

# Unos začina i razine 8-hidroksideoksigvanozina u urinu

---

**Budimir, Nikolina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*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:109:510807>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-31**

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**

**Nikolina Budimir**

**Unos začina i razine 8-hidroksideoksigvanozina u urinu**

**DIPLOMSKI RAD**

Osijek, rujan 2022.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju  
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:** Prehrambena biokemija  
**Tema rada** je prihvaćena na XI. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 14. rujna 2021.  
**Mentor:** prof. dr. sc. *Tomislav Klapac*

### Unos začina i razine 8-hidroksideoksigvanozina u urinu

*Nikolina Budimir, 0177052828*

#### Sažetak:

Osim poboljšanja organoleptičkih svojstava hrane, biljni začini predstavljaju i dodatan izvor bioaktivnih fitokemikalija. Brojni znanstveni radovi potvrđuju vezu unosa začina i smanjenja rizika ili ublažavanja brojnih bolesti. Ovaj rad se bavi procjenom unosa začina kod omnivora i vegana te utvrđivanjem urinarnih razina 8-hidroksideoksigvanozina (8-OHdG), markera oksidativnog stresa. Uzorci prvog jutarnjeg urina analizirani su uz enzimski imunotest na čvrstoj fazi (ELISA) te dobivene vrijednosti biomarkera korigirane prema razinama urinarnog kreatinina. Ispitanici su ispunili anketu s osnovnim demografskim i antropometrijskim podacima i trodnevni dnevnik prehrane (dva radna dana i jedan dan vikenda). Vegani su unosili više začina ( $1,6 \pm 4,3$  g/dan) od omnivora ( $1,4 \pm 3,7$  g/dan) te su imali i značajno niže koncentracije 8-OHdG u urinu ( $p = 0,031$ ). Korelacijskim analizama je ispitana veza razine 8-OHdG s unosom začina te makro- i mikronutrijenata. Unos začina nije bio značajno povezan s urinarnim razinama 8-OHdG. Utvrđeno je kako alkohol ima najveću pozitivnu korelaciju s razinama 8-OHdG ( $r = 0,551$ ;  $p = 0,011$ ), a linoleinska kiselina najveću negativnu korelaciju s razinama 8-OHdG ( $r = -0,446$ ;  $p = 0,048$ ). Unos proteina, zasićenih i mononezasićenih masti bio je pozitivno koreliran s razinama 8-OHdG, a upravo suprotno je ustanovljeno za unos ugljikohidrata i vlakana. Rezultati upućuju na zaključak da veganska prehrana, većim unosom izvora fitokemikalija, potiče bolju obranu od oksidativnog stresa.

**Ključne riječi:** oksidativni stres, začini, 8-hidroksideoksigvanozin, urin

**Rad sadrži:** 76 stranica  
21 slika  
11 tablica  
3 priloga  
90 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1. izv. prof. dr. sc. <i>Ines Banjari</i>	predsjednik
2. prof. dr. sc. <i>Tomislav Klapac</i>	član-mentor
3. prof. dr. sc. <i>Mirela Kopjar</i>	član
4. doc. dr. sc. <i>Valentina Bušić</i>	zamjena člana

**Datum obrane:** dan, mjesec, 2022.

**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 program:** Food Science and Nutrition  
**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Nutrition Science  
**Course title:** Nutritional Biochemistry  
**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. XI held on September 14, 2021.  
**Mentor:** *Tomislav Klačec*, PhD, prof.

### **Intake of spice and 8-hydroxydeoxyguanosine levels in urine**

*Nikolina Budimir, 0177052828*

#### **Summary:**

In addition to improving organoleptic properties of food, herbs and spices are also an additional source of bioactive phytochemicals. Numerous studies confirm the connection between consumption of herbs and spices and a lower risk or mitigation of numerous diseases. This thesis assessed the intake of herbs and spices in omnivores and vegans and determined urinary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), a marker of oxidative stress. The first morning urine samples were analyzed using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the obtained biomarker values were creatinine-corrected. Subjects filled out a survey with basic demographic and anthropometric data and a three-day food diary (two weekdays and one weekend day). Vegans consumed more herbs and spices ( $1.6 \pm 4.3$  g/day) than omnivores ( $1.4 \pm 3.7$  g/day) and had a significantly lower concentrations of 8-OHdG in urine ( $p = 0.031$ ). Correlation analysis was used to examine the relationship between 8-OHdG levels and intakes of herbs and spices as well as macro- and micronutrients. The intakes of herbs and spices were not significantly associated with urinary 8-OHdG levels. Alcohol intake had the strongest positive correlation with 8-OHdG levels ( $r = 0.551$ ;  $p = 0.011$ ), while linoleic acid had the strongest negative correlation ( $r = -0.446$ ;  $p = 0.048$ ). Protein, saturated and monounsaturated fat intakes were positively correlated with 8-OHdG, and the opposite was found for carbohydrate and fiber intakes. The results point to the conclusion that a vegan diet, characterized by a higher intake of phytochemical sources, promotes a better defense against oxidative stress.

**Key words:** oxidative stress, spices, 8-hydroxydeoxyguanosine, urine

**Thesis contains:** 76 pages  
21 figures  
11 tables  
3 supplements  
90 references

**Original in:** Croatian

#### **Defense committee:**

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. <i>Ines Banjari</i> , PhD, associate prof.    | chair person |
| 2. <i>Tomislav Klačec</i> , PhD, prof.           | supervisor   |
| 3. <i>Mirela Kopjar</i> , PhD, prof.             | member       |
| 4. <i>Valentina Bušić</i> , PhD, assistant prof. | stand-in     |

**Defense date:** month, day, 2022 (e.g. February 20, 2011)

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

*Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Tomislavu Klapecu na pomoći, raspoloživosti i utrošenom trudu i vremenu tijekom izrade diplomskog rada.*

*Hvala prijateljima uz koje je studiranje postalo najljepši period života.*

*Posebno hvala mojim roditeljima i mojoj obitelji koji su uvijek bili uz mene i bodrili me tijekom cijelog školovanja.*

## Sadržaj

1.	UVOD .....	1
2.	TEORIJSKI DIO .....	3
2.1.	BILJNI ZAČINI .....	4
2.1.1.	ČILI PAPRIKA .....	6
2.1.2.	KURKUMA.....	8
2.1.3.	CRNI PAPAN .....	10
2.1.4.	ČEŠNJAK.....	11
2.2.	KONZUMACIJA ZAČINA KOD OMNIVORA I VEGANA.....	13
2.3.	OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDANSI.....	13
2.4.	8-HIDROKSIDEOKSIGVANOZIN .....	16
2.4.1.	Utjecaj prehrane na 8-OHdG.....	17
2.5.	Potencijalna uloga začina u kontroli oksidativnog stresa .....	18
3.	EKSPERIMENTALNI DIO.....	20
3.1.	ZADATAK .....	21
3.2.	ISPITANICI I METODE.....	21
3.2.1.	Ispitanici .....	21
3.2.2.	Metode.....	22
3.2.2.1.	Upitnik i dnevnicu prehrane.....	22
3.2.2.2.	Izračun unosa sastojaka hrane .....	22
3.2.2.3.	Prikupljanje uzoraka urina.....	23
3.2.2.4.	Analiza 8-hidroksideoksigenanozina .....	23
3.2.2.5.	Analiza kreatinina .....	24
3.3.	STATISTIČKA OBRADA .....	24
4.	REZULTATI RASPRAVA .....	25
5.	ZAKLJUČCI .....	55
6.	LITERATURA .....	58
7.	PRILOZI.....	66

## **1. UVOD**

Stanice neprestano proizvode oksidativne molekule (reaktivne vrste kisika, ROS) tijekom staničnog metabolizma. Male količine ROS-ova povoljno djeluju na organizam čovjeka jer sudjeluju u staničnom metabolizmu. Oni su potrebni za staničnu signalizaciju, vazodilataciju, imunosni odgovor organizma, te proizvodnju antioksidansa, tvari koje neutraliziraju ROS-ove te sprječavaju njihova štetna djelovanja (Stanković i Radovanović, 2012). Oksidativni stres u ljudskom organizmu nastaje tijekom narušene ravnoteže između koncentracije ROS-ova i antioksidanasa. Raznim metaboličkim reakcijama te vanjskim utjecajima, u organizmu dolazi do stvaranja i akumuliranja prekomjernih razina ROS-ova. Antioksidansi ne uspijevaju neutralizirati sve novonastale reaktivne molekule te one oštećuju (oksidiraju) komponente stanica i/ili organizma. Oksidativni stres negativno djeluje na lipide, proteine te nukleinske kiseline u ljudskom organizmu, što u konačnici može dovesti do apoptoze, programirane smrti stanice (Stanković i Radovanović, 2012).

Biljni začini pripadaju egzogenim antioksidansima, odnosno onim antioksidansima koji se u ljudski organizam unose prehranom (Somogyi i sur., 2007).

Cilj diplomskog rada je odrediti unos biljnih začina u omnivora i vegana te koncentraciju markera oksidativnog oštećenja stanica (8-hidroksideoksigvanozina) u urinu. Time će se ispitati eventualni utjecaj unosa biljnih začina na zaštitu od oksidativnog stresa.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. BILJNI ZAČINI

Biljni začini su dijelovi biljke koji se u malim količinama konzumiraju kao dodatak hrani. Začini i začinsko bilje su u upotrebi od davnina za kulinarske i medicinske svrhe. Poboljšavaju miris, okus i boju hrane te štite od raznih bolesti. Bogati su bioaktivnim sastojcima kojima pripadaju tanini, alkaloidi, fenoli, diterpeni, vitamini, flavonoidi i polifenoli. Brojne znanstvene studije su potvrdile antikarcinogeno, antioksidativno i protuupalno djelovanje začina (Jiang, 2019). Osim toga, oni pozitivno djeluju na raspoloženje i kognitivne sposobnosti. Studijom presjeka opisanom u radu *Health benefits of culinary herbs and spices* (Jiang, 2019) utvrđeno je da sve više Amerikanaca razmatra ili već koristi začine u medicinske i terapijske svrhe. Čak 51% sudionika se izjasnilo kako žele koristiti začine kao komplementarnu i alternativnu medicinsku terapiju. Većina sudionika smatra da su đumbir, češnjak i cimet najdjelotvorniji u održanju zdravlja.

Kao začini se koriste aromatični dijelovi biljke, a to može biti kora, korijen, list, cvijet, sjeme, plod. Mogu se koristiti u prirodnom obliku ili se pripremaju od dijelova biljke sušenjem, usitnjavanjem i ekstrakcijom aromatičnih supstanci. Začini se sastoje od proteina, ugljikohidrata, obojenih i organskih tvari. Osim toga, svaki začin sadrži bioaktivne tvari ili tvar kojoj se pripisuju specifična blagotvorna svojstva. Specifična aroma začina potječe od eteričnih ulja. Oštar i ljut okus nastaje djelovanjem glikozida i alkaloida te produkata njihove hidrolize. Začini sadrže i vitamine i minerale (Savić i sur., 2008). Od vitamina posebno se izdvajaju; vitamin A, vitamin C, tiamin-B1, riboflavin-B2, niacin-B3, pantotenska kiselina-B5, piridoksin-B6, te vitamini E i K. Od minerala sadrže cink, bakar, mangan, selen, sulfide i sulfate, natrij, kalij, magnezij, fosfor i željezo. Koncentracija vitamina i minerala u začinima ovisi o sorti i podneblju (klima i kvaliteta zemljišta) iz kojeg začin potječe. U prošlosti, začini su bili privilegija bogataša. Predstavljali su bitan strateški proizvod. Porastom međunarodne trgovine i sve bolje povezanosti svijeta, začini postaju dostupni svim ljudima bez obzira na njihov materijalni status (Savić i sur., 2008).

Podaci sa službene stranice Centra za promicanje uvoza iz zemalja u razvoju (CBI, 2022) pokazuju kako je EU najveće tržište začina i začinskog bilja. Vodeći potrošači začina među građanima EU su Nijemci, Mađari, Britanci i Rumunji. Bugarska, Poljska, Rumunjska, Španjolska i Mađarska proizvode najviše začina u Europi. Španjolska i Mađarska su poznate po

proizvodnji slatke i ljute paprike, a Poljska po timijanu i sjemenkama korijandera. Bugarska i Rumunjska proizvode anis i komorač. Proizvodnja sušenih začina u Europi se uglavnom odvija u Italiji, Grčkoj i Francuskoj. Najpopularnija sušena biljka je peršin. Uz peršin, europska proizvodnja začina uključuje još i bosiljak, lovorov list, lišće celera, vlasac, korijander, koprivu, komorač, mažuran, origano, ružmarin, kadulju, estragon i timijan (Kamenjarin, 2002). Prema Centru za promicanje uvoza, najpopularniji začini za tržište EU su timijan i origano (Gajewska i sur., 2020). Unos začina znatno varira diljem svijeta. Najpopularniji i najčešće korišteni začini u svijetu, nazvan "kralj začina" je crni papar.

Proizvodnju začina u današnje vrijeme kontroliraju Indija, Kina, Indonezija i Madagaskar. Gotovo svaka regija svijeta ima svoj karakterističan začini. U Meksiku se koristi cimet, vanilija i čili. Francuska je najveći potrošač ružmarina i timijana. U Engleskoj se koriste đumbir, sjemenke gorušice, klinčić i korijandar. Arapski poluotok preferira aromatske začine poput kima, kumina, crnog papra, korijandera, kardamoma (De La Torre i sur., 2017). Indija, najveći i najpoznatiji svjetski potrošač i proizvođač začina, koristi najviše kurkumu, đumbir, kim i curry. U Hrvatskoj se najčešće koriste majčina dušica, kopar, ružmarin, lavanda, češnjak, kadulja, peršin, lovorov list, bosiljak i paprena metvica (Kamenjarin, 2002).

Začini se primjenjuju u malim količinama, pa su samim time njihovi doprinosi unosima nutrijenata izrazito mali. Koriste se većinom u kulinarstvu i prehrambenoj industriji jer su izvor raznih kemijskih spojeva koji daju aromu i boju (De La Torre i sur., 2017). Poboljšavanje i očuvanje senzorskih komponenti hrane je glavni razlog primjene začina. Industrija prerade mesa pokušava pronaći antimikrobni tretman za inhibiciju patogena ili dekontaminaciju mesnih proizvoda upotrebom začina. Začini se koriste i kao prirodna bojila od kojih se najviše ističu paprika, kurkuma i đumbir (Bartley i Scolnik, 1995). Dio začina se primjenjuje i u kozmetici, posebice za proizvodnju parfema.

Dodavanje začina u obroke dovodi do smanjenja rizika od brojnih bolesti. Začini, zbog svog visokog antioksidativnog djelovanja, mogu suzbiti štetne učinke kancerogena (Gajewska i sur., 2020). Najveće količine antioksidansa su u peršinu, origanu, celeru, šafranu, kopru i komoraču. Dodavanje začinskog bilja i začina mesnim jelima može promijeniti njihovu nutritivnu vrijednost. Zamjena soli začinskim biljem i začinama može značajno smanjiti unos natrija, a

samim time i rizik od srčanih bolesti i moždanog udara. Smanjeni unos natrija ima dugoročne prednosti za zdravlje srca i krvnih žila (Cook i sur., 2007).

U zemljama EU smjernice za začine i začinsko bilje su u obliku direktiva kojih se moraju pridržavati sve države članice kako bi se što više smanjila mogućnost kontaminacije. Sušeno začinsko bilje može sadržavati brojne nečistoće, uključujući dijelove kukaca, izmet, prašinu. Moguća je kontaminacija patogenim bakterijama i mikotoksinima. Za smanjenje navedenih problema EU u svojim direktivama kontrolira uvoz začina te navodi dozvoljene i nedozvoljene metode njihove dekontaminacije. Najčešća metoda dekontaminacije je metoda ionizirajućim zračenjem ( $\gamma$ -zrake) (Fisher, 2019).

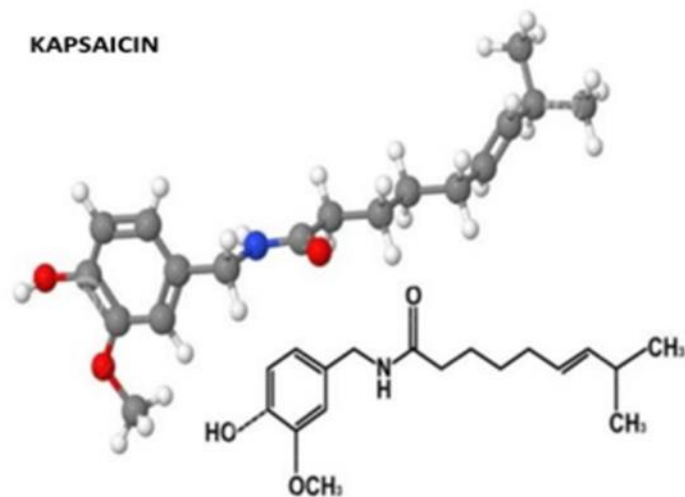
U nastavku diplomskog rada detaljnije će biti obrađeni neki od najvažnijih začina u Hrvatskoj.

### **2.1.1. ČILI PAPRIKA**

Čili paprika (**Slika 1**) (Zheng i sur., 2017) je začin koji se dobiva od ploda biljke roda *Capsicum*. Podrijetlom je iz Meksika. Koristi se kao aroma i bojilo za hranu. Komponente koje daju ljutinu ovom začinu su kapsaicinoidi (**Slika 2**) (Zheng i sur., 2017), od kojih je najpoznatiji kapsaicin. Ostale bitne komponente čili paprike su provitamin A i vitamin C (Vázquez-Fresno i sur., 2019).



**Slika 1.** Čili paprika



**Slika 2.** Struktura kapsaicina

Kapsaicinoidi su ujedno bioaktivne tvari ovog začina. Čili paprika također sadrži novootkrivene spojeve koji se nazivaju kapsinoidi (kapsijat i dihidrokapsijat). Uobičajena konzumacija ovog začina smanjuje rizik od respiratornih bolesti i bolesti srca (Jiang, 2019). Studija na životinjama je ustvrdila da 3 mg/kg/dan kapsaicina smanjuje koncentraciju lipoproteina niske gustoće (LDL) i kolesterola te istovremeno povećava koncentraciju lipoproteina visoke gustoće (HDL) u organizmu. Navedeni rezultati su dokazali blagotvoran utjecaj čili paprike na zdravlje srca i krvnih žila. Prospektivna studija je ustvrdila 13%-nu manju smrtnost ljudi koji konzumiraju čili paprike od onih koji ju ne konzumiraju. Čili paprika smanjuje oštećenja u organizmu nastala oksidativnim stresom radi svojih antioksidativnih komponenata. Kapsaicin suzbija upalu u organizmu uzrokovanu pretilošću moduliranjem molekula glasnika koje oslobađaju masne stanice i inaktiviranjem makrofaga za oslobađanje proupalnih medijatora. Čili paprika smanjuje razinu glukoze u krvi tako što utječe na lučenje inzulina djelovanjem na beta stanice gušterače, smanjuje proizvodnju glukoze u jetri te istovremeno povećava sintezu glikogena. Ova vrsta začina se može koristiti u svrhu održavanja tjelesne mase ili kao pomoć u mršavljenju (Jiang, 2019).

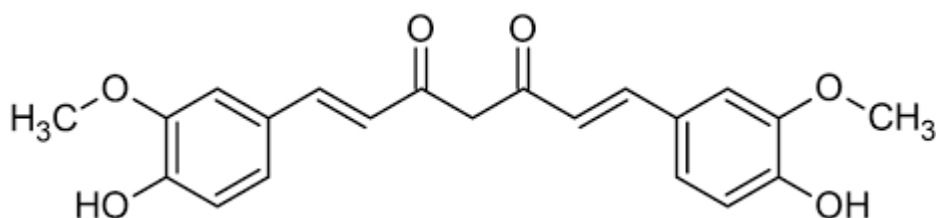
Klinička ispitivanja kapsaicina provedena u Japanu (Yoshioka i sur., 1998) pokazala su kako konzumacija doručka s kapsaicinom uzrokuje povećavanje potrošnje energije i oksidacije lipida odmah nakon konzumacije obroka. Ispitanici su trideset minuta prije svakog obroka

konzumirali 0,9 grama čili paprike (0,25% kapsaicina; 80.000 Scoville termalnih jedinica) u soku od rajčice ili u 2 kapsule koje su bile progutane sa sokom od rajčice. Prosječni dnevni energetske unos tijekom 2 dana ispitivanja smanjen je nakon kapsula s izoliranim kapsaicinom za 10%, a nakon čili paprike u soku od rajčice za 16%. Veće smanjenje dnevnog unosa kod oralne izloženosti čili paprici ukazuje na važnost i senzorskog učinka kapsaicina. Kod ispitanika koji su konzumirali placebo nije ustanovljen pad dnevnog energetske unosa. Povećavanje energije i oksidacije lipida uzrokovano je  $\beta$ -adrenergičkom stimulacijom (Westerterp-Plantenga i sur., 2006). Kratkoročni unos povećava osjećaj sitosti i utrošak viška energije pojačanom termogenezom. Kapsaicin ima gastroprotektivno djelovanje kod peptičkog ulkusa. Inhibira lučenje kiseline i potiče protok krvi u sluznici želuca, što pomaže u zacjeljivanju ulkusa. Istaknuto je antimikrobno djelovanje inhibicijskim učincima protiv *Helicobacter pylori* i drugih bakterija i gljiva koji imaju štetni utjecaj na zdravlje gastrointestinalnog trakta i crijevne mikrobiote (Jiang, 2019).

### 2.1.2. KURKUMA

Kurkuma je višegodišnja biljka. Rizom, dio koji se koristi u kuhanju, izgledom podsjeća na đumbir. Potječe iz Indije, a u Europu je dospjela brodovima. U upotrebi je od srednjeg vijeka kada se prvenstveno koristila u tradicionalnoj medicini. U kemijskom sastavu kurkume, najviše su zastupljeni ugljikohidrati (65%), zatim masti (10%) i bjelančevine (8%). Prah kurkume izuzetno je bogat željezom, vitaminima B kompleksa i vlaknima (Car, 2018).

Bioaktivna tvar kurkume je polifenol kurkumin (**Slika 3**) (Hatcher i sur., 2008) .



**Slika 3.** Kemijska struktura kurkumina

Koristi se kao začin, boja za hranu i tradicionalni biljni lijek. Ovaj začin žute boje ima dugu povijest u tradicionalnoj medicini Kine i Indije. Korištenje kurkumina kao tradicionalnog lijeka

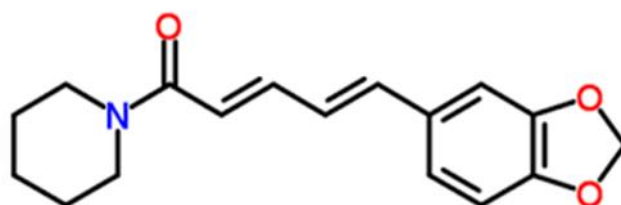
prisutno je i danas. Koristi se za liječenje kašlja i srodnih respiratornih bolesti, infekcije oka, previjanja rana, liječenje ugriza i opekline, olakšavanje bolova tijekom poroda, liječenje kožnih i zubnih bolesti, olakšavanje probavnih smetnji i ublažavanje učinka halucinogenih droga (Hatcher i sur., 2008). U prehrambenoj tehnologiji, kurkumin se trenutno koristi kao prirodno žuto bojilo i odobreni aditiv hrani za aromatiziranje raznih vrsta currya i senfa. Istraživanja su pokazala da kurkumin ima protuupalno, antioksidativno, kemopreventivno i kemoterapijsko djelovanje. Mnoge aktivnosti povezane s kurkuminom se odnose na njegovo protuupalno djelovanje. Kurkumin inhibira aktivnosti lipoksigenaze i ciklo-oksigenaze te stvaranje reaktivnih vrsta kisika. Također inhibira proizvodnju proupalnih citokina te djeluje inhibitorski na samu upalu. Kemopreventivno djelovanje kurkumina postiže se djelovanjem na više koraka tijekom razvoja raka. Kurkumin blokira početni korak razvoja raka sprječavanjem aktivacije karcinogena i proliferacije malignih stanica. Blokira angiogenezu te na taj način inhibira rast tumora i metastazu. Osim toga, kurkumin može djelovati i kao kemosenzibilizator i tako povećati uspješnost kemoterapija. Studije su ustanovile da kurkuma, odnosno njen bioaktivni sastojak kurkumin, nije opasan za ljude i životinje ni pri visokim dozama (Hatcher i sur., 2008).

Kurkumin je relativno nestabilna tvar koja se brzo razgradi u alkalnim i neutralnim otopinama. Bioraspoloživost kurkumina je opsežno proučavana kod glodavaca i ljudi (Tsuda, 2018). Rezultati su pokazali kako je bioraspoloživost kurkumina izrazito niska. Nakon konzumacije kurkume, kurkumin je otkriven u jetri u zanemarivo malim količinama. Mala bioraspoloživost kurkumina povezana je s njegovom slabom topljivošću u vodi. Mala količina kurkumina koju tijelo apsorbira uglavnom je u obliku konjugata u krvi, a vrlo mali udio postoji u slobodnom obliku. Stoga postoji pretpostavka da su produkti razgradnje i oksidacije kurkumina uključeni u biološko djelovanje kurkume, a ne sam kurkumin (Tsuda, 2018). Znanstvenici još nisu ustanovili istinitost ove hipoteze te još nije utvrđeno koliko je potrebno konzumirati kurkume za njen pozitivan utjecaj na organizam. Zbog nesrazmjera između povoljnih učinaka kurkumina u tijelu i njegove slabe bioraspoloživosti, kurkuma se još detaljno istražuje. Postoje razne hipoteze o tome da u kurkumi postoje i ostale bioaktivne tvari osim kurkumina koje imaju sinergistički pozitivan učinak na organizam (Tsuda, 2018).

### 2.1.3. CRNI PAPAR

Crni papar se dobiva od zrelih plodova *Piper nigrum* L., višegodišnje biljke penjačice koja potječe iz zimzelenih šuma Južne Indije. U srednjem vijeku postaje jedan od najvažnijih začina u Europi, a njegova upotreba rezultirala je brojnim primjenama u zapadnim kuhinjama. Ovaj začin je široko korišten diljem svijeta i poznat je po svom karakterističnom, oštrom okusu koji se može pripisati glavnom sastojku i bioaktivnoj komponenti - piperinu. Predstavlja važnu komponentu u kulinarstvu, prvenstveno za konzerviranje i aromatiziranje hrane (Meghwal i Goswami, 2013).

Piperin (**Slika 4**) (Bruzell i sur., 2018) stimulira probavne enzime gušterače, povećava kapacitet probavnog trakta i omogućuje bržu razgradnju hrane. Istraživanja su dokazala da piperin nije toksičan te ima antitumorsko, antioksidativno i antimutageno djelovanje.



**Slika 4.** Kemijska struktura piperina

Antioksidativno djelovanje piperin postiže inhibiranjem slobodnih radikala i reaktivnih vrsta kisika. Prilikom oksidativnog stresa, piperin pozitivno djeluje na molekule antioksidansa i antioksidacijske enzime te blokira lipidnu peroksidaciju. U malim količinama, piperin djeluje kao sredstvo uklanjanja hidroksilnih radikala, ali u višim količinama dolazi do Fentonove reakcije što uzrokuje porast koncentracije hidroksilnih radikala. Piperin sprječava oksidaciju humanog lipoproteina niske gustoće (LDL) (Srinivasan, 2007).

Piperin ima izrazito visoke protuupalne i analgetske aktivnosti. Inhibira enzime uključene u biosintezu proupalnih medijatora koji uzrokuju upalu, bol i groznicu. Ublažava bolove od artritisa te oštećenje mišića nakon vježbanja. Inhibirajući oslobađanje histamina, ublažava alergije dišnih puteva. Crni papar ubrzava izlučivanje probavnih kiselina i svih vrsta probavnih



enzima te na taj način olakšava i ubrzava probavu. Smanjuje koncentracije lipida u krvi, snižava krvni tlak i smanjuje rizik ateroskleroze. Crni papar može pomoći i u procesu mršavljenja jer povećava potrošnju energije i termogenezu, a smanjuje apetit (Jiang, 2019).

Konsumacija piperina od strane životinja oboljelih od tumora rezultirala je smanjenom koncentracijom tumorskih enzima. Djelujući na probavni trakt, piperin povećava bioraspoloživost lijekova i drugih začina, ali i halucinogenih tvari (Westerterp-Plantenga i sur., 2006).

#### **2.1.4. ČEŠNJAK**

Češnjak je višegodišnja biljka koja pripada porodici *Alliaceae*. Na području Azije, Europe i Bliskog Istoka koristi se od davnina u sklopu tradicionalne medicine za liječenje brojnih bolesti. Prema istraživanju Agencije za hranu i lijekove otkriveno je da je češnjak drugi najčešći dodatak u prehrani (Tyagi i sur., 2013). Kemijski sastav češnjaka prikazan u **Tablici 1** (Dumičić i sur., 2015) uključuje vodu (65%), ugljikohidrate (28%), proteine (2%) i 1,2% slobodnih aminokiselina (uglavnom arginin), te lipide (0,15%). Sadrži još i vlakna (1,5%) te organosumporne spojeve, fitinske kiseline i saponine. Od minerala sadrži magnezij, cink i selen. Vitamini koji su najviše zastupljeni su vitamin A i C. Bioaktivne komponente češnjaka su organosumporni spojevi poput dialil-tiosulfonata (alicin), dialil-sulfida (DAS), dialil-disulfida (DADS), dialil-trisulfida (DATS), (*E*)/(*Z*)-ajoen, (*S*)-alil-cistein (SAC) i S-alil-cisteinsulfoksid (aliin). Aminokiselina alicin je odgovorna za farmakološka svojstva i karakterističan jak miris ove biljke. Aliin je kemikalija nastala od aminokiseline cistein. Tijekom gnječenja lukovica češnjaka, aliin se enzimski pretvara u alicin koji se dalje razgrađuje do ajoena, spoja koji inhibira začepljenje krvnih žila ugrušcima i aterosklerozu (Tyagi i sur., 2013).

**Tablica 1.** Kemijski sastav češnjaka

Energija	149	kcal	<b>Vitamini</b>		
Bjelančevine	6,4	g	Vitamin C	32,1	mg
Masti	0,5	g	Vitamin B1 (Tiamin)	0,2	mg
Ugljikohidrati	33,1	g	Vitamin B2 (Riboflavin)	0,1	mg
Dijetalna vlakna	2,1	g	Vitamin B3 (Niacin)	0,7	mg
Šećeri	1,0	g	Vitamin B6	1,2	mg
<b>Minerali</b>			Vitamin B9 (Folna kiselina)	3,0	mg
Kalcij	181,0	mg	Vitamin A	9,0	mg
Željezo	1,7	mg	Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol)	0,1	mg
Magnezij	25,0	mg	<b>Masti</b>		
Fosfor	153,0	mg	Zasićene masne kiseline	0,9	g
Kalij	401,0	mg	Jednostruko nezasićene masne kiseline	0,01	g
Natrij	17,0	mg	Višestruko nezasićene masne kiseline	0,24	g
Cink	1,16	mg			

Češnjak se u povijesti koristio za liječenje bolova, gube, gluhoće, probavnih tegoba, parazitskih infekcija i groznice (Rana i sur., 2011). Danas se većinom koristi za liječenje respiratornih tegoba i bolesti. Epidemiološke studije na ljudima i životinjama pokazale su da konzumacija češnjaka smanjuje rizik od nastanka raka, poput raka želuca, jednjaka, debelog crijeva, dojke, vrata maternice, kože, maternice i pluća (Rana i sur., 2011). Antitumorsko djelovanje češnjaka još nije do kraja razjašnjeno. Nekoliko studija je primijetilo značajne promjene u aktivnostima citokroma P450 1A1, 1A2, 2B1 ili 3A4 nakon suplementacije češnjakom. Povećana dostupnost glutaciona i povećanje aktivnosti specifične glutation S-transferaze (GST), čimbenika koji su uključeni u fazu II detoksikacije, također mogu biti značajni u antitumorskom djelovanju češnjaka. Češnjak pokazuje i veliku antioksidacijsku aktivnost. Konzumacija češnjaka povećava serumsku aktivnost katalaze i glutation peroksidaze, dvaju antioksidacijskih enzima. Češnjak inhibira stvaranje krajnjih produkata glikacije i nastajanje slobodnih radikala dobivenih iz glikacije. Konzumacija ulja češnjaka smanjuje koncentraciju lipida u krvi, razine peroksidacije

lipida te štiti jetru od oštećenja okolišnim kontaminantima jednako učinkovito kao vitamin E. Od 1975. godine mnoge studije na ljudima utvrdile su pozitivne učinke češnjaka na snižavanje lipida i kolesterola u krvi. Američka uprava za hranu i lijekove smatra češnjak sigurnim za ljude, ali ako ga osjetljive osobe uzimaju u visokim dozama može uzrokovati iritaciju želuca. U randomiziranim kontroliranim ispitivanjima nuspojave konzumacije češnjaka u velikim količinama su uključivale žgaravicu, mučninu, povraćanje, dijareju, nadutost, crvenilo, tahikardiju, glavobolju, nesanicu, znojenje, vrtoglavicu i neugodan tjelesni miris (Rana i sur., 2011).

## **2.2. KONZUMACIJA ZAČINA KOD OMNIVORA I VEGANA**

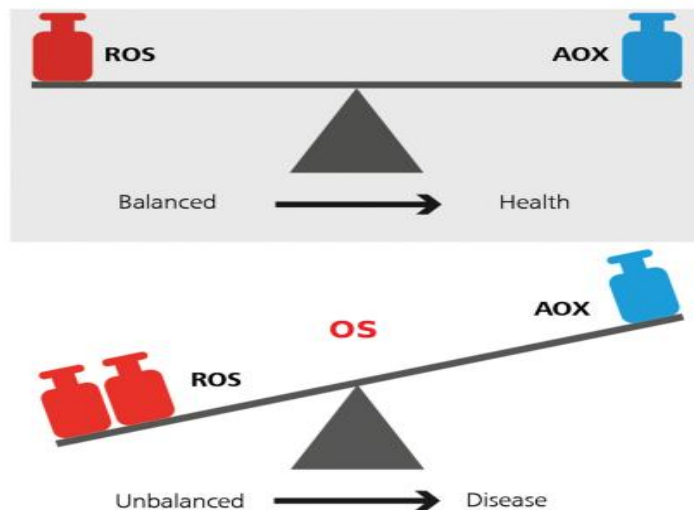
U prospektivnoj studiji koju su Danuta Gajewska i suradnici proveli u Poljskoj (Gajewska i sur., 2020), uspoređivan je unos začina između vegana i omnivora. U istraživanje je bilo uključeno 270 odraslih osoba, od čega je 208 bilo svejeda, a vegana 62. Korišten je FFQ (upitnik o učestalosti konzumacije hrane i pića) za procjenu unosa ovih proizvoda. Proučavana je konzumacija 61 pojedinačne vrste bilja i začina. Analizom učestalosti konzumacije svježeg začinskog bilja otkriveno je da su omnivori najčešće koristili peršin, češnjak, kopar, mažuran i bosiljak. Vegani su najčešće konzumirali češnjak, peršin, đumbir, bosiljak i kopar. S druge strane, najmanje konzumirani bili su estragon, ljupčac i kadulja među veganima. Omnivori su najmanje koristili kadulju, estragon i korijander. Srednja potrošnja svježeg začinskog bilja kretala se od 0 do 23,48 g tjedno među omnivorima, dok su se kod vegana te vrijednosti kretale od 0 do 49,31 g/tjedno. Od sušenih začina, vegani su najviše konzumirali crni papar, kurkumu, origano, slatku papriku i bosiljak. Od ove skupine začina, omnivori su najčešće koristili crni papar, slatku papriku, lovorov list i ljutu papriku. Šafran, jedan od najskupljih začina na svijetu, bio je najmanje korišten začin u obje skupine. U ovoj studiji je utvrđen veći prosječni unos začina kod vegana u odnosu na omnivore.

## **2.3. OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDANSI**

Stanice neprestano stvaraju slobodne radikale i ROS-ove tijekom metaboličkih procesa (Stanković i Radovanović, 2012). Slobodni radikali su dijelovi molekula ili molekule koji imaju

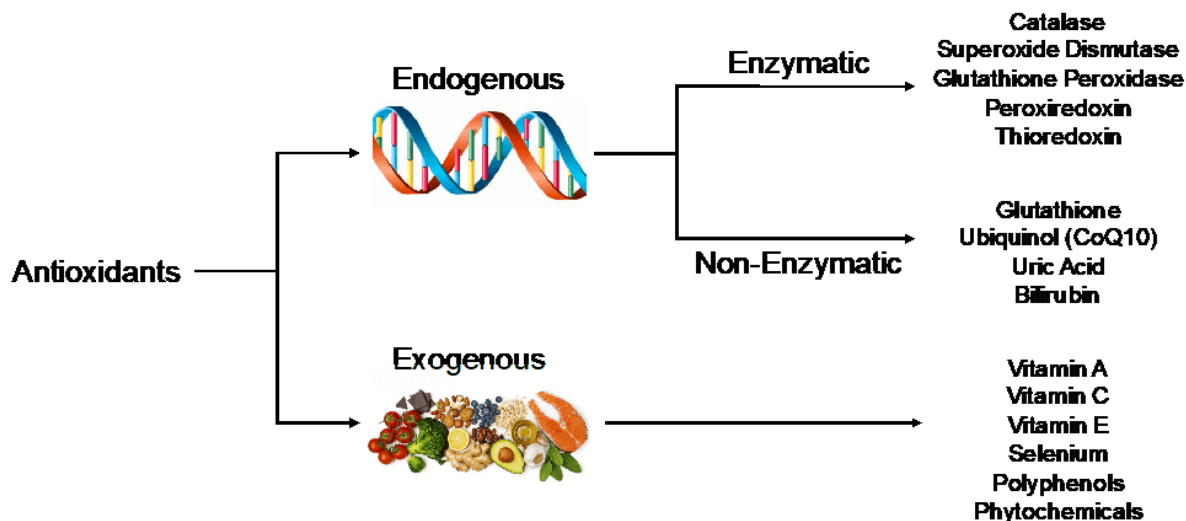
barem jedan nespareni elektron u vanjskom dijelu elektronskog omotača. Osnovna značajka slobodnih radikala je njihova izrazito visoka reaktivnost i kratko vrijeme poluživota. Slobodni radikali, nastojeći postići elektronsku stabilnost, reagiraju sa susjednim molekulama uzimajući njihov elektron. Na taj način susjedna molekula postaje reaktivni nestabilni radikal i ulazi u reakcije s drugim molekulama uzimajući njihove elektrone. Slijedom reakcija otimanja elektrona u ljudskom organizmu dolazi do nakupljanja prekomjernih količina slobodnih radikala (Stanković i Radovanović, 2012).

Kada dođe do neravnoteže u organizmu između nastanka i neutralizacije ROS-ova djelovanjem antioksidansa, nastupa oksidativni stres (**Slika 5**) (Ivanov i sur., 2018). Slobodni radikali oksidiraju nukleinske kiseline, proteine i lipide. Tijekom oksidacije lipida dolazi do oštećenja staničnih membrana te posljedičnih nepravilnosti u transportu molekula i živčanih impulsa. Oksidacija nukleinskih kiselina dovodi do mutacija gena, delecije gena te sinteze nepravilnih proteina. Ovi oksidativni mehanizmi dovode do funkcionalnih i fenotipskih promjena u stanici, što u konačnici može rezultirati i programiranom smrću stanice, apoptozom. Brojne studije su dokazale povezanost oksidativnog stresa i različitih bolesti (Tan i sur., 2018).



**Slika 5.** Oksidativni stres

Antioksidans je svaka tvar koja neutralizira reaktivne vrste kisika ili neutralizira njihovo štetno djelovanje. Postoje endogeni (sintetizirani u organizmu) i egzogeni (uneseni prehranom) antioksidansi (**Slika 6**) (Quiles, 2018).



Slika 6. Vrste antioksidansa

Endogeni i egzogeni antioksidansi se dijele na dvije skupine ovisno o mehanizmu njihovog djelovanja: antioksidansi koji prekidaju lanac ili preventivni antioksidansi. Antioksidansi koji prekidaju lanac se nalaze u staničnim membranama te oni inhibiraju ili prekidaju lančane reakcije peroksidacije lipida. U ove antioksidanse spadaju male molekule i enzimi. Najvažniji molekularni antioksidansi su vitamin C, glutation, vitamin E, karoteni, lipoična kiselina i koenzim Q 10. Enzimski antioksidansi su superoksid dismutaza (SOD) koja detoksicira superoksidni ion, katalaza, kojim se neutralizira vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) i glutation peroksidaza (GPx) čija je funkcija detoksikacija lipidnih peroksida. Preventivni antioksidansi sprječavaju nekontrolirano stvaranje i aktiviranje slobodnih radikala kisika ili inhibiraju njihove reakcije s biološkim strukturama. U ovu skupinu spadaju albumin, metalotionein, transferin, ceruloplazmin, mioglobin i feritin koji vežu ROS-ove radi zaštite esencijalnih bjelančevina. Princip djelovanja antioksidanasa se temelji na reakcijama preuzimanja slobodnih elektrona od reaktivnih vrsta kisika. Na taj način antioksidans postaje radikal, ali mnogo slabije reaktivnosti od početnog radikala. Antioksidansi se zatim regeneriraju djelovanjem drugih antioksidanasa ili enzima (Somogyi i sur., 2007).

Većina prirodnih antioksidanasa su polifenoli koji su prisutni u biljkama, a samim time i u začinima. Bitni su u biološkim sustavima gdje daju potporu endogenom mehanizmu obrane protiv oksidativnog stresa te u hrani gdje inhibiraju ili potpuno sprečavaju nastajanje toksičnih produkata oksidacije (Babović i sur., 2011).

Pojedini fenolni spojevi kao što su oligomerni proantocijanidini imaju sposobnost hvatanja i neutralizacije slobodnih radikala i lipidnih peroksida, kao i inhibiranja ksantin oksidaze koja je jedan od proizvođača slobodnih radikala (Calhau i Santos, 2009).

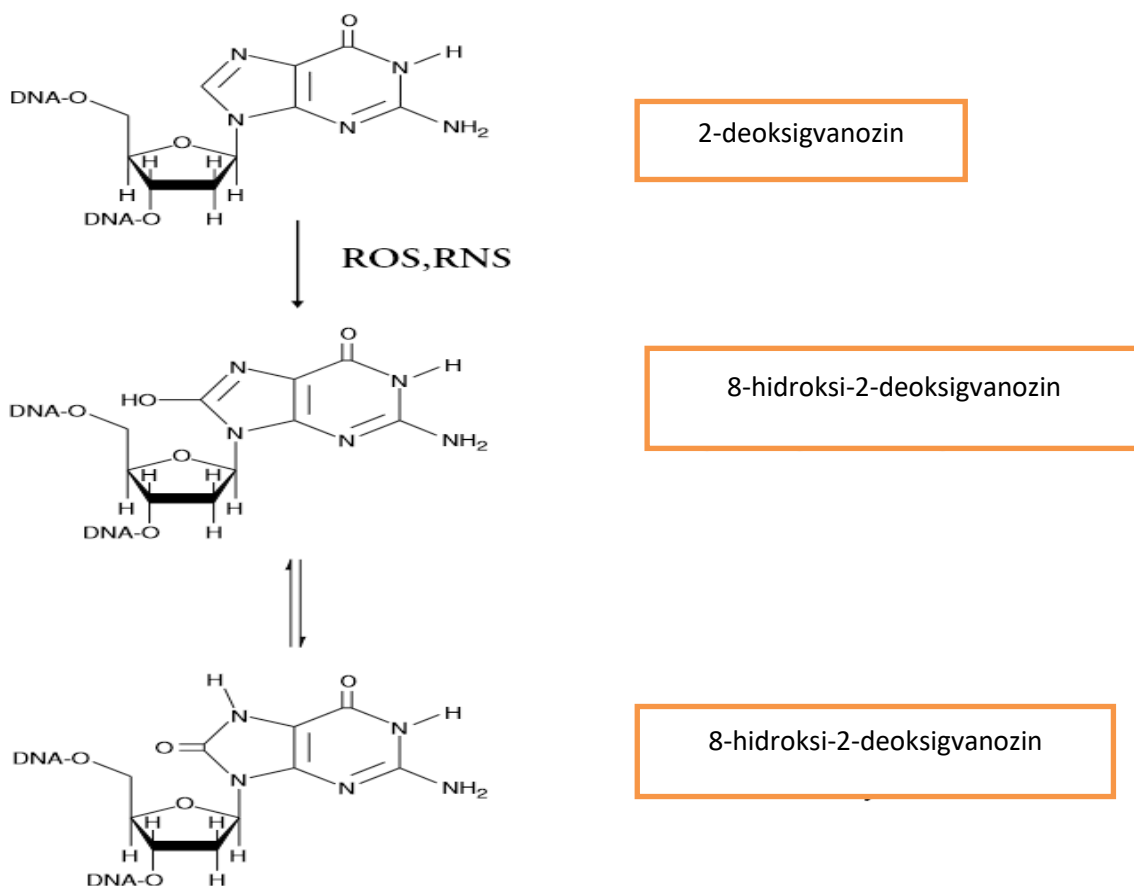
#### **2.4. 8-HIDROKSIDEOKSIGVANOZIN**

Oksidacijskim oštećenjem DNA reaktivnim vrstama kisika i dušika najčešće nastaje 8-hidroksi-2-deoksigvanozin (8-OHdG) (**Slika 7**) (StressMarq, 2015). Kao odgovor na normalne metaboličke procese i na razne čimbenike vezane uz okolišne uvjete, dolazi do hidrosilacije gvanozina te 8-OHdG služi kao marker oksidativnog stresa. Povećane razine 8-OHdG povezane su s procesom starenja, kao i s brojnim patološkim stanja uključujući rak, dijabetes i hipertenziju. U složenim uzorcima kao što su plazma i tkiva, 8-OHdG može postojati kao slobodni nukleozid ili ugrađen u DNA (StressMarq, 2015). Etiologija različitih vrsta karcinoma rezultat je modifikacija DNA i grešaka tijekom replikacije koje dovode do mutacija, a zatim i do promicanja i razvoja karcinoma. Bazalne razine oksidativnih modifikacija DNA baza (kao što je 8-OHdG) mogu se naći u svim vrstama stanica, uglavnom zbog stvaranja ROS-ova tijekom staničnog metabolizma kisika. Znanstvenici smatraju da bi ovo endogeno oštećenje DNA moglo imati važnu ulogu u inicijaciji karcinogeneze (Valavanidis i sur., 2009).

Kad krv uđe u bubreg, slobodni 8-OHdG lako se filtrira u urin, dok veći fragmenti DNA ostaju u krvotoku. Urin predstavlja prikladniju matricu za mjerenje slobodnog 8-OHdG od plazme. Razlog je to što je plazma vrlo kompleksna i u njoj se nalazi mješavina fragmenata DNA i slobodnog 8-OHdG, te bi procesi izolacije i određivanja 8-OHdG bili izrazito komplicirani i dugotrajni. Smetnje u urinu su rijetke, a koncentracije 8-OHdG u urinu mogu značajno varirati i mogu biti standardizirane prema razinama kreatinina ukoliko je potrebno. Razine 8-OHdG u urinu kreću se između 2,7-13 ng/mg kreatinina, dok su razine slobodnog 8-OHdG u plazmi između 4-21 pg/ml, uz napomenu da su rezultati dobiveni uz LC-MS uređaj (StressMarq, 2015).

Problem s kojim se obično povezuje kvantitativno mjerenje bilo kojeg spoja od kliničkog interesa u urinu, su korekcije koje se moraju napraviti za dnevne varijacije u izlučivanju i volumenu urina. Jedno od rješenja ovog problema je prikupljanje uzoraka tijekom duljih

vremenskih razdoblja (najčešće 24 sata). Za kratkoročno prikupljanje uzoraka, alternativni pristup je izražavanje izmjerene koncentracije analita prema koncentraciji nekog referentnog spoja prisutnog u istom uzorku urina. Općenito, u kliničkim laboratorijima za tu svrhu se koristi kreatinin. Njegova koncentracija se također koristi kao korekcijski faktor za fluktuacije u volumenu urina (Campins Falcó i sur., 2001).



Slika 7. Oksidacija 2-deoksigvanozina

### 2.4.1. Utjecaj prehrane na 8-OHdG

Ustanovljeno je da konzumacija namirnica biljnog podrijetla smanjuje razine oksidativnog stresa, što prikazuje **Tablica 2** (Thompson i sur., 1999). U istraživanje je bilo uključeno dvadeset i osam žena s povećanim rizikom od raka dojke na temelju obiteljske povijesti bolesti. Intervencija je uključivala 14-dnevnu dijetu s definiranim receptima za jela koja su ispitanici pripremali u vlastitom domu. Prije početka intervencije, subjekti su konzumirali 5,8 porcija voća i povrća na dan. Na temelju evidencije prehrane tijekom trajanja studije, unos povrća i

voća bio je 12,0 porcija dnevno. Intervencija je rezultirala smanjenjem limfocitnog 8-OHdG (smanjenje od 21,5%) i urinarnog 8-OHdG (smanjenje od 56,9%).

**Tablica 2.** Ukupni učinak intervencije povrćem i voćem na oksidativne indekse

Parametar	Prije intervencije	Poslije intervencije	Promjena /%
<b>8-OHdG, limfocit (rezidue/10<sup>6</sup> dG)</b>	7,9 ± 1,2	6,2 ± 0,8	-21
<b>8-OHdG, urin (ng/mg kreatinina)</b>	49,6 ± 12,4 (23,9)	21,4 ± 2,2 (19,2)	-57 (-20)

Vrijednosti u tablici su prikazane kao srednje vrijednosti ± SD, a medijani u zagradama

U današnje vrijeme, ljudi su svjesni važnosti zdrave prehrane i preporučenih porcija voća i povrća. Zbog užurbanog stila života, većina ljudi ne uspije konzumirati dnevne preporučene doze voća i povrća. Stoga su Kiefer i suradnici, (2004) proveli znanstveno istraživanje o korelaciji uzimanja suplemenata na bazi voća i povrća (dodatak dobiven od dehidriranih prirodnih miješanih sokova od voća i povrća) i razina antioksidanasa i 8-OHdG u serumu kod zdravih osoba. Suplementacija se pokazala učinkovitom za podizanje razine antioksidanasa u plazmi. Dodatak može biti koristan u prevenciji bolesti i može ponuditi sinergijske koristi od kombinacije hranjivih tvari. Vrijednosti 8-OHdG u serumu su bile manje na kraju studije nego na početku. Pojedini znanstvenici smatraju da povećanje razine antioksidanasa u serumu aktivira mehanizme popravka DNA. Ovaj proces može dovesti do privremeno pojačanog izlučivanja unutarstaničnog 8-OHdG putem mokraće (Kiefer i sur., 2004).

## 2.5. POTENCIJALNA ULOGA ZAČINA U KONTROLI OKSIDATIVNOG STRESA

Ljudski organizam ima metaboličke puteve koji sprječavaju nastanak oksidativnog stresa. Ključnu ulogu u zaštiti stanica ima sustav Keap1/Nrf2, koji uključuje transkripcijski faktor Nrf2, koji regulira proizvodnju antioksidanasa i enzima za detoksikaciju organizma (Qin i Hou, 2016). U stanju homeostaze, Nrf2 je inhibiran vezanjem za Keap1. Aktivacijom, Nrf2 se oslobađa iz Keap1 kompleksa, ulazi u jezgru i veže se za ARE domenu promotorske regije gena za antioksidanse i enzime za detoksikaciju. Aktivacija ovog transkripcijskog faktora postiže se i



unosom biljnih začina i prehranom biljnog podrijetla, bogatom polifenolima, sulforafanima, organosumpornim spojevima (Qin i Hou, 2016).

Kvercetin je polifenol prisutan u voću i povrću, posebno u crvenom luku, brokuli, jabukama i crnom vinu. Ovaj polifenol ima dokazanu mogućnost utišavanja Keap1 te samim time i pojačavanja ekspresije Nrf2 mRNA i proteina, kao i stabilizacije Nrf2. Resveratrol, fitokemikalija prisutna u grožđu, modificira kompleks Nrf2/Keap1, pojačava aktivaciju faktora Nrf2 i sintezu antioksidansa (Qin i Hou, 2016). Resveratrol je inhibirao rak dojke putem Nrf2. Kupusnjače i zeleno lisnato povrće sadrže sulforafan. Dokazano je kako sulforafan olakšava disocijaciju Keap1 s Nrf2, pojačava aktivnost Nrf2 te pojačava ekspresiju enzima za detoksikaciju. Organosumporni spojevi, prisutni u crvenom luku i češnjaku, mogu inducirati enzime za detoksikaciju kancerogena aktiviranjem Nrf2 puta. Kurkumin inducira Nrf2-ARE signalizaciju, stimulira pojačanu aktivaciju Nrf2 te inhibira metilaciju Nrf2 promotora. Kapsaicin iz ljute paprike, piperin iz papra, karnozna kiselina iz ružmarina, likopen iz rajčice, hidroksitirozol iz ploda i ulja masline, dokazano aktiviraju Nrf2-ARE epigenetskim putem modifikacije, što rezultira pojačanom koncentracijom antioksidanasa i detoksikacijskim enzima (Qin i Hou, 2016).

### **3.EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovog istraživanja bio je odrediti koncentraciju markera oksidativnog oštećenja stanica, 8-hidroksideoksigvanozina (8-OHdG), u urinu osoba veganske i omnivorske prehrane, te ispitati povezanost razina s unosom biljnih začina.

### 3.2. ISPITANICI I METODE

Novačenje ispitanika i prikupljanje podataka i uzoraka je provedeno između listopada 2020. i veljače 2021. godine. Anonimizirani podaci korišteni u ovom diplomskom radu su dio većeg istraživanja te samo voditelj Tomislav Klačec 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 10 ispitanica veganskog tipa prehrane i 10 svejeda. Prema podacima iz **Tablice 3**, vidi se da nema značajne razlike između prosječne starosti i BMI (indeks tjelesne mase) vrijednosti odabranih ispitanica.

**Tablica 3.** Srednje vrijednosti osnovnih antropometrijskih pokazatelja ispitanica

Tip prehrane	Dob /god. ± SD	Visina /cm ± SD	Težina / kg ± SD	BMI ± SD
<b>Veganski (N = 10)</b>	26,3 ± 5,0	166,9 ± 5,6	59,0 ± 8,4	22,2 ± 1,8
<b>Omnivorski (N = 10)</b>	27,0 ± 6,5	172,9 ± 8,1	63,8 ± 9,4	21,3 ± 1,9

## **3.2.2. Metode**

### **3.2.2.1. Upitnik i dnevnici prehrane**

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 poslane 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 biljnih začina za svakog dobrovoljca pojedinačno, pomoću programa Nutri Pro 2001 (**Slika 8**) kreiranog za obradu podataka o unosu namirnica i jela. Određen je unos vode, ukupnih bjelančevina, bjelančevina biljnog i/ili životinjskog porijekla, ukupnih masti, zasićenih masti, jednostruko i višestruko nezasićenih masti, ukupnih ugljikohidrata, vlakana, vitamina, minerala, alkohola, kao i unos energije. Ispitanici su zamoljeni da navedu veličinu, masu ili volumen konzumirane namirnice te sastojke složenih jela. Ukoliko ove informacije nisu bile dostupne, korišteni su standardizirani kvantitativni modeli namirnica i obroka za hrvatsku kuhinju (Senta i sur., 2004), srednje veličine porcija određene tijekom razvoja Upitnika učestalosti namirnica na PTF-u Osijek ili standardne odvage pojedinih namirnica dostupne u američkim FoodData Central tablicama sastava hrane (USDA, 2021). Korišteni su i recepti za pojedina jela dostupni online, poput Coolinarike. Sastavi nutrijenata za namirnice i jela koji su nedostajala u bazi, uneseni su prema podacima iz američkih ili norveških tablica sastava hrane (USDA, 2021; FCT 2021) ili, u manjem broju slučajeva, temeljem informacija o sastavu nutrijenata proizvođača namirnice. Poseban naglasak u ovom diplomskom radu bio je na unosu začina biljnog podrijetla. Ispitanici su tijekom navođenja sastojaka jela, napisali vrstu i količinu korištenih začina. Ukoliko ove informacije nisu bile dostupne od samih ispitanika, korišteni su standardizirani recepti i za unos začina. Nakon unosa svih konzumiranih jela od strane ispitanika, započeo je proces ručnog zbrajanja začina. Popisane su vrste i količine začina koju su ispitanici konzumirali prema

recepturama svih jela ispitanika. Količina začina prikazana je u gramima i prilagođena masi konzumiranog jela.



Slika 8. Naslovni izbornik Nutri Pro 2001 baze

### 3.2.2.3. Prikupljanje uzoraka urina

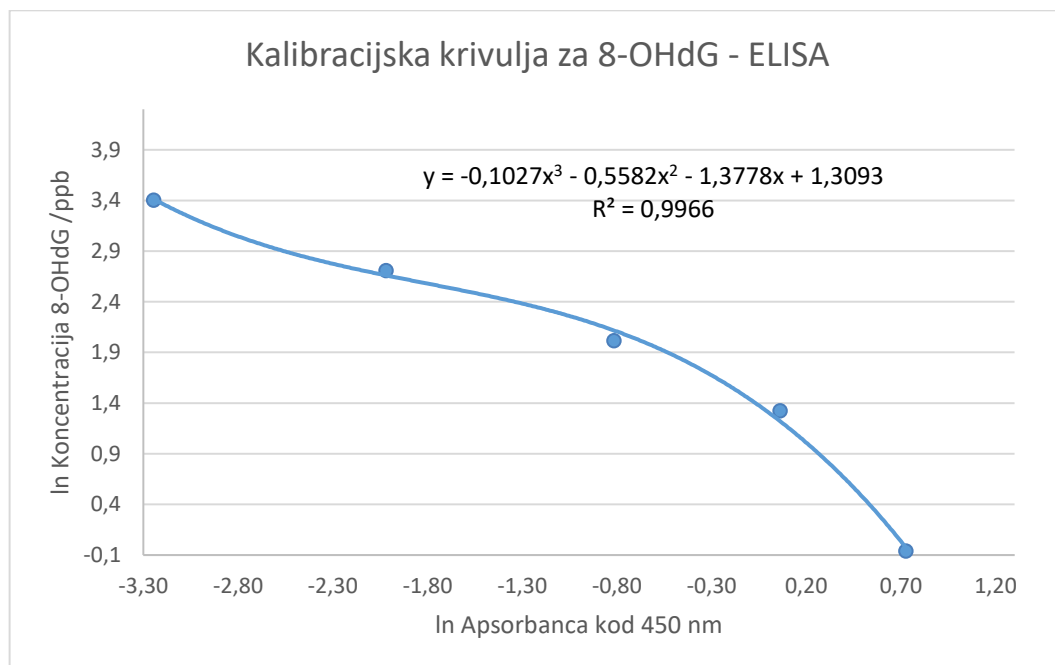
Uzorak prvog jutarnjeg urina prikupljen je jedan dan od evidentiranja posljednjeg dnevnika prehrane u označenu posudicu koja je čuvana na -20°C do analize. Upute za prikupljanje uzorka urina su ispitanicima dostavljene skupa s poveznicama i uputama za vođenje dnevnika prehrane (**Prilog 3**).

### 3.2.2.4. Analiza 8-hidroksideoksigvanozina

Testni paket (DNA Damage (8-OHdG), EK7114, Boster) za kompetitivni enzimski imunotest na čvrstoj fazi (ELISA) korišten je za određivanje ovog biomarkera oštećenja DNA. Čvrsta faza sadrži antitijelo 8-OHdG koji prepoznaje slobodni 8-OHdG i 8-OHdG ugrađenog u DNA. **Slika 9** prikazuje dobivenu kalibracijsku krivulju za 8-OHdG. Pravilno skladištenje i priprema uzorka ključni su za dosljedne i točne dobivene rezultate. Ukoliko se s uzorcima postupa nepravilno može doći do oksidacije neoštećene DNA. Koncentracije 8-OHdG u urinu mogu značajno varirati te se standardiziraju prema sadržaju kreatinina. Svježi uzorci urina su filtrirani korištenjem filtera s promjerom pora od 0,2 µm te pohranjeni na -20 °C. Zatim slijedi provedba

protokola po uputama dobivenim u testnom paketu i mjerenje apsorbancije (StressMarq, 2015).

Rezultati su izraženi u ng 8-OHdG po mg urinarnog kreatinina.



Slika 9. Dobivena kalibracijska krivulja za 8-OHdG

### 3.2.2.5. Analiza kreatinina

Određen je kreatinin u prvim jutarnjim uzorcima urina radi podešavanja količine 8-hidroksideoksigvanozina prema stupnju razrijeđenosti urina. Analiza je provedena uz pomoć automatiziranog kemijskog analizatora Olympus AU680 kolorimetrijskom metodom po Jafféu (Campins Falcó i sur., 2001).

## 3.3. 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 test korišten je za izračun korelacije numeričkih vrijednosti. Statistički značajnim razlikama ili korelacijama smatrane su one kojima je p-vrijednost bila manja od 0,05.

## **4.REZULTATI RASPRAVA**

Unos energije, osnovnih makronutrijenata te vlakana ispitanica dan je u **Tablici 4.**

**Tablica 4.** Prosječni dnevni unos (srednja vrijednost  $\pm$  SD) energije, osnovnih makronutrijenata i vlakana ispitanica

Ispitanica	Unos energije /kcal	Unos proteina /g	Unos masti /g	Unos ugljikohidrata /g	Unos vlakana /g
<b>PNz106</b>	1654 $\pm$ 408	54,1 $\pm$ 18	87,2 $\pm$ 24	168,0 $\pm$ 69	18,9 $\pm$ 9
<b>PNz113</b>	1947 $\pm$ 408	65,1 $\pm$ 18	78,5 $\pm$ 24	218,8 $\pm$ 69	8,9 $\pm$ 9
<b>PNz114</b>	2203 $\pm$ 408	87,6 $\pm$ 18	116,6 $\pm$ 24	166,7 $\pm$ 69	17,5 $\pm$ 9
<b>PNz70</b>	1620 $\pm$ 408	52,2 $\pm$ 18	45,3 $\pm$ 24	255,7 $\pm$ 69	18,7 $\pm$ 9
<b>PNz90</b>	1758 $\pm$ 408	67,1 $\pm$ 18	59,4 $\pm$ 24	240,0 $\pm$ 69	17,4 $\pm$ 9
<b>PNz91</b>	2213 $\pm$ 408	76,6 $\pm$ 18	115,0 $\pm$ 24	223,0 $\pm$ 69	22,7 $\pm$ 9
<b>PNz92</b>	2052 $\pm$ 408	72,2 $\pm$ 18	98,7 $\pm$ 24	215,6 $\pm$ 69	17,7 $\pm$ 9
<b>PNz93</b>	1521 $\pm$ 408	63,0 $\pm$ 18	66,8 $\pm$ 24	162,2 $\pm$ 69	14,8 $\pm$ 9
<b>PNz94</b>	1702 $\pm$ 408	65,7 $\pm$ 18	72,7 $\pm$ 24	198,9 $\pm$ 69	17,2 $\pm$ 9
<b>PNz96</b>	2884 $\pm$ 408	113,0 $\pm$ 18	97,8 $\pm$ 24	399,9 $\pm$ 69	43,7 $\pm$ 9
<b>PNx103</b>	2171 $\pm$ 314	77,2 $\pm$ 15	62,8 $\pm$ 20	335,4 $\pm$ 51	52,4 $\pm$ 12
<b>PNx24</b>	1932 $\pm$ 314	69,3 $\pm$ 15	55,7 $\pm$ 20	273,4 $\pm$ 51	41,2 $\pm$ 12
<b>PNx25</b>	1844 $\pm$ 314	52,4 $\pm$ 15	57,6 $\pm$ 20	291,8 $\pm$ 51	26,0 $\pm$ 12
<b>PNx30</b>	1714 $\pm$ 314	53,0 $\pm$ 15	67,5 $\pm$ 20	231,9 $\pm$ 51	28,3 $\pm$ 12
<b>PNx72</b>	2430 $\pm$ 314	73,4 $\pm$ 15	91,0 $\pm$ 20	344,9 $\pm$ 51	58,2 $\pm$ 12
<b>PNx78</b>	1553 $\pm$ 314	40,2 $\pm$ 15	69,9 $\pm$ 20	193,4 $\pm$ 51	30,0 $\pm$ 12
<b>PNx79</b>	2170 $\pm$ 314	73,8 $\pm$ 15	58,5 $\pm$ 20	354,1 $\pm$ 51	33,0 $\pm$ 12
<b>PNx88</b>	1927 $\pm$ 314	76,5 $\pm$ 15	45,9 $\pm$ 20	281,4 $\pm$ 51	49,7 $\pm$ 12
<b>PNx97</b>	2499 $\pm$ 314	86,6 $\pm$ 15	101,0 $\pm$ 20	322,6 $\pm$ 51	38,7 $\pm$ 12
<b>PNx99</b>	1718 $\pm$ 314	52,6 $\pm$ 15	34,5 $\pm$ 20	315,3 $\pm$ 51	57,5 $\pm$ 12

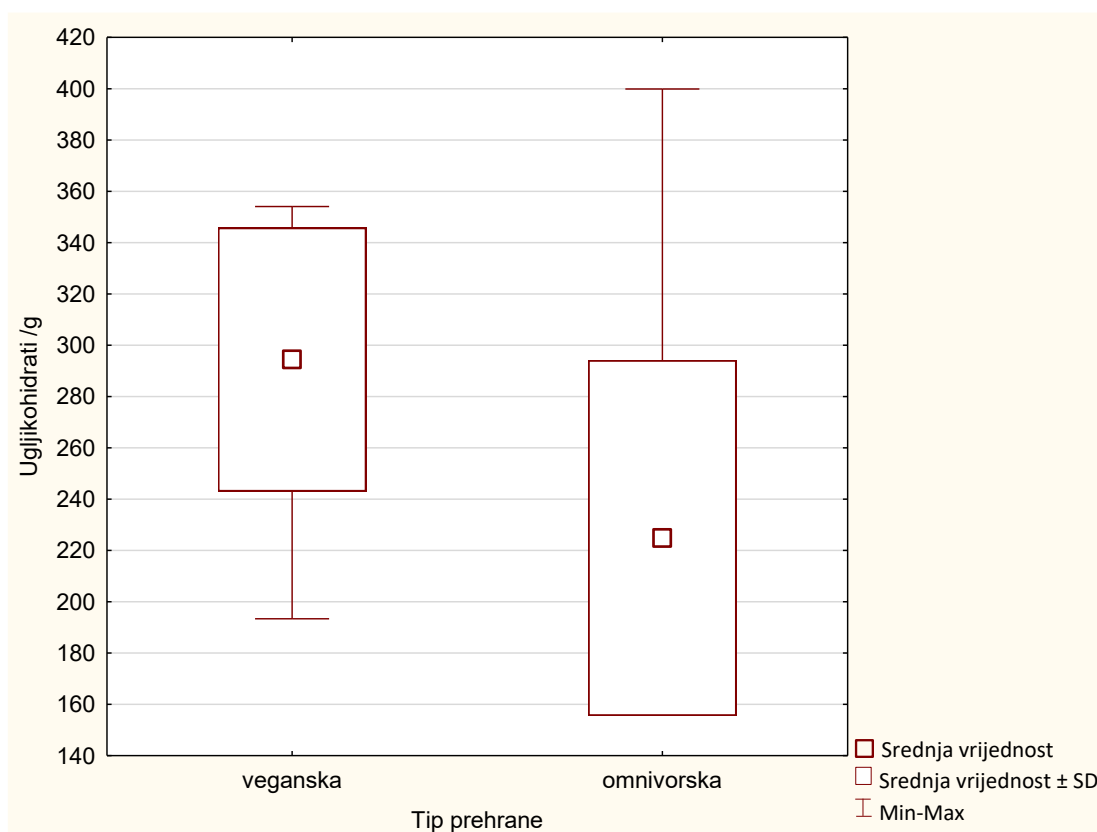
Statističkom obradom podataka za energetske unos utvrđeno je kako su ispitanice iz veganske skupine unosili prosječno 1996  $\pm$  314 kcal/dan, a omnivori prosječno 1955  $\pm$  408 kcal/dan, odnosno nema značajne razlike između skupina ( $p = 0,678$ ).

Omnivori su unosili više proteina, prosječno 71,6  $\pm$  17,8 g/dan, dok su vegani unosili prosječno 65,5  $\pm$  14,8 g/dan. Postoje predrasude kako veganska populacija ne unosi dovoljno proteina



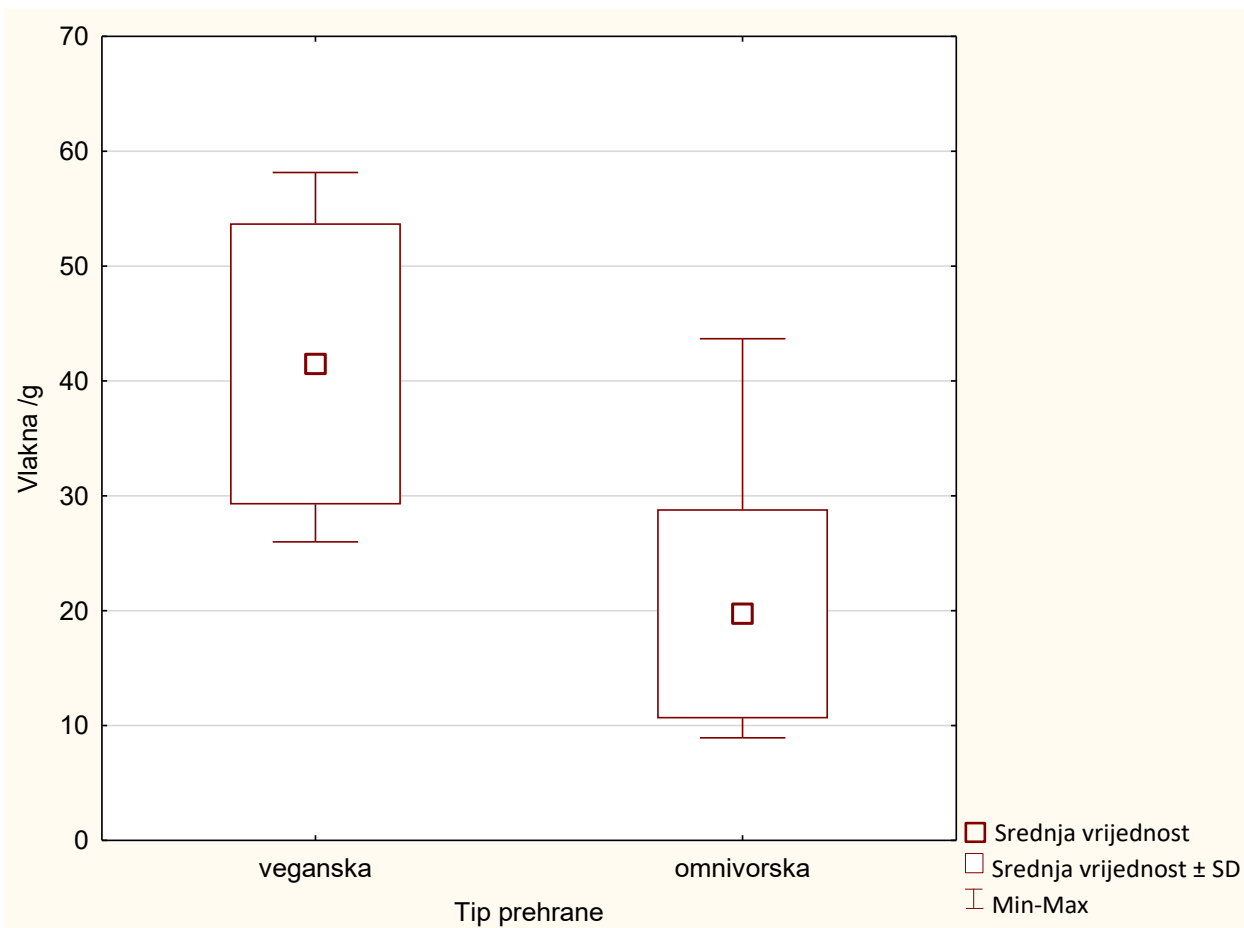
zbog nekonsumacije namirnica životinjskog podrijetla. Ipak, ispitanice veganske skupine uključene u ovo istraživanje nisu imale značajno niži unos proteina u odnosu na ispitanice omnivorske skupine. Srednji dnevni unos po jedinici tjelesne mase identičan je u obje skupine, a iznosio je  $1,10 \pm 0,2$  g/kg, što je više od AR vrijednosti (eng. average requirement; prosječna potreba, odnosno onaj unos koji zadovoljava dnevne potrebe polovice ljudi u tipičnoj zdravoj populaciji) od 0,66 g/kg i PRI vrijednosti (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, 2012). Larsson i Johansson (2002) su uspoređivali dijetetski unos između veganskih i omnivorskih adolescenata u Švedskoj. Iako je prosječni dnevni unos proteina bio zadovoljavajući u obje skupine, ispitanice iz omnivorske skupine imale su značajno veći ( $p = 0,001$ ) unos proteina, za razliku od rezultata dobivenih u ovom diplomskom radu.

Ustanovljena je značajna razlika ( $p = 0,017$ ) u unosu ugljikohidrata (**Slika 10**). Prosječna vrijednost unosa ugljikohidrata za vegane iznosila je  $294,4 \pm 51,4$  g/dan, a za ispitanice iz omnivorske skupine  $224,9 \pm 69,2$  g/dan. RI (eng. reference intake range; referentni raspon unosa – rasponi unosa koji su primjereni za održavanje zdravlja) za ugljikohidrate iznosi 45–60% ukupnog energetskeg unosa, E% (EFSA, 2010a). Unos ispitanica veganske skupine bio je prosječno  $59 \pm 0,1$  E%, gdje se uočava približavanje maksimalnom preporučenom unosu ugljikohidrata. Prosječni unos ugljikohidrata omnivora je iznosio  $46 \pm 0,5$  E%, što je vrijednost koja je blizu minimalnog preporučenog unosa. Viši ukupni unos ugljikohidrata je utvrđen i u drugim istraživanjima i objašnjava se većim unosom namirnica biljnog podrijetla, prvenstveno žitarica, povrća i mahunarki. Slično je utvrđeno u istraživanju Larssona i Johanssona (2002), pri čemu su ispitanice veganske skupine unosile  $66 \pm 5,33$  E% iz ugljikohidrata, a omnivorke  $56 \pm 3,8$  E%. Clarys i suradnici (2014) su uspoređivali kvalitetu različitih tipova prehrane. Za unos ugljikohidrata utvrđena je značajna razlika ( $p = 0,001$ ) između skupina. Veganska skupina ispitanika je ponovno imala najveći dnevni unos energije iz ugljikohidrata ( $57 \pm 8$  E%), a omnivorska skupina najmanji ( $44 \pm 8$  E%). Weder i suradnici (2019) su uspoređivali prehrambeni unos i antropometrijske karakteristike njemačke djece (1–3 godine) na vegeterijanskoj, veganskoj i omnivorskoj prehrani. Vegani su imali najveću prosječnu konzumaciju ugljikohidrata s rasponom 49,4 – 59,3 E%, a omnivori najnižu uz raspon 47,9 – 57,1 E%.



**Slika 10.** Dnevni unos ugljikohidrata ispitanica

Na značajnu statističku razliku u unosu ugljikohidrata, nadovezuje se i značajna statistička razlika ( $p = 0,001$ ) u unosu vlakana (**Slika 11**). Vegani su prosječno unosili  $41,5 \pm 12,2$  g/dan, a omnivori  $19,7 \pm 9,1$  g/dan. Preporučeni dnevni unos za odraslu žensku populaciju, uvidom u službenu stranicu Europske agencije za sigurnost hrane iznosi 25 g/dan (EFSA, 2010a). Vlakna su bitna za rad i pražnjenje crijeva te smanjuju rizik od koronarnih bolesti i dijabetesa tipa 2. Sve veganske ispitanice su unosile dovoljno vlakana, za razliku od omnivorske skupine gdje 90% ispitanica nije zadovoljilo preporučeni unos vlakana. Objašnjenje navedene razlike se nalazi u tipu prehrane. Prehrana vegana se većinom oslanja na namirnice biljnog podrijetla koje su bogate vlaknima, dok namirnice životinjskog podrijetla ne sadrže vlakna.



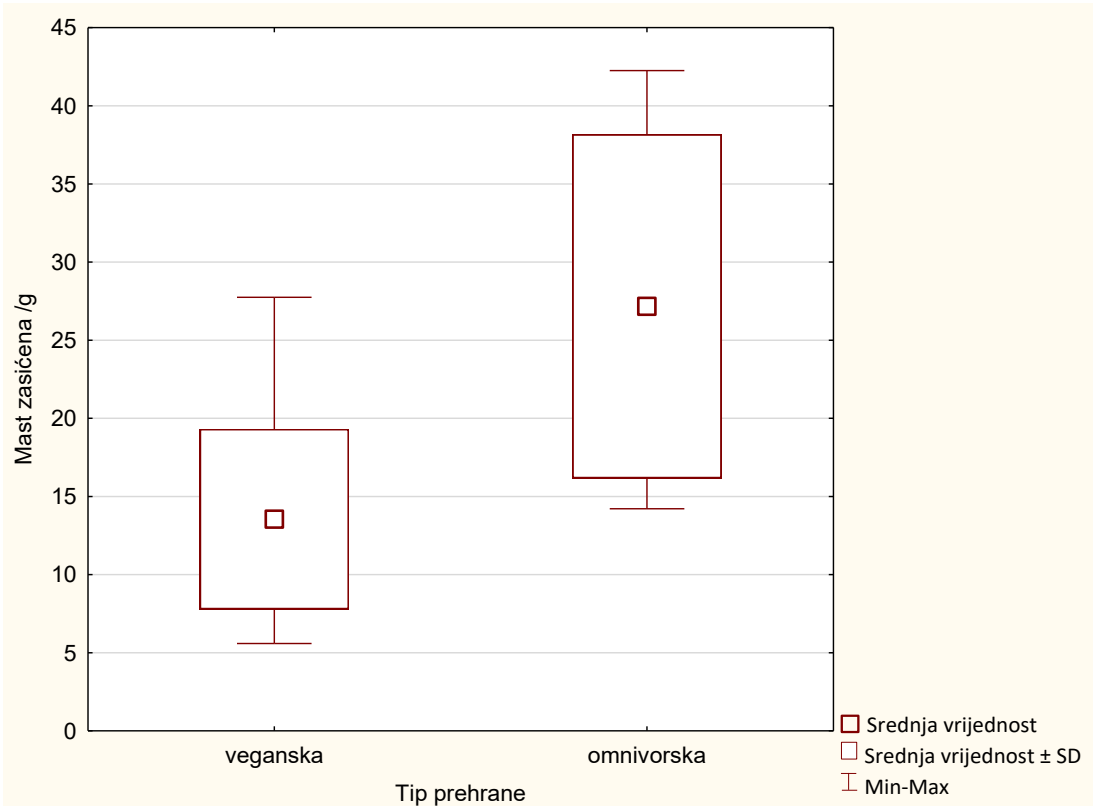
**Slika 11.** Dnevni unos vlakana ispitanica

Omnivorke su imale nešto viši prosječni unos masti ( $83,8 \pm 23,6$  g/dan) u odnosu na veganke ( $64,5 \pm 19,7$  g/dan), pri čemu se razlika približila statističkoj značajnosti ( $p = 0,076$ ). Ukupne masti uključuju zasićene, mononezasićene i polinezasićene masne kiseline. Referentni raspon unosa (RI) za masti iznosi 20 – 35 E% (EFSA, 2010b). Ispitanice veganske skupine unijele su masti u prosječnom energetske udjelu  $29 \pm 0,1$  E%, a ispitanice iz omnivorske skupine  $39 \pm 0,1$  E%. U omnivorskoj skupini je 70% ispitanica imalo energetske doprinos masti veći od gornje preporučene vrijednosti, a u veganskoj skupini njih 30%. **Tablica 5** prikazuje prosječne vrijednosti za sve podskupine masti.

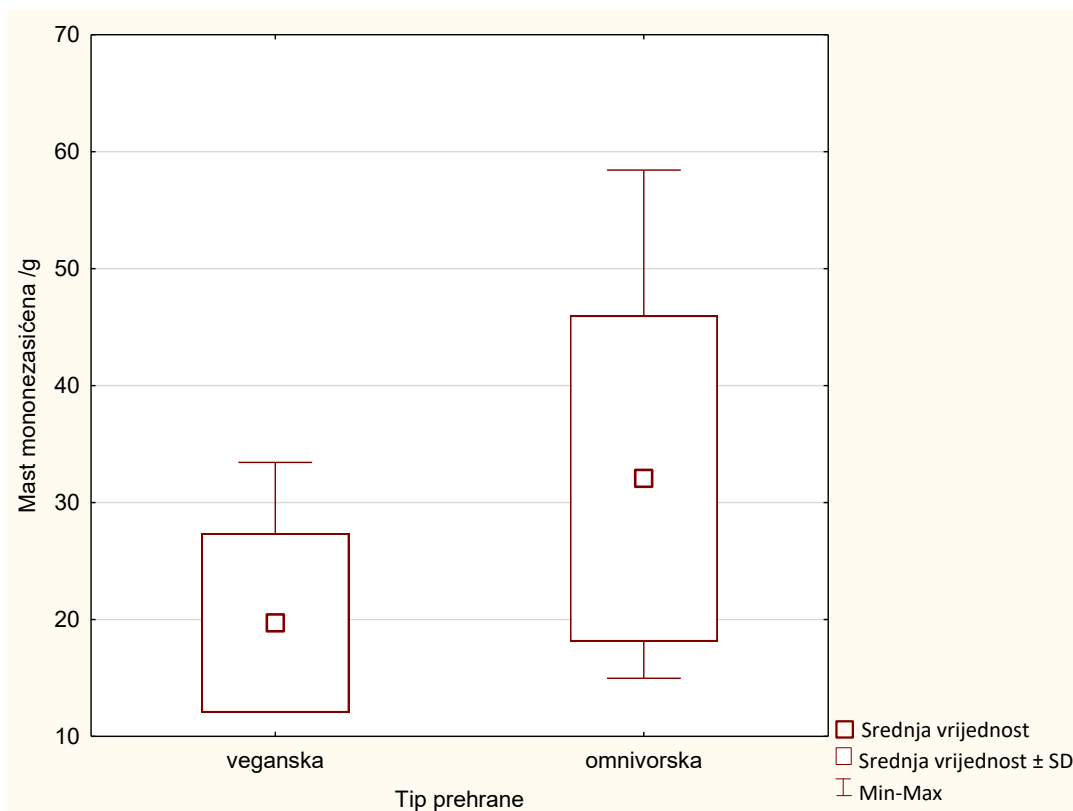
**Tablica 5.** Prosječni dnevni unos (srednja vrijednost  $\pm$  SD) zasićenih, mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina te linoleinske kiseline ispitanica

Tip prehrane	Unos zasićenih mk /g	Unos mononezasićenih mk /g	Unos polinezasićenih mk /g	Unos linoleinske kiseline /g
<b>Veganska (N = 10)</b>	13,56 $\pm$ 5,8	19,7 $\pm$ 7,6	25,4 $\pm$ 9,1	20,4 $\pm$ 8,1
<b>Omnivorska (N = 10)</b>	27,2 $\pm$ 11,0	32,1 $\pm$ 13,9	19,4 $\pm$ 7,0	17,2 $\pm$ 6,5

Statističkom analizom utvrđen je značajno viši unos zasićenih ( $p = 0,001$ ; **Slika 12**) te mononezasićenih masnih kiselina ( $p = 0,037$ ; **Slika 13**) omnivorskih ispitanica.



**Slika 12.** Dnevni unos zasićenih masnih kiselina ispitanica



**Slika 13.** Dnevni unos mononezasićenih masnih kiselina ispitanica

Omnivorke su unosile više zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina (**Tablica 5**). Navedene vrste masti unose se konzumiranjem širokog raspona namirnica, poput mlijeka i mliječnih proizvoda, orašastih plodova, žitarica, biljnih ulja i mesa. Zasićene masne kiseline predstavljaju heterogenu kategoriju gdje kratkolančane masne kiseline većinom pokazuju štetne učinke na ljudski organizam, dok srednje-dugačke i dugolančane mogu imati pozitivne učinke na ljudski organizam (primjerice snižavanje koncentracije triglicerida) (Mozaffarian, 2016). Učinci svih vrsta zasićenih masnih kiselina na ljudski organizam još nisu detaljno razriješeni i objašnjeni.

No ipak, sve studije su dokazale negativan utjecaj zasićenih masnih kiselina iz mesa i maslaca. Zasićene masne kiseline iz ovih namirnica povećavaju rizik kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa (Mozaffarian, 2016). Upravo zbog ove znanstveno dokazane tvrdnje, unos zasićenih masnih kiselina treba biti što niži, posebno iz mesa i maslaca. Mononezasićene masne kiseline su također predmet rasprave o učincima na organizam. Omnivori unose zasićene i mononezasićene masne kiseline iz šireg spektra namirnica za razliku od vegana, stoga ne čudi veći unos ovih vrsta masti (Mozaffarian, 2016).

Veganska skupina unosi više polinezasićenih masnih kiselina te linoleinske kiseline (**Tablica 5**), mada razlike nisu bile statistički značajne ( $p = 0,121$ ;  $p = 0,241$ ). Polinezasićene masne kiseline potiču borbu organizma protiv oksidansa (Qin i Hou, 2016). Izvori ovih masnih kiselina su sjemenke, soja, orašasti plodovi i biljna ulja, namirnice koje su većina veganskih ispitanica navele u svojim dnevnicima prehrane. Polinezasićene masti uključuju omega 3 i omega 6 masne kiseline. Konzumacija omega 3 masnih kiselina dokazano povoljno djeluje na zdravlje kardiovaskularnog sustava (Mozaffarian, 2016). Nije jasno djelovanje linoleinske kiseline na organizam budući da je više studija na eksperimentalnim životinjama ustanovilo njeno proupalno djelovanje, iako je više studija na ljudima dokazalo suprotno (Mozaffarian, 2016). AI (eng. adequate intake; adekvatni unos - prosječni unos populacije koji se smatra zadovoljavajućim) unos linoleinske kiseline iznosi 4 E% (EFSA, 2010b). Sve ispitanice iz veganske skupine su imale unos veći od AI vrijednosti, a isto se može reći za 90% ispitanica omnivorske skupine.

Dobiveni rezultati za unos masti slažu se s rezultatima dobivenim u studiji koju su proveli znanstvenici Larsson i Johansson (2002). Ispitanici veganske skupine su imali manji ukupni unos masti (vegani:  $24 \pm 5,43$  E%, omnivori:  $29 \pm 3,8$  E%) i manji unos mononezasićenih, a veći unos polinezasićenih masnih kiselina od ispitanika iz omnivorske skupine.

Slični rezultati dobiveni su u istraživanju Clarysa i suradnika (2014). Njihovi ispitanici iz omnivorske skupine unosili su značajno više ( $p = 0,01$ ) ukupne masti, zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina u odnosu na skupinu vegana. Vegani su unosili  $21 \pm 11$  g zasićenih masnih kiselina dnevno, a omnivori  $54 \pm 25$  g/dan. Najveću konzumaciju polinezasićenih masnih kiselina ostvarili su vegani, a najmanju omnivori.

Unos kolesterola povezuje se s unosom zasićenih masnih kiselina te namirnicama životinjskog podrijetla (EFSA, 2010b). Stoga ne čudi da su omnivorke unosile znatno više kolesterola nego veganke ( $p = 0,0002$ ). Prosječna vrijednost unosa kolesterola za veganke je iznosila  $12,8 \pm 10,6$  mg/dan, a za omnivorke  $266,0 \pm 152,1$  mg/dan. Visoke razine ukupnog kolesterola u krvi, posebno LDL kolesterola, povezuje se s bolestima koronarnog sustava (Kendall i Jenkins, 2004). Znanstvenim istraživanjima dokazano je kako modifikacija prehrane i načina života, djeluje djelotvornije na snižavanje kolesterola od lijekova. Prehrana bogata voćem, povrćem, sojinim proteinima i orašastim plodovima, smanjuje razinu LDL kolesterola u krvi i povišuje

razinu HDL kolesterola u krvi. Uočeno je smanjenje LDL kolesterola u krvi za 13,6% nakon kratkog vremena od početka studije, a čak 50%-tno smanjenje slučajeva koronarnih bolesti nakon dvije godine od početka studije. Veganskom prehranom koja je bogata namirnicama koji pozitivno djeluju na razine LDL i HDL kolesterola u krvi, smanjuje se rizik od razvoja koronarnih bolesti. Omnivorima se preporučuje smanjiti unos namirnica bogatih zasićenim mastima i povećati unos namirnica bogatih vlaknima i biljnim sterolima.

Veganke su unosile  $2,0 \pm 6,3$  g alkohola dnevno, a omnivorke  $5,7 \pm 6,4$  g/dan ( $p = 0,059$ ). Umjereni unos etanola (do 30 g/dan) štiti od ateroskleroze, a posljedično i od koronarnih bolesti. Kod prekomjerenog unosa dolazi do oslabljene funkcije jetre, organa koji je zaslužan za metabolizam masti. Posljedično tome dolazi do smanjenje razine HDL-a u krvi (Hannuksela i sur., 2004). Iako je analiza pokazala razliku blizu statističke značajnosti, obje ispitivane skupine su konzumirale etanol u dopuštenim granicama.

Prosječni dnevni unosi minerala prikazani su u **Tablici 6**.

**Tablica 6.** Prosječni dnevni unos (srednja vrijednost  $\pm$  SD) minerala ispitanica

Tip prehrane	Unos Na /mg	Unos K /mg	Unos Ca /mg	Unos Mg /mg	Unos P /mg	Unos Fe /mg	Unos Zn /mg	Unos Cu /mg	Unos Se / $\mu$ g
<b>Veganska (N = 10)</b>	2953,3 $\pm$ 969,3	3772,8 $\pm$ 1350,4	665,5 $\pm$ 252,0	357,0 $\pm$ 137,6	1124,5 $\pm$ 256,4	26,6 $\pm$ 16,5	6,4 $\pm$ 1,6	1,9 $\pm$ 0,7	94,0 $\pm$ 32,8
<b>Omnivorska (N = 10)</b>	4734,2 $\pm$ 3357,1	3551,2 $\pm$ 1180,8	920,2 $\pm$ 350,9	267,7 $\pm$ 72,3	1343,3 $\pm$ 399,6	14,1 $\pm$ 8,3	3,4 $\pm$ 1,0	0,9 $\pm$ 0,3	105,8 $\pm$ 40,1



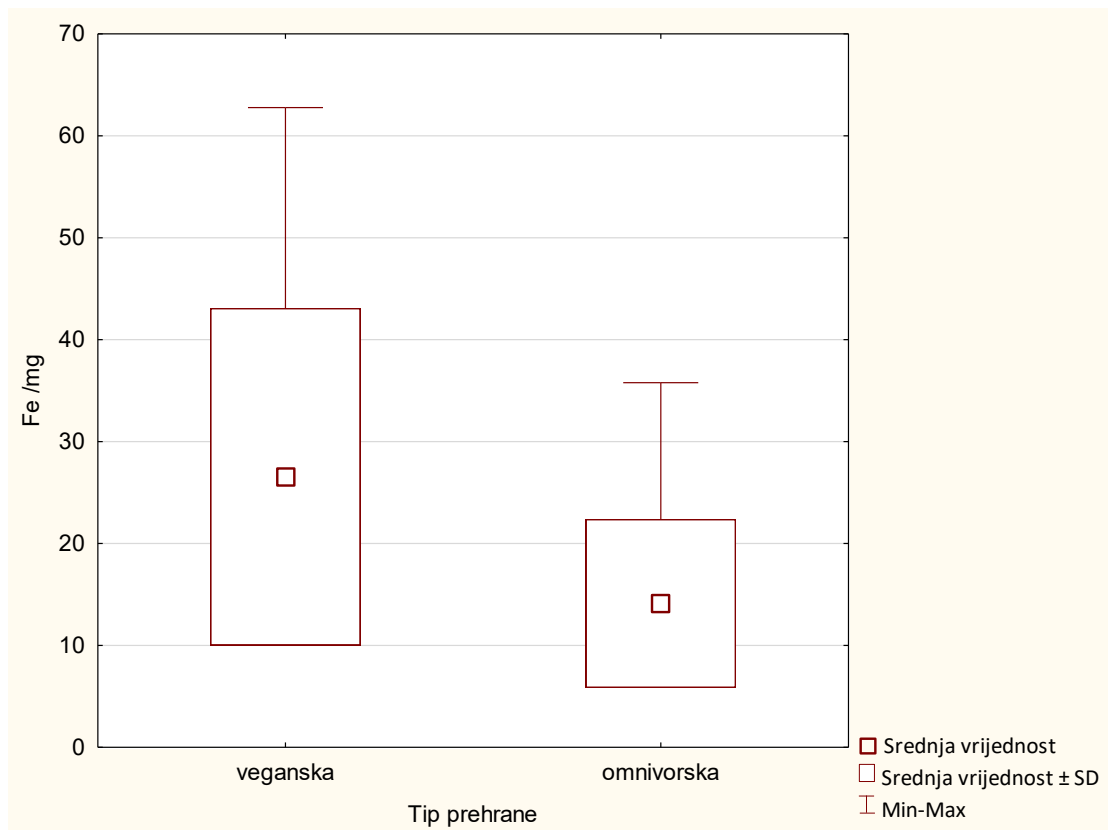
Unos ispitanika je uspoređen s referentnim prehrambenim vrijednostima (eng. dietary reference values, DRV) Europske agencije za sigurnost hrane.

Sigurni i adekvatni unos natrija iznosi 2000 mg/dan (EFSA, 2019). Uvidom u **Tablicu 6** s prosječnim vrijednostima, vidljivo je kako su obje skupine ispitanica unosile više Na od DRV vrijednosti, posebno omnivorke, iako razlike nisu dosegle statističku značajnost ( $p = 0,186$ ). Ovaj mineral se najviše unosi u organizam putem soli. Povećani unos soli uzrokuje hipertenziju kao fiziološki odgovor organizma za održavanje homeostaze (Đurić i sur., 2011). S obzirom na ovaj podatak, omnivori imaju veći rizik razvoja srčano-žilnih problema.

Clarys i suradnici (2014) ustanovili su značajno niži ( $p < 0,01$ ) unos natrija kod veganskih ispitanika u odnosu na omnivore. Unos natrija za veganske ispitanike bio je  $1316 \pm 666$  mg/dan, a za omnivore  $3296 \pm 1525$  mg/dan.

Obje skupine ispitanica imale su adekvatan dnevni unos fosfora (AI = 550 mg/dan) (EFSA, 2015f), kalija (AI = 3500 mg/dan) (EFSA, 2016a) i selena (AI = 70  $\mu$ g/dan) (EFSA, 2014c). Također, sve ispitanice su unosile više od prosječne potrebe za željezom (AR = 7 mg/dan) (EFSA, 2015d). Unos veći od PRI vrijednosti za željezo (16 mg/dan) imale su veganke (**Tablica 6**).

Uočljiv je značajno viši unos Fe kod veganskih ispitanica ( $p = 0,011$ ; **Slika 14**). Ipak, biljna hrana sadrži samo nehemsko željezo koje ima manju sposobnost apsorpcije (Schüpbach i sur., 2017). Osim toga, većina biljne hrane sadrži određene inhibitore apsorpcije željeza, poput fitinske kiseline ili polifenola. Uspoređivan je status i unos mikronutrijenata kod svejeda, vegetarijanaca i vegana u Švicarskoj (Schüpbach i sur., 2017). Najveći status željeza u krvi imali su omnivori, a najmanje vegani, iako je unos željeza bio najveći u veganskoj skupini ispitanika, a najmanji kod omnivora.

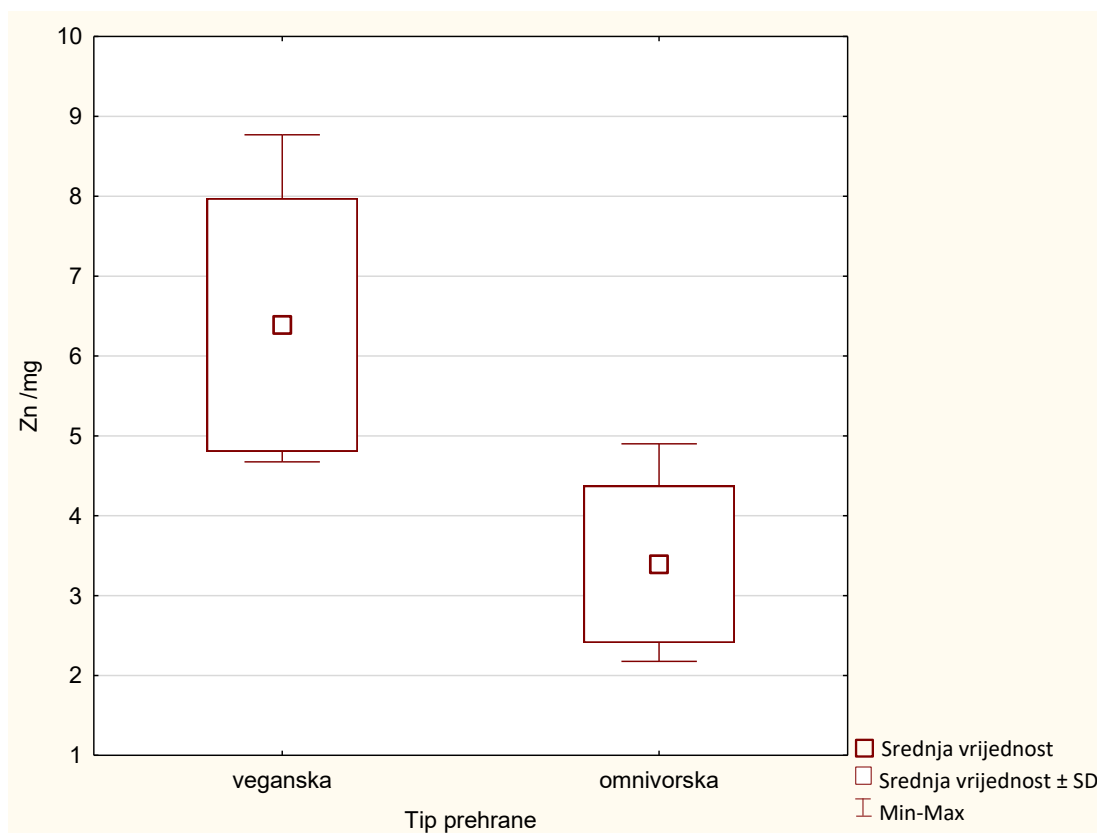


**Slika 14.** Dnevni unos željeza ispitanica

AR i PRI vrijednosti za unos cinka su određene prema razini unosa fitata od 300, 600, 900 ili 1200 mg/dan, zbog čega se PRI vrijednost kreće između 7,5 i 12,7 mg/dan (EFSA, 2014d). Iako su veganke unosile dvostruko više Zn ( $p = 0,0006$ ; **Slika 15**), prosječni unos (**Tablica 6**) je bio jednak AR vrijednosti za najniži unos fitata (AR = 6,4 mg/dan). Ipak, realno je očekivati znatno veći unos fitata veganskom prehranom, što ovakvu opskrbu cinkom čini upitnom u smislu dostatnosti. Obje skupine su unosile manje (**Tablica 6**) od AI vrijednosti za bakar od 1,3 mg/dan (EFSA, 2015c). Prosječni unos cinka i bakra svih omnivorskih ispitanica bio je niži od DRV vrijednosti.

Nedostatak minerala cinka je čest kod odrasle populacije. Dugoročni unos manji od preporučenih količina uzrokuje smanjenje funkcije citokroma IV, što rezultira stvaranjem ROS-ova i značajnim oksidativnim oštećenjem DNA (Ames, 2006). Nedostatak ovog elementa inaktivira proteine koji sadrže cink, poput tumorskog supresora proteina p53 i proteina

ekscizije baza DNA, koji je nužan za popravak DNA. Rezultat je sinergistički učinak na oštećenje DNA.



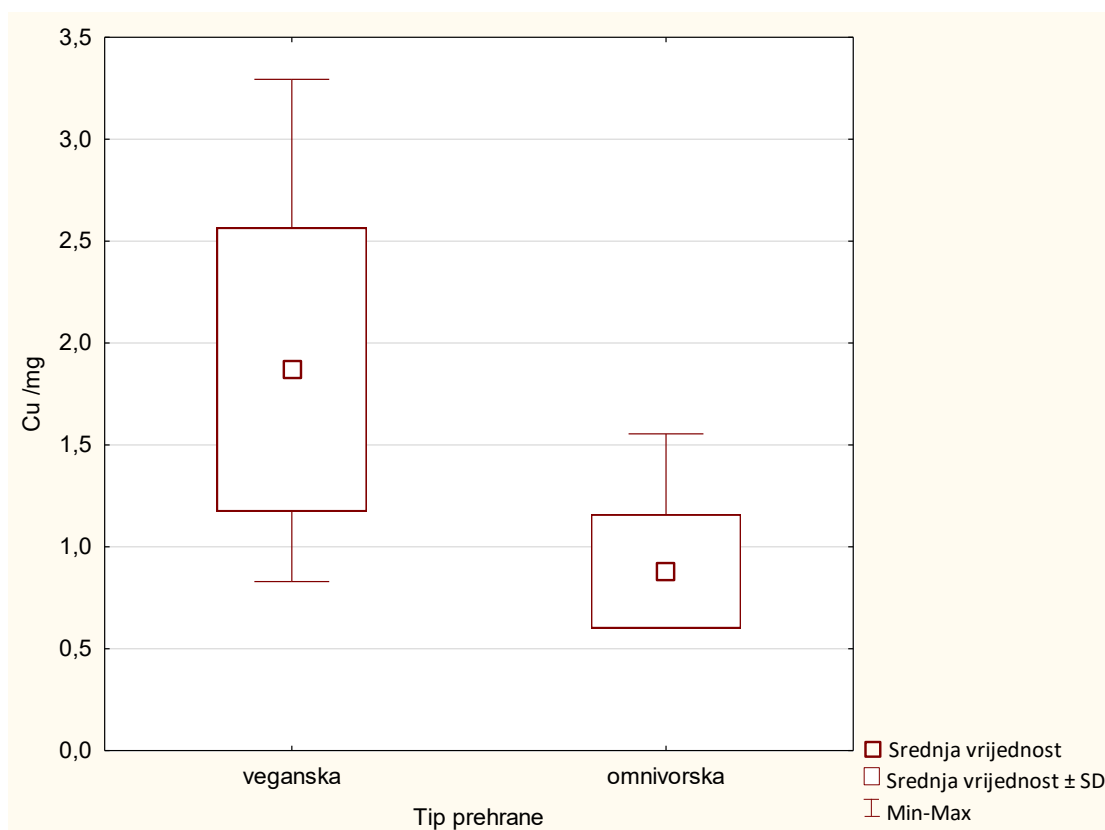
**Slika 15.** Dnevni unos cinka ispitanica

Rezultati dobiveni u ovom diplomskom radu različiti su od rezultata dobivenih u istraživanju Daveya i suradnika (2003) u kojem je uspoređivan unos hranjivih tvari između različitih tipova prehrane (omnivori, vegeterijanci, vegani, ribojedi). Od svih tipova prehrane uključenih u istraživanje omnivori su imali najveće prosječne dnevne unose cinka ( $9,10 \pm 2,55$  mg/dan), a vegani najmanje ( $7,22 \pm 2,42$  mg/dan).

Iako se cink većinom unosi putem namirnica životinjskog podrijetla, moguće je postići adekvatan unos većim konzumiranjem mahunarki, orašastih plodova i uljarica (Richter i sur., 2016), što je bio slučaj s veganskim ispitanicama uključenim u istraživanje u sklopu ovog diplomskog rada.

Za razliku od omnivorske skupine u kojoj niti jedna ispitanica nije unosila dovoljno bakra, 80% veganskih ispitanica je unosila dovoljno (**Tablica 6**).

Unos Cu manji od preporučenih dnevnih količina rezultira smanjenom sintezom hema, a samim time i kompleksa IV u mitohondrijima (Cu je jedan od mikronutrijenata koji sudjeluju u ovoj reakciji) (Ames, 2006). Kompleks IV održava koncentracije ROS-ova na minimalnoj razini. Deficiti navedenog kompleksa uzrokuju stvaranje ROS-ova, oštećenje DNA i posljedični oksidativni stres i propadanje mitohondrija (Ames, 2006). Uočena je statistički značajna razlika u unosu između dviju skupina ispitanica i za ovaj mineral ( $p = 0,001$ ; **Slika 16**).



**Slika 16.** Dnevni unos bakra ispitanica

Dobiveni rezultati su u skladu s istraživanjem Chamorro i suradnika (2020). Oni su uspoređivali prehrambene karakteristike muških omnivorskih i veganskih ispitanika i utvrdili značajno veći ( $p = 0,001$ ) prosječni dnevni unos bakra u veganskoj ( $2,1 \pm 0,8$  mg/dan) u odnosu na omnivorsku skupinu ispitanika ( $1,6 \pm 0,7$  mg/dan).

AR vrijednost za kalcija (860 mg/dan za žene) (EFSA, 2015a) nije unosilo 80% ispitanica veganske skupine, a rezultati su još lošiji kod usporedbe prosječnog unosa i PRI vrijednosti (1000 mg/dan) koju nije dostigao ni značajan udio omnivorki (**Tablica 6**).

Kalcij je jedan od nutrijenata koji se smatra potencijalno kritičnim u veganskoj prehrani jer se nalazi u namirnicama mliječnog podrijetla koje vegani ne konzumiraju (Richter i sur., 2016). Veganima se preporučuje povećana konzumacija orašastih plodova, mahunarkih i namirnica obogaćenih kalcijem za adekvatan unos ovog minerala. U slučaju velikog manjka, preporučuje se i suplementacija. Nedostatak kalcija je povezan s lomovima kromosoma (Ames, 2006).

AI vrijednost unosa magnezija (300 mg/dan) (EFSA, 2015e) nije postiglo 70% ispitanica omnivorske skupine (**Tablica 6**).

Davey i suradnici, (2003) su uočili najveći unos magnezija u veganskoj populaciji tijekom uspoređivanja prehrambenih unosa između različitih tipova prehrane. Nedostatak Mg uzrokuje oštećenje mitohondrijske DNA i smanjenu otpornost na oksidanse (Ames, 2006). Samim time dolazi do povećanog rizika od bolesti koje su povezane s oksidativnim oštećenjima (rak, osteoporoza, dijabetes, metabolički sindrom). Rizik od većih razina Mg u organizmu je jako mali, dok doze manje od preporučene uzrokuju sustavno oksidativno oštećenje organizma. Preporučuje se suplementacija u slučaju niskog unosa (Ames, 2006).

Donja tablica prikazuje prosječni dnevni unos vitamina kod ispitanica veganske i omnivorske skupine.

**Tablica 7.** Prosječni dnevni unos (srednja vrijednost  $\pm$  SD) vitamina

Tip prehrane	Vitamin A / $\mu$ g RE	Karoteni/ $\mu$ g	Vitamin B1 /mg	Vitamin B2 /mg	Vitamin B3 /mg	Vitamin B6 /mg	Vitamin B9 / $\mu$ g	Vitamin B12 / $\mu$ g	Vitamin C /mg	Vitamin D / $\mu$ g	Vitamin E /mg	Vitamin K / $\mu$ g
<b>Veganska (N = 10)</b>	660,5 $\pm$ 400,1	3557,4 $\pm$ 2539,6	1,2 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,4	12,1 $\pm$ 2,4	5,2 $\pm$ 3,6	169,7 $\pm$ 69,9	0,6 $\pm$ 1,4	122,7 $\pm$ 63,6	0,1 $\pm$ 0,3	6,3 $\pm$ 5,4	139,6 $\pm$ 144,3
<b>Omnivorska (N = 10)</b>	748,8 $\pm$ 585,3	2380,9 $\pm$ 2607,6	0,9 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,3	16,2 $\pm$ 4,7	2,0 $\pm$ 1,4	102,8 $\pm$ 49,2	2,7 $\pm$ 1,1	77,3 $\pm$ 42,1	0,7 $\pm$ 1,1	4,1 $\pm$ 2,3	109,5 $\pm$ 90,4

Karoteni predstavljaju skupinu karotenoida, dijetetskih prekursora biljnog podrijetla za vitamin A. Preporučene dnevne doze za vitamin A se izražavaju u obliku  $\mu\text{g}$  ekvivalenata retinola na dan (RE/dan), gdje je 1  $\mu\text{g}$  RE jednak 1  $\mu\text{g}$  retinola, 6  $\mu\text{g}$   $\beta$ -karotena i 12  $\mu\text{g}$  ostalih karotenoida (EFSA, 2015g). U radu je već ustanovljeno kako je veganska skupina ispitanica unosila više namirnica biljnog podrijetla, stoga nije ni čudno da su imale veći prosječni dnevni unos karotena (**Tablica 7**). Iako su obje skupine ispitanica imale prosječne dnevne unose u skladu s PRI vrijednostima za vitamin A (650  $\mu\text{g}$  RE/dan) (EFSA, 2015g), vitamin B1 (0,1 mg/MJ) (EFSA, 2016b), vitamin B3 (1,6 mg NE/MJ) (EFSA, 2014b), vitamin B6 (1,6 mg/dan) (EFSA, 2016c) te adekvatan unos vitamina K (AI = 70  $\mu\text{g}$ /dan) (EFSA, 2017b) (**Tablica 7**), primijećena su značajna odstupanja od navedenih unosa unutar skupina. PRI vrijednosti za vitamin A nije unijelo 50% veganskih i 60% omnivorskih ispitanica. Veganske ispitanice su imale unose vitamina B1 u skladu s PRI vrijednostima, za razliku od omnivorske skupine u kojoj je 60% unosilo manje ovog vitamina. Također, 80% veganki je unosilo manje od referentne vrijednosti unosa vitamina B3, a isto vrijedi za 30% omnivorki. Omnivorska skupina ispitanica imala je prosječan unos vitamina B6 veći od PRI vrijednosti, ali 70% ispitanica je konzumiralo manje od referentne količine. Nedovoljan unos ovog vitamina je primijećen u 20% ispitanica veganske skupine. Adekvatnu tj. AI vrijednost vitamina K ne unosi 20% ispitanica omnivorske i 40% ispitanica veganske skupine.

Od navedenih vitamina, veganske ispitanice su imale veće prosječne unose za vitamine B1, B6 i K, a omnivorska skupina ispitanica za vitamine A i B3 (**Tablica 7**).

Nedostatan unos vitamina B2 zabilježen je u obje skupine ispitanica, pri čemu su srednje vrijednosti bile manje i od AR (1,3 mg/dan) i od PRI vrijednosti (1,6 mg/dan) (EFSA, 2017a). Isto vrijedi i za vitamin B9, čija AR vrijednost je 250  $\mu\text{g}$  DFE/dan, a PRI vrijednost 330  $\mu\text{g}$  DFE/dan (EFSA, 2014a). Adekvatan unos nije postignut ni u jednoj skupini za vitamin E (AI = 11 mg/dan) (EFSA, 2015h), vitamin B12 (4  $\mu\text{g}$ /dan) (EFSA, 2015b) i vitamin D (15  $\mu\text{g}$ /dan) (EFSA, 2016d) (**Tablica 7**).

Nijedna ispitanica omnivorske skupine nije unosila dovoljne količine vitamina E. Ujedno, 90% ispitanica ove skupine je unosilo manje od PRI vrijednosti za vitamin B2, a njih 80% manje od AI vrijednosti za vitamin B12. Unos vitamina E je bio ispod adekvatne količine za 80% ispitanica veganske skupine. Nijedna ispitanica ove skupine nije unosila vitamin B2 u količini jednakoj ili

većoj od PRI vrijednosti, a njih 90% nije unosilo adekvatne količine vitamina B12 hranom. Iako obje skupine imaju nedostatne unose navedenih vitamina, prosječan unos vitamina E i vitamina B9 je bio bolji kod veganskih ispitanica. Omnivorska skupina je više unosila vitamina B2, B12 i D (**Tablica 7**).

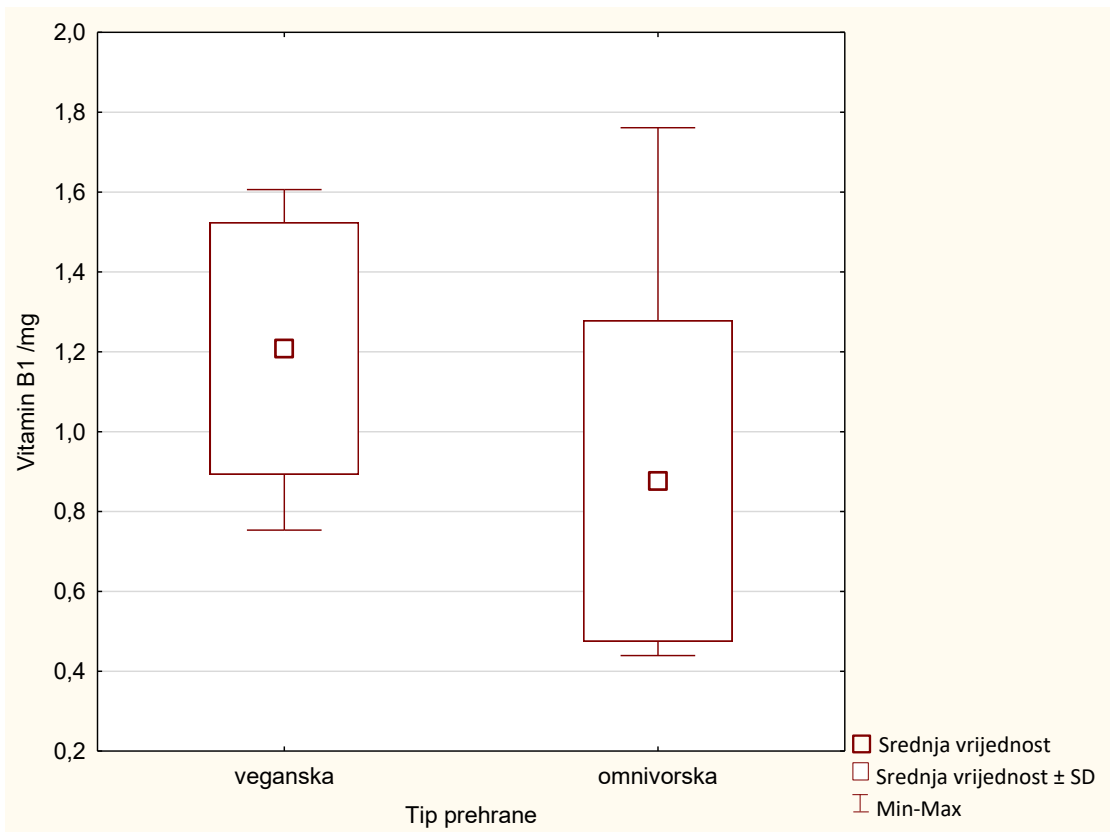
Za vitamin C, AR vrijednost iznosi 80 mg/dan, a PRI vrijednost 95mg/dan (EFSA, 2013). Prosječni dnevni unos veganske skupine ispitanica bio je veći od obje vrijednosti, za razliku od omnivorske skupine (**Tablica 7**). Promatrajući prosječni dnevni unos unutar svake ispitivane skupine, 30% veganskih ispitanica imalo je unos manji od PRI vrijednosti, dok je to bio slučaj za čak 70% ispitanica omnivorske skupine.

Razlike u unosu između skupina najviše variraju za vitamine B skupine. Postoji statistički značajna razlika u unosu vitamina B1 ( $p = 0,038$ ; **Slika 17**), B3 ( $p = 0,026$ ; **Slika 18**), B6 ( $p = 0,045$ ; **Slika 19**) i B12 ( $p = 0,004$ ; **Slika 20**). Veganke su unosile značajno više vitamina B1 i B6, dok su omnivorke unosile značajno više vitamina B3 i B12. Objašnjenje se nalazi u izvorima ovih vitamina, posebno vitamina B12 kojeg nema u namirnicama biljnog podrijetla. Ispitanice su navele u upitniku kako su koristile suplemente, naročito veganska skupina ispitanica. Od suplemenata se najviše unosio vitamin B12, multivitamini i vitamin D, najvjerojatnije zbog preventivne i terapijske uloge vitamina D protiv infekcije SARS-CoV-2 virusa (Decyk i sur., 2022).

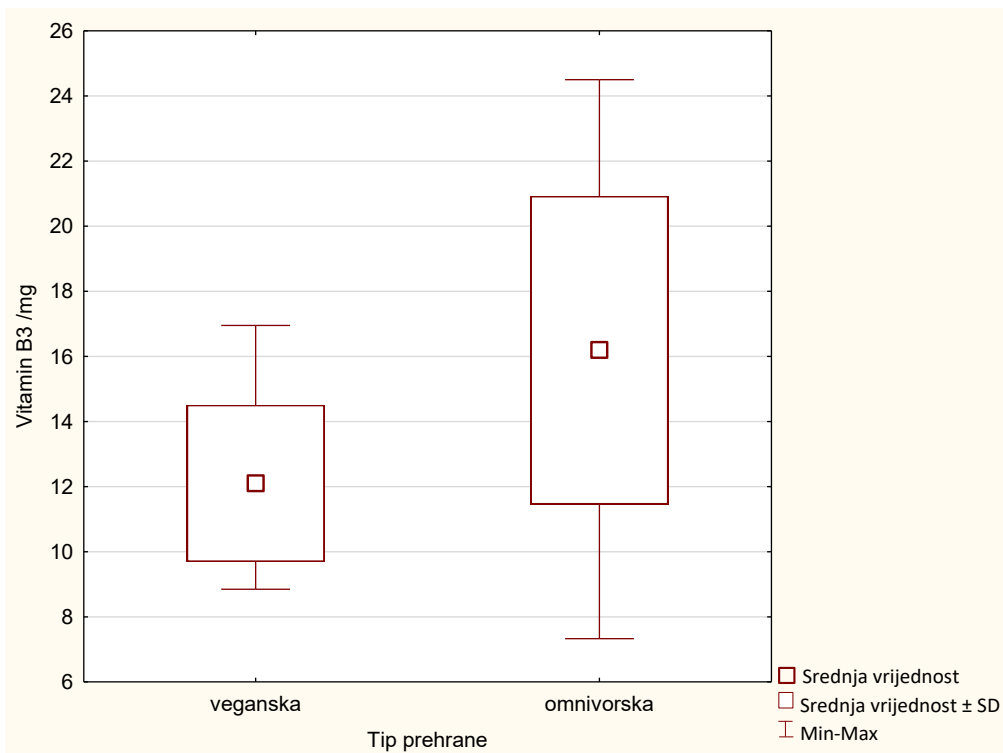
Vitamini D, B2 i B12 spadaju u grupu kritičnih hranjivih tvari za vegansku skupinu jer se većinom nalaze u namirnicama životinjskog podrijetla (Weikert i sur., 2020). Nasuprot tome, smatra se kako veganska prehrana osigurava adekvatan unos vitamina C. Usporedbom opskrbe vitaminima hranom kod vegana i omnivora u Njemačkoj utvrđen je značajno viši dnevni unos vitamina B1, B6, B9, E i K vegana, dok su omnivori imali više unose vitamina B2, B3, B12 i D (Weikert i sur., 2020). Raspon unosa vitamina D uključivao je veće vrijednosti kod omnivorskih (1,86 – 4,29  $\mu\text{g}/\text{dan}$ ) u odnosu na veganske ispitanike (0,29 – 1,85  $\mu\text{g}/\text{dan}$ ), iako su obje skupine unosile manje od adekvatnog unosa (AI = 15  $\mu\text{g}/\text{dan}$ ).

Slični rezultati dobiveni su i u istraživanju Larssona i Johanssona, (2002). Ispitanici iz veganske skupine konzumirali su više vitamina E, B9 i B6, dok je omnivorska skupina ispitanika unosila više vitamina A, B2, B3 i B12. Obje skupine unosile su adekvatne količine vitamina A, B1, B3 i B6. Omnivori su unosili dovoljno vitamina B2, a vegani vitamina B9.

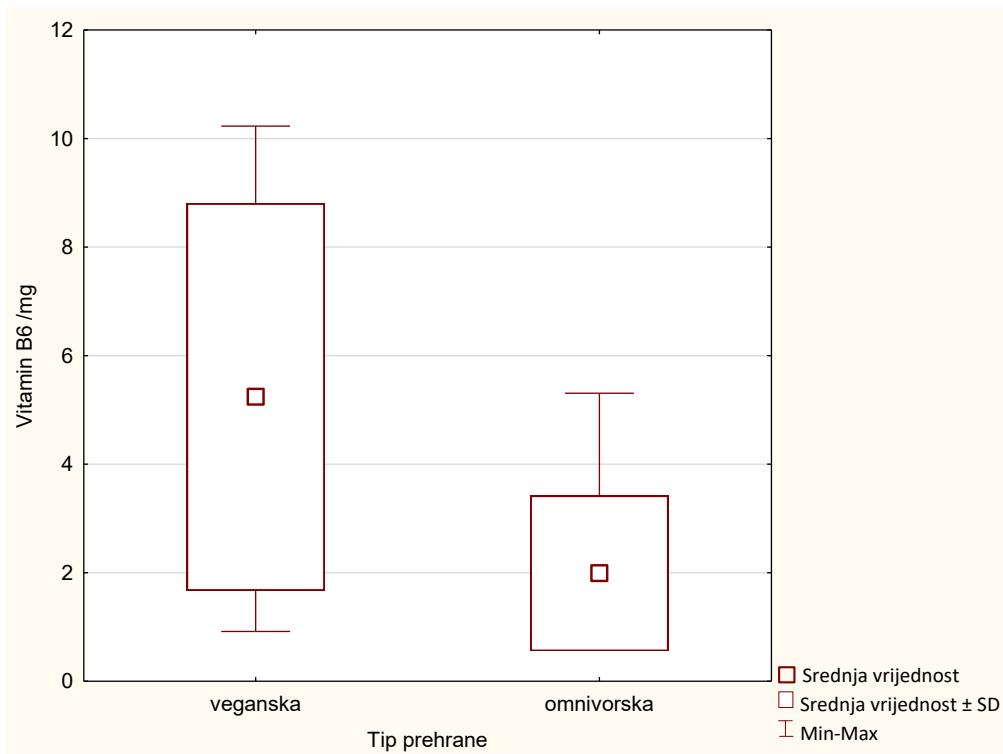




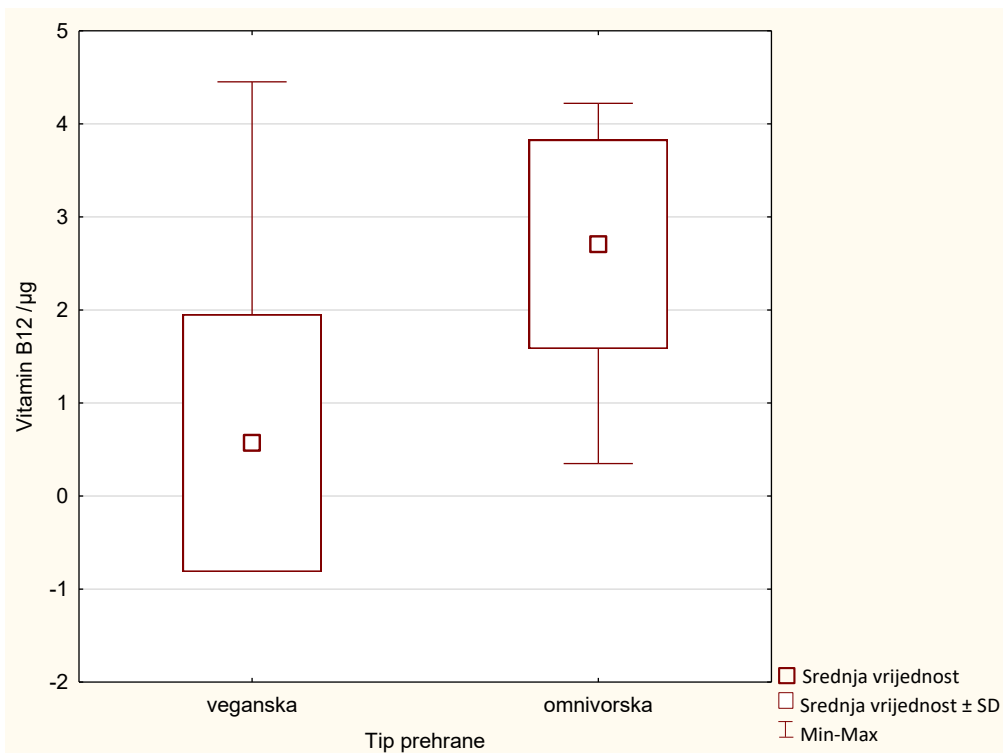
**Slika 17.** Dnevni unos vitamina B1 ispitanica



**Slika 18.** Dnevni unos vitamina B3 ispitanica



**Slika 19.** Dnevni unos vitamina B6 ispitanica



**Slika 20.** Dnevni unos vitamina B12 ispitanica

Za borbu protiv oksidativnog stresa, posebno se izdvajaju vitamini E, C i B2. Nedostatak vitamina E i vitamina C uzrokuje jedno- i dvolančane lomove DNA te nastajanje oksidativnih lezija (Ames, 2005). Vitamin B2, kao i cink, sudjeluje u procesu sinteze kompleksa IV. Nedostatak ovog vitamina uzrokuje smanjenje funkcije ovog citokroma i posljedično oksidativno oštećenje DNA (Ames, 2006).

Baza Nutri Pro 2001, koja je korištena za unos i obradu podataka, ima nedostatne podatke o pojedinim mineralima i vitaminima namirnica, posebno za egzotične namirnice i jela, česta u veganskoj prehrani. Ovaj nedostatak je vjerojatno u određenoj mjeri utjecao na rezultate.

U nastavku su tablično prikazane vrste i količine biljnih začina koje su konzumirale ispitanice.

**Tablica 8.** Vrste i količine biljnih začina koje je unosila veganska skupina tijekom tri dana

Začin	Ukupno /g	Dnevni prosjek /g
Crveni luk	578,5	19,3
Češnjak	282,5	9,4
Papar	30,3	1,0
Paprika (crvena, sušena)	12,4	0,4
Peršin (list)	18,1	0,6
Korijandar (sušeni)	0,2	0,0
Vlasac	8,5	0,3
Klinčić	3	0,1
Cimet	39,8	1,3
Kakao	23,8	0,8
Kurkuma	18,3	0,6
Bosiljak	11,8	0,4
Origano	3,1	0,1
Ružmarin	4	0,1
Kadulja	3,1	0,1
Majčina dušica	3,7	0,1
Češnjak (prah)	14,5	0,5
Crveni luk (prah)	17,5	0,6
Kopriva	26,2	0,9
Đumbir	6,4	0,2
Garam masala	9	0,3
Azijski miks	6,6	0,2
Začinski wok	6,6	0,2

**Tablica 9.** Vrste i količine začina koje je unosila omnivorska skupina tijekom tri dana

Začin	Ukupno /g	Dnevni prosjek /g
Crveni luk	426,3	14,2
Češnjak	19	0,6
Papar	17,6	0,6
Paprika (crvena, sušena)	5,1	0,2
Peršin (list)	69,9	2,3
Peršin (korijen)	4	0,1
Vlasac	2,1	0,1
Paprika (ljuta)	2,8	0,1
Cimet	15,5	0,5
Kakao	1,1	0,0
Kurkuma	0,7	0,0
Bosiljak	12,7	0,4
Origano	5,7	0,2
Ružmarin	5,7	0,2

Uvidom u popis začina, vidljiva je raznovrsnija konzumacija začina od strane veganki tijekom tri dana evidentiranja prehrane (**Tablice 8 i 9**). Kadulja, korijandar, klinčić, majčina dušica, kopriva, đumbir, garam masala, azijski miks i začini za wok su začini koje omnivorska skupina nije koristila. Ljuta paprika i korijen peršina su začini koje su konzumirale omnivorke, dok veganske ispitanice nisu navele konzumaciju ovih začina. Omnivorke su većinom konzumirale one tradicionalnije i poznatije biljne začine, dok su se veganke pokazale spremnijima za eksperimentiranje sa začinima i isprobavanjem novih. Dnevni prosjek količine konzumiranih začina veganskih ispitanica kretao se od 0 do 19,3 g/dan, a srednja konzumacija skupine je iznosila  $1,6 \pm 4,3$  g/dan. Najviše su konzumirale crveni luk, čest i tradicionalni začin hrvatske kuhinje, a najmanje sušeni korijandar. Omnivorske ispitanice konzumirale su začine u rasponu 0 – 14,2 g/dan sa srednjom konzumacijom od  $1,4 \pm 3,7$  g/dan. Najmanje su koristile kakao i kurkumu, a najviše crveni luk, kao i kod veganskih ispitanica. Na unos začina u omnivorskoj skupini je svakako utjecala činjenica da se otprilike polovica ispitanica hranila u studentskoj menzi. Dnevni prosjek unosa većine začina bio je veći u veganskoj skupini. Omnivorke su više

konzumirale peršinov list, origano i ružmarin, dok je prosječna konzumacija bosiljka bila ista u obje skupine (**Tablice 8 i 9**).

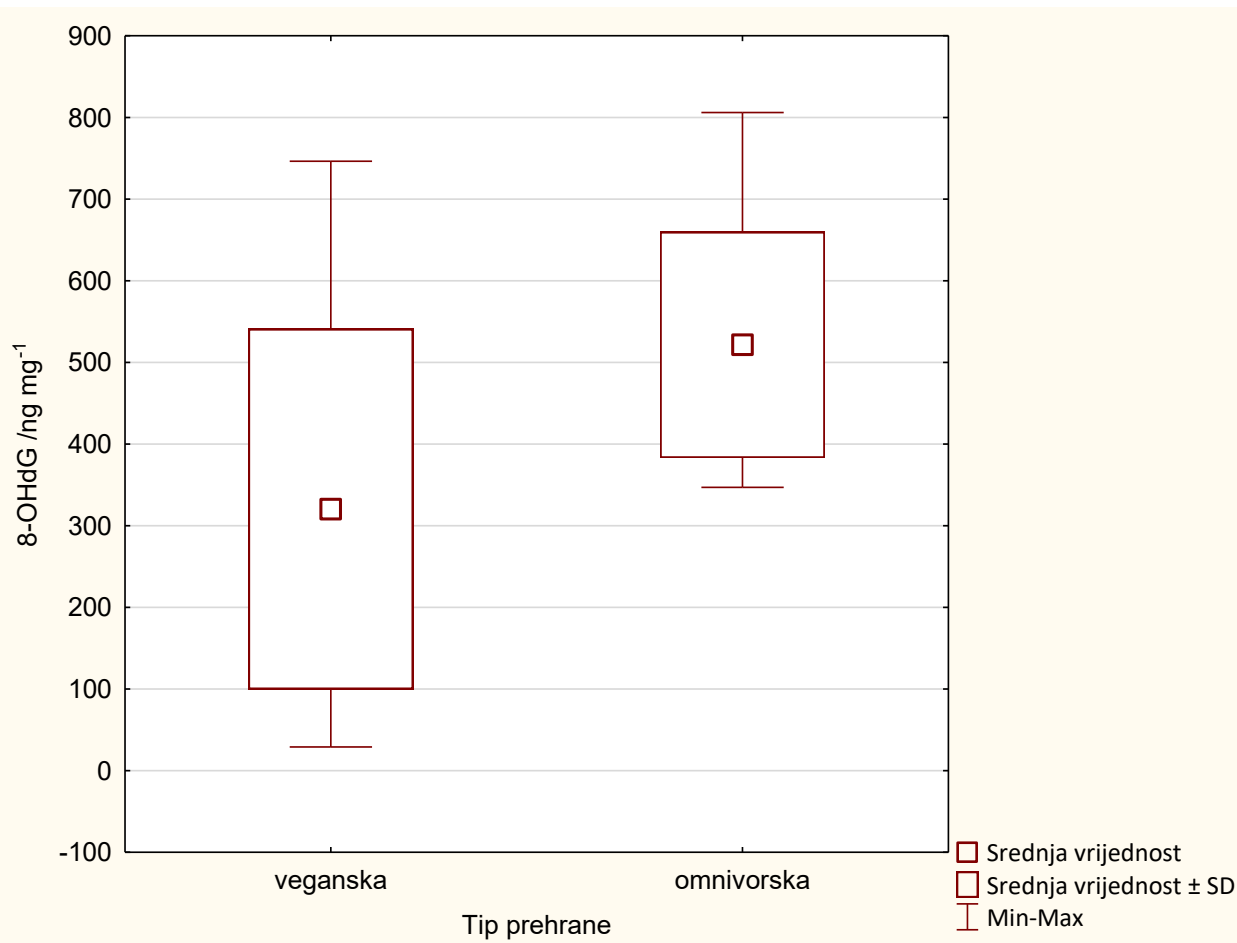
Kao što je već spomenuto u teorijskom dijelu, prehrana biljnog podrijetla je bogata tvarima koji povoljno djeluju na odgovor organizma na oksidanse (Qin i Hou, 2016). Značajno veći unos ukupnih ugljikohidrata i vlakana (**Slike 10 i 11**) upućuje na veću konzumaciju voća i povrća veganki od omnivorki, a time unose više polifenola, izotiocijanata, organosumpornih spojeva i drugih fitokemikalija. Od biljnih začina koji se posebno izdvajaju u borbi protiv oksidativnog stresa (Qin i Hou, 2016), veganke su unosile više crvenog luka, češnjaka i papra. Brojke ukazuju na značajnu razliku u konzumaciji češnjaka između dviju ispitivanih skupina. Omnivorke su unosile više ružmarina i peršina (**Tablice 8 i 9**) koji također imaju jaki antioksidativni kapacitet (Qin i Hou, 2016).

Koncentracije 8-hidroksideoksigvanozina u urinu ispitanica prikazane su u **Tablici 10** (ispitanice veganske skupine su označene crvenom, a omnivorske crnom bojom).

**Tablica 10.** Koncentracije kreatinina i 8-hidroksideoksigvanozina u urinu ispitanica

Ispitanica	Kreatinin /mg mL <sup>-1</sup>	Koncentracija 8-OHdG /ng mg <sup>-1</sup> kreatinina
PNx24	0,48	258,72 ± 24,17
PNx25	1,37	203,11 ± 6,34
PNx30	1,25	185,55 ± 9,61
PNx72	0,75	257,50 ± 9,67
PNx78	0,72	29,03 ± 3,97
PNx79	1,23	241,03 ± 4,94
PNx88	0,97	556,94 ± 9,06
PNx97	0,84	544,34 ± 7,83
PNx99	0,66	746,43 ± 37,21
PNx103	0,98	181,72 ± 9,87
PNz70	0,41	346,88 ± 72,56
PNz90	0,96	597,39 ± 4,65
PNz91	1,36	406,12 ± 3,83
PNz92	1,12	665,04 ± 94,49
PNz93	1,09	471,81 ± 23,69
PNz94	1,45	569,34 ± 91,08
PNz96	0,75	806,07 ± 21,11
PNz106	1,34	430,53 ± 30,61
PNz113	1,24	477,23 ± 34,78
PNz114	0,78	443,87 ± 203,24

Prosječna koncentracija kreatinina kod omnivorki je iznosila  $1,05 \pm 0,33$  mg po ml urina, a kod veganskih ispitanica  $0,93 \pm 0,29$  mg/ml. Nije bilo statističke značajne razlike ( $p = 0,364$ ) između skupina u koncentraciji kreatinina, dok je prosječna koncentracija spoja od interesa, 8-OHdG, bila značajno viša kod omnivorske skupine ( $p = 0,031$ ; **Slika 21**). Prosječna vrijednost 8-OHdG u urinu omnivorskih ispitanica iznosila je  $521,43 \pm 138,31$  ng/mg kreatinina, a kod veganskih ispitanica  $320,44 \pm 220,54$  ng/mg kreatinina. Usporedba s rezultatima drugih autora se u pravilu ne provodi zbog velikih odstupanja između vrijednosti dobivenih testnim paketima za ELISA kitove različitih proizvođača.



**Slika 21.** Koncentracije 8-hidroksideoksigvanozina u urinu ispitanica izražene na koncentraciju kreatinina

Zbog povećane koncentracije 8-OHdG u urinu ispitanica iz omnivorske skupine, nameće se zaključak da je ova skupina imala veće oštećenje DNA zbog oksidativnog stresa te posljedično i veći rizik od razvoja bolesti povezanih s ovim stanjem organizma. Poradi boljeg uvida u utjecaje različitih faktora na oksidativni stres i 8-OHdG u urinu, ispitana je korelacija 8-OHdG s različitim osobinama skupnog uzorka ispitanica, poput dobi, energetskeg unosa i unosa nutrijenata. Korelacijska analiza pokazuje koliko su dvije varijable povezane, iako veza između varijabli ne mora nužno biti uzročno-posljedična. **Tablica 11** prikazuje utvrđene povezanosti za ključne nutrijente i odabrane varijable koje su pokazale bar slabu korelaciju s razinama 8-OHdG u urinu.



**Tablica 11.** Povezanost različitih osobina ispitanica (N = 20) i razina 8-hidroksideoksigenozina u urinu

Varijable	Spearmanov koeficijent korelacije	p
Dob /god. & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,298	0,203
BMI & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	-0,297	0,204
Unos E /kcal & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,144	0,544
Unos proteina /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,274	0,243
Unos ukupne masti /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,146	0,539
Unos zasićenih mk /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,371	0,107
Unos mononezasićenih mk /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,287	0,220
Unos polinezasićenih mk /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	-0,371	0,107
Unos linoleinske kiseline /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	-0,447	0,048
Unos ukupnih ugljikohidrata /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	-0,030	0,900
Unos vlakana /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	-0,194	0,413
Unos alkohola /g & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,552	0,012
Unos kalija /mg & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,411	0,072
Unos kalcija /mg & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,382	0,097
Unos vitamina B2 /mg & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,412	0,071
Unos vitamina B3 /mg & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,374	0,104
Unos vitamina B6 /mg & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	-0,254	0,280
Unos vitamina B12 /μg & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,361	0,118
Unos vitamina K /mg & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,343	0,139
Unos začina /g · d <sup>-1</sup> & 8-OHdG u urinu /ng · mg <sup>-1</sup>	0,292	0,212

Utvrđena je slaba pozitivna veza dobi i urinarnih razina 8-OHdG koja, iako nije statistički značajna, može značiti da se s porastom dobi povećava koncentracija 8-OHdG u urinu (**Tablica 11**). Studija na štakorima (Nie i sur., 2013) utvrdila je postepeni rast razine 8-OHdG ovisno o dobi. Sakano i suradnici (2009) istraživali su razine 8-OHdG u plazmi 323 zdrave osobe iz Japana. Otkrivena je značajna pozitivna korelacija ( $p < 0,05$ ) razina 8-OHdG u s dobi.

Spearmanov koeficijent korelacije između BMI vrijednosti ispitanica i njihovih koncentracija 8-OHdG je negativan, odnosno rast jedne varijable je praćen smanjenjem druge (**Tablica 11**). Graille i suradnici (2020) su ustanovili da osobe koje imaju BMI > 25 imaju veće koncentracije 8-OHdG u urinu. S druge strane, Zanolin i suradnici (2015) su utvrdili značajno ( $p = 0,049$ ) niže koncentracije 8-OHdG u urinu pušača s višom BMI vrijednošću.

Nije utvrđena povezanost energetskeg unosa s koncentracijama 8-OHdG (**Tablica 11**). U brojnim studijama opisanim u radu Arabija i suradnika (2019) ustanovljeno je kako kalorijska restrikcija može utjecati na smanjenje nekih pokazatelja oksidativnog stresa tako što povećava aktivnost glutation peroksidaze u plazmi. Međutim, autori nisu utvrdili utjecaj kalorijske restrikcije na razine 8-OHdG u plazmi kod kritično bolesnih pacijenata. Caro i suradnici (2008) su utvrdili da miševi podvrgnuti kalorijskoj restrikciji imaju manje oksidativnih oštećenja DNA.

Unos proteina nije bio statistički značajno povezan s razinama 8-OHdG u urinu (**Tablica 11**). Jedna studija je utvrdila da smanjenje unosa proteina za 40% snižava razine oksidativnog stresa u mitohondrijima i oštećenja DNA štakora te smanjuje lipidnu peroksidaciju i koncentracije proteinskih karbonila u jetri štakora (Sanz i sur., 2004). Tijekom restrikcije unosa proteina, životinje su proizvodile manju količinu ROS-ova po jedinici protoka elektrona te imale učinkovitiji respiratorni lanac.

Nema značajne veze unosa ukupnih masti i mononezasićenih masnih kiselina s 8-OHdG (**Tablica 11**). Pozitivna povezanost unosa i razine markera oksidativnog stresa utvrđena je za zasićene masti (iako ni ova povezanost nije bila značajna), dok je veza polinezasićenih masti i linoleinske kiseline s 8-OHdG u urinu bila obrnuto proporcionalna i statistički značajna u potonjem slučaju.

Dobiveni rezultati pozitivne korelacije unosa zasićenih masnih kiselina i 8-OHdG različiti su od rezultata Nakamure i suradnika (2019) koji su utvrdili negativnu korelaciju unosa zasićenih

masnih kiselina i razina 8-OHdG u mokraći. Autori su to objasnili učinkom srednjelančanih zasićenih masti na povećanje antioksidativne aktivnosti i učinkom kratkolančanih masnih kiselina na suzbijanje upalnih procesa u organizmu. Uočeno je kako masnoće iz biljnih namirnica inhibiraju proizvodnju upalnih citokina te smanjuju posljedice oksidativnog oštećenja organizma (Yeon i sur., 2011). Suplementacija omega-3-masnim kiselinama poboljšava antioksidativni status, induciranjem ekspresije Nrf-2, čime značajno povećava razine GPx. Poboljšava antioksidativni status i u eritrocitima i smanjuje lipidnu peroksidaciju. Suplementacija se pokazala posebno učinkovitom kod osoba koje su imale povećane markere oksidativnog stresa u organizmu (Heshmati i sur., 2019).

Unos vlakana bio je negativno koreliran s koncentracijom 8-OHdG u urinu, bez statističke značajnosti (**Tablica 11**). Već je gore rečeno kako prehrana biljnog podrijetla predstavlja izvor tvari koji potiču antioksidacijski odgovor organizma. S druge strane, nije ustanovljena značajna povezanost u slučaju unosa ukupnih ugljikohidrata. Prethodna istraživanja su utvrdila da prehrana bogata ugljikohidratima visokog glikemijskog indeksa povećava cirkulirajuću razinu ROS-ova te potiče upalni odgovor organizma (Yeon i sur., 2011). Uspoređujući ovaj podatak s rezultatima korelacije ugljikohidrata i 8-OHdG u ovom diplomskom radu, može se spekulirati da ispitanice nisu konzumirale veliki udio ugljikohidrata visokog glikemijskog indeksa.

Analizom je ustanovljeno kako unos alkohola ima najjaču, statistički značajnu povezanost s koncentracijama 8-OHdG (**Tablica 11**). Chen i suradnici (2011) su ispitali razlike u razinama serumske 8-OHdG između pacijenata ovisnika o alkoholu i zdravih ispitanika. Otkrili su značajno veće serumske razine 8-OHdG kod pacijenata s ovisnošću o alkoholu. Kronična konzumacija alkohola povećava lipidnu peroksidaciju i smanjuje funkcije antioksidativnih enzima, naročito superoksid dismutaze (SOD) i glutation peroksidaze (GPx).

Što se tiče unosa mikronutrijenata, koncentracije K, Ca, vitamina B2, B3, B12 i vitamina K pokazale su povezanost unosa i razine 8-OHdG (**Tablica 11**). Statističkoj značajnosti veze ( $p = 0,05$ ) su se približili vitamin B2, K te Ca i u većem uzorku bi ju sigurno dosegle. Vitamin B6 je pokazao negativnu korelaciju između unosa i koncentracije 8-OHdG u urinu. Kuwahara i suradnici (2013) su proučavali povezanost unosa vitamina B6 i B9 s razinama oksidativnog stresa kod 293 muškarca i 207 žena. Koncentracija 8-OHdG bila je značajno ( $p = 0,045$ ) negativno korelirana s razinama vitamina B6 kod muških ispitanika koji nisu pušili i konzumirali

alkohol ili su ga konzumirali unutar preporučenih količina. Nisu ustanovili povezanost unosa vitamina B9 s razinama 8-OHdG u urinu. Također, kombinirani dodatak mikronutrijenata od vitamina B12, vitamina B9 i omega 3 masnih kiselina smanjio je markere oksidativnog stresa kod štakora (Kemse i sur., 2014).

Općenito, vegani su unosili više onih tvari kojima je ustanovljena negativna veza s razinama 8-OHdG: vlakna, polinezasićene masne kiseline i linoleinska kiselina te vitamin B6. Odstupajući nutrijent je vitamin K koji je bio pozitivno koreliran, a veganke su ga unosile više od omnivorskih ispitanica. Ispitanice iz omnivorske skupine su unosile više proteina, ukupne masti, zasićenih i mononezasićenih masti, alkohola, vitamina B2, B3, B12 i Ca, koji su bili u pozitivnoj vezi s urinarnim razinama 8-OHdG.

Utvrđena je slaba pozitivna veza unosa biljnih začina i urinarnih razina 8-OHdG za sve ispitanice (**Tablica 11**). Veganske ispitanice su imale značajniju povezanost ( $r = 0,600$ ;  $p = 0,066$ ) od omnivorskih ispitanica ( $r = 0,478$ ;  $p = 0,161$ ). Dobiveni rezultati nisu u skladu s rezultatima prethodnih studija te ih je teško objasniti. Niz biokativnih spojeva u biljnim začинима je pokazao protuupalna i antioksidativna svojstva u *in vitro* i *in vivo* eksperimentima (Rubió i sur., 2013). U radu je već opisan antioksidativni mehanizam mnogih biljnih začina te utjecaj na smanjenje oksidativnog stresa.

Postoje ograničenja ove studije koja se možda utjecala na dobivene rezultate. Analizirani su podaci malog broja ispitanica, stoga se ne mogu izvući definitivni zaključci. Način procjene unosa začina i ispitivanje korelacije s 8-OHdG bili su pod utjecajem brojnih faktora. Procjena prehrambenih navika korištenjem dnevnika prehrane koje su ispitanice samostalno vodile sklono je brojnim pogreškama u mjerenju, posebno za one namirnice koje se konzumiraju u jako malim količinama, poput začina. Stoga procjena zahtijeva veliki broj uzoraka i duže vrijeme praćenja (Gajewska i sur., 2020). Može se pretpostaviti kako je otežavajuća okolnost bila i korištenje standardnih recepata zbog različitih osobnih preferencija za količinu začina.

Kao što je već ranije spomenuto u diplomskom radu, Kiefer i suradnici (2004) su opisali kako povećavanje unosa i razina antioksidanasa u krvi može dovesti do bržeg i efikasnijeg popravka DNA. Tijekom ubrzanog popravka stvara se veća razina otpadnog produkta, 8-OHdG, te se privremeno pojačava njegova koncentracija u urinu. Dugotrajnim studijama i učestalijim mjerenjima se može otkriti nalazi li se razlog pozitivne korelacije u ovoj tvrdnji.

## **5.ZAKLJUČCI**

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

1. Veganska skupina ispitanica je unosila više vlakana i ugljikohidrata koji se nalaze u namirnicama biljnog podrijetla, poput povrća i voća. Navedene skupine namirnica su bogate bioaktivnim spojevima koje poboljšavaju antioksidacijski status organizma. Veganska skupina ispitanica unosila je više i polinezasićenih masnih kiselina za koje je ustanovljena negativna korelacija s oksidacijskim stresom organizma. Omnivorska skupina unosila je više proteina, ukupnih masti, kao i zasićenih i mononezasićenih masti, nutrijente za koje je ustanovljena pozitivna korelacija s oksidacijskim stresom;
2. Koncentracija 8-OHdG u urinu veganskih ispitanica je iznosila  $320,44 \pm 220,54$  ng/mg kreatinina, a u omnivorskoj skupini  $521,43 \pm 138,31$  ng/mg kreatinina. Statistička analiza je pokazala značajnu razliku ( $p = 0,031$ ) u koncentraciji između ispitivanih skupina. Rezultati upućuju na veća oksidacijska oštećenja u omnivorskoj skupini te samim time i veći rizik razvoja bolesti povezanim s oksidativnim oštećenjima;
3. Statistički značajna pozitivna korelacija ( $r = 0,551$ ;  $p = 0,011$ ) utvrđena je između unosa alkohola i razina urinarnog 8-OHdG. Omnivorske ispitanice su unosile više alkohola, a razlika u unosu između dvije skupine se približila statističkoj značajnosti ( $p = 0,059$ );
4. Najsnažnija negativna povezanost ( $r = -0,446$ ;  $p = 0,048$ ) s koncentracijom 8-OHdG u urinu je dobivena za unos linoleinske kiseline, čiji unos je bio veći u skupini veganki;
5. Veganke su prosječno unosile nešto veće količine biljnih začina ( $1,6 \pm 4,29$  g/dan) od omnivorske skupine ispitanica ( $1,4 \pm 3,7$  g/dan). Također, veganska skupina ispitanica je unosila raznovrsnije začine;
6. Utvrđena je pozitivna korelacija unosa biljnih začina s razinama urinarnog 8-OHdG za sve ispitanice ( $r = 0,291$ ;  $p = 0,212$ ). Povezanost je bila snažnija u veganskoj skupini ( $r = 0,600$ ;  $p = 0,066$ ) u odnosu na omnivorsku skupinu ( $r = 0,478$ ;  $p = 0,161$ ). Rezultati

se ne slažu s antioksidacijskim ispitivanjima začina, a razlog može biti mali broj uzoraka i sustavne pogreške u samoprocjeni korištenja začina;

7. Rezultati upućuju na vezu kvalitete prehrane tj. na prednosti biljne hrane u poboljšanju obrane od oksidativnih oštećenja i razina 8-OHdG u urinu.

## **6.LITERATURA**



- Ames BN: Increasing longevity by tuning up metabolism. *EMBO Reports* 6:20-24, 2005.
- Ames BN: Low micronutrient intake may accelerate the degenerative diseases of aging through allocation of scarce micronutrients by triage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103:17589-17594, 2006.
- Araby Y, Jawdat D, Bouchama A, Tamim H, Tamimi W, Al-Balwi M, Al-Dorzi HM, Sadat M, Afesh L, Lehe C, Almashaqbeh W, Sakhija M, Al-Dawood A: Oxidative stress, caloric intake and outcomes of critically ill patients. *Clinical Nutrition ESPEN* 29:103-111, 2019.
- Bartley GE, Scolnik PA: Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction, and Human Health. *The Plant Cell* 7:1027-1038, 1995.
- Babović NV, Petrović SD: Izolovanje antioksidanasa postupkom natkritične ekstrakcije." *Hemijska industrija* 65:79-86, 2011.
- Bruzell EM, Rohloff J, Husøy T, Granum B, Hetland R, Wicklund T, Steffensen IL: Risk Assessment of "Other Substances" – Piperine. *European Journal of Nutrition & Food Safety* 8:145-147, 2018.
- Car H: Kurkuma – zlatni začín Indije. *Matka: časopis za mlade matematičare* 27:84-85, 2018.
- Calhan C, Santos A: Oxidative Stress in the Metabolic Syndrome. U *Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis in the Metabolic Syndrome*, str. 33-63. Springer, Dordrecht, 2009.
- Campins Falco P, Genaro Tortajada LA, Meseger Lloret S, Blasco Gomez F, Sevillamo Cabeza A, Molins Lequa C: Creatinine determination in urine samples by batchwise kinetic procedure and flow injection analysis using the Jaffe reaction: chemometric study. *Talanta* 55:1079-1089, 2001.
- Caro P, Gómez J, López-Torres M, Sánchez I, Naudi A, Portero-Otín M, Pamplona R, Barja G: Effect of Every Other Day Feeding on Mitochondrial Free Radical Production and Oxidative Stress in Mouse Liver. *Rejuvenation Research* 11:621-629, 2008.
- CBI, Ministry of Foreign Affairs: *What is the demand for spices and herbs on the European market?* CBI, 2022. <https://www.cbi.eu/market-information/spices-herbs/what-demand> [27.06.2022].
- Chamorro R, Gonzalez MF, Aliaga R, Gengler V, Balladares C, Barrera C, Bascuñan KA, Bazinet RP, Valenzuela R: Diet, Plasma, Erythrocytes, and Spermatozoa Fatty Acid Composition Changes in Young Vegan Men. *Lipids* 55:639-648, 2020.
- Chen, CH, Pan, CH, Chen, CC, Huang, MC: Increased oxidative DNA damage in patients with alcohol dependence and its correlation with alcohol withdrawal severity. *Alcoholism, clinical and experimental research* 35:338–344, 2011.

Clarys P, Deliens T, Huybrechts I, Deriemaeker P, Vanaelst B, De Keyzer W, Hebbelinck M, Mullie P: Comparison of nutritional quality of the vegan, vegetarian, semi-vegetarian, pesco-vegetarian and omnivorous diet. *Nutrients* 6:1318-1332, 2014.

Cook NR, Cutler JA, Obarzanek E, Buring JE, Rexrode KM, Kumanyika SK, Appel LJ, Whelton PK: Long term effects of dietary sodium reduction on cardiovascular disease outcomes: observational follow-up of the trials of hypertension prevention (TOHP). *The BMJ* 334:885-888, 2007.

Davey GK, Spencer EA, Appleby PN, Allen NE, Knox KH, Key TJ: EPIC-Oxford: lifestyle characteristics and nutrient intakes in a cohort of 33 883 meat-eaters and 31 546 non meat-eaters in the UK. *Public Health Nutrition* 6:259-269, 2003.

De La Torre JE, Gassara F, Kouassi AP, Kaur Brar S, Belkacemi K: Spice Use in Food: Properties and Benefit. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57:1078-1088, 2017.

Decyk A, Kobylińska M, Antosik K, Kurowska K: Vitamin D in SARS-CoV-2 infection. *Panstw Zakł Hig* 73:5-12, 2022.

Dumičić G, Miloš B, Žanić K, Urlić B, Jukić Špika M, Čagalj M: *Jadranski češnjak (Adriatic garlic)*. Institut za jadranske kulture i melioraciju krša, Split, 2015.

Đurić J, Vitale K, Paradinović S, Jelaković B: Salt Intake and Arterial Hypertension in General Population. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* 6:141-147, 2011.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for calcium. *EFSA Journal* 13:e4101, 2015a.

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 cobalamin (vitamin B12). *EFSA Journal* 13:e4150, 2015b.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. *EFSA Journal* 13:e4253, 2015c.

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 folate. *EFSA Journal* 12:e3893, 2014a.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for iron. *EFSA Journal* 13:e4254, 2015d.

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 niacin. *EFSA Journal* 12:e3759, 2014b.

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 potassium. *EFSA Journal* 14:e4592, 2016a.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for protein. *EFSA Journal* 10:e2557, 2012.

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 riboflavin. *EFSA Journal* 15:e4919, 2017a.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for sodium. *EFSA Journal* 17:e5778, 2019.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for thiamin. *EFSA Journal* 14:e4653, 2016b.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin A. *EFSA Journal* 13:e4028, 2015g.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin B6. *EFSA Journal* 14:e4485, 2016c.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin C. *EFSA Journal* 11:e3418, 2013.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin D. *EFSA Journal* 14:e4547, 2016d.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin E as  $\alpha$ -tocopherol. *EFSA Journal* 13:e4149, 2015h.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin K. *EFSA Journal* 15:e4780, 2017b.

EFSA, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc. *EFSA Journal* 12:e3844, 2014d.

Fisher C: A Review of Regulations Applied to Spices, Herbs, and Flavorings-What Has Changed? *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 102:390–394, 2019.

Gajewska D, Kęszycka PK, Sandzewicz M, Kozłowski P, Myszkowska-Ryciak J: Intake of Dietary Salicylates from Herbs and Spices among Adult Polish Omnivores and Vegans. *Nutrients* 12:e2727, 2020.

Graille M, Wild P, Sauvain JJ, Hemmendinger M, Guseva Canu I, Hopf NB: Urinary 8-OHdG as a Biomarker for Oxidative Stress: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences* 21:e3743, 2020.

Hannuksela ML, Rämetsä ME, Nissinen AET, Liisanantti MK, Savolainen MJ: Effects of ethanol on lipids and atherosclerosis. *Pathophysiology* 10:93-103, 2004.

Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV: Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and Molecular Life Sciences* 65:1631 – 1652, 2008.

Heshmati J, Morvaridzadeh M, Maroufizadeh S, Akbari A, Yavari M, Amirinejad A, Maleki-Hajiagha A, Sepidarkish M: Omega-3 fatty acids supplementation and oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Pharmacological research* 149:e104462, 2019

Ivanov IV, Mappes T, Schaupp P, Lappe C, Wahl S. Ultraviolet radiation oxidative stress affects eye health. *Journal of Biophotonics* 11:e201700377, 2018.

Jiang, TA: Health Benefits of Culinary Herbs and Spices. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 102:395–411, 2019.

Kamenjarin J: *Uzgoj bilja*, interna skripta. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, 2002.

Kemse NG, Kale AA, Joshi SR; (2014). A combined supplementation of omega-3 fatty acids and micronutrients (folic acid, vitamin B12) reduces oxidative stress markers in a rat model of pregnancy induced hypertension. *PloS one* 9:e111902, 2014.

Kendall CWC, Jenkins DJA: A Dietary portfolio: Maximal reduction of low-density lipoprotein cholesterol with diet. *Current Atherosclerosis Reports* 6:492–498, 2004.

Kiefer I, Prock P, Lawrence C, Wise J, Bieger W, Bayer P, Rathmanner T, Kunze M, Rieder A: Supplementation with mixed fruit and vegetable juice concentrates increased serum antioxidants and folate in healthy adults. *Journal of the American Nutrition Association* 23:205-211, 2004.

Kuwahara K, Nanri A, Pham NM, Kurotani K, Kume A, Sato M, Kawai K, Kasai H, Mizoue T: Serum vitamin B6, folate, and homocysteine concentrations and oxidative DNA damage in Japanese men and women. *Nutrition* 29:1219–1223, 2013.

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.

Meghwal M, Goswami TK: Piper nigrum and piperine: an update. *Phytotherapy Research* 27:1121–1130, 2013.

Mozaffarian D: Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity. *Circulation* 133:187–225, 2016.

Nakamura H, Tsujiguchi H, Kambayashi Y, Hara A, Miyagi S, Yamada Y, Nguyen T, Shimizu Y, Hori D, Nakamura H: Relationship between saturated fatty acid intake and hypertension and oxidative stress. *Nutrition* 61:8–15, 2019.

Nie B, Gan W, Shi F, Hu GX, Chen LG, Hayakawa H, Sekiguchi M, Cai JP: Age-dependent accumulation of 8-oxoguanine in the DNA and RNA in various rat tissues. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2013:e303181, 2013.

Norwegian Food Composition Table (FCT), 2021. <https://www.matvaretabellen.no/> [27.06.2022].

Qin S, Hou DX: Multiple regulations of Keap1/Nrf2 system by dietary phytochemicals. *Molecular Nutrition & Food Research* 60:1731-1755, 2016.

Quiles J: A Call for Caution on Antioxidant Supplementation. *Science-Based Medicine*, 2018. <https://sciencebasedmedicine.org/a-call-for-caution-on-antioxidant-supplementation/> [27.06.2022].

Rana SV, Pal R, Vaiphei K, Sharma SK, Ola RP: Garlic in health and disease. *Nutrition Research Reviews* 24:60-71, 2011.

Richter M, Boeing H, Grünewald Funk D, Heseker H, Kroke A, Leschik Bonnet E, Oberritter H, Strohm D, Watzl B: Vegan Diet Position of the German Nutrition Society (DGE). *ERNÄHRUNGS UMSCHAU* 63:92–102, 2016.

Rubió L, Motilva MJ, Romero MP: Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles. *Critical reviews in food science and nutrition* 53:943–953, 2013.

Sakano N, Takahashi N, Wang DH, Sauriasari R, Takemoto K, Kanbara S, Sato Y, Takigawa T, Takaki J, Ogino K: Plasma 3-nitrotyrosine, urinary 8-isoprostane and 8-OHdG among healthy Japanese people. *Free radical research* 43:183–192, 2009.

Sanz A, Caro P, Barja G: Protein Restriction Without Strong Caloric Restriction Decreases Mitochondrial Oxygen Radical Production and Oxidative DNA Damage in Rat Liver. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 36:545–552, 2004.

Savić M, Katić B, Popović V: Nutritivni, lekoviti i ekonomski aspekti začina. *Industrija* 36:119–132, 2008.

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.

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

Somogyi A, Rosta K, Pusztai P, Tulassay Z, Nagy G: Antioxidant measurements. *Physiological Measurement* 28:41-55, 2007.

Srinivasan K: Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47:735-748, 2007.

Stanković M, Radovanović D: Oksidativni stres i fizička aktivnost. *SportLogia*, 8:1 –10, 2012.

Stress Marq Biosciences INC: *DNA Damage (8-OHdG) ELISA Kit*. StressMarq Biosciences Inc., Victoria, BC Kanada, 2015.

Tan BL, Norhaizan ME, Liew WP: Nutrients and Oxidative Stress: Friend or Foe?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018:Article ID9719584, 2018.

Thompson HJ, Heimendinger J, Haegele A, Sedlacek SM, Gillette C, O'Neill C, Wolfe P, Conry C: Effect of increased vegetable and fruit consumption on markers of oxidative cellular damage. *Carcinogenesis* 20:2261-2266, 1999.

Tsuda T: Curcumin as a functional food-derived factor: degradation products, metabolites, bioactivity, and future perspectives. *Food & function* 9:705–714, 2018.

Tyagi S, Chirag P, Poonam D, Dhruv M, Ishita S, Labu ZK, Gupta AK, Patel K: Importance of garlic (*allium sativum*): an exhaustive review. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics* 1:23–27, 2013.

USDA, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service: *FoodData Central*. USDA, 2021. <https://fdc.nal.usda.gov/index.html> [27.06.2022].

Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C: 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine (8-OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health Part C Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews* 27:120-139, 2009.

Vázquez-Fresno R, Rosana A, Sajed T, Onookome-Okome T, Wishart NA, Wishart DS: Herbs and Spices- Biomarkers of Intake Based on Human Intervention Studies - A Systematic Review. *Genes & nutrition* 14:Article number 18, 2019.

Weder S, Hoffmann M, Becker K, Alexy U, Keller M: Energy, Macronutrient Intake, and Anthropometrics of Vegetarian, Vegan, and Omnivorous Children (1-3 Years) in Germany (VeChi Diet Study). *Nutrients* 11:832-848, 2019.

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.

Westerterp-Plantenga M, Diepvens K, Joosen AM, Bérubé-Parent S, Tremblay A: Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. *Physiology & behavior* 89:85-91, 2006.

Yeon JY, Suh YJ, Kim SW, Baik HW, Sung CJ, Kim HS, Sung MK: Evaluation of dietary factors in relation to the biomarkers of oxidative stress and inflammation in breast cancer risk. *Nutrition* 27:912-918, 2011.

Yoshioka M, St-Pierre S, Suzuki M, Tremblay A: Effects of red pepper added to high-fat and high-carbohydrate meals on energy metabolism and substrate utilization in Japanese women. *The British journal of nutrition* 80:503-510, 1998.

Zanolin ME, Girardi P, Degan P, Rava M, Olivieri M, Di Gennaro G, Nicolis M, De Marco R: Measurement of a urinary marker (8-hydroxydeoxy-guanosine, 8-OHdG) of DNA oxidative stress in epidemiological surveys: a pilot study. *The International journal of biological markers* 30:341-345, 2015.

Zheng J, Zheng S, Feng Q, Zhang Q, Xiao X: Dietary capsaicin and its anti-obesity potency: from mechanism to clinical implications. *Bioscience reports*, 37:BSR20170286, 2017.

## **7.PRILOZI**



### Prilog 1. Osnovni podaci o ispitanicima

<b>Prezime i ime</b>			
<b>Dob</b>			
<b>Visina</b>			
<b>Težina</b>			
<b>Mjesto stanovanja</b>			
<b>Tip prehrane</b> <i>Navedite trajanje navike u godinama i eventualno tip prehrane koji nije naveden</i>	Svejed <input type="checkbox"/>	Vegetarijanac <input type="checkbox"/>	Vegan <input type="checkbox"/>
<b>Suplementi</b> <i>Navedite prehrambene dodatke koje ste koristili u zadnjih šest mjeseci</i> <i>Redovita primjena podrazumijeva unos bar jednom tjedno</i>	Redovito:		
	Sporadično:		
<b>Pušenje</b> <i>Trenutni pušači navode trajanje navike u godinama</i> <i>Navedite ukoliko ste redovito pušili u zadnjih šest mjeseci</i>	Da	Ne	
<b>Fizička aktivnost</b> <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>	Niska razina	Srednja razina	Visoka razina
<b>Dosegnuti stupanj obrazovanja</b>			
<b>Primanja po članu kućanstva</b>	< 4000 kn	4000 – 6000 kn	> 6000 kn
<b>Dodatne napomene</b> <i>Navedite eventualno korištenje lijekova</i>			

## 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 namirnica 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](#)

Obrasce omogućuju unos podataka odmah po obroku. Uzmite u obzir da podjela obrasca na obroke služi jedino za lakše vođenje dnevnika prehrane (zanimaju 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 unesene podatke. 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.