

Usporedba elemenata mišićja slatkovodne i morske ribe

Šalgaj, Matija

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:350972>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan, 2023.

Matija Šalgaj

**USPOREDBA SADRŽAJA
ELEMENTATA MIŠIĆJA
SLATKOVODNE I MORSKE RIBE**

Rad je izrađen pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Ivane Rumora Samarin (Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu) i u Jedinici za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam, Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu pod komentorstvom dr. sc. Antonije Sulimanec, znan. sur.

ZAHVALA

Prvenstveno se želim zahvaliti svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ivani Rumora Samarin i komentorici dr. sc. Antoniji Sulimanec na pruženoj prilici, stručnom vodstvu i iznimnoj pomoći kroz cijeli proces pisanja diplomskog rada.

Zahvalan sam i svim djelatnicima Jedinice za analitičku toksikologiju i minerali metabolizam, Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu na nesebičnom savjetovanju i profesionalnosti prilikom izrade eksperimentalnog dijela.

Jedno veliko hvala želim uputiti svim svojim prijateljima, kako onima iz fakultetske klupe tako i onima izvan, bez kojih ovo studiranje ne bi bilo ni približno zabavno, uzbudljivo i životopisno.

Zahvaljujem Neli na pruženom strpljenju, ljubavi, smijehu i podršci kad sam ju najviše trebao kroz sve ove godine.

Najveće zahvale moram ipak uputiti svojim roditeljima, bratu i baki bez kojih ništa od ovog ne bi bilo moguće. Hvala vam na svakoj pomoći, toploj riječi, tapšanju po ramenu i upućenoj molitvi, divni ste.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kemiju i biokemiju hrane

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

USPOREDBA ELEMENATA MIŠIĆJA SLATKOVODNE I MORSKE RIBE

Matija Šalgaj, univ. bacc. nutr.
0058214017

Sažetak:

Riba je, kao namirnica, vrijedan izvor makro- i mikronutrijenata od kojih se posebice ističu lako probavljivi proteini, omega-3 masne kiseline, vitamini i mineralni elementi koji pružaju brojne zdravstvene koristi. Konzumacijom ribe moguć je unos neesencijalnih i potencijalno toksičnih elemenata kao što je živa i njezini organski oblici. S obzirom na različito područje u kojem obitavaju, sastav slatkovodne i morske ribe može se razlikovati stoga je cilj ovog rada bio odrediti sadržaj odabranih esencijalnih i toksičnih elemenata kod najčešće konzumiranih ribljih vrsta u Hrvatskoj, a obuhvaćena je i procjena koristi i potencijalnih rizika konzumacije ribe za različite dobne skupine. Iako u manjoj mjeri od morske, slatkovodna riba (šaran i pastrva) može poslužiti u zadovoljavanju potreba za selenom (30 – 43 % DRV), a osim toga sadrži i višestruko niže razine toksičnih metala. Kod vrste oslić odnos između veličine jedinice ribe i elemenata u njenom mišićju bio je negativan za esencijalne elemente cink, bakar i mangan, no snažno pozitivan za toksični metal živu.

Ključne riječi: *slatkovodna riba, morska riba, esencijalni elementi, živa, procjena rizika*

Rad sadrži: 44 stranice, 10 slika, 5 tablica, 81 literaturnih navoda, 1 prilog

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ivana Rumora Samarin

Komentor: dr. sc. Antonija Sulimanec, znan. sur., IMI

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. doc. dr. sc. Tibor Janči
2. izv. prof. dr. sc. Ivana Rumora Samarin
3. dr. sc. Antonija Sulimanec, znan. sur., IMI
4. prof. dr. sc. Sanja Vidaček Filipec

Datum obrane: 26. rujna 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Quality
Laboratory for Food Chemistry and Biochemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

Graduate university study programme: Nutrition

COMPARISON OF FRESHWATER AND MARINE FISH MUSCLE TISSUE ELEMENTS

Matija Šalgaj, univ. bacc. nutr.
0058214017

Abstract:

Fish is a valuable source of macro- and micronutrients such as highly digestible proteins, omega-3 fatty acids, vitamins and minerals which all provide a variety of health benefits. It is also a source of non-essential and toxic elements like mercury and its organic forms. Considering the different areas which they inhabit, the composition of freshwater fish and marine fish may vary, therefore the aim of this work was to determine the content of selected essential and toxic elements in the most commonly consumed fish species in Croatia, as well as to assess the intake and potential risks of fish consumption for different age groups. Although to a lesser extent than marine fish, freshwater fish (carp and trout) can be used to meet dietary requirements for selenium (30-43 %DRV), and they contain lower levels of toxic metals. In hake, the relationship between fish length and element levels in its muscle was negative for essential elements zinc, copper and manganese, but strongly positive for toxic metal mercury.

Keywords: *freshwater fish, marine fish, essential elements, mercury, risk assessment*

Thesis contains: 44 pages, 10 figures, 5 tables, 81 references, 1 supplement

Original in: Croatian

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

Mentor: Ivana Rumora Samarin, PhD, Assistant professor

Co-mentor: Antonija Sulimanec, PhD, Research Associate, IMI

Reviewers:

1. Tibor Janči, PhD, Assistant professor (president)
2. Ivana Rumora Samarin, PhD, Associate professor
3. Antonija Sulimanec, PhD, Research Associate, IMI
4. Sanja Vidaček Filipec, PhD, Full professor

Thesis defended: September 26th, 2023

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. UČESTALOST KONZUMACIJE I PROIZVODNJE SLATKOVODNE I MORSKE RIBE	2
2.1.1. Stanje Europe i Republike Hrvatske.....	3
2.1.2. Stavovi potrošača o konzumaciji ribe.....	6
2.2. KEMIJSKI SASTAV I NUTRITIVNA VRIJEDNOST SLATKOVODNE I MORSKE RIBE	8
2.2.1. Proteini i bioaktivni peptidi	9
2.2.2. Lipidni profil i esencijalne masne kiseline	10
2.2.3. Vitamini.....	11
2.3. MINERALNI ELEMENTI U RIBI	12
2.3.1. Esencijalni elementi u ribi i njihovi učinci na zdravlje ljudi	12
2.3.2. Toksični elementi i učinci na zdravlje.....	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. MATERIJALI	16
3.1.1. Uzorci ribe.....	16
3.1.2. Kemikalije i standardi.....	17
3.1.3. Aparatura i pribor	17
3.2. METODE	18
3.2.1. Priprema uzoraka ribe za multi-elementnu analizu	18
3.2.2. Multi-elementna analiza uzoraka ribe	20
3.3. PROCJENA KORISTI I RIZIKA KONZUMACIJE RIBE ZA ZDRAVLJE	21
3.4. OBRADA PODATAKA	22
4. REZULTATI I RASPRAVA	23
4.1. PROCJENA UNOSA ESENCIJALNIH ELEMENATA	27
4.2. PROCJENA UNOSA ŽIVE PUTEM SLATKOVODNE I MORSKE RIBE	29
5. ZAKLJUČAK	35
6. LITERATURA	36

1. UVOD

Dok je globalna konzumacija hrane morskog podrijetla pa tako i ribe u kontinuiranom porastu, što je najčešće geografski i kulturološki uvjetovano, u Hrvatskoj je ipak nedovoljno zastupljena s 21,85 kg po glavi stanovnika što je ispod europskog prosjeka (EUMOFA, 2017). Stopa konzumacije ribe ovisit će o percepciji potrošača pa se tako smatra kako je riba zdrava, ali istovremeno i skupa namirnica. Zbog iznimno povoljnog nutritivnog sastava, koji se odnosi jednako na makronutrijente i mikronutrijente, riba predstavlja neizostavnu komponentu uravnotežene i pravilne prehrane. Odlikuje se bogatim sastavom višestruko nezasićenih masnih kiselina, lako probavljivih proteina, bioaktivnim peptidima, vitaminima i esencijalnim elementima. Zbog svog sastava, uvođenje ribe u prehranu ima značajne pozitivne učinke na zdravlje poput kardioprotektivnog i protuupalnog djelovanja te u prevenciji artritisa i malignih oboljenja (Tilami i sur., 2017). Lokacija, godišnje doba, okolina u kojoj se nalazi, spol, dob, duljina, kakvoća ishrane samo su neki od parametara koji bi mogli utjecati na kemijski sastav ribljih jedinki (Choppes Petricorena, 2014).

Dosadašnja istraživanja nisu obuhvaćala usporedbu esencijalnih/toksičnih elemenata između slatkovodne i morske ribe, već su bila usmjerena samo na određivanje kemijskog sastava i sastava mineralih elemenata većinom u morskoj ribi (Sulimanec Grgec i sur., 2022; Sulimanec Grgec i sur., 2020; Bilandžić i sur., 2018; Bilandžić i sur., 2017; Cvrtila i Kozačinski, 2006; Jureša i Blanuša, 2003). Novija istraživanja usmjerena su na proučavanje različitih čimbenika koji bi mogli utjecati na konzumaciju ribe (Krešić i sur., 2022; Marinac Pupavac i sur., 2022, Tomić i sur., 2017; Tomić i sur., 2015).

Ciljevi ovog rada bili su odrediti i međusobno usporediti razine esencijalnih mikroelemenata (željezo, bakar, mangan, cink i selen) i glavnih toksičnih elemenata (živa, arsen, kadmij i olovo) u mišićnom tkivu u najčešće konzumiranih vrste slatkovodne (pastrva i šaran) i morske ribe (srdela i oslić) u Republici Hrvatskoj, kao i procijeniti nutritivnu korist i potencijalne rizike konzumacije ribe za populaciju djecu i odraslih osoba oba spola te ispitati odnos između duljine ribe i razina elemenata u mišićju ribe na primjeru vrste jadranski oslić (*Merluccius merluccius*).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. UČESTALOST KONZUMACIJE I PROIZVODNJE SLATKOVODNE I MORSKE RIBE

Ovisno o kulturi i području koje promatramo, proizvodi akvakulture vrlo često se mogu naći u svakodnevnoj prehrani, a obzirom na povećanu potražnju njihova proizvodnja u 21. stoljeću bilježi kontinuirani porast na globalnoj razini. S obzirom na to da je akvakultura jedan od najbrže rastućih sektora u proizvodnji hrane smatra se da bi mogla imati veliku ulogu u smanjenju gladi, malnutricije i nutritivnih deficita diljem svijeta (Mohanty i sur., 2019). U 2020. godini proizvedeno je 214 milijuna tona proizvoda akvakulture, od čega 178 milijuna otpada na vodene životinje, a 36 milijuna na alge (FAO, 2022). Najzastupljenija je proizvodnja morske i slatkovodne ribe iz uzgoja i iz izlova. Najveći proizvođači morske ribe iz izlova su Kina, Indonezija, Peru i Indija, a morske ribe iz uzgoja Kina koja ponovo značajno prednjači uz Indiju i Indoneziju. Ako govorimo o uzgoju slatkovodne ribe iste azijske zemlje i dalje prednjače, a u tom kontekstu još se spominju Bangladeš i Egipat, no njihov doprinos u globalnoj proizvodnji neusporedivo je manji od Kine i Indonezije (FAO, 2022). Najveći dio proizvedene ribe koristi se za prehranu ljudi, a ostatak za proizvodnju hrane za ribu ili ribljeg ulja.

Globalni unos ribe i proizvoda akvakulture se kroz posljednjih 60 godina povećao za pet puta. Kao što se može i očekivati, s obzirom na to da je prevladavajuće područje ribolovstva i akvakulture poprilično lokalizirano na južnu, jugoistočnu i istočnu Aziju, ondje je i najveća potražnja za takvim proizvodima. Zbog porasta stanovništva, ali i zbog ekspanzije proizvodnje od ukupne količine proizvoda koji su namijenjeni ljudskoj proizvodnji na Kinu u 2019. godini otpada 72 % s unosom ribe od 40,1 kg po glavi stanovnika, a slijede ju Indonezija i Indija (FAO, 2022). Iako najveći unos nije zabilježen u Kini, nego u zemljama poput Islanda i Maldiva, zbog broja stanovnika, govorimo o najvećoj fluktuaciji ribe.

Iz ekonomskog aspekta ribarska industrija predstavlja iznimno unosnu granu gospodarstva, koja osim visoke dobiti osigurava i sigurna radna mjesta. Procjenjuje se da kvaliteta života od oko 600 milijuna ljudi izravno ovisi upravo o ovom sektoru (FAO, 2022). Na smanjene prihoda djelatnosti ribarstva i akvakulture utječu različiti čimbenici, poput godišnje fluktuacije u izlovu pelagične ribe, ali i do nedavno aktualnog problema pandemije COVID-19 koja je nanijela značajnu ekonomsku štetu u vidu globalne potražnje i trgovine u industriji od koje će se sigurno još neko vrijeme oporavljati.

Kompleksan pojam održivosti ribarske industrije danas je izrazito aktualan. Prekomjeren, ilegalan, nereguliran izlov, potencijalno zagađenje koje dolazi od farmi, kolateralno ubijanje morskih životinja koje nisu trebale biti meta ulova, zagrijavanje i zakiseljavanje oceana zbog viška ugljikovog dioksida u atmosferi samo su neki od razloga koji posljedično narušavaju ekosustave i dovode u pitanje budućnost ribarstva (Muñoz i sur., 2023). Postupci koji djeluju obećavajuće u ovom trenutku uključuju postizanje eko-certifikata, poticanje manjih proizvođača uz edukaciju, uređivanje tržišta putem sheme izravne nabave prema stvarnim potrebama ili nacionalne smjernice o proizvodima ribarstva kojima će se komunicirati s javnosti (Baumgartner i Bürgi Bonanomi, 2021). S druge strane, problem je i nedovoljno kvalitetna komunikacija s javnosti vezana uz proizvodnju i zdravstvenu dobrobit konzumaciju ribe i proizvoda ribarstva. Naime, prema Koehn i sur. (2021) samo 68 od identificiranih 165 javnozdravstvenih nacionalnih politika u svijetu ocjenjuje konzumaciju ribe kao važnu stavku u prehrani stanovništva zbog njene hranjive vrijednosti i dobrobiti za zdravlje.

2.1.1. Stanje Europe i Republike Hrvatske

U Europi proizvodnja proizvoda ribarstva i akvakulture zauzima treće mjestu u svijetu sa 17,2 milijuna tona od čega većinu čini riba iz izlova. Snabdijevanje ribom u Europi nije samodostatno i uvelike ovisi o uvozu ribe, prvenstveno onih vrsta koje se najviše konzumiraju poput tune, bakalara, lososa i aljaške kolje. Ulov male pelagične ribe poput haringe, skuše i srdele, čija je proizvodnja u 2020. godini iznosila 1,23 milijuna tona, dostatan je za pokrivanje ukupnih europskih potreba za tom vrstom ribe. S druge strane, Europa bi se mogla snabdijevati slatkovodnom ribom kao što je pastrva, no nažalost konzumacija pastrve po glavi stanovnika je vrlo niska i iznosi svega 0,49 kg (tablica 1) (EUMOFA, 2022). Potrebno je, kako u Europi tako i u Hrvatskoj, promovirati i poticati konzumaciju slatkovodne ribe. Primjer dobre promocije konzumacije ribe u Hrvatskoj zasigurno je projekt „Riba Hrvatske-Jedi što vrijedi“ koji ima cilj potaknuti potrošnju lokalnih proizvoda ribarstva kroz kreiranje brenda koji će jamčiti potrošačima porijeklo morskih proizvoda iz strogo kontroliranih sustava sigurnosti hrane unutar kojih se poštuju principi zaštite okoliša/održivosti i prava radnika (Riba Hrvatske, 2017).

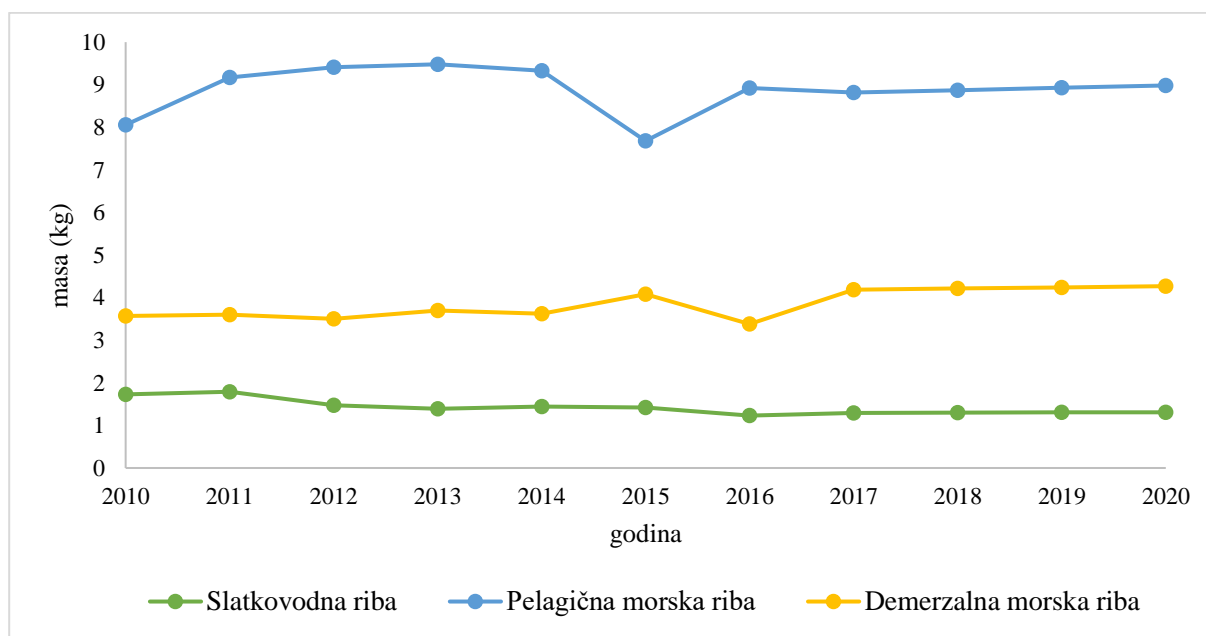
Tablica 1. Stope samodostatnosti u ovisnosti o učestalosti konzumacije po glavi stanovnika za 15 najčešćih proizvoda ribarstva na području Europske Unije (EUMOFA, 2022)

Proizvodi i udio u ukupnoj procijenjenoj konzumaciji	Konzumacija po glavi stanovnika (masa žive vage, kg)	Stopa samodostatnosti
Tuna (13 %)	3,06	28 %
Losos (10 %)	2,44	2 %
Aljaška kolja (7 %)	1,72	0 %
Bakalar (7 %)	1,72	6 %
Škampi (6 %)	1,46	12 %
Dagnja (5 %)	1,19	80 %
Haringa (5 %)	1,10	79 %
Oslić (4 %)	1,03	38 %
Lignja (3 %)	0,62	14 %
Skuša (3 %)	0,59	99 %
Sardina (2 %)	0,56	72 %
Pastrva (2 %)	0,49	86 %
Crni bakalar (1 %)	0,35	14 %
Školjka (1%)	0,32	59 %

Prema Državnom zavodu za statistiku (DZS) ukupna proizvodnja ribe u Hrvatskoj za 2021. godinu iznosi 85 431 tonu što je 5,1 % manje u odnosu na prethodnu godinu. Od morske ribe najviše se izlovljava srdela, a iz uzgoja to su lubin (brancin), komarča (orada) i tuna, dok je slatkovodna riba uglavnom iz uzgoja i radi se najviše o šaranu, a puno manje o pastrvi (DZS, 2022). Vrste koje se najviše konzumiraju u Hrvatskoj su oslić, sardina/srdela i šaran koje bi prvenstveno trebale biti hrvatskog podrijetla, ali i po mogućnosti iz ulova, pošto se smatra da je riba iz uzgoja puno masnija i manje kvalitete. Konzumacija slatkovodne ribe najvećim dijelom je zastupljena u kontinentalnim regijama poput Slavonije i centralne Hrvatske i to su jedina dva područja u kojima potrošači preferiraju slatkovodnu ispred morske ribe, konkretno najviše šarana. Na području Zagreba i sjevernijih regija prevladava konzumacija oslića, dok se stanovništvo Istre s Primorjem i Dalmacija odlučuju najviše za srdelu, a potom i oslić (EUROFISH, 2017). Hrvati obično konzumiraju ribu u svježem stanju i to neovisno o regiji, potom riblje filete, smrznutu ribu i na kraju konzerviranu ribu te ostale proizvode (Izvještaj, 2023). U Hrvatskoj veću preferenciju prema ulovljenoj ribi pokazuju žene, osobe starije životne dobi, osobe s višim financijskim prihodima te oni iz obalne regije, a na istoj populaciji se

pokazalo kako su oni koji primarno jedu svježiju ribu više uključeni u kuhanje i više vole ribu ulovljenu iz otvorenih voda (Tomić i sur., 2017). Bez obzira što se ubraja u Mediteranske zemlje, Hrvatska ne slijedi trendove vezane uz konzumaciju ribe te se na žalost nalazi ispod europskog prosjeka, no i dalje se nalazi iznad centralnih europskih zemalja poput Njemačke, Poljske, Mađarske, Austrije i Češke gdje je unos vrlo nizak, posebice za Češku gdje je unos 5,70 kilograma po glavi stanovnika godišnje. Zapadno-europske zemlje poput Portugala (57,76 kg *per capita*/godišnje) i Španjolske (44,21 kg *per capita*/godišnje) prednjače po konzumaciji u Europi, a impresivnu konzumaciju bilježe i sjeverne zemlje kao što su Norveška (54,77 kg *per capita*/godišnje) i Danska (35,17 *per capita*/godišnje) (EUMOFA, 2022). U usporedbi s Italijom u kojoj godišnji unos ribe po glavi stanovnika iznosi 31,2 kg i koja zauzima šesto mjestu u Europi po potrošnji ribe, Hrvatska se nalazi na trinaestom mjestu s 20,8 kg.

Smanjeni unos ribe u Hrvatskoj mogao bi djelomično objasniti veću incidenciju prekomjerne tjelesne mase i pretilosti kao i povećanu stopu smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti (Krešić i sur., 2022). Na slici 1 prikazan je trend konzumacije slatkovodne i morske ribe (pelagične i demerzalne) za razdoblje od 2010. do 2020. godine. Konzumacija pelagičnih vrsta u prosjeku je dvostruko viša od konzumacije demerzalnih vrsta. Konzumacije slatkovodnih vrsta je do 1,5 kg po glavi stanovnika, što je do 8 puta niže od konzumacije pelagične morske ribe.



Slika 1. Prikaz konzumacije različitih vrsta ribe u Hrvatskoj u razdoblju od 2010. do 2020. godine u kilogramima po glavi stanovnika (FAOSTAT, 2020)

2.1.2. Stavovi potrošača o konzumaciji ribe

Različiti čimbenici utječu na odabir potrošača prilikom kupnje ribe i ribljih proizvoda, a ovisi o ponašanju potrošača koje je kompleksno, dinamično i prilagođeno situaciji. Mogu se definirati različitim modelima i teorijama ponašanja. Prema teoriji planiranog ponašanja, stavovi, subjektivne norme, prijašnji doživljaji i zdravlje imaju najveći utjecaj na namjeru i učestalost konzumacije ribe (Supartini i sur., 2018). Da je stav najvažniji čimbenik u određivanju namjera za konzumaciju ribe, uz ranije navedene čimbenike, pokazano je i na uzorku hrvatske populacije (Tomić i sur., 2015). Također, i znanje koje pojedinac posjeduje, njegova upućenost i prethodno zadovoljstvo određuju šansu za ponovnom kupnjom određene namirnice (Krešić i sur., 2022). Samim shvaćanjem potrošačeva ponašanja moguće je marketinškim alatima i smjernicama djelovati kako bi se potakla kupovina određene vrste ribe. Starija životna dobi, viši stupanj obrazovanja i način života kao što je ne-pušenje i umjerena privrženost mediteranskoj prehrani značajni su prediktori prehrambenog ponašanja i pokazuju pozitivnu korelaciju s konzumacijom ribe (Marinac Pupavac, 2022). Senzorske karakteristike jedne su od najvažnijih kriterija kod odabira ribe koje se uglavnom poistovjećuju s njezinom svježinom i kvalitetom. Iako specifični pozitivni učinci na zdravlje nisu dobro usvojeni u široj populaciji riba je općenito smatrana „zdravom“ namirnicom, no s druge strane povezuje je se s mogućom izloženosti različitim kontaminantima i mikroorganizmima. Cijena ribe dosta varira na tržištu i ovisi o različitim čimbenicima, ali bez obzira ona je i dalje percipirana kao skupa. Barijeru od konzumacije mogu predstavljati nedostupnost željenih vrsta ribe ili nepraktičnost prilikom pripreme zbog čišćenja (Carlucci, 2015). Promatrano, na stanovništvu Ujedinjenog Kraljevstva i Singapura, koje su razvijene zemlje, uočeno je kako je želja za konzumacijom ribe porasla u posljednjih 10 godina, a porast se povezuje s mlađom dobi, cijenom ribe, zdravstvenim benefitima, a dodatno je povezan i s religijom u Ujedinjenom Kraljevstvu (Supartini i sur., 2018). Prema Carlucci (2015) karakteristike kvalitete ribe kao što su zemlja podrijetla, vrsta ulova, čuvanje proizvoda i pakiranje, razvoj proizvoda i ekološka oznaka podrijetla proizvoda ima značajan utjecaj na potrošače prilikom odabira ribe, kako je prikazano u tablici 2. Potrošači su spremni platiti višu cijenu ukoliko proizvodi ribarstva na sebi imaju potvrdu o sigurnosti i zdravstvenoj ispravnosti, ekološkom uzgoju, zemlji podrijetla ili sljedivosti u proizvodnom lancu. Pokazalo se i kako neke populacije preferiraju uzgojenu ribu s ekološkim certifikatom ispred divlje ribe ili konvencionalno uzgojene (Budhathoki, 2022).

Tablica 2. Karakteristike kvalitete proizvoda ribarstva koji utječu na odabir potrošača (*prema* Carlucci, 2015)

Karakteristike kvalitete	Opis utjecaja na odabir ribe
Zemlja podrijetla	Riba ulovljena na području pripadajuće zemlje smatra se superiornijom
Vrsta ulova	Divlja riba smatra se boljom/ukusnijom zbog okusa, sigurnosti, zdravlja i nutritivne vrijednosti
Način čuvanja proizvoda	Na ledu ohlađena svježa riba smatra se boljom od ostalih metoda
Pakiranje	Ovisno o istraživanju, ispitanici podjednako preferiraju nepakiranu i pakiranu ribu
Razvoj proizvoda	Inovativni načini procesiranja ribe koji bi ju mogli učiniti praktičnijom za konzumaciju
Ekološko označavanje	Zbog rastućeg problema održivosti potrošačima označavanje ribe koja je uzgojena prema određenim ekološkim standardima postaje još jedna determinanta u odabiru

2.2. KEMIJSKI SASTAV I NUTRITIVNA VRIJEDNOST SLATKOVODNE I MORSKE RIBE

Riba je nutritivno gledano visoko vrijedna namirnica, iznimno bogata masnim kiselinama i proteinima. U usporedbi s mesom kopnenih životinja, meso ribe ima manju energijsku gustoću no istovremeno veću proteinsku kvalitetu. Većina povoljnih učinaka konzumacije ribe na zdravlje vezana je uz njen sadržaj omega-3 nezasićenih masnih kiselina, posebice eikozapentaenske i dokozaheksaenske masne kiseline (EPA i DHA) (Tilami i Sampels, 2017). Pored omega-3 masnih kiselina, biološki aktivni sastojci poput vitamina D, magnezije i karnitina pozitivno utječu na metabolizam mišića, pomažu u održavanju mišićne funkcija, ali i mogu prevenirati sarkopenija (Rondanelli i sur, 2020).

S obzirom na visoku bio-raznolikost ribljih vrsta kemijski sastav ribe može poprilično varirati, posebice sastav mikronutrijenata. Različiti postupci kod rukovanja namirnicom poput proizvodnje i prerade ribom mogu imati utjecaj na sastav mesa ribe. U usporedbi s aminokiselinama i ostalim mikronutrijentima, višestruko nezasićene masne kiseline su najpodložnije promjenama i degradaciji za vrijeme proizvodnje i pohrane namirnica. Na sastav masnih kiselina kod ribe iz uzgoja značajan utjecaj ima sastav hrane, režim hranjenja i sustav uzgoja. Pokazalo se kako ribe koje obitavaju u hladnijim morima imaju veće koncentracije nezasićenih u odnosu na zasićene masne kiseline zbog potencijalne slabije konverzije ALA (α -linolenske masne kiseline) u EPA/DHA kod viših temperatura, a salinitet također može imati utjecaj iako zaključci nisu uniformni (Tilami i Sampels, 2017). Veličina ribe i njezina starosna dob mogu značajno utjecati na sastav aminokiselina, masnih kiselina i vitamina A. Sezonske varijacije, lokacija izlova/uzgoja, temperatura vode i dostupnost hrane samo su još neki od čimbenika koji bi mogli imati utjecaja na nutritivan sastav ribe (Byrd i sur., 2020). Osim navedenog, i termička obrada hrane ima utjecaj na hranjive sastojke ribe, posebno na makronutrijente. Višestruko nezasićene masne kiseline su vrlo osjetljive i podložne degradaciji oksidacijom zbog prisustva nezasićenih dvostrukih veza, stoga bilo kakav način rukovanja i procesiranja, pa tako i priprema hrane može mijenjati njihov sastav (Tilami i Sampels, 2017). Metode kuhanja za koje nije potrebno koristiti masnoće poput pečenja u pećnici, kuhanja ili sous-vide tehnike minimalno utječu na nutritivni sastav ribe. Ovisno o vrsti i količini korištene masnoće te vremenu trajanja pripreme prženje bi moglo imati utjecaj na sadržaj masnih kiselina (Sampels, 2015). Pokazano je da kuhanje ribe utječe na povećanje esencijalnih i ne esencijalnih aminokiselina (arginina i histidina), za razliku od prženja, parenja i pripreme ribe na roštilju

uslijed kojih nisu primijećene značajne promjena u aminokiselinskom sastavu mišićja termički obrađene ribe u usporedbi sa sirovom ribom (Choppes Petricorena, 2014).

Zbog nedovoljno informacija o kemijskom sastavu različitih vrsta ribe, prilikom analize i planiranja prehrane ljudi riba se često tretira kao homogena skupina namirnica. Najviše podataka o kemijskom sastavu ribe dostupno je za krupnu ribu zbog njene veće komercijalne važnosti u odnosu na sitnu ribu. Manjak informacija o kemijskom sastavu ribe posebno je problematičan za planiranje prehrane u osjetljivih skupina stanovništva koje imaju povećane fiziološke potrebe za hranjivim tvarima, kao što su trudnice i mala djeca. Osim navedenog, problem stvaraju i razlike u dostupnim informacijama za istu vrste ribe zbog razlika u odabiru dijelova ribe i interpretaciji rezultata tijekom istraživanja što uključuje izražavanje rezultat na cijelu ribu, mokru masu, suhu masu ili jestivi dio ribe (Byrd i sur., 2020).

2.2.1. Proteini i bioaktivni peptidi

Zbog povoljnog sastava proteina, riba ima važnu ulogu u ljudskoj prehrani što potkrepljuje i činjenica da ona čini 20 % unosa proteina za čak jednu trećinu svjetske populacije pri čemu je posebice bitna za zemlje u razvoju (Mohanty i sur., 2019). Proteini ribe imaju veliku biološku važnost jer sadržavaju sve esencijalne aminokiseline potrebne za adekvatno funkcioniranje organizma, posebice lizin, metionin, leucin i taurin koji su deficitarni u ostalim životinjskim izvorima proteina, ali i ostali poput glicina, alanina, aspartata i glutamata (Ullah i sur., 2022). Njihov udio u ribi također varira između vrsta, bez obzira radi li se o morskim ili slatkovodnim. Povoljan učinak ribljih proteina, peptida i hidrolizata vidljiv je na upalne procese, parametre metaboličkog sindroma, osteoporozi, inzulinsku rezistenciju, komorbiditete pretilosti i karcinom. Smatra se da bi uvođenje proteina sardine u prehranu moglo poslužiti kao mjera za povećavanje tkivne osjetljivosti na inzulin zbog prisutnih aminokiselina, posebice taurina (Tilami i Sampels, 2017). Niz je biološki aktivnih peptida sa širokim spektrom fiziološkog djelovanja koji se mogu izolirati iz tkiva riba, a kojih ne nalazimo u tkivima kopnenih životinja. Trenutno najproučavanija područja bioaktivnosti peptida uključuju regulaciju oksidativnog stresa, inhibiciju angiotenzin konvertirajućeg enzima i renina što bi moglo pomoći u regulaciji krvnog tlaka, supresija apetita preko stimulacije lučenja inkretina poput glukagonu sličnog peptida 1 i kolecistokinina uz inhibiciju dipeptidil peptidaze IV. Učinak peptida može se očitovati i kroz imunomodulatorno i antikancerogeno, a postoje indikacije i za antimikrobno te antikoagulacijsko djelovanje (Le Gouic i sur., 2018; Choppes Petricorena, 2014). S obzirom na

brojne pozitivne učinke riblji peptidi i hidrolizati predmet su istraživanja u farmaceutskoj industriji gdje bi mogli služiti kao potencijalni nutraceutici za prevenciju kroničnih nezaraznih bolesti posebice šećerne bolesti, krvožilnih bolesti, raka ili alergijskih smetnji (Le Gouic i sur., 2018).

2.2.2. Lipidni profil i esencijalne masne kiseline

Iako omega-3 masnih kiselina ima i u namirnicama biljnog podrijetla određena morska, ali i slatkovodna riba najvažniji su izvor omega-3 masnih kiselina u ljudskoj prehrani (Ullah i sur., 2022). Lipidni profil ribe možemo podijeliti na prevladavajuće glicerolipide i fosfolipide (Wang i sur., 2022). Masne kiseline koje nalazimo u sklopu tih molekula su zasićene masne kiseline poput palmitinske, jednostruko nezasićene masne kiseline poput oleinske i višestruko nezasićene EPA i DHA. Razlike u mišićnom sastavu masnih kiselina najviše ovise o ishrani ribe, što je najvjerojatnije razlog zašto slatkovodna riba ima manje koncentracije omega-3 masnih kiselina od morske, a moguće su i varijacije ovisno o godišnjem dobu pa lipidni profil kod skuše može varirati od 4 do 30 %, a kod haringe 2 do 25 % (Choppes Petricorena, 2014). EPA i DHA su dvije biološki najaktivnije omega-3 masne kiseline koje imaju važnu ulogu u očuvanju zdravlja živčanog i kardiovaskularnog sustava. Većina pozitivnih učinaka omega-3 masnih kiselina pripisuje se njihovom protuupalnom djelovanju; primjerice EPA sudjeluje u sintezi raznih protuupalnih eikozanoida, a serija metabolita EPA-e pod nazivom resolvin E dovode do redukcije nakupljanja proupalnih citokina i leukocita na mjestu upale (Elagizi i sur., 2021). Protektivni učinci omega-3 masnih kiselina povezani su s regulacijom krvnog tlaka, poboljšanjem lipidnog metabolizma, posebice smanjenja koncentracija serumskih triglicerida, poboljšanjem arterijske i endotelne funkcije i redukcije agregacije trombocita (Elagizi i sur., 2021; Punia i sur., 2019.). Smatra se da unos omega-3 masnih kiselina može smanjiti rizik za pojavu infarkta miokarda i ishemijskog moždanog udara uzrokovanih aterosklerozom i bolešću perifernih arterija, no zbog nekonzistentnosti rezultata potrebna su daljnja istraživanja (Krešić, 2021). U preglednom radu, Yu i sur. (2022) navode da omega-3 masne kiseline mogu značajno smanjiti rizik za glavne kardiovaskularne događaje i srčano zatajenje, no ne i smanjiti stopu opće smrtnosti kao ni rizik od pojavnosti infarkta miokarda i moždanog udara. Osim za kardiovaskularne ishode, suplementacija omega-3 masnim kiselinama uz popratnu kemoterapiju mogla bi dovesti do povećanja stope preživljenja i do povećanja kvalitete kostiju kod osoba oboljelih od karcinoma, a pokazalo se da su u mogućnosti reducirati rizik za karcinogenezu i prevenirati metastazu na pluća, jetru i kosti (Sharma i Mandal, 2020). Kako bi

individualno mogli odrediti terapijsku dozu potrebno je odrediti početni status EPA i DHA u krvi. U osoba s nižim unosom ribe ili ribljeg ulja u kojih se očekuje vrlo niski status masnih kiselina potrebna je veća suplementacija EPA i DHA, od 2 do 4 g na dan, kako bi se postigao terapijski učinak (Elagizi i sur., 2021). Osim unosa omega-3 važan je i njihov odnos prema unosu omega-6 masnih kiselina. Iako se pretpostavlja da je kod naših predaka lovaca-sakupljača taj omjer bio 1:1, nakon agrokulturološke revolucije i početaka uzgoja žitarica daleko je prešao na stranu unosa omega-6 masnih kiselina što potencijalno može dovesti do nastanka oboljenja poput kardiovaskularnih bolesti, šećerne bolesti, poremećaja imunosnog sustava, ali i depresije (Tilami i Sampels, 2017).

2.2.3. Vitamini

Riba je iznimno dobar izvor esencijalnih i biodostupnih vitamina. Mišićje ribe dobar je izvor vitamina B skupine poput tiamina, riboflavina i niacina, ali i folata, pantotenske kiseline te vitamina B₁₂. Ono što zaokuplja pažnju je sastav vitamina topivih u mastima koji su najvećim dijelom koncentrirani u ribljem jetri, iako se njihov dobar profil može naći i u mišićju pelagične ribe. Vitamin A koji ima vitalnu ulogu u zdravlju oka, imunosnog sustava te rasta i razvoja stanice, najčešće se nalazi u jetri ili mišićju ribe i to masnijih vrsta poput haringe i skuše. S obzirom na mali broj namirnica koje bi mogle poslužiti kao izvor vitamina D, riba je zasigurno jedan od najpovoljnijih. Vitamin D važan je za razvoj kostiju i zubi, za metabolizam kalcija i fosfora, proliferaciju stanica debelog crijeva, ali i za normalno funkcioniranje središnjeg živčanog sustava (Choppes Petricorena, 2014). Smatra se da bi upravo vitamin D mogao biti ključan čimbenik za smanjenje rizika loma kuka kod kineske starije populacije koja konzumira veliku količinu ribe (Tilami i Sampels, 2017). Vitamin E, liposolubilni antioksidans staničnih membrana, također je prisutan u masnom tkivu ribe, a zabilježene su i manje koncentracije vitamina K.

2.3. MINERALNI ELEMENTI U RIBI

2.3.1. Esencijalni elementi u ribi i njihovi učinci na zdravlje ljudi

Mineralni elementi imaju važnu ulogu u fiziologiji životinjskih i biljnih organizama pa možemo kroz različite namirnice zadovoljiti njihov preporučeni unos. Prema količini koja je potrebna za normalnu fiziološku funkciju možemo ih podijeliti na makro- i mikro- elemente. Koncentracija u kojoj se nalaze u organizmu nije odraz njihove važnosti, naime svaki od elemenata sudjeluju u brojnim fiziološkim procesima u organizmu i ključan je za održavanje homeostaze. Makroelementi natrij, kalij, magnezij, fosfor, kalcij, klor i sumpor su prisutni u najvećim količinama (do 100 mg/dan), dok su mikrominerali poput željeza, cinka, joda, selen, bakra, fluora, kroma, mangana i molibdena prisutni u puno manjoj količini (manje od 1 mg do 100 mg). Riba kao namirnica ima vrlo povoljan sastav esencijalnih elemenata visoke biodostupnosti čime je olakšana njihova apsorpcija u gastrointestinalnom traktu. Ipak elementni sastav ribe podložan je utjecaju različitih faktora kao što su specifičnosti vrste, fiziološke potrebe ribe, kompozicija ishrane, dostupnosti elemenata u okolini i sezonske varijacija. Tako čak i ribe koje su vrlo taksonomski slične potencijalno mogu imati vrlo različit sastav elemenata (Rodrigues i sur., 2021). Iako termička obrada služi kao alat za povećanje sigurnosti hrane što je posebice važno kod kvarljive namirnice kao što je riba, pokazalo se da postupci poput kuhanja, pečenja i dimljenja dovode do sniženja razina pojedinih elemenata u ribi. Primjerice, prema Kiczorowska i sur., (2019) dimljenje ribe utjecalo na sniženje razina kalija, kalcija, magnezija, fosfora, cinka i bakra. Kalij, fosfor i natrij obično se nalaze u najvećim razinama u mišićnom tkivu ribe, a od mikrominerala to su cink, željezo i bakar. Razlike u sastavu elemenata uočene su i kod ribe različitog vodenog stupca. Pridnene vrste imaju veće razine natrija, kalcija, željeza, cinka i bakra od pelagičnih (Rodrigues i sur., 2021). S obzirom na to da se jedu cijele, s glavom, kostima i iznutricama, sitnom ribom unosi se više esencijalnih elemenata, posebice kalcija, željeza i mangana u usporedbi sa srednje krupnom i krupnom ribom (Nölle i sur., 2020; Kiczorowska i sur., 2019). Visoke razine selen i fosfora zabilježene su kod ribe koja obitava u hladnijim morima kao i u ribama iz boćate vode (Kiczorowska i sur., 2019).

Esencijalni elementi sudjeluju u brojnim biokemijskim reakcijama ili mogu utjecati na iste u svrhu postizanja homeostaze. Kao što je već ranije navedeno, esencijalne elemente možemo podijeliti u dvije skupine, makro- i mikroelemente. Među najvažnije makroelemente, ubrajamo natrij i kalij. Direktno ili indirektno o njima ovisi većina metaboličkih procesa: esencijalni su za održavanje pH vrijednosti izvanstanične tekućine, provođenje živčanog impulsa, regulaciju

osmotskog tlaka, distribuciju staničnih tekućina i sudjeluju kao kofaktori različitih enzima. Kalij ima važnu ulogu u funkcioniranju srca i kontrakcije skeletnog mišića, a natrij sudjeluje u apsorpciji nutrijenata poput aminokiselina, glukoze i vode. Najvažnije uloge kalcija i fosfora, koji su najvećim dijelom skladišteni u kostima, su sudjelovanje u neuromuskularnoj funkciji i mineralizaciji kostura. Kao kofaktor magnezij sudjeluje u više od 300 enzimskih sustava u organizmu i to u različitim i vrlo nepovezanim reakcijama poput produkcije energije u obliku adenzin-trifosfata, oksidativne fosforilacije ili glikolize, a sudjeluje i u provođenju živčanih impulsa, mišićnoj kontrakciji te transportu elektrolita (opisano u Farag i sur., 2023).

Mikroelementi su potrebni u puno manjim količinama od makroelemenata, tako da je lakše premašiti gornju granicu maksimalnog dnevnog unosa pri čemu mogu ispoljiti štetne učinke po zdravlje. Zbog svog potencijala da sudjeluje kao reducirajući agens željezo možemo naći kao centralnu komponentu različitih proteina koji sudjeluju u procesima poput transporta kisika, staničnog disanja, replikaciji nukleinskih kiselina, imunom sustavu ili staničnoj signalizaciji (Dev i Babitt, 2017). Nakon željeza, cink je najzastupljeniji mikroelement u ljudskom organizmu. Cink sudjeluje u regulaciji ekspresije gena, staničnom rastu, diferencijaciji stanica, održavanju imunog sustava te ubrzava aktivnost enzima koji sudjeluju u savijanju strukture proteina (Farag i sur., 2021). Potencijalna je njegova uloga i u moduliranju neurodegenerativnih bolesti, pretilosti i šećerne bolesti tipa 2 te fertiliteta kod muškaraca i žena (Skalny i sur., 2021). Selen je glavna komponenta više od 25 vrsta selenoproteina, koji imaju antioksidativnu aktivnost, sudjeluju u regulaciji oksidacijsko-redukcijskih reakcija i važni su za adekvatnu funkciju imunog sustava. Jod je važan za sintezu hormona štitne žlijezde koji reguliraju stopu bazalnog metabolizma i zaslužni su za rast i razvoj djece. Bakar je važan u antioksidacijskim procesima, staničnom disanju, homeostazi željeza, sintezi neurotransmitera i u moždanoj funkciji (Farag i sur., 2021).

2.3.2. Toksični elementi i učinci na zdravlje

Iako su dobrobiti konzumacije ribe vrlo dobro poznate uvijek je prisutna mala doza skepticizma zbog potencijalnog rizika od štetnih učinaka toksičnim tvarima kojima možemo biti izloženi konzumacijom ribe. Dostupnost toksikanata u ribi ovisi o različitim biološkim i okolišnim čimbenicima poput vrste, veličine i starosti ribe, mjesta izlova, temperature i saliniteta mora. S obzirom na to da je sediment uvijek bogatiji metalima, pridnene vode imat će veće koncentracije toksičnih, a ishrana morskih organizama također će uvjetovati njihovu akumulaciju (Jureša i Blanuša, 2003). Važno je rizik od štetnih učinaka toksikanata, kao što su metil-živa, dioksini i poliklorirani bifenili, svesti na minimum za konzumente ribe, a posebno u osjetljivih skupina stanovništva, trudnica i male djece, kod kojih mogu prouzročiti značajna i moguće ireverzibilna oštećenja. Prema Carlucci i sur. (2015) potrošači hrane morskog podrijetla, uključujući i ribu, s područja Australije i SAD-a, najviše su zabrinuti zbog prisustva toksičnog elementa žive, a u manjoj mjeri zbog kontaminanata poput polikloriranih bifenila. Zabrinutost je potpuno opravdana jer je poznato da se elementi poput žive, olova, kadmija i arsena najčešći nakupljaju u ribi i ostaloj hrani morskoga podrijetla, a nemaju fiziološku ni biokemijsku funkciju te se kao takvi smatraju toksičnim za većinu organizama, uključujući i ljude. Ukoliko njihov unos kroz vrijeme bude veći od dopuštenih razina, mogu dovesti do značajnih zdravstvenih smetnji, poremećaja, ali i trajnih oboljenja. Navedeni glavni toksični elementni prirodno su prisutni u okolišu, ali industrijski postupci i zagađenje mogu značajno povećati njihove razine, što se posebno odnosi na lokacije bliže urbanim središtima. Riba je svojevrsan indikator kvalitete vode u kojoj se nalazi, međutim različite ribe mogu nakupljati različite razine istih elemenata, u različitim tkivima, ali i razine se mogu razlikovati između pripadnika iste vrste (Bosch i sur., 2015). U organizam ribe toksični elementi mogu iz vode direktno ući preko škrge i kože koji su najizloženiji dijelovi ribljeg organizma ili kroz probavni trakta, a njihovo nakupljanje najizraženije je u metabolički aktivnim tkivima poput jetre, bubrega i škrge, a manjim djelom u mišićju (Ali i Khan, 2018). S obzirom da se mišićje ribe najviše konzumira, kao takvo je ciljni organ proučavanja u brojnim istraživanjima vezanim za procjenu štetnosti konzumacije ribe za zdravlje ljudi. Štetni učinci elemenata ovise o kemijskom svojstvu elementa, što će direktno utjecati na akumulaciju i mogućnost ekskrecije, pa su primjerice kadmij i arsen najtoksičniji u anorganskom obliku, dok su živa i olovo u organskim oblicima. Zdravstveni problemi koji su rezultat izloženosti toksičnim elementima uključuju poremećaje u funkcijama kardiovaskularnog sustava, hipertenziju, dijabetes, oštećenje mozga, poremećaj imunostnog i gastrointestinalnog sustava te anemiju, ali i maligna oboljenja. U

trudnica, izloženost visokim koncentracijama toksičnih metala, posebice neurotoksičnim elementima kao što su živa i olovo, može prouzročiti spontani pobačaj, dovesti do prijevremenog poroda, utjecati na sniženje porođajne mase djeteta zbog zaostajanja u rastu i razvoju ploda ili do malformacija fetusa (Arshad i sur., 2022).

Toksični element koji ipak zaokuplja najviše pažnje javnosti je živa, pogotovo ako je stavljena u kontekst s konzumacijom ribe. U okolišu je većinom prisutna kao elementarna živa (Hg^0) ili kao živin ion (Hg^{2+}). Lako isparavajući karakter elementarne žive omogućuje njezin transport u atmosferi. U vodenom okolišu fotokemijskom reakcijom (fotometilacijom) ili drugim procesima, koje kataliziraju bakterije sedimenta i one u organizmu same ribe, anorganski oblici se metiliraju u vrlo toksične organske komplekse kao što su metil-živa, dimetil-živa i etil-živa. Od spomenutih oblika metil-živa je najtoksičnija, pošto zbog svojih svojstava može efikasno prelaziti biološke barijere i kao stabilan kompleks snažno se vezati za sulfhidrilne grupe pojedinih aminokiselina. S obzirom na to da prolazi kroz krv-mozak barijeru dolazi do propadanja stanica u specifičnim dijelovima mozga pa pretjerano izlaganje metil-živi može dovesti do poremećaja vida i sluha, glavobolja, parestezija, poteškoća u kretanju, gubitka koordinacije, umora, tremora i atakse (Bosch i sur., 2015). Da je trovanje metil-živom ozbiljan problem koji ostavlja značajne posljedice govore nam i pojedine povijesne tragedije. Ona koja se posebno ističe dogodila se u zaljevu grada Minamata u Japanu u koji su odbačene značajne količine industrijskog kemijskog otpada na bazi metil-žive. Konzumacijom morskih organizama mještani su počeli ispoljavati neurološke simptome poput cerebralne ataksije, poremećaja vida i sluha, gubitka osjeta u udovima, dizartrije, gubitka ravnoteže, tremora itd., a s obzirom na to da metil-živa prelazi i placentalnu barijeru zabilježeno je više spontanih pobačaja, puno manje rođene muške djece i veće učestalosti cerebralne paralize kod novorođenčadi (Hachiya, 2006).

Kako bismo smanjili rizik od prekomjerne izloženosti navedenim toksičnim elementima uklanjanje ribe iz prehrane nikako ne bi trebala biti opcija s obzirom na njen vrijedan makronutritivni sastav ali i sadržaj esencijalnih elemenata, posebice selena i joda. Umjesto toga, u prehranu treba nastojati uvrstiti one vrste ribe koje imaju što niže razine nepoželjnih potencijalno toksičnih tvari, kao što je živa.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Uzorci ribe

Uzorci morske ribe dobivene su preko suradnje s dr. sc. Vjekoslavom Tičina iz Instituta za oceanografiju i ribarstvo u Splitu, nakon ulova na nekoliko lokacija u istočnom dijelu Jadranskog mora tijekom 2016., 2020. i 2021. godine (kao dio aktivnosti europskog projekta MEDIAS, engl. *MEDiterranean International Acoustic Survey*). Slatkovodna riba kupljena je u ribarnicama i trgovačkim centrima na području Grada Zagreba i Zagrebačke županije. Uzorci su izuzeti u ribarnicama Dolac, Kvatrić i Trešnjevka te u trgovačkim lancima Konzum, Lidl i Spar u razdoblju od 2021. do 2023. godine, dio u sklopu HrZZ projekta IP-2019-04-7193 (voditeljica dr. sc. V. M. Varnai, IMI, Zagreb) dok je dio kupljen isključivo u svrhu izrade ovog rada. Slatkovodna riba bila je podrijetlom iz Hrvatske, osim dva uzorka pastrva koji su uvezeni iz Italije i Bosne i Hercegovine. Detaljniji opis uzoraka nalazi se u Tablici 3. Uzorci ribe u ovom radu izabrani su u skladu s istraživanjem koje je provedeno na hrvatskoj populaciji gdje se pokazalo kako su najčešće konzumirane morske riblje vrste oslić (40 %) i srdela (38 %), dok se kod slatkovodnih najviše radi o šaranu (24 %) i pastrvi (9 %) (EUROFISH, 2017).

Tablica 3. Osnovne značajke uzoraka ribe: latinski naziv vrste, broj jedinki po uzorku, mjesto ulova/nabave i godina uzorkovanja i rasponi vrijednosti za duljinu i mase jedinki ribe za vrste pastrva, šaran, srdela i oslić

Vrsta	Latinski naziv	Jednika (n)	Uzorci (n _r /n _K)	Mjesto ulova/ nabave	Godina	Duljina (mm)	Masa (g)
Pastrva	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	13	13/0	Ribarnice Konzum, Lidl, Spar	2022./2023.	280–310	232–321
Pastrva (fileti)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	2	2/0	Spar	2023.	/	/
Šaran (fileti)	<i>Cyprinus carpio</i>	10	10/0	Ribarnice Konzum, Lidl, Spar	2022./2023.	370–400*	~1400*
Srdela	<i>Sardina pilchardus</i>	59	0/11	Jadransko more	2016.	77–147	5–29
Oslić	<i>Merluccius merluccius</i>	26	26	Jadransko more Ribarnice	2014./2016. 2021./2022.	135–500	19–995

*šarani filetirani na ribarnici prilikom nabave uzoraka

n_r: broj uzoraka s jednom ribom (ili filetom za slatkovodnu ribu) po uzorku

n_K: broj kompozitnih uzoraka s ≥ 2 jedinke ribe slične duljine po uzorku

3.1.2. Kemikalije i standardi

Prilikom pripreme uzoraka i multi-elementne analize korištene su navedene kemikalije i standardi:

- etanol (C₂H₅OH, 96 % *p.a.*, Kemika, Hrvatska)
- Kemex A (Kemika, Hrvatska)
- koncentrirana dušična kiselina (HNO₃, konc. 65 %, *p.a.*, Merck, Njemačka)
- standardne otopine pripremljene iz 1000 mg/L ICP *multi-element standard solution IV* (Merck) i standardna otopina žive 1000 µg/mL (Inorganic Ventures, SAD)
- ultra-čista voda, specifične vodljivosti: 0,555 µS/cm (pri 25 °C; 18,2 MΩcm)

3.1.3. Aparatura i pribor

Oprema i instrumenti korišteni u eksperimentalnom radu:

- analitička vaga (New Classic MS303S, Mettler Toledo AG, Švicarska)
- kuglični mlin (MM 400, Retsch, Njemačka)
- kvarcni sustav za pročišćavanje kiseline (SubPUR, Milestone S.r.l., Italija)
- uređaj za ultra čistu vodu (BarnsteadTMSmart2Pure 6 UV/UF, Thermo Scientific, Njemačka)
- mješalica (Vortex Genius 3, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Njemačka)
- liofilizatori: HETOSIC (Heto, Danska) i HyperCOOL 3005 (Labogene, Korea)
- uređaj za mikrovalnu razgradnju (UltraCLAVE IV, Milestone S.r.l., Italija)
- uređaj za masenu spektrometriju s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS 8800cx Agilent Technologies)

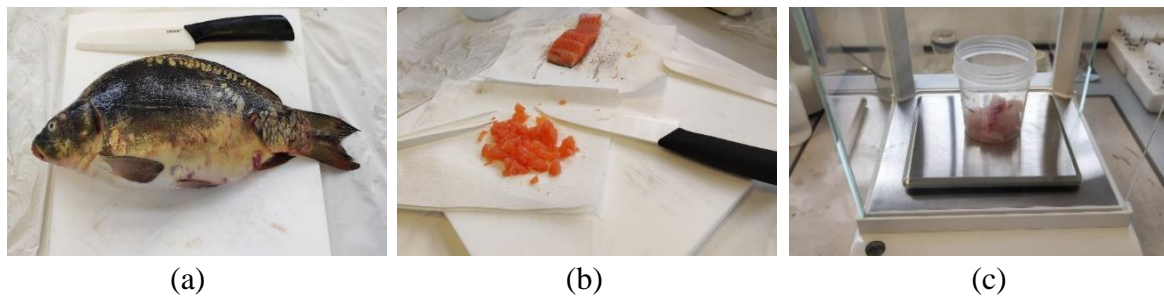
Laboratorijski pribor:

- Eppendorf pipete s nastavcima (200, 300, 1000 µL; 5 mL) (Eppendorf AG, Njemačka)
- multikanalna elektronička pipeta
- kvarcne kivete s teflonskim čepovima (12 mL, Milestone, Italija)
- posudice s čepovima na navoj ili poklopcima (PE 25 mL, PP 15 ml; Kartell; PP 5 i 100mL, Sarstedt)
- volframove kuglice za homogenizaciju uzoraka
- keramički noževi i daske
- plastične žličice i pinceta

3.2. METODE

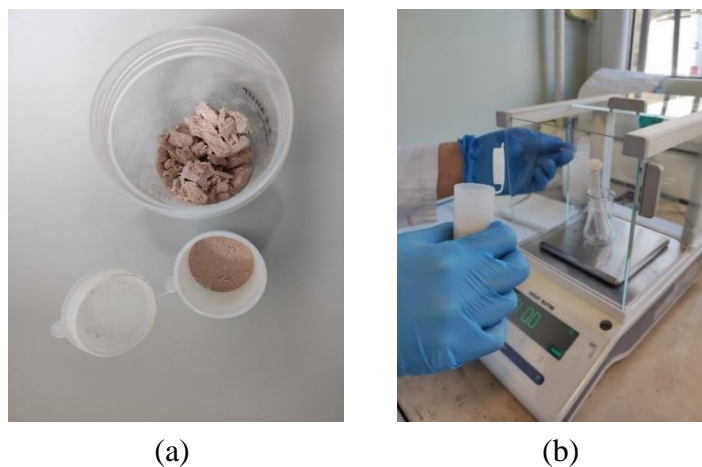
3.2.1 Priprema uzoraka ribe za multi-elementnu analizu

Uzorcima ribe keramičkim nožem izuzeti su dijelovi fileta i uklonjena je koža. Fileti su usitnjeni na manje komadiće i pohranjeni u posudicama na navoj u odvagi od približno 20 g. Za vaganje uzoraka korištena je analitička vaga New Classic MS303S (Mettler Toledo AG, Švicarska). Do postupka liofilizacije, posudice s uzorcima su čuvane u zamrzivaču na -15 °C (Slika 2.).



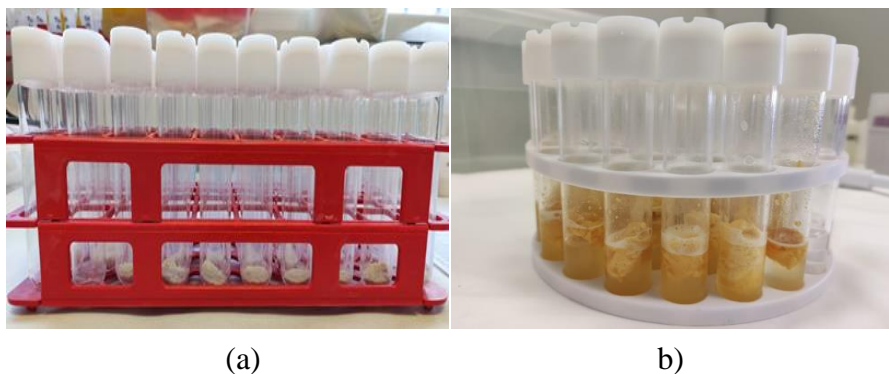
Slika 2. a) Jedinka šarana (*Cyprinus carpio*), b) uzorkovanje fileta mišićja pastrve, c) vaganje mokrih uzoraka mišićja ribe (vlastite fotografije)

Liofilizacija uzoraka provodila se na uređajima HETOSIC (Heto, Danska) i HyperCOOL 3005 (Labogene, Korea) na -50 °C u periodu od 72 h. Nakon liofilizacije, uzorci su izvagani i zabilježena je odvaga suhe mase (Slika 3). Potom su uzorci homogenizirani u kugličnom mlinu (MM 400, Retsch, Njemačka) s pomoću volframovih kuglica. Trajanje homogenizacije bilo je 4 minute uz frekvenciju vibriranja 22,5 Hz.



Slika 3. a) Liofilizirani komadi ribljeg mišićja (gore) i homogenat ribljeg mišićja (dolje), b) vaganje suhih uzorka (vlastite fotografije)

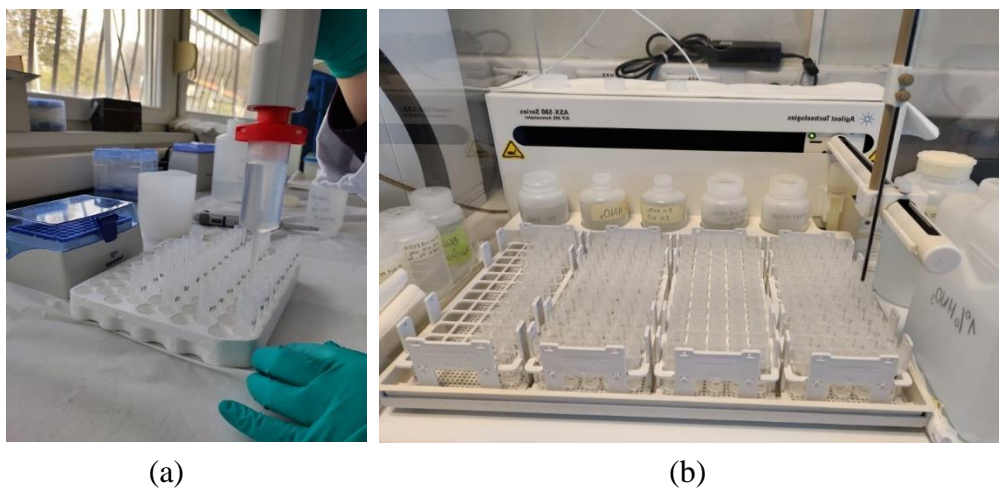
Homogenizirani uzorci pripremljeni su za razgradnju u kvarcnim kivetama s teflonskim čepovima u odvagama od 0,250 g mišićja ribe. Zatim je na uzorak dodano 2 mL koncentrirane dušične kiseline (HNO_3) pročišćene u sustavu SubPUR (Milestone, Italija) i 2 mL ultra-čiste vode specifične vodljivosti $0,055 \mu\text{S}/\text{cm}$ dobivene na uređaju BarnsteadTMSmart2Pure 6 UV/UF (Thermo Scientific, Njemačka) (Slika 4). Kako bi bili što pogodniji za analizu uzorci su razgrađeni u mikrovalnom visokotlačnom reaktoru UltraCLAVE IV (Milestone S.r.l., Italija) prema temperaturnom programu koji je opisan u Prilogu. Nakon razgradnje, kivete su ohlađene na sobnu temperaturu, uzorci nadopunjeni ultra-čistom vodom do odvage 6 g i zatim preneseni u posudice s poklopcem na navoj (5 mL, Sardsteadt). Prije nego budu podvrgnuti multi-elementnoj analizi uzorci se čuvaju na temperaturi od $4 \text{ }^\circ\text{C}$.



Slika 4. Homogenizirani uzorci a) prije i b) nakon što je dodana smjesa dušične kiseline i ultra-čiste vode (*vlastite fotografije*)

3.2.2. Multi-elementna analiza uzoraka ribe

Koncentracije esencijalnih (željezo, mangan, bakar, cink i selen) i toksičnih elemenata (živa, arsen, kadmij, olovo) određivane su metodom spektrometrije masa induktivno spregnute plazme (ICP-MS) na uređaju Agilent 8800cx (Agilent Technologies). Uzorci su prije analize razrijeđeni 10 puta u otopini koja se sastojala od 1 % (v/v) HNO₃ i 3 μg/L internih standarda (germanij, rodij, terbij, lutecij i iridij) (Slika 5). Kalibracijske krivulje pripremljene su u 5 % (v/v) HNO₃ i 1 % (v/v) HCl otopini za živu (Inorganic Ventures, SAD) i 1 % (v/v) HNO₃ otopini za ostale elemente (Merck, Njemačka). Uvjeti rada mjernog instrumenta ICP-MS 8800cx za vrijeme analize bili su sljedeći: kvarc komora za raspršivanje uzoraka, MicroMist raspršivač; temperatura u komori za raspršivanje 2 °C; protok plazma plina 15,0 L/min; protok plina u raspršivaču 1,14 L/min; protok plina za razrjeđenje 0,90 L/min; RF snaga 1550 W; reakcijski plinovi HEHe (engl. *High Energy Helium*), vodik (H₂) i bez plina. Mjereni izotopi analita: ⁵⁴Fe, ⁵⁵Mn, ⁶³Cu, ⁶⁸Zn, ⁷⁵As, ¹¹⁴Cd, ²⁰⁸Pb (HEHe), ⁷⁸Se (H₂) i ²⁰²Hg (bez plina). Granice detekcije i kvantifikacije prikazane su u Prilogu.



Slika 5. a) Razrjeđivanje uzoraka prije analize, b) Autosampler s uzorcima i otopinama za ispiranje na uređaju Agilent ICP-MS 8800cx (Agilent Technologies) (*vlastite fotografije*)

Analizirani su i uzorci slijepe probe (radi utvrđivanja mogućeg onečišćenja uzoraka tijekom postupaka pripreme uzoraka i mjerenja) i referentni materijali IAEA-407 riblji homogenat (Međunarodna agencija za atomsku energiju, Monako) i IRMM ERM BB-422 mišić ribe (Institut za referentne materijale i mjerenja, Belgija) radi nadzora kakvoće mjerenja. Koncentracije elemenata izražene su na mokru masu uzorka u mg/kg.

3.3. PROCJENA KORISTI I RIZIKA KONZUMACIJE RIBE ZA ZDRAVLJE

Kako bismo odredili koristi unosa esencijalnih elemenata, odnosno rizike unosa toksičnog elementa žive, konzumacijom morske i slatkovodne ribe korištene su formule u nastavku:

- Procjena unosa elementa po obroku ribe od 150 g za odrasle i 75 g za djecu (engl. *Estimated Intake*, EI)

$$EI (\text{esencijalni elementi}) = MS \cdot C \quad [1]$$

$$EI (\text{toksični element}) = (MS \cdot C) / TM \quad [2]$$

- Procjena razine dosegutosti preporučenih prehrambenijh vrijednosti za unos esencijalnih elemenata na dan (engl. *Dietary Reference Values*, DRV) za željezo, mangan, cink, bakar i selen (EFSA, 2017)

$$\% DRV = [(MS \cdot C) / DRV] \cdot 100 \quad [3]$$

- Procjena razine dosegutosti dozvoljenog tjednog unosa (engl. *Tolerable Weekly Intake*, TWI) za metilživu od 1,3 µg/kg tjelesne mase (TM) (EFSA, 2012)

$$\% TWI = \{ [(MS \cdot C) / TM] / TWI \} \cdot 100 \quad [4]$$

- Kvocijent ciljne opasnosti THQ (engl. *Target Hazard Quotient*) za živu

$$THQ = (MS \cdot C) / (\text{referentna vrijednost unos/} \\ \text{izloženosti metala} \cdot TM) \quad [5]$$

Oznake u izračunima:

MS – veličina obroka ribe od 75 g za djecu, 150 g za odrasle osobe;

C – izmjerena masena koncentracija elementa u ribi izražena u mg/kg mokre mase

TM – tjelesna masa od 27 kg za djecu dobi 7 godina i 70 kg za odrasle osobe

Referentna vrijednost: dozvoljeni unos na tjedan od 1,3 µg MeHg/kg tjelesne mase izraženo kao živa (EFSA, 2012)

Izračuni su rađeni uz pretpostavku da je sva živa koja je izmjerena u mišićju ribe u obliku metilžive. Vrijednosti DRV su izražene u mg/g na dan, a vrijednosti TWI u µg/kg tjelesne mase na tjedan. Vrijednosti THQ veće od 1 označavaju povećani rizik od mogućih štetnih učinaka metala na zdravlje.

3.4. OBRADA PODATAKA

Za statističku i grafičku obradu podataka korišteni su programi TIBICO Statistica (ver. 14.0.015., TIBICO Software Inc., SAD) i Microsoft Office Excel (2010, Microsoft, SAD). Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost, standardna devijacija i raspon od najmanje do najveće vrijednosti.

Razlike u razinama elemenata između vrsta testirane su Studentovim *t*-testom.

Za vrstu oslić, uzorci su podijeljeni u tri skupine prema duljini ribe: 1) 11,0 – 20,9 cm (n=13); 2) 21,0 – 30,9 cm (n=8) i 3) 31,0 – 50,0 cm (n=5). Zbog nenormalne distribucije podataka, razlike među skupinama testirane su Kruskal-Wallis testom i višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti između skupina. Rezultati su prikazani kao Box i Whisker dijagram na kojima donja i gornja linija predstavljaju najmanju i najveću vrijednost, crni kvadrat medijan, a kružić netipične vrijednosti. Izračunat je Spearmanov koeficijent korelacije (ρ) za odnose između duljine ribe, mase ribe i razina esencijalnih i toksičnih elemenata u mišićju ribe. Dobivene vrijednosti interpretirane su prema Prion i Hearling (2014) na sljedeći način: 0,21 - 0,40 za slaba; 0,41 - 0,60 srednja; 0,61 - 0,80 jaka; > 0,80 iznimno jaka.

Dodatno je testiran i odnos između razina žive u mišićju ribe i duljine ribe pomoću Pearsonovog koeficijenta korelacije (*r*).

Svi statistički testovi provedeni su na razini značajnosti $p < 0,05$ (95 %-tni interval pouzdanosti).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Riba je izvor visokovrijednih hranjivih tvari, no istovremeno i izvor štetnih tvari iz okoliša koje mogu biti nakupljene u njenim organima i mišićnom tkivu.

Rezultati ovog istraživanja prikazani su tablično u obliku dvije tablice te u pet slika koji su podjeljeni u 2 potpoglavlja obzirom na definirane ciljeve i usporedbu razina. Tablica 4. predstavlja pregled svih uzoraka te analiziranih elemenata prema kojoj je u produžetku napravljena usporedba razine elemenata u najčešće konzumiranim vrstama slatkovodne (pastrva i šaran) i morske ribe (srdela i oslić) izdvojene temeljem podataka istraživanja EUROFISH (2017) o preferencijama potrošača vezanih za unos ribe. U potpoglavlju 4.1. odrađena je procjena unosa esencijalnih elemenata s obzirom na preporuke putem odabrane ribe, što je potkrijepljeno slikom 6 koja opisuje prikaz dosegnutosti prehrambenih preporuka za a) djecu do 7 godina i b) odrasle. Poglavlje 4.2. daje uvid procjene unosa žive kroz THQ vrijednost za nekoliko obroka (slika 7), molarni omjer selena i žive (slika 8) za sve vrste. U nastavku su prikazane utvrđivane korelacije između duljine ribe i esencijalnih elemenata (slika 9, tablica 5) i žive (slika 10) za vrstu jadranski oslić (*Merluccius merluccius*).

Tablica 4. Razine elemenata u mišićju četiri najčešće konzumirane vrste ribe u Hrvatskoj

Element mg/kg	Slatkovodna vrsta		Morska vrsta	
	Pastrva <i>Oncorhynchus mykiss</i> n _I = 15	Šaran <i>Cyprinus carpio</i> n _I = 10	Srdela <i>Sardina pilchardus</i> n _C = 11	Oslić <i>Merluccius merluccius</i> n _I = 26
Fe	2,16 ± 0,63 ^a 1,57 – 4,02	4,21 ± 1,59 ^b 2,71 – 6,67	14,5 ± 1,78^c 11,8 – 17,6	0,97 ± 0,20 ^d 0,69 – 1,41
Mn	0,08 ± 0,01 ^a 0,06 – 0,10	0,12 ± 0,04 ^b 0,07 – 0,18	0,63 ± 0,12^c 0,48 – 0,82	0,12 ± 0,03 ^b 0,08 – 0,20
Cu	0,24 ± 0,08 ^a 0,18 – 0,44	0,23 ± 0,09 ^a 0,13 – 0,39	1,32 ± 0,22^b 1,04 – 1,75	0,12 ± 0,02 ^c 0,08 – 0,17
Zn	2,70 ± 0,34 ^a 2,23 – 3,33	3,36 ± 1,72 ^a 2,12 – 8,03	21,7 ± 3,92^b 16,1 – 27,4	2,98 ± 0,30 ^a 2,37 – 3,57
Se	0,14 ± 0,06 ^a 0,09 – 0,028	0,20 ± 0,09 ^b 0,10 – 0,39	0,84 ± 0,14^b 0,66 – 1,12	0,34 ± 0,05 ^c 0,24 – 0,48
Hg	0,014 ± 0,014 ^a 0,003 – 0,044	0,032 ± 0,025 ^b 0,003 – 0,072	0,082 ± 0,032 ^c 0,053 – 0,146	0,172 ± 0,183^c 0,053 – 0,965
As	0,21 ± 0,16 ^a 0,10 – 0,68	0,03 ± 0,02 ^a 0,01 – 0,05	9,34 ± 4,47 ^b 3,79 – 18,5	10,7 ± 5,39^b 4,53 – 24,6
Cd	<MDL	0,0007 ± 0,0008 0,000 – 0,003	0,002 ± 0,001 0,001 – 0,003	<MDL – 0,001
Pb	<MDL	<MDL – 0,002	0,014 ± 0,005 0,009 – 0,023	<MDL – 0,01

MDL (engl. *Method Detection Limit*): granica detekcije metode

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija i raspon (min-max).

^{abc}Različita slova označavaju statistički značajne razlike između vrsta riba ($p < 0,05$).

Podebljane vrijednosti označavaju najveću dobivenu srednju vrijednost za pojedini element između promatranih vrsta.

Za svaku odabranu slatkovodnu i morsku vrstu riba određene su razine esencijalnih elemenata željezo, mangan, bakar, cink, selen te toksičnih elemenata ukupna živa, arsen, kadmij i olovo (tablica 4). Prema dobivenim rezultatima evidentno je kako srdela značajno prednjači po prosječnim razinama svih analiziranih esencijalnih elemenata. Primjerice, prosječna razina željeza u srdele je 14,5 mg/kg, slijede šaran (4,21 mg/kg) i pastrva (2,16 mg/kg), a najmanje razine utvrđene su u jadranskog oslića (0,97 mg/kg). U radu Zotos i Vouzanidou (2012) pokazano je da sitna pelagična morska riba iz ulova (srdela, oslić, skuša, bukva) ima znatno veće razine željeza od slatkovodne ribe iz uzgoja te da se među analiziranim morskim vrstama te vrijednosti ne razlikuju značajno. U ovom istraživanju, dobiveno je da se pastrva i šaran razlikuju od srdela u sastavu svih esencijalnih elemenata, a od oslića u željezu, bakru i selenu, dok se pastrva od oslića razlikuje i u manganu. U usporedbi s pastrvama iz ulova u Turskoj, razine esencijalnih elemenata u mišićju pastrve dostupne na hrvatskom tržištu, koje su većinom iz hrvatskog uzgoja, višestruko su niže za željezo (25,1 vs. 2,16 mg/kg) i cink (21,9 vs. 0,24

mg/kg) (Dizman i sur., 2017). Razlike se mogu pripisati podrijetlu ribe, s obzirom da su pastrve iz Turske bile iz ulova dok su pastrve analizirane u ovom istraživanju podrijetlom iz uzgoja u Hrvatskoj, što doprinosi kretanju jedinki u djelomično kontroliranijem okolišu. Razine esencijalnih elemenata u mišićju šarana slične su razinama elementa u šarana iz ulova u Poljskoj dobivenih u radu Lidwin-Kaźmierkiewicz i sur. (2009) (u mg/kg: željezo: 3,2; mangana: 0,20; cink: 3,3; bakar 0,08). Esencijalni elementi željezo, mangan, bakar, cink i selen u mišićju šarana u radu Vilizzi i Tarkan (2016) bili su u skladu s rezultatima dobivenim u ovom istraživanju, osim nekih uzoraka koji su akumulirali veće koncentracije selena i cinka o čemu je najvjerojatnije ovisilo mjesto uzorkovanja. Prosječne koncentracije (mg/kg mokre mase) elemenata mišićnog mesa šarana u radu Peycheva i sur. (2022) za željezo (1,92), cink (3,27), mangan (0,05) i bakar (0,16) slične su vrijednostima dobivenim u ovom istraživanju, za razliku od prikazanih u radu Lei i sur. (2019) u kojem su vrijednosti za navedene esencijalne elemente oko 3,5 do 12 puta veće od elemenata utvrđenih u šarana dostupnog na hrvatskom tržištu.

Uzorci slatkovodne ribe imaju do 10 puta niže razine žive i do 300 puta niže razine arsena od morske ribe (tablica 4). Među analiziranim vrstama ribe, najveće prosječne razine ukupne žive i ukupnog arsena izmjerene su u jadranskog oslića (0,172 mg/kg za Hg i 10,7 mg/kg za As). Rezultati su usporedivi s istraživanjem Zupo i sur. (2019) koje je pokazalo kako slatkovodna riba ima značajno niže razine žive nego morska riba. Navedene razlike pripisuju se okolišnoj kontaminaciji, kakvoći lanca hrane i različitim biološkim faktorima. Dobivene vrijednosti za živu u šarana i pastrve od 0,039 mg/kg i 0,024 mg slažu se s rezultatima ovog istraživanja. Razine žive u različitim vrsta pastrve i u ostaloj dostupnoj literaturi bile su vrlo niske, te njihova konzumacija ne predstavlja rizik za potrošače s obzirom na rizik koji predstavlja unos žive (Fakhri i sur., 2020). Postoji zabrinutost od potencijalne toksičnosti zbog prekomjerne akumulacije metil-žive i mangana na pojedinim uzorcima slatkovodne ribe u Kini, uključujući šarana (Lei i sur., 2019; Peycheva i sur., 2022). U istraživanju Bilandžić i sur. (2017) provedenom na različitim vrstama ribe dostupnih na hrvatskom tržištu, također su utvrđene vrlo niske razine žive u pastrva (0,0152 mg/kg) i šarana (0,0263 mg/kg). U usporedbi s ovim istraživanjem, utvrđene su i niže razine za oslić (0,032 mg/kg), što se bi se moglo pripisati razlici u duljini ribe i mjestu ulova u Jadranskom moru. Uzorci oslića uhvaćenog u Jonskom moru pokazuju prosječne razine žive od 0,009 mg/kg mokre mase u mišićju što je 19 puta manje od uzoraka u ovom radu (Salvaggio i sur., 2020). Razine žive u jadranskog oslića veće od 0,2 mg/kg utvrđene su u radovima Jureša i Blanuša (2003) (0,275 i 0,373 mg/kg) i Perugini sur. (2013) (0,59 mg/kg). Perugini i sur. (2013) utvrdili su i do 2 puta veće razine žive

u srdela (0,298 mg/kg) u usporedbi s vrijednostima utvrđenim u ovom istraživanju (0,082 mg/kg). U radu Traina i sur. (2019) na uzorcima srdela prikupljenim na obali Sicilije, razine žive bile su u rasponu od 0,09 do 0,12 mg/kg ovisno o mjestu izlova. Od vrijednosti u ovom istraživanju zabilježene su manje prosječne vrijednosti žive (0,0025 mg/kg) u srdele izlovljavane na obali Portugala (Costa i sur., 2020).

Koncentracije anorganskog arsena u morskoj vodi su niži nego u kopnenim vodama. Ipak, u morskim organizmima zabilježeno je veće nakupljanje ukupnog arsena nego u kopnenim organizmima. Čak 90 % arsena u ribi nalazi se u organskom obliku arsenobetain za koji nisu utvrđeni štetni učinci po zdravlje ljudi. Razine ukupnog arsena razlikuju se među vrstama pa tako pridnene i demerzalne vrste sadrže više razine nego pelagične (Taylor i sur., 2017; Bosch i sur., 2015). Morske ribe imaju i puno veće razine arsenobetaina u odnosu na slatkovodne ribe i to posebice one iz uzgoja koje obitavaju u kontroliranim uvjetima (EFSA, 2009). Sukladno navedenom u ovom istraživanju dobiveno je da su razine arsena u srdele i oslića od 50 do 300 puta veće nego u pastrve i šarana (0,03 mg/kg u šarana vs 10,7 mg/kg u oslića).

Osim žive i arsena, riba može sadržavati i ostale toksične metale poput kadmija i olova. Razine kadmija i olova bile su niske i u morskih i u slatkovodnih vrsta, a u pastrve i oslića za dio uzoraka bile su niže od granice detekcije metode. Dobivene vrijednosti za razine kadmija i olova u pastrva i šarana slažu se s vrijednostima dobivenim u istraživanju na istim vrstama ribe u Turskoj i Poljskoj (Dizman i sur., 2017; Lidwin-Kaźmierkiewicz i sur., 2009). Očekivano veće razine kadmija i olova od razina izmjerenih u mišićju, određene su u škragama i jetri šarana (Dizman i sur., 2017).

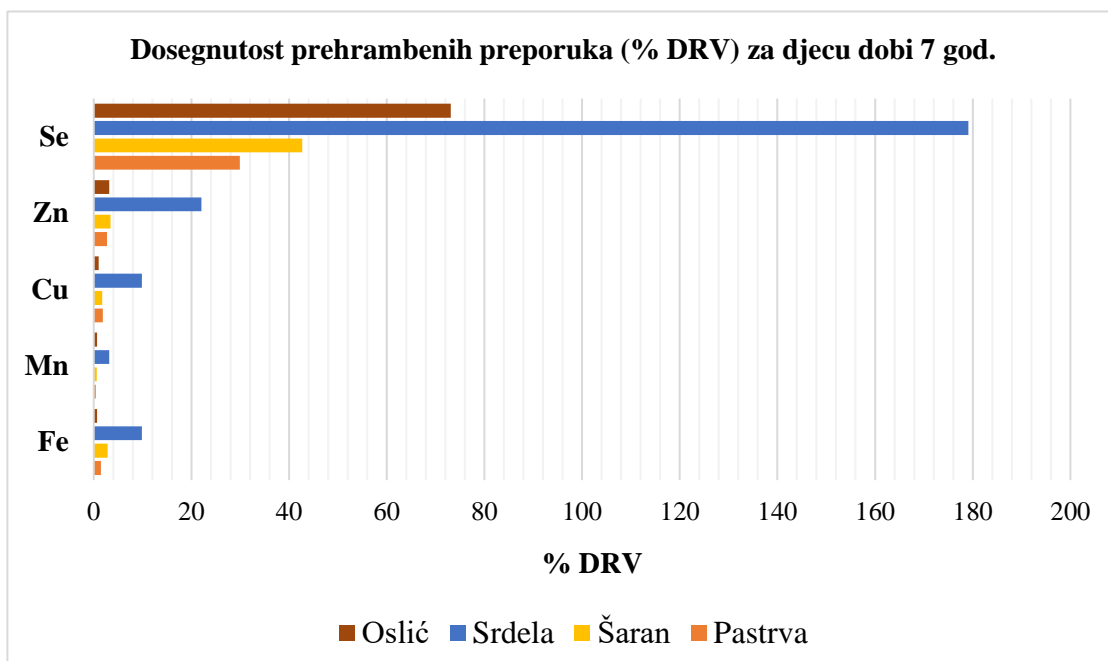
4.1. PROCJENA UNOSA ESENCIJALNIH ELEMENATA

Procjena prehrambene koristi konzumacije ribe izračunata je za esencijalne elemente željezo, cink, mangan, bakar i selen (slika 6.) gdje su zasebno određivane vrijednosti zadovoljavanja prehrambenih preporuka za djecu do 7 godine starosti i odrasle osobe (oba spola) izražene kao % DRV (engl. *Dietary Reference Value*). Kod DRV, ako je bio naveden raspon vrijednosti, uzimane su gornje vrijednosti raspona. Kao okvirna količina obroka ribe za djecu uzeto je 75 grama, dok je za odrasle uzeto dvostruko više, 150 grama.

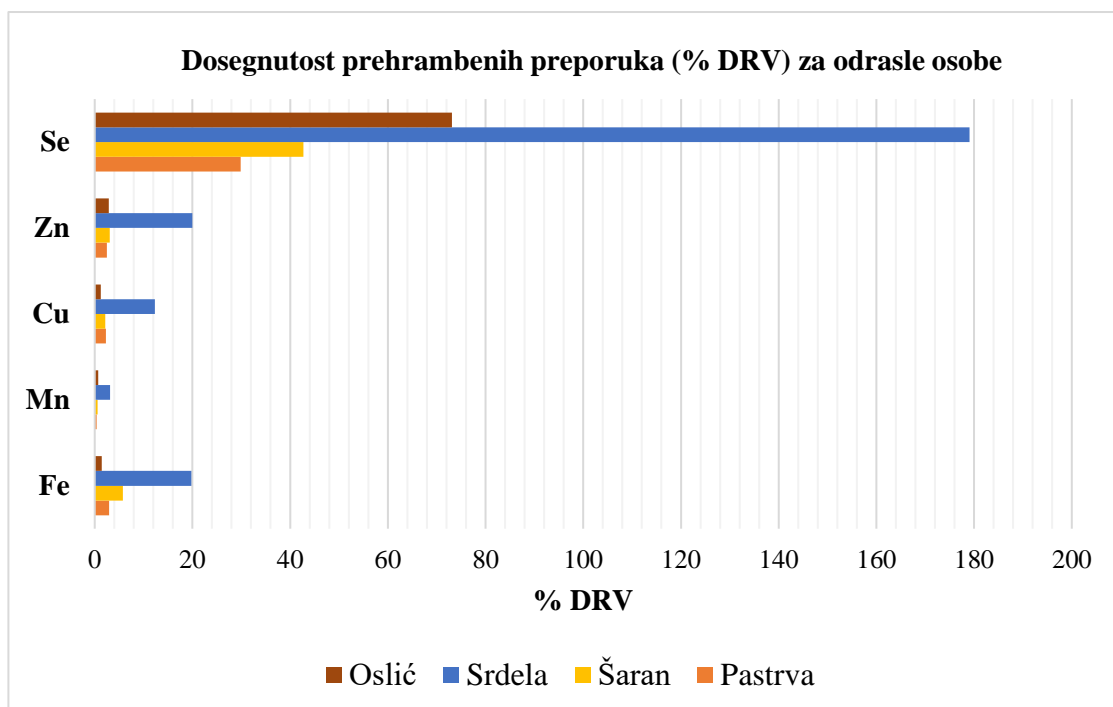
Ono što se posebno ističe je dosegnutost dnevnih preporuka za selen, koji za konzumaciju srdele doseže gotovo 180 % DRV, dok je za pastrvu najmanji i iznosi gotovo 30 % DRV. Na osnovu spomenutog, iako morska riba ima značajno veću razine selena, slatkovodna riba također može biti dobar odabir u zadovoljavanju dnevnih potreba za selenom. Slično kao i za selen, konzumacijom srdele možemo ostvariti preporučeni unos željeza 6,8 - 13,8, cinka 6,5 - 8, bakra 5,3 - 9,5 i mangana 4,5 - 7,9 puta više nego s oslićem ili slatkovodnom ribom pastrvom i šaranom.

Za obje promatrane skupine, djece i odraslih, jednim obrokom srdele možemo u prosjeku zadovoljiti oko 20 % DRV za cinkom, 11 % DRV za bakrom, od 10 do 20 % DRV za željezom te do 5 % DRV za manganom. Kod oslića, šarana i pastrve, dosezanje DRV preporuka je bilo manje od 5 % za sve promatrane elemente osim selena. Skatecki i sur. (2020) pokazali su kako konzumacija obroka od 100 g fileta pastrve za sve dobne skupine oba spola ne može adekvatno doseći DRV preporuka za esencijalne elemente (željezo, bakar, cink, mangan). U usporedbi s filetima, ikra pastrve pokazala je puno bolji potencijal u zadovoljavanju nutritivnih preporuka za esencijalnim elementima.

a)



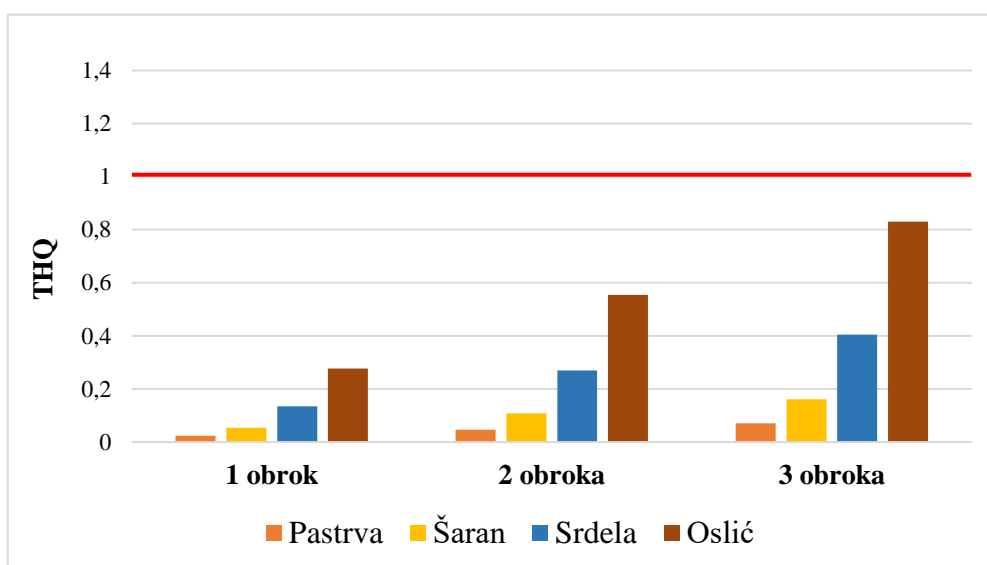
b)



Slika 6. Prikaz dosegnutosti prehrambenih preporuka za dnevni unos esencijalnih elemenata putem ribe izražen kao % DRV za a) djecu dobi 7 godina i b) odrasle osobe

4.2. PROCJENA UNOSA ŽIVE PUTEM SLATKOVODNE I MORSKE RIBE

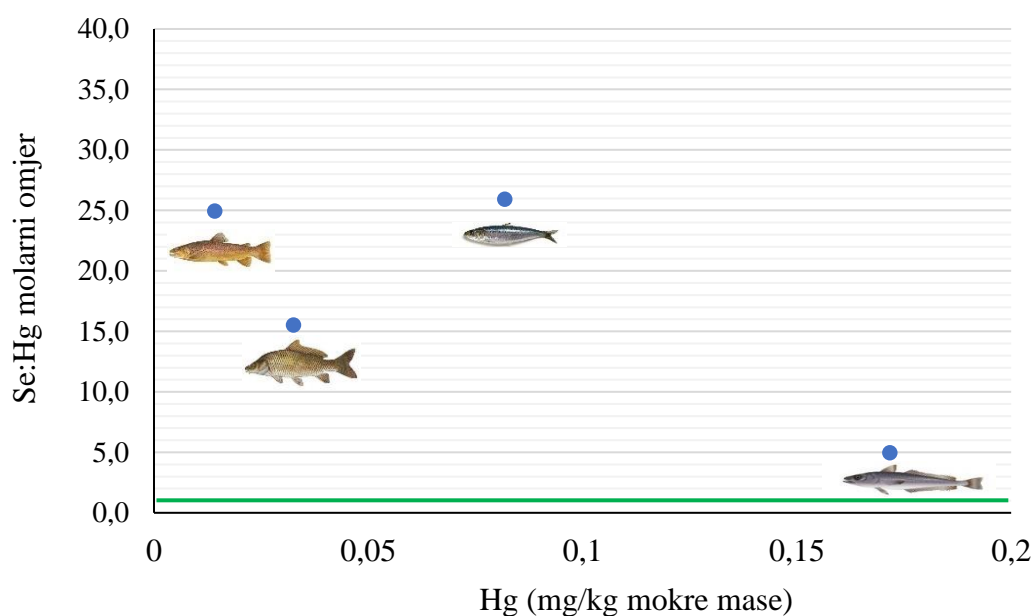
Kako bi procijenili ukupan rizik konzumacije odabranih vrsta slatkovodne i morske ribe u ovom radu koristili smo se izračunima kvocijenta ciljne opasnosti (THQ). Za odrasle osobe oba spola, od prosječno 70 kg tjelesne mase, određena je veličina obroka od 150 g mesa ribe i na osnovu toga pratilo se proporcionalno povećanje unosa žive konzumacijom od 1 do 3 obroka na tjedan (slika 7). Procjenom je utvrđeno da ni za jednu od promatranih vrsta ribe THQ za tjedni unos od 1 do 3 obroka ne premašuje vrijednost 1 (odnosno nije veći od dopuštenog tjednog unosa za živu u obliku metilžive utvrđenog od EFSA), na osnovu čega zaključujemo kako konzumacija navedenih vrsta ne predstavlja rizik za potrošača. Ipak, pošto je THQ za oslić kod unosa 3 obroka na tjedan iznosio 0,83 mogli bismo zaključiti da bi njegov unos trebao biti ograničen na taj broj obroka tjedno kako ne premašili dozvoljenu vrijednost tjednog unosa za živu koja iznosi 1,3 mg/kg tjelesne mase. Najsigurnije bi bilo konzumirati slatkovodnu ribu, odnosno pastrvu i šarana. Za pastrvu, % TWI iznosi 2,34 za jedan obrok od 150 g što znači da je potrebno konzumirati otprilike 40 obroka pastrve na tjedan da bi živa sadržana u mesu ribe mogla predstavljati bilo kakav rizik za zdravlje potrošača. Iako u najčešćem slučaju oslić ne bi trebao predstavljati nikakav rizik, literatura pokazuje da pojedine lokacije poput Katanije na Siciliji mogu biti problematične, dok je kod srdele THQ < 1 (Bošković i sur., 2023; Traina i sur., 2019; Barone i sur., 2015). Sukladno rezultatima dobivenim u ovom istraživanju i na osnovu pregledanih radova sa sigurnošću možemo tvrditi da slatkovodna riba poput pastrve i šarana ne predstavlja rizik za ljudsku konzumaciju s obzirom na vrlo niske razine žive u mišićju (Łuczyńska i sur., 2022; Alberto i sur. 2021; Dizman i sur, 2017).



Slika 7. Procjena zdravstvenog rizika konzumacije ribe vrste pastrva, šaran, srdela i oslić izračunom kvocijenta ciljne opasnosti (THQ) za živu kod odraslih osoba. Vrijednosti THQ veće od 1 (crvena linija) označavaju povećani rizik od mogućih štetnih učinaka metala na zdravlje

Antagonistički odnos žive i selena u organizmu već je vrlo dobro poznat, gdje selen omogućuje kardioprotektivni učinak svojom antioksidativnom aktivnošću ili je u mogućnosti degradirati metil-živu u manje toksične anorganske oblike, čime je olakšano njeno izlučivanje iz organizma (Mozaffarian, 2009). Stoga riba, kao medij bogat selenom, u nekim slučajevima može biti dobra strategija za smanjivanje izloženosti živi u populaciji. Biodostupnost selena uvelike će ovisiti o području u kojem se riba nalazi, tako će na mjestima gdje je visoka koncentracija žive ili gdje je pH vrijednost zbog određenih faktora manja, koncentracija selena u ribi biti smanjena pa će više nakupljati metil-živu (Ralston i sur., 2016). Za procjenu rizika kod analiziranja pojedinog medija može nam poslužiti molarni omjer Se:Hg, koji ako je manji od 1 ukazuje na povećan rizik od toksičnog učinka žive. Molarni omjer Se:Hg bio je najveći kod sitne ribe kao što je srdela (25,93) koja sadrži najviše selena, dok je kod oslića najmanji (4,99) s obzirom na veći sadržaj žive u odnosu na ostale vrste (slika 8.). Krupne morske ribe imaju manje molarne omjere Se:Hg zbog više žive koju nakupljaju u mišićju (Polak-Juszczak, 2015). Zbog niskih razina žive (0,032 mg/kg i 0,014 mg/kg), ali povoljnog sadržaja selena (0,143 i 0,20 mg/kg), šaran i pastrva imaju dobar omjer Se:Hg (veći od 15). Slične vrijednosti

molarnog omjera Se:Hg dobivene su za slatkovodnu ribu uzorkovanu u rijeci Columbia u Sjevernoj Americi (Cusack i sur., 2017). U radu Burger i Gochfeld (2013) pokazano je kako u usporedbi sa slatkovodnom ribom veći broj morske riba ima vrijednosti omjera Se:Hg manje od 1, što je moguće zbog nešto manjeg broja slatkovodne ribe koja se analizirala. U istom radu pokazalo se kako se značajne razlike u omjeru mogu javiti unutar različitih vrsta ribe ulovljenih na istoj lokaciji, unutar iste vrste te da nema očite generalne razlike u molarnim omjerima selena i žive između slatkovodne i morske ribe. Iako veličina ribe ne određuje nužno omjer Se:Hg, on bi se mogao smanjivati kako se povećava veličina ribe što je posebno slučaj kod predatorski morskih riba, dok odnos veličine i omjera kod slatkovodne ribe nije u potpunosti istražen (Burger i Gochfeld, 2013).



Slika 8. Razine žive (mg/kg mokre mase) i molarni omjer selena i žive u mišićju pastrve, šarana, srdele i oslića

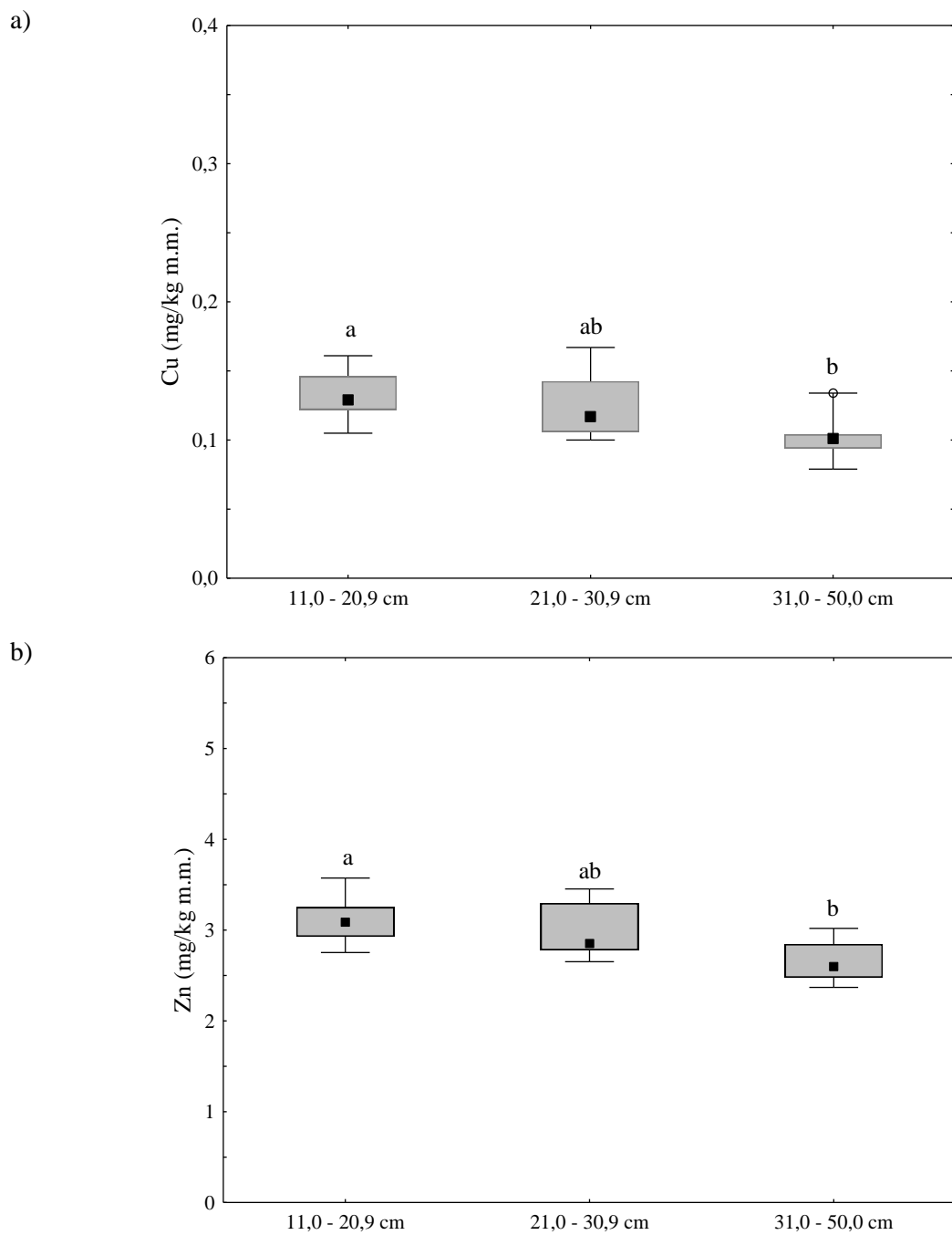
S obzirom da su tijekom istraživanja prikupljene jedinke oslića različitih duljina (od 135 do 500 mm) istražen je odnos duljine i razina elemenata za tu vrstu ribe. Utvrđeno je da veće jedinke oslića (31,0 - 50,0 cm) imaju manje razine esencijalnih elemenata bakra i cinka u usporedbi s manjim jedinkama oslića (11,0 - 20,9 cm) (slika 9). Dodatno, u tablici 5 prikazani su Spearmanovi koeficijenti korelacije za odnose između duljine ribe, mase ribe i razina elemenata u ribljem mišićju za vrstu oslić. Dobivene su srednje negativne korelacije između duljine ribe i razina bakra, cinka i arsena, te između mase ribe i razina željeza i bakra. Jaka pozitivna korelacija utvrđena je između duljine ribe i razine žive.

Tablica 5. Spermanov koeficijent korelacije (ρ) za odnose između duljine, mase i razina elementa u mišićju ribe vrste oslić

	Masa ribe	Fe	Mn	Cu	Zn	Se	Hg	As
Duljina ribe	0,459	-0,194	0,087	-0,597	-0,486	-0,224	0,685	-0,414
Masa ribe		-0,419	-0,375	-0,425	-0,333	0,222	0,248	-0,095
Fe			0,580	0,519	0,559	-0,143	0,044	0,119
Mn				0,173	0,209	-0,060	0,245	-0,036
Cu					0,882	0,077	-0,403	0,303
Zn						0,076	-0,417	0,210
Se							-0,160	0,447
Hg								-0,083

Podobljane vrijednosti označavaju statistički značajne korelacije ($p < 0,05$)

Negativne korelacije između veličine ribe i razina esencijalnih elemenata mogu se objasniti sljedećim: brži rast tkiva jedinki u odnosu na unos esencijalnih elemenata, promjene u lipidnom sastavu mišićnog tkiva, ishrani ali i razlikama u metabolizmu između mlađih i starijih jedinki ribe. Veća metabolička stopa kao i veća stopa filtracije vode kroz škrge kod mlađih jedinki može utjecati na veće nakupljanje elemenata. Također, smatra se da manja/mlađa riba troši više energije za rast i razvoj nego za procese detoksifikacije, čime posljedično u tkivu zaostaje više nakupljenih elemenata (opisano u Merciai i sur., 2014). U radu Merciai i sur. (2014) na uzorcima slatkovodne ribe utvrđena je negativna korelacija između veličine ribe i razina esencijalnih elemenata cinka za vrste *Alburnus alburnus* i *Luciobarbus graellsii*, te bakra za vrstu *Gobio occitaniae*. Kod šarana, korelacija između veličine ribe i razina elementa bila je negativna za cink ($r = -0,36$), no pozitivna za bakar ($r = 0,36$) (Balzani i sur., 2022). Još jedan primjer pozitivne korelacije opisan je na uzorcima štuke (*Esox lucius L.*) između veličine ribe i razina cinka što nije bio slučaj u ovom istraživanju na uzorcima oslića. Ovisnost između veličine ribe i bakra ovisila je o ispitivanoj lokaciji (Łuczyńska i Tońska, 2006). U istom radu na ribi grgeč (*Perca fluviatilis L.*) zabilježena je negativna korelacija između veličine ribe i bakra, cinka i mangana na svim lokacijama. Rezultati rada Al-Yousuf i sur. (2000) na primjeru vrste *Lethrinus lentjan* također su pokazali negativnu korelaciju između veličine ribe i razina bakra, no ne i za cink.



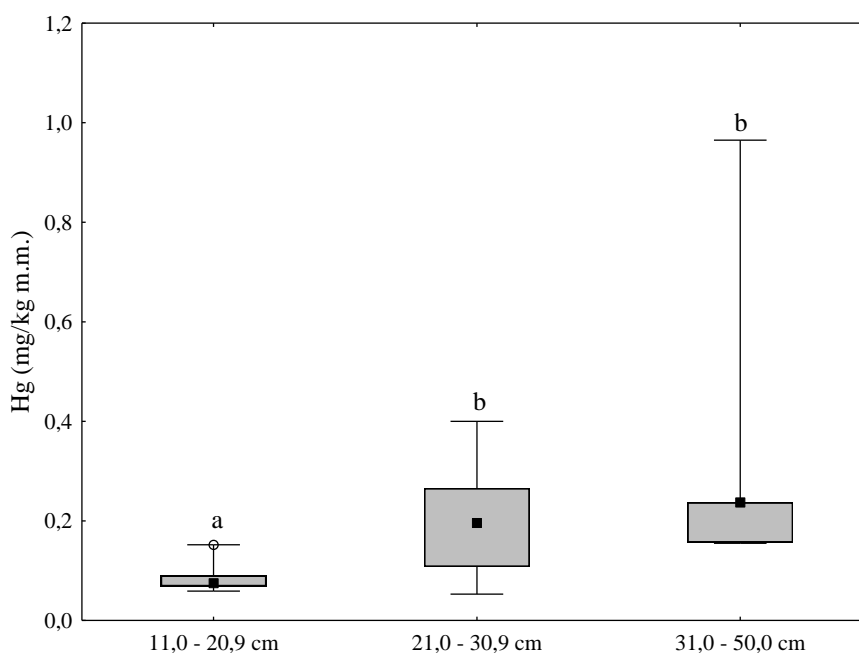
^{a,b} Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) testirane Kruskal-Wallis testom i višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti između skupina.

Skupine s obzirom na duljinu ribe:

11,0 – 20,9 cm ($n=13$); 21,0 – 30,9 cm ($n=8$) i 31,0 – 50,0 cm ($n=5$)

Slika 9. Razlike u razinama esencijalnih elemenata bakra (a) i cinka (b) u mišićju jadranskog oslića (*Merluccius merluccius*) s obzirom na duljinu ribe (cm)

Veličina ribe i njezina starost faktori su u visokoj korelaciji s razinama žive u mišićju, što se posebice odnosi na pridnene vrste i one koje su predatori (Traina i sur., 2019; Zupo i sur, 2019). U ovom radu utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija ($r = 0,688$; $p = 0,0001$; $r^2 = 0,473$) između duljine ribe (cm) i razine žive (u mg/kg) u mišićju jadranskog oslića (*Merluccius merluccius*). Jedinke oslića veće od 21 cm imale su dvostruko veće razine ukupne žive u odnosu na jedinke manje od 21 cm (slika 10). Slične rezultate možemo naći u pojedinim starijim radovima. Primjerice, Storelli i sur. (2005) pokazali su povezanost između veličine ribe i razina žive na uzorcima jadranskog oslića, dok su Barghigiani i sur. (2000) utvrdili kako se kod uzoraka oslića većih od 40 cm razine žive povećavaju u jedinki oba spola. Da veće jedinke jadranskog oslića sadrže veće razine ukupne žive pokazano je i u radu Jureša i Blanuša (2003). S druge strane pojedini noviji radovi nisu pokazali povezanost između veličine jedinke i razina žive u mišićju. Tako u radu Traina i sur. (2019) u usporedbi s trljom (*Mullus surmuletus*) i srdelom, uhvaćenima na pojedinim lokacijama obale Sicilije, uzorci oslića imali najmanju akumulaciju žive povezanu s veličinom. Perugini i sur. (2013) su među vrstama poput trlje, oslića, skuše (*Scomber scombrus*) i pučinske ugotice (*Micromesistius poutassou*) pokazali povezanost između veličine i razina žive jedino kod skuše.



^{a,b} Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) testirane Kruskal-Wallis testom i višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti između skupina.

Skupine s obzirom na duljinu ribe:

11,0 – 20,9 cm ($n=13$); 21,0 – 30,9 cm ($n=8$) i 31,0 – 50,0 cm ($n=5$)

Slika 10. Razlike u razini ukupne žive u mišićju jadranskog oslića (*Merluccius merluccius*) obzirom na duljinu ribe (cm)

5. ZAKLJUČCI

Iako postoje razlike u kemijskom sastavu između slatkovodnih i morskih riba, važno je istaknuti da obje skupine sadrže esencijalne hranjive tvari poput dugolančanih omega-3 masnih kiselina, imaju iznimno povoljan sastav proteina i bioaktivnih peptida, vitamina i mineralnih tvari koji zajedno ili individualno sudjeluju u održavanju homeostaze organizma i sprječavaju razne zdravstvene poremećaje u ljudi.

Od glavnih toksičnih metala, najveći fokus u ovom radu stavljen je na izloženost živi konzumacijom ribe zbog njenih mogućih štetnih učinaka na zdravlje najosjetljivijih skupina stanovništva, malu djecu i žene u reproduktivnom razdoblju (žene koje planiraju trudnoću, trudnice i dojilje).

Uzevši u obzir dobivene rezultate istraživanja elementnog sastava mišićja slatkovodne ribe vrste pastrva i šaran te morske ribe vrste srdela i oslić može se zaključiti da:

1. Slatkovodne vrste sadrže od 5 do 10 puta niže razine svih mjerenih esencijalnih elemenata u usporedbi s morskom ribom, posebice srdelom.
2. Pored morske ribe, slatkovodna riba je također važan izvor selena u prehrani ljudi.
3. Između analiziranih vrsta ribe, srdele sadrže najveće razine esencijalnih elemenata željeza, bakra, cinka i mangana.
4. Obrok srdele od 150 g za odrasle i 75 g za djecu zadovoljava 20 % DRV za cinkom, 11 % DRV za bakrom, 10-20 % DRV za željezom i do 5 % DRV za manganom.
5. Morska riba, posebice oslić sadrži od 5 do 30 puta veće razine žive u usporedbi sa slatkovodnom ribom (pastrva i šaran).
6. S obzirom na utvrđenu pozitivnu povezanost između duljine ribe i razina žive kod vrste jadranski oslić (*Merluccius merluccius*), osjetljive skupine stanovništva na štetne učinke žive (trudnice i mala djeca) trebale bi izbjegavati čestu konzumaciju jedinki oslića duljih od 50 cm
7. Konzumacija srdele, oslića, pastrve i šarana u količini od 1 do 3 obroka na tjedan sigurna je za potrošače s obzirom na niske razine žive koje sadrže u mišićju (< 0,2 mg/kg), ali i s obzirom na niske razine ostalih mjerenih toksičnih metala (Cd, Pb) i polumetal As.

6. LITERATURA

- Ali H, Khan E (2018) Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish. Risk to human health. *Eviron Chem Lett* **16**, 903-917. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0734-7>
- Angioni A, Corrias F, Alessandro A, Sabatini A, Palmas F, Russo M (2021) Heavy metal and metalloid accumulation in wild brown trout (*Salmo trutta* L., 1758 complex, Osteichthyes: Salmonidae) from a mountain stream in Sardinia by ICP-OES. *Environ Monit Assess* **193**, 448. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09204-w>
- Arshad N, Samat N, Kuan Lee L (2022) Insight Into the Relation Between Nutritional benefits of Aquaculture Products and its Consumption Hazards: A Global Viewpoint. *Front Mar Sci* **9**, 925463. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.925463>
- Aissioui S, Poirier L, Amara R, Ramdane Z (2022) Concentrations of lead, cadmium and mercury in sardines, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) from Algerian coast and health risks for consumers. *J Food Compos Anal* **109**, 104490. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104490>
- Al-Yousuf MH, El-Shahawi MS, Al-Ghais SM (2000) Trace metal skin liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and seks. *Sci Total Environ* **256**, 87-94. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00363-0](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00363-0)
- Balzani P, Kouba A, Tricarico E, Kourantidou M, Haubrock PJ (2022) Metal accumulation in relation to size and body composition in an all-alien species community. *Environ Sci Pollut Res* **29**, 25848-25857. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17621-0>
- Barghigiani C, Ristori T, Biagi F, De Ranieri S (2000) Size Related Mercury Accumulations in Edible Marine Species from an Area of the Northern Tyrrhenian Sea. *Water Air Soil Pollut* **124**, 169–176. <https://doi.org/10.1023/A:1005252504734>
- Barone G, Storelli A, Garofalo R, Busco VP, Quaglia NC (2015) Assessment of mercury and cadmium via seafood consumption in Italy: estimated dietary intake (EWI) and target hazard quotient (THQ). *Food Addit Contam* **32**, 1277-1286. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1055594>
- Baumgartner U, Burgi Buononomi E (2021) Drawing the line between sustainable and unsustainable fish: product differentiation that supports sustainable development through trade measures. *Environ Sci Eur* **33**, 113. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00551-6>

- Bilandžić N, Sedak M, Čalopek B, Đokić M, Varenina I, Solomun-Kolanović B, Božić- Luburić Đ, Varga I, Benić M (2018) Element contents in commercial fish species from the Croatian market. *J Food Compos Anal* **71**, 77-86. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.02.014>
- Bilandžić N, Sedak M, Čalopek B, Đokić M, Solomun Kolanović B, Varenina I, Božić Đ, Varga I (2017) Koncentracije žive u različitim vrstama ribe. *Veterinarska stanica* **48**(4), 267-276. <https://hrcak.srce.hr/222379>
- Bosch AC, O'Neill B, Sigge GO, Kerwath SE, Hoffman LC (2015) Heavy metal sin marina fish meat and consumer health: a review. *J Sci Food Agric* **96**(1), 32-48. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7360>
- Bošković N, Joksimović D, Bajt O (2023) Content of Trace Elements and Human Health Risk Assessment via Consumption of Commercially Important Fishes from Montenegrin Coast. *Foods* **12**(4), 762. <https://doi.org/10.3390/foods12040762>
- Budhathoki M, Campbell D, Belton B, Newton R, Li S, Zhang W, Little D (2022) Factors Influencing Consumption Behaviour towards Aquatic Food among Asian Consumers: A Systematic Scoping Review. *Foods* **11**(24), 4043. <https://doi.org/10.3390/foods11244043>
- Burger J, Gochfeld M (2013) Selenium/mercury molar ratios in freshwater, marine, and commercial fish for the USA: variation, risk, and health management. *Rev Environ Health* **28**, 129-143. <https://doi.org/10.1515/reveh-2013-0010>
- Byrd Ka, Thilsted SH, Fiorella KJ (2020) Fish nutrient composition: a review of global data from poorly assessed inland and marine species. *Public Health Nutr* **24**(3), 476-486. <https://doi.org/10.1017/S1368980020003857>
- Carlucci D, Giuseppe N, De Devitiis B, Viscecchia R, Bimbo F, Nardone G (2015) Consumer purchasing behaviour towards fish and seafood products. Patterns and insights from a sample of international studies. *Appetite* **84**, 212-227. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2014.10.008>
- Choppes Petricorena Z (2014) Chemical composition of Fish and Fishery Products. U: Keung Cheung PC, Mehta BM (ured.) Handbook of Food Chemistry, Springer Berlin, Heidelberg.
- Costa F, Coelho JP, Baptista J, Martinho F, Pereira ME, Pardal MA (2020) Mercury accumulation in fish species along the Portugese coast: Are there potential risks to human health?. *Mar Pollut Bull* **150**, 110740. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110740>

- Cusack LK, Eagles-Smith C, Harding AK, Kile M, Stone D (2017) Selenium Mercury Molar Ratios in Freshwater Fish in the Columbia River Basin: Potential Applications for Specific Fish Consumption Advisories. *Biol Trace Elem Res* **178**, 136-146. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0907-9>
- Cvrtila Ž, Kozračinski L (2006) Kemijski sastav mesa riba. *Meso* **8**, 365-370. <https://hrcak.srce.hr/22462>
- Dev S, Babitt JL (2017) Overview of iron metabolism in health and disease. *Hemodial Int* **21**, S6-S20. <https://doi.org/10.1111/hdi.12542>
- Dizman S, Görür Korkmaz F, Keser R (2017) Assessment of human health risk from heavy metals levels in water and tissues of two trout species (*Oncorhynchus mykiss* and *Salmo coruhensis*) from the Fitina and Güneysu Rivers in Turkey. *Tox Rev* **36**, 306-312. <https://doi.org/10.1080/15569543.2017.1312452>
- Državni zavod za statistiku (2022) Priopćenje: Ribarstvo 2021. <https://podaci.dzs.hr/2022/hr/29406>. Pristupljeno 15. siječnja 2023.
- EFSA, European Food Safety Authority Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) (2009) Scientific Opinion on Arsenic in Food. *EFSA Journal* **7**(10), 1351. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1351>
- EFSA (2012) Mercury in food – EFSA updates advice on risks for public health. EFSA-European Food Safety Authority. <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/121220>. Pristupljeno 14. srpnja 2023.
- EFSA (2017) Dietary Reference Values for nutrients. Summary report. *EFSA Supporting Publication* e15121. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.e15121>
- Elagizi A, Lavie CJ, O’Keefe E, Marshall K, O’Keefe JH, Milani RV (2021) An Update on Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiovascular Health. *Nutrients* **13**, 204. <https://doi.org/10.3390/nu13010204>
- EUMOFA, European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture products, European Commission, Directorate-General for Maritime Affairs and Fisheries (2021). EU Consumer habits regarding fishery and aquaculture products: final report, European Commission, 2021, <https://data.europa.eu/doi/10.2771/179643>.

- EUROFISH (2017) Konzumacija ribe u Hrvatskoj. EUROFISH i Uprava ribarstva, Ministarstvo poljoprivrede republike hrvatske, 2017. Izvještaj, 1–78. Dostupno na: https://ribarstvo.mps.hr/UserDocsImages/Final_hrvatski_Eurofish_Izve%C5%A1taj_Konzumacija%20ribe%20u%20Hrvatskoj_2017.pdf
- Fakhri Y, Nematollahi A, Abdi-Moghadam Z, Daraei H, Mehdi Ghasemi S, Nam Thai V (2020) Concentration of Potentially Harmful Elements (PHEs) in Trout Fillet (Rainbow and Brown) Fish: a Global Systematic Review and Meta-analysis and Health Risk Assessment. *Biol Trace Elem Res* **199**, 3089–3101. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02419-x>
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2022) The state of world fisheries and aquaculture 2022. <https://www.fao.org/3/cc0461en/online/sofia/2022/world-fisheries-aquaculture.html>. Pristupljeno 15. ožujak 2023.
- FAOSTAT (2020) Statistical Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Farag MA, Abib B, Qin Zhiwei, Ze Xiaolei, Ali SE (2023) Dietary macrominerals: Updated review of their role and orchestration in human nutrition throughout the life cycle with sex differences. *Curr Res Food Sci* **6**, 100450. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100450>
- Farag MA, Hamouda S, Gomaa S, Agboluaje AA, Hariri MLM, Yousof SM. (2021) Dietary Micronutrients from Zygote to Senility: Updated Review of Minerals' Role and Orchestration in Human Nutrition throughout Life Cycle with Sex Differences. *Nutrients* **13**(11), 3740. <https://doi.org/10.3390/nu13113740>
- Hachiya N (2006) The History and the Present of Minamata Disease – Entering the second half a century –. *JMAJ* **49**(3), 112-118.
- Izvještaj (2023) Dostupnost i vidljiva potrošnja proizvoda ribarstva i akvakulture u Republici Hrvatskoj u 2020. i 2021. godini. Republika Hrvatska Ministarstvo poljoprivrede, uprava ribarstva. https://podaci.ribarstvo.hr/files/Dostupnost-i-potrosnja-proizvoda-ribarstva-i-akvakulture_2020-i-2021-16.2.2023.pdf. Pristupljeno 21. kolovoza 2023.
- Jureša, D., Blanuša, M. (2003) Mercury, arsenic, lead and cadmium in fish and shellfish from the Adriatic Sea. *Food Addit. Contam.* **20**, 241-246. <https://doi.org/10.1080/0265203021000055379>
- Kiczorowska B, Samoliń W, Grela ER, Bik-Małodzińska M (2019) Nutrient and Mineral Profile of Chosen Fresh and Smoked Fish. *Nutrients* **11**, 1448. <https://doi.org/10.3390/nu11071448>

- Koehn JZ, Allison EH, Villeda K, Chen Z, Nixon M, Crigler E, Zhao L, Chow M, Vaitla B, Thilsted SH, Scholtens J, Hicks CC, Andrew N (2021) Fishing for health: Do the world's national policies for fisheries and aquaculture align with those for nutrition? *Fish Fish* **23**, 125–142. <https://doi.org/10.1111/faf.12603>
- Krešić G (2021) Dobrobiti ribe u ljudskoj prehrani. U: Comi G, Galeotti M, Iacumin L, Krešić G, Pleadin J, Vahčić N, Tibaldi E, Zrnčić S (ured.) Karakterizacija svojstava svježih morske ribe iz uzgoja, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, str. 73-81.
- Krešić G, Dujmić E, Lončarić D, Zrnčić S, Liović N, Pleadin J. (2022) Fish Consumption: Influence of Knowledge, Product Information, and Satisfaction with Product Attributes. *Nutrients* **14**(13), 2691. <https://doi.org/10.3390/nu14132691>
- Le Gouic AV, Harnedy PA, Fitzgerald RJ (2018) Bioactive Molecules in Food. U: Mérillon JM, Ramawat KG (ured.) Bioactive Peptides From Fish Protein By-Products. Springer, Cham.
- Lei F, Xianbo L, Niu K, Tan J, Chen J (2019) Bioaccumulation and human health implications of essential and toxic metal in freshwater products of Northeast China. *Sci Tot Environ* **673**, 768-776. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.099>
- Lidwin-Kaźmierkiewicz M, Pokorska K, Protasowicki M, Rajkowska M, Wechterowicz Z (2009) Content of selected essential and toxic metals in meat of freshwater fish from West Pomerania, Poland. *Pol J Food Nutr Sci* **59**, 219-224.
- Łuczyńska J, Tońska E (2006) The effect of fish size on the content of zinc, iron, copper and manganese in the muscles of perch (*Perca fluviatilis L.*) and pike (*Esox lucius L.*). *Arch Pol Fish* **14**, 5-13.
- Łuczyńska J, Łuczyński MJ, Nowosad J, Kowalska-Górska M, Senze M (2022) Total Mercury and Fatty Acids in Selected Fish Species on the Polish Market: A Risk to Human Health. *Int J Environ Res Public Health* **19**(16), 10092. <https://doi.org/10.3390/ijerph191610092>
- Marinac Pupavac S, Kenđel Jovanović G, Linšak Ž, Glad M, Traven L, Pavičić Žeželj S (2022) The influence on fish and seafood consumption, and the attitudes and reasons for its consumption in the Croatian population. *Front Sustain Food Syst* **6**, 945186. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.945186>
- Merciai R, Guasch H, Kumar A, Sabater S, Garcia-Berthou E (2014) Metal concentration and fish size: Variation among fish species in a Mediterranean river. *Ecotoxicol Environ Saf* **107**, 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.006>

- Mohanty BP, Mahanty A, Ganguly S, Mitra T, Karunakaran D, Anadan R (2019) Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security. *Food Chem* **293**, 561-570. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.039>
- Mozaffarian D (2009) Fish, Mercury, Selenium and Cardiovascular Risk: Current Evidence and Unanswered Questions. *Int J Environ Res Public Health* **6**, 1894-1916. <https://doi.org/10.3390/ijerph6061894>
- Muñoz M, Reul A, Guijarro B, Hidalgo M (2023) Carbon footprint, economic benefits and sustainable fishing: Lessons for the future from the Western Mediterranean. *Sci Total Environ* **865**, 160783. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160783>
- Nölle N, Genschick S, Schwadorf K, Hrenn H, Brandner S, Biesalski KH (2020) Fish as a source of (micro)nutrients to combat hidden hunger in Zambia. *Food Secur* **12**, 1385-1406. <https://doi.org/10.1007/s12571-020-01060-9>
- Perugini M, Visciano P, Manera M, Zaccaroni A, Olivieri V, Amorena M (2013) Heavy metal (As, Cd, Hg, Pb, Cu, Zn, Se) concentrations in muscle and bone of four commercial fish caught in the central adriatic Sea, Italy. *Environ Monit Assess* **186**, 2205-2213. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3530-7>
- Peycheva K, Panayotova V, Stancheva R, Makedonski L, Merdzhanova A, Parrino V, Nava V, Cicero N, Fazio F (2022) Risk Assessment of Essential and Toxic Elements in Freshwater Fish Species from Lakes near Black Sea, Bulgaria. *Toxics* **10**(11), 675. <https://doi.org/10.3390/toxics10110675>
- Polak-Juszczak L (2015) Selenium and mercury molar ratios in commercial fish from the Baltic Sea: Additional risk assessment criterion for mercury exposure. *Food Control* **50**, 881-888. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.046>
- Prion S, Haerling KA (2014) Making sense of methods and measurements: spearman-rho ranked-order correlation coefficient. *Clin Simul* **10**, 535-536. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecns.2014.07.005>
- Punia S, Singh Sandhu K, Kumar Siroha A, Bala Dhull S (2019) Omega-3 metabolism, absorption, bioavailability and health benefits-A review. *PharmaNutrition* **10**, 100162. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2019.100162>
- Ralston NVC, Ralston CR, Raymond LJ (2016) Selenium Health Benefits Values: Updated Criteria for Mercury Risk Assessments. *Biol Trace Elem Res* **171**(2), 262-269. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0516-z>

- Riba Hrvatske (2017) O projektu. <https://www.ribahrvatske.hr/o-projektu-1/>. Pristupljeno 20. kolovoza 2023.
- Rodrigues MJ, Franco F, Martinho F, Carvalho L, Pereira ME, Coelho JP, Pardal MA (2021) Essential mineral content variations in commercial marine species induced by ecological and taxonomical attributes. *J Food Compost Anal* **103**, 104118. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104118>
- Rondanelli M, Rigon C, Perna S, Gasparri C, Iannello G, Akber R, Alalwan TA, Freije AM (2020) Novel Insights on Intake of Fish and Prevention of Sarcopenia: All Reasons for an Adequate Consumption. *Nutrients* **12**(2), 307. <https://doi.org/10.3390/nu12020307>
- Salvaggio A, Pecoraro R, Copat C, Ferrante M, Grasso A, Scalisi EM, Ignoto S, Bonaccorsi VS, Messina G, Lombardo BM, Tiralongo F, Brundo MV (2020) Bioaccumulation of Metals/Metalloids and Histological and Immunohistochemical Changes in the Tissue of the European Hake, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Gadiformes: Merlucciidae), for Environmental Pollution Assessment. *J Mar Sci Eng* **8**(9), 712. <https://doi.org/10.3390/jmse8090712>
- Sampels S (2015) The effect of processing technologies and preparation on the final quality of fish products. *Trends Food Sci* **44**, 131-146. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.003>
- Sharma T, Mandal CC (2020) Omega-3 fatty acids in pathological calcification and bone health. *J Food Biochem* **44**(8), e13333. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13333>
- Skąłeczki P, Florek M, Kędzierska-Matysek M, Poleszak E, Domaradzki P, Kaliniak-Dziura A (2020) Mineral and trace element composition of the roe and muscle tissue of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with respect to nutrient requirements: Elements in rainbow trout products. *J Trace Elem Med Biol* **62**, 126619. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126619>
- Skalny AV, Aschner M, Tinkov AA (2021) Zinc. *Adv Food Nutr Res* **96**, 251-310. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.01.003>
- Storelli MM, Storelli A, Giacomini-Stuffler R, Marcotrigiano GO (2005) Mercury speciation in the muscle of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and striped mullet (*Mullus barbatus*) from the Mediterranean sea: estimated weekly intake. *Food Chem* **89**, 295-300. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.036>

- Sulimanec Grgec A, Jurasović J, Kljaković-Gašpić Z, Orct T, Rumora Samarin I, Janči T, Sekovanić A, Grzunov Letinić J, Matek Sarić M, Benutić A, Capak K, Piasek M (2022) Potential risks and health benefits of fish in the diet during the childbearing period: Focus on trace elements and n-3 fatty acid content in commonly consumed fish species from the Adriatic Sea. *Environ Adv* **8**, 100226. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100226>
- Sulimanec Grgec A, Kljaković-Gašpić Z, Orct T, Tičina V, Sekovanić A, Jurasović J, Piasek M (2020) Mercury and selenium in fish from the eastern part of the Adriatic Sea: A risk-benefit assessment in vulnerable population groups. *Chemosphere* **261**, 127742. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127742>
- Supartini A, Oishi T, Yagi N (2018) Changes in Fish Consumption Desire and Its Factors: A Comparison between the United Kingdom and Singapore. *Foods* **7**(7), 97. <https://doi.org/10.3390/foods7070097>
- Taylor V, Goodale B, Raab A, Schwerdtle T, Reimer K, Conklin S, Karagas MR, Francesconi KA (2017) Human exposure to organic arsenic species from seafood. *Sci Total Environ* **580**, 266-282. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.113>
- Tilami KS, Sampels S (2017) Nutritional Value of Fish: Lipids, Proteins, Vitamins, and Minerals. *Rev Fish Sci Aquac* **26**(2), 243-253. <https://doi.org/10.1080/23308249.2017.1399104>
- Tomić M, Matulić M, Jelić M (2015) What determines fresh fish consumption in Croatia? *Appetite* **106**, 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.12.019>
- Tomić M, Lucević Z, Tomljanović T, Matulić D (2017) Wild-caught versus farmed fish – consumer perception. *Croat J Fisher* **75** (2), 41-50. <https://doi.org/10.1515/cjf-2017-0007>
- Traina A, Bono G, Bonsignore M, Falco F, Giuga M, Quinci EM, Vitale S, Sprovieri M (2019) Heavy metal concentrations in some commercially key species from Sicilian coasts (Mediterranean Sea): Potential human health risk estimation. *Ecotoxicol Environ Saf* **168**, 466-478. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.056>
- Ullah R, Rahman A, Haque N, Sharker R, Islam M, Alam A (2022) Nutritional profiling of some selected commercially important freshwater and marine water fishes of Bangladesh. *Heliyon* **8**(10), E10825. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10825>

- Vilizzi L, Tarkan, AS (2016) Bioaccumulation of metals in common carp (*Cyprinus carpio* L.) from water bodies of Anatolia (Turkey): a review with implications for fisheries and human food consumption. *Environ Monit Assess* **188**, 243. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5248-9>
- Yu F, Qi S, Ji Y, Wang X, Fang S, Cao R (2022) Effects of omega-3 fatty acid on major cardiovascular outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Medicine* **101**(30), e29556. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000029556>
- Zotos A, Vouzanidou M (2012) Seasonal Changes in composition, fatty acid, cholesterol and mineral content fish species of Greece. *Food Sci Technol Int* **18**, 139-149. <https://doi.org/10.1177/1082013211414785>
- Zupo V, Graber G, Kamel S, Plichta V, Granitzer S, Gundacker C, Wittmann KJ (2019) Mercury accumulation in freshwater and marine fish from the wild and from aquaculture ponds. *Environ Pollut* **255**, 112975. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.112975>
-

7. PRILOG

Temperaturni program za razgradnju mišićja ribe u visokotlačnom mikrovalnom uređaju UltraCLAVE IV (Milestone, Italija)

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

Usporedba vrijednosti certificiranih i dobivenih razina elemenata (mg/kg) u standardnim referentnim materijalima ERM BB-422 mišićje ribe (Institut za referentne materijale i mjerenja, Belgija) i IAEA 407 riblji homogenat (Međunarodna agencija za atomsku energiju, Monako)

Element (mg/kg)	ERM BB-422 mišićje ribe		IAEA 407 riblji homogenat	
	Certificirana[†] vr.	Dobivena vr.	Certificirana[#] vr.	Dobivena vr.
Fe	9,4 ± 1,4	10,0 ± 0,3	146 ± 14 (143–149)	153 ± 23
Mn	0,368 ± 0,028	0,337 ± 0,005	3,52 ± 0,32 (3,44–3,60)	3,51 ± 0,21
Cu	1,67 ± 0,16	1,46 ± 0,01	3,28 ± 0,40 (3,20–3,36)	3,01 ± 0,66
Zn	16,0 ± 1,1	13,8 ± 0,2	67,1 ± 3,8 (66,3–67,9)	64,10 ± 14,97
Se	1,33 ± 0,13	1,48 ± 0,01	2,83 ± 0,38 (2,70–2,96)	2,79 ± 0,11
As	12,7 ± 0,7	12,7 ± 0,05	12,6 ± 1,2 (12,3–12,9)	12,86 ± 0,66
Cd	0,0075 ± 0,018	0,0072 ± 0,0007	0,189 ± 0,019 (0,185–0,193)	0,176 ± 0,009
Hg	0,601 ± 0,030	0,613 ± 0,053	0,222 ± 0,024 (0,216–0,228)	0,231 ± 0,018
Pb	/	0,0020 ± 0,0007	0,12 ± 0,06 (0,10–0,14)	0,09 ± 0,02

Rezultati su prikazani kao:

[†]srednja vrijednost ± mjerna nesigurnost

[#]srednja vrijednost ± standardna devijacija i 95 % interval pouzdanosti u zagradi

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja MATIJA ŠALGAJ izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

A handwritten signature in black ink, reading "Matija Šalgaj", written over a horizontal line.

Vlastoručni potpis