi konjugacija.

Prema tome, metabolizam PAH-ova u organizmu se odvija u nekoliko stepenova:

- oksidacija djelovanjem citohroma P-450 ide do fenola, epoksida ili diola,
- detoksikacija metabolita preko glukuronida, sulfata ili glutation konjugata,
- formiranje diolepoksida koji su odgovorni za kancerogeno djelovanje PAH-ova.

Metaboliti diolepoksi su **elektrofilna** jedinjenja koja se lahko kovalentno vezuju sa dijelovima DNA, pri čemu mijenjaju redoslijed njihovih baza, a time i prirodnu sekvencu aminokiselina pri biosintezi proteina.

Izlučivanje ide najvećim dijelom preko fecesa, a manjim dijelom preko urina-samo za hidrosolubilne konjugate.

Izvori u hrani

Prosječan dnevni unos ukupnih PAH-ova je procjenjen na 1,1-22,5 µg, a samog benzoapirena na 0,0014-1,6 µg. **Hrana** je najznačajniji izvor PAH-ova za čovjeka. Vodom se vjerovatno unosi svega 0,1% ukupnog dnevnog unosa.

PAH-ovi mogu doći u hranu na dva načina:

- iz okoliša i
- obradom hrane

Hrana može biti kontaminirana PAH-ovima iz okoliša, odnosno PAH-ovima koji su prisutni u zraku (depozicija/taloženje), u tlu (migracija iz zemljišta) i iz vode (depozicijom i migracijom). U područjima koja su udaljena od urbanih i industrijskih središta (ruralna

područja) razina PAH-ova u neobrađenoj hrani posljedica je zagađenja okoliša i to obično nakon velikih šumskih požara ili erupcija vulkana. U blizini velikih industrijskih područja, te u blizini autocesta razina PAH-ova u hrani može biti i do deset puta veća, nego u ruralnim područjima. Zagađivanje vode i zemljišta PAH-ovima se smatra sekundarnim zagađenjem, jer se PAH-ovi prisutni u zraku deponiraju u zemljište, odnosno vodu.

PAH-ovi su **lipofilni spojevi** koji se slabo otapaju u vodi. Topljivost u vodi se smanjuje sa **povećanjem molekulske mase**. Zbog toga se PAH-ovi neće akumulirati u biljkama koje imaju visok sadržaj vode, pa će zbog toga migracija PAH-ova iz zemljišta u korijen biti ograničena, a zbog vrlo niske isparljivosti, većina PAH-ova ima vrlo visoku tendenciju adsorpcije u organske materije, pa je koncentracija PAH-ova veća na površini biljke, nego u unutrašnjem tkivu biljke.

6. 1. 3. Teški metali

Prema definiciji teški metali su svi oni metali koji imaju **gustinu $5,0 \text{ g/cm}^3$ ili veću** i obično su **otrovni**. Termin teški metali se često primjenjuje da uključi i druge potencijalno opasne elemente, iako se oni ne nalaze u striktnoj hemijskoj definiciji.

Teški metali se svrstavaju u dvije kategorije prema svojoj nutritivnoj ulozi:

- esencijalni (bakar, cink, željezo, mangan) i
- neesencijalni (ollovo, živa, kadmijum, Ba, Sr i hrom)

Prisustvo neesencijalnih metala je nepoželjno, a odsutnost esencijalnih metala u ljudskoj ishrani tokom dužeg perioda može proizvesti neke strane metaboličke procese i biti uzročnik mnogih bolesti. Kada je unos metala mali, njihovo odstranjivanje iz organizma je moguće fiziološkim putem bez utjecaja na biohemski procese. Neki od njih, kao što su željezo (Fe), mangan (Mn), bakar (Cu), cink (Zn) i drugo, pripadaju skupini biogenih elemenata, ali su u visokim koncentracijama toksični za biljni svijet. Pri većim koncentracijama ispoljavaju toksične efekte i ukoliko se uključe u lanac ishrane, predstavljaju veliku opasnost i za zdravlje životinja i čovjeka. Neki teški metali u odgovarajućem rasponu sadržaja u zemljištu imaju stimulativno dejstvo, neki su bez fiziološkog značaja za žive organizme, a neki su toksični u slučaju njihovog suviška u životnoj sredini i zbog toga imaju veliki ekološki značaj kao što su olov (Pb), kadmijum (Cd) i živa (Hg).

Teški metali imaju normalan biogeohemijski ciklus, jer se uključuju u proces kruženja materije u ekosistemu, odnosno uključuju se u metabolizam ekosistema. Oni migriraju od nežive prirode ka živoj, odnosno od biotopa ka biocenozi i obratno. Intenzitet tog kruženja je neravnomjeren u toku godine i zavisi od sezonskih promjena, klimatskih uvjeta i aktivnosti bioloških sistema.

Teški metali predstavljaju prirodne sastojke zemljišta, a potječu iz prirodnih i antropogenih izvora. Prirodni izvor metala je matični supstrat iz kojeg se metali oslobođaju raspadanjem stijena. Antropogeni izvori su: sagorijevanje fosilnih goriva, industrijska postrojenja, ekstrakcija rude, motorna vozila, deponije industrijskog i komunalnog otpada, đubriva i atmosferski talozi.

Kritične koncentracije metala u poljoprivrednom zemljištu su često posljedica primjene agrotehničkih mjera, kao što su navodnjavanje industrijskim i komunalnim vodama,

upotreba različitih vrsta pesticida, mineralnih gnojiva, mulja, otpadnih voda koje se primjenjuju kao organsko đubrivo.

Olovo

Ovaj metal u okoliš dospijeva uslijed njegove upotrebe u baterijama, pigmentima, kao antidentalatora u gorivima, a prije su se koristili i pesticidi s Pb. U kontaminiranim područjima se iz zemljišta apsorbira u biljke i nakuplja u životinjama. Utvrđene štetne posljedice izlaganju olovu uključuju neurotoksičnost, anemiju, hipertenziju i kardiovaskularne bolesti, nefrotoksičnost (tzv. hronična bolest bubrega), imunosupresiju, reproduktivnu i razvojnu (neuro)toksičnost (izloženost olovu fetusa i male djece se povezuje s promjenama ponašanja i nižim kvocijentom inteligencije), te potencijalne karcinogene efekte visokih doza.

Osjetljive populacijske skupine uključuju fetuse i malu djecu zbog razvoja mozga, pojačane apsorpcije (zbog povećanih potreba za Ca i drugim elementima tokom rasta), „ruka-usta“ ponašanja, potencijalnog nakupljanja u mlijeku i drugo. Također, rizične podskupine su trudnice, dojilje i starije osobe, te osobe s deficitarnim unosom pojedinih elemenata, naročito Ca, Fe i Zn. Gladovanje također može pojačati apsorpciju Pb iz hrane. Poslije unosa, Pb se nakon određenog vremena raspodjeljuje u kostima, gdje mijenja Ca u kristalnoj rešeci (više od 90% ukupnog Pb u organizmu se nalazi u kostima). Ovako „uskladišteno“ **Pb nije škodljivo**, ali se može oslobođiti iz kosti tokom lomova, demineralizacije kod starijih osoba ili povećanih potreba za kalcijem za vrijeme trudnoće ili dojenja. Pojedine nasljedne bolesti ili osobine (tzv. genetski polimorfizmi), vezane uz sintezu hema ili osjetljivost eritrocita koje i Pb oštećuje, dokazano čine oboljele ili nositelje osjetljivijim na ovaj metal (npr. talasemija, porfirije, nedostatak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze i drugo).

Izvori u hrani

Hrana je najzagadenija u industrijskim područjima i blizu autoputeva, gdje olova u biljkama ima bar 10 puta više nego u ruralnom području. Nakupljanje olova u biljkama, u blizini autoputeva zavisi od udaljenosti biljaka od saobraćajnice, pokrovnosti zemljišta biljkama, dužine trajanja vegetacije, pravca i intenziteta vjetra. Intenzitet kontaminacije biljaka olovom smanjuje se njihovom udaljenošću od velikih saobraćajnica. Biljke **olovo u neorganskom obliku slabo usvajaju** i premještaju u nadzemne organe, **izuzev na kiselim zemljištima**. Organska jedinjenja olova, veoma se brzo usvajaju i transportuju u nadzemne dijelove biljaka. Taloženje olova kod većine biljaka intenzivnije je u korijenu u odnosu na nadzemne dijelove. Velika moć korijena u akumulaciji olova mogla bi da bude i jedan vid zaštite nadzemnog dijela. Olovo u većim koncentracijama inhibira izduživanje korijena i rast listova, inhibira proces fotosinteze, utječe na morfološko-anatomsku građu biljaka. Smatra se da **pšenica i soja** imaju **relativno visoku tolerantnost** prema olovu. **Zelje (špinat)** se ubraja u **osetljive biljke**. Kod ove biljne vrste već pri koncentraciji od 10 mg/kg suhe materije prinos se značajno smanjuje. **Čajevi** gajeni u blizini saobraćajnica su izloženi povišenim koncentracijama olova. **Zemljišta** na kojima se gaje čajevi su obično **kisela**, što utječe na **povećanu mobilnost metala** i povećano **usvajanje**. Posebno se ističe visoka koncentracija olova u biljnog čaju od **lista nane**. Najviše količine olova se nalaze u

iznutricama i školjkašima (zatim žitarice, riba, meso), dok najveći doprinos dnevnom unosu ipak daju žitarice, te voće i povrće (zatim bezalkoholna i alkoholna pića).

Strategija smanjenja rizika

Karakterizacijom rizika utvrđene su sigurne doze za različite kritične posljedice (razvojna neurotoksičnost kod fetusa i djece, te kardiovaskularna toksičnost i nefrotoksičnost kod odraslih) izloženosti olovu putem hrane i vode. Temeljem toga i prosječnog unosa stanovništva EU, EFSA je procijenila da se štetni efekti Pb kod pojedinaca unutar podskupina, naročito djece od 1-7 godina starosti, ne mogu isključiti. Posljednjih godina, redukcijom antropogene emisije (npr. zabranom korištenja antidetonatora u benzinu i pesticida na bazi olova), ustanovljen je trend smanjenja izloženosti olovu okolišnog porijekla. Adekvatna prehrana i opskrba cinkom, željezom i kalcijem umanjuje apsorpciju i štetne efekte Pb u organizmu. Velika moć korijena u akumulaciji olova mogla bi da bude i jedan vid zaštite nadzemnog dijela.

Živa

Živa dospijeva u okoliš iz niza antropogenih izvora: hemijska i metalna industrija, medicina (npr. timerosal kao antisептик u cjepivima i amalgamske zubne ispune), primjenom u baterijama, termometrima, barometrima, sagorijevanjem fosilnih goriva i smeća, religijske prakse (santeria), a prije su se koristili i organoživini fungicidi. Neorgansku živu mikroorganizmi u okolišu prevode u metilživu ($\text{CH}_3\text{-Hg+Cl-}$) koja se nakuplja u vodenim organizmima poput školjkaša i ribe (npr. ribe koncentriraju Hg iz okoliša i 1.000 puta, a školjkaši i do 3.000 puta u višoj razini od koncentracije u njihovu okolišu). Gljive također nakupljaju spojeve Hg.

Metilživa se gotovo **u potpunosti apsorbira za razliku od neorganskih spojeva** i puno bolje raspoljjuje u organizmu, uključujući mozak i embrij/fetus. Također je općenito **toksičnija od anorganskih spojeva**.

Toksičnost uključuje:

- neurotoksične efekte,
- nefrotoksičnost,
- gastrointestinal toksičnost,
- reproduktivnu,
- i razvojnu (neuro) toksičnost.

Mozak u razvoju je najosjetljiviji ciljni organ. Naprimjer, djeca majki izloženih metilživi tokom trudnoće (uslijed ispuštanja Hg otpadnim vodama hemijske tvornice u more pored Minamata u Japanu 1956. godine) su imala teške neurološke deficite. Spojevima žive se pripisuje i karcinogenost, te izazivanje alergijskih i autoimunih reakcija (autoimuni glomerulonefritis, kao i ostali teški metali povezuje se i s etiologijom sistematskog lupusa eritematozusa).

Osjetljive populacijske skupine su prvenstveno fetusi, dojenčad, mala djeca, populacije s visokim unosom ribe, te osobe s bolestima jetre, bubrega, živčanog sistema ili genetskim polimorfizmima poput onih koji uzrokuju nedostatnu aktivnost glutation-S-transferaze koja vrši detoksifikaciju Hg u organizmu. Smatra se da pojedinci imaju genetsku predispoziciju za razvoj autoimunog glomerulonefritisa nakon izlaganja živi.

Izvori u hrani

Riba i školjkaši sadrže daleko najviše koncentracije Hg. Namirnice životinjskog porijekla sadržavaju najviše metilžive, dok je u biljkama i gljivama Hg uglavnom u anorganskom obliku. Ovisno o prehrani, riba i školjkaši predstavljaju najveći dio (30-100%) Hg unesene hransom, zatim žitarice, voće i povrće, bezalkoholna pića, mlijecni proizvodi.

Strategija smanjenja rizika

Procjena unosa žive i metilžive u zemljama EU utvrdila je prosječni unos niži od procijenjenih vrijednosti sigurnih unosa izraženih pomoću PTWI. Upozorenje na znatne razlike u sadržaju metilžive različitih ribljih vrsta i vrlo vjerojatan viši unos u populacijskim skupinama koje češće konzumiraju velike predatorske ribe poput sabljarke ili tune. Također je ustanovljena potreba za pouzdanim podacima o unosu metilžive žena koje mogu zatrudnjeti radi kvalitetnije karakterizacije rizika.

Upozorenja ili savjeti visokorizičnim skupinama, naprimjer trudnicama u ribarskim krajevima, da reduciraju konzumaciju pojedinih vrsta morskih riba (poznatih po gomilanju Hg u mesu) više od jednom sedmično. Konzumacija i ulov se mogu zabraniti ukoliko je riječ o izvanrednoj kontaminaciji.

Uočeno je da **spojevi selenija** (u prvom redu **selenit**) mogu **štитiti od toksičnog djelovanja Hg** u tijelu. Metabolizmom Se nastaje selenid (Se²⁻) koji se sa živom povezuje u anorganski, inertni kompleks. Isto načelo interakcije ova dva elementa može se primijeniti i u tretmanu okoliša (npr. ribnjaka) s višim razinama Hg. Utvrđeno je i do 85% manje Hg u ribi iz voda tretiranih spojevima Se. Unos antioksidanasa se također pokazao korisnim u ublažavanju štetnog djelovanja Hg u organizmu koji je dijelom posredovan izazivanjem oksidativnog stresa.

Kadmij

Porijeklo okolišnog kadmija uključuje vulkane, šumske požare i razlaganje stijena, ali i ljudske aktivnosti poput metaloprerađivačke industrije, izrada baterija, spaljivanje smeća i fosilnih goriva i drugo. Iz kontaminiranog zemljišta (industrijsko ili zagađenje fosfatnih gnojiva kadmijem) ili vode se nakuplja u prehrambenom lancu.

Kadmij je prvenstveno **nefrotoksičan**. Kod jako visokih doza (ili hroničnim unosom uz nedostatak Ca) izaziva demineralizaciju koštanog tkiva i eventualno napuknuća i deformacije kostiju izazivajući tzv. **itai-itai ili bolest bolnih kostiju**. Temeljem studija radnika izloženih kadmiju u industrijskim uvjetima (preko respiratornog trakta), ovaj element je svrstan (IARC) u skupinu dokazanih **karcinogena za ljudе**. Nekoliko epidemioloških studija je utvrdilo i veći rizik različitih vrsta raka unosom Cd putem hrane.

Izvori u hrani

Najviše koncentracije se mogu naći u morskoj travi, školjkašima, ribi, iznutricama (bubrezi i jetra, naročito starijih životinja), povrću (gljivama), žitaricama, sjemenkama suncokreta, orašastim plodovima (kikiriki), čokoladi itd. **Povrće i orašasti plodovi** u prosjeku najviše doprinose unosu, zatim žitarice, riba i meso.

Strategija smanjenja rizika

Usporednom s procijenjenim sigurnim unosom kadmija (TDI) EFSA je utvrdila da se prosječna izloženost stanovništva EU kreće blizu sigurne vrijednosti. Pojedine podskupine populacije (pušači, vegetarijanci, djeca) unose i dvostruko više, iako i takav unos predstavlja vrlo malu vjerojatnost štetnog efekta na funkciju bubrega kao najosjetljiviju potencijalnu posljedicu. Svejedno, EFSA smatra da postoji potreba za naporima prema redukciji izloženosti stanovništva ovom metalu.

Pored upozorenja ili zabrana konzumacije hrane porijeklom iz kontaminiranih područja, poželjno je savjetovati visokorizične skupine, naprimjer trudnice ili dojilje, da reduciraju konzumaciju pojedinih vrsta morskih organizama ili organa divljači.

Utvrđeno je da **Zn, Cu, Ca, Se, Fe** i antioksidansi **umanjuju ili sprječavaju** neke od toksičnih efekata Cd.

Radioaktivni elementi

Riječ je zapravo o radioaktivnim izotopima elemenata ili radionukleoidima koji su **sposobni emitirati radioaktivno (ionizirajuće) zračenje** prilikom prijelaza u **stabilni oblik** atomske jezgre. Među najvažnijim radionukleoidima koji se mogu naći u hrani i vodi su ^{3}H , ^{14}C , ^{131}I , ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{40}K , ^{89}Sr , ^{90}Sr , ^{222}Rn , ^{226}Ra , ^{228}Ra , ^{228}Th , ^{235}U , ^{239}Pu itd.

Osim uobičajenog prisustva u okolišnom tlu, zraku i vodi, pojačana izloženost može biti uzrokovana antropogenim izvorima poput rudnika (uranija), znanstvenih i medicinskih ustanova, nuklearnih centrala, havarija nuklearnih centrala i eksplozija nuklearnog oružja. Ovisno o meteorološkim uvjetima, radioaktivne čestice mogu dospjeti vrlo daleko od mesta eksplozije u obliku tzv. falloutu ili radioaktivne prašine.

Biljna hrana može sadržavati radioaktivne izotope koji se na biljke talože iz zraka ili adsorbiraju na korijen i podzemne dijelove biljke poput uranija. Također se radionukleoidi mogu apsorbirati iz zemljišta, pri čemu opseg apsorpcije ovisi o koncentraciji i svojstvima izotopa, te sastavu zemljišta (udio organske materije, pH i drugo), kao i vrsti biljke. Prisustvo srodnih elemenata u tlu koji su esencijalni za biljku može značajno utjecati na apsorpciju (npr. Ra se može apsorbirati umjesto Ca zbog sličnosti). Prijelazom radioaktivnih elemenata iz zemljišta u biljke se koncentracija smanjuje stotinjak puta. Druga zaštitna barijera je prijelaz iz biljaka u životinjska tkiva, pri čemu također dolazi do redukcije nivoa za 10 do 10.00 puta. Ipak, ribe i školjkaši koncentriraju radionukleoide od 10 do 10.000 puta u odnosu na okoliš. Mlijeko, u situacijama povećane prisutnosti radionukleoida u okolišu, npr. poslije nuklearne nezgode (Černobil, Fukushima), sadrži više koncentracije ^{131}I . Radionukleoidi u vodu za piće uglavnom dospijevaju erozijom prirodnih depozita s kojima su npr. podzemne vode u dodiru. Radon-222 je primjer gasa koji se, osim izravno preko pluća, može u organizam unijeti i vodom za piće, te zajedno s produktima vlastitog raspada, čini oko 54% izloženosti ionizirajućem zračenju iz prirodnih izvora. Općenito, najviše radionukleoida se može očekivati u ribi, školjkašima, mesu i iznutricama, mlijeku i mlječnim proizvodima, žitaricama, orasima, bobičastom voću i divljim gljivama. Zanimljiv trend je uzeo maha tridesetih godina prošlog stoljeća kad je novootkriveni element radij dodavan u niz kozmetičkih, odjevnih i prehrambenih proizvoda. Naprimjer, u Njemačkoj je na tržište lansirana čokolada s radijem, te

reklamirana kao proizvod koji podmlađuje (www.dissident-media.org). Prema procjenama dnevnog unosa, uobičajena izloženost radionukleoidima hranom i vodom je znatno manja od neškodljivog hroničnog unosa. Naprimjer, prosječni unos uranija u SAD-u je maksimalno $1,5 \mu\text{g}$ iz vode i isto toliko iz hrane. Ukupno, to je više od 80 puta manje od nivoa minimalnog rizika.

Nema dokaza štetnosti uobičajenih razina radioaktivnosti prirodnog porijekla zemljišta. S druge strane, hronična izloženost višim dozama radionukleoida, uslijed emisije radioaktivnog zračenja, dovodi do opsežne produkcije slobodnih radikala i oksidativnog stresa uz mogućnost karcinogenog, mutagenog i teratogenog efekta. Lokacija spomenutih efekata ovisi o samom elementu, tj. mjestu njegova nakupljanja u organizmu. Razmatranje potencijalne opasnosti od radioaktivnih elemenata mora uzeti u obzir stopu apsorpcije u probavnom traktu, raspodjelu u organizmu, **vrijeme poluraspađa** ($t_{1/2}$, vrijeme potrebno da se početna količina radioaktivnog izotopa smanji za polovicu), **biološko vrijeme poluživota** (t_{biol} , vrijeme za koje organizam izluči polovicu prisutnog radionukleoida), te vrsta radijacije koju emitiraju. Većina radionukleoida se slabo otapa i apsorbira u probavnom traktu, dok su najopasniji oni koji, poput stabilnih izotopa esencijalnih elemenata ili zbog sličnosti njima, aktivno sudjeluju u metabolizmu. Naprimjer, jod-131 se apsorbira gotovo u potpunosti (naročito djeca!) i nakuplja u štitnjači. Velike količine mogu uništiti tiroidno tkivo i uzrokovati rak. Ima relativno kratko $t_{1/2}$ od 8 dana (ukupni životni vijek oko 12 dana) i t_{biol} od 138 dana. Cezij-134 i cezij-137 se također vrlo dobro apsorbiraju zbog sličnosti kaliju, te se raspodjeljuju po čitavom organizmu. Radioaktivni ^{14}C može ozračiti čitav organizam ugradnjom u organske molekule tijela, dok tricij (^{3}H) ima poluvrijeme raspada od 12 godina, ali mu je t_{biol} samo 10 dana. Radioaktivni izotopi radija i stroncija mogu izazvati rak kosti i leukemije zbog ugradnje u kost umjesto Ca i dugog zadržavanja u koštanoj strukturi (^{90}Sr : $t_{1/2}=28$ godina, $t_{biol}=36$ godina; ^{226}Ra : $t_{1/2}=1600$ godina, $t_{biol}=30-50$ godina). Apsorpcija snažno ovisi o mineralnom statusu organizma i udjelu kalcija u hrani, pri čemu adekvatan unos znatno umanjuje apsorpciju ovih radionukleoida. Mala djeca su, zbog pojačanog rasta i potreba za kalcijem, najosjetljivija populacija. Radon-222 je u gasovitom stanju na temperaturi tijela i utvrđeno je brzo izlučivanje putem pluća nakon oralnog unosa. Izloženost višim dozama ovog radionukleoida preko disajnog trakta se povezuje s povećanim rizikom raka pluća. Izotopi uranija se slabo apsorbiraju, a nisu ni jak izvor radioaktivnosti (npr., ^{235}U ima vrijeme poluraspađa od 700 milijuna godina, ali se polovica unešene doze izluči iz organizma već za 20 dana). Smatra se da su štetni poput teških metala, izazivajući nefrotoksične efekte kod visokih doza. U posljednje vrijeme je aktualan problem tzv. osiromašenog uranija, iako nema dokaza o njegovoj karcinogenosti. Epidemiološke studije koje su se bavile izloženošću osiromašenom uraniju su utvrstile veću vjerojatnost pojave malformacija kod potomstva čiji su roditelji bili izloženi prije začeća ili tokom trudnoće.

Po nekim procjenama, karcinogeni efekat uobičajene izloženosti radionukleoidima iz vode i hrane je mali i čini tek 0,3% ukupnih smrtnih slučajeva uzrokovanih rakom. Ipak, u nekim krajevima svijeta su više prirodni nivoi radioaktivnosti u okolišu, čime je i rizik štetnih posljedica veći.

Strategija smanjenja rizika

Kod akutne izloženosti radiojodu (havarije nuklearnih centrala, eksplozije nuklearnog oružja), preporučuje se **tretman kalij jodidom** ili sličnim solima koje će umanjiti nakupljanje ^{131}I u štitnjači. Obratno, ukoliko se želi sniziti razina radiojoda u mlijeku u sličnim izvanrednim situacijama, nužno je smanjiti unos stabilnog joda mliječnih životinja, jer će se više radioizotopa zadržati u štitnjači i do 60% manje izlučiti u mlijeko. Općeniti nutricionistički pristup smanjenja štete je, kao što je gore navedeno, najefikasaniji već u fazi apsorpcije radionukleoida koja značajno opada kod adekvatnog unosa mineralnih materija. Shodno načinu djelovanja radioaktivnih materija, pojačan unos antioksidansa i aminokiselina sa sumporom (zbog poticanja sinteze najvažnijeg endogenog antioksidansa-glutationa) bi mogao ublažiti posljedice izlaganja. Također, u područjima pogodjenim černobilskom katastrofom, gdje je i 20-ak godina poslije neizbjegna konzumacija kontaminiranih lokalnih poljoprivrednih proizvoda (prvenstveno radiocezijem, ^{137}Cs), vrši se tzv. **dekorporacija** ovog radioizotopa **suplementacijom prehrane** pektinima jabuke, ribizle, morske trave, grožđa i slično. Provode se i mjere koje **reduciraju** nivo radionukleoida u mesu **dodatkom aditiva krmivima** (ferocijanidi, zeoliti, mineralne soli). Adsorbensi se mogu dodavati i tlima radi nadzora prelaza radioizotopa u ratarske kulture, kao i antagonisti radiostroncija (gašeni kreč i umjetna gnojiva na bazi kalcija) ili radiocezija (umjetna gnojiva obogaćena kalijem). Postupci (bio)remedijacije zemljišta koji najviše obećavaju uključuju specijalne načine obrade zemljišta, uzgoj biljnih vrsta koje izvlače radionukleide iz zemljišta ili tretman zemljišta odabranim fungalnim mikroorganizmima koji mogu imobilizirati radionukleide. Posebnim šumarskim zahvatima može se spriječiti redistribucija radionukleoida u okolišu koji će, npr. u područjima kontaminiranim Černobilskom havarijom, biti opasno radioaktivno sljedeća tri stoljeća. Iskušavane su i metode sprječavanja akumulacije radionukleoida u ribi dodatkom vapna ili kalija jezerskoj vodi. Voda za piće se u izvanrednim situacijama može dodatno pročistiti adsorbensima poput zeolita i aktivnog ugljena. **Preradom** krompira u škrob, ugljikohidratnih sirovina u šećere ili mlijeka u vrhnje i maslac, **može se ukloniti najveći dio** prisutnih (vodotopljivih) radioizotopa. Drugi načini prerade hrane su se pokazali efikasnim: pranje, prešanje, guljenje, uklanjanje nejestivih dijelova voća i povrća, tretman tekućih namirnica adsorbensima ili termičko tretiranje tokom kojeg dolazi do isparavanja isparljivih radionukleoida i/ili gubitka u vodi za kuhanje, usoljavanje (uklanjanje radiocezija) ili otkoštavanje (uklanjanje radiostroncija) ribe i mesa i drugo.

Ostali elementi

Niz elemenata iz prirodnog ili kontaminiranog okoliša mogu uzrokovati štetu kod prekomjernog unosa. Relevantni u tom pogledu mogu biti aluminij, hrom, nikl, mangan, pa čak i željezo.

Primjera radi, unosu **aluminija** putem hrane najviše doprinose aditivi (Prerada hrane, Materije koje se namjerno dodaju), te migracija iz opreme ili kuhinjskog pribora s kojim namirnica dolazi u dodir tokom obrade, pripreme ili čuvanja (Prerada hrane, Materije koje dolaze u dodir s hranom). Ipak, ovisno o fizikalno-hemijskim svojstvima zemljišta, pojedine biljke ga mogu pojačano apsorbirati iz zemljišta i nakupljati u svom tkivu.

Kombinacija kontaminiranog ili zemljišta s prirodnim višim sadržajem Al i uvjeta (npr. tzv. kisele kiše) koji mu povećavaju topljivost i apsorpciju, može rezultirati visokim koncentracijama u namirnicama biljnog porijekla. Također, ovog elementa se ponegdje može pronaći u prirodno višoj koncentraciji u vodi za piće.

Mangan je sveprisutan u hrani. Pojačano ga nakupljaju biljke poput zelenog čaja, ali i druge ukoliko rastu na tlu s visokom koncentracijom ovog elementa. Utvrđeni su visoki nivoi u pojedinim **pripravcima ljekovitog bilja**, te u **pitkoj vodi** uslijed prirodno visokih koncentracija u podzemnim i bunarskim vodama. Visok unos u kombinaciji s drugim faktorima (smanjen unos Fe, Ca, antioksidanasa, te genetske predispozicije) može dovesti do očitovanja simptoma toksičnosti koji prvenstveno uključuju neurološke poremećaje, slične simptomima Parkinsonove bolesti.

Koncentracija **hroma** u hrani (voće, povrće, žitarice, meso i drugo) takođe ovisi o geohemijskim faktorima. Prisustvo **šesterovalentnog oblika** u vodi i zemljištu ukazuje na **industrijsko zagadenje**. Šesterovalentni hrom u obliku aerosola je povezan s većim rizikom raka pluća kod radnika u metaloprerađivačkoj industriji. Vrlo je mala vjerojatnost da izaziva slične efekte unesen hranom ili vodom, iako su pokusima na životinjama uočene više stope gastrointestinalnih tumora kod visokih doza.

Zabilježeno je više slučajeva trovanja djece unosom suplemenata **željeza**. Hronično visok unos namirnica bogatih željezom, uz istovremeni unos poboljšivača njegove apsorpcije (vitamin C, alkohol, organske kiseline), može dovesti do nakupljanja prekomjernih količina u pojedinim organima (jetra, srce, hipofiza, gušterača), te dovesti do lokalnih oštećenja. Osobe s hereditarnom hemohromatozom su naročito osjetljive na previsok unos. Nema nedvojbenih dokaza o esencijalnoj ulozi **nikla** u ljudskom organizmu za razliku od gore navedenih elemenata. Unosi se hranom (kakao, čokolada, orasi, mahunarke, meso, žitarice i drugo) ili vodom za piće u koje dospijeva iz zemljišta s prirodno visokim koncentracijama ili uslijed industrijske kontaminacije. Kod osoba s genetskom predispozicijom izaziva alergijske reakcije.

Nastavak podoglavlja opisuje potencijalno problematične elemente arsen, selenij, jod i fluor.

Arsen

Riječ je o metaloidu čiji najčešći oblici u hrani i/ili vodi su **anorganski spojevi**, prvenstveno arsenati (AsO_4^{3-}) i arseniti (AsO_3^{3-}), kao i organske molekule poput arsenobetaina ili arsenoholina.

Izvori

Neorganske hemijske vrste ovog elementa se najčešće mogu pronaći u visokim razinama u vodi za piće ukoliko podzemne vode dolaze u dodir s depozitima koji sadrže As u povišenoj koncentraciji. Visoka koncentracija As u vodi za piće je zabilježena u nizu zemalja (Čile, Bangladeš, Indija, Kina, Tajvan, SAD i drugo), uključujući nekoliko lokacija u Hrvatskoj (Istočna Slavonija). Koncentracija As u vodovodnoj vodi dva sela pored Vinkovaca, prije ugradnje odgovarajućih prečistača, bila je 60 puta viša od dozvoljene. Tako se već unosom litre vode za piće dnevno, unosilo gotovo tri puta više As od tzv. nivoa minimalnog rizika (ATSDR). Zabilježeni su i slučajevi industrijskog

zagadenja vode i zemljišta, kao i povišeni nivoi uslijed nekadašnjeg raširenog korištenja pesticida na bazi spojeva As. Namirnice s visokim sadržajem neorganskog As su najčešće **biljnog porijekla** (žitarice, naročito riža, te klice i mekinje), uzgojene na kontaminiranom tlu, kao i neke vrste jestivih morskih trava i njihovih proizvoda (često tzv. hijiki, tj. *Sargassum fusiforme*). Visoki nivoi su ponekad posljedica industrijskih nezgoda tokom proizvodnje hrane. **Riba i školjkaši** uglavnom nakupljaju **organske spojeve** As. Žitarice daleko najviše doprinose unosu neorganskog As hranom, osim ako nije riječ o populacijama izloženim kontaminiranoj vodi za piće.

Kontaminacija **podzemnih voda** je najvažniji problem vezan uz izloženost spojevima arsena. Riječ je o neorganskim vrstama As, dok su **organski spojevi znatno manje toksični ili netoksični**. Toksičnost neorganskog As uključuje promjene na koži (hiperkeratoze, pa i rak kože), neurotoksičnost i karcinogenost, a postoje indicije da bi mogao djelovati i kao reproduktivni i razvojni toksin, te izazivati dijabetes. Kardiovaskularna toksičnost arsena se povezuje s hipertenzijom i tzv. bolešću crnih stopala (eng. blackfoot disease; javlja se uglavnom na Tajvanu, te se smatra da dodatni lokalni faktori sudjeluju u etiologiji) zbog poremećaja periferne cirkulacije, kao i s aterosklerozom, srčanim, moždanim udarom i drugo.

Metabolizmom **neorganskog As** u organizmu načelno dolazi do detoksifikacije i bržeg izlučivanja, iako postoje dokazi da su neki metaboliti toksičniji od početnih spojeva. Upravo nasljedna svojstva pojedinaca u smislu efikasnosti detoksikacijskih reakcija, kao i procesa koji utječu na njegovu raspodjelu i izlučivanje iz organizma, se stoga smatraju odgovornim za uočenu veću osjetljivost pojedinaca na toksičnost (i sposobnost izazivanja raka) ovog elementa. Fetusi i dojenčad, koja nije hranjena majčinim mlijekom, nego kašicama, slabo su zaštićeni zbog propusnosti placente za As i nedovoljno razvijenih sistema detoksikacije i izlučivanja. Utvrđeno je da visoke doze As tokom tih faza razvoja povećavaju rizik raka u kasnijoj (teenagerskoj) dobi. Žene su nešto bolji metabolizatori As u odnosu na muškarce, što se odražava i na rizik bolesti vezanih uz izloženost. Pothranjene populacije iz siromašnih krajeva svijeta, najvjerovalnije uslijed nedostatka faktora koji posreduju u detoksikaciji As u tijelu, također bi mogle biti posebno osjetljive. Naročito zapažena i istraživana je interakcija selenija (Se) i As. Ovi elementi se slično metaboliziraju i izlučuju iz organizma, a identificirano je i nekoliko drugih mehanizama kojima Se interferira efekte As, uključujući antioksidantno djelovanje selenija. Većina radova utvrdila je zaštitno djelovanje Se, iako neki dokazi ukazuju na nepostojanje uočljivog efekta ili čak pojačavanje štetnosti u uvjetima jako visoke izloženosti arsenu.

Procijenjeni srednji unos neorganskog As u zemljama EU unutar je raspona doza koje hroničnim unosom, navodno, neznatno povećavaju rizik raka i kožnih lezija. Tome su najizloženije skupine s povišenim unosom gore spomenutih namirnica i/ili kontaminirane vode za piće.

Strategija smanjenja rizika

Postoji veći broj razvijenih, efikasnih metoda i izvedbi uređaja za snižavanje nivoa prisutnog neorganskog As u vodi. **Koagulacijske i flokulacijske metode** (aglomeracija čestica uz aluminatne, alaun ili feri okside, pa njihova filtracija) su među najčešće korištenim postupcima. **Primjena adsorbensa** (zeoliti, aktivni ugljen, željezni oksidi,

nanočestice i drugo) i **ionskih izmjenjivača** je moguća, a dokazana je i efikasnost jeftinih adsorbensa poput ljske kokosa, riže, fungalne biomase i slično. Također, različite izvedbe **membranske filtracije** su primjenjive, iako su skuplje u provedbi uz sporiji protok vode. **Sistemi za precipitacijske procese** (taloženje) su jednostavni, jeftini i selektivni, ukoliko se uvjeti (pH, količina koagulanta-gašeno vapno, feri soli, alaun i drugo) prilagode cilnjim razmjerima uklanjanja ovog elementa. Efikasnim su se pokazale i neke **oksidacijske metode** (As^{3+} u As^{5+}) uz vodikov peroksid, ozon, hlor ili izlaganje sunčevom svjetlu u prisustvu feri iona i drugo, nakon čega slijedi uklanjanje precipitacijom ili adsorpcijom. Zamislivo je i uklanjanje arsena iz vode uz pomoć pojedinih **mikroorganizama**, te različite **kombinacije** gore navedenih metoda, s ciljem što veće efikasnosti uz održavanje ekonomičnosti cjelokupnog postupka pročišćavanja.

Priprema hrane može utjecati na promjenu vrste i količine spojeva As u namirnicama. Npr, **uklanjanje ovojnica** zrna žitarica (riže) može znatno sniziti nivo As. **Pranjem** riže prije kuhanja, te kuhanjem uz suvišak vode (koja se baca) može se ukloniti i do 60% ovog elementa. **Kuhanjem** drugih vrsta namirnica (tjestenina, povrće), gubi se značajan udio As, osim ako nije riječ o kontaminiranoj vodi. Uočena je pretvorba organskih vrsta As iz jednog u drugi spoj kod pripreme hrane na visokim temperaturama. Značaj takvih reakcija u smislu promjene štetnosti namirnice najvjerojatnije je mali.

Dokazana je pretpostavka da antioksidansi mogu ublažiti štetne posljedice prekomjerne izloženosti ovom proksidansu. Istraživanja upućuju na zaštitnu ulogu glutationa (kao endogenog antioksidansa i molekule koja ubrzava izlučivanje As putem žuči), te bi prehrana visokovrijednim bjelančevinama bogatim aminokiselinama sa sumporom (koje potječu sintezu glutationa u organizmu), mogla biti od prilične važnosti. Poželjna je i odgovarajuća opskrbljenoć selenijem, kao i drugim materijema koje sudjeluju u detoksifikaciji i bržem izlučivanju As iz tijela, poput folata (vitamin B9), holina (lecitina), metionina, vitamina B12 i drugo.

Selen

Ovaj za ljude esencijalni element nalazi se u više organskih i anorganskih spojeva u prirodi. Najrelevantniji su seleniti (O_3Se^{-2}), kao i organski oblici poput selenometionina, selenocisteina i slično.

Neovisno da li je riječ o akutnom ili hroničnom unosu putem hrane, najčešće štetne posljedice su tek deformacije noktiju i opadanje kose. Stanovništvo selenifernih područja SAD-a unosi i dvostruko više Se putem hrane od tolerirane gornje granice unosa. Unatoč tome, nikakve posljedice za zdravlje nisu utvrđene.

Izvori u hrani

Specifične namirnice biljnog porijekla iz zemljišta (tzv. selenoakumulatorne biljke poput brazilskog oraha) mogu nakupiti visoke koncentracije Se u svom tkivu, naročito ako je riječ o tlima koja imaju visoki sadržaj Se. Seleniferna zemljišta postoje u više zemalja svijeta (SAD, Kina itd) u kojima se najviše Se unosi putem žitarica, a najviši nivoi su u namirnicama bogatim bjelančevinama, poput mesa i ribe. Zbog antioksidantnog djelovanja i dokazane veze višeg unosa s manjim rizikom raka, raširena je i upotreba prehrabbenih

dodataka, najčešće na bazi tzv. selenijevog kvasca bogatog selenometioninom ili suplemenata s natrij selenitom.

Strategija smanjenja rizika

Ne preporučuje se uzimati višestruko veće doze prehrabnenih dodataka ovog elementa od tolerirane gornje granice dnevnog unosa (400 µg).

Flor

Ugradnjom u strukturu zuba i kosti, fluor u višim koncentracijama može izazvati dentalnu, te koštanu fluorozu i lomljivost kostiju kod starijih osoba. Dentalna fluoroza nastaje tokom **razvoja zubne cakline** (djeca do osam godina starosti) i najčešće uključuje samo blage, jedva vidljive promjene zubne cakline. Simptomi koštane fluoroze su bol i ukočenost zglobova, te deformacije kosti. Zabilježene su i brojne druge posljedice pretjeranog unosa fluorida, od gastrointestinalnih problema i mišićne degeneracije, do neuroloških simptoma, imunotoksičnosti itd. Fluoroza se obično javlja u zemljama u razvoju s visokim razinama F u podzemnim vodama i dugotrajnim unosom nekoliko puta višim od optimalnog.

Fluoridi (F^- , soli fluorovodične kiseline, HF) su po definiciji korisni ljudskom organizmu zbog zaštite od karijesa, iako **nisu esencijalni**, tj. nužno potrebni za održavanje fizioloških funkcija organizma.

Izvori u hrani

Fluorida ima u svim namirnicama u malim količinama, ali je **voda za piće** najvažniji izvor velikoj većini populacije. Problemi uslijed suviška ne nastaju zbog prakse fluoridacije vode za piće (koja se u Hrvatskoj ne provodi), nego zbog prirodno visokih koncentracija u vodi. Visoki nivoi su česti i u tzv. brick čaju koji se sastoji od starog lišća i stabiljiki zelenog čaja koje nakupljaju F.

Strategija smanjenja rizika

Važećim pravilnicima određene su najviši dozvoljeni nivoi u svim vrstama voda za piće, te pravilnicima za obogaćene i specijalne vrste hrane. Višak fluorida se uspješno uklanja iz vode primjenom različitih postupaka. Najvažniji su **adsorpcija, ionska izmjena, membranski procesi (nanofiltracija i reverzna osmoza)**, te **koagulacija i precipitacija** (tzv. **Nalgonda tehnika**). Odgovarajući unos **kalcija i vitamina C** smanjuje opseg štetnih promjena uzrokovanih fluoridom.

Jod

Jedini iskoristivi oblik ovog elementa za ljude su **jodidi** (I^- , soli jodovodične kiseline, HI) koji su esencijalni zbog uloge u funkciji štitnjače, gdje sudjeluju u sintezi tiroïdnih hormona (tiroksina i trijodtironina). Dugotrajan **visok unos joda**, pri čemu je riječ o dozama bar 10 puta višim od uobičajenih, najčešće rezultira smanjenjem lučenjem hormona štitnjače tj. **hipotireozom**, kao i povećanjem štitne žlijezde (**gušavost**). Naime, štitnjača na previsoke doze reagira smanjenim nakupljanjem joda i proizvodnjom hormona, što dovodi do stimulacije bujanja tkiva štitnjače hormonima hipotalamus i hipofize. Povećava se i incidencija autoimunog tiroiditisa, tj. napada imunog sistema na tkivo štitne žlijezde koji, u

konačnici, može rezultirati hipotireozom. Istovremeno se povećava i rizik tzv. papilarnih karcinoma štitnjače. Vjerodost prekomjernog unosa konzumacijom namirnica bogatih jodom (npr. sušene morske trave i alge) veća je u krajevima s endemskim deficitom joda, obzirom na vrlo efikasanu apsorpciju i iskorištenje joda kod takvih populacija. Iako je prirodni nedostatak joda u tlima čest u Europi, u Hrvatskoj je zabilježen endemski nedostatak i gušavost samo u jednom selu pored Zagreba koji je uklonjen zakonskom obavezom jodiranja kuhinjske soli. Unos lijekova na bazi joda i medicinski tretmani hemijskim vrstama ovog elementa (povidon jod i slični antiseptici, lijekovi protiv astme, srčanih aritmija, bronhitisa, cistične fibroze, hronične opstruktivne bolesti pluća i drugo) također povećavaju rizik njegovog suviška u organizmu.

Izvori u hrani

Najviše koncentracije mogu se pronaći u **morskoj ribi i školjkašima, jestivim morskim algama i travama** (također kao suplementi), dok su u uobičajenoj prehrani najvažniji izvori mlijeko i mlijecni proizvodi (zbog dodatka krmivima), jaja, meso, žitarice i proizvodi od žitarica, te jodirana sol. Prehrambeni dodaci s mineralnim materijema značajno doprinose unosu joda kod osoba koji ih uzimaju.

Strategija smanjenja rizika

Termička priprema namirnica smanjuje nivo joda u namirnicama od 20-50% (najviše kuhanjem u vodi). Unos većih količina kupusnjača (kupus, kelj, brokoli, prokulice i drugo), soje, kukuruza, kikirikija, oraha, lima graha, kasave, sijerka itd, zbog sadržaja izoflavona, te glukozinolata i cijanogenih glikozida (koji se razgrađuju na tiocijanate, izotiocijanate, nitrile i oksazolidine (goitrine); (vidi: Biološki izvori, Toksikanti biljnog porijekla), smanjuje nakupljanje joda u štitnjači i njegovu ugradnju u tiroidne hormone. Ca, Mg, Fe, nitrati i fluoridi iz hrane i vode također mogu smanjiti apsorpciju joda iz hrane.

6. 2. Ostaci (rezidui) od tretiranja biljaka i životinja

6. 2. 1. Ostaci (rezidui) pesticida

Skupina materije koje služe za kontrolu neželjenih efekata ciljnih organizama se naziva pesticidima i mogu se podijeliti u:

- insekticide,
- herbicide,
- fungicide,
- rodenticide,
- moluskicide,
- nematocide i drugo.

„**Zelena revolucija**“, tj. enorman porast poljoprivredne proizvodnje posljednjih desetljeća posljedica je dobrom dijelom i korištenja pesticida radi kontrole korova i kukaca koji bi ograničavali urod. Insekticidi i fungicidi se također koriste za smanjenje gubitaka nakon žetve ili berbe i održanje hranjive vrijednosti i svježine do konzumacije. Sve do 1962. godine, kad je Rachel Carson objavila knjigu „Tiho proljeće“ o štetnim posljedicama

ostataka DDT-a na razmnožavanje ptica, malo se pozornosti poklanjalo toksičnim efektima pesticida na ljude i druge neciljne organizme.

Pesticidi se šire u okolišu uglavnom vodenim putem. Ispiranjem s poljoprivrednih površina dospijevaju u površinske, ali i u podzemne vode (također kućna upotreba pesticida, održavanje šuma, golf terena i slično). Najveći problem predstavljaju pesticidi koji se ne razgrađuju brzo u okolišu, isparljivi su ili topljivi u mastima, posljedica čega je njihova biološka koncentracija u hranidbenom lancu i translokacija. Ujedno, to znači da visoka koncentracija i izloženost bioakumulatornim, ali i drugim pesticidima, nije vezana uz poljoprivredne kulture koje se njima tretiraju. Naprimjer, DDT primijenjen u kontroli komaraca u tropskom području može imati štetne posljedice na životinjske vrste u arktičkom području. Male količine DDT-a prisutne u blatu ili površinskim vodama upija plankton i drugi izvor hrane za biljojedne ribe. Ove ribe pojedu plankton koji sadrži insekticid i njegove metabolite u količini koja je nedovoljna da ih otruje, ali dovoljno za nakupljanje DDT-a u njihovom masnom tkivu. Biljojedne ribe će biti pojedene od strane mesojednih riba, pri čemu ponovno razina DDT-a ne uzrokuje toksični efekat odmah, nego dovodi do nakupljanja u masnom tkivu u visokoj koncentraciji. Ove ribe mogu migrirati, te biti hrana pticama ili sisavcima na arktičkom području. Sada koncentracija DDT-a i metabolita može biti dovoljno visoka da izazove štetne efekte. Translokacija je također moguća isparavanjem i prijenosom zračnim putem daleko od mesta primjene (oborinama završava zračni put u zemlji ili vodama). Kod adsorpcije na čestice zemlje moguće je i premještanje u obliku prašine i slično. Zadržavanje nekog pesticida u vodi ili zemlji ovisi o vrsti zemljišta, količini vlage, temperaturi, pH, prisutnoj mikroflori, razgradivosti pesticida i drugo.

Strategija smanjenja rizika

Potaknuti upravo lošim iskustvima iz ranih dana proizvodnje i primjene pesticida, danas postoje rigorozni uvjeti registracije novih pesticida, pri čemu proizvođač mora odgovarajućim institucijama podastrijeti sve tražene podatke. Oni uključuju informacije s opisom svojstava, predviđenoj učestalosti korištenja, efikasnosti i potencijala razvoja otpornosti štetnika, zagađenja podzemnih voda, kao i procjenom rizika za radnike u proizvodnji, potrošače i neciljne organizme. Potiče se i sukladnost s integriranim managementom štetnika koji podrazumijeva inspekciju kulture tokom rasta i primjenu samo u slučaju potrebe, oslanjanje na prirodne predatore, primjenu feromona (signalne molekule kukaca), biopesticida (npr. prskanje canole, tj. repičinog ulja po biljkama za koje se kukci zalijepi ili *Bacillus thuringiensis* koji se hrani larvama kukaca) i drugo. U Europskoj uniji EFSA (ili FAO/WHO na međunarodnoj razini) na temelju dostavljenih podataka provode karakterizaciju rizika, tj. određuju sigurne nivoje izloženosti (ADI) i tolerancije, tj. najviše koncentracije ostataka u namirnicama.

Naši propisi definišu maksimalno dozvoljene količine (MDK) ostataka usklađene s propisima EU. Povremeno se provodi monitoring ostataka, te je npr. 2008. godine analizirano 14 proizvoda biljnog porijekla uzorkovanih širom zemlje tokom tri vremenska perioda. Većina uzoraka se odnosila na proizvode predložene za zajednički koordinirani monitoring zemalja članica EU.

Posljednjih desetljeća postoji trend smanjenja unosa organohlornih pesticida hranom nakon zabrane korištenja. Prosječni unos drugih relevantnih skupina (organofosfata, triazina) je također ispod sigurnih doza, iako postoje lokacije i podskupine populacije koje bi mogle biti izloženije zbog zagadenja, specifične prehrane itd. Organokositrenim pesticidima je zabranjena proizvodnja, promet i upotreba u RH od 2005. godine.

Pridržavanjem načela dobre poljoprivredne prakse (način primjene pesticida i pridržavanje karence, tj. vremenskog razmaka koji mora proći od tretiranja uroda i berbe, žetve, košnje, vađenja iz zemljišta i prerade uskladištenih poljoprivrednih proizvoda) i dobre proizvođačke prakse, može se znatno smanjiti izloženost stanovništva ostacima pesticida. Također, utvrđeno je da se koncentracija mnogih pesticida smanjuje nakon **toplinske i drugih načina obrade** hrane (razgradnja u kiselinama, bazama, prelazak u vodu kod kuhanja i slično). Npr, kod voća i povrća se većina ostataka nalazi na površini, pa su se **ljuštenje, guljenje i otklanjanje vanjskih listova** pokazali vrlo efikasnim, za razliku od pranja. Kod masti i ulja rafinacija vodenom parom smanjuje udio ostataka, a kod mesa i ribe kuhanje i prženje, uz istovremeno uklanjanje masnog tkiva, mogu znatno reducirati udio pesticida ovisno o vrsti, razini i temperaturi.

Organohlorni insekticidi

Organohlorni insekticidi uključuju opseg različitih hloriranih organskih spojeva poput dihlorodifeniltrihloretana (DDT, na slici) i dihlordifenildihloretana (DDD), tzv. 'drin' pesticida (dieldrin, aldrin, endrin), hlordana, lindana (gama izomer heksahlorcikloheksana), endosulfana, metoksihlora i drugo. Zabranjena im je upotreba nakon što je ustanovljeno da su izuzetno stabilni i lipofilni, te se nakupljaju u životinjskom masnom tkivu. DDT je korišten otprilike 40 godina, u prvom redu za iskorjenjivanje malarije (Kuba: 1962. godine 3.500 slučajeva, 1969. godine tri slučaja), što je rezultiralo općom raširenošću DDT-a i metabolita u okolišu.

Organohlorni pesticidi spadaju u skupinu tzv. perzistentnih organskih polutanata (eng. persistent organic pollutants, POPs) kojima je zajednička otpornost na fotolitičku, biološku i hemijsku razgradnju. Većinom je riječ o halogeniranim spojevima, slabo topljivim u vodi i lipofilnim, uslijed čega se biokoncentriraju u masnom tkivu životinja. Mnogi su i poluhlapljivi pa mogu prijeći velike udaljenosti od mjesta primjene. Neki od spojeva koji se specifično spominju u okviru Stockholmske konvencije o POP Organizacije Ujedinjenih naroda za zaštitu okoliša (UNEP, United Nations Environment Programme) su aldrin, dieldrin, endrin, DDT, toksafen, mireks, hlordan, heksahlorobenzen, heptahlor, PCB, PCDD, PCDF, PBDE. Konvencijom se nastoji reducirati ili eliminirati proizvodnja, korištenje i nemjerno ispuštanje ovih hemikalija u okoliš.

Uočeno je neurotoksično djelovanje viših doza organohlornih insekticida koji mogu remetiti prijenos živčanih impulsa. Djeluju i kao endokrini disruptori (npr. DDT i DDD-estrogensko djelovanje; DDE (diklordifenildikloreten-antiandrogen) koji bi mogli izazivati reproduktivne i razvojno toksične efekte i kod nižih doza. Utvrđeno je i karcinogeno djelovanje nekih organohlornih insekticida na eksperimentalnim životinjama, opet pri hronično visokim dozama. Nema pouzdanih dokaza da izloženost niskim razinama putem hrane povećava rizik raka.

Izvori u hrani

Prvenstveno riba i školjkaši, meso i proizvodi, mlijecni proizvodi i vrlo malo u biljkama.

Organofosfatni insekticidi

Organofosfati su trenutno najkorišteniji (malation koji se koristi za zaprašivanje komaraca, paration, hlorpirifos, diazinon, dihlorvos itd) za nadzor štetnog efekta kukaca, upravo zbog činjenice da se brzo razgrađuju u okolišu.

Izvori

Osim **tretiranih biljaka**, mogu se ponekad pronaći i u ribi u nešto višim koncentracijama.

Zdravstveni rizik

Organofosfati su u visokim dozama neurotoksični za sisavce zbog inhibicije acetilholinesteraze (AChE) koja sudjeluje u prenosu živčanih impulsa, te može doći do simptoma poput usporavanja pulsa i ritma disanja, paralize mišića, probavnih smetnji i drugo. Takav scenarij je nezamisliv za količine ostataka u hrani. Nedavno je, međutim, uobičajena izloženost putem hrane povezana s većim rizikom ADHD (poremećaj hiperaktivnosti i deficita pažnje) kod djece. Triazinski pesticidi uključuju atrazin (herbicid) i slične spojeve.

Izvori

Ispiranjem s poljoprivrednih površina dospijevaju u podzemne vode, odakle mogu završiti u vodi za piće. Koncentracije atrazina u vodi za piće u RH ponegdje (naročito u jesen) znaju višestruko premašiti dozvoljene vrijednosti.

Zdravstveni rizik

Toksičnost triazina u prvom redu podrazumijeva endokrinu disruptiju (koja za posljedicu ima previsoke količine estrogena) uz reproduktivne i razvojne toksične posljedice, dok je karcinogeni efekat uočen na eksperimentalnim životinjama najvjerojatnije vezan isključivo za visoku hroničnu izloženost.

Nitriti

Kao spoj koji je dio prirodnog kruženja azota, nitrat ima važnu ulogu u rastu biljaka koje ga akumuliraju. Nitrati se mogu naći u visokim koncentracijama u biljakama uslijed korištenja azotnih umjetnih gnojiva. Također, porijeklom iz kanalizacijskih i drugih otpadnih voda ili ispiranjem s poljoprivrednih površina mogu dospijeti u podzemne vode, odakle mogu završiti u vodi za piće. Nitrit nastaje redukcijom nitrata u biljkama i metabolizmom u organizmu.

Izvori

Najviše koncentracije nitrata i nitrita sadrži lisnato povrće, naročito špinat, zelena salata, rikola, ali ima ih dosta i u mrkvi, cvjetači i drugim vrstama. Voda za piće, naročito privatni bunari, može sadržavati više količine nitrata. Nitrati se reakcijama redukcije u biljnim namirnicama i u organizmu prevode u nitrite. Nitrati i nitriti se koriste i kao aditivi (Prerada hrane, Tvari koje se namjerno dodaju), iako unos putem povrća čini najznačajniji udio dnevnog unosa.

Zdravstveni rizik

Sami po sebi, nitrati su **relativno netoksični**, ali su toksikološki relevantni njegovi **metaboliti i reakcijski produkti** poput **nitrita**, **N-nitrozo spojeva** i **azotmonoksida**. Naprimjer, **kisela sredina želučanog sadržaja** podržava nitrozaciju sekundarnih i tercijarnih amina uz nastanak karcinogenih nitrozamina (Prerada hrane, Tvari koje nastaju tokom prerade).

Nitriti mogu oksidirati **fero željezo hemoglobina** i **citohroma** respiratornog lanca. Takav hemoglobin ne može vršiti **prijenos kisika**, te može doći do methemoglobinemije, tj. smanjene opskrbe tkiva kisikom (ubrzano disanje, cijanoza ili plavičasto obojenje kože, glavobolja, slabost i drugo). **Novorođenčad do šest mjeseci starosti** su posebno osjetljiva na nitrati u hrani zbog **višeg pH crijeva**, uslijed čega su razvijeniji crijevni prirodno prisutni mikroorganizmi koji nitrare reduciraju u nitrite. Također, fetalni hemoglobin je podložniji oksidaciji, a takva djeca imaju i nižu aktivnost methemoglobin reduktaze. Stoga, unos visokih razina nitrata može rezultirati tzv. **sindromom plavog djeteta**. Trudnice u visokom stadiju trudnoće su također osjetljivije na nitrare zbog prirodno više količine methemoglobina u krvi.

Strategija smanjenja rizika

Analizom povrća na sadržaj nitrata i izračunom prosječnog unosa na temelju unosa povrća, EFSA je procijenila da je srednji unos nitrata niži od sigurne doze (ADI). Osobe koje konzumiraju velike količine **lisnatog povrća** (rikola!), naročito ako je uzbunjano uz nekontroliranu upotrebu umjetnih gnojiva, mogu imati unos viši od ADI vrijednosti. Ipak, za veliku većinu populacije je rizik od konzumacije nitrata mali, naročito obzirom na zdravstvenu korist povećane konzumacije povrća.

Važećim hrvatskim pravilnicima su propisane najviše količine nitrata u pojedinim vrstama povrća (špinat, zelena salata), dječjoj hrani, te vodi za piće.

Preporučuje se primjena **načela dobre poljoprivredne prakse** u proizvodnji povrća, vezano uz upotrebu azotnih umjetnih gnojiva i druge uvjete koji utječu na akumulaciju nitrata.

Ne preporučuje se dojenčadi pripremati kašice, čajeve i slično korištenjem **bunarske vode**. Uočeno je da različite metode **pripreme i prerade povrća** (blanširanje, kuhanje, smrzavanje i kombinacije) mogu značajno utjecati na smanjenje količine nitrata u pojedinim vrstama povrća. Istovremeno, dolazi i do promjene sadržaja nitrita koja, ovisno o postupku i vrsti povrća, često ne podrazumijeva redukciju zbog aktivacije nitrat reduktaza u bilnjom tkivu.

6. 2. 2. Ostaci (rezidui) veterinarskih lijekova

Ostaci veterinarskih lijekova se mogu naći u mesu, mlijeku, jajima i drugim proizvodima životinja koje su bile tretirane lijekovima zbog **liječenja** određene bolesti ili se dodaju radi **bržeg rasta**, većeg **prinosa mesa, nadzora reprodukcije**, te **umirenja životinja**. Od lijekova koji se primjenjuju najčešće se spominju **antibiotici** (uključujući antiparazitike) i **hormonski lijekovi**. Antibiotici se koriste za liječenje raznih bolesti životinja, a istraživanjima je utvrđen i bolji prirast. Kod životinja se najčešće koriste antibiotici širokog spektra djelovanja poput penicilina, tetraciklina, sulfonamida, fluorokinolina i slično, ali i

neki antibiotici koji nisu dozvoljeni za humanu primjenu (npr. zabranjeni nitrofurani). Hormonski lijekovi se koriste u svrhu bržeg rasta i boljeg prirasta, kontrole spolne zrelosti (ubrzanje ili odgode parenja, povećanje mliječnosti krava ili produkcije jaja kod nosilica). Neki ostaci veterinarskih lijekova su genotoksični i karcinogeni za ljude, ali se mogu koristiti na životinjama zbog **razlika u metabolizmu**. Također postoji i opasnost od imunološke reakcije kod ljudi koji su alergični na pojedine antibiotike, što može dovesti do ponekad životno opasnog anafilaktičkog šoka. Osim direktnog djelovanja, neki antibiotici, zbog svoje hemijske strukture (sekundarni i tercijarni amini), mogu reagovati s nitritima iz salamure za meso i tako doprinositi nastanku **nitrozamina**. Neki egzogeni hormoni mogu uzrokovati reproduktivnu i razvojnu toksičnost, kardiovaskularnu toksičnost, imunotoksičnost. Općenito, smatra se da unos egzogenih hormona ne bi trebao prelaziti 1% endogene proizvodnje zbog mogućeg poremećenja hormonske ravnoteže.

Izvori

Izvori ostataka veterinarskih lijekova su **proizvodi životinjskog porijekla** (meso, riba, jaja, mlijeko, med) i **njihove prerađevine**. Korištenje svih oblika hormonskih promotora rasta je zabranjeno u EU od 2006. godine, iako se zbog teškog otkrivanja mogu još naći na crnom tržištu. Osim potencijalnog štetnog djelovanja na zdravlje, ostaci lijekova također mogu utjecati i na proizvodnju prerađevina od tretiranih životinja. Naprimjer, meso i mlijeko tretirano antibioticima neće dati istu kvalitetu fermentiranih proizvoda kao i netretirani proizvodi zbog uništavanja dijela ili kompletног inokuluma za fermentaciju. Stoga se mlijeko s ostacima antibiotika ne smije koristiti (niti prihvati u mljekare) za proizvodnju fermentiranih mliječnih proizvoda, jer bi usporili ili čak zaustavili fermentaciju, ovisno o koncentraciji i vrsti antibiotika.

Strategija smanjenja rizika

Životinje koje se uzgajaju za meso se određeno vrijeme (ovisno o vrsti lijeka) **prije usmrćivanja** ne smiju tretirati lijekovima. Kod životinja čiji se proizvodi koriste (proizvođači mlijeka i jaja) treba posebno **oprezno postupati kod liječenja**, odnosno prema potrebi **odbaciti** njihove proizvode ili ih **iskoristiti na druge načine**.

6. 3. Toksini biljnog porijekla

Većina biljaka koje se koriste u ljudskoj prehrani proizvodi tvari koje se nazivaju biljnim ili prirodnim pesticidima, kao zaštitu od patogena i herbivora. Riječ je o velikom broju različitih hemijskih spojeva (alkaloidi, glukozinolati, cijanogeni glikozidi, aminokiseline, peptidi, terpenoidi, fenoli i slično), čije nakupljanje u biljnim tkivima potiče stres (izloženost herbicidima, oštećenje tkiva, hladnoća itd). Uobičajenom prehranom se unosi od 5.000-10.000 različitih biljnih spojeva i ukupan unos biljnih pesticida je otprilike **deset hiljada puta viši** od unosa sintetskih. Za mnoge biljne pesticide je dokazano karcinogeno djelovanje ako se podvrgnu istim testovima kojima se podvrgavaju sintetski pesticidi prije autorizacije (npr. od otprilike 1.000 spojeva u kahvi, samo 30 je testirano na karcinogeni efekat, a od tih je 21 bio pozitivan). Mnogi od ovih spojeva su u stanju potaknuti tjelesne mehanizme zaštite i popravka, te mala i umjerena izloženost može imati sveukupan pozitivni efekat na ljudski organizam. Hermetička hipoteza bi mogla objasniti nesklad

između činjenice da voće i povrće sadrži veliki broj i količine prirodnih pesticida i rezultata brojnih epidemioloških studija koje su utvrdile da povećana konzumacija voća i povrća smanjuje rizik raka i drugih hroničnih bolesti. Općenito, uobičajena konzumacija najčešće ne dovodi do trovanja, dok su štetni efekti najčešće posljedica dugotrajne i/ili pretjerane konzumacije biljne namirnice, neuobičajeno visokih razina ili snažne toksičnosti određenog toksina ili pak nasljedne osjetljivosti na isti.

U nastavku su navedeni najznačajniji predstavnici, s obzirom na značaj u smislu raširenosti konzumacije i/ili toksičnosti.

Opće primjenjivi pristupi smanjenja rizika prilagođeni su specifičnom biljnom toksinu i uključuju:

- edukaciju i prehrambeno savjetovanje potrošača,
- propise koji zabranjuju proizvodnju ili distribuciju,
- te primjenu klasičnog križanja ili genetskog inženjeringu radi potiskivanja ili inhibicije određenog biosintetskog puta.

Lektini

Lektini su skupina **proteina** i **glikoproteina** koji imaju sposobnost **vezanja određenih ugljikohidrata**. Prije su se ovi biljni proteini nazivali i fitohemaglutininima, jer vezanjem za ugljikohidrate ćelijskog zida uzrokuju **aglutinaciju** (sljepljivanje u nakupine) eritrocita, te se koriste za **određivanje krvnih grupa**. Poznati lektini su PHA (phytohemagglutinin) iz graha, ricin iz ricinusa, WGA (wheat germ agglutinin) iz pšenice, PSA (pisum sativum agglutinin) iz graška, GNA (galanthus nivalis lectin or agglutinin) iz visibabe itd. Poradi njihovih pesticidnih efekata, genetskim inženjeringom se ispituje mogućnost pojačane produkcije nekih od navedenih i drugih lektina u poljoprivrednim kulturama (npr. duhan) radi zaštite od nematoda, pljesni i kukaca.

Izvori

Mahunarke (grah, grašak, soja, leća itd), krompir, paradajz, bobičasto voće, žitarice, orasi i slično.

Zdravstveni rizik

Mnogi proteini ove skupine su prilično otporni na razgradnju u probavnom traktu, što im povećava vjerojatnost štetnog efekta, ali i apsorpcije (endocitozom). Vežu se za ćelije epitela crijeva uzrokujući odumiranje tih ćelija, što rezultira probavnim tegobama (mučnina, povraćanje, proljev). Uočeno je i zaostajanje u rastu kod životinja hronično hranjenih nekuhanim mahunarkama. Također, utvrđena je prisutnost lektina u različitim organima tijela nakon unosa hranom, što pojedini autori povezuju s mogućnošću štetnih imunoloških (autoimune bolesti) i drugih toksičnih efekata i izvan probavnog trakta.

Strategija smanjenja rizika

Termičkom obradom (kuhanjem) se toksični efekti lektina poništavaju uslijed denaturacije proteinske molekule.

Oksalati

Soli oksalne kiseline u pojedinim se biljkama nalaze u velikim količinama, najčešće u obliku **topljivih** natrijevih ili kalijevih i **netopljivih** kalcijevih **soli**.

Izvori u hrani

Oksalata ima u špinatu, blitvi, kakau, rabarbari, zelenome čaju i drugo

Zdravstveni rizici

Oksalati vežu kalcij u **netopljivi kompleks** koji se ne apsorbira u probavnom traktu. Ukoliko biljna namirnica ima nepovoljan odnos kalcija i oksalata, konzumacija može znatno **umanjiti raspoloživost kalcija**. Pojedinci s nasljednom sklonošću povećane proizvodnje oksalata u metaboličkim reakcijama (zbog nedostatka enzima), imaju veći rizik stvaranja (oksalatnih) bubrežnih kamenaca. Ipak, čini se da je uloga oksalata iz hrane, koji predstavljaju samo 1/3 oksalata u mokraći, u tome procesu najvjerojatnije mala.

Strategija smanjenja rizika

Kuhanjem se može smanjiti količina topljivih oksalata u biljnoj hrani i za 90%. Utvrđeno je da pripravci klica žitarica sadrže **enzime**, koji efikasno razgrađuju oksalate, kao i da određene **probiotičke kulture** mogu razgraditi oksalat u probavnom traktu, prije apsorpcije. Uočeno je, također, da uzimanje suplemenata kalcija s hranom bogatom oksalatima može gotovo u potpunosti spriječiti apsorpciju oksalata. Osjetljivi pojedinci mogu smanjiti unos izvora oksalata, bez potrebe potpunog isključivanja pojedinih namirnica. Kod učestale konzumacije hrane bogate oksalatima, preporučuje se povećati unos hrane bogate kalcijem, poput mlijeka i mliječnih proizvoda ili morskih plodova.

Fitati

Fitati su **soli fitinske kiseline (heksafosfoinozitol)**, najčešće povezane s kationima kalija, kalcija ili magnezija.

Izvori u hrani

Sjemenke žitarica (naročito pšenične mekinje) i **mahunarke** (soja, grah, slanutak, leća, itd) najvažniji su izvori fitata. Čine i do 85% ukupnoga fosfora pojedinih biljnih namirnica. Prouzrokuju **smanjenu apsorpciju minerala** (naročito cinka i bakra) iz hrane, zbog stvaranja netopljivih sa fitatom. Laboratorijskim ispitivanjima utvrđena je i mogućnost nespecifičnih interakcija sa **bjelančevinama i škrobom**, uključujući **inhibiciju probavnih enzima** (tripsin, pepsin, α -amilaza, β -glukozidaza i sl), iako je zabilježen slab efekat u realnim uvjetima u probavnom traktu.

Strategija smanjenja rizika

Slično preporukama kod unosa oksalata, nutricionistički pristupi u sprječavanje slabe apsorpcije minerala iz hrane uključuju savjete u vezi s unosom gore navedenih namirnica bogatih fitatima. Fitati su **termostabilni** i **vodotopljivi** pa se među efikasne metode njihova uklanjanja iz hrane ubrajaju:

- germinacija,

- fermentacija,
- primjena specijalnih enzimskih pripravaka,
- te namakanje i kuhanje u vodi.

Tanini

Tanini su heterogena skupina **polifenola**, tj. polimernih flavonoida, raširena u biljkama. Dobili su ime prema upotrebi u **štavljenju kože** (eng. tan=štaviti) i sposobnosti vezanja za **bjelančevine**, čineći kožu otpornom na truhljenje. Obično stvaraju opori, suhi osjet u ustima.

Izvori u hrani

Tanini se mogu pronaći u čaju, kahvi, kakau, vinu, voću (naročito nezrelom), povrću, te nekim žitaricama (sirak) i vrstama tamnih piva koje se od njih proizvode. Obojeno voće, povrće i žitarice mogu sadržavati od 2 do čak 8% tanina.

Tanini vežu **metalne ione i bjelančevine u neprobavljive komplekse**. Uočeno je da domaće životinje imaju niže stope rasta i oštećenja probavnoga trakta kod razine tanina u krmivu do 5%, dok više razine mogu djelovati letalno. Kod ljudi je utvrđeno da konzumacija velikih količina (npr. prilikom žvakanja listova betel oraha (Daleki istok), koje sadrži 11-26% tanina) povećava rizik razvoja raka usta i ždrijela. Neke su epidemiološke studije utvrdile veći rizik raka (jednjak) kod hroničnog, neuobičajeno visokog unosa. Istovremeno, umjeren unos (npr. pijenjem zelenoga čaja) povezan je s nizom pozitivnih efekata na zdravlje, uključujući manji rizik raka.

Strategija smanjenja rizika

Rizik vezan uz pretjeranu izloženost taninima mogu smanjiti **tehnološki postupci** u obradi hrane, naročito dječijih kašica. Naprimjer:

- tretman namirnica tanazom (enzim koji razgrađuje tanine),
- mljevenje žitarica uz odvajanje ovojnica zrna (mehkinja) u kojoj se nalazi najveći udio tanina,
- ekstrakcija (kiselim ili baznim otopinama),
- namakanje,
- kuhanje,
- germinacija i drugo.

Inhibitori enzima

Najvažniji predstavnici su inhibitori **proteaza** (inhibitori tripsina, kimotripsina) i **holinesteraza** (enzimi koji sudjeluju u prijenosu živčanog signala, naročito acetilholinesteraza). Postoje i inhibitori **amilaza i lipaza**. Najčešće je riječ o **malim bjelančevinastim molekulama** (inhibitori proteaza, lipaza i amilaza), dok su inhibitori holinesteraza **alkaloidni spojevi**, poput fizostigmina i solanumalkaloida.

Izvori u hrani

Najvažniji izvori inhibitora probavnih enzima (proteaze, amilaze, lipaze) su **mahunarke**, naročito soja, te **žitarice**. Inhibitori se mogu pronaći i u drugim namirnicama (meso,

mlijeko, jaja, krompir), koje mogu značajno doprinijeti ukupnom unosu. Fizostigmin se može pronaći u jednoj vrsti afričkog graha, dok solanumglikoalkaloide (solanin, kakonin i drugo) sadrže krompir, paradajz i patlidžan. Najviše alkaloida sadrže krompirove klice, iskljiali krompir, te zeleni, nezreli plodovi ili gomolji gore navedenih vrsta.

Inhibitori probavnih enzima stvaraju inaktivne, neprobavljive komplekse sa enzimima, umanjujući iskorištenje proteina iz hrane. Uočen je usporen rast pokusnih životinja hranjenih sirovim mahunarkama, pri čemu dugotrajna izloženost može izazvati **hipertrofiju** (povećanje organa zbog povećanja volumena ćelija) i **hiperplaziju** (povećanje organa zbog povećanja broja ćelija) gušterače u pokušaju kompenzacije enzimske inhibicije. Hroničnim izlaganjem visokim koncentracijama ti su procesi doveli do raka gušterače pokusnih životinja.

Procijenjeno je, pak, da je rizik od inhibitora probavnih enzima u ljudskoj prehrani mali. Inhibitori holinesteraza izazivaju gastrointestinalne i neurološke poremećaje (povraćanje, proljev, bolovi u stomaku, mučnina, vrtoglavica, glavobolja itd). Moguće je smrtonosan ishod kod visokih doza.

Strategija smanjenja rizika

Termički tretman efikasno razara veliku većinu inhibitora probavnih enzima. Naprimjer, kuhanje mahunarki u vrućoj vodi 30-60 minuta, smanjiće aktivnost inhibitora proteaza za oko 90%.

Solanumalkaloidi otporni su na termičku obradu, iako postoje naznake da bi prženje krompirci u ulju moglo značajno smanjiti udio glikoalkaloida zbog njihove topljivosti u mastima.

Trovanja su rijetka zbog:

- slabe apsorpcije glikoalkaloida,
- hidrolize na manje toksične aglikone (solanidin),
- te brzog metabolizma i izlučivanja iz organizma.

Također, nove sorte krompira rutinski se testiraju na sadržaj tih spojeva, koji ne bi trebao prelaziti zadanu marginu (20 mg/100 g). Uvjeti skladištenja krompira također utječu na sintezu glikoalkaloida, koju svjetlost i toplina brzo i snažno povisuju. Ne preporučuje se korištenje iskljiljih, zelenih krompira u pripremi hrane i guljenje krompira treba biti neštedljivo, jer se najviše glikoalkaloida nalazi upravo u sloju odmah ispod pokožice.

Cijanogeni glikozidi

Toksikanti te skupine imaju svojstvo **oslobađanja cijanovodonika** (HCN), najčešće **enzimskom hidrolizom**. Enzimi se nalaze u biljnome tkivu, fizički odvojeni od supstrata i tek oštećenjem biljnoga tkiva, tokom obrade ili konzumacije, dolazi do dodira enzima i supstrata, te procesa cijanogeneze. **Kiselinska hidroliza** također je moguća. Najznačajniji predstavnici su amigdalin, linamarin, prunasin, durin i drugo.

Izvori u hrani

Biljne namirnice u kojima se mogu pronaći ti spojevi su grah, sijerak, gorki bademi, sjemenke voća (marelica, breskva, jabuka), sjemenke lana, korijen kasave, sjemenke cikas palmi itd.

Osim konzumacijom specifičnih tropskih biljaka, potencijal izloženosti visokim razinama relativno je mali, te se u razvijenim zemljama svodi na sporadične slučajeve (dječija konzumacija sjemenki voća, eksperimentiranje s ljekovitim pripravcima i slično). Simptomi akutnog i hroničnog (naročito konzumacijom kasave u tropskim područjima) unosa uključuju probavne i neurološke poremećaje (paraliza, sljepoća), metaboličku acidozu, pri čemu trovanje može završiti i smrću.

Razgradnjom cijanida u organizmu nastaje **tiocijanat**, koji je **goitrogen** (izaziva gušavost) i rizik je naročito povećan kod istodobnog nedostatka joda.

Strategija smanjenja rizika

Uobičajeni **postupci obrade hrane** (namakanje, kuhanje), te naročito **fermentacija** mogu značajno smanjiti rizik trovanja kod dugotrajne konzumacije relevantnih namirnica. Razvijene su i uspješne metode **ekstrakcije** cijanogenih glikozida iz lanenog brašna otapalima. Adekvatna prehrana visokovrijednim bjelančevinama također smanjuje rizik zbog poticanja netoksičnog metabolizma (aminokiseline sa sumporom reagiraju s cijanovodonikom uz nastanak neškodljivog spoja).

Goitrogene materije

Najvažnije skupine tvari koje izazivaju **gušavost** su **glukozinolati, izoflavoni** (genistein i daidzein), te ranije spomenuti **cijanogeni glikozidi**. Glukozinolati i cijanogeni glikozidi (vidi gore), tek razgradnjom daju potencijalno štetne spojeve. Šećerni dio glukozinolata odvaja se od početne molekule enzimom (mirozinaza, tj. tioglukozidaza) kojeg sadrži ista biljka, ali tek oštećenjem biljnog tkiva dolazi u kontakt sa supstratom. Dalnjim reakcijama nastaju nitrili, izotiocijanati, tiocijanati i oksazolidini.

Izvori u hrani

Izvori glukozinolata su kruciferno povrće (porodica Brassicaceae ili kupusnjače, poput kupusa, kelja, cvjetače, brokule, prokulice, raštike, potočarke itd), hren, gorušica, uljana repica. Najvažniji izvor izoflavona je soja, dok su izvori u hrani cijanogenih glikozida navedeni u prethodnom poglavlju.

Poremećaji funkcije štitnjače i gušavost mogu uslijediti zbog inhibicije nakupljanja joda u štitnjači (izotiocijanati, tiocijanati, nitrili) ili zbog inhibicije sinteze hormona štitnjače (oksazolidini, izoflavoni). Goitrogeni efekti glukozinolata i izoflavona uočeni su na domaćim i eksperimentalnim životinjama, ali nema kliničkih studija koje su utvrdile slično na ljudima. Jedna je epidemiološka studija utvrdila vezu između višeg unosa izoflavona soje i raka štitnjače. Posebno osjetljive na goitrogene mogle bi biti osobe s genetskom predispozicijom, koja rezultira smanjenim nakupljanjem joda u štitnjači ili hipotireoidizmom (smanjeno lučenje hormona štitnjače).

Strategija smanjenja rizika

Osobama s deficitom tiroïdnih hormona preporučuje se ne pretjerivati s unosom sojinih proizvoda i krucifernog povrća, iako ih nema potrebe ni potpuno izbjegavati. Uočeno je da **stres** različitog porijekla (od mehaničkih oštećenja do UV zračenja) može povisiti koncentraciju glukozinolata u biljnim namirnicama nakon berbe. **Usitnjavanjem** hrane

značajno se povećava razina produkata glukozinolata u povrću, dok uobičajene **metode obrade i pripreme hrane**, naročito kuhanje, znatno snižavaju izloženost tim vodotopljivim spojevima i njihovim produktima zbog zaostajanja u vodi, razgradnje ili isparavanja hlapljivih produkata na visokoj temperaturi i termičke inaktivacije mirozinaze. Fermentacija (kupus) prouzrokuje potpunu hidrolizu glukozinolata nakon dvije sedmice. Utvrđeno je i da čuvanje u hladnjaku ili zamrzivaču mijenja metabolizam tih spojeva, pri čemu odmrzavanjem dolazi do razgradnje glukozinolata.

Pirimidini iz boba

Vicin i konvicin su spojevi pirimidinske građe povezani s molekulama šećera. Hidrolizom glikozida nastaju divicin i izouramil, koji su nositelji potencijalno štetnih svojstava boba.

Izvori u hrani

Izvor pirimidina je **bob** (*Vicia faba*), vrsta mahunarke. Navedeni spojevi izazivaju potencijalno smrtonosni favizam, tj. hemolitičku anemiju (odumiranje eritrocita) kod osjetljivih pojedinaca, zbog poticanja oksidativnoga stresa. **Osjetljivost** podrazumijeva genetsku predispoziciju, tj. nasljedni **nedostatak enzima glukoza-6-fosfat dehidrogenaze**, važnog u zaštiti od oksidativnoga stresa. Predispozicija je češća među sredozemnim populacijama, zbog toga što ujedno predstavlja zaštitu od parazita uzročnika malarije (*Plasmodium falciparum*), kojemu je navedeni enzim potreban za preživljavanje u eritrocitima domaćina. **Favizam** najčešće pogađa (mušku) djecu zbog konzumacije sirovih, mladih zrna, jer su mekana i slatka.

Djeca i starije osobe podložnije su favizmu i zbog **manje kiselosti želučanog soka**.

Strategija smanjenja rizika

Nedozrela zrna boba, koja često konzumira dječija populacija, ima najviše razine enzima koji razgrađuje glikozide (β -glukozidaza) i oslobađa toksične pirimidine. Taj enzim inaktivira **kuhanje, sušenje** zrna, te **želučana kiselina**. **Ekstrakcija zrna** (1% sirčetna kiselina) ili **mokra meljava** pokazale su se vrlo efikasnim u uklanjanju vicina i konvicina. Uzgojene su i sorte boba s izuzetno niskom razinom tih spojeva.

Vazoaktivni amini

Tiramin, adrenalin, noradrenalin, feniletilamin, dopamin, dihidroksifenilalanin (DOPA), serotonin itd, nastaju razgradnjom aminokiselina.

Izvori u hrani

Prezrelo (fermentirano) voće i povrće, naročito banana, avokado, ananas, paradajz, te bob među najvećim su izvorima vazoaktivnih amina.

Strategija smanjenja rizika

Uobičajene **metode obrade i pripreme hrane**, naročito **kuhanje**, znatno snižavaju izloženost tim vodotopljivim spojevima i njihovim produktima zbog zaostajanja u vodi, razgradnje ili isparavanja hlapljivih produkata na visokoj temperaturi i termičke

inaktivacije mirozinaze. **Fermentacija** (kupus) prouzrokuje potpunu hidrolizu glukozinolata nakon dvije sedmice.

Utvrđeno je i da **čuvanje u hladnjaku** ili **zamrzivaču** mijenja metabolizam tih spojeva, pri čemu odmrzavanjem dolazi do razgradnje glukozinolata.

6. 4. Toksini životinjskog porijekla

Slično biljkama, pojedine životinjske vrste koje se koriste u prehrani ljudi također proizvode i nakupljaju toksine u svom tkivu. Česti producenti toksina su naprimjer morski mukušci, rakovi, ribe i drugo, iako je većina opasnih organizama porijeklom iz tropskih krajeva i iznimno rijetko na meniju u Evropskim zemljama. Treba ipak naglasiti i mogućnost širenja tropskih vrsta u Jadranu, pristiglih migracijom ili prekookeanskim brodovima, uslijed klimatskih promjena itd. Instance sličnih procesa su već zabilježene. Poglavlje uključuje i tvari koje nastaju nepravilnim čuvanjem namirnica životinjskog porijekla (histamin), te nutrijente koji mogu izazivati štetne nuspojave pod određenim uvjetima. Ukoliko životinje same po sebi nisu otrovne, nego nakupljaju toksine iz organizama kojima se hrane (npr. algalni toksini koji uzrokuju paralitičko trovanje školjkašima) ili je riječ o simbiozi životinje i bakterija koje proizvode toksin (tetrodotoksin), takve tvari su obrađene u odgovarajućim poglavljima o algalnim (Biološki izvori, Algalni toksini) i bakterijskim toksinima (Biološki izvori, Bakterijski toksini).

Histamin

Nastaje reakcijama **dekarboksilacije histidina** tokom **bakterijske razgradnje bjelančevina**.

Izvori

Uglavnom u nepravilno uskladištenoj ribi i morskim plodovima: skuša, tuna, sardina, haringa, inćun itd.

Trovanje se naziva i **skombroidnim**, a histamin **skombrotoksinom** po porodici riba (Scombridae) koja je najčešći izvor histamina. Simptomi su ovisni o dozi i mogu uključivati probavne tegobe, promjene na koži i/ili neurološke poremećaje. Obzirom na sličnost tjelesne reakcije na histamin s onom kod alergije na hranu (uključujući liječenje simptoma antihistaminicima), česte su dijagnostičke pogreške. Ukoliko osoba ranije nije reagirala na istu namirnicu, simptomi su se javili kod nekoliko osoba koji su istu konzumirali, i ukoliko je visoka razina histamina u namirnici, može se isključiti alergijska reakcija na hranu.

Izloženost histaminu i rizik trovanja su najčešći kod populacija s **visokim unosom ribe**. Rizik je veći kod pojedinih osoba s **nasljednom predispozicijom** (nedostatka enzima koji ga razgrađuju i slično). Prehrana može znatno utjecati na osjetljivost histaminu. Moguće je pojačanje toksičnosti histamina ukoliko se s ribom istovremeno konzumiraju druge **fermentirane namirnice** (kiseli kupus, vino, pivo) bogate biogenim aminima (saurin, putrescin, kadaverin i drugo). **Biogeni amini** najvjerojatnije poboljšavaju apsorpciju i/ili inhibiraju metabolizam histamina. **Alkohol**, te **kiseline** poput sirčetne i limunske poboljšavaju apsorpciju histamina. Prehrana **bogata proteinima** potiče brojnost populacije proteolitičkih bakterija u crijevima, koje razgradnjom bjelančevina iz hrane dodatno

povećavaju sintezu histamina u crijevnom sadržaju. Također, korištenje lijekova poput izoniazida, antihistaminika i inhibitora monoaminoooksidaze može utjecati na osjetljivost na ovaj toksin.

Strategija smanjenja rizika

Riba s toksičnim sadržajem histamina **ne može se lako detektirati** na temelju **mirisa ili izgleda**, jer ponekad visoke razine ne prate nikakvi znakovi kvarenja. Najefikasnija prevencija je **brzo hlađenje** uhvaćene ribe, te skladištenje i obrada u **higijenskim uvjetima**. HACCP **načela** specificiranja vremenskih rokova i temperature na kritičnim kontrolnim tačkama tokom rukovanja ribom, kao i metode brze analize, pokazali su se djelotvornim u prevenciji kvarenja. Stoga se posljednjih godina većina incidenata povezuje sa sportskim ribolovom. Postoji niz standardnih i novih metoda sprječavanja razvoja bakterija (čuvanje u modificiranoj atmosferi, primjena konzervanasa, visokog pritiska, radioaktivnog zračenja, kao i kombinacije ovih metoda) ili primjene enzima koji razgrađuju histamin.

Avidin

Avidin je **bjelančevina** po hemijskoj građi.

Izvori

Bjelanjak jajeta. Ovaj najpoznatiji antivitamin veže **biotin** (vitamin H ili B7) u ireverzibilni kompleks neiskoristiv u probavnom traktu. Usljed toga postoji mogućnost nedostatka ovog vitamina hroničnim unosom sirovog bjelanjka, iako je zabilježeno malo slučajeva ovako uzrokovanih deficitima biotina.

Strategija smanjenja rizika

Pored edukacije potrošača o riziku, **termička obrada** jaja deaktivira avidin, jer dolazi do njegove denaturacije, tj. prevodenja u oblik koji ne može vezati biotin.

Prioni

Prioni su **bjelančevine** koje su **normalni dio neuroloških tkiva životinja**. Prionske bjelančevine su abnormalne strukture infektivnog karaktera, tj. u dodiru s normalnim prionskim proteinom, mogu ga prevesti u abnormalni oblik.

Izvori

Tkivo životinja oboljelih od **govede spongiformne encefalopatije** (eng. bovine spongiform encephalopathy, BSE) ili tzv. **kravlje ludila**. Postoje i indicije da su pojedini zabilježeni slučajevi infekcije uzrokovani konzumacijom **mozga divljih životinja**.

Infektivni prioni se ne razgrađuju u probavnom traktu, nego se apsorbiraju nepromijenjeni, te se putem krvi raspodjeljuju u moždano tkivo. Kontaktom s normalnim prionima, dovode do njihove konverzije i nakupljanja u obliku tzv. amiloidnih nakupina u moždanim ćelijama izazivajući njihovo odumiranje i simptome (progresivna demencija i drugo) bolesti poznatije kao nova varijanta Creutzfeldt-Jakobove bolesti. Ustanovljena je nasljedna osjetljivost na infekciju koja uključuje oko 40% bjelačke populacije.

Strategija smanjenja rizika

Širenje bolesti među stokom je posljedica korištenja **tkiva zaraženih životinja u proizvodnji krmiva**, te je važećim propisima zabranjeno korištenje bjelančevina životinjskog porijekla (uz neke iznimke poput mlijeka i proizvoda i slično) u hranidbi preživara. Hrvatska primjenjuje i niz drugih mjera s ciljem iskorjenjivanja svih transmisivnih.

6. 5. Toksini gljiva

Poglavlje je usredotočeno na toksine gljiva koje se beru u prirodi i najčešći problemi nastaju zbog zamjene jedne, jestive vrste, drugom, otrovnom. Najrelevatniji spojevi ove skupine (amatoksini, npr. α -amanitin) su po hemijskoj građi **ciklični peptidi**.

Izvori

Trovanje **zelenom pupavkom** (*Amanita phalloides*, na slici) čini 90-95% fatalnih slučajeva trovanja gljivama u Europi. Osim drugih *Amanita* vrsta (npr. bijela pupavka, *Amanita virosa*), amatoksine, falotoksine i virotoksine sadrže i *Lepiota*, te *Galerina* vrste. Rjeđa su trovanja orelaninom (rod *Cortinarius*), giromitrinom (*Gyromitra esculenta*), koprinom (*Coprinus atramentarius*) i drugo.

Većina toksina gljiva uzrokuje tek blage probavne smetnje. Obično, što je **duži vremenski razmak** između unosa i prvih simptoma, to je veća vjerojatnost **ozbiljne intoksikacije** s lošom prognozom.

Simptomi trovanja zelenom pupavkom se javljaju u dvije faze:

- 1) prva, gastrointestinalna, pripisuje se falotoksinima,
- 2) dok drugu, koja se javlja tek 3-5 dana poslije, uzrokuju amatoksini, koji su toksični u prvom redu za jetru i bubrege i više doze dovode do zatajenja njihove funkcije.

Simptomi trovanja orelaninom se javljaju i do dvije sedmice nakon konzumacije gljiva. Izaziva probavne tegobe, te zatajenje bubrega. Giromitrin je prvenstveno otovan za probavni trakt, ali izaziva i oštećenja jetre, te neurološke simptome unosom visokih doza. Koprin blokira enzime koji sudjeluju u razgradnji alkohola, te ima efekat sličan lijeku protiv alkoholizma, tzv. antabusu. Unos alkohola i do 72h nakon konzumacije gljive uzrokuje glavobolju, mučninu, povraćanje, tahikardiju itd.

Strategija smanjenja rizika

Određen broj vrsta su uvjetno jestive, što znači da se moraju **kuhati** prije konzumacije, pri čemu dolazi do termičke razgradnje ili otapanja toksina u vodi za kuhanje. Naprimjer, giromitrin i orelanin su termolabilni, dok su amatoksini, falotoksini i virotoksini otporni na visoke temperature. Kod komercijalnog uzgoja gljiva treba pripaziti na mogući rast otrovnih vrsta među jestivima. Razlozi opreza kod branja gljiva u divljini uključuju premale morfološke razlike između nekoliko vrsta otrovnih i jestivih gljiva, te promjenu morfoloških odlika mehaničkim oštećenjem ili okolišnim uvjetima.

6. 6. Mikotoksini

Mikotoksini su **toksini gljivica i pljesni** koji akutnim izlaganjem uzrokuju tzv. **mikotoksikoze**. Većina namirnica (kao i krmiva) je osjetljiva na kontaminaciju mikotoksinima s obzirom na sposobnost pljesni producenata mikotoksina da rastu na najrazličitijim supstratima, pri različitim uvjetima. Prisustvo, pak, pljesni u namirnici **ne znači** nužno prisutnost mikotoksina (ako pljesan nije dovoljno porasla), ali s druge strane, odsutnost pljesni, ne znači da nema mikotoksina, jer se mogu **zadržati** u supstratu dugo **nakon nestanka** pljesni.

Mikotoksini nastaju razvojem pljesni na žitnim poljima, tokom žetve, skladištenja ili tokom prerade i čuvanja, tj. uvijek kada su uvjeti za njihov rast i razvoj povoljni. (Mirić and Šobajić, 2002) Mikotoksini se **rijetko** pojavljuju **pojedinačno**, a dva ili više toksina zajedno mogu ispoljiti pojačan negativan efekat (Pasteiner, 1997).

Gljivice roda Fusarium uspijevaju na polju, te zahtjevaju visoku vlažnost zraka ($> 90\%$) i žitarica uz visoku temperaturu zraka ($> 23^{\circ}\text{C}$). (Lacey, 1990) Gljivice roda Aspergillus i Pencillium dobro uspijevaju u skladišnim uvjetima pri temperaturi između 10 i 15°C i vlažnosti žitarica između 14 i 18%. Mikotoksini se sporadično pojavljuju ovisno o klimatskim uvjetima. Parametri i okolišni uvjeti za nastanak mikotoksina su:

- pljesan (rod, vrsta, soj)
- voda i relativna vlažnost zraka
- temperatura u toku rasta biljke i tokom uskladištenja
- hranjiva podloga (supstrat, hranilište)
- oštećenost supstrata (zrna) i strane primjese (kukci)
- prethodna tretiranja određenim hemikalijama
- međumikrobno djelovanje

Ulazak mikotoksina u lanac ishrane

Mikotoksini u malim količinama predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi i životinja. Današnje precizne analitičke metode, toksikološka ispitivanja mikotoksina, ciljno praćenje unosa pojedinih mikotoksina, samo potvrđuju potencijalni rizik za zdravlje. Nedovoljan broj epidemioloških ispitivanja kod nas o povezivanju mikotoksina s posljedicama po zdravlje ljudi i životinja, kao i sinergističkom djelovanju raznih mikotoksina, ostavlja otvorena brojna pitanja. Unos mikotoksina ispod tolerantne dnevne količine ne znači i smanjenu opasnost po zdravlje čovjeka i životinja, posebno i zbog drugih štetnih materija koje se mogu naći uz mikotoksine.

Pljesni izlučuju mikotoksine **preko micelijuma** koji može da difunduje u dublje slojeve namirnica i da ih kontaminira. Bolesti koje izazivaju nazivaju se mikotoksikoze koje se ne prenose na ljude i životinje. U zavisnosti od **načina ulaska u lanac ishrane**, razlikuju se:

- direktne (primarne) i
- indirektne (sekundarne) mikotoksikoze

Primarne toksikoze kod ljudi uglavnom izaziva konzumiranje biljne hrane i mesnih proizvoda na kojima se razvila pljesan. Konzumiranje pljesnive stočne hrane može dovesti do primarnih toksikoza kod životinja sa razvojem različitih simptoma u zavisnost od vrste mikotoksina i njegove količine. Mikotoksin, koji domaće životinje unesu o organizam,

može biti metabolisan i nakon toga preći u mlijeko, mišiće i razne druge organe čime i oni postaju kontaminirani i mogu ugroziti ljudsko zdravlje.

Mikotoksini su **stabilni spojevi**, tako da se često nalaze u gotovom proizvodu koji je prošao tehnološku obradu. Oni se rijetko mogu uništiti tokom prerade, a po masi gotovog proizvoda se češće reduciraju i bolje rasporede. **Uzimanje uzoraka** predstavlja **najslabiju kariku u lancu**, što umanjuje primjenu razvijenih analitičkih metoda. Upravo zbog toga provode se istraživanja novih **analitičkih metoda** za određivanje mikotoksina, ali i istraživanja **prevencije** stvaraće pljesni, a time i mikotoksina. Jedan od priznatih pristupa prevencije je i **HACCP pristup**. Drugi način je upotreba **zaštitnih sredstava pesticida s ciljanim efektom**.

Ergot alkaloidi

Proizvodi ih gljivica **Claviceps purpurea** koja raste na ljski žita (raž). To su **derivati lisergične kiseline**: ergotamin, ergonovin, ergotoksin i drugo. Simptomi trovanja su: vrućica, grčevi, halucinacije, ludilo, smrt.

Aflatoksini

Aflatoksini su poznati mutageni, karcinogeni i teratogeni spojevi. Kontaminacija ovom pljesni može zahvatiti sve procese od uzgoja i žetve, preko uskladištenja (u uvjetima visoke vlažnosti) do prerade. Pojava aflatoksina uvjetovana je klimatskim prilikama, geografskim položajem, agrikulturalnim procesima i procesima prerade sirovina. Potrebna temperatura za sintezu aflatoksina je **12-40°C**, pH vrijednost između **3,0-8,0**. Optimalna pH vrijednost iznosi **6,0**. **Uklonjen kisik** iz namirnice može inhibirati formiranje AF.

Unos ovih spojeva u organizam u ekstremno malim količinama tokom dužeg vremenskog perioda može biti opasno po ljudsko zdravlje. Aflatoksine sintetizira ograničen broj sojeva pljesni iz roda Aspergillus, Penicillium i Fusarium.

Tri vrste roda Aspergillus odgovorne su za tvorbu ovih toksičnih metabolita ako se uzme u obzir kontaminacija namirnica. To su A. flavus, A. parasiticus i A. nomius.

Najvažniji prirodni predstavnici aflatoksina jesu aflatoksini **B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ i M₂**. **A. flavus** sintetizira aflatoksine B₁ i B₂, dok **A. parasiticus** i **A. nomius** proizvode aflatoksine G₁ i G₂. Aflatoksini M₁ i M₂ su **dihidroderivati** (roditeljskih) aflatoksina B₁ i B₂, tj. produkti su njihove biološke pretvorbe u **mliječnim žlijezdama** sisavaca hranjenih stočnom hranom koja je sadržavala aflatoksine spomenute B-skupine. Oni su izolirani iz mlijeka (stoga su i nazvani aflatoksinima M-skupine) takvih životinja i mogu se nalaziti u mlijeku i mliječnim proizvodima. Aflatoksini su **lipofilni, termostabilni spojevi, osjetljivi na UV-svetlo**. Četiri najznačajnija aflatoksina su B₁, B₂, G₁ i G₂, te hidroksilni derivati M₁ i M₂. Aflatoksini B i G se nalaze u **namirnicama biljnog porijekla** (kikiriki, kukuruz, pamučno sjeme, zob, pšenica, sezam, proizvodi od voća, jezgrasto voće, začini) i **stočnoj hrani**. Aflatoksini M₁ i M₂ se mogu naći u **jajima, mlijeku i tkivima životinja**.

Sva resorbovana količina aflatoksina dospijeva u **jetru**, odakle se 70-80% izlučuje u **žučne kanale** u nepromjenjenom obliku. **Toksično djelovanje se javlja nakon njihove metaboličke aktivacije dejstvom enzima mikrozomalnih oksidaza**. Isti mikrozomalni enzimi su uključeni u njihovu **detoksifikaciju**.

Njihov ukupan toksični efekat ovisi od:

- ravnoteže procesa vezivanja za proteine i pirimidinske i purinske baze i
- procesa glukuronske konjugacije.

Uzrokuju rak vezivanjem i oštećenjem DNA.

Fusarium toksini

Mikotoksične gljivice iz ovog roda pripadaju **gljivicama koje nastaju na poljima**. Fusarium toksini predstavljaju patogene koji često napadaju žitarice uzrokujući bolesti poput paleži klase pšenice i ječma i truleži klipa kukuruza. Kada gljivice **koloniziraju**, za žitarice postoji značajan rizik proizvodnje mikotoksina. (Placinta i sar, 1999) Ovim gljivicama su potrebne **niže temperature** za rast i proizvodnju mikotoksina, nego Aspergillus vrstama. Mikotoksični sojevi također mogu kontaminirati uskladištene žitarice ako su uvjeti temperature i vlage optimalni. Do danas je izolirano oko 150 mikotoksina iz gljivica roda Fusarium. (Wood, 1992) Popis uključuje trihotecene, zearalenon, moniform, fumonizine i fuzaričnu kiselinu.

Trihoteceni

Do sada je izolirano i karakterizirano 170 trihotecena koji se mogu na osnovu svoje hemijske strukture podijeliti u četiri skupine: **A, B, C i D**. Oni koji pripadaju grupi A i B najčešće se nalaze kao kontaminanti u hrani i to u pšenici, kukuruzu, ječmu i zobi, a mogu se nalaziti i u prerađenim proizvodima: brašnu, kukuruznim pahuljicama, hrani za dojenčad, sladu, pivu. Trihoteceni tipa A uključuju T-2 toksin, HT-2 toksin, neosolaniol, diacetoksiciprenol (DAS), dok tip B uključuje deoksinivalenol (DON) i nivalenon. Djelovanje trihotecena je višestruko: antibotsko, fitotoksično, citotoksično, nekrotoksično i inhibiraju sintezu proteina. Neki od ovih mikotoksina imaju kancerogeno djelovanje. (Placinta i sar, 1999)

Smatra se da je djelovanje T-2 toksina slijedeće: inhibicija sinteze proteina u ćelijama dovodi do povećanja koncentracije aminokiseline triptofana u krvi, a time i mozgu. Triptofan je prekursor serotoninu koji je važan medijator apetita, moćne koordinacije. (Smith i Seddon, 1998)

Deoksinivalenon se smatra jednim od manje toksičnih trihotecena, ali je veoma značajan jer je odgovoran za kontaminaciju hrane i krmiva širom svijeta.

Trenutne tehnike procesiranja hrane ne doprinose značajnoj redukciji i uklanjanju DON-a, u ljudskoj ili stočnoj hrani. **Kombinacija visokog pH** (10.0) i **visoke temperature** (100°C, 60 minuta; 120°C, 30 minuta) u vodenoj buffer otopini rezultirala je djelimičnim ili potpunim uništavanjem toksina. Tretman pšenice i kukuruza dozvoljenim **aditivima**, kao što je suhi ili voden tretman sulfitnim gasom i ozonom, također su istraženi. Voden natrijum bisulfat imao je u reakciji sa DON-om najveći reduksijski efekat proizvodeći derivat sulfonata koji je stabilan u kiseloj sredini (DON-S), ali u baznoj sredini ovaj derivat je nestabilan, hidrolizira i oslobađa DON.

Tokom pečenja hljeba, uslijed hidrolize derivata sulfonata DON-a, nivo toksina se povećao za 50-75%. Nivo DON-a u kukuruzu reducirano je za čak 95% **autoklaviranjem** na temperaturi 121°C, tokom 1 sata sa 8,33% otopinom natrijum bisulfita. Ovaj kukuruz je pomiješan s osnovnom hranom kojom su hranjene svinje, što indicira da ovaj tretman može biti održiva opcija u zavisnosti od kraja korištenja kontaminiranih žitarica. Uklanjanje

DON-a iz ječma **abrazivnim procesom mljevenja**, kako bi se dobila ječmena prekrupa, pokazao se kao metod koji značajno snižava nivo toksina.

Zearalenon

Proizvod je metabolizma **Fusarium roseum** i **Fusarium graminearum**, koje izazivaju trulež korijena i stabla kukuruza. Zearalenon je kristalna supstanca, nerastvorna u vodi, a rastvorna u alkoholu, eteru, benzolu itd.

Zearalenon spada u mikotoksine sa estrogenim i anaboličkim djelovanjem. U SAD-u se koristi kao anabolik i sredstvo za **ublažavanje menopauzalnih teškoća**. U koncentracijama manjim od 1 ppm imitira efekat ženskog hormona estrogena i uzokuje ispoljavanje ženskih obilježja. Više koncentracije interferiraju s ovulacijom, začećem, implantacijom i razvojem fetusa. Posljedica trovanja zearalenonom je smanjena reproduktivnost i oplodna moć domaćih životinja i abortusi. (Vany i sar, 1994) Zearalenon ima i teratogeni efekat, jer se rađaju mладunci sa zadebljalim nogama koji brzo uginu. Veoma je toksičan. Dovoljno je 1-5 mg zearalenona/kg stočne hrane da bi se javili simptomi trovanja.

Fuzarična kiselina i vomitoksin (deoxsinivalenol) mogu djelovati **sinergistički** i tako umanjiti rast i uzimanje hrane. Zbog toga se koncentracije fuzarične kiseline moraju uvijek mjeriti prilikom pretrage na vomitoksin. (Smith i sar, 1997) Akutne doze fuzarične kiseline (200 mg/tjelesna masa) uzrokuju povraćanje i povišenu količinu triptofana i serotonina u mozgu. (Smith i MacDonald, 1991)

Ohratoksi

Ohratoksi su proizvodi metabolizma pljesni iz roda **Aspergillus** i **Penicillium** i prvi put su izolovani iz *P. ohraceus*. Izolovani su iz kukuruza, zobi, graha, kikirikija, suhog voća, a mogu se razvijati u širokom rasponu klimatskih uvjeta. Postoji više ohratoksa koji se razlikuju po radikalnu na položaju C₅.

Ohratoksin A i C su **toksičniji** od ohratoksa B. Osnovno djelovanje im je nefrotoksično. Smatra se da ohratoksi predstavljaju jedan od faktora rizika u etiologiji balkanske endemske nefropatije (bolest se javlja samo u nekim dijelovima Jugoslavije, Rumunije i Bugarske). Mehanizam njihovog djelovanja još nije objasnjen, ali se smatra da remete sintezu proteina.

Ohratoksin A je istovremeno hepatotoksičan i nefrotoksičan. Najzastupljeniji je u područjima sa **hladnom i vlažnom klimom**, te je vjerovatnije da će uzrokovati **hroničnu** nego akutnu toksičnost. (Blaney i Williams, 1991) Pojavljuje se na širokom spektru žitarica, a u Švedskoj i Danskoj je endemičan. Značajne koncentracije toksina se pojavljuju na temperaturi od 4°C. (Osweiler, 1992) Postoje sezonske varijacije u učestalosti pojavljivanja toksina, pa je npr. toksin bio prisutan od 1,4 do 28,4% uzoraka žitarica analiziranih u Velikoj Britaniji tokom različitih godina. (Lacey, 1990)

Ohratoksin A je letalan za pet do šest dana u koncentraciji od 1 mg/kg tjelesne mase. (Osweiller, 1992) Prema podacima iz više zemalja dnevni unos ohratoksa hranom je oko 16 ng/kg TM, što znači da je **prekoračen nivo kancerogenosti** (0,7-4,2 ng/kg TM).

Fumonizini

Fumonizini su grupa relativno skoro otkrivenih **Fusarium mikotoksina** (1988). Fumonizin **B₁** je znatno **toksičniji** od fumonizina **B₂**. Prepostavlja se da djeluju toksično preko inhibicije enzima. P. Scott (1993) navodi da se fumonizini mogu povezati sa rakom jednjaka kod ljudi (J. Afrika), dok kod štakora uzrokuju rak jetre, a kod svinja plućni endem. Posljednjih godina se pojavljuju izvješća o kontaminaciji evropskog, afričkog, azijskog, južnoameričkog kukuruza i životinjske hrane fuminozonom **B₁** kao najčešćim uzrokom kontaminacije. (Placinta i sar, 1999)

Fuminozini su relativno **stabilni mikotoksini** za koje još **nije pronađen efikasan način detoksikacije**.

Patulin

U početku se mislilo da patulin ima dobra antiotska svojstva, dok mu nije dokazana toksičnost. **Nestabilan** je, ali mu se **stabilnost povećava pri niskim pH** (voćni sokovi ga mogu sadržavati u količini do 1 mg/l, te se u voćnim sokovima najčešće i zahtijeva njegova kontrola). Toksičan je za mnoge organizme, ali njegov značaj za ljude još nije do kraja razjašnjen, a smatra se i da je kancerogen.

Strategija smanjenja rizika su srodne za sve mikotoksine, te će biti opisane u zajedničkom poglavljiju u nastavku.

Strategija smanjenja rizika

Redukciju prisustva mikotoksina u konačnom proizvodu moguće je postići primjenom niza specifičnih mjeri **dobre poljoprivredne prakse, dobre proizvođačke prakse, te HACCP načela**, koja uveliko olakšavaju nadzor i upravljanje ovim problemom.

Mjere se ukratko mogu podijeliti na:

- predžetvene (ili adekvatni postupci prije berbe odgovarajuće kulture),
- žetvene i
- posliježetvene.

Predžetveni postupci uključuju:

- odabir sorti otpornih na pljesni (križanjem ili genetskim inženjeringom), nadzor insekata (naročito važno za aflatoksine),
- rotaciju kultura (npr. *Fusarium* vrste mogu zaostati u tlu i inficirati istu ili srodnu kulturu slijedeće godine; stoga je umjesto žitarice, bolje posaditi krompir i druge vrste povrća koje nisu osjetljive na ove pljesni),
- ostaci uroda i stabljika mogu inficirati novozasađenu kulturu, pa ih je nužno zaorati ili ukloniti na drugi način,
- tempiranje sadnje/sjetve, tretman umjetnim gnojivima, irrigacija, minimizacija mehaničkog oštećenja biljke i slično, treba provoditi tako da ne izazovu stres biljci.

Žetvu/berbu treba planirati u vrijeme **niske vlažnosti**. Također, **izloženost suši** izaziva stres biljci i manju otpornost na patogene pljesni. Prilikom žetve/berbe treba izbjegavati **mehanička oštećenja uroda**. Transportna sredstva (kamioni, vagoni) trebaju biti suha i čista. Žito prije skladištenja treba **osušiti i prečistiti** standardnim postupcima, radi uklanjanja oštećenih zrna i stranih primjesa.

Posljednjetveni pristupi uključuju:

- skladištenje u odgovarajućim objektima uz održavanje vlage i temperature ispod propisanih za pojedinu žitaricu i
- dodatne metode nadzora razvoja pljesni: primjena dozvoljenih pesticida (fungicida, insekticida i rodenticida), konzervanasa poput propionske kiseline, gama zračenja, alternativnih materija (antioksidanasa, eteričnih ulja).

Dekontaminacija mikotoksina iz sirovina i namirnica je provediva, pri čemu postoje:

- 1) fizikalne,
- 2) hemijske i
- 3) biološke metode.

Fizikalne metode podrazumijevaju metode:

- prosijavanja i frakcioniranja zrna,
- sortiranje po boji, težini,
- pranje i razdvajanje po gustoći,
- vlažnu meljavu (uklanjanje vodotopljivih mikotoksina; lipofilni zaostaju u klici, vlaknima, glutenu),
- termička obrada (prženje, pečenje, ekstruzija),
- izlaganje sunčevom svjetlu (ulja),
- tretman mikrovalovima,
- te metode adsorpcije (adsorbenci se mogu dodavati krmivima, čime sprječavaju apsorpciju mikotoksina u probavnom traktu životinja; također je moguć tretman tekućih proizvoda; kao adsorbenci se koriste bentonit, HSCAS (hidrirani natrij kalcij aluminosilikat), glina, zeolit, polimerne smole, granulirani aktivni ugljen itd.).

Hemijske metode uključuju:

- nikstamalizacija (uklanjanje perikarpa zrna kuhanjem s baznom otopinom, ponekad u kombinaciji s proteazama, nepotpune efikasnosti),
- amonijacija (tretman gasovitim ili tekućim amonijakom, hidrolizira 99% aflatoksina),
- termički tretman i primjena reducirajućih šećera (detoksifikacija fumonizina inaktivacijom aminoskupine reakcijom neenzimatskog posmeđivanja),
- tretman bisulfitom (efikasan za aflatoksine),
- tretman vodikovim peroksidom i natrij bikarbonatom (efikasan za fumonizine),
- također ozon, NaCl i termički tretman, metilamin (trihtoceni) i drugo.

Biološke metode uključuju:

- pojedini mikroorganizmi (naročito mlječne bakterije, također, kvaci i pljesni, npr. *Trichosporon mycotoxinivorans*) imaju sposobnost razgradnje mikotoksina; pripravci odgovarajućih enzima se već nalaze na tržištu; uočeno je i vezanje mikotoksina za komponente čelijskog zida laktobacila i kvasaca, što bi moglo zamijeniti adsorbense na bazi gline u krmivima kao ekološki prihvatljivije rješenje; ekstrakt čelijskog zida bi mogao spriječiti apsorpciju mikotoksina u probavnom traktu;
- ujedno, dodaci prehrani (holin, metionin, vitamini, bjelančevine, antioksidansi, induktori metaboličkih enzima i drugo) bi mogli pomoći životnjama (i ljudima) u smanjenju toksičnosti uslijed izloženosti mikotoksinima.

6. 6. Materije koje nastaju tokom preraude hrane

Akrilamid

Akrilamid je dospio na novinske naslovnice 2002. godine kad je u Švedskoj izmjerena visokim razinama u pečenoj i prženoj hrani. Taj pronađak je pobudio zanimanje svih svjetskih organizacija koje se bave zdravljem i hranom, jer je još od 1994. godine stavljen na IARC-in popis **vjerovatnih karcinogena za ljudе**.

Izvori

Akrilamid u hrani nastaje **termičkom obradom** hrane **bogate ugljikohidratima i mastima**. **Maillardovom reakcijom asparagina i izvora karbonila** (reducirajući šećeri) nastaje u hrani bogatoj ugljikohidratima kod temperatura **iznad 120°C**. Iako se sam asparagin može termički konvertirati u akrilamid procesom dekarboksilacije i deaminacije, to se u praksi ne događa bez prisutnosti šećera. Osim Maillardovom reakcijom, postoji i nekoliko alternativnih mehanizama kojima može nastati:

- dehidratacija glicerola iz masti kod visokih temperatura (prženje),
- enzimatska dekarboksilacija asparagina,
- termička degradacija dipeptida karnozina iz mesa,
- te polipeptida iz brašna.

Ovi procesi zahtijevaju nešto višu temperaturu nego Maillardova reakcija.

Najviše količine su utvrđene u čipsu, prženim krompirićima, tostu, krekerima, žitaricama za doručak, kahvi, pekarskim proizvodima, kakao prahu. Od hrane koja najviše doprinosi unosu akrilamida mogu se izdvojiti termički tretirani produkti krompira, kahve i pekarski proizvodi, te ostali proizvodi od žitarica.

Zdravstveni rizik

Na eksperimentalnim životnjama, primjenom visokih doza, dokazano je njegovo karcinogeno i neurotoksično djelovanje. Toksičnost koja je dokazana kod miševa može se ekstrapolirati i na ljudе, iako su epidemiološke studije dale proturječne rezultate o vezi između povećanog unosa pržene hrane i učestalosti raka. Zbog toga količina akrilamida u hrani treba biti što je niže moguća u okviru mogućnosti (ALARA princip). Najosjetljiviji dio populacije su djeca i osobe sklone unosu velikih količina pržene hrane.

Strategija smanjenja rizika

Posljednjih godina intenzivno se istražuju metode za smanjivanje količine akrilamida u hrani. Najviše istraživanja je provedeno na prerađevinama krompira i žitarica. Utvrđeno je da limitirajući faktor za nastanak akrilamida nije asparagin, nego **šećeri** u hrani. Stoga se za redukciju nastanka akrilamida koriste sorte s promijenjenim hemijskim sastavom, odnosno ciljano se koriste sorte s **manje šećera**. Kod prženih prerađevin od krompira postoji više faktora na koje se može utjecati. Prilikom odabira sorti krompira pazi se na sadržaj šećera, a kod uzgoja se koristi **više azotnog gnojiva** koje pogoduje povećanju sadržaja proteina i smanjenju količine šećera. Postupak koji se može primijeniti u industriji je **blanširanje**, koje u kombinaciji s primjenom **organских kiselina** može smanjiti količinu akrilamida i do 70%. Zajedno djeluju na uklanjanju prekursora inhibirajući reakcije

sinteze. **Sušenjem** krompira prije prženja se također smanjuje količina akrilamida jer se skraćuje vrijeme potrebno za prženje. **Ključna tačka u kontroli** količine akrilamida je **temperatura prženja**, pa je **maksimalna** preporučena temperatura **175°C**. Ako je moguće, preporučuje se **vakuum prženje** koje snižava temperaturu prženja, a time i sadržaj akrilamida. Osim regulacijom temperature prženja, moguće je reducirati količinu akrilamida i odabirom **vrste ulja**, te **dodataka u ulju**. Dokazano je da polifenoli u ulju pogoduju smanjenju sadržaja akrilamida u gotovom proizvodu, a predloženi mehanizam djelovanja je vezanje akrilamida za polifenole. Kod proizvoda od žitarica količina asparagina ima znatno veću ulogu u nastajanju akrilamida, pa se shodno tome mogu koristiti žitarice sa smanjenom količinom proteina. U preradi fermentiranih proizvoda od žitarica (hljeb, peciva) preporučuje se **produženje fermentacije** ili **provodenje kisele fermentacije**, što može smanjiti količinu akrilamida i za 70%. Kod biskvita i krekeru se preporučuje zamjena amonij hidrogenkarbonata (NH_4HCO_3) s natrij hidrogenkarbonatom (NaHCO_3), te zamjena šećernih sirupa (glukozni ili fruktozni sirupi) sa saharozom.

Furan

Furan ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}$) je bezbojan, lahko hlapljiv ciklični eter s aromatskom jezgrom, te niskom tačkom ključanja na 31°C . U hrani se pojavljuje prirodno u vrlo niskim koncentracijama, a može i nastati Maillardovim reakcijama. Nakon toksikoloških testiranja na miševima i štakorima, dokazana je njegova karcinogenost, te ga je IARC 1995. godine svrstala u **moguće humane karcinogene**. FDA i EFSA su 2004. godine objavile izvješća o učestalosti furana u hrani i od tada se detaljno prati.

Izvori

Furan može biti prirodno prisutan u hrani u vrlo niskim koncentracijama gdje se smatra odgovornim za aromu hrane zbog svoje lahke hlapljivosti. U višim, štetnim koncentracijama može u hrani nastati iz najrazličitijih izvora:

- termalna degradacija, odnosno Maillardova reakcija, reducirajućih šećera, samih ili uz prisutnost aminokiselina,
- termalna degradacija određenih aminokiselina ili
- termalna oksidacija askorbinske kiseline, polinezasićenih masnih kiselina ili karotenoida.

Primarni izvor furana u hrani je degradacija šećera (iako reakcija oksidacije askorbinske kiseline ima viši stepen konverzije) zbog većeg udjela u hemijskom sastavu hrane. Najviše koncentracije furana zabilježene su u kahvi, umaku od soje, karameli, hidroliziranim biljnim proteinima, te dječijoj hrani. Pronađen je i u konzerviranom povrću, voću, mesu, umacima, te pivu. Odrasle osobe najviše furana unose putem kahve, a djeca putem dječije hrane. Kod češće izloženosti nakuplja se u jetri, gdje biotransformacijom nastaju toksični, tj. karcinogeni produkti. Na eksperimentalnim životnjama izloženim furanu dokazana je karcinogenost, naročito rak jetre i bubrega.

Strategija smanjenja rizika

Postoji nekoliko načina za smanjenje količine furana u hrani. Ne može se značajno utjecati na izvore furana, jer može nastati iz različitih izvora hranjivih tvari. Može se pokušati mijenjati sam proces proizvodnje ili da se naknadno uklanja nakon proizvodnje.

Pod promjenama u samom procesu proizvodnje podrazumijeva se korištenje **nižih temperatura**, čime se smanjuje termalna oksidacija hranjivih tvari i tako njihova konverzija do furana. Kod hrane s puno masti ili pržene hrane **dodatak komercijalnih antioksidanasa** (tokoferol acetat) može reducirati količinu furana i do 70%.

Metode za uklanjanje već nastalog furana koriste njegovo svojstvo **niske tačke ključanja**. Tako se redukcija u tekućim namirnicama može provesti **kratkotrajnom destilacijom**, dok je za ostale namirnice moguća primjena termičke obrade kod nižih temperatura. Istraženo je smanjenje količine furana kod pripreme hrane u domaćinstvu, na primjeru gotovih umaka. Kod grijanja umaka u **mikrovalnim pećnicama** je došlo do znatno manje redukcije furana u odnosu na klasično grijanje u posudama. Također je dokazano da se udio furana u hrani poprilično reducira grijanjem hrane uz **energično miješanje**, čime se zapravo olakšava hlapljenje i izlaz furanovih para.

Heterociklični aromatski amini

Heterociklički aromatski amini (HAA) su **produkti Maillardove reakcije** koji nastaju kod povišene temperature. Općenito nastaju grijanjem organskih tvari koji sadrže azotne spojeve, uglavnom proteine. Mogu nastati i **aldolnom kondenzacijom** iz kreatina, slobodnih aminokiselina i heksoza ili **kondenzacijom kreatina** s aldehidima koji su prije reagirali s piridinom ili pirazinom (alkilpiridin slobodni radikal). Prvi puta su identificirani prije 30 godina kad su istraživači pokušavali identificirati karcinogene iz termički tretiranog mesa. Dijele se na dvije skupine:

- termički HAA i
- pirolitički HAA,

a razlika među njima je u temperaturi nastanka. Termički HAA nastaju na temperaturama od 100 do 300°C, dok pirolitički nastaju na temperaturama iznad 300°C.

Izvori

Kao i ostali produkti Maillardove reakcije, HAA nastaju **termičkim tretiranjem** hrane bogate bjelančevinama. Najviše ih nastaje upravo pečenjem i prženjem mesa, ribe i ostalih namirnica bogatih bjelančevinama. Za nastanak HAA su potrebni **kreatin** ili **kreatinin**, **slobodne aminokiseline** i **šećeri**. Najveće količine HAA se dobivaju prženjem hrane u tavi, zatim slijedi roštiljanje, prženje u dubokom ulju i pečenje, dok kuhanjem nastaju jako male količine ili uopće ne nastaju. Najviše ih nastaje u govedini, slijede piletina i svinjetina. Koncentracije HAA su najveće u zapečenoj kori mesa (vanjskom sloju), a u dubljim slojevima mesa, te u sredini ih ima jako malo ili ih uopće nema (ovisno o debljini mesa i uvjetima pečenja). Dio isparljivih HAA isparava, pa mogu ući u tijelo preko dima s pržene hrane. Istraživanjem je utvrđeno da količina nastalih HAA najviše ovisi o vremenu i temperaturi termičkog tretiranja i vrsti mesa (sadržaju prekursora za nastanak HAA). Potvrđeno je također da više HAA nastaje termičkom obradom mesa u odnosu na biljne i mlječne proizvode.

Nakon apsorpcije, HAA se razgrađuju u jetri, pri čemu mogu nastati genotoksični produkti ili se neutraliziraju i izbacuju iz organizma. Dvadesetak izoliranih HAA iz hrane imaju dokazano genotoksično djelovanje, a neki djeluju i karcinogeno prema istraživanjima na životinjama. Povezuju se s rakom prostate, dojke i debelog crijeva, ali i pluća (kod kuvara i domaćica koje su često izložene parama pečenog mesa).

Strategija smanjenja rizika

Da bi se smanjila količina HAA u hrani treba utjecati na **prekursore i uvjete** njihova nastanka. Uvjeti podrazumijevaju temperaturu i vrijeme termičkog tretiranja. Što su temperatura i vrijeme tretiranja niže, to se u konačnom proizvodu nalazi manje HAA. Stoga će **kuhanjem** nastajati znatno manje HAA nego roštiljanjem ili pečenjem mesa. Također, predtretmanom smrznutog mesa u **mikrovalnoj pećnici** uočeno je 90%-tno smanjenje nastanka ovih produkata, što bi se moglo pripisati otapanju prekursora (glukoza, kreatin, slobodne aminokiseline) i gubitku vodom. **Mariniranjem mesa**, najvjerovaljnije isto otapanjem prekursora, postiže se značajna redukcija HAA. Dodatak vitamina E i drugih antioksidanasa, polifenola i eteričnog ulja ružmarina, također reduciraju količine nastalih HAA nakon termičkog tretiranja. Smanjenje unosa HAA je moguće i fizičkim odstranjivanjem spaljenih dijelova hrane.

Kad se HAA već unesu, moguće je djelovati na njihovu apsorpciju istovremenim unosom određenih tvari. Pojedine namirnice, poput **crnog i zelenog čaja**, te **brokula** (sadrže flavonoide i glukozinolate), induciraju aktivnost detoksificirajućih enzima, što može djelovati na smanjenje škodljivog efekta HAA. Utvrđeno je i da prehrambena vlakna mogu smanjiti apsorpciju HAA u probavnom traktu.

Policiklični aromatski ugljikovodici

Izvori

Izvori PAH-ova u hrani se mogu podijeliti u dvije skupine:

- PAH-ovi iz neprerađene i
- PAH-ovi iz prerađene hrane.

Razlika između njih je ta da u neprocesiranoj hrani dolazi do kontaminacije s PAH-ovima iz okoliša, a u procesiranoj hrani nastaju tokom obrade. Kod prerađene hrane ključnu ulogu u nastanku PAH-ova ima hemijski sastav namirnice. PAH-ovi najlakše nastaju iz **ugljikohidrata bez prisustva kisika** (grijanjem škruba na 380°C nastaje 0,7 ppb benzo[a]pirena (BaP), dok na 650°C nastaje 17 ppb). Mogu nastati i iz **aminokiselina i masti**, ali trebaju znatno više temperature (gotovo da nema sinteze ispod 500°C). Kod **dimljenja** PAH-ovi nastaju zbog nepotpunog izgaranja i putem dima ulaze u dimljenu hranu. Raspon koncentracija ukupnih PAH-ova u dimljenom mesu kretao se između 2 i 30 ppb, a u dimljenoj ribi između 9 i 90 ppb. Osim dimljenjem, nastaju u značajnim količinama i roštiljanjem i prženjem hrane. Tokom tih procesa dolazi do pirolize masti, prilikom čega nastaju PAH-ovi. Najveće količine PAH-ova nastaju kod roštiljanja kad mast ima dodir s otvorenim plamenom. Kahva pržena na visokim temperaturama također je izvor PAH-ova, ali se prilikom pripremanja dobije razrijeđena vodena otopina, u kojoj se PAH-ovi slabo otapaju jer su nepolarni, pa ih zato u šoljici kuhanje kahve ima relativno malo. Iako su u navedenim namirnicama najveće zabilježene količine PAH-ova,

procjenjeno je da je ukupno najveći unos putem **žitarica** (otprilike 1/3) i **ulja** (također 1/3), zbog povećane zastupljenosti ovih skupina namirnica u prehrani. PAH-ovi u žitarice dospijevaju taloženjem iz zraka, kao i procesom sušenja žitarica prije skladištenja. Ulja sadrže povećane količine ukoliko su dobivena od sjemenki sušenih izravnim kontaktom s dimnim gasovima.

Zdravstveni rizik

BaP i 30-ak drugih spojeva su najtoksičniji predstavnici. **PAH-ovi postaju toksični tek procesom razgradnje u organizmu (tzv. metabolička aktivacija)**. Kod eksperimentalnih životinja je utvrđena imunotoksičnost, hepatotoksičnost i drugi efekti. Najvažniji, s obzirom na količine kojima su ljudi izloženi putem hrane, su reproduktivna i razvojna toksičnost, genotoksičnost, te karcinogenost. IARC ih svrstava u više grupa ovisno o jačini dokaza o karcinogenosti, pri čemu su BaP i nekolicina drugih spojeva svrstani u **skupinu dokazanih karcinogena za ljude**.

Strategija smanjenja rizika

Količina nastalih PAH-ova u hrani je funkcija **hemijeskog sastava i temperature** pa se reguliranjem tih uvjeta, njihove količine mogu značajno smanjiti u hrani. Kod dimljenja i roštiljanja važan je i odabir **drvra** s kojim se loži. Utvrđeno je da hrast, orah, jabuka i joha daju dim s manjim količinama PAH-ova, dok drvo zimzelenih vrsta, lješnjak, šljiva i topola proizvode velike količine PAH-ova. Također, primjena **tekućeg dima** značajno smanjuje količine PAH-ova u konačnim proizvodima. Kod proizvodnje se tekući dim podvrgava frakcioniranju i pročišćavanju i zbog toga sadrži znatno niže količine PAH-ova u odnosu na tradicionalno dobiven dim. Druga prednost korištenja tekućeg dima je ravnomjerna raspodjela okusa kroz proizvod. Istraživanja konzerviranih dimljenih riba pokazala su također da dolazi i do migracije PAH-ova iz ribe u ulje, a kasnije se potvrdilo da dio prelazi i u **ambalažu**. To se može smatrati pozitivnim svojstvom jer su to uglavnom dijelovi koji se ne konzumiraju, a smanjuju količine PAH-ova i do 71% u samom proizvodu. Kod hrane pripremljene na roštilju utvrđeno je da se količina PAH-ova povećava s povećanim udjelom masti u namirnicama, te dužim i bližim izlaganjem plamenu. Nasuprot tome, priprema hrane na električnim i plinskim roštiljima, te posebno dizajniranim roštiljima koji sprječavaju kapanje masti na otvoreni plamen, rezultirala je odsutnošću PAH-ova. Ukoliko su PAH-ovi dospjeli na biljne namirnice taloženjem iz zraka, temeljitim higijenom (pranjem) njihova količina se može smanjiti i do 50%.

Prilikom unosa PAH-ova u organizam moguće je djelovati na njihovu apsorpciju uravnoteženom prehranom. Istraživanjima je utvrđeno da prehrambena vlakna mogu smanjiti apsorpciju PAH-ova u probavnom traktu, a neki flavonoidi mogu inhibirati enzime koji su potrebni za metaboličku aktivaciju PAH-ova i aktivirati detoksificirajuće enzime.

Produkti oksidacije masti i ulja

Lipidi prolaze tri osnovne promjene tokom skladištenja i termičkog tretiranja:

- autooksidacija,
- termička oksidacija i

- termička polimerizacija.

Autooksidacija se odvija **ispod 100°C** uz prisutnost **enzima lipoksiigenaze** ili kod **izlaganja svjetlu i kisiku**. Prilikom prženja dolazi do ubrzanja procesa autooksidacije masnih kiselina (prvenstveno polinezasićenih), pri čemu nastaju reaktivni hidroperoksiđi. Oni su relativno stabilni kod sobne temperature ako nema prisutnih metalnih iona. Ali uz prisutnost metalnih iona i kod povišene temperature brzo dolazi do dekompozicije u konačne produkte poput aldehida, ketona, kiselina, estera, alkohola, kratkolančanih ugljikovodika, aromatskih spojeva, cikličnih masnih kiselina, polimera itd. Na oksidaciju ulja utječe:

- sastav masnih kiselina,
- način obrade ulja,
- količine prisutnih metalnih iona,
- temperatura i svjetlost,
- otopljeni kisik,
- antioksidansi i pigmenti.

Tri glavna koraka kod lipidne oksidacije su:

1) inicijacija, nastanak slobodnih alkilnih radikala,



2) propagacija, lančana reakcija slobodnih alkilnih radikala i peroksidnih radikala,



3) terminacija, nastanak neradikalnih produkata (alkoholi, aldehydi, ketoni, polimeri itd.).



Oksidaciji masti i ulja je podložna sva hrana koja ima **lipide** u svom sastavu. Što je veći udio masti u proizvodu, to je on podložniji oksidaciji, pa se oksidacije najviše odvijaju u čistim uljima i mastima, ali i prerađevinama koje su pripremljene s njima ili u njima (pržena hrana, hamburgeri, neki kolači). Zasićene masne kiseline (npr. iz maslaca) i masne kiseline koje sadrže jednu dvostruku vezu (npr. maslinovo ulje) znatno su otpornije prema djelovanju prooksidanasa nego polinezasićene masne kiseline (npr. sojino ulje).

Produkti oksidacije mogu poticati stvaranje karcinogena. Neki od produkata (hidroksinonenal, malondialdehid) dokazano se mogu vezati za DNA i zbog toga su mutageni i karcinogeni. Produktima oksidacije masti i ulja se također pripisuje irritacija gastrointestinalnog trakta, hepatotoksičnost i aterogenost. Epidemiološke studije ih povezuju s kardiovaskularnim bolestima, Parkinsonovom, te Alzheimerovom bolesti, iako nije još razjašnjeno da li su one uzrok ili posljedica ovih bolesti. Smanjenje rizika za individualnog potrošača najbolje se postiže izbjegavanjem pržene i masne hrane. U industriji se preporučuje češća zamjena masnoće za prženje, dodaci mastima i uljima koja se koriste za prženje (često već prisutni u specijalnim vrstama ulja i masti), te pravilno

skladištenje masti i ulja. Potrebno je paziti na faktore koji potječu nastanak slobodnih radikala i tako mogu ubrzati oksidaciju ulja i masti.

Pod **oksidativnom stabilnošću** ulja podrazumijeva se **otpornost na oksidaciju tokom prerade i skladištenja**. Otpornost na oksidaciju se može prikazati kao vrijeme koje je potrebno za kritičnu tačku oksidacije kod koje dolazi do senzorskih promjena ili naglog ubrzanja oksidacijskog procesa. Oksidativna stabilnost je važan indikator za određivanje kvalitete ulja i njegovog roka trajnosti. Oksidacija lipida smanjuje organoleptičku i nutritivnu vrijednost, jer nastaju toksični nusprodukti koji daju neprihvratljiv okus i miris, a uništavaju se esencijalne masne kiseline.

Utjecaj sastava masnih kiselina

Ulja s više **polinezasičenih masnih kiselina** brže oksidiraju. Kako se stepen zasićenosti povećava, brzina i količina novonastalih produkata oksidacije raste. Zato sojino i suncokretovo ulje, s visokim jodnim brojem (>130), čuvano na tamnom mjestu, sadrži značajno veće količine produkata oksidacije nego kokosovo ili palmino ulje s niskim jodnim brojem (<20).

Uvjeti prerade ulja

Metode prerade ulja utječu na oksidativnu stabilnost. Sirovo sojino ulje je najstabilnije na oksidaciju, slijede dezodorizirano, degumirano, rafinirano i izbjeljeno ulje. Viša stabilnost **nerafiniranog ulja** je zbog veće koncentracije tokoferola u odnosu na rafinirano ulje. Kod povišene temperature se ubrzava proces autooksidacije i dekompozicije hidroperoksida. Nastanak produkata autooksidacije je spor kod niskih temperatura skladištenja. Svjetlost **nižih talasnih dužina** (UV) ima štetniji efekat od svjetlosti viših talasnih dužina (vidljivo svjetlo). Zbog utjecaja svjetlosti važna je ambalaža u koju se ulje pakira. Prozirna plastika ubrzava autooksidaciju ulja. Da bi se to spriječilo, može se u takvu plastiku dodati **UV apsorber**, koji onda poboljšava oksidativnu stabilnost tako pakiranog ulja. Za oksidaciju ulja je potreban kisik, pa je oksidativna stabilnost ulja također ovisna o koncentraciji otopljenog kisika u ulju (topljivost kisika u ulju je veća nego u vodi). Da bi se spriječilo otapanje kisika u ulju, treba paziti da je zračni prostor iznad ulja što manji.

Mikrokomponente ulja

Jestiva ulja u sebi sadrže u tragovima slobodne masne kiseline, koje su podložnije autooksidaciji od esterificiranih masnih kiselina, pa one djeluju kao prooksidansi u jestivim uljima. Metali poput **željeza** ili **bakra** se također nalaze u uljima, a imaju snažno **prooksidativno djelovanje**. Nerafinirana ulja imaju relativno visoke količine metala, koja se smanje rafinacijom. Nerafinirano sojino ulje sadrži 13,2 ppb bakra i 2,8 ppm željeza, a nakon rafinacije ostaje 2,5 ppb bakra i 0,2 ppm željeza. Metali mogu direktno reagovati s lipidima i tako proizvoditi lipidne alkilne radikale. Bakar ubrzava razgradnju vodikovog peroksida i hidroperoksida 50 puta brže od Fe^{2+} i 100 puta brže od Fe^{3+} iona.



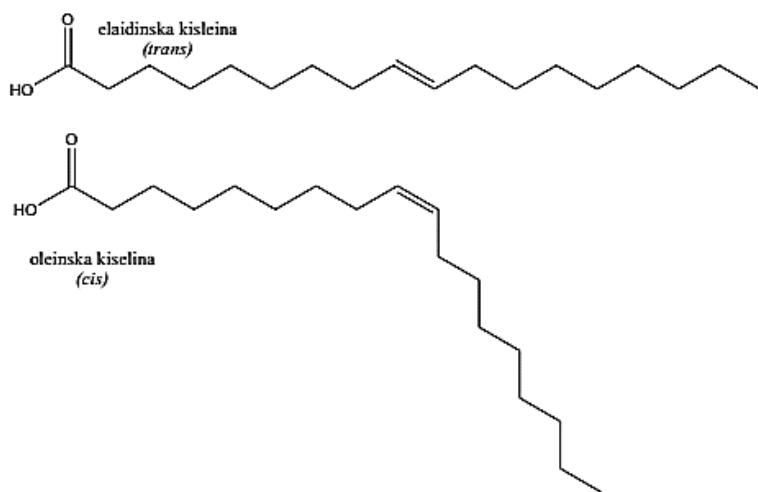
Neutralizacija utjecaja metalnih iona se može postići **sekvestrantima** (pentanatrijev i pentakalijev trifosfat), koji vežu metalne ione i tako ih čine neaktivnima. Hlorofil je česti

pigment u jestivim uljima. Djivičanska ulja sadrže 5-35 ppm hlorofila ovisno o vrsti ulja, koji se uklanja procesom rafinacije, pogotovo izbjeljivanjem. Hlorofil i njegovi razgradni produkti uz prisutnost svjetla djeluju prooksidativno, dok u mraku djeluju kao antioksidansi. Jestiva ulja prirodno sadrže i antioksidante poput tokoferola, karotenoida, fenolnih spojeva i sterola koji se u procesu rafinacije najvećim dijelom uklanaju. Antioksidansi mogu donirati vodikove atome slobodnim radikalima i tako ih konvertirati u stabilnije, neradikalne produkte.

Trans masne kiseline

Trans masne kiseline (TFA od eng. *trans fatty acids*) su masne kiseline koje u nezasićenom dijelu molekule imaju trans konfiguraciju umjesto uobičajene cis (slika). Mogu se prirodno pojavljivati u nekim životinjskim mastima, ali češće nastaju transformacijom iz nezasićenih cis orientiranih masnih kiselina. TFA ne nastaju kao konačni produkt kod niti jednog metaboličkog procesa u čovjeku, stoga sve TFA koje se nalaze u krvi i tkivu dolaze **iz prehrambenih izvora**. Postoji velik broj TFA izomera mono ili polinezasićenih masnih kiselina koji se pojavljuju u hrani, a tri glavna izvora su:

- bakterijska biotransformacija nezasićenih masnih kiselina u rumenu preživara,
- industrijska hidrogenacija i dezodorizacija nezasićenih biljnih (ili ribljih) ulja, i
- termička obrada ulja na visokim temperaturama.



Slika 20. Cis i trans masna kiselina

Izvori

Najviše prirodnih TFA ima u masti i mlijeku preživara, a pojavljuju se i u biljnim uljima u manjim količinama. Mliječna i goveđa mast u prosjeku sadrže 3-6% TFA, dok su količine u janjetini nešto više. Nekad su TFA bile stalni pratitelji margarina, ali promjenom procesa hidrogenacije, prisutnost je svedena na minimalne količine, pa tako variraju između 1 i 17%, dok margarini za kolače nešto više količine. Shodno tome, proizvodi koji sadrže hidrogenirana biljna ulja (kolači, biskvit, vaflji, lisnata tijesta, snack proizvodi, bomboni, dehidratisane juhe, žitarice za doručak) također sadrže TFA. Osim u procesu dehidrogenacije, mogu nastati i dezodorizacijom ulja, te kod termičke obrade masti i ulja.

Zbog toga su nadene u prženim prerađevinama od krompira u visokim koncentracijama, 20-40% ukupnih masnih kiselina.

Probava i apsorpcija TFA je slična kao i kod ostalih masnih kiselina. Prvenstveno se iskorištavaju u ćeliji za dobivanje energije. Utvrđena je veza između unosa TFA i povišenog LDL i nižeg HDL holesterola. Zbog toga se smatra da TFA povećavaju rizik od oboljenja kardizobkularnog sistema. Istraživanjima je također ustanovljena pozitivna korelacija unosa TFA s dijabetesom tipa 2, pri čemu su žene bile osjetljivije od muškaraca. Neka istraživanja su također potvrdila malu pozitivnu korelaciju povećanog unosa TFA s rakom dojke u postmenopauzalnoj dobi, te razvojem raka debelog crijeva u žena, ali ne i kod muškaraca.

Strategija smanjenja rizika

Poznavanje porijekla samih TFA važno je kod razvoja pristupa smanjenja rizika. Smatra se da je unos prirodno prisutnih TFA u granicama WHO preporuke od 1% ukupnog unosa energije. No, da bi se smanjio i unos prirodnih TFA, preporučuje se redukcija unosa masnoća (mlječna mast, loj).

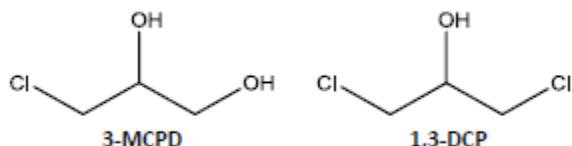
Industriji se preporučuje modifikacija procesa proizvodnje margarina da bi se smanjila količina TFA, a neke zemlje su potpuno zabranile korištenje parcijalno hidrogeniranih masti za prženje hrane. Kod **prženja** treba izbjegavati korištenje hidrogeniranih masnoća (margarini, šorteninzi) i polinezasićenih masnoća (suncokretovo, sojino, sezamovo, čičkovo ili riblje ulje). Korištenje **vakuum prženja, prženja na nižim temperaturama, te kraće vrijeme prženja** povoljno utječe na smanjenje količine TFA u konačnim proizvodima. Kod nekih proizvoda je moguća promjena receptura, odnosno promjena izvora masnoće.

Hlorpropanoli

Hlorpropanoli su produkti **glicerola** i **hloridne kiseline** koji nastaju na povišenim temperaturama. Najrelevantniji hlorpropanoli koji se nalaze u hrani su 3-monohloropropan-1,2-diol (3-MCPD, hlorohidrin, glicerol hlorohidrin) i 1,3-dihloro-2-propanol (1,3-DCP, dihlorhidrin, sim-glicerol, dihlorohidrin). Iako se pojavljuju u niskim koncentracijama, njihova karcinogena svojstva su glavni razlog za zabrinutost. Hlorpropanole najčešće povezuju sa sojinim umakom i kiselo hidroliziranim biljnim proteinima (A-HVP–od eng. acid-hydrolysed vegetable protein). Ovi toksikanti se pojavljuju u širokom spektru namirnica i teško ih je izbjegći u prehrani. 3-MCPD je prvo dokazan u A-HVP koji se koriste kod proizvodnje sojinog umaka, a istraživanjima je dokazano da nastaje samim procesom proizvodnje. Osim u sojinom **umaku**, A-HVP se koriste i kod proizvodnje umaka od oštiga i gotovih juha. Najviše ih ima u **sojinim proizvodima** podvrgnutim kiselinskoj hidrolizi, ali se suvremenim postupcima smanjuje njihova količina zahvaljujući modifikaciji uvjeta kiselinske hidrolize. Hlorpropanoli nastaju i pečenjem fermentiranih tijesta, gdje kod povišene temperature glicerol iz kvasaca reagira s hloridnim ionima. 3-MCPD predstavlja problem i u papirnoj industriji, gdje nastaje u procesu proizvodnje, a zatim može sa papira migrirati u hranu (kod čajnih vrećica i filtera za kahvu).

Prvi puta su zdravstveni rizici hloropropanola razmatrani 1993. godine na sastanku FAO/WHO gdje je zaključeno da bi količinu u hrani valjalo sniziti na najmanju moguću

razinu u okviru mogućnosti (ALARA princip). Postoji nekoliko razlika između toksičnosti 3-MCPD-a i 1,3-DCP-a. Ispitivanjem efekta visokih doza 3-MCPD-a na štakorima je ustanovljeno da nepovoljno djeluje na plodnost kod muške populacije, te remeti funkciju bubrega. Genotoksično djelovanje nije dokazano kod normalne izloženosti. Nasuprot tome, 1,3-DCP se smatra direktnim genotoksičnim, time i karcinogenim agensom, a dokazana je hepatotoksičnost i nefrotoksičnost viših doza za eksperimentalne životinje.



Slika 21. Hloropropanoli

Strategija smanjenja rizika

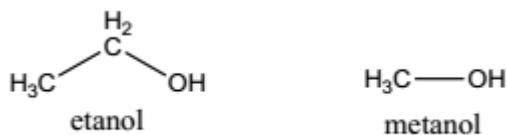
BiH pravilnikom definisane su najviše količine koje se smiju nalaziti u specifičnim namirnicama. Za 1,3-DCP nema propisanog limita, jer se to smatra neprikladno zbog njegove genotoksičnosti. Preventivno se može djelovati na redukciju nastanka promjenom uvjeta prerade hrane, iako to nije jednostavno postići, jer nastaju na različite načine u različitoj hrani. Općenito govoreći, faktori koji se moraju uzeti u obzir kod smanjenja količine hloropropanola su: pH, temperatura, vlaga i vrijeme prerade. Postupci uključuju:

- povišenje pH hrane s visokim sadržajem vlage,
- sniženje maksimalne temperature tretiranja i sadržaja soli hrane,
- izbjegavanje prerade hrane s niskom vlažnošću na visokoj temperaturi,
- limitiranje količine glicerola u hrani tokom pripreme i čuvanja,
- izbjegavanje korištenja parcijalnih glicerida kao aditiva,
- korištenje začinskih ekstrakata umjesto svježeg začinskog bilja,
- smanjenje mikrobiološkog onečišćenja termičkim tretmanom i
- inaktivaciju lipaza/esteraza.

Prilikom proizvodnje A-HVP preporučuje se modifikacija procesa hidrolize da bi se smanjila količina nastalih hloropropanola, ali utvrđeno je da nije moguće dobiti organoleptički prihvatljiv proizvod koji bi imao manje od 0,1 mg/kg 3-MCPD. Moguće je dodatno termičko tretiranje kiselinama nakon proizvodnje, čime se efikasno smanjuju količine hloropropanola ispod detektabilnih granica, a proizvod ostaje organoleptički prihvatljiv. Kod dimljenja je utvrđeno da dodatak 20% vapnenca (kalcijevog karbonata) u pelete za dimljenje značajno reducira nastanak hloropropanola u dimu, a time i u samim proizvodima. Također se pokazalo da reakcija natrijevog hidrogenkarbonata (soda bikrbona), te natrijevog karbonata s hlorpropanolima daje glicerol kao konačni produkt, ali nije još isprobana na realnim uzorcima hrane.

Alkoholi

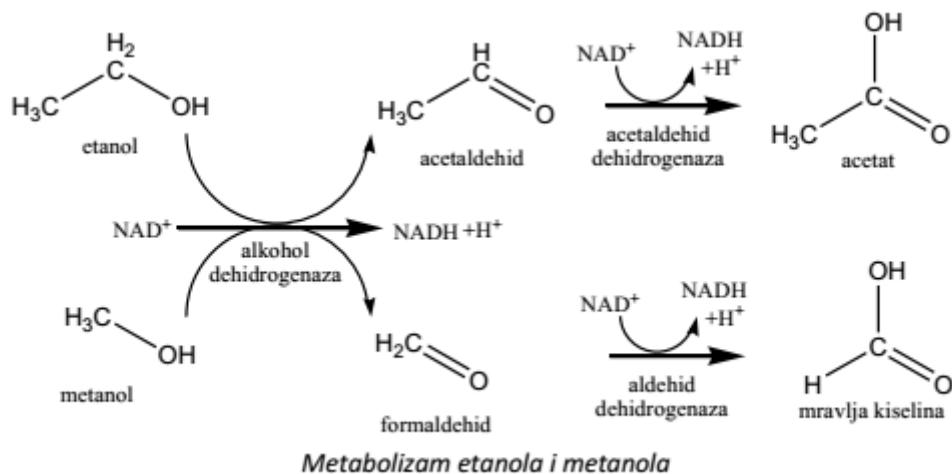
Najzastupljeniji alkoholi koji se pojavljuju u hrani su etanol i metanol (slika). Oba alkohola nastaju prirodnom fermentacijom, ali najviše se proizvode sintetski (metanol iz metana, etanol iz etilena).



Izvori

Etanol u hrani nastaje kao produkt **fermentacije** koja može biti namjerna ili uključena u proces mikrobiološkog kvarenja. Koristi se i kao **konzervans**. Svi značajni izvori etanola u hrani su dobro deklarisani i uključuju sve vrste alkoholnih pića. Manje količine nalaze se u kefiru i kumisu. Također nastaje mikrobiološkim kvarenjem džemova, pekmeza, marmelada i meda.

Metanol se namjerno dodaje u medicinske pripravke etanola kako bi se izbjegla moguća zloupotreba, a nastaje i prirodnom fermentacijom voća i povrća. Izvori metanola u hrani su prvenstveno krivotvorena i domaća žestoka alkoholna pića (tamo gdje se ne kontroliraju uvjeti destilacije), vino, voće i povrće, voćni sokovi, dijetalna pića. Osim navedenih izvora u hrani, umjetno sladilo **aspartam** razgradnjom u probavnom traktu oslobađa metanol, pa se i tako može indirektno unijeti u organizam.



Etanol se brzo i dobro apsorbira u gastrointestinalnom traktu. Metabolizira se u jetri u tri koraka:

- prvo se oksidira do acetaldehida,
- slijedi konverzija do acetata,
- koji se dalje metabolizira u ciklusu trikarbonskih kiselina (Krebsovom ciklusu) do CO₂ i vode uz nastanak energije.

Najvažnije posljedice učestalog izlaganja etanolu (alkoholizam) su oštećenje jetre (ciroza) i neurološki problemi (depresija CNS-a), iako uzrokuje štetu i gastrointestinalnom traktu, gušteraci, srcu i drugo.

Dokazan je i kao razvojni toksin, jer može izazvati tzv. fetalni alkoholni sindrom (FAS) (malformacija kostiju lobanje, smanjena porođajna težina, zaostatak u razvoju djece, oštećenja živčanog sistema i mentalna retardacija djece) prekomjernom konzumacijom alkohola tokom trudnoće. Istraživanjem je utvrđeno da se FAS pojavljuje kod otprilike 10% takvih trudnica, pri čemu je **osam pića sedmično granična vrijednost** ispod koje nema štetnog utjecaja.

IARC je klasificirala alkoholna pića kao karcinogena za ljude zbog direktnе veze unosa s rakom usne šupljine, ždrijela, grkljana, jednjaka i jetre, a povećava i rizik od raka želuca i debelog crijeva. Postoje osobe s nasljednim svojstvima (geni enzima koji razgrađuju alkohol i karcinogeni acetaldehid) koje su osjetljivije na karcinogena svojstva alkoholnih pića.

Također, osobe oboljele od hepatitisa bi prekomjernom konzumacijom alkohola, mogle imati veći rizik raka jetre. Etanol općenito djeluje sinergistički s drugim hepatotoksičnim supstancama. Metanol se dobro apsorbira u gastrointestinalnom traktu, ali se (za razliku od etanola) iz nepoznatih razloga nakuplja u predjelu oka. Alkohol dehidrogenaza razgrađuje i metanol, ali daje formaldehid koji se dalje može oksidirati do mravlje kiseline. Velike količine ovog produkta mogu izazvati metaboličku acidozu i kolaps fiziološkog sistema. Kod unosa toksične doze metanola javljaju se abdominalna bol, otežano disanje, a može uzrokovati i sljepilo.

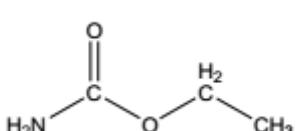
Strategija smanjenja rizika

Odgovorna potrošnja alkoholnih pića, pravilno skladištenje voća, povrća i njihovih prerađevina, pravilno vođenje fermentacije i destilacije alkoholnih pića uz kontrolu produkata.

Nedavno istraživanje utvrdilo je mogućnost **povećanja količine otopljenog kisika** u alkoholnim pićima, što bi ubrzalo oksidativni metabolizam alkohola u tijelu i vodilo redukciji simptoma karakterističnih za akutnu intoksikaciju i mamurluk.

Etanol može spriječiti štetne efekte metanola jer je kompetitivni inhibitor za alkohol dehidrogenazu za koju ima veći afinitet. Zbog toga se metanol ne stigne razgraditi do formijata, nego se najveći dio izluči urinom. Odgovarajuća opskrba **folatom** (vitamin B9) ubrzava razgradnju metanola.

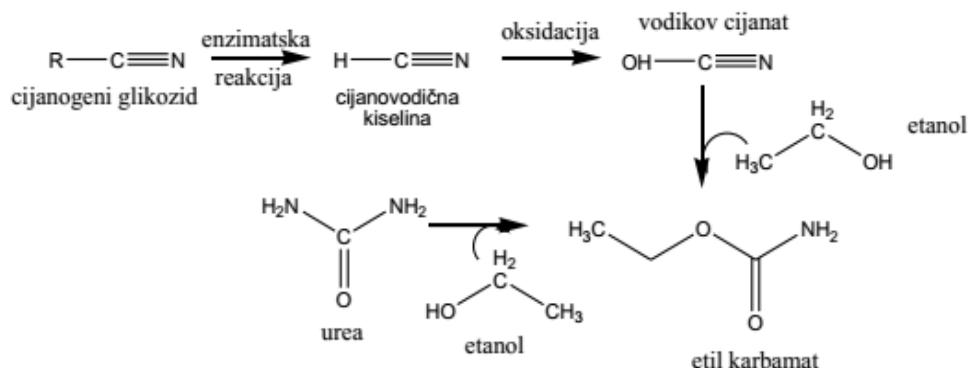
Etil karbamat



Slika 23. Etil karbamat

Etil karbamat ili uretan se nalazi prirodno u **fermentiranoj hrani**, gdje nastaje **reakcijom etanola s ureom ili cijanidom** (nastalim tokom fermentacije ili zaostalim na fermentiranim proizvodima-urea od gnojenja, cijanid iz voća). Cijanovodična kiselina i njene soli (cijanidi) su glavni prekursori etil karbamata.

Cijanidi su prirodno prisutni u koštuničavom voću (amigdalini), a otpuštaju se enzimskim procesima tokom dozrijevanja nakon branja.



Slika 24. Nastajanje etil karbamata

Drugi izvor etil karbamata je urea, koja može nastati razgradnjom aminokiseline arginina pomoću kvasaca, a zatim reagira s etanolom i tako daje etil karbamat.

Izvori

Etil karbamat je spoj koji nastaje u fermentiranoj hrani i pićima, kao što su žestoka alkoholna pića, vino, pivo, hljeb, umak od soje i jogurti. Najznačajniji izvor su alkoholna pića, naročito žestoka alkoholna pića, gdje se vrijednosti kreću od 600 do 1.500 µg/kg. U vinima je utvrđena srednja vrijednost od 10 do 32 µg/kg, s tim da su više koncentracije utvrđene u crnim vinima, dok je u pivu utvrđeno do 1 µg/kg. U voćnim rakijama najviše etil karbamata nastaje iz cijanogenih glikozida, dok je kod vina, piva i hljeba glavni izvor urea nastala iz arginina.

Istraživano je i više uzoraka hrane na prisutnost etil karbamata, ali detektibilne koncentracije su utvrđene samo kod pekarskih proizvoda (6 µg/kg) i sojinog umaka (3-4 µg/kg).

Etil karbamat se jako dobro apsorbira i metabolizmom prevodi u toksičniji spoj (**epoksid vinil karbamata**), koji je dokazano genotoksičan. IARC je 1974. godine stavila etil karbamat na popis tvari koje su mogući karcinogeni za ljude (grupa 2B). Nakon dodatnih istraživanja, 2007. godine je premješten u grupu tvari koje su **vjerovatni karcinogeni za ljude (grupa 2A)** uz napomenu da eksperimentalni dokazi ukazuju da postoji velika sličnost metaboličkih puteva aktivacije etil karbamata kod štakora i ljudi.

Strategija smanjenja rizika

Ključnu ulogu u prevenciji i kontroli količine etil karbamata je poznavanje glavnog prekursora za nastanak kao i utjecaj vanjskih uvjeta (kod žestokih alkoholnih pića) na sintezu. Za žestoka alkoholna pića se preporučuje skladištenje u tamnim prostorijama ili **sprječavanje utjecaja svjetlosti** pomoću tamnih boca i dodatnog pakovanja (u kartonsku ili metalnu ambalažu), te izbjegavanje **bakrenih cijevi** kod transporta. Kod vina treba koristiti čiste kulture kvasaca koje sintetiziraju manje količine uree, dok je uloga svjetla gotovo zanemariva. Urea nastaje kad vinski kvasac metabolizira arginin, glavnu, lahko dostupnu alfa-aminokiselinu u soku grožđa. Nastanak etil karbamata eksponencijalno raste

kod povišenih temperatura fermentacije. Osim kvaščevim metabolizmom, urea može u vino dospijeti i preko grožđa iz prekomjerno gnojenih vinograda. Osim u tehnologiji vina, iste preporuke glede čistih kultura kvasaca sa smanjenom sintezom uree, mogu se primijeniti i u pivarskoj, te pekarskoj industriji.

Posljednjih nekoliko godina se strogo kontroliraju sojevi kvasaca za fermentacije, pa se značajno smanjio udio etil karbamata u fermentiranim proizvodima, iako se može naći često u krivotvorenim i domaćim proizvodima, gdje se provodi nekontrolisana fermentacija.

Vazoaktivni amini

Tiramin i drugi vazoaktivni amini (biogeni amini koji djeluju na krvni pritisak) nastaju u procesu **razgradnje aminokiselina biljnog i životinjskog porijekla** (Biološki izvori, Toksikanti biljnog porijekla). Zbog načina nastanka razmatrani su kao markeri mikrobne kontaminacije i starosti hrane. Riječ je o spojevima koje organizam sisavaca može i sam sintetizirati i pomoću kojih regulira krvni pritisak.

Izvori

Vazoaktivni amini mogu nastati:

- fermentacijom,
- tokom prerade ili skladištenja hrane,
- termičkom ili enzimatskom dekarboksilacijom slobodnih aminokiselina.

Sva hrana koja ima visok sadržaj proteina i nije pravilno očišćena, prerađena ili skladištena, podložna je nastanku tiramina i vazoaktivnih amina. Najznačajniji izvori vazoaktivnih amina su odležani sirevi, fermentirani probiotički napici, starija crvena vina, pivo, fermentirane kobasice, riba i riblji proizvodi, ekstrakt kvasca, čokolada, kiseli kupus i fermentirani proizvodi od soje (tofu, umak od soje). Sirevi od pasteriziranog mlijeka imaju manje količine vazoaktivnih amina u odnosu na sreve od nepasteriziranog mlijeka. Stari i tvrdi siri često sadrže značajne količine vazoaktivnih amina (odležani kozji sir=2.000 mg/kg; kravlji sir=300 mg/kg), dok svježi i mehki siri obično imaju malo ili uopće nemaju detektabilnih vazoaktivnih amina. Osim u srevima, vazoaktivni amini nastaju i tokom proizvodnje fermentiranih mliječnih napitaka.

Zanimljivo je da nisu nađeni vazoaktivni amini u jogurtu i kefiru, za razliku od ostalih probiotičkih napitaka. Iako nove metode pakiranja produžuju trajnost mesa, nastanak vazoaktivnih amina je još uvijek moguć. Kod ribe nastaje više histamina, a manje tiramina.

Fermentirani mesni proizvodi ih također sadrže, a dodatak natrijevog sulfita je još i dodatno povećao njihovu akumulaciju (u fermentiranim kobasicama je utvrđeno 200 mg/kg tiramina). Fermentirane biljne namirnice poput kupusa ne pokazuju visoke količine akumuliranih vazoaktivnih amina, iako se uočava proporcionalno povišenje njihove količine svremenom čuvanja. Hrana bazirana na kakaovcu, poput čokolade, također sadrži tiramin i feniletilamin. Od voća se često spominje avokado, iako su istraživanjima utvrđene male količine vazoaktivnih amina u svježem avokadu.

Starenjem i nepravilnim skladištenjem avokado nakuplja određenu količinu ovih spojeva, koji mogu štetno djelovati tek nakon unosa velikih količina takvih namirnica ili proizvoda od njih.

Neki aromatski amini su poznati po svojem vazokonstriktornom djelovanju (tiramin, triptamin, feniletilamin), a drugi po vazodilatatornom djelovanju (histamin i serotonin). Tiramin se normalno sintetizira kod sisavaca i indirektno povisuje krvni pritisak. Monoamin oksidaza (MAO, prema nazivu, oksidira spojeve s jednom amino skupinom) razgrađuje egzogene i endogene vazoaktivne amine. Zbog široke rasprostranjenosti MAO u tijelu, vazoaktivni amini koji se unesu prehranom nemaju značajni utjecaj na krvni pritisak kod zdravih ljudi. U medicini se MAO inhibitori koriste u liječenju kliničke depresije, a ozbiljni nedostatak je to da takvi lijekovi povećavaju vjerojatnost štetnih hipertenzivnih reakcija u pacijenata. Trovanja vazoaktivnim aminima su moguća prvenstveno kada se uz njih unose i MAO inhibitori, alkohol i kod gastrointestinalnih bolesti.

Primjećeni simptomi su:

- povišeni pritisak,
- migrene i
- kod težih slučajeva, pucanje kapilara u mozgu i smrt.

Veza s migrenom kod zdravih osoba je ispitivana u više radova i većina dokaza ne ukazuje na povezanost između unosa vazoaktivnih amina i migrena, iako bi pojedinci mogli biti osjetljiviji zbog nasljednih osobina (niža aktivnost MAO enzima).

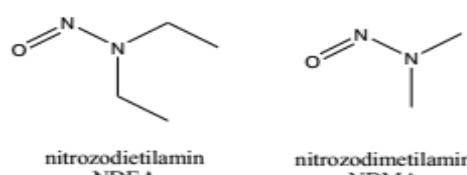
Strategija smanjenja rizika

Da bi se spriječio nastanak vazoaktivnih amina u mesu treba uvijek koristiti samo svježe meso dobre kvalitete, zbog čega je analiza količine vazoaktivnih amina predložena kao indeks svježine mesa (kao i kod ostalih namirnica). Najviše koncentracije tiramina su izmjerene u mesu koje je ili čuvano u nepovoljnim uvjetima ili je čuvano duže od deklariranog roka trajanja. Kod fermentiranih proizvoda uvijek se moraju koristiti čiste kulture, uz praćenje uvjeta fermentacije.

Nitrozamini

Nitrozamini su skupina spojeva koji nastaju **reakcijom nitrita sa sekundarnim i tercijarnim aminima u kiseloj sredini**.

Nitriti potječu iz sastojaka salamure (Prerada hrane, Tvari koje se namjerno dodaju) ili azotnih oksida nastalih tokom dimljenja ili sušenja sirovina i hrane izravnim dodirom s sagorijevnim gasovima, dok amina ima najviše u hrani bogatoj bjelančevinama.



Slika 25. NDEA I NDMA

Prvi puta se spominju kao toksikanti u hrani 1962. godine kada su ovce u Norveškoj uginule nakon konzumacije ribljeg brašna koje je bilo tretirano s nitritima. Nitrozamini su identificirani kao uzročni agensi, a najpoznatiji su nitrozodietilamin i nitrozodimetilamin.

Izvori

Najviše ih se može naći u suhomesnatim proizvodima, dimljenim proizvodima (meso, riba, sir), zelenom čaju, pićima od slada (pivo, viski) itd. Visoke količine u alkoholnim pićima (npr. tamnom ili dimljenom pivu, visku) značajno su snižene nakon **promjene procesa sušenja slada**. Reakcije nitrozacije se također odvijaju kod **povišene temperature**, npr. prilikom pečenja slanine ili šunke. Neki hlapivi nitrozamini nastaju spontano tokom dužeg skladištenja, a dio može migrirati i s gume (na ambalaži) koja je u kontaktu s hranom. Osim direktnim unosom, mogu nastati i reakcijom nitrita s aminima tokom probave.

Nitrozacija sekundarnih i tercijarnih amina se odvija kod kiselog pH, a najbrža je na pH 3,4. Velike količine nitrita se dobivaju redukcijom prehrambenih nitrata pomoću bakterija u ustima i crijevima, koji zatim mogu kod kiselog pH želuca reagovati s aminima i tako tvoriti nitrozamine. Nitrati se uglavnom unose preko povrća, naročito lisnatog i korjenastog. Na eksperimentalnim životinjama dokazana je mutagenost i karcinogenost (karcinomi jetre, respiratornog sistema, bubrega, urinarnog trakta, probavnog trakta i gušterače). Karcinogena svojstva potvrđile su i epidemiološke studije na ljudima. Od svih vrsta nitrozamina neki su se pokazali nekarcinogenima i općenito nereaktivnima u tijelu. Opasni su jer mogu prelaziti barijere raspoložive toksikanata poput placente i krvnomoždane barijere. Zbog prolaza preko placente smatraju se i reproduktivnim toksikantima. Ustanovljena je povezanost između tumora mozga djece i unosa velikih količina salamurenog mesa njihovih majki za vrijeme trudnoće. Djeca su najranjivija populacija na njihovo štetno djelovanje, pa se njima ne preporučuje svakodnevni unos slanine, šunke ili kobasica.

Strategija smanjenja rizika

Zbog različitih izvora nitrozamina u hrani postoje različite metode za njihovo suzbijanje. Kod sušenja slada preporučuje se promjena vođenja tehnološkog procesa, tako da se sušenje odvija **grijanim zrakom** umjesto direktnim sagorijevnim gasovima, čime se značajno smanjuje količina nitrozamina (s 50 ppb na 5 ppb). Prije modifikacije, pivo je uz duhan bilo jedan od primarnih izvora nitrozamina.

Kod salamurenih, sušenih i dimljenih mesnih proizvoda preporučuje se **smanjenje dodatka nitrita i nitrata** u smjesu za salamurenje. Preporučuje se i dodatak **inhibitora sinteze nitrozamina**, kao što su askorbat, cistein, galna kiselina, tanini, natrij sulfat i natrij eritrobat. Kako je nastanak nitrozamina proporcionalan kvadratu koncentracije nitrita, njihova redukcija značajno smanjuje količine nastalih nitrozamina. Istovremeno prisustvo **tiocijanata i halogena** u namirnicama ubrzava reakciju nitrozacije amina, dok **askorbinska kiselina i vitamin E** inhibiraju reakciju reducirajući nitrite do azotnog monoksida. Ustanovljeno je da se redukcija količine nitrozamina i viška nitrita u salamurenim proizvodima može postići i **γ-zračenjem**.

Aminokiselinski derivati

Aminokiselinski derivati uključuju **dehidro i unakrsno povezane aminokiseline**, te **D-aminokiseline** (prirodno su aminokiseline L-konfigurirane). Nastaju prilikom termičkog tretiranja proteina u baznom mediju.

Izvori

Izvori dehidro i unakrsno povezanih aminokiselina su proizvodi tretiranja bjelančevina bazama i termičke degradacije, što se provodi kod proizvodnje sojinog mesa i kazeinskih derivata (dječja hrana i enteralni pripravci). Tim procesima nastaju aminokiselinski derivati poput lizinoalanina (LAL), dehidroalanina, metildehidroalanina, ornitinoalanina, lantionina, histidinoalanina i ostalih, a često ih u smjesi prate i D-aminokiseline. Aminokiselinski derivati nastaju i kod druge hrane koja sadrži proteine, a tretira se bazama ili termički, poput proizvoda od žitarica (rezanci, makaroni, tortilje), proizvoda od mahunarki, kazeinskih derivata, mlijeka (svježe< pasterizirano<sterilizirano), dječje hrane bazirane na mlijeku i kazeinskim derivatima, termički tretiranih bjelanjaka, kolagenskih derivata iz životinjskih kostiju, ribljeg brašna, lutefiska (tradicionalno skandinavsko riblje jelo) i ekstrakta kvasca.

Lizinoalanin je neprirodna aminokiselina nastala tretiranjem proteina bazama. Nastaje adicijom oстатка ε-amino grupe lizina na dvostruku vezu dehidroalanina, koji nastaje β-eliminacijskom reakcijom cisteina, fosfoserina ili glikoserina. Na istom principu nastaju i ostali aminokiselinski derivati. Nastanak lizinoalanina utječe na nutritivnu vrijednost proteina, jer se gube bioraspoloživi lizin, cistein i fosfoserin. Uvjeti koji potječu nastanak aminokiselinskih derivata su visok pH, temperatura i vrijeme tretiranja.

Aminokiselinski derivati predstavljaju prvenstveno metabolički problem, jer nisu orijentirani ili konfigurirani kao prirodno prisutne aminokiseline i njeni derivati, pa se zato moraju drugaćije metabolizirati. Uslijed modifikacije metabolizma dolazi do nespecifičnih vezanja u organizmu, što može uzrokovati toksične posljedice. Niska brzina razgradnje kod ljudi mogao bi biti znak veće osjetljivosti na biološke efekte od ostalih životinja. Nastaje i prirodno u malim količinama u organima, a povezuje se s procesom starenja. Provedenim istraživanjem na eksperimentalnim životnjama je utvrđeno da aminokiselinski derivati uzrokuju nefrotoksičnost i da je smanjena probavljivost takvih aminokiselina.

Provedena je i studija na primatima uz značajno manje toksične posljedice. Praćena je i funkcija bubrega kod dojenčadi koja je hranjena uobičajenom dječjom hranom za koju se dokazalo da sadrži LAL i nakon 10 dana ustanovljena je mikroproteinurija kao znak oslabljene funkcije bubrega.

Strategija smanjenja rizika

Promjenom formulacija dječje hrane, te **promjenom uvjeta** za dobivanje sojinog mesa i tortilja, može se utjecati na smanjenje nastanka aminokiselinskih derivata. Kod toga je najvažnije probati:

- smanjiti vrijeme tretiranja bjelančevina primjenom visokih pritisaka,
- sniženje temperature tretiranja primjenom vakuma ili
- sniženje pH vrijednosti tretiranja.

Korištenje dodataka poput askorbinske kiseline, limunske kiseline, glukoze, biogenih amina, aminokiselina sa SH skupinom i slično, može također značajno smanjiti nastanak ovih derivata. Dodatak tiolnih i sulfitnih iona može inhibirati nastanak unakrsno povezanih

aminokiselina, iako postoje i istraživanja kod kojih se povećao sadržaj LAL-a nakon dodatka cisteina u kukuruzu s visokim sadržajem lisina.

6. 7. Materija koje se namjerno dodaju u hranu

Aditivi u hrani

Hrani se dodaju aditivi radi produženja održivosti, očuvanja ili poboljšanja hranjivih i zdravstvenih svojstava hrane, kao i boje, okusa, teksture i drugo.

Među **aditive** ulaze:

- konzervansi (nadzor mikrobiološkog kvarenja),
- antioksidansi (spriječavanje autooksidacije masti),
- sekvestranti (vežu metale u komplekse (fosfati, EDTA) i time sprječavaju njihov katalitički efekat na oksidaciju masti i drugih sastojaka),
- surfaktanti (površinski aktivne tvari),
- stabilizatori (sprječavaju taloženje i raslojavanje; npr. škrob, karagenan i druge gume),
- sredstva za izbijeljivanje,
- sredstva za dozrijevanje,
- puferi,
- kiseline,
- baze,
- boje,
- zasladičivači,
- hranjivi dodaci,
- prirodni i sintetski poboljšivači okusa i drugo.

Ostaci pomoćnih tvari u procesu proizvodnje mogu se smatrati **nенамјерним адитивима**:

- tvari protiv pjenjenja,
- tvari za taloženje,
- tvari protiv sušenja,
- tvari za kontrolu rasta mikroorganizama,
- tvari za pripremu procesne vode,
- gasovi za pakiranje,
- otapala,
- tvari za pranje i ljuštenje itd.

Posebnim propisima definirani su uvjeti primjene maksimalne količine ostataka u namirnicama. Otpriklike 1.500 je dozvoljenih aditiva u EU, kojima je dodijeljen tzv. E-broj i oko 2.800 aroma. Poslije aroma, najbrojniji aditivi su hranjivi dodaci, surfaktanti, puferi, sekvestranti, boje, stabilizatori, konzervansi, antioksidansi itd. Bez aditiva, pekarski proizvodi bi prebrzo popljesnivali, u umacima bi dolazilo do odvajanja ulja, konzervirano voće i povrće bi se obezbjilo i postalo bljutavo, kuhinjska sol bi se stvrđnula i zgrudvala, napicima i desertima bi manjkalo okusa, slabio bi vitaminski sadržaj namirnica i drugo. Očito je da bi bilo doslovno nemoguće napustiti korištenje aditiva, te je stoga potrebno provesti opsežna istraživanja njihove toksičnosti radi maksimalne zaštite potrošača.

Strategija smanjenja rizika

Neregulirana upotreba aditiva u počecima masovne proizvodnje hrane i incidenti koji su uslijedili rezultirali su raširenim uvjerenjem među potrošačima da su svi aditivi štetni, koje i danas podgrijavaju pseudoznanstvenici i senzacionalizmu skloni mediji. Naprimjer, određen broj aditiva je testiran nakon niza godina korištenja, te im je utvrđena karcinogenost za eksperimentalne životinje (konzervans AF-2 ili safrol-prirodna aroma biljnog porijekla itd. ili soli kobalta, koje su se koristile za stabilizaciju pjene piva, pa su kod velikih konzumenata izazvale kardiotoksične posljedice).

Danas zakonodavstvo EU (i RH) postavlja tri temeljna preduvjeta prije autorizacije i puštanja na tržište aditiva hrani.

Dakle, aditivi:

- ✚ moraju biti tehnološki potrebni,
- ✚ ne smiju zavaravati potrošače i
- ✚ ne smiju biti opasni po zdravlje.

Prije odobrenja upotrebe u hrani, aditivi se podvrgavaju rigoroznim ispitivanjima toksičnosti, što je obaveza proizvođača. Na temelju prikupljenih podataka EFSA (ili JECFA) vrše karakterizaciju rizika kojima se definira prihvatljivi dnevni unos (ADI, tj. razina unosa koja svakodnevnim unosom tokom životnog vijeka neće imati nikakve štetne posljedice) i maksimalno dozvoljene količine koje se dodaju u pojedine namirnice. Postoji i određen broj aditiva za koje svi relevantni toksikološki podaci i/ili povijest upotrebe upućuju na potpunu bezopasnost, te im se ne specificira ADI (adekvatan status takvih aditiva u SAD-u je GRAS (generally recognized as safe=općepoznati kao sigurni)).

Nastavak poglavlja daje primjere aditiva koji izazivaju kontroverze, iako treba naglasiti da je ista često neutemeljena, jer su pojedina istraživanja apsolutno neprimjenjiva na okolnosti izlaganja tim tvarima putem niskih razina u hrani. Naprimjer, askorbinska kiselina se koristi kao prehrambeni aditiv. Jedan pokus s njenim oksidiranim metabolitom (dehidroaskorbinskom kiselinom) uključivao je ponavljanje intravenozno ubrizgavanje visokih doza koje su izazvale dijabetes kod štakora. Unatoč očiglednoj upitnosti svrhe tog istraživanja, primjer dobro ilustrira dvostruka mjerila kojima su neinformirani pojedinci skloni pri procjeni prirodnih i sintetskih aditiva. Naime, slično vitaminu C, većina sintetskih aditiva šteti eksperimentalnim životnjama tek kod megadoza i/ili nerelevantnih načina doziranja.

Zamislivo je ipak da ukupni unos nekog aditiva iz različitih izvora može nadmašiti ADI, pri čemu postoji strah od hronične toksičnosti niskih razina aditiva. Međutim, čak i unos višestruko veći od ADI-ja ne bi trebao biti naročito štetan, obzirom da ADI najčešće predstavlja razinu koja je **100 puta niža** od najviše količine koja je netoksična za eksperimentalne životinje. EU je provela ispitivanje unosa aditiva u hranu u **tri koraka**. U prvom koraku je teorijski unos namirnice (ukupna nacionalna potrošnja namirnice podijeljena s brojem stanovnika) množen s maksimalno dozvoljenom količinom aditiva za tu namirnicu. Time je dobijena predimenzionirana procjena ukupnog unosa i aditivi koji i pored toga nisu premašili ADI su isključeni iz dalnjih koraka. Tokom drugog koraka procjene unosa je stvaran unos namirnica (određen dijetetičkim metodama poput upitnika učestalosti namirnica ili metoda bilježenja) množen s maksimalno dozvoljenom količinom aditiva. Aditivi čiji unos je bio veći od ADI-ja ovakvim izračunom su predviđeni za

provedbu trećeg koraka (u toku), gdje će se stvaran unos namirnica množiti sa stvarno dodanom (izmjeronom) količinom aditiva. Opći zaključak nakon provedbe drugog koraka je da, unatoč metodologiji koja teži precijeniti unos, on za većinu aditiva ipak ne prelazi ADI. Među aditive koji su premašili ADI u odrasloj populaciji su spojevi aluminija (do šest puta viši unos), sulfiti i SO₂, nitriti, te sorbitan (emulgator). Djeca su unosila više sulfita i SO₂ (do 12 puta više), aluminija, nitrita, sorbitana i saharoznih estera masnih kiselina (olestre).

Primjena aditiva po principima dobre proizvođačke prakse (npr. dodatak najmanje količine potrebne za postignuće željenog efekta ili postepene s aditivom kao s bilo kojim drugim sastojkom hrane), najefikasaniji je način osiguranja prevencije incidenata i štetnih posljedica.