

ZNANSTVENO MIŠLJENJE

ZNANSTVENO MIŠLJENJE O UTJECAJU NA ZDRAVLJE RAZLIČITIH VRSTA HRANE OD SJEMENKI I KOJA SADRŽI SJEMENKE INDUSTRIJSKE KONOPLJE

Radna grupa za donošenje znanstvenog mišljenja

(Zahtjev HAH-Z-2015-1)

Usvojeno 25. svibnja 2015.

ČLANOVI RADNE GRUPE

- dr. sc. Marinko Petrović, Centar za kontrolu namirnica – predsjednik Radne grupe
- mr. sc. Marijan Katalenić, Hrvatski zavod za javno zdravstvo – zamjenik predsjednika
- prof. dr. sc. Marica Medić Šarić, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- prof. dr. sc. Zdenka Kalodera, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- prof. dr. sc. Irena Žuntar, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- prof. dr. sc. Milan Pospišil, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- dr. sc. Irena Brčić Karačonji, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada

KOORDINATOR IZ HAH-a

Vlatka Buzjak Služek, dipl. ing. preh. teh.

SAŽETAK

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je jedna od najstarijih kultiviranih biljaka koja ima vrlo široku primjenu u različitim industrijskim granama. U RH i ostalim državama EU dozvoljeno je uzgajati sorte industrijske konoplje koje sadrže <0,2 % THC-a u suhoj tvari biljke i nalaze se na zajedničkoj sortnoj listi Europske unije (*Common catalogue*). Sjemenke industrijske konoplje sadrže 25 – 35 % ulja, 20 – 25 % bjelančevina, 20 – 30 % ugljikohidrata i 10 – 15 % vlakana. Ulje se proizvodi postupkom hladnog prešanja sjemenki dok se od odmašćenih sjemenki dobivaju brašno i protein.

Ulje sjemenki industrijske konoplje jedno je od rijetkih ulja koja imaju omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina u skladu s preporukom EFSA-e, a koja iznosi 3 – 5 : 1. Sadrži oko 80 % višestruko nezasićenih masnih kiselina, od kojih su najzastupljenije esencijalne masne kiseline: linolna kiselina (do 60 %) i α -linolenska kiselina (do 20 %). Osim toga, ulje sadrži do 0,5 - 4,5 % γ -linolenske kiseline i do 0,3 - 1,6 % stearidonske kiseline koje nisu sadržane u biljnim uljima koja se uobičajeno koriste u prehrani. Hladno prešano ulje sjemenki konoplje sadrži i druge sastojke kao što su tokoferoli, tokotrienoli i fitosteroli. Proteini konoplje dobar su izvor esencijalnih aminokiselina osobito metionina, cisteina, arginina i glutaminske kiseline. Brojne kliničke studije pokazale su da hrana od sjemenki industrijske konoplje ima pozitivno djelovanje na imunološki sustav i opće zdravstveno stanje organizma.

Iako sjemenke industrijske konoplje u svom sastavu ne sadrže THC i ostale kanabinoide, oni se mogu naći na vanjskoj površini sjemenke zbog toga što su bile u kontaktu s dijelovima biljke koji ih sadrže u većoj količini (vršni listovi, pricvjetni listići cvata i smolaste dlačice lista). Iz tog razloga hrana od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje sadrži količine THC-a koje se analitički mogu odrediti.

Znanstvena literatura navodi podatak da THC uglavnom nastaje zagrijavanjem (dekarboksilacijom) iz THC-kiseline, a u manjoj mjeri je prisutan u biljci kao dekarboksilirani oblik koji je psihoaktivan.

Bioraspoloživost THC-a ingestijom je značajno manja nego pušenjem i iznosi 6 – 10 %, zbog metabolizma prvog prolaska kroz jetru. Kanabinoidi su liposolubilni i nakupljaju se u masnom tkivu gdje se vršna koncentracija postiže za 4 - 5 dana. Metabolizira se u jetri hidrosilacijom do 11-OH-THC, zatim do 11-nor-THC-9-karboksilne kiseline, a poluvrijeme života je 25 - 57 sati. THC i 11-OH-THC su psihoaktivni dok THC-kiselina i njezin glukuronid nisu. U urinu se izlučuje karboksilno kiseli metabolit u količini jednakoj metabolitu konjugiranom glukuronskom kiselinom. Urinom se izlučuje oko 20 – 30 %, stolicom 65 – 80 %, a manje od 5 % u nemetaboliziranom obliku. THC se izlučuje u majčinom mlijeku.

THC se veže na kanabinoidne receptore u mozgu i perifernim živcima (CB1 receptori) te na kanabinoidne receptore makrofaga i drugih imunoloških stanica (CB2 receptori). THC je simpatomimetik. U dozama koje su uobičajene za konzumente indijske konoplje, THC nije genotoksičan, mutagen, karcinogen i nema utjecaja na stanični metabolizam. THC čak i u visokim dozama ne uzrokuje poremećaje razvoja mozga i urođene defekte.

Dnevnom dozom od 10 mg THC-a ne postiže se kumulativni učinak, pa je stoga konzumacija 10 mg THC-a dnevno, NOAEL za psihotropni učinak THC. Kako bi se dobio ADI za THC putem hrane od industrijske konoplje u račun je uzeta vrijednost za LOAEL od 10 mg (doza koja nije različita u pogledu psihotropnog učinka kod placebo te tako predstavlja i NOAEL) kao dnevna doza za osobu od 70 kg i podijelila se s faktorom sigurnosti od 20 (10 zbog individualnih varijacija i 2 zbog ekstrapolacije od LOAEL na NOAEL). Tako je dobiven ADI od 0,5 mg/dan.

Na temelju literaturnih podataka predložene su granice udjela THC-a od 20 mg/kg u hladno prešanim uljima od sjemena industrijske konoplje te 2 mg/kg za sjemenke konoplje i ostalu hranu od sjemenki i koja sadrži sjemenke konoplje.

Provedeno je istraživanje na 43 uzorka hrane od sjemenki i koji sadrže sjemenke industrijske konoplje, a nalaze se na tržištu RH. Metodom plinske kromatografije sa spektrometrom masa (GC/MS) određene su koncentracije ukupnog THC-a (THC i THC-kiselina).

U slučaju konzumiranja pojedinih proizvoda s najvišom utvrđenom koncentracijom THC-a, a obzirom na pretpostavljenu dnevnu konzumaciju, dnevni unos THC-a je znatno ispod određene ADI vrijednosti. Jedino u slučaju ulja od sjemenki konoplje, unos THC-a je jednak ADI vrijednosti. Unesene količine THC-a konzumacijom tih proizvoda nemaju negativnog utjecaja na zdravlje potrošača i mnogostruko su niže od koncentracija koje mogu izazvati psihoaktivne učinke.

KLJUČNE RIJEČI: hrana od industrijske konoplje, sjemenke industrijske konoplje, THC

SUMMARY

Hemp (*Cannabis sativa* L.) is one of the oldest cultivated plants, which is widely used in different industries. In the Republic of Croatia and other EU countries is allowed to breed varieties of industrial hemp containing <0.2 % THC in the dry matter of plant and which are included in the Common catalogue of varieties of the European Union. Hemp seeds contain 25 – 35 % oil, 20 – 25 % protein, 20 – 30 % carbohydrates and 10 – 15 % fibre. Oil is produced by cold pressing the hemp seeds while flour and protein are obtained from defatted seeds.

Hemp seed oil is one of the few oils that have a ratio of omega-6 / omega-3 fatty acid in accordance with the recommendation of the EFSA, which is 3 – 5 : 1. It contains approximately 80 % of polyunsaturated fatty acids, of which the most common are essential fatty acids: linoleic acid (60 %) and α -linolenic acid (20 %). In addition, the oil contains up to 0.5 - 4.5 % γ -linolenic acid and 0.3 - 1.6 % stearidonic acid that are not contained in the vegetable oils normally used in the diet. Cold pressed hemp seed oil also contains other ingredients such as tocopherols, tocotrienols and phytosterols. Hemp proteins are good source of essential amino acids particularly methionine, cysteine, arginine and glutamic acid. Numerous clinical studies have shown that food from industrial hemp seeds has a positive effect on the immune system and general health.

Although the industrial hemp seeds in its composition do not contain THC and other cannabinoids, they can be found on the outer surface of seeds because seeds were in contact with parts of the plants containing them in greater amount (peak leaves, blossoms leaves and resin hairs of leaves). For this reason, food from seeds and that contains seeds of industrial hemp contains amounts of THC that can be analytically determined.

The scientific literature notes that THC is mainly generated by heating (decarboxylation) of THC acid, and to a lesser extent is present in the plant as decarboxylated form that is psychoactive.

The bioavailability of THC by ingestion was significantly lower than by smoking and is 6 - 10%, due to first pass metabolism through the liver. Cannabinoids are liposoluble and are accumulated in the fatty tissue where they achieve the peak concentration in 4 - 5 days. They are metabolized in the liver by hydroxylation to 11-OH-THC, and then to 11-nor-THC-9-carboxylic acid (THC-COOH) and their half-life is 25 - 57 hours. THC and 11-OH-THC are psychoactive while THC acid and its glucuronide are not. THC is excreted in breast milk. Carboxylic acid metabolite is excreted in urine in an amount equal to the metabolite conjugated with glucuronic acid. About 20 - 30% of THC is excreted by urine, 65 - 80% by feces and less than 5% in the non-metabolised form.

THC binds to cannabinoid receptors in the brain and peripheral nerves (CB1 receptors) and on cannabinoid receptors on macrophages and other immune cells (CB2 receptors). THC is a sympathomimetic. At doses that are common to consumers of cannabis, THC is not genotoxic, mutagenic, carcinogenic and has no effect on cellular metabolism. THC even in high doses does not cause damage to the developing brain and birth defects.

A daily dose of 10 mg of THC does not show a cumulative effect, and therefore the consumption of 10 mg of THC per day is considered as NOAEL for the psychotropic effects of THC. In order to derive ADI for THC ingested by hemp food, 10 mg of THC per day is taken as LOAEL (the dose that is not distinct in terms of psychotropic placebo effect and thus represents NOAEL) for a person weighing 70 kg and safety factor of 20 was applied (10 for the 2 individual variations due to the extrapolation of the LOAEL to NOAEL). In this way, ADI of 0.5 mg / day was derived.

Based on literature data limits for THC are proposed: 20 mg/kg for cold-pressed oils of hemp seeds and 2 mg/kg for seeds, other food from seeds and that contains seeds of industrial hemp.

A research was performed on 43 samples of food from seeds and that contains seeds of industrial hemp, which can be found on the Croatian market. Concentration of total THC was determined in each sample by gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS). If individual products, with highest concentration of THC determined, are consumed in line with assumed daily intake, THC intake will be below ADI. Only in case of hemp seed oils intake of THC will be equal to ADI. Amounts of THC consumed by these products have no negative impact on consumers' health and are many times lower than the concentration that can cause psychoactive effects.

KEY WORDS: industrial hemp food products, industrijal hemp seeds, THC

ZAHVALE

Hrvatska agencija za hranu zahvaljuje svim članovima Radne grupe na doprinosu u izradi ovog znanstvenog mišljenja.

SADRŽAJ

SAŽETAK	2
SUMMARY	3
ZAHVALE	5
POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA.....	7
POZADINA SLUČAJA	8
PROCJENA RIZIKA	9
1. Identifikacija opasnosti	9
1.1. Porijeklo konoplje.	9
1.2. Morfološka svojstva konoplje	9
1.3. Zahtjevi industrijske konoplje prema agroekološkim uvjetima.....	11
1.4. Agrotehnika proizvodnje industrijske konoplje za sjeme	12
1.4.1. Plodored.....	12
1.4.2. Obrada tla.....	12
1.4.3. Gnojdba.....	12
1.4.4. Sjetva.....	13
1.4.5. Njega i zaštita usjeva.....	14
1.4.6. Žetva.....	14
1.5. Industrijska upotreba industrijske konoplje	15
1.6. Proizvodnja hrane od sjemenki industrijske konoplje.....	16
1.7. Sastav hrane od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje.....	16
1.8. Zakonodavni okvir	17
2. Karakterizacija opasnosti.....	18
2.1. Djelovanje proizvoda od industrijske konoplje.....	18
2.2. Toksičnost THC-a	20
2.2.1. Apsorpcijska raspodjela, metabolizam i izlučivanje THC-a	20
2.2.2. Mehanizam toksičnosti THC-a	20
2.2.3. Genotoksičnost, mutagenost i teratogenost THC-a	21
2.2.4. Procjena doza – učinak (LOEL, NOEL, TDD i ADI) za oralno uzeti THC.....	21
2.3. Analitičke tehnike za određivanje THC-a u hrani.....	22
3. Procjena izloženosti.....	25
3.1. Opis i rezultati istraživanja.....	25
4. Karakterizacija rizika.....	29
ZAKLJUČCI	30
PREPORUKE	31
DOKUMENTACIJA DOSTAVLJENA HAH-U.....	31
LITERATURA.....	32

POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA

ADI - acceptable daily intake
ATP - adenzin trifosfat
BSTFA - N,O-Bis-trimethylsilyltrifluoroacetamid
cAMP - ciklički adenzin monofosfat
CB1 - cannabinoid receptor 1
CB2 - cannabinoid receptor 2
CBD – cannabidiol
CBN - cannabinol
DHA – dokosaheksaenska kiselina
DNA – deoksinukleinska kiselina
EFSA - European Food Safety Authority
EPA – eikosapentaenska kiselina
EU – Europska unija
FFE - fluid fluid extraction
FLD - fluorescence detector
GC/MS - plinska kromatografija sa spektrometrom masa
GC-FID - plinska kromatografija s plamenim ionizirajućim detektorom
HPLC-FD – high - performance liquid chromatography with fluorescence detection
HPLC-UV – high - performance liquid chromatography with UV detector
HS-SPME - headspace solid phase micro extraction
K₂O – kalijev oksid
LOAEL - lowest observed adverse effect level
LOEL - lowest observed effect level
MSTFA - N-dimethyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamid
N - dušik
NOAEL - no observable adverse effect level
NOEL - no observable effect level
P₂O₅ - fosforov (V) oksid
RH – Republika Hrvatska
RNA – ribonukleinska kiselina
SPE - solid phase extraction
TDD - tolerable daily dose
THC - delta-9-tetrahidrokanabinol
THCA - tetrahidrokanabinolske kiseline
TLC - thin-layer chromatography
Vd – volumen distribucije

POZADINA SLUČAJA

Hrvatska agencija za hranu je na temelju zahtjeva Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, 3. listopada 2011. godine donijela Znanstveno mišljenje o utjecaju na zdravlje proizvoda od industrijske konoplje koji se konzumiraju (ulje, sjemenke). Na osnovi mišljenja doneseni su zaključci koji se odnose na način i preporučenu količinu korištenja proizvoda te analize proizvoda kao i preporuke o određenim sigurnosnim uvjetima prilikom stavljanja ovih proizvoda na tržište.

Ministarstvo poljoprivrede je u rujnu 2012. godine formiralo povjerenstvo za izradu provedbenog propisa s ciljem da se propišu zahtjevi za udjel THC-a u hrani od sjemenki industrijske konoplje koja se proizvodi i stavljanju na tržište RH. Isto je u mirovanju zbog potrebe rješavanja stručnih pitanja i zakonodavnog okvira. Naime nekoliko važećih zakona RH priječi stavljanje na tržište hrane od industrijske konoplje jer se u njima ne razlikuje industrijska konoplja od indijske konoplje koja ima udjel THC-a u suhoj tvari oko 100 puta veći.

Zbog navedenog razloga, ovo pitanje preuzelo je Ministarstvo zdravlja koje je 2013. godine od Hrvatske agencije za hranu zatražilo nadopunu navedenog Znanstvenog mišljenja sukladno novim znanstvenim spoznajama, a koje je usvojeno 5. srpnja 2013.

Spomenuto znanstveno mišljenje i njegova nadopuna odnose se samo na ulje od sjemenki industrijske konoplje. Obzirom da u RH nije bilo podataka o sadržaju THC-a u ostalim vrstama hrane od sjemenki industrijske konoplje koja se nalazi na tržištu RH, Hrvatska agencija za hranu je 2014. godine provela istraživanje „*Određivanje prisutnosti THC-a u različitim vrstama hrane*”.

U sklopu nastavka započetih aktivnosti vezanih uz ovu problematiku, a sukladno djelatnosti Hrvatske agencije za hranu, temeljem Zakona o hrani (2013), Pravilnika o izdavanju znanstvenog mišljenja i pružanju znanstvene i tehničke pomoći (2009), članak 3. stavak 3. te internim aktima Agencije, radna skupina donosi predmetno znanstveno mišljenje, temeljem do sada provedenih istraživanja te raspoloživih znanstvenih i stručnih publikacija.

PROCIJENA RIZIKA

1. Identifikacija opasnosti

1.1. Porijeklo konoplje

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je jedna od najstarijih kultiviranih biljaka koja ima vrlo široku primjenu u različitim industrijskim granama.

Konoplja je podrijetlom iz ravnica središnje Azije. Potječe od divlje konoplje (*Cannabis ruderalis* Janisch.) koja se i danas nalazi u njejoj pradomovini. Poznavale su je gotovo sve drevne kulture, od Kine, preko Asira do Babilona i Palestine, a u Europu su je donijeli Skiti 1500. g. pr. Kr.

Danas se konoplja u sjevernim područjima, približno do 60° s.g.š., uzgaja kao prediva kultura ili za sjeme. U južnim se područjima, uglavnom u Aziji, konoplja uzgaja i za narkotike. U Europi se uglavnom uzgaja industrijska konoplja za vlakno (gusta sjetva), konoplja za sjeme (rijetka sjetva) i konoplja za dvostruku namjenu (za vlakno i sjeme) (Pospišil, 2013).

U Hrvatskoj je danas dozvoljeno uzgajati industrijsku konoplju samo za sjeme (u svrhu proizvodnje hrane i hrane za životinje) uz odobrenje Ministarstva poljoprivrede sukladno Pravilniku o uvjetima za uzgoj konoplje, načinu prijave uzgoja maka te uvjetima za posjedovanje i promet opojnih droga u veterinarstvu (2012). Uzgajivač konoplje dužan je obavijestiti policijsku postaju i poljoprivrednu inspekciju o svakoj okolnosti koja ukazuje na sumnju da je biljka ili dijelovi biljke upotrijebljeni ili bi mogli biti upotrijebljeni kao droga.

Suvremeni trend u proizvodnji sjemena konoplje u nas je uzgoj u ekološkoj (organskoj) proizvodnji, sukladno Zakonu o poljoprivredi (2015) te Pravilniku o ekološkoj proizvodnji (2013).

U razdoblju od 2012. do 2014. godine, površine pod konopljom za proizvodnju sjemena u našoj zemlji su se povećale s 106 na 658 ha.

1.2. Morfološka svojstva konoplje

Konoplja je jednogodišnja dvodomna biljka iz porodice Cannabaceae, roda *Cannabis*. Podjela konoplje na niže sistematske jedinice nije jedinstvena, Small i Cronquist 1976. smatraju da postoji samo jedna vrsta *Cannabis sativa*, ali s dvije podvrste: *C. sativa* L. subsp. *sativa* (nije psihoaktivna) i *C. sativa* subsp. *indica* (Lam.) (psihoaktivna).

Korijen konoplje je vretenast. Iz glavnog korijena izbija bočno korijenje koje se prostire do 50 cm u stranu. Glavni korijen, ovisno o svojstvima i tipu tla, može prodrijeti i do 2 m dubine. Osnovna masa aktivnog korijena razvija se u sloju tla dubine 20 – 40 cm. U odnosu na nadzemnu masu, korijenov sustav konoplje je slabo razvijen, osobito u prvim fazama rasta (od nicanja do cvatnje) te mu je i upojna moć slaba.

Stabljika konoplje je visine 0,5 - 5 m, ovisno o podvrsti, sorti i agroekološkim uvjetima. U mlađim fazama rasta stabljika je zeljasta, a 3 - 4 tjedna nakon nicanja očvrstne i "odrveni". Dimenzije i arhitektura biljke ovise i o gustoći sjetve, odnosno namjeni konoplje. Ako konoplja raste u rjeđem sklopu, dolazi do grananja. Veći vegetacijski prostor povećava udio lišća i grananje što je pogodno za proizvodnju sjemena. Za dobivanje vlakna najpogodnija je debljina stabljike 4 - 7 mm. Udio vlakna u stabljici ovisi o sorti, području uzgoja, tipu tla, klimi i tehnologiji proizvodnje. Udio vlakna u suhoj stabljici današnjih sorata konoplje varira od 25 - 30 %.

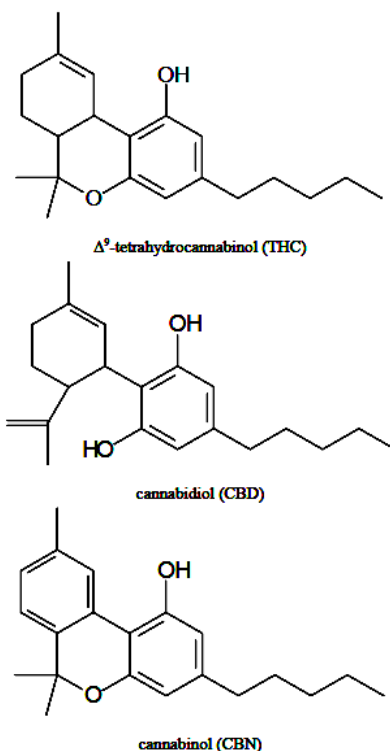
List konoplje je prstastog oblika. Sastoji se od peteljke i plojke. Prvi je par listova jednostavan (jedna liska) i po obodu je nazubljen. Drugi par listova sastoji se od 3 segmenta (liske), a kod svakog idućeg para listova broj segmenata plojke raste na 5 - 7 - 9 - 11, a onda se prema vrhu biljke veličina listova i broj segmenata smanjuje. Plojka je s donje strane dlakava. Raspored listova na stabljici je nasuprotan, a samo na vršnom dijelu naizmjeničan.

Cvjetovi su skupljeni u gornjoj trećini stabljike i čine cvat. Prirodno, konoplja je dvodomna (diecijska) biljka, a selekcijom su stvorene i jednodomne (monoecijske) biljke, pa i drugi seksualni oblici (hibridne sorte). Kod dvodomne konoplje, jedne biljke imaju ženske, a druge muške cvjetove. U usjevu konoplje obično se nalazi više ženskih nego muških biljaka. Ženska cvat je robusnija, lisnatija i kompaktnija od muške cvati. Kod jednodomnih se biljaka muška cvat nalazi u pazuhu bočnih grana, a ženski cvatovi su smješteni na vrhu bočnih grana.

Glavna razlika između industrijske i indijske konoplje je u tome što vršni listovi, pricvjetni listići cvata i smolaste citološke dlačice ženskih biljaka indijske konoplje, uzgajane u toplom podneblju, imaju više ljepljive smole koja sadrži opojnu halucinogenu tvar delta-9-tetrahidrokanabinol (THC). Od nje se dobiva više droga različitih priprema i jačine. Na osnovi morfologije, tj. vanjskog izgleda, ne može se sa sigurnošću utvrditi pripada li neka biljka industrijskoj ili indijskoj konoplji. Točnu informaciju može se dobiti jedino na osnovi rezultata laboratorijske analize sadržaja THC-a u uzorcima biljnog materijala.

Kao kriterij za određivanje da li je konoplja industrijska ili indijska koristi se i odnos kanabinoide u biljci ili proizvodu. Industrijska konoplja ima odnos THC-a i kanabinola (CBN) prema kanabidiolu (CBD) uvijek manji od 1, dok je taj odnos kod konoplje koja se koristi za drogu uvijek veći od 1 (UNODC, 2009). Taj odnos se preslikava i na sjemenke odnosno na proizvode od sjemenki.

Plod konoplje je orašac jajastog oblika, koji je ujedno i sjeme. Plod je omotan ljuskom koja ga štiti od mehaničkih povreda. Unutrašnjost ploda skoro je potpuno ispunjena klicom pa sadrži vrlo malo endosperma. Boja ploda nije stalna, a ovisi o sorti, stupnju zrelosti, itd. Nezreli plod je zelenkaste boje, a zreli može biti srebrnastosive, tamnosive, smeđezelene, a ponekad i smeđe. Masa 1000 sjemenki, ovisno o sorti konoplje varira od 12 - 25 g (Pospišil, 2013).



Slika 1. THC i najvažniji kanabinoidi konoplje (Lachenmeier i sur., 2004)

1.3. Zahtjevi industrijske konoplje prema agroekološkim uvjetima

U našem području vegetacija konoplje za vlakno obično traje 90 - 120 dana, a konoplje za sjeme 110 - 140 dana, ovisno o sorti. U pravilu, ranozrele sorte daju viši prinos sjemena od kasnozrelih. Konoplja za vlakno za vrijeme vegetacije treba sumu temperatura od 1800 do 2000 °C, a za sjeme 2200 do 2800 °C. Sjeme konoplje klije već kod temperature tla od 1 do 2 °C. Za normalno klijanje sjemena potrebno je da se temperatura tla ustali na 7 °C, a srednja dnevna temperatura zraka na 12 °C. U fazi 1 - 2 para listova biljke podnose kratkotrajne mrazeve do -3 °C, ali ovakve niske temperature zaustavljaju porast. Za visok prinos konoplje osobito su značajne srednje temperature zraka mjesec dana nakon nicanja konoplje koje moraju biti veće od 15 °C. Optimalna temperatura za intenzivan rast konoplje je 20 - 25 °C uz dovoljnu vlažnost tla.

Konoplja je biljka kratkog dana pa se trajanje razdoblja nicanje - cvatnja skraćuje s produženjem dana tj. odmicanjem roka sjetve, što dovodi do smanjenja vegetativne mase.

Konoplja zahtjeva relativno velike količine oborina jednolično raspoređenih tijekom vegetacije. Transpiracijski koeficijent konoplje, ovisno o sorti i ekološkim uvjetima iznosi 600 - 700. Za vegetacijsko razdoblje konoplje za vlakno potrebno je oko 300 - 400 mm oborina, a konoplje za sjeme do 500 mm. Konoplja najviše vode treba u prvih šest tjedana rasta, tj. od kraja drugog tjedna poslije sjetve pa sve dok ne razvije četvrti par listova. Drugo kritično razdoblje u pogledu potreba konoplje za vodom je intenzivan porast, tj. od 30 cm visine do pune cvatnje muških biljaka. Za visoki prinos

sjemena konoplja treba biti opskrbljena vodom i u drugom dijelu vegetacije, tj. od cvatnje do zriobe. Istraživanja su pokazala da se najveći sadržaj vlakna, a također i prinos sjemena postiže pri vlažnosti tla 60 - 80 % od poljskog vodnog kapaciteta u razdoblju od tri para listova do sazrijevanja konoplje. Olujni pljuskovi vrlo štetno djeluju na konoplju jer zbijaju tlo, lome mlade biljčice, a ozljeđuju i starije biljke.

Konoplja zahtjeva strukturalna, hranivima bogata, srednje teška i dobro drenirana tla. Vrlo je osjetljiva na hranivima siromašna tla što rezultira značajnim sniženjem prinosa. Najpovoljniji pH tla za uzgoj konoplje je 6,0 - 7,5. Tla s pH reakcijom nižom od 5 nikako nisu pogodna za uzgoj konoplje. Za konoplju su najpovoljnija aluvijalna tla s dosta humusa. Osjetljiva je na stajaću vodu, kao i na visoku podzemnu vodu (Pospišil, 2013).

1.4. Agrotehnika proizvodnje industrijske konoplje za sjeme

Budući da se sjeme formira na postranim granama, cilj proizvodnje industrijske konoplje za sjeme je izazivanje grananja. Stoga je osnovno obilježje proizvodnje konoplje za sjeme širi međuredni razmak i veći razmak između biljaka. Sjeme konoplje može se proizvoditi na dva načina: u kombiniranoj proizvodnji (sjeme i stabljika) i u rijetkom sklopu.

1.4.1. Plodored

U agrotehničkom pogledu, konoplja se odlično uklapa u plodored. Konoplja nema posebne zahtjeve za predusjev i može se bez teškoća uključiti u svaki plodored. Dobri su joj predusjevi krumpir i soja, a nešto lošiji strne žitarice, šećerna repa i kukuruz. Nakon konoplje tlo ostaje povoljnih bioloških i fizikalnih svojstava s dosta hraniva. Konoplja zahtijeva tlo bogato hranivima, ali ih iz njega uzima malo te hranjive tvari ostaju u tlu za iduću kulturu.

1.4.2. Obrada tla

Konoplja traži duboko i dobro obrađeno tlo. Vrijeme, način i broj operacija obrade tla ovise o predusjevu i svojstvima tla. Osnovnu obradu treba obaviti u jesen jer konoplja vrlo nepovoljno reagira na oranje u proljeće. U našim ekološkim uvjetima dubina jesenskog oranja treba iznositi 30 – 40 cm. Dubljom obradom omogućujemo bolje nakupljanje vode u tlu, što će konoplja moći koristiti u ljeto kad joj najviše treba. S jesenskim oranjem unosi se veći dio mineralnog gnojiva, kao i stajski gnoj. U rano proljeće, kad se tlo dovoljno prosuši, treba drljačama zatvoriti zimsku brazdu, a neposredno pred sjetvu sjetvospremačem ili kombiniranim oruđima pripremiti tlo za sjetvu.

1.4.3. Gnojdba

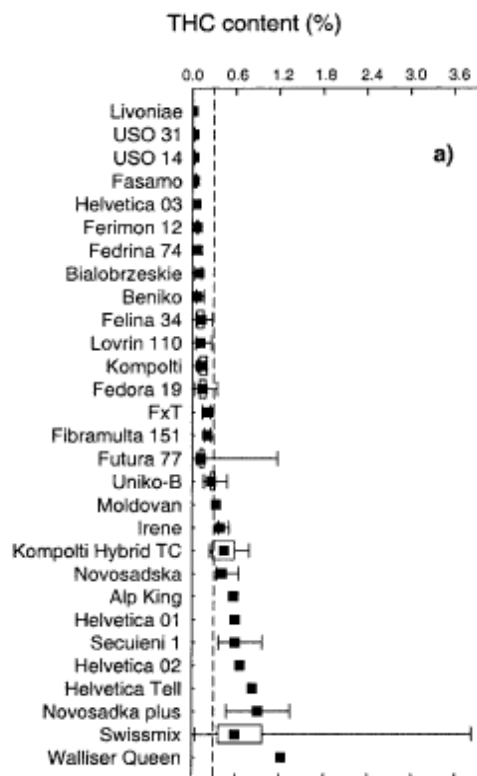
Točnu količinu hraniva za gnojidbu konoplje treba odrediti na temelju plodnosti tla utvrđene kemijskom analizom i iznošenja hraniva planiranim prinosom. Zbog specifičnih bioloških svojstava, konoplji je neophodno osigurati dovoljno hraniva u lako pristupačnom obliku već od početka vegetacije. Upojna

moć korijena konoplje je slaba te je korijen fiziološki nesposoban iz tla usvajati hraniva ako se ona nalaze u ograničenim količinama ili ako se nalaze u teško topljivim spojevima. Na srednje plodnim tlima gnojidba konoplje za sjeme obavlja se sa 125 – 150 kg/ha N, 70 – 90 kg/ha P₂O₅ i 120 – 160 kg/ha K₂O. Najviše dušika i kalija konoplja zahtijeva u početnom porastu, a fosfor uzima ravnomjerno tijekom vegetacije. Količinu od 2/3 fosfornih i kalijevih te 1/3 dušičnih gnojiva treba primijeniti u osnovnoj obradi tla, a preostalu 1/3 fosfornih i kalijevih te 1/3 dušičnih gnojiva unijeti u tlo pred sjetvu. S preostalom 1/3 dušičnih gnojiva (KAN) obavlja se prihranjivanje. Prihrana se obavlja 15 – 20 dana nakon nicanja konoplje. Gnojivo se ravnomjerno primijeni po cijeloj površini.

1.4.4. Sjetva

Za proizvodnju sjemena koriste se jednodomne sorte industrijske konoplje (s muškim i ženskim cvjetovima na istoj biljci) koje daju 50 – 60 % veći prinos sjemena u odnosu na dvodomne sorte. Teško je govoriti o pogodnim sortama konoplje za naše uvjete kad se zna da je konoplja neobično plastična biljka, te se vrlo brzo prilagođava mjesnim prilikama. Za sjetvu konoplje koriste se sorte koje se nalaze na zajedničkoj sortnoj listi Europske unije (*Common catalogue*). U državama EU dozvoljeno je uzgajati sorte industrijske konoplje koje sadrže <0,2 % THC-a u suhoj tvari biljke. Stoga je za svaku sortu izuzetno važno poznavati podatke o sadržaju THC-a (Slika 2.).

Posljednjih godina u nas se uzgajaju sljedeće sorte: Santhica 27, KC Dora, Fedora 19, Felina 32, Finola, Futura 75, USO 31 i Monoica. O sorti ovisi ne samo prinos i kvaliteta sjemena, već i vrijeme sazrijevanja te otpornost na bolesti i štetnike. Za naše ekološke uvjete pogodne su francuske i mađarske jednodomne sorte, dakle, naši bi proizvođači (uvoznici sjemena) deklarirano sortno sjeme industrijske konoplje trebali uvesti. Konoplja se sije polovicom travnja (4 – 5 dana prije sjetve kukuruza). Pri suviše ranoj sjetvi sjeme sporo klije, smanjuje se postotak izniklih biljaka, a nicanje je neujednačeno. Rano iznikle biljke mogu stradati od kasnih proljetnih mrazeva. Kasna sjetva dovodi do skraćivanja vegetacije, a to izravno utječe na smanjenje prinosa. Pri uzgoju konoplje za dvostruku namjenu (vlakno i sjeme), gustoća sklopa treba iznositi 90 – 100 biljaka/m² u žetvi. Razmak između redova je 30 – 35 cm, a količina sjemena 30 – 40 kg/ha. Optimalna gustoća sklopa konoplje za sjeme je 10 – 14 biljaka/m² u žetvi. Razmak između redova 50 – 70 cm, a količina sjemena 10 – 12 kg/ha (promjera najmanje 3 mm). Pri određivanju količine sjemena treba računati da u polju jedan dio sjemenki neće isključiti, jedan dio isključalih neće izniknuti, dok će jedan dio izniklih biljaka propasti tijekom vegetacije. Dubina sjetve iznosi 2 – 4 cm (Pospišil, 2013).



Slika 2. Sadržaj THC-a u istraživanim sortama industrijske konoplje (Mediavilla i sur., 1999)

1.4.5. Njega i zaštita usjeva

U usjevu industrijske konoplje za sjeme (rijetka sjetva) vrlo velike probleme čine korovi, osobito ambrozija, stoga je u konvencionalnom uzgoju neophodna primjena herbicida. Međutim, u Hrvatskoj nijedan herbicid nije registriran za primjenu u konoplji. Za suzbijanje širokolisnih i uskolisnih korova u konoplji mogu se koristiti neki od herbicida koji su registrirani za druge kulture (npr. S-metolaklor, bentazon), uz uvjet da je identično sredstvo u EU registrirano za primjenu u konoplji.

S obzirom da se industrijska konoplja u nas uzgaja na vrlo malim površinama, nema ni značajnih bolesti i štetnika. Od gljivičnih bolesti može se pojaviti trulež konopljinje stabljike (*Sclerotinia sclerotiorum* Lib.) i siva plijesan (*Botrytis cinerea* Pers.). Štete konoplji nanose konopljin buhač (*Psylliodes attenuata* Koch.), konopljin savijač (*Grapholitha compositella* F.) i kukuruzni moljac (*Pirauista nubilalis* Hbn.). Velike štete prčinjavaju ptice (vrabac i dr.). Štete od ptica mogu se smanjiti pravovremenom žetvom.

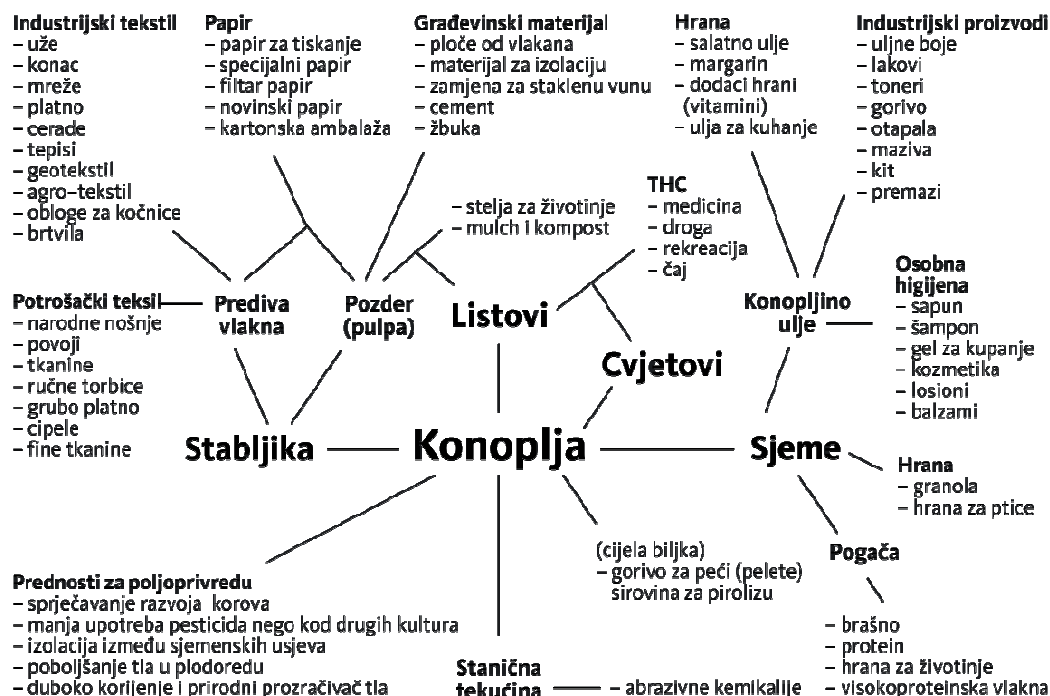
1.4.6. Žetva

Sjeme industrijske konoplje sazrijeva postupno prema starosti postranih grana, odnosno cvjetova na biljci. Dozrijevanje sjemena je nejednolično između biljaka, ali i na istoj biljci. Budući da se zrelo sjeme osipa, žetvu konoplje za sjeme obavljamo kada je većina sjemena u srednjem dijelu cvata zrela. Žetva

se obavlja žitnim kombajnom pri čemu se s podignutim hederom odsijecaju vrhovi biljaka. U našim se uvjetima žetva industrijske konoplje za sjeme obavlja tijekom rujna ili početkom listopada. Prosječan prinos sjemena je 0,6 – 1,2 t/ha. Izravna žetva sjemena zahtijeva čišćenje i umjetno sušenje odmah nakon kombajniranja. Sjeme se čisti na vjetrovluci i selektorima. Nakon žetve sjeme može sadržavati i više od 25 % vlage. Za skladištenje vlaga u sjemenu ne smije biti viša od 9 % (Pospišil, 2013).

1.5. Industrijska upotreba industrijske konoplje

Industrijska konoplja ima vrlo široku primjenu u različitim industrijskim granama (Slika 3.). Pored vlakna, konoplja daje sjeme iz kojeg se dobiva ulje i uljane pogače. Oljušteno sjeme, zbog velike hranjive vrijednosti, predstavlja cijenjeni prehrambeni proizvod, osobito u makrobiotičkoj prehrani. Sjeme sadrži 25 – 35 % ulja, 20 – 25 % bjelančevina, 20 – 30 % ugljikohidrata i 10 – 15 % vlakana (Deferne i Pate, 1996). Udjel ulja u sjemenu može znatno varirati s obzirom na sortu industrijske konoplje i na agroekološke uvjete uzgoja. Računajući da je sadržaj ulja u sjemenu oko 30 %, potencijalni prinos ulja iznosi oko 250 – 500 kg/ha. Od odmašćenog sjemena konoplje dobiva se brašno. Cijelo neoljušteno sjeme se koristi kao hrana za ptice i ribe. Drvenasti dio stabljike - pozder uspješno se koristi za proizvodnju celuloze, papira te ekološkog građevinskog materijala za zvučnu i toplinsku izolaciju. Industrijske konoplja se može uzgajati i za proizvodnju biogoriva kao što su pelete, tekuća goriva i plin (Pospišil, 2013).



Slika 3. Suvremena industrijska upotreba industrijske konoplje (Small i Marcus, 2002)

1.6. Proizvodnja hrane od sjemenki industrijske konoplje

Ulje se proizvodi iz sjemenki industrijske konoplje (*Cannabis sativa* L.). Jedan od osnovnih kriterija pri odabiru načina proizvodnje ulja je udjel ulja u sjemenu. Kao što je već spomenuto, sjeme industrijske konoplje sadrži 25 – 35 % ulja, a to ekonomski opravdava odabir procesa proizvodnje ulja metodom prešanja na pužnim prešama. Na taj način moguće je ekstrahirati 60 – 80 % ulja iz sjemena, što je u usporedbi s proizvodnjom drugih prešanih ulja (djevičansko maslinovo ulje, repičino ulje) izuzetno dobro iskorištenje (Callaway, 2004; Matthäus i Brül, 2008). Proizvedeno ulje podvrgava se mehaničkim postupcima (taloženje, filtriranje) kako bi se uklonile nečistoće i onda se puni u odgovarajuću ambalažu. Valja napomenuti da zbog svog kemijskog sastava ovo ulje ima slabu oksidacijsku stabilnost te se stoga tijekom proizvodnje i skladištenja mora poduzeti sve da se ono očuva od ubrzanog kvarenja. Tako se preporuča sjeme prešati i pakirati u atmosferi inertnog plina te skladištiti u uvjetima koji onemogućuju kontakt ulja sa kisikom, svjetlom ili izvorom topline. Ovo ulje bi na tržište trebalo plasirati u bočicama od tamnog stakla malog volumena kako bi se što prije potrošilo. Naime, navodi se da ovo ulje nakon 2 mjeseca skladištenja u otvorenim bočicama više nije pogodno za prehranu (Matthäus i Brül, 2008). Ulje sjemenki industrijske konoplje koristi se kao salatno ulje, a ne preporuča se za jela koja tijekom pripreme zahtijevaju izlaganje visokim temperaturama. Odlikuje ga zelena boja (različitih intenziteta) i ugodan okus po orašastim plodovima kojeg ponekad prati blago gorkast okus. Ukoliko je došlo do oksidacijskog kvarenja, javlja se miris koji može podsjetiti na lak, linoleum ili kit. Ukoliko je ulje loše kvalitete bilo zbog nekvalitetne sirovine ili zbog neodgovarajućih uvjeta tijekom proizvodnje ili skladištenja, može naći primjenu kao sirovina za proizvodnju boja i lakova.

Kao nusprodukt proizvodnje ulja od sjemenki industrijske konoplje nastaje odmašćena konopljina pogača. Mljevenjem pogače nastaje konopljino brašno koje sadrži visoki udio vlakana i proteina. Prosijavanjem konopljinog brašna kroz sita različitih promjera nastaje visokovrijedan konopljin protein (Girgih i sur., 2014).

1.7. Sastav hrane od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje

Ulje sjemenki industrijske konoplje jedno je od rijetkih ulja koja imaju omjer omega-6/omega-3 masnih kiselina u skladu s preporukom EFSA-e, a koja iznosi 3 – 5 : 1 (EFSA, 2009). Sadrži oko 80 % višestruknezasićenih masnih kiselina, od kojih je najzastupljenija esencijalna linolna (ω -6) kiselina s udjelom do 60 %, a zatim α -linolenska (ω -3) kiselina s udjelom do 20 %. Osim toga ulje sadrži do 0,5 - 4,5 % γ -linolenske kiseline i do 0,3 - 1,6 % stearidonske kiseline koje nisu sadržane u biljnim uljima koja se uobičajeno koriste u prehrani (Oomah i sur., 2002; Kapoor i Nair, 2005; Matthäus i Bruhl, 2008; Kirialan i sur., 2010; Da Porto i sur., 2012; Teh i Birch, 2013; Petrović i sur., 2015).

Hladno prešano ulje sjemenki industrijske konoplje sadrži i druge sastojke kao što su tokoferoli, tokotrienoli i fitosteroli koji prirodno sprečavaju procese oksidacije ulja tijekom čuvanja. Ukupni udjel

tokoferola je 600 - 800 mg/kg od čega oko 90 % čini γ -tokoferol, α - i δ -tokoferoli čine do 5 % a β -tokoferol oko 1 % od ukupne količine tokoferola (Oomah i sur., 2002; Matthaus i Bruhl, 2008; Teh i Birch, 2013;). Chen i sur. (2010) su dobili niže udjele tokoferola (250 - 400 mg/kg) u uzorcima osam kineskih sorti konoplje. Udjel ukupnih fitosterola je u prosjeku 4000 - 6700 mg/kg s dominantnim β -sitosterolom (Matthäus i Brül, 2008). Karakteristična zelena boja ulja potječe od klorofila koji se tijekom prešanja otapa u ulju, a udjel je oko 75 mg/kg što je znatno više nego u npr. lanenom ili sojinom ulju (Teh i Birch, 2013).

Bitna karakteristika sjemenki industrijske konoplje je i aminokiselinski sastav. Proteini industrijske konoplje, kojih u sjemenkama ima oko 25 %, dobar su izvor esencijalnih aminokiselina naročito metionina i cisteina, aminokiselina koje sadrže sumpor, kao i arginina i glutaminske kiseline (Odani i Odani, 1998; Callaway, 2004).

Sjemenke industrijske konoplje sadrže THC i ostale kanabinoide na površini zbog toga što su bile u kontaktu s dijelovima biljke koji ih sadrže u većoj količini (Lachenmeier i Walch, 2005; UNODC, 2009). Ross i sur. (2000) u svom radu dokazali su da je najveća koncentracija THC-a na vanjskoj površini sjemenke. S obzirom na to da se ulje konoplje na tržištu nalazi uglavnom kao hladno prešano ulje, proizvođačima se preporuča da obrate pažnju na pažljivo čišćenje sjemenki od zelenih sjemenki, vanjskih ljuskica i dijelova biljke prije prerade jer će taj postupak, kao i upotreba sjemenja sorti s niskim udjelom THC-a, omogućiti proizvodnju ulja sa smanjenim udjelom THC-a. Ukoliko bi se ulje podvrglo rafinaciji, THC bi se potpuno uklonio iz ulja (Matthäus i Brül, 2008), no takvo ulje onda ne može biti označeno kao hladno prešano nego kao rafinirano ulje.

Hrana od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje sadrži količine THC-a koje se analitički mogu odrediti. Udjel THC-a u ulju sjemenki konoplje objavljen u literaturi se kreće od 3 – 150 mg/kg (Alt, 1997; Zoller i sur., 2000; Petrović i sur., 2015).

Količine od 4 - 880 mg/kg, 3 - 1500 mg/kg te 2 - 3568 mg/kg nađene su u ulju sjemenki industrijske konoplje tijekom istraživanja provedenih u Švicarskoj, ali se pretpostavlja da se radi o konoplji sa sadržajem THC-a višim od dopuštene za industrijsku uporabu (Mediavilla i sur., 1997). Razlog takvih velikih razlika u rezultatima određivanja THC-a u hrani u ranijim godinama i analizama rađenim poslije 2000. godine je zabrana uzgoja industrijske konoplje s povećanom koncentracijom THC-a i kontrola nasada čime je smanjena količina THC-a u uzorcima i do 100 puta u odnosu na rane 90-e godine. U ulju dobivenom iz sjemenki nađeni su uzorci s 11,48 mg/kg THC-a, iz čega se dobilo jestivo ulje s 5 mg/kg. Primjenom ulja u prehrambene svrhe, poboljšalo se industrijsko pročišćavanje i smanjila se koncentracija THC-a u uzorcima u praksi. Od 1998. godine smanjio se značajno udjel THC-a u ulju.

1.8. Zakonodavni okvir

Temeljni propis kojim su regulirana pitanja sigurnosti hrane je Zakon o hrani (2013) tj. Uredba (EZ) br. 178/2002. Europskog Parlamenta i Vijeća od 28. siječnja 2002. o utvrđivanju općih načela i uvjeta zakona o hrani, osnivanju Europske agencije za sigurnost hrane te utvrđivanju postupaka u

područjima sigurnosti hrane, koja člankom 14. propisuje kako hranu koja je štetna za zdravlje ili nesigurna za prehranu ljudi nije dozvoljeno stavljati na tržište. Članak 16. Uredbe (EZ) br. 178/2002. odnosi se na prezentiranje hrane te navodi kako označavanje, oglašavanje i prezentacija hrane ili hrane za životinje, uključujući njezin oblik, izgled ili pakiranje, materijale korištene za pakiranje, način na koji je dizajnirana ili okruženje u kojem je izložena, te informacije koje su o njoj dostupne putem bilo kojeg medija, ne smiju potrošača dovoditi u zabludu. Uredba (EU) 1169/2011 propisuje opće zahtjeve i način označavanja zapakirane i nezapakirane hrane, kao i određene uvjete prezentiranja i reklamiranja hrane.

Pravni temelj u RH kojim je regulirano pitanje proizvodnje sjemena, uzgoja, posjedovanja i uporabe biljke – industrijska konoplja, kao i njezinih proizvoda dano je Pravilnikom o priznavanju sorti poljoprivrednog bilja (2008), Pravilnikom o stavljanju na tržište sjemena uljarica i predivog bilja, (2007), Pravilnikom (2012), Zakonom o sjemenu, sadnom materijalu i priznavanju sorti poljoprivrednog bilja (2005) i pripadajućim pravilnicima te Zakonom o suzbijanju zlouporabe droga (2001).

Zakonom (2001) obuhvaćeno je generalno pitanje uzgoja, posjedovanja i prometa opojnim drogama, dakle, u slučajevima kad to jesu opojne droge ili biljke ili dio biljke koji sadrže opojne tvari koje se mogu uporabiti za izradu droge.

Ovim Zakonom (2001) su, također, definirani izuzeci (kada se takve biljke upotrebljavaju u medicinske, prehrambene, veterinarske, znanstvenoistraživačke i nastavne svrhe), što je definirano člankom 3. stavkom 1., 2., i 3. Nadalje, člankom 13. Zakona (2001) definirani uvjeti koje mora ispunjavati subjekt ukoliko želi proizvoditi industrijsku konoplju koja će služiti u prehrambene svrhe. Vezano uz članak 13., ministar nadležan za poljoprivredu donio je provedbeni propis Pravilnik (2012) koji:

- propisuje koje mora ispunjavati pravna ili fizička osoba koja uzgaja konoplju;
- propisuje način izdavanja odobrenja za uzgoj konoplje;
- definira da se mogu koristiti sorte konoplje koje su upisane u Sortnu listu Republike Hrvatske u skladu sa Zakonom (2005);
- propisuje da je dopušteno uzgajati konoplju (*Cannabis sativa* L.) u svrhu proizvodnje hrane i hrane za životinje ukoliko sadržaj tetrahidrokanabinola u suhoj tvari biljke ne prelazi 0,2 %.

2. Karakterizacija opasnosti

2.1. Djelovanje proizvoda od industrijske konoplje

Ulje od sjemenki industrijske konoplje sadrži nutritivno vrijedne komponente od kojih su najznačajnije esencijalne (linolna i linolenska) masne kiseline.

Većina unesenih masnih kiselina u organizam služi kao izvor energije pri čemu je energetska vrijednost pojedine masne kiseline ovisna o strukturi i broju ugljikovih atoma u molekuli. Oksidacija

masnih kiselina odvija se u mitohondrijima nizom biokemijskih reakcija pri čemu se oslobađa energija potrebna za život stanica. Masne kiseline u organizmu imaju još nekoliko važnih uloga: gradivni su element bioloških membrana, prekursori su biološki važnih molekula, olakšavaju apsorpciju vitamina topivih u mastima i drugo. Organizam nema enzima koji bi mogli napraviti desaturaciju u položaju ω -3 i ω -6 pa su linolna i α -linolenska kiselina esencijalne. Njihovom desaturacijom nastaju γ -linolenska (iz linolne, ω -6 masna kiselina) i stearidonska (iz α -linolnske, ω -3 masna kiselina) te daljnjim elongacijama i desaturacijama arahidonska (ω -6), eikosapentaenska (EPA, ω -3) i dokosaheksaenska (DHA, ω -3) kiselina. Ove su masne kiseline polazni spojevi za sintezu prostaglandina, prostaciklina, leukotriena i tromboksana. Neravnoteža ovih spojeva u organizmu može dovesti do poremećaja raznih procesa i razvoja bolesti. Obzirom da se ovi procesi odvijaju na istim enzimima važan je odnos ω -6/ ω -3 u prehrani (Simopoulos, 2002a; 2002b; Chow, 2008; EFSA, 2009).

Ulje sjemenki industrijske konoplje ima odnos ω -6/ ω -3 (2,3 - 3,8) : 1 što je u skladu s preporukama EFSA-e i pridonosi smanjenju tog omjera u prehrani koji je obično 15 : 1 pa i više (Chen i sur., 2010; Teh i Birch, 2013; Petrović i sur., 2015). Brojne kliničke studije dokazale su pozitivan utjecaj ulja sjemenki konoplje na imunološki sustav i opće zdravstveno stanje organizma (Lanzmann-Petitthy, 2001; Laidlaw i Holub, 2003; Schwab i sur., 2006; Zurier i sur., 1996; Simopoulos, 2002b). Rezultati kliničke studije koje je objavio Grigoriev (2002) pokazale su da je ulje konoplje učinkovito i u zacjeljivanju rana na sluznici nakon operacije uha, nosa i grla. Callaway i sur. (2005) pokazali su da konzumacija ulja sjemenki industrijske konoplje uzrokuje promjene u sastavu masnih kiselina plazme i povoljno djeluje na atopijski dermatitis. Udjel γ -linolenske kiseline je također važan naročito u slučaju atopijskog dermatitisa jer koža ima malo enzima koji mogu desaturirati linolnu kiselinu u γ -linolenske pa se može pojaviti nedostatak te kiseline u koži. U tom slučaju ulje sjemenki industrijske konoplje primjenjuje se oralno i dermalno (Whitaker i sur., 1996; van Gool i sur., 2003).

Tokoferoli i tokotrienoli u prirodi dolaze u četiri oblika (α -, β -, γ - i δ) koji se razlikuju po broju i poziciji metilnih skupina. Antioksidacijska aktivnost raste u nizu od α - do δ - tokoferola i tokotrienola dok biološka aktivnost raste od δ - do α - (Olejnijk i sur., 2000; Pongracz i sur., 1995). Brojne studije dokazale su da ti spojevi smanjuju rizik od nastanka kardiovaskularnih bolesti, nekih vrsta tumora i promjena povezanih sa starenjem (Sies i sur., 1991; Timmermann, 1990; Leger, 2000;).

Fitosteroli su nađeni u svim hladno prešanim uljima, a poznato je da smanjuju količinu LDL-kolesterola u krvi. Iz tog razloga American Heart Association preporučuje uzimanje fitosterola za smanjenje rizika od koronarnih bolesti. Prema istraživanjima ulje sjemenki industrijske konoplje sadrži 3,6 - 6,7 g fitosterola /kg ulja. Najzastupljeniji je β -sitosterol čiji je udjel oko 70 % od ukupnih fitosterola a od ostalih najzastupljeniji su kamposterol, Δ 5-avenasterol i stigmasterol.

2.2. Toksičnosti THC-a

2.2.1. Apsorpcija, raspodjela, metabolizam i izlučivanje THC-a

Konзумacijom indijske konoplje pušenjem apsorpcija THC putem pluća je oko 20 – 30 %. Brza je i učinak se postiže unutar nekoliko minuta, u plazmi se nalazi nakon 7 - 8 minuta. Ingestijom je bioraspoloživost značajno manja (6 – 10 %) zbog metabolizma prvim prolaskom kroz jetru. Akutni učinak se tada javlja za 1 - 3 sata. Trajanje učinka je 1 - 4 sata nakon udisanja, a do 8 sati nakon ingestije. THC se brzo raspodjeljuje u mozak i druga dobro prokrvljena tkiva (jetra, slezena, srce, pluća) dovodeći do dosta brzog pada koncentracije u krvi nakon inhalacije. Kanabinoidi su liposolubilni i nakupljaju se u masnom tkivu gdje se vršna koncentracija postiže za 4 - 5 dana. Glavna aktivna komponenta, THC, značajno se veže na proteine (98%) i volumen raspodjele tj. distribucije (Vd) iznosi 10 L/kg (Caravati, 2004; Grotenhermen i sur., 2001).

THC se metabolizira u jetri hidrosilacijom, a poluvrijeme života je 25 - 57 sati. Mikrosomalna hidrosilacija i oksidacija vezana je za enzimski sustav citokroma P450. Nekoliko je aktivnih i inaktivnih metabolita kojih je poluživot od nekoliko dana (Caravati, 2004).

THC se brzo metabolizira do 11-OH-THC, on do 11-nor-THC-9-karboksilne kiseline. Mali dio THC-a se izlučuje nepromijenjen (1 – 5 %). U urinu se izlučuje karboksilno kiseli metabolit u količini jednakoj metabolitu konjugiranom glukuronskom kiselinom. Urinarna sekrecija uključuje glomerularnu filtraciju, tubularnu sekreciju i pasivnu reapsorpciju. Konjugati glukuronida putem žuči dolaze u crijevo i mogu kružiti enterohepatičkom cirkulacijom. THC i 11-OH-THC imaju psihoaktivnu aktivnost dok THC-kiselina kao i njezin glukuronid nemaju. THC se izlučuje u majčinom mlijeku. Kliničke studije dokazale su da urin redovitih konzumenata indijske konoplje daje pozitivan rezultat analize nekoliko tjedana nakon prestanka uzimanja. Prosječno poluvrijeme eliminacije iznosi 5 dana (od 1 do 12 dana) u povremenih konzumenata. Danima i tjednima traje ekskrecija THC. Urinom se izlučuje oko 20 – 30 %, stolicom 65 – 80 %, a manje od 5 % u nemetaboliziranom obliku (Lachenmeier i Walch, 2005; Grotenhermen i sur., 2001).

2.2.2. Mehanizam toksičnosti THC-a

THC se veže na kanabinoidne receptore u mozgu i perifernim živcima (CB1 receptori) te na kanabinoidne receptore makrofaga i drugih imunoloških stanica (CB2 receptori). THC je simpatomimetik. Aktivacijom CB receptora inhibira se adenilat ciklaza kojom se inhibira nastajanje cAMP-a konverzijom od ATP-a. CB receptori su mjesta vezanja endokanabinoida, bioloških molekula iz porodice eikozanoida. Endokanabinodi imaju funkciju transmitera i neuromodulatora. Osim inhibicije adenilat ciklaze uočena je i interakcija s ionskim kanalima. Aktivacijom CB1 receptora postiže se učinak kao kod djelovanja indijske konoplje, dok se aktivacijom CB2 receptora taj učinak ne postiže. Kanabidiol djeluje kao slabi antagonist na CB1 receptorima i reducira učinak THC-a. U industrijskoj

konoplji odnos CBD/THC je 2 i veći. Smatra se da je taj odnos dostatan za antagoniziranje subjektivnih i fizičkih učinaka THC u ljudi. Djelovanjem THC-a povećava se otpuštanje dopamina (Caravati, 2004; Grotenhermen, 2004; Grotenhermen i sur., 2001).

2.2.3. Genotoksičnost, teratogenost i mutagenost THC-a

Ustanovljeno je da kratkotrajno konzumiranje indijske konoplje dovodi do poremećaja kratkotrajne memorije zbog djelovanja na hipokampus, a kod kroničnog uzimanja dolazi do propadanja neurona hipokampusa (Caravati, 2004)

U dozama koje su uobičajene za konzumente indijske konoplje, THC nije genotoksičan, mutagen, karcinogen i nema utjecaja na stanični metabolizam. U ekstremno visokim dozama apliciranim direktno u stanice, THC reducira sintezu DNA, RNA i proteina. Količine THC-a koje su u tragovima prisutne u hrani od sjemenki industrijske konoplje i u kozmetici smatraju se sigurnim za primjenu. Nema realne opasnosti za trudnice te potomke u konzumenta hrane i kozmetike na bazi industrijske konoplje (Geiwitz i Ad Hoc Committe on Hamp Risks, 2001).

THC čak i u visokim dozama ne uzrokuje poremećaje razvoja mozga i urođene defekte. U muškaraca i žena THC ne utječe na funkciju reproduktivnog sistema kao i na razinu hormona. Smatra se da su prve studije koje su pokazale supresiju imunološkog sustava diskreditirane. U malim dozama nađena je stimulacija kako stanične tako i humoralne imunosti. Autori također ističu da THC jača imunološki sustav (Geiwitz i Ad Hoc Committe on Hamp Risks, 2001).

2.2.4. Procjena doza – učinak (LOEL, NOEL, TDD i ADI) za oralno uzeti THC

Geiwitz i sur. (2001) navode da se oralnim uzimanjem THC-a u dozi od 0,1 - 0,2 mg/kg tjelesne mase, a što je psihotropni prag, u krvi postiže koncentracija najviše od 3 ng/mL do 5 ng/mL. Doze kod kojih se postiže „high“ učinak THC su 2 000 do 3 000 puta veće od LOEL. Također, autori su odredili parametre kao što su LOEL (eng. *lowest observed effect levels*), NOEL (eng. *no observed effect level*) i TDD (eng. *torelable daily dose*) (Geiwitz i Ad Hoc Committe on Hamp Risks, 2001; Grotenhermen i sur., 1998).

LOEL za psihoaktivni učinak THC iznosi 0,2 - 0,3 mg/kg tjelesne mase, a što je 10 - 20 mg THC u jednoj dozi za prosječnu odraslu osobu. NOEL iznosi 0,07 mg/kg tjelesne mase, a što je za prosječnu odraslu osobu oko 5 mg. Uvođenjem faktora sigurnosti od 10 dolazi se do TDD. TDD iznosi 14 µg/kg tjelesne mase, što je oko 1 mg THC za osobu od 70 kg.

Institut Nova je odredio je graničnu vrijednost THC-a od 20 mg/kg za ulje i 1,5 mg/kg za ostalu hranu. Granična vrijednost za ulje dobivena je tako da se TDD od 1 mg umanjio za faktor nesigurnosti od 1,5, koji je nešto manji od faktora za ostalu hranu s obzirom na pretpostavku da prehrambena industrija rijetko koristi u preradi hrane polinezasićene masne kiseline poput onih sadržanih u konopljinom ulju te da je dnevni unos ulja 33 g (Grotenhermen i sur., 1998).

Autori upućuju da se THC mora zagrijati da bi bio biološki aktivan (mora se dekarboksilirati) što ukazuje da je THC u hladno prešanim uljima neaktivan (Geiwitz i Ad Hoc Committee on Hemp Risks, 2001). Poznato je da aktivni THC nastaje iz neaktivne tetrahidrokanabinolske kiseline (THCA) djelovanjem svjetlosti ili topline za vrijeme pohrane ili pušenjem (Thakur, 2005). Izvješće EFSA-e (eng. *European Food Safety Authority*) iz 2011. godine navodi da se dekarboksilacija odvija na visokim temperaturama, a može i na sobnoj temperaturi, ali vrlo sporo (EFSA, 2011). Izvori navode temperaturu od oko 106 °C kao onu pri kojoj se oslobađa karboksilna skupina tj. odvija se proces dekarboksilacije (Zeeuw i sur., 1972). Obzirom da se ulje konoplje proizvodi hladnim prešanjem gdje temperatura ne prelazi 50 °C, THC u ulju ostaje u svom neaktivnom obliku. U poglavlju 1.7. Sastav hrane od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje navedeno je porijeklo THC u hrani od industrijske konoplje (znanstveni radovi upućuju da se THC i ostali kanabinoidi nalaze na površini sjemenke zbog toga što su bile u kontaktu s dijelovima biljke koji ih sadrže u većoj količini).

Grotenhermen i sur. (2001) navode parametre kao što su LOAEL (eng. *lowest observed adverse effect level*), NOAEL (eng. *no observable adverse effect level*) i ADI (eng. *acceptable daily intake*) Najniža oralna doza THC-a kod koje su uočeni neurološki učinci, kao što je blaga promjena psihomotorne funkcije, je 5 mg (za tjelesnu masu od 70 kg). Ova doza predstavlja LOAEL. Kako ova doza nije različita u pogledu psihotropnog učinka kod placebo tako predstavlja i NOAEL za taj učinak. Dnevnom dozom od 10 mg (2X5 mg) THC ne postiže se kumulativni učinak, pa je stoga konzumacija 10 mg THC-a dnevno, NOAEL za psihotropni učinak THC-a. Kako bi se dobio ADI za THC putem hrane od industrijske konoplje u račun je uzeta vrijednost za LOAEL od 10 mg kao dnevna doza za osobu od 70 kg i podijelila se s faktorom sigurnosti od 20 (10 zbog individualnih varijacija i 2 zbog ekstrapolacije od LOAEL na NOAEL, dakle ukupno 20). Tako je dobiven ADI od 0,5 mg/dan. Kako se čini da su djeca manje osjetljiva na THC u odnosu na odrasle tako izgleda da predloženi ADI osigurava dovoljnu zaštitu za fetus i djecu čije majke redovito uzimaju hranu od industrijske konoplje (Grotenhermen i sur., 2001).

$$\text{ADI} = 10 \text{ mg/dan} : 20 = 0,5 \text{ mg/dan}$$

Dnevni unos od 0,45 mg THC-a rezultira negativnim nalazom urina na prisutnost THC-a u testovima probira (*screening testovi*) (Leson i sur., 2001). Skupina znanstvenika okupljena oko projekta DRUID (Driving Under Influence of Drugs) odredila je prema istraživanjima i dosadašnjim saznanjima o utjecaju THC-a na vozačke sposobnosti dozvoljenu graničnu koncentraciju u krvi od 1 ng/mL za THC i 5 ng/mL za THC-kiselinu (EMCDDA, 2012).

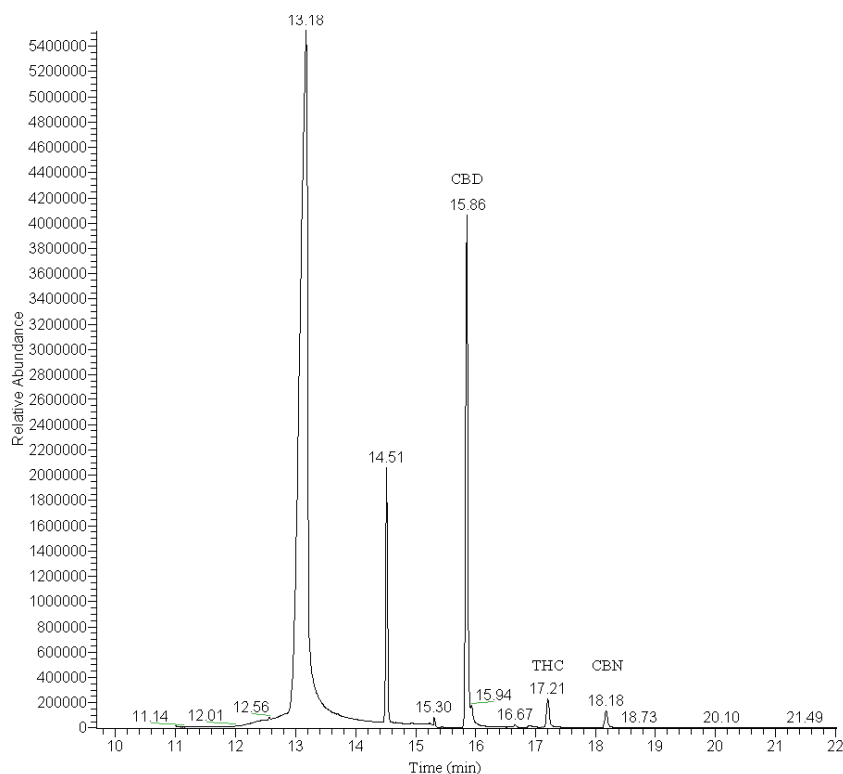
2.3. Analitičke tehnike za određivanje THC-a u hrani

Plinska kromatografija s plamenoionizacijskim detektorom najviše se koristi za analizu THC-a i ostalih kanabinoida u biljci. Uzorci biljke se uzimaju tako da se odreže 20 cm cvjetnog vrha na 30 biljaka, osuši i homogenizira. Prije analize uzorak treba čuvati na suhom i tamnom mjestu jer se THC raspada pod utjecajem kisika iz zraka i svjetlosti. Kao što je već navedeno udjel THC-a u biljci je relativno mali,

a veći dio koji se oslobađa tijekom pušenja indijske konoplje potječe od dekarboksilacije THC-kiseline. Temperatura injektora u plinskoj kromatografiji veća je od 150 °C pa se THC-kiselina dekarboksilira kod injektiranja te nije moguće odrediti zasebno THC i THC-kiselinu nego se rezultat izražava kao ukupni THC (*Total THC*) (UNODC, 2009).

Obzirom da je udjel THC-a i ostalih kanabinoida u hrani od industrijske konoplje znatno manji nego u biljci plinska kromatografija s masenoselektivnim detektorom (GC/MS) je metoda izbora za njihovu analizu (Poortman-van der Meer i Huizer, 1999; Lachenmeier i sur., 2004; Pellegrini i sur., 2005; Yotoriyama i sur., 2005; Petrović i sur., 2015). Ova metoda, prema navedenoj literaturi, može se koristiti za razne vrste hrane uz odgovarajuću predobradu uzorka.

Metoda tekućinske kromatografije s raznim detektorima (UV, FLD, MS/MS) može se, također, koristiti za određivanje kanabinoida u hrani od industrijske konoplje. Prednost ove tehnike je u tome da može odvojeno analizirati sadržaj THC-a i THC-kiseline (Zoller i sur., 2000; Dussy i sur., 2005). Kod proizvodnje hrana od industrijske konoplje uglavnom se ne primjenjuju temperature veće od 50 °C pa ne dolazi do dekarboksilacije THC-kiseline u THC. THC-kiselina nema psihoaktivna svojstva pa je kod takvih proizvoda opasnost od intoksikacije značajno manja. Stoga je smisleno analizirati odvojeno THC i THC-kiselinu iako uobičajeni testovi na droge daju pozitivni rezultat na oba spoja.



Slika 4. Kromatogram određivanja kanabinoida u hrani od industrijske konoplje (Petrović i sur., 2015)

Tablica 1. Prikaz vrste hrane koja sadrži dijelove industrijske konoplje, metode analize, pripreme uzoraka, granice određivanja metode gdje je to dano te reference (Lachenmeier i sur., 2004; Ross, 2000; Raharjo, 2004; Iten i Coray,1996; Georgi, 2002)

Matriks	Priprema uzoraka	Metoda	Granice određivanja metode	Referenca
Pivo s konopljom	SPE, derivatizacija (metiliranje)	GC-MS	1 ug/l	Iten i Coray,1996
Pivo s konopljom	SPE, derivatizacija (BSTFA)	GC-MS imunometoda	1 ng/ml	Gibson i sur.,1998
Konopljino ulje	FFE (metanol)	GC-MS		Boess i sur., 2000
Konopljino ulje	FFE (metanol) SPE	GC-MS	1 mg/kg	Lehmann i sur., 1997
Konopljino ulje	FFE (acetonitril) SPE s mogućom derovatizacijom (MSTFA)	GC-MS imunometoda		Bosy i Cole, 2000
Sjemenke konoplje	FFE (kloroform/metanol /99:1/), heksan/etilacetat/9:1/, SPE	GC-MS		Ross i sur., 2000
Sjemenke konoplje	FFE (Benzen)	TLC		Matsunaga i sur., 1990
Različiti proizvodi od konoplje	FFE (metanol ili etilacetat)	GC-MS imunometoda		Alt, 1996; 1997; 1998
Različiti proizvodi od konoplje	FFE metanol/diklormetan (9:1, v/v)	HPLC-UV HPLC-FD	0.01 ng	Zoller i sur., 2000
Različiti proizvodi od konoplje	FFE (heksan), saponifikacija	GC-MS	12.9 -17.3 ug/kg	Georgi i sur., 2002
Različiti proizvodi od konoplje	HS-SPME, derivatizacija vlakana (MSTFA)	GC-MS	0.01-0.005 mg/kg	Lachenmeier i sur., 2004

Značenje kratica sustava za pripremu i otapala: SPE - *solid phase extraction*, FFE – *fluid fluid extraction*, HS-SPME – *headspace solid phase micro extraction*, BSTFA - *N,O-Bis-trimethylsilyltrifluoroacetamid*, MSTFA - *N-dimethyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamid*

3. Procjena izloženosti

3.1. Opis i rezultati istraživanja

Tijekom istraživanja prikupljena su 43 uzorka prehrambenih proizvoda od sjemenki i koji sadrže sjemenke industrijske konoplje. Plan uzrokovanja napravljen je na temelju tržišno dostupnih prehrambenih proizvoda domaćih i stranih proizvođača. Sukladno zastupljenosti na tržištu analizirano je 14 uzoraka ulja, 9 uzoraka sjemenki, po 5 uzoraka proteina i brašna, po 2 uzorka grickalica, čokolade, keksa i po 1 uzorak muesli, tijesta, kruha i energetske pločice.

Metodom plinske kromatografije sa spektrometrom masa (GC/MS) određene su koncentracije ukupnog THC-a (THC i THC-kiselina) u svim uzorcima. Homogenizirani uzorci su ekstrahirani acetonitriлом na ultrazvučnoj kupelji (15 minuta) uz dodatka benzilamina kao otopine internog standarda. Nakon ekstrakcije uzorci su centrifugirani i analizirani na instrumentu. Udjel pojedinih kanabinoida u uzorcima izračunat je pomoću kalibracijskog pravca dobivenog injektiranjem standardne otopine smjese analiziranih kanabinoida.

Dobivene vrijednosti koncentracije THC-a su prikazane u Tablici 2.

Tablica 2. Utvrđene vrijednosti koncentracije THC-a ovisno o skupini uzorkovanih proizvoda

Skupina prehrambenih proizvoda	Utvrđena srednja vrijednost koncentracije THC-a u skupini proizvoda [mg/kg]	Najveća utvrđena koncentracija THC-a u skupini proizvoda [mg/kg]	Moguća količina THC-a u prehrambenom proizvodu uz uvjet da se pretpostavljenom dnevnom konzumacijom ne prijeđe ADI od 0,5 mg/dan**** [mg/kg]
ulje	12	20	20
sjemenke	1,9	4,5	11
protein	1	1,7	17
brašno	0,3	0,4	5
grickalice	0,9	1,5	5
čokolada	0,3	0,3	5
keksi	0,2*	0,3	5
muesli	/**	0,2	12,5
tijesto	/**	0,3	6,25
kruh	/**	0,2	12,5
energetske pločice	/**	/***	12,5

*Obzirom da su analizirana 2 uzorka, a u jednom je utvrđena koncentracija ispod granice određivanja metode (LOQ <0,2), za računanje srednje vrijednost i koncentracije je uzeta vrijednost polovice LOQ-a

** Srednja vrijednost nije računata jer je analiziran samo jedan uzorak

***Vrijednosti ispod granice određivanja metode (LOQ)

**** Uz pretpostavku da će se dnevno konzumirati samo taj proizvod i niti jedan drugi koji sadrži sjemenke industrijske konoplje

Dnevni unos THC-a izračunat je na temelju pretpostavljene dnevne konzumacije pojedinih proizvoda i prikazan u Tablici 3. Dnevna konzumacija ulja, proteina, sjemenki i muesli je određena prema uputama na pakiranju proizvoda, dok je za dnevni unos grickalica, čokolade, keksa i energetskih pločica uzeta masa jednog pakiranja proizvoda. Kod brašna je uzeta vrijednost od 100 g jer konzumirana količina ovisi o recepturama jela koja se od njega pripremaju. Vrijednosti dnevne konzumacije za kruh i tjesteninu su određene prema srednjoj vrijednosti normativa (Senta i sur., 2004), s tim da je određena količina za suhu tjestenina jer je kao takva i analizirana.

Tablica 3. Preračunate vrijednosti dnevnog unosa THC-a prema pretpostavljenoj dnevnoj konzumaciji ovisno o skupinama proizvoda.

Skupina prehrambenih proizvoda	Pretpostavljena dnevna konzumacija (PDK) [g]	Dnevni unos THC-a s obzirom na utvrđenu srednju vrijednost koncentracije i PDK [mg/dan]	Dnevni unos THC-a s obzirom na utvrđenu srednju vrijednost koncentracije izražen u % u odnosu na ADI	Dnevni unos THC-a s obzirom na utvrđenu najveću vrijednost koncentracije i PDK [mg/dan]	Dnevni unos THC-a s obzirom na utvrđenu najveću vrijednost koncentracije izražen u % u odnosu na ADI
ulje	25 (2 žlice*)	0,3	60	0,5	100
sjemenke	45 (3 žlice)	0,086	17	0,2	40
protein	30 (2 žlice)	0,03	6	0,05	10
brašno	100	0,034	7	0,04	8
grickalice	100	0,085	17	0,15	30
čokolada	100	0,025	5	0,03	6
keksi	100	0,02	4	0,03	6
muesli	40	/**	/**	0,008	2
tijesto	80	/**	/**	0,02	4
kruh	40 (1 šnita)	/**	/**	0,008	2
energetske pločice	40	/**	/**	/***	/***

*Masa žlice ulja je određena vaganjem

**Srednja vrijednost koncentracije nije određena jer je analiziran samo jedan uzorak

***Unos THC-a kod energetskih pločica nije naveden jer je koncentracija THC-a u proizvodu ispod granice određivanja metode

4. Karakterizacija rizika

Literaturni podaci i rezultati dobiveni tijekom izrade ovog mišljenja nedvojbeno ukazuju da hrana koja sadrži sjemenke industrijske konoplje može sadržavati psihoaktivnu supstancu delta-9-tetrahidrokanabinol. Obzirom da u RH nisu postavljene granice za udjel THC-a u hrani, na osnovi literature i izračuna predloženo je da granica za ulje sjemenki industrijske konoplje bude 20 mg/kg, a za sjemenke i svu ostalu hranu od sjemenki i koja sadrži sjemenke bude 2 mg/kg. Preporučena granica za sadržaj THC-a u hladno prešanim uljima od sjemena industrijske konoplje od 20 mg/kg niža je nego u Švicarskoj (50 mg/kg) (Petrović i sur., 2015), a viša je nego u Kanadi (10 mg/kg), Belgiji (2 mg/kg) i Njemačkoj (5 mg/kg) (International Hemp Regulations, 2011). U Kanadi je granica za sjemenke konoplje te ostalu hranu od sjemenki i koja sadrži sjemenke konoplje postavljena na 10 mg/kg (svi prehrambeni proizvodi), u Belgiji iznosi 5 mg/kg za sjemenke i brašno i 0,2 mg/kg za ostalu hranu, a u Njemačkoj 0,5 mg/kg za ostalu hranu. (International Hemp Regulations, 2011). Razlike u postavljenim granicama za sadržaj THC-a u hrani potječu zbog korištenja različitih faktora sigurnosti i različitih vrijednosti preporučene dnevne konzumacije pojedinih proizvoda u izračunu dozvoljenog dnevnog unosa.

Provedeno je istraživanje na 43 uzorka prehrambenih proizvoda od sjemenki i koji sadrže sjemenke industrijske konoplje, a nalaze se na tržištu RH. Plan uzrokovanja napravljen je na temelju tržišno dostupnih prehrambenih proizvoda domaćih i stranih proizvođača. Metodom plinske kromatografije sa spektrometrom masa (GC/MS) određene su koncentracije ukupnog THC-a (THC i THC-kiselina) u uzorcima ulja sjemenki industrijske konoplje, neljuštenih i oljuštenih sjemenki, konopljinog proteina, konopljinog brašna, grickalica koje sadrže sjemenke konoplje, čokolade sa sjemenkama konoplje, kekisa od konopljinog brašna, muesli, tjestenine i kruha s brašnom konoplje te energetske pločice koje sadrže konopljine sjemenke. U odnosu na ostalu hranu, najveći udjel THC-a nađen je u ulju sjemenki industrijske konoplje. Svi uzorci ulja su imali udjel veći od granice određivanja metode, a najviša vrijednost je bila 20 mg/kg. Dobivene vrijednosti su u skladu s do sada objavljenim literaturnim podacima s time da niti jedno ulje nije sadržavalo više od predložene granične vrijednosti od 20 mg/kg, a neki uzorci opisani u literaturi su imali znatno više vrijednosti (Petrović i sur., 2015). Vjerojatan razlog tome su i klimatski uvjeti koji su se značajno razlikovali zadnjih godina (ekstremno sušne i ekstremno kišne godine). Prema očekivanju, uzorci kompozitne hrane, kao što su muesli i energetske pločice, sadržavali su niske udjele THC-a, u nekim uzorcima manje od granice određivanja metode. Prema tome, konzumacijom takvih prehrambenih proizvoda unos THC-a neće biti značajan.

U slučaju da se konzumiraju pojedini proizvodi s najvišom utvrđenom koncentracijom THC-a, dnevni unos THC-a obzirom na pretpostavljenu dnevnu konzumaciju je znatno ispod određene ADI vrijednosti, koja iznosi 0,5 mg/dan, jedino u slučaju ulja od sjemenki konoplje unos THC-a je jednak ADI vrijednosti (Tablica 3). Unese količine THC-a konzumacijom tih proizvoda nemaju negativnog

utjecaja na zdravlje potrošača i mnogostruko su niže od koncentracija koje mogu izazvati psihoaktivne učinke.

ZAKLJUČCI

- Ulje proizvedeno od sjemenki industrijske konoplje (*Cannabis sativa* L.) smatra se prehrambenim proizvodom koji je izuzetno kvalitetnog sastava s mnogobrojnim pozitivnim fiziološkim učincima na ljudski organizam, te je stoga i njegova primjena u prehrambenom smislu opravdana.
- Obzirom da se ulje konoplje proizvodi hladnim prešanjem gdje temperatura ne prelazi 50 °C, THC-kiselina ne prelazi u THC koji ima psihotropni efekt.
- Budući da je poznat ADI za THC koji se može unijeti putem hrane od industrijske konoplje i on iznosi 0,5 mg/dan, može se odrediti granica za maksimalni dnevni unos hrane od sjemenki konoplje.
- Slijedom znanstvene i stručne rasprave, predlaže se da se kao granica za sadržaj THC u hladno prešanim uljima od sjemenki industrijske konoplje postavi na 20 mg/kg, a za sjemenke konoplje te ostalu hranu od sjemenki i koja sadrži sjemenke konoplje 2 mg/kg .
- U slučaju konzumiranja pojedinih proizvoda s najvišom utvrđenom koncentracijom THC-a, a obzirom na pretpostavljenu dnevnu konzumaciju, dnevni unos THC-a je znatno ispod određene ADI vrijednosti. Jedino u slučaju ulja od sjemenki konoplje, unos THC-a je jednak ADI vrijednosti. Unesene količine THC-a konzumacijom tih proizvoda nemaju negativnog utjecaja na zdravlje potrošača i mnogostruko su niže od koncentracija koje mogu izazvati psihoaktivne učinke.
- Oralnim uzimanjem THC u dozi od 0,1 - 0,2 mg/kg tjelesne mase, što je psihotropni prag, u krvi se postiže koncentracija najviše od 3 ng/mL do 5 ng/mL.
- Koncentracija THC-a koja se može detektirati u krvi nakon konzumacije ulja od industrijske konoplje mora biti ispod psihotropnog praga, odnosno ispod 3 ng/mL, u suprotnom se smatra da je unos THC bio iz drugih izvora, a ne iz hrane.
- Kanabinoidi su liposolubilni i nakupljaju se u masnom tkivu gdje se vršna koncentracija postiže za 4 - 5 dana.
- Proizvođačima se preporuča da obrate pažnju na pažljivo čišćenje odnosno ljuštenje sjemenja prije prerade jer će taj postupak, kao i upotreba sjemenja od sorata s niskim udjelom THC-a, koje su navedene na EU sortnoj listi, a mogu se sijati u RH omogućiti proizvodnju hrane sa smanjenim udjelom THC-a.
- Slikovno isticanje biljke konoplje na proizvodima nije dozvoljeno prema važećem Zakonu o suzbijanju zlouporabe droga (2001).

PREPORUKE

Radna skupina, koja je pripremila ovo znanstveno mišljenje o utjecaju na zdravlje različitih vrsta hrane od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje, preporučuje da ono bude znanstveni i stručni temelj za donošenje zakonskog propisa kojim bi se regulirala proizvodnja i stavljanje na tržište hrane od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje uz pravovaljanu analizu proizvoda u ovlaštenim hrvatskim laboratorijima.

Također se preporučuje da se prilikom stavljanja na tržište hrane od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje navede upozorenje kako konzumacijom te hrane nije isključen pozitivan nalaz na THC.

Budući da do sada nisu provedena ciljana istraživanja kojima bi se utvrdila koncentracija THC-a u biološkim uzorcima (krv, urin) nakon konzumacije hrane od sjemenki i koja sadrži sjemenke industrijske konoplje preporuča se da se provede takvo istraživanje kako bi se razriješile nedoumice oko eventualne osnove za počinjenje prekršaja po Zakonu o sigurnosti prometa na cestama (2008), Zakonu o prekršajima protiv javnog reda i mira (1990) te Zakonu o zaštiti na radu (2014) (vožnja pod utjecajem droga, remećenje javnog reda i mira pod utjecajem droga, sudjelovanje u procesu rada pod utjecajem droga).

DOKUMENTACIJA DOSTAVLJENA HAH-U

- International Hemp Regulations, Food Standards Australia New Zealand 2011.
http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/documents/A1039_AR_%20SD6.pdf

LITERATURA (REFERENCE)

- Alt A (1997): Lebensmittel auf Hanfbasis und deren forensische Bedeutung. In *GTFCh-Symposium 1997*, str. 156-165. Verlag Dr. Helm, Heppenheim, Germany.
- Alt A, Reinhardt G (1996): Speiseöle auf Hanfbasis und ihr Einfluß auf die Ergebnisse von Urin- und Blutanalysen. *Blutalkohol*, 33:347-356.
- Alt A, Reinhardt G (1997): Nahrungsmittel auf Hanfbasis und deren forensische Bedeutung. *Blutalkohol*, 34:286-293.
- Boess C, Palavinkas B, Dusemund B, Gebhardt G, Blaas W (2000): Bestimmung von Gesamt- Δ 9-Tetrahydrocannabinol in Hanföl. *Lebensmittelchemie*, 54:104-105.
- Bosy TZ, Cole KA (2000): Consumption and quantitation of Δ 9-tetrahydrocannabinol in commercially available hemp seed oil products. *Journal of Analytical Toxicology*, 24:562-566.
- Callaway JC (2004): Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica*. 140:65-72.
- Callaway JC, Schwab U, Harvima I, Halonen P, Mykkänen O, Hyvönen P, Järvinen T (2005): Efficacy of dietary hempseed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment*, 16:87-94.
- Caravati EM (2004): Marijuana and other cannabinoids. U: *Medical Toxicology*, 3rd edn, Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Chen T, He J, Zhang J, Zhang H, Qian P, Hao J, Li L (2010): Analytical characterization of hempseed (seed of *Cannabis sativa* L.) oil from eight regions in China. *Journal of Dietary Supplements*. 7: 117-129.
- Chow CK (2008): *Fatty Acid in Foods and Their Health Implications*. 3rd edn, Marcel Dekker, New York.
- Da Porto, C, Decorti D, Tubaro F (2012): Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extracted by supercritical carbon dioxide. *Industrial Crops and Products*, 36:401-404.
- Deferne JL, Pate, DW (1996): Hemp seed oil: a source of valuable essential fattyacids. *Journal of the International Hemp Association*, 3:4-7.
- Dussy FE, Hamberg C, Lubinbuhl M, Schwerzmann T, Briellmann TA (2005): Isolation of Δ^9 -THC-A from hemp and analytical aspects concerning the determination of Δ^9 -THC in cannabis products. *Forensic Science International*, 149:3-10.

EFSA, European Food Safety Authority (2009): Scientific Opinion of the Panel on Dietetic products, Nutrition and Allergies on a request from European Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *EFSA Journal*, 1176:1-11.

EFSA, European Food Safety Authority (2011): Scientific Opinion on the safety of hemp (*Cannabis genus*) for use as animal Feed, *EFSA Journal*, 9:1-41.

EMCDDA, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2012): *Driving Under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines, findings from the DRUID project*. EMCDDA, Lisabon.

Geiwitz J, Ad Hoc Committee on Hemp Risks (2001): *THC in hemp food and cosmetics: The appropriate risk assessment*. Dostupno na: <http://peakoil.transglobalhemp.com/ResponseFinal.pdf> (3.06.2015.)

Georgi K, Mavric E, Speer K (2002): Bestimmung von Δ^9 -Tetrahydrocannabinol in hanfhaltigen Lebensmitteln. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 98:363-366.

Gibson CR, Williams RD, Browder RO (1998): Analysis of Hempen Ale for cannabinoids. *Journal of Analytical Toxicology*, 22:179.

Girgih AT, Alashi A, He R, Malomo S, Aluko RE (2014): Preventive and treatment effects of a hemp seed (*Cannabis sativa* L.) meal protein hydrolysate against high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Nutrition*, 53:1237–1246.

Grigiriev OV (2002): Application of hempseed (*Cannabis sativa* L.) oil in the treatment of the ear, nose and throat (ENT) disorders. *Journal of Industrial Hemp*, 7:5-15.

Grotenhermen F (2004): Pharmacology of Cannabinoids. *Neuroendocrinology Letters*, 25:14-23.

Grotenhermen F, Karus M, Lohmeyer D (1998): THC-limits for food: a scientific study. *Journal of the International Hemp Association*, 5:101–105.

Grotenhermen F, Leson G, Pless P (2001) *Assessment of exposure to and human health risk from THC and other cannabinoids in hemp foods*. Dostupno na: <http://www.nova-institut.de/pdf/HempFoodsRiskAss.pdf> (4.05.2015.).

Iten PX, Coray M (1996): Hanf-Bier neu auf dem Markt in der Schweiz - THC-Gehalt und forensische Bedeutung. U *75. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin*, Zürich, Switzerland.

Kapoor R, Nair H (2005): Gamma Linolenic Acid Oils. U *Bailey's Industrial Oil and Fat Products 3, Edible oil and Fat Products, Specialty Oils and Oil Products*. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.

Lachenmeier DW, Kroener L, Musshoff F, Madea B (2004): Determination of cannabinoids in hemp food products by use of headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry.. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378:183-189.

- Lachenmeier DW, Walch SG (2005): Analysis and toxicological evaluation of cannabinoids in hemp food products – a review. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 4:812-826.
- Laidlaw M, Holub BJ (2003): Effects of supplementation with fish oil-derived n-3 fatty acids and gammalinolenic acid on circulating plasma lipids and fatty acid profiles in women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77:37-42.
- Lanzmann-Petithory D (2001): Alpha-Linolenic Acid and Cardiovascular Diseases. *Journal of Nutrition, Health and Aging*, 5:79-183.
- Leger CL (2000): La vitamine E: Etat actuel des connaissances role dans la prevention cardiovasculaire, biodisponibilite. *Oleagineux Corps Gras Lipides*, 7: 235-265.
- Lehmann T, Sager F, Brenneisen R (1997): Excretion of cannabinoids in urine after ingestion of cannabis seed oil. *Journal of Analytical Toxicology*, 21:373-375.
- Leson G, Pless P, Grotenhermen F, Kalant H, ElSohly MA (2001): Evaluating the impact of hemp food consumption on workplace drug tests. *Journal of Analytical Toxicology*, 25:691-8.
- Matsunaga T, Nagatomo H, Yamamoto I, Yoshimura H (1990): Identification and determination of cannabinoids in commercially available cannabis seeds. *Eisei Kagaku*, 36:545-547.
- Matthäus B, Brühl L (2008): Virgin hemp seed oil: An interesting niche product. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110:655–661.
- Mediavilla V, Bassetti P, Leupin M, Mosimann E (1999): Caracteristiques agronomiques de differentes varietes de chanvre. *Revue suisse d agriculture*, 31:221-226.
- Mediavilla V, Derungs R, Känzig A, Mägert A (1997): Qualität von Hanfsamenöl aus der Schweiz. *Agrarforschung Schweiz*, 4:449-451.
- Odani S, Odani S (1998): Isolation and primary structure of a methionine and cystine-rich seed protein of *Cannabis sativa* L. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62:650-654.
- Olejník D, Gogolewski M, Nogala-Kalučka M (1997): Isolation and some properties of plastochromanol-8. *Nahrung*, 41:101-104.
- Oomah DB, Busson M, Godfrey DV, Drover JCG (2002): Characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. *Food Chemistry*, 76:33-43.
- Pellegrini M, Marchie E, Pacifici R, Pichini S (2005): A rapid and simple procedure for determination of cannabinoids in hemp food products by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 36:939-946.
- Petrović M, Debeljak Ž, Kezić N, Džidara P (2015): Relationship between cannabinoids content and composition of fatty acid in hempseed oils. *Food Chemistry*, 170:218-225.

Pongracz G, Weiser H, Matzinger D (1995): Tocopherole - Antioxidativen der Naturr. *Fat Science Technology*, 97: 90-104.

Poortman-van der Meer AJ, Huizer H (1999): A contribution to the improvement of accuracy in the quantitation of THC. *Forensic Science International*, 101:1-8.

Pospišil M (2013): *Ratarstvo II. dio - industrijsko bilje*. Zrinski d.d., Čakovec.

Pravilnik o izdavanju znanstvenog mišljenja i pružanju znanstvene i tehničke pomoći (2009). Narodne novine, br. 130/09.

Pravilnik o priznavanju sorti poljoprivrednog bilja (2008). Narodne novine, br. 99/08, 100/09, 109/10, 77/13.

Pravilnik o stavljanju na tržište sjemena uljarica i predivog bilja (2007). Narodne novine, br. 126/07, 20/13.

Pravilnik o uvjetima za uzgoj konoplje, načinu prijave uzgoja maka te uvjetima za posjedovanje i promet opojnih droga u veterinarstvu (2012). Narodne novine, br. 18/12.

Pravilniku o ekološkoj proizvodnji, (2013). Narodne novine, br. 86/13.

Raharjo T, Verpoorte JR (2004): Methods for the analysis of cannabinoids in biological materials: a review. *Phytochemical Analysis*, 15:79-94.

Ross SA, Mehmedic Z, Murphy TP, ElSohly MA (2000): GC-MS analysis of the total delta-9-THC content on both drug- and fiber-type cannabis seeds. *Journal of Analytical Toxicology*, 24:715-717.

Schwab US, Callaway JC, Erkkilä AT, Gynther J, Uusitupa MI, Järvinen T (2006): Effects of hempseed and flaxseed oils on the profile of serum lipids, serum total and lipoprotein lipid concentrations and haemostatic factors. *European Journal of Nutrition*, 45:470-477.

Senta A, Pucarín-Cvetković J, Doko Jelinić J (2004): *Kvantitativni modeli namirnica i obroka*. Medicinska naklada, Zagreb.

Sies H, Murphy ME (1991): Role of tocopherols in the protection of biological systems against oxidative damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 8:211-224.

Simopoulos AP (2002a): Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune disease. *Journal of the American College of Nutrition*, 21:495-505.

Simopoulos AP (2002b): The importance of the ratio of omega-6/omega-3 fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56:365-379.

Small E, Marcus D (2002): Hemp: A new crop with new uses for North America. U: *Trends in new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria.

Teh SS, Birch J (2013): Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed hemp, flax and canola seed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30:26-31.

Thakur GA, Duclos Jr RI, Makriyannis A (2005): Natural cannabinoids: Templates for drug discovery. *Life Sciences*, 78:454 – 466.

Timmermann F (1990): Tocopherole - Antioxidative Wirkung bei Fatten und Olen. *Fat Science Technology*, 92:201-206.

UNODC, United Nations Office on Drugs and Crime (2009): *Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products*. United Nations, New York.

Uredba (EU) br. 1169/2011 Europskog parlamenta i Vijeća od 25. listopada 2011. o informiranju potrošača o hrani. Službeni list Europske unije, L 304/18.

Uredba (EZ) br. 178/2002 Europskog parlamenta i Vijeća od 28. siječnja 2002. o utvrđivanju općih načela i uvjeta zakona o hrani, osnivanju Europske agencije za sigurnost hrane te utvrđivanju postupaka u područjima sigurnosti hrane. Službeni list Europskih zajednica, L 31/1.

van Gool CJ, Thijs C, Henquet CJ, van Houwelingen AD, Dagenlie PC, Schrand J, Menheere PP, van der Brandt PA (2003): gamma-Linolenic acid supplementation for prophylaxis of atopic dermatitis - a randomized controlled trial in infants at high familial risk. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77:943-951.

Whitaker DK, Chilliers J, de Beer C (1996): Evening primorose (Epogam) in the treatment of chronic hand dermatitis; disappointing therapeutic results. *Dermatology*, 193:115-120.

Yatoriyama M, Ishiharajima E, Kato Y, Nagato A, Setsuko S, Watanabe K, Yamamoto I (2005): Identification and determination of cannabinoids in both commercially available and cannabis oils stored long term. *Journal of Health Sciences*, 51:483-487.

Zakon o hrani (2013). Narodne novine, br. 81/13, 14/14.

Zakon o prekršajima protiv javnog reda i mira (1990). Narodne novine, br. 5/90, 30/90, 47/90, 29/94.

Zakon o sigurnosti prometa na cestama (2008). Narodne novine, br. 67/08, 48/10, 74/11, 80/13, 158/13, 92/14.

Zakon o sjemenu, sadnom materijalu i priznavanju sorti poljoprivrednog bilja (2005). Narodne novine, br. 140/05, 35/08, 25/09, 124/10, 55/11, 14/14.

Zakon o suzbijanju zlouporabe droga (2001). Narodne novine, br. 107/01, 87/02, 163/03, 141/04, 40/07, 149/09, 84/11, 80/13.

Zakon o zaštiti na radu (2014). Narodne novine, br. 71/14, 118/14, 154/14.

Zakonu o poljoprivredi (2015). Narodne novine, br. 30/15.

Zeeuw RA, Malingré ThM, Merkus FWHM (1972): Δ^1 -Tetrahydrocannabinolic acid, an important component in the evaluation of cannabis products, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 24:1-6.

Zoller O, Rhyn P, Zimmerli B. (2000): High-performance liquid chromatographic determination of delta9-tetrahydrocannabinol and the corresponding acid in hemp containing foods with special regard to the fluorescence properties of delta9-tetrahydrocannabinol. *Journal of Chromatography A*, 872:101-110.

Zurier RB, DeLuca P, Rothman D (1996): Gamma-linolenic acid, inflammation, immune responses and rheumatoid arthritis. U *Gamma-linolenic acid: Metabolism and its roles in nutrition and medicine*. AOCS Press, Champaign.

Food Standards Australia New Zealand (2011): *International Hemp Regulations*. Dostupno na: http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/documents/A1039_AR_%20SD6.pdf (28.4.2015.)