

Utjecaj pripreme hrane na unos polifenola iz voća i povrća

Jovanović, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:326470>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#) / [Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-06**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Petra Jovanović

UTJECAJ PRIPREME HRANE NA UNOS POLIFENOLA IZ VOĆA I POVRĆA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Zavod za primijenjenu kemiju i tehnologiju

Katedra za ekologiju i toksikologiju

Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Znanost o hrani i nutricionizam

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Nutricionizam

Nastavni predmet: Nutricionistički aspekti pripreme hrane

Tema rada je prihvaćena na III. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 21.12.2021.

Mentor: prof. dr. sc. *Tomislav Klapac*

UTJECAJ PRIPREME HRANE NA UNOS POLIFENOLA IZ VOĆA I POVRĆA

Petra Jovanović, 0055480683

Sažetak: Unos polifenola se povezuje s manjim rizikom raka, kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, imunoloških poremećaja itd, pri čemu na sadržaj i bioraspoloživost polifenola utječe priprema hrane, poput toplinske i hladne obrade ili guljenja. Ovim preliminarnim istraživanjem određen je unos ukupnih polifenola iz voća i povrća 10 osoba veganske i omnivorske prehrane te ispitan utjecaj tehnika pripreme hrane na unos. Ispitanici su ispunili anketu s osnovnim demografskim i antropometrijskim podacima i trodnevni dnevnik prehrane (dva radna dana i jedan dan vikenda). Program za izračun nutrijenata na temelju unosa hrane nadopunjen je literaturnim razinama ukupnih polifenola namirnica prije i nakon postupaka pripreme. Ustanovljen je značajno viši unos ugljikohidrata kod vegana (69 E%), dok su omnivori unosili značajno više ukupnih, zasićenih i mononezasićenih masti te manje vlakana. Obje podskupine su unosile manje Zn od smjernica, a vegani i K i Ca. Uočen je i neadekvatan unos vitamina A, B9, D i E, dok je unos vitamina B12 kod vegana nadomješten suplementacijom. Veganska prehrana je rezultirala gotovo dvostruko većim unosom polifenola iz voća i povrća u odnosu na omnivorsku prehranu (677,8 vs 357,0 mg/dan), ali su omnivori razliku nadoknadili većim unosom polifenola iz kave (576,0 vs 160,0 mg/dan). Stoga se ukupni dnevni unos polifenola iz voća i povrća, kave, čokolade, kakaa i čaja nije znatno razlikovao između podskupina: 1011,0 mg u veganskoj prema 1071,3 mg u omnivorskoj podskupini. Najveći pad unosa polifenola nakon pripreme u odnosu na sirove namirnice uočen je kod ispitanika koji su konzumirali namirnice (kelj pupčar, paprika, tikvice) pripremljene tehnikama koje dovode do najvećih gubitaka, poput kuhanja u vodi.

Ključne riječi: polifenoli, priprema hrane, voće i povrće

Rad sadrži: 60 stranica

6 slika

8 tablica

3 priloga

54 literaturne reference

Jezik izvora: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. prof. dr. sc. *Mirela Kopjar*

2. prof. dr. sc. *Tomislav Klapac*

3. doc. dr. sc. *Valentina Bušić*

4. izv. prof. dr. sc. *Dajana Gašo-Sokač*

predsjednik

član-mentor

član

zamjena člana

Datum obrane: 14.srpnja 2023.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Ecology and Toxicology
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia
Graduate study program Food Science and Nutrition

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Nutrition

Course title: Nutritional aspects of food preparation

Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. III held on December 21, 2021.

Mentor: *Tomislav Klačec*, PhD, professor

INFLUENCE OF FOOD PREPARATION ON INTAKE OF POLYPHENOL FROM FRUIT AND VEGETABLES

Petra Jovanović, 0055480683

Summary: Polyphenol intake is associated with a reduced risk of cancer, cardiovascular diseases, diabetes, immune disorders etc. The content and bioavailability of polyphenols are affected by applied food processing techniques such as heat and cold processing, and peeling. This preliminary study determined total polyphenol intake from fruit and vegetables in 10 vegan and omnivore participants before and after food processing. Participants completed a survey with basic demographic and anthropometric data and a three-day diet diary (two working days and one weekend day). The program for calculating nutrients on the basis of food intake was supplemented with total polyphenol levels in unprocessed and processed fruit and vegetables obtained from the literature. Vegans had a significantly higher intake of carbohydrates (69 E%), while omnivores had higher intakes of total, saturated, monounsaturated fat, and a lower fiber intake. Both subgroups had a lower intake of Zn than adequate levels, and vegans also had lower intakes of K and Ca. Inadequate intake of vitamins A, B9, D, and E was noted, and the deficient intake in vegans was compensated for by supplementation. The vegan diet resulted in almost two times higher intake of polyphenols from fruit and vegetables compared to the omnivore diet (677.8 vs 357.0 mg/day), but omnivores caught up on it with an increased polyphenol intake from coffee (576.0 vs 160.0 mg/day). Total daily intake of polyphenols from fruit and vegetables, coffee, chocolate, cocoa, and tea did not differ much between subgroups: 1011.0 mg in the vegan vs 1017.3 mg in the omnivore subgroup. The greatest drop in polyphenol intake following food preparation was observed in subjects which consumed foods (brussel sprouts, sweet pepper, zucchini) prepared using techniques that lead to biggest losses, e.g. boiling in water.

Key words: polyphenols, food preparation, fruits and vegetables

Thesis contains: 60 pages

6 figures

8 tables

3 supplements

54 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|---|--------------|
| 1. <i>Mirela Kopjar</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Tomislav Klačec</i> , PhD, prof. | supervisor |
| 3. <i>Valentina Bušić</i> , PhD, asst. prof. | member |
| 4. <i>Dajana Gašo-Sokač</i> , PhD, assoc. prof. | stand-in |

Defense date: July 14, 2023

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Sadržaj

1. UVOD	6
2. TEORIJSKI DIO	8
2.1. POLIFENOLI.....	9
2.1.1. Flavonoidi	10
2.1.2. Fenolne kiseline.....	11
2.1.3. Lignani	11
2.1.4. Stilbeni.....	12
2.2. PREHRANA BOGATA POLIFENOLIMA	12
2.2.1. Voće.....	14
2.2.2. Povrće.....	15
2.2.3. Žitarice i mahunarke.....	16
2.2.4. Kava	16
2.2.5. Čaj.....	17
2.2.6. Vino	17
2.2.7. Začinsko bilje i začini	17
2.3. UČINAK POLIFENOLA NA ZDRAVLJE	18
2.3.1. Polifenoli i kardiovaskularni sustav	19
2.3.2. Polifenoli i rak.....	20
2.3.3. Antidiijabetičko djelovanje polifenola	21
2.3.4. Polifenoli i učinak na pretilost.....	21
2.4. UTJECAJ PRERADE NA RAZINE POLIFENOLA U HRANI.....	22
2.4.1. Toplinska obrada	22
2.4.2. Guljenje	23
2.4.3. Hladna obrada	24
3. EKSPERIMENTALNI DIO	25
3.1. ZADATAK	26
3.2. ISPITANICI I METODE.....	26
3.2.1. Ispitanici	26
3.2.2. Metode.....	27

3.2.3. Statistička obrada	28
4. REZULTATI I RASPRAVA	29
5. ZAKLJUČCI	47
6. LITERATURA	49
7.PRILOZI	54

1.UVOD

Polifenoli su biološki aktivne tvari vrlo rasprostranjene u prirodi, koje su značajno prisutne u ljudskoj prehrani. Po svojoj strukturi oni su aromatski spojevi s više hidroksilnih skupina. Rijetko se nalaze u slobodnom obliku, uglavnom su u konjugiranom ili esterificiranom obliku. Postoji više od 8000 polifenolnih spojeva koji su široko rasprostranjeni te nekoliko stotina prehrambenih polifenola pronađenih u prehrani. Prehrambeni polifenoli koji uključuju fenolne kiseline, flavonoide, katehine, tanine, lignane, stilbene i antocijanidine, nalaze se u žitaricama, mahunarkama, voću, povrću, začinima, čokoladama, te pićima poput voćnih sokova, čaja, kave i vina (Rudrapal i sur., 2022).

Istraživanja su pokazala da veći unos voća i povrća u prehrani može smanjiti rizik od razvoja mnogih kroničnih bolesti zahvaljujući velikom sadržaju polifenola. Prehrambeni polifenoli imaju jako antioksidativno djelovanje za zaštitu stanica od reaktivnih kisikovih vrsta (ROS). Time se smanjuje rizik od nastanka kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, raka i neurodegenerativnih bolesti (Rudrapal i sur., 2022).

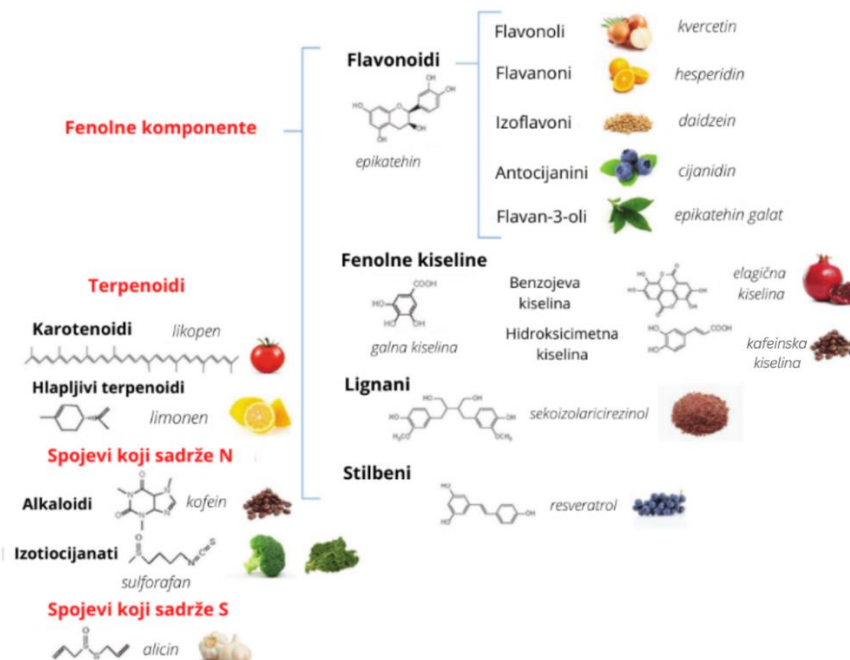
Ovaj rad se fokusira na razumijevanje prehrambenih izvora polifenola i njihovih zaštitnih učinaka, te na utjecaj prerade voća i povrća na razinu polifenola i unos hranom. Ujedno će se ispitati povezanost karakteristika ispitanika (vegani i omnivori) i prehrambenih navika s unosom polifenola.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. POLIFENOLI

Polifenoli su velika skupina bioaktivnih fitokemikalija koji uključuju višestruke podskupine kao što su flavonoidi, stilbeni, fenolne kiseline i lignani. Sekundarni su metaboliti biljaka koji služe kao molekule za obranu od UV zračenja ili napada patogena (Manach i sur., 2004). Voće, povrće, cjelovite žitarice, te čaj, čokolada i vino bogati su izvori polifenola. Raznolikost i široka rasprostranjenost polifenola u biljkama doveli su do različitih načina kategorizacije ovih spojeva. Klasificirani su prema izvoru podrijetla, biološkoj funkciji i kemijskoj strukturi (Tsao, 2010). Ti spojevi su jaki antioksidansi koji djeluju blagotvorno na zdravlje, čak i u malim količinama. Polifenoli su važni za organizam jer djeluju na slobodne radikale, štiteći stanicu od oksidacijskih oštećenja uzrokovanih viškom reaktivnih kisikovih spojeva (engl. Reactive Oxygen Species, ROS) (Tsao, 2010).

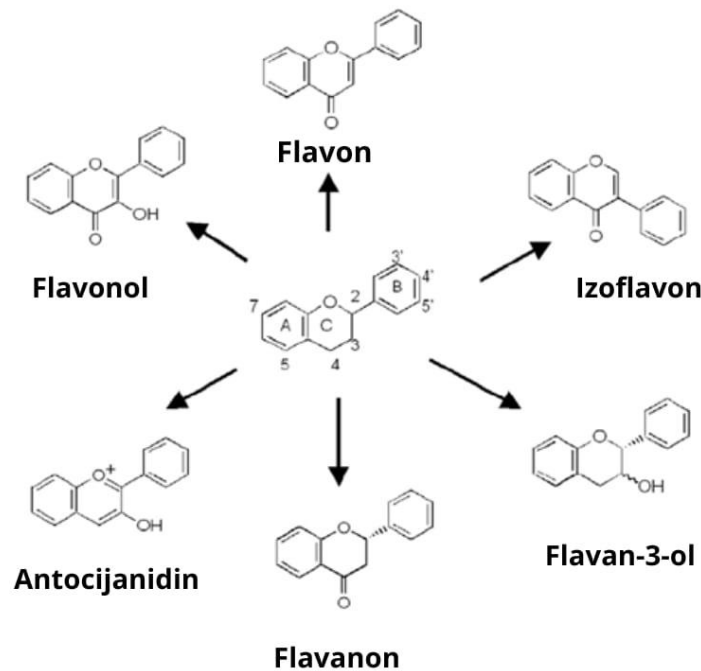
Slika 1 prikazuje osnovnu strukturu nekih ključnih podskupina ovih fenolnih spojeva, te drugih bioaktivnih fitokemikalija, kao što su terpenoidi (npr. karotenoidi), proizvodi koji sadrže dušik (npr. alkaloidi) i sumpor (npr. alicin, sulforafani).



Slika 1 Struktura uobičajenih fitokemikalija (Fraga i sur., 2019).

2.1.1. Flavonoidi

U prirodi postoji više od 8000 polifenolnih spojeva, a najbolje proučena skupina su flavonoidi koji se strukturno temelje na skeletu od 15 ugljika kromanskog prstena spojenog na drugi aromatski prsten (**Slika 2**).



Slika 2 Osnovna struktura flavonoida (Shin i sur., 2011)

Otkriveno je više od 4000 flavonoida od kojih je veliki broj odgovoran za boju cvijeća, voća i listova. Zbog oksigeniranog heterocikla (C), flavonoidi se mogu podijeliti u skupine uključujući flavan-3-ole, flavonole, flavone, izoflavone, flavanone i antocijanidine. Prirodni flavonoidi pohranjeni su u biljkama kao glikozidi i neglikozilirani konjugati, a priroda ostatka može utjecati na njihovu kasniju bioraspoloživost kod ljudi (Fraga i sur., 2019).

Glavni predstavnici u prehrani su kvercetin, miricetin, kempferol i drugi. Najbogatiji izvori su luk, kelj, brokula, poriluk i borovnice. Antocijanidini su pigmenti otopljeni u soku epidermalnog tkiva cvijeća i voća kojemu daju ružičastu, crvenu, plavu ili ljubičastu boju. U ljudskoj prehrani antocijanidini se nalaze u pojedinim vrstama žitarica, mahunarkama, crnom vinu, povrću (patlidžani, kupus, luk, rotkvice), ali najviše ih ima u voću. Flavona najviše ima u celeru i peršinu, flavanona u rajčici, agrumima i metvici, izoflavona u mahunarkama (soja, sojino mlijeko), a flavanola u marelici i čokoladi (Tsao, 2010).

2.1.2. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline su neflavonoidni polifenoli koje dijelimo u dvije skupine: hidroksibenzojeve kiseline i hidroksicimetne kiseline. Hidroksicimetne kiseline su učestalije od hidroksibenzojeve kiseline te se sastoje od *p*-kumarinske, ferulinske, sinapinske i kafeinske kiseline. Rijetko se nalaze u slobodnom obliku, osim u prerađenoj hrani koja je prošla proces fermentacije. Kafeinska i kininska kiselina se spajaju u klorogensku kiselinu koja se nalazi u voću i kavi. Šalica kave sadrži 70-350 mg klorogenske kiseline. Voće koje obiluje hidroksicimetnom kiselinom su borovnice, kivi, šljive, trešnje i jabuke (Manach i sur., 2004). Kafeinska kiselina je najzastupljenija fenolna kiselina i predstavlja između 75 do 100% ukupnog sadržaja hidroksicimetne kiseline u većini voća. Ferulična kiselina je najzastupljenija u žitaricama koje predstavljaju njezin glavni prehrambeni izvor. Najčešće se nalazi u vanjskim djelovima zrna (Pandey i sur., 2009).

2.1.3. Lignani

Lignani su difenolni spojevi koji se sastoje od dvije fenilpropanske jedinice. Najbogatiji prehrambeni izvor su lanene sjemenke koje sadrže sekoizolaricirezinol i matairezinol. Ostale sjemenke, žitarice, voće i povrće također sadrže lignine u tragovima, ali koncentracije u lanenim sjemenkama su tisuću puta veće od koncentracija u tim izvorima hrane (Manach i sur., 2004)

2.1.4. Stilbeni

Stilbeni strukturno imaju kostur C6-C2-C6 s dva izomerna oblika. U ljudskoj prehrani nalaze se u jako malim količinama. Jedan od najpoznatijih je resveratrol, za kojeg su dokazani antikarcinogeni učinci tijekom ispitivanja ljekovitog bilja (Manach i sur., 2004). Resveratrol se nalazi u malim količinama u grožđu, borovnicama, brusnicama i crnom vinu. Dokazano je da različiti oligomeri resveratrola pokazuju široki raspon bioaktivnosti, poput antibakterijskih, antigljivičnih i antivirusnih učinaka. Međutim, s obzirom da se u ljudskoj prehrani nalazi u malim količinama, malo je vjerojatno da ima zaštitni učinak na ljudsko zdravlje (Tian i Liu, 2019).

2.2.PREHRANA BOGATA POLIFENOLIMA

Polifenoli su najzastupljeniji antioksidansi u ljudskoj prehrani, a najveća i najbolje proučene skupine su flavonoidi, fenolne kiseline i tanini. Oni mogu djelovati zaštitno na ljudsko zdravlje zahvaljujući antioksidativnom, antikancerogenom i antibakterijskom djelovanju. Međutim, u nekim se slučajevima smatra da polifenoli smanjuju nutritivnu vrijednost budući da tanini, primjerice, mogu smanjiti probavljivost hrane (Tylewicz i sur., 2018). Sirovo voće i povrće je dobar izvor polifenola. Zbog njihove sezonske prirode se često industrijski prerađuju, pa nastaje značajna količina nusproizvoda (kora, pulpa, sjemenke, koštice, peteljka) koji sadrže vrijedne bioaktivne spojeve poput flavonola, flavanola, antocijanidina i fenolnih kiselina. Žitarice (kukuruz, ječam, zob, raž) su bogate raznim fitokemijskim spojevima kao što su karotenoidi, vitamin E, dijetalna vlakna i β -glukani. Fenolni spojevi u mahunarkama (slanutak, grah, leća, grašak) su bogati taninima, flavonoidima i fenolnim kiselinama. Još jedan dobar izvor polifenola prisutan je u pićima kao što su kava, čaj i vino. Bilje i začini (korijander, ružmarin, majčina dušica, itd.) također obiluju ovim fitokemikalijama (Tylewicz i sur., 2018). Pojedine namirnice i skupine namirnica koje su bogate polifenolima su prikazane u **Tablici 1**.

Tablica 1 Polifenoli u hrani (Manach i sur., 2004)

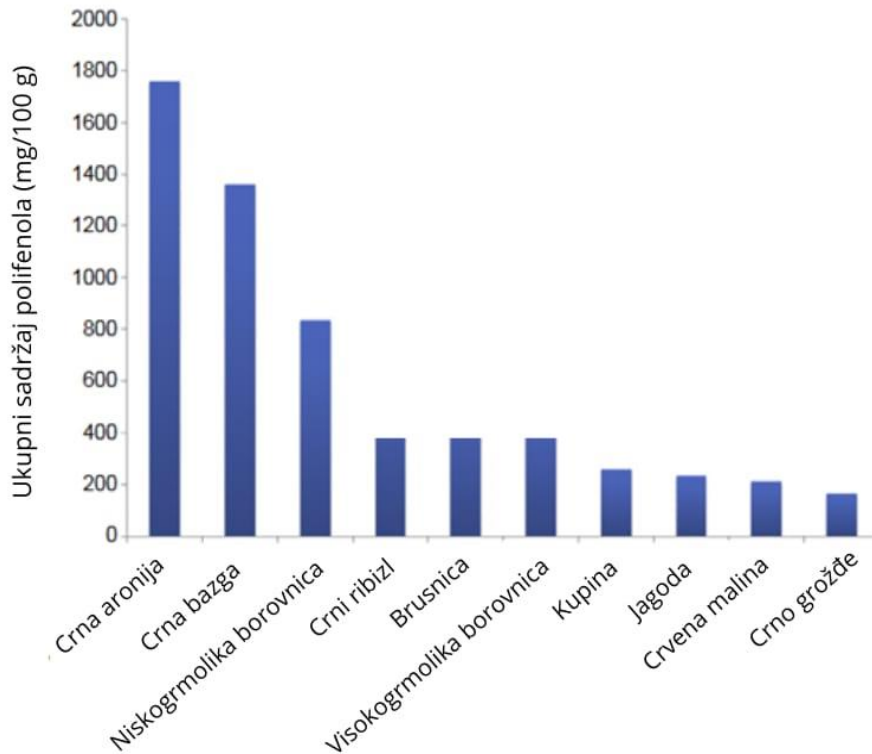
POLIFENOLNE PODSKUPINE	PRIMJERI	IZVOR HRANE
Flavonoli	Kvercetin, miricetin, kempferol, rutin	Crni čaj, zeleni čaj, crno vino, bijelo vino, bademi, orasi, jabuka, borovnica, kupusnjače, špinat, luk
Flavanoli	Katehin, epikatehin	Čokolada, grah, marelica, trešnja, grožđe, trešnja, zeleni čaj, crni čaj, crno vino, kupina, jabuka
Flavanoni	Eriodiktiol, hesperidin, naringenin	Sok od naranče, sok od limuna, sok od grejpfruta
Flavoni	Apigenin, luteolin	Peršin, celer, kajenska paprika
Izoflavoni	Daidzein, genistein, glicitein	Sojino brašno, kuhana soja, miso, tofu, tempeh, sojino mlijeko
Antocijanidini	Delfinidin, malvidin, peonidin, cijanidin	Patlidžan, kupina, crni ribizl, borovnica,

		trešnja, rabarbara, jagoda, crno vino
Hidroksibenzojeva kiselina	Protokatehinska kiselina, galna kiselina, <i>p</i> - hidroksibenzojeva kiselina	Malina, kupina, jagoda, crni ribizl
Hidroksicimetna kiselina	Kafeinska kiselina, klorogenska kiselina, kumarinska kiselina, sinapinska kiselina, ferulična kiselina	Kivi, borovnica, šljiva, trešnja, patlidžan, jabuka, artičoka, krumpir

2.2.1. Voće

Voće je bogat izvor polifenola, prirodnih antioksidativnih spojeva s višestrukim biološkim djelovanjem. Prisutni su u plodovima, sjemenkama i listovima, a njihova količina ovisi o kultivaru, uvjetima uzgoja, zrelosti ploda, vrsti i sorti te dijelu biljke. Jagodasto voće (aronija, crna bazga, crni ribizl, borovnica, kupina, brusnica, jagoda, malina, crno grožđe, itd.) je dobar izvor širokog spektra fenola. Antocijanidini su odgovorni za boju voća i uglavnom se nalaze u njihovoj kožici.

Slika 3 prikazuje ukupni sadržaj polifenola u jagodastom voću (Tylewicz i sur., 2018).



Slika 3 Ukupni sadržaj polifenola u različitim vrstama jagodastog voća (Tylewicz i sur., 2018)

2.2.2. Povrće

Značajka velike većine povrća je veći udio slobodnog oblika polifenola koji prelazi 50% ukupnih fenolnih spojeva. Kupus, mrkva i krumpir sadrže više od 30% vezanih polifenola, što povećava njihovu nutritivnu vrijednost. Krumpir, pored askorbinske kiseline, kalija i vlakana, obiluje polifenolima. Prisutni su u mesu ili kožice krumpira. Utvrđeno je da sorte s ljubičastim mesom sadrže više fenolnih spojeva nego gomolji s bijelim ili žutim mesom. Ostali prehrambeni izvori polifenola su manioka, rajčica, crveni i bijeli luk te kupusnjače (crveni i bijeli kupus, brokula) (Tylewicz i sur., 2018).

2.2.3. Žitarice i mahunarke

Fenolni spojevi u žitaricama pokazuju antioksidativno djelovanje, međutim, nisu ravnomjerno raspoređeni u zrnu žitarica. Ukupna koncentracija fenola je veća u vanjskim slojevima nego u sloju endosperma koji se obično koristi za dobivanje rafiniranog brašna (Kaur i sur., 2014). Zrna pšenice sadrže fenolne kiseline kao što su *p*-hidroksibenzojeva kiselina, vanilinska kiselina, ferulična kiselina ili *p*-kumarinska kiselina. Riža sadrži fenolne kiseline i flavonoide. Među fenolnim kiselinama glavna je ferulična kiselina koja čini više od 70% ukupnih fenolnih kiselina. Važno je naglasiti da rižine mekinje sadrže oko deset puta veću koncentraciju fenolnih spojeva od cijelog zrna riže (Tylewicz i sur., 2018).

Najzastupljeniji fenolni spojevi u mahunarkama su tanini, fenolne kiseline i flavonoidi. Ljuska sjemenki mahunarki je bogata fenolnim spojevima. Što se slanutka tiče, najveći sadržaj polifenola je utvrđen u tamnoj sorti. Stoga obojeni slanutak ima jače antioksidacijsko djelovanje (Segev i sur., 2010). Npr. leća sadrži flavonoide i fenolne kiseline. U crnoj leći je najveći sadržaj polifenola. Fenolne kiseline u leći su hidroksibenzojeva kiselina i njezini derivati. Fenolni spojevi ekstrakata ovojnice sjemenki graška su proučavani zbog njihovog antioksidativnog i antikancerogenog djelovanja. Najveće antioksidativne aktivnosti se pripisuju galnoj kiselini i apigeninu (Tylewicz i sur., 2018).

2.2.4. Kava

U zapadnjačkom načinu prehrane kava je najveći izvor polifenola. Osim stimulativnih svojstava kafeina, kava je bogata flavonoidima (katehini i antocijanidini), kiselinama (klorogenska, kafeinska, ferulična, galna) i rutinom. Nema razloga za pretpostavku da su fenolni spojevi kave manje „zdravi“ od fitokemikalija čaja, povrća ili voća. Kava je primarni prehrambeni izvor fitokemikalija poput fenolnih kiselina i polifenola, čak i usporedbi sa zelenim čajem u Japanu. Na razini populacije, kava osigurava oko 40% polifenola i oko 70% fenolnih kiselina, dok je čaj drugi glavni izvor (Kolb i sur., 2020).

2.2.5. Čaj

Čaj posjeduje jaka antioksidativna svojstva, a fitokemikalije koje su odgovorne za aromu i blagotvorno djelovanja čaja na zdravlje su polifenoli. Dokazano je da zeleni čaj ima puno veće koncentracije polifenola u odnosu na crni ili oolong čaj. U zelenom čaju dominiraju flavonoidi. Epigalokatehin-3-galat (EGCG) je glavni katehin u čaju koji je odgovoran za antioksidativna svojstva. Jedna šalica zelenog čaja sadrži do 200 mg EGCG-a za koji su dokazani kemopreventivni i kemoterapeutski učinci protiv nekoliko vrsta raka (rak pluća, rak debelog crijeva, rak prostate, rak dojki) (Khan i Mukhtar, 2018).

2.2.6. Vino

Vina karakteriziraju visoke razine polifenola koji su odgovorni za njegove pozitivne učinke na ljudsko zdravlje kada se konzumiraju umjereno. Grožđe sadrži veliki broj različitih fenolnih spojeva u ljusci, pulpi i sjemenkama. Fenolni profil u vinu ovisi o sorti grožđa, klimatskim uvjetima, položaju vinograda te skladištenjem vina. Crvena vina, proizvedena od tamnih sorti grožđa sadrže do 3500 mg/L fenolnih spojeva, od kojih se 1000-1800 mg/L klasificiraju kao flavonoidi. Najčešći flavonoidi u vinu su flavonoli (kvercetin, kempferol, miricetin), flavan-3-oli (katehin), tanini, antocijanidini i proantocijanidini (Tylewicz i sur., 2018).

Fenolni spojevi u crnom vinu potječu iz pokožice, sjemenke, peteljke ili pulpe grožđa, koji su vrlo bogati flavanolima koji se prenose u vino tijekom fermentacije. Bijela vina se obično proizvode slobodnim otjecanjem soka, bez da mošt ima kontakt s kožicom grožđa. Ovo je razlog relativno niskog sadržaja polifenola i antioksidativnog potencijala bijelih vina u usporedbi sa crnim (Fuhrman i sur., 2001).

2.2.7. Začinsko bilje i začini

Začinsko bilje i začini se već dugo koriste s ciljem poboljšanja okusa hrane zbog svojih senzorskih svojstava i za produljenje roka trajanja budući da djeluju i kao sredstva za konzerviranje. Također

su vrlo dobar izvor fenolnih spojeva (**Tablica 2**) koji mogu imati blagotvorne učinke na ljudsko zdravlje (Tylewicz i sur., 2018)

Tablica 2 Ukupan sadržaj polifenola za odabrano začinsko bilje i začine (Tylewicz i sur., 2018)

ZAČINI	UKUPNI POLIFENOLI (mg GAE/g suhe tvari)
Sjemenke korijandera	0,94 - 1,09 5,12 - 26,29 ^a
Ružmarin	5,02 ± 0,43 35,29 – 55,50
Timijan	3,36 ± 0,14 4,75 – 8,10 23,12 – 3828,00
Kadulja	4,25 – 5,95 62,20 – 102,83 90,20 – 290,28
Bosiljak	29,74 ± 6,37 približno 2,50
Peršin	23,88 ± 2,63
Origano	2,23 ± 0,18 146,70 ± 5,63
Kurkuma	0,43 ± 0,04 182,00 ± 0,60
Đumbir	11,27 – 11,62 16,00 ± 0,15

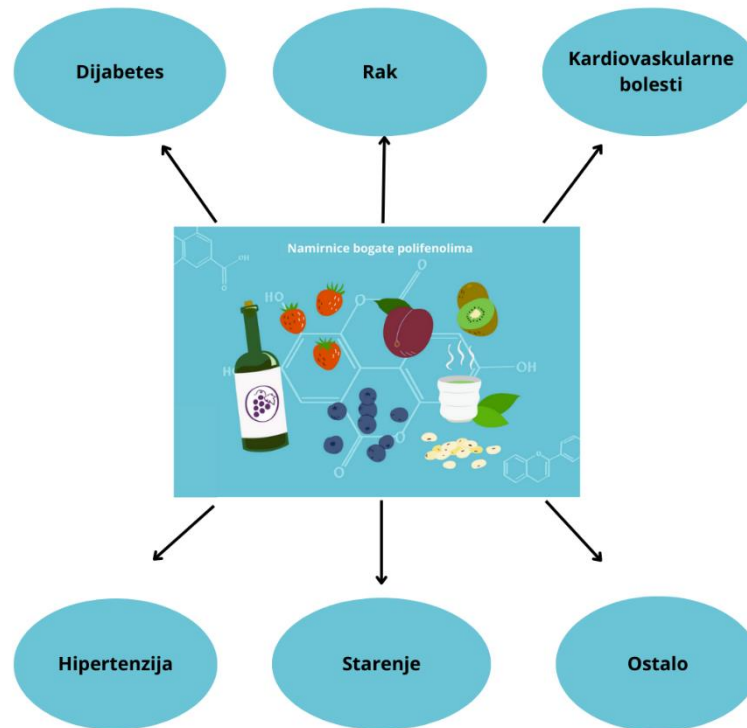
^amg GAE/g sjemenki.

GAE, ekvivalenti galne kiseline; za neke stavke je navedeno više rezultata podrijetlom od različitih autora

2.3. UČINAK POLIFENOLA NA ZDRAVLJE

Brojna istraživanja potvrđuju da polifenoli djeluju zaštitno na ljudsko zdravlje te su ključne komponente zdrave i uravnotežene prehrane. Iako manjak polifenola ne dovodi do specifičnih bolesti, adekvatan unos bi mogao imati koristi za zdravlje, posebno u vidu kroničnih bolesti. Epidemiološke studije povezuju unos flavonoida sa smanjenom učestalošću kroničnih bolesti kao što su kardiovaskularne bolesti, rak, dijabetes i pretilost (Fraga i sur., 2019). Uključenost ROS-ova

u etiologiju ovih degenerativnih stanja sugerira da fitokemikalije koje pokazuju antioksidativno djelovanje mogu doprinijeti prevenciji ovih bolesti (Lima i sur., 2014).



Slika 4 Zdravstvene prednosti polifenola povezane s kroničnim bolestima (Lehman, 2021)

2.3.1. Polifenoli i kardiovaskularni sustav

Posljednjih godina se posvećuje sve više pozornosti blagotvornom djelovanju polifenola na kardiovaskularne bolesti, vodeći uzrok smrti u današnjem svijetu. Polifenoli imaju vazodilatatorske učinke i mogu poboljšati profile lipida i smanjiti oksidaciju lipoproteina niske gustoće. Osim toga, pokazuju jasne protuupalne učinke i mogu modulirati apoptotske procese u vaskularnom endotelu. Većina tih učinaka je posljedica antioksidativnih svojstava polifenola (Quiñones i sur., 2013).

Širok raspon epidemioloških studija i ispitivanja na ljudima je pokazao da polifenoli iz ekstrakta čokolade ili kakaovca, te voća i povrća imaju veće izgleda za sigurnost srca (Abbas i sur., 2016). Pronađena je inverzna korelacija kod koronarne bolesti i konzumacije flavanola, flavonola i

flavona (Arts i Hollman, 2005). Dokazano je smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti za 11% zbog konzumacije tri šalice čaja dnevno. Flavonoidi koji se nalaze u kakau i soji povoljno djeluju na kardiovaskularne bolesti, dok drugi nisu toliko učinkoviti. Prehrana bogata flavanolima, smanjuje učestalost kardiovaskularnih bolesti i hipertenzije. Konzumacijom crnog čaja na dnevnoj bazi se smanjuje rizik od visokog krvnog tlaka. Kava, kakao, crni čaj i sok od ljubičastog grožđa povezani su s kroničnom ili akutnom inhibicijom agregacije i aktivacije trombocita. Vaskularne ozljede koje su povezane s godinama, mogu se spriječiti unosom flavanola i flavonola (Abbas i sur., 2016).

2.3.2. Polifenoli i rak

Mnoge studije sugeriraju da bi prehrana bogata voćem i povrćem, ponajviše zbog doprinosa prirodnih polifenola, mogla smanjiti učestalost određenih vrsta raka. Resveratrol, epigalokatehin-3-galat i kurkumin su među najopsežnije proučavanim jer se većina učinaka koji se pripisuju ovim spojevima, povezuje s njihovim antioksidativnim i protuupalnim svojstvima (Briguglio i sur., 2020).

U posljednjih dvadeset godina studije su pokazale da redovita konzumacija voća i povrća ima obrnut odnos s progresijom nekoliko vrsta raka, uključujući rak prostate i kolorektalni rak. Dokazano je da su polifenoli iz voća i povrća učinkoviti u zaštiti od razvoja raka debelog crijeva (Abbas i sur., 2016).

Među bioaktivnim spojevima prehrane, polifenoli imaju povoljan učinak na crijevnu mikrobiotu, slobodne radikale i upale. Promjena sastava crijevne mikrobiote može značajno utjecati na bioraspoloživost polifenola. Crijevna mikrobiota pokazuje hidrolitičku aktivnost koja može značajno povećati bioraspoloživost polifenola u debelom crijevu. Osim toga, polifenoli se mogu razgraditi u manje fenolne kiseline radi lakše apsorpcije od strane crijevne sluznice (Briguglio i sur., 2020).

Flavanoli zelenog čaja imaju antikancerogena svojstva, te se smatra da konzumacija zelenog čaja uvelike smanjuje rizik od raka žučnog kanala, mjehura, dojke i debelog crijeva (Abbas i sur., 2016).

Bioraspoloživost, a time i učinkovitost ovih spojeva može se poboljšati u kombinaciji s drugim fitokemikalijama, te s lijekovima protiv raka. Mogućnost kombiniranja konvencionalnih lijekova s polifenolima nudi prednosti poput osmišljavanja učinkovitijih terapija protiv raka s manje nuspojava (Briguglio i sur., 2020).

2.3.3. Antidijabetičko djelovanje polifenola

Prehrana je ključni čimbenik koji se može modificirati kako bi se suzbila učestalost degenerativnih bolesti poput dijabetesa. Poremećaj rada i smanjenje broja β -stanica pokazatelj su dijabetesa prije njegovog nastanka (Abbas i sur., 2016).

Uzimajući u obzir središnju ulogu reaktivnih kisikovih vrsta, proizvodnju ROS-a izazvana hipoksijom u mitohondrijskom lancu transporta elektrona i naknadnu aktivaciju upalnog odgovora, može se reći da polifenoli, kao antioksidansi, imaju blagotvoran učinak na poboljšanje nuspojava dijabetesa. Istraživanja na životinjama i ljudima pokazala su da polifenoli smanjuju postprandijalnu hiperglikemiju i hiperglikemiju između obroka, te poboljšavaju akutnu sekreciju inzulina i osjetljivost na inzulin. Mogući mehanizmi uključuju smanjenje apsorpcije glukoze u crijevima i supresiju probave ugljikohidrata, stimulaciju lučenja β -stanica gušterače, modulaciju otpuštanja glukoze iz jetre, aktivaciju inzulinskih receptora i ekspresiju gena. Poboljšanje crijevne mikrobiote polifenolima bi mogao biti zanimljiv cilj za istraživanje potencijalne uloge polifenola u metaboličkoj ravnoteži i gubitku težine. Pozitivni učinci polifenola na homeostazu glukoze su pronađeni u velikom broju *in vitro* životinjskih modela i nekih ispitivanja na ljudima (Aryaeian i sur., 2017).

2.3.4. Polifenoli i učinak na pretilost

Studije *in vitro*, na životinjama i ljudima pokazale su da protuupalni i antioksidativni spojevi u prehrani mogu povećati termogenezu i potrošnju energije te smanjiti upalu i oksidativni stres, čime može doći do gubitka težine (Arfaoui, 2021). Neki polifenoli koji mogu pomoći kod pretilosti su katehini čaja, posebno epigalokatehin-galat (EGCG). Pretklinička studija na životinjama

izvijestila je da EGCG i ekstrakt zelenog čaja olakšavaju gubitak tjelesne težine smanjenjem masne mase u miševa hranjenih hranom s visokim udjelom masti. Drugi polifenoli koji pomažu kod pretilosti uključuju antocijanine, spojeve s velikim antioksidativnim i protuupalnim potencijalom. Malo je kliničkih ispitivanja na ljudima procijenilo učinke hrane bogate antocijaninima povezane s pretilošću, međutim, dostupni podaci sugeriraju da napitci od crne soje i crvene naranče mogu učinkovito smanjiti upalne markere i metaboličke bolesti kod osoba s prekomjernom težinom (Arfaoui, 2021).

2.4. UTJECAJ PRERADE NA RAZINE POLIFENOLA U HRANI

Na sadržaj i bioraspoloživost polifenola utječu primijenjene tehnike prerade hrane. Budući da mnoge metode obrade hrane uključuju toplinsku obradu, vjeruje se da više temperature mogu dovesti do štetnih promjena u voću i povrću u smislu njihovog nutritivnog profila, međutim, neka su istraživanja pokazala sasvim suprotno (Arfaoui, 2021).

Znanstvenici sugeriraju da ako se obrada hrane razumno primjenjuje, ona može poslužiti kao sredstvo za poboljšanje bioraspoloživosti polifenola kroz strukturnu modifikaciju ili razgradnju ishodišnog spoja (Ifie i Marshall, 2018).

2.4.1. Toplinska obrada

Toplinska obrada uključuje kuhanje, prženje, kuhanje na pari, pečenje i pirjanje. Sudbina polifenola tijekom termičke obrade ovisi o primijenjenoj metodi.

Toplina lomi stanične stijenke omogućujući vezanim fenolima migraciju u druge dijelove biljke, povećavajući njihovu dostupnost. No, istodobno su skloniji oksidaciji, a neki su više ili manje termostabilni. Studije koje su primjenjivale toplinske tretmane pokazale su da kuhanje uzrokuje najštetnije promjene sastava polifenola u tretiranim uzorcima. Kuhanje na pari i prženje mogu sačuvati veće količine ovih spojeva. Temeljni razlozi su topljivost dijela fenola u vodi i razgradnja tkiva toplinskom obradom, što omogućuje migraciju staničnih komponenti i hranjivih tvari u kipuću vodu. Predloženo je da bi polarni mediji (voda) mogli biti odgovorni za veće gubitke zbog

topljivosti polifenola u vodi, dok bi nepolarni mediji (ulje) ekstrahirali manje količine polifenola netopljivih u lipidima (Arfaoui, 2021).

Procijenjen je utjecaj domaće obrade (blanširanje, sjeckanje i kuhanje) na sadržaj flavonola u luku i šparogama: sjeckanje je uzrokovalo značajno smanjenje sadržaja rutina u šparogama, ali nije utjecalo na razine kvercetina u luku (Ifie i Marshall, 2018). Kuhanje od 60 minuta proizvelo je najveće smanjenje ukupnih flavonola, što ukazuje da se utjecaj toplinskog zagrijavanja na flavonole u ovim biljnim izvorima ne može zanemariti. Kada se brokula prerađivala kuhanjem ili prženjem, gubici u derivatima kvercetina bili su slični, dok je kuhanjem na pari zadržana veća količina derivata kvercetina (Ifie i Marshall, 2018). Isti su autori također izvijestili da je s prerađenim lukom, bez obzira na tehniku obrade (kuhanje, prženje, mikrovalna ili blanširanje), smanjenje kvercetina bilo slično.

Različita vremena termičkog tretmana utječu na razine polifenola u hrani. Na primjer, blanširanje lišća kelja dovelo je do 51% smanjenja udjela polifenola (fenolne kiseline, flavoni, flavonoli i antocijanini), od čega je najmanji pad razina uočen za kafeinsku kiselinu (28%), a najveći za feruličnu kiselinu (55%). Međutim, dulje kuhanje uzrokovalo je veću štetu, što je rezultiralo smanjenjem ukupnog sadržaja polifenola od 73% (Arfaoui, 2021).

2.4.2. Guljenje

Guljenje je jedan od nužnih koraka pripreme za industrijsku i domaću obradu hrane. Kora mnogih vrsta voća i povrća sadrži veće koncentracije bioaktivnih spojeva od ostalih dijelova. Neki od njih se odbacuju kao poljoprivredni otpad i kao takvi se mogu iskoristiti za ekstrakciju ovih vrijednih spojeva. Na primjer, kore citrusa obiluju fenolnim spojevima, poput flavanona, flavona, flavonola i antocijana. Kore nekih uobičajenih vrsta voća (jabuka, banana, mandarina i nektarina) izvori su polifenola koji se ne ekstrahiraju. U nekim slučajevima ovaj korak pripreme ne utječe značajno na antioksidativni kapacitet namirnice jer se neke namirnice konzumiraju bez kore, kao u slučaju banane i citrusa. Međutim, primjerice, bijeli potkorni sloj u citrusima je bogat polifenolima, pa uklanjanje tog sloja može dovesti do nižeg sadržaja polifenola u konzumiranom voću. Osim toga,

neko voće i povrće može se konzumirati sa ili bez kore pa razlika u razinama polifenola može biti značajna (Arfaoui, 2021).

Studija koja je istraživala kako različiti režimi toplinske obrade utječu na flavonoide luka (kvercetin i kempferol) pokazala je da je korak predobrade (guljenje i rezanje) uzrokovao najveći gubitak sadržaja flavonoida u luku (do 39%). Kako luk sadrži više slojeva, autori su u nekim slučajevima ogulili samo jedan sloj, a u drugim nekoliko slojeva, što je rezultiralo značajnim smanjenjem sadržaja flavonoida. Ovo smanjenje sadržaja flavonoida moglo bi biti posljedica činjenice da se 90% kvercetina nalazi u prvom i drugom sloju luka (Arfaoui, 2021).

2.4.3. Hladna obrada

Zamrzavanjem se zaustavlja aktivnost većine patogenih mikroorganizama i omogućuje dulji rok trajanja namirnica. Hlađenje smanjuje mikrobne i biokemijske promjene u hrani kako bi se održala stabilnost, ali u manjoj mjeri (raspon temperature je između -1 i 8 °C). Zamrzavanje na -30 °C svježih crvenih malina nije promijenilo njihov antioksidativni kapacitet ili razine fenola, mjerene kao ukupni fenoli, antocijanini i elaginska kiselina (Arfaoui, 2021). Međutim, u nekim slučajevima, ove tehnike mogu čak povećati sadržaj polifenola, kao što je u maqui bobicama u kojem je hlađenje (5 °C) i zamrzavanje (-20 °C) povećalo ukupnu koncentraciju polifenola. Zamrznuti uzorci imali su više razine antocijanidina, a promjene su bile varijabilne. Osim toga, tehnika zamrzavanja bila je bolja u smislu očuvanja ovih antioksidansa, jer su bili prisutni u ovim uzorcima čak i nakon šest mjeseci skladištenja (Arfaoui, 2021).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog istraživanja bio je odrediti unos polifenola iz voća i povrća na temelju prehrane nekoliko omnivorskih i veganskih ispitanika te ispitati utjecaj tehnika pripreme hrane na unos. Ispitanici su ispunili trodnevni dnevnik prehrane (dva radna dana i jedan dan vikenda) te je određena povezanost karakteristika ispitanika i prehrambenih navika s unosom polifenola.

3.2. ISPITANICI I METODE

Novačenje ispitanika i prikupljanje podataka te uzoraka je provedeno između listopada 2020. i veljače 2021. godine. Anonimizirani podaci korišteni u diplomskom radu su dio većeg istraživanja te samo voditelj Tomislav Klapac ima uvid u osobne podatke ispitanika. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije u ožujku 2020. godine.

3.2.1. Ispitanici

Obrađeni su podaci pet ispitanika veganskog tipa prehrane i pet svejeda. Osnovne značajke podskupina ispitanika su navedene u donjoj tablici. U **Tablici 3** je vidljivo da nema značajne razlike između srednjih vrijednosti vrijednosti indeksa tjelesne mase (BMI) i starosti podskupina odabranih ispitanika.

Tablica 3 Osnovni podaci ispitanika

Tip prehrane	Dob/god. \pm SD	Visina/cm \pm SD	Masa/kg \pm SD	BMI \pm SD
Veganski (N = 5)	34,2 \pm 7,9	171,8 \pm 12,7	65,8 \pm 13,3	22,2 \pm 2,7
Omnivorski (N = 5)	35,0 \pm 4,8	169,6 \pm 12,4	63,0 \pm 16,8	21,5 \pm 2,6

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Anketa

Ispitivanje je uključivalo popunjavanje upitnika s osnovnim antropometrijskim i sociodemografskim podacima te pitanjima vezanim uz prehrambene navike, pušenje i tjelesnu aktivnost, koji je ispitanicima dostavljen elektronskom poštom (**Prilog 1**). Ispitanici su također vodili tri dnevnika prehrane (dva radna dana i jedan dan vikenda) ispunjavanjem obrazaca dostupnih preko interneta (Google Forms) (**Prilog 2**). Ispitanicima su s poveznicama na obrasce za unos konzumirane hrane poslani i detaljne upute za vođenje dnevnika prehrane (**Prilog 3**).

3.2.2.2. Izračun unosa sastojaka hrane

Na temelju dnevnika prehrane koji su dobrovoljci ispunjavali tijekom tri dana, izračunat je prosječni dnevni unos nutrijenata te unos polifenola za svakog dobrovoljca pojedinačno, pomoću programa NutriPro kreiranog za obradu podataka o unosu namirnica i jela. Određen je unos energije, ukupnih bjelančevina, ukupnih masti, zasićenih masti, jednostruko i višestruko nezasićenih masti, ukupnih ugljikohidrata, vlakana, vitamina i minerala, te polifenola iz voća i povrća prije i poslije obrade.

Vrijednosti polifenola u voću i povrću prije i poslije obrade su preuzeti iz tri izvora dostupna na internetu:

1. Phenol-Explorer: Database on Polyphenol Content in Foods (Rothwell i sur., 2013).
2. USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods (Bhagwat i Haytowitz, 2015).
3. USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods (Haytowitz i sur., 2018).

Podaci o gubicima polifenola poslije prerade hrane prikupljeni su uglavnom iz Phenol-Explorer baze u kojoj je dostupan sadržaj ukupnih polifenola u sirovom i prerađenom voću i povrću. Baza na temelju relevantnih istraživanja određuje Faktor zadržavanja (Retention factor) i Faktor prinosa (Yield factor) prema jednadžbama kako slijedi:

Faktor zadržavanja = (koncentracija polifenola u prerađenoj hrani)/(koncentracija polifenola u sirovoj hrani) × faktor prinosa

Faktor prinosa = (težina hrane nakon obrade)/(težina hrane prije obrade)

Ukoliko su se vrijednosti ukupnih polifenola iz različitih izvora razlikovali, izračunata je srednja vrijednost.

Pronađene su sve vrijednosti ukupnih polifenola kod voća i povrća prije i poslije obrade, osim za kuhanu jabuku i blitvu. Što se tiče kuhane jabuke, korištena je vrijednost za kašu od jabuka (applesauce) jer se ona termički obrađuje, što je vrlo slično obradi navedenoj u dnevniku prehrane. Umjesto kuhane blitve korištena je vrijednost za kuhani špinat jer je riječ o lisnatom povrću pa su gubici vjerojatno slični.

3.2.3. Statistička obrada

Obrada podataka provedena je u programima MS Office Excel (Microsoft) i Statistica (TIBCO Software). Izračunati su srednja vrijednost, standardna devijacija i raspon varijabli. Razlika između dvije nezavisne varijable testirana je neparametrijskim Mann-Whitneyevim U-testom. Spearmanov koeficijent korelacije je izračunat radi procjene povezanosti neparametrijskih varijabli. Statistički značajnim razlikama ili korelacijama smatrane su one kojima je p-vrijednost bila manja od 0,05.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Prosječni dnevni unosi energije, makronutrijenata (proteini, masti i ugljikohidrati) i vlakana za svakog ispitanika prikazani su u **Tablici 4**.

Tablica 4 Prosječni dnevni unos (srednja vrijednost \pm SD) energije, makronutrijenata i vlakana ispitanika

Ispitanici	Unos energije /kcal	Unos proteina /g	Unos masti /g	Unos ugljikohidrata /g	Unos vlakana /g
PNx11	2537 \pm 593	40,5 \pm 14,1	53,2 \pm 55,7	304,7 \pm 103,8	15,6 \pm 5,4
PNx14	1153 \pm 623	74,9 \pm 86,5	29 \pm 0,6	162,7 \pm 85,4	21,1 \pm 8,5
PNx16	2250 \pm 116	69,7 \pm 15,5	76,4 \pm 5,8	338,1 \pm 39,4	32,7 \pm 5,7
PNx19	1720 \pm 954	105,1 \pm 116,2	47 \pm 31,5	238,5 \pm 82,3	32,7 \pm 5,9
PNx36	1087 \pm 214	49,3 \pm 8,9	17,7 \pm 6,3	194,9 \pm 46,8	17,7 \pm 3,9
PNz124	1464 \pm 432	58 \pm 23,4	67,8 \pm 21,6	160,3 \pm 73,5	8,9 \pm 5,7
PNz129	1971 \pm 432	68,1 \pm 9,1	91,6 \pm 27,7	228,6 \pm 57,7	14,1 \pm 8,4
PNz130	3000 \pm 1117	129,3 \pm 48	204 \pm 113,3	166,1 \pm 43,2	21 \pm 9,7
PNz131	2549 \pm 917	100,2 \pm 15,2	151,3 \pm 91,5	205,7 \pm 34,5	20 \pm 7,2
PNz134	1997 \pm 766	95,9 \pm 39,9	65,8 \pm 24,6	229,4 \pm 97,6	12,7 \pm 9,6

Ispitanici iz veganske podskupine su unosili prosječno 1749 \pm 645 kcal/dan, a omnivori prosječno 2196 \pm 591 kcal/dan, pri čemu razlika nije bila statistički značajna ($p = 0,296$). Viši unos energije svejeda u odnosu na vegane je zabilježen u većem broju studija (Bakaloudi i sur., 2021).

Omnivori su unosili više proteina, prosječno 90,3 \pm 28,2 g/dan, dok su vegani unosili 67,9 \pm 25,2 g/dan ($p = 0,403$). Niži unos proteina veganske podskupine bi se mogao objasniti nekonзумacijom namirnica životinjskog podrijetla, što je utvrdio niz istraživanja (Waldmann i sur., 2003). Ipak, u diplomskom radu Budimir (2022) ispitanice veganske skupine uključene u istraživanje nisu imale značajno niži unos proteina u odnosu na ispitanice omnivorske skupine. EFSA je utvrdila AR

vrijednost (eng. *average requirement*; prosječna potreba, odnosno unos koji zadovoljava dnevne potrebe polovice ljudi u tipičnoj zdravoj populaciji) od 0,66 g/kg i PRI vrijednost (eng. *population reference intake*; referentni unos populacije, odnosno unos koji će zadovoljiti potrebe gotovo svih ljudi u tipičnoj zdravoj populaciji) od 0,83 g/kg (EFSA, 2019). Prosječni unosi proteina u ovom istraživanju po masi ispitanika za vegane je iznosio $1,1 \pm 0,8$ g/kg, a za omnivore $1,4 \pm 0,4$ g/kg, što je znatno više od referentnih vrijednosti.

Unos ugljikohidrata za vegane je iznosio $247,8 \pm 71,5$ g/dan, a za omnivore $198 \pm 61,3$ g/dan, iako nije dosegao statistički značajnu razliku ($p = 0,296$). EFSA smatra da unos ugljikohidrata tj. RI vrijednost treba biti 45-60% dnevnog energetskeg unosa (EFSA, 2019). Unos ispitanika veganske skupine bio je prosječno $69 \pm 0,6$ E%. Prosječni unos ugljikohidrata za omnivore je iznosio $49 \pm 0,4$ E%. Alexy i suradnici (2021) su uspoređivali prehrambeni unos i antropometrijske karakteristike njemačke djece na vegeterijanskoj, veganskoj i omnivorskoj prehrani. Prosječni unos ugljikohidrata bio je statistički značajno veći kod vegetarijanaca i vegana nego kod omnivora, kao i u ovom radu.

Što se tiče vlakana, vegani su prosječno unosili $24 \pm 8,2$ g /dan, a omnivori $15,4 \pm 5,1$ g/dan. Preporučeni dnevni unos za odraslu populaciju prema Europskoj agenciji za sigurnost hrane iznosi 25 g/dan (EFSA, 2010a). Vlakna blagotvorno utječu na probavu, te su prisutna u voću, povrću, mahunarkama i žitaricama. Veganska prehrana se temelji na namirnicama biljnog podrijetla koje su bogate vlaknima, stoga im je prosječni unos viši nego kod omnivora.

Omnivori su imali značajno ($p = 0,037$) viši prosječni unos masti ($116,1 \pm 60$ g/dan) u odnosu na vegane ($44,6 \pm 22,7$ g/dan). Referentni raspon unosa (RI) za masti iznosi 20 – 35 E% (EFSA, 2010b). Ispitanici veganske skupine unijeli su masti u prosječnom energetskeg udjelu $12,4 \pm 0,2$ E%, a ispitanici iz omnivorske skupine $29 \pm 0,4$ E%.

Slične rezultate su utvrdili Menzel i sur. (2022) uz veći unos masti kod omnivora (104 g/dan) u usporedbi s veganima (86 g/dan). Izuzetno niski unos ukupne masti i doprinos unosu energije je slučajno odstupanje među odabranim veganskim ispitanicima koje nije karakteristično za cjelokupnu vegansku populaciju (90ak ispitanika) koja je sudjelovala u istraživanju. Štoviše, u uzorku 20 veganki je doprinos dnevnom unosu masti bio 26,8%, što je u okviru RI raspona.

Tablica 5 prikazuje prosječni dnevni unos za sve podskupine masti.

Tablica 5 Prosječni dnevni unos (srednja vrijednost \pm SD) zasićenih, mononezasićenih, polinezasićenih masnih kiselina i linoleinske kiseline ispitanika

Tip prehrane	Zasićene m.k. /g	Mononezasićene m.k. /g	Polinezasićene m.k. /g	Linoleinska kiselina /g
Veganska (N = 5)	9,5 \pm 4,9	14,3 \pm 4,5	20,5 \pm 13,1	18,2 \pm 12,8
Omnivorska (N = 5)	46,3 \pm 22,3	44,5 \pm 28,3	20,3 \pm 9,9	17,0 \pm 8,5

Prosječni unos zasićenih (eng. *saturated fatty acids*, SFA) i mononezasićenih masti (eng. *monounsaturated fatty acids*, MUFA) omnivorske podskupine ispitanika je bio minimalno triput viši od unosa vegana (SFA: $p = 0,012$, MUFA: $p = 0,022$).

Prehrana s visokim udjelom zasićenih masnih kiselina doprinosi riziku od kardiovaskularnih bolesti, velikim dijelom zbog učinka na povećanje koncentracije lipoproteinskog kolesterola niske gustoće (LDL-C) (Maki i sur., 2021). Rezultati opservacijskih studija pokazuju da je prehrana s nižim prosječnim unosom SFA povezana s povoljnim kardiovaskularnim ishodima. Prema mišljenju autora, dokazi podupiru trenutnu preporuku o ograničavanju unosa SFA na <10% ukupne dnevne energije za opću zdravu populaciju, ponajprije iz mesa i maslaca. Prosječni doprinos zasićenih masti dnevnom unosu energije je bio 4,9 E% u veganskoj i 19,0 E% u omnivorskoj skupini.

Menzel i suradnici (2022) su također ustanovili manji unos MUFA u usporedbi sa omnivorima, što je izravna posljedica prehrambenih navika.

Prosječne vrijednosti unosa polinezasićenih masnih kiselina (eng. *polyunsaturated fats*, PUFA) i linoleinske kiseline veganske i omnivorske skupine se nisu statistički značajno razlikovale (**Tablica 5**). Polinezasićene masne kiseline uključuju n-3 (ω -3) i n-6 (ω -6) masne kiseline. PUFA su neophodne za rad mozga, živaca, prevenciju neurodegenerativnih bolesti, kao i za prevenciju

kardiovaskularnih bolesti i infekcija. Unos PUFA i MUFA, naročito iz ribe i morskih plodova te biljnih izvora, ima dokazano kardioprotektivno djelovanje (Mozaffarian, 2016).

Prosječni dnevni unos minerala je prikazan u **Tablici 6**.

Tablica 6 Prosječni dnevni unos (srednja vrijednost \pm SD) minerala ispitanika

Tip Prehrane	Na /g	K /g	Ca /mg	Mg /mg	P /mg	Fe /mg	Zn /mg	Cu /mg	Se / μ g
Veganska (N = 5)	3,5 \pm 1,0	2,5 \pm 0,7	361 \pm 78,2	245,3 \pm 98,4	956,3 \pm 253,7	16,4 \pm 5,4	4,9 \pm 0,8	1,9 \pm 0,8	73,0 \pm 17,8
Omnivorska (N = 5)	3,3 \pm 1,3	3,9 \pm 1,7	891,9 \pm 343,5	284,0 \pm 122,3	1526,2 \pm 653,1	11,5 \pm 3,5	3,7 \pm 1,5	0,8 \pm 0,2	120,0 \pm 39,8

EFSA (2019) je odredila siguran i adekvatan unos natrija od 2000 mg/dan. Uvidom u **Tablicu 6** s prosječnim dnevnim unosom je vidljivo da su vegani i omnivori unosili više od DRV vrijednosti (eng. *dietary reference values*, DRV). Ljudski organizam najviše natrija dobiva iz kuhinjske soli, a namirnice koje sadrže puno soli su prerađena hrana, suhomesnati proizvodi i gotova hrana. Rizik od kardiovaskularnih bolesti se povećava do 6% za svaki gram povećanog unosa natrija hranom (Wang i sur., 2020).

Unos kalija kod vegana je bio manji od 3500 mg/dan (**Tablica 6**), količine koju EFSA smatra adekvatnom (eng. *adequate intake*, AI) (EFSA, 2016a) te niži od unosa omnivora ($p = 0,095$). Prehrana bogata kalijem, kao što su voće, povrće, nemasni mliječni proizvodi utječe na smanjenje krvnog tlaka i na smanjenje izlučivanja kalcija, te samim time smanjuje rizik od nastanka osteoporoze (Stone i sur., 2016). Mršić (2022) je utvrdila srednji unos kalija veganskih ispitanica od $2602,6 \pm 862,3$ mg/dan, pri čemu je 80% ispitanica (16/20) imalo niži unos od AI vrijednosti, dok je u ovom radu 100% ispitanika (5/5) je imalo niži unos. U svakom slučaju, nedovoljan unos kalija može ukazivati na nedovoljan unos voća i povrća, što je neobično i zabrinjavajuće za vegansku populaciju.

Unos kalcija kod vegana (**Tablica 6**) je bio značajno niži od unosa omnivora ($p = 0,012$) i znatno niži od referentnog unosa stanovništva, tj. PRI vrijednosti, koji iznosi 1000 mg/dan. Svi ispitanici su imali unos kalcija niži od referentne vrijednosti, vjerojatno zbog izbjegavanja unosa mlijeka i mliječnih proizvoda, uslijed čega se preporučuje suplementacija. Pregledom anketa ustanovljeno je da četiri od pet veganskih ispitanika ne uzima suplemente kalcija. Larsson i sur. (2002) su uočili niži unos kalcija vegana nego omnivora. Vegani su u toj studiji unosili dodatke prehrani i tekućine obogaćene kalcijem kako bi nadoknadili 35% svog unosa kalcija, dok omnivori dobivaju 69% kalcija iz mliječnih proizvoda. Vegani trebaju umjesto mliječnih proizvoda konzumirati griz, tofu, lisnato zeleno povrće (kelj, brokula, kupus) te obogaćene napitke od soje.

AI vrijednost unosa magnezija od 300 mg/dan (EFSA, 2015e) nije postiglo 60% ispitanika iz veganske i omnivorske podskupine (**Tablica 6**), uz nešto viši prosječni unos omnivora ($p = 0,676$). Magnezij ima važnu ulogu u brojnim fiziološkim funkcijama. Nizak unos i općenito nedostatak ovog mikronutrijenta izaziva promjene u biokemijskim putovima koji mogu povećati rizik od

bolesti, posebno kroničnih degenerativnih bolesti (Fiorentini i sur., 2021). Odličan izvor magnezija je zeleno lisnato povrće jer je magnezij dio klorofila, zelenog pigmenta u biljkama. Isto tako ga ima u indijskim oraščićima, orasima, mekinjama, smeđoj riži.

Obje podskupine ispitanika su imale adekvatan dnevni unos fosfora (AI = 550 mg/dan) (EFSA, 2015f) i selena (AI = 70 µg/dan) (EFSA, 2014c). Srednji unosi su za oba elementa bili viši kod omnivora, ali razlike nisu dosegle statističku značajnost ($p = 0,095$).

Iz **Tablice 6** je vidljivo da su više željeza unosili veganski nego omnivorski ispitanici ($p = 0,095$). Larsson i sur. (2002) su slično ustanovili veći unos željeza veganski (isključujući suplemente) u odnosu na omnivorke. Međutim, unos je bio sličan kada su uključeni dodaci prehrani. Nizak status željeza bio je jednako čest među omnivorima kao i među veganima, unatoč tome što su vegani unosili samo nehemsko željezo, koje ima nižu stopu apsorpcije od henskog željeza i veći unos dijetalnih vlakana i vjerojatno fitinske kiseline, koji smanjuju bioraspoloživost željeza. Bioraspoloživost željeza može se povećati kombiniranjem unosa željeza s unosom prehranbenih namirnica s visokim udjelom vitamina C i smanjenjem unosa fitinske kiseline, kroz fermentaciju kvasca od cjelovitog pšeničnog brašna prilikom pečenja kruha, te smanjenjem unosa tanina koji se nalaze u čaju i kavi (Larsson i sur., 2002).

Prema smjernicama EFSA-e za područje EU, referentni unos stanovništva za odrasle, PRI vrijednost, za cink iznosi 7,5 – 12,7 mg/dan, ovisno o unosu fitata od 300 do 1200 mg/dan. Nijedan veganski ni omnivorski ispitanik nije unosio dovoljno cinka putem prehrane (**Tablica 6**). Cink je bitan mineral u tragovima za zdravlje i rast tkiva, imunološki odgovor, proizvodnju prostaglandina, mineralizaciju kosti, zgrušavanje krvi i slično. Potreban je za biološku aktivnost enzima i staničnu proliferaciju (Mocchegiani i sur., 2013).

Studije su pokazale da se veganskom prehranom unosi najviše bakra u odnosu na ostale tipove prehrane (Schüpbach i sur., 2017). Statistički značajno viši unos ($p = 0,012$) je uočen i u ovom istraživanju (**Tablica 6**). Adekvatan unos bakra je 1,3 mg/dan (EFSA, 2019). Rezultati u ovom radu su u skladu s istraživanjem Hunt i Vandepool (2001) koji su uspoređivali prehranu laktoovovegetarijanaca i omnivora. Laktoovovegetarijanci su prosječno unosili 2,2 mg/dan, dok su omnivori unosili 1,5 mg/dan. Bakar je važan katalizator za sintezu hema i apsorpciju željeza te

pomaže u tvorbi hemoglobina. Nalazi se u namirnicama poput školjki, orašastih plodova, iznutrica, sjemenki, gljiva i sl. (Barceloux, 1999).

Tablica 7 prikazuje prosječni dnevni unos (srednja vrijednost \pm SD) vitamina kod ispitanika obje skupine.

Tablica 7 Prosječni dnevni unos (srednja vrijednost \pm SD) vitamina ispitanika

Tip prehrane	Vit A / $\mu\text{g RE}$	Karoteni / μg	Vit B1 /mg	Vit B2 /mg	Vit B3 /mg	Vit B6 /mg	Vit B9 / μg	Vit B12 / μg	Vit C /mg	Vit D / μg	Vit E /mg	Vit K / μg
Veganska (N = 5)	420,8 \pm 227,1	2458,2 \pm 1269,8	0,6 \pm 0,3	0,6 \pm 0,3	10,1 \pm 4,2	1,9 \pm 1,5	121,3 \pm 76,7	0,1 \pm 0,1	65,8 \pm 48,2	1,1 \pm 1,0	2,1 \pm 1,6	103,2 \pm 110,2
Omnivorska (N = 5)	515,5 \pm 198,1	1406,4 \pm 572,8	0,8 \pm 0,3	1,1 \pm 0,5	20,0 \pm 6,5	1,1 \pm 0,4	84,2 \pm 25,8	2,8 \pm 1,9	92,7 \pm 70,7	1,0 \pm 0,7	2,8 \pm 1,9	88,1 \pm 44,1

Dnevne doze koje se preporučuju za vitamin A se izražavaju u obliku μg ekvivalenata retinola na dan (RE/dan), gdje je 1 μg RE jednak 1 μg retinola, 6 μg β -karotena i 12 μg ostalih karotenoida (EFSA, 2015g). Prema prosječnim vrijednostima u **Tablici 7** jasno je da su vegani unosili više namirnica biljnog podrijetla koji se odrazio na veći prosječni dnevni unos karotena ($p = 0,144$). Unos vitamina A je nizak kod obje skupine s obzirom na PRI vrijednost (650 μg RE/dan). Karoteni su prirodni pigmenti koji se nalaze u većini voća i povrća, biljaka, algi i fotosintetskih bakterija. Ljudi ne mogu sintetizirati karotene te ih moraju unositi putem prehrane ili kroz suplemente. Postoje dokazi da karoteni, osim povoljnih učinaka na zdravlje očiju, također imaju važnu ulogu u kognitivnim funkcijama i kardiovaskularnom zdravlju (Eggersdorfer i Wyss, 2018).

Vitamini B skupine imaju važnu ulogu u poboljšanju metabolizma, imunološkog i živčanog sustava te potiču rast i podjelu stanica (Mikkelsen i Apostolopoulos, 2018). Ljudi nisu sposobni sintetizirati većinu vitamina B skupine, stoga ih je potrebno unositi putem prehrane. Vitamin B12 je posebno važno nadoknaditi u veganskoj prehrani jer ga prirodno nema u namirnicama biljnog podrijetla. Razlike u unosu između skupina najviše variraju za vitamine B skupine (**Tablica 7**). Postoji statistički značajna razlika u unosu vitamina B3 ($p = 0,037$) i vitamina B12 ($p = 0,022$). AR i PRI vrijednosti za za vitamin B3 su 1,3 odnosno 1,6 mg ekvivalenata niacina po MJ (= 239 kcal) unosa energije, dok je AI za vitamin B12 4 μg /dan (EFSA, 2014b). Preračunom PRI vrijednosti na prosječni dnevni unos energije ispitanika (**Tablica 4**), vegani bi trebali unositi 11,7 mg vitamina B3 na dan, a omnivori 14,7 mg/dan. Analogni rezultati su dobiveni u Švedskoj (Larsson i Johansson, 2002), gdje vegani praktički nisu unosili vitamin B12 hranom s obzirom na omnivore ($0,0 \pm 0,1$ μg /dan prema $5,0 \pm 2,5$ μg /dan). Dugogodišnjim veganima se preporučuje da u svoju prehranu uključe hranu obogaćenu ovim vitaminom (žitarice, sojin napitak, pivski kvasac itd.) ili dodatke prehrani u obliku suplementa. Unatoč niskom unosu vitamina B12 veganskih ispitanika u ovom radu, u anketi su svi naveli da redovito koriste suplemente vitamina B12 te je rizik deficita isključen.

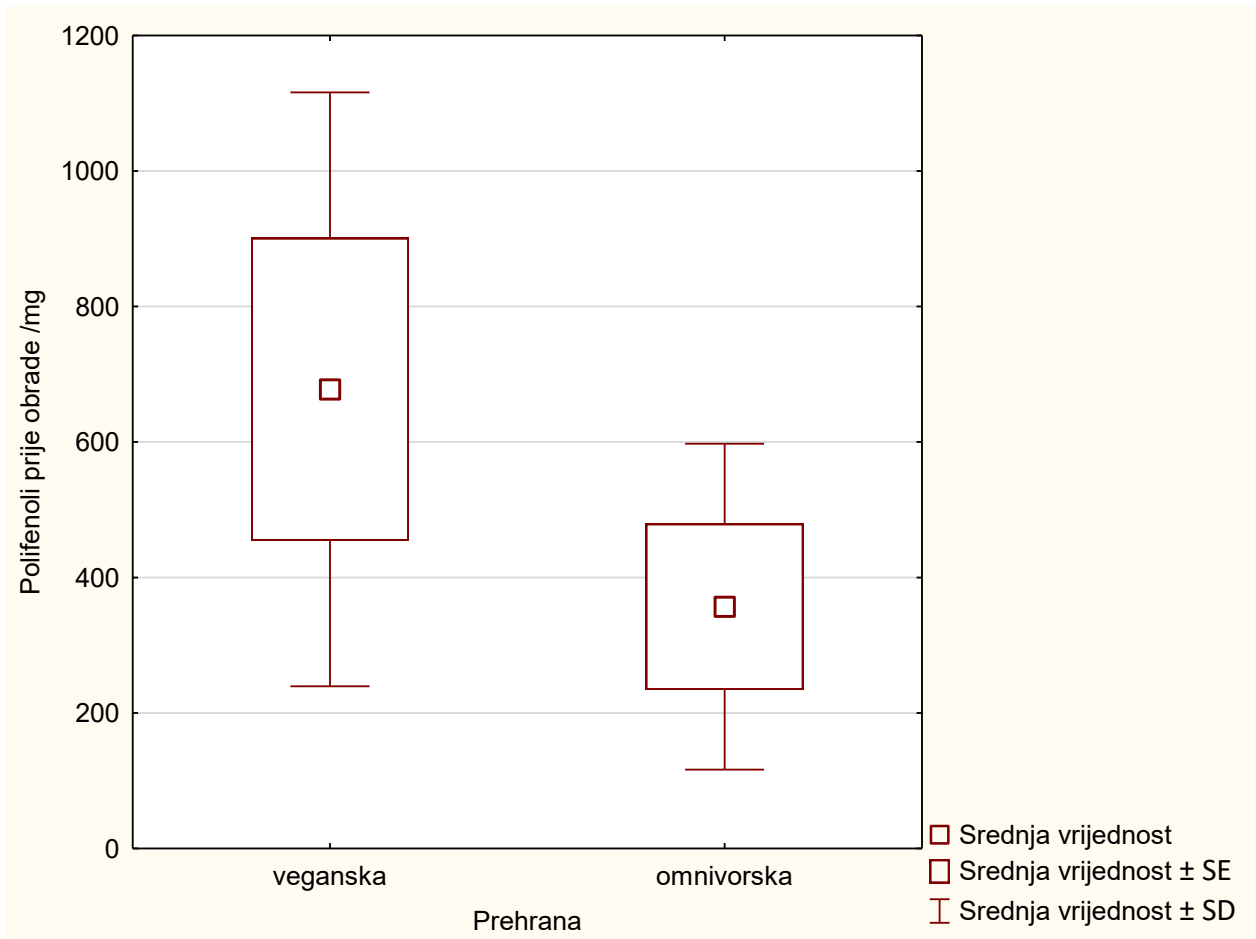
Objekti skupine ispitanika su imali prosječne dnevne unose u skladu s PRI vrijednostima za vitamin K (AI = 70 μg /dan) (**Tablici 7**), dok su prosječni dnevni unosi vitamina B1 izraženi na MJ energetske unosa nešto niži od PRI vrijednosti: 0,74 mg za vegane i 0,92 mg za omnivore.

Rezultati ovog istraživanja vezani uz vitamin B2 ukazuju na gotovo dvostruko veći prosječni unos vitamina B2 omnivorskom prehranom ($p = 0,060$). U skladu su s istraživanjem Budimir (2022), gdje je nedostatan unos vitamina B2 zabilježeni u veganskoj i u omnivorskoj podskupini ispitanika, pri čemu su srednje vrijednosti bile manje i od AR (1,3 mg/dan) i od PRI vrijednosti (1,6 mg/dan) (EFSA, 2017a). Ipak, problem je svakako veći za vegansku podskupinu jer se ovaj vitamin većinom može pronaći u namirnicama životinjskog podrijetla (Weikert i sur., 2020). Optimalan unos nije postignut ni u jednoj podskupini niti za za vitamin B9, čija AR vrijednost je 250 μg DFE (ekvivalenata folata iz hrane) na dan, a PRI vrijednost 330 μg DFE/dan (EFSA, 2014a). Slično vrijedi za vitamin E (AI = 11 mg/dan) (EFSA, 2015h) i vitamin D (15 μg /dan) (EFSA, 2016d) (**Tablica 7**).

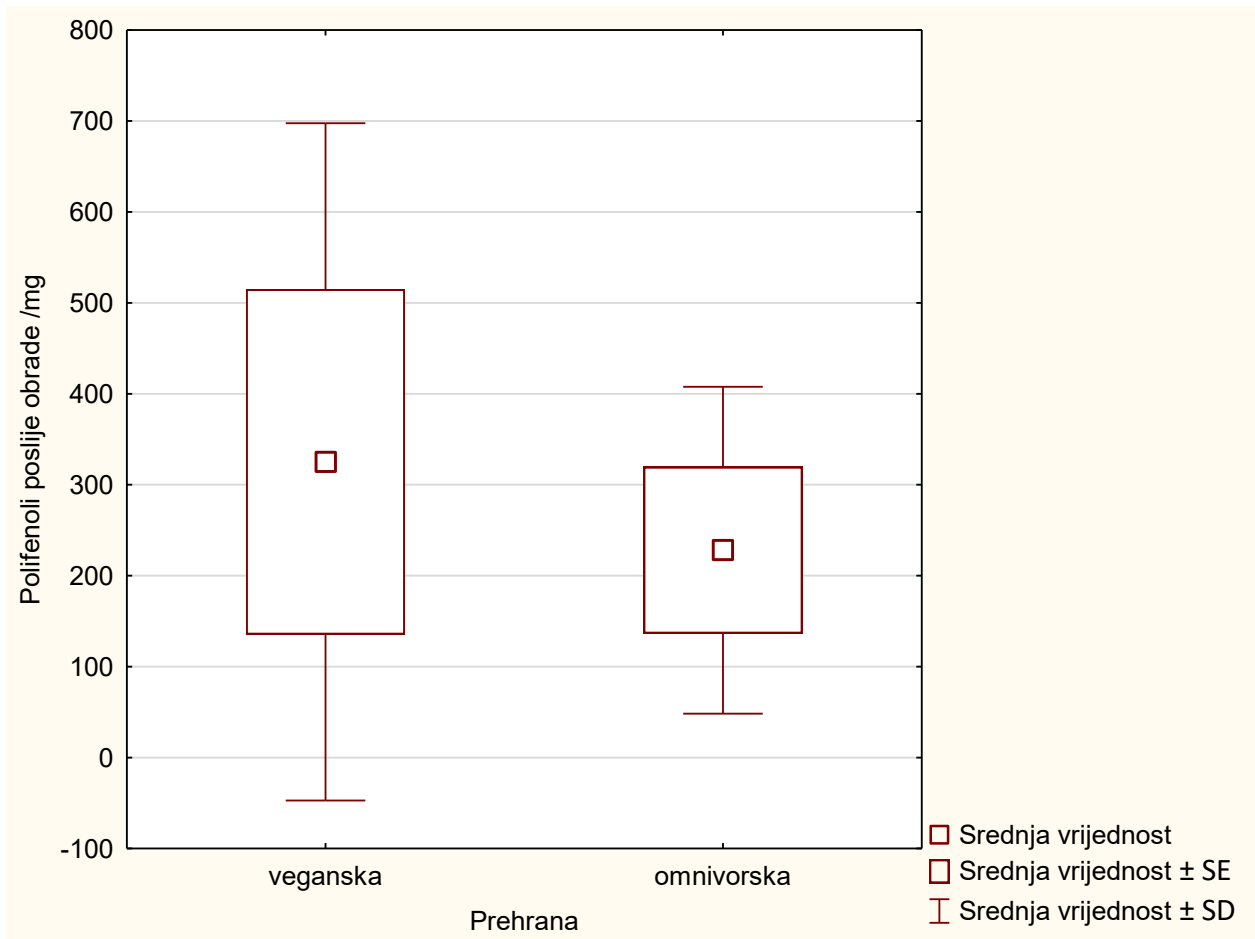
Nedostatan unos vitamina B6 je zabilježen kod omnivora, dok su vegani imali adekvatan unos ($p = 0,296$) (**Tablica 7**). PRI vrijednost za vitamin B6 je 1,6 mg/dan (EFSA, 2016c) koji nije zadovoljilo 40% ispitanika veganske skupine, dok je kod omnivora ovaj udio iznosio 80%.

AR vrijednost za vitamin C iznosi 80 mg/dan, a PRI vrijednost 95 mg/dan (EFSA, 2013). Prosječni dnevni unos omnivora bio je veći od obje vrijednosti za razliku od vegana (**Tablica 7**). Promatrajući prosječni dnevni unos unutar svake ispitivane skupine, 80% veganskih ispitanika imalo je unos vitamina C manji od PRI vrijednosti, dok je to bio slučaj kod 60% omnivora.

Donje slike prikazuju prosječni dnevni unos polifenola iz voća i povrća prije i poslije obrade.



Slika 5 Prosječni dnevni unos polifenola iz voća i povrća prije obrade



Slika 6 Prosječni dnevni unos polifenola iz voća i povrća poslije obrade

Može se uočiti gotovo dvostruko veći prosječni unos polifenola iz voća i povrća u veganskoj podskupini ($677,8 \pm 500,1$ mg/dan) u odnosu na omnivore ($357,0 \pm 274,5$ mg/dan) (**Slika 5**), iako razlika nije statistički značajna ($p = 0,403$). Ovakvi rezultati su dijelom očekivani budući da bi prehrana koja isključuje namirnice životinjskog podrijetla mogla podrazumijevati veći unos voća i povrća, ukoliko se nutrijenti i kalorije životinjskog podrijetla ne zamjene isključivo proizvodima od žitarica i prerađenim namirnicama. Nakon obrade su razlike između podskupina bile znatno manje ($325,2 \pm 424,8$ mg prema $228,1 \pm 205,0$ mg; $p = 0,835$) (**Slika 6**), što ukazuje na veliki potencijalni gubitak polifenola tehnikama pripreme hrane.

Populacije mediteranskih zemalja imaju veći unos flavonoida zbog proantocijanidina koji uglavnom dolazi iz voća (Zamora-Ros i sur., 2015). Tijekom postupka izrade francuske baze sa sadržajem polifenola u voću i povrću, Brat i sur. (2006) su ustanovili najveći sadržaj ukupnih polifenola u jagodama, crvenom grožđu, marelicama i jabukama, dok su u ovom diplomskom radu najkoncentriraniji izvori bili ribizl, kupine, višnje i jagode. Zbog visokog sadržaja proantocijanidina (61 mg GAE / 100 g svježeg jestivog dijela), gore spomenuta francuska studija je utvrdila visoku koncentraciju polifenola u crvenom grožđu, dvostruko višu od bijelog grožđa (275,5 mg naspram 134,1 mg GAE / 100 g). Od povrća, artičoke su imale najveći sadržaj polifenola, sa srednjom vrijednošću od 321,3 mg GAE / 100 g svježeg jestivog dijela. Prokulice su sadržavale 20,5 puta više polifenola od cvjetače i brokule, dok je luk jedan od najbogatijih izvora kvercetina u ljudskoj prehrani s prosječnom vrijednošću od 34,7 mg / 100 g svježeg jestivog dijela. Ova koncentracija je ujedno činila 45% ukupnog sadržaja polifenola analiziranih uzoraka luka s francuskog tržišta. Krumpir je doprinio 45% ukupnom unosu polifenola iz povrća, zbog visoke razine dnevne potrošnje u Francuskoj (203,4 g svježeg jestivog dijela). Treba napomenuti da tijekom prerađivanja krumpira (kuhanja) može doći do značajnih gubitaka od otprilike 30% (Rothwell i sur., 2013). Najvažniji izvori polifenola u prehrani Francuza su bili krumpir i jabuka jer su činili 50% ukupnog unosa polifenola iz voća i povrća. U SAD-u to nije slučaj, gdje su banane i rajčice glavni izvori polifenola među voćem i povrćem. Konzumirano povrće s najvišim koncentracijama polifenola u povrću u ovom diplomskom radu uključivalo je blitvu, špinat, prokulice i brokulu.

Ispitanica pod šifrom PNx19 je konzumirala najveće količine voća kroz tri dana, prvenstveno jabuke (4 kom.) i banane (7 kom.), pri čemu su samo te dvije namirnice rezultirale unosom 1078,5 mg ukupnih polifenola. Budući da je ukupni unos polifenola bez obrade bio 1262,2 mg, banane i jabuke su doprinijele 85% ukupnom unosu polifenola iz voća i povrća. S druge strane, ispitanik PNx11 uopće nije unosi voće tijekom praćenog perioda, što je rezultiralo skromnim unosom polifenola prije obrade od 70,4 mg koji se smanjio na 4,7 mg poslije pripreme hrane.

Osim voća, najviše polifenola u Europi se unosi iz kave. Zamora-Ros i suradnici (2015) su utvrdili da su glavni prehrambeni izvori polifenola u mediteranskim zemljama kava (36%), voće (25%) i vino (10%), dok su u nemediteranskim zemljama najvažniji izvori polifenola kava (41%), čaj (17%) i voće (13%). Kava je doprinosila prosječno 35,9% ukupnom unosu polifenola u mediteranskim i

40,9% u nemediteranskim zemljama. **Tablica 8** prikazuje prosječni unos polifenola iz ostalih ključnih izvora, pri čemu se kod čaja misli na zeleni, crni i oolong čaj. Veganska podskupina je unosila nešto više polifenola iz čokolade u odnosu na omnivore (158,2 prema 97,4 mg), dok je unos putem kakao napitaka i praha bio sličan ($15,0 \pm 24,4$ mg). Više ispitanika je navelo konzumaciju biljnih čajeva, ali samo jedan omnivorski ispitanik je konzumirao zeleni čaj. Ovo bi moglo ukazivati na malu ulogu ovog napitka u unosu polifenola hrvatske populacije u odnosu na trendove u zapadnoeuropskim zemljama (Zamora-Ros i sur., 2015).

Tablica 8 Prosječni dnevni unos polifenola iz čokolade, kakaa, kave i čaja

Ispitanici	Čokolada /mg	Kakao /mg	Kava /mg	Čaj /mg
PNx11	0	0	0	0
PNx14	0	75,0	0	0
PNx16	0	0	373,4	0
PNx19	496,0	0	0	0
PNx36	294,9	0	426,7	0
PNz124	57,0	28,3	53,3	0
PNz129	113,9	0	320,0	0
PNz130	0	93,7	586,7	82,5
PNz131	256,3	0	1333,5	0
PNz134	59,8	0	586,7	0

Najveće razlike između podskupina očite su u slučaju konzumacije kave (**Tablica 8**). Prosječni unos polifenola iz kave veganske podskupine je bio 160,0 mg/dan, a omnivorske 576,0 mg/dan. Istraživanja s većim brojem ispitanika bi trebala provjeriti postoji li općeniti trend smanjene konzumacije kave u veganskoj populaciji. Ukupni dnevni unos polifenola veganske podskupine iz voća i povrća prije obrade (677,8 mg), kave (160,0 mg), čokolade (158,2 mg) i kakaa (15,0 mg) je stoga bio 1011,0 mg. Omnivorska podskupina je prosječno dnevno unosila 1071,3 mg (357,0 mg iz voća i povrća, 576,0 mg iz kave, 97,4 mg iz čokolade, 24,4 mg iz kakaa i 16,5 mg iz čaja).

Procijenjeni prosječni unos ukupnih polifenola u mediteranskim zemljama je bio sličan tj. 1284 mg/dan, a u nemediteranskim 1011 mg/dan (Zamora-Ros i sur., 2015). Budući da bi se Hrvatska mogla svrstati i u mediteranske i nemediteranske zemlje, ovdje je u daljnjim izračunima korištena srednja vrijednost od 1148 mg/dan. Uzimajući u obzir utvrđene doprinose kave unosu polifenola u mediteranskim i nemediteranskim zemljama, na temelju kojeg se može izračunati srednji doprinos od 38,4%, te utvrđeni ukupni unos polifenola u Europi, može se procijeniti ukupni unos polifenola ispitanika. Primjerice, veganska podskupina bi na temelju prosječnog unosa kave (160,0 mg/dan) unosila ukupno $160,0 / 0,384 = 416,7$ mg/dan, koji je niži i od prosjeka dobivenog zbrojem najvažnijih izvora. Analognom procjenom se dobije realističnija vrijednost ukupnog unosa polifenola od 1500,0 mg/dan u omnivorskoj podskupini (576,0 / 0,384). Ukupni unos bi svakako mogao biti nešto veći od gore izračunatih 1071,3 mg/dan zato što nije određen unos iz žitarica, voćnih sokova ili alkoholnih pića koji doprinose do 7,0%, 3,3%, odnosno 10,4% (Zamora-Ros i sur., 2015). Kava je najznačajniji izvor fenolnih kiselina u prehrani (oko 70%), te u tom kontekstu treba istražiti učinak sustezanja od ovog napitka na zdravlje. U svakom slučaju, prema ovim preliminarnim podacima, veganskom prehranom se unosi više polifenola iz voća i povrća nego iz kave.

Gubitak polifenola kuhanjem ovisi o vremenu kuhanja i o količini povrća. Npr., nije utvrđen gubitak polifenola kuhanjem graška, luka i mahuna, dok su značajni gubici ustanovljeni kuhanjem kupusnjača (Klapec, 2021). Palermo i suradnici (2013) su objavili pregledni članak o utjecaju obrade na sadržaj polifenola povrća. Najveći gubici su zabilježeni kuhanjem u vodi, najvjerojatnije zbog otapanja u vodi i termolabilnosti, dok se kuhanjem na pari može očuvati značajno više polifenola u povrću u odnosu na prženje, pečenje, tretman visokim tlakom ili mikrovalovima. Povećanje razine polifenola u povrću nakon termičkog tretmana je nerijedak fenomen, što bi mogla biti posljedica njihova oslobađanja iz matriksa namirnice i kidanja veza s drugim sastojcima hrane uslijed usitnjavanja i izlaganja toplini (Palermo i sur., 2013).

Među namirnicama koje su konzumirali ispitanici, blitva ima najveći pad koncentracije polifenola u nakon kuhanja u vodi. Razine polifenola prije obrade su iznosile 830 mg / 100 g, a nakon kuhanja koncentracija se smanjila na 0,87 mg / 100 g (Rothwell i sur., 2015). Znatne gubitke imaju i kupusnjače, te su se razine ukupnih polifenola u cvjetači smanjile s 81,74 mg / 100 g na 0,63 mg /

100 g nakon kuhanja u vodi. Kelj pupčar je prije obrade imao 220 mg polifenola u 100 g, a nakon kuhanja samo 0,61 mg. Grašak pak pokazuje neznatnu promjenu koncentracije polifenola nakon kuhanja: 0,59 mg / 100 g prije i 0,48 mg / 100 g nakon kuhanja u vodi. Ispitanici s najvećom razlikom u unosu ukupnih polifenola prije i poslije prerade (npr. PNx14: s 345,3 mg/dan na 17,9 mg/dan) su imali takve rezultate upravo zbog veće zastupljenosti namirnica (kelj pupčar, paprika, tikvice) koje gube znatan udio polifenola tehnikama pripreme, naročito kuhanjem u vodi.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovi dobivenih rezultata analiza provedenih u sklopu ovog rada, može se zaključiti:

1. Ispitanici omnivorske podskupine su imali viši prosječni energetske unos i unos proteina u odnosu na vegansku podskupinu, iako razlike nisu bile statistički značajne. Prosječni unos ugljikohidrata bio je viši kod vegana u odnosu na smjernice (69 E%), dok su omnivori unosili značajno više ukupnih, zasićenih i mononezasićenih masti u odnosu na vegane. Omnivori su unosili gotovo dvostruko više energije iz zasićenih masti (19 E%) od preporuka (10 E%). Unos vlakana kod veganske podskupine je bio u okviru smjernica, dok je bio znatno niži (15 g/dan) od preporučenih 25 g/dan kod omnivorske podskupine;
2. Adekvatan prosječni unos P i Se su imale obje podskupine ispitanika, za razliku od unosa Zn. Vegani su imali niži unos K i Ca, a viši unos Fe i Cu, iako se željezo nalazi u nehemoskom obliku slabe bioraspoloživosti. Objе podskupine ispitanika su uglavnom imale niže unose vitamina od smjernica, naročito vitamina A, B9, D i E. Nedostatan unos vitamina B12 veganskom prehranom je očekivan te su svi ispitanici naveli da koriste suplemente ovog vitamina.
3. Utvrđen je gotovo dvostruko veći prosječni unos polifenola iz voća i povrća u veganskoj podskupini u odnosu na omnivore (677,8 mg/dan u odnosu na 357,0 mg/dan), iako razlika nije bila statistički značajna. Koncentracija polifenola poslije obrade je za vegane iznosila 325,2 mg/dan, a za omnivore 228,1 mg/dan. Ovakvi rezultati ukazuju na veliki gubitak polifenola uobičajenim tehnikama prerade namirnica;
4. Izračunat je unos polifenola iz kave, čokolade, kaka i čaja, pri čemu su veganski ispitanici konzumirali čokoladu neznatno češće, dok su omnivori unosili prilično veće količine kave (160,0 mg/dan prema 576,0 mg/dan). Obzirom na veći unos polifenola voćem i povrćem veganskom prehranom, ukupni dnevni unos polifenola iz navedenih namirnica se nije razlikovao između podskupina (1011,0 mg prema 1071,3 mg);
5. Ispitanici kod kojih je uočen najveći pad unosa polifenola nakon pripreme u odnosu na sirove namirnice, unosili su namirnice (kelj pupčar, paprika, tikvice) pripremljene tehnikama, poput kuhanja u vodi, koje dovode do najvećih gubitaka.

6. LITERATURA

- Abbas M, Saeed F, Anjum FM, Afzaal M, Tufail T, Bashir MS, Ishtiaq A, Hussain S, Suleria HAR: Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties* 20:1689-1699, 2016.
- Alexy U, Fischer M, Weder S, Langler A, Michalsen A, Sputtek A, Keller M: Nutrient Intake and Status of German Children and Adolescents Consuming Vegetarian, Vegan or Omnivore Diets: Results of the VeChi Youth Study. *Nutrients* 13:1707, 2021.
- Arfaoui L: Dietary Plant Polyphenols: Effects of Food Processing on Their Content and Bioavailability. *Molecules* 26:2959, 2021.
- Arts IC, Hollman PC: Polyphenols and Disease Risk in Epidemiologic Studies. *American Journal of Clinical Nutrition* 81:317S–325S, 2005.
- Aryaeian N, Khorshidi Sedehi S, Arablou T: Polyphenols and their effects on diabetes management: A review. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 31:134, 2017.
- Barceloux DG, Barceloux D: Copper. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* 37:217-230, 1999.
- Bakaloudi DR, Halloran A, Rippin HL, Oikonomidou AC, Dardavesis TI, Williams J, Wickramasinghe K, Breda J, Chourdakis M: Intake and adequacy of the vegan diet. A systematic review of the evidence. *Clinical nutrition* 40:3503–3521, 2021.
- Bhagwat S, Haytowitz DB: USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods. U.S. Department of Agriculture, *Agricultural Research Service*. 2015.
- Brat P, Georgé S, Bellamy A, Chaffaut L D, Scalbert A, Mennen L, Arnault N, Amiot M J: Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *The Journal of Nutrition* 136:2368-2373, 2006.
- Briguglio G, Costa C, Pollicino M, Giambò F, Catania S, Fenga C: Polyphenols in cancer prevention: New Insights (Review). *International Journal of Functional Nutrition* 1:9, 2020.
- Budimir N: Unos začina i razine 8-hidroksideoksigvanozina u urinu. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2022.
- EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for sodium. *EFSA Journal* 17:e5778, 2019.
- EFSA: Dietary Reference Values for the EU, 2019.
- EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal* 8:e1462, 2010a.

- EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids and cholesterol. *EFSA Journal* 8:e1461, 2010b.
- EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for potassium. *EFSA Journal* 14:e4592, 2016a.
- EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for magnesium. *EFSA Journal* 13:e4186, 2015e.
- EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for phosphorus. *EFSA Journal* 13:e4185, 2015f.
- EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for selenium. *EFSA Journal* 12:e3846, 2014c.
- EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin B6. *EFSA Journal* 14:e4485, 2016c.
- Eggersdorfer M, Wyss A: Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 652:18-26, 2018.
- Fraga CG, Croft KD, Kennedy DO, Tomás-Barberán FA: The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & Function* 10:514, 2019.
- Fuhrman B, et al: White wine with red wine-like properties: increased extraction of grape skin polyphenols improves the antioxidant capacity of the derived white wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:3164–3168, 2001.
- Haytowitz DB, Wu X, Bhagwat S: USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods. U.S. Department of Agriculture, *Agricultural Research Service*, 2018.
- Hunt JR, Vanderpool RA: Apparent copper absorption from a vegetarian diet. *The American Journal of Clinical Nutrition* 74:803-807, 2001.
- Ifie I, Marshall LJ: Food processing and its impact on phenolic constituents in food. *Cogent Food & Agriculture* 4(1), 2018.
- Kaur KD, Jha A, Sabikhi, L: Significance of coarse cereals in health and nutrition: A review. *Journal of Food Science and Technology* 51:1429–1441, 2014.
- Khan N, Mukhtar H: Tea Polyphenols in Promotion of Human Health. *Nutrients* 11, 39, 2018.
- Klapec T: *Nutricionistički aspekti pripreme hrane*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2021.

- Kolb H, Kempf K, Martin S: Health Effects of Coffee: Mechanism Unraveled? *Nutrients* 12, 1842, 2020.
- Larsson CL, Johansson GK: Dietary intake and nutritional status of young vegans and omnivores in Sweden. *The American Journal of Clinical Nutrition* 76:100-106, 2002.
- Luma GPP, Vianello F, Corrêa CM, Campos RAS, Borguini MG: Polyphenols in Fruits and Vegetables and Its Effect on Human Health. *Food and Nutrition Sciences* 5:1065-1082, 2014.
- Maki KC, Dicklin MR, Kirkpatrick CF: Saturated fats and cardiovascular health: Current evidence and controversies. *Journal of Clinical Lipidology* 15:P765-772, 2021.
- Manach C, Scalbert A, et al: Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79:727-47, 2004.
- Menzel J, Longree A, Abraham K, Schulze MB, Weikert C: Dietary and Plasma Phospholipid Profiles in Vegans and Omnivores-Results from the RBVD Study. *Nutrients* 14:2900, 2022.
- Mikkelsen K, Apostolopoulos V: B Vitamins and Ageing. *Subcellular Biochemistry* 90:451-470, 2018.
- Mocchegiani E, Romeo J, Malavolta M, Costarelli L, Giacconi R, Diaz LE, Marcos A: Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly. *AGE* 35:839-860, 2013.
- Mozaffarian D: Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity: A Comprehensive Review. *Circulation* 133:187-225, 2016.
- Mršić V: Unos fitoestrogena u ženskoj veganskoj populaciji. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2022.
- Palermo M, Pellegrini N, Fogliano V: The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94:1057-1070, 2013.
- Pandey KB, Rizvi SI: Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2:270-278, 2009.
- Rothwell JA, Pérez-Jiménez J, Neveu V, Medina-Ramon A, M'Hiri N, Garcia Lobato P, Manach C, Knox K, Eisner R, Wishart D, Scalbert A: Phenol-explorer 3.0: a major update of the Phenol-Explorer database to incorporate data on the effects of food processing on polyphenol content. Database 2013.
- Rudrapal M, Khaimar SJ, Khan J, Dukhyil AB, Ansari MA, Alomary MN, Alshabrmi FM, Palai S, Deb PK, Devi R: Dietary Polyphenols and Their Role in Oxidative Stress-Induced Human Diseases: Insights into Protective Effects, Antioxidant Potentials and Mechanisms of Action. *Frontiers in Pharmacology* 13:806470, 2022.

- Schüpbach R, Wegmüller R, Berguerand C, Bui M, Herter-Aeberli I: Micronutrient status and intake in omnivores, vegetarians and vegans in Switzerland. *European journal of nutrition* 56:283–293, 2017.
- Segev A, et al: Determination of polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity in colored chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Food Science* 75:2–6, 2010.
- Stone MS, Martyn L, Weaver CM: Potassium Intake, Bioavailability, Hypertension, and Glucose Control. *Nutrients* 8:444, 2016.
- Tsao R: Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2:1231-1246, 2010.
- Tian B, Liu J: Resveratrol: A review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100:1392-1404, 2019.
- Tylewicz U, Nowacka M, Martín-García B, Wiktor A, Gómez Caravaca AM: Target sources of polyphenols in different food products and their processing by-products. Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications 135-175, 2018.
- Zamora-Ros R, Knaze V, Rothwell JA, ...: Dietary polyphenol intake in Europe: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *European Journal of Nutrition* 55:1359-75, 2016.
- Waldmann A, Koschizke JW, Leitzmann C, Hahn A: Dietary intakes and lifestyle factors of a vegan population in Germany: results from the German Vegan Study. *European journal of clinical nutrition* 57:947–955, 2003.
- Wang YJ, Yeh TL, Shih MC, Tu YK, Chien KL: Dietary Sodium Intake and Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis. *Nutrients* 12:2934, 2020.
- Weikert C, Trefflich I, Menzel J, Obeid R, Longree A, Dierkes J, Meyer K, Herter-aeberli I, Mai, K, Stangl GI, Müller SM, Schwerdtle T, Lampen A, Abraham: Vitamin and Mineral Status in a Vegan Diet. *Deutsches Arzteblatt international* 117:575–582, 2020.


7.PRILOZI

Prilog 1 Osnovni podaci o ispitanicima

Prezime i ime			
Dob			
Visina			
Težina			
Mjesto stanovanja			
Tip prehrane	Svejed	Vegetarijanac	Vegan
<i>Navedite trajanje navike u godinama i eventualno tip prehrane koji nije naveden</i>			
Suplementi	Redovito:		
<i>Navedite prehrambene dodatke koje ste koristili u zadnjih šest mjeseci</i>	Sporadično:		
<i>Redovita primjena podrazumijeva unos bar jednom tjedno</i>			
Pušenje	Da	Ne	
<i>Trenutni pušači navode trajanje navike u godinama</i> <i>Navedite ukoliko ste redovito pušili u zadnjih šest mjeseci</i>			
Fizička aktivnost	Niska razina	Srednja razina	Visoka razina
<i>Procijenite svoju razinu fizičke aktivnosti ukoliko se srednjom i poželjnom razinom smatra 150 minuta aktivnosti umjerenog intenziteta tjedno (vožnja biciklom, šetnja psa, rad u vrtu, plivanje itd.)</i>			
Dosegnuti stupanj obrazovanja			
Primanja po članu kućanstva	< 4000 kn	4000 – 6000 kn	> 6000 kn

<p><i>Dodatne napomene</i></p> <p><i>Navedite eventualno korištenje lijekova</i></p>	
---	--

Prilog 2 Obrazac za ispunjavanje dnevnika prehrane



PNx01-f_Radni dan 1

Za dodatne retke pritisnite tipku Enter

Doručak

Long answer text

Međuobrok

Long answer text

Ručak

Long answer text

Međuobrok

Long answer text

Večera

Long answer text

Kasni obrok

Long answer text

Ispravke

Long answer text

Prilog 3 Poveznice na obrasce za unos konzumirane hrane i detaljne upute za vođenje dnevnika prehrane

Poštovana,

Vaša šifra u istraživanju pod nazivom ***Utjecaj različitih tipova prehrane temeljene na biljkama na prehrambeni status*** je **PNx01-f**. U nastavku su dane detaljne upute za provedbu istraživanja u kojem sudjelujete. Molimo da ih pažljivo pročitate i oko svih nedoumica kontaktirate Vašeg koordinatora čiji kontakt podaci su navedeni dolje. Zahvaljujemo na vremenu i trudu kojeg ćete uložiti.

VAŠ KOORDINATOR

Biljana Crevar: facebook Biljana Crevar

DNEVNIK PREHRANE

Molimo Vas da tijekom tri dana (dva radna dana i jedan dan vikenda, sve unutar tjedan dana) bilježite količinu i vrstu sve hrane i pića koje ste konzumirali. Dovoljno je navesti vrstu namirnice ili jela i opisati količinu korištenjem standardnih veličina porcije (npr. 1 tanjur krem juhe, 2 kriške rukom rezanog dimljenog sejtana, 1 šalica kave (2,5 dcl), 2 pečena sojina medaljona, 3 mandarine veličine šake, 1 zdjelica zelene salate, ½ zdjelice svježe ribanog kupusa s ½ rajčice, 1 zdjelica (ili ½ tanjura) krumpir pirea, 1 tanjur variva od slanutka, cvjetača i brokula kuhana na lešo: 2 pune velike žlice za salatu ili 2 cvijeta cvjetače i 2 cvijeta brokule (kao 2 srednje grabilice za juhu), itd.). Cijenit ćemo popis sastojaka tj. recepte neuobičajenih jela ili načina pripreme, kao i unos vrste masnoće koja je korištena u pripremi. Primjer popunjavanja možete vidjeti u nastavku, pri čemu se u procjeni veličine porcije možete poslužiti fotografijama porcija različitih namirnica i jela dostupnih na [ovoj poveznici](#).

Obrok	Namirnica/jelo i količina
Doručak	Jabuka, velika, 1 cijela
	Jogurt sa šumskim voćem, 1 bočica (300 g)
	Kava instant sa sojinim napitkom, pola/pola, 3 dcl
	Lješnjaci, proprženi, 1 šaka, 10-15 kom.
Međuobrok	Mandarina, srednje veličine, 4 komada
	Tamna čokolada, (pola čokolade od 80 g), 40 g
Ručak	Juha od buče (hokaido bundeva 2/3, 1/3 krumpir) 1 L vode, 200 ml bademovog napitka, crveni luk dinstan na bučinom ulju 2 tanjura ili 4 srednje grabilice
	Salata od matovilca s maslinovim uljem i aceto balsamico, 200 g
	Biljni burger (Next Level), pečeno na gril tavi s malo suncokretovog ulja
	Krumpir, pržen na suncokretovom ulju (pomfri), 2 šake ili 1 mali tanjur
	Brokula, kuhana na lešo, 1 velika žlica za salatu
Međuobrok	Kava sa sojinim napitkom (kao i ujutro), 3 dcl
	Ananas, svježi, 2 velike kriške debljine palca
Večera	Jogurt, 150 g
	Tofu salama s paprikom (Annapurna), 4 kriške
	Veganski sir (Green Vie, tip Gouda), 1 kriška rukom rezana
	Svježi krastavac salatar (veliki), samo posoljeno, 1 cijeli
Kasni obrok	Kikiriki, prženi, 2 šake

Vaši obrasci su dostupni online:

[PNx01-f Radni dan 1](#)

[PNx01-f Radni dan 2](#)

[PNx01-f Dan vikenda](#)

Obrasci omogućuju unos podataka odmah po obroku. Uzmite u obzir da podjela obrasca na obroke služi jedino za lakše vođenje dnevnika prehrane (zanima nas ukupni dnevni unos) i ne znači da Vaša prehrana mora uključivati sve navedene obroke.

Nakon što kliknete na gumb **Podnesi (Submit)** otvorit će se prozor s tri opcije, pri čemu **Uredite svoj odgovor** omogućuje ispravke upravo unešenih podataka. Nakon što izađete iz obrasca, kasnijim ponovnim otvaranjem linka se otvara prazan obrazac, iako su prethodni unosi sačuvani. Možete provjeriti sve prethodno uneseno uz opciju **Pogledaj prethodne odgovore**. Naknadne ispravke prethodnih obroka (npr. ispravke Doručka prilikom unosa Večere, i sl.) nisu omogućene, ali sve eventualne ispravke možete dopisati u odjeljku Ispravke obrasca (npr. *Nisam pojeo dvije nego jednu jabuku za doručak, Zelena salata je pripremljena uz maslinovo ulje, i sl.*).

PRIKUPLJANJE UZORKA PRVOG JUTARNJEG URINA

Uzorak prvog jutarnjeg urina prikupite jedan dan od evidentiranja posljednjeg dnevnika prehrane (npr. ako je posljednji dan nedjelja, uzorak se prikuplja u ponedjeljak ujutro) u označenu posudicu koja će Vam biti dostavljena. Prikupljate srednji mlaz prvog urina do vrha posudice. Posudicu potom odložite u zamrzivač te dogovorite preuzimanje s koordinatorom.