

Sadržaj metala i polimetala u komercijalno dostupnim uzorcima riže s hrvatskog tržišta: procjena rizika za zdravlje potrošača

Tomljanović, Karla

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:159:224863>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, svibanj, 2022.

Karla Tomljanović

**SADRŽAJ METALA I
POLUMETALA U
KOMERCIJALNO DOSTUPNIM
UZORCIMA RIŽE S HRVATSKOG
TRŽIŠTA: PROCJENA RIZIKA ZA
ZDRAVLJE POTROŠAČA**

Rad je izrađen pod mentorstvom doc. dr. sc. Ivane Rumore Samarin (Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu), u Jedinici za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam, Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu pod komentorstvom dr. sc. Antonije Sulimanec Grgec, mag. nutr., znan. sur.

Zahvala

Prije svega, želim se zahvaliti svojoj mentorici doc. dr. sc. Ivani Rumora Samarin i komentorici dr. sc. Antoniji Sulimanec Grgec, na ukazanom povjerenju i pruženoj prilici, nesebičnoj pomoći, prenesenom znanju i savjetima. Zahvaljujem vam na vašem vremenu uloženom u mene i u izradu ovog diplomskog rada. Dodatno se želim zahvaliti svim zaposlenicima Jedinice za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam, Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu, koji su mi omogućili sve potrebne uvjete za provedbu eksperimentalnog dijela rada.

Veliko hvala svim ostalim profesorima i suradnicima koji su me vodili kroz moje akademsko obrazovanje te nesebično dijelili svoje znanje, vještine i iskustva. Posebno hvala doc. dr. sc. Zoranu Zoriću za sve što sam naučila pod njegovim vodstvom na drugim projektima.

Zahvaljujem zakladi Ivan Bulić i gospodinu Vladimiru Buliću koji su prepoznali moj potencijal i trud te su se pobrinuli da moje studiranje bude što bezbrižnije.

Zahvaljujem svim prijateljima, uključujući i kolege s kojima sam dijelima svoje fakultetske dane i koji su mi omogućili da ovo bude nezaboravno iskustvo, a posebno hvala Martini i Karli koje su sve učinile ljepšim.

Zahvaljujem Nikoli na svakodnevnoj podršci, ljubavi i strpljenju tijekom fakulteta i pisanja diplomskog rada.

Najveće hvala mojim roditeljima, bratu i ostatku moje obitelji na bezuvjetnoj ljubavi i podršci koju su mi pružali čitav život i koji su mi omogućili da mi ništa ne nedostaje tijekom mog studiranja. Bez vas ništa nebi bilo moguće!

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

SADRŽAJ METALA I POLUMETALA U KOMERCIJALNO DOSTUPNIM UZORCIMA RIŽE S HRVATSKOG TRŽIŠTA: PROCJENA RIZIKA ZA ZDRAVLJE POTROŠAČA

Karla Tomljanović, univ. bacc. nutr.
0058211361

Sažetak:

Riža (*Oryza Sativa*) je jednogodišnja biljka iz porodice trava koja se smatra jednom od najčešće konzumiranih žitarica u svijetu. Predstavlja važan izvor energije zbog visokog sadržaja ugljikohidrata te vrijedan izvor mikronutrijenata. Može sadržavati povećane razine toksičnih elementa, posebice As, što predstavlja ozbiljan zdravstveni rizik. Cilj ovog rada bio je odrediti sadržaj metala i polumetala u 58 uzoraka riže s hrvatskog tržišta primjenom metode ICP-MS, istražiti povezanost između razina elemenata u riži i načina prerade (bijela, pretkuhana i integralna), uzgoja (konvencionalni i organski) i podrijetla riže te procijeniti nutritivnu korist i rizike konzumacije riže zbog unosa različitih elemenata na zdravlje potrošača. Bijela riža sadrži manje Mg, P, K, Fe, Fe, Mn, Co, Zn i Se od integralne te manje P, K i Ca od pretkuhane riže. Riže podrijetlom iz Europske Unije imaju više As i manje Se od riža podrijetlom iz Azije. Način uzgoja riže može utjecati na mineralni sastav riže.

Ključne riječi: riža, esencijalni i toksični mineralni elementi, procjena unosa

Rad sadrži: 43 stranice, 7 slika, 5 tablica, 88 literaturnih navoda, 3 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Rumora Samarin

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

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. doc. dr. sc. Zoran Zorić (predsjednik)
2. doc. dr. sc. Ivana Rumora Samarin (mentor)
3. dr. sc. Antonija Sulimanec Grgec, znan. sur., IMI (član)
4. prof. dr. sc. Nada Vahčić (zamjenski član)

Datum obrane: 05. Svibnja 2022.

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

METAL AND METALLOID CONTENT IN COMMERCIALY AVAILABLE RICE SAMPLES
FROM THE CROATIAN MARKET: CONSUMER HEALTH RISK ASSESSMENT

Karla Tomljanović, univ. bacc. nutr.
0058211361

Abstract:

Rice (*Oryza Sativa*) is a staple food considered one of the most consumed grains in the world. It is an important source of energy due to its high carbohydrate content and a valuable source of micronutrients. Rice may contain increased levels of toxic elements, especially As, which poses a serious health risk. The aim of this study was to determine the content of metals and metalloids in 58 rice samples from the Croatian market using the ICP-MS method, to investigate the relationship between element levels in rice and processing method (white, parboiled and brown), cultivation (conventional and organic) and rice origin and to assess the risk to consumer health. White rice contains lower levels of Mg, P, K, Fe, Fe, Mn, Co, Zn and Se than brown and lower levels of P, K and Ca than parboiled rice. Rice from the European Union has higher As and lower Se levels than rice from Asia. The cultivation method can affect the mineral composition of rice.

Keywords: rice, essential and toxic elements, intake assessment

Thesis contains: 43 pages, 7 figures, 5 tables, 88 references, 3 supplements

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 Grgec, PhD, Research Associate, IMI

Reviewers:

1. Zoran Zorić, PhD, Assistant professor (president)
2. Ivana Rumora Samarin, PhD, Assistant professor (mentor)
3. Antonija Sulimanec Grgec, PhD, Research Associate, IMI (member)
4. Nada Vahčić, PhD, Full professor (substitute)

Thesis defended: May 5th, 2022

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. RIŽA.....	2
2.1.1. Vrste riže prema mjestu uzgoja	4
2.1.2. Sastav i obrada zrna riže	4
2.2. HRANJIVA VRIJEDNOST RIŽE.....	5
2.3. IZLOŽENOST TOKSIČNIM ELEMENTIMA KONZUMACIJOM RIŽE	7
2.3.1. Olovo.....	8
2.3.2. Živa	8
2.3.3. Kadmij.....	9
2.3.4. Arsen	10
2.4. MEĐUDJELOVANJE ARSENA I SELENA	11
2.5. METODE ZA SMANJENJE SADRŽAJA ARSENA U RIŽI	12
2.6. POVEZANOST KONZUMACIJE RIŽE I ZDRAVLJA	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	14
3.1. CILJEVI I PLAN ISTRAŽIVANJA	14
3.2. MATERIJALI	15
3.2.1. Uzorci riže	15
3.2.2. Kemikalije i standardi	15
3.2.3. Aparatura i pribor	15
3.3. METODE.....	16
3.3.1. Priprema uzoraka riže za analizu elemenata	16
3.3.2. Multielementna analiza	16
3.4. OBRADA PODATAKA	17
3.5. PROCJENA KORISTI I RIZIKA KONZUMACIJE RIŽE ZA ZDRAVLJE	18
4. REZULTATI I RASPRAVA	19
4.1. SADRŽAJ METALA I POLUMETALA U UZORCIMA RIŽE	19
4.1.2. Razine toksičnih elemenata prema načinu obrade i podrijetlu	21
4.1.3. Razine ukupnog As (tAs) i Se prema podrijetlu riže	23
4.1.4. Utjecaj načina uzgoja na razine esencijalnih elemenata	25
4.1.5. Utjecaj načina uzgoja na razine toksičnih elemenata	26
4.1.6. Korelacija između As i Se	27

4.2. PROCJENA UNOSA ESENCIJALNIH I TOKSIČNIH ELEMENATA KONZUMACIJOM RIŽE.....	27
5. ZAKLJUČCI.....	34
6. LITERATURA.....	35

1. UVOD

Žitarice su skupina jednogodišnjih biljaka iz porodice trava. Osim što su od iznimnog značaja za prehranu ljudi, koriste se i za prehranu stoke i u prerađivačkoj industriji. Uz pšenicu i kukuruz, riža se smatra najzastupljenim žitaricom na svijetu uz godišnju proizvodnju od gotovo 750 milijuna tona (FAO, 2018). Za razliku od ostalih žitarica, riža se uzgaja u poplavnim uvjetima te na takav način upija hranjive tvari i minerale iz tla (Jo i Todorov, 2019). Riža predstavlja ne samo važan izvor energije zbog visokog sadržaja ugljikohidrata, već i važan izvor vitamina, aminokiselina i minerala, posebno fosfora (P), magnezija (Mg), selena (Se) i željeza (Fe) (Šlejkovec i sur., 2020; Pinto i sur., 2016). S obzirom na stupanj obrade rižinog zrna, razlikujemo bijelu, integralnu (smeđu) i pretkuhanu rižu, gdje se mineralni i nutritivni sastav razlikuje među vrstama (Jo i Todorov, 2019).

Međutim, konzumacijom riže može se povećati i unos toksičnih elemenata, kao što su živa (Hg), kadmij (Cd), olovo (Pb) i arsen (As). Riža nakuplja više As u zrnu od ostalih žitarica što ju čini predmetom mnogih istraživanja. Na razine As u zrnu riže utječu čimbenici poput načina uzgoja, genetske varijacije i načina kuhanja riže. Za razliku od hrane morskog porijekla koja većinom sadrži organski As u obliku netoksičnog arsenobetaina, riža sadrži anorganski As za kojeg su dokazani štetni učinci za zdravlje (Menon i sur., 2020; Kato i sur., 2019; Sommella i sur., 2013).

Bez obzira na potencijalan unos toksičnih elemenata, riža i proizvodi od riže se često koriste kao hrana za dojenčad zbog nutritivnih prednosti i relativno niskog alergijskog potencijala. Činjenica da ne sadrži gluten čini je poželjnim izborom za ljude oboljele od celijakije (Menon i sur., 2020).

Dosadašnja istraživanja u Republici Hrvatskoj nisu obuhvaćala praćenje sadržaja esencijalnih i toksičnih elemenata u rižama dostupnim na hrvatskom tržištu, već su bazirana na općem (ukupnom) unosu As kroz svu hranu i vodu za piće (Lucio i sur., 2020; Sedak i sur., 2018; Sapunar - Postružnik i sur., 1996). Na temelju znanstveno utemeljenih rezultata istraživanja provedenih u drugim državama, ciljevi ovog istraživanja bili su odrediti sadržaj esencijalnih i toksičnih elementa te istražiti utjecaj obrade, podrijetla i načina uzgoja na mineralni sastav riže. Pored toga, svrha istraživanja je bila procijeniti nutritivnu korist i moguće rizike štetnih učinaka konzumacije riže za odrasle osobe.

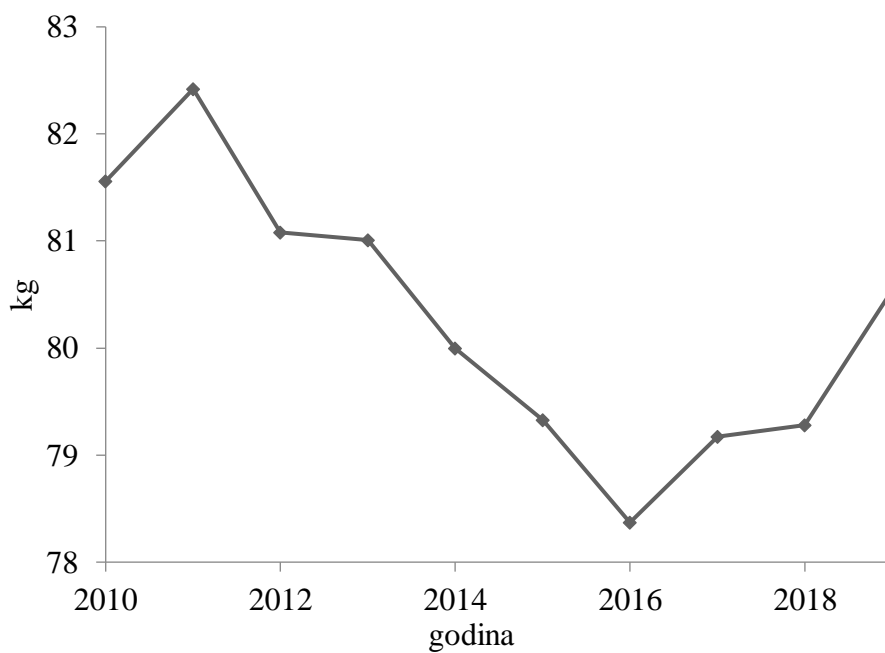
2. TEORIJSKI DIO

2.1. RIŽA

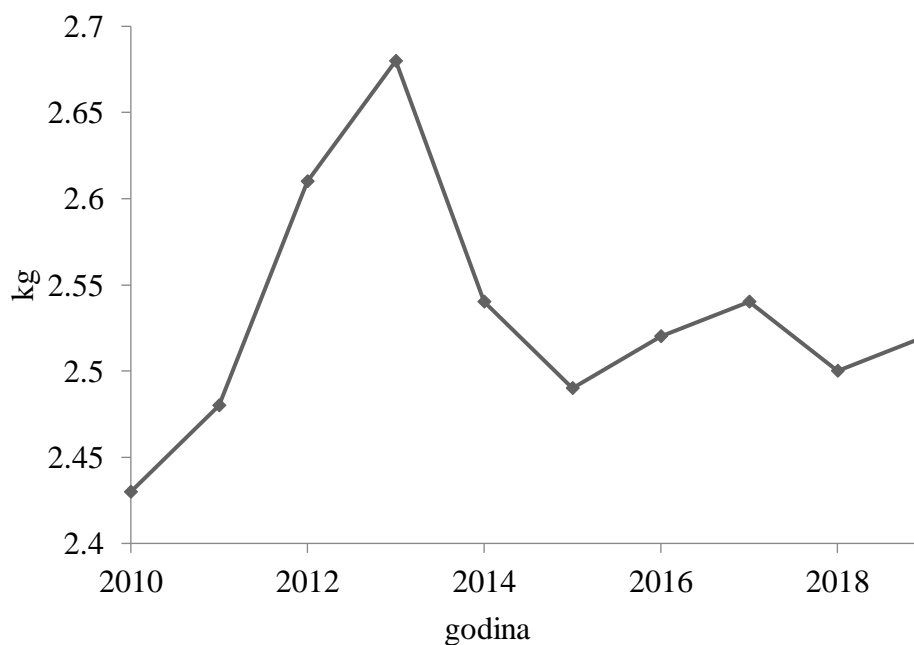
Riža (*Oryza Sativa* L.) je jedna od najvažnijih žitarica iz porodice trava (lat. *Poaceae*) (tablica 1) i osnovna prehrambena namirnica za gotovo dvije trećine svjetskog stanovništva (Pinto i sur., 2016). Zbog najveće prilagodljivosti među žitaricama, riža se uzgaja na svim kontinentima (osim na Antarktici), u više od 170 zemalja, na geografskim širinama od 53 ° S do 35 ° J i na visinama od 1500 metara nadmorske visine do čak -4 metra ispod razine mora (Nayar, 2014). Uzgoj riže čini oko 23 % ukupne svjetske proizvodnje žitarica. Više od 90 % riže proizvodi se i konzumira u Aziji (Fageria, 2013), s Kinom, Indijom i Bangladešom kao predvodnicima u proizvodnji. U Europi, vodeće zemlje po proizvodnji riže su Italija i Španjolska (80 %) (Pinto i sur., 2016). Konzumacija riže u svijetu u proteklih deset godina je u prosjeku oko 80 kg riže godišnje po glavi stanovnika. U Hrvatskoj, konzumacija riže je višestruko niža od svjetskog prosjeka, svega 2 do 3 kg riže godišnje po glavi stanovnika (slika 1 i 2) (FAOSTAT, 2019).

Tablica 1. Klasifikacija vrste *Oryza sativa* L. prema taksonomskim kategorijama (USDA, 2022)

Carstvo	Plantae
Tip	Spermatophyta
Razred	<i>Lilliopsida</i> - Monocotyledonae
Red	Cyperales
Porodica	Poaceae
Rod	<i>Oryza</i> L.
Vrsta	<i>Oryza sativa</i> L.



Slika 1. Trend konzumacije riže u svijetu u razdoblju od 2010. do 2019. godine izraženo u kg po glavi stanovnika na godinu (prema: FAOSTAT, 2019)



Slika 2. Trend konzumacije riže u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 2010. do 2019. godine izraženo u kg po glavi stanovnika na godinu (prema: FAOSTAT, 2019)

2.1.1. Vrste riže prema mjestu uzgoja

Prema mjestu uzgoja, riža se dijeli na navodnjavanu nizinsku (engl. *irrigated lowland*), plutajuću (engl. *floating*) i planinsku rižu (engl. *upland*). Navodnjavana nizinska riža uzgaja se na pretežito ravnim zemljištima na kojima se nakuplja voda. Uzgaja se u poplavnim uvjetima većinu godine. Ovaj način uzgoja zauzima oko 57 % svjetske obradive površine i čini oko 76 % ukupne proizvodnje riže, većinom u Aziji. Uz nizinsku rižu, plutajuća riža je najčešće uzgajana riža u Indiji, Bangladešu, Mjanmaru i Vijetnamu. Riža koja se uzgaja na kišnim, propusnim tlima, bez nakupljanja površinske vode naziva se planinska riža i najčešće se uzgaja u Brazilu (Fageria, 2014).

Dvije glavne podvrste azijske riže su *indica*, koja se uzgaja u tropskim i suptropskim područjima, i *japonica*, koja se uzgaja u umjerenim područjima Azije. Tijekom duge povijesti uzgoja riže, *indica* i *japonica* su se znatno razlikovale u morfološkim karakteristikama, fiziološkim i biokemijskim značajkama, agronomskim osobinama kao i prinosu, kvaliteti i otpornosti na vanjske uvjete. Najpoznatije vrste *indica* riže su *basmati* i *jasmin*, a vrste *japonica*, *akita komachi* i *ikoshihikari* (Yang i sur., 2014).

2.1.2. Sastav i obrada zrna riže

Zrno riže sastoji se od ljuske, mekinje, endosperma i klice. Zadaća ljuske je štititi zrno te se sastoji od vlaknastog tkiva bogatog celulozom i silicijevim dioksidom. Ispod ljuske nalazi se mekinja koja se sastoji od perikarpa i aleuronskog sloja s visokim sadržajem ulja, proteina, vitamina i minerala. Središnji i najveći dio rižinog zrna pripada endospermu koji se većinom sastoji od ugljikohidrata te od male količine proteina, masti i minerala. Klica se nalazi u donjem dijelu zrna i uglavnom sadrži proteine i minerale (Jo i Todorov, 2019).

Ovisno o krajnjem proizvodu, obrada zrna riže uključuje nekoliko postupaka: sušenje zrna, uklanjanje ljuske i mljevenje. Integralna (smeđa) riža sadrži sloj mekinja, endosperm i klicu, dok bijela riža (dobivena mljevenjem) gubi sloj mekinja i klicu uslijed poliranja te sadrži u zrnu samo škrobni endosperm. Mljevenjem i poliranjem smanjuje se sadržaj vitamina i minerala u zrnu riže (Šlejkovec i sur., 2020; Pinto i sur., 2016). Pri proizvodnji pretkuhane riže (parene; engl. *parboiled*) zrno se prije sušenja namače u vrućoj vodi i kuha na pari. Ovim postupkom hranjive tvari iz sloja mekinja prelaze u endosperm (Jo i Todorov, 2019), poboljšava se hranjiva vrijednost i okus riže, ali i mijenjaju karakteristike kuhanja riže (Šlejkovec i sur., 2020).

2.2. HRANJIVA VRIJEDNOST RIŽE

Riža je namirnica bogata ugljikohidratima. Zrno riže sastoji se od 75 – 80 % ugljikohidrata, 12 % vode i 7 % proteina (Verma i Srivastav, 2020). Škrob je glavni ugljikohidrat zrna riže i sastoji se od amiloze (20 %) i amilopektina (80 %), dok se celuloza, glukoza, saharoza i dekstrin nalaze u riži u manjim količinama. Zbog visokog sadržaja škroba, riža se smatra namirnicom visokog glikemijskog indeksa (GI), a njena prekomjerna konzumacija povezuje se s povećanim rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti i šećerne bolesti tipa 2 (Kumar Lal i sur., 2021). Prema Kumar i suradnicima (2022), GI riže može se smanjiti postupkom pretkuhavanja (engl. *parboiling*) uz povećanje sadržaja rezistentnog škroba.

Od proteina, riža sadrži albumin, globulin, prolamin i glutelin (Saunders, 1985). Zbog visoke koncentracije lizina (~4 %), proteini riže su lako probavljivi (93 %) i visoke biološke vrijednosti (74 %). Postotak masti u riži je zanemariv (Verma i Srivastav, 2020; 2017).

Hranjiva vrijednost riže ovisi o različitim čimbenicima kao što su sorta riže, plodnost tla, primjena gnojiva i razni okolišni čimbenici. U usporedbi s drugim žitaricama, nakon uklanjanja mekinja, riža ima visok sadržaj ugljikohidrata, i nizak sadržaj masti i proteina. U tablici 2 prikazana je energijska i hranjiva vrijednost bijele i integralne (smeđe) riže.

Riža je dobar izvor vitamina B skupine kao što su tiamin (B₁), riboflavin (B₂) i niacin (B₃) (Fresco, 2005), ali i mineralnih elementa, kalcija (Ca), Mg, Fe, mangana (Mn) i cinka (Zn). U usporedbi s bijelom rižom, konzumacija 100 g nekuhane, odnosno 300 g kuhane integralne riže (Rogić i sur., 2003) može zadovoljiti 50 % dnevnih potreba za vitaminima B₁ (1,2 mg) i B₃ (14–16 mg) (EFSA, 2016; 2014a). Različiti postupci obrade riže, posebice mljevenje kojim se uklanja aleuronski sloj riže, zatim sorta riže i stupanj onečišćenja ljuske utječu na razlike u razinama vitamina u riži (Jo i Todorov, 2019; Da Silva i sur., 2018). Prema Saundersu (1985) mljevenje dovodi do značajnog smanjenja razina vitamina u riži, 76 % B₁, 57 % B₂ i 63 % B₃.

Osim vitaminima, aleuronski sloj je bogat i mineralnim elementima. Različiti procesi obrade riže mijenjaju i njihov sadržaj. Primjerice, integralna riža sadrži više mineralnih elemenata u usporedbi s bijelom rižom, posebice sumpora (S), kalija (K) i Zn (Šlejkovec i sur., 2020).

Najzastupljeniji makroelement u riži je P, u obliku fosforovog fitata (90 % ukupnog P) (Saunders, 1985). Pored Ca, P je sastavni dio kosti i zuba. Uključen je u brojne fiziološke procese kao što su energijski ciklus stanice, regulacija i stanična signalizacija, održavanje

kiselinsko-bazne ravnoteže i mineralizacija kosti i zuba (EFSA, 2015a). Konzumacijom 100 g nekuhane integralne riže, odnosno oko 300 g kuhane riže (Rogić i sur., 2003) može se zadovoljiti 55 % dnevnih potreba za P (550 mg/dan) (tablica 2). Osim P, integralna riža dobar je izvor Mg koji djeluje kao kofaktor u više od 300 enzimskih reakcija te je neophodan za specifična djelovanja u živčano-mišićnom i kardiovaskularnom sustavu (EFSA, 2015b). Od mikroelemenata sadržanih u riži važno je spomenuti Mn, Fe, Zn i bakar (Cu). Mangan je sastavnica raznih metaloenzima i uključen je u metabolizam ugljikohidrata, masti i aminokiselina. Njegov nedostatak može dovesti do usporenog rasta i razvoja i uzrokovati koštane abnormalnosti (EFSA, 2013). Glavna uloga Fe u organizmu je prijenos kisika organizmom. Također, Fe sudjeluje i u stvaranju citokroma i željezo-sumpornih redoks proteina koji imaju ulogu u održavanju homeostaze, prijenosu elektrona i enzimskoj katalizi. Nedostatak Fe u organizmu uzrokuje anemiju i smatra se najčešćim nutritivnim nedostatkom od kojeg boluje gotovo 2 milijarde ljudi u svijetu (Abbaspour i sur., 2014). Nadalje, Zn utječe na razne metaboličke procese, odgovoran je za kontrolu brojnih enzimskih reakcija i doprinosi normalnoj funkciji imunološkog sustava. Bakar je kofaktor u enzimskim reakcijama, sudjeluje u hematopoezi i pomaže apsorpciju Fe. Nedostatak Cu i Zn izaziva različite fiziološke i mentalne poremećaje te promjene u metabolizmu. Selen je esencijalni element u ultratragu i sastojak 25 različitih selenoproteina, od kojih najznačajniju ulogu u zaštiti stanica od oksidacijskih oštećenja, regulaciji staničnog ciklusa i sintezi aktivnog oblika hormona štitnjače, imaju glutathion peroksidaza, tioredoksin reduktaza i jodotironin dejodinaza (Tinggi, 2008). Posljednjih desetljeća, brojna istraživanja ispitivala su mogući učinak Se na smanjenje toksičnosti arsena (As) i kadmija (Cd) (Zwolak, 2020). Integralna i bijela riža su dobar izvor Se (tablica 2). Sadržaj i bioraspoloživost Se u namirnicama, pa tako i u riži, ovise o geokemijskim obilježjima tla, oksidacijskom stanju i kemijskom obliku Se sadržanog u tlu te klimatskim uvjetima (Navarro-Alarcon i Cabrera-Vique, 2008).

Različite vrste pigmentirane riže kao što su crvena, ljubičasta i crna riža sadrže biološki aktivne komponente: fenole, flavonoide, fitinsku kiselinu, neškrobne polisaharide i tanine. Navedeni spojevi utječu na probavljivost škroba i smanjuju GI riže. Fitinska kiselina može vezati Fe i Zn i smanjiti njihovu biodostupnost u organizmu, što može imati štetne zdravstvene posljedice za trudnice, dojilje i dojenčad ukoliko je njihova prehrana bogata rižom (Kumar i sur., 2017).

Zaključno, zbog svoje hranjive vrijednosti i visoke probavljivosti, riža se smatra kraljicom među žitaricama (Verma i Srivastav, 2020; 2017).

Tablica 2. Energijska i hranjiva vrijednost sirove (nekuhane) bijele i integralne riže dugog zrna izražena na 100 grama proizvoda (USDA, 2018)

Energetska vrijednost i sadržaj hranjivih tvari	Bijela riža	Integralna riža
Energija (kcal)	365	367
Proteini (g)	7,13	7,54
Ugljikohidrati (g)	80	76,2
Masti (g)	0,66	3,2
Vlakna (g)	1,3	3,6
Kalcij, Ca (mg)	28	9,1
Željezo, Fe (mg)	0,8	1,29
Magnezij, Mg (mg)	25	116
Fosfor, P (mg)	115	311
Kalij, K (mg)	115	250
Mangan, Mn (mg)	1,09	2,85
Cink, Zn (mg)	1,09	2,13
Selen, Se (µg)	15,1	17,1
Bakar, Cu (mg)	0,22	0,302
Tiamin, B ₁ (mg)	0,07	0,541
Riboflavin, B ₂ (mg)	0,049	0,095
Niacin, B ₃ (mg)	1,6	6,49

2.3. IZLOŽENOST TOKSIČNIM ELEMENTIMA KONZUMACIJOM RIŽE

Mineralni elementi koji se uobičajeno nalaze u okolišu, a nemaju utvrđene blagotvorne učinke na fiziološke i biokemijske procese u tijelu, već su dokazani njihovi štetni učinci na zdravlje nazivaju se toksičnim elementima. Živa (Hg), olovo (Pb), Cd i As su zbog svoje visoke toksičnosti, rasprostranjenosti u okolišu i bioraspoloživosti svrstani u deset najtoksičnijih tvari u prirodi (ATSDR, 2012). Svi toksični elementi su sistemski otrovi za koje je poznato da uzrokuju višestruko oštećenje organa, čak i pri nižim razinama izloženosti. Prema Agenciji za zaštitu okoliša Sjedinjenih Američkih Država (engl. *United States Environmental Protection Agency*, US EPA) i Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka (engl. *International Agency for Research on Cancer*, IARC), navedeni elementi su svrstani u "poznate" ili "vjerojatne" ljudske kancerogene (Tchounwou i sur., 2014). Metali i polumetali u ljudski prehrambeni lanac dopijevaju iz prirodnih izvora, ali i kao posljedica različitih

ljudskih djelatnosti (otpuštanje iz industrijskih proizvodnji, gomilanje i spaljivanje otpada, upotreba fosilnih goriva i goriva iz otpada) (Sulimanec Grgec, 2019).

Pojam bioraspoloživost podrazumijeva mogućnost unosa i iskorištavanja elemenata. Na bioraspoloživost toksičnih elemenata u ljudskom organizmu utječu vrsta hrane, kemijski oblik elementa (organski/anorganski spoj, oksidacijsko stanje), put izloženosti, međudjelovanje toksičnog s esencijalnim/drugim toksičnim elementima te opći čimbenici kao što su dob, spol, stupanj uhranjenosti i posebna fiziološka stanja (trudnoća, dojenje), razna patofiziološka stanja (bolesti) te genetsko i epigenetsko nasljeđe pojedinca (Piasek, 2017; Broberg i sur., 2015; Nordberg i sur., 2015).

2.3.1. Olovo

Olovo (Pb) je toksičan i bioakumulirajući metal. U okolišu se nakuplja kao posljedica antropogenih aktivnosti kao što su spaljivanje fosilnih goriva, rudarenje i iz raznih prerađivačkih industrija. U hranu i piće Pb može dospjeti iz keramičkog posuđa koje nije kontrolirano i starih olovnih vodovodnih cijevi. Radna skupina IARC-a je 2004. godine Pb reklasificirala iz „mogućeg“ u „vjerojatni“ ljudski karcinogen, odnosno u grupu 2B. Olovo u organizam dopijeva udisanjem (30 – 50 %), gastrointestinalno (8 – 15 %) te u manjoj dermalnim putem. Izloženost Pb može imati štetne učinke na živčani, bubrežni i krvotvorni sustav. Nadalje, Pb može inhibirati enzime uključene u sintezu hema i spriječiti ugradnju Fe u molekulu hemoglobina. Apsorpcija Pb u organizmu može biti pojačana u nedostatku esencijalnih elemenata kao što su Mn, Zn, Cu, Ca i Mg. Olovo povećava izlučivanje Zn mokrenjem, a u međudjelovanju s Cu i Se ometa njihovu zaštitnu ulogu i potiče nastanak oksidacijskog stresa (Telišman, 1995). Posebno osjetljive skupine stanovništva za štetne učinke Pb su trudnice, dojilje i mala djeca. Najkritičniji učinak niskih razina izloženosti Pb je smanjen kognitivni i intelektualni razvoj u djece. Glavni prehrambeni izvori izloženosti Pb su žitarice (19 %), povrće i meso (8 %), voda iz vodovodnih cijevi te riba i morski plodovi (EFSA CONTAM, 2010).

2.3.2. Živa

Živa je toksični metal koji je u okolišu široko rasprostranjen u različitim oblicima; kao elementarna (Hg^0), anorganska (Hg^{2+} , Hg_2^{2+}) i organska živa (metil živa, dimetil živa, propil živa). Živa se u povijesti koristila kao lijek, dok se danas koristi kao konzervans u tekstilnoj industriji, industriji boja i lateks premaza, u cjepivima te kao komponenta pesticida. U

organizam se Hg unosi udisanjem, gastrointestinalnim i dermalnim putem, od čega je udisanje najopasniji put ulaska u organizam zbog visoke toksičnosti živinih para. Zbog povećane izloženosti prehranom, posebice ribom i visokog stupnja apsorpcije u crijevima (80 – 100 %), najopasniji oblik Hg za opće stanovništvo je metilživa (MeHg).

Elementarna Hg u atmosferu dopijeva iz antropogenih izvora (spaljivanje fosilnih goriva i otpada, industrijski pogoni, rudnici), pretvara se u anorganski oblik (Hg^{2+}) koji oborinama dopijeva u površinske vode, mora i oceane. Vodeni mikroorganizmi u sedimentu metiliraju Hg^{2+} u MeHg koja lako ulazi u hranidbeni lanac nakupljajući se u organima vodenih organizama. Metilživa je podložna biomagnifikaciji, što znači da svaki put kada veća riba pojede manju, MeHg se u sve većim količinama nakuplja u tkivima grabežljivca. Morska riba se smatra najvažnijim izvorom izloženosti MeHg u općem stanovništvu (u pojedinim vrsta koncentracije Hg su veće od 1 mg/kg mišićja ribe) (Cano Pavon i sur., 2015). Izloženost MeHg može izazvati ozbiljne promjene u tjelesnim tkivima i ispoljiti brojne štetne učinke na zdravlje. Nakon gastrointestinalne apsorpcije, MeHg se distribuira krvlju do mozga, jetre, bubrega i kardiovaskularnog sustava, a tijekom trudnoće prolazi kroz posteljicu barijeru do fetusa na koji može djelovati neurotoksično. Apsorpcija Hg može biti smanjena u prisustvu esencijalnih elemenata. Dokazano je da Se i Zn mogu međudjelovati s Hg i smanjiti njenu toksičnost. U osjetljive skupine stanovništva za štetne učinke MeHg ubrajaju se mala djeca, žene tijekom reproduktivnog razdoblja i osobe koje konzumiraju veće količine hrane morskog podrijetla (Cano Pavon i sur., 2015; Tchounwou i sur., 2012; Telišman, 1995).

Istraživanja su pokazala da riža sadrži niske razine Hg, zbog čega se smatra neznatnim prehrambenim izvorom izloženosti Hg (Zhao i sur., 2019; Wang i sur., 2017).

2.3.3. Kadmij

Kadmij je toksični metal koji se u prirodi pojavljuje u anorganskom obliku (Cd^{2+}). U okoliš (tlo, voda i hrana) dopijeva kao posljedica antropogenog djelovanja (korištenje fosfatnih goriva, kanalizacijski mulj, otpadne industrijske vode) i iz prirodnih izvora (šumski požari, vulkanska prašina). Opće stanovništvo je najčešće izloženo Cd pušenjem cigareta. Najznačajniji prehrambeni izvori Cd su žitarice (riža i pšenica), krumpir, zeleno lisnato povrće, iznutrice te hrana morskog porijekla. Kadmij je prvenstveno nefrotoksičan i genotoksičan, a kronična izloženost Cd može dovesti do bubrežnih komplikacija, šećerne bolesti, hipertenzije, raka pluća, bubrega, mokraćnog mjehura, gušterače, dojke i prostate. Zbog širokog spektra štetnih učinaka svrstan je u grupu kancerogena (IARC, 2012). Kadmij u

organizam dospijeva udisanjem, gastrointestinalnim i dermalnim putem. Nakon apsorpcije u crijevima i prijenosa krvlju (vezan na hemoglobin i/ili u kompleksu s metalotioninom), Cd se nakuplja u jetri i bubrezima, a tijekom trudnoće i u posteljici (Kato i sur., 2019; Lech i Sadlik, 2017; Cano Pavon i sur., 2015; EFSA CONTAM, 2012; Tchounwou i sur., 2012).

Osjetljive skupine stanovništva na štetno djelovanje Cd su žene tijekom reproduktivnog razdoblja te mala djeca zbog povećanih potreba za hranjivim tvarima i sklonosti nedostacima esencijalnih elemenata kao što su Fe, Ca i Zn s kojima Cd međudjeluje. Povećana apsorpcija Cd može biti i do 6 % veća u osoba sa smanjenim zalihama Fe (Mikolić i sur., 2015). S druge strane smatra se da povećani unos Pb, nikla (Ni), stroncija (Sr), Zn, Mg ili kroma (Cr) može smanjiti apsorpciju Cd (Telišman, 1995). Kadmij može međudjelovati i sa Se stvarajući inertne komplekse, koji se izlučuju iz organizma i time smanjuju nakupljanje Cd u tkivima. Nadalje, Se djeluje kao antioksidans i može smanjiti oksidativni stres uzrokovan Cd. Zajedničko međudjelovanje Zn i Se može smanjiti oštećenja jetre nastala zbog izloženosti visokim dozama Cd, kao i prevenirati povećanje Cd-induciranog oksidacijskog stresa u bubrezima (Zwolak i Zaprowska, 2012). Istraživanja su pokazala da biogeokemijska svojstva tla, fiziološke značajke pojedinih vrste riže, ali i planinski način uzgoja mogu povećati razine Cd u riži (Li i sur., 2017).

2.3.4. Arsen

Arsen je polumetal, prisutan u okolišu iz prirodnih izvora i/ili zbog ljudskih djelatnosti (rudnici, uporaba pesticida i herbicida u poljoprivredi). Javlja se u različitim kemijskim oblicima i oksidacijskim stanjima (-3, 0, +3 i +5) od kojih je za ljude najtoksičniji anorganski oblik (iAs). Kronična izloženost iAs povezuje se s pojavom lezija kože, raka kože, pluća, mokraćnog mjehura i prostate, poteškoćama u razvoju, kardiovaskularnim bolestima, abnormalnim metabolizmom glukoze i šećernom bolesti (Menon i sur., 2020; Taylor i sur., 2017; Tchounwou i sur., 2012; EFSA CONTAM, 2009). Prema IARC (2012), iAs klasificiran je kao kancerogen, a organski As oblici, dimetilarsenat (DMA) i monometilarsenat (MMA) kao mogući kancerogeni za ljude. Nakon oralnog puta ulaska u organizam, topljivi iAs apsorbira se gotovo u potpunosti i vrlo brzo te distribuira krvlju do svih organa. Peterovalentni oblik iAs (As^V) reducira se u trovalentni oblik (As^{III}), koji se metilira i izlučuje mokraćom iz organizma (EFSA CONTAM, 2009). Specifična mjesta odvijanja metabolizma, metabolički putovi i učinci različitih organskih oblika As (arsenošećeri, arsenolipidi,

arsenobetain i drugi) na zdravlje ljudi još uvijek nisu u potpunosti objašnjeni i dalje se intenzivno istražuju (Taylor i sur., 2017).

Voda za piće i hrana (posebice proizvodi od žitarica) su glavni prehrambeni izvori izloženosti iAs za većinu dobnih skupina općeg stanovništva. Prema podacima Europske agencije za sigurnost hrane (engl. *European Food Safety Authority*, EFSA) (2014b), djeca i dojenčad su 2 do 3 puta više izloženi iAs hranom nego odrasle osobe. Nadalje, utvrđeno je da konzumacija riže i njenih proizvoda značajno doprinosi izloženosti iAs zbog čega su zakonski određene najveće količine iAs za rižu i rižine proizvode: 200 µg/kg za bijelu, 250 µg/kg za pretkuhanu i smeđu rižu, i manje od 100 µg/kg za proizvode od riže namijenjene dojenčadi i maloj djeci (Uredba komisije, 2015). Na razine iAs u riži mogu utjecati brojni čimbenici kao što su mjesto i način uzgoja riže, genetske varijacije riže, biogeokemijska svojstva tla i načini pripreme riže (Sommella i sur., 2013).

2.4. MEĐUDJELOVANJE ARSENA I SELENA

Razni čimbenici utječu na metabolizam As uključujući spol, nutritivni/zdravstveni status i prehrambene navike pojedinca te genetski polimorfizam enzima koji metaboliziraju arsenit metiltransferazu (As3MT) (Janasik i sur., 2017). Osim navedenih čimbenika, esencijalni element Se ima važnu ulogu u metabolizmu As (Smits i sur., 2019). Antagonistički odnos između As i Se prvi put je opisan 1938. godine u istraživanjima na laboratorijskim životinjama. Novija epidemiološka istraživanja potvrdila su obrnutu povezanost između koncentracija Se u plazmi i ukupne koncentracije As u mokraći (Janasik i sur., 2017). Potvrđeno je da unos jednog od polumetala uzrokuje oslobađanje, preraspodjelu ili izlučivanje (urinom, preko žuči i/ili izdisanjem) drugog polumetala, iako precizan mehanizam na staničnoj razini još nije u potpunosti razjašnjen. Temeljeno na rezultatima istraživanja u *in vitro* i *in vivo* uvjetima predloženi su mehanizmi međudjelovanja Se i As^{III} koji smanjuju toksičnost As^{III}: i) vezanje Se i As u inertne netoksične spojeve; ii) Se pospješuje sekundarnu metilaciju As; iii) povećanje aktivnosti Se antioksidativnih enzima pri čemu se smanjuje stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta i inhibira As inducirana lipidna peroksidacija; iv) povećanje aktivnosti Nrf2 transkripcijskih faktora, a time i ekspresije gena koji kodiraju za nastanak antioksidacijskih enzima (superoksid dismutaza katalaza, tioreduksin reduktaza i glutation peroksidaza) (Zwolak, 2020). Nakon resorpcije, a u odsutnosti drugog elementa, As i Se pojedinačno se raspodjeljuju kroz cirkulaciju do različitih tkiva. Oba elementa vežu se za glutation u jetri formirajući As-Se konjugate i izlučuju fecesom ili urinom (Gailer i sur.,

2000). Prema Smits i suradnicima (2019) svakodnevna konzumacija leće obogaćene Se u ljudi kronično izloženih visokim razinama As može pospješiti izlučivanje As iz organizma.

Osim antagonističkog, opisan je i sinergistički odnos As i Se (Rosen i Liu, 2009). Budući da su selenit i arsenit međusobno toksični i dijele slične metaboličke putove, koji zahtijevaju prisutnost glutationa i S-adenozilmetionina kao metil donore, veća koncentracija selenita može se natjecati s As^{III} za dostupnost navedenih enzima i inhibirati metilaciju As metabolita. Time se povećava zadržavanje toksičnijih anorganskih i monometiliranih oblika As u stanicama. Pored navedenog, inhibicija metilacije As u prisutnosti Se često se povezuje s funkcijom As3MT. Toksičnost As spojeva može se smanjiti kada se stvori As-Se kompleks, $[(\text{GS}_3)_2\text{AsSe}]^-$ koji se izlučuje iz stanica. Prema Sun i suradnicima (2014) Se može smanjiti toksičnost As izlučivanjem spoja $[(\text{GS}_3)_2\text{AsSe}]^-$ i/ili može pojačati njegovu toksičnost modificirajući strukturu i aktivnost As3MT. Pri niskim koncentracijama Se u organizmu nastaje spoj $[(\text{GS}_3)_2\text{AsSe}]^-$, onemogućeno je međudjelovanje Se i As3MT, a višak As se izlučuje u obliku MMA(V) i/ili DMA(V). Suprotno tome, pri visokim koncentracijama Se, Se inhibira As3MT, onemogućuje metilaciju As i stvaranje $[(\text{GS}_3)_2\text{AsSe}]^-$, što dovodi do zadržavanja As i/ili MMA(V) i povećavanja toksičnosti As (Zwolak, 2020). Nadalje, pokazano je da i u uvjetima kronično niske izloženosti As, niske razine Se mogu povećati rizik od nastanka kožnih lezija poput hiperkeratoze, depigmentacija, hiperpigmentacija kože u ljudi uzrokovanih As (Kolachi i sur., 2011; Huang i sur., 2008).

2.5. METODE ZA SMANJENJE SADRŽAJA ARSENA U RIŽI

Razine As u kuhanoj riži najčešće ovise o stupnju onečišćenja zrna riže, koje može biti posljedica navodnjavanja kontaminiranom vodom ili rasta na kontaminiranu tlu, i/ili vode za kuhanje (Šlejkovec i sur., 2020; Rahman i sur., 2018; Al-Saleh i Abduljabbar, 2017). Načini obrade i kuhanja riže mogu smanjiti razine As u zrnima riže. Primjerice, poliranje riže, postupak kojim se uklanja aleuronski sloj mekinje, smanjuje ukupne razine As u riži. Naito i suradnici (2015) su pokazali da se uklanjanjem 10 % mekinja razina ukupnog As prosječno smanjuje za 63 % u bijeloj riži. Osim toksičnih elemenata, poliranjem riže uklanjaju se i esencijalni mikronutrijenti – vitamini i minerali. Pranjem riže deioniziranom vodom mogu se smanjiti razine ukupnog As na 81 – 84 % u bijeloj i 71 – 83 % u smeđoj riži (Gray i sur., 2016). Prema Kumarathilaka i suradnicima (2019) i pranje vodom koja sadrži niske razine As, također može smanjiti razinu As u riži. Slično kao poliranje, vrijeme i način pranja riže, pored toksičnih tvari mogu smanjiti i razine mineralnih elemenata i vitamina; 70 % Fe i 25 % Zn

(Jaafar i sur., 2018) te 77 % folata, 57 % niacina i 54 % tiamina iz pretkuhane i bijele riže, ali ne i smeđe riže (Gray i sur., 2016). Za vrijeme i način skladištenja riže nije potvrđeno da mogu smanjiti razine As u zrnu (Naito i sur., 2015).

Riža se najčešće kuha u manjim količinama vode, pri čemu se većina vode upije u rižu ili ispari. Kako isparavanje vode može povećati razine As u riži, rižu se preporuča kuhati u suvišku vode, a po završetku kuhanja ostatak vode odstraniti. Prema Gray i suradnicima (2016) kuhanje riže u vodi u omjeru 10:1 može smanjiti razine iAs za 40 % u bijeloj, 60 % u pretkuhanoj i 50 % u smeđoj riži. Uklanjanje As ovom metodom ovisi o vremenu kuhanja, sorti riže i omjeru vode i riže. Carey i suradnici (2015) proučavali su metodu kuhanja riže uz kontinuirani protok vode u svrhu smanjenja razina As uz što manji gubitak sadržaja esencijalnih elemenata. Ukratko, riža neprekidno prolazi kroz filtracijsku jedinicu neposredno kraj kipuće vode. Time vitamini i bioaktivni spojevi ostaju očuvani u zrnu riže, a razina As se smanjuje 59 – 69 %. Iako je ova metoda polučila dobre rezultate, zbog tehničkih nedostataka nije ju moguće primijeniti u kućanstvu.

2.6. POVEZANOST KONZUMACIJE RIŽE I ZDRAVLJA

Riža je namirnica visokog GI s rasponom 48 do 93 koji ovisi o sorti i načinu obrade riže (Boers i sur., 2015), a njena učestala konzumacija često se povezuje s pojavom šećerne bolesti tipa 2. Meta-analizom rezultata istraživanja provedenih u Aziji i zapadnim zemljama (Sjedinjene Američke Države, Australija, zemlje Europske unije) utvrđeno je da svakodnevna konzumacija riže povećava rizik od šećerne bolesti tipa 2 za 11 % u općoj populaciji (Hu i sur., 2012). Prema Sun i suradnicima (2010) osobe koje su konzumirale 5 i više obroka bijele riže na tjedan imale su 17 % veći rizik od šećerne bolesti tip 2 u usporedbi s osobama koje su rižu jele jednom na mjesec. Dodatno je utvrđeno da se konzumacijom 2 ili više obroka smeđe riže smanjuje rizik od šećerne bolesti tipa 2 za 11 %. U istraživanju Aune i suradnika (2016) utvrđena je povezanost unosa cjelovitih žitarica i smanjenja rizika od pojave kardiovaskularnih bolesti i raka, ali ne i zbog unosa riže. Nadalje, konzumacija riže nije imala učinak ni na smanjenje rizika od ishemijskog moždanog udara (Juan i sur., 2017). Bez obzira na negativne rezultate ovih istraživanja, poželjno je prerađene žitarice zamijeniti cjelovitim i unositi najmanje 2 obroka cjelovitih žitarica na tjedan, uključujući integralnu rižu.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. CILJEVI I PLAN ISTRAŽIVANJA

Sadržaj esencijalnih i toksičnih elemenata, a posebice As, uvelike ovisi o načinu obrade riže (nepretkuhana valjana (polirana ili bijela), pretkuhana (parena) i integralna (smeđa)), zemlji podrijetla proizvoda i načinu uzgoja riže.

Ciljevi rada bili su:

1. Odrediti sadržaj esencijalnih i toksičnih elemenata u komercijalno dostupnim uzorcima riže s hrvatskog tržišta
2. Istražiti ovisnost elementnog sastava riže o načinu obrade (bijela, pretkuhana i integralna), podrijetlu i uzgoju riže (konvencionalni vs organski)
3. Procijeniti unos esencijalnih i toksičnih elemenata konzumacijom riže u odraslom stanovništvu u Republici Hrvatskoj
4. Procijeniti nutritivnu korist i opasnosti konzumacije riže s obzirom na unos esencijalnih i toksičnih elemenata

3.2. MATERIJALI

3.2.1. Uzorci riže

Ukupno 58 uzoraka riže kupljeno je u različitim trgovinama u Gradu Zagrebu tijekom siječnja 2021. godine. Uzorci su se razlikovali prema podrijetlu, sorti, načinu obrade i uzgoja (prilog 1). Kupljeno je 35 uzoraka riže s područja Italije, 13 uzoraka s područja Europske Unije (Belgija, Njemačka, Francuska i nespecificirane zemlje EU), 12 uzoraka s područja Azije (Indija, Pakistan, Tajland, Kambodža) i 3 uzorka nepoznatog podrijetla. Uzorci su podijeljeni u tri grupe: bijela riža (n = 31), pretkuhana riža (n = 7) i integralna (smeđa) riža (n = 20). Prema načinu uzgoja, 38 uzoraka je deklarirano iz konvencionalnog, a 20 iz organskog uzgoja. Svi uzorci pretkuhane riže bili su iz konvencionalnog uzgoja, podrijetlom iz EU.

3.2.2. Kemikalije i standardi

- ultra-čista voda, specifične vodljivosti: 0,555 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (pri 25 °C; 18,2 M Ωcm)
- koncentrirana dušična kiselina (HNO₃, konc. 65 %, *p.a.*, Merck, Njemačka)
- standardne otopine pripremljene iz 1000 mg/L ICP *multi-element standard solution IV* (Merck, Njemačka)
- etanol (C₂H₅OH, 96 % *p.a.*), Kemex A (Kemika, Hrvatska)

3.2.3. Aparatura i pribor

Aparatura:

- uređaj za masenu spektrometriju s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS, 7500cx, Agilent Technologies, Njemačka)
- uređaj za mikrovalnu razgradnju (UltraCLAVE, Milestone S.r.l., Italija)
- uređaj za ultra-čistu vodu (BarnsteadTMSmart2Pure 6 UV/UF, Thermo Scientific, Njemačka)
- kvarcni sustav za pročišćavanje kiseline (SubPUR, Milestone S.r.l., Italija)
- analitička vaga (New Classic MS303S, Mettler Toledo AG, Švicarska)
- mikser B-400 (BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Swiss)

Pribor:

- Eppendorf pipete s nastavcima (200, 300, 1000 μL ; 5 mL, Eppendorf AG, Njemačka)
- kvarcne kivete sa čepovima rabljene za razaranje uzoraka (12 mL, Milestone, Italija)
- polipropilenske (PP) posudice s poklopcem (5 mL i 100 mL, Sarstedt; 15 mL Kartell)

3.3. METODE

3.3.1. Priprema uzoraka riže za analizu elemenata

Suhi uzorci riže usitnjeni su u mikseru B-400 (BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, Swiss) na Odjelu za zdravstvenu ispravnost hrane, Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo u Zagrebu, stavljeni u čiste plastične posudice (Sarstedt, PP, 100 ml) i čuvani na sobnoj temperaturi do analize.

Daljnja priprema uzoraka za analizu i multielementna analiza provedena je u Jedinici za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam, Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu. Uzorci su u duplikatima pripremljeni za razgradnju u mikrovalnom visokotlačnom reaktoru UltraCLAVE IV (Milestone S.r.l., Italija). Odvagama homogenata (cca. 0,200 g) dodano je 2 mL koncentrirane dušične kiseline (HNO_3) pročišćene u sustavu SubPUR (Milestone S.r.l., Italija) i 3 mL ultra-čiste vode (BarnsteadTMSmart2Pure 6 UV/UF, Thermo Scientific, Njemačka). Za ovu svrhu korištene su kvarcne kivete s teflonskim čepovima. Uzorci su ostavljeni u digestoru 24 h do postupka mikrovalne razgradnje (uvjeti su prikazani u prilogu 2). Nakon razgradnje, kivete s uzorcima ohlađene su na sobnu temperaturu (30 min) te je u kivete dodana ultra-čista voda do odvage od 6 g. Uzorci su zatim kvantitativno preneseni u posudice s poklopcem na navoj (Kartell, PP, 15 mL), promiješani (Vortex Genius 3, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Njemačka) i čuvani na 4°C do multielementne analize.

Za nadzor kakvoće mjerenja upotrijebljen je standardni referentni materijal (SRM) 1568b rižino brašno, Nacionalnog centra za standarde i tehnologiju (NIST), SAD. Uzorci SRM 1568b (n=4) i slijepe probe (n=4) priređeni su za analize na isti način kao i uzorci riže.

3.3.2. Multielementna analiza

Razine elementa (Mg, P, K, Ca, Fe, Mn, kobalt (Co), Cu, Zn, As, Se, molibden (Mo), Cd, Hg, Pb) u razorenim uzorcima riže određene su primjenom tehnike spektrometrije masa induktivno spregnute plazme (ICP-MS) na uređaju Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Japan). Prije analize, svi uzorci su razrijeđeni 20 puta u otopini koja se sastojala od 1 % (v/v) HNO_3 i 3 $\mu\text{g/L}$ internih standarda – germanij (Ge), rodij (Rh), terbij (Tb), lutecij (Lu) i iridij (Ir). Koncentracije elemenata u uzorcima izračunate su temeljem kalibracijskih krivulja multielementnih standarda priređenih u 1 % (v/v) HNO_3 . Uvjeti rada ICP-MS uređaja Agilent 7500cx tijekom analize i granice detekcije metode (MDL) za pojedine elemente određivane u

razorenim uzorcima riže prikazane su u prilogu 3. Koncentracije elemenata izražene su na suhu masu uzorka u mg/kg.

3.4. OBRADA PODATAKA

Zbog asimetrične raspodjele većine podataka i malog broja uzoraka po skupinama, razlike između skupina testirane su Mann-Whitneyovim U testom (dvije skupine) ili Kruskal Wallisovim testom s višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti između skupina (tri skupine). Pearsonov koeficijent korelacije (r) korišten je za testiranje povezanosti između razina ukupnog As (tAs) i Se u uzorcima.

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija i raspon najmanje i najveće vrijednosti u zagradama. Svi statistički testovi provedeni su na razini značajnosti $p < 0,05$ (95 %-tni interval pouzdanosti).

Za statističku i grafičku obradu podataka upotrijebljen je program TIBCO Statistica (ver. 14.0.0.15., TIBCO Software Inc., SAD).

3.5. PROCJENA KORISTI I RIZIKA KONZUMACIJE RIŽE ZA ZDRAVLJE

Za procjenu unosa esencijalnih i toksičnih elemenata rižom i procjenu mogućih rizika konzumacije riže zbog izloženosti Cd i iAs korištene su sljedeće formule:

- Procjena unosa esencijalnih elemenata po serviranju, EI_s (engl. *Estimated Intake per Serving*):

$$EI_s = MS \cdot C \quad [1]$$

- Procjena razine dosegutosti preporučenih vrijednosti unosa esencijalnih elementa na dan za odrasle osobe, DRV (engl. *Dietary Reference Values*) za elemente Mg, P, K, Ca, Fe, Mn, Co, Cu, Zn, Se i Mo (EFSA, 2017):

$$\% \text{ DRV} = [(MS \cdot C) / \text{DRV}] \cdot 100 \quad [2]$$

- Procjena unosa toksičnih elemenata po serviranju (EI_s):

$$EI_s = (MS \cdot C) / TM \quad [3]$$

- Procijenjeni unos toksičnih elemenata uspoređen je s dopuštenom tjednim unosom, TWI (engl. *Tolerable Weekly Intake*) za Cd (EFSA CONTAM, 2012) i donjom granicom pouzdanosti referentne doze, $BMDL_{01}$ (engl. *Benchmark Dose Lower Confidence Limit*) za iAs (EFSA CONTAM, 2009)

$$\% \text{ TWI (Cd)} = [EI_{s(\text{Cd})} / \text{TWI}_{(\text{Cd})}] \cdot 100 \quad [4]$$

$$\% \text{ BMDL}_{01} (\text{iAs}) = [EI_{s(\text{iAs})} / \text{BMDL}_{01} (\text{iAs})] \cdot 100 \quad [5]$$

Oznake u izračunima:

MS – veličina serviranja riže (u izračunima korištena vrijednost 40 g suhe, nekuhane riže)

C – izmjerena koncentracija elementa u riži izražena u mg/kg suhe mase

TM – prosječna tjelesna masa odrasle osobe (kg)

Izračuni su rađeni uz pretpostavku da je prosječni udio iAs u ukupnom As sljedeći: 69 % za ukupnu rižu, 60 % za bijelu rižu, 72 % za pretkuhanu rižu i 71 % za integralnu (smeđu) rižu (neobjavljeni podaci mjerenja dostupni na zahtjev).

Vrijednosti DRV su izražene u mg/dan, a vrijednosti TWI i $BMDL_{01}$ u $\mu\text{g/kg TM/dan}$.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Osim što je vrijedan prehrambeni izvor esencijalnih elemenata, riža može biti i značajan izvor toksičnih elemenata koji imaju dokazano štetne učinke na zdravlje ljudi. Također, pokazano je da se kemijski sastav riže, posebice metala i polumetala, može razlikovati prema načinu obrade riže (Jo i Todorov, 2019). Ciljevi ovog rada bili su odrediti sadržaj metala i polumetala u uzorcima riže dostupnim na hrvatskom tržištu te utvrditi kakav utjecaj imaju način obrade, uzgoj i podrijetlo riže na njen mineralni sastav. Multielementna analiza provedena je primjenom ICP-MS metode. Analizirane su razlike u makro- i mikroelementnom sastavu riže s obzirom na vrstu obra00de (bijela, pretkuhana i integralna riža), uzgoj (organski i konvencionalni) i podrijetlo riže (iz Azije i iz Europske unije), kao i povezanost između razina Se i ukupnog As u analiziranim uzorcima riže. Procijenjene su razine dosegnutosti preporučenih vrijednosti (prehrambenih referentnih vrijednosti, DRV_i) za esencijalne elemente kao i udjeli procijenjenog unosa toksičnih elemenata na dan prema vrijednostima dopuštenog tjednog unosa (TWI) za Cd i prema donjoj granici pouzdanosti referentne doze (BMDL₀₁) za iAs.

Rezultati su prikazani u obliku 5 slika i 3 tablice te su raspodijeljeni u dva poglavlja s obzirom na to radi li se o utvrđenom sadržaju metala i polumetala, odnosno o procjeni unosa esencijalnih i toksičnih elemenata rižom.

U prvom dijelu rezultata, u tablici 3 i slikama 3 – 6 prikazani su podaci o sadržaju mineralnih elemenata u uzorcima riže te utjecaj načina obrade, uzgoja i podrijetla na mikroelementi sastav. Drugi dio rezultata, tablice 4 i 5 te slika 7 odnose se na procjenu unosa esencijalnih i toksičnih elemenata konzumacijom riže.

4.1. SADRŽAJ METALA I POLUMETALA U UZORCIMA RIŽE

Riža, kao osnovna prehrambena namirnica u nekim zemljama svijeta (Kina, Indija, Bangladeš), je glavni izvor hranjivih tvari, a podaci o njezinom elementarnom sastavu su važni iz nutritivne i toksikološke perspektive. Dosadašnja istraživanja preporučuju konzumaciju integralne riže umjesto bijele riže zbog većeg udjela gotovo svih mineralnih elemenata (Šlejkovec i sur., 2020; Al-Saleh i sur., 2019). Međutim, konzumacijom riže, posebice one integralne, može se povećati i unos toksičnih elemenata, kao što su As, Cd, Pb i Hg. Riža nakuplja više As od ostalih žitarica, što je jedan od razloga koji ju čini predmetom ovog istraživanja.

Tablica 3. Razine elemenata (mg/kg suhe mase) u riži dostupnoj na hrvatskom tržištu

Elementi (mg/kg)	Ukupna riža (n = 58)	Bijela riža (n = 31)	Pretkuhana riža (n = 7)	Integralna riža (n = 20)
Srednja vrijednost ± SD i raspon (min - max)				
Makroelementi				
Mg	705 ± 482 (168 - 1931)	369 ± 116 ^a (168 - 592)	541 ± 251 ^a (325 - 1088)	1283 ± 336 ^b (438 - 1931)
P	1915 ± 812 (681 - 4221)	1320 ± 314 ^a (681 - 1899)	1962 ± 345 ^b (1551 - 2561)	2822 ± 584 ^b (1353 - 4221)
K	1549 ± 731 (590 - 3497)	987 ± 234 ^a (168 - 592)	1739 ± 242 ^b (1416 - 2169)	2354 ± 534 ^b (1012 - 3497)
Ca	109 ± 169 (34,2 - 1080)	88,0 ± 147 ^a (34,2 - 860)	204 ± 387 ^b (35,3 - 1080)	107 ± 24,9 ^a (57,7 - 154)
Mikroelementi				
Fe	6,12 ± 4,93 (1,24 - 24,4)	3,16 ± 1,87 ^a (1,24 - 8,82)	4,02 ± 1,58 ^a (2,95 - 7,55)	11,4 ± 4,57 ^b (4,04 - 24,4)
Mn	17,6 ± 11,5 (4,78 - 43,6)	10,1 ± 3,10 ^a (4,78 - 17,5)	12,8 ± 7,35 ^a (6,35 - 27,5)	30,8 ± 8,98 ^b (10,8 - 43,6)
Co	0,011 ± 0,012 (<LOD - 0,072)	0,006 ± 0,003 ^a (<LOD - 0,016)	0,006 ± 0,003 ^a (0,003 - 0,013)	0,020 ± 0,017 ^b (0,004 - 0,072)
Cu	2,11 ± 0,660 (0,932 - 3,87)	1,99 ± 0,723 (0,932 - 3,87)	1,76 ± 0,392 (1,38 - 2,40)	2,43 ± 0,507 (1,36 - 3,24)
Zn	15,6 ± 4,11 (7,52 - 22,8)	14,2 ± 2,92 ^a (7,53 - 19,7)	11,4 ± 3,53 ^a (7,52 - 18,0)	19,2 ± 3,13 ^b (11,6 - 22,8)
Se	0,038 ± 0,028 (<LOD - 0,150)	0,032 ± 0,022 ^a (<LOD - 0,088)	0,024 ± 0,006 ^a (0,016 - 0,035)	0,053 ± 0,034 ^b (0,014 - 0,150)
Mo	0,605 ± 0,167 (0,313 - 1,11)	0,615 ± 0,187 (0,313 - 1,11)	0,575 ± 0,107 (0,386 - 0,710)	0,600 ± 0,156 (0,361 - 0,947)
Toksični elementi				
tAs	0,142 ± 0,057 (0,037 - 0,259)	0,133 ± 0,055 (0,037 - 0,238)	0,166 ± 0,045 (0,116 - 0,245)	0,149 ± 0,063 (0,057 - 0,259)
Cd	0,038 ± 0,035 (0,002 - 0,207)	0,040 ± 0,033 (0,002 - 0,146)	0,018 ± 0,013 (0,002 - 0,041)	0,042 ± 0,042 (0,003 - 0,207)

tAs (engl. *Total arsenic*): ukupni arsen; LOD (engl. *Limit of detection*): granica detekcije.

Različita mala slova označavaju statistički značajne razlike ($p < 0,05$) testirane Kruskal-Wallis ANOVA testom i višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti između skupina (bijela, pretkuhana i integralna riža)

4.1.1. Razine esencijalnih elemenata prema načinu obrade i podrijetlu

Razine Mg, P, K, Ca, Fe, Mn, Co, Cu, Zn, Se, Mo, Cd i As u skupinama bijela, pretkuhana i integralna riža prikazane su u tablici 3. Utvrđene su 2 do 4 puta veća razine Mg, P, K, Ca, Fe, Cu i Mn u integralnoj nego u bijeloj riži. Slične rezultate za Mg, P, K, Mn i Fe dobili su Šlejkovec i suradnici (2020) u rižama dostupnim na slovenskom tržištu.

Fosfor je najzastupljeniji esencijalni element u tri analizirane skupine riže, što je sukladno literaturnim podacima (Šlejkovec i sur., 2020; Jo i Todorov, 2019; Pinto i sur., 2016). Bijela riža (1320 mg/kg) sadrži gotovo 50 % manje P u odnosu na integralnu rižu (2822 mg/kg). Fosfor je prisutan u značajnoj količini u sloju mekinja, stoga je očekivano da će proces poliranja, odnosno uklanjanja mekinje, smanjiti razine P u riži. Osim P, riža je bogata i drugim makroelementima – kao što su Mg, Ca i K (tablica 3). Gubitci K procesiranjem dosežu gotovo 60 %; 987 mg/kg u bijeloj riži u odnosu na 2354 mg/kg u integralnoj riži. Najveće razine Ca (204 ± 387 mg/kg) utvrđene su u pretkuhanoj riži (tablica 3). Dobiveni podaci slažu se s rezultatima istraživanja Pinto i suradnika (2016) koji su pokazali da proces pretkuhavanja riže povećava razine Ca. Suprotno tome, Šlejkovec i suradnici (2020) utvrdili su najveće razine Ca u integralnoj riži (123 ± 51 mg/kg u integralnoj vs $95,8 \pm 175$ mg/kg u pretkuhanoj riži), kao i Da Silva i suradnici (2013) u čijem su istraživanju razine Ca iznosile 69 ± 11 mg/kg u integralnoj riži, dok su razine Ca u pretkuhanoj riži bile ispod granice detekcije.

Bijela i integralna riža razlikuju se i u razinama Fe (3,16 mg/kg u bijeloj vs 11,4 mg/kg u integralnoj riži), Mn (10,1 mg/kg u bijeloj vs 30,8 mg/kg u integralnoj riži), Zn (14,2 mg/kg u bijeloj vs 19,2 mg/kg u integralnoj riži) i Se (0,032 mg/kg u bijeloj vs 0,053 mg/kg u integralnoj riži) (tablica 3) što upućuje na zaključak da stupanj obrade rižinog zrna utječe na mikroelementni sastav riže, što je sukladno rezultatima drugih istraživanja (Šlejkovec i sur., 2021; Jo i Todorov, 2019; Sommella i sur., 2013). Razine Co i Mn u rižama nisu se razlikovale prema načinu obrade riže.

Dodatno, utvrđene su razlike u mikroelementnom sastavu prema podrijetlu riže. Riže podrijetlom iz EU sadrže 2 puta manje Mn ($p = 0,017$), Zn ($p = 0,029$), Cu ($p = 0,004$) i Co ($p = 0,001$) te do 3 puta manje Fe ($p = 0,003$) i Se ($p < 0,001$) od riža podrijetlom iz Azije (podaci nisu prikazani).

4.1.2. Razine toksičnih elemenata prema načinu obrade i podrijetlu

Brojna istraživanja su provedena u svrhu kvantifikacije toksičnih elemenata u riži, posebice polumetala As i metala Cd, zbog njihovog štetnog utjecaj na zdravlje ljudi u

uvjetima izloženosti povećanim koncentracijama kada izazivaju razna patofiziološka stanja i promjene (EFSA CONTAM, 2012; EFSA CONTAM, 2009). U ovom istraživanju provedena je analiza polumetala As (ukupni As bez izdvajanja specijacija) i metala Cd, Pb i Hg (tablica 3). Razine Pb i Hg bile su ispod granice detekcije u većini uzorka i nisu navedene u tabličnom prikazu.

Prosječna razina tAs u riži iznosila je $0,142 \pm 0,057$ ($0,037 - 0,259$) mg/kg. Arsen u riži se većinom nakuplja u ljusci i u vanjskim slojevima, a znatan dio se može ukloniti poliranjem. Proces poliranja ne utječe na As u endospermu, što znači da i bijela riža u konačnici sadržava As (Carey i sur., 2012). Integralna riža u pravilu sadržava više As od bijele riže, a poliranjem se razine As mogu smanjiti za 22 % (Jo i Todorov, 2019). Prosječne razine tAs bile su: $0,133 \pm 0,055$ mg/kg u bijeloj, $0,166 \pm 0,045$ mg/kg u pretkuhanj i $0,149 \pm 0,063$ mg/kg u integralnoj riži (tablica 3). Bijela riža sadržavala je u prosjeku 11 % manje tAs od integralne riže što se slaže s podacima istraživanja za Sloveniju gdje su prosječne razine tAs iznosile $0,148 \pm 0,062$ mg/kg u bijeloj riži i $0,191 \pm 0,028$ mg/kg u integralnoj riži (Šlejkovec i sur., 2020). Slični rezultati dobiveni su za tAs u rižama dostupnim u Švedskoj, $0,10$ mg/kg u bijeloj i $0,24$ mg/kg u integralnoj riži (Jorhem i sur., 2008). Proces pretkuhavanja može povećati razine As u riži zbog premještanja As iz ljuske i mekinje u jezgru zrna (Rahman i sur., 2019). U ovom istraživanju nisu utvrđene razlike u razinama tAs između bijele, pretkuhane i integralne riže. Povećanje tAs u pretkuhanim uzorcima u odnosu na bijelu i integralnu rižu potvrdili su Šlejkovec i suradnici (2020), $0,197 \pm 0,063$ mg/kg u pretkuhanj u usporedbi s $0,148 \pm 0,062$ mg/kg u bijeloj riži i $0,191 \pm 0,028$ mg/kg u integralnoj riži. David i suradnici (2020) navode da se pretkuhavanjem povećavaju razine tAs u zrnju. Veće razine tAs u pretkuhanj od bijele i integralne riže utvrdili su i Chowdhury i suradnici (2018) u Zapadnom Benegalju, Indija.

U skupini bijela riža, najniža razina As utvrđena je u organski proizvedenom uzorku podrijetlom iz Italije ($0,037$ mg/kg, uzorak 5), dok je najveća razina utvrđena u talijanskoj riži iz konvencionalnog uzgoja ($0,238$ mg/kg, uzorak 25). U skupini pretkuhana riža, uzorak podrijetlom iz EU konvencionalne proizvodnje je imao najnižu razinu tAs ($0,116$ mg/kg, uzorak 33), dok je najviša utvrđena razina u talijanskom uzorku riže konvencionalne proizvodnje ($0,245$ mg/kg, uzorak 35). U skupini integralna riža, raspon tAs se kretao od $0,057$ mg/kg (uzorak 41) do $0,259$ mg/kg (uzorak 44). Oba uzorka su bila organske proizvodnje, podrijetlom iz Indije (prilog 1). Među literaturnim podacima prijavljen je širok raspon razina tAs u riži, neovisno o vrsti i stupnju obrade. Meharg i suradnici (2009) su proveli opsežno istraživanje na uzorcima bijele riže (901 uzorak) kupljenim u supermarketima

u deset zemalja na četiri kontinenta. Utvrdili su srednje vrijednosti tAs od 0,050 mg/kg u rižama iz Egipta (110 uzoraka), 0,130 mg/kg u rižama iz Bangladeša (144 uzorka), 0,150 mg/kg u rižama iz Italije (38 uzoraka) te čak 0,280 mg/kg u uzorcima riže iz Francuske (33 uzorka). U Argentini je utvrđena prosječna vrijednost tAs u uzorcima riže od 0,303 mg/kg (Oteiza i sur., 2020).

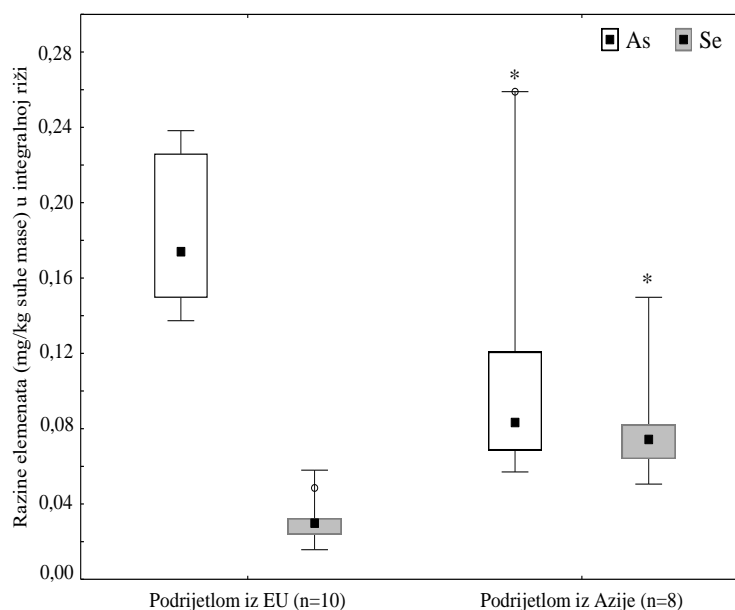
Osim proučavanja ukupne razine As u riži, često se provode istraživanja o specijacijama As, odnosno o razinama organskih i anorganskih vrsta As. Organski As se smatra puno manje toksičnim u odnosu na iAs. Prema izvješću EFSA-e (2014b) o iAs, gdje je analizirano 600 uzoraka riže, iAs predstavlja približno 70 % ukupnog sadržaja As. U uzorcima riže s hrvatskog tržišta prosječni udio iAs u ukupnom As je sljedeći: 69 % za ukupnu rižu pri čemu udio iAs iznosi 60 % za bijelu rižu, 72 % za pretkuhanu rižu i 71 % za integralnu (smeđu) rižu (neobjavljeni podaci mjerenja dostupni na zahtjev). Dobivene vrijednosti niže su od vrijednosti dopuštene najveće količine iAs za rižu i rižine proizvode: 200 µg/kg za bijelu te 250 µg/kg za pretkuhanu i smeđu rižu (Uredba komisije, 2015).

Konзумacija žitarica, povrća i krumpira čini 56 % ukupnog prehranbenog unosa Cd u Europi. Među žitaricama, riža i pšenica sadrže najviše Cd (EFSA CONTAM, 2012). Prosječna razina Cd u svim uzorcima riže je iznosila $0,038 \pm 0,035$ (0,002 - 0,207) mg/kg. Nisu utvrđene razlike u razinama Cd između bijele, pretkuhane i integralne riže (tablica 3). Najveća prosječna razina Cd utvrđena je u integralnoj riži $0,042 \pm 0,042$ mg/kg. Pretkuhana riža sadrži u prosjeku najmanje Cd ($0,018 \pm 0,013$ mg/kg), gotovo 60 % manje nego integralna riža. Svi uzorci, osim jednog (integralna riža ekološke proizvodnje podrijetlom iz Italije, uzorak 39 – prilog 1), bili su ispod granice najviše dopuštene količine Cd u hrani koja iznosi 0,2 mg/kg (Uredba komisije, 2006). Dobivene vrijednosti Cd u rižama slažu se s literaturnim podacima. Ni Jorhem i suradnici (2008) nisu našli razlike u razinama Cd u bijeloj (0,020 mg/kg), pretkuhanoj (0,025 mg/kg) i integralnoj riži (0,021 mg/kg). Ipak, utvrdili su značajne razlike unutar svake skupine riže što ukazuje na potencijalni utjecaj drugih parametara na razine Cd u rižama, poput biogeokemije tla i vrste riže (Li i sur., 2017). Prosječna razina Cd u rižama iz Brazila je bila 0,014 mg/kg (Kato i sur., 2019), što je dvostruko više od razine Cd u rižama iz Argentine (0,006 mg/kg) (Londonio i sur., 2019).

4.1.3. Razine ukupnog As (tAs) i Se prema podrijetlu riže

Razine tAs i Se u rižama s obzirom na podrijetlo prikazane su na slici 3. Kako je više od 70 % uzoraka bijele riže bilo istog podrijetla (Italija), razlike u tAs i Se promatrane su samo u uzorcima integralne riže europskog i azijskog podrijetla. Uzorci riže europskog

podrijetla (0,179 mg/kg) imali su dvostruko veće razine tAs od uzoraka riže azijskog podrijetla (0,078 mg/kg). Međutim, uzorci podrijetlom iz Azije imali su veći raspon vrijednosti tAs (0,057 – 0,259 mg/kg) od uzoraka iz EU (0,137 – 0,238 mg/kg). Dobiveni rezultati su u skladu s istraživanjem koje su proveli Gonzalez i suradnici (2020) koji su pokazali da riža podrijetlom iz Španjolske sadrži više tAs (0,169 mg/kg) od riže podrijetlom iz Azije (0,141 mg/kg). Veliko istraživanje koje su proveli Rowell i suradnici (2014) uspoređujući razine As, Se i Zn u rižama podrijetlom iz Azije, Europe i SAD-a, pokazalo je da najveće razine As sadržavaju uzorci podrijetlom iz Vijetnama (0,169 mg/kg), zatim iz SAD-a (0,149 mg/kg) te Italije (0,142 mg/kg) dok su ostali uzorci iz Azije (Šri Lanka, Indija, Pakistan, Tajland) sadržavali manje razine As (0,043 – 0,128 mg/kg). Nadalje, utvrđene su veće razine esencijalnog elementa Se u uzorcima podrijetlom iz Azije (0,083 mg/kg) u usporedbi s uzorcima podrijetlom iz EU (0,032 mg/kg) što se slaže s rezultatima istraživanja Rowell i sur. (2014).

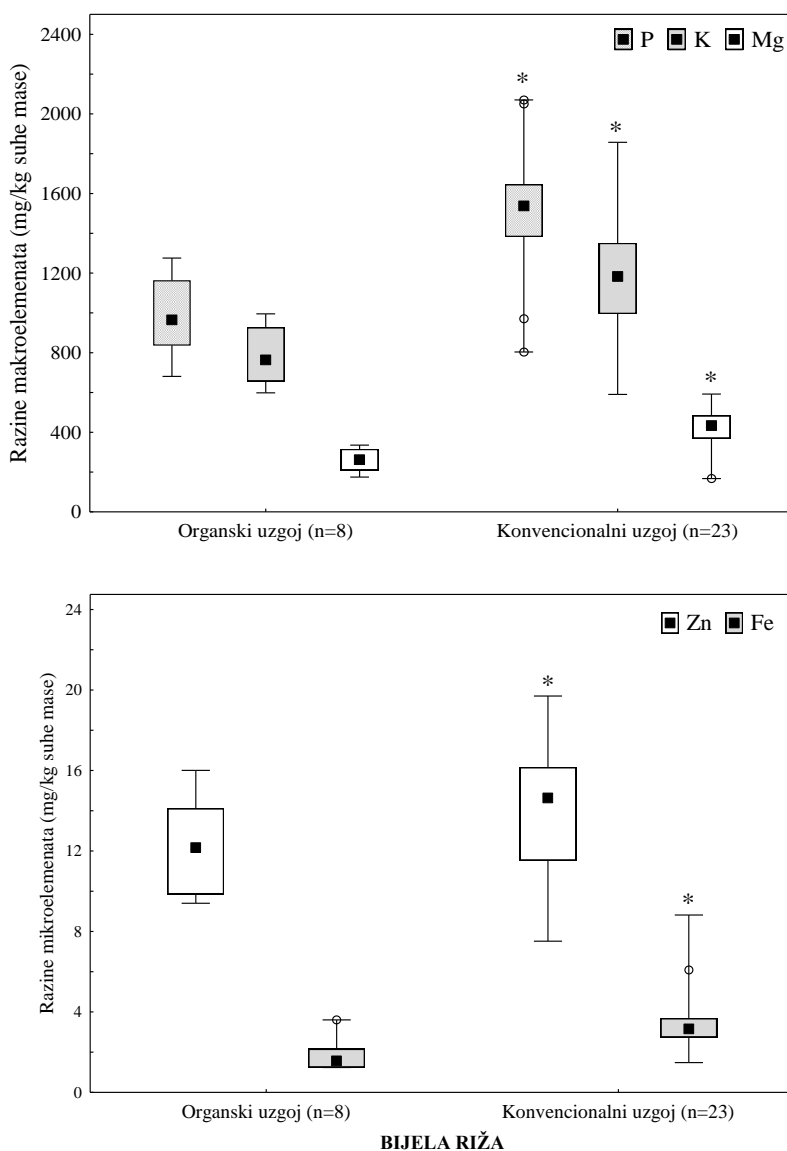


*Statistički značajna razlika ($p < 0,05$) testirana Mann-Whitney U testom

Slika 3. Razine ukupnog arsena (tAs) i selena (Se) (mg/kg suhe tvari) u uzorcima integralne riže podrijetlom iz zemalja Europske Unije (EU) i Azije. Rezultati su prikazani kao Box i Whisker dijagram; donja i gornja linija označavaju najmanju i najveću vrijednost, crni kvadrat medijan, a kružić netipičnu vrijednost

4.1.4. Utjecaj načina uzgoja na razine esencijalnih elemenata

Razlike u razinama makro (P, K i Mg) i mikroelemenata (Zn i Fe) u rižama prema načinu uzgoja, organski vs konvencionalni, u skupini bijela riža, prikazane su na slici 4. Utvrđene su do 1,7 puta veće razine P, K i Mg, do 1,2 puta veće razine Zn i 1,5 veće razine Fe u bijeloj riži iz konvencionalnog uzgoja, za razliku od bijele riže iz organskog uzgoja. U skupni integralna riža, samo su se razine Cu razlikovale između uzoraka uzgojenih na organski i konvencionalni način.

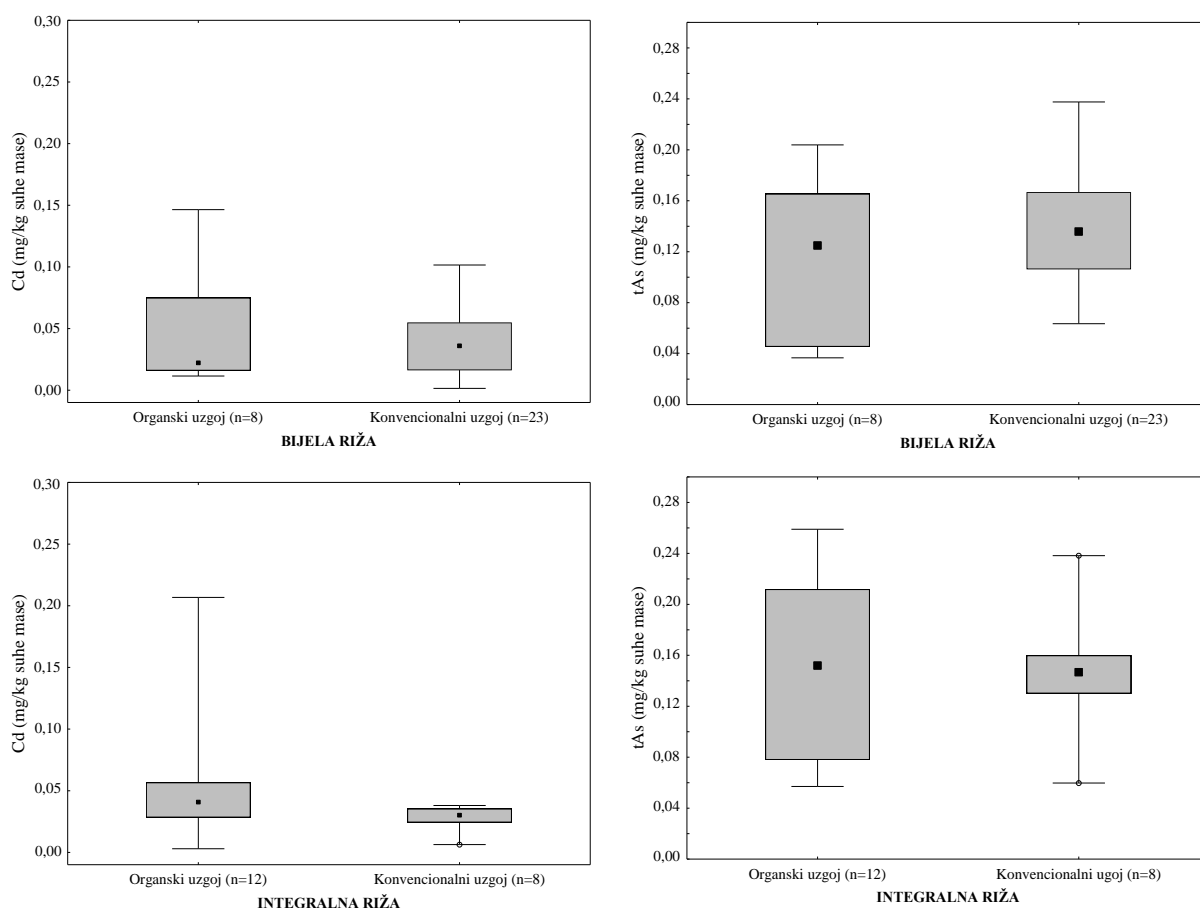


*Statistički značajna razlika ($p < 0,05$) testirana Mann-Whitney U testom

Slika 4. Razine makro- (P, K, Mg) (a) i mikroelemenata (Zn i Fe) (b) (u mg/kg suhe mase) u bijeloj riži prema načinu uzgoja, organski vs konvencionalni uzgoj. Rezultati su prikazani kao Box i Whisker dijagram; donja i gornja linija predstavljaju najmanju i najveću vrijednost, crni kvadrat medijan, a kružići netipične vrijednosti

4.1.5. Utjecaj načina uzgoja na razine toksičnih elemenata

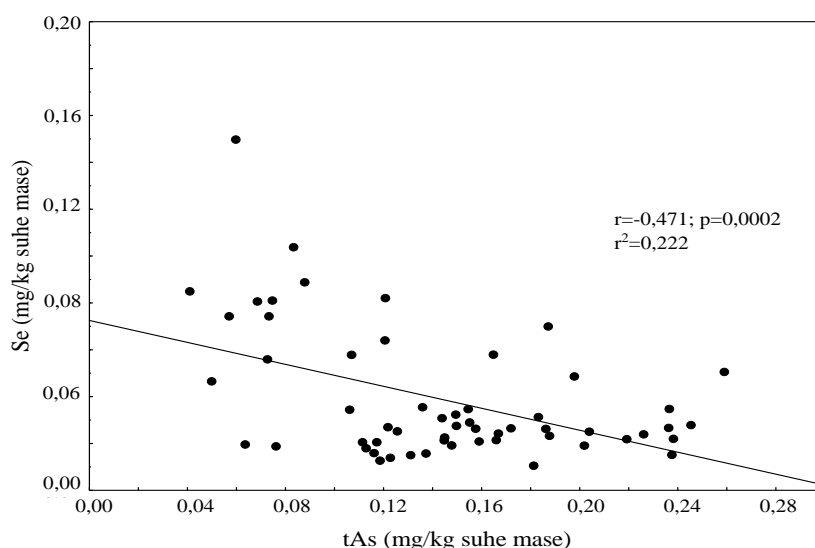
Osim o načinu obrade rižinog zrna i podrijetlu riže, razine toksičnih elemenata u riži mogu ovisiti i o načinu uzgoja. U ovom istraživanju, razine Cd i tAs u skupinama bijela i integralna riža nisu se razlikovale prema načinu uzgoja (organski vs konvencionalni) (slika 5). Međutim, u istraživanju koje su proveli Menon i suradnici (2020) analizirajući 55 uzoraka riže s britanskog tržišta uočena je značajna razlika u razinama tAs prema načinu uzgoja. U slučaju bijele riže, konvencionalno uzgojena riža sadržavala je značajno veće razine tAs u odnosu na organski uzgoj, dok je kod integralne riže bilo obrnuto. Najveće razine Cd i tAs utvrđene su u uzorcima integralne riže organskog podrijetla: 0,207 mg Cd/kg u uzorku 39 i 0,259 mg tAs/kg u uzorku 44.



Slika 5. Razine kadmija (Cd) i ukupnog arsena (tAs) (mg/kg suhe mase) u bijeloj i integralnoj riži prema načinu uzgoja, organski vs konvencionalni uzgoj. Rezultati su prikazani kao Box i Whisker dijagram; donja i gornja linija predstavljaju najmanju i najveću vrijednost, crni kvadrat medijan, a kružići netipične vrijednosti

4.1.6. Korelacija između As i Se

Antagonistički učinci između As i Se otkriveni su još 1938. godine i zabilježeni su i kod ljudi i kod životinja. Interakcija As i Se potiče žučno izlučivanje egzogenog Se i selenita, a također povećava izlučivanje As u žuč (Rosen i Liu, 2009). U novije vrijeme, razmatra se i sinergistički učinak As i Se (detaljnije opisano u poglavlju: Međudjelovanje arsena i selen). EFSA (2010) smatra da je zaštita koju organizmu pruža Se od toksičnih metala korisna, ali zbog ograničenosti dokaza uzročno-posljedični odnos nije još potvrđen. Negativna korelacija između As i Se ($r = -0,47$; $p = 0,0002$) (slika 6) pokazuje da uzorci koji sadrže više As mogu sadržavati manje esencijalnog elementa Se. Dobiven koeficijent korelacije (r) od $-0,47$ je u skladu s dosadašnjim istraživanjima u kojima su vrijednosti r u rasponu između $-0,30$ i $-0,60$, ovisno o vrsti riže (Šlejkovec i sur., 2020; Duan i sur., 2013).



Slika 6. Odnos između razina ukupnog arsena (tAs) i selena (Se) u analiziranim uzorcima riže

4.2. PROCJENA UNOSA ESENCIJALNIH I TOKSIČNIH ELEMENATA KONZUMACIJOM RIŽE

Procijenjen je unos esencijalnih makroelemenata Mg, P, K i Ca i mikroelemenata Fe, Mn, Co, Cu, Zn, Se i Mo za odrasle osobe oba spola (tablica 4 i 5) kao i unos toksičnih metala Cd i polumetala As (slika 7) konzumacijom jednog serviranja riže na dan. U izračunu je korištena veličina serviranja od 40 g nekuhane, suhe riže koja odgovara 120 g kuhane riže (Rogić i sur., 2003).

Dobiveni su sljedeći rezultati: do 20 % DRV za unos makroelemenata Mg i P te za unos mikroelemnta Cu, do 5 % DRV za unos makroelementa K te mikroelemenata Fe, Zn, Se,

do 1 % DRV za unos makroelementa Ca. Dobiveni podaci o unosu Mn konzumacijom jedne porcije riže iznose 23,47 % preporučenog dnevnog unosa Mn, dok istom količinom odrasla osoba može zadovoljiti čak 37,23 % potreba za Mo u jednom danu. Zadovoljavanje dnevnih potreba za makro- i mikroelementima uvelike ovisi o vrsti i stupnju obrade riže. Unosom integralne riže u odnosu na bijelu rižu, odrasla osoba može zadovoljiti potrebe 2 - 4 puta više za Mg i P, dok se za unos K i Ca ne vidi značajnija razlika. Zbog manjih potreba za Mg, ženska osoba jednom porcijom integralne riže može zadovoljiti unos od 17,11 %, dok muškarac zadovoljava dnevne potrebe za Mg od 14,7 %. Osim Mg, preporučeni dnevni unos za muškarce i žene se razlikuje i za Zn, pri čemu žene više zadovoljavaju dnevne potrebe konzumacijom jedne porcije riže na dan (tablica 4 i 5). Zbog manjih razina makro- i mikroelemenata u bijeloj riži, poželjno ju je zamijeniti integralnom rižom koja je bolji izvor mikronutrijenata (Batista i sur., 2012).

Tablica 4. Procjena unosa esencijalnih elemenata konzumacijom riže dostupne na hrvatskom tržištu za odraslu mušku osobe tjelesne mase 70 kg

Element	DRV (mg/dan)		Ukupna riža (n = 58)	Bijela riža (n = 31)	Pretkuhana riža (n = 7)	Integralna riža (n = 7)
Srednja vrijednost ± SD i raspon (min - max)						
Makroelementi						
Mg	350	EI _s (mg)	28,2 (6,72 - 77,2)	14,8 (6,72 - 23,68)	21,6 (13,0 - 43,5)	51,3 (17,5 - 77,2)
		% DRV	8,06 (1,92 - 22,1)	4,22 (1,92 - 6,77)	6,18 (3,71 - 12,4)	14,7 (5,01 - 22,1)
P	550	EI _s (mg)	76,6 (27,2 - 169)	52,8 (27,24 - 76,0)	78,5 (62,04 - 102)	113 (54,1 - 169)
		% DRV	13,9 (4,95 - 30,7)	9,6 (4,95 - 19,8)	14,3 (11,3 - 18,6)	20,5 (9,84 - 30,7)
K	3500	EI _s (mg)	62,0 (23,6 - 140)	39,5 (6,72 - 23,7)	69,6 (56,6 - 86,8)	94,2 (40,5 - 140)
		% DRV	1,77 (0,67 - 3,99)	1,13 (0,19 - 0,68)	1,99 (1,62 - 2,48)	2,69 (1,16 - 3,99)
Ca	1000	EI _s (mg)	4,36 (1,37 - 43,2)	3,52 (1,37 - 34,4)	8,16 (1,41 - 43,2)	4,28 (2,31 - 6,16)
		% DRV	0,436 (0,14 - 4,32)	0,352 (0,14 - 3,44)	0,816 (0,14 - 4,32)	0,428 (0,23 - 0,62)

Tablica 4. Procjena unosa esencijalnih elemenata konzumacijom riže dostupne na hrvatskom tržištu za odraslu mušku osobe tjelesne mase 70 kg – nastavak

Element	DRV (mg/dan)		Ukupna riža (n = 58)	Bijela riža (n = 31)	Pretkuhana riža (n = 7)	Integralna riža (n = 7)
Srednja vrijednost ± SD i raspon (min - max)						
Mikroelementi						
Fe	11	EIs (mg)	0,24	0,13	0,16	0,46
			(0,05 - 0,98)	(0,05 - 0,35)	(0,12 - 0,30)	(0,16 - 0,98)
			% DRV	2,23	1,15	1,45
			(0,45 - 8,87)	(0,45 - 3,21)	(1,07 - 2,75)	(1,47 - 8,87)
Mn	3	EIs (mg)	0,70	0,40	0,51	1,23
			(0,19 - 1,74)	(0,19 - 0,7)	(0,25 - 1,1)	(0,43 - 1,74)
			% DRV	23,47	13,47	17,07
			(6,37 - 58,13)	(6,37 - 23,33)	(8,47 - 36,67)	(14,4 - 58,13)
Co	/	EIs (mg)	0,00044	0,00024	0,00024	0,0008
			(0,00 - 0,0029)	(0,00 - 0,00064)	(0,00012 -	(0,00016 -
			% DRV	/	/	0,00052)
			/	/	/	/
Cu	1,6	EIs (mg)	0,084	0,08	0,07	0,097
			(0,037 - 0,155)	(0,037 - 0,155)	(0,055 - 0,096)	(0,054 - 0,13)
			% DRV	5,28	4,98	4,4
			(2,33 - 9,68)	(2,33 - 9,68)	(3,45 - 6,00)	(3,4 - 8,1)
Zn	9,4 - 16,3	EIs (mg)	0,624	0,568	0,456	0,768
			(0,30 - 0,912)	(0,30 - 0,788)	(0,30 - 0,72)	(0,464 - 0,912)
			% DRV	3,83	3,48	2,80
			(1,85 - 5,60)	(1,85 - 4,83)	(1,85 - 4,42)	(2,85 - 5,60)
Se	0,07	EIs (mg)	0,002	0,001	0,0096	0,002
			(0,00 - 0,006)	(0,00 - 0,04)	(0,0006 - 0,0014)	(0,0006 - 0,006)
			% DRV	2,17	1,83	1,37
			(0,00 - 8,57)	(0,00 - 5,03)	(0,91 - 2,00)	(0,8 - 8,57)
Mo	0,065	EIs (mg)	0,024	0,025	0,023	0,024
			(0,013 - 0,044)	(0,013 - 0,044)	(0,015 - 0,028)	(0,014 - 0,038)
			% DRV	37,23	37,85	35,38
			(19,26 - 67,69)	(19,26 - 67,69)	(23,75 - 43,69)	(22,22 - 58,28)

EIs (engl. *Estimated Intake per serving*): procijenjeni unos esencijalnih elemenata prema serviranju.

DRV (engl. *Dietary Reference Values*): prehrambene referentne vrijednosti (EFSA, 2017).

U izračunu je korištena veličina serviranja od 40 g nekuhane riže koja odgovara količini od 120 g kuhane riže.

Tablica 5. Procjena unosa esencijalnih elemenata konzumacijom riže dostupne na hrvatskom tržištu za odraslu žensku osobe tjelesne mase 70 kg

Element	DRV (mg/dan)		Ukupna riža (n = 58)	Bijela riža (n = 31)	Pretkuhana riža (n = 7)	Integralna riža (n = 20)
Srednja vrijednost ± SD i raspon (min - max)						
Makroelementi						
Mg	300	EI _s	28,20	14,76	21,64	51,32
			(6,72 - 77,24)	(6,72 - 23,68)	(13 - 43,52)	(17,52 - 77,24)
		% DRV	9,4	4,92	7,21	17,11
			(2,24 - 25,74)	(2,24 - 7,89)	(4,33 - 14,51)	(5,84 - 25,74)
P	550	EI _s	76,6	52,8	78,48	112,88
			(mg)	(27,24 - 168,84)	(27,24 - 75,96)	(62,04 - 102,44)
		% DRV	13,93	9,6	14,27	20,52
			(4,95 - 30,70)	(4,95 - 19,81)	(11,28 - 18,63)	(9,84 - 30,70)
K	3500	EI _s (mg)	61,96	39,48	69,56	94,16
			(23,6 - 139,88)	(6,72 - 23,68)	(56,64 - 86,76)	(40,48 - 139,88)
		% DRV	1,77	1,13	1,99	2,69
			(0,67 - 3,99)	(0,19 - 0,68)	(1,62 - 2,48)	(1,16 - 3,99)
Ca	1000	EI _s (mg)	4,36	3,52	8,16	4,28
			(1,37 - 43,20)	(1,37 - 34,4)	(1,41 - 43,20)	(2,31 - 6,16)
		% DRV	0,436	0,35	0,82	0,43
			(0,14 - 4,32)	(0,14 - 3,44)	(0,14 - 4,32)	(0,23 - 0,62)
Mikroelementi						
Fe	11	EI _s (mg)	0,24	0,13	0,16	0,46
			(0,05 - 0,98)	(0,05 - 0,35)	(0,12 - 0,30)	(0,16 - 0,98)
		% DRV	2,23	1,15	1,45	4,15
			(0,45 - 8,87)	(0,45 - 3,21)	(1,07 - 2,75)	(1,47 - 8,87)
Mn	3	EI _s (mg)	0,70	0,40	0,51	1,23
			(0,19 - 1,74)	(0,19 - 0,7)	(0,25 - 1,1)	(0,43 - 1,74)
		% DRV	23,47	13,47	17,07	41,07
			(6,37 - 58,13)	(6,37 - 23,33)	(8,47 - 36,67)	(14,4 - 58,13)
Co	/	EI _s (mg)	0,00044	0,00024	0,00024	0,0008
			0,00 - 0,0029	0,00 - 0,00064	0,00012 - 0,00052	0,00016 - 0,0028
		% DRV	/	/	/	/
Cu	1,3	EI _s (mg)	0,084	0,08	0,07	0,097
			(0,037 - 0,155)	(0,037 - 0,155)	(0,055 - 0,096)	(0,054 - 0,13)
		% DRV	6,46	6,15	5,38	7,46
			(2,85 - 11,92)	(2,85 - 11,92)	(4,23 - 7,38)	(4,15 - 10,00)

Tablica 5. Procjena unosa esencijalnih elemenata konzumacijom riže dostupne na hrvatskom tržištu za odraslu žensku osobe tjelesne mase 70 kg – *nastavak*

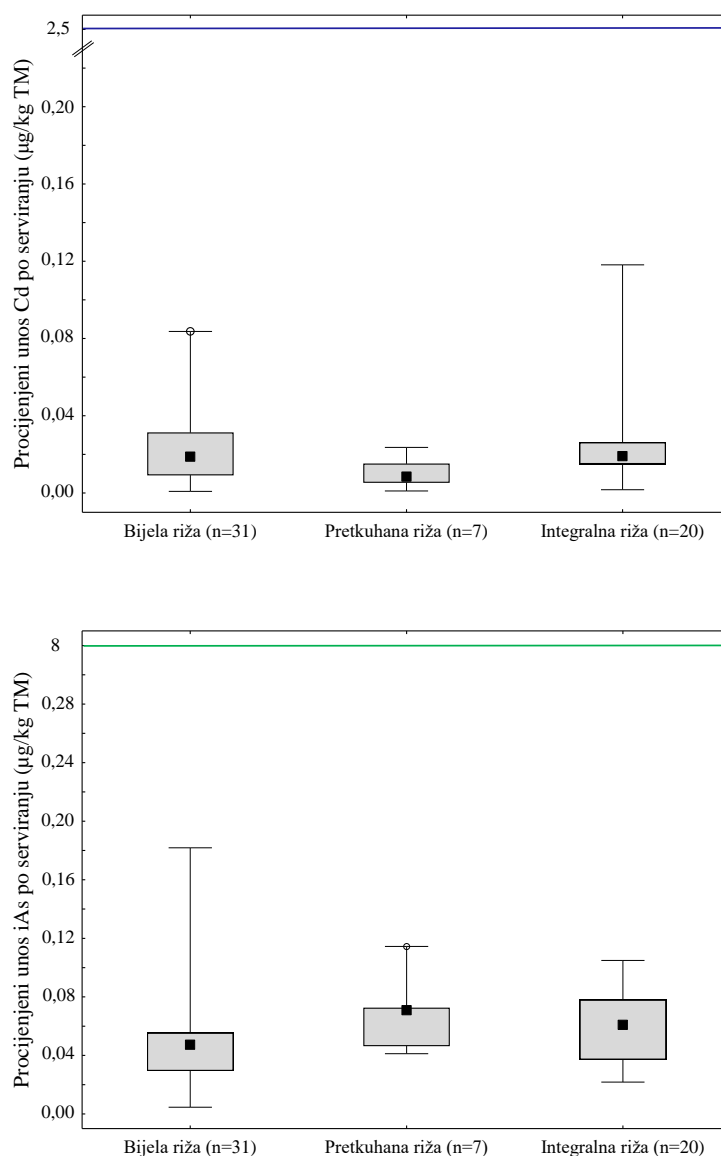
Element	DRV (mg/dan)		Ukupna riža (n = 58)	Bijela riža (n = 31)	Pretkuhana riža (n = 7)	Integralna riža (n = 20)
Srednja vrijednost ± SD i raspon (min - max)						
Zn	7,5 - 12,7	EI _s (mg)	0,624 (0,300 - 0,912)	0,568 (0,300 - 0,788)	0,456 (0,30 - 0,72)	0,768 (0,464 - 0,912)
		% DRV	4,91 (2,36 - 7,18)	4,47 (2,36 - 6,20)	3,59 (2,36 - 5,70)	6,05 (3,65 - 7,18)
Se	0,07	EI _s (mg)	0,002 (0,00 - 0,006)	0,001 (0,00 - 0,04)	0,0096 (0,0006 - 0,002)	0,002 (0,001 - 0,006)
		% DRV	2,17 (0,00 - 8,57)	1,83 (0,00 - 5,03)	1,37 (0,91 - 2,00)	3,03 (0,8 - 8,57)
Mo	0,065	EI _s (mg)	0,024 (0,013 - 0,044)	0,025 (0,013 - 0,044)	0,023 (0,015 - 0,028)	0,024 (0,014 - 0,038)
		% DRV	37,23 (19,26 - 67,69)	37,85 (19,26 - 67,69)	35,38 (23,75 - 43,69)	36,92 (22,22 - 58,28)

EI_s (engl. *Estimated Intake per serving*): procijenjeni unos esencijalnih elemenata prema serviranju.

DRV (engl. *Dietary Reference Values*): prehrambene referentne vrijednosti (EFSA, 2017).

U izračunu je korištena veličina serviranja od 40 g nekuhane riže koja odgovara količini od 120 g kuhane riže.

Unos toksičnih elemenata Cd i As procijenjen je za odrasle osobe, oba spola, prosječne tjelesne mase 70 kg konzumacijom jednog serviranja nekuhane riže (40 g) koji odgovara količini 120 g kuhane riže (slika 7).



Plava linija označava dopušteni tjedni unos (TWI) za Cd od 2,5 µg/kg TM na tjedan (EFSA CONTAM, 2012), a zelena linija donju granicu pouzdanosti referentne doze (BMDL₀₁) za iAs od 8 µg/kg TM na dan (EFSA CONTAM, 2009).

Slika 7. Procijenjeni unos toksičnih elemenata kadmija (Cd) i anorganskog arsena (iAs) konzumacijom riže dostupne na hrvatskom tržištu za odrasle osobe tjelesne mase 70 kg. U izračunu je korištena veličina serviranja od 40 g nekuhane riže koja odgovara 120 g kuhane riže. Rezultati su prikazani kao Box i Whisker dijagram; donja i gornja linija označava najmanju i najveću vrijednost, crni kvadrat medijan, a kružići netipične vrijednosti

Utvrđeno je da se jednim serviranjem bijele riže u prosjeku unese 0,023 $\mu\text{g Cd/kg TM}$, pretkuhane riže 0,01 $\mu\text{g Cd/kg TM}$, a integralne riže 0,024 $\mu\text{g Cd/kg TM}$. Dobivene vrijednosti su oko 100 puta manje od TWI_{Cd} koji iznosi 2,5 $\mu\text{g Cd/kg TM}$ na tjedan (EFSA CONTAM, 2010). Konzumacijom jednog serviranja pretkuhane riže unese se najmanje Cd, oko 3 % od TWI_{Cd} .

Unos As procijenjen je prema prosječnim vrijednostima za iAs u svim uzorcima riže (podaci dostupni na zahtjev) i uspoređen s EFSA referentnom vrijednosti unosa iAs u općem stanovništvu. Utvrđeno je da se jednim serviranjem bijele riže unese 0,046 $\mu\text{g iAs/kg TM}$, pretkuhane riže 0,068 $\mu\text{g iAs/kg TM}$, a integralne riže 0,061 $\mu\text{g iAs/kg TM}$. Uspoređujući donju granicu pouzdanosti referentne doze (BMDL_{01}) za iAs od 8 $\mu\text{g/kg TM}$ na dan (EFSA CONTAM, 2009), odrasla osoba prosječne tjelesne mase od 70 kg unese manje od 1 % BMDL_{01} za iAs po serviranju riže. U istraživanju koje su proveli Batista i suradnici (2011) dobiveni su podaci o procijenjenom unosu ukupnog As te organskih i anorganskih vrsta As konzumacijom riže (sve vrste) u Brazilu. Navedeni rezultati pokazali su unos tAs od 0,29 $\mu\text{g tAs/kg TM}$ na dan što su gotovo 4 puta veće vrijednosti od vrijednosti dobivenih u ovom istraživanju (0,081 $\mu\text{g tAs/kg TM}$ na dan).

Zbog niskog unosa Cd i iAs konzumacijom jednog serviranja riže od 40 g nekuhane odnosno 120 g kuhane riže dostupne na hrvatskom tržištu (bijela, pretkuhana i integralna riža) nema opasnosti od štetnog učinaka navedenih elemenata na zdravlje ljudi.

5. ZAKLJUČCI

Riža (*Oryza Sativa* L.) je jedna od najvažnijih žitarica iz porodice trava i osnovna namirnica u prehrani za gotovo dvije trećine svjetskog stanovništva, posebice na području Azije. Osim esencijalnih elemenata, riža može sadržavati i toksične elemente koji mogu imati štetne učinke na zdravlje.

Na temelju provedenog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Integralna riža sadrži više esencijalnih makro- i mikroelemenata od bijele riže
2. Način uzgoja riže (konvencionalni i organski) može imati učinke na razine makroelementa P, K i Mg te mikroelemente Fe i Cu
3. Način obrade (bijela, pretkuhana, integralna riža) i uzgoj riže (konvencionalni i organski) nemaju učinak na razine toksičnih elemenata Cd i As
4. Pokazana je negativna korelacija između razina ukupnog As i Se u rižama
5. Procijenjeni unos Cd i anorganskog As konzumacijom jednog serviranja riže s hrvatskog tržišta je višestruko ispod referentnih vrijednosti za unos Cd i iAs prehranom i ne predstavlja opasnost za zdravlje ljudi zbog mogućih štetnih učinaka ovih elemenata
6. U budućnosti bi se podaci o mineralnom sastavu mogli koristiti za praćenje zemljopisnog podrijetla proizvoda

6. LITERATURA

Abbaspour N, Hurrell R, Kelishadi R (2014) Review on iron and its importance for human health. *J Res Med Sci* **19** (2) 164 - 174.

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

Al-Saleh I, Abduljabbar M (2017) Heavy metals (lead, cadmium, methylmercury, arsenic) in commonly imported rice grains (*Oryza sativa*) sold in Saudi Arabia and their potential health risk. *Int J Hyg Environ Helath* **220** (7), 1168 - 1178. Doi: 10.1016/j.ijheh.2017.07.007

Aune D, Keum N, Giovannucci E, Fadnes LT, Boffetta P, Greenwood DC, Tonstad S, Vatten LJ, Riboli E, Norat T. (2016) Whole grain consumption and risk of cardiovascular disease, cancer, and all cause and cause specific mortality: systematic review and dose - response meta - analysis of prospective studies. *BMJ* **353**, i2716. Doi: 10.1136/bmj.i2716

Batista BL, Nacano LR, de Freitas R, de Oliviera - Souza C, Barbosa F (2012) Determination of essential (Ca, Fe, I, K, Mo) and toxic elements (Hg, Pb) in Brazilian rice grains and estimation of reference daily intake. *Food Sci Nutr* **3**, 129 - 134. Doi: 10.4236/fns.2012.31019

Batista BL, Souza JMO, De Souza SS, Barbosa F (2011) Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. *J Hazard Mater* **191** (1 - 3), 342–348. Doi:10.1016/j.jhazmat.2011.04.087

Boers HM, Ten Hoorn JS, Mela DJ (2015) A systematic review of the influence of rice characteristics and processing methods on postprandial glycaemic and insulinaemic responses. *Br J Nutr* **114** (7), 1035 - 1045.

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

Cano Pavon MC, Garcon de Torres A, Sanchez Rojas F, Bosch Ojeda C, Vereda Alonso E (2015) The toxic elements U: de la Guardia M i Garrigues S (ured.) Handbook of mineral elements in food, John Wiley&Sons Ltd, Chichester, 123 - 153.

Carey AM, Lombi E, Donner E, De Jonge MD, Punshon T, Jackson BP, Guerinot ML (2012) A review of recent developments in the speciation and location of arsenic and selenium in rice grain. *Anal Bioanal Chem* **402**, 3275–3286. Doi: 10.1007/s00216-011-5579-x

Carey M, Jiujin X, Farias JG, Meharg AA (2015) Rethinking rice preparation for highly efficient removal of inorganic arsenic using percolating cooking water. *PLoS One*, **10**, 1 - 12. Doi: 10.1371/journal.pone.0131608

Chowdhury NR, Ghosh S, Joardar M, Kar D, Roychowdhury T (2018) Impact of arsenic contaminated groundwater used during domestic scale post harvesting of paddy crop in West Bengal: Arsenic partitioning in raw and parboiled whole grain. *Chemosphere* **211**, 173 - 184. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.128

Da Silva DG, Scarminio IS, Anunciação DS, Souza AS, da Silva EGP, Ferreira SLC (2013) Determination of the mineral composition of Brazilian rice and evaluation using chemometric techniques. *Anal Methods* **5** (4), 998–1003. Doi: 10.1039/c2ay26158h

Da Silva IJS, Paim APS, Da Silva MJ (2018) Composition and estimate of daily mineral intake from samples of Brazilian rice. *Microchem J* **137**, 131 - 138. Doi: 10.1016/j.microc.2017.10.006

David EE, Nwobodo V, Famurewa AC, Igwenyi IO, Egedeigwe - Ekeleme CA, Obeten UN, Obasi DO i sur. (2020) Effect of parboiling on toxic metal content and nutritional composition of three rice varieties locally produced in Nigeria. *Sci Afr* **10**, e00580. Doi: 10.1016/j.sciaf.2020.e00580

Duan G, Liu W, Chen X, Hu Y, Zhu Y (2013) Association of arsenic with nutrient elements in rice plants, *Metallomics* **5** (7), 784–792. Doi: 10.1039/c3mt20277a

EFSA (2010). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to selenium and maintenance of normal hair (ID 281), maintenance of normal nails (ID 281), protection against heavy metals (ID 383), maintenance of normal joints (ID 409), maintenance of normal thyroid function (ID 410, 1292), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 410, 1292), and maintenance of the normal function of the immune system (ID 1750) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/20061. *EFSA Journal* **8** (10), 1727. Doi: 10.2903/j.efsa.2010.1727

EFSA (2013). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for manganese. *EFSA Journal* **11** (11), 3419. Doi: 10.2903/j.efsa.2013.3419

- EFSA (2014a). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for niacin. *EFSA Journal* **12** (7), 3759. Doi: 10.2903/j.efsa.2014.3759
- EFSA (2014b) Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. *EFSA Journal* **12** (3), 3597. Doi: 10.2903/j.efsa.2014.3597
- EFSA (2015a). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for phosphorus. *EFSA Journal* **13** (7), 4185. Doi: 10.2903/j.efsa.2015.4185
- EFSA (2015b). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for magnesium. *EFSA Journal* **13** (7), 4186. Doi: 10.2903/j.efsa.2015.4186
- EFSA (2016) Dietary Reference Values for thiamin. *EFSA Journal* **14** (12), 4653. Doi: 10.2903/j.efsa.2016.4653
- EFSA (2017) Dietary Reference Values for nutrients. Summary report. *EFSA Supporting Publication* e15121. Doi: 10.2903/sp.efsa.2017.e15121
- EFSA CONTAM (2009) Scientific Opinion on Arsenic in Food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal* **7** (10): 1351. Doi: 10.2903/j.efsa.2009.1351
- EFSA CONTAM (2010). Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal* **8** (4), 1570. Doi: 10.2903/j.efsa.2010.1570
- EFSA CONTAM (2012). Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal* **10** (1), 2551. Doi: 10.2903/j.efsa.2012.2551
- Fageria NK (2014) Mineral Nutrition of Rice, Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- FAOSTAT (2022) Food and Agriculture Organization. Food Balance Sheets. <https://www.fao.org/faostat/en/#compare> Pristupljeno 18. Siječnja 2022
- Fresco L (2005) Rice is life. *J Food Compost Anal* **18** (4), 249 - 253.
- Gailer J, George GN, Pickering IJ, Prince RC, Ringwald SC, Pemberton JE i sur. (2000) A metabolic link between arsenite and selenite: the seleno – bis (S - glutathionyl) arsinium ion. *J Am Chem Soc* **122**, 4637 – 4639. Doi: 10.1021/ja993064m
- González N, Calderón J, Rúbies A, Bosch J, Timoner I, Castell V, Marquès M i sur. (2020) Dietary exposure to total and inorganic arsenic via rice and rice - based products consumption, *Food Chem Toxicol* **141**, 111420. Doi: 10.1016/j.fct.2020.111420

Gray PJ, Conklin SD, Todorov TI, Kasko SM (2016) Cooking rice in excess water reduces both arsenic and enriched vitamins in the cooked grain. *Food Addit Contam Part A*, **33**, 78 - 85. Doi: 10.1080/19440049.2015.1103906

Hu EA, Pan A, Malik V, Sun Q (2012) White rice consumption and risk of type 2 diabetes: meta - analysis and systematic review. *BMJ* **344**, e1454. Doi: 10.1136/bmj.e1454

Huang Z, Pei Q, Sun G, Zhang S, Liang J, Gao Y, Zhang X (2008) Low selenium status affects arsenic metabolites in an arsenic exposed population with skin lesions. *Clin Chim Acta* **387**, 139 – 144. Doi: 10.1016/j.cca.2007.09.027

IARC (2021) IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans. IARC - International Agency fo Research on Cancer, <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>. Pristupljeno 28 siječnja 2022.

Jaafar M, Marcilla AL, Felipe - Sotelo M, Ward NI (2018) Effect of food preparation using naturally - contaminated groundwater from La Pampa, Argentina: estimation of elemental dietary intake from rice and drinking water. *Food Chem* **246**, 258 - 265. Doi: 10.1016/j.foodchem.2017.11.019

Janasik B, Zawisza A, Malachowska B, Fendler W, Stanislawska M, Kuras R, Wasowicz W (2017) Relationship between arsenic and selenium in workers occupationally exposed to inorganic arsenic. *J Trace Elem Med Biol* **42**, 76 – 80. Doi: 10.1016/j.jtemb.2017.04.007

Jo G, Todorov TI (2019) Distribution of nutrient and toxic elements in brown and polished rice. *Food Chem* **289**, 299 - 307. Doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.040

Jorhem L, Astrand C, Sundström B, Baxter M, Stokes P, Lewis J, Grawé KP (2008) Elements in rice from the Swedish market: 1. Cadmium, lead and arsenic (total and inorganic). *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* **25** (3), 284 - 92. Doi: 10.1080/02652030701474219

Juan J, Liu G, Willett WC, Hu FB, Rexrode KM, Sun Q (2017) Whole Grain Consumption and Risk of Ischemic Stroke: Results From 2 Prospective Cohort Studies. *Stroke* **48** (12), 3203–3209. Doi: 10.1161/STROKEAHA.117.018979

Kato LS, De Nadai Fernandes EA, Raab A, Bacchi MA, Feldmann J (2019) Arsenic and cadmium contents in Brazilian rice from different origins can vary more than two orders of magnitude. *Food Chem* **286**, 644 - 650. Doi: 10.1016/j.foodchem.2019.02.043

- Kolachi NF, Kazi TG, Wadhwa SK, Afridi HI, Baig JA, Khan S, Shah F (2011) Evaluation of selenium in biological sample of arsenic exposed female skin lesions and skin cancer patients with related to non - exposed skin cancer patients. *Sci Total Environ* **409**, 3092 – 3097. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.05.008
- Kumar A, Kumar Lal M, Nayak S, Sahoo U, Behera A, Bagchi BB i sur. (2022) Effect of parboiling on starch digestibility and mineral bioavailability in rice (*Oryza sativa* L.), *LWT* **156**, 113026. Doi: 10.1016/j.lwt.2021.113026
- Kumar Lal M, Singh B, Sharma S, Singh MP, Kumar A (2021) Glycemic index of starchy crops and factors affecting its digestibility: A review. *Trends Food Sci Technol* **111**, 741 - 755. Doi: 10.1016/j.tifs.2021.02.067
- Kumarathilaka P, Seneweera S, Ok YS, Meharg A, Bundschuh J (2019) Arsenic in cooked rice foods: Assessing health risks and mitigation options. *Environ Int* **127**, 584 - 591. Doi: 10.1016/j.envint.2019.04.004
- Lech T, Sadlik JK (2017) Cadmium Concentration in Human Autopsy Tissues. *Biol Trace Elem Res* **179** (2), 172–177. Doi: 10.1007/s12011-017-0959-5
- Li H, Luo N, Li YW, Cai QY, Li HY, Mo CH, Wong MH (2017) Cadmium in rice: Transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures. *Environ Pollut* **224**, 622–630. Doi: 10.1016/j.envpol.2017.01.087
- Londonio A, Morzán E, Smichowski P (2019) Determination of toxic and potentially toxic elements in rice and rice - based products by inductively coupled plasma - mass spectrometry. *Food Chem* **284**, 149 - 154. Doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.104
- Lucio M, Barbir R, Vučić Lovrenčić M, Canecki Varžić S, Ljubić S, Smirčić Duvnjak L i sur. (2020) Association between arsenic exposure and biomarkers of type 2 diabetes mellitus in a Croatian population: A comparative observational pilot study. *Sci Total Environ* **720**, 137575. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137575
- Meharg AA, Williams PN, Adomako E, Lawgali YY, Deacon C, Villada A, Yanai J (2009) Geographical Variation in Total and Inorganic Arsenic Content of Polished (White) Rice. *J Environ Sci Technol* **43**(5), 1612–1617. Doi: 10.1021/es802612a

- Menon M, Sarkar B, Hufton J, Reynolds C, Reina SV, Young S (2020) Do arsenic levels in rice pose a health risk to the UK population? *Ecotoxicol Environ Saf* **197**, 110601. Doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110601
- Mikolić A, Piasek M, Sulimanec Grgec A, Varnai VM, Stasenko S, Kralik Oguić, S. (2015) Oral cadmium exposure during rat pregnancy: assessment of transplacental micronutrient transport and steroidogenesis at term. *J Appl Toxicol* **35** (5) 508 - 519. Doi: 10.1002/jat.3055
- Naito S, Matsumoto E, Shindoh K, Nishimura T (2015) Effects of polishing, cooking, and storing on total arsenic and arsenic species concentrations in rice cultivated in Japan. *Food Chem* **168**, 294 - 301. Doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.060
- Navarro - Alarcon, M., Cabrera - Vique, C. (2008) Selenium in food and the human body: A review. *Sci. Total Environ.* **400**, 115 - 141. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.024
- Nayar NM (2014) Chapter 1: Rice in the World U: Origins and Ohylogeny of Rices, 1. Izdanje, Academic Press, Cambridge.
- Nordberg GF, Gerhardsson L, Mumtaz MM, Ruiz P, Fowler BA (2015) Interactions and mixtures in metal toxicology. U: Handbook on the toxicology of metals, 4. izd. (Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, ured.), Academic Press (Elsevier), London, UK, str. 213 - 238.
- Oteiza JM, Barril PA, Quintero CE, Savio M, Befani R, Fernandez Cirelli A, Echegaray NS i sur. (2020) Arsenic in Argentinean polished rice: Situation overview and regulatory framework. *Food Control* **109**, 106909. Doi: 10.1016/j.foodcont.2019.106909
- Piasek, M (2017) Mineralni elementi u našem tijelu: putovi unosa i učinci na zdravlje, *Priroda* **107** (7 - 8/ 17.) 42 - 47.
- Pinto E, Almeida A, Ferreira, I MPLVO (2016) Essential and non - essential/toxic elements in rice available in the Portuguese and Spanish markets. *J Food Compos Anal* **48**, 81 - 87. Doi: 10.1016/j.jfca.2016.02.008
- Rahman H, Carey M, Hossain M, Savage L, Rafiqul Islam M, Meharg AA (2019) Modifying the parboiling of rice to remove inorganic arsenic, while fortifying with calcium. *Environ Sci Technol* **53**, 5249 - 5255. Doi: 10.1021/acs.est.8b06548
- Rogić M, Kovačević R, Horvat B (2003) Upute o prehrani za osobe sa šećenom bolešću, 11. izd., Tiskara Varteks, Zagreb.

- Rosen BP, Liu Z (2009) Transport pathways for arsenic and selenium: a minireview. *Environ Int* **35**, 512 – 515. Doi: 10.1016/j.envint.2008.07.023
- Rowell C, Kuiper N, Al - Saad K, Nriagu J, Shomar B (2014). A market basket survey of As, Zn and Se in rice imports in Qatar: Health implications. *Food Chem Toxicol* **70**, 33–39. Doi: 10.1016/j.fct.2014.04.041
- Sapunar - Postružnik J, Bažulić D, Kubala H (1996) Estimation of dietary intake of arsenic in the general population of the Republic of Croatia. *Sci Total Environ* **191**, 119 - 123. Doi: 10.1016/0048-9697(96)05253-9
- Saunders RM (1985) Rice bran: Composition and potential food uses. *Food Rev Int* **1** (3), 465–495. Doi: 10.1080/87559128509540780
- Sedak M, Čalopek B, Đokić M, Bilandžić N (2018) Arsen i arsenove specije u hrani - naglasak na anorganski arsen. *Veterinarska stanica* **49** (5), 343 - 353
- Smits JE, Krohn RM, Akhtar E, Hore SK, Yunus M, Vandenberg A, Raqib R (2019) Food as medicine: Selenium enriched lentils offer relief against chronic arsenic poisoning in Bangladesh. *Environ Res* **176**, 108561. Doi: 10.1016/j.envres.2019.108561
- Sommella A, Deacon C, Norton G, Pigna M, Violante A, Mehard, AA (2013) Total arsenic, inorganic arsenic, and other elements concentrations in Italian rice grain varies with origin and type. *Environ Pollut* **181**, 38 - 43. Doi: 10.1016/j.envpol.2013.05.045
- Sulimanec Grgec (2019) Procjena unosa nutrijenata i toksičnih metala hranom morskoga podrijetla: usporedbe u zdravih roditelja iz kontinentalne i priobalne hrvatske (doktorski rad), Prehrambeno - biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Sun H, Rathinasabapathi B, Wu B, Luo J, Pu L, Ma LQ (2014) Arsenic and selenium toxicity and their interactive effects in humans. *Environ Int* **69**, 148 – 158. Doi: 10.1016/j.envint.2014.04.019
- Sun Q, Spiegelman D, van Dam RM, Holmes MD, Malik VS, Willett WC, Hu FB (2010) White rice, brown rice, and risk of type 2 diabetes in US men and women. *Arch Intern Med* **170** (11) 961 - 969. Doi: 10.1001/archinternmed.2010.109
- Šlejkovec Z, Gorše L, Grobler A, Jagodic M, Falnoga I (2020) Arsenic speciation and elemental composition of rice samples from the Slovenian market. *Food Chem* **342**, 128348. Doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128348

Taylor V, Goodale B, Raab A, Achwerdtle T, Reimer K, Conklin S i sur. (2017) Human exposure to organic arsenic species from seafood. *Sci Total Environ* **580**, 266 - 282. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.113

Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ (2012) Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl* **101**, 133 - 164. Doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6

Telišman S (1995) Interactions of essential and/or toxic metals and metalloid regarding interindividual differences in susceptibility to various toxicants and chronic diseases in man. *Arh Hig Rada Toksikol* **46** (4), 459 - 476.

Tinggi U (2008) Selenium: its role as antioxidant in human health. *Environ Health Prev Med* **13**, 102 - 108. Doi: 10.1007/s12199-007-0019-4

Uredba komisije (EZ) br. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:02006R1881-20150521&from=EN.#tocId2>
Pristupljeno 20. ožujka 2022.

Uredba komisije (EZ) br. 2015/1006 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of inorganic arsenic in foodstuffs. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/4ea62ae9-1bc8-11e5-a342-01aa75ed71a1/language-en>
Pristupljeno 28. siječnja 2022.

USDA (2019) Food Data Central. <https://fdc.nal.usda.gov/> USDA – United States Department of Agriculture. Pristupljeno 15. Siječnja 2022.

USDA (2022) The Plants Database - Classification for Kingdom *Plantae* Down to Species *Oryza sativa* L. <https://plants.usda.gov/home/classification/24211> USDA – United States Department of Agriculture. Pristupljeno 15. Siječnja 2022.

Verma DK i Srivastav PP (2020) Bioactive compounds of rice (*Oryza sativa* L.): Review on paradigm and its potential benefit in human health. *Trends Food Sci Technol* **97**, 355 - 365. Doi: 10.1016/j.tifs.2020.01.007

Verma DK i Srivastav PP (2017) Proximate Composition, Mineral Content and Fatty Acids Analyses of Aromatic and Non - Aromatic Indian Rice. *Rice Sci* **24**, 21 - 31. Doi: 10.1016/j.rsci.2016.05.005

Wang G, Gong Y, Zhu YX, Miao AJ, Yang LY, Zhong, H (2017). Assessing the Risk of Hg Exposure Associated with Rice Consumption in a Typical City (Suzhou) in Eastern China. *Int J Environ Res Public Health* **14** (5), 525. Doi: 10.3390/ijerph14050525

Yang Y, Zhu K, Xia H, Chen L, Chen K (2014) Comparative proteomic analysis of indica and japonica rice varieties. *Genet Mol Biol* **37** (4), 652 - 661. Doi: 10.1590/S1415-47572014005000015

Zhao H, Yan H, Zhang L, Sun G, Li P, Feng X (2019) Mercury contents in rice and potential health risks across China. *Environ Int* **126**, 406 - 412. Doi: 10.1016/j.envint.2019.02.055

Zwolak I (2020) The Role of Selenium in Arsenic and Cadmium Toxicity: an Updated Review of Scientific Literature. *Biol Trace Elem Res* **193**, 44 – 63. Doi: 10.1007/s12011-019-01691-w

Zwolak I, Zaporowska H (2012) Selenium interactions and toxicity: a review. *Cell Biol Toxicol* **28**, 31 – 46. Doi: 10.1007/s10565-011-9203-9

7. PRILOZI

Prilog 1. Prikupljeni uzorci riže s hrvatskog tržišta

Broj uzorka	Tip riže	Način uzgoja	Veličina zrna riže	Dodatni opis riže	Podrijetlo riže
1.	Bijela	Organski	Kratko	Bio	Italija
2.	Bijela	Organski	Dugo	Arborio	Italija
3.	Bijela	Organski	Kratko	Milchreise	Njemačka
4.	Bijela	Organski	Kratko	-	Italija
5.	Bijela	Organski	Kratko	-	Italija
6.	Bijela	Organski	Kratko	-	Italija
7.	Bijela	Organski	Dugo	Yasmin	Kambodža
8.	Bijela	Organski	Dugo	Basmati	Indija
9.	Bijela	Konvencionalni	Srednje	White	Italija
10.	Bijela	Konvencionalni	Srednje	Arborio	Italija
11.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Sant Andrea	Italija
12.	Bijela	Konvencionalni	-	Arborio	Italija
13.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Roma	Italija
14.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	-	Italija
15.	Bijela	Konvencionalni	Srednje	Sant Andrea	Italija
16.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Arborio	Italija
17.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	-	Italija
18.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Basmati	Belgija
19.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	-	Belgija
20.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Basmati	Pakistan
21.	Bijela	Konvencionalni	Kratko	-	nepoznato
22.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	-	nepoznato
23.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Roma	Italija
24.	Bijela	Konvencionalni	Kratko	Originario	Italija
25.	Bijela	Konvencionalni	Kratko	Originario	Italija
26.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Carnarolli	Italija
27.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	-	Italija
28.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Basmati	Italija
29.	Bijela	Konvencionalni	-	-	Italija

Prilog 1. Prikupljeni uzorci riže s hrvatskog tržišta - *nastavak*

	Tip riže	Način uzgoja	Veličina zrna riže	Dodatni opis riže	Podrijetlo riže
30.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	Arborio	Italija
31.	Bijela	Konvencionalni	Dugo	-	EU
32.	Pretkuhana	Konvencionalni	Srednje	Bijela	Italija
33.	Pretkuhana	Konvencionalni	Dugo	Bijela	EU
34.	Pretkuhana	Konvencionalni	-	Blond	Italija
35.	Pretkuhana	Konvencionalni	Dugo	Bijela	Italija
36.	Pretkuhana	Konvencionalni	Dugo	Bijela	Italija
37.	Pretkuhana	Konvencionalni	Dugo	Bijela	Italija
38.	Integralna	Organski	Dugo	Arborio	Italija
39.	Integralna	Organski	Dugo	Thai	Italija
40.	Integralna	Organski	Kratko	-	Italija
41.	Integralna	Organski	Dugo	Basmati	Indija
42.	Integralna	Organski	Dugo	-	EU
43.	Integralna	Organski	Dugo	Basmati	Indija
44.	Integralna	Organski	Dugo	Natureis	Indija
45.	Integralna	Organski	Dugo	Yasmin	Tajland
46.	Integralna	Organski	Dugo	Basmati	Pakistan
47.	Integralna	Organski	Kratko	Slatka	USA
48.	Integralna	Organski	Dugo	Crvena	Kambodža
49.	Integralna	Organski	Dugo	Crna	Tajland
50.	Integralna	Konvencionalni	Dugo	Crna	Italija
51.	Integralna	Konvencionalni	Dugo	Crvena	Francuska
52.	Integralna	Konvencionalni	Dugo	Blond	Italija
53.	Integralna	Konvencionalni	Dugo	-	Belgija
54.	Integralna	Konvencionalni	Dugo	Basmati	Indija
55.	Integralna	Konvencionalni	Dugo	Roma	Italija
56.	Integralna	Konvencionalni	Srednje	-	nepoznato
57.	Integralna	Konvencionalni	Dugo	-	Italija
58.	Pretkuhana	Konvencionalni	Srednje	Integralna	Italija

Prilog 2.

Temperaturni program za razgradnju bioloških uzoraka u mikrovalnom visokotlačnom reaktoru UltraCLAVE IV (Milestone, S.r.l., Italija).

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

Prilog 3.

Uvjeti rada ICP - MS uređaja Agilent 7500cx za vrijeme analize bili su sljedeći: Scott (kvarc) komora za raspršivanje uzoraka, *MicroMist* raspršivač; temperatura u komori za raspršivanje 2 °C; protok plazma plina 15 L/min; protok plina nosioca 1,03 mL/min; protok plina za razrjeđenje 0,1 mL/min; RF snaga 1550 W; reakcijski plinovi helij, vodik i bez plina.

Kolizijski / reakcijski plin	bez plina	helij	vodik
Protok plina (mL/min)	/	4,1	4,2
Napon ekstrakcijske leće 1 (V)	0	0,5	0,7
Napon ekstrakcijske leće 2 (V)	- 150	- 140	- 130
Mjereni izotopi analita	²⁰² Hg	²⁴ Mg, ³¹ P, ³⁹ K, ⁴³ Ca, ⁵⁵ Mn, ⁵⁶ Fe, ⁵⁹ Co, ⁶³ Cu, ⁶⁸ Zn, ⁷⁵ As, ⁹⁵ Mo, ¹¹⁴ Cd, ²⁰⁸ Pb	⁷⁸ Se

Granica detekcije metode (MDL) za pojedine elemente određivane u razorenim uzorcima riže metodom ICP - MS na uređaju Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Japan) i usporedba vrijednosti certificiranih i dobivenih koncentracija elemenata (mg/kg) u standardnom referentnom materijalu, SRM 1568b rižino brašno (NIST, SAD).

Element (mg/kg)	MDL	SRM 1568b, rižino brašno	
		Certificirana vrijednost	Dobivena vrijednost
Mg	1,48	559 ± 10	539 ± 3
P	7,43	1530 ± 40	1515 ± 5
K	27,1	1282 ± 11	1130 ± 6
Ca	13,9	118 ± 3	111 ± 2
Mn	0,013	19,20 ± 1,8	18,45 ± 0,03
Fe	0,427	7,42 ± 0,44	7,75 ± 0,53
Co	0,0012	0,0177 ± 0,0005	0,022 ± 0,0004
Cu	0,113	2,35 ± 0,16	2,29 ± 0,02
Zn	0,218	19,42 ± 0,26	20,08 ± 0,13
As	0,0033	0,285 ± 0,014	0,283 ± 0,001
Se	0,012	0,365 ± 0,029	0,335 ± 0,035
Mo	0,022	1,451 ± 0,048	1,430 ± 0,008
Cd	0,0009	0,0224 ± 0,0013	0,0219 ± 0,0012

Izmjerene koncentracije Hg i Pb u većini uzoraka riže bile su ispod granice detekcije

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, KARLA TOMLJANOVIĆ 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.

Vlastoručni potpis