

ZNANSTVENO IZVJEŠĆE

o određivanju anorganskog arsena u hrani

Donositelj znanstvenog izvješća (sukladno članku 14. st. 3. Pravilnika o sadržaju, obrazloženju i objavi znanstvenih mišljenja HAH-a)

(Zahtjev HAH – Z – 2017-1)

Usvojeno 31. listopada 2017.

ZAHVALE

Hrvatska agencija za hranu zahvaljuje svim članovima Znanstvenog odbora za kemijske opasnosti na doprinosu u izradi ovog znanstvenog mišljenja.

SADRŽAJ

UVOD	1
ODREĐIVANJE ANORGANSKOG ARSENA.....	3
Uzorkovanje i određivanje kontaminanta	3
Rezultati istraživanja.....	6
PROCJENA RIZIKA	7
1. Identifikacija opasnosti.....	7
Toksokinetika.....	7
2. Karakterizacija opasnosti	9
3. Procjena izloženosti	11
4. Karakterizacija rizika	14
ZAKLJUČCI	15
PREPORUKE.....	16
LITERATURA (REFERENCE)	16

UVOD

Arsen (lat. *Arsenium*) (As) je metaloid koji se pojavljuje u različitim organskim i anorganskim oblicima. Široko je rasprostranjen kao okolišni kontaminant prirodnog podrijetla, ali i kao posljedica djelovanja čovjeka. Najrasprostranjeniji je u litosferi, a nalazi se i u vodama, atmosferi te u živim organizmima. Anorganski As [iAs, zbroj arsenita – As(III) i arsenata – As(V)] toksičniji je u odnosu na organski As (arsenobetain, arsenošećere, arsenolipide itd.) te je stoga i od većeg interesa za procjenu rizika (EFSA, 2009; HAH, 2014). Anorganske kemijske vrste As najčešće se mogu pronaći u visokim razinama u vodi za piće, ukoliko podzemne vode dolaze u dodir s depozitima koji sadrže As u povišenoj koncentraciji. Visoka koncentracija As u vodi za piće zabilježena je na nekoliko lokacija u Hrvatskoj, točnije u Istočnoj Slavoniji. Zabilježeni su i slučajevi industrijskog zagađenja vode i tla, kao i povišene razine zbog nekadašnjeg raširenog korištenja pesticida na bazi spojeva As, koji su danas zabranjeni u Europskoj uniji (EU). Namirnice s visokim sadržajem iAs najčešće su biljnog podrijetla (žitarice, naročito riža te klice i mekinje) uzgojene na kontaminiranome tlu, kao i neke vrste jestivih morskih trava i njihovih proizvoda. Ribe i školjkaši uglavnom nakupljaju organske spojeve As, te su kao takvi najveći izvor ukupnog As iz prehrane (EFSA, 2014; Vasić-Rački i sur., 2010).

Kod ljudi se topljivi iAs brzo i gotovo u potpunosti apsorbira nakon konzumacije hrane koja ga sadrži te se nakon toga distribuira do praktički svih organa, a lako prolazi i placentalnu membranu. Uočene su velike razlike među vrstama živih organizama, ali i unutar populacije te na individualnoj razini po pitanju metabolizma As i toksikokinetike. Smatra se da toksičnost As uvelike proizlazi iz kapaciteta metilacije organizma, a ovisi o starosti, spolu, nutritivnom statusu i genetskim predispozicijama. Kronična izloženost iAs kod ljudi povezana je s promjenama na koži (hiperkeratoze, rak kože), neurotoksičnošću, kardiovaskularnim bolestima, abnormalnim metabolizmom glukoze i dijabetesom. Također, sve je više dokaza o negativnom utjecaju na razvoj fetusa, ali i novorođenčadi, posebno u pogledu smanjene porođajne težine (EFSA, 2009; HAH 2014; Vasić-Rački i sur., 2010). Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. *The International Agency for Research on Cancer*, IARC), klasificirala je As i arsenove anorganske spojeve kao „kancerogene za ljude“, te ih svrstala u Grupi 1 (IARC, 2012).

EFSA u svom znanstvenom mišljenju o arsenu u hrani (2009. god.) navodi kako iAs nema izravnog utjecaja na DNK te da postoji čitav niz ostalih mehanizama kancerogenosti, poput oksidativnih oštećenja, epigenetskih učinaka, smetnji mehanizma popravka oštećene DNK itd., a za koje bi se pojedinačno mogli utvrditi pragovi štetnog djelovanja. Međutim, zbog visoke razine nesigurnosti u odnosu između doze i odgovora, EFSA je smatrala da nije prikladno uspostaviti prihvatljivi dnevni ili tjedni unos za As, nego je predložila da se kao metodološki pristup pri procjeni rizika koristi granica izloženosti (engl. *Margin of Exposure*, MOE) na temelju utvrđenih referentnih točaka dobivenih iz podataka na ljudima i procijenjene prehrambene izloženosti iAs-u unutar populacije (EFSA, 2009). Stoga je uspostavila BMDL₀₁ između 0,3 i 8 µg/kg t.m./dan za povećan rizik od raka pluća, kože i mokraćnog mjehura, kao i kožnih lezija.

U prethodno spomenutom znanstvenom mišljenju, EFSA je napravila procjenu rizika za As u hrani na temelju više od 100 000 analitičkih rezultata od kojih se 98% odnosilo na ukupni As. Uz mnogobrojne pretpostavke vezane za doprinos iAs-a ukupnom As-u, EFSA je procijenila da izloženost iAs-u iz hrane i vode za piće u 19 europskih zemalja u prosjeku varira između 0,13 i 0,56 µg/kg t.m./dan. Jedan od zaključaka te procjene

rizika je da izloženost iAs-u putem prehrane treba smanjiti. Osim toga, preporučuje se prikupljanje podataka koji će razlikovati organski od anorganskog arsena u različitim prehrambenim proizvodima, radi preciznije procjene prehrambene izloženosti, a samim time i preciznije procjene rizika za iAs. Međutim, analize koje pružaju informacije o vrsti As teško su izvedive te ih obavlja relativno mali broj laboratorija. Zbog toga se većina prikupljenih podataka odnosi na ukupni As, bez razlikovanja njegovih vrsta. Potreba za razlikovanjem vrsta As pogotovo je značajna za hranu koja potječe iz mora, a kod koje je As uglavnom prisutan kao organski As, tj. kao manje toksični oblik (EFSA, 2009).

Zbog otežane analitike i podataka o količini iAs u širokom spektru namirnica, najveće dopuštene količine (NDK) za iAs inicijalno su postavljene jedino za rižu i proizvode od riže (*Uredba Komisije (EU) 2015/1006 od 25. lipnja 2015. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1881/2006 u pogledu najvećih dopuštenih količina anorganskog arsena u hrani*). NDK se kreću od 0,1 mg/kg za rižu namijenjenu proizvodnji hrane za dojenčad i malu djecu do 0,3 mg/kg za rižine vafle, oblatne krekerke i kolačiće. Tek nakon što je uspostavljena pouzdana analitička metoda, donesen je plan monitoringa koji će se odvijati od 2016. do 2018. godine. U tu svrhu Europska komisija je izdala *Preporuku (EU) 2015/1381 od 10. kolovoza 2015. o praćenju As u hrani* kojom se države članice pozivaju na aktivno praćenje prisutnosti As u hrani. Određivanjem iAs pored ukupnog omogućilo bi značajne i važne procjene zdravstvenog rizika u vezi s prehrambenom izloženosti As. Stoga se u ovoj Preporuci preporuča analiza As, po mogućnosti određivanjem sadržaja iAs i ukupnog As, koristeći se metodom analize za koju je dokazano da donosi pouzdane rezultate u širokom rasponu prehrambenih proizvoda određenih potrošačkim navikama neke zemlje (EC, n.d.).

Slijedom navedenog, Znanstveni odbor za kemijske opasnosti Hrvatske agencije za hranu (ZOKO) na 5. sjednici održanoj u prosincu 2015. god. kao jedan od prijedloga za plan rada HAH-a za 2016. god. navodi i istraživanje o određivanju iAs u različitim vrstama hrane iz prehrambenog lanca. Isti prijedlog je i usvojen na 11. sjednici Upravnog vijeća HAH-a.

Ovo znanstveno izvješće donosi rezultate tog istraživanja, kao i sažetu procjenu rizika uslijed izloženosti anorganskom arsenu podrijetlom iz hrane.

ODREĐIVANJE ANORGANSKOG ARSENA

Arsen (As) je široko rasprostranjen kontaminant, koji se pojavljuje u različitim organskim i anorganskim oblicima od kojih su potonji toksičniji i od većeg interesa za procjenu rizika. Rezultati analize namirnica se većinom iskazuju kao ukupni As, a takvi podaci rezultiraju s dosta nesigurnosti i nepreciznosti u samoj procjeni rizika. Stoga je Europska Komisija izdala *Preporuku (EU) 2015/1381 od 10. kolovoza 2015. o praćenju arsena u hrani* u kojoj poziva države članice da aktivno sudjeluju u praćenju razina As u širokom rasponu namirnica radi točne procjene izloženosti te da po mogućnosti određuju sadržaj anorganskog i ukupnog As.

Stoga je cilj ovog istraživanja bio kvantitativno određivanje anorganskog oblika As u različitim vrstama hrane iz prehrambenog lanca, posebice u žitaricama i proizvodima od žitarica (bez riže), mlijeku i mliječnim proizvodima te ribi i mekušcima. Odabrane namirnice su bile podrijetlom iz Republike Hrvatske.

Uzorkovanje i određivanje kontaminanta

Plan uzorkovanja je određen na temelju EFSA-inog znanstvenog izvješća (2014) u kojem je objedinjeno ukupno 103 773 podatka o koncentracijama As u različitim namirnicama. Ti podaci obuhvaćaju razdoblje od 2003. do 2012. god. te potječu iz ukupno 21. zemlje. Na osnovi tih podataka, a sukladno raspoloživim novčanim sredstvima dodijeljenim za ovo istraživanje, proporcionalno se odredilo vrste namirnica koje će se uzorkovati, odnosno u obzir su uzete namirnice za koje u EFSA-inom izvješću postoji najviše podataka.

Hrvatski veterinarski institut (HVI) je sukladno prethodno utvrđenom planu uzorkovanja (**Tablica 1**) proveo uzorkovanje u nacionalnim trgovačkim lancima na području grada Zagreba.

U **Tablici 1** analizirani uzorci su razvrstani po tzv. FoodEx razinama (L2 i L3), odnosno po EFSA-inom standardiziranom sustavu za klasifikaciju i opis hrane (EFSA, 2015).

Tablica 1 Plan uzorkovanja

	FoodEx L2*	FoodEx L3**	Broj uzoraka
1.	Kruh i peciva	Pšenični kruh i peciva	7
2.	Žitarice za doručak	Kukuruzne pahuljice (cornflakes)	5
3.	Proizvodi od mljevenih žitarica	Proizvodi od mljevenog kukuruza (brašno)	2
		Proizvodi od mljevenog kukuruza (krupica)	3
		Proizvodi od mljevene pšenice (brašno)	6
		Proizvodi od mljevene pšenice (griz)	2
Ukupno			25
1.	Tekuće mlijeko	Kravlje	10
2.	Koncentrirano mlijeko	Mlijeko u prahu (kravlje)	5
3.	Fermentirani mliječni proizvodi	Jogurt od kravljeg mlijeka	5
4.	Sir	Svježi kravli sir	5
Ukupno			25
1.	Riblje meso	Skušica	5
		Srdela	5
		Oslić	5
		Som	5
2.	Mekušci	Lignje	5
Ukupno			25
Ukupno			75

* FoodEx L2 – level 2

** FoodEx L3 – level 3

Određivanje iAs provedeno je primjenom tekućinskog kromatografskog sustava vezanog na maseni spektrometar s induktivno spregnutom plazmom (LC-ICP-MS) nakon ekstrakcije u vodenoj kupelji. Postupak ekstrakcije doveo je do potpune oksidacije As(III) u As(V) što je rezultiralo i dobro separiranim pikom u LC-ICP-MS kromatogramu. Za samu metodu su primjenjivani kriteriji Uredbe Komisije (EU) 2016/582 od 15. travnja 2016. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 333/2007 u pogledu analize anorganskog arsena, olova i policikličkih aromatskih ugljikovodika i određenih izvedbenih kriterija za analizu (EC, 2016).

Što se tiče postupka pripreme uzorka, odvagano je oko 1,0 g svježeg uzorka (neliofiliziranog) ili 0,3 g liofiliziranog uzorka u 50 ml polipropilenske epruvete (npr. Falcon). Nakon toga dodano je 10 ml 1% (v/v), HNO₃ i 1% (v/v) otopine H₂O₂ i ostavljeno je da odstoji preko noći pri sobnoj temperaturi (pred-digestija). Zatim su epruvete stavljene u vodenu kupelj na 95 °C tijekom 1 sata uz blagu trešnju. Uzorci su ohlađeni na sobnoj temperaturi te centrifugirani na 10 000 (ili manje) okretaja u minuti tijekom najmanje 10 minuta (temperatura

centrifuge na 4 °C). Nakon toga sakupljen je bistri supernatant pomoću 3 ml plastične Pasteurove pipete u 15 mL polipropilenske epruvete nakon filtriranja kroz 0,22 µm filter. U slučaju kada je filtracija bila posebno teška, povećano je vrijeme centrifugiranja, a filtracija s 0,22 µm filterom je zamijenjena s 0,45 µm filterom. U slučaju kada se ekstrakt nije analizirao odmah nakon filtracije, bio je uskladišten na temperaturi od -20 °C do analize.

Analiza je provedena pomoću, prethodno spomenutog, LC-ICP-MS sustava, 1260 Infinity HPLC i 7900 ICP-MS (Agilent, SAD). Kromatografsko razdjeljivanje provedeno je pomoću kolone Hamilton PRPX-100 elucijom u izokratnom modu mobilnom fazom 10 mM NH₄H₂PO₄+NH₄NO₃ 2% CH₃OH (pH=5,5). Ukupno vrijeme analize za svaki uzorak je bilo 30 minuta.

Anorganski As identificiran je kao As (V) usporedbom vremena retencije kromatografskog pika uzoraka s pikom dobivenim pomoću obogaćivanja ekstrakta uzorka sa standardnom otopinom As (V). Kvantifikacija je temeljena na mjerenju pikova primjenom eksterne kalibracijske krivulje izrađene od najmanje tri točke. Uspostavljena granica kvantifikacije (LOQ) je iznosila 10 µg/kg.

Uzorkovanje i analize napravljene su u Laboratoriju za određivanje rezidua u Hrvatskom veterinarskom institutu u Zagrebu.

Budući da je istraživanje temeljeno na Preporuci 2015/1381, u kojoj se između ostalog poziva države članice da redovito dostavljaju EFSA-i podatke o praćenju As u formatu elektroničkog izvješćivanja (*EFSA's Guidance on Standard Sample Description – SSD for Food and Feed*¹), rezultati su poslani EFSA-i.

¹ Dostupno na sljedećem linku: <http://www.efsa.europa.eu/en/datex/datexsubmitdata.htm>

Rezultati istraživanja

U **Tablici 2** su prikazani rezultati istraživanja anorganskog As u različitim vrstama hrane dostupnih na tržištu i podrijetlom iz RH.

Tablica 2 Rezultati istraživanja anorganskog As u hrani

	FoodEx L2	FoodEx L3	Broj analiziranih uzoraka	Koncentracija iAs [Srednja vrijednost ($\mu\text{g}/\text{kg}$) \pm SD*]
1.	Kruh i peciva	Pšenični kruh i peciva	7	<10
2.	Žitarice za doručak	Kukuruzne pahuljice (<i>cornflakes</i>)	5	13,20 \pm 1,48
3.	Proizvodi od mljevenih žitarica	Proizvodi od mljevenog kukuruza (brašno)	2	<10
		Proizvodi od mljevenog kukuruza (krupica)	3	<10
		Proizvodi od mljevene pšenice (brašno)	6	<10
		Proizvodi od mljevene pšenice (griz)	2	<10
Ukupno			25	
1.	Tekuće mlijeko	Kravlje	10	<10
2.	Koncentrirano mlijeko	Mlijeko u prahu (kravlje)	5	<10
3.	Fermentirani mliječni proizvodi	Jogurt od kravljeg mlijeka	5	<10
4.	Sir	Svježi kravljji sir	5	<10
Ukupno			25	
1.	Riblje meso	Skuša	5	<10
		Srdele	5	<10
		Oslić	5	<10
		Som	5	<10
2.	Mekušci	Lignje	5	<10
Ukupno			25	
Ukupno			75	

* SD – standardna devijacija

PROCJENA RIZIKA

1. Identifikacija opasnosti

Arsen (As) je metaloid koji se pojavljuje u različitim organskim i anorganskim vrstama, od kojih su potonje toksičnije. Kada govorimo o vrstama As, on se prvenstveno dijeli na organski i anorganski (iAs). Anorganski arsen se u okolišu nalazi prvenstveno u +3 i +5 oksidativnom stanju, odnosno kao tio spojevi ili primarno kao oksoanioni arsenit [As(III)] i arsenat [As(V)]. As je najrasprostranjeniji u litosferi, a nalazi se i u vodama, atmosferi i u organizmima. Opisuje se kao metaloid jer pokazuje svojstva koja su između metala i nemetala. U periodnom sustavu se nalazi u 15. skupini, zajedno s dušikom i fosforom što znači da podliježe sličnim kemizmima kao i ova dva esencijalna elementa. Ove sličnosti mogu biti razlog što su u morskim organizmima zabilježene visoke koncentracije ukupnog As. Npr. arsenat (anorganski ion) se pojavljuje u morskoj vodi zajedno sa strukturno sličnim fosforom. Morske alge ih nisu u stanju razlikovati te unosom esencijalnog fosfora unose i potencijalno toksični arsenat. Osim toga, arsenobetain je strukturno sličan glicin betainu kojeg akvatični organizmi koriste kao osmolit radi održavanja osmotske ravnoteže. Npr. pri uvjetima kada je visok salinitet okoline, razine glicin betaina u organizmu su također povišene. Strukturna sličnost između arsenobetaina i glicin betaina možda objašnjava činjenicu da su razine arsenobetaina mnogo više u morskim organizmima, nego u slatkovodnim. Obzirom da prehrambeni proizvodi od kopnene flore i faune u pravilu sadržavaju niske razine ukupnog As, njihov sadržaj iAs je također nizak. Riža je, međutim, iznimka zbog toga što sadrži značajne koncentracije iAs koje se kreću između 0,1 i 0,4 mg/kg suhe tvari, a ponekad i značajno više. Iako akvatični organizmi imaju visoke koncentracije ukupnog As (obično između 2 i 60 mg/kg suhe tvari, njihove razine iAs su obično ispod 0,2 mg/kg suhe tvari. Međutim, i ovdje postoji iznimka, a to su jestive morske alge hijiki (lat. *Hizikia fusiformis*) koje mogu sadržavati iAs u koncentracijama većim od 60 mg/kg te plave dagnje (lat. *Mytilus edulis*) u kojima su utvrđene koncentracije do 30 mg/kg suhe tvari (EFSA, 2009).

Toksokinetika

Svaki oblik As ima različita fizikalno – kemijska svojstva i bioraspoloživost. Apsorpcija unesenih iAs vrsta varira, ovisno o topljivosti arsenovih spojeva (što je bolja topljivost u vodi, veća je apsorpcija), o pojavnosti drugih sastojaka hrane u gastrointestinalnom traktu, kao i o samom sastavu hrane (EFSA, 2009).

U krvotoku, As se distribuira između plazme i eritrocita u kojima se veže na globin hemoglobina. Arsenit i arsenat se lako prenose u stanice, prvi pomoću određenih glikoproteina koji obično služe za prijenos vode i glicerola, a drugi pomoću fosfatnih transportera. Kod većine vrsta, nakon konzumacije arsenovih vrsta, razine ostataka su povišene u jetri, bubrezima, slezeni i plućima. Međutim, nakon nekoliko tjedana, As prelazi u kosu, nokte i kožu zbog visokih koncentracija proteina koji sadrže sumpor u tim tkivima (EFSA, 2009).

As lako prolazi kroz placentu sisavaca, uključujući i ljude, što rezultira sličnim razinama izloženosti kod fetusa i majke. S druge strane, vrlo malo As se izlučuje majčinim mlijekom (EFSA, 2009).

Kod većine sisavaca, uključujući i ljude, iAs se u velikoj mjeri biotransformira i izlučuje u obliku metabolita. Arsenat ulazi u stanice pomoću sustava nosača fosfata i može se biotransformirati (50 - 70 %) u reaktivniji arsenit pomoću glutation reduktaze i također pomoću purin-nukleozid-fosforilaze (PNP). Arsenit dalje biva podvrgnut oksidativnoj metilaciji u jetri dodatkom metilne skupine iz S-adenozilmetionina, što u konačnici daje metilarsonat. Cijela reakcija je katalizirana arsen-metiltransferazom. Arsenat u metilarsonatu se nakon toga reducira u arsenit. Dok se formiranje peterovalentnih metiliranih arsenovih metabolita može smatrati detoksikacijom, stvaranje trovalentnog metilarsonata smatra se bioaktivacijom, gdje ovaj proces, ako se odvija u značajnoj mjeri, doprinosi toksičnosti arsenita (EFSA, 2009).

As i njegovi metaboliti se lako izlučuju primarno putem urina (gdje je dimetilarsinat glavni urinarni metabolit) i u manjoj mjeri preko žuči. Ovdje je bitno napomenuti da se uvelike razlikuju profili izlučivanja između, ali i unutar vrsta sisavaca. Sastav arsenovih metabolita u urinu varira od osobe do osobe ovisno o učinkovitosti metilacije As, gdje se uobičajeni profil metabolita sastoji od 10 do 30 % iAs, 10 do 20 % metilarsonata i 60 do 70 % dimetilarsinata (EFSA, 2009).

Dugotrajna izloženost iAs kod ljudi se povezuje s lezijama na koži, rakom, neurotoksičnosti, kardiovaskularnim bolestima, poremećajem u metabolizmu glukoze i dijabetesom. Također postoje i dokazi negativnog utjecaja na razvoj fetusa i novorođenčadi, što se prvenstveno očituje u smanjenoj porođajnoj masi (EFSA, 2009).

Izvrješća o **akutnom** (pojedinačna doza) i **subakutnom** (izloženost u trajanju 2 do 3 tjedna) trovanju iAs ukazuju na to da gotovo svi fiziološki sustavi organizma mogu biti zahvaćeni, posebice gastrointestinalni, kardiovaskularni, renalni i živčani sustavi, a u manjoj mjeri respiratorni, hepatički, hematološki i dermalni sustavi. Podaci koji se odnose na ljude važni su za kliničke studije trovanja, ali generalno ne pružaju podatke o odnosu između doze i odgovora za procjenu rizika. Osim toga, pokazuju razlike po pitanju unesenih doza, kao i po pitanju razina pri kojima je svaki od sustava zahvaćen. Iako nedostaju adekvatni podaci, zabilježene su smrtonosne doze od 100 do 300 mg (što odgovara dozama od 1 do 5 mg As/kg t.m.). Ostali važni učinci **subkronične** povišene izloženosti (u trajanju od 30 do 90 dana) na As odnose se na gastrointestinalne, hematološke i dermalne učinke. Raspon LOAEL-a je približno između 0,05 - 0,1 mg/kg t.m./dan (EFSA, 2009).

Što se tiče **kroničnih učinaka** As, poznato je da on uzrokuje maligne promjene kod ljudi. IARC ga je još 1987. god. klasificirao kao kancerogenu tvar. Odluka se temeljila na dokazima o nastanku raka kože nakon primjene Fowlerove otopine (1 % natrij arsenita ili arsenova trioksida) te raka pluća uslijed profesionalne izloženosti u rudnicima i talionicama. U 2004. god. IARC je ponovno evaluirao As iz vode za ljudsku potrošnju i potvrdio uzročno – posljedičnu vezu s rakom kože (IARC, n.d.).

Radna grupa IARC-a je također 2004. god. svrstala izloženost As iz vode za ljudsku potrošnju u kategoriju **kancerogena** za mokraćni mjehur, pluća i kožu, uz ograničene podatke za rak bubrega, jetre i prostate. Procjena se temeljila na nekoliko studija koje su povezale povećane koncentracije As u vodi s povećanim rizikom od nastanka raka različitih organa kod određenih podgrupa populacije (IARC, n.d.).

Kožne (dermalne) lezije kao što su kožna hiperpigmentacija i palmoplantarne hiperkeratoze (zadebljanje površinskog sloja dlanova i tabana) indikatori su kroničnog unosa iAs jer je nekoliko epidemioloških studija povezalo niže razine iAs iz vode (<100 µg/l) s ovim oboljenjima (EFSA, 2009).

Razvojna toksičnost As dokazivana je u nekoliko studija na ljudima, ali kako se tu radilo prvenstveno o transverzalnim i ekološkim istraživanjima, smatra se da dizajn samih studija nije najprihvatljiviji za donošenje preciznije procjene. Ipak, zabilježen je povećani rizik od spontanih pobačaja, mrtvorođenčadi, prijevremenog poroda i neonatalnih smrtnih slučajeva kao posljedica konzumacije vode s povećanim koncentracijama As. Također, zabilježeni su i deformiteti kod novorođenčadi. Prihvatljivije dizajnirane studije su ukazale na smanjenu porođajnu masu (prosjek As u vodi je bio 40 µg/l), ali nisu zabilježile ostale negativne učinke niti pri većim koncentracijama (oko 100 µg/l). Postoje sve bolji dokazi da izloženost As u ranim stadijima života utječe na rast fetusa i novorođenčadi, prvenstveno zbog epigenetskih učinaka, koji kasnije tokom života mogu uzrokovati kronične bolesti (EFSA, 2009).

Što se tiče **neurotoksičnosti**, periferna neuropatija tipično je obilježje akutne i kronične izloženosti iAs-u. Klinički simptomi kod ljudi su utrnulost ruku i stopala te osjećaj bockanja, a zabilježena je i slabost mišića te smanjena osjetljivost na podražaje (EFSA, 2009).

Po pitanju učinaka As na **centralni živčani sustav**, često se javlja encefalopatija (poremećaj i oštećenje funkcija velikoga mozga) uslijed profesionalnih izloženosti iAs-u putem respiratornog sustava. Međutim, encefalopatija je zabilježena i uslijed akutnog unosa iAs u većim količinama (obično >2 mg/kg t.m.), ali nije karakteristična za kroničnu izloženost. As uzrokuje i **razvojnu neurotoksičnost**. Naime, u dobro opisanom incidentu trovanja As dojenčadi u Japanu iz 1955. god., koncentracije As u mlijeku za dojenčad su bile između 4 do 7 mg/l, što odgovara dnevnim dozama od 500 µg/kg t.m. te su ove koncentracije dovele do ozbiljnih štetnih učinaka po dojenčad, uključujući i smrtne slučajeve. U sljedećih 15 do 50 godina, zabilježeno je da su preživjele žrtve bolovale od poremećaja centralnog živčanog sustava kao što su epilepsija, minimalna oštećenja mozga ili mentalna retardacija, što ukazuje na činjenicu da je As razvojni neurotoksin (Yamashita i sur., 1972; Grandjean i Murata, 2007; Dakeishi i sur., 2006).

Povezanost između izloženosti As-u putem vode za ljudsku potrošnju i **kardiovaskularnih bolesti** ispitivana je u mnogobrojnim studijama. Zabilježeno je nekoliko krajnjih učinaka: bolest crnog stopala, povećan broj perifernih vaskularnih bolesti, povećan broj koronarnih bolesti srca s posljedičnom smrtnosti, posebice infarkt miokarda, povećan broj srčanih udara s posljedičnom smrtnosti (EFSA, 2009).

Nekoliko studija je istraživalo potencijalne učinke As iz vode za ljudsku potrošnju na rizik od **dijabetesa** ili **poremećaja metabolizma glukoze**. Studije u kojima se proučavao dio populacije izložen visokim koncentracijama As ukazale su na dodatni rizik, iako i dalje postoje nepoznanice o utjecaju As na pojavnost dijabetesa tipa 2, a također nema dovoljno podataka iz kojih se može uspostaviti odnos između doze i odgovora pri nižim razinama izloženosti (Navas-Acien i sur., 2006).

2. Karakterizacija opasnosti

Jedan od najtežih problema, koji se pojavljuje u području sigurnosti hrane, je kako procijeniti potencijalni rizik po zdravlje ljudi kada se radi o spojevima koji su i kancerogeni i genotoksični, a čija se prisutnost u hrani ne može u potpunosti eliminirati ili izbjeći. Tijekom razvoja procjene rizika kao znanosti, koristilo se nekoliko pristupa

koji su uzimali u obzir činjenicu da se genotoksični kancerogeni razlikuju u svom potencijalu, odnosno u vjerojatnosti da induciraju tumore pri određenoj dozi ili izloženosti. Međutim, korištenje različitih pristupa dovelo je i do različitih zaključaka za isti spoj, zavisno od modela koji se koristio.

Da bi se izbjegle daljnje nesigurnosti i različita tumačenja rizika, međunarodna savjetodavna tijela i institucije su se usuglasili oko korištenja jedinstvenog pristupa, tzv. pristupa granice izloženosti (engl. *Margin of Exposure approach* ili MOE pristup). Ovaj pristup uspoređuje odnos između doze ili izloženosti koja uzrokuje rak kod životinja ili ljudi s procijenjenom izloženosti ljudi toj tvari ili spoju. Pri tome se koristi referentna točka, obično dobivena iz studije na laboratorijskim životinjama kojima se davao kancerogeni spoj tijekom čitavog njihovog života. Referentna točka (ili vrijednost) odgovara dnevnoj dozi koja uzrokuje nisko, ali mjerljivo povećanje u pojavnosti tumora. Ova referentna točka se zatim dijeli s procijenjenom ljudskom izloženosti putem prehrane na tvar od interesa da bi se dobio bezdimenzionalni omjer, odnosno MOE. Nekoliko MOE-a može biti izračunato za pojedinu tvar, ako procjena izloženosti varira među ljudskom populacijom (ILSI, 2009).

JECFA je tijekom svog rada nekoliko puta procjenjivala vrijednosti koje se temelje na zaštiti zdravlja (engl. *Health Based Guidance Values, HBGVs*) od As. Tako je 1983. god. procijenila da se koncentracije As u vodi za ljudsku potrošnju, koje se kreću oko 1000 µg/l, mogu povezati s nekim štetnim učincima kao što su hiperkeratoze, kronični kašalj, Raynaudov sindrom (bolest koja uzrokuje stezanje arteriola u nekim dijelovima tijela) i kronične dijareje koje su zabilježene kod pacijenata oboljelih od hiperpigmentacije i bolesti crnog stopala. Osim toga, JECFA je zaključila da koncentracije As od 100 µg/l mogu biti povezane s nekim znakovima toksičnosti. Pod pretpostavkom da je prosječna dnevna konzumacija vode 1,5 l, JECFA je zaključila da će unos iAs od 1,5 mg/dan najvjerojatnije rezultirati s kroničnom toksičnošću, dok koncentracije od 0,15 mg/dan mogu također biti toksične uslijed dugotrajne izloženosti kod određenog postotka populacije. Na osnovi ovih zaključaka i pretpostavki, uspostavili su privremeni najveći podnošljivi dnevni unos (engl. *Provisional Maximum Tolerable Daily Intake, PMTDI*) od 2 µg/kg t.m. Naknadno je JECFA potvrdila ovu procjenu, ali i pretvorila PMTDI u PTWI ili privremeni podnošljivi tjedni unos od 15 µg/kg t.m. za iAs (FAO/WHO, 1983; 1989).

Međutim, kako je u međuvremenu IARC zaključio da postoji dovoljno dokaza koji povezuju izloženost As s pojavnosti raka mokraćnog mjehura, pluća i kože kod ljudi te ograničenih podataka o pojavnosti raka bubrega, jetre i prostate, CONTAM odbor je zaključio da PTWI više nije adekvatan, kao referentna vrijednost za zaštitu zdravlja. Stoga se CONTAM odbor u svojoj procjeni bazirao na moguće učinke iAs pri relativno niskim razinama izloženosti te na krajnje učinke s dovoljno dokaza o uzročnosti kod ljudi. Podatke dobivene iz studija na eksperimentalnim životinjama nisu smatrali adekvatnima zbog velikih razlika između vrsta, posebno zbog nedovoljno dokaza o kancerogenosti iAs na eksperimentalnim životinjama. Osim toga, zbog niza nesigurnosti iz epidemioloških studija izloženosti, CONTAM odbor je utvrdio raspon vrijednosti za nižu granicu 95 %-tnog intervala pouzdanosti od 1 %-tnog povećanja rizika (BMDL₀₁), umjesto samo jedne referentne točke. U tu svrhu je smatrao da su podaci iz studija o raku mokraćnog mjehura, pluća i kože, koje su uzročno povezane s oralnom izloženosti iAs, kao i podaci o kožnim lezijama, dobar temelj za uspostavu raspona referentnih točaka (EFSA, 2009).

Najniža izračunata BMDL₀₁ vrijednost se odnosi na rak pluća te iznosi 0,34 µg/kg t.m/dan. S druge pak strane, najviša vrijednost BMDL₀₁ se odnosi na rak mokraćnog mjehura i iznosi 7,5 µg/kg t.m/dan. Dakle, raspon vrijednosti **BMDL₀₁** se kretao od **0,3 do 8 µg/kg t.m./dan** (zaokruženo na cijeli broj) (EFSA, 2009).

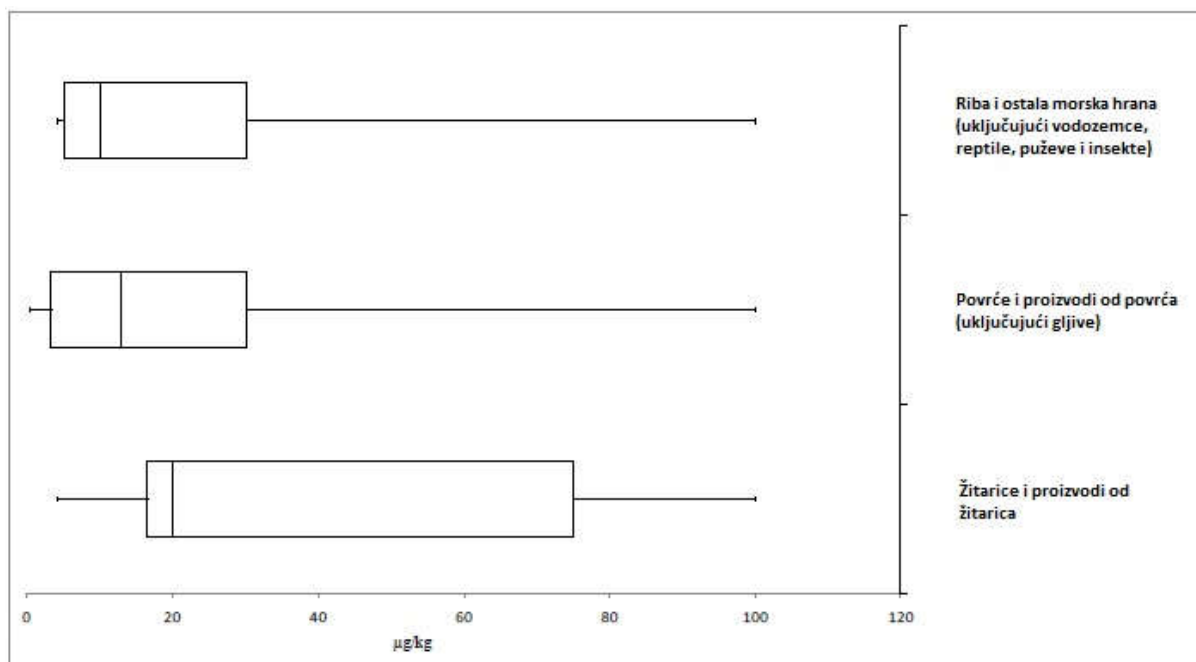
CONTAM odbor je napomenuo i da iAs nema izravnog utjecaja na DNA, nego da postoji još nekoliko predloženih mehanizama kancerogenosti, gdje se za svaki može uspostaviti granica sigurnog unosa. Međutim, uzimajući u obzir nesigurnosti s obzirom na odnos između doze i odgovora, odnosno neadekvatne podatke, nije se smatralo prikladnim iz studija na ljudima procijeniti dozu iAs koja ne bi predstavljala znatan ili mjerljiv rizik po zdravlje, odnosno podnošljivi dnevni ili tjedni unos. Stoga se MOE mora računati između prethodno spomenutog raspona referentnih točaka, tj. BMDL-ova iz studija na ljudima te procijenjene izloženosti na iAs Europljana putem prehrane (EFSA, 2009).

3. Procjena izloženosti

Važniji izvori As u okolišu su vulkanske aktivnosti, otapanje minerala u podzemnim vodama, izgaranje fosilnih goriva, rudarenje, uporaba u drvnoj i tekstilnoj industriji, a u prošlosti i uporaba u proizvodnji zaštitnih sredstava u poljoprivredi. Međutim, u ovom znanstvenom izvješću procjena izloženosti se temelji samo na hrani kao izvoru As.

Kako je navedeno pod podnaslovom „Rezultati istraživanja“, ukupno je bilo 75 uzoraka koji su ravnomjerno raspodijeljeni u 3 glavne kategorije prema FoodEx kategorizaciji namirnica: žitarice i proizvodi na bazi žitarica, mlijeko i mliječni proizvodi te riba i ostala morska hrana. U uzorcima mlijeko i mliječni proizvodi te riba i ostala morska hrana iAs nije kvantificiran. U uzorcima žitarica za doručak, kukuruzne pahuljice (cornflakes), u ukupno 5 uzoraka kvantificiran je u sljedećim koncentracijama: 14, 15, 13, 11 i 13 µg/kg, odnosno u srednjoj vrijednosti od 13,20 µg/kg uz standardnu devijaciju od 1,48, što je također blizu granice kvantifikacije. To znači da je u ukupno 6,67 % uzoraka iz kategorija hrane koje su obuhvaćene ovim istraživanjem iAs kvantificiran, a u 93,33 % nije. Dodatno se mora istaknuti da se općenito radilo o manjem broju uzoraka (svega 75), te da se svi uzorci u kojima je iAs kvantificiran nalaze u istoj kategoriji, štoviše radi se o istom proizvodu, a to su kukuruzne pahuljice.

Usporedbe radi, u prethodno spomenutom EFSA-inom znanstvenom izvješću o izloženosti iAs europske populacije putem hrane (2014. god.), zabilježeno je ukupno 41,9 % uzoraka ispod granice kvantifikacije. Ovdje valja napomenuti da su u tome ZI-u zabilježene različite LOQ vrijednosti, od najniže 0,02 µg/kg do najviše 1000 µg/kg, ali rezultati s LOQ-om većim od 200 µg/kg nisu uzimani u obzir. Na **Slici 2** vide se kretanja LOQ vrijednosti zabilježene na području EU za tri grupe namirnica koje su imale najveći broj uzoraka te se može zaključiti da su LOQ vrijednosti iz EU usporedive s LOQ vrijednosti ustanovljenoj u ovom istraživanju.



Slika 2 Distribucija LOQ vrijednosti unutar 3 kategorije namirnica s najvećim brojem uzoraka (Box-plot: 5., 25., 50., 75. i 90. percentila) (EFSA, 2014)

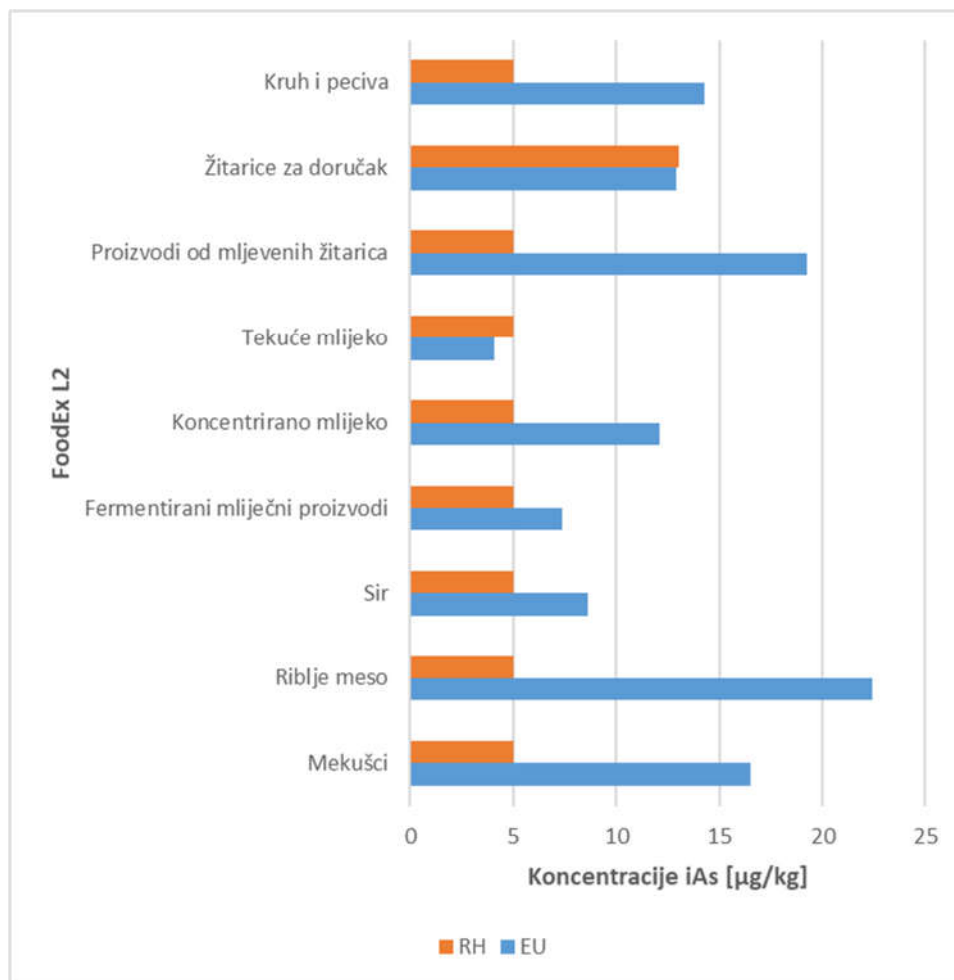
Uspoređujući dalje rezultate iz ove studije s rezultatima na razini EU, bitno je za napomenuti metodologiju pomoću koje je EFSA računala pojavnost iAs u namirnicama s obzirom da su u velikoj mjeri raspolagali samo s podacima o ukupnom As.

Ukupno su imali prijavljeno 103773 rezultata, od čega su 101020 bili dostavljeni kao ukupni As, a 2753 kao iAs. Da bi dobili procjenu izloženosti iAs-u, koristili su faktor konverzije te su pretpostavili da od ukupnog As 70 % otpada na iAs, osim u kategoriji riba i ostale morske hrane gdje su koristili samo podatke o iAs. Osim toga, koristili su standardnu metodologiju za izračune kada su u pitanju podaci ispod LOQ-a te su u tu svrhu koristili tri scenarija: *lower bound* ili LB u kojem su vrijednostima <LOQ pridruživali 0; *middle bound* ili MB u kojem su vrijednostima <LOQ pridruživali ½ LOQ-a te *upper bound* ili UB gdje su koristili stvarnu vrijednost LOQ. Smatra se da prvi scenarij podcjenjuje pojavnost, a treći da precjenjuje, dok je drugi najrealniji. Stoga se MB scenarij koristio u daljnjim prikazima i izračunima, kako u podacima iz EU, tako i u podacima iz ove studije.

U **Tablici 3** i **Slici 2** prikazana je usporedba rezultata pri MB scenariju dobivenih u EU s rezultatima iz RH. Kako je većina rezultata iz RH bila ispod granice LOQ-a, za njih je korištena ½ LOQ-a koja iznosi 5 µg/kg. Vidljivo je da su u velikoj većini slučajeva prosječne koncentracije iAs u EU veće, nego u RH gdje je najveća razlika zabilježena između srdela (34,6 µg/kg u EU u odnosu na 5 µg/kg u RH; **Tablica 3**). Jedini uzorci u RH koji su bili iznad LOQ-a (žitarice za doručak; kukuruzne pahuljice) su imale gotovo identične prosječne vrijednosti kao u EU (12,9 µg/kg u EU u odnosu na 13,20 µg/kg u RH).

Tablica 3 Usporedbe vrijednosti koncentracija iAs pri MB scenariju u EU i RH

EU (RH) [$\mu\text{g}/\text{kg}$]				
FoodEx L2	FoodEx L3	Br. uzoraka	Prosjek EU (RH) [$\mu\text{g}/\text{kg}$] pri MB	Prosjek cijele grupe pri MB
Kruh i peciva	Pšenični kruh i peciva	337 (7)	14,3 (5)	14,3 (5)
Žitarice za doručak	Kukuruzne pahuljice (cornflakes)	15 (5)	12,9 (13,20)	12,9 (13,20)
Proizvodi od mljevenih žitarica	Proizvodi od mljevenog kukuruza (brašno)	21 (5)	24,7 (5)	19,25 (5)
	Proizvodi od mljevene pšenice (brašno)	536 (8)	13,8 (5)	
Tekuće mlijeko	Kravlje	3056 (10)	4,1 (5)	4,1 (5)
Koncentrirano mlijeko	Mlijeko u prahu (kravlje)	111 (5)	12,1 (5)	12,1 (5)
Fermentirani mliječni proizvodi	Jogurt od kravljeg mlijeka	482 (5)	7,34 (5)	7,34 (5)
Sir	Svježi kravljji sir	1278 (5)	8,6 (5)	8,6 (5)
Riblje meso	Skuša	89 (5)	7,7 (5)	22,4 (5)
	Srdele	20 (5)	34,6 (5)	
	Oslić	14 (5)	24,9 (5)	
	Som	- (5)	- (5)	
Mekušci	Lignje	10 (5)	16,5 (5)	16,5 (5)



Slika 3 Usporedbe vrijednosti koncentracija iAs pri MB scenariju u EU i RH

4. Karakterizacija rizika

Uzimajući u obzir najveću i općenito jedinu izmjerenu koncentraciju iAs i to u kukuruznim pahuljicama u vrijednosti od 13,20 µg/kg te najnižu uspostavljenu vrijednost za BMDL₀₁ od 0,3 µg/kg t.m./dan, može se izračunati da bi osoba od 70 kg trebala pojesti dnevno 1,6 kg kukuruznih pahuljica da bi dosegla tu vrijednost BMDL-a, što ne predstavlja realni scenarij. S obzirom da je vrijednost iAs u ostalim namirnicama obuhvaćenim ovim istraživanjem bila ispod granice kvantifikacije, one nisu uopće uzete u obzir prilikom procjene izloženosti. Ovdje je potrebno napomenuti da na nesigurnost dobivenih rezultata najviše utječe mali broj uzoraka unutar pojedinih skupina hrane.

Osim toga, prema neobjavljenim podacima HAH-a o prehranbenim navikama stanovništva RH, prosječna konzumacija kukuruznih pahuljica iznosi 99,38 g/dan te bi uslijed konzumacije pahuljica s koncentracijama od 13,20 µg iAs/kg bilo dosegno tek 6,2 % od prethodno spomenute vrijednosti BMDL₀₁.

Stoga se može zaključiti da je rizik od iAs iz ispitivane hrane zanemariv, odnosno da konzumacija te hrane ne može značajnije doprinijeti ukupnoj izloženosti iAs-u. Iz toga razloga nije bilo potrebno detaljnije računati izloženost niti koristiti MOE pristup.

ZAKLJUČCI

- arsen (lat. *Arsenium*) (As) je metaloid koji se pojavljuje u različitim organskim i anorganskim oblicima od kojih su potonji toksičniji i samim time od većeg interesa za procjenu rizika po zdravlje ljudi
- kod ljudi, topljivi anorganski As se brzo i gotovo u potpunosti apsorbira nakon konzumacije hrane te se nakon toga uvelike distribuira do praktički svih organa, a lako prolazi i placentalnu membranu
- kronična konzumacija anorganskog As kod ljudi je povezana s promjenama na koži (hiperkeratoze pa i rak kože), neurotoksičnosti, kardiovaskularnim bolestima, abnormalnim metabolizmom glukoze i dijabetesom. Također, sve je više dokaza o negativnom utjecaju na razvoj fetusa, ali i novorođenčadi, posebno u pogledu smanjene porođajne težine
- EFSA je uspostavila BMDL₀₁ između 0,3 i 8 µg/kg t.m./dan za povećani rizik od raka pluća, kože i mokraćnog mjehura, kao i kožnih lezija kao referentnu točku
- Europska komisija je izdala *Preporuku (EU) 2015/1381 od 10. kolovoza 2015. o praćenju As u hrani* kojom se države članice pozivaju na aktivno praćenje prisutnosti As u hrani. Posebno je ukazana potreba za praćenjem anorganskog arsena
- laboratorijske analize različitih vrsta As teško su izvedive i obavlja ih relativno mali broj laboratorija, stoga je ovo istraživanje bilo prvo ovog opsega u RH te je pridonijelo uspostavi precizne metode za određivanje iAs
- iAs određen je u ukupno 75 uzoraka hrane podrijetlom iz RH pomoću tekućinskog kromatografskog sustava vezanog na maseni spektrometar s induktivno spregnutom plazmom (LC-ICP-MS), uz utvrđeni utvrđeni LOQ od 10 µg/kg
- u ukupno 70 uzoraka nije kvantificiran iAs, a u 5 uzoraka kukuruznih pahuljica je određen u tek nešto većim koncentracijama od LOQ-a (prosječno 13,20 µg/kg)
- koncentracije iAs su u velikoj većini slučajeva niže ili nekoliko puta niže od prosječnih koncentracija pronađenih u EU, a u slučaju kukuruznih pahuljica su gotovo identične
- da bi osoba od 70 kg dosegla nižu razinu ustanovljenog BMDL₀₁ od 0,3 µg/kg t.m./dan, trebala bi pojesti dnevno 1,6 kg kukuruznih pahuljica u kojima je koncentracija iAs 13,20 µg/kg
- uz prosječnu konzumaciju kukuruznih pahuljica, koja prema neobjavljenim podacima HAH-a o prehranbenim navikama stanovništva RH iznosi 99,38 g/dan, dosegnut će se 6,2 % vrijednosti BMDL₀₁ od 0,3 µg/kg t.m./dan
- prema gore spomenutim izračunima može se zaključiti da je rizik po zdravlje odrasle populacije zanemariv

PREPORUKE

Kako su ovim istraživanjem bile obuhvaćene samo tri glavne skupine namirnica, u bliskoj budućnosti bi se istraživanje trebalo proširiti i na ostale skupine ne bi li se na taj način mogla procijeniti ukupna izloženost od iAs putem hrane i vode.

Što se tiče podataka o štetnim učincima As na zdravlje ljudi, većinom su dobiveni iz studija koje su se provodile na stanovništvu iz Azije i to najčešće iz ruralnih dijelova, odnosno različitih mikrolokacija. EFSA je zbog toga ustvrdila čitav niz nesigurnosti vezano za podatke o toksičnosti As, jer su utvrđene razlike u bioraspoloživosti As između ljudi. Stoga bi epidemiološki podaci na europskoj populaciji bili svrsishodniji za utvrđivanje preciznijeg odnosa između doze i odgovora, a samim time i uspostave referentnih točaka.

LITERATURA (REFERENCE)

Dakeishi M, Murata K, Grandjean P (2006): *Long-term consequences of arsenic poisoning during infancy due to contaminated milk powder*. Environmental Health 5 (31).

EFSA, European Food Safety Authority (2009): *Scientific Opinion on Arsenic in Food*, EFSA Journal 2009;7(10):1351, Parma. Dostupno na: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2009.1351/epdf>

EFSA, European Food Safety Authority (2014): *Scientific Report of EFSA: Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population*. EFSA Journal 2014;12(3):3597, Parma. Dostupno na: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2014.3597/epdf>

EFSA, European Food Safety Authority (2015): *The food classification and description system FoodEx2 (revision 2)*, EFSA, Parma. Dostupno na: <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/assets/804e.pdf>

Europska Komisija: *Preporuka Komisije (EU) 2015/1381 od 10. kolovoza 2015. o praćenju arsena u hrani*. Službeni list Europske unije; L 213, 10-11. 2015.

Europska Komisija: *Uredba Komisije (EU) 2015/1006 od 25. lipnja 2015. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1881/2006 u pogledu najvećih dopuštenih količina anorganskog arsena u hrani*. Službeni list Europske unije L 161, 14-16. 2015.

Europska Komisija: *Uredba Komisije (EU) 2016/582 od 15. travnja 2016. o izmjeni Uredbe (EZ) br. 333/2007 u pogledu analize anorganskog arsena, olova i policikličkih aromatskih ugljikovodika i određenih izvedbenih kriterija za analizu*. Službeni list Europske unije L 101, 3-6., 2016.

European Commission, EC (n.d.): Arsenic. Dostupno na:

http://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/contaminants/catalogue/arsenic_en.htm

Food and Agriculture Organization/World Health Organization, FAO/WHO (1983): *Evaluation of certain food additives and contaminants*. WHO Food Additive Report Series, No. 18. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva.

Food and Agriculture Organization/World Health Organization, FAO/WHO (1989): *Evaluation of certain food additives and contaminants*. WHO Food Additive Report Series, No. 24. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva.

Grandjean P i Murata K (2007). *Developmental arsenic neurotoxicity in retrospect*. *Epidemiology* 18 (1), 25-26.

Hrvatska agencija za hranu, HAH (2014): *Znanstveno mišljenje o prisutnosti žive, olova, kadmija i arsena u akvatičnim organizmima na tržištu Republike Hrvatske*. Dostupno na: http://www.hah.hr/pregled-upisnika/?preuzmi_misljenje=39

IARC, International Agency for Research on Cancer (2012): List of Classifications, Volume 23, dostupno na: http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php

ILSI, The International Life Sciences Institute (2009): *Application of the Margin of Exposure Approach to Compounds in Food which are both Genotoxic and Carcinogenic*. Summary Report of a Workshop held in October 2008. Brisel

Navas-Acien A, Silbergeld EK, Streeter RA, Clark JM, Burke TA, Guallar E (2006): *Arsenic exposure and type 2 diabetes: A systematic review of the experimental and epidemiologic evidence*. *Environmental Health Perspectives* 114 (5), 641-648.

Yamashita N, Doi M, Nishio M, Hojo H, Tanaka M (1972): *Recent observations of Kyoto children poisoned by arsenic tainted „Morinaga Dried Milk“*. *Japanese Journal of Hygiene* 27 (4), 364-399.

Vasić – Rački Đ, Galić K, Delaš F, Klapac T, Kipčić D, Katalenić M, Dimitrov N, Šarkanj B (2010): *Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani*, Hrvatska agencija za hranu (HAH), Osijek.