

# Kvaliteta voća, povrća i prerađevina : priručnik za vježbe

---

Šic Žlabur, Jana; Voća, Sandra; Dobričević, Nadica

**Authored book / Autorska knjiga**

*Publication status / Verzija rada:* **Published version / Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

*Publication year / Godina izdavanja:* **2016**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:536646>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-15**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Priručnici / nastavni tekst Agronomskog fakulteta  
Sveučilišta u Zagrebu

Kvaliteta voća, povrća i preradevina - priručnik  
za vježbe

---

Jana Šic Žlabur  
Sandra Voća  
Nadica Dobričević

Agronomski fakultet Sveučilište u Zagrebu  
2016.

Priručnici / nastavni tekst Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

---

Recenzenti: Prof. dr. sc. Verica Dragović-Uzelac, Prehrambeno biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Prof. dr. sc. Marija Bujan, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Izdavač: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; Svetošimunska cesta 25, Zagreb

Odluka: Klasa: 602-09/15-02/12; Ur.br. 251-71-01-16-3:

Fakultetsko vijeće: 07. lipnja 2016.

Naklada: Web stranica Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu; 3 primjerka Centralna agronomska knjižnica Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

ISBN: 978-953-7878-65-8

# SADRŽAJ

<b>PREDGOVOR</b> .....	1
<b>1.0. TEORIJSKI DIO</b> .....	3
1.1. Hrana i temelji pravilne prehrane.....	4
1.1.1. Hrana i osnove pravilne prehrane.....	4
1.2. Energetske potrebe organizma.....	9
1.2.1. Biokemijske reakcije- energija za život .....	9
1.2.2. Bazalni metabolizam.....	12
1.3. Ugljikohidrati .....	14
1.3.1. Podjela ugljikohidrata .....	16
1.3.1.1. Monosaharidi .....	16
1.3.1.2. Disaharidi .....	19
1.3.1.3. Oligosaharidi .....	20
1.3.1.4. Polisaharidi.....	21
1.3.2. Glikemijski indeks .....	25
1.3.3. Prehrambena vlakna .....	27
1.4. Lipidi .....	31
1.4.1. Masti i ulja.....	31
1.4.2. Kolesterol .....	37
1.4.3. Indeks tjelesne mase.....	40
1.4.3.1. Kategorizacija indeksa tjelesne mase .....	40
1.5. Proteini i spojevi s dušikom.....	42
1.5.1. Maillardova reakcija .....	46
1.5.2. Enzimi .....	49
1.5.2.1. Primjena enzima u prehrambenoj industriji.....	50
1.5.3. Spojevi s dušikom.....	53
1.5.3.1. Nitrati .....	53
1.5.3.2. Nitriti.....	55
1.5.3.3. Amini .....	57
1.5.3.4. N- nitrozospojevi .....	58
1.6. Vitamini .....	61
1.6.1. Osnovne skupine i karakteristična svojstva vitamina .....	65

1.6.1.1. Vitamin A .....	65
1.6.1.2. Vitamini B- kompleksa .....	67
1.6.1.3. Vitamin C .....	78
1.6.1.4. Vitamin D .....	80
1.6.1.5. Vitamin E (tokoferol) .....	83
1.6.1.6. Vitamin K (filokinon) .....	84
1.6.2. Antioksidansi .....	86
1.6.2.1. Fenolni spojevi .....	87
1.6.2.2. Biljni pigmenti .....	94
1.7. Minerali .....	100
1.7.1. Fitinska kiselina .....	105
<b>2.0. PRAKTIČNI DIO .....</b>	<b>108</b>
2.1. Izolacija i identifikacija biljnih pigmenata.....	109
2.1.1. Vježba 1: Određivanje klorofila a, klorofila b i ukupnih klorofila.....	109
2.1.2. Vježba 2: Određivanje sadržaja β-karotena.....	112
2.2. Dokazivanje proteina u voću i povrću.....	116
2.2.1. Vježba 3: Specifične reakcije za dokazivanje prisutnosti proteina u voću i povrću .....	116
2.3. Dokazivanje škroba u voću i povrću .....	120
2.3.1. Vježba 4: Dokazivanje prisutnosti škroba Sachsovom probom .....	121
2.4. Ugljikohidrati u voću i povrću .....	123
2.4.1. Vježba 5: Određivanje ukupnih šećera po Luff-Schoorlu .....	123
2.5. Određivanje količine natrijevog klorida u voću i povrću.....	130
2.5.1. Vježba 6: Određivanje natrijevog klorida standardnom metodom za voće i povrće .....	130
2.6. Određivanje vitamina C u voću, povrću i prerađevinama.....	133
2.6.1. Vježba 7: Određivanje sadržaja vitamina C .....	135
2.7. Određivanje sadržaja sumpora .....	138
2.7.1. Vježba 8: Određivanje slobodnog, vezanog i ukupnog SO <sub>2</sub> u jabučnom soku (metodom po Paulu; aeracijsko-oksidacijska metoda) .....	140
2.7.2. Vježba 9: Određivanje ukupnog SO <sub>2</sub> u sušenim uzorcima (metodom po Ripperu) .....	144
2.8. Gustoća otopina.....	146
2.8.1. Vježba 10: Određivanje gustoće otopine saharometrom.....	150

2.8.2. Vježba 11: Određivanje gustoće otopine denziometrom.....	152
2.8.3. Vježba 12: Određivanje gustoće otopine piknometrom .....	154
2.9. Određivanje sadržaja fenolnih spojeva .....	156
2.9.1. Vježba 13: Određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom .....	156
2.10. Određivanje sadržaja antocijana.....	160
2.10.1. Vježba 14: Određivanje sadržaja antocijana metodom izbjeljivanja bisulfitom .....	160
<b>3.0. POPIS LITERATURE .....</b>	<b>163</b>
<b>4.0. PRILOG 1.....</b>	<b>175</b>
<b>5.0. PRILOG 2 .....</b>	<b>183</b>

# PREDGOVOR

Voće i povrće vrlo su važna i neizostavna komponenta u svakodnevnoj zdravoj, odnosno, pravilnoj prehrani jer su niskoenergetske, ali visokoprehrambene namirnice. U svom sastavu ne sadrže veće količine komponenata koje bi organizmu dale energiju kao što su to masti, ali zbog sastava vitamina, fitonutrijenata, makroelemenata, elemenata u tragovima i prehrambenih vlakana vrlo su značajne za ljudsko zdravlje. U posljednje vrijeme veliki značaj pridaje se unosu namirnica koje su kao hrana bogat izvor bioaktivnih komponenata značajnog antioksidacijskog djelovanja. Naime, znanstvena istraživanja dokazuju kako svakodnevnom konzumacijom svježeg voća i povrća, odnosno, unosom namirnica bogatog nutritivnog sastava, pozitivno djelujemo na zdravlje cijelog organizma. Pod pojmom bioaktivnih tvari podrazumijevamo sve one komponente koje pokazuju pozitivan učinak u prevenciji mnogih kroničnih, degenerativnih bolesti kao i karcinoma.

Podatke o nutritivnom sastavu voća i povrća možemo dobiti određivanjem njihovog kemijskog sastava. Osnovni parametri kvalitete nalaze se u svim sirovinama samo su zastupljeni u različitoj količini. Svaka sirovina se sastoji od dijela vode i suhe tvari. U suhoj tvari sadržani su svi oni parametri koji čine prehrambenu vrijednost neke namirnice. Određivanjem navedenih parametara dobije se uvid u prehrambenu vrijednost namirnice, kao i njena kvaliteta ovisno o propisanim uvjetima u Pravilniku koji mora zadovoljiti pojedina vrsta namirnice.

Teorijski dio daje prikaz najznačajnijih sastojaka voća i povrća kao što su biljni pigmenti, ugljikohidrati, vitamini i drugi fitonutrijenti. Priručnik daje pregled osnovnih i specifičnih metoda za procjenu kvalitete i nutritivnog sastava neke sirovine. Jasna i atraktivna boja voća i povrća potječe od prirodnih sastojaka koje voće i povrće sadrži u stanicama tkiva (plastidima), a zovu se pigmenti. U priručniku su opisane metode za određivanje sadržaja najzastupljenijih pigmentnih spojeva, klorofila, karotenoida i antocijana. Opisani su specifični testovi (reakcije) voća i povrća na sadržaj proteina. Voće i povrće nije specifično po bogatom proteinskom sastavu, ali sadržaj proteina nije zanemariv. U priručniku se daje niz analiza za određivanje sadržaja različitih ugljikohidrata, od škroba do saharoze, ovisno o vrsti voćne ili povrtno kulture.

S obzirom da je svježe voće i povrće bogat izvor vitamina, od kojih je najrašireniji vitamin C, ali i sekundarnih biljnih metabolita (fenolni spojevi), opisane su metode određivanja sadržaja vitamina C i fenolnih spojeva. Analizirano je i nekoliko prerađevina voća i povrća, te je tim vježbama dan uvid u očuvanje nutritivne kvalitete proizvoda nakon primjene tehnoloških procesa prerade.

U Prilogu 1 priručnika daje se uvid u zakonske propise koji osiguravaju kvalitetnu i sigurnu proizvodnju voća, povrća i prerađevina, dok su u Prilogu 2 prikazana temeljna načela dobre laboratorijske prakse, te pravila, mjere opreza i zaštite prilikom rada u laboratoriju i rukovanja s kemikalijama.



---

## **1.0. TEORIJSKI DIO**

# 1.1. HRANA I TEMELJI PRAVILNE PREHRANE

## 1.1.1. Hrana i osnove pravilne prehrane

Hrana je svaki materijal koji organizam dobiva izvana, te služi za tvorbu (građu) tkiva i/ili za proizvodnju energije (gradivna i energetska funkcija hrane). U Hrvatskoj, prema trenutno važećem Zakonu o hrani (NN 81/13) pojam hrane uključuje svaku tvar ili proizvod prerađen, djelomično prerađen ili neprerađen, a namijenjen konzumaciji ili se može opravdano očekivati da će ga ljudi konzumirati.

Osnovni sastojci hrane su hranjive tvari koje u organizmu mogu imati dvostruku funkciju. Pa tako razlikujemo:

a) **gradivne tvari** – služe za izgradnju stanica organizma, tkiva i kostiju. Primarno gradivne tvari u svakom organizmu su proteini.

b) **energetske tvari** – glavna im je uloga da organizam opskrbljuju energijom. Energija u stanicama, odnosno organizmu nastaje razgradnjom i oksidacijom složenih kemijskih spojeva na jednostavnije. U energetske tvari ubrajamo: ugljikohidrate, lipide, organske kiseline (manjim dijelom), alkohol i proteine. Proteini se kao izvor energije koriste samo ako organizam iscrpi zalihe ugljikohidrata i lipida što se može javiti u fazama dugog gladovanja, nakon čega nastupa smrt organizma.

c) **tvari koje utječu na metabolizam** – glavna im je uloga regulacija raznih procesa u organizmu. U ovu skupinu hranjivih tvari ubrajamo: vitamine koji su za odvijanje normalnog metabolizma potrebni u relativno malim količinama  $10^{-1}$  do  $10^{-6}$  g/dan; anorganske nutrijente (makroelementi  $10-10^{-1}$  g/dan i elementi u tragovima  $10^{-2}-10^{-5}$  g/dan); prehrambena vlakna/dijetalna vlakna (potrebna u malim količinama); voda koja sudjeluje u svim fiziološkim i metaboličkim procesima organizma. Voda je medij u kojem se ostvaruje prehrana i život stanica.

Voće i povrće vrlo su važna i neizostavna komponenta u svakodnevnoj zdravoj odnosno pravilnoj prehrani. Voće i povrće su nisko energetske, ali visoko prehrambene namirnice. Odnosno, ne sadrže velik udio komponenata koje bi organizmu dale energiju

kao što su to ugljikohidrati i masti, ali su zbog sastava vitamina, makroelemenata, elemenata u tragovima i prehrambenih vlakana vrlo značajne za ljudski organizam.

Osnovni kemijski sastav voća i povrća uključuje sljedeće kemijske komponente:

a) Voda – voće i povrće sadrže visoki udio vode (70-95 % ovisno o vrsti voća povrća). Sadržaj vode u svježem voću i povrću prvenstveno ovisi o vrsti, te tako na primjer najveći udio vode u svom sastavu ima zeleni list salate, čak više od lubenice. Također, ono voće i povrće koje u svom sastavu ima i veći udio vode bit će podložnije kvarenju, odnosno bit će pogodniji medij za razvoj mikroorganizama (Desai, 2000).

b) Ugljikohidrati – voćne i povrtno vrste sadrže u prosjeku od 1 do 30% ugljikohidrata. Uglavnom u sastavu prevladava fruktoza („voćni šećer“) i polisaharidi (škrob, pektini).

c) Proteini – biljni organizmi sadrže manje količine proteina, u rasponu od 0,5 do 7%. Voće i povrće uglavnom sadrži proteine vrlo dobrog aminokiselinskog sastava. Proteini nisu karakterističan sastojak voća i povrća kao što su to kod proizvoda animalnog porijekla, ali nisu ni zanemarivi s obzirom na unos. Mahunarke, proizvodi od soje i neki orašasti plodovi (bademi, lješnjaci i orasi) namirnice su biljnog porijekla koje u svojem sastavu sadrže najveće količine biljnih proteina i njihov su vrlo bogat izvor.

d) Masti - količina masti odnosno lipida u voću i povrću je zanemariva osim u nekim vrstama poput maslina i orašastih plodova. Orašasti plodovi bogati su nezasićenim masnim kiselinama („dobrim“) koje nemaju štetan utjecaj na zdravlje ljudi. Biljke su karakteristične i po sadržaju biljnih sterola. Biljni steroli, fitosteroli, su spojevi koji su po svojoj strukturi slični kolesterolu i pokazuju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Naime, zbog slične kemijske strukture kao i kolesterol, fitosteroli ometaju apsorpciju kolesterola u organizmu. U hrani, fitosterole nalazimo u biljnim nerafiniranim uljima, orašastim plodovima, sjemenkama i žitaricama.

e) Vitamini, minerali, organske kiseline, fitokemikalije: karakteristične i obilato prisutne u kemijskom sastavu voća i povrća (Food Standard Agency, 1991; Katalinić, 2006; Jašić i Begić, 2008).

U definiranju pravilne, odnosno zdrave prehrane stavlja se naglasak na izbalansiranu prehranu koja osigurava osnovne potrebe organizma za gradivnim, energetskim i zaštitnim tvarima.

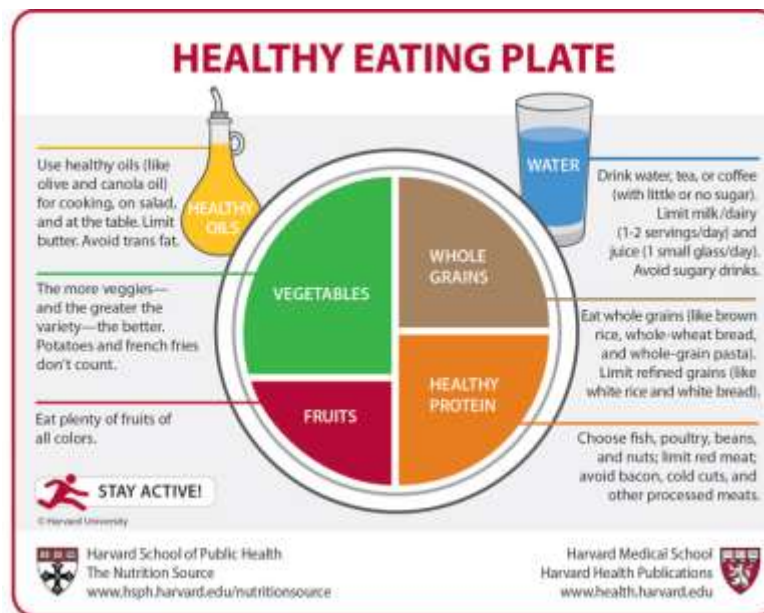
U prosincu 2005. godine američko ministarstvo poljoprivrede izdalo je novu piramidu prehrane koja je i prikazana na Slici 1.



Slika 1. Nova piramida prehrane (U.S. Department of Agriculture, 2005)

Glavna svrha prikaza zdrave prehrane u obliku piramide je potreba primjerenog dnevnog unosa svih potrebnih hranjivih sastojaka (Welsh i sur., 1993). Pravilna prehrana podrazumijeva očuvanje ravnoteže energije i ravnoteže makro- i mikro- elemenata. Ravnoteža energije podrazumijeva uspostavljanje ravnoteže između stvarno potrošene energije i energije unijete hranom, dok ravnoteža između makro- i mikro- elemenata podrazumijeva određivanje pravilnoga odnosa ugljikohidrata, masti, bjelančevina, dovoljnog unosa anorganskih nutrijenata (minerala) i esencijalnih tvari (vitamina), kao i osiguravanje dovoljne količine vode za sve procese u tijelu. Također, nova piramida ukazuje i na neophodnu potrebu kretanja odnosno fizičke aktivnosti koja u kombinaciji s prehranom utječe na psihofizičko stanje svakog ljudskog organizma (FAO, 1997; World Cancer Research Fund, 2007).

Harvard School of Public Health (2011) objavljuje novi oblik prikazivanja pravilne prehrane, i to u obliku tanjura (Slika 2). Prema Slici 2 jasno je vidljiva vrsta i udio pojedine vrste hrane tijekom svakog obroka, uz potrebu unosa masnoća u obliku ulja i tekućine posebice u obliku vode. Kao naputak za konzumaciju masnoća preporuča se veći udio ulja u usporedbi s mastima animalnog porijekla, mastima bogatim trans masnim kiselinama i maslacem, i to posebice maslinovog i kanola ulja (ulje iz sjemenki biljaka *Brassica napus* L. i *Brassica campestris* L.). Također, u udjelu zdravog dnevnog obroka prevladavaju povrće i voće. Preporuča se konzumacija žitarica cijelog zrna, uz izbjegavanje svih oblika prerađenih kao što su bijela riža, bijeli kruh i sl. Proteini, prema prikazanoj Slici 2 zauzimaju značajan udio u dnevnom obroku. Od proteina preporuča se unos onih „zdravih“, odnosno namirnica s vrijednim proteinskim i aminokiselinskim sastavom poput ribe, peradi, mahunarki (grah) i orašastih plodova uz izbjegavanje pretjeranih količina crvenog mesa, narezaka, slanine i mesnih prerađevina. Autori zdravog dnevnog obroka istaknuli su i potrebu fizičke dnevne aktivnosti, te unosa dovoljnih količina tekućine kao važnih čimbenika zdrave prehrane.



Slika 2. Tanjur zdrave prehrane s preporukama o vrsti namirnica koje je potrebno unositi u organizam da bi se zadovoljili postulati zdrave prehrane

(<http://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/healthy-eating-plate>)

Osnovni i važan postulat zdrave prehrane je:

**RAZNOVRSNOST**

**REDOVITOST**

**UMJERENOST**

Nutritivnoj vrijednosti voća, povrća i općenito prehrambenih namirnica posljednjih godina pridaje se velika važnost. Znanost o prehrani ili nutricionizam je multidisciplinarna znanost koja proučava prehranu i način utjecaja prehrane na zdravlje ljudi. Osnovni zadaci nutricionizma kao znanstvene discipline su:

- definiranje sastojaka prehrambenih namirnica,
- njihova uloga i značaj u prehrani,
- utvrđivanje optimalnih količina namirnica koje su organizmu potrebne u različitim uvjetima za odvijanje životnih funkcija,
- utvrđivanje međusobnih reakcija različitih nutrijenata iz prehrambenih namirnica.

Jedan od primarnih postulata nutricionizma i definiranja pravilne, zdrave prehrane je i utvrđivanje međusobnih reakcija nutrijenata iz prehrambenih namirnica što je i osnovni temelj za kreiranje zdravog obroka. Da bi probava i apsorpcija hrane u našem organizmu bila što učinkovitija bez ili sa smanjenom količinom negativnih produkata potrebno je poznavati pravilno kombiniranje različitih vrsta namirnica. Tako na primjer u jednom obroku nije poželjno kombinirati proteine različitog porijekla kao jaja i sir ili mahunasto povrće i meso. Naime, vrsta i kombinacija aminokiselina u proteinima mahunastog povrća se značajno razlikuju od kombinacija aminokiselina kod ribe, mesa ili jaja, stoga organi za probavu trebaju uložiti veliki napor u razgradnju postojeće veze između aminokiselina kako bi one bile pogodne za asimilaciju (Ensminger i sur., 1993; Grimme i Dumontet, 1998; Živković, 2001).

## **1.2. ENERGETSKE POTREBE ORGANIZMA**

Sve prehrambene namirnice imaju i svoju hranjivu vrijednost koja obuhvaća energetska i biološka vrijednost. Energetska vrijednost predstavlja količinu energije neke namirnice koja se oslobađa matabolizmom energetskih tvari, a potrebna je našem organizmu za normalan rast i razvoj. Metabolizam označava izmjenu tvari i energije u organizmu, a definiran je kao skup kemijskih reakcija koje se odvijaju u živom organizmu kako bi se održali svi životni procesi. Ti procesi omogućuju organizmu da raste, da se razmnožava, da održava svoju strukturu i reagira na okolinu. Prema metaboličkim reakcijama, metabolizam se dijeli u dvije kategorije:

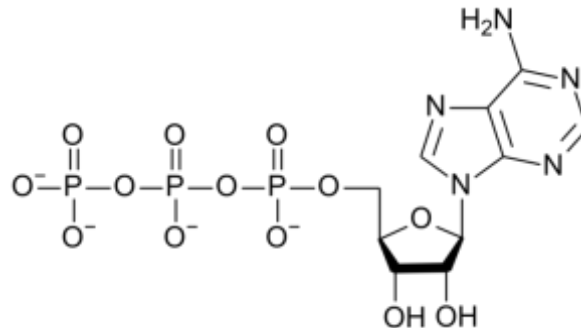
- 1) Katabolizam ili katabolički procesi kojim se razgrađuje organska tvar (npr. nakupljanje energije staničnim disanjem). Katabolički procesi odvijaju se u smjeru razgradnje tkiva za potrebe organizma.
- 2) Anabolizam ili anabolički procesi koji koriste energiju za izgradnju staničnih dijelova (biosinteza organske tvari) kao što su na primjer proteini i nukleinske kiseline. Anabolički procesi odvijaju se u smjeru izgradnje biološki važnih spojeva iz sirovina unesenih hranom.

U normalnim životnim uvjetima organizma, oba procesa (anabolički i katabolički) trebali bi biti u ravnoteži (homeostaza). Tako u doba rasta i razvoja u organizmu prevladavaju anabolički procesi, dok za vrijeme bolesti i gladovanja prevladavaju katabolički procesi (Gropper i sur., 2009; Nordqvist, 2014; Chiras, 2015).

### **1.2.1. Biokemijske reakcije - energija za život**

Glavni izvor energije svake stanice je molekula adenzin trifosfat (ATP). Sva energija potrebna živom organizmu za normalno obavljanje svih funkcija pohranjena je u obliku molekula ATP-a. Molekula ATP-a (Slika 3) građena je od purinske baze adenina, monosaharida riboze na koji je esterskom vezom (veza nije energetska bogata) vezan

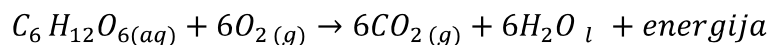
jedan fosfat, dok su preostala dva fosfata međusobno vezana fosfatnom vezom koja je izrazito bogata energijom.



Slika 3. Građa molekule adenzin trifosfata (ATP) (Toole i Toole, 2004)

Nastanak energije u fosfatnim vezama odvija se procesom fosforilacije koji se odvija u mitohondrijima stanica. Fosforilacijom se na adenzin monofosfat (AMP) energetski bogatom vezom veže jedan fosfat pri čemu nastaje adenzin difosfat (ADP) nakon čega se na ADP veže još jedan fosfat pri čemu se formira energetski bogata veza i nastaje adenzin trifosfat (ATP). Upravo tu energiju pohranjenu u fosfatnoj vezi stanica dobiva procesom hidrolize fosfata (Toole i Toole, 2004; Gropper i sur., 2009).

U organizmu se odvija niz metaboličkih reakcija koje prethode stvaranju energije u obliku ATP-a, a koje nose zajednički naziv stanično disanje. Pojednostavljena kemijska formula procesa staničnog disanja glasi:



Energetski rezultat staničnog disanja je ukupno 36 molekula ATP-a. Proces staničnog disanja započinje procesom glikolize koji se odvija u citoplazmi svih sisavaca. Procesom glikolize jedna molekula glukoze razgrađuje se do dvije molekule piruvata uz oslobađanje energije u obliku 4 molekula ATP-a. No, da bi proces glikolize mogao započeti potrebno je uložiti 2 molekule ATP-a, te je s toga i konačni energetski rezultat glikolize 2 molekule ATP-a. Energija koja je pohranjena u molekuli glukoze, tijekom razgradnje glukoze oslobađa se u obliku ATP-a i NADH (nikotinamid adenin



dinukleotid), a najvećim dijelom ostaje pohranjena u molekuli piruvata (Szablewski, 2011). Kemijska energija sadržana u piruvatu u potpunosti će se osloboditi u ciklusu limunske kiseline (CLK) i oksidacijskom fosforilacijom. Glikolitička razgradnja glukoze je jedini izvor metaboličke energije u stanicama sisavaca (eritrocitima, meduli bubrega, mozgu, spermi). Molekula piruvata bogata energijom kod aerobnih organizama ulazi u slijedeći metabolički ciklus, a to je ciklus limunske kiseline ili Krebsov ciklus. Odnosno, prije ciklusa limunske kiseline molekula piruvata oksidativnom dekarboksilacijom se pretvara u acetil-koenzim A, osnovni supstrat Krebsova ciklusa. Dvije molekule acetil-koenzima A oslobađaju svoje acetilne skupine koje se spajaju s oksalacetatom i formiraju limunsku kiselinu. Limunska kiselina prolazi kroz niz metaboličkih procesa pri čemu oslobađa dvije molekule ugljikovog dioksida ( $\text{CO}_2$ ) i ponovno se regenerira u oksalacetat. Energetski najbitnije reakcije CLK su formiranje molekule guanozin trifosfata (GTP), koja odmah regenerira jednu molekulu ATP-a, te proizvodnja tri molekule NADH i jedne  $\text{FADH}_2$  (flavin adenin dinukleotid). Krebsov ciklus odvija se u mitohondrijima eukariotskih stanica i amfibolički je metabolički put, odnosno sudjeluje i u degradaciji organskih molekula (katabolizam) i u biosintezi molekula (anabolizam). Tijekom Krebsova ciklusa ne oslobađa se energija u obliku ATP-a, već su glavni produkti elektroni u obliku NADH i  $\text{FADH}_2$  bogati energijom. Reducirani kofaktori (NADH i  $\text{FADH}_2$ ) imaju ulogu prijelaznih molekula u procesima oksidacije i redukcije. Nakon Krebsova ciklusa slijedi konačni metabolički put staničnog disanja, oksidativna fosforilacija ili elektronski transportni lanac. Tijekom oksidacijske fosforilacije, elektroni se prenose od molekula koje služe kao elektron donori na molekule elektron akceptore kao kisik u nizu redoks reakcija. Dolazi do oksidacije u  $\text{NAD}^+$  i FAD i davanja elektrona bogatih energijom. Redoks reakcije oslobađaju energiju koja se koristi za sintezu ATP-a. Kod eukariota oksidativna fosforilacija odvija se na unutarnjoj membrani mitohondrija što je nužan preduvjet za stvaranje gradijenta protona između dva stanična prostora koji se koristi kao pokretačka sila za sintezu ATP-a odnosno proces fosforilacije (Alberts, 1989; Roberts i King, 1987; Pine, 1994; Toole i Toole, 2004; Gropper i sur., 2009).

## 1.2.2. Bazalni metabolizam

Pojam koji je iznimno važan za proučavanje energetske potrebe organizma je bazalni metabolizam. Bazalni metabolizam definiran je kao najmanja količina energije koja je potrebna da bi se u normalnom stanju održale temeljne životne funkcije budnog organizma. Bazalni metabolizam služi kao polazište u računanju ukupnih energetske potrebe organizma koji se izražavaju kao kJ ili kcal (Dunford i Doyle, 2014).

$$1 \text{ kcal} = 4,184 \text{ J}$$

$$1 \text{ J} = 0,239 \text{ kcal}$$

Bazalni metabolizam ovisi i o nizu faktora: spolu, životnoj dobi, površini tijela i radu štitnjače. Žene imaju niži bazalni metabolizam nego muškarci (6-7 %) te stoga i organizam žena ima veće zalihe energije odnosno više masnog tkiva. Zanimljivo je da se energetske potrebe povećava od rođenja do 2. (4.) godine života (u fazi rođenja on je najniži), a starenjem se smanjuje (u 90. godini vrlo nizak). Stoga i prilikom oblikovanja dnevnih energetske potrebe organizma u vidu treba imati i čimbenike koji utječu na bazalni metabolizam (Stryer, 1991; Pine, 1994; Gropper i sur., 2009).

Dnevni obrok su prehrambene namirnice koje čovjek uzima tijekom dana u obliku jela ili pića. Dnevni obrok mora biti oblikovan tako da zadovolji sljedeće potrebe organizma:

- Bazalni metabolizam - najmanju količinu energije potrebnu za obavljanje osnovnih životnih funkcija. Bazalni metabolizam prosječnog muškarca iznosi 4,2 J/kg tjelesne težine na sat. Žene prosječno imaju oko 6-7% niži bazalni metabolizam od muškaraca.
- Potrebe rasta i regeneracije - moguće su samo kada se uzima raznovrsna hrana
- Regulacija tjelesne temperature
- Specifično dinamičko djelovanje hrane - proizvodnja topline povećava se u organizmu i za vrijeme probave hrane, te se takva pojava naziva kalorigeno djelovanje hrane.
- Fizički rad - u mišićima se potencijalna kemijska energija energetske sastojaka hrane pretvara u kinetičku energiju odnosno mehanički rad.

Općenito, dnevni obrok mora sadržavati prehrambene namirnice koje će osigurati dnevne energetske potrebe organizma i zadovoljiti osnovne navedene potrebe organizma. Ukoliko dođe do povećanog unosa ugljikohidrata i/ili masti dogodit će se i prekomjerni unos energije hranom što će rezultirati njenim pohranjivanjem u masnim depoima (taloženje masnog tkiva). U razdoblju gladovanja organizma odnosno smanjenog unosa ugljikohidrata i/ili masti energija iz masnih depoa se koristi (metabolizam lipida), a konačan rezultat je smanjena količina masnog tkiva u organizmu. Također, osim osnovnih životnih i energetske potrebe organizma, za normalno odvijanje svih životnih funkcija uvijek postoje i one dodatne energetske potrebe organizma, kao na primjer dodatna energija za fizički rad, “energija za aktivnost” koja prvenstveno ovisi o vrsti rada. Uslijed obavljanja težeg fizičkog rada značajno se povećavaju i energetske potrebe organizma (Dunford i Doyle, 2014).

Tablica 1. Prosječne vrijednosti utroška energije pri različitim aktivnostima

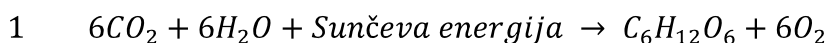
<b>Aktivnost</b>	<b>Povećanje bazalnog metabolizma</b>
Mirovanje	1,0
Vrlo lagana: tipkanje, vožnja, kuhanje	1,5
Lagana: čišćenje, golf, hodanje	2,5
Umjerena: rad u vrtu, tenis, nošenje tereta, plesanje	5,0
Teška: nošenje tereta uzbrdo, kopanje, košarka, nogomet	7,0

U stadiju bolesti organizma, zbog mirovanja i manje jela, manji je utrošak energije za fizičku aktivnost i specifično dinamičko djelovanje hrane te nije uputno povećati energetske unos hranom. Ostali faktori koji utječu na dodatne energetske potrebe organizma su i:

- prehrana- dugotrajna pothranjenost smanjuje potrebe; sastav hrane, vegetabilna hrana zahtjeva niže potrebe (hrana s manjim udjelom proteina);
- klimatski uvjeti- veće energetske potrebe u hladnijim krajevima (ovisno o odjeći, debljini masnog tkiva), potrebno je povećati odnosno smanjiti ukupne energetske potrebe za 5% na svakih 10% povišenja odnosno sniženja srednje godišnje temperature (FAO, 2001; Dunford i Doyle, 2014).

## 1.3. UGLJIKOHIDRATI

Šećeri ili ugljikohidrati su nakon vode najzastupljeniji sastojak plodova voća i povrća. Predstavljaju i najveći dio topljive suhe tvari, a zajedno s kiselinama sudjeluju u formiranju okusa plodova ili proizvoda. Najvažniji izvor ugljikohidrata od namirnica bilnog porijekla su prvenstveno voćne kulture, a manjim i povrtnje. Ugljikohidrati nastaju fotosintezom (1) u biljkama, a životinje ih ne mogu sintetizirati, već ih dobivaju posredno iz biljaka (uzimaju ih hranom).



Ugljikohidrati su glavni izvor energije za sve tjelesne funkcije, mišićni rad, te normalno funkcioniranje cijelog organizma. Živa bića energiju pohranjenu u molekulama ugljikohidrata prevode u vodu, ugljikov dioksid i energiju u procesu koji zovemo stanično disanje ili respiracija.

Po kemijskom sastavu, kao što im i ime govori, građeni su od različitog broja ugljikovih atoma (x) i molekula vode (y) te njihova opća kemijska formula glasi:  $C_x(H_2O)_y$ .

Općenito možemo navesti nekoliko osnovnih definicija ugljikohidrata:

- (1) rezervne supstance u biljkama i životinjama
- (2) strukturne tvari u biljkama
- (3) sastvani dio nukleinskih kiselina, glikozida, mukopolisaharida, glikolipida
- (4) u ljudskom organizmu građevni elementi, ali prvenstveno osiguravaju energiju.

Dnevne potrebe ljudskog organizma, odnosno minimalne količine potrebe ugljikohidrata iznose od 100 do 200 g, a normalnom se količinom smatra 300 do 400 g. Organizam mora primiti minimalnu količinu glukoze (70-100 g). U ukupnoj masi hrane ugljikohidrata bi trebalo biti od 50 do 55 % od ukupne energijske vrijednosti unesene hranom (FAO, 1997; Belitz i Grosch, 1999; Jašić i Begić, 2008; Stick i Spencer, 2009; Medeiros i Wildman, 2013).

Osim što su ugljikohidrati glavni izvor energije, postoji još nekoliko uloga ugljikohidrata u ljudskom organizmu koje nisu vezane uz oslobađanje energije tijekom njihova metabolizma, i to:

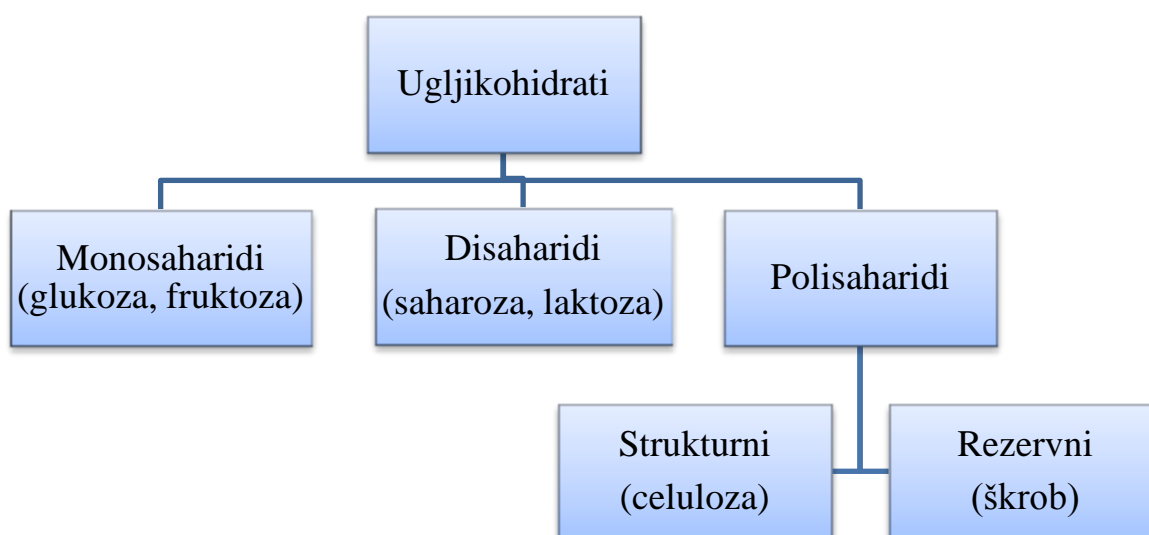
(1) ugljikohidrati su nužni za normalan rad centralnog živčanog sustava (mozak nema mogućnost pohranjivanja glukoze te je isključivo ovisan o opskrbi glukozom iz krvi)

(2) ugljikohidrati su nužni za funkcioniranje tkiva živaca (FAO, 1997; Stick i Spencer, 2009; Medeiros i Wildman, 2013).

### 1.3.1. Podjela ugljikohidrata

Najčešća podjela ugljikohidrata je prema stupnju polimerizacije (Slika 4), odnosno složenosti građe molekule; dijele se na:

- a) monosaharide,
- b) disaharide,
- c) polisaharide.



Slika 4. Podjela ugljikohidrata prema stupnju polimerizacije (FAO, 1997)

#### 1.3.1.1. Monosaharidi

Monosaharidi značajni u ljudskoj prehrani klasificiraju se prema broju atoma ugljika u molekuli, a uključuju trioze, tetroze, pentoze i heksoze. Metaboličkom razgradnjom monosaharida u stanici nastaje energija koja se koristi za većinu bioloških procesa. Metabolički put razgradnje molekule glukoze u stanici naziva se glikoliza (2.1.). Pentoze su građene od pet atoma ugljika i pet molekula vode ( $C_5H_{10}O_5$ ), a od ugljikohidrata u pentoze ubrajamo: arabinozu, ksilozu, ribozu itd. Arabinoza se u slobodnom obliku i to u relativno malim količinama nalazi u nekim vrstama voća (višnja,

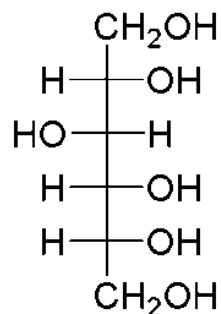
šljiva) i gomoljima, odnosno, lukovicama (luk). Ksilozu se također u malim količinama nalazi slobodna u nekim vrstama voća (marelica). Zanimljivo je da ljudski organizam ne može metabolizirati arabinozu i ksilozu. Riboza je sastavni dio nukleinskih kiselina (DNA i RNA). Heksoze su najčešća forma monosaharida u ljudskoj prehrani. Heksoze su molekule građene od šest ugljikovih atoma i šest molekula vode ( $C_6H_{12}O_6$ ). U heksoze ubrajamo: glukozu, galaktozu i fruktozu, najvažnije i u prirodi najrasprostranjenije šećere (Bochov i sur., 1991; Jašić i Begić, 2008; Medeiros i Wildman, 2013; Varzakas i sur., 2013).

**Glukoza** ( $C_6H_{12}O_6$ ) je najrasprostranjeniji šećer u prirodi. Može se naći u krvi sisavaca, kukuruzu, medu, povrću, voću, grožđu, a vrlo često ju nazivamo „groždani“ ili „krvni šećer“ (dekstroza). Odrasla osoba (u normalnim uvjetima) ima oko 3,9-6 mmol/L glukoze u krvi što zadovoljava potrebe tijela za energijom za samo oko 15 minuta, pa se glukoza kontinuirano nadoknađuje iz spojeva koji su pohranjeni u jetri. Razina glukoze u krvi ispod 3,0 mmol/L označava stanje hipoglikemije, razina glukoze iznad 6 mmol/L je hiperglikemija, dok je razina glukoze veća od 7 mmol/L definirana kao parametar pojave dijabetesa. Ljudski organizam održava (regulira) razinu glukoze u krvi stalnom pri čemu glavnu ulogu imaju hormoni gušterače inzulin i glukagon (Szablewski, 2011). Glukoza je osnovni izvor energije svim stanicama, osobito za neka tkiva. Tkivo mozga svoje energetske potrebe zadovoljava isključivo glukozom. Glukoza hrani daje sladak okus, ali najčešće u hrani ne postoji kao monosaharid već ulazi u sastav ostalih ugljikohidrata formirajući pritom disaharide, škrob i prehrambena vlakna (Kohlstadt, 2012; Medeiros i Wildman, 2013; Stoker, 2013; Varzakas i sur., 2013; Insel i sur., 2014; Stegeman i Davis, 2014)

**Fruktoza** ( $C_6H_{12}O_6$ ) se nalazi u različitom voću, cvjetnom nektaru i pčelinjem medu, te se iz tih razloga često naziva i „voćni šećer“. Osnovni je sastojak visokofruktoznog šećera koji se dobiva kao produkt hidrolize škroba iz kukuruza. Visokofruktozni šećer široku je primjenu našao kao zaslađivač koji se koristi kao dodatak u voćnim sokovima, slasticama, bombonima, želeima, džemovima itd. Fruktoza je najslađa od svih monosaharida (slađa je od glukoze). Kao i glukoza, ulazi u sastav različitih oligosaharida (saharoza, rafinoza, inulin i dr.), a u ljudski organizam dospijeva putem hrane. U ljudskom organizmu hidrolizom saharoze nastaju glukoza i fruktoza koje

se izravno apsorbiraju u krv. Krv fruktozu dovodi do jetre gdje se izomerizira u glukozu. Fruktosa se, za razliku od glukoze, sporo apsorbira, te uzrokuje tek manje promjene razine glukoze u krvi. U tkivu se razgrađuje brže od glukoze pa je zato i popularan sastojak energetskih i sportskih napitaka kao i dodatak prehrani kod ljudi oboljelih od dijabetesa (Powers, 1996; Medeiros i Wildman, 2013). Kao što je prikazano molekule glukoze i fruktoze imaju identičnu molekulsku formulu, no razlikuju se u svojoj kemijskoj strukturi. Točnije, glukoza je aldoza, a šećer fruktoza ketoza (Medeiros i Wildman, 2013; Stoker, 2013; Varzakas i sur., 2013).

U jednostavne ugljikohidrate ubrajamo i **poliole** ili šećerne alkohole. Važno je naglasiti kako polioli ne sadrže etanol, već karakteristične –OH skupine (Slika 5), a dobivaju se katalitičkim hidrogeniranjem mono- i disaharida. U najpoznatije poliole ubrajamo: glicerol, sorbitol, manitol, ksilitol i inozitol, a koji se najviše koriste kao zaslađivači. Prilikom probave, polioli se slabo apsorbiraju u krvi, te značajno ne podižu razinu šećera (glukoze) u krvi čime su prikladni za upotrebu i kod dijabetičara. Zaslađivači su koji ne pokazuju kariogeno djelovanje. Prirodno, polioli su zastupljeni u različitim prehranbenim namirnicama, u voćnim vrstama poput: kruške, jabuke, šljive (sorbitol), ali i u raznim proizvodima kao što su žvakaće gume, paste za zube, čokolade i slatkiši. Takvi prehranbeni proizvodi često nose upozorenje o njihovom mogućem laksativnom djelovanju. Naime, ukoliko se polioli konzumiraju u povećanim količinama mogu uzrokovati nadimanje, plinove u crijevima i proljev (Varzakas i sur., 2012).



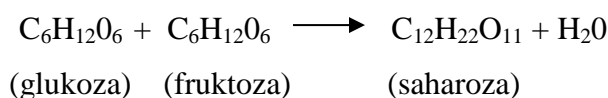
Slika 5. Fischerova projekcija molekule sorbitola (Medeiros i Wildman, 2013)



### 1.3.1.2. Disaharidi

Disaharidi su građeni od dvije jednake ili različite, međusobno povezane (glikozidnom vezom) molekule, monosaharida. Disaharidi su najznačajniji šećeri u prehrani. U najpoznatije disaharide ubrajamo saharozu, laktozu i maltozu (Medeiros i Wildman, 2013; Varzakas i sur., 2013 ).

**Saharoza** (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) ili „konzumni šećer“ građena je od molekule glukoze i molekule fruktoze što je i prikazano kemijskom jednadžbom:



Molekula saharoze, kao i ostali disaharidi, može se hidrolizirati djelovanjem kiselina ili specifičnih enzima (disaharidaza) na monosaharidne jedinice, molekulu glukoze i fruktoze uz oslobađanje vode. Saharoza se dobiva preradom šećerne repe (*Beta vulgaris*) u kojoj je zastupljena od 16 do 20 % ili šećerne trske (*Saccharum officinarum*) u kojoj je sadržana od 14 do 26 %. U posljednje vrijeme WHO i druge zdravstvene organizacije preporučaju što manji unos šećera saharoze u organizam. Naime, višak šećera koji organizam ne iskoristi za dobivanje energije, pretvara se u rezervnu mast, odnosno dolazi do povećanja masnog tkiva organizma (masni depoi). Upravo zato pretjerani unos šećera dovodi do pretilosti, pojave dijabetesa, poremećaja u radu gušterače i drugih zdravstvenih problema (FAO, 1997; Medeiros i Wildman, 2013; Varzakas i sur., 2013; Dunford i Doyle, 2014).

Osim saharoze, značajan disaharid je i **laktoza** (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) ili „mliječni šećer“. Građena je od molekule glukoze i galaktoze. Prirodno se nalazi u mlijeku i mliječnim proizvodima gdje je ovisno o vrsti ima u koncentracijama od 0-7 %. Na primjer, kravlje mlijeko sadržava oko 4,7 %, dok majčino mlijeko i veću količinu, pa daje i jači okus slatkoće (Zadow, 2012). Uloga laktoze u prehrani je višestruka:

1. potiče peristaltiku crijeva, lako je probavljiva,
2. pogodna je za dijabetičare,

3. uspostavlja blago kiselu reakciju u crijevima pa sprječava rast i razvoj štetnih bakterija,
4. važna je u sintezi nekih vitamina,
5. osigurava optimalnu razinu magnezija,
6. poboljšava iskorištavanje mliječne masti (Varzakas i sur., 2013; Dunford i Doyle, 2014).

Zanimljivo je da dječji organizam normalno sadrži laktazu, enzim koji hidrolizira laktozu na glukozu i galaktozu. Međutim, mnogi odrasli organizmi, posebice ljudi crne rase i stanovnici azijskog kontinenta imaju male količine enzima laktaze, te se laktoza samo djelomično razgrađuje i kao takva ulazi u crijeva gdje ju dodatno razgrađuju crijevne bakterije, a kao produkt fermentacije oslobađaju se CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> i iritirajuće organske kiseline što uzrokuje bolne grčeve (*intolerancija prema laktozi*) (Zadow, 1992; Powers, 1996; Medeiros i Wildman, 2013; Dunford i Doyle, 2014).

**Maltoza** (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) ili „sladni šećer“ glavni je produkt tijekom proizvodnje slada (proklijano zrno ječma). Građena je od dvije molekule glukoze. Može se proizvesti i iz škroba (krumpirovog) i žitarica, a također nastaje i prilikom procesa fermentacije piva zbog čega i nosi naziv sladni šećer. Rijetko je prirodni sastojak hrane, a nastaje kada probavni enzimi sline (ptijalin) i crijeva (amilaza) razgrađuju škrob do maltoze (Powers, 1996; Varzakas i sur., 2013; Dunford i Doyle, 2014).

### 1.3.1.3. Oligosaharidi

Oligosaharide nazivamo još i dekstrini. Građeni su najčešće od 3 do 10 molekula glukoze. Nastaju razgradnjom škroba. Mogu biti vezani na aminokiseline (glikoproteini) ili na ostatke lipida (glikolipidi). Razlikujemo a) frukto-oligosaharide (FOS) – građene od kratkih lanaca molekula fruktoze (cikorija, luk, poriluk, šparoge) i b) gluko-oligosaharide (GOS) – građene od kratkih lanaca molekula glukoze (soja). Neki od oligosaharida od velike važnosti za ljudski organizam su: rafinoza (galaktoza-glukoza-fruktoza) u melasi i stahiozia (galaktoza-glukoza-fruktoza) u sojinom mlijeku. Namirnice bogate stahiozom, rafinozom i verbaskozom bakterije u debelom crijevu razlažu uz stvaranje plinova (vodik

i metan). Namirnice bogate navedenim oligosaharidima su: šljive, grah, soja, rotkvice, luk. Oligosaharidi pokazuju brojna terapijska djelovanja:

1. neprobavljivi dijelovi molekula oligosaharida služe kao hrana crijevnoj mikroflori,
2. stimuliraju ili reduciraju pojedine grupe bakterija (ovisno o vrsti oligosaharida),
3. kliničke studije su dokazale kako FOS, GOS i inulin mogu pridonijeti povećanju broja „dobrih” bakterija u crijevima istovremeno reducirajući broj štetnih.

Također, osim terapijskog djelovanja, oligosaharidi imaju i značajne zaštitne uloge za ljudski organizam:

1. majčino mlijeko sadrži više od 100 različitih oligosaharida. Imaju sličnu ulogu kao i prehrambena vlakna u odraslom organizmu, odnosno omogućuju olakšano formiranje stolice kod dojenčadi,
2. štite dojenčad od prijenosa nekih bolesti s majke, npr. HIV virusa,
3. oligosaharidi iz majčinog mlijeka oslobađaju sijaličnu kiselinu, esencijalnu za razvoj mozga (Medeiros i Wildman, 2013; Varzakas i sur., 2013; Dunford i Doyle, 2014).

#### *1.3.1.4. Polisaharidi*

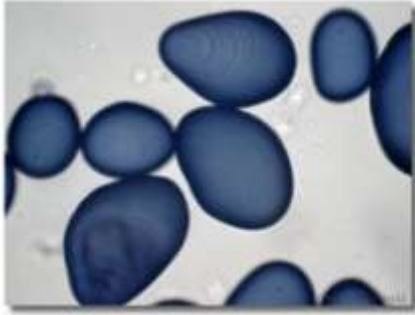
Polisaharidi su složeni ugljikohidrati (polimeri) koji su sastavljeni od velikog broja molekula šećera međusobno povezanih glikozidnim vezama. Najčešća osnovna građevna molekula polisaharida je monosaharid glukoza. Polisaharidi imaju dvije osnovne uloge:

A. *strukturni polisaharidi*, predstavljaju građevne strukture biljaka.

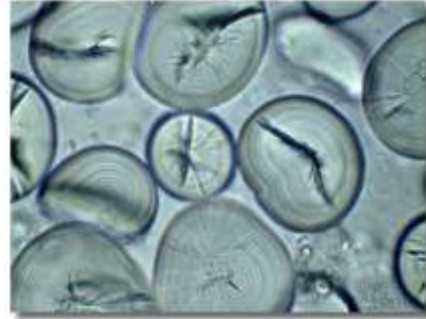
Najpoznatiji takav polisaharid je celuloza. **Celuloza** predstavlja osnovnu strukturnu komponentu stanične stijenke biljaka. Celuloza je najrašireniji organski spoj u prirodi i glavni sastojak biljaka. Drvo sadržava 40 do 50 %, a pamuk i laneno vlakno preko 90 % celuloze. Čovjek ne može svojim probavnim enzimima razgrađivati celulozu pa ona nema za njega energetske vrijednosti. Neke životinje (biljojedi, preživači) mogu celulozu iskorištavati kao hranu i to pomoću bakterija u njihovom probavnom traktu (burag) koje uz pomoć enzima celulaze razgrađuju celulozu. Upravo zato što ju ljudski organizam ne

može razgraditi (neprobavljivi ugljikohidrati), celulozu svrstavamo u skupinu „dijetalnih vlakana“ (prehrambena vlakna) koja su neophodna za održavanje normalne probave čovjeka (Gropper i sur., 2009; Varzakas i sur., 2013; Insel i sur., 2014).

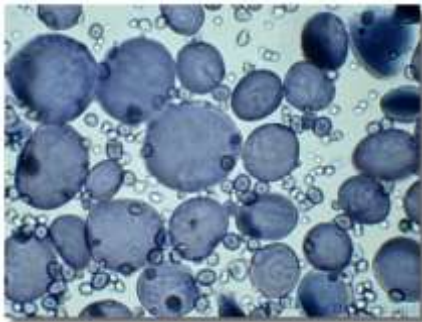
B. *rezervni polisaharidi*, predstavljaju rezervne ugljikohidratne tvari biljaka (škrob) i životinja (glikogen). Ljudski organizam može probaviti **škrob**, jer ima enzime ( $\alpha$ -amilazu) koji škrob razgrađuje u monosaharide kada je organizmu to potrebno. Zato se škrob svrstava u skupinu probavljivih ugljikohidrata. U skupinu probavljivih ugljikohidrata uz škrob spadaju još i polioli, alkoholni šećer sorbitol, manitol i inozitol. Razgradnja škroba počinje u ustima jer slina sadrži  $\alpha$ -amilazu, enzim koji razgrađuje škrob. Tako na primjer, ukoliko prilikom jela dobro žvačemo koricu kruha osjetit ćemo kako ona postaje slatka. To je zato što enzimi iz sline razgrađuju škrob na disaharid maltozu i monosaharid glukozu. Kada hrana dospije u želudac gdje je pH prenizak (1,5) djelovanje enzima  $\alpha$ -amilaze se inaktivira. Dakle, pH vrijednost želučanih sokova ne odgovara djelovanju amilaze, te se iz navedenih razloga probava škroba ne odvija u želucu već se nastavlja u tankom crijevu gdje je opet aktivna amilaza (pH vrijednost viša). Hranu je zato potrebno dobro prožvakati kako bi se škrob što bolje razgradio već u ustima i lakše apsorbirao u crijevu. Razgrađen škrob u obliku molekule glukoze resorbira se u crijevnim resicama i odlazi u krv. Nepotpunom hidrolizom škroba nastaje dekstrin. Škrob je čest u sjemenkama i gomoljima biljaka. Svaka biljka ima različit oblik škrobnih zrnaca pa ta činjenica ima dijagnostički značaj kod ispitivanja hrane (Slika 6). Zrnca škroba sastoje se od dva polimerna lanca: amiloze (topljiva u vodi) i amilopektina (ne otapa se u hladnoj vodi, a u vrućoj nabubri). Ima ga u grahu, kruhu, žitaricama (50-85 %), tijestu, tjestenini, grašku i krumpiru (20 %) (McWilliams, 2006; Medeiros i Wildman, 2013; Stipanuk i Caudill, 2013; Varzakas i sur., 2013; UK National Health Service, 2015).



A



B



C



D

Slika 6. A) Škrobna zrnca izolirana iz gomolja krumpira; B) škrobna zrnca iz sjemenki graha; C) škrobna zrnca iz zrna pšenice; D) škrobna zrnca iz mlječičke  
(<https://mikrosvijet.wordpress.com/2010/12/02/skrobna-zrnca/>)

**Glikogen** je glavni rezervni ugljikohidrat sisavaca. Prisutan je u svim stanicama, ali najviše u mišićima i jetri gdje se pohranjuje u obliku granula. Glikogen pohranjen u jetri služi za održavanje razine glukoze u krvi. Glikogen je glavni izvor glukoze u periodima između dva obroka, a molekule glukoze koje su pohranjene u obliku glikogena procesom fosforilacije oslobađaju se iz glikogena kada u stanicama nestane energije. Razgranata struktura molekule glikogena, omogućuje enzimima (glikogen fosforilaza) da hidrolizu glikogena započnu na više mjesta i tako brže stvore organizmu potrebnu glukozu (Jašić i Begić, 2008; Medeiros i Wildman, 2013; Varzakas i sur., 2013).

Iako se ne odlikuje velikom energetsom vrijednošću voće i povrće sadrži velike količine ugljikohidrata. Voće je naročito bogato voćnim šećerima (glukoza, fruktoza, saharoza, pektin, celuloza) i njihov udio se kreće oko 20 % (citrusi 10 %, sušeno voće i

do 70 %). Za razliku od voća, gdje najveći dio ugljikohidrata čine voćni šećeri, u povrću dominira škrob. Količina ugljikohidrata u povrću iznosi od 1,3 % (krastavac) do 9,8 % (list peršina).

U voćnim kulturama, najzastupljeniji kemijski sastojak nekog ploda nakon vode su ugljikohidrati. Zajedno s kiselinama smatraju se osnovnom komponentom u formiranju okusa proizvoda. Udio šećera u određenoj voćnoj kulturi ovisi o nekoliko čimbenika: sortimentu voća, agrotehničkim mjerama uzgoja, sastavu tla i dr., općenito

KOŠTIČAVO VOĆE 2,8 – 13,9 %

JABUČASTO VOĆE 6 – 17 %

JAGODASTO VOĆE 2,5 – 15 %

GROŽĐE 15 – 25 %.

Odnos invertnog šećera (glukoza, fruktoza) i saharoze varira ovisno o vrsti, ali i sorti. Općenito možemo reći da u voćnim plodovima najveći udio ugljikohidrata čine jednostavni šećeri odnosno monosaharidi. Saharoza se u plodovima trešnje, grožđu i šipku nalazi u tragovima, dok je u bananama ima i do 9 %. Jabučasto voće sadrži veći udio fruktoze (80 %) i glukoze (20 %), dok saharoze ima u vrlo malim količinama. U koštičavom voću od monosaharida prevladava glukoza. U plodovima marelice i breskve više od polovine ukupnog šećera čini saharoza. U plodovima jagoda 60 % šećera čini fruktoza, oko 35 % glukoza, a samo 5 % saharoza. U limunu je odnos saharoze i invertnog šećera približno isti, a od monosaharida najzastupljenija je fruktoza. Kod povrtnih kultura, u kupusu je najzastupljenija glukoza; u grašku saharoza. Mrkva ima podjednak odnos saharoze i invertnog šećera. Ovakve razlike u udjelu pojedinih šećera (monosaharidi i saharoza) prvenstveno se odražavaju na okus sirovine odnosno proizvoda jer su neki šećeri „sladi“ od drugih; na primjer fruktoza je slađa od saharoze, saharoza je slađa od glukoze.

### 1.3.2. Glikemijski indeks

Glikemijski indeks (GI) označava brzinu i intenzitet povišenja razine glukoze u krvi nakon konzumiranja određene hrane. Ovisno o količini ugljikohidrata koje sadrže, sve prehrambene namirnice možemo podijeliti na dvije osnovne skupine:

- (1) namirnice s visokim glikemijskim indeksom
- (2) namirnice s niskim glikemijskim indeksom

U prehrani uvijek treba dati prednost namirnicama s niskim glikemijskim indeksom (Foster-Powell i sur., 2002; Glycemic Research Institute, 2006-2010; Banjari, 2008; Medeiros i Wildman, 2013; Insel i sur., 2014).

Tablica 2. Namirnice s niskim glikemijskim indeksom (Foster-Powell i sur., 2002)

<b>VRSTA NAMIRNICE</b>	<b>GI</b>
Cjeloviti kruh ili kruh s mekinjama	50
Cjelovita riža	50
Grašak	50
Nezašećerene cjelovite žitarice	50
Zobene pahuljice	40
Grah	36
Nezaslađeni voćni sok	40
Cjelovita tjestenina	40
Kruh od cjelovite raži	40
Jabuke	39
Kruh od 100% cjelovita brašna	35
Suhi grašak	35
Mliječni proizvodi	35
Voćni sladoled (sorbet)	35
Neobrano mlijeko	34
Obrano mlijeko	32
Suhi grah	30
Voćna marmelada bez šećera	30
Cjelovita tjestenina	30
Svježe voće	30
Leća	29
Crna čokolada (>70% kakao)	22
Fruktoza	25
Soja	15
Zeleno povrće, rajčica, limun, šampinjoni	<15

Tablica 3. Namirnice s visokim glikemijskim indeksom (Foster-Powell i sur., 2002)

<b>VRSTA NAMIRNICE</b>	<b>GI</b>
Maltoza (pivo)	105
Glukoza	100
Krumpir pečen u pećnici	95
Posve bijeli kruh	95
Pire od krumpira	90
Med	92
Mrkva	88
Kikiriki	87
Cornflakes i kokice	85
Bob	80
Buća, tikva	75
Lubenica	75
Bijela riža	72
Šećer (saharoza)	70
Slastice s čokoladom	70
Kuhani oguljeni krumpir	70
Keksi	70
Kukuruz	70
Bijeli kruh	69
Suho voće	65
Polubijeli kruh	65
Neoguljeni kuhani krumpir	65
Banane, dinje, pekmezi	63
Bijela tjestenina	55
Čips	51



### 1.3.3. Prehrambena vlakna

Prema definiciji prehrambena vlakna (dijetalna vlakna) su jestivi dijelovi biljaka ili analogni ugljikohidrati koji su neprobavljivi i ne apsorbiraju se u tankom crijevu čovjeka, te se u potpunosti ili djelomično razgrađuju djelovanjem crijevne mikroflore u debelom crijevu. Dakle, prehrambena vlakna spadaju u skupinu neprobavljivih ugljikohidrata, odnosno polimera ugljikohidrata uglavnom biljnog porijekla koji se u ljudskom organizmu djelovanjem probavnih enzima ne mogu hidrolizirati i u konačnici iskoristiti kao izvor energije (Powers, 1996; Guillon i Champ, 2002; Gropper i Smith, 2009).

Prehrambena vlakna dijelimo prema topljivosti na:

1. *topljiva vlakna* (viskozna i fermentirajuća). U topljiva prehrambena vlakna ubrajamo gume, pektine i sluz. Ona se u procesu probave otapaju i stvaraju viskoznu, gelastu masu (sluz) koja štiti cijeli probavni trakt od apsorpcije različitih supstanci (između ostalog i kolesterola). U vodi topljiva vlakna (pektini i gume) imaju veliku sposobnost bubrenja i povećanja viskoziteta, a tu sposobnost zadržavaju i nakon toplinske obrade i konzumacije hrane, te kao krajnji rezultat izazivaju brzi osjećaj sitosti (Blok i sur., 2002). Nalazimo ih u grahu, grašku, jagodama, jabukama, šljivama, citrus voću i dr. Djelovanje im se očituje u prevenciji kardiovaskularnih bolesti jer smanjuju razinu kolesterola u krvi (Driskell i Wolinsky, 2000; Jašić i Begić, 2008; Gropper i Smith, 2009).

**Pektini** su heterosaharidi koje nalazimo u gotovo svim biljnim tkivima, a posebice kao građevne dijelove stanične stijenke biljne stanice. Nalazimo ih isključivo u biljkama i to svim dijelovima: stablo, gomolj, korijen, plod i jagodasti plodovi gdje imaju važnu fiziološku i biokemijsku ulogu. Tijekom razgradnje molekule pektina nastaje konačni produkt, poligalakturonska kiselina, stanična stijenka se deformira, a plodovi voća omekšaju. Stupanj razgradnje pektina ovisi o pH medija i temperaturi. Pektini su najstabilniji pri pH od 3-4 (Belitz i Grosch, 1999; Srivastava i Malviya, 2011). Primjena pektina u prehrambenoj industriji je široka, a najviše se koriste kao zgušnjivači (čvrsti gel, žele) kao na primjer u proizvodnji želiranih proizvoda poput džemova. Također, pektini su stekli i popularnost u kategoriji funkcionalne hrane s obzirom da je dokazan

njihov pozitivan učinak na ljudsko zdravlje (Yamada i sur., 2003). Značajni izvori pektina (Tablica 4) su: jabuka, marelica, višnja, mrkva, citrusi, a posebice kora citrusa (Arthey i Ashurst, 1995; Baker, 1997; Jašić i Begić, 2008; Srivastava i Malviya, 2011).

Tablica 4. Sadržaj pektina (%) u pojedinim voćnim vrstama (Baker, 1997; Srivastava i Malviya, 2011)

Voćna vrsta	Sadržaj pektina (%)
Jabuka	0,71-0,84
Jabučna kaša	10-15
Marelica	0,71-1,32
Višnja	0,24-0,54
Naranča	2,34-2,38
Grejp	3,30-4,50
Limun	2,80-2,99
Mrkva	1,17-2,92
Kora naranče	20-30

**Gume** su u vodi topljivi, viskozni polisaharidi koji sadrže čak 10 000 - 30 000 jedinica glukoze, galaktoze, manoze, arabinoze, ramnoze. Osnovna funkcija guma je održavanje strukture biljnog tkiva. Dobivaju se iz prirodnih izvora, iz raznih vrsta *Acacia* (*Acacia senegal*) arapska guma, zatim tragakant guma iz kore azijske biljke *Astargalus gummifer*, guar guma iz indijske mahunarke *Cyamopsis tetragonolobus*, kao i gume iz rogača. Razlikujemo gume koje se stvaraju na stablima i koje se izdvajaju iz brašna. Općenito, prehrambena industrija gume koristi za zgušnjavanje sirovina, a najčešće koristi arapsku, guar i ksantan gumu (Driskell i Wolinsky, 2000; Spiller, 2001; Jašić i Begić, 2008).

**Sluzi** su ugljikohidratni polimeri, te predstavljaju rezerve ugljikohidrata i vode u biljci. Prirodni izvor sluzi je sjemenje i korijenje, a biljkama služi kao sredstvo za sprječavanje isušivanja. Sluzi se nalaze u različitim biljnim dijelovima i to u obliku membranske sluzi, sekundarnih zadebljanja ili sluzi stanične stijenke. Od prirodnih izvora, najveći sadržaj sluzi nalazi se u algama i morskoj travi. Prehrambena industrija koristi sluzi kao ugušćivače i stabilizatore u raznim prehrambenim proizvodima (Spiller, 2001; Jašić i Begić, 2008).

2. *netopljiva vlakna* (neviskozna, nefermentirajuća). Najznačajniji predstavnici netopljivih prehrambenih vlakana su hemiceluloza, celuloza i lignin. Netopljiva prehrambena vlakna prolaskom kroz gastrointestinalni trakt ostaju gotovo nepromijenjena. Imaju sposobnost dobre apsorpcije vode, a pripisuje im se laksativno djelovanje jer sprječavaju konstipaciju (zatvor) i osiguravaju redovito pražnjenje crijeva. Ovakav učinak netopljivih vlakana sprječava duže zadržavanje toksičnih supstanci u organizmu istodobno ga štiteći od različitih bolesti (Blok i sur., 2002). Prehrambena vlakna, od kojih najviše u vodi netopljivi lignin, apsorbiraju organske tvari poput žučnih kiselina i produkata nastalih tijekom razgradnje lijekova. Veće količine netopljivih prehrambenih vlakana nalazimo u kupusu, mrkvi, artičoki, smokvama, kelju, prokulici, brokuli i dr. (Driskell i Wolinsky, 2000; Spiller, 2001; Insel i sur., 2014).

Prehrambena vlakna općenito pokazuju vrlo značajan doprinos za zdravlje ljudskog organizma i djeluju povoljno na niz fizioloških efekata ljudskog organizma:

- a) izazivaju brz osjećaj sitosti (u vodi topljiva vlakna jako bubre),
- b) povećavaju volumen crijevnog sadržaja,
- c) povećavaju peristaltiku (uravnotežena i regulirana probava),
- d) usporavaju hidrolizu polisaharida do glukoze (utječu na smanjenje glikemijskog indeksa).

Najveću količinu prehrambenih vlakana sadrže žitarice i proizvodi od žitarica (posebno onih od punog zrna), a zatim voćne (najviše jabuka) i povrtna (najviše brokula) kulture (Tablica 5) (Powers, 1996; Blok i sur., 2002; Gropper i Smith, 2009; Medeiros i Wildman, 2013).

Preporučeni dnevni unos prehrambenih vlakana u ljudski organizam (ADI g/dan) je za djecu od 1-3 godine 19 g/dan, a za odrasle (ovisno o dobi i spolu) 21-38 g/dan (Insel i sur., 2014).

Tablica 5. Prehrambene namirnice s obzirom na količinu prehrambenih vlakana g/100 g namirnice

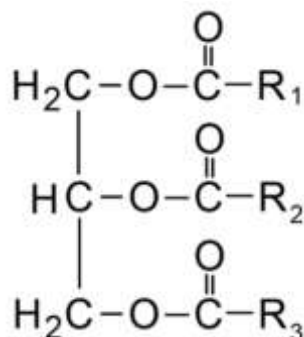
Vrsta namirnice	Topljivih	Netopljivih	<b>UKUPNO</b>
Cjelovite žitarice	5	27	32
Brokula	14	16	30
Mrkva	11	13	24
Grašak	3	18	21
Grah	4	15	19
Zob	8	8	16
Leća	2	14	16
Jabuka	4	9	13
Rajčica	2	11	13
Naranča	7	4	11
Kukuruz	1	8	9
Krumpir	5	4	9
Cjeloviti kruh	2	7	9
Banana	2	5	7
Tjestenina	2	1	3
Bijeli kruh	2	1	3

## 1.4. LIPIDI

U skupinu lipida ubrajamo masti, ulja, voskove, fosfolipide, sfingolipide, kolesterol i dr (Insel i sur., 2014).

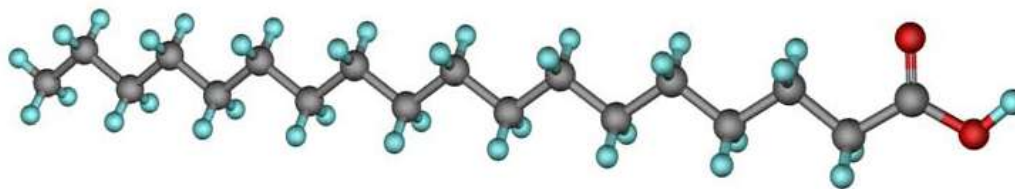
### 1.4.1. Masti i ulja

Pod pojmom masti podrazumijevaju se ukupni lipidi, od kojih glavninu u hrani čine trigliceridi. Masti su po svom kemijskom sastavu esteri viših masnih kiselina i alkohola glicerola (Slika 7). Alkohol glicerol je alkohol s tri karakteristične hidroksilne skupine (-OH) koje ostvaruju estersku vezu s tri molekule masnih kiselina. Masti nisu topljive u vodi, ali su zato topljive u organskim otapalima (Wysong, 1990; Belitz i Grosch, 1999; Bettelheim i sur., 2010; Stoker, 2013; Insel i sur., 2014).



Slika 7. Kemijska struktura triglicerida (Wysong, 1990)

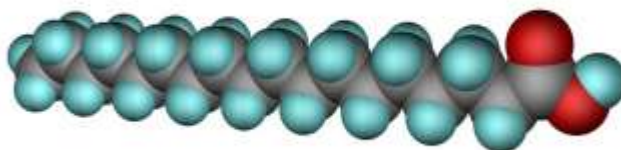
Masne kiseline su mono karboksilne kiseline tj. sadrže samo jednu karboksilnu skupinu (-COOH). Sve prirodne masne kiseline imaju paran broj ugljikovih atoma vezanih u dugačak nerazgranati lanac (Slika 8). Tri najčešće masne kiseline u mastima i uljima su palmitinska (16 C- atoma), stearinska (18 C- atoma) i oleinska kiselina (18 C- atoma) (Wysong, 1990; Belitz i Grosch, 1999; Sikorski i Kolakowska, 2003; Stoker, 2013; Insel i sur., 2014) .



Slika 8. Prikaz nerazgranate strukture masne kiseline (Rožić i sur., 2008)

Masne kiseline razlikuju se i u dužini lanca. S obzirom na duljinu lanca dijelimo ih na: a) kratko-lančane, manje od 6 ugljikovih atoma; b) srednje-lančane, od 6-12 ugljikovih atoma; c) dugo-lančane, od 12 ili više ugljikovih atoma. Što je kraći ugljikov lanac to je masnoća više u tekućem obliku (niža je točka tališta) (Wysong, 1990; Belitz i Grosch, 1999; Sikorski i Kolakowska, 2003; Stoker, 2013; Insel i sur., 2014).

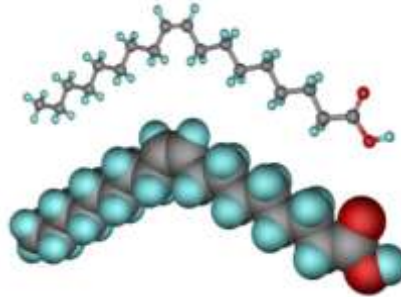
Ovisno o broju vodikovih atoma vezanih za slobodni ugljik u molekuli masne kiseline, razlikujemo *zasićene* i *nezasićene* masne kiseline (mononezasićene i polinezasićene). Zasićene masne kiseline (palmitinska i stearinska) u svojoj strukturi sadrže samo jednostruke veze, te zato imaju izgled ravnog štapića (Slika 9). Uglavnom su sadržane u čvrstim mastima, a glavna im je osobina da su pri sobnoj temperaturi u krutom stanju (mast, loj, palmino ulje, margarin) (Wysong, 1990; Sikorski i Kolakowska, 2003; Insel i sur., 2014).



Slika 9. Prikaz strukture zasićene masne kiseline (ravni štapić) (Rožić i sur., 2008)

Nezasićene masne kiseline (oleinska) sadržavaju jednu ili više dvostrukih veza između ugljikovih atoma. Odnosno, masne kiseline s jednom dvostrukom vezom (C=C) pripadaju u mononezasićene masne kiseline, dok masne kiseline s dvije ili više dvostrukih veza između ugljikovih atoma pripadaju u polinezasićene masne kiseline. Nezasićene masne kiseline poput oleinske imaju samo jednu dvostruku vezu, te se preostali dijelovi molekule ne mogu rotirati oko dvostruke veze. Ugljikovodični lanci se uvijek nalaze na istoj strani dvostruke veze i zato sama molekula ima izgled slomljenog

štipića (Stoker, 2013) (Slika 10). Nezasićene masne kiseline su uglavnom sadržane u uljima poput suncokretovog, kukuruznog, lanenog, sezamovog, maslinovog itd., a veliki izvor nezasićenih masnih kiselina je plava riba. Pri sobnoj temperaturi javljaju se u tekućem agregatnom stanju (Wysong, 1990; Sikorski i Kolakowska, 2003; Insel i sur., 2014).



Slika 10. Prikaz strukture nezasićene masne kiseline (slomljeni štipić) (Rožić i sur., 2008)

Nezasićene masne kiseline još se dijele u dvije manje grupe:

(1) *esencijalne masne kiseline* – ne mogu se sintetizirati u ljudskom organizmu, te se moraju uzimati hranom kako bi se zadovoljile potrebe organizma za tim tvarima. Esencijalne masne kiseline čine čak 23 % ukupnih masnih kiselina u ljudskom organizmu. U skupinu esencijalnih masnih kiselina spadaju linolna, linolenska i arahidonska kiselina. Ovisno o njihovoj strukturi, pripadaju u omega-6 i omega-3 masne kiseline (Campbell i sur., 1998; Chow, 2008; Stoker, 2013). Navedene masne kiseline su u visokom postotku prisutne u sjemenkama i sjemenim uljima. U ljudskom organizmu pomažu pravilnom radu stanica i organa, a iz njih se stvaraju spojevi slični hormonima koji upravljaju širokim spektrom životnih funkcija, kao što su krvni tlak, zgrušavanje krvi, razina lipida u krvi (masnoća), imunološko stanje, te upalni odgovor na prijetnju infekcije. Također, esencijalne masne kiseline važne su za zdravlje živčanog sustava (živčanog tkiva, mozga) (Wysong, 1990; Desai, 2000; Anderson i Fritsche, 2002; Gropper i sur., 2009; Schmidt, 2007; Dunford i Doyle, 2014; Insel i sur., 2014).

(2) *neesencijalne masne kiseline* – mogu se sintetizirati u ljudskom organizmu, te su također važne za održavanje životnih funkcija ljudskog organizma.. Na primjer omega-9 masne kiseline utječu na sniženje razine „lošeg“ kolesterola, a

povećavaju „dobri“ koelsterol, te kontroliraju razinu šećera u krvi. Čak 76,7 % masnih kiselina su neesencijalne, a najpoznatije su stearinska, palmitinska, oleinska i td. U skupinu neesencijalnih masnih kiselina spadaju i zasićene masne kiseline koje mogu negativno utjecati na ljudsko zdravlje, poput trans masnih kiselina, te zbog svega navedenog njihov unos putem hrane treba izbjegavati (Campbell i sur., 1998; Chow, 2008).

Zasićene masne kiseline neophodne su kao glavni izvor energije za ljudski organizam, dok su nezasićene potrebne i za „izgradnju“ raznih tkiva i staničnih struktura, te stoga treba pridati izrazito veliku važnost omjeru tih tvari prisutnih u svakodnevnoj prehrani (Tablica 6), a prvenstveno zbog prevencije različitih bolesti i potrebe zdravog načina života (Wysong, 1990; Chow, 2008; Gropper i sur., 2009; Dunford i Doyle, 2014).

Tablica 6. Odnos zasićenih i nezasićenih masnih kiselina u nekim mastima i uljima (g/100 g masti)

<b>Vrsta masti</b>	<b>Zasićene masne kiseline</b>	<b>Mononezasićene masne kiseline</b>	<b>Polinezasićene masne kiseline</b>
ulje kukuruznih klica	10	28	54
maslinovo ulje	11	76	5
suncokretovo ulje	8	15	72
sojino ulje	15	20	63
biljni margarin	17	35	29
slanina i svinjska mast	38	46	11
maslac	45	27	3
kakao maslac	56	37	2
kikiriki maslac	12	23	15

Lipidi se pri sobnoj temperaturi javljaju u dva agregatna stanja: krutom (masti) i tekućem (ulja). Glavni razlog da se ulja javljaju isključivo u tekućem, a masti u krutom agregatnom stanju je njihov sastav. Naime, masne kiseline koje ulaze u sastav ulja imaju izgled slomljenog štapića (nezasićene masne kiseline) zbog čega se molekule ulja teže slažu u kristalnu strukturu i kristaliziraju pri nižim temperaturama. Masti najvećim dijelom sadržavaju zasićene masne kiseline koje strukturom podsjećaju na ravni štapić, lakše se slažu u kristalnu strukturu i kristaliziraju (Bettelheim i sur., 2010). Tako na



primjer masti kopnenih životinja sadržavaju 40-50 % zasićenih masnih kiselina, a biljna ulja oko 20 % zasićenih masnih kiselina. Prirodni izvori ulja su namirnice biljnog porijekla (najčešće se izoliraju iz njihovih plodova) koje zajedničkim imenom zovemo uljarice. Najpoznatije uljarice su suncokret, soja, uljana repica, maslina i neke vrste palmi. Sva biljna ulja osim palminog i kikirikijevog najvećim dijelom sadrže nezasićene masne kiseline. Sve masti životinjskog porijekla (osim ribljeg ulja) su u krutom stanju (svinjska mast, mast peradi, loj i maslac). Nutricionisti sa zdravstvenog aspekta u svakodnevnoj prehrani preporučaju korištenje biljnih ulja u zamjenu za masti životinjskog porijekla s obzirom da su ona znatno većeg sadržaja zasićenih masnih kiselina. Još jedna prehrambena namirnica koja se često upotrebljava kao izvor masti je i margarin. Margarin po svom kemijskom sastavu nije karakterističan lipid već se dobiva katalitičkim hidrogeniranjem prirodnih ulja. Tijekom navedenog postupka molekula vodika se uz prisutnost katalizatora veže na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina (sastavni dio prirodnih ulja), te one postaju zasićene, a proizvod je u krutom agregatnom stanju. Naime, zasićene masne kiseline imaju strukturu ravnog štapića i kristaliziraju. Takva pojava glavni je razlog zašto margarin ima i višu točku tališta od ulja od kojeg je proizveden. Masti i ulja duljim stajanjem u dodiru sa zrakom hidroliziraju i poprimaju miris užeglosti, pa se ne mogu koristiti za ljudsku prehranu. Masti slabije kakvoće služe za proizvodnju sapuna i glicerola (World Cancer Research Fund, 2007; Dunford i Doyle, 2014; Insel i sur., 2014; Stegeman i Davis, 2014).

Masti ljudskom tijelu daju najviše energije, odnosno imaju najveću energetska vrijednost. Na primjer samo 1 g masti daje energiju oko 37 kJ (9 kcal). Općenito, postoji nekoliko vrlo važnih funkcija masti u ljudskom organizmu:

- A. energetska funkcija, masti zadovoljavaju 25-30 % dnevnih energetskih potreba, a sav višak energije u organizmu se pohranjuje u obliku masti,
- B. izvor su važnih nezasićenih masnih kiselina koje su značajne za zdravlje ljudi,
- C. nosioci su vitamina topljivih u mastima (vitamin A, D, E i K),
- D. omogućuju prijenos živčanih impulsa (sfingomijalin koji spada u fosfolipide, a služi kao izolator živčanih vlakana),

E. termoregulacija i mehanička zaštita organizma, sloj masnog tkiva pomaže u zaštiti organizma od temperaturnih „šokova“ prilikom naglih promjena temperature okoline. Naime, mast je slab vodič topline, te istodobno sprječava gubitak topline iz tijela,

F. vitalna uloga u strukturi citoplazme stanice, stanične jezgre i membrana staničnih organela, masti ovdje imaju ulogu transporta nutrijenata i metabolita kroz stanične membrane,

G. masti su prekursori za sintezu steroidnih hormona i vitamina D<sub>3</sub>,

H. lipoproteini su vitalni sastojci stanica (Wysong, 1990; Schmidt, 2007; Insel i sur., 2014; Stegeman i Davis, 2014).

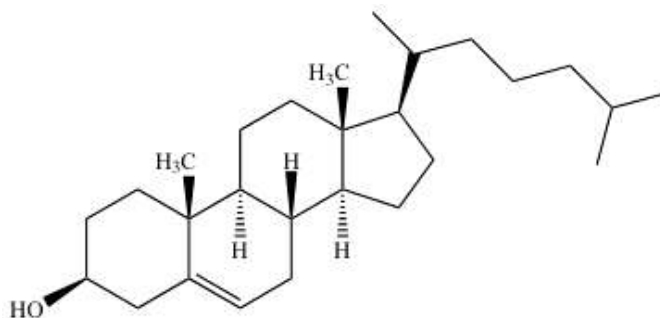
U uravnoteženoj i pravilnoj prehrani masti bi trebale činiti 25-35 % od ukupne potrebne energije. Tako je na primjer za obavljanje lakšeg rada dostatna količina masti od svega 1 g/kg tjelesne mase. U Tablici 7 prikazan je potreban unos masti izražen u gramima da bi se zadovoljila granica od 30 % ukupne potrebne energije koja se dobiva iz masti obzirom na ukupni unos energije u ljudski organizam. Osim „vidljivih masti“ (ulje, konzumna mast, maslac) postoje i „nevidljive masti“ koje su sastavni dijelovi nekih drugih prehrambenih proizvoda, ponajviše suhomesnatih proizvoda (kobasice), čokolade, mliječnih proizvoda i td. (Institute of Medicine, 2005; Insel i sur., 2014; Stegeman i Davis, 2014).

Tablica 7. Potreban unos masti s obzirom na ukupni unos energije tijekom dana

Ukupna energija (kcal/kJ)	30 % masti
1500/6280,2	50 g
2000/8373,6	67 g
2500/10467	83 g
3000/12560,4	100 g

## 1.4.2. Kolesterol

Vrlo važan lipid je i kolesterol ( $C_{27}H_{45}O$ ) koji se nalazi u staničnim membranama svih tkiva, te je ujedno njihov strukturni element, ali i ishodna molekula za sintezu lipida steroidne strukture. Zato je kolesterol spoj koji je nužno bitan za normalno funkcioniranje našeg organizma. Kao što mu i samo ime govori, kolesterol se svrstava u skupinu sterola jer u njegov sastav ulaze i steroidi i alkoholi (Slika 11). Kolesterol isključivo nalazimo u ljudskom i životinjskom organizmu, dok ga biljke, odnosno namirnice biljnog porijekla ne sadrže. Biljke sintetiziraju spojeve slične kolesterolu koji se nazivaju fitosteroli (Dutta, 2004; Institute of Medicine, 2005). Ljudski organizam kolesterol koristi za produkciju hormona, vitamina A, D i E, te žučnih kiselina. Manji dio kolesterola nalazi se i u krvi. Ako se takav kolesterol iz krvi nakuplja na stijenkama krvnih žila, može doći do njihovog začepjenja ili smanjenog krvnog protoka. Posljedice na zdravlje mogu biti velike, od srčanih udara, ateroskleroze i drugih (Stoker, 1990; Harris, 2010; Durstine, 2014; Insel i sur., 2014; Stegeman i Davis, 2014).



Slika 11. Kemijska struktura kolesterola (Harris, 2010)

Važno je razlikovati dva oblika kolesterola: „dobri“ (HDL) i „loši“ (LDL) kolesterol. Osnovna funkcija LDL kolesterola je transport kolesterola iz jetre u periferna tkiva, no do problema dolazi ukoliko organizam producira višak LDL kolesterola nego što mu je to potrebno za obavljanje tih funkcija organizma. U tom slučaju nastaje neiskorišteni LDL kolesterol koji se taloži na stijenkama arterija (zajedno s kalcijem i drugim lipidima) i postepeno dovodi do pojave ateroskleroze (začepjenja malih i srednjih arterija) koja za posljedicu, između ostalog, imaju pojavu infarkta srčanog

miokarda, trombozu i druga akutna i kronična stanja. Upravo su zato nakupljanju „lošeg“ kolesterola izložene pretile osobe, pušači, dijabetičari i osobe s povišenim ukupnim kolesterolom u krvi. HDL kolesterol („dobar“) kao glavnu funkciju u organizmu ima prijenos viška kolesterola iz perifernih tkiva u jetru, te se takav putem žuči i stolice odstranjuje iz organizma. HDL kolesterol ima zaštitni učinak na pojavu kardiovaskularnih bolesti, a smatra se da je poželjna razina iznad 35 mg/dL. Studije pokazuju da se čak i vrlo malim povećanjem razine HDL-a od 1 mg/100 mL smanjuje rizik od pojave kardiovaskularnih bolesti za 2-3 % (Stoker, 1990; Freeman i Junge, 2005; Kovala, 2005; Harris, 2010; Insel i sur., 2014; Stegeman i Davis, 2014).

Pravilnom i zdravom prehranom uvelike se može regulirati količina i omjer „lošeg“ i „dobrog“ kolesterola u organizmu. Možemo izdvojiti nekoliko komponenata hrane koje utječu na razinu kolesterola u plazmi, a to su:

A. zasićene masne kiseline kao laurinska, miristinska i palmitinska koje značajno povisuju razinu kolesterola, dok na primjer kiseline s brojem ugljikovih atoma od C4-C10 i stearinska (nalazimo u govedini i mlijeku) nemaju takav efekt. Svaki postotak ukupne energije dobiven iz zasićenih masnih kiselina povisuje razinu kolesterola za 2,7 mg/dL. Učinak zasićenih masnih kiselina na povišenje kolesterola je čak dva puta veći od učinka nezasićenih masnih kiselina na njegovo sniženje (Stoker, 1990).

B. nezasićene masne kiseline smanjuju koncentraciju kolesterola i triglicerida. Mononezasićene kiseline snižavaju ukupni i LDL kolesterol dok istodobno ne snižavaju HDL kolesterol. Polinezasićene masne kiseline snižavaju ukupni, LDL i HDL kolesterol (Institute of Medicine, 2005),

C. prehrambena vlakna, cjelovite žitarice i namirnice bogate prehrambenim vlaknima snižavaju razinu kolesterola u krvi,

D. vitamin C djeluje kao antioksidans i utječe na smanjenje kolesterola u krvi (World Cancer Research Fund, 2007; Kovala, 2005; Harris, 2010, Dunford i Doyle, 2014; Insel i sur., 2014; Stegeman i Davis, 2014).

E. alkohol, odnosno antioksidansi iz vina (polifenoli) utječu na smanjenje ukupnog kolesterola i općenito masnoća u krvi. Redovita i umjerena konzumacija alkohola (crvenog vina) vrlo učinkovito djeluje na prevenciju kardiovaskularnih bolesti, a spomenuti pojam je i znanstveno dokazan, poznat pod nazivom „francuski paradoks“.

Ranih devedesetih godina 20.-og stoljeća pogotovo u Americi postaje aktualna priča o povezanosti umjerene konzumacije crvenog vina i pozitivnih učinaka na ljudsko zdravlje posebice na kardiovaskularni sustav. Naime, u populaciji Francuza je primijećena niska stopa obolijevanja od kardiovaskularnih bolesti usprkos kulturi prehrane koja je relativno bogata masnoćama. Brojne kontrolirane studije pokazale su da je jedan od mogućih razloga crveno vino koje kada se konzumira u umjerenim količinama povećava razinu HDL („dobrog“), a smanjuje razinu LDL („lošeg“) kolesterola u krvi. Zaštitno djelovanje na kardiovaskularni sustav pripisuje se tvari nazvanoj resveratrol koja se nalazi u opni grožđa i to u vrlo visokim koncentracijama. Toj fitokemikaliji pripisuju se brojna pozitivna djelovanja, a posebice zaštitni učinak na kardiovaskularni sustav i kapilare (Perdue i sur., 1992; Kazazić, 2004; Brette, 2010). Također dr. Ellison naglašava kako će se značajno utjecati na prevenciju kardiovaskularnih bolesti poštujući sljedeće temelje mediteranske prehrane:

- a) umjerena konzumacija alkohola, posebice crvenog vina uz obrok,
- b) prehrana temeljena na što većem unosu svježeg voća i povrća,
- c) manji i češći obroci,
- d) manja konzumacija crvenog mesa,
- e) manje unosa mlijeka, više sira,
- f) veća upotreba maslinovog ulja, a manje masti animalnog porijekla (Perdue i sur., 1992).

Na temelju navedenih komponenata koje utječu na razinu kolesterola u krvi možemo zaključiti da bi preporučena prehrana u svrhu prevencije obolijevanja od kardiovaskularnih bolesti se trebala temeljiti na unosu namirnica bogatim prehranbenim vlaknima (cjelovite žitarice, voće i povrće), nezasićenim masnim kiselinama (plava riba) i antioksidansima (voće i povrće). Primjeri namirnica koje možemo izdvojiti kao bogate izvore i prehranbenih vlakana i nezasićenih masnih kiselina i antioksidansa su: grah, zob, jabuke, mrkva, maslinovo ulje, rižino ulje, orašasto voće, avokado, bademi, lješnjaci, češnjak, luk, ribe, žitarice, mahunarke, voće, povrće. Od žitarica, soja je izrazito učinkovita u smanjivanju razine LDL kolesterola (World Cancer Research Fund, 2007; Perdue i sur., 1992; Brette, 2010; Stegeman i Davis, 2014).

### 1.4.3. Indeks tjelesne mase

Indeks tjelesne mase (BMI – engl. „body mass index“) koristi se kao pokazatelj stupnja uhranjenosti osobe. Indeks tjelesne mase (BMI) i navedeni način usporedbe težine razradio je sredinom 19. stoljeća belgijski znanstvenik Adolphe Quetelet za potrebe istraživanja „socijalne fizike“, a zbog čega se BMI često naziva i Queteletov indeks. Predstavlja omjer tjelesne mase u kilogramima i kvadrata tjelesne visine u metrima. Indeks tjelesne mase kao mjerni pokazatelj ne uzima u obzir i tjelesnu građu pojedinca pa je s tog gledišta njegova upotreba ograničena. Vrlo često se indeks tjelesne mase koristi i za procjenu debljine, odnosno stupnja pretilosti pojedinca, te je u tom segmentu upravo njegova ograničenost i najizraženija. Indeks tjelesne mase ne može izraziti postotak masnog tkiva u odnosu na mišićnu ili koštanu masu. Tako se osobe s velikom tjelesnom masom i visokim BMI indeksom ne mogu automatski klasificirati kao pretili. Kao dobar primjer navode se „bodybuilderi“ i općenito ljudi krupnije tjelesne građe kod kojih je udio mišićne i koštane mase u odnosu na visinu velik, ali to ne znači da su pretili (Ferrera, 2006).

#### 1.4.3.1. Kategorizacija indeksa tjelesne mase

Klasifikacija i kategorizacija indeksa tjelesne mase izrađena prema National Heart, Lung and Blood Institute (2000) prikazana je u Tablici 8. Navedena kategorizacija može se razlikovati od države do države ovisno o tipu građe većinskog dijela stanovništva. Kao dobar primjer treba navesti stanovnike nekih azijskih zemalja poput Kine i Japana koji su općenito nižeg rasta, te su s BMI većim od 23,5 već preuhranjeni, a s BMI 27,5 očigledno pretili s obzirom na svoju tjelesnu građu i proporcije. Za stanovnike jugoistočne Azije kao idealna masa smatra se BMI indeks u rasponu 18,5 – 22,9 no međutim, u ovom BMI rasponu, europski bi se tip građe tijela mogao kategorizirati kao mršav ili pothranjen (WHO, 2004; World Cancer Research Fund, 2007; Prendergast i Shiffman, 2011).

Tablica 8. Klasifikacija indeksa tjelesne mase (National Heart, Lung and Blood Institute 2000; World Cancer Research Fund, 2007)

<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>Klasiifikacija</b>
<18,5	Pothranjenost
18,5-24,9	Normalna težina
25-29,9	Prekomjerna tjelesna težina
30-34,9	Pretilost- Klasa I
35-39,9	Pretilost- Klasa II
≥40	Pretilost- Klasa III

Istraživanja indeksa tjelesne mase odrasle populacije u Hrvatskoj pokazuju sljedeće rezultate prikazane u Tablici 8.

Tablica 9. Indeks tjelesne mase (BMI) u populaciji stanovništva Hrvatske

<b>BMI</b>	<b>Kategorizacija</b>	<b>Populacija u Hrvatskoj</b>
< 18,5	pothranjeno	Muškarci 0,1 % Žene 0,2 %
18,5 – 24,9	poželjna tjelesna masa	Muškarci 21 % Žene 50 %
25 – 29,9	povećana tjelesna masa	Muškarci 48 % Žene 35 %

Iz navedenih podataka u Tablici 9 može se zaključiti da je nešto manje od polovice muške odrasle populacije u Hrvatskoj klasificirano u kategoriju s povećanom tjelesnom masom odnosno da je njihov BMI između 25-30. Što se tiče ženske populacije, polovina od ukupnog uzorka ima poželjnu tjelesnu masu.

## 1.5. PROTEINI I SPOJEVI S DUŠIKOM

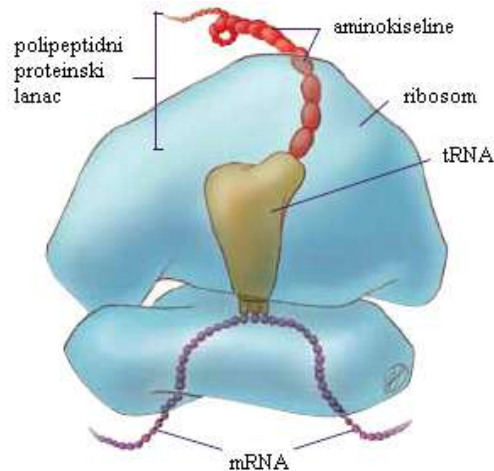
Bjelančevine ili proteini su kemijske tvari koje upravljaju svim životnim procesima stanice svakog živog bića. Kolika je njihova važnost za normalno funkcioniranje ljudskog organizma govori i činjenica da su oni nakon vode najvažnije tvari u našem tijelu, a nužne su za rast i razvoj svih tjelesnih tkiva. Glavne su građevne tvari za izgradnju mišićnog tkiva, krvi, kože, kose, noktiju i unutarnjih organa, uključujući srce i mozak. Proteini upravljaju svim životnim funkcijama u stanici osim samo jedne, a to je da se ne mogu samostalno umnažati (Desai, 2000; Dunford i Doyle, 2014; Chiras, 2015).

Proces sinteze proteina započinje u jezgri stanice i to procesom replikacije, kopiranja genskog materijala izvorne DNA molekule. Nakon replikacije slijedi transkripcija ili prepisivanje. Procesom transkripcije se genski materijal s molekule DNA prepisuje na molekulu RNA. Prepisivanjem genskog materijala nastaje glasnička odnosno engl. „messenger“ RNA (mRNA) koja kodirani genski materijal prenosi na tRNA, odnosno transportnu RNA. tRNA prenosi genski materijal za sintezu proteina iz jezgre na ribosom gdje započinje sinteza proteina koja se odvija u tri faze:

- 1) PRVA FAZA započinje pojavom startnog kodona (A-U-G),
- 2) DRUGA FAZA je ELONGACIJA ili produživanje lanca
- 3) TREĆA FAZA je TERMINACIJA pojavom stop signala (U-A-A, U-A-G, U-G-A) (Gropper i sur., 2009; Stipanuk i Caudill, 2013; Chiras, 2015).

Proces sinteze proteina odvija se u ribosomima (Slika 12) gdje se aminokiseline peptidnom vezom povezuju u karike (sve dulje lance) prilikom čega nastaje polipeptidni lanac molekule proteina (Copeland, 2000; Bettelheim i sur., 2010; Chiras, 2015).





Slika 12. Sinteza proteina u ribosomu (<http://opentextbc.ca/biology/chapter/9-4-translation/>)

Proteini su građeni od dvadesetak različitih aminokiselina koje se međusobno povezuju poput karika u lancu. Aminokiseline koje grade proteine mogu biti:

A. *esencijalne aminokiseline*, ne mogu se samostalno sintetizirati i obnavljati u organizmu pa njihovu potrebu za unosom moramo zadovoljiti putem hrane. U esencijalne aminokiseline ubrajamo: arginin, histidin, leucin, izoleucin, lizin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan, valin (Belitz i Grosch, 1999; Gropper i sur., 2009; Stipanuk i Caudill, 2013).

B. *neesencijalne aminokiseline* ljudski organizam može samostalno sintetizirati i to iz ugljikohidrata ili iz esencijalnih aminokiselina. U neesencijalne aminokiseline ubrajamo: alanin, asparagin, asparaginska kiselina, cistein, glutaminska kiselina, glutamin, glicin, prolin, serin, tirozin (Belitz i Grosch, 1999; Gropper i sur., 2009; Stipanuk i Caudill, 2013).

Namirnice koje sadrže proteine mogu, ali i ne moraju sadržavati esencijalne aminokiseline pa razlikujemo **punovrijedne bjelančevine** (meso, jaja i mliječni proizvodi koje sadrže oko 50 % esencijalnih aminokiselina) i **manjevrijedne bjelančevine** (povrće, voće, žitarice koje sadrže od 20 do 30 % esencijalnih aminokiselina) (McWilliams, 2006). Voće i povrće kao prehrambene namirnice nisu specifične po bogatom proteinskom sastavu, ali s obzirom na unos putem hrane nisu niti

nezanemariva komponenta. Ovisno o vrsti, voćne i povrtna kulture mogu sadržavati od 0,5 do 7 % proteina. U voćne vrste bogate proteinima ubrajamo orašaste plodove, a povrtna kulture bogate proteinima su mahunarke (grah i grašak). U namirnice biljnog porijekla koje su specifične po bogatom proteinskom sastavu ubrajamo žitarice kao na primjer zob i quinou (kvinoja) (Lambaša Belak i sur, 2005).

Osnovne funkcije proteina u ljudskom organizmu su:

- 1) reguliraju procese razgradnje i biosinteze spojeva; 55 do 60 % proteina u našem organizmu regulira navedene procese,
- 2) osnovni su građivni elementi stanica organizma transportnog sustava,
- 3) sastavni su dijelovi enzima, hormona, nukleotida, imunoglobulina, gena, za kontrakciju mišića,
- 4) rezervni proteini u vegetabilnim i animalnim organizmima (Gropper i sur., 2009; Stipanuk i Caudill, 2013; Dunford i Doyle, 2014; Insel i sur., 2014).

Osim što proteini imaju građivnu ulogu, oni služe i kao izvor energije dajući pritom organizmu energiju u vrijednosti od 4 kcal/1 g tjelesne mase. Međutim, energetska funkcija proteina se ne koristi kad su u hrani dovoljne količine masti i ugljikohidrata kao glavnih izvora energije za organizam. U slučaju dugotrajnog gladovanja, odnosno kad tijelo za bazalni metabolizam iskoristi sve raspoložive zalihe masti i ugljikohidrata, proteini prelaze u funkciju energetskih tvari tj. počinje njihova razgradnja da bi tijelo moglo crpiti energiju za održavanje svih životnih funkcija. Ukoliko u tijelu nastupi razgradnja proteina koče se osnovne životne funkcije (tkiva i organi građeni od proteina propadaju) i ubrzo nastupa smrt. Prekomjerne količine bjelančevina koje nisu iskorištene za izgradnju tkiva ili energiju pretvaraju se u jetri u mast i pohranjuju u tkivima, što pak dovodi do preopterećenja jetre. Ako je unos proteina, odnosno namirnica bogatih proteinima, veći od 50 % nego što je preporučeno unositi tijekom dana dolazi do povećanog izlučivanja ureje iz mokraćnog sustava prilikom čega stradavaju bubrezi, a isto tako dolazi i do povećanog izlučivanja kalcija što naposljetku može izazvati i osteoporozu (propadanje koštanog tkiva). Vezano uz prekomjerni unos proteina u ljudski organizam u Americi je provedeno medicinsko istraživanje na populaciji sportaša koji su bili izloženi „proteinim dijetama“. Primijećeno je da su sportaši čija se prehrana

temeljila isključivo na proteinima, odnosno povećanom unosu namirnica bogatih proteinima, općenito nižeg rasta (ista situacija primijećena je u Rusiji kod sportaša dizača utega). Uslijed prevelikog unosa proteina, spojeva bogatih dušikom, kalcij iz kostiju se počeo izlučivati u prekomjernim količinama, kosti više nisu imale osnovnu građevnu supstancu, a kao posljedica svega došlo je do abnormalnosti u rastu i razvoju koštanog sustava. Deficit proteina u ljudskom organizmu izaziva niz poteškoća, od abnormalnosti u rastu i razvoju cijelog organizma, dok su od organa posebno pogođeni koža, kosa, nokti, mišićni tonus. Osim spomenutih, manjak bjelančevina dovodi i do poremećaja funkcioniranja imunološkog sustava; organizam sve više slabi, gubi se otpornost prema raznim infekcijama, zacjeljivanje rana je sporije, dolazi i do smanjenja mentalnih funkcija i često mentalne depresije (Gropper i sur., 2009; Stipanuk i Caudill, 2013; Dunford i Doyle, 2014; Insel i sur., 2014).

Pravilnom prehranom može se utjecati na održavanje balansa dušika, a time i količine potrebnih proteina u našem tijelu. Različite vrste hrane, između ostalog, razlikuju se i po sadržaju i gustoći proteina (Tablica 10), te prema preporučenim vrijednostima unosa proteina (RDA) i prema općenitom stanju organizma (zdrav ili bolestan organizam) treba optimizirati prehranu i unos namirnica bogatih proteinima (Dunford i Doyle, 2014; Insel i sur., 2014).

Tablica 10. Sadržaj i gustoća proteina u različitim prehrambenim namirnicama

Vrsta namirnice	Količina proteina (g/100 g hrane)	Sadržaj energije (kJ/100 g hrane)	Gustoća proteina (g/1000 kJ)
pečeni losos	27	761	36
pržena jetra	26	960	28
obrano mlijeko	3,6	150	24
svinjetina	18	810	23
pečeni hamburger	24	2000	20
tvrdno kuhana jaja	13	680	19
zeleni grašak	5,1	290	18
neobrano mlijeko	3,5	270	13
kikiriki	26	2380	11
kruh	9,1	1210	7,5
konzervirani kukuruz	2,6	350	7,4

špagete	3,4	460	7,3
pečeni krumpir	2,6	390	6,7
svježa mrkva	1,1	180	6,3
orasi	14,8	2720	5,4
svježa naranča	1,0	210	4,9
kuhana bijela riža	2,0	460	4,4
banana	1,1	360	3,1
pivo	0,3	180	1,7
svježa jabuka	0,2	240	0,8
sojino ulje	0,0	3700	0,0

Minimalna dnevna potreba ljudskog organizma za proteinima ovisi o dobi, spolu, fizičkoj aktivnosti, a procjenjuje se na oko 0,84 g dnevno/kg tjelesne težine. Djeci, zbog naglog rasta, mladeži, trudnicama, sportašima i ljudima koji obavljaju teške fizičke poslove potrebno je i više (1,2-2 g/kg) (Caballero, 2013).

### 1.5.1. Maillardova reakcija

Prehrambene namirnice u svom nutritivnom sastavu međusobno se razlikuju prema količini, ali i važnije, prema kvaliteti proteinskog sastava. Osnovni faktori koji utječu na smanjenje nutritivne vrijednosti proteina neke namirnice prvenstveno su vezani uz preradu (tehnološku proizvodnju namirnice), skladištenje i daljnju pripremu hrane. Promjene koje se događaju u proteinskom sastavu vezano uz te faktore povezane su s mogućim promjenama u građi proteinske komponente odnosno razgradnji aminokiselina, interakcijama između pojedinih aminokiselina i interakcijama aminokiselina s drugim komponentama hrane. Sam intenzitet promjena proteinskog sastava namirnice ovisi o temperaturi koja se primjenjuje tijekom obrade, trajanju zagrijavanja, sastavu namirnice, kiselosti odnosno aktivitetu vode i o drugim komponentama bilo proteinskog ili neproteinskog sastava namirnice (Belitz i Grosch, 1999).

Jedna od najvažnijih kemijskih reakcija tijekom proizvodnje i skladištenja prehrambenih namirnica direktno vezana uz smanjenje nutritivne kvalitete proteina je Maillardova reakcija. Maillardova reakcija predstavlja oblik neenzimatskog potamnjenja hrane koju je još 1912. godine opisao francuski kemičar Louis-Camille

Maillard. Naime, tijekom Maillardove reakcije dolazi do kemijskog povezivanja molekule aminokiseline i reducirajućeg šećera uz prisutnost visoke temperature pri čemu nastaje niz novih molekula kao što su to različiti pigmenti i aromatične tvari (1) koje u konačnici proizvodu daju lijepu boju (npr. korica kruha), čine ga hrskavim (pommefrites) ili pak posebno ukusnim (pečeno meso) (Belitz i Grosch, 1999; Nursten, 2005).

(1)

*Šećer aldoza + Amino komponenta ↔ N – supstituirani glikozilamini + H<sub>2</sub>O*

Vrsta aminokiseline koja ulazi u spomenutu reakciju određuje i konačni okus namirnice. Maillardova reakcija je temelj pekarske i općenito prehrambene industrije.

Sama reakcija odvija se u tri stupnja:

(I) inicijalni stupanj tijekom kojeg dolazi do reakcije između šećera i aminokiselina, a pri čemu nastaju neobojeni produkti,

(II) intermedijarni stupanj tijekom kojeg nastaju bezbojni ili žuto obojeni pigmenti,

(III) finalni stupanj tijekom kojeg nastaju intenzivno obojeni produkti (Nursten, 2005). Dakle, osnovni produkti Maillardove reakcije su: tamnosmeđi pigmenti melanoidini, lako hlapljive aromatske komponente i CO<sub>2</sub>. Na Maillardovu reakciju direktno utječe: visoka temperatura, sadržaj vlage i alkalni (bazični) uvjeti. Nizak sadržaj vlage tijekom procesiranja (najčešće kuhanja) neke namirnice nužno je potreban jer voda počinje isparavati tek na 100 °C, a Maillardova reakcija počinje se događati kada je temperatura približno 154 °C te karakteristično rumenjenje (posmeđivanje) hrane počinje tek kada ispari sva voda s površine namirnice. Također, stopa Maillardove reakcije povećava se kako se povećava aktivitet vode i to od 0,0 do 0,6 (0,7). S obzirom da je jedan od produkata Maillardove reakcije voda daljnje povećanje aktiviteta vode (od 0,7) može izazvati inhibiciju Maillardove reakcije (Belitz i Grosch, 1999; Nursten, 2005).

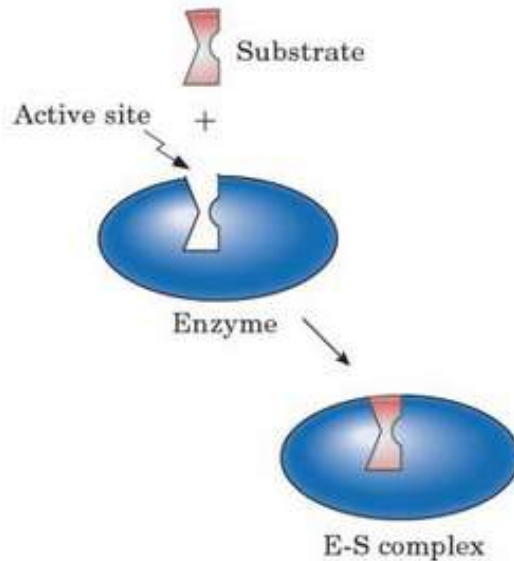
Može se zaključiti kako je Maillardova reakcija često poželjna u prehrambenoj industriji i to zbog poboljšanja organoleptičkih svojstava namirnice (formiranje i optimiziranje boje, okusa i arome). No, osim spomenute primjene u prehrambenoj industriji, Maillardova reakcija može pokazivati i negativan učinak i to na: a) smanjenje

nutritivne vrijednosti proteina, a time i smanjenje kakvoće namirnice; b) stvaranje potencijalno toksičnih kokancerogenih i mutagenih komponenti čime dolazi i do promjena zdravstvene ispravnosti namirnice; c) mogućnost negativnog utjecaja na metabolizam minerala (povećana urinarna ekskrecija) (Finot i sur., 1990).

## 1.5.2. Enzimi

Enzime nazivamo biološkim katalizatorima jer utječu na brzinu kemijskih reakcija. Enzimi ubrzavaju cijeli niz kemijskih reakcija u tijelu i neophodni su za odvijanje života kakvog poznajemo. Mnoge kemijske reakcije u tijelu u odsutnosti enzima odvijale bi se presporo, te bi vodile do bitno drugačijih produkata koji organizmu ili ne trebaju, ili bi mogli štetiti (genetski poremećaji, mentalne retardacije i td.). Kao i ostali spojevi u funkciji katalizatora, tako i enzimi, funkcioniraju na način da snižavaju energiju aktivacije pojedine reakcije, te je na taj način ubrzavaju i to do nekoliko milijuna puta. Trajanjem reakcije enzim ostaje nepromijenjen što mu omogućava da kad se jedna reakcija privede kraju, uključi u drugu potpuno nepromijenjen. Dugo vremena se smatralo da su enzimi po svom kemijskom sastavu isključivo proteini, no ipak postoji i izuzetak (nekoliko vrsta ribonukleinskih kiselina koje još nazivamo ribozimi) (Belitz i Grosch, 1999; Copeland, 2000; Bettelheim i sur., 2010; Whitehurst i van Oort, 2010; Medeiros i Wildman, 2013).

Većina enzima su veće molekule od molekula na koje djeluju, a područje na kojem dolazi do izravnog spoja enzima i molekule naziva se aktivno mjesto. Enzimi vrlo specifično djeluju u dodiru s drugim molekulama na što prvenstveno utječe njihov oblik, struktura, nabijenost, hidrofilna i hidrofobna svojstva. Najznačajnija karakteristika enzima je njihova specifičnost. Biokemičar Emil Fischer je još 1890. godine uočio da svaka molekula na koju određeni enzim djeluje ima točno određeni oblik pomoću kojeg se molekula poveže na baš taj enzim. Na primjer, ako je molekula na koju enzim utječe u obliku kocke, a sam enzim ima dio u obliku trokuta na koji bi se molekula trebala nadovezati, do povezivanja neće doći, jer u tom slučaju enzim nije namijenjen za tu molekulu. Ova hipoteza se zato i naziva hipoteza „ključ i brava” (Bettelheim i sur., 2010; Whitehurst i van Oort, 2010; Medeiros i Wildman, 2013) (Slika 13).



Slika 13. Model „ključ-brava“ po kojem se specifična molekula veže na aktivno mjesto enzima (Bettelheim i sur., 2010)

Neki enzimi već sami po sebi pokazuju aktivnost u svojem djelovanju, odnosno kao samostalne jedinice sami sebi su dovoljni da bi bili potpuno aktivni te im nisu potrebni dodatni faktori da bi se ta aktivnost i postigla. Međutim, nekim enzimima su potrebne molekule koje im pomažu pri njihovom aktiviranju. Takve molekule nazivaju se još kofaktori. Kofaktori mogu biti neorganskog porijekla, kao na primjer ioni metala, ili organskog porijekla, pa se kao takvi nazivaju koenzimi (Belitz i Grosch, 1999; Bettelheim i sur., 2010; Whitehurst i van Oort, 2010; Stoker, 2013).

#### *1.5.2.1. Primjena enzima u prehrambenoj industriji*

Intenzivniji razvoj biokemijske znanosti prošlih je desetljeća rezultirao sve većom primjenom enzima u različitim granama industrije, a prije svega prehrambenoj, farmaceutskoj, kemijskoj.

Enzimi se međusobno razlikuju i prema tipu reakcije koju kataliziraju u nekom kemijskom procesu, te su s toga i podijeljeni u 6 glavnih skupina: oksidoreduktaze, transferaze, hidrolaze, liaze, izomeraze i ligaze. Tijekom procesa koji kataliziraju enzimi



pokazuju i niz prednosti pred kemijskim katalizatorima i to prvenstveno zbog svoje specifičnosti i sposobnosti djelovanja na sobnoj temperaturi zbog čega je broj sporednih reakcija znatno smanjen, znatno je očuvana nutritivna vrijednost i spriječen je nastanak neželjenih promjena u prehrambenim namirnicama (Hui, 2006; Whitehurst i van Oort, 2010).

U raznim granama prehrambene industrije najčešće se primjenjuju enzimi iz grupe hidrolaza kao i neke oksidoreduktaze. Tako je na primjer industrija šećera jedna od glavnih potrošača enzima koje koristi za hidrolizu škroba u svrhu dobivanja modificiranog škroba, dekstrina, glukoze i fruktoze koji se onda koriste kao zaslađivači u raznim prehrambenim proizvodima. U mliječnoj industriji jedan od najprimjenjivijih enzima je beta-galaktozidaza koji katalizira razgradnju laktoze, slabo topljivog mliječnog šećera kojega probavni sustav ne apsorbira. Konačni produkti te reakcije su konstituenti laktoze, jednostavni šećeri glukoza i galaktoza. Time se prevladava problem organske nepodnošljivosti organizma na laktozu koja se, zbog pomanjkanja upravo enzima beta-glukozidaze u probavnom sustavu, javlja kod velikog dijela stanovništva. Još jedan proizvod mliječne industrije, sir, proizvodi se uz pomoć enzima i to renina koji se izolira iz buraga goveda. Danas proizvođači sira nastoje sve više zamijeniti skupi i zdravstveno rizični renin s evaluiranim supstituentima mikrobnog ili biljnog podrijetla. Enzimi se upotrebljavaju i u proizvodnji voćnih sokova i to za povećanje prinosa soka tijekom ekstrakcije (poboljšana ekstrakcija) i postizavanja željene bistroće finalnog proizvoda (bistrenje sokova). No ipak, jedan od najstarijih i najvećih korisnika enzima je pekarska industrija. Naime, brašno kao osnovi sastojak pekarskih proizvoda u svom sastavu sadrži škrob (uz neznatne količine jednostavnih šećera, proteina i nekoliko enzima). Upravo zbog toga je u pekarstvu stupanj razgradnje škroba od glavnog značaja, a ovisi najviše o aktivnosti prirodno prisutne amilaze u brašnu. Slabija aktivnost amilaze podrazumijeva i manje količine konačne glukoze oslobođene iz škroba, te time i manje količine CO<sub>2</sub> potrebnog kvascu. Taj se problem jednostavno rješava dodavanjem fungalne amilaze, koja se inaktivira pri 60°C. Osim amilaze, u pekarskoj industriji dodaju se još enzim fungalna proteaza i to za promjene fizikalnih svojstava tijesta i lipooksigenaza za pospješivanje izbjeljivanja prirodnih obojenih pigmenata tijesta (smanjuje posmeđivanje) (Belitz i Grosch, 1999; Hui, 2006; Whitehurst i van Oort, 2010; Tucker i Woods, 2012).

Općenito za industrijske primjene enzima koristi se nekoliko temeljnih izvora za njihovo dobivanje, a to su:

- a) biljni organizmi (amilaze slada, papain, bromelin, ficin i dr.)
- b) animalni organizmi (enzimi pankreasa, katalaza, renin i dr.)
- c) mikroorganizmi (amilaze, proteaze, pektinaze, invertaze i td.) (Tucker i Woods, 2012).

U suvremenoj proizvodnji enzima još se uvijek kao glavni izvori njihovog dobivanja koriste biljni i animalni organizmi, ali se zbog zahtjevnih tehničkih razloga, ekonomskih i zdravstvenih razloga sustavno povećava proizvodnja enzima mikrobnog podrijetla. Za dobivanje enzima iz biljaka potrebne su velike uzgojne površine i dosta radne snage, a i broj enzima iz biljaka je ograničen. Enzimi animalnog porijekla dobivaju se iz žlijezda životinja, koje samoj životinji služe i za druge svrhe (iz gušterače se dobiva inzulin), njihova količina je ograničena, a postavlja se i zdravstveni problem; mogućnost prijenosa nekih bolesti životinja na ljude. Mikroorganizmi kao izvori za dobivanje enzima imaju mnoge prednosti, a najvažnije među njima su:

- a) proizvodnja je brza, a izvori dobave gotovo neograničeni,
- b) proizvodnja je relativno jeftina s obzirom na kultivaciju mikroorganizama i pročišćavanje enzima,
- c) količina dobivenih enzima može se povećati selekcijom soja, uvođenjem mutanata i poboljšanjem uvjeta uzgoja.

Prvi korak kod industrijske proizvodnje mikrobnih enzima je selekcija podesnog soja, a osim toga mikroorganizam mora zadovoljavati i sljedeće zahtjeve:

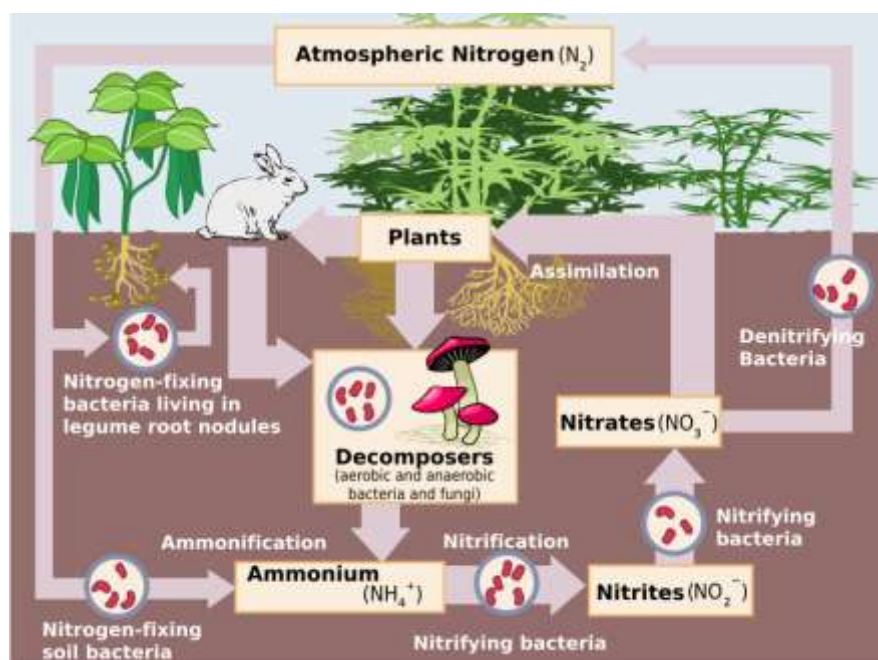
- a) ne smije biti patogen,
- b) ne smije proizvoditi produkte koji bi mogli biti toksični u primjeni enzima,
- c) mora biti ekološki stabilan, ne smije biti sklon promjenama osobina i degradaciji (Belitz i Grosch, 1999; Tucker i Woods, 2012).

### 1.5.3. Spojevi s dušikom

Spojevi koji u svom sastavu sadrže dušik nalazimo i u raznim vrstama voća i povrća. U takve spojeve s dušikom, prisutne u voću i povrću, ubrajamo: slobodne aminokiseline, nitrate, amine, nitrite i N-nitrozospojeve (nitrozamini i nitrozamidi). Prisustvo nitrita i N-nitrozospojeva nije poželjno u namirnicama namijenjenim prehrani najviše zbog svojstava koje pokazuju, a to su kancerogenost, kokancerogenost i toksičnost. Može se općenito reći da su nitriti i N-nitrozospojevi kontaminati odnosno da nisu normalno prisutni u hrani. Za te spojeve točno su propisane razine prihvatljivog dnevnog unosa, odnosno vrijednosti koje se mogu unositi u organizam bez štetnih posljedica na zdravlje ljudi (Hill, 1991).

#### 1.5.3.1. Nitrati

Nitrati su prisutni u tlu, vodi i biljkama i to kao izravna posljedica fiksacije dušika (Slika 14), primjene dušičnih gnojiva, te biološke i kemijske razgradnje raznih spojeva (Canter, 1997).



Slika 14. Kruženje i fiksacija dušika u prirodi ([http://tolweb.org/notes/?note\\_id=3920](http://tolweb.org/notes/?note_id=3920))

Dio nitrata unesenih u organizam preko gastrointestinalnog trakta apsorbira se nepromijenjen. Dio njih može se metabolizirati mikroflorom pri čemu dolazi do formiranja novih spojeva (nitrita, nitrozamina, dušikovih oksida, hidroksilamina ili amonijaka) i to ovisno o vrsti prisutnih mikroorganizmima i pH okoline (Wilson i sur., 1999).

Namirnice namijenjene prehrani s obzirom na udio nitrata koje sadrže dijelimo na:

- a) namirnice s visokim sadržajem nitrata – od 1000-4000 mg/kg,
- b) namirnice sa srednjim sadržajem nitrata – od 500-1000 mg/kg,
- c) namirnice s niskim sadržajem nitrata - manje od 500 mg/kg (Watson i Preedy, 2010).

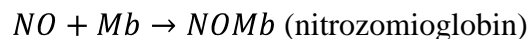
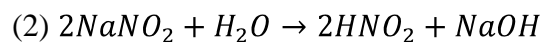
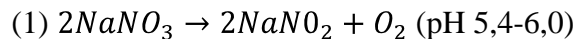
Većina zemalja odredila je najveću dozvoljenu količinu nitrata u nekoj namirnici i to u količini od maksimalno 4000 mg/kg originalnog uzorka. Od namirnica u svakodnevnoj prehrani, na povrće otpada 75-80 % od dnevnog unosa nitrata što može predstavljati i ozbiljnije probleme za vegetarijance, odnosno ljude čija se prehrana u osnovi bazira isključivo na unosu biljnih organizama. Nitrati su normalno sadržani u svim dijelovima biljnog organizma, no ipak pojedine biljne vrste sklonije su njihovoj akumulaciji. Primjeri takvih biljnih vrsta su lisnato povrće (blitva, špinat), ali i neke druge vrste poput cikla (Tablica 11). U konzumaciji takvog povrća treba biti vrlo oprezan s obzirom na dozvoljeni unos nitrata. Naime, cikla je vrlo dobar izvor vrijednog minerala željeza, no s druge strane cikla je i biljna vrsta koja u svom plodu sadrži i najveće količine nitrata. Količina nitrata različita je i u pojedinim dijelovima biljke, tako peteljka i stabljika biljke sadržavaju veće količine nitrata od lišća i korijenja, dok ono pak sadržava veću količinu nitrata od cvjeta i ploda. Cvijet i plod sadrže najmanje količine nitrata, dok peteljke i stabljika najveće (Watson i Preedy, 2010). Općenito, prema novijim istraživanjima, dozvoljeni dnevni unos nitrata bez negativnih posljedica na zdravlje trebao bi biti u granicama od 0-25 mg  $\text{NaNO}_3/\text{kg}$  tjelesne mase (Hill, 1991; Belitz i Grosch, 1999; Council of Europe, 1993).

Tablica 11. Količina nitrata izražena kao miligrami nitrata po kilogramu originalnog uzorka u različitim vrstama namirnica

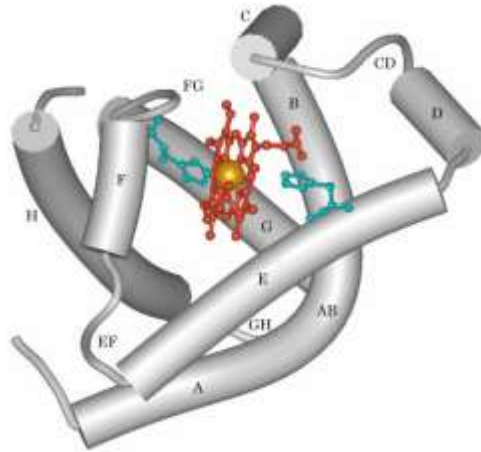
Vrsta namirnice	Količina nitrata (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /kg originalnog uzorka)
Cikla	150-5690
Špinat	349-3890
Glavata salata	382-3520
Rotkvica	261-1200
Cvjetača	62-664
Krastavac	20-300
Rajčica	10-100
Brašno, kruh, pecivo	~ 20
Mlijeko	~ 1
Voće (osim banana)	~ 10

### 1.5.3.2. Nitriti

Nitrite ne nalazimo u svježim namirnicama, osim ako se ne radi o kontaminaciji hrane. Dakle, nitriti se prehrambenim namirnicama dodaju namjerno i to najčešće onima animalnog porijekla najviše zbog pojačavanja organoleptičkih svojstava hrane (kao na primjer u postupku salamurenja). U ljudskom tijelu nastaju kao produkt enzimske redukcije nitrata u probavnoj mikroflori. Spomenuta konverzija nitrata u nitrite djelovanjem mikroba prisutna je i tijekom skladištenja povrća osobito pri sobnoj temperaturi (Hill, 1991; Council of Europe, 1993).



Vezanjem dušikovog monoksida (NO) za željezo ( $\text{Fe}^{2+}$ ) u hemu porfirinskog prstena mioglobina (Slika 15) nastaje nitrozomioglobin (Kent, 2000; Pavlinić Prokurica i sur., 2010) koji kuhanjem, ali i tijekom dužeg skladištenja, prelazi u termostabilni nitrozomiokromogen, odgovoran za poželjnu svijetlocrvenu boju konačnog proizvoda (Campbell i Farrell, 2009).



Slika 15. Model molekule mioglobina

([https://www.pmf.unizg.hr/\\_download/repository/5%29-s5-hemoglobin\\_i\\_enzimi\\_%28uvod%29.pdf](https://www.pmf.unizg.hr/_download/repository/5%29-s5-hemoglobin_i_enzimi_%28uvod%29.pdf))

Nitriti se najviše primjenjuju pronalaze kao konzervansi; dodaju se u procesu konzerviranja u obliku natrijevog nitrita ( $\text{NaNO}_2$ , E250) i kalijevog nitrita ( $\text{KNO}_2$ , E249). Izgledom su žućkasti kristali koji se dobro tope u vodi. Osnovni cilj dodavanja nitrita kao konzervansa hrani je njegoova sposobnost inhibicije rasta anaerobnih bakterija i stvaranja toksina utjecajem bakterije *Clostridium botulinum*, održavanje lijepe crvene boje mesa, stabilizacija arome skladištenog mesa sprječavajući nastanak nepoželjnih produkata oksidacije (specifično potamnivanje mesa uslijed oksidacije hemoglobina) (Belitz i Grosch, 1999; International Food Information Service, 2009).

### 1.5.3.3. Amini

Amini su u relativno velikim količinama prisutni u namirnicama i biljnog (dimetilamin, dietilamin, metiletilamin) i animalnog porijekla (kadaverin, putrescin, poliamin). Tako su na primjer u povrtnim kulturama, iz skupine amina najviše zastupljeni: histamin, N-acetilhistamin, N,N-dimetilhistamin (špinat), triptamin, serotonin, tiramin (rajčica) (Belitz i Grosch, 1999). Amini kao zasebni spojevi ne utječu štetno na ljudski organizam i ne smatraju se kontaminatima hrane, no ako u organizam istodobno unosimo veće količine nitrata koji se reduciraju do nitrita nastaju spojevi koji su kancerogeni, a koje općenito nazivamo N-nitrozospojevi (nitrozamini, nitrozamidi) (Hayes, 2008). Mehanizam nastanka kancerogenih nitrozamina nazivamo još i nitroziniranje koje se odvija u nekoliko osnovnih koraka:

(I) nastajanje nitritne kiseline ( $\text{HNO}_2$ ) u reakciji nitrita i neke jače kiseline kao na primjer natrijevog nitrita ( $\text{NaNO}_2$ ) i klorovodične kiseline ( $\text{HCl}$ ) ili sumporne kiseline ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

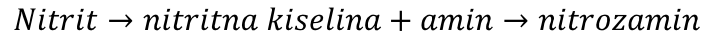
(II) pregradnja u nitrozonijev kation ( $\text{NO}^+$ ) koji djeluje kao reagens za nitroziniranje (Belitz i Grosch, 1999).

U ljudskom organizmu, kisela sredina želuca još dodatno podržava nitrozaciju sekundarnih i tercijarnih amina uz nastanak kancerogenih nitrozamina. Postoje vrlo učinkoviti inhibitori reakcije nitroziniranja kao što je to askorbinska kiselina (vitamin C) ili tokoferol (vitamin E).

Amini su spojevi koji su često prisutni u konzervama tako su one i potencijalni izvori N-nitrozospojeva (nitrozamini). Preporuča se da prosječni dnevni unos nitrozirajućih amina hranom bude u rasponu od 200-250 mg (Belitz i Grosch, 1999).

#### 1.5.3.4. N-nitrozospojevi

U N-nitrozospojeve ubrajamo nitrozamine i nitrozamide koji kao što je već opisano u poglavlju 2.5.3.3. nastaju reakcijom nitroziranja prema općenitoj kemijskoj reakciji (Belitz i Grosch, 1999; Kent, 2000):



S obzirom na način, odnosno mjesto nastajanja, razlikujemo egzogene nitrozamine i nitrozamide i endogene nitrozamine i nitrozamide. Egzogeni N-nitrozospojevi nastaju u namirnicama tijekom tehnološkog procesa proizvodnje (najčešće u prženim i dimljenim proizvodima od mesa i ribe), dok endogeni nastaju u gastrointestinalnom traktu nakon ingestije prekursora podložnih nitrozaciji (sekundarni i tercijarni amini i amidi). Treba naglasiti da se kao potencijalni prekursori N-nitrozospojeva često spominje čak 41 vrsta lijekova (aminopirini) i pesticida, te oko 22 vrste supstanci prirodno prisutnih u namirnicama koje svakodnevno konzumiramo (Tablica 12). Zanimljivo je i da kod raznih infekcija raste koncentracija hlapljivih N-nitrozospojeva u organizmu što u konačnici može rezultirati raznim mutacijama genetskog materijala (Maga i Tu, 1995; Vermeer i sur., 1998; Belitz i Grosch, 1999).

Tablica 12. Prekursori nitrozamina endogenog porijekla

(<https://www.yumpu.com/hr/document/view/25181369/prekursori-nitrozamina-pbf/13>)

Prekursor	Vrsta hrane	Formirani nitrozoamin
Kreatin, kreatinin	Meso, mesne preradevine, mlijeko, povrće	NSA
Trimetilamin oksid	Riba	DMN
Trimetilamin	Riba	DMN
Dimetilamin	Riba, meso, mesne preradevine, sir,	DMN
Dietilamin	Sir	DEN
Sarkozin	Meso, mesne preradevine, riba	NSA
Kolin, lecitin	Jaja, meso, mesne preradevina, soja, kukuruz	DMN
Prolin, hidroksiprolin	Meso, mesne preradevine	Npro, Npyr
Pirolidin	Meso, mesne preradevine, paprika	Npyr
Piperidin	Meso, mesne preradevine, sir, papar	Npip



Metilguanin	Govedina, riba	MNC
Citrulin	Meso, mesne prerađevine, povrće	NCit
Karnitin	Meso, mesne prerađevine	DMN
Dipropilamin	Sir	DPN
Dibutilamin	Sir	DBN

NSA- nitrozosarkozin; DMN- dimetilnitrozamin; DEN- dietilnitrozamin; Npro- nitrozoprolin; Npyr- nitrozopiperolidin; Npip- nitrozopiperidin; MNC- metilnitrozocijanamid; NCit- nitrozocitrulin; DPN- di-*N*-propilnitrozamin; DBN- di-*N*-butilnitrozamin

Brzina procesa nitroziranja i količina nastalih endogenih i egzogenih nitrozamina ovisna je o nekoliko faktora:

- 1) koncentraciji nitrita,
- 2) koncentraciji amina,
- 3) pH (niži pH brže nitroziranje),
- 4) temperaturi (viša temperatura- brže nitroziranje),
- 5) vremenu kontakta prekursora,
- 6) katalizatorima (Pavlinić Prokurica i sur., 2010).

Istraživanja su potvrdila niz spojeva koji djeluju kao katalizatori reakcije nitroziranja, a to su: diolni spojevi, tiocijanat, karbonilni spojevi, halogenidi, klorogenska kiselina, rodanin, vitamin B<sub>6</sub> i ortodifenoli. Također spojevi koji su se pokazali iznimno učinkoviti kao inhibitori navedene reakcije su: slobodne aminokiseline, primarni amini, peptidi,  $\alpha$ -tokoferoli, spojevi sa SH- skupinom, sorbinska kiselina, tanini, fenoli i askorbinska kiselina. Dakle, općenito učinkoviti inhibitori nitroziranja su sve supstance koje s nitritima reagiraju brže nego sekundarni amini (pojam kompetitivnog nitroziranja). Jedan od takvih spojeva je i askorbinska kiselina koja u molarnom odnosu s nitratima u organizmu u omjeru 2:1 pokazuje čak 100%-tnu inhibiciju nitroziranja, te stoga liječnici preporučuju da se tijekom uzimanja lijekova u organizam unose i veće količine askorbinske kiseline (Pavlinić Prokurica i sur., 2010).

Preko 80 % nitrozospojeva pokazuje mutageno djelovanje nakon metaboličkog aktiviranja (kokancerogene supstance). Naime, osnovna razlika između nitrozamina i nitrozamida u njihovom kancerogenom djelovanju je ta da su nitrozamini kancerogeni nakon metaboličke aktivacije (kokancerogeni spojevi) dok su nitrozamidi kancerogeni u svom ishodnom obliku, odnosno nije im potrebna metabolička aktivacija. Kao

najpatogeniji kancerogeni za ljudski organizam smatraju se i neki lako hlapljivi N-nitrozospojevi u hrani kao što su: N-nitrozodimetilamin (NDMA), N-nitrozodietilamin (NDEA), N-nitrozopirolidin (NPYR), N-nitrozopiperidin (NPIP) (Maga i Tu, 1995). Kod spojeva koji imaju kancerogeno djelovanje na naš organizam vrlo je važna njihova količina u pojedinim namirnicama koje konzumiramo kao i prosječno dnevno opterećenje organizma takvim spojevima (Pavlinić Prokurica i sur., 2010). Tako prosječno dnevno opterećenje organizma egzogenim nitrozaminima bez štetnih posljedica može biti u količini od 0,5 µg po danu. Utvrđena je i letalna doza N-nitrozospojeva za čovjeka i ona iznosi 20-25 µg/kg tjelesne mase. Također, vrlo značajan utjecaj na količinu nitrozamina u hrani ima i njeno procesiranje. Utvrđeno je da se nakon toplinskog procesiranja hrane koji uključuje prženje, pečenje i td. količina nitrozopirolidina (NPyr) povećava za deset puta (s količine od 1,5 µg/kg na 15,4 µg/kg hrane). Zanimljiv primjer povećanja količine nitrata, a time i mogućih neželjenih N-nitrozospojeva je i višestruko prokuhavanje juhe od povrća. Kuhanjem se općenito smanjuje razina nitrata u samom povrću zbog njihovog ispiranja u vodu za kuhanje. Tijekom skladištenja pojedinih vrsta povrća na sobnoj temperaturi zabilježen je pad razine nitrata već od trećeg dana skladištenja dok istovremeno razina nitrita raste. Skladištenje proizvoda u hladnjačama (pri temperaturi od oko 5±1°C tijekom 7 dana) nije utjecalo na količinu nitrata i/ili nitrita u povrću. Smjese začina poput crvene paprike i papra u salamurama oslobađaju amine koji se vežu s 0,98 % nitrita u štetne nitrozamine (Tablica 13).

Tablica 13. Količina različitih vrsta nitrozamina u pojedinoj vrsti hrane

Vrsta hrane	Koncentracija (ppb)
Slanina (sirova)	0
Slanina (pržena)	1-108
Slanina (otopljena mast)	10-108
Salama	1-4
Losos (sirov)	0
Losos (dimljeni)	0-5
Soljena morska riba	50-300
Sir	1-4

## 1.6. VITAMINI

Vitamini su složene organske tvari koje su nužno potrebne za normalno funkcioniranje ljudskog organizma, djeluju povoljno na rast kao i na pravilan rad cijelog organizma, pomažu u borbi protiv bolesti i pomažu pravilnom iskorištavanju hranjivih sastojaka iz hrane. Vitamini su esencijalne tvari i većinu ljudski organizam ne može sintetizirati. Za održavanje normalnih funkcija organizma vitamini su potrebni u malim količinama, no ipak, nedovoljna zastupljenost vitamina u prehrani (hipovitaminoza) kao i suvišak nekog vitamina (hipervitaminoza) može izazvati poremećaje u organizmu. Nedostatak vitamina (avitaminoza) može uzrokovati i niz kroničnih bolesti poput skorbuta (nedostatak vitamina C), beri-beri (nedostatak vitamina B<sub>1</sub>), rahitisa (nedostatak vitamina D), pelagre (nedostatak vitamina B<sub>3</sub>) i sl. (Belitz i Grosch, 1999; Caballero, 2013; Dunford i Doyle, 2014; Chiras, 2015).

Vitamine prvenstveno dijelimo prema njihovom svojstvu topljivosti i to na:

(a) vitamine topljive u mastima: vitamin A (retinol), vitamin D (kalciferol), vitamin E (tokoferol) i vitamin K (filokinon),

(b) vitamine topljive u vodi: vitamin C (askorbinska kiselina), vitamin B<sub>1</sub> (tiamin), vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin), vitamin B<sub>3</sub> (niacin), vitamin B<sub>5</sub> (pantotenska kiselina), vitamin B<sub>6</sub> (piridoksin), vitamin B<sub>9</sub> (folna kiselina), vitamin B<sub>12</sub> (kolabamin) i vitamin H (biotin) (Belitz i Grosch, 1999).

Vitamini kao spojevi pokazuju niz karakteristika koje utječu i na potrebu unosa pojedinih vitamina u naš organizam:

a) *multipli oblici vitamina*, u biološkim sustavima mali broj vitamina aktivan je bez konverzije u druge, metabolički aktivne forme i/ili vezanja na proteine. Neki od vitamina se u namirnicama pojavljuju u više različitih formi od kojih sve ili samo neke mogu konvertirati u metabolički aktivne forme;

b) *stabilnost vitamina*, u prirodnim formama pokazuju nestabilnost, a količina vitamina u namirnicama može značajno varirati ovisno o uvjetima proizvodnje, skladištenju i tehnološkim procesima obrade. Općenito, vitamini topljivi u mastima nestabilniji su na oksidaciju, podložniji su razgradnji pri visokim temperaturama, utjecaju kisika, UV svjetla, metalnih iona. Tako je u vitaminskim pripravcima potrebno koristiti

antioksidanse ili stabilnije forme vitamina (A i E vitamin u obliku estera). Vitamini topljivi u vodi su pak stabilniji prema vanjskim faktorima uz iznimke vitamina B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> i B<sub>12</sub> koji se brzo razgrađuju pod utjecajem svjetla i vitamina B<sub>1</sub> koji je osjetljiv na slabo alkalne uvjete;

c) *apsorpcija vitamina – bioiskoristivost*, razlikujemo dva tipa deficita (hipovitaminoze) vitamina i to, primarni i sekundarni deficit. Glavna razlika ova dva tipa deficita vitamina je to što se kod sekundarnog deficita u organizam unose dovoljne količine vitamina no zbog lošeg fiziološkog statusa organizma dolazi do njihove slabe digestije ili apsorpcije u pojedina tkiva. Isto tako, kao važan faktor bioiskoristivosti vitamina je i njihova ekskrecija. Vitamini topljivi u mastima koji imaju tendenciju duljeg zadržavanja u hidrofobnom okruženju uglavnom se izlučuju fecesom (izuzetak vitamini A i E koji imaju neke hidrofilne metabolite koji se izlučuju urinom), dok se vitamini topljivi u vodi većim dijelom izlučuju urinom. Jedna od glavnih i najvažnijih prevencija deficita vitamina je pravilna prehrana;

d) *transport vitamina*, transport vitamina topljivih u mastima u hidrofobnom transportnom mediju plazme i limfe ovisi o nositeljima koji su topljivi u tom mediju, pa se prijenos do jetre vrši putem hilomikrona, a iz jetre do perifernih organa pomoću specifičnih proteina nositelja (vitamini A i D). Transport vitamina topljivih u vodi vrši se putem nespecifičnih nositelja (albumini, imunoglobulini) koji su slobodno prisutni u plazmi i to u uvjetima niske koncentracije aktivnim prijenosom ili u uvjetima visoke koncentracije pasivnom difuzijom;

e) *distribucija vitamina u tkivima*, distribucija i deponiranje vitamina u tkivima ovisna je o kemijsko-fizikalnim svojstvima vitamina i tkiva u koje se distribuiraju. Vitamini topljivi u mastima zadržavaju se duže i stvaraju rezerve u masnim tkivima i jetri. Posljedica takvog deponiranja može biti da organizam ne reagira na povremena kratkotrajna smanjenja unosa ovih vitamina simptomima deficita. Vitamini topljivi u vodi relativno brzo se izlučuju i slabo zadržavaju u tkivima (rezerve 2 do 6 tjedna). Iznimka je vitamin B<sub>12</sub> koji se akumulira u jetri u količinama dovoljnim za prehrambene potrebe organizma kroz duže vrijeme (čak 3 do 5 godina);

f) *moćnost biosinteze nekih vitamina*, vitamini su esencijalne tvari i ljudski ih organizam ne može samostalno sintetizirati, no postoje i neki izuzeci. Vitamin B<sub>3</sub> (niacin)

i vitamin D su uvjetni vitamini (djelomični vitamini) jer ih organizam može djelomično samostalno može sintetizirati. Vitamin K, na primjer, je pseudovitamin jer će se u ljudskom organizmu sintetizirati samostalno, ali samo uz prisutnost odgovarajuće crijevne mikroflore. Naime, kod novorođenčadi često može doći do pomanjkanja vitamina K upravo zato što se sintetizira pomoću odgovarajuće mikroflore u crijevima čovjeka, a s obzirom da tek rođena djeca još uvijek nemaju razvijenu spomenutu mikrofloru dolazi do nedostatka tog vitamina. Vrlo često se odmah po rođenju djeteta, vitamin K unosi u organizam kako ne bi došlo do ozbiljnijih komplikacija uslijed nedostatka navedenog vitamina, smanjeno zgrušavanje krvi i krvarenja (Combs, 2008; Dunford i Doyle, 2014; Insel i sur., 2014).

U ljudskom organizmu vrlo je česta pojava deficita vitamina (bilo primarnog ili sekundarnog) što se vrlo učinkovito može prevenirati pravilnom prehranom i urednim načinom života. U svakodnevnom životu nailazimo na niz faktora koji značajno utječu na vitaminski status organizma. Između ostalih to je i nikotin iz duhanskog dima, konzumacija alkohola ili specifični način prehrane. Općenito, pušači imaju znatno lošiji status brojnih mikronutrijenata u odnosu na nepušače (niže vrijednosti  $\beta$ -karotena, vitamina E), a s time vezano i veće potrebe za unos vitamina C i drugih vitamina u funkciji antioksidansa. Deficitu vitamina u organizmu izrazito pridonosi i dijetalna prehrana i to posebno ona koja izbacuje ili ograničava korištenje cijele kategorije hrane, na primjer dijete bez namirnica animalnog porijekla uzrokuju deficit vitamina B<sub>12</sub> i vitamina D što je izrazito opasno kod organizama u intenzivnom razvoju (pubertetska dob). Oralni kontraceptivi i lijekovi, faktori su koji uvelike utječu na porast deficita vitamina u ljudskom organizmu, zato njihova uporaba mora biti strogo kontrolirana i prilagođena svakom organizmu ponaosob. Redovitim korištenjem kontraceptiva i lijekova u krvi se značajno smanjuju koncentracija  $\beta$ -karotena i folata, a time i znatno povećavaju potrebe organizma za vitaminima B<sub>6</sub> i C. Alkohol, kao i pušenje, mijenja metabolizam većine vitamina, a posebno vitamina D. Između ostalog, redovnom konzumacijom alkohola u krvi se smanjuju koncentracije folata, vitamina B<sub>1</sub> i B<sub>6</sub>,  $\beta$ -karotena, te se smanjuju rezerve vitamina A u jetri. Vrlo važan faktor deficita vitamina su dob i posebna stanja organizma (trudnoća, laktacija, bolest). Tako je na primjer u organizmu nedonoščadi prisutna niska vrijednost C vitamina, povećana je sklonost

deficitu vitamina E i ostalih vitamina topljivih u mastima, povećan je deficit folne kiseline i vitamina B<sub>6</sub>, te je potrebna suplementacija vitamina. Kod adolescenata zbog ubrzanog rasta povećane su potrebe svih nutrijenata koje ne mogu biti zadovoljene uobičajenom prehranom (posebno povećane potrebe folata i vitamina A). Starije osobe čine pak veliku populaciju s visokim rizikom neadekvatne prehrane kod koje je izrazito naglašen loš status vitamina C, B<sub>6</sub>, E i D. Kao posebno stanje organizma, a time i veće potrebe vitamina imaju i trudnice kod kojih je općenito prisutna povećana potreba svih nutrijenata, a posebno folata. Možemo zaključiti da preporučeni dnevni unos vitamina, odnosno propisana RDA vrijednost vitamina, ovisi o nizu faktora (svi navedeni), te da svaki ljudski organizam treba promatrati u tom slučaju kao zasebnu jedinku, a potrebe organizma za unosom pojedinih vitamina prilagoditi općem stanju tog organizma (Tablica 14) (Combs, 2008; Higdon i Drake, 2012; Dunford i Doyle, 2014; Insel i sur., 2014).

Tablica 14. Prosječne dnevne potrebe unosa pojedinih vitamina ovisno o spolu i dobi organizma (Combs, 2008; Higdon i Drake, 2012)

<b>VITAMINI</b>										
	<b>A</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>K</b>	<b>C</b>	<b>B<sub>1</sub></b>	<b>B<sub>2</sub></b>	<b>B<sub>3</sub></b>	<b>B<sub>6</sub></b>	<b>folati</b>
	µg	µg	mg	µg	mg	mg	mg	mg	mg	µg
muškarci	1000	10	10	45	50	1,3	1,5	17	1,7	15
11 – 14 g	1000	10	10	65	60	1,5	1,8	20	2,0	200
15 – 18 g	1000	10	10	70	60	1,5	1,7	19	2,0	200
19 – 24 g	1000	5	10	80	60	1,5	1,7	19	2,0	200
25 – 50 g	1000	5	10	80	60	1,2	1,4	19	2,0	200
51 + g	1000	10	10	45	50	1,3	1,5	17	1,7	15
žene	800	10	8	45	50	1,1	1,3	15	1,4	150
11 – 14 g	800	10	8	55	60	1,1	1,3	15	1,5	180
15 – 18 g	800	10	8	60	60	1,1	1,3	15	1,6	180
19 – 24 g	800	5	8	65	60	1,1	1,3	15	1,6	180
25 – 50 g	800	5	8	65	60	1,0	1,2	13	1,6	180
51 + g	800	10	8	45	50	1,1	1,3	15	1,4	150

Zbog usporedbe biološkog djelovanja vitamina kao mjera aktivnosti uvedena je internacionalna jedinica (IJ). Ta je količina ekvivalentna 0,0003 mg vitamina A ili 0,05 mg vitamina C. Dogovorene internacionalne jedinice se sve više napuštaju i zamjenjuju stvarnim količinama prema međunarodnom sustavu (SI), a to su: miligrami (mg) i mikrogrami ( $\mu\text{g}$ ) (Wiseman, 2002).

Osim spomenutog problema smanjenog unosa vitamina (deficit) u ljudski organizam, mogu se pojaviti i rizici zdravlja uzrokovani prevelikim unosom vitamina u organizam (hipervitaminoza). U slučaju povećanog unosa vitamina u organizam može doći do pojave njihovog toksičnog djelovanja koja u nekim ekstremnim slučajevima može završiti smrću. Tako se s obzirom na toksičnost vitamini dijele u nekoliko skupina:

- 1) najveći potencijal toksičnosti - vitamin A i vitamin D,
  - 2) umjerena toksičnost – B<sub>3</sub>,
  - 3) niski potencijal toksičnosti - vitamin E, C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>,
  - 4) neznatna toksičnost - vitamin K, B<sub>5</sub>, H, B<sub>9</sub> i vitamin B<sub>12</sub>
- (Combs, 2008).

## **1.6.1. Osnovne skupine i karakteristična svojstva vitamina**

### *1.6.1.1. Vitamin A*

Vitamin A je zajednički naziv za spojeve s biološkom aktivnošću retinola. Pripada skupini vitamina topljivih u mastima. Vitamin A je rasprostranjen i u namirnicama biljnog i animalnog porijekla. Vitamin A nazivamo još i vitaminom rasta i razvoja tkiva, neophodan je za normalan vid, za zdravlje kože i sluznice. Zanimljivo je da ljudski organizam, ovisno o svojim potrebama,  $\beta$ -karoten pretvara u vitamin A koji onda koristi za brojne metaboličke funkcije. Glavne metaboličke funkcije vitamina A u ljudskom organizmu su: diferencijacija i rast epitelnih stanica i rast organizma općenito, uključuje

se u ciklus vida, podupire reproduktivni sustav (rast fetusa i funkcija testisa). Jedan od najpoznatijih simptoma deficita vitamina A je pojava bolesti „noćno sljepilo“ (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012; Dunford i Doyle, 2014).

Unos vitamina A prehranom u najvećoj mjeri ovisi o odnosu unosa prehrambenih namirnica bogatih vitaminom A animalnog porijekla i namirnica biljnog porijekla bogatih pro-vitaminom A ( $\beta$ -karoten). Namirnice bogate vitaminom A i  $\beta$ -karotenom su: zeleno i žuto povrće i voće (mrkva, špinat, kelj, naranča, marelica), animalna jetra (retinoidi), masne ribe, ulje jetre morskog psa, jaja, obogaćeni proizvodi (margarin). U namirnice koje su siromašne sadržajem vitamina A ubrajamo: biljna ulja, svinjsku mast, bijeli kukuruz, žitarice, govedinu, leguminoze. Karoteni iz povrća izvor su dvije trećine vitamina A unesenog hranom, a u zemljama u razvoju čak 80 %. Skladištenje i obrada hrane ovisno o uvjetima u kojima se odvija može dovesti do znatnog smanjenja sadržaja vitamina A u prehrambenoj namirnici (Gropper i sur., 2009; Higdon i Drake, 2012; Caballero, 2013).

Glavno skladište vitamina A u ljudskom organizmu je jetra u kojoj je pohranjeno čak 90 % svih rezervi vitamina A. Glavni uzroci deficita vitamina A su kronična konzumacija hrane siromašne vitaminom A, razdoblja dugotrajnog gladovanja i pomanjkanje lipida u tijelu. Veliki je rizik i od prekomjernog unosa vitamina, a posebno pojedinih, između ostalog i vitamina A. Naime, hipervitaminoza vitamina A podrazumijeva stalno predoziranje organizma, odnosno uzimanje doza čak tisuću puta većih od preporučene (RDA vrijednosti) čime se prijelazi kapacitet jetre za deponiranjem vitamina A, te se katabolizira retinol što u konačnici ima toksični učinak (trovanje). Posebno osjetljiva skupina na prekomjerni unos vitamina A su trudnice i djeca kod kojih uslijed prevelikog unosa može doći do težih neuroloških simptoma i oštećenja vida (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012; Insel i sur., 2014).



Tablica 15. Preporučeni dnevni unos vitamina A u organizam (RDA vrijednosti) (Combs, 2008; Higdon, 2012)

	VITAMIN A ( $\mu\text{g}$ )
Muškarci	1000
Žene	800
Dojenčad (0-1 godina)	375
Djeca (1-10 godina)	400-700

#### 1.6.1.2. Vitamini B-kompleksa

Skupina vitamina B-kompleksa obuhvaća veći broj vitamina no među njima najvažniji za zdravlje ljudi su: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub> i B<sub>12</sub>.

Vitamin B<sub>1</sub> (tiamin) široko je rasprostranjen u namirnicama biljnog i animalnog porijekla, ali u relativno niskim koncentracijama. U ljudskom organizmu ne može se izravno apsorbirati već se prvo mora razgraditi u oblik koji onda organizam može usvojiti. U organizmu se tiamin ne pohranjuje u većim količinama već do njegovog eventualnog skladištenja dolazi samo u slučaju povećane dopreme u organizam. Najveće koncentracije tiamina prisutne su u srcu (0,28- 0,79 mg/100 g), bubregu, jetri i mozgu, te su ti organi i najviše pogođeni u slučaju njegova deficita. Teško je odrediti minimum i optimum potrebnog unosa tiamina u organizam jer on uvelike ovisi o tipu hrane koja se konzumira. Tako na primjer, ako je u hrani prisutan povećan sadržaj ugljikohidrata, u organizmu se javlja i veća potreba unosa tiamina. Preporučeni dnevni unos tiamina ne bi trebao prelaziti granicu od 0,5 mg/1000 kcal (Tablica 16) (Food and Nutrition Board, 1998). Nedovoljnim unosom tiamina u organizam razvija se bolest poznata pod nazivom beri-beri (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Higdon i Drake, 2012).

Tablica 16. Preporučene dnevne potrebe unosa tiamina (mg) ovisno o spolu i dobi (Combs, 2008; Higdon i Drake, 2012)

<b>VITAMIN B<sub>1</sub></b>	
djeca	
0 – 0,5 g	0,3
0,5 - 1 g	0,4
1 - 3 g	0,7
4 - 6 g	0,9
7 - 10 g	1,0
dječaci	
11 – 14 g	1,3
15 – 18 g	1,5
djevojčice	
11 – 14 g	1,1
15 – 18 g	1,0
muškarci	
19 – 50 g	1,5
50 + g	1,2
žene	
19 – 50 g	1,1
50 + g	1,0

U namirnice bogatog sadržaja vitamina B<sub>1</sub> ubrajamo: suhi pivski kvasac, suhi pekarski kvasac, svinjsko meso (osobito jetra), žitne klice, cjelovite žitarice i njihovi produkti, orasi, suhe mahunarke, i dr. (Tablica 17) (Gropper i sur., 2009).

Tablica 17. Udio vitamina B<sub>2</sub> izražen u mg/100 g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Vitamin B <sub>2</sub>
Jabuka	0,01
Jagoda	0,07
Brokula	0,20
Krumpir	0,04
Riža	0,01
Pšenica (puno zrno)	0,11
Jetra	3,50
Meso	0,19
Riba	0,09-0,26
Kvasac	5,40
Mlijeko	0,17
Jaja	0,30

Toplinska obrada hrane uvelike utječe na gubitak tiamina u namirnicama što je prikazano u Tablici 18 (Arthey i Ashurst, 1995; Gropper i sur., 2009).

Tablica 18. Gubitak tiamina izražen u postocima ovisno o tipu obrade različitih vrsta namirnica

<b>Tip obrade namirnice</b>	<b>Namirnica</b>	<b>Gubitak (%)</b>
Konvencionalno kuhanje	meso	25-85
Pečenje	kruh	5-35
Zagrijavanje u vodi	povrće	0-60
Pasterizacija	mlijeko	9-20
Sušenje raspršivanjem	mlijeko	~ 10
Konzerviranje	mlijeko	~ 40
Čuvanje na sobnoj temperaturi	voće, povrće	0-20

Jedna od najvažnijih uloga riboflavina, vitamina B<sub>2</sub>, u ljudskom organizmu je što sudjeluje u procesu staničnog disanja. Relativno je termo stabilan što je ponajviše važno kod toplinske obrade hrane, no izrazito je nestabilan na svjetlu što je pak važno kod duljeg skladištenja hrane (namirnice bogate riboflavinom uputno je držati na tamnom mjestu i ne direktno izlagati svjetlosti) (Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012). Riboflavin je široko rasprostranjen u hrani, a najviše ga ima u mliječnim proizvodima, svježem povrću, jetri i cjelovitim žitaricama. Bioiskrotivost vitamina B<sub>2</sub> najviše ovisi o porijeklu hrane, a sama apsorpcija je bolja iz namirnica animalnog porijekla. Preporučene RDA vrijednosti unosa riboflavina ovise najviše o dobi, a kreću se u rasponu za djecu od 0,4 do 1,2 mg, adolescente od 1,3 do 1,8 mg i odrasle osobe od 1,2 do 1,7mg. Povećane potrebe za unosom ovog vitamina prisutne su kod trudnica, dojilja, većih fizičkih napora i sportske aktivnosti. Također, s obzirom da vitamin B<sub>2</sub> sudjeluje u metabolizmu masti, u ljudskom organizmu se javljaju i veće potrebe njegova unosa u slučaju većih količina masti u organizmu. Neki pak ugljikohidrati, kao na primjer dekstrin snižavaju potrebu organizma za riboflavinom prvenstveno zato jer djeluju na crijevne bakterije koje stimuliraju veću proizvodnju tog vitamina (Food and Nutrition Board, 1998; Combs, 2008).

Vitamin B<sub>3</sub> (niacin) može se djelomično sintetizirati u našem organizmu iz aminokiseline triptofana i to ako se ona u dovoljnim količinama unosi u organizam.

Potreba organizma za unosom vitamina B<sub>3</sub> ovisi o količinama unosa proteina (odnosno triptofana). RDA vrijednost za unos vitamina B<sub>3</sub> iznosi oko 19 mg za odraslu osobu (Tablica 19) (Food and Nutrition Board, 1998). Kao glavna posljedica dužeg nedostatka niacina u prehrani je pojava karakteristične bolesti koju zovemo pelagra (očituje se pojavom dermatitisa, dijareje i živčanih poremećaja koji dovode do demencije) (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Tablica 19. Preporučene dnevne potrebe unosa niacina (mg) ovisno o spolu i dobi

<b>VITAMIN B<sub>3</sub></b>	
djeca	
0 – 0,5 g	5
0,5 - 1 g	6
1 - 3 g	9
4 - 6 g	12
7 - 10 g	13
dječaci	
11 – 14 g	17
15 – 18 g	20
djevojčice	
11 – 14 g	15
15 – 18 g	15
muškarci	
19 – 50 g	19
50 + g	15
žene	
19 – 50 g	15
50 + g	13

Niacin je vrlo stabilan pod utjecajem visokih temperatura i svjetla što je vrlo značajno za obradu i skladištenje hrane bogate ovim vitaminom. Bogati izvori slobodnog vitamina B<sub>3</sub> su jetra, piletina, kikiriki, mahunarke i žitarice (Tablica 20) (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Tablica 20. Udio vitamina B<sub>3</sub> izražen u mg/100 g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Vitamin B <sub>3</sub>
Grejp	0,20
Breskva	1,00
Špinat	0,06
Krumpir	0,06
Grašak	25,00
Riža napolirana	4,70
Riža polirana	1,80
Pšenica (cijelo zrno)	3,40-6,50
Pšenica posije	8,60-33,40
Mlijeko	0,20
Jaja	0,10
Gljive	4,20
Kvasac	50,10
Junetina	4,60
Piletina	14,70
Bakalar	2,20
Tuna	13,30

Vitamin B<sub>5</sub> ili pantotenska kiselina je vitamin topljiv u vodi, široko rasprostranjen u prirodi. Sastavni je dio koenzima A koji ima važnu ulogu u metabolizmu masti, ugljikohidrata i proteina. Mogućnost biosinteze pantotenske kiseline imaju biljni i životinjski organizmi, te mikroorganizmi. U svojoj prirodnoj formi izrazito je nestabilna. Unosom pantotenske kiseline u tijelo, ulazi u sastav koenzima A čime postaje sastavni dio gotovo svih organa ljudskog tijela. Također, ima brojne biološke funkcije u organizmu, tako sudjeluje u Krebsovom ciklusu, sintezi i oksidaciji masnih kiselina, metabolizmu aminokiselina i ketonskih tijela, sintezi kolesterola (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012). Prosječne dnevne potrebe ljudskog organizma za pantotenskom kiselinom su u rasponu od 5 do 10 mg po danu, no prvenstveno ovise o dobi organizma (Tablica 21) (Food and Nutrition Board, 1998; Caballero, 2013).

Tablica 21. Preporučene dnevne potrebe unosa pantotenske kiseline (mg) ovisno o spolu i dobi

<b>PANTOTENSKA KISELINA</b>	
0 – 1 g	4
1 - 6 g	5
7 - 12 g	6
13 – 18 g	8
Odrasli (Ž i M)	8
Trudnice	10
Laktacija	10

Hipovitaminoza pantotenske kiseline u ljudskom organizmu uz normalnu, zdravu prehranu nije opažena, a ponajviše zbog široke rasprostranjenosti i relativno visoke koncentracije u različitim vrstama namirnica (Tablica 22). Eventualni deficit pantotenske kiseline očituje se u pojavi neuromuskulatornih poremećaja (umor, depresija, nesаница i dr.) (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Tablica 22. Udio pantotenske kiseline izražen u mg/100 g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Pantotenska kiselina
Krumpir	0,3
Soja	1,7
Jabuka	0,1
Jagoda	0,3
Lješnjaci	2,8
Junetina	0,3-2,0
Svinjetina	0,4-3,1
Svinjska jetra	7,0
Pileća jetra	9,7
Riža, nepolirana	0,9
Pšenične posije	2,9
Jaja	2,9
Gljive	2,1
Pekarski kvasac	5,3-11,0
Mlijeko	0,2
Sir	0,1-0,9

Vitamin B<sub>6</sub> (piridoksin) potreban je za dobro iskorištavanje proteina, pa i dnevno potrebna količina tog vitamina ovisi o dnevnom unosu namirnica sadržajno bogatih proteinima. Također, piridoksin ima i važnu ulogu u metabolizmu masti. Piridoskin sintetiziraju više biljke i mnogi mikroorganizmi, dok čovjek i životinje nemaju mogućnost njegove biosinteze (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012). Preporučene RDA vrijednosti njegovog unosa u ljudski organizam prikazane su u Tablici 23.

Tablica 23. Preporučene dnevne potrebe unosa piridoksina (mg) ovisno o spolu i dobi (Food and Nutrition Bord, 1998; Combs, 2008)

<b>VITAMIN B<sub>6</sub></b>	
djeca	
0 – 0,5 g	0,3
0,5 - 1 g	0,6
1 - 3 g	1,0
4 - 6 g	1,1
7 - 10 g	1,4
dječaci	
11 – 14 g	1,7
15 – 18 g	2,0
djevojčice	
11 – 14 g	1,4
15 – 18 g	1,5
muškarci	
19 – 50 g	2,0
50 + g	2,0
žene	
19 – 50 g	1,6
50 + g	1,6

Namirnice koje se smatraju vrlo bogatim izvorima ovog vitamina su jetra, kvasac, mahunarke, žitne klice i mlijeko (Tablica 24). Mlijeko kao dobar izvor vitamina B<sub>6</sub> vrlo je važno u prehrani djece, no do problema dolazi prilikom njegove toplinske obrade, konkretnije sterilizacije, tijekom koje se koncentracije piridoksina izrazito smanjuje, a preostali sadržaj je tek desetina neophodne količine što u konačnici može dovesti i do

metaboličkih smetnji (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Tablica 24. Udio vitamina B<sub>6</sub> izražen u mg/100 g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Vitamin B <sub>6</sub>
Jaja	0,19
Majčino mlijeko	0,1
Mlijeko	0,04
Kamenice	0,05
Tuna	0,43
Bakalar	0,18
Piletina	0,68
Ovčetine	0,28
Riža polirana	0,17
Riža nepolirana	0,55
Pšenica (cijelo zrno)	0,29
Kikiriki	0,4
Jagoda	0,06
Breskva	0,02
Špinat	0,68
Mrkva	0,15

Vitamin B<sub>9</sub> ili popularnijeg naziva folna kiselina vrlo je rasprostranjen u biljnom i životinjskom svijetu, ali najčešće u obliku svojih derivata (poliglutamil derivati). Folati su izrazito podložni oksidaciji, lako se reduciraju pod utjecajem povišene temperature, svjetla i/ili metalnih iona, te prilikom tehnoloških procesa prerade namirnica ili prilikom skladištenja posebice u aerobnim uvjetima pokazuju izrazitu nestabilnost (Combs, 2008; Litwack, 2008). Folna kiselina odgovorna je za brojne biološke funkcije u organizmu, a posebice u procesima diferencijacije i rasta stanice embrija i fetusa. Također, sudjeluje u mnogim reakcijama metabolizma aminokiselina i nukleotida, važna je za sintezu DNA, ima značajnu ulogu i u metabolizmu živčanih stanica, a zajedno je s vitaminom B<sub>12</sub> nužna za proizvodnju novih krvnih stanica (Higdon i Drake, 2012). Dnevne potrebe zdravog ljudskog organizma za folnom kiselinom iznose od 150 do 200 µg na dan (Tablica 25), a njene zalihe u organizmu traju čak 3 do 4 mjeseca. Potrebe za folnom kiselinom značajno su povišene u trudnoći; povećavaju se gotovo 100 %, te trudnoća predstavlja kritičnu fazu glede unosa dovoljnih količina folne kiseline (Food and Nutrition Board, 1998; Combs,



2008). Manjak folne kiseline je jedan od glavnih čimbenika u nastanku defekata neuralne cijevi kod embrija (Combs, 2008).

Tablica 25. Preporučene dnevne potrebe folne kiseline ( $\mu\text{g}$ ) ovisno o spolu i dobi

<b>FOLNA KISELINA</b>	
0 – 1 g	50
1 - 12 g	100
13 – 19 g	200
Odrasli (Ž i M)	200
Trudnice	400
Laktacija	300

Deficit folne kiseline može biti uzrokovan različitim faktorima:

- A. nedovoljan unos hranom,
- B. obrada namirnica,
- C. predugi period skladištenja,
- D. deficit vitamina B<sub>12</sub> (Combs, 2008).

Bogati izvori folne kiseline su različite vrste namirnica prikazane u Tablici 26.

Tablica 26. Udio folne kiseline izražen u  $\mu\text{g}/100$  g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Folna kiselina
Rajčice	5
Soja	360
Jabuka	5
Banana	30
Junetina	5 – 18
Juneća jetra	140 – 1070
Pileća jetra	1810
Ribe	15
Riža, polirana	15
Pšenica, cijelo zrno	80
Mlijeko	5 - 12
Sir	20
Jaja	70
Pivski kvasac	1500

Vitamin B<sub>12</sub> (cijanokobalamin) vrlo je važan za pravilno iskorištavanje željeza i sazrijevanje eritrocita. U organizmu se pohranjuje u jetri. Naime, poluvrijeme razgradnje vitamina B<sub>12</sub> je relativno dugo (350-400 dana), te se on i do nekoliko godina može zadržati u organizmu kao pričuva. Preporučene dnevne potrebe ljudskog organizam ovisno o dobi i spolu prikazane su u Tablici 27. Povećane potrebe vitamina B<sub>12</sub>, kao i ostalih vitamina iz skupine B-kompleksa, izražene su u trudnoći i periodu laktacije (Food and Nutrition Board, 1998; Combs, 2008). Vitamin B<sub>12</sub> sintetizira se isključivo u animalnom tkivu. Biljke ne mogu sintetizirati vitamin B<sub>12</sub>, osim soje. S toga vegeterijanci ne podliježu problemu deficita ovog vitamina budući da im se prehrana bazira na unosu soje. Namirnice bogate vitaminom B<sub>12</sub> su: mesni proizvodi (jetra, bubreg), sir, mlijeko i mliječni proizvodi, jaja i ribe (Tablica 28) (Combs, 2008).

Tablica 27. Preporučene dnevne potrebe unosa cijanokobalamina (μg) ovisno o spolu i dobi

<b>VITAMIN B<sub>12</sub></b>	
djeca	
0 – 0,5 g	0,3
0,5 - 1 g	0,5
1 - 3 g	0,7
4 - 6 g	1,0
7 - 10 g	1,4
muškarci	
19 – 50 g	2,0
50 + g	2,0
žene	
19 – 50 g	2,0
50 + g	2,0

Tablica 28. Udio vitamina B<sub>6</sub> izražen u µg/100 g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Vitamin B <sub>6</sub>
Piletina	0,32
Junetina	3,64
Juneći bubreg	38,3
Juneća jetra	69-122
Ribe	2,8-21,2
Mlijeko	0,36
Sir	0,36-1,71
Jogurt	0,06-0,62
Jaje (cijelo)	1,26
Bjelanjak	0,09
Žutanjak	9,26

Vitamin H ili biotin je dosta rasprostranjen u prirodi, ali u vrlo niskim koncentracijama. Pripada skupini vitamina B-kompleksa, topljiv je u vodi. Većim je dijelom vezan na različite proteine, i to enzime kao na primjer biocitin. Vitamin H je izrazito podložan oksidaciji, termolabilan je, te se njegovi gubici tijekom tehnoloških procesa, konzerviranja i kuhanja uspješno mogu reducirati dodatkom antioksidansa (posebno dodatkom vitamina C i E). U ljudskom tijelu obavlja različite metaboličke funkcije od kojih među najznačajnijim: sudjeluje u metabolizmu ugljikohidrata, aminokiselina i masti, u biosintezi masnih kiselina, te pomaže u iskorištavanju proteina, folne kiseline i vitamina B<sub>12</sub> (Combs, 2008). Potrebe ljudskog organizma za unosom biotina kreću se u rasponu od 10 do 15 µg/dan za dojenčad, 20 do 100 µg/dan za djecu i adolescente, te 30 do 100 µg/dan za odrasle osobe (Food and Nutrition Board, 1998; Combs, 2008). Deficit vitamina H u ljudskom organizmu je rijetka pojava, a najčešće se javlja kao posljedica dugotrajne jednolične prehrane. Zanimljivo je da je deficit biotina primijećen kod opernih pjevača koji vrlo često za održavanje svojih glasnica konzumiraju sirova jaja i to posebno bjelanjak. Naime, u bjelanjku jajeta nalazi se kompleks s proteinom avidinom koji inaktivira vitamin H (Combs, 2008). Udio biotina u pojedinim prehranbenim namirnicama prikazan je u Tablici 29.

Tablica 29. Udio vitamina H izražen u mg/100 g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Vitamin H
Krumpir	0,1
Soja	60,0
Kruške	0,1
Banane	4,0
Lješnjaci	34
Orasi	37
Junetina	3,0
Piletina	11,0
Teleći bubreg	100

#### 1.6.1.3. Vitamin C (askorbinska kiselina)

Vitamin C je najvažniji u vodi topljiv vitamin, s glavnom funkcijom. Njegova glavna funkcija je antioksidacijsko djelovanje. On štiti lipoproteine od oksidacije hvatajući slobodne radikale. Njegova antioksidacijska svojstva očituju se u nekoliko funkcija: vitamin C direktno inaktivira slobodne radikale što je vrlo važno u prevenciji razvoja bolesti karcinoma, štiti vitamin E od razgradnje, inhibira nastajanje N-nitrozo spojeva, te toksičnih i kancerogenih nitrozamina (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

U namirnicama, točnije voću i povrću, askorbinska kiselina je stabilna samo u suhom obliku, dok je u vodenom mediju stabilna samo u odsustvu kisika, dok u suprotnom vrlo brzo dolazi do njene oksidacije. Oksidaciju i razgradnju askorbinske kiseline potiče i niz faktora: utjecaj svjetlosti, povišena temperatura, enzimi, teški metali i alkalni medij. Razlikujemo nekoliko mogućih uzročnika oksidacije askorbinske kiseline: a) *in vivo* oksidacija događa se postepenim gubljenjem jednog elektrona u molekuli askorbinske kiseline sve do L- dehidroksiaskorbinske kiseline; b) dugotrajno ili neadekvatno skladištenje namirnica utječe na oksidaciju askorbinske kiseline i to prvenstveno djelovanjem mehanizama enzimske oksidacije (peroksidazni sustav,

polifenol oksidazni sustav i oksidacija djelovanjem oksidaze askorbinske kiseline); c) mikroelementi sadržani u namirnicama katalitički ubrzavaju oksidaciju askorbinske kiseline, a može se uspješno usporiti ili spriječiti spojevima koji ione metala vežu u komplekse (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Vitamin C, osim antioksidacijskog djelovanja, pokazuje još niz različitih biokemijskih funkcija u ljudskom organizmu. Vitamin C sudjeluje u prevenciji anemije, tako što povećana apsorpciju anorganski vezanog željeza. Sudjeluje u aktivaciji enzimatskih hidrosilacija, kao na primjer u aktivaciji mirkosomalne hidrosilaze koja djeluje kao enzim jetre u metabolizmu lijekova, kancerogenih supstanci, pesticida i dr. Sudjeluje u procesu staničnog disanja, sintezi kolagena, metabolizmu L- tirozina, biosintezi karnitina. U imunološkom sustavu utječe na stvaranje antitijela, te povećava brzinu stvaranja limfocita i mobilnost leukocita. Djeluje na metabolizam lipida, te pokazuje snažno djelovanje na visoke koncentracije kolesterola u krvi koje može smanjiti za 10 do 20 % (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Vitamin C pripada u skupinu esencijalnih vitamina koje ljudski organizam ne može samostalno sintetizirati. Životinjski i biljni organizmi, kao i mikroorganizmi imaju sposobnost sinteze vitamina C u vlastitom organizmu. Pravilnom prehranom potrebno je osigurati dovoljnu količinu vitamina C koja će zadovoljiti potrebe s obzirom na sve funkcije organizma ovisne o ovom vitaminu, te je tako određeno da odrastao organizam dnevno mora uzimati 100 mg vitamina C (podatak naveden za nepušače) (Tablica 30). Na vitaminski status ljudskog organizma izravno utječe i niz čimbenika (opisanih u poglavlju 2.6.), no kada govorimo o vitaminu C kao jedan od najvažnijih u obzir treba uzeti i pušenje. Naime, pušači pokazuju znatno viši metabolički promet vitamina C u organizmu (90 mg dnevno), a prvenstveno zato što askorbinska kiselina u većim količinama sudjeluje u detoksikaciji štetnih tvari iz duhana (Devasagayam i sur., 2004). Zato pušači često pokazuju povećani rizik od deficita vitamina C, dok su i dnevne potrebe organizma koji puši znatno veće od nepušačkog, za odrastao organizam dnevna potreba za vitaminom C je oko 100 mg, dok je za pušače oko 140 mg. Glavna posljedica deficita vitamina C u ljudskom organizmu je pojava bolesti skorbut (Food and Nutrition Board, 1998; Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Tablica 30. Preporučene dnevne potrebe unosa vitamina C (mg) ovisno o spolu i dobi

<b>VITAMIN C</b>	
Prerano rođena djeca	100
0 – 0,5 g	30
0,5 - 1 g	35
1 - 3 g	40
4 - 10 g	45
11 - 18 g	60
muškarci	
19 – 51 + g	60
žene	
19 – 51 + g	60

Kako se vitamin C ne može sintetizirati u ljudskom organizmu mora se unositi hranom. Najveći prirodni izvori vitamina C su svježe voće i povrće (Tablica 31).

Tablica 31. Udio vitamina C izražen u mg/100 g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Vitamin B <sub>6</sub>
Majčino mlijeko	4,50
Mlijeko	1,50
Bubreg	40,0
Jetra	10,0
Meso	1,0
Kelj	150,0
Krumpir	10,0
Šipak	1000,0
Višnja	10,0
Banana	10,0

Zanimljivo je da prehrambena industrija askorbinsku kiselinu često koristi kao konzervans i to prije svega u sprječavanju posmeđivanja namirnica uslijed tehnološke obrade. Osim navedenih faktora koji utječu na razgradnju vitamina C velik utjecaj ima vrijeme skladištenja namirnica što je prikazano u Tablici 32 (Combs, 2008).

Tablica 32. Gubitak vitamina C (%) u namirnicama skladištenim u vremenskom periodu od dva dana pri temperaturama od 4°C i 20°C

Namirnica	Skladištenje 2 dana	
	4°C	20°C
Grah	33	53
Cvjetača	8	26
Salata	36	42
Peršin	13	70
Grašak	10	36
Špinat	32	80

#### 1.6.1.4. Vitamin D

Vitamin D je zajedničko ime za steroide s biološkom aktivnošću kolekalciferola (vitamin D<sub>3</sub>). Za vitamin D kažemo da nije pravi vitamin zato jer se djelomično može sintetizirati u našem tijelu i nije ga nužno potrebno unositi hranom, ali isključivo samo ako je organizam dovoljno izložen utjecaju Sunčeve svjetlosti (UV-zračenju). U biljnom organizmu vitamin D prisutan je u obliku ergokalciferola (D<sub>2</sub>) dok je u životinjskim tkivima prisutan u obliku kolekalciferol (D<sub>3</sub>). Što se tiče fizikalnih svojstava ova dva oblika vitamina D, *ergokalciferol* dobro se otapa u mastima i organskim otapalima, dok je netopljiv u vodi i nestabilan na svjetlosti i zraku, posebno u prisutnosti kisika. Nalazimo ga u biljkama, glivama, plijesni, lišajevima i mikroorganizmima. *Kolekalciferol* je slične topljivosti kao ergokalciferol i još manje stabilnosti. Ključan je za regulaciju kalcija. Bogati izvori kolekalciferola su riblja jetra i ulja, dok je većina prehrambenih namirnica slab izvor zbog čega se često obogaćuju vitaminom D u prevenciji pojave rahitisa. U Tablici 33 prikazan je udio vitamina D u pojedinim prehrambenim namirnicama (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Tablica 33. Udio vitamina D izražen u IJ/100 g u pojedinim prehrambenim namirnicama (IJ=0,025 µg)

Vrsta namirnice	Vitamin D
Maslac	35
Vrhnje	50
Sir	12
Jaja	28
Pileća jetra	50 – 65
Goveđa jetra	8 – 45
Bakalar	85
Ulje jetre bakalara	10000
Losos	220 - 440
Sardela	1500
Piletina	80
Svinjetina	84
Kupus	0,2
Ulje kukuruza	9
Špinat	0,2

Zanimljivo je da biosinteza kolekaciferola (D<sub>3</sub>) ovisi o klimatskom podneblju. U sjevernijim krajevima Zemaljske kugle gdje nema tolike količine Sunčeva svjetla biosinteza vitamina D u organizmu je znatno smanjena što predstavlja velik problem žiteljima skandinavskih zemalja. Vitamin D posreduje u vezanju kalcija i fosfora u organizmu, a njegov deficit u organizmu očituje se pojavom bolesti rahitisa i osteoporoze. Preporučene dnevne vrijednosti unosa vitamina D za odrasli ljudski organizam su oko 5 µg, dok je za trudnice do 10 µg (Food and Nutrition Bord, 1998). Najčešći uzroci deficita vitamina D su ne izlaganje Sunčevoj svjetlosti (odjeća, zimsko razdoblje, boravak u zatvorenom prostoru), nedovoljan unos prehranom i općenito nedostaci u metaboličkoj aktivaciji (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Vitamin D ima brojne metaboličke funkcije u ljudskom organizmu:

- A. održavanje razine kalcija i fosfora u krvi,
- B. diferencijacija stanica,
- C. uloga prilikom apsorcije kalcija u crijevu (Combs, 2008; Insel i sur., 2014).



#### 1.6.1.5. Vitamin E (tokoferol)

Vitamin E je pravi vitamin, odnosno ne može se sintetizirati u organizmu već potrebe za tim vitaminom možemo zadovoljiti samo pravilnom prehranom. Vitamin E sintetizira se samo u biljkama i to značajno više u zelenim dijelovima viših biljaka (posebno  $\alpha$ -tokoferol). Životinjska tkiva pak sadrže vrlo male količine vitamina E, a najviše je zastupljen u masnom tkivu. Najvažniji izvor vitamina E u prehrani su biljna ulja, a u manjim količinama i sjemenke uljarica i zrna žitarica. Najbogatiji prirodni izvor tokoferola je pšenična klica (0,85–1,28 mg/g  $\alpha$ -tokoferola) što čini oko 60 % od ukupnih tokoferola, zatim proizvodi od/ili s biljnim uljima kao što su margarin, pekarski proizvodi. Razlike u sadržaju tokoferola najizraženije su ovisno o vrsti ulja i termostabilnosti prisutnih vitamina (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Osnovna fizikalna svojstva vitamina E su da je to vitamin topljiv u mastima, vrlo je podložan oksidaciji, stabilan je u vidljivom svjetlu do čak 200°C dok ga UV-zračenje razgrađuje. Vitamin E je vrlo djelotvoran antioksidans koji sprječava oksidaciju masti, vitamina A, selena i nekih oblika vitamina C (Belitz i Grosch, 1999; Combs, 2008; Devasagayam i sur., 2004).

Različiti tehnološki procesi obrade namirnica vrlo snažno utječu na razgradnju vitamina E, a ponajviše: sušenje namirnice uz prisutnost svjetla i zraka, dodavanje organskih kiselina, mljevenje i rafiniranje, zračenje i konzerviranje (Arthey i Ashurst, 1995; Belitz i Grosch, 1999).

U određivanju potrebe unosa vitamina E u ljudski organizam ulogu imaju i dva važna faktora, a to je količina selena koji štedi vitamin E, odnosno smanjuje potrebe organizma i polinezasićene masne kiseline koje direktno proporcionalno povećavaju potrebe za vitaminom E (Tablica 34). Ostali faktori koji utječu na povećanje potrebe unosa vitamina E su:

- A. Deficit aminokiselina koje sadrže sumpor,
- B. Deficit bakra, cinka i/ili mangana,
- C. Deficit riboflavina,
- D. Poremećaji u apsorpciji lipida,

E. Prerano rođena djeca općenito imaju manju sposobnost iskorištavanja masti što može uzrokovati deficit vitamina E (Combs, 2008).

Tablica 34. Preporučene dnevne potrebe unosa vitamina C (mg) ovisno o spolu i dobi

VITAMIN E	
0 – 0,5 g	3
0,5 - 1 g	4
1 - 3 g	6
4 - 10 g	7
muškarci	
11 – 55 + g	10
žene	
11 – 55 + g	8

#### 1.6.1.6. Vitamin K (filokinon)

Vitamin K svrstavamo u grupu pseudovitamina i to zato jer se može sintetizirati u ljudskom organizmu, ali samo uz prisutnost odgovarajuće zdrave crijevne mikroflore (zastupljene u debelom crijevu). Vitamin K je topljiv u mastima ili uljima dok je u vodi netopljiv. Esencijalan je vitamin za sintezu proteina i to prvenstveno onih koji sudjeluju u zgrušavanju krvi (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Vitamin K se u prirodi javlja u dvije forme, a to su:

1. filokinon (vitamin K<sub>1</sub>) koji se sintetizira u zelenim biljkama,
2. menakinon (vitamin K<sub>2</sub>) kojeg sintetiziraju bakterije, uključujući i bakterije mikroflore crijeva.

Osim navedenih prirodnih formi vitamin K javlja se i u jednom sintetskom obliku koji nazivamo menadion ili vitamin K<sub>3</sub> čiji su sulfidni produkti topljivi u vodi, a koristi ih i prehrambena industrija u svrhu aditiva (Combs, 2008; Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012).

Vitamin K je vrlo dobro zastupljen u različitim vrstama prehrambenih namirnica, a i zbog njegovog svojstva sinteze uz pomoć mikroflora crijeva u tijelu, dnevne potrebe organizma za njegovim unosom putem hrane su relativno male, te za djecu iznose 5 do 10 µg, dok za odrasle 80 µg (Food and Nutrition Board, 1998; Combs, 2008). Najugroženija dobna skupina, što se tiče deficita vitamina K, su tek rođena djeca koja nemaju razvijenu crijevnu mikrofloru i u čijem se organizmu vitamin K ne može sintetizirati. Glavna posljedica deficita vitamina K su hemoragijski poremećaji, odnosno smanjeno zgrušavanje krvi i krvarenja (Combs, 2008). Vitamin K je izrazito dostupan i rasprostranjen u prirodi, a općenito namirnice koje ga sadrže možemo podijeliti na one koje su bogat izvor vitamina K, kao što je to zeleno lisnato povrće (špinat, brokula, salata, kupus) koje sadrži do 8 mg/kg vitamina, zatim srednje bogati izvori vitamina K su mlijeko i mliječni proizvodi (kravlje mlijeko sadrži oko 20 µg/L), a kao siromašni izvori vitamina K smatraju se voće i žitarice (Tablica 35) (Food and Nutrition Board, 1998).

Tablica 35. Udio vitamina K izražen u µg/100 g u pojedinim namirnicama

Vrsta namirnice	Vitamin K
šparoge, svježe	57
brokula, svježe	200
cvjetača, svježe	3600
čaj, zeleni	712
govedina, kuhana	7
grah, zeleni, svježe	290
grah, zeleni, u ljusci	300
grašak, zeleni u ljusci	260
jetra goveđa, svježe	92
jetrena pašteta	121
kava	38
krumpir, svježe	80
kupus, svježe	125
rajčica, svježe	5
salata, svježa	128
špinat, svježe	89
ulje kukuruzno	50
sojino ulje	500

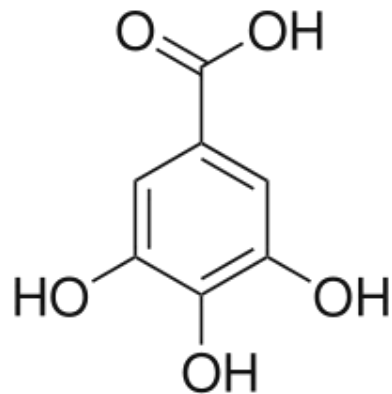
## 1.6.2. Antioksidansi

Antioksidansi su tvari koje štite stanice i organizam od oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala. Slobodni radikali su ostaci kemijskih spojeva velike reaktivnosti zbog prisutnosti nesparenih elektrona u vanjskoj elektronskoj ljusci. Slobodni radikali nastaju normalno i svakodnevno u organizmu kao proizvodi u procesu oksidacije hrane u stanicama, odnosno stvaranja energije neophodne za život. Zbog nesparenog elektrona, slobodni radikali rado se vežu s tvarima s kojima dolaze u kontakt (oksidacija). Takvim vezivanjem slobodnih radikala na lipide, ugljikohidrate, bjelančevine i genetski materijal nastaju nove lančane reakcije i oštećenja materijala. Nagomilavanje slobodnih radikala narušava opće zdravlje organizma i ubrzava starenje pa postajemo podložni nizu degenerativnih promjena (veća mogućnost razvoja stanica karcinoma). Antioksidansi imaju funkciju preuzimanja nesparenih elektrona slobodnih radikala, pri čemu nastaje elektronski par čime je onemogućeno njihovo daljnje štetno djelovanje. Kapacitet stvaranja antioksidansa u ljudskom organizmu je uvjetovan ne samo genetski i spolom, već i životnom dobi, te osobito navikama u prehrani (Finkel i Holbrook, 2000; Pokorny i sur., 2001; Devasagayam i sur., 2004; Panglossi, 2006).

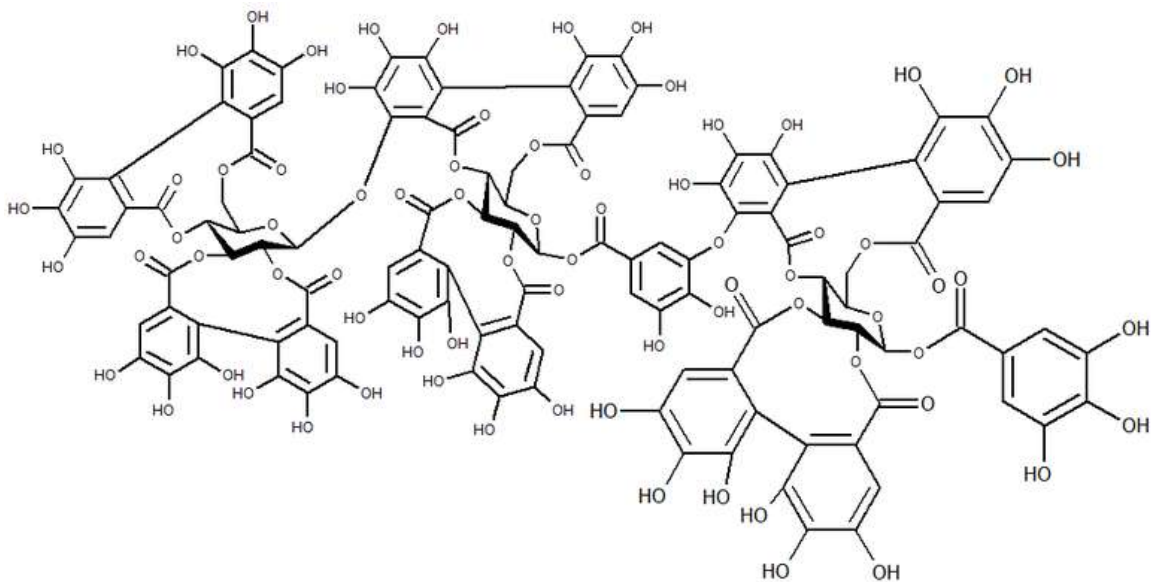
Najveće količine antioksidansa nalaze se u svježem voću i povrću (Chu i sur., 2000; Watson i Preedy, 2010). Jedni od glavnih nosioca antioksidativne zaštite organizma su vitaminski antioksidansi (karotenoidi, vitamin C, E i selen), no nerijetko i snažnije antioksidativno djelovanje imaju i drugi prirodni spojevi kao što su polifenolni spojevi (flavonoidi, flavoni, antocijani), terpeni, karotenoidi i drugi (Hollman i sur., 1996; Kumar i sur., 2004; Kurek-Górecka i sur., 2014, Chen, 2015). Redoviti unos hrane bogate antioksidansima (voće, povrće i cjelovite žitarice) djeluje pozitivno na zdravlje. Voće i povrće, te cjelovite žitarice sadrže na stotine antioksidansa, vitamina i fitokemikalija koji često djeluju sinergistički podupirući jedni druge (Saarela, 2011).

### 1.6.2.1. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi ili polifenoli, su najvažnija grupa sekundarnih biljnih metabolita koji se nalaze u mnogim biljkama, koncentrirani u sjemenkama, pokožici i mezokarpu voća i povrća, žitaricama, kori drveća, lišću i cvijeću (Pevalek-Kozlina, 2004). Do danas je poznato više od 8000 različitih struktura fenolnih spojeva, od jednostavnih molekula kao što su to fenolne kiseline (Slika 16) pa sve do visoko polimeriziranih tvari poput tanina (Slika 17).

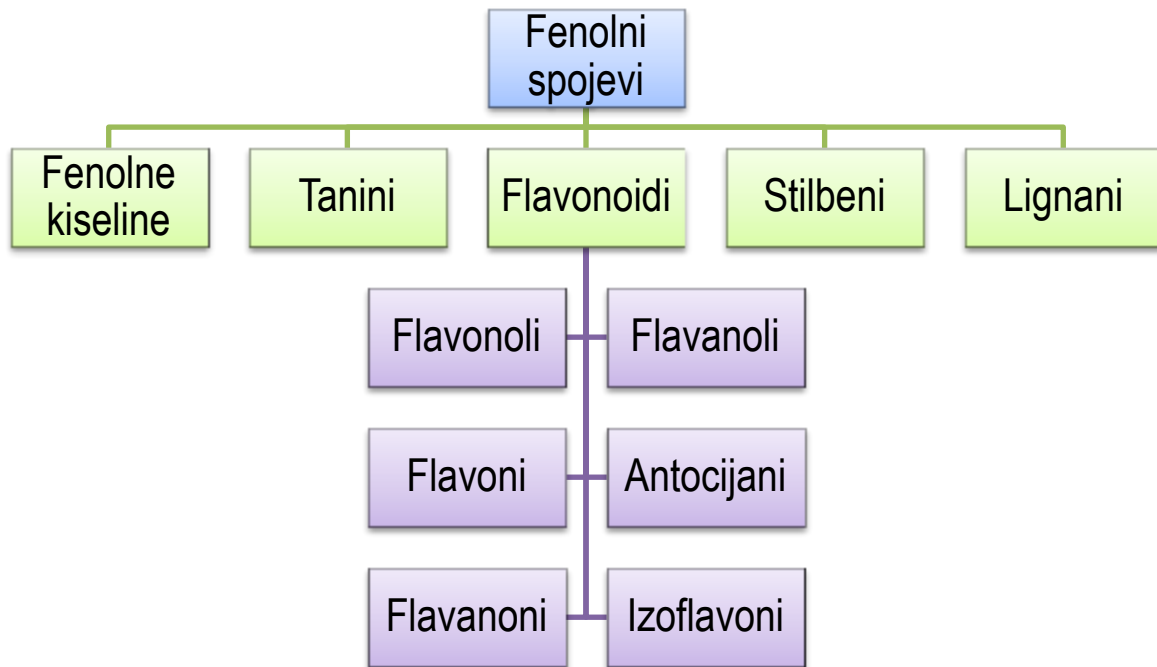


Slika 16. Građa molekule galne kiseline, fenolne kiseline koja pripada u skupinu hidroksibenzojevih kiselina (Balasundram i sur., 2006)



Slika 17. Građa molekule polifenolnog spoja iz skupine tanina, elagitanina (Yokozawa i sur., 1998)

Općenito, biljne fenole prema osnovnoj kemijskoj strukturi dijelimo na flavonoide i neflavonoide odnosno fenolne kiseline i srodne spojeve, dok su prema svojim strukturnim obilježjima klasificirani na fenolne kiseline, tanine, flavonoide (flavonoli, flavanoli ili katehini, flavoni, antocijani, flavanoni, izoflavonoidi), stilbene i lignane (Slika 18).



Slika 18. Klasifikacija fenolnih spojeva s obzirom na njihova strukturna obilježja (Dai i Mumper, 2010)

Fenolne kiseline mogu se podijeliti u dvije skupine: derivati benzojeve kiseline (kao što je galna kiselina) i derivati cimetine kiseline (kumarinska, kava i ferulinska kiselina). Kava kiselina je najzastupljenija fenolna kiselina u mnogim voćnim i povrtnim kulturama. Fenolne kiseline se u biljnim tkivima rijetko pojavljuju slobodne, već su u pravilu esterificirane s drugim molekulama poput ugljikohidrata i organskih kiselina. Najčešći esteri hidroksicimetine kiseline su derivati klorogenske kiseline (Belitz i Grosch, 1999).

Tanini su velika skupina polifenolnih spojeva za koje se smatra da su važan čimbenik biljne obrane od insekata, a obično ih dijelimo u dvije skupine: hidrolizabilni tanini i kondenzirani tanini (Salminen i Karonen, 2011). Molekula hidrolizabilnog tanina

građena je od središnjega ugljikohidratnog dijela (obično D-glukoza ili neki drugi poliol). Hidroksilne skupine ugljikohidrata u molekuli su djelomično ili potpuno esterificirane s drugim fenolnim grupama kao što je galna kiselina pri čemu se formira galotanin ili elaginska kiselina pri čemu se formira elagitanin (Khanbabaee i van Ree, 2001) koji je u izobilju sadržan u jagodastim voćnim vrstama, te u najvećoj mjeri pridonosi antioksidacijskom kapacitetu takvih plodova (Paredes-López i sur., 2010). Kondenzirani tanini su oligomeri ili polimeri flavan-3-ola koji se također nazivaju proantocijanidini jer se tijekom kiselinski katalizirane oksidacije razgrađuju na antocijanidine (Dai i Mumper, 2010).

Stilbeni su prirodni fenolni spojevi koji se pojavljuju u raznim biljnim izvorima hrane između ostalih i u bobičastom voću. Jedan od najznačajnijih stilbena je resveratrol koji posjeduje brojna biološka svojstva uključujući antiupalne, antialergijske, antimutagene, antikancerogene i druge aktivnosti (Paredes-López i sur., 2010).

Flavonoidi su najzastupljeniji polifenoli u našoj prehrani. Flavonoidi su podijeljeni u šest podskupina (Slika 18): flavonoli, flavanoli, flavoni, flavanoni, izoflavoni i antocijani. Neki od najčešćih flavonoida su kvercetin kojeg u izobilju nalazimo u luku, brokuli i jabukama, katehin kojeg možemo naći u čaju i nekolicini voćnih vrsta, naringenin prisutan u grejpu, te cijanidin-glikozid, antocijan obilno sadržan u jagodastom voću (jagode, crni ribiz, maline, kupine, itd.) (Dai i Mumper, 2010).

Antocijani su grupa flavonoidnih spojeva koja cvijeću, lišću i plodovima daju karakterističnu crvenu, ljubičastu i plavu boju. Po kemijskoj strukturi, antocijani su glikozidi koji kiselom hidrolizom oslobađaju aglikon, nazvan antocijanidin i jedan ili više šećera (obično glukozu, ramnozu ili galaktozu, a od disaharida gentobiozu i rutinozu). U prirodi dolaze u obliku svojih glikozida, tj. vezani uz molekulu šećera. Antocijani u građi ploda prevladavaju u epidermalnom i hipodermalnom sloju kože ploda, a topivi su u vodi i staničnom soku (Gould i sur., 2009). Antocijani se u voćnim kulturama nalaze u kožici ploda (šljiva, grožde) ili u mezokarpu ploda (jagoda, kupina, ribiz), a zbog značajnog sadržaja antocijana upravo se kožica bobica crnog grožđa koristi kao sirovina u proizvodnji ovog prirodnog pigmenta (Tablica 36).

Tablica 36. Količina (mg/100 g) i vrsta antocijana u različitim plodovima voćnih kultura

Plod	Količina	Pelargonidin	Peonidin	Cijanidin	Delfinidin	Malvidin
jabuka				X		
kruška						
borovnica	300-648	X	X	X	X	X
kupina	82-325			X		
trešnja	350-450		X	X		
brusnica	50-80		X	X		
breskva			X	X		
šljiva				X		
malina	213-428	X				
jagoda		X				

U prirodi je identificirano oko dvadeset različitih antocijanidina, a najvažniji su: cijanidin, pelargonidin, delfinidin, peonidin, petunidin i malvidin (Pérez-Gregorio i sur., 2011). Antocijanidini se međusobno razlikuju po stupnju hidroksilacije, odnosno što neki spoj ima više -OH skupina obojenje je intenzivnije. Slijedom navedenog, a s obzirom na stupanj hidroksilacije spoja, pelargonidin je najslabije obojen (Tablica 37). Važno je istaknuti da je upravo cijanidin najzastupljeniji antocijanidin u različitim voćnim vrstama (Gould i sur., 2009).

Tablica 37. Vrste antocijanidina koje se međusobno razlikuju po stupnju hidroksilacije i intenzitetu obojenja (Katalinić, 2006)

Antocijanidin	3	5	6	7	3'	5'	Boja
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	H	narančasta
Cijanidin	OH	OH	H	OH	OH	H	crvena
Delfinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	plavo-crvena
Peonidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	narančasto-crvena
Petunidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	plavo-crvena
Malvidin	OH	OH	H	OH	OMe	OMe	plavo-crvena



Obojenost voća i povrća antocijanima predstavlja interesantan biokemijski proces koji još uvijek nije u potpunosti razjašnjen; sunčeva svjetlost utječe na intenzitet i vrstu boje, a također je i dokazan utjecaj kisika, jer plodovi koji pokazuju jači respiratorni koeficijent imaju intenzivniju boju. Pri tome ulogu imaju i temperatura i svjetlo. Mnoge vrste voća i povrća tek prilikom perioda skladištenja, dobiju traženu boju. Na stvaranje određene boje (crvene, ljubičaste, plave) kao i na stvaranje raznih nijansi tih osnovnih boja, utječu mnogi faktori kao što su vrsta i mješavina antocijana, pH, prisustvo iona metala (aluminij daje plavo), prisustvo raznih ko-pigmenata (tanini, flavonglukozidi, alkaloidi) i raznih koloidnih sastojaka stanične stijenke (polisaharidi, pektini).

Svojstva antocijana uvjetovana su strukturom molekule i pH medija u kojem se nalaze. Boja antocijana ovisi o pH-vrijednosti medija; u kiselom mediju antocijani se nalaze u obliku kationa i imaju crvenu boju, dok porastom pH- vrijednosti antocijani iz obojenog prelaze u bezbojni – hidratizirani oblik. U neoštećenim biljnim stanicama antocijani dolaze u obliku crveno obojenog ANTOCIJAN-KATIONA dok u oštećenim stanicama mijenjaju strukturu i iz antocijan-kationa prelaze u LEUKO BAZU (pseudo bazu) (Tablica 38) (Katalinić, 2006).

Tablica 38. Ovisnost boje antocijana o pH- vrijednosti medija (Katalinić, 2006)

<b>pH- vrijednost</b>	<b>Oblik antocijan molekule i boja</b>
< 2	antocijan kation- crven
2 - 4,5	kation + leukobaza (crven + bezbojna)
4,5	leukobaza (bezbojan)
4,5 - 8	antocijan kao hidrobaza (ljubičast)
8 - 10	antocijan kao anion hidrobaze (plav)
> 10	halkon (žut)

Na stabilnost antocijana utječe i niz čimbenika:

1. *pH medija*

Utjecaj koncentracije  $H^+$  iona na stabilnost boje objašnjava se uspostavljanjem ravnoteže različitih tautomernih oblika kod različitih pH-vrijednosti. Što je pH otopine niži, to je stabilnost boje veća jer je veći udio antocijan-kationa.

2. *povišena temperatura*

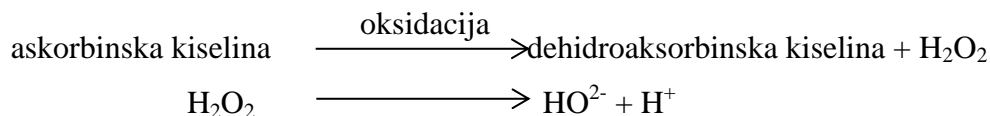
Pod utjecajem povišene temperature u kiseloj sredini dolazi do hidrolize antocijana i nastajanja aglikonskog oblika- antocijanidina i šećera. Antocijanidin je nestabilniji od antocijana, slabije topljivosti i manje izraženog obojenja. Kod povišene temperature može doći do otvaranja heterocikličkog prstena u sredini i nastajanja halkona (žut).

3. *kisik*

Oksidacijom antocijani gube nekondenzirani benzenski prsten i prelaze u kumaringlikozid.

4. *askorbinska kiselina*

Askorbinska kiselina djeluje negativno na stabilnost antocijana, za razliku od pozitivnog djelovanja askorbinske kiseline na stabilnost karotenoida. Do razgradnje antocijana u prisutnosti askorbinske kiseline dolazi na dva načina: a) direktno vezivanje u položaju 2 ili 4; b) preko vodikovog peroksida koji nastaje razgradnjom askorbinske kiseline u prisutnosti kationa metala, pri čemu nastaje leuko oblik:



5. *sumpornov dioksid*

Prisutnost sumporovog dioksida ( $SO_2$ ) dovodi do izbjeljivanja antocijana, pa se to svojstvo koristi i kod analize tih kemijskih spojeva.  $SO_2$  se dodaje kao konzervans radi sprječavanja posmeđivanja (priprema poluproizvoda), a prevodi antocijan-kation u leuko-formu (proces je reverzibilan). Uklanjanjem  $SO_2$  i zakiseljavanjem medija postiže se potpuna regeneracija boje.

## 6. svjetlo

Utjecaj svjetla nije do kraja istražen ali je poznato da svjetlo utječe na ravnotežu antocijan  $\leftrightarrow$  halkon tako da je na svjetlu prisutno više antocijan kationa (crvena), a u tami više halkon oblika (žut). Pod utjecajem svjetla dolazi do pojave izomerije, antocijan-kation prelazi iz trans- u cis- oblik.

## 7. ionizirajuće zračenje

Kod više pH- vrijednosti otopine (pH>4,5) ionizirajuće zračenje djeluje tri puta jače nego kod nižeg pH (pH<2). Antocijani su osjetljivi na djelovanje ionizirajućeg zračenja, ali je ta osjetljivost manja kod nižeg pH.

## 8. šećeri i njihovi produkti razgradnje

Prema intenzitetu djelovanja na antocijane, šećere možemo poredati: glukuronska kiselina > fruktoza > saharoza > laktoza > maltoza > glukoza > glukonska kiselina (najmanji utjecaj). Do razgradnje antocijana dolazi zbog porasta intermedijera razgradnje šećera (furfural i hidroksimetilfurfural- HMF). Furfural i HMF nisu prirodni sastojci voća nego nastaju kao produkti enzimatskog i ne-enzimatskog posmeđivanja, kao rezultat nepovoljnog djelovanja temperature tijekom procesa prerade i skladištenja. HMF se uzima kao faktor korelacije između kvalitete proizvoda i stupnja termičkog tretiranja. Disaharidi djeluju zaštitno na antocijane sve dok se ne razgrade na monosaharide.

## 9. ioni metala

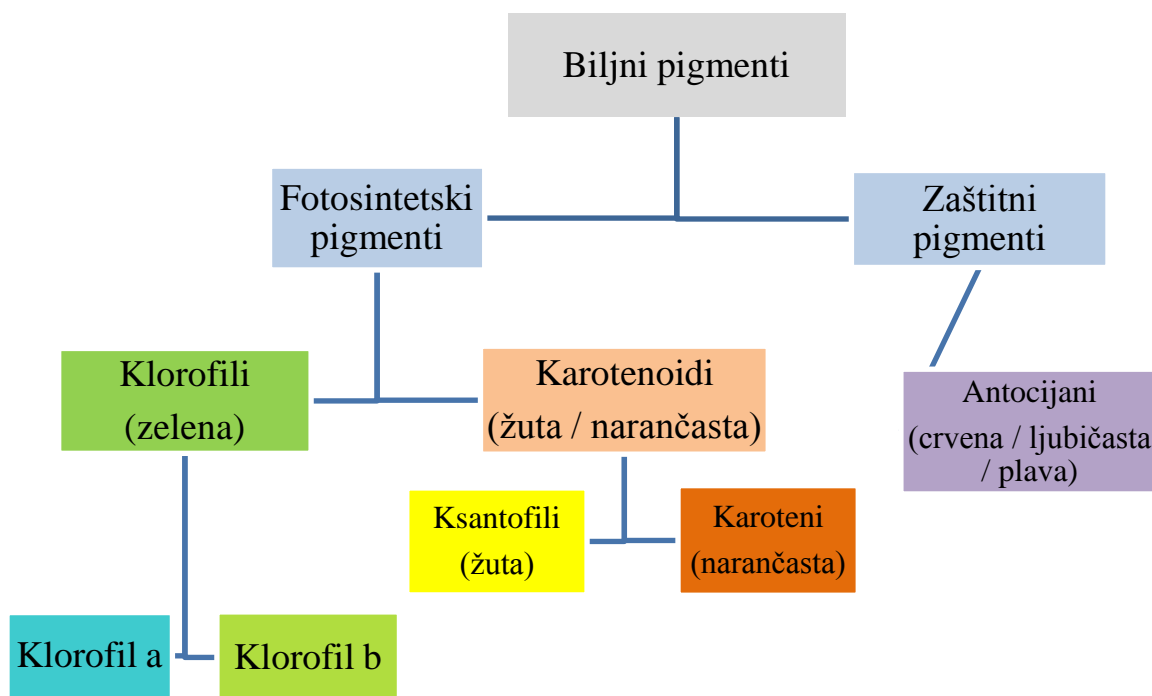
Antocijani koji u benzenskom prstenu sadrže barem dvije -OH skupine mogu s ionima metala stvarati komplekse – kelate. Boja nastalih kompleksa, kelata, različita je od boje antocijana (-plavi) Za razliku od antocijana kelati su vrlo stabilni pri pH- vrijednostima između 4,5 – 6,0 što je vrlo važno u zaštiti od korozije. Na primjer, u cilju sprječavanja reakcije antocijana s metalima limenke (kositrom), tijekom koje dolazi do oksidacije metala i redukcije antocijana, limenke se presvlače zaštitnim lakom (Katalinić, 2006).

Osnovna uloga biljnih fenola je da su izravno uključeni u prirodni obrambeni biljni mehanizam i štite biljku od različitih biotičkih (napad patogena, parazita i predatora) i abiotičkih čimbenika stresa (štetnog utjecaja ultraljubičastog zračenja, temperature i dr.), ali isto tako odgovorni su za cjelokupno organoleptičko svojstvo biljne hrane (karakterističnu boju i aromu) (Shahidi i Nacz, 2004; Wuyts i sur., 2006; Dai i Mupmer, 2010; Diaz Napal i sur., 2010; Kennedy i Wightman, 2011). Tako na primjer

fenoli doprinose okusu gorčine i trpkosti voća i voćnih sokova, zbog interakcije koja se događa između fenolnog spoja (uglavnom procijanidina) i glikoproteina iz sline čovjeka. Važno je naglasiti da su fenolni spojevi zastupljeni u svim biljnim organima, a time i široko rasprostranjeni u različitim kategorijama hrane namijenjene svakodnevnoj konzumaciji kod ljudi, kao na primjer u svježem voću, povrću, žitaricama, maslinama, mahunarkama, čokoladi i drugim, ali i u prehrambenim proizvodima poput čaja, vina, kave, piva i dr. (Shahidi i Naczk, 2004). U ljudskom tijelu fenolni spojevi svoj pozitivan učinak ispoljavaju kroz nekoliko mehanizama: (1) uklanjanje slobodnih radikala (antioksidacijski učinak); (2) zaštita i regeneracija drugih antioksidansa (npr. vitamina E); (3) kelatna svojstva na oksidirajuće ione metala (vežu na sebe ione metala i tako onemogućuju njegovu apsorpciju i iskorištenje) (Buyukokuroglu i sur., 2001; Garcia-Salas i sur., 2010).

#### *1.6.2.2. Biljni pigmenti*

Karakteristična boja voća i povrća potječe od prirodnih sastojaka koje voće i povrće sadrži u stanicama tkiva tj. plastidima, a zovu se biljni pigmenti. Plastidi su reakcijski prostori bogati lipidima, često upadljivo obojeni bojama topljivim u mastima, a služe kao organele u anabolizmu fotosintetske asimilacije ugljika i/ili kondenzaciji škroba. Primarna funkcija biljnih pigmenata je njihova uloga u procesu fotosinteze, dok ostale funkcije prvenstveno uključuju privlačenje insekata zbog potrebe oprašivanja (Pevalek-Kozlina, 2004). Upravo zbog uloge koje nose u procesu fotosinteze biljne pigmente općenito dijelimo na: fotosintetke i zaštitne pigmente (Slika 19).

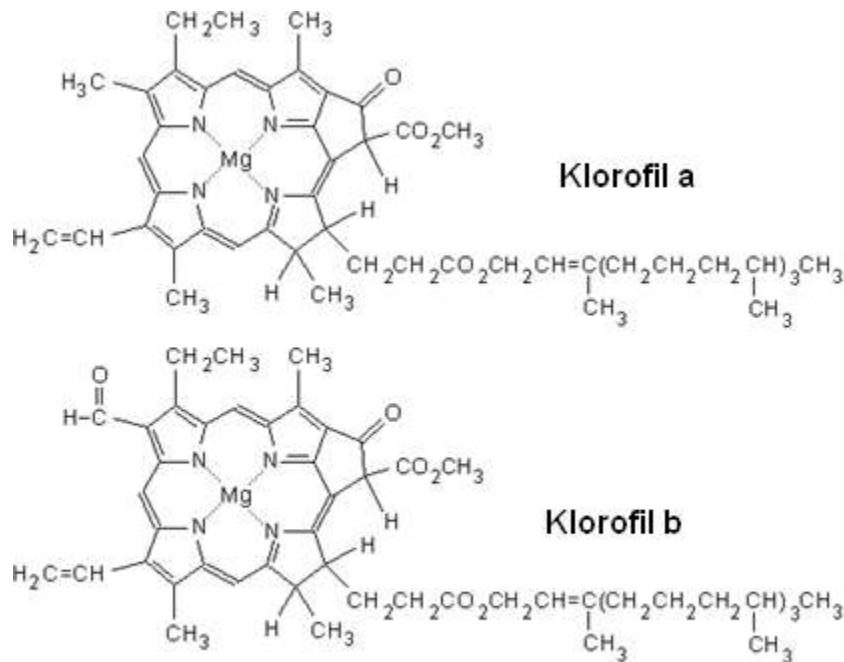


Slika 19. Biljni pigmenti (Pevalek-Kozlina, 2004)

Vrlo zastupljene boje voća i povrća su žuta i narančasta boja koje potječu od karotenoida. Karotenoidi su spojevi koji u svojoj kemijskoj strukturi imaju brojne nezasićene veze koje lako pucaju i vežu slobodne radikale. Crvene, plave i ljubičaste boje potječu od flavonoidnih spojeva, posebice antocijanina koji pokazuju i značajna antioksidativna svojstva. Zelena boja biljnog tkiva potječe od klorofila koji sudjeluje u procesu fotosinteze. Obojenost biljaka često nije posljedica prisustva samo jednog pigmenta već proizlazi iz međusobne interakcije nekoliko različitih pigmenata, zato primjerice listovi mogu biti zelene, crvene ili žute boje (Pevalek-Kozlina, 2004).

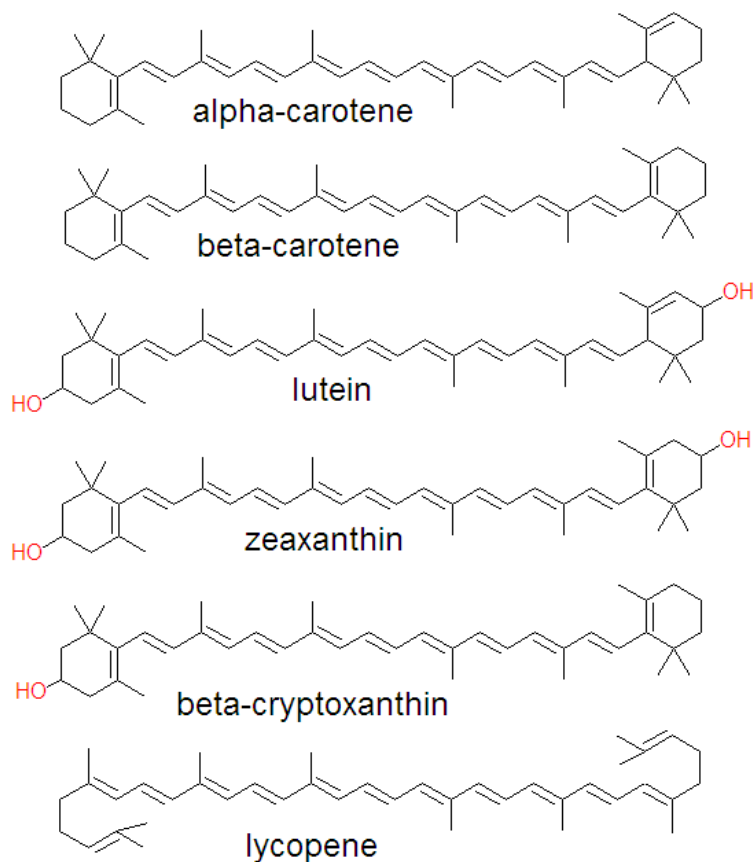
Klorofili su najvažniji biljni pigmenti aktivni za vrijeme fotosinteze i nalaze se u kloroplastima. U određenim uvjetima mogu biti prekriveni drugim obojenim popratnim pigmentima pa osim što su zeleno obojeni često mogu biti smeđi ili crveni. U vodi netopljiv, djelomično lipofilni klorofil pojavljuje se kod većine biljaka u dva kemijski srodna oblika: kao modro zeleni klorofil a i kao žutozeleni klorofil b. Njihov je kvantitativni odnos otprilike 3:1. Klorofili sadrže porfirinsku jezgru od četiri pirolna

prstena u čijem se središtu nalazi atom magnezija na koji je vezan fitolni rep (Slika 20). Porfirinska jezgra je hidrofilna, a fitolni rep bogat -CH<sub>3</sub> skupinama je hidrofoban i lipofilan. Stvaranje monomolekularnog sloja klorofila na graničnim slojevima bjelančevina i lipida rezultat je hidrofobnih i hidrofilnih svojstava klorofila. U tilakoidnim membranama kloroplasta uz zelene klorofile pojavljuju se u manjoj količini narančasto-crveni karotenoidi i žuti ksantofili (Pevalek-Kozlina, 2004).



Slika 20. Struktura molekule klorofila a i b (Pevalek-Kozlina, 2004)

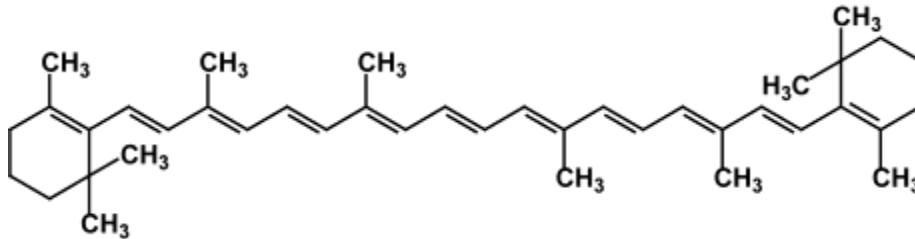
Karotenoidi pripadaju skupini terpenoida, po kemijskom su sastavu tetraterpenoidi opće formule C<sub>40</sub>H<sub>50</sub>, a po fizičkim svojstvima su lipidi topljivi u mastima i drugim organskim otapalima (lipokromi). Nastali su kovalentnim vezanjem jednostavnih izoprenskih jedinica. Na kraju svakog lanca nalazi se ili prsten ili otvoreni lanac, te se po tome karotenoidi međusobno razlikuju (Slika 21) (Pevalek-Kozlina, 2004).



Slika 21. Strukturne formule različitih karotenoida  
(<http://en.citizendium.org/wiki/Carotenoid>)

Zbog brojnih konjugiranih dvostrukih veza, obojeni su žuto, narančasto ili crveno. Posljedica ovakve strukture je velika reaktivnost, podložnost autooksidaciji, intenzivna boja i karakteristični apsorpcijski spektri. Boja ovisi o oscilaciji elektrona duž lanca. Karotenoidi mogu biti prisutni u različitim strukturama: plastoglobulima (lipidne kapljice) ili nakupinama tubula, koncentrično raspoređenim membranama, te zajedno s klorofilima u kloroplastima. Danas poznajemo preko 700 karotenoida, a u voću i povrću ih ima oko stotinu. Razlikujemo dvije skupine karotenoida: karotene (čisti ugljikovodici) i ksantofile (osim ugljika i vodika, sadrže još i kisik) (Lepeduš i Cesar, 2010). Najpoznatiji karotenoidi su  $\beta$ -karoten (Slika 22), likopen i lutein, od kojih je upravo  $\beta$ -karoten najzastupljeniji u biljnom svijetu.  $\beta$ -karoten je široko rasprostranjeni biljni pigment koji se nalazi u voću i povrću u svim nijansama od žute i narančaste pa sve do

tamno-zelene boje (mrkva, dinja, kruška, jabuka, špinat, breskva, marelica, mango, bundeva, i td.). Međuprodukt je u sintezi retinola, te ga ljudski organizam po potrebama pretvara u vitamin A.



Slika 22. Strukturna formula molekule  $\beta$ -karotena

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-carotene#section=Top>)

Biljni pigmenti su osjetljivi na kemijske i fizikalne utjecaje koji su posebno izraženi tijekom tehnoloških postupaka u preradi i skladištenju proizvoda (FAO, 1995). Tako postupci poput blanširanja i općenito toplinske obrade namirnice uzrokuju redukciju sadržaja akumuliranog klorofila što je često povezano s pojavom žute boje. Promjena, odnosno gubitak, rezultat je nastajanja feofitina i pirofeofitina. Prva promjena koja se događa u molekuli klorofila tijekom zagrijavanja je izomerizacija prilikom koje se atomi magnezija zamjene atomima vodika uz formiranje feofitina, maslinasto-smeđe boje. U vodenim otopinama reakcija je ireverzibilna. Klorofil je osjetljiv na prisustvo kiselina koje kataliziraju njegovu degradaciju. Naime, ioni kiselina utječu na kristalizaciju magnezij iona iz porfirinske jezgre pri čemu se formira feofitin. Tijekom toplinske obrade povećava se permeabilnost membrana, a kiseline i pigmenti dolaze u izravan kontakt što u konačnici izaziva degradaciju zelene boje, odnosno klorofila. U proizvodnji hrane karotenoidi su prilično otporni na toplinu, promjenu pH, te na tretiranje vodom, ali su vrlo osjetljivi na oksidaciju koja izaziva promjenu boje i uzrokuje degradaciju vitamina A. Karotenoidi se tijekom prerade hrane mogu mijenjati zbog procesa autooksidacije i izomerizacije u prisustvu organskih kiselina (Jašić, 2013).



Mnogim biljnim pigmentima pripisuju se značajna antioksidacijska i zaštitna svojstva. Već iz same molekulske strukture pojedinih biljnih pigmenata (Slika 23, 24 i 25) uočljiva su njihova značajna svojstva u uklanjanju slobodnih radikala, odnosno antioksidacijska funkcija (Kumar i sur., 2001; Kumar i sur., 2004). Antioksidacijska aktivnost ovisi o rasporedu i broju hidroksilnih (-OH) i metilnih skupina (-CH<sub>3</sub>). Općenito, što je veći broj navedenih skupina u strukturi neke molekule ona će imati veću sposobnost „hvatanja“ slobodnih radikala, odnosno pokazivati će snažniju antioksidacijsku aktivnost (Terao, 1989; Gordon, 1990; Kazazić, 2004; Kurek-Górecka i sur., 2014). Upravo zbog značajne antioksidacijske aktivnosti biljni pigmenti pokazuju i brojne potencijalne korisne učinke na zdravlje ljudi, od prevencije bolesti raka, kardiovaskularnih bolesti do prevencije raznih degenerativnih bolesti poput ateroskleroze i demencije (Omenn i sur., 1996; Park i sur., 2003; Kumar i sur., 2004).

## 1.7. MINERALI

Minerali su tvari anorganskog podrijetla koje se nalaze u svim tjelesnim tkivima i tekućinama. U ljudskom organizmu su prisutni u vrlo malim količinama, udio oko 4 % sveukupne tjelesne mase, a neki čak i u tragovima, no neophodni su za normalnu izmjenu tvari, odnosno normalan metabolizam. Minerali su nositelji životnih funkcija organizma jer sudjeluju u enzimskim reakcijama, bez njih ne može funkcionirati niti jedan enzimski sustav u tijelu. Znanstvenici ističu veću nutritivnu i fiziološku važnost minerala (čak veću i od vitamina), a prvenstveno zbog nemogućnosti ljudskog organizma da ih samostalno proizvede (esencijalne tvari). Naime, minerali se gotovo nikako ne mogu sintetizirati u organizmu, već ih isključivo moramo unositi hranom. Nekad se smatralo da su samo četiri elementa neophodna za normalno funkcioniranje organizma (željezo, bakar, jod i cink), no danas je poznato da je za održavanje zdravlja potrebno najmanje 50 različitih vrsta minerala. Novija znanstvena istraživanja dokazuju kako broj esencijalnih elemenata u tragovima stalno raste, u posljednje vrijeme otkrivena je esencijalnost selena, kroma, fluora, molibdena i mangana (Belitz i Grosch, 1999; Gropper i sur., 2009; Higdon i Drake, 2012; Medeiros i Wildman, 2013; Insel i sur., 2014; Guardia i Garrigues, 2015).

Postoji nekoliko osnovnih podjela minerala i to prema:

A. nivou dnevnih potreba organizma na:

1) *makroelemente*: čini ih grupa minerala čije su dnevne potrebe veće od 100 mg. U ovu skupinu ubrajamo: kalcij (Ca), fosfor (P), natrij (Na), kalij (K), klor (Cl), magnezij (Mg), sumpor (S),

2) *mikroelemente*: čini ih grupa minerala čije se dnevne potrebe kreću od >1 mg do 100 mg. U ovu skupinu ubrajamo: željezo (Fe), bakar (Cu), cink (Zn), mangan (Mn), jod (I), molibden (Mo), kobalt (Co), fluor (F), brom (Br), krom (Cr), silicij (Si),

3) *elemente u tragovima*: za većinu elemenata u tragovima nisu još jasno definirane dnevne potrebe, ali su reda veličine mikrograma ( $\mu\text{g}$ ). U ovu skupinu ubrajamo: arsen (As) u manjim količinama, bor (B), kositar (Sn), nikal (Ni), selen (Se), vanadij (V), wolfram (W), olovo (Pb) u manjim količinama, germanij (Ge) (WHO, 1996; Belitz i Grosch, 1999; Medeiros i Wildman, 2013; Insel i sur., 2014).

B. količini prisutnoj u tkivima na:

- 1) glavni elementi (g/kg tkiva),
- 2) elementi u tragovima (mg/kg i manje), engl. *trace elements*,
- 3) ultra elementi u tragovima ( $\mu\text{g/kg}$  i manje), engl. *ultratrace elements*.

C. količini minerala u tkivima na:

- 1) glavni elementi,
- 2) oligoelementi,
- 3) elementi u tragovima (WHO, 1996; Belitz i Grosch, 1999; Medeiros i

Wildman, 2013; Insel i sur., 2014).

Mineralne tvari nužno su potrebne ljudskom organizmu za održavanje svih životnih funkcija, no neke mogu imati toksični efekt na organizam i izazvati ozbiljnija oštećenja, a možemo ih kategorizirati u tvari strane organizmu: olovo (Pb) i arsen (As) u većim količinama, kadmij (Cd), živa (Hg), barij (Ba), aluminij (Al), litij (Li), berilij (Be), srebro (Ag), zlato (Au), antimon (Sb) (WHO, 1996; Belitz i Grosch, 1999; Medeiros i Wildman, 2013; Insel i sur., 2014).

Funkcije minerala u organizmu su višestruke, a najznačajniji su kao sastavni dio enzima i metaboličkih procesa, mogu pojačavati ili smanjivati međusobna djelovanja, a zanimljivo je da njihov značaj u organizmu nije proporcionalan njihovoj količini, kao dobar primjer možemo navesti selen i kadmij koji su prisutni u vrlo malim količinama koje su ipak izrazito značajne za normalno funkcioniranje životnih procesa. Jedna od osnovnih funkcija minerala je sudjelovanje u izgradnji tkiva (gradivni elementi). Tako su kalcij (Ca), željezo (Fe), cink (Zn), magnezij (Mg), silicij (Si) i fluor (F) gradivne komponente kostiju i zuba, sumpor (S) i selen (Se) su prisutni u sastavu nekih aminokiselina (cistein i metionin -S) koje izgrađuju kosu, nokte i kožu, željezo (Fe) i bakar (Cu) esencijalni su sastojci hemoglobina i mioglobina, jod (I) je esencijalan za funkcioniranje štitnjače, natrij (Na), kalij (K), kalcij (Ca) i fosfor (P) reguliraju kiselo-baznu ravnotežu u organizmu, natrij (Na) i kalij (K) imaju utjecaja na osmotski tlak u tkivima i na eliminaciju različitih tekućina iz organizma (natrij - kalijeva crpka) (Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012; Medeiros i Wildman, 2013; Insel i sur., 2014).

Jedna od zanimljivih karakteristika minerala je i njihova međusobna interakcija. Naime, višak jednog minerala može izazvati deficit ili povećanje nekog drugog minerala.

Povećane količine nekog elementa mogu interferirati s metaboličkim korištenjem drugog elementa koji se nalazi u organizmu u normalnim ili neznatnim količinama. Tako na primjer višak cinka u prehrani interferira s intestinalnom apsorpcijom bakra što rezultira deficitom bakra unatoč njegovom adekvatnom unosu u organizam (cink je antagonist apsorpcije bakra). Apsorpcija cinka iz hrane bit će znatno manja ako je hrana bogata fitatima i kalcijem, ako je visok unos željeza, ako je količina cinka u tijelu visoka ili kod starih ljudi. Čimbenici koji će potaknuti bolje upijanje cinka iz hrane jesu: hrana siromašna kalcijem, bjelančevine životinjskog podrijetla, trudnoća, dojenje, manji udio cinka u tijelu. Apsorpcija bakra iz hrane biti će potisnuta visokim unosom željeza i/ili cinka. Hrana bogata životinjskim bjelančevinama, dojenje i posljednje doba trudnoće čimbenici su koji utječu na bolju apsorpciju bakra. Deficit cinka utječe na smanjenje količine željeza što rezultira pojavom anemije, dok deficit željeza povećava zadržavanje kadmija i olova u organizmu što izaziva pojačani efekt toksičnosti, dok s druge strane, selen djeluje zaštitno na spomenutu toksičnost kadmija i olova. Kao dobar primjer interakcije minerala s drugim komponentama hrane može se navesti vrlo česta konzumacija žitarica u kombinaciji s mlijekom, najčešći obrok koji se konzumira kao doručak. Naime, navedena kombinacija žitarica i mlijeka ne utječe pozitivno na apsorpciju željeza (žitarice bogate željezom) u ljudskom organizmu. Žitarice su bogat izvor biljnih vlakana (prehrambena vlakna) i željeza, a koje sadrže i fitinsku kiselinu. Mlijeko pak sadrži veću količinu kalcija. Fitinska kiselina s kalcijem i željezom tvori netopljiv kompleks, te je apsorpcija željeza u ljudskom organizmu onemogućena. Stvaranje navedenog netopljivog kompleksa moguće je uspješno inhibirati vitaminom C koji pomaže apsorpciji željeza, pa je poslije takvog obroka uputno popiti narančin sok ili neki drugi dobar izvor vitamina C. Vrlo važan mineral koji zbog vrlo malih dnevnih potreba u organizmu svrstavamo u elemente u tragovima je selen. Selen je najznačajniji po tome što sinergistički djeluje s vitaminom E i uspješno štiti stanice u organizmu od utjecaja slobodnih radikala. Prirodni izvori selena su plodovi mora, mliječni proizvodi, jetra, bubrezi, pšenične klice, mekinje, tuna, luk, rajčica, brokula, češnjak i smeđa riža čija je konzumacija u relativno malim količinama tijekom dana dovoljna da se zadovolji i dnevna potreba organizma za selenom. Na količinu minerala koju će organizam preuzeti iz hrane, utječe više čimbenika:

- 1) količina i sastav drugih sastojaka u hrani,
- 2) količina drugih minerala prisutnih u hrani (višak jednog minerala može izazvati deficit ili povećanje nekog drugog minerala),
- 3) lijekovi,
- 4) tjelesna potreba za određenim mineralom,
- 5) kemijski oblik minerala,
- 6) cjelovitost crijevnog sustava (Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012; Medeiros i Wildman, 2013; Insel i sur., 2014).

Valja naglasiti i čimbenike koji pokazuju negativan utjecaj na apsorpciju minerala, a to su: kava, duhan, lijekovi (antibiotici, aspirin), alkohol i stres. Također, na sastav minerala u ljudskom organizmu, osim navedenih čimbenika, značajan utjecaj ima i njihova bioiskoristivost. Bioiskoristivost minerala je dio kompleksnih metaboličkih procesa, koja uz procese probave, topljivosti, apsorpcije, distribucije i zadržavanja u tkivima, uključuje enzimске transformacije, sekrecijske i ekskrecijske mehanizme. Na bioiskoristivost minerala utječe niz faktora koje dijelimo na unutarnje i vanjske. U unutarnje faktore ubrajamo anaboličke potrebe, hormonalni status, funkcije jetre i bubrega, infekcije i stres, dok u vanjske, uglavnom izvore iz prehrambenih namirnica, odnosno hrane. Različite kategorije prehrambenih namirnica bogat su izvor različitih vrsta minerala. Tako na primjer cjelovita zrna žitarica čine čak više od 40 % ukupnog unosa željeza, bakra, mangana i nikla, te oko 10 % unosa kalcija, selena, cinka i bora. Mesom se otprilike unosi oko 30 % cinka i selena, dok s druge strane, meso ne sadrži kalcij, mangan, nikal i bor. Ribom se u organizam unese čak 30 % selena i u slučaju kontaminacije 60 % žive. Mliječnim proizvodima unese se više od 80 % potrebnog dnevnog unosa kalcija, oko 50 % unosa fosfora i 30 % kalija, sumpora, cinka i molibdena. Mlijeko je siromašan izvor željeza, mangana, nikla, silicija i bora. Povrće pokazuje visok udio bora (pokriva oko 60 % unosa) i kalija (oko 30 % unosa) (Gropper i sur., 2009; Kroner, 2011; Higdon i Drake, 2012; Medeiros i Wildman, 2013; Insel i sur., 2014). Preporučeni dnevni unos pojedinog minerala u ljudski organizam prikazan je u Tablici 39.

Tablica 39. Preporučene dnevne potrebe unosa pojedinih minerala za normalne zdrave osobe (<http://www.lenntech.com/recommended-daily-intake.htm>)

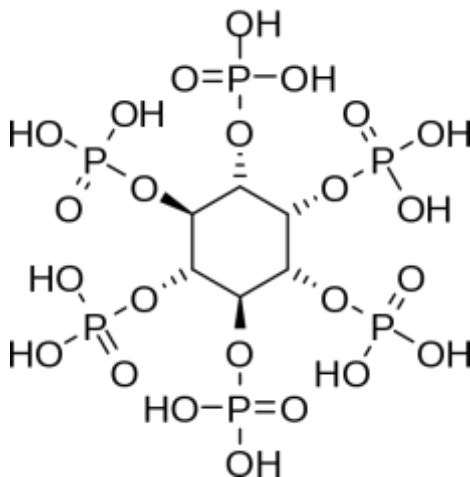
Vrsta minerala	Preporučeni dnevni unos (RDA)	Simptomi prekomjernog unosa
Bor	< 20 mg	-
Kalcij	1000 mg	Želučane tegobe, krhkost kostiju, poremećaji zgrušavanja krvi, osjećaj "lupanja" srca, grčevi, nesanica
Klor	3400 mg	-
Krom	120 µg	Usporen rast, poremećena podnošljivost glukoze, mršavljenje, oštećenje živaca i mozga (neuropatije, encefalopatije), ateroskleroza, šećerna bolest
Bakar	2 mg	slabokrvnost, osteoporoza, poremećaji rasta, nepravilnosti veziva, opća slabost, kožni poremećaji
Flour	3,5 mg	Karijes
Jod	150 µg	Smanjeno izlučivanje hormona štitaste žlijezde, guša
Željezo	15 mg	Teškoće disanja, blijeda koža, umor, poremećena izmjena tvari i energije, umor i potištenost, lomljivost nokata, želučane i probavne smetnje (konstipacija)
Magnezij	350 mg	Poremećaji živčana sustava, nervoza, drhtanje, potištenost, poremećaji srčana rada, probave i bubrega
Mangan	5 mg	Ometanje apsorpcije željeza, mršavljenje
Molibden	75 µg	Problemi s bubrezima, nedostatak bakra
Nikal	< 1 mg	Alergijske reakcije
Fosfor	1000 mg	Želučane tegobe, poremećaji staničnih djelovanja posebice u živčanome sustavu, dekalifikacija kostiju, opća slabost
Kalij	3500 mg	Probavne smetnje, poremećaj srčanog ritma, suha koža, prištići (akne), nesanica
Selen	35 µg	Bolesti mišića i srčana mišića, poremećaji imunosnog sustava

Natrij	2400 mg	-
Cink	15 mg	Anemija, nedostatak bakra, poremećaj okusa i teka, usporen rast, ispadanje vlasi, kožni osipi, promjene raspoloženja, poremećaji podnošljivosti glukoze, neplodnost

---

### 1.7.1. Fitinska kiselina

Fitinska kiselina pripada u skupinu zasićenih organskih cikličkih kiselina (Slika 23).



Slika 23. Kemijska struktura fitinske kiseline

(<http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---P/Phytic-Acid.htm>)

Osnovni je oblik skladištenja fosfora u biljnim tkivima. Fitinska kiselina je antinutritivni faktor, ljudski i životinjski organizam ne mogu je probaviti. Fosfor i inozitol u obliku fitata nisu dostupni ljudskom organizmu s obzirom da ne posjeduje enzim fitazu potrebnu za uklanjanje fosfata iz inozitola u fitatnoj molekuli. Značajno je zastupljena u žitaricama, suhim leguminozama i nekom orašastom voću (Tablica 40). S kalcijem,

željezom i cinkom tvori netopljive komplekse, pa time sprječava njihovu apsorpciju. Kako bi se spriječio deficit minerala, fitinska kiselina mora se deaktivirati, a to se postiže dodavanjem kvasca prilikom proizvodnje kruha, pečenjem kruha i klijanjem sjemenki. Također, toplinskom obradom hrane djelomično je moguće razgraditi fitinku kiselinu do određenog stupnja, no učinkovitiji način njene razgradnje je zagrijavanje u lužinama i kiselinama (Reddy i Sathe, 2002; Hui, 2005).

Tablica 40. Udio fitinske kiseline (%) u pojedinim prehrambenim namirnicama (Reddy i Sathe, 2002; Hui, 2005)

<b>Vrsta namirnice</b>	<b>Sadržaj fitinske kiseline</b>
Laneno sjeme	2,15 – 2,78
Sezamovo brašno	5,36
Bademi	1,35 – 3,22
Brazilski oraščići	1,97 – 6,34
Kokos	0,36
Lješnjak	0,65
Kikiriki	0,95 – 1,76
Orasi	0,98
Kukuruz	0,75 – 2,22
Zob	0,42 – 1,16
Zobena kaša	0,89 – 2,40
Smeđa riža	0,84 – 0,99
Polirana riža	0,14 – 0,60
Pšenica	0,39 – 1,35
Pšenično brašno	0,25 – 1,37
Grah	2,38
Slanutak	0,56
Leća	0,44 – 0,50
Soja	1,00 – 2,22
Špinat	0,22

Fitinska kiselina pokazuje i niz pozitivnih učinaka na ljudski organizam:

- A. izvor je fosfata nakon hidrolize,
- B. izvor je mioinozitola neophodnog za rast, funkciju mišića i živaca, stimulaciju hematopoeze i izgradnju koštanog tkiva,
- C. fitin sudjeluje u regulacijskim metaboličkim procesima, te stimulira obrambene mehanizme,



D. fitinska kiselina je jaki antioksidans, te je kao sastavni dio prehrambenih vlakana glavni činitelj antikancerogenog djelovanja vlakana (Reddy i Sathe, 2002; Hui, 2005).

---

## **2.0. PRAKTIČNI DIO**

## 2.1. IZOLACIJA I IDENTIFIKACIJA BILJNIH PIGMENATA

### 2.1.1. Vježba 1: Određivanje klorofila a, klorofila b i ukupnih klorofila

Osnovna uloga klorofila je apsorpcija svjetlosne energije koja se zatim u procesu fotosinteze pretvara u kemijsku energiju. Optičke osobine pigmentnih spojeva zasnivaju se na kemijskoj strukturi njihovih molekula. Apсорpcija vidljivog dijela spektra ovisi o prisustvu sustava konjugiranih dvostrukih veza u njihovim molekulama. Modrozeleni klorofil a i žutozeleni klorofil b apсорbiraju vidljivi dio spektra i imaju maksimume apсорpcije u crvenom (600-700 nm) i plavom (400-500 nm) dijelu spektra. Poznato je nekoliko validiranih metoda za određivanje klorofila u biljnim uzorcima. U ovoj vježbi klorofilni pigmenti određivat će se spektrofotometrijski metodom po Holmu (1954) i Wetsteinu (1957). Cilj ove metode je odrediti koncentraciju kloroplastnih pigmenata (klorofil-a, klorofil-b i ukupnih klorofila a i b) u acetonskom ekstraktu biljnog materijala, te preračunati koncentracije na mg/g svježe tvari.

#### *Aparatura i pribor:*

- vaga
- tarionik i tučak
- Büchnerov lijevak
- Erlenmeyerova tikvica (300 mL)
- vakuum pumpa na vodeni mlaz
- odmjerna tikvica od 25 mL
- spektrofotometar (Shimadzu UV 1650 PC)

#### *Kemikalije:*

- aceton (p.a.)

- magnezijev karbonat ( $\text{MgCO}_3$ )
- kvarcni pijesak

*Postupak određivanja:*

Postupak ekstrakcije i određivanja pigmenata treba izvoditi brzo, u zamračenim uvjetima. Odvagati uzorak voća ili povrća mase 6 g i prenijeti u tarionik. Na uzorak dodati oko pola žličice kvarcnog pijeska, pola žličice praha  $\text{MgCO}_3$  (zbog neutralizacije kiselosti) i 10 mL acetona. Smjesu usitniti tučkom u tarioniku, te kvantitativno acetonom prenijeti na Büchnerov lijevak. Uzorak ekstrahiran acetonom filtrirati preko vakuuma. Nakon što se macerat profiltrira filtrat kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu od 25 mL, koja se nadopuni do oznake acetonom. Spektrofotometrom očitati apsorbancu u dobivenom filtratu pri valnim duljinama 662, 644 i 440 nm koristeći aceton kao slijepu probu.

Dobivene vrijednosti apsorpcije (662A, 644A i 440A) uvrstiti u Holm- Weststainove jednačbe za izračunavanje koncentracije pigmenata u  $\text{mg/dm}^3$ :

$$\text{klorofil } a = 9,784 \times A_{662} - 0,990 \times A_{644} \text{ mg/L}$$

$$\text{klorofil } b = 21,426 \times A_{644} - 4,65 \times A_{662} \text{ mg/L}$$

$$\text{klorofil } a + b = 5,134 \times A_{662} + 20,436 \times A_{644} \text{ mg/L}$$

$$\text{karotenoidi} = 4,695 \times A_{440} - 0,268 \times (\text{klorofil } a + b) \text{ mg/L}$$

Brojevi u jednačbama su molarni apsorpcijski koeficijenti po Holmu i Wetsteinu.

Formula za izračunavanje koncentracije pigmenata na  $\text{mg/g}$  svježe tvari ploda glasi:

*Račun:*

$$c \text{ mg g} = \frac{c1 \times V}{m}$$

Gdje je:

c – masena koncentracija pigmenata izražena u  $\text{mg/g}$  svježe tvari ploda

c1 – masena koncentracija pigmenata izražena u  $\text{mg/L}$

V – volumen filtrata (odmjerne tikvice) mL

m – masa uzorka izražena u mg

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.1.2. Vježba 2: Određivanje sadržaja $\beta$ -karotena

Metoda se bazira na odjeljivanju biološki aktivnih od ostalih karotenoidnih pigmenta u nekom ekstraktu pomoću specifičnog adsorbensa s različitim afinitetom na različite pigmente. Pod određenim uvjetima različiti materijali mogu se razdijeliti na relativno oštre zone ili vrpce (kolonska kromatografija) (Katalinić i sur., 2010). Pojedini pigmenti pokazuju karakteristične apsorpcijske maksimume, kod kojih se njihova koncentracija može odrediti fotometrijski. Apsorpcijski spektar svih fotosintetski aktivnih karotenoida pokazuje tri karakteristična apsorpcijska maksimuma (violaksantin i neoksantin) ili dva maksimuma s jednim manje izraženim (lutein i  $\alpha$ -i  $\beta$ -karoten) u plavom dijelu spektra ( $\lambda = 400$  nm). U ovoj vježbi određivanje sadržaja  $\beta$ -karotena provedeno je prema Booth spektrofotometrijskoj metodi (Booth, 1957).

### *Aparatura i pribor:*

- staklena čaša
- stakleni štapić
- staklene kivete
- lijevak za odjeljivanje
- vata

### *Kemikalije:*

- adsorbens – smjesa jednakih dijelova  $\text{Al}_2\text{O}_3$  i bezvodnog  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  aktivira se zagrijavanjem na  $150$  °C 12-16 sati
- petroleter (t.v.  $40-70$  °C)
- aceton
- smjesa petroleter-aceton 1:1. Na litru smjese doda se 1 g hidrokinona radi stabilnosti otopine
- 2 %-tna otopina acetona u petroleteru
- kvarcni pijesak
- standard  $\beta$ -karotena

*Postupak određivanja:*

1. Ekstrakcija pigmenta:

U čašu od 50 mL odvagati 1-2 g uzorka (odvagu obavezno zapisati), dodati istu masu kvarcnog pijeska, 5 mL petroleter-acetona (1:1) i sve dobro staklenim štapićem macerirati. Ovako dobiveni ekstrakt ostaviti stajati dok se čvrsti ostaci slegnu. U lijevak za odjeljivanje volumena 250 mL, u koji je uliveno oko 50 mL destilirane vode, dekantirati gornji (plivajući) sloj koji sadrži ekstrahirani karotenoidni sloj, a vlažni zaostali talog dalje macerirati uz slijedećih 5 mL petroleter-acetona (1:1), sve dok se ne razore obojeni djelići uzorka. Maceriranje i dekantiranje ponavljati tako dugo dok se karotenoidni sloj još ekstrahira, odnosno dok je uzorak još uvijek obojen karakterističnom bojom karotenoida. Za većinu materijala dovoljno je 5-8 ekstrakcija.

2. Ispiranje acetona:

Tragove acetona potrebno je potpuno odstraniti iz petroletera. To se postiže ispiranjem destiliranom vodom uz specifičnu aparaturu. Pipac gornjeg lijevka podesi se tako da pušta 100-200 kapi vode u minuti. Višak vode otječe noseći aceton i druge supstance otopljene u vodi ostavljajući karotene u petroleterskom sloju. Kada je ispiranje završeno vodeni sloj je bistar čak i dok padaju kapi vode.

3. Pročišćavanje petroleterskog eluata:

Eluat prenijeti u odmjernu tikvicu odgovarajućeg volumena, ovisno o količini ekstrahiranog uzorka karotena (10, 25 ili 50 mL) i nadopuniti petroleterom do oznake.

4. Spektrofotometrijsko očitavanje:

Intenzitet boje ekstrakta mjeri se pri valnoj duljini od 450 nm, prema petroleteru kao slijepoj probi. Standardna krivulja izradi se pomoću standarda  $\beta$ -karotena ili smjese od 90 % beta i 10 % alfa karotena otapanjem u petroleteru. Koncentracija karotena konačne otopine izražava se u  $\mu\text{g}\%$ .

*Račun:*

$$\mu\text{g}\% = \frac{V}{m} \times 100 \times c$$

Gdje je :

V (mL) - konačni volumen eluata

m (g) - masa uzorka

$c$  (g/mL)- koncentracija karotena očitana iz dijagrama za izmjerenu vrijednost apsorbance (spektrofotometrijsko očitavanje)



NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## **2.2. DOKAZIVANJE PROTEINA U VOĆU I POVRĆU**

Izbor metode određivanja koncentracije proteina ovisi o vrsti materijala, količini uzorka i o koncentraciji proteina u nekom uzorku. Najčešće metode za određivanje sadržaja proteina u sirovom uzorku (nepročišćenom ekstraktu) su Biuret metoda, Lowry metoda, Bradford metoda, ksantoproteinska reakcija, Millonova reakcija i td. Određivanje sadržaja proteina u navedenim reakcijama i metodama temelji se na vezanju specifičnoga bojenog reagensa na molekulu proteina. Pritom dolazi do pomaka apsorpcijskog maksimuma boje vezanog reagensa u odnosu na apsorpcijski maksimum boje nevezanog reagensa (Lisjak i sur, 2009).

### **2.2.1. Vježba 3: Specifične reakcije za dokazivanje prisutnosti proteina u voću i povrću**

Za dokazivanje proteina koristi se više karakterističnih obojenih reakcija koje se temelje na dokazivanju različitih vrsta proteina ovisno o strukturi njihove građe. U ovim vježbama za kvalitativno dokazivanje proteina u različitim sirovinama koristit će se ksantoproteinska i biuret reakcija. Ksantoproteinska reakcija dokazuje prisutnost aminokiselina koje u sastavu svoje molekule imaju benzensku jezgru. Reakcija se temelji na djelovanju dušične kiseline i onih aminokiselina u polipeptidnom lancu koje sadržavaju benzenske jezgre (npr. tirozin, fenilalanin). Spojevi, odnosno produkti koji nastaju djelovanjem dušične kiseline na tvari koje sadržavaju benzenske jezgre općenito su žuto obojeni. Dušična kiselina izaziva grušanje otopine uzorka koji sadrži proteine. Zagrijavanjem zgrušane otopine uzorka, boja se promijeni u svijetložutu, a dodatkom otopine amonijaka u narančastu. To je dokaz da ispitivani uzorak sadrži proteine. Biuret reakcija koristi se za dokazivanje prisutnosti peptidne veze. Reagens koji se koristi u biuret reakciji za dokazivanje peptidne veze je bakrov (II) sulfat. Naime, u lužnatoj

otopini proteini hidroliziraju na aminokiseline koje s bakrovim (II) ionima daju ljubičasto obojenje. Stvara se kompleks između  $\text{Cu}^{2+}$  iona i dušikovih atoma iz amino skupine u polipeptidnom lancu.

*Aparatura i pribor:*

- porculanski tarionik i tučak
- epruvete
- kapaljka
- držač za epruvete

*Kemikalije:*

- koncentrirana dušična kiselina ( $\text{HNO}_3$ )
- amonijak ( $\text{NH}_3$ )
- crveni lakmus papir
- 20 %-tna otopina natrijeva hidroksida ( $\text{NaOH}$ )
- bakrov (II) sulfat ( $\text{CuSO}_4$ )

*Ksantoproteinska reakcija*

*Postupak određivanja:*

Na sitne komadiće narezati uzorak voća ili povrća i dodatno ga u porculanskom tarioniku tučkom macerirati. Usitnjeni i homogenizirani uzorak prebaciti u epruvetu. Na uzorak dodati nekoliko kapi koncentrirane dušične kiseline. Nastali talog pažljivo zagrijavati na laganom plamenu. Nakon zagrijavanja ostaviti sadržaj epruvete da se ohladi. Nakon hlađenja dodavati otopinu amonijaka dok otopina ne postane lužnata (crveni lakmus papir koristiti kao indikator).

*Biuret reakcij*

*Postupak određivanja:*

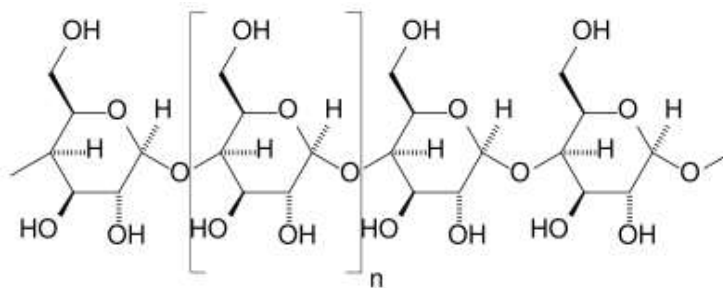
Usitnjeni i homogenizirani uzorak voća ili povrća prebaciti u epruvetu. Na uzorak dodavati 20 %-ni natrijev hidroksid sve dok otopina ne postane lužnata (uz crveni lakmus papir kao indikator). Sadržaj epruvete promućkati, te dodati kap otopine bakrova (II)

sulfata. Sadržaj epruvete ponovno promućkati. Nakon reakcije u epruveti bi se trebalo uočiti ljubičasto obojenje otopine. Ukoliko je prilikom dodavanja bakrova (II) sulfata dodana veća količina navedenog reagensa, višak bakrovih iona uzrokuje stvaranje plavozelenog taloga bakrova (II) hidroksida. Zbog toga se ljubičasta boja ne vidi iako uzorak možda sadrži proteine.

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

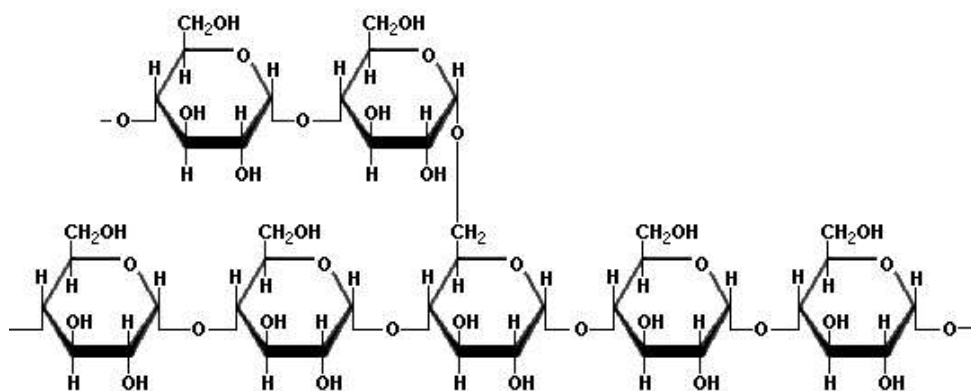
## 2.3. DOKAZIVANJE ŠKROBA U VOĆU I POVRĆU

Škrob je građen od dviju različitih molekula: amiloze i amilopektina. Amiloza je linearni polimer glukoze (Slika 24) u kojem su  $\alpha$ -D-glukoze povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama. Može biti izgrađena i od nekoliko tisuća molekula glukoze.



Slika 24. Struktura molekule amiloze (Jašić, 2009)

Amilopektin je visoko molekularni polimer s razgranatim lancima izgrađenim od jedinica D-glukoze. Glukozni monomeri su povezani  $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4) glikozidnim vezama u strukturu ravnog lanca, zatim  $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6) glikozidnim vezama na mjestima grananja i ponekom  $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3) glikozidnom vezom što amilopektinu daje razgranat oblik (Slika 25).



Slika 25. Struktura molekule amilopektina (Jašić, 2009)

### 2.3.1. Vježba 4: Dokazivanje prisutnosti škroba Sachsovom probom

Prisutnost škroba u biljnom materijalu dokazuje se Lugolovim reagensom tzv. Sachsovom probom. Dokazivanje se zasniva na promjeni boje Lugolovog reagensa. Lugolov reagens je žućkaste boje, no u prisutnosti škroba dolazi do promjene boje u modru. Promjena boje temeljena je kemijskom strukturom molekule škroba. Naime, molekule glukoze koje grade molekulu škroba formiraju uzvojnici unutar koje se mogu inkorporirati atomi joda. Ostali polisaharidi, kao i monosaharidi ne daju pozitivnu reakciju s Lugolovim reagensom.

#### *Aparatura i pribor:*

- epruvete
- kapaljka
- držač za epruvete

#### *Kemikalije:*

- Lugolov reagens (otopina joda u kalijevom jodidu)

#### *Postupak određivanja:*

U epruvete staviti različite uzorke voća, povrća i drugih prehrambenih namirnica. Na svaki od uzoraka kapnuti kap Lugolova reagensa. Promatrati promjene!

Zatim u epruvetu s pripremljenom otopinom škroba dodati nekoliko kapi Lugolovog reagensa, sadržaj epruvete promućkati i lagano zagrijati. Nakon zagrijavanja sadržaj epruvete ostaviti da se ponovno ohladi. Opisati promjene!

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:



## 2.4. UGLJIKOHIDRATI U VOĆU I POVRĆU

Reducirajući šećeri su svi šećeri koji imaju keto ili aldehidnu funkcionalnu skupinu, kao što su to na primjer glukoza i fruktoza, te pentoze. Saharoza je disaharid čijom hidrolizom nastaje jedna molekula glukoze i jedna molekula fruktoze koje se zajedničkim imenom nazivaju invertni šećeri. Saharoza u svojoj molekuli nema slobodnu aldehidnu grupu, te kao takva ne može reducirati Fehlingovu otopinu, na čemu se zasniva metoda određivanja šećera.

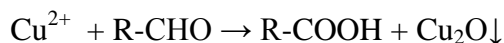
### 2.4.1. Vježba 5: Određivanje ukupnih šećera po Luff-Schoorlu

Za određivanje ugljikohidrata u prehrambenim namirnicama koristi se veliki broj analitičkih metoda koje se mogu klasificirati kao:

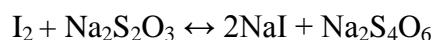
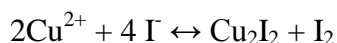
- metode koje se temelje na redukcijским svojstvima šećera: neselektivne i selektivne,
- polarimetrijske metode,
- fotometrijske metode,
- kromatografske metode,
- enzimске metode.

Metoda po Luff-Schoorlu je neselektivna redukcijска metoda kojom se određuje sadržaj aldoza (glukoza) i ketoza (fruktoza), a koja se temelji na svojstvu molekula ugljikohidrata koje imaju slobodnu hidroksilnu -OH skupinu (reducirajući šećeri) da reduciraju ione bakra ( $\text{Cu}^{2+}$ ) iz alkalnih otopina kompleksa bakra. Primjenom metode po Luff-Schoorlu mogu se odrediti ukupni šećeri (reducirajući i nereducirajući) tako da se prvo izvrši kisela hidroliza nereducirajućih šećera (disaharida). Luff-Schoorlova otopina sadrži bakrov (II) sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ), otopinu limunske kiseline i natrijev karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) kojim se osigurava alkalna sredina. U međusobnoj reakciji otopine šećera i Luff-Schoorlova

reagensu,  $\text{Cu}^{2+}$  ion se reducira u bakrov (I) oksid ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ), dok šećeri u alkalnoj sredini oksidiraju u organske kiseline.



Nereducirani ioni bakra u kiseloj sredini u reakciji s kalijevim jodidom (KI) daju ekvivalentnu količinu elementarnog joda ( $\text{I}_2$ ) koji se određuje titracijom s natrijevim tiosulfatom ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) uz škrob kao indikator.



Količina šećera koja je sudjelovala u redukciji iona bakra određuje se iz razlike količine ukupnih dvovalentnih iona bakra prisutnih u reagensu (slijepa proba) i preostalih nereduciranih dvovalentnih iona bakra (analiza). Iz razlike utrošenog  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  za titraciju slijepa probe i uzorka, prema Tablici 41 očitava se sadržaj šećera u korištenom alikvotu osnovnog filtrata.

Tablica 41. Količine šećera u uzorku

Otopina $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,05 M) mL	Glukoza, fruktoza (invertni šećer) mg	razlika
1	2,4	-
2	4,8	2,4
3	7,2	2,4
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,5
8	19,8	2,5
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,6
12	30,2	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,7
15	38,5	2,8
16	41,3	2,8

17	44,2	2,9
18	47,1	2,9
19	50,0	2,9
20	53,0	2,9
21	56,0	2,9
22	59,1	3,1
23	62,2	3,1

---

*Aparatura i pribor:*

- tehnička vaga
- vodena kupelj
- čaša (400 mL)
- menzura
- stakleni štapić
- običan lijevak
- klipna pipeta (5, 10 i 25 mL)
- bireta
- konusna tikvica (300 mL)
- odmjerna tikvica (100 mL i 250 mL)
- kuglice za vrenje
- crveni lakmus papir

*Kemikalije:*

- Luffov reagens
- natrijev tiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ;  $c = 0,05 \text{ M}$ )
- otopina šlroba
- sulfatna kiselina ( $c = 3 \text{ M}$ )
- otopina kalij jodida (30 %)
- natrijev hidroksid ( $c = 0,1 \text{ M}$  i  $1 \text{ M}$ )
- klorovodična kiselina ( $c = 0,1 \text{ M}$ )
- koncentrirana klorovodična kiselina

- otopina Carez I (otopi se 21,95 g cinkova acetata dihidrata i 3 g octene kiseline p.a., te doda 100 mL destilirane vode)
- otopina Carez II (otopi se 10,6 g kalijeva heksacijanoferata trihidrata i doda 100 mL destilirane vode).

*Priprema uzorka:*

U čašu volumena 400 mL odvagati 5 g dobro usitnjenog uzorka (odvagu zapisati) i dodati 150 mL destilirane vode. U otopinu dodati redom 5 mL otopine Carez I i 5 mL otopine Carez II (sredstva za bistrenje) kako bi se uklonile balastne tvari (proteini, pektini, tanini, boje, anioni, kationi). Nakon svakog dodavanja otopine Careza smjesu je potrebno staklenim štapićem dobro promiješati. Cjelokupnu količinu otopine kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu volumena 250 mL, nadopuniti destiliranom vodom do oznake, promiješati i filtrirati. To je filtrat I.

*Postupak određivanja reducirajućih šećera (prirodni invert):*

U odmjernu tikvicu od 100 mL otpipetirati 25 mL filtrata I te tikvicu do oznake nadopuniti destiliranom vodom. U konusnu tikvicu od 300 mL otpipetirati 25 mL Luffovog reagensa i 25 mL filtrata I, te dodati kuglice za vrenje. Konusna tikvica zagrijava se prvo izravno na plamenu, do vrenja, nakon čega se spoji s povratnim hladilom. Otopinu ostaviti da vrije 10 min, nakon čega se skine s plamenika i hladi pod mlazom hladne vode dok postigne sobnu temperaturu. Nakon hlađenja, u konusnu tikvicu dodati 10 mL otopine kalijeva jodida (30 %) i postupno uz miješanje, 25 mL 3 M sulfatne kiseline. Takvu otopinu titirati s 0,05 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  uz stalno miješanje do pojave žute boje. Zatim, u tikvicu dodati 5 mL otopine škroba i nastaviti titiranje  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  dok se plava boja potpuno izgubi. U istim uvjetima napraviti i slijepu probu: 25 mL Luffova reagensa, 25 mL destilirane vode, kuglice za vrenje i otopinu zagrijavati 10 min.

*Račun:*

Prvo se izračuna razlika u volumenima (mL) između volumena dobivenog prilikom titracije slijepa probe (Sp) i titracije uzorka (P). Na primjer ako je za slijepu probu utrošeno 24,9 mL otopine  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , a za titraciju pokusa 20,9 mL iste otopine razlika je;

(Sp-P)= 24,9 mL – 20,9 mL= 4,0 mL. Dobivena vrijednost m1 u mg invertnog šećera prema razlici Sp i P očitava se prema tablici 1. Za izračunatu razliku od 4 mL ona prema Tablici 1 iznosi 9,7 mg te se ta vrijednost uvrštava u sljedeću formulu:

$$\% \text{ prirodnog inverta} = \frac{250 \times 100 \times m1 \times 100}{m \times 25 \times 25 \times 1000}$$

Gdje je:

m1- vrijednost očitavanja mg invertog šećera iz Tablice 41

m- masa uzorka za pokus (g)

Što kada razlika između Sp i P nije cijeli broj?

Tablica 41 osim kolona s utrošenim volumenima (mL) za titraciju Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> i mg invertnog šećera podrazumijeva kolonu razlika. Naime, kada se na primjer za slijepu probu utroši 25,40 mL otopine Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, a za pokus 21,30 mL onda se vrijednost iz tablice 1 očitava na sljedeći način:

- prvo se izračuna razlika između Sp i P; (Sp-P= 25,40 mL–21,30 mL= 0,1 mL).
- tablica 1 omogućuje očitavanje samo cijelih brojeva pa je ovu razliku u decimali potrebno izračunati prema vrijednostima iz kolone razlika. U tablici 1 gledaju se očitavanja za razlike između brojeva 4 i 5 s obzirom da je u pokusu dobiven broj od 4,1 odnosno da je potrebno pribrojiti i 0,1, taj se broj (0,1) pomnoži s očitanjem za broj 4 iz kolone razlika koji iznosi 2,5; odnosno

$$2,5 \times 0,1 = \mathbf{0,25}$$

Sada se dobiveni broj razlike (0,25) pribroji očitavanju mg iz kolone 1 za broj 4; odnosno pribroji se broju 9,7 mg:

$$9,7 \text{ mg} + 0,25 = \mathbf{9,95 \text{ mg}}$$

Dobivena vrijednost od 9,95 mg uvrštava se u formulu za izračunavanje postotka prirodnog inverta za oznaku m1.

*Postupak određivanja ukupnog inverta (nereducirajući šećeri):*

U odmjernu tikvicu od 100 mL otpipetirati 10 mL filtrata I (prvog nerazrijeđenog), 30 mL destilirane vode i 0,5 mL koncentrirane klorovodične kiseline. Odmjernu tikvicu sa sadržajem staviti na kipuću vodenu kupelj te invertirati 30 min. Otopinu ohladiti i neutralizirati s 1 M natrijevim hidroksidom uz crveni lakmus papir kao indikator. Nakon neutralizacije, tikvicu destiliranom vodom nadopuniti do oznake (uzorak 1). Daljnji je postupak isti kao kod određivanja prirodnog inverta. Odnosno u konusnu tikvicu od 300 mL otpipetirati 25 mL Luffovog reagensa i 25 mL dobivenog uzorka 1, zagrijavati 10 min uz hladilo, i titirati prema navedenom protokolu.

*Račun:*

$$\% \text{ ukupnog inverta} = \frac{250 \times 100 \times m_1 \times 100}{m \times 10 \times 25 \times 1000}$$

Gdje je:

m<sub>1</sub>- vrijednost očitavanja mg šećera iz Tablice 41

m- masa uzorka za pokus (g)

*Izračunavanje postotka saharoze:*

$$\% \text{ saharoze} = (b - a) \times 0,95$$

Gdje je:

a- % prirodnog inverta

b- % ukupnog inverta

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.5. ODREĐIVANJE KOLIČINE NATRIJEVOG KLORIDA U VOĆU I POVRĆU

Veliki broj prehrambenih namirnica koje svakodnevno konzumiramo prirodni su izvori natrija. Također, sol kao začin dodatno se dodaje hrani u svrhu konzerviranja ili poboljšanja okusa. Nažalost, samo 5 % unosa natrija dolazi iz prirodnih izvora. Na gotove, industrijski proizvedene namirnice otpada 45 % od unosa. Najčešći izvor natrija u hrani je industrijski procesirana hrana, polugotovi obroci i pripravci u čijoj se proizvodnji standardno koristi sol: sirevi, kiseli krastavci, slana peciva, a potom i bilo koji oblik industrijski proizvedene hrane. Kuhinjska sol je prirodni konzervans, i neizostavni sastojak kod pripreme svih ukiseljenih proizvoda od povrća, ribe ili mesa. Kalij je široko rasprostranjen u hrani, osobito u voću i povrću; prirodni izvori kalija su: avokado, sušena marelica, krumpir, grah, rajčica, banana, brokula, artičoka, narančin sok (Banjari, 2008).

### 2.5.1. Vježba 6: Određivanje natrijevog klorida standardnom metodom za voće i povrće

Metoda određivanja količine natrijevog klorida u uzorcima voća i povrća temelji se na titracijskoj promjeni bijele boje taloga u crveno smeđu. Naime, kromatni ioni ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) u neutralnom mediju sa srebrom daju crveno smeđi talog prema reakciji:



*Aparatura i pribor:*

- odmjerna tikvica volumena 200 mL
- lijevak
- čaša
- filter papir
- stakleni štapić



- porculanska zdjelica
- klipna pipeta volumena 10 mL
- klipna pipeta volumena 2 mL

*Kemikalije:*

- kalijev kromat ( $K_2CrO_4$ ),
- otopina srebrova nitrata  $c=0,1$  mol/L ( $AgNO_3$ )

*Postupak određivanja:*

Odvagnuti 20 g uzorka i kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu volumena 200 mL. Tikvicu do oznake dopuniti destiliranom vodom, sadržaj dobro promućkati i profiltrirati. Otpipetirati 10 mL filtrata u porculansku zdjelicu, dodati 2 mL kalijevog kromata ( $K_2CrO_4$ ) i titirati otopinom srebrova nitrata ( $AgNO_3$ ;  $c=0,1$  mol/L) poznatog faktora do promjene boje u crvenkasto-smeđu.

*Račun:*

$$\% NaCl = \frac{V_{AgNO_3} \times F(AgNO_3) \times 0,005846}{D} \times 100$$

Gdje je:

V ( $AgNO_3$ )- volumen  $AgNO_3$  utrošen za titraciju [mL]

F ( $AgNO_3$ )- faktor otopine  $AgNO_3$

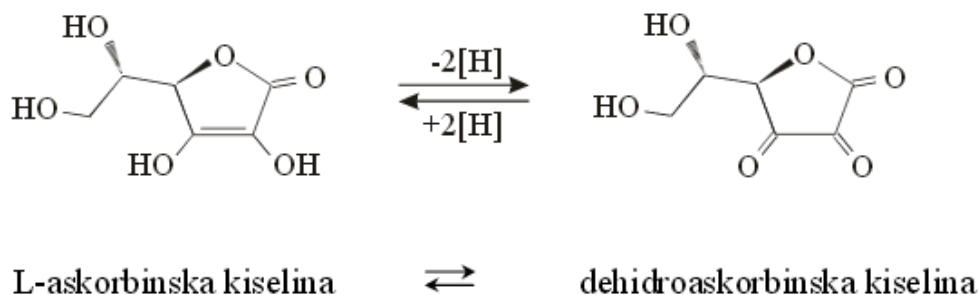
D- masa uzorka u filtratu [g]

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.6. ODREĐIVANJE VITAMINA C U VOĆU, POVRĆU I PRERAĐEVINAMA

U namirnicama, točnije voću i povrću, askorbinska kiselina (vitamin C) je stabilna samo u suhom obliku, dok je u vodenom mediju stabilna samo u odsustvu kisika, u suprotnom vrlo brzo dolazi do njene oksidacije. Oksidaciju i razgradnju askorbinske kiseline potiče i niz faktora: utjecaj svjetlosti, povišena temperatura, enzimi, teški metali i bazične reakcije (alkalni medij). Najznačajniji izvori vitamina C su svježe voće i povrće poput: paprike, brokule, agruma, jabuke, šipka, bobičastog voća itd.

U svježem biljnom materijalu prevladava L-askorbinska kiselina. U prisustvu enzima oksidaze dolazi do oksidacije L-askorbinske kiseline u dehidroaskorbinsku kiselinu (Slika 26).



Slika 26. Oksidacija L-askorbinske kiseline (Generalić i Krka, 2012)

Metode određivanja L-askorbinske kiseline, odnosno dehidroaskorbinske kiseline temelje se na njihovim fizičko-kemijskim i fiziološkim osobinama (biološke metode), a sve metode određivanja ukupnog vitamina C na reverzibilnosti sustava. Metode određivanja L-askorbinske kiseline i dehidroaskorbinske kiseline, mogu se podijeliti u dvije osnovne grupe: oksidometrijske titracije i kolorimetrijski postupci. Kolorimetrijski postupci temelje se na određivanju intenziteta specifičnog reagensa koji s vitaminom C daje karakteristično obojenje. Često se navedene metode temelje na specifičnom UV-apsorpcijskom spektru koji se određuje spektrofotometrijski. Navedena metoda nije strogo

selektivna zbog utjecaja mnogih faktora na apsorpciju i rijetko se koristi (kod čistih preparata). Oksidimetrijske titracije askorbinske kiseline se zasnivaju na jakim redukcijskim osobinama endiolne grupe, odnosno na redukciji primijenjenog reagensa i oksidaciji askorbinske kiseline u dehidroaskorbinsku kiselinu. Kao oksidacijska sredstva se koriste: 2,6-diklorfenolindofenol, kloramin, metilensko plavo i dr. Oksidometrijske titracije su brze i jednostavne, ali nisu strogo specifične jer s navedenim reagensima, osim askorbinske kiseline, reagiraju i mnogi drugi prirodni spojevi koji posjeduju redukcijske osobine (Generalić i Krka, 2012). Od metoda koje se koriste za određivanje vitamina C u uzorcima voća i povrća ubrajamo i HPLC metodu. HPLC metoda je jedna od najpouzdanijih metoda za određivanje vitamina C, a prvenstveno zbog visoke osjetljivosti i preciznosti u dobivanju rezultata (Vinko, 2012).

### 2.6.1. Vježba 7: Određivanje sadržaja vitamina C

U literaturi su opisane različite metode određivanja udjela L- askorbinske kiseline, dehidroaskorbinske kiseline i njihovog ukupnog sadržaja (vitamina C), a zasnivaju se na reverzibilnoj sposobnosti sustava (Slika 29). 2,6-diklorfenolindofenol oksidira L-askorbinsku kiselinu u dehidroaskorbinsku kiselinu, dok boja reagensa ne prijeđe u bezbojnu leukobazu, pa služi istovremeno i kao indikator ove redoks reakcije. Ova se metoda primjenjuje za određivanje askorbinske kiseline u proizvodima od voća i povrća.

#### *Aparatura i pribor:*

- tehnička vaga
- odmjerna tikvica volumena 100 mL
- čaša volumena 100 mL
- lijevak
- filter papir
- Erlenmeyerova tikvica
- bireta

#### *Kemikalije:*

- oksalna kiselina (2%)
- 2,6-diklorfenolindofenol (svježe pripremljen)

#### *Postupak određivanja:*

Na odmjernu tikvicu od 100 mL postaviti običan lijevak te preko njega u tikvicu izvagati 10 g uzorka na tehničkoj vagi (s točnošću  $\pm 0,01$ ). Takav uzorak kvantitativno prenijeti u tikvicu pomoću 2 %-tne otopine oksalne kiseline. Tikvicu nadopuniti do oznake otopinom oksalne kiseline (2 %). Sadržaj iz odmjerne tikvice profiltrirati, a dobiveni filtrat dalje koristiti za određivanje askorbinske kiseline. Otpipetirati 10 mL filtrata u Erlenmeyerovu tikvicu volumena 50 mL i titrirati otopinom 2,6-diklorfenolindofenola do pojave ružičaste boje koja mora biti postojana barem pet sekundi. Iz volumena 2,6-

diklorfenolindofenola utrošenog za titraciju filtrata, izračunati količinu L-askorbinske kiseline (vitamina C) u uzorku, koja se izražava u mg/100g svježe mase.

*Račun:*

$$\text{Vitamin C mg 100g svježe tvari} = \frac{V \times F}{D} \times 100$$

Gdje je:

V - mL utrošenog 2,6-diklorfenolindofenola pri titraciji

F\* - faktor otopine 2,6-diklorfenolindofenola

D - masa uzorka u filtratu u gramima

**\*Određivanje faktora otopine 2,6-diklorfenolindofenola:**

Za određivanje faktora otopine 2,6-diklorfenolindofenola potrebno je napraviti otopinu askorbinske kiseline koja će se titrirati otopinom 2,6-diklorfenolindofenola. Prema očitanoj volumenu potrebnog 2,6-diklorfenolindofenola izračuna se faktor te otopine. U odmjernu tikvicu od 50 mL na analitičkoj vagi odvagane se  $\pm 0,0100$  g askorbinske kiseline, a tikvica nadopuni do oznake 2 %-tnom otopinom oksalne kiseline. U Erlenmeyerovu tikvicu od 50 mL otpipetira se 5 mL 2 %-tne otopine oksalne kiseline i 5 mL pripremljene otopine askorbinske kiseline te se titrira otopinom 2,6-diklorfenolindofenola do pojave ružičaste boje koja mora biti postojana. Iz podatka utrošenog volumena otopine 2,6-diklorfenolindofenola potrebnog za titraciju određene mase askorbinske kiseline izračuna se faktor (F) otopine 2,6-diklorfenolindofenola.

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.7. ODREĐIVANJE SADRŽAJA SUMPORA

Sulfiti, odnosno općenito sumporni spojevi koji sadrže sumporov dioksid (npr. natrijev i kalijev bisulfit, natrijev i kalijev metabisulfit, sumporasta kiselina i dr.) djeluju i kao kemijski konzervansi (E220) i kao antioksidansi. Osobito su djelotvorni u sprječavanju enzimskog posmeđivanja kod voća koje nije termički tretirano. Sumporov dioksid se često koristi u proizvodnji sušenog voća i povrća, voćnih sokova, sirupa, koncentrata i pirea.

Postoji nekoliko analitičkih metoda za utvrđivanje količine ukupnog SO<sub>2</sub> u nekom proizvodu:

- a) metoda po Paulu (aeracijsko-oksidacijska metoda, uobičajena metoda): uglavnom se primjenjuje u proizvodnji voćnih sokova
- b) metoda po Ripperu: za razliku od metode po Paulu, ova metoda je brza i jednostavna, a pogodna je za određivanje količine ukupnog SO<sub>2</sub> u krutim uzorcima (npr. sušenom voću).

Količine sumpora koje se zadržavaju u hrani nakon sumporenja nemaju štetan učinak na ljude, osim što mogu izazvati probleme kod osoba alergičnih na sumpor (sulfitna astma); glavobolje i mučnine kod osjetljivijih osoba (npr. ako vino sadržava više od 25 mg/L); crvenilo, konjuktivitis itd. Dozvoljena količina sumpora u uzorku koji je njime tretiran točno je propisana Pravilnikom, a prvenstveno ovisi o vrsti proizvoda i o kulturi koja se prerađuje (različite vrste voća i povrća), a iz zdravstvenih razloga nije preporučljivo prekoračiti dnevnu dozu sumporovog dioksida od 0,7 mg/kg tjelesne mase. Sumporov dioksid se nalazi na listi alergena koje se, prema direktivi Europskog parlamenta, mora jasno i vidljivo deklarirati kako bi se kupce upozorilo na sastojke hrane koji mogu uzrokovati alergije i/ili intolerancije na hranu, i onda kad se u hrani nalaze u vrlo malim količinama (kao npr. sastojci aditiva, pomoćnih tvari u procesu proizvodnje, aroma i sl.). Međutim, proizvođači hrane dužni su deklarirati ovaj aditiv kao alergen samo ako je hrani dodano više od 10 mg/kg ili 10 mg/L, iako i značajno manje količine sumpora u pojedinim bolesnika s astmom mogu uzrokovati napadaj astme. Često konzumiranje nije preporučljivo.

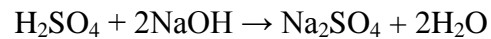
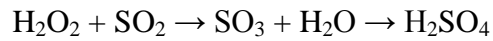


Tablica 42. Primjer prehrambenih sirovina i količina sumporovog dioksida koje se smiju primjenjivati u svrhu konzerviranja proizvoda (<http://e-brojevi.udd.hr/220.htm>)

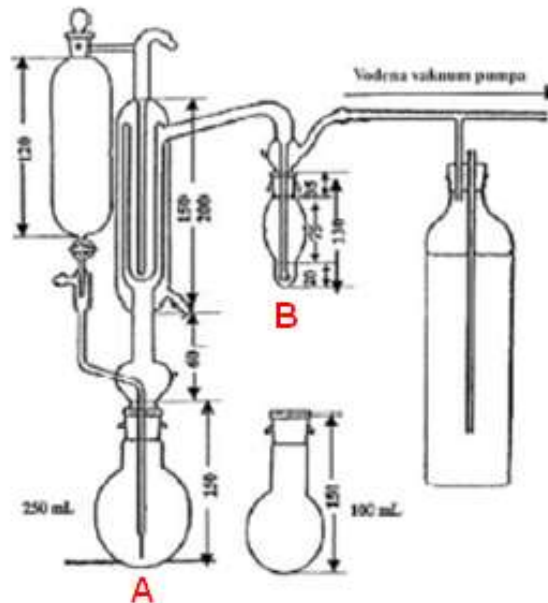
DOPUŠTENA PRIMJENA	KOLIČINA SO <sub>2</sub>
stolno grožđe	10 mg/kg
pivo, bezalkoholni aromatizirani napitci koji sadržavaju voćne sokove	20 mg/L
bijelo prerađeno povrće (uključujući smrznuto i duboko smrznuto bijelo povrće), prerađene gljive (uključujući smrznute gljive); sok od naranče, grejpa, jabuke za upotrebu na veliko u ugostiteljskim objektima	50 mg/kg
povrće i voće u octu, ulju ili salamuri (osim maslina i žutih paprika u salamuri), prerađeni krumpiri, suhe gljive, kandirano, kristalizirano i glazirano voće i povrće, džem, žele i marmelada (osim ekstra džema i ekstra pekmeza) i drugi slični voćni namazi, voćni nadjevi, rehidrirano suho voće u staklenkama, vakuumirani slatki kukuruz	100 mg/kg
vinski, voćni i aromatizirani ocat	170 mg/L
proizvodi od dehidriranog krumpira, bijelo sušeno povrće	400 mg/kg
suhe marelice, breskve, grožđe, šljive i smokve	2000 mg/kg
suhe banane	1000 mg/kg
suhe jabuke i kruške	600 mg/kg
ostalo osušeno voće (uključujući orašaste plodove)	500 mg/kg

### 2.7.1. Vježba 8: Određivanje slobodnog, vezanog i ukupnog SO<sub>2</sub> u jabučnom soku (metodom po Paulu; aeracijsko-oksidacijska metoda)

Sumporov dioksid izdvaja se iz uzorka strujom zraka ili dušika koja se propušta kroz materijal koji se analizira. Takav izdvojeni sumporov dioksid veže se i oksidira provođenjem kroz razrijeđenu i neutralnu otopinu vodikova peroksida. Nastala sumporna kiselina određuje se titracijom sa standardnom otopinom natrijeva hidroksida prema reakciji:



*Aparatura i pribor:*



A – tikvica s okruglim dnom u koju se stavlja uzorak

B – barboter; tikvica u koju se stavlja neutraliziran H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

*Kemikalije:*

- otopina vodikova peroksida,  $w(\text{H}_2\text{O}_2) = 0,03 \%$
- otopina natrijeva hidroksida,  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ M}$
- fosforna kiselina,  $w(\text{H}_3\text{PO}_4) = 25 \%$
- otopina indikatora: u postupku se koristi tzv. miješani indikator odnosno otopina metil-plavog i metil-crvenog (1:1) dodanih u zadanom omjeru

*Postupak određivanja:*

*a) određivanje slobodnog  $\text{SO}_2$*

U običnu čašu otpipetirati 10 mL otopine vodikova peroksida (0,03 %) i dodati dvije do tri kapi miješanog indikatora tako da otopina poprimi ružičastu boju. Otopinu neutralizirati 0,1 M natrijevim hidroksidom do pojave zelene boje te tako pripremljenu otopinu uvoditi u tikvicu B (barboter). U tikvicu A otpipetirati 20 mL voćnog soka i 10 mL fosforne kiseline (25 %) te tikvicu postaviti na aparaturu. Tikvicu A tijekom analize slobodnog  $\text{SO}_2$  potrebno je držati uronjenu u ledenu kupelj kako bi se spriječila disocijacija vezanog  $\text{SO}_2$ . 10-ak min propuštati zrak kroz sustav sve dok se oslobođeni  $\text{SO}_2$  ne oksidira u sumpornu kiselinu što se primjećuje po promjeni boje u tikvici B iz zelene u ružičastu. Nakon 10 min sadržaj iz tikvice B prebaciti u Erlenmeyerovu tikvicu i titrirati s 0,1 M NaOH do pojave zelenog obojenja.

*Račun:*

$$c(\text{slobodnog } \text{SO}_2) \text{ mg/L} = \frac{M \times V \times 32}{v} \times 10000$$

Gdje je:

M – molarna koncentracija otopine NaOH (mol/L)

V – utrošak NaOH za titraciju (mL)

v – količina uzorka za analizu (mL)

*b) određivanje vezanog SO<sub>2</sub>*

Uzorak iz **tikvice A** koji je zaostao od određivanja slobodnog SO<sub>2</sub> se ne mijenja, dok u tikvicu B ponovno pripremiti neutraliziranu otopinu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kao i kod slobodnog SO<sub>2</sub>. Zrak 10 min provoditi kroz aparaturu, ali uz zagrijavanje sadržaja iz tikvice A sve do vrenja. Nakon 10 min sadržaj iz tikvice B titrirati s 0,1 M NaOH do pojave zelenog obojenja.

*Račun:*

$$c (\text{vezanog } SO_2) \text{ mg/L} = \frac{M \times V \times 32}{v} \times 10000$$

Gdje je:

M – koncentracija otopine NaOH (mol/L)

V – utrošak NaOH za titraciju (mL)

v – količina uzorka za analizu (mL)

*c) određivanje ukupnog SO<sub>2</sub>*

Sadržaj ukupnog SO<sub>2</sub> odredi se zbrajanjem dobivenih vrijednosti za slobodni i vezani SO<sub>2</sub>.

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.7.2. Vježba 9: Određivanje ukupnog SO<sub>2</sub> u sušenim uzorcima (metodom po Ripperu)

### *Postupak određivanja:*

U Erlenmeyerovu tikvicu sa šlifom volumena 300 mL na tehničkoj vagi odvagati 5 g uzorka (odvagu zapisati). Dodati 95 mL destilirane vode i dobro promućkati. Zatim dodati 25 mL 1 M natrijeve lužine i tikvicu začepljenu ostaviti stajati 15 min. Nakon stajanja u smjesu dodati 10 mL sumporne kiseline (1:4 razrijeđene vodom) i 5 mL škroba (1g/100 mL) te titirati s 0,005 M otopinom joda do pojave modre boje otopine. Paralelno, na isti način napraviti slijepu probu s destiliranom vodom umjesto uzorka.

### *Aparatura i pribor:*

- Erlenmeyerova tikvica sa šlifovanim grlom (300 mL)
- menzura
- klipna pipeta 10 mL
- klipna pipeta 2 mL
- bireta

### *Kemikalije:*

- 1 M natrijeva lužina (NaOH)
- otopina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:4)
- otopina škroba (1g/100mL)
- 0,005 M otopina joda (I<sub>2</sub>)

### *Račun:*

$$\% SO_2 = \frac{(V(I_2) \times F - V(sp. proba) \times F) \times 0,032}{m}$$

Gdje je:

V- volumen utrošen pri titraciji (mL)

F- faktor otopine

m- odvaga uzorka (g)

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.8. GUSTOĆA OTOPINA

Poznato je nekoliko metoda određivanja gustoće otopina. U ovom priručniku opisane su dvije osnovne metode određivanja gustoće otopine; a) areometrija i b) piknometrijsko određivanje gustoće. U praksi su najzastupljenije metode koje se temelje na areometriji, a prvenstveno zbog toga što se radi o brzim, jednostavnim (relativno) točnim metodama.

Areometrija se kao analitički postupak temelji na poznatom fizikalnom zakonu prema kojem tijelo koje slobodno pliva u tekućini ili otopini, tone, ovisno o gustoći te otopine (Arhimedov zakon). Analitički postupak pri tome se svodi na utvrđivanje numeričkog odnosa gustoće tekućine ili otopine prema gustoći vode na istoj temperaturi. Uređaji koji se pritom koriste zajednički nazivamo areometri, a prema konstrukciji radi se o šupljim, na oba kraja zataljenim staklenim cijevima, u svojim pojedinim dijelovima različite širine, duljine i oblika. Na areometru se razlikuje:

- a) donji, konično prošireni dio cijevi u kojem se nalaze olovne kuglice ili živa, a funkcija mu je da regulira do koje će dubine areometar tonuti te da areometar drži u uspravnom položaju
- b) srednji, prošireni, od donjeg dijela jednim suženjem odvojeni dio, koji se naziva tijelom areometra i u kojem može biti ugrađen termometar
- c) gornji, usko izvučeni i produljeni dio, koji se naziva vrat areometra i u koji je ugrađena skala za očitavanje te oznaka konstrukcijskog tipa i temperatura baždarenja

Skala za očitavanje baždarena je, a prema destiliranoj vodi određena je 0 (nula) na skali za očitavanje. Skala mora biti baždarena na određenoj temperaturi, koja onda na skali mora biti i označena. Sva daljnja mjerenja moraju se provoditi pri temperaturi na koju je skala baždarena. Prema gustoći ispitivane otopine određuje se položaj **0** (nule) na skali. Kod areometara namijenjenih ispitivanju otopina specifično težih od vode, **0** (nula) se mora nalaziti na gornjem, a kod onih namijenjenih ispitivanju otopina specifički lakših od vode, na donjem dijelu skale.

S obzirom na tip konstrukcije i svrhu upotrebe postoji nekoliko vrsta areometara:



a) Brix ili Brixov saharimetar- baždaren je prema otopini čiste saharoze, tako da je uronjen, primjerice u 30 %-tnu šećernu otopinu na temperaturi od 17,5 °C. Razdjelci podjele skale odgovaraju Brixovim stupnjevima (°Bx) ili, ukratko, Brixu. Jedan stupanj Brix (°Brix) odgovara jednom gramu saharoze (1 g) u 100 grama otopine i na taj način predstavlja snagu otopine izraženu kao postotak mase (%w/w).

b) Balling ili Ballingov saharimetar- baždaren je na isti način kao Brixov, s tom razlikom što mu je baždarna temperatura 20 °C. Razdjelci podjele skale odgovaraju Ballingovim stupnjevima (°Blg) ili, ukratko, Ballingu čija je definicija ista kao i za Brixove stupnjeve.

c) Bome ili Bomeov areometar- baždaren je prema otopini natrijevog klorida i samo po tome se razlikuje od Ballinga. Razdjelci podjele skale odgovaraju stupnjevima Bomea (Be°) ili, ukratko, Bomeu. Jedan stupanj Bomea (Be°) odgovara jednom gramu natrijevog klorida (1 g) u 100 grama otopine i na taj način predstavlja snagu otopine izraženu kao postotak mase (%w/w).

d) Alkoholometar- baždaren je prema mješavini vode i alkohola (etanol), a baždarna mu je temperatura 15 °C. Razdjelci podjele skale odgovaraju volumnom postotku alkohola (vol. %).

Areometri mogu služiti za različita analitička ispitivanja, od kojih su najvažnija:

a) određivanje gustoće

Određuje se gustoća raznih otopina, komina i slično. Pri tome se gustoća izražava u odgovarajućim areometarskim stupnjevima, npr. za proizvodnju etanola pripremljena komina treba imati gustoću od 18 do 20 °Blg, i radi provjere tog zahtjeva dovoljno joj je odrediti Ballingovu gustoću.

b) određivanje kvantitativnog sastava

Određuje se količina šećera ili soli u otopinama šećera, odnosno soli, količine alkohola u alkoholnim destilatima i slično, sve izraženo u masenim ili volumnim udjelima. Određivanje može biti izravno i neizravno, ovisno o konstrukcijskom tipu areometra. Izravno određivanje odnosi se na određivanje onog sastojka prema kojem je baždaren areometar. Neizravno određivanje kvantitativnog sastava odnosi se na određivanje sastojka različitog od onog prema kojem je baždaren areometar. Za to određivanje

potrebne su tablice, u kojima je uz areometarski stupanj označen i pripadni postotak traženog sastojka.

Zbog potrebe što efikasnijeg, odnosno bržeg i jednostavnijeg određivanja gustoće neke otopine danas su u upotrebi i razni tipovi digitalnih, prijenosnih denziometara kojim se određuje relativna gustoća neke otopine, a ovisno o modelu uređaja, denziometri očitane gustoće preračunavaju u željene veličine ovisno o potrebi analize i uzorku koji se analizira, poput: gustoće, °Brix, % alkohola, °Baume (Slika 27).



Slika 27. Digitalni denziometar

([http://us.mt.com/dam/mt\\_ext\\_files/Product/Product/4/Densito\\_30PX\\_0x000010083f13f23740022300\\_files/Densito\\_beaker\\_1\\_jpg.jpeg](http://us.mt.com/dam/mt_ext_files/Product/Product/4/Densito_30PX_0x000010083f13f23740022300_files/Densito_beaker_1_jpg.jpeg))

Piknometrijski postupak određivanja gustoće otopine pripada metodama određivanja relativne gustoće otopine prema kojoj se iz tablica može očitati i količina sastojka npr. postotak šećera. Radi se o tzv. denzimetrijskoj metodi prema kojoj se količina pojedinog sastojka u otopini određuju na temelju prethodno izmjerene relativne gustoće te otopine. Uređaje koji se pritom koriste nazivamo piknometri. Piknometri se izrađuju od posebno kvalitetnog stakla (“pyrex”). Donji dio piknometra je proširen i na njemu se nalazi oznaka volumena, a gornji dio je u obliku uskog vrata na kojem je

ubilježena oznaka (marka) do koje se puni piknometar. Rad s piknometrom podrazumijeva i korištenje specifičnog sitnog staklenog posuđa i pribora (lijevci s uskom cijevi, staklene cjevčice, itd. Piknometre koji se koriste za određivanje specifične mase (relativne gustoće) potrebno je redovito umjeravati (baždariti).

## 2.8.1. Vježba 10: Određivanje gustoće otopine saharometrom

*Aparatura i pribor:*

- menzura
- saharometar

*Postupak određivanja:*

Otopinu uzorka temperirati na temperaturu baždarenja saharometra, u cilindar za mjerenje uliti otopinu, te saharometar oprezno uroniti u tekućinu. U visini gdje razina ispitivane tekućine siječe vrat saharometra očitati količinu šećera. Potrebno je pripaziti da saharometar ne dodiruje stjenke cilindra i da gornji dio saharometra nije mokr jer može utjecati na točnost očitavanja stvarne vrijednosti gustoće ispitivane otopine.

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.8.2. Vježba 11: Određivanje gustoće otopine denziometrom

*Aparatura i pribor:*

- čaša
- digitalni denziometar (Mettler Toledo Densito 30PX) (Slika 29)

*Postupak određivanja:*

PRILIKOM RADA S DIGITALNIM DENZIOMETROM OBRATITE SE VODITELJU VJEŽBI ILI TEHNIČKOM OSOBLJU KOJA ĆE BAŽDARITI UREĐAJ.

Instrument je prije očitavanja uzorka potrebno baždariti (prema destiliranoj vodi). Prilikom rada s digitalnim denziometrom, na radnom mjestu odnosno mjestu gdje je napravljeno umjeravanje (baždarenje) instrumenta potrebno je napraviti i sva daljnja očitavanja uzorka. U staklenu čašu uliti otopinu koja se analizira. Važno je da je otopina prije očitavanja sobne temperature. Plastičnu cijev za uzorkovanje digitalnog denziometra uroniti u otopinu, a pomoću stražnje tipke uzorak otopine uvući u mjerni dio instrumenta. Prilikom usisavanja uzorka pripaziti da mjerni dio instrumenta nije ispunjen mjehurićima zraka.

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

### 2.8.3. Vježba 12: Određivanje gustoće otopine piknometrom

*Aparatura i pribor:*

- analitička vaga (s točnošću  $\pm 0,0001$ )
- piknometar
- lijevak za piknometar
- filter papir

*Postupak određivanja:*

Uzorkom napuniti piknometar volumena 50 mL do vrha i staviti u vodenu kupelj temperature 15 °C. Nakon 20 minuta filter papirom odstraniti višak tekućine iznad oznake (marke) piknometra, piknometar izvaditi iz kupelji i osušiti vanjske stjenke piknometra. Nakon 10-minutnog stajanja na sobnoj temperaturi piknometar izvagati na analitičkoj vagi. Iz masa analizirane otopine izraziti gustoću otopine pri 15 °C.

Dobivenu vrijednost usporediti s podacima u tablicama za očitavanje postotka šećera pri 15 °C.

*Račun:*

$$d_{15/15} = \frac{m_1 - m_0}{m_2 - m_0}$$

Gdje je:

$d_{15/15}$ - relativna gustoća otopine pri 15 °C

$m_0$ - masa praznog piknometra (g)

$m_1$ - masa piknometra s uzorkom (g)

$m_2$ - masa piknometra s vodom pri 15 °C (g)



NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.9. ODREĐIVANJE SADRŽAJA FENOLNIH SPOJEVA

Poznato je niz validiranih metoda kojim se određuje sadržaj fenolnih spojeva u nekom uzorku, a obuhvaćaju niz različitih tehnika kao što su:

- UV/VIS spektrofotometrija
- HPLC (visoko djelotvorna tekućinska kromatografija)
- TLC (tankoslojna kromatografija)
- kapilarno-zonska elektroforeza

### 2.9.1. Vježba 13: Određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom

Folin-Ciocalteu metoda zasniva se na obojenoj reakciji koju fenoli razvijaju s Folin-Ciocalteu reagensom. Naime, Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibdene kiseline, koje se pri oksidaciji fenolnih spojeva iz uzorka reduciraju u wolframov oksid i molibdenov oksid koji su plavog obojenja. Intenzitet nastalog obojenja mjeri se spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 750 nm (Ough i Amerine, 1988).

*Aparatura i pribor:*

- tehnička vaga (s točnošću  $\pm 0,01$ )
- konusna tikvica
- odmjerna tikvica (50 i 100 mL)
- obični lijevak
- filter papir
- povratno hladilo

- pipete (1, 2, 5, 10 i 25 mL)
- kivete
- spektrofotometar

*Kemikalije:*

- etanol (80 %)
- Folin-Ciocalteu reagens
- zasićena otopina natrijevog karbonata ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )

*Postupak određivanja:*

*a) Izrada baždarnog pravca*

Za izradu baždarnog pravca odvagati 500 mg galne kiseline, otopiti u 80 %-om etanolu i nadopuniti u odmjernoj tikvici od 100 mL do oznake. Od pripremljene otopine galne kiseline pripremiti razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL, tako da se otpipetira redom 0, 1, 2, 3, 5 i 10 mL standarda (stock otopina) u svaku tikvicu, a potom tikvica nadopuni do oznake 80 %-im etanolom. Koncentracije galne kiseline u tikvicama iznose 0, 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetirati 0,5 mL uzorka u odmjerne tikvice od 50 mL. Potom u tikvice redom dodati: 30 mL destilirane vode, 2,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa (razrijeđenog u omjeru 1:2 destiliranom vodom), takvu otopinu ostaviti stajati 3 min i dodati 7,5 mL otopine zasićenog natrijeva karbonata. Sadržaj tikvica dobro promućkati i nadopuniti destiliranom vodom do oznake. Uzorke ostaviti stajati 2 h na sobnoj temperaturi. Nakon što su uzorci odstajali izmjeriti apsorbancu otopina na spektrofotometru pri valnoj duljini od 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu.

ZADATAK:

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbance nacrtati baždarni pravac u programu Microsoft Excel tako da na apscisi budu koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbance pri 750 nm. Iz dobivenog pravca pomoću programa izrazi jednadžbu pravca i  $R^2$  faktor (koeficijent determinacije)!

*b) Ekstrakcija fenolnih spojeva iz uzorka voća ili povrća*

Na tehničkoj vagi odvagati 10 g uzorka s točnošću  $\pm 0,01$  i homogenizirati s 40 mL 80 %-tnog etanola. Homogenu smjesu kuhati 10 min uz povratno hladilo. Dobiveni ekstrakt filtrirati u odmjernu tikvicu od 100 mL preko naboranog filter papira. Zaostali talog zajedno s filter papirom ponovno prebaciti u tikvicu sa šlifom, dodati 50 mL 80 %-tnog etanola i uz povratno hladilo kuhati još 10 min. Dobiveni ekstrakt spojiti s prethodno dobivenim ekstraktom i odmjernu tikvicu nadopuniti do oznake 80 %-im etanolom. U odmjernu tikvicu od 50 mL otpipetirati 0,5 mL ekstrakta i redom dodati: 30 mL destilirane vode, 2,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa (razrijeđenog u omjeru 1:2 destiliranom vodom) i 7,5 mL otopine zasićenog natrijeva karbonata. Sadržaj tikvice dobro promućkati i nadopuniti destiliranom vodom do oznake. Uzorke ostaviti stajati 2 h na sobnoj temperaturi. Nakon što su uzorci odstajali izmjeriti apsorbancu otopina pri valnoj duljini od 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu.

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:

## 2.10. ODREĐIVANJE SADRŽAJA ANTOCIJANA

Za određivanje antocijana u biljnim uzorcima koriste se različite metode: pH-diferencijalna metoda, tankoslojna kromatografija, kapilarno-zonska elektroforeza (TLC), tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) i td. pH- diferencijalna metoda najčešće se koristi za određivanje sadržaja ukupnih antocijana za voćne kulture i njihove i preradevine. Osim navedenih, još jedna metoda koja se koristi za određivanje antocijana je metoda izbjeljivanja bisulfitom, a koja je primarno namijenjena određivanju antocijana u vinima (Banić, 2013).

### 2.10.1. Vježba 14: Određivanje sadržaja antocijana metodom izbjeljivanja bisulfitom

Određivanje sadržaja antocijana metodom izbjeljivanja bisulfitom temelji se na principu da se  $\text{HSO}_3^-$  ion veže na 2' položaj molekule antocijana, te tako prevodi obojeni kation antocijana u bezbojni leuko oblik. Istovremeno se kontrolni uzorak tretira destiliranom vodom, a zatim se kolorimetrijski određuje razlika apsorbancije u oba uzorka. Dobivena razlika označava količinu antocijana u uzorku (Ough i Amerine, 1988).

#### *Aparatura i pribor:*

- Analitička vaga (s točnošću  $\pm 0,0001$ )
- čaša (50 mL)
- epruvete
- pipete (2, 5, 10 i 20 mL)
- kivete
- centrifuga
- spektrofotometar

*Kemikalije:*

- 0,1 % HCl s 96 %-im etanolom (0,1 mL koncentrirane HCl nadopuni se 96 %-im etanolom do 100 mL)
- 2 %-na otopina HCl-a
- 15 %-na otopina natrijog bisulfita (NaHSO<sub>3</sub>)

*Postupak određivanja:*

*a) Priprema uzorka:*

U kivetu odvagati 2 g uzorka s točnošću ±0,0001 (odvagu zapisati). Otpipetirati 2 mL 0,1 % HCl (razrijeđenu s 96 %-im etanolom) i 40 mL 2 %-ne otopine HCl-a. Sadržaj kivete dobro promiješati i staviti na centrifugiranje 10 min pri 4500 o/min. Nakon centrifugiranja bistri dio otopine (supernatant) dekantirati i dalje koristiti za analizu sadržaja antocijana.

*b) Određivanje sadržaja antocijana:*

Nakon centrifugiranja od bistrog dijela otopine koji se dekantirao otpipetirati po 10 mL u dvije epruvete. U jednu epruvetu dodati 4 mL destilirane vode (epruveta 1), a u drugu 4 mL 15 %-og natrijevog bisulfita (epruveta 2). Epruvete ostaviti stajati 15 min na sobnoj temperaturi nakon čega na spektrofotometru izmjeriti apsorbancu pri 520 nm. Slijepa proba je 2 %-na otopina HCl-a.

*Račun:*

$$A_c \text{ mg/L} = 615 \times (A1 - A2)$$

Gdje je:

A<sub>c</sub>- količina antocijana u ispitivanom uzorku (mg/L)

615- faktor preračunavanja najzastupljenijih antocijana

A1- apsorbancija uzorka kojem je dodana voda (epruveta 1)

A2- apsorbancija uzorka kojem je dodana otopina NaHSO<sub>3</sub> (epruveta 2)

NAZIV VJEŽBE:	
IME I PREZIME STUDENTA:	DATUM:
✓ CILJ VJEŽBE:	
✓ KRATAK OPIS VJEŽBE:	
✓ REZULTATI:	
✓ ZAKLJUČAK:	
DATUM PREGLEDA:	POTPIS ODGOVORNE OSOBE:



### 3.0. POPIS LITERATURE

1. Alberts, B. (1989). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing Inc., New York, USA.
2. Anderson, M., Fritsche, K.L. (2002). (n-3) fatty acids and infectious disease resistance. *Journal of Nutrition*, 132: 3566-3576.
3. Arthey, D., Ashurst, P.R. (1995). *Fruit Processing*. Blackie Academic & Professional, London, UK.
4. Baker, R.A. (1997). Reassessment of Some Fruit and Vegetable Pectin Levels. *Journal of Food Science*, 62(2): 225-229.
5. Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191–203.
5. Ball, D.W., Hill, J.W., Scott, R.J. (2016). *The Basics of General, Organic, and Biological Chemistry*, v. 1.0. Dostupno na: <http://catalog.flatworldknowledge.com/bookhub/reader/2547>. Pristupljeno: 20. siječnja 2016.
6. Banić, B. (2013). Usporedno određivanje antocijana u soku višnje maraske primjenom različitih metoda. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Završni rad.
7. Banjari, I. (2008). *Funkcionalna hrana i prehrambeni dodaci*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Osijek.
8. Belitz, H.-D., Grosch, W. (1999). *Food Chemistry*, second edition, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, USA.
9. Bettelheim, F.A., Brown, W.H., Campbell, M.K., Farrell, S.O. (2010). *Introduction to Organic and Biochemistry*. Seventh Edition, Brooks/Cole, Cengage Learning, Belmont, USA.
10. Blok, M.C., Vahl, H.A., de Lange, L., van de Braak, A.E., Hemke, G., Helsing, M. (2002). *Nutrition and Health of the Gastrointestinal Tract*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherland.

11. Bochoy, A.F., Zaikov, G.E., Afanaisev, V.A. (1991). Carbohydrates. VSP, Zeist, Netherland.
12. Booth, V.K. (1957). Carotene, its determination in biological materials. Heffer and Sons Ltd, Cambridge, UK.
13. Brette, I. (2010). The French Paradox. Alpen Editions, Monaco.
14. Buyukokuroglu, M., Gulcin, I., Oktay, M., Kufrevioglu, O. (2001). In vitro antioxidant properties of dantrolene sodium. *Pharmacological Research*, 44: 491–494.
15. Caballero, B. (2013). Encyclopedia of Human Nutrition. Third Edition, Volume 4, Elsevier, Oxford, UK.
16. Campbell, F.M., Clohessy, A.M., Gordon, M.J., Dutta-Roy, A.K. (1998). Preferential Uptake of Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids by Human Placental Cells. U knjizi: Essential Fatty Acids and Eicosanoids: Invited Papers from the Fourth International Congress: (Ur: Riemersma i sur.) AOCS Press, Illinois, USA.
17. Campbell, M.K., Farrell, S. (2009). Biochemistry. Sixth Edition, Thomson Brooks/Cole, Canada.
18. Canter, L.W. (1997). Nitrates in Groundwater. CRC Press, USA.
19. Chen, C. (2015). Pigments in Fruits and Vegetables: Genomics and Dietetics. Springer, New York, USA.
20. Chiras, D.D. (2015). Human Biology. Jones & Bartlett Learning, Burlington, USA.
21. Chow, C.K. (2008). Fatty Acids in Foods and their Health Implications. Third Edition, CRC Press, Tylor Francis Group, Boca Raton, USA.
22. Chu, Y., Chang, C., Hsu, H. (2000). Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 561–566.
23. Combs, G.F. (2008). The Vitamins. Elsevier Academic Press, Burlington, USA.
24. Copeland, R.A. (2000). Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis. Second Edition, Wiley-VCH, New York, USA.
25. Council of Europe (1993). Nitrates and Nitrites in Foodstuffs. Publishing and Documentation Service, Strasbourg, Belgium.
26. Dabić, P. (2010). Sigurnost pri radu – laboratorijske vježbe. Zavod za anorgansku tehnologiju, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu.

27. Dai, J., Mumper, R.J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15: 7313-7352.
28. Desai, B.B. (2000). *Handbook of Nutrition and Diet*. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
29. Devasagayam, T., Tilak, J., Boloor, K., Sane, K., Ghaskadbi, S., Lele, R. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India*, 52: 794–804.
30. Diaz Napal, G.N., Defago, M., Valladares, G., Palacios, S. (2010). Response of *Epilachna paenulata* to two flavonoids, Pinocembrin and quercetin, in a comparative study. *Journal of Chemical Ecology*, 36: 898–904.
31. Driskell, J.A., Wolinsky, I. (2000). *Energy-Yielding Macronutrients and Energy Metabolism in Sports Nutrition*. CRC Press, Boca Raton, USA.
32. Dunford, M., Doyle, J.A. (2014). *Nutrition for Sport and Exercise*. Third Edition, Cengage Learning, Stamford, USA.
33. Durstine, J.L. (2006). *Action Plan for High Cholesterol*. Human Kinetics. USA.
34. Dutta, P.C. (2004). *Phytosterols as Functional Food Components and Nutraceuticals*. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
35. Ensminger, M.E., Ensminger, A.H. Konlande, J.E., Robson, J.R.K. (1993). *Foods & Nutrition Encyclopedia*. Second Edition, CRC Press, Boca Raton, USA.
36. FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations (1995). *Fruit and vegetable processing*. Rome, Italy.
37. FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations (1997). *Carbohydrates in human nutrition*. Rome, Italy.
38. FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations, WHO World Health Organization (2001). *Human Energy Requirements: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation*, Rome, Italy.
39. Ferrera, L.A. (2006). *Focus on Body Mass Index and Health Research*. Nova Science Publisher, New York, USA.
40. Finkel, T., Holbrook, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408 (6809): 239–247.

41. Finot, P.A., Aeschbacher, H.U., Hurrell, R.F., Liardon, R. (1990). The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology. Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
42. Foster-Powell, K., Holt, S.H.A., Brand-Miller, J.C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. The American Journal of Clinical Nutrition, 76(1): 5-56.
43. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (1998). Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>6</sub>, Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Pantothenic Acid, Biotin and Choline. National Academy Press, Washington, USA.
44. Freeman, M., Junge, C. (2005). Harvard Medical School Guide to Lowering Your Cholesterol. McGraw-Hill Companies Inc., USA.
45. Food Standard Agency (1991). Fats and Oils. McCance & Widdowson's The Composition of Foods, 5th edition, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
46. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. Molecules, 15: 8813-8826.
47. Generalić, E., Krka, S. (2012). Analiza realnih uzoraka, Vježbe. Kemijsko tehnološki fakultet u Splitu, Zavod za analitičku kemiju, Split.
48. Glycemic Research Institute. Glycemic Index Defined.  
<http://www.glycemic.com/GlycemicIndex-LoadDefined.htm>. Pristupljeno 11. siječnja 2014.
49. Gordon, M.H. (1990). The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro. U knjizi: Food Antioxidants. (Ur. Hudson, B.J.). Elsevier Applied Science, New York, USA, pp: 1-18.
50. Gould, K., Davies, K., Winefield, C. (2009). Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications. Springer, New York, SAD, pp. 85-100.
51. Grimme, L.H., Dumontet, S. (1998). Food Quality, Nutrition and Health. Springer, Heidelberg, Germany.
52. Gropper, S.S., Smith, J.L., Groff, J.L. (2009). Advanced Nutrition and Human Metabolism. Fifth Edition, Wadsworth, Cengage Learning, Canada.

53. Guardia, M., Garrigues, S. (2015). Handbook of Mineral Elements in Food. John Wiley & Sons Ltd., UK.
54. Guillon, F., Champ, M. M.-J. (2002). Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *British Journal of Nutrition*, 88(3): S293-306.
55. Harris, J.R. (2010). Cholesterol Binding and Cholesterol Transport Proteins:: Structure and Function in Health and Disease. Springer, UK.
56. Harvard School of Public Health. Healthy Eating Plate & Healthy Eating Pyramid. <http://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/healthy-eating-plate/>. Pristupljeno: 28. listopad 2013.
57. Hayes, A.W. (2008). Principles and Methods of Toxicology, Fifth Edition. Informa Healthcare, New York, USA.
58. Higdon, J., Drake, V.J. (2012). An Evidence-based Approach to Vitamins and Minerals. Second Edition, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Germany.
59. Hill, M.J. (1991). Nitrates and Nitrites in Food and Water. Ellis Horwood Limited, UK.
60. Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., Katan, M.B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 57: 43–46.
61. Hui, Y.H. (2006). Handbook of Fruits and Fruit Processing, Blackwell Publishing, Iowa, USA.
62. Hui, Y.H. (2005). Handbook of Food Science, Technology, and Engineering - 4 Volume Set. CRC Press Taylor&Francis Group, Boca Raton, USA.
63. Holm, G. (1954). Chlorophyll mutations in barley. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 4: 457-471.
64. Insel, P., Ross, D., McMahon, K., Bernstein, M. (2014). Nutrition. Fifth Edition, Jones&Bartlett Learning, Burlington, USA.
65. Institute of Medicine (2005). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). The National Academic Press, Washington. [http://www.nap.edu/openbook.php?record\\_id=10490&page=R1](http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=10490&page=R1). Pristupljeno: 14. travnja 2014.

66. International Food Information Service (2009). Dictionary of Food Science and Technology. Second Edition, Wiley-Blackwell, Shinfield, UK.
67. Jašić, M., Begić, L. (2008). Biohemija hrane I. dio. PrintCom Grafički inženjering Tuzla, Tuzla.
68. Jašić, M. (2009). Ugljični hidrati – karbohidrati. Dostupno na: <http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/ugljini-hidrati-karbohidrati>.  
Pristupljeno: 22. siječnja 2016.
69. Jašić, M. (2013). Biljni pigmenti. Tehnologija hrane. Dostupno na: <http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/biljni-pigmenti>.  
Pristupljeno: 13. ožujka 2015.
70. Katalinić, V. (2006). Kemija mediteranskog voća i tehnologija prerade, Skripta I. dio, Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, Sveučilište u Splitu.
71. Katalinić, V., Skroza, D., Generalić, I. (2010). Tehnologija mediteranskog voća i povrća. Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, Sveučilište u Splitu.
72. Kazazić, S. (2004). Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju, 55: 279-290.
73. Kennedy, D.O., Wightman, E.L. (2011). Herbal extracts and phytochemicals: Plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. Advances in Nutrition, 2: 32–50.
74. Kent, M. (2000). Advanced Biology. Oxford University Press, Oxford, UK.
75. Khanbabaee, K., van Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. Natural Product Reports, 18: 641-649.
76. Kohlstadt, I. (2012). Advancing Medicine with Food and Nutrients. Second Edition, CRC Press Taylor&Francis Group, Boca Raton, USA.
77. Kovala, J.P. (2005). Cholesterol in Atherosclerosis and Coronary Heart Disease. Nova Science Publishers Inc., New York, USA.
78. Kroner, Z. (2011). Vitamins and Minerals. Greenwood, Santa Barbara, USA.
79. Kumar, S.S., Devasagayam, T.P., Bhushan, B., Verma, N.C. (2001). Scavenging of reactive oxygen species by chlorophyllin: an ESR study. Free Radical Research., 35(5): 563-574.

80. Kumar, S.S., Shankar, B., Sainis, K.B. (2004). Effect of chlorophyllin against oxidative stress in splenic lymphocytes in vitro and in vivo. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1672(2): 100-111.
81. Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M., Świerczek-Zięba, G. (2014). Structure and Antioxidant Activity of Polyphenols Derived from Propolis. *Molecules*, 19: 78-101.
82. Lambaša Belak, Ž., Gaćina, N., Radić, T. (2005). *Tehnologija hrane*. Visoka škola za turistički menadžment u Šibeniku, Šibenik.
83. Lepeduš, H., Štolfa, I., Radić, S., Perica, M.Č., Pevalek-Kozlina, B., Cesar, V. (2008). Photosynthetic Electron Transport and Superoxide Dismutase Activity during Natural Senescence of Maple Leaves. *Croatica Chemica Acta*, 81: 97-103.
84. Lisjak, M., Špoljarević, M., Agić, D., Andrić, L. (2009). *Praktikum iz fiziologije bilja*. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
85. Litwack, G. (2008). *Folic Acid and Folates*. Elsevier, Oxford, UK.
86. Maga, J.A., Tu, A.T. (1998). *Food Additive Toxicology*. Marcel Dekker, New York, USA.
87. McWilliams, M. (2006). *Nutrition and Dietetics*. Eighth Edition, Pearson Education, Singapore.
88. Medeiros, D.M., Wildman, R.E.C. (2013). *Advanced Human Nutrition*. Third Edition, Jones & Bartlett Learning, Burlington, USA.
89. Narodne novine (2013). *Zakon o hrani*. br: 81/13.
90. National Heart, Lung and Blood Institute, North American Association for the Study of Obesity (2000). Practical guide to the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults. Dostupno na: [http://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/guidelines/prctgd\\_c.pdf](http://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/guidelines/prctgd_c.pdf); Pristupljeno: 22. siječnja, 2016.
91. Nordqvist, C. (2014). What is metabolism? How do anabolism and catabolism affect body weight? <http://www.medicalnewstoday.com/articles/8871.php>. Pristupljeno: 12. studenog 2014.
92. Nursten, H.E. (2005). *The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry, and Implications*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK.

93. Official Methods of Analysis of AOAC International (2002). AOAC International, Washington, USA Sesc. 942.15.
94. Official Methods of Analysis of AOAC International (2002). AOAC International, Washington, USA Sesc. 967.21.
95. Omenn, G.S., Goodman, G.E., Thornquist, M.D., Balmes, J., Cullen, M.R., Glass, A., Keogh, J.P., Meyskens, F.L., Valanis, B., Williams, J.H., Barnhart, S., Hammar, S. (1996). Effects of a Combination of Beta Carotene and Vitamin A on Lung Cancer and Cardiovascular Disease. *The New England Journal of Medicine*, 334: 1150-1155.
96. Ough, C.S., Amerine, M.A. (1988). *Methods for analysis of musts and wines*. J. Wiley & Sons. Washington.
97. Panglossi, H.V. (2006). *Antioxidants: New Research*. Nova Science Publishers Inc., New York, USA.
98. Park, K.K., Park, J.H., Jung, Y.J., Chung, W.Y. (2003). Inhibitory effects of chlorophyllin, hemin and tetrakis(4-benzoic acid)porphyrin on oxidative DNA damage and mouse skin inflammation induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate as a possible anti-tumor promoting mechanism. *Mutation Research*, 542(1-2): 89-97.
99. Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M.L., Vigna-Pérez, M., Hernández-Pérez, T. (2010). Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life - A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65: 299-308.
100. Pavlinić Prokurica, I., Bevardi, M., Marušić, N., Vidaček, S., Kolarić Kravar, S., Medić, H. (2010). Nitriti i nitrati kao prekursori N-nitrozamina u paštetama u konzervi. *Meso*, 6: 322-332.
101. Pine, S. (1994). *Organska kemija*. Školska knjiga, Zagreb.
102. Perdue, L. (1992). *The French Paradox and Beyond: Living Longer with Wine and the Mediterranean Lifestyle*. Renaissance Publishing, California, USA.
103. Pevalek-Kozlina, B. (2004). *Fiziologija bilja*. Profil, Zagreb.
104. Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (2001). *Antioxidants in Food: Practical Applications*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.



105. Powers, M.A. (1996). Handbook of Diabetes Medical Nutrition Therapy. Aspen Publishers, Maryland, USA.
106. Prendergast, P.M., Shiffman, M.A. (2011). Aesthetic Medicine: Art and Techniques. Springer, Berlin, Germany.
107. Reddy, N. R., Sathe, S. K. (2002). Food Phytates. CRC Press, Boca Raton, USA.
108. Roberts, M.B.V., King, T.J. (1987). Biology: A Functional Approach. Students' Manual. Second Edition, Thomas Nelson and Sons Ltd, Cheltenham, UK.
109. Rožić, M., Barbarić-Mikočević, Ž., Plazonić, I. (2008). Vježbe iz kemije 2 (interna skripta). Grafički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
110. Saarela, M. (2011). Functional Foods: Concept to Product. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.
111. Salminen, J.P., Karonen, M. (2011). Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Functional Ecology*, 25 (2): 325-338.
112. Schmidt, M.A. (2007). Brain-building Nutrition: How Dietary Fats and Oils Affect Mental, Physical, and Emotional Intelligence. Third Edition, Frog Books, Berkeley, California, USA.
113. Shahidi, F., Naczk, M. (2004). Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press Taylor&Francis Group, Boca Raton, SAD.
114. Sikirica, M., Korpar-Čolig, B. (2005). Praktikum iz opće kemije. Školska knjiga, Zagreb.
115. Sikorski, Z.E., Kolakowska, A. (2003). Chemical and Functional Properties of Food Lipids. CRC Press, Boca Raton, USA.
116. Spiller, G.A. (2001). CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition, Third Edition. CRC Press, Boca Raton, USA.
117. Srivastava, P., Malviya, R. (2011). Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry – An overview. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(1): 10-18.
118. Stegeman, C.A., Davis, J.R. (2014). The Dental Hygienist's Guide to Nutritional Care. Fourth Edition, Elsevier, UK.
119. Stick, R.V., Spencer, J.W. (2009). Carbohydrates: The Essential Molecules of Life: The Essential Molecules of Life. Elsevier, Oxford, UK.

120. Stipanuk, M.H., Caudill, M.A. (2013). Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition. Third Edition, Elsevier Saunders, Missouri, USA.
121. Stoker, H.S. (2013). Organic and Biological Chemistry. Sixth Edition, Brooks/Cole, Belmont, USA.
122. Stryer, L. (1991). Biokemija. Školska knjiga, Zagreb.
123. Szablewski, L. (2011). Glucose Homeostasis and Insulin Resistance. Bentham Science Publishers Ltd., USA.
124. Terao, J. (1989). Antioxidant activity of  $\beta$ -carotene-related carotenoids in solution. *Lipids*, 24(7): 659-661.
125. Toole, G., Toole, S. (2004). Essential A2 Biology for OCR. Nelson Thornes Ltd., Cheltenham, UK.
126. Tucker, G.A., Woods, L.F.J. (2012). Enzymes in Food Processing. Second Edition. Springer Science, USA.
127. UK National Health Service, UK Government. Starchy foods and carbohydrates (2015). Dostupno na: <http://www.nhs.uk/Livewell/Goodfood/Pages/starchy-foods.aspx>. Pristupljeno: 08. veljače 2015.
128. U.S. Department of Agriculture. Centar for Nutrition Policy and Promotion (2005). Anatomy of MyPyramid. [http://www.choosemyplate.gov/food-groups/downloads/MyPyramid\\_Anatomy.pdf](http://www.choosemyplate.gov/food-groups/downloads/MyPyramid_Anatomy.pdf). Pristupljeno: 24. svibnja 2013.
129. Varzakas, T., Varzakas, A., Anestis, S. (2012). Sweeteners: Nutritional Aspects, Applications, and Production Technology. CRC Press, Francis & Taylor Group, Boca Raton, USA.
130. Vermeer, I.T., Pachen, D.M., Dallinga, J.W., Kleinjans, J.C., van Maanen, J.M. (1998). Volatile N-nitrosamine formation after intake of nitrate at the ADI level in combination with an amine-rich diet. *Environ Health Perspectives*, 106(8): 459-463.
131. Vinko, Lj. (2012). Sadržaj vitamina C u komercijalnim voćnim sokovima i voću određen HPLC metodom. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište u Osijeku, Diplomski rad.
132. Watson, R.R., Preedy, V.R. (2010). Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables. Elsevier, London, UK.

133. Wiseman, G. (2002). *Nutrition and Health*. Taylor&Francis, London, UK.
134. Wettstein, D. (1957). Chlorophyll letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. *Experimental Cell Research*, 12:427–434.
135. Whitehurst, R.J., van Oort, M. (2010). *Enzymes in Food Technology*. Second Edition, Wiley-Blackwell, UK.
136. WHO (2004). Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *The Lancet*.
137. WHO (1996). *Trace elements in human nutrition and health*. World Health Organization, Belgium.
138. Wysong, R.L. (1990). *Lipid Nutrition: Understanding Fats and Oils in Health and Disease*. Inquiry Press, Michigan, USA.
139. World Cancer Research Fund (2007). *Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective*. Washington, USA.
140. Welsh, S.O., Davis, C., Shaw, A. (1993). *USDA's Food Guide, Background and Development*. U.S. Department of Agriculture. [http://www.cnpp.usda.gov/sites/default/files/archived\\_projects/FGPBackgroundAndDevelopment.pdf](http://www.cnpp.usda.gov/sites/default/files/archived_projects/FGPBackgroundAndDevelopment.pdf) . Pristupljeno: 06. travnja 2014.
141. Wilson, W.S., Ball, A.S., Hinton, R.H. (1999). *Managing Risks of Nitrates to Humans and the Environment*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK.
142. Wuyts, N., De Waele, D., Swennen, R. (2006). Extraction and partial characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa acuminata* grandr naine) roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44: 308-314.
143. Yamada, H., Kiyohara, H., Matsumoto, T. (2003). Recent Studies on Possible Functions of Bioactive Pectins and Pectic Polysaccharides from Medicinal Herbs on Health Care. *Advances in Pectin and Pectinase Research*, pp: 481-490.
144. Yokozawa, T., Chen, C.P., Dong, E., Tanaka, T., Nonaka, G.I., Nishioka, I. (1998). Study on the Inhibitory Effect of Tannins and Flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. *Biochemical Pharmacology*, 56: 213–222.
145. Zadow, J.G. (1992). *Whey and Lactose Processing*. Elsevier Applied Science, UK.
146. Živković, Z. (2001). *Kombinacije u prehrani, zdravlje je u pravom spoju namirnica*. Trsat, Zagreb.

## WEB IZVORI

- <http://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/healthy-eating-plate>; pristupljeno, 2012.
- <http://e-brojevi.udd.hr/220.htm>; pristupljeno, 2013.
- <https://mikrosvijet.wordpress.com/2010/12/02/skrobna-zrnca/>); pristupljeno, 2014.
- <http://opentextbc.ca/biology/chapter/9-4-translation/>); pristupljeno, 2014.
- [http://tolweb.org/notes/?note\\_id=3920](http://tolweb.org/notes/?note_id=3920); pristupljeno, 2013.
- [https://www.pmf.unizg.hr/\\_download/repository/5%29-s5 hemoglobin i enzimi %28uvod%29.pdf](https://www.pmf.unizg.hr/_download/repository/5%29-s5%20hemoglobin%20i%20enzimi%20uvod.pdf); pristupljeno, 2015.
- <https://www.yumpu.com/hr/document/view/25181369/prekursori-nitrozamina-pbf/13>; pristupljeno, 2015.
- <http://en.citizendium.org/wiki/Carotenoid>; pristupljeno, 2016.
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-carotene#section=Top>; pristupljeno, 2016.
- <http://www.lenntech.com/recommended-daily-intake.htm>; pristupljeno, 2014.
- <http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---P/Phytic-Acid.htm>; pristupljeno, 2015.
- [http://us.mt.com/dam/mt\\_ext\\_files/Product/Product/4/Densito\\_30PX\\_0x000010083f13f23740022300\\_files/Densito\\_beaker\\_1\\_jpg.jpeg](http://us.mt.com/dam/mt_ext_files/Product/Product/4/Densito_30PX_0x000010083f13f23740022300_files/Densito_beaker_1_jpg.jpeg); pristupljeno, 2013.

## 4.0. PRILOG 1

### SIGURNOST HRANE

Voće, povrće i njihove prerađevine važni su u ljudskoj prehrani kao izvor vrijednih nutrijenata. Kvalitetna i sigurna proizvodnja voća, povrća i prerađevina moguća je uz primjenu zakonskih propisa od polja do stola. Nadležna tijela za provedbu službenih kontrola u području sigurnosti hrane su Ministarstvo poljoprivrede i Ministarstvo zdravlja. U područje sigurnosti hrane uključeni su još i Hrvatska agencija za hranu (HAH), Hrvatski zavod za norme (HZN), Hrvatska akreditacijska agencija te Europske institucije čija je nadležnost sigurnost hrane.

Kao 28. članica Europske unije RH primjenjuje zakonodavstvo o hrani koje je jednako za sve članice Europske unije.

Od 17. studenoga 2003. godine Europska unija je članica Komisije Codex Alimentarius (CAC) najveće organizacije za sigurnost hrane, koju su osnovale *Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda* (FAO) i *Svjetska zdravstvena organizacija* (WHO) sa sjedištem u Rimu.

CAC se bavi izradom standarda, kodova prakse, smjernica i preporuka koje bi vlade trebale slijediti pri donošenju nacionalnog zakonodavstva.

CAC-ovi dokumenti su:

- standardi za sigurnost hrane koji se odnose na maksimalne razine ostataka pesticida, aditiva, kontaminanata (uključujući mikrobiološku kontaminaciju) koje mogu biti prisutne u hrani;
- standardi u obliku smjernica o procesima ili postupcima (kodovi prakse, HACCP);
- standardi za označivanje hrane koje može biti povezano sa zdravljem (alergeni, označivanje prehrambenih vrijednosti), sa zaštitom potrošača (količine i mjere, datum proizvodnje), ili za informiranje potrošača (halal, organska);
- standardi za pojedine proizvode kojima se utvrđuje što je proizvod (vrste sardina) ili kako je proizvod proizveden i što može sadržavati (cheddar sir, usoljena govedina);

- opisi kvalitete kao dio standarda za pojedine proizvode koji su najčešće stupnjevane karakteristike (boja različitih tipova šparoga).

Codexovi dokumenti (standardi, smjernice i preporuke) moraju se temeljiti na znanstvenim analizama i dokazima uključujući preispitivanje svih relevantnih informacija kako bi se osigurala kvaliteta i sigurnost hrane duž cijelog lanca hrane.

Ulaskom Republike Hrvatske u Europsku uniju uredbe EU u području sigurnosti hrane su postale izravno primjenjive. RH izradila je zakonodavni okvir u području sigurnosti hrane u svrhu provedbe uredbi EU. Provedba uredbi EU osigurana je sljedećim zakonima: Zakon o hrani (NN 81/13), Zakon o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 81/13), Zakon o veterinarstvu (NN 82/13 i 148/13), Zakon o službenim kontrolama koje se provode sukladno propisima o hrani, hrani za životinje, o zdravlju i dobrobiti životinja (NN 81/13) i Zakon o informiranju potrošača o hrani (NN 56/13).

Subjekti u poslovanju s hranom i hranom za životinje (SPH) imaju primarnu odgovornost za sigurnost hrane, u svim fazama proizvodnje, prerade i distribucije, koje su pod njihovom kontrolom. Zapakirana hrana koja se stavlja na tržište RH mora biti označena podacima i na način propisan Pravilnikom o označavanju, reklamiranju i prezentiranju hrane (NN 63/2011, 79/2011 i 90/2013) ili Uredbom (EU) br. 1169/2011 o informiranju potrošača (NN 56/2013).

Pred hrvatske proizvođače i distributere hrane također se sve češće postavljaju zahtjevi za primjenu određenih norma, prije svega od strane trgovačkih lanaca koji zahtijevaju i certifikate po određenim normama za sustave proizvodnje, ali i kao zahtjevi potrošača kojima je sve važnija kvaliteta i sigurnost prehrambenih proizvoda. Najvažnije norme u području poljoprivredno-prehrambene industrije su sljedeće: Globalna inicijativa sigurnosti hrane (GFSI), Global Gap za voće i povrće (GLOBALGAP, odnosno EUREPGAP) je globalna shema i referenca za Dobru poljoprivrednu praksu. GLOBALGAP sustav primjenjuje se na primarnu stočarsku i ratarsku proizvodnju i propisuje odrednice Dobre poljoprivredne prakse.

INTERNATIONAL FOOD STANDARD (IFS) – Normu su razvili njemački, francuski i talijanski trgovački lanci radi kontrole proizvođača robnih marki velikih trgovačkih lanaca, no s vremenom je postala norma trgovačkih lanaca pri odabiru dobavljača za sve

prehrambene proizvode. Norma kombinira načela HACCP sustava sa zahtjevima sustava upravljanja kvalitetom te ispunjavanje zahtjeva higijene. Primjena norme je dragovoljna i uglavnom se uvodi na zahtjev kupca.

BRITISH RETAIL CONSORTIUM (BRC) – Tijelo koje sačinjavaju svi veći britanski trgovci na malo, udruženo u BRC, razvili su tehničku normu kao pomoć trgovcima na malo da ispune svoje zakonske obveze s obzirom na zaštitu potrošača, pružajući zajedničku osnovu za provjeru svih proizvođača njihovih robnih marki. BRC norma uglavnom se uvodi na zahtjev kupca.

**NIZ NORMA ISO 22000** – Nastaje na zahtjev industrije za stvaranjem međunarodne norme koja se prihvaća i prepoznaje u svim državama zbog toga što je brojnost nacionalnih norma

izazvala zbrku i potaknula potrebu usklađivanja na međunarodnoj razini.

Normativni dokumenti niza 22000 su globalne norme kojima se osigurava sigurna hrana u lancu opskrbe hranom i objavljena je na hrvatskom jeziku.

Nacionalna regulativa o sigurnosti hrane i norme su osnovni dio sustava kontrole i objavljene su:

### **HRN EN ISO 9001:2008**

#### **Sustavi upravljanja kvalitetom - Zahtjevi**

Ova norma daje osnove za sve sustave upravljanja kvalitetom koje je objavila međunarodna organizacija za normizaciju ISO. Sustav čini struktura organizacije zajedno s upravljanjem, planiranjem, procesima, izobrazbom i dokumentacijom koji se upotrebljavaju za postizanje ciljeva kvalitete koje su postavili organizacija i njezini kupci. Nadzor nad uvedenim sustavom provode neovisna certifikacijska tijela provedbom audita (nadzorni posjet) na osnovi kojih izdaju certifikat o ispunjavanju zahtjeva određene norme.

### **HRN EN ISO 22000:2006**

***Sustavi upravljanja sigurnošću hrane -- Zahtjevi za svaku organizaciju u lancu hrane (ISO 22000:2005; EN ISO 22000:2005)***

Norma ISO 22000 opisuje zahtjeve za sustav upravljanja sigurnošću hrane. Norma se upotrebljava s tehničkom specifikacijom ISO/TS 22002-1, *Preduvjetni programi za sigurnost hrane – 1. dio: Proizvodnja hrane* te zajedno čine tehničku osnovu za (GFSI) priznatu shemu za audit poznatu kao FSSC 22000.

Ona je norma sustava upravljanja i kao takva sadrži zahtjeve za politiku, planiranje, primjenu i rad, ocjenjivanje, preispitivanje upravljanja i poboljšavanje. Norma 22000 mijenja tradicionalni koncept podjele kontrolnih mjera na kontrolne mjere dobre higijenske prakse i kritične kontrolne točke (CCP) grupirajući kontrolne mjere u tri skupine:

- preduvjetni programi (PRP-i) kojima se upravlja osnovnim uvjetima i aktivnostima; PRP-i su odabrani u svrhu održavanja higijenske proizvodnje, prerade i/ili postupanja prema okolišu;

- operativni preduvjetni programi (oPRP-i) kojima se kontroliraju one kontrolne točke koje su utvrđene analizom opasnosti kao neophodne za kontrolu značajnih opasnosti, a koje nisu HACCP plan za upravljanje onim kontrolnim mjerama koje su utvrđene analizom opasnosti kao neophodne za kontrolu utvrđenih opasnosti do prihvatljive razine i koje se primjenjuju u kritičnim kontrolnim točkama (CCP-ima).

Te su tri kategorije povezane analizom opasnosti.

Norma ISO 22000 promiče prihvaćanje pristupa lancu hrane, dok je dokument CODEX HACCP usmjeren na unutarnji sustav. Normom ISO 22000 se zahtjeva da se opasnosti po sigurnost hrane u lancu hrane prije ulaska u proizvodni pogon i operacija koje slijede uzmu u obzir pri razvoju i primjeni sustava upravljanja sigurnošću hrane.

## **HRN ISO 15161:2006**

### ***Smjernice za primjenu norme ISO 9001:2000 za prehrambenu industriju i industriju pića (ISO 15161:2001)***

Ovo je prva norma u kojoj je primijenjen HACCP u sustavu upravljanja kvalitetom usklađenim s normom ISO 9001. U njoj se pokušavaju identificirati posebna pitanja koja treba razmotriti pri uvođenju sustava upravljanja kvalitetom u području prehrambene industrije i industrije pića. Posebno je važno povezivanje s dokumentacijom



HACCP-a. Norma u kojoj su dane upute za primjenu norme ISO 9001:2000 u industriji hrane i pića.

#### **HRS ISO/TS 22003:2008**

***Sustavi upravljanja sigurnošću hrane -- Zahtjevi za tijela koja provode audit i certifikaciju sustava upravljanja sigurnošću hrane (ISO/TS 22003:2007)***

U njoj su dani opći zahtjevi za certifikacijska tijela koja provode audit i certifikaciju u području sustava upravljanja sigurnošću hrane prema zahtjevima danim u normi 22000 ili drugim utvrđenim zahtjevima.

#### **HRN ISO/TS 22004:2006**

***Sustavi upravljanja sigurnošću hrane -- Upute za primjenu norme ISO 22000:2005 (ISO/TS 22004:2005)***

U njoj se daju upute za primjenu norme ISO 22000 koja je utemeljena na HACCP načelima, kao što je opisala Komisija Codex Alimentarius, i namijenjena je za primjenu zajedno s relevantnim normama koje je objavila ta organizacija.

#### **HRN EN ISO 22005:2008**

***Slijedivost u lancu hrane i hrane za životinje -- Opća načela i osnovni zahtjevi za osmišljavanje sustava i primjenu (ISO 22005:2007; EN ISO 22005:2007)***

To je norma koja je donesena s namjerom da služi kao sredstvo za uspostavu sljedivosti.

#### **HRN ISO 22006:2012**

***Sustavi upravljanja kvalitetom – Smjernice za primjenu norme ISO 9001:2008 u proizvodnji usjeva (ISO 22006:2009)***

Prema ovoj međunarodnoj normi sustav upravljanja kvalitetom (SUK) odnosi se na upravljanje radom gospodarstva. Krajnji cilj primjene norme ISO 9001:2008 na gospodarstvima treba biti kombinacija poboljšanja izvedbe, financijskih rezultata te povjerenja i zadovoljstva kupca. Sustavi upravljanja kvalitetom temelje se na postojećim aktivnostima i ne trebaju zahtijevati prekomjernu dokumentaciju ili umanjiti

prilagodljivost. Sustav upravljanja kvalitetom nije namijenjen samo za rad velikih gospodarstava. Smjernice dane tom međunarodnom normom primjenjive su i na mala gospodarstva. Za rad na malim gospodarstvima možda će trebati prilagoditi primjenu i tumačenje te međunarodne norme. Iako primjena norme ISO 9001:2008 može iziskivati napor, njezin je krajnji cilj postizanje koristi.

## **ISO/TS 22002**

Norma ISO 22000 utvrđuje zahtjeve za sigurnost hrane za one organizacije u lancu hrane koje ih žele ispuniti. Jedan od takvih zahtjeva je da organizacije uspostave, primjene i održavaju preduvjetne programe (PRP-ove) kao pomoć pri kontroli opasnosti za sigurnost hrane (norma ISO 22000:2005, točka 7.2). PRP-ovi su osnovni uvjeti i aktivnosti potrebni za održavanje higijene okruženja duž cijelog lanca hrane pogodni za proizvodnju, rukovanje i dostavu sigurnih krajnjih proizvoda i sigurne hrane za konzumaciju.

Tehnička specifikacija ISO 22002 je dokument s uputama i nije namijenjena za certifikaciju, nego je njena namjena pomoć organizacijama u uspostavljanju, primjeni i održavanju preduvjetnih programa (PRP-a) u skladu s normom ISO 22000. Preduvjetni programi su osnovni uvjeti i aktivnosti potrebne za održavanje higijenskog okoliša kroz cijeli lanac hrane pogodni za proizvodnju, rukovanje i nabavu sigurnih krajnjih proizvoda i sigurne hrane za konzumaciju.

Iako upotreba tehničkih specifikacija nije obvezatna za usklađivanje sa zahtjevima norme ISO 22000 odstupanje od tih zahtjeva (izuzeća ili alternativne mjere) treba opravdati i dokumentirati.

Korisnici su odgovorni za ispravnu primjenu ovih tehničkih specifikacija. Njihova primjena sama po sebi ne izuzima od zakonskih obveza.

Tehničke specifikacije niza ISO 22002 prvenstveno su razvijene za utvrđene kategorije lanca hrane kao što je poljoprivreda, proizvodnja i transport.

## **HRS ISO/TS 22002-1:2010**

***Preduvjetni programi za sigurnost hrane – 1. dio: Proizvodnja hrane (ISO/TS 22002-1:2009)***

U ovoj se tehničkoj specifikaciji utvrđuju zahtjevi za uspostavljanje, primjenu i održavanje preduvjetnih programa kao pomoći u kontroliranju opasnosti za sigurnost hrane. Pretpostavlja se da će se provođenje odredbi ove tehničke specifikacije povjeriti kvalificiranim i iskusnim osobama kojima je ona i namijenjena.

Ova tehnička specifikacija razvila se prihvaćanjem dokumenta BS PAS 220:2008. Treba se upotrebljavati u kombinaciji s normom ISO 22000:2005.

Može se primjenjivati u svim organizacijama koje su uključene u proizvodne korake lanca hrane i koje žele primijeniti preduvjetne programe na način koji je utvrđen u normi ISO 22000:2005, točka 7, *Planiranje i realizacija sigurnih proizvoda*.

Svrha je ove tehničke specifikacije da bude podrška sustavima upravljanja osmišljenim da ispunjavaju zahtjeve navedene u normi ISO 22000:2005.

Postupci u proizvodnji hrane po svojoj su prirodi različiti te se na pojedini objekt ili proces ne mogu primijeniti svi zahtjevi utvrđeni ovom tehničkom specifikacijom.

### **HRS ISO/TS 22002-2:2013**

#### ***Preduvjetni programi za sigurnost hrane – 2. dio: Catering (ISO/TS 22002-2:2013)***

Dokument se poziva na dokumente Norma dobre prakse u cateringu, Europske udruge modernih restorana (EMRA) i *Smjernice za svjetsku sigurnost hrane za catering u zrakoplovima* Međunarodne udruge za usluge u zrakoplovima (IFSA) i Udruge europskih zračnih linija (AEA).

Ovaj novi normativni dokument uspostavlja dobru proizvođačku praksu (DPP) i načela HACCP-a kao preduvjetne programe za catering. Područje primjene ove norme uključuje škole, pripremu i posluživanje hrane u industriji, bolnicama, restoranima i trgovinama hrane na malo.

### **HRS ISO/TS 22002-3:2012**

#### ***Preduvjetni programi za sigurnost hrane – 3. dio: Poljoprivreda (ISO/TS 22002-3:2011)***

Ovaj dio tehničke specifikacije ISO 22002 primjenjiv je na uzgoj usjeva (žitarica, voća, povrća) živih životinja na gospodarstvu (stoka, perad, svinje, riba) i na rukovanje njihovim proizvodima (mlijekom, jajima), a nije primjenjiv na aktivnosti poput berbe

divljih plodova, povrća i gljiva, ribolov, lov, koje se ne smatraju organiziranim aktivnostima poljoprivredne proizvodnje.

Poljoprivredna gospodarstva su prva karika u mnogim lancima opskrbe kojima hrana dolazi do kuhinjskog stola. Ova tehnička specifikacija razvijena je kako bi se osiguralo da poljoprivrednici primjenjuju najbolje prakse u održavanju higijene okoliša i na taj način sudjeluju u kontroli opasnosti za sigurnost hrane u lancu hrane.

Nadležna tijela za uspostavu, provedbu pojedinih područja politike sigurnosti hrane i kontrolu su Ministarstvo poljoprivrede i Ministarstvo zdravlja, prema podjeli nadležnosti iz članka 4. stavaka 3. i 4. Zakona o hrani i članka 7. Zakona o službenim kontrolama koje se provode sukladno propisima o hrani, hrani za životinje, o zdravlju i dobrobiti životinja.

## 5.0. PRILOG 2

# DOBRA LABORATORIJSKA PRAKSA

## 5.1. PRAVILA I UPUTE ZA RAD U LABORATORIJU

Rad u laboratoriju je bitan i neizostavan dio obrazovanja. Opažanje promjena i pojava tijekom eksperimenata koji će se provoditi u kontroliranim laboratorijskim uvjetima pomoći će u razumijevanju i usvajanju temeljnih principa i znanja, potrebnih za razumijevanje buduće struke. Pored toga, radom u laboratoriju usvajaju se tehnike laboratorijskog rada, razvijaju praktične vještine te usvaja način razmišljanja svojstven svim eksperimentalnim znanostima. Da bi rad u laboratoriju bio što uspješniji i postoji nekoliko općenitih napomena kojih se treba pridržavati:

### 1. Proučiti upute prije svake vježbe

Prije svake vježbe potrebno je dobro proučiti upute prema kojima će se vježba izvoditi i razumjeti njihova teorijska načela. Ako postoje bilo kakve nejasnoće vezane uz izvođenje vježbe ili načela na kojima se temelji vježba odnosno pokus potrebno ih je razjasniti s voditeljem vježbi prije početka provedbe. Proučavanje postupka izvođenja vježbe, te pridržavanje uputa voditelja nužni su zbog vlastite sigurnosti i sigurnosti ostalih studenata u laboratoriju.

### 2. Samostalnost u izvođenju pokusa i sudjelovanje u raspravi

Svrha praktičnog rada u laboratoriju je razvijati samostalnost i sve pokuse, osim onih koji zahtijevaju grupni rad, izvoditi samostalno. Također, sudjelovati u raspravama o rezultatima pokusa s ostalim studentima u laboratoriju važno je zbog razumijevanja vježbe koja se izvodi, razvijanja kritičkog zaključivanja i promišljanja tijekom izvođenja pokusa.

### 3. Kritičnost

Prije izvođenja pokusa uz asistenciju voditelja vježbi i prethodno stečenih znanja pokušati predvidjeti sve što može utjecati na rezultate, te predvidjeti korektivne mjere kojima se eventualne pogreške mogu izbjeći. Nakon završenog pokusa, obraditi i interpretirati dobivene rezultate s kritičkim osvrtom. Usporediti rezultate pokusa s već postojećim teoretskim znanjima, te se kritički osvrnuti na cjelokupnu provedbu pokusa. Ako postoje značajna

odstupanja od predviđenih rezultata ili sumnja u ispravnost provedenog pokusa, uz dogovor s voditeljem vježbi ponoviti pokus.

#### **4. Organiziranost**

Organizacija redoslijeda aktivnosti u provođenju pokusa vrlo je bitna. Prije početka pokusa važno je sistematično pripremiti laboratorijsko posuđe, aparaturu za izvođenje pokusa, potrebne kemikalije i reagense kao i detaljno roučiti postupak izvođenja vježbi. Opažanja i rezultate eksperimenta bilježiti uredno, pregledno i logičkim slijedom (Dabić, 2010).

## **5.2. OSNOVNA PRAVILA I TEHNIKA RADA U LABORATORIJU**

Svi studenti tijekom boravka u laboratoriju moraju nositi zaštitnu katu i naočale. Vrlo je važno da kuta tijekom izvođenja vježbi bude zakopčana. Također, preporuča se i nošenje zatvorene obuće. Na vježbe je potrebno donijeti **priručnik s uputama i jasno napisanim protokolima za izvođenje vježbi** vezanih za kolegij iz kojeg se održavaju vježbe:

Tijekom vježbi student je dužan voditi **laboratorijski dnevnik** u obliku radnih listova koji se nalaze u sklopu priručnika. U laboratorijski dnevnik upisuju se sva opažanja, podaci dobiveni mjerenjem, postupak izračunavanja traženih fizičkih veličina, interpretacija rezultata pokusa, zaključci, te ostale bilješke koje student smatra da je potrebno napraviti. Nakon svake vježbe student je dužan predati laboratorijski dnevnik na pregled voditelju vježbi. Nakon što je završio sve pokuse, student je dužan oprati laboratorijsko posuđe i pribor koji je koristio za izvođenje pokusa.

### 5.3. MJERE OPREZA I ZAŠTITE U KEMIJSKOM LABORATORIJU

Priroda laboratorijskog rada je takva da uvijek postoji potencijalna mogućnost ozljeda. **Da bi se ta mogućnost svela na minimum, odnosno eliminirala, svaki student je dužan radu pristupiti ozbiljno, pridržavajući se mjera opreza i zaštite:**

1. U laboratoriju se ne smije jesti, piti i pušiti.
2. U laboratoriju se ne smiju primati posjete.
3. Pridržavati se uputa za izvođenje pokusa, upozorenja o mjerama opreza i zaštite pri radu s opasnim kemikalijama, te uputa o postupanju s otpadnim kemikalijama.
4. Ne izvoditi pokuse za koje nema uputa u priručniku ili za koje upute nije dao voditelj vježbi.
5. Ne dozvoliti da reagensi dođu u dodir s kožom i odjećom. Za to postoje zaštitne rukavice, kuta, pinceta itd. U slučaju da kemikalija dođe u dodir s kožom, to mjesto treba odmah oprati mlazom vodovodne vode. Daljnji tretman ovisi o prirodi kemikalije i eventualnoj vrsti ozljede.
6. Ne smije se zavirivati u otvor posuda u kojima se odvija eksperiment.
7. U cilju zaštite očiju potrebno je nositi zaštitne naočale.
8. Ako u oko dođe kemikalija, treba odmah isprati mlazom vodovodne vode u trajanju ne dužem od 3 do 4 minute.
9. Kod eksperimenta gdje se traži poseban oprez obvezno je lice zaštititi specijalnim providnim štitom za lice, a ruke gumenim rukavicama.
10. Uvijek je potrebno provjeriti naziv kemikalije na boci, jer pogrešno uzeta kemikalija može izazvati nesreću.
11. Ukoliko treba mirisom ispitati kemikaliju, to se radi na način da se boca odmakne od lica i dlanom ruke približe pare do nosa.



Slika 1. Ispitivanje mirisa kemikalija

12. Prigodom otvaranja boce u kojoj je lako isparljiva kapljevina bocu treba držati podalje, da se ne udišu pare.

13. Eksperimenti kod kojih se razvija otrovan plin, kao i eksperimenti kod kojih se razvija previše plina ili para izvode se u **DIGESTORU**.

14. Pretakanje lako upaljivih kemikalija ne smije se izvoditi u blizini plamena.

15. Tekućine u pipetu nikada usisavati ustima, nego propipetom ili klipnom pipetom. Na taj se način štiti od slučajnog usisavanja kemikalije u usta, te mogućnosti zaraze ako kraj pipete nije dobro opran i dezinficiran.



Slika 2. Gumena propipeta za pipetiranje kemikalija

16. Pri zagrijavanju kapljevine u epruveti, zbog opasnosti od prskanja, otvor epruvete ne smije se okrenuti prema sebi, niti prema drugim osobama.



Slika 3. Nepravilno zagrijavanje epruvete

17. Kod rada sa staklenim priborom potrebno je paziti da ne dođe do loma istog i ranjavanja ruku ili nekog drugog dijela tijela. U slučaju loma staklenog pribora potrebno je odmah ukloniti krhotine, i ako je moguće, oštre rubove ostatka pribora ispolirati u plamenu.

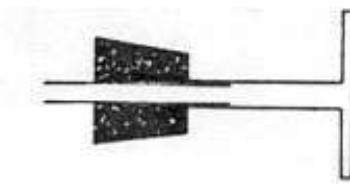


18. Provlačenje staklene cijevi i termometra kroz gumeni čep izvoditi hvatanjem cijevi i čepa krpom. Prethodno je potrebno staklo podmazati glicerinom, sapunicom ili vodom. Kod vađenja staklene cijevi upotrijebiti bušač za čepove.

a)



b)



Slika 4. A) Umetanje staklene cijevi ili termometra u čep i B) izvlačenje staklene cijevi iz čepa

19. Predmete od kemijskog stakla zagrijavati na keramičkoj mrežici ili kupelji.

20. Predmeti od običnog stakla ne smiju se zagrijavati jer lako pucaju.

21. Ne ostavljati zapaljen plamenik pri napuštanju radnog mjesta.

22. Ako je crijevo za dovod plina do plamenika oštećeno ili dođe do njegovog ispadanja s plamenika ili plinskog pipca, postoji opasnost od zapaljenja plina. Ako do toga dođe, zatvoriti dovod plina na pipcu ili glavnom ventilu koji se nalazi sa strane stola (između izljeva) i vatra će trenutno prestati.

23. Goruće šibice ne smiju se bacati u posude za otpatke.

24. Manji požari u laboratoriju gase se vlažnim krpama ili pijeskom. Veći požari gase se aparatima za gašenje požara.

25. Radni stol održavati u svakom trenutku čistim. Razlivene ili prosipane kemikalije najprije nekoliko puta obrisati mokrom krpom, a tek potom stol obrisati suhom krpom. Radni stol nipošto ne brisati laboratorijskom kutom.

27. Tijekom rada u laboratoriju perite ruke što češće. Na kraju vježbe, prije izlaska iz laboratorija, obavezno operite ruke sapunom.

**BILO KAKVU NEZGODU ILI OZLJEDU U LABORATORIJU OBAVEZNO JE PRIJAVITI VODITELJU VJEŽBI ILI TEHNIČKOM OSOBLJU, A AKO JE POTREBNO I POZVATI HITNU SLUŽBU (MEDICINSKA SLUŽBA, VATROGASCI) POZIVOM NA BROJ 112** (Sikirica i Korpar-Čolig, 2005; Dabić, 2010).

## 5.4. PRAVILA ODIJEVANJA U LABORATORIJU

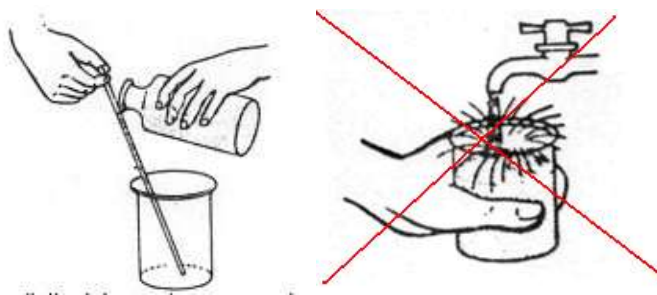
1. Tijekom rada u laboratoriju student mora nositi zaštitnu katu.
2. Zaštitna kuta štiti gornji dio tijela i ruke do šaka. Ukoliko dužina radne kute nije do koljena hlače su obavezne.
3. Obuća mora zaštititi stopala sa svih strana: u laboratoriju nije dozvoljeno nositi sandale, papuče ili drugu otvorenu i neprimjerenu obuću.
4. Duga kosa mora biti skupljena.
5. Bez obzira nosi li osoba kontaktne leće obavezno je nošenje zaštitnih naočala, a pogotovo ako se radi s lako hlapljivim kemikalijama. Materijal od kojeg su izrađene kontaktne leće može apsorbirati pare kemikalija iz zraka, te izazvati nadraživanje oka. Također, pare kemikalija (npr. amonijaka) mogu trajno zamutiti neke kontaktne leće. U slučaju da kemikalija dospije u oko, kontaktne leće onemogućuju brzo i efikasno ispiranje oka. Preporučljivo je u slučaju nošenja kontaktnih leća pokuse izvoditi u digestoru.
6. Tijekom izvođenja eksperimenata studenti su dužni nositi bez dioptrijske naočale (zaštitne naočale), a kod opasnijih eksperimenata, kada je to navedeno u uputama vježbi, lice je potrebno zaštititi zaštitnom maskom.
7. U laboratorij nije preporučljivo nositi nakit. Neke od kemikalija mogu nakit trajno oštetiti, a neki od plemenitih metala (npr. platina) djeluju kao katalizatori.
8. Tijekom rada s kemikalijama držati se jednostavnog pravila: sve kemikalije su otrovne, ovisno o količini koja je unesena u organizam! (Sikirica i Korpar-Čolig, 2005; Dabić, 2010)

## 5.5. KEMIKALIJE I POSTUPAK S NJIMA

Tijekom rada s kemikalijama potrebno je držati se jednostavnog pravila: sve kemikalije su otrovne, ovisno o količini koju unesete u organizam!

1. Kemikalije se čuvaju u staklenim i plastičnim bocama.
2. Kapljevite kemikalije čuvaju se u bocama s uskim grlom, a čvrste u bocama sa širokim grlom.
3. Boce za reagense moraju biti propisno označene i zatvorene. Nikada ne uzimati reagens iz neoznačene boce ili boce na kojoj nije moguće jasno pročitati natpis. U nekim slučajevima pogreška bi mogla biti opasna po život! Ukoliko se kemikalija priprema u laboratoriju i nema certificiranu oznaku potrebno je na bocu u kojoj se nalazi jasno istaknuti vrstu kemikalije, koncentraciju, datum kada je pripremljena i ime analitičara koji ju je pripremio.
4. Boce uvijek moraju biti začepljene čepom.
5. Čepovi su najčešće od stakla, ali mogu biti od plastike, gume ili pluta, ovisno o prirodi kemikalije.
6. Krutine, odnosno kemikalije u krutom stanju, uzimaju se iz boce čistom plastičnom ili metalnom žlicom, žlicu prije uzimanja reagensa treba obavezno oprati deioniziranom vodom, a potom dobro obrisati, najbolje staničevinom ili komadom čistog papira za filtriranje.
7. Prilikom uzimanja kapljevutih (tekućih) kemikalija ne smije se uranjati pipetom direktno u bocu, jer se na taj način može onečistiti otopina u boci, već se kemikalija iz boce prelijeva u kušalicu (epruvetu) ili čašu, te se odatle pipetom uzima potrebna količina.
8. Izbjegavati neumjereno trošenje reagensa. Uzeti samo onoliko reagensa koliko je potrebno za izvođenje pokusa. Za reakcije koje se izvode u epruveti obično je dovoljno 1-2 mL reagensa (volumenu od 1 mL u epruveti odgovara visini stupca tekućine od otprilike 1 cm).
9. Višak reagensa se iz epruvete ili čaše ne smije vratiti natrag u bocu, već se baca u posudu za prikupljanje otpadnih kemikalija, ili u izljev, ako je to dopušteno. Ako se reagens baca u izljev, uvijek izljev isprati većom količinom vodovodne vode.

10. Organska otapala nikada ne bacati u izljev, već u pripremljene boce za otpadna otapala. Odvodne i kanalizacijske cijevi načinjene su većinom od plastike (PVC) i organska otapala ih mogu oštetiti.
11. Koncentrirane kiseline i lužine prije bacanja u izljev razrijedite s većom količinom vodovodne vode, a nakon bacanja u izljev pustiti vodu da teče barem pola minute.
12. Nikada ne otvarati više od jedne boce istovremeno. Ako se otvore dvije ili više boca, lako može doći do zamijene njihovih čepova, čime bi se nepovratno onečistio reagens u boci. Ako se zabunom dogodi da je istovremeno otvoreno više boca, tada sve čepove prije zatvaranja boca obavezno oprati deioniziranom vodom.
13. Kad se iz boce vadi čep, treba ga staviti na stol tako da leži na svojoj široj bazi.
14. Ako je stakleni čep na svojoj gornjoj strani spljošten drži se u ruci između prstenjaka i malog prsta.
15. Nakon uporabe bocu za reagense odmah zatvoriti njenim čepom i vratiti na policu.
16. Posebnu pozornost morate posvetiti razrjeđivanju koncentrirane sumporne kiseline ( $H_2SO_4$ ). Prilikom njenog miješanja s vodom oslobađa se velika količina topline, zbog koje otopina može početi prskati iz posude u kojoj se nalazi. Zato je potrebno kiselinu uvijek polako i oprezno dodavati u vodu, u malim obrocima, uz stalno miješanje i, po potrebi, hlađenje otopine. Ni u kom slučaju nije dozvoljeno dodavanje vode u koncentriranu sumpornu kiselinu (zapamtite **'Ne VUK!'**, kao akronim za **'Ne Vodu U Kiselinu!'**). Prilikom razrjeđivanja koncentrirane sumporne kiseline obavezno nositi zaštitne naočale (Sikirica i Korpar-Čolig, 2005).



Slika 5. a) pravilno i b) nepravilno razrjeđivanje koncentrirane sumporne kiseline