

Važnost praćenja sadržaja vitamina u cjelodnevним obrocima u dječjim vrtićima

Sušanj, Sara

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:193:624656>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**



image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)



image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Diplomski sveučilišni studij
"Istraživanje i razvoj lijekova"

Sara Sušanj

Važnost praćenja sadržaja vitamina u cjelodnevnim obrocima u dječjim
vrtićima

Diplomski rad

Rijeka, 2020.godine

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Diplomski sveučilišni studij
"Istraživanje i razvoj lijekova"

Sara Sušanj

Važnost praćenja sadržaja vitamina u cjelodnevnim obrocima u dječjim
vrtićima

Diplomski rad

Mentorica rada: Izv.prof.dr.sc. Sandra Pavičić Žeželj dipl.sanit.ing.

Rijeka, 2020.godine

UNIVERSITY OF RIJEKA
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
Graduate study
"Drug Research and Development"

Sara Sušanj

The importance of monitoring the vitamin content of whole-day meals in
kindergartens

Graduate thesis

Rijeka, 2020.

Zahvale

U prvom redu, želim se zahvaliti Izv.prof.dr.sc. Sandri Pavičić Žeželj, mentorici mog diplomskog rada na izboru teme, savjetima prilikom pisanja i strpljenju. Hvala Vam na svojoj pomoći i povjerenju koje ste imali u mene. Usprkos brojnim poslovnim obavezama uvijek ste našli vremena za moj rad i pokazali ste razumijevanje.

Zahvaljujem se Doc. dr. sc. Ivani Ratkaj, komentorici mog rada na pomoći, trudu i uloženom vremenu.

Zahvaljujem se svim profesorima i asistentima Odjela za biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci na prenesenom znanju i životnom iskustvu. Uvjerili ste me da znanje uistinu jest moć koju mi nitko ne može oduzeti. Zahvaljujući Vama spremno koračam u sve poslovne izazove koji me očekuju!

Hvala svim mojim prijateljima i drugim ljudima koji su bili dio mog puta i najljepših godina odrastanja. Sve riječi pohvale i podrške kao i trenuci provedeni s Vama izgradili su me kao osobu. Sretna sam što ste dio mog života.

Hvala nonama, bratu, sestri i ostaloj rodbini na pomoći i podršci, uvijek ste bili oslonac u lijepim i onim težim trenucima.

I na kraju, veliko HVALA mojim roditeljima koji su uvijek vjerovali u mene. Hvala Vam za bezuvjetnu podršku, ljubav i razumijevanje. Bez Vas ne bih bila gdje sam danas.

"Fortune favors the prepared mind." - Louis Pasteur

Diplomski rad obranjen je dana: 24.09.2020.

Pred povjerenstvom:

1. Doc.dr.sc. Jelena Ban, predsjednica
2. Prof.dr.sc. Iva Sorta-Bilajac Turina, članica
3. Izv.prof.dr.sc. Sandra Pavičić Žeželj, mentorica
4. Doc.dr.sc. Ivana Ratkaj, komentorica

Rad ima 73 stranice, 15 slika, 14 tablica i 32 literaturna navoda.

Sažetak

Prehrana je jedan od najvažnijih faktora razvitka i razvoja ljudskog života te očuvanja zdravlja. Pravilna prehrana djece predškolske dobi važna je zbog ubrzanog rasta i razvoja i treba se bazirati na piramidi pravilne prehrane. Podrazumijeva hranjive tvari, zastupljene i konzumirane u uravnoteženom omjeru. Vitamini su tvari organskog podrijetla koje organizmu trebaju u relativno malim količinama za rast, održavanje zdravlja i metaboličkog integriteta. Unose se prehranom ili dodacima prehrani zbog nedovoljne sinteze u ljudskom organizmu. Poznato je 13 vitamina koji se prema topljivosti dijele na vitamine topljive mastima (vitamin A, D, E i K) i one topljive u vodi (vitamini B skupine i vitamin C). Zadovoljavanje preporučenih dnevnih doza je nužno jer deficit bilo kojeg od vitamina u organizmu, uzrokuje sindrom sa tipičnim znakovima i simptomima. Cilj rada bio je izmjeriti vrijednosti vitamina A, B1, B2, B6 i vitamina C iz cjelodnevnih uzoraka hrane uzorkovanih u dječjim vrtićima te ih usporediti sa preporučenim dnevnim dozama za djecu vrtićke dobi. Prema sklopljenim ugovorima, uzorkovanje cjelodnevnih obroka hrane vrši se četiri puta godišnje, metodom slučajnih uzoraka. Uzorci se homogeniziraju i konzerviraju do provođenja saponifikacije, derivatizacije i konačnog određivanja metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC). Prosječni dnevni unosi vitamina A, B1, B2 i C nisu, u periodu od 10 godina promatranja, svake godine zadovoljili 80% preporuka Prehrambenog standarda za planiranje prehrane u dječjim vrtićima, dok je vitamin B6 kontinuirano iznad preporuka. Praćenje sadržaja vitamina u cjelodnevnom obroku djece važno je zbog pravovremene reakcije na eventualne nedostatke i neadekvatne unose ovih esencijalnih mikronutrijenata kod djece. Prilikom planiranja jelovnika naglasak treba biti na svježem, sezonskom voću i povrću koje ne zahtjeva daljnju termičku obradu i prirodno je bogato mikronutrijentima. Ključna je edukacija roditelja i stručnjaka koji rade s djecom o zdravoj i pravilnoj prehrani te benefitima zdravih navika stečenih u djetinjstvu.

Ključne riječi

djeca predškolske dobi, dječji vrtići, HPLC metoda, prehrana, vitamini

Summary

Nutrition is one of the most important factors for the growth and development of the human life and for health maintenance. Proper nutrition of preschool children is important because of their accelerated growth and development and should be based on a nutritional pyramid. It implies nutrients, represented and consumed in a balanced ratio. Vitamins are substances of organic origin that the body needs in relatively small quantities to grow, to maintain health and its metabolic integrity. They are ingested through diet or dietary supplements in cases of insufficient synthesis in the human body. There are 13 known vitamins that are divided according to their solubility into fat-soluble vitamins (vitamins A, D, E and K) and water-soluble ones (B vitamins and vitamin C). Recommended daily intake doses are necessary to be met because a deficiency of any of the aforementioned vitamins in the body causes a syndrome with typical signs and symptoms. The aim of the study was to measure the values of vitamins A, B1, B2, B6 and vitamin C from whole-day meals sampled in kindergartens and compare them with the recommendations for preschool age children. According to the concluded contracts, sampling of whole-day meals is done four times a year, by method of random samples. The samples are homogenized and preserved until saponification, derivatization and final determination by high performance liquid chromatography (HPLC). Average daily intakes of vitamins A, B1, B2 and C in the period of 10 years of observation did not meet 80% of the recommendations each year, while vitamin B6 is continuously above the recommendations of the Food Standard for diet planning in kindergartens. Monitoring the vitamin content in children's whole-day meals is important because of the timely response to possible deficiencies and inadequate intake. When planning the menu, focus should be on fresh, seasonal fruits and vegetables that do not require further heat treatment and are naturally rich in micronutrients. It is important to educate parents and kindergarten professionals about healthy and proper nutrition and the benefits of healthy habits acquired in childhood.

Key words

preschool children, kindergartens, HPLC method, nutrition, vitamins

Sadržaj

1.	Uvod i pregled područja istraživanja.....	1
1.1.	Hrana i zdravlje	1
1.1.1.	Prehrambene preporuke za djecu u dječjim vrtićima.....	2
1.2.	Potrebe za energijom i hranjivim tvarima.....	3
1.2.1.	Energija	4
1.2.2.	Makronutrijenti	5
1.2.3.	Mikronutrijenti.....	8
1.3.	Vitamini – uloga i podjela.....	9
1.3.1.	Važnost (potrebe) vitamina kod djece u razvoju	10
1.4.	Vitamini topljivi u mastima	11
1.4.1.	Vitamin A.....	11
1.4.2.	Vitamin D	14
1.4.3.	Vitamin E.....	15
1.4.4.	Vitamin K.....	15
1.5.	Vitamini topljivi u vodi.....	16
1.5.1.	Vitamini skupine B.....	16
1.5.2.	Vitamin C (Askorbinska kiselina).....	23
1.6.	Tehnike određivanja vitamina u obrocima.....	24
2.	Cilj rada	30
3.	Materijali i metode	30
3.1.	Saponifikacija uzorka i određivanje vitamina A.....	32
3.2.	Određivanje vitamina B1	36
3.3.	Određivanje vitamina B2	39
3.4.	Određivanje vitamina B6	42
3.5.	Određivanje vitamina C.....	45
4.	Rezultati	48
4.1.	Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina A.....	48
4.2.	Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina B1	51
4.3.	Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina B2	54
4.4.	Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina B6	56
4.5.	Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina C.....	59
4.6.	Unos promatranih vitamina u 2019. godini.....	62
5.	Rasprava	63
6.	Zaključci	69

7.	Literatura	70
----	------------------	----

1. Uvod i pregled područja istraživanja

1.1. Hrana i zdravlje

Prehrana je jedan od najvažnijih faktora razvitka i razvoja ljudskog života (1). Prehranom u organizam unosimo tvari potrebne za funkcioniranje organa i tkiva te za proizvodnju energije koja održava bazalni metabolizam i fizičku aktivnost (2). Pravilna prehrana kao i izbor unesenih namirnica neophodni su za očuvanje zdravlja, tjelesni razvitak kao i za optimalno funkcioniranje organizma (1). Zdravu prehranu čine pojedine komponente u svakodnevnoj prehrani, a podrazumijeva pravilno izbalansirane dnevne obroke s potrebnim količinama i međusobnim odnosom bjelančevina, ugljikohidrata, masti, vitamina i minerala. Bjelančevine služe izgradnji i održavanju mišića, krvi, kože, kosti i ostalih tkiva i organa u tijelu. Energiju osiguravaju ugljikohidrati i masti dok su vitamini i minerali neophodni za pravilan rad i održavanje zdravlja organizma. Neke vrste masti pospješuju iskorištavanje pojedinih vitamina dok minerali sudjeluju u izgradnji tkiva i organa (3). Suvremen način života karakterizira dug radni dan, neredovan unos hrane, promjenu navika u prehrani prilikom izbora, vrste, načina pripreme te količine namirnica i smanjena tjelesna aktivnost. Takav način života doveo je do porasta broja zdravstvenih problema poput kardiovaskularnih bolesti, osteoporoze, dijabetesa, pothranjenosti u nerazvijenim te pretilosti u razvijenim zemljama. Iako pretilih osoba ima u svim dobnim skupinama najviše zabrinjava trend povećanja broja pretilih djece (4). Neadekvatna prehrana u ranoj životnoj dobi ima negativne učinke ne samo u djetinjstvu već utječe i na zdravlje u odrasloj dobi, stoga je važno djecu educirati i usaditi im zdrave prehrambene navike (5). Praćenjem rasta i razvoja te kvalitete prehrane i prehrambenih navika u dječjim vrtićima preventivno djelujemo

na spomenuta kronična stanja u starijoj životnoj dobi. Zbog važnosti pravilne prehrane u djece predškolske dobi važna je edukacija svih ljudi koji rade s djecom (6).

1.1.1.Prehrambene preporuke za djecu u dječjim vrtićima

Pravilna prehrana podrazumijeva sve hranjive tvari zastupljene i konzumirane u uravnoteženom omjeru u svrhu održavanja optimalnog stanja i zaštite organizma. Djeca u dječjim vrtićima provedu u prosjeku 5 do 7 godina života te prosječno 8 – 10 sati na dan. Osim intenzivnog fizičkog, vrijeme provedeno u predškolskim ustanovama je i vrijeme psihičkog sazrijevanja stoga je važno znati što, kako, u kojoj količini i kada ponuditi djetetu kao dio pravilne prehrane. Prilikom slaganja obroka važno je poštovati preporuke o strukturi obroka (udio bjelančevina, masti i ugljikohidrata) u ukupnim dnevnim energetske potrebama, te količini unosa dnevno potrebnih tvari po jednom obroku (zajutrak, doručak, ručak, užina i večera) (2). Prehrana djece treba biti raznovrsna i bazirati se na piramidi pravilne prehrane. Žitarice i proizvodi cjelovitog zrna žitarica čine bazu piramide jer daju energiju, izvor su vitamina skupine B i minerala te biljnih vlakana. One trebaju biti najzastupljenije u jelovniku, tj. svakodnevno u 5 (dob 1-3 godine) tj. 6 (dob 3-6 godina) serviranja. Na drugoj stepenici nalaze se izvori vitamina i minerala, složenih ugljikohidrata i vlakana - voće i povrće. Za voće se preporuča 2 serviranja, a povrće 2-3 serviranja. Slijede mlijeko i mliječni proizvodi bogati kalcijem i bjelančevinama te meso, mahunarke, riba i jaja. Ove namirnice trebaju činiti 2-3 jedinična unošenja dnevno i mogu se kombinirati u tjednom jelovniku, riba do 2 puta, meso do 5 puta a jaje do 3 puta na tjedan. Posljednje mjesto piramide zauzimaju slatkiši, masna i slana hrana koju bi djeca trebala konzumirati u vrlo malim količinama (3,6).

Jelovnici u dječjim vrtićima sastavljeni su prema unaprijed definiranim Hrvatskim preporukama, a temelje se na "Prehrambenim standardima za

planiranje prehrane djece u dječjem vrtiću". Na jelovnicima se nalaze raznovrsne namirnice, napravljeni su za dva perioda: jesen – zima i proljeće – ljeto te u četiri tipa koja se smjenjuju svakog tjedna u mjesecu (6). Osnovni motiv za promjenu do tada postojećih preporuka i smjernica koje su bile sadržane u "Programu za zdravstvenu zaštitu djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima" jesu nove znanstvene spoznaje na području prehrane o pripremi, sastavu i vrsti namirnica (7). Preporučeni dnevni unos energije i hranjivih tvari u novim je smjernicama detaljno razrađen i usklađen sa aktualnim preporukama koje su sadržane na grafičkom prikazu piramide pravilne prehrane za djecu. Izmjene i dopune "Programa zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima" uključuju preporuke o udjelu zasićenih i nezasićenih masti, jednostavnih šećera te prehrambenih vlakana dojenčadi (6 -12 mjeseci) i djece (1-3 i 4-6 godina) (8). Kontrola unosa ovih ključnih nutrijenata kod djece preventivno djeluje na pojavu kroničnih nezaraznih bolesti koje se javljaju u kasnijoj životnoj dobi (3).

1.2. Potrebe za energijom i hranjivim tvarima

Pravilna prehrana važna je u svakoj životnoj dobi, a to se posebno odnosi na predškolsko razdoblje gdje se dijete najbrže i najintenzivnije razvija. Obzirom na dob, djecu možemo podijeliti u kategoriju malog djeteta (1-3 godine) i predškolsku dob (4-6 godina) te na osnovu toga određujemo njihovu potrebu za energijom, hranjivim tvarima, vitaminima i mineralima (3). Djetinjstvo obilježava vrijeme učenja novih vještina, stjecanje neovisnosti, ali i privikavanje na novu do tada ne konzumiranu hranu. Mala djeca u odnosu na dojenačku dob sporije rastu i manje dobivaju na tjelesnoj masi. Sporiji rast reflektira se smanjenim apetitom djece (9). Apsolutna vrijednost energetske potrebe male djece veća je nego prije no ona se u odnosu na tjelesnu masu smanjila zbog sporijeg rasta. Naglasak kod izvora

energije jest na ugljikohidratima, udio masti se smanjio dok je potreba za vitaminima i mineralima veća (izuzev vitamina D) u odnosu na dojenačku dob. U predškolskoj dobi rast u visinu i prirast tjelesne mase su također usporeni i nastavljaju takav trend do puberteta. Energetske potrebe predškolaca su računajući prema tjelesnoj masi manje nego ranije, međutim u apsolutnim vrijednostima to nije tako. Potrebe za vitaminima i mineralima veće su od onih u dobi malog djeteta. Predškolska dob je vrijeme kada treba započeti prevenciju patoloških stanja i bolesti odraslih obzirom da djeca formiraju prehrambene navike i izražavaju želju za pojedinom hranom. Loše navike poput odabira nutritivno siromašnih namirnica, neredovitih te količinski neadekvatnih obroka negativno utječu na prevenciju spomenutih stanja (3).

1.2.1.Energija

Unatoč slabijem apetitu djeca trebaju adekvatne kalorije i nutrijente za normalan rast i razvojni potencijal. Preporučeni dnevni energetske unos treba biti zadovoljen i uravnotežen sa energetske potrošnjom tokom dana. Energetske potrebe djeteta određuju se prema spolu, godinama, visini, težini, tjelesnoj aktivnosti te potrebama bazalnog metabolizma (5,9). Prema važećem pravilniku "Izmjene i dopune Programa zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima", za normalno uhranjeno, umjereno tjelesno aktivno, malo dijete, preporučen dnevni energetske unos iznosi 1150 - 1250 kcal, a za dijete u dobi od 4-6 godina 1550 - 1650 kcal (8). Time se pokrivaju potrebe bazalnog metabolizma, rasta, uobičajenih dnevnih aktivnosti djeteta, dinamičkog djelovanja hrane te nadoknada gubitaka (stolica, mokraća). Dugotrajnim unošenjem većeg energetske unosa od preporučenog te namirnica koje sadrže značajnu količinu energije bez specifičnih nutrijenata tzv. "praznih kalorija" razvija se pretilost. Smanjeni unos energije rezultira pothranjenošću i infekcijama

djece i najčešći je u slabije razvijenim državama (3). U tablici 1 prikazani su preporučeni dnevni unosi energije za dječake i djevojčice starosti 3-5 godina prema različitim razinama fizičke aktivnosti (RFA) (9).

Tablica 1. Preporučeni dnevni unos energije za dječake i djevojčice u starosti od 3-5 godina prema različitim razinama fizičke aktivnosti (RFA).

Starost/spol	Prosječna težina (kg)	Prosječna visina (m)	Sjedilačka RFA (Kcal/dan)	Smanjena RFA (Kcal/dan)	Aktivna RFA (Kcal/dan)	Jako aktivna RFA (Kcal/dan)
Dječak 3 godine	14.3	0.95	1162	1324	1485	1683
Dječak 4 godine	16.2	1.02	1215	1390	1566	1783
Dječak 5 godina	18.4	1.09	1257	1466	1658	1894
Djevojčica 3 godine	13.9	0.94	1080	1243	1395	1649
Djevojčica 4 godine	15.8	1.01	1133	1310	1475	1750
Djevojčica 5 godina	17.9	1.08	1189	1379	1557	1854

Izvor: (9)

1.2.2.Makronutrijenti

Makronutrijenti su hranjive tvari uključene u prehranu pojedinaca, koje organizmu osiguravaju energiju i služe kao gradivne tvari. U makronutrijente ubrajamo bjelančevine, masti i ugljikohidrate (3).

Bjelančevine

Bjelančevine, gradivni elementi tjelesnih stanica, sudjeluju u rastu te popravku oštećenih tkiva. Transportiraju kisik, hormone i vitamine krvotokom te izgrađuju mišiće i stanice imunološkog sustava (3). Omogućuju kontrakcije mišića, bitne su za održavanje ravnoteže tekućina u tijelu te u zaustavljanju krvarenja (10). Bjelančevine se sastoje od

esencijalnih i neesencijalnih aminokiselina. Neesencijalne aminokiseline sintetizira ljudsko tijelo dok esencijalne (njih 9 - fenilalanin, histidin, izoleucin, leucin, lizin, metionin, treonin, triptofan i valin) unosimo prehranom (5). Razlikujemo potpune od nepotpunih bjelančevina. Potpune bjelančevine nalazimo u hrani životinjskog porijekla i nekim mahunarkama te one u sebi sadrže sve esencijalne aminokiseline u odgovarajućem omjeru. Nepotpune bjelančevine nalazimo u namirnicama biljnog porijekla (3). Preporuka je da od ukupne dnevne količine unosa bjelančevina za djecu, najmanje 50% njih budu punovrijedne (iz namirnica životinjskog podrijetla) (8). Izvori potpunih bjelančevina jesu crveno meso, meso peradi, mlijeko, jaja, riba i morski plodovi dok su nepotpune bjelančevine žitarice, povrće, orašasti plodovi i sjemenke (3). Obzirom da bjelančevine sudjeluju u stvaranju novih stanica, a dojenčad i djeca brže rastu, potrebno im je više bjelančevina u odnosu na odrasle (5). Prema pravilniku "Izmjene i dopune Programa zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima", za normalno uhranjeno, umjereno tjelesno aktivno, malo dijete, preporučeni dnevni unos bjelančevina iznosi 30 - 45 g, a za dijete u dobi od 4-6 godina 40 - 60 g što odgovara 10 - 15 % dnevnog energetskog unosa (8). Radi opterećenja jetre i bubrega te slabije resorpcije nekih minerala ne preporučuje se više od 20% zastupljenost bjelančevina u dnevnom energetskom unosu djece starije od godine dana. Dugotrajno razdoblje nedovoljnog unosa bjelančevina (udio manji od 10% preporučenog dnevnog unosa) upućuje na proteinsko-energetsku malnutriciju (PEM) koja rezultira smanjenom tjelesnom težinom djeteta i zastojem u razvoju u odnosu na svoju dobnu skupinu (3,10).

U rizičnoj skupini od nedostatka unosa proteina nalaze se djeca sa višestrukim alergijama na hranu te ona koja zajedno sa roditeljima prate alternativni veganski način prehrane (5).

Masti

Masti imaju važnu ulogu u razvoju mozga i rastu djeteta u najranijim godinama njegova života. One čine 60% središnjeg i perifernog živčanog sustava koji su zaduženi za kontrolu i regulaciju tjelesnog sustava. Masnoće u obroku čine organizam sitim, stoga obroci sa niskim udjelom masti i grickalice dovode do gladi ili prejedanja između obroka. Masti su uz ugljikohidrate najvažniji izvor energije i omogućuju apsorpciju vitaminima topljivim u mastima (11). Prema pravilniku "Izmjene i dopune Programa zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima", za normalno uhranjeno, umjereno tjelesno aktivno, malo dijete, preporučeni dnevni unos masti iznosi 40-47 g a za dijete u dobi 4-6 godina 53-62 g. Takav unos masti u hrani obuhvaća 30-35% dnevnog unosa energije. Ukupni unos masti za malu djecu iznosi najviše 40%; a za djecu 4 – 6 godina najviše do 35% dnevnog energetskeg unosa. Unos nikako ne smije biti manji od 25% (8). Neadekvatna prehrana u ranijoj životnoj dobi ima negativne učinke na zdravlje u odrasloj dobi stoga je važno preventivno djelovati na pretilost, neuhranjenost, aterosklozu i ostale kardiovaskularne bolesti na način da se masnoće uzimaju u preporučenom odnosu i u dozvoljenim količinama. Odnos masnoća u prehrani trebao bi biti sljedeći: do 10% ukupnog energetskeg unosa (≤ 13 g/dan za malu djecu i ≤ 18 g/dan za djecu 4-6 godina) zasićene masne kiseline (masnoće u mlijeku, vrhnju, maslacu, siru), kolesterol (do 100 mg na 100 kcal dnevno), manje od 1% trans masnih kiselina (lisnato tijesto, keksi i ostali pekarski proizvodi) te nezasićene masne kiseline ("zdrave masti"- biljna ulja, monozasićene masti u orašastim plodovima i avokadu) koje imaju preventivan učinak na bolesti srca i krvnih žila (3,9).

Ugljikohidrati i vlakna

Ugljikohidrati su makronutrijenti koji opskrbljuju energijom svaku stanicu u tijelu. Izvor ugljikohidrata kod djece najranije dobi je majčino mlijeko, a kasnije žitarice i proizvodi od žitarica, kukuruz, krumpir, mlijeko,

šećer itd. Prema vrsti razlikujemo jednostavne (monosaharide) i složene (oligosaharide, polisaharide) ugljikohidrate. Složeni ugljikohidrati građeni su od jednostavnih monosaharidnih jedinica (5). Primjeri jednostavnih ugljikohidrata jesu saharoza, fruktoza i glukoza koje nalazimo u voću i mlijeku dok je primjer složenog ugljikohidrata škrob kojeg nalazimo u povrću, mahunarkama i žitaricama. Jednostavni ugljikohidrati razgrađuju se brzo dok se složeni razgrađuju sporije pa tijelo dulje opskrbljuje energijom (3). Adekvatna količina ugljikohidrata u prehrani nužna je za pravilan rad središnjeg živčanog sustava točnije mozga koji je ovisan o opskrbljivanju glukozom (10). Prema pravilniku "Izmjene i dopune Programa zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima", za normalno uhranjeno, umjereno tjelesno aktivno, malo djeteta, preporučeni dnevni unos ugljikohidrata je 150-180 g, a za dijete od 4-6 godina starosti 200-240 g što odgovara 50-60% ukupnog dnevnog energetskeg unosa (8).

Prehrambena ili biljna vlakna kao vrsta ugljikohidrata pozitivno utječu na probavu, međutim ne apsorbiraju se tokom hranidbenog lanca već se zajedno sa ostalim sadržajem crijeva izlučuju stolicom. Preporuka je da prehrambena vlakna budu zastupljena s oko 10 g na 100 kcal u prehrani djece jer smanjuju energetske gustoće hrane pa bi u slučaju prekomjerne količine imala laksativan učinak i uzrokovale veći broj stolica (3).

1.2.3. Mikronutrijenti

Mikronutrijenti su tvari koje organizmu trebaju u relativno malim količinama međutim, neophodni su za velik broj metaboličkih procesa u tijelu i očuvanje zdravlja (10). Sudjeluju u metabolizmu energije, sintezi hemoglobina, održavanju zdravlja kostiju i omogućavaju adekvatan imunološki sustav (3). Tvari koje ubrajamo u mikronutrijente jesu vitamini i minerali i neophodni su za normalan rast i razvoj djeteta. Nedovoljan unos vitamina i minerala rezultira tjelesnom neravnotežom, zaostatkom u

razvoju te ostalim zdravstvenim poremećajima. Stanja koja mogu dovesti do nedostatka nutrijenata u tijelu jesu anoreksija, kronične bolesti i alternativna vegetarijanska prehrana (10). Djeca koja konzumiraju raznovrsnu, uravnoteženu prehranu temeljenu na piramidi pravilne prehrane dobivaju sve potrebne nutrijente direktno iz obroka. Povećana potreba nutrijenata kod djece u prve dvije godine života poput željeza i cinka javlja se zbog naglog rasta dok kalcij sudjeluje u postizanju koštane mase (3).

1.3. Vitamini – uloga i podjela

Vitamini su organske tvari koje sudjeluju u nizu metaboličkih procesa u tijelu. Sudjeluju u stvaranju crvenih krvnih stanica i doprinose imunološkom sustavu u borbi protiv bolesti (3). Vitamini su organizmu potrebni u malim količinama (mikrogramima ili miligramima) za održavanje normalnog zdravlja i metaboličkog integriteta. Da bi neki kemijski spoj bio definiran kao vitamin, neophodno je pokazati da endogena sinteza samog spoja ne zadovoljava fiziološke potrebe organizma, ukoliko ga se ne unosi prehrambenim izvorom ili suplementacijom. Ako se u hrani nalaze prekursori nekih vitamina (tzv. provitamini), organizam ih može preraditi u vitamine. Vitamini su esencijalni nutrijenti zdrave prehrane (12). Danas je poznato 13 vitamina koji se prema topljivosti dijele na vitamine topljive mastima (vitamin A, D, E i K) i one topljive u vodi (vitamini B skupine i vitamin C). Topljivost ovisi o apsorpciji, transportu, pohranjivanju i izlučivanju. Vitamini topljivi u vodi u krvi se nalaze slobodni dok se oni topljivi u mastima vežu na proteinske nosače. Između vitamina postoje kemijske i funkcionalne sličnosti a djeluju kao koenzimi i kofaktori u metabolizmu, kao antioksidansi (vitamini E i C) ili imaju hormonsku aktivnost (vitamini D i A). Vitamini su prisutni u svakodnevnoj prehrani, a najčešći izvori jesu voće, povrće i cjelovite žitarice (10). Prije masenih ili molarnih jedinica izražavanja količine vitamina, koristile su se internacionalne jedinice (IU) biološke aktivnosti. Danas se uz masene i

molarne, jedinice biološke aktivnosti upotrebljavaju kod vitamina A, D i E (12).

1.3.1.Važnost (potrebe) vitamina kod djece u razvoju

Iako su vitamini potrebni u vrlo malim količinama, zadovoljavanje preporučenih dnevnih doza je nužno. Deficit u količini bilo kojeg vitamina u organizmu, uzrokuje sindrom sa tipičnim znakovima i simptomima. Upravo su ti sindromi nedostatka specifičnog nutrijenta te promatranje i liječenje poremećaja utvrdili esencijalnost pojedinog mikronutrijenta (10). Nasuprot tome, uzimanje vitamina u prekomjernim količinama može biti i štetno. Vitamini topljivi u mastima (vitamini A, D, E i K) dugo se zadržavaju u tijelu (u lipidnim tkivima organa, posebice jetri) pa prilikom uzimanja treba biti na oprezu kako ne bi došlo do nakupljanja i toksičnog učinka. Vitamini topljivi u mastima izlučuju se fecesom kroz entereohepatičku cirkulaciju (11). Stav svih institucija i organizacija koje se bave prehranom djece je da će unos mikronutrijenata biti zadovoljen pravilnom i raznovrsnom prehranom, bez konzumacije dodatnih suplemenata (3). Preporučeni dnevni unos vitamina za djecu 1-3 i 4-6 godina starosti naveden je u tablici 2.

Tablica 2. Preporučeni dnevni unos vitamina kod djece

Vitamini	Djeca 1-3 godine	Djeca 4-6 godina
Vitamin A (retinol), β-karoten (mg ekvivalenta)	0,6	0,7
Vitamin D (kalciferoli) (μg)	5	5
Vitamin E (tokoferoli) (mg ekvivalenta)	dječaci: 6 djevojčice: 5	8
Vitamin K (μg)	15	20
Tiamin (vitamin B₁) (mg)	0,6	0,8
Riboflavin (vitamin B₂) (mg)	0,7	0,9
Niacin (mg ekvivalenta)	7	10
Vitamin B₆ (piridoksin) (mg)	0,4	0,5
Folat/folna kiselina (μg ekvivalenta)	200	300
Pantotenska kiselina (mg)	4	4
Biotin (μg)	10-15	10-15
Vitamin B12 (kobalamini) (μg)	1	1,5
Vitamin C (mg)	60	70

Izvor: (8)

1.4. Vitamini topljivi u mastima

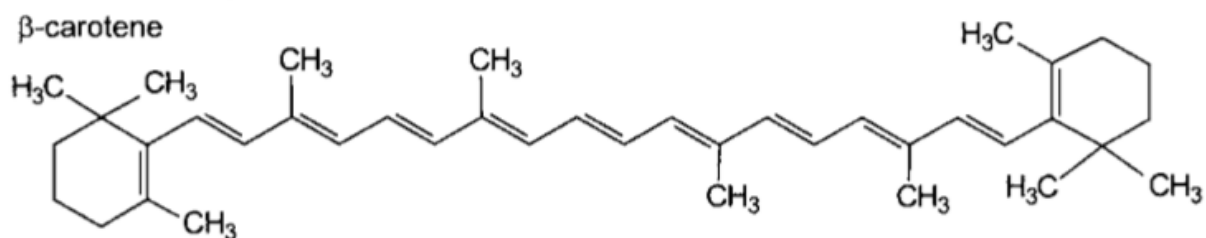
Vitamini topljivi u nepolarnim otapalima, mastima, apsorbiraju se u crijevima, organizmom cirkuliraju putem krvi, a njihov višak akumulira se u masnim tkivima i jetri. Vitamini koji pripadaju ovoj skupini su A, D, E i K. Kod konstantnog unosa doze ovih vitamina veće od preporučene može doći do nakupljanja i toksičnog učinka (11).

1.4.1. Vitamin A

Vitamin A obuhvaća provitamin A karotenoide, retinol te njegove aktivne metabolite (12). Ima esencijalnu ulogu u stvaranju rodopsina, fotoreceptorskog pigmenta u mrežnici, točnije za očuvanje vida (13). Važan

je od samog početka razvoja fetusa jer sudjeluje u rastu, sintezi proteina, staničnoj diferencijaciji te održavanju cjelovitosti epitela. Osim navedenih bioloških funkcija, vitamin A sudjeluje u zaštiti organizma od kardiovaskularnih bolesti i raka, pomaže radu imunološkog sustava i reprodukciji te je koristan u prevenciji infektivnih i neinfektivnih bolesti dišnog sustava (11,14). Pohranjuje se u jetri te ga tijelo prilikom iskorištavanja otpušta u krvotok vezanog za prealbumin i retinol-vežući protein (RBP) (13). Ljudsko tijelo ne sintetizira Vitamin A zato ga je potrebno unositi prehranom ili suplementacijom (14). Izvor vitamina A su namirnice životinjskog porijekla poput mesa, ribe, jaja, mlijeka i ostalih mliječnih proizvoda (11).

Osnovne fiziološki aktivne forme vitamina A, koje dolaze od retinola su retinaldehid i retinoična kiselina. Retinaldehid djeluje kao signalna molekula u vidnom sustavu između primanja svjetlosti na mrežnici i stvaranja živčanog impulsa, dok retinoična kiselina sudjeluje u moduliranju genske ekspresije i staničnoj diferencijaciji (12). Retinol (preformirani vitamin A) se nalazi samo u životinjama i malom broju bakterija dok se karotenoidi (prekursori vitamina A koje tijelo pretvara u aktivnu formu vitamina) nalaze u tamnom lisnatom, zelenom, žutom i narančastom povrću i voću (11). Provitamin A karotenoidi potječu iz biljaka i beta karoten je jedini kojeg sisavci metaboliziraju u vitamin A (14). Postoji preko 400 karotenoida kao što su beta-karoten (slika 1), lutein, kantaksantin, zeaksantin, likopen, alfa karoten, kriptoksantin i dr. Nemaju sve forme karotenoida aktivnost vitamina A, ali velika većina njih ima antioksidativna svojstva (11). Količina retinola od 1 mg je jednaka 6 mg beta karotena, odnosno 12 mg ostalih karotenoida provitamina A (8). Ostali karotenoidi imaju djelotvornost koja iznosi polovicu one beta karotena (12). Jedinice biološke aktivnosti IU iako zastarjele, uz masene se izraze još uvijek rabe kod vitamina A. Prema tome 1 IU jednaka je 0,3 mg retinola (8).



Slika 1. Kemijska struktura beta karotena (12)

Manjak vitamina A ozbiljan je javnozdravstveni problem vezan za prehranu, drugi uz proteinsko energetska malnutriciju djece do pet godina starosti (14). Deficit u organizmu nastaje uslijed nedovoljnog unosa vitamina A ili sekundarno zbog malapsorpcije masti, poremećaja sinteze RBP-a, bolesti jetre te proteinsko-energetske malnutricije (12). Deficit oštećuje imunosni sustav, usporava rast, uzrokuje probleme s kožom te kasnije uzrokuje sterilnost. Što je bolesnik mlađi, učinci deficita vitamina A su teži (11). Simptom manjka vitamina A je nemogućnost prilagodbe oka na tamu, noćna sljepoća koja dovodi do kliničke bolesti očiju, kseroftalmije (13). Kseroftalmija uključuje atrofiju periokularnih žlijezda, hiperkeratozu konjunktive i konačno zahvaćanje rožnice, koja postaje suha i mutna, degenerira se i dovodi do sljepoće. Promjene na koži uzrokovane deficitom uzrokuju folikularnu keratozu. Koža postaje suha, gruba i puna ljuskica (11).

Konstantne, visoke doze vitamina A (doze 10 puta i više od preporučenog dnevnog unosa), koje premašuju kapacitet jetre za pohranjivanjem mogu izazvati kroničnu ili akutnu toksičnost (hipervitaminozu A). Akutna toksičnost uzrokuje mučninu i povraćanje, dok kronična uzrokuje promjene na koži i sluznici, suhoću usana i očiju, mišićnu neusklađenost te gubitak kose. Prilikom konzumacije prevelike količine vitamina A tijekom trudnoće, moguće su prirođene anomalije fetusa (11). Kod prekomjerne konzumacije karotenoida nije moguća toksičnost jer se samo određena količina prevodi u retinol (12). Karotenemija, bezopasno stanje, posljedica je uzimanja prevelike koncentracije karotena koja može

dovesti do karotenodermije, stanja kod kojeg koža postaje žuta zbog viška narančasto-žutih pigmenata. Budući da vitamin A i beta karoten u tijelu imaju drugačije funkcije, najbolje ih je konzumirati u kombinaciji (11).

1.4.2. Vitamin D

Vitamin D nije samo vitamin, već je prekursor hormona uključenog u održavanje homeostaze kalcija i fosfora te regulacije stanične proliferacije i diferencijacije (12). Poznat je kao "vitamin sunca" proizveden u ljudskom tijelu iz provitamina i 7-dehidroksikolesterola (15). Izlaganjem suncu, točnije ultraljubičastom B zračenju zadovoljene su potrebe za proizvodnjom vitamina D, bez dodatne suplementacije. Mjesto stanovanja i pigmentacija kože utječu na stupanj izlaganja suncu, a samim time i na količinu vitamina D koju tijelo proizvodi. Dvije forme koje se prirodno javljaju u ljudskom tijelu su vitamin D₂ i D₃ (ergokalciferol i kolekalciferol) (11).

Vitamin D ima antitumorsku aktivnost i koristi se u liječenju imunoloških bolesti, promjenama raspoloženja i postizanju veće mišićne snage. Skromno izlaganje suncu, do 30 minuta, dva do tri puta tjedno dovoljno je da organizam djeteta proizvede potrebne količine vitamina D (11).

Nedostatak vitamina D izaziva rahitis. Zabilježen je kod djece sa problemima lipidne malapsorpcije i onih koji primaju dugotrajnu antikonvulzivnu terapiju. Javlja se kao posljedica poremećaja u radu crijeva, gušterače, jetre, bubrega ili metabolizma općenito (11). Bolest utječe na okoštavanje i rezultira deformacijom dugačkih kostiju, najčešće nogu (u obliku slova O) (15).

Osim sunčeve svjetlosti, postoje namirnice životinjskog porijekla koje su izvor vitamina D₃ a to su masna riba, jaja, maslac i sir (3).

1.4.3.Vitamin E

Vitamin E ima ulogu antioksidansa i antikancerogena (11). Sudjeluje u rastu i održavanju tjelesnih stanica, posebice krvi i živčanog sustava (3). Vitamin E čini osam tokoferola, među kojima su najaktivnije forme alfa, beta, gama i delta. Štiti vitamine A i C od oksidacije i održava tjelesnu razinu superoksid dismutaze, enzima koji uklanja slobodne radikale iz tijela, visokom. Alfa tokoferol sudjeluje u modulaciji genske ekspresije i regulaciji stanične proliferacije te tako štiti organizam od bolesti srca i tumora (11,12). Osobe s kardiovaskularnim poremećajima i nedonošćad imaju povećanu potrebu za uzimanjem dodatnih količina vitamina E (15).

Manjak vitamina E klinički se očituje distrofijom mišića, abnormalnim refleksima, oslabljenom sposobnošću kretanja te poremećajima vida. Teži simptomi nedostatka dovode do anemije uzrokovane starenjem i smrću eritrocita. Pojavljuju se samo kada je riječ o malapsorpciji masti zbog nepravilnog rada gušterače, celijakije i cistične fibroze. Vitamin E najmanje je toksičan vitamin. Unos do 100 puta veći od preporučenog, nema negativne posljedice na organizam, međutim može poremetiti apsorpciju drugih vitamina topljivih u mastima (11).

Vitamin E sintetizira se samo u biljkama stoga se nalazi prvenstveno u biljnim proizvodima. Najbogatiji izvori su pšenišne klice, orašasti plodovi i sjemenke te njihova ulja. Manje količine mogu se naći u cjelovitim žitaricama, zelenom lisnatom povrću i mahunarkama (3,11).

1.4.4.Vitamin K

Vitamin K poznat je kao koagulacijski vitamin zbog svoje uloge u procesu zgrušavanja krvi. Čini ga skupina od nekoliko vitamina (K_1 , K_2 , K_3 , K_4 , K_5) koji se razlikuju porijeklom i topljivošću (15). Izvor vitamina K_1 je hrana, crijevne bakterije proizvode K_2 dok je K_3 sintetički oblik vitamina. Neophodan je za stvaranje dovoljne količine protrombina, faktora koagulacije koji dovodi do stvaranja krvnog ugruška. Osim uloge u procesu

koagulacije značajan je za razvijanje koštane mase, naročito tijekom djetinjstva te sprječava nastanak osteoporoze u kasnijoj životnoj dobi (11,12).

Nedostatak vitamina K izaziva hipoprotrombinemiju i slabije grušanje krvi kod novorođene djece zbog smanjenog transfera vitamina kroz majčino mlijeko u odnosu na placentu. Nedostatak je povezan sa hemoragičnom bolesti novorođenčadi koja se liječi intramuskularnim davanjem vitamina K odmah po rođenju. Pravilnom prehranom unosimo dovoljnu količinu vitamina K pa je deficit u organizmu posljedica malapsorpcije, uzimanja antibiotske terapije ili bolesti jetre (11).

Dnevne preporuke ovog vitamina su male, a namirnice najbogatije njime pripadaju zelenom lisnatom povrću (salata, kelj, kupus, brokula, špinat)(11).

1.5. Vitamini topljivi u vodi

Vitamini topljivi u vodi su vitamini skupine B i vitamin C. Za razliku od onih topljivih u mastima, nalaze se slobodni u krvi i ne zadržavaju se u tijelu pa predoziranje ovom vrstom vitamina nije moguće. Potrebno ih je svakodnevno unositi u organizam u svježem obliku, a višak se izlučuje iz organizma urinom (11).

1.5.1. Vitamini skupine B

Iako svaki od osam vitamina B ima jedinstvenu biološku funkciju, strukturu i svojstva, zajedno čine grupu nutrijenata na temelju topljivosti i uloge staničnih koenzima u kataboličkim i anaboličkim enzimatskim reakcijama. Vitamini skupine B su: tiamin (B1), riboflavin (B2), niacin (B3), pantotenska kiselina (B5), piridoksin (B6), biotin, folna kiselina te kobalamin (B12) (16). Odgovorni su za očuvanje funkcije mozga i zdravlje živaca. Sudjeluju u održavanju kože, kose, očiju, jetre, usne šupljine te čuvanju dobrog mišićnog tonusa u gastrointestinalnom traktu. Sudjeluju u DNA/RNA sintezi i popravku, genomskoj i ne-genomskoj metilaciji te sintezi

signalnih molekula. Kao koenzimi su nužni za metabolizam ugljikohidrata, masti i proteina koji osiguravaju energiju za svakodnevno funkcioniranje organizma (11,16). Koncentracija vitamina B u mozgu je četiri puta veća od plazmine, što govori o njihovoj važnosti u očuvanju funkcije mozga. Aktivne forme tiamina, riboflavina, niacina, i pantotenske kiseline esencijalni su koenzimi u staničnom disanju i proizvodnji stanične energije kroz uloge u ciklusu limunske kiseline, u transportu elektrona i krajnjoj formaciji adenozin trifosfata (ATP) (16). Povećane potrebe za vitaminom B javljaju se prilikom emocionalnog stresa, operacije, bolesti, trudnoće i dojenja. Nedostatak samo jednog vitamina skupine B je rijetkost, najčešće se javlja manjak više njih odjednom. Apsorpcija svih vitamina ove skupine odvija se u crijevima stoga ih treba konzumirati zajedno (u omjeru 1:1) bilo suplementacijom ili prehranom. Obzirom da su vitamini B skupine topljivi u vodi, ne zadržavaju se u tijelu pa nisu toksični čak i ako se uzimaju u količinama većim od preporučenih. Višak vitamina B eliminira se iz organizma mokraćom (11).

Vitamin B1 (Tiamin)

Prvi otkriveni vitamin B skupine je tiamin, sa definiranom metaboličkom funkcijom koenzima (12). Tiamin se ne skladišti u organizmu, već ga je potrebno unositi prehranom. Osnovna uloga tiamina je kontrola energetskog metabolizma u tijelu, kroz metabolizam ugljikohidrata (17). Zbog iznimne osjetljivosti na metabolizam ugljikohidrata, stanice mozga i središnjeg živčanog sustava prve pokazuju znakove nedostatka tiamina (11). Od ukupne količine tiamina u tijelu, 90% se nalazi u obliku tiamin difosfata (tiamin pirofosfat), koenzima u razgradnji glukoze (17). Tiamin je uključen u pretvaranje masnih kiselina u steroidne hormone (kortizona i progesteron), neophodne za pravilan rast i održavanje zdrave kože (11). Tiamin je koenzim u putu pentoza fosfata, važnom za sintezu masnih kiselina, nukleinskih kiselina i aromatskih amino prekursora za niz neurotransmitera i ostalih bioaktivnih komponenti koje sudjeluju u radu

mozga (16). Stanja poput povećanog emocionalnog stresa, vrućice, mišićne aktivnosti, hipertireoze, trudnoće i dojenja, povećavaju potrebe za unosom tiamina.

Nedostatak tiamina rezultira bolešću beriberi. Nastaje kao posljedica prekomjernog unosa ugljikohidrata, uslijed čije se razgradnje tiamin troši. Bolest utječe na gastrointestinalni, kardiovaskularni te periferni živčani sustav. Simptomi nedostatka su probavne smetnje, glavobolja, nesanica te bolovi u nogama, praćeni grčevima. Teži oblici nedostatka mogu djelovati na srce i krvne žile ventrikularnom dilatacijom, povećanim krvnim tlakom i ubrzanim pulsom (11,12).

Tiamin sintetiziraju biljke i mikroorganizmi. Glavni izvori tiamina su meso svinjetine, kvasac, suhi grah, grašak, soja, kikiriki, integralne žitarice, pšenične klice, rižine mekinje, žumanjak, perad i riba. Integralne žitarice sadrže više tiamina nego obrađene žitarice, jer se tiamin većinom nalazi u vanjskim slojevima zrna i u klici koji se uklanjaju tijekom obrade namirnice (11,17).

Vitamin B2 (Riboflavin)

Riboflavin ima ulogu u oksidaciji aminokiselina, glukoze i tiroidnih hormona te sintezi masnih kiselina. Sudjeluje u procesima metabolizma i proizvodnje energije. Oštećenja tkiva nastala uslijed opekline, operacija, ozljeda i zloćudnih bolesti povećavaju u organizmu potrebu za unosom riboflavina. Nalazi se u pigmentu mrežnice kao fotoreceptor, omogućavajući očima prilagodbu na svjetlost te regulira koncentraciju homocisteina u cirkulaciji, čimbenika rizika za kardiovaskularne bolesti (11). Dva metabolički aktivna koenzima koja nastaju iz riboflavina, flavin mononukleotid (FMN) i flavin adenin dinukleotid (FAD) ključni su u regulaciji brzine staničnih enzimatskih procesa. Bitni su za sintezu, pretvorbu i recikliranje niacina, folata i vitamina B6 te za sintezu svih proteina hema, uključujući hemoglobin i p450 enzime (16).

B2 anemija posljedica je nedostatka riboflavina u krvi i rezultira poremećajem apsorpcije i metabolizma željeza (11). Nedostatak smanjuje sintezu koenzima iz vitamina B6 i sintezu niacina iz triptofana, što oštećuje proteine i DNA te ometa stanični ciklus (15). Simptomi su iscrpljenost, helioza ustiju, upaljeni jezik, suzenje i peckanje očiju, ljuštenja kože i promjena ponašanja. Nedostatak vitamina B2 u čovjeka uzrokuje ariboflavinozu, pa osim preosjetljivosti prema jakoj svjetlosti može nastati i oštećenje kože i očiju te zastoj u rastu (11).

Vitamin B2 rasprostranjen je u biljkama i životinjama te u mikroorganizmima. Mlijeko, mliječni proizvodi, meso, riba, jaja, cjelovite žitarice, tamnozeleno lisnato povrće izvori su vitamina B2 (15).

Vitamin B3 (Niacin)

Vitamin B3 važan je za proizvodnju energije, metabolizam masti i sintezu aminokiselina (15). Dvije aktivne forme niacina u ljudskom organizmu koje nastaju iz esencijalne aminokiseline triptofana su nikotinska kiselina i nikotinamid sa jednakom vitaminskom aktivnošću, ali različitim farmakološkim učincima. Niacin formira koenzime nikotinamid-adenin dinukleotid (NAD) i nikotinamid-adenin dinukleotid fosfata (NADP) ključne u reakcijama katabolizma i anabolizma (16). Koenzim je u reakcijama za održavanje zdrave kože, pravilno funkcioniranje gastrointestinalnog trakta, središnjeg živčanog sustava te metabolizma lipida. Pošto je uključen u metabolizam masti, koristi se za liječenje povišenog kolesterola (LDL) i triglicerida. Za sprječavanje nastanka ateroskleroze u kasnijoj životnoj dobi bitno je prepoznati i liječiti djecu i mlade koji imaju povišen rizik od hiperkolesterolemije (11).

Pelagra je bolest koja nastaje uslijed nedostatka esencijalne aminokiseline triptofan i niacina (nikotinska kiselina). Klinička slika uključuje "tri D" simptoma: dermatitis, dijareju i demenciju. Simptomi se razvijaju postepeno i ponajviše utječu na dermatološki, neuropsihološki i

gastrointestinalni sustav. Prekomjeren unos niacina izaziva vazodilataciju krvnih žila, vrtoglavice i želučane probleme (11).

Niacin se prirodno nalazi u mesu, peradi, ribi, mahunarkama, cjelovitim žitaricama i kvascima. Budući da se triptofan iz hrane može metabolizirati u niacin, hrana bogata triptofanom (npr. mliječni proizvodi) može nadoknaditi nedostatni unos niacina (3).

Vitamin B5 (Pantotenska kiselina)

Vitamin B5 ili pantotenska kiselina supstrat je za sintezu koenzima A (CoA). CoA sudjeluje u oksidativnom metabolizmu te doprinosi strukturi i funkciji moždanih stanica sudjelovanjem u sintezi kolesterola, aminokiselina, fosfolipida i masnih kiselina te dobivanju energije (16). Pantotenska kiselina uključena je u sintezu neurotransmitera i steroidnih hormona te je prisutna u svim živim organizmima. U ljudski se organizam unosi hranom ili ju sintetiziraju crijevne bakterije (12).

Bolest uzrokovana nedostatkom pantotenske kiseline je rijetkost obzirom da je rasprostranjena u velikom broju namirnica. Simptomi bolesti istraženi su primjenom dijeta sa slabim udjelom vitamina B5 ili korištenjem antagonista ovog vitamina (ω -metil pantotenata). Nedostatak se javlja u stanjima kronične pothranjenosti, a simptomi su parestezija ruku i nogu, depresija, mučnina, povraćanje, povećana osjetljivost na izulin i poremećaji imunološkog sustava (12).

Najbogatiji izvori pantotenske kiseline su kvasci, iznutrice, gljive, žitarice, sjemenke suncokreta, meso, mlijeko, špinat, krumpir i kupus (18).

Vitamin B6 (piridoksin)

Vitamin B6 je naziv za skupinu od 6 spojeva derivata 3-hidroksi-2-metilpiridina. To su piridoksal, piridoksin, piridoksamin i pripadni 5'-fosfati (12). Vitamin B6 jedan od važnijih u ljudskom organizmu jer sudjeluje u

više od 60 enzimatskih reakcija uključenih u metabolizam aminokiselina, esencijalnih masnih kiselina, masti, ugljikohidrata te biosintezi hema. Nužan je za živčani sustav, pravilan rast, održavanje gotovo svih tjelesnih struktura i funkcija te sudjeluje kao kofaktor u proizvodnji neurotransmitera u mozgu (11). U obliku piridoksal-fosfata (PLP), metabolički aktivne forme vitamina, sudjeluje u metabolizmu glukoze, transaminaciji, prijenosu aminokiselina, formiranju niacina iz triptofana te regulaciji steroidnih hormona i regulaciji genske ekspresije (12,16).

Manjak vitamina B6 izaziva anemiju i slabije imunološke odgovore organizma. Simptomi nedostatka su dermatitis nosa, očiju i usta, helioza i stomatitis. Popratni simptomi su promjene živčanog sustava, depresija, - zbunjenost, vrtoglavica, mučnine, nervoza, razdražljivost i konvulzije. (11).

Hrana bogata vitaminom B6 su jaja, riba, špinat, mrkva, grašak, meso, piletina, pivski kvasac, orasi, sjemenke suncokreta i pšenične klice (15).

Biotin (Vitamin H)

Biotin sudjeluje u metabolizmu glukoze, sintezi masnih kiselina, metabolizmu aminokiselina, proizvodnji energije te održavanju homeostaze organizma. Regulira unos glukoze u jetri, glukoneogenezu, transkripciju inzulinskih receptora i funkciju beta stanica gušterače (16).

Nedostatak biotina je rijedak obzirom da ga pored unošenja hranom sintetiziraju crijevne bakterije. Ukoliko se javi, uzrokuje simptome poput depigmentacije, alopecije, anemije, gubitka apetita i povišenog kolesterola u krvi (17).

Jetra, piletina, riba, orašasti plodovi, matična mliječ, banane i gljive namirnice su bogate biotinom (11).

Vitamin B9

Skupini vitamina B9 pripadaju folna kiselina i oblik vitamina koji se pojavljuje u hrani, folat. Folna kiselina sudjeluje u stvaranju crvenih krvnih zrnaca, rastu i razvoju djece, metabolizmu aminokiselina, sintezi proteina te produkciji genetičkog materijala (DNA i RNA) (11,15).

Folna kiselina sprječava defekte neuralne cijevi koja stvara mozak, leđnu moždinu i druge dijelove središnjeg živčanog sustava embrija. Trudnicama se preporučuje primjena folne kiseline u obliku suplementacije (400mg/dan) radi sprječavanja oštećenja (11).

Nedostatak folata prati smanjenje sinteze purinskih i pirimidinskih baza i metilirajućih aktivnosti te ometa sintezu proteina i nukleotida. Ove promjene negativno utječu na stabilnost DNA, transkripciju i ekspresiju gena te diferencijaciju i popravak neurona. Poremećaji stvaranja crvenih krvnih stanica dovode do megaloblastične anemije sa simptomima razdražljivosti, slabosti, poteškoća sa spavanjem i blijedosti (16).

Zeleno lisnato povrće, cjelovite žitarice, mahunarke, orašasti plodovi, obogaćene žitarice, kvasac, pileća jetra i meso namirnice su bogate folnom kiselinom (11).

Vitamin B12 (Kobalamin)

Vitamin B12 naziv je za skupinu spojeva kojoj pripadaju metilkobalamin, adenzilkobalamin, hidroksokobalamin i cijanokobalamin. Kobalamin je koenzim u reakciji prijenosa metilne skupine koja pretvara homocistein u metionin. Sudjeluje u metabolizmu aminokiselina, proteina i masti, u rastu i razvoju te u sazrijevanju eritrocita. Pokazatelji lošeg statusa ukupnog kobalamina u organizmu su povećane vrijednosti metabolita ciklusa metionina (homocistein i metilamonska kiselina) koje kod djece u nekim slučajevima dugoročno negativno utječu na psihomotorni razvoj. Manjak kobalamina u dojenačkoj dobi dovodi do kašnjenja u razvoju, progresivnog neurološkog poremećaja ili hematoloških promjena (11,12).

Uslijed nedovoljne apsorpcije kobalamina dolazi do megaloblastične anemije (smanjenje broja eritrocita) te psihičkih poremećaja (11). Normalno se kobalamin uz pomoć intrinzičnog faktora (bjelančevina koja nastaje u želucu) apsorbira u ileumu, međutim bez intrinzičnog faktora ostaje u crijevu i izlučuje se stolicom (12). Simptomi nedostatka su zbunjenost, depresija, umor, demencija, slabo pamćenje i gubitak teka (15). Anemiju uzrokuje i nedostatak folata (vitamin B9). Funkcije ovih dvaju vitamina povezane su na temelju komplementarnih uloga u ciklusima folata i metionina pa će tako deficit kobalamina u organizmu rezultirati deficitom folata, koji ostaje zarobljen u formi metiltetrahidrofolata (16).

B12 se skladišti u organima poput jetre, bubrega, srca, mišića i mozga pa se anemija može razviti i do 24 godine nakon što tijelo prestane apsorbirati vitamin (17).

Vitamin B12 u organizam se unosi hranom i dijelom ga sintetiziraju ljudske crijevne bakterije. U malim količinama nalazi se u govedini, haringi, skuši, žumanjku, mlijeku, siru, školjkama, sardini, lososu, rakovom mesu i mekušcima (11).

1.5.2. Vitamin C (Askorbinska kiselina)

Vitamin C ili askorbinska kiselina jedan je od najčešće opisanih i najispitivanijih vitamina. Sudjeluje u velikom broju bioloških procesa i nalazi se u lijekovima, napitcima, kozmetičkim preparatima i namirnicama. Njegovi prirodni izvori su voće i povrće (15). Askorbinska kiselina je organski antioksidans koji štiti stanice domaćina od oksidativnog stresa uklanjajući slobodne radikale (19). Na taj način prevenira nastanak ateroskleroze, regulira povišeni krvni tlak i smanjuje kolesterol u krvi (11). Sudjeluje u rastu i obnovi tkiva, formiranju i stabilizaciji kostiju i hrskavice te je važan za očuvanje zdravlja kože i desni. Podupire funkciju imunološkog sustava i pomaže prilikom apsorpcije željeza koje nije porijeklom iz životinjskih izvora (3,11). Vitamin C nužan je prilikom sinteze hormona nadbubrežne žlijezde pa se velike količine ovog mikronutrijenta troše za

vrijeme stresnih stanja (operacije, bolesti, infekcije) (11). Koncentracija vitamina C veća je u fagocitima i limfocitima u odnosu na plazmu što pokazuje ulogu vitamina C u stanicama imunološkog sustava. Ipak kod čestih infekcija gornjih dišnih puteva, pokazalo se da smanjuje njihovo trajanje, no djelotvornost preventivnog uzimanje ovog vitamina, nije dokazana (19).

Vitamin C ne skladišti se u organima poput liposolubilnih vitamina stoga ga je potrebno unositi svaki dan (12). Povećane potrebe za vitaminom C imaju dijabetičari, astmatičari i alergičari obzirom da djeluje kao prirodni antihistaminik za ublažavanje alergijskih reakcija (15).

Nedostatak vitamina javlja se kao posljedica nepravilne prehrane ili u obliku bolesti imena skorbut. Prvi znakovi ove bolesti su neispavanost, opća slabost, razdražljivost, bolovi u mišićima i zglobovima te gubitak težine. Kasniji simptomi uključuju krvarenje desni, gingivitis, gubitak apetita i umor. Liječenje se provodi uzimanjem vitamina C na usta (11).

Ljudi za razliku od životinja nemaju specifičan enzim koji glukozu pretvara u askorbinsku kiselinu pa se ona unosi isključivo prehranom ili suplementacijom. Namirnice bogate vitaminom C su krumpir, peršin, citrusi i sokovi od citrusa, prokulice, kupus, paprika i bobičasto voće (3,17).

1.6. Tehnike određivanja vitamina u obrocima

Vitamine u organizam unosimo konzumacijom namirnica koje njima obiluju ili uzimanjem suplementacije ukoliko postoji deficit. Prirodni izvori vitamina su biljke i životinje (3). Vitamina ima mnogo i oni se razlikuju strukturno, prema biološkoj aktivnosti i fizikalno-kemijskim svojstvima. Da bi analizirali vitamine, potrebno ih je prethodnim tehnikama izolirati i purificirati iz uzorka u kojem se nalaze. Najčešći uzorci za izolaciju vitamina su tjelesne tekućine, hrana i farmaceutski pripravci (20). Analitičke metode, najčešće korištene za analizu vitamina su tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), spektroskopske metode i kapilarna elektroforeza

(21). U nekim se radovima spominju još mikrobiološki eseji, imunoeseji i biosenzori, međutim sporiji su i manje precizni (20). Ovisno o uzorku, njegovom sastavu, prisutnoj koncentraciji i vrsti analita (vitamina) odabire se analitička metoda za analizu (21).

Analizi vitamina prethodi izdvajanje analita od uzorka stoga se koriste separacijske tehnike gdje se analit odjeljuje između dviju faza koje se ne miješaju. Ovisno o fazama (njihovim kemijskim i fizikalnim svojstvima) razlikujemo ekstrakciju organskim otapalom, ekstrakciju na čvrstoj fazi, ultrazvučno potpomognutu ekstrakciju i ekstrakciju superkritičnim fluidom (20,21).

Ekstrakcija organskim otapalom ili ekstrakcija tekuće-tekuće (eng. *Liquid-Liquid Extraction*, LLE) temelji na raspodjeli analita između dviju tekućih faza koje se ne miješaju (21). Prilikom dodavanja organskog otapala na smjesu koja sadrži uzorak i otapalo (vodu) i vorteksiranja, dolazi do razdjeljivanja analita između faza različite polarnosti i uspostave heterogene ravnoteže pri određenom pH. Organska otapala imaju manju permitivnost od vode stoga dolazi do smanjenja afiniteta čestica analita prema vodi i istovremeno povećanja topljivosti u organskom otapalu (20). Kod vitamina topljivih u mastima postupak prevođenja analita u organski sloj ponavlja se više puta, potom se organski slojevi spoje, upare i suhi ostatak se otapi u otapalu za daljnje određivanje. Organska otapala koja se sama ili u kombinaciji koriste prilikom ekstrakcije su metanol, etanol, n-heksan, kloroform, dietil eter, etil acetat i diklormetan (20,21).

Ekstrakcija na čvrstoj fazi (eng. *Solid Phase Extraction*, SPE) najčešća je pripremna tehnika zbog brzine, jednostavnosti, visoke selektivnosti i malenog volumena utroška organskog otapala (22). Postupak se sastoji od pripreme kolone i sorbensa (čvrsta faza) na kojeg se veže analit iz tekućeg ili plinovitog uzorka. Slijedi ispiranje kolone eluensom (organskim otapalom) i eluiranje analita sa sorbensa. Analit se iz krutog uzorka primarno ekstrahira korištenjem organskog otapala (npr. acetonitril) te se

zatim primjenjuje SPE postupak (20). Najčešće korišteni sorbensi za vitamine topljive u vodi su C₁₈, florisil i silika ili njihova kombinacija dok se aminopropil silika koristi kao hidrofilno punilo za vitamine topljive u mastima (21,22).

Ultrazvučno potpomognuta ekstrakcija (eng. *Ultrasonic Assisted Extraction, UAE*) je metoda u kojoj na uzorak djeluju kavitacije koje dolaze od ultrazvučnih valova. Kavitacije uzrokuju mijenjanje fizikalnih i kemijskih svojstava uzorka te na taj način omogućuju pristup otapala analitu i veće prinose ekstrakcije. Najčešće se koristi ultrazvučna kupelj sa valovima frekvencije 18-40 kHz. Pri frekvencijama višim od 1MHz i nižim temperaturama mala je vjerovatnost pojave kavitacija. Kavitacija ovisi i o viskoznosti medija, gustoći, površinskoj napetosti itd. Nakon ekstrakcije, ekstrakte je potrebno sakupiti filtracijom ili centrifugom (23).

Ekstrakcija superkritičnim fluidom (eng. *Supercritical Fluid Extraction, SFE*) koristi CO₂ kao ekstrakcijski medij najčešće na krutim uzorcima (22). Karakterizira ga visoka difuznost i selektivnost te niska viskoznost, što mu pomaže prilikom raspršivanja kroz krute tvari. Koristi se za ekstrakciju vitamina topljivih u mastima obzirom da ima visoku moć otapanja nepolarnih komponenti (20). Metoda se zasniva na difuziji isparljivih komponenti uzorka u superkritični fluid i potom njihovo izdvajanje regulacijom tlaka i temperature radnog fluida. Male promjene u parametrima oko kritične točke CO₂ uzrokuju promjene u gustoći (plin ili tekućina) što omogućuje odvajanje analita od ekstrakcijskog medija (20,22).

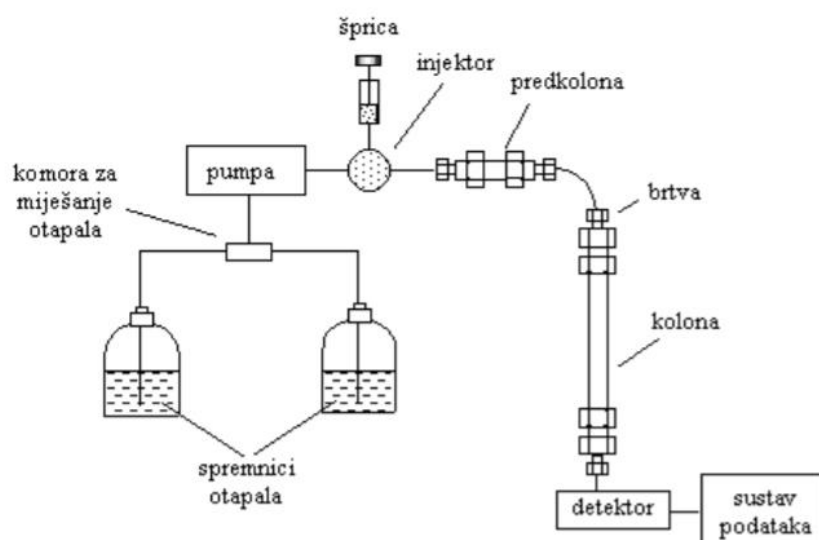
Tekućinska kromatografija (HPLC)

Kromatografija je metoda separacije, identifikacije i kvantifikacije komponenti smjese. Metoda se zasniva na brzini kretanja komponente smjese nošene pokretnom, mobilnom fazom po stacionarnoj fazi. Retencijsko vrijeme (vrijeme prolaska analita kroz stacionarnu fazu) ovisi o interakciji analita sa stacionarnom fazom na temelju polarnosti (24).

Stacionarna faza, kod kromatografije u stupcu, je čvrsti nosač, krutina, gel ili neka tekućina u uskoj cijevi, dok je mobilna faza inertni plin (Plinska kromatografija), kapljevina (Tekućinska kromatografija) ili superkritični fluid (Kromatografija superkritičnim fluidom) (21).

Tekućinska kromatografija (eng. *Liquid Chromatography* – LC) ne koristi pumpu za mobilnu fazu, već ona prolazi gravitacijski pa je metoda sporija, slabe razlučivosti i koristi se u pripremne, ne analitičke svrhe. Pumpa služi ubacivanju pokretne faze pod visokim tlakom u kolonu, čime se postiže znatno bolja razlučivost metode te se protok tvari ubrzava. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. High Performance Liquid Chromatography, HPLC) koristi stacionarnu fazu sa česticama veličine 3-5 μm i mobilnu fazu dovodi pumpom pod velikim ulaznim tlakom. Uređaj za HPLC (slika 2.) provodi automatiziran postupak, a sastoji se od spremnika za otapala mobilne faze, pumpe, injektora tekućeg uzorka, predkolone, kolone sa stacionarnom fazom te detektora analita. Najčešće korišteni detektor mjeri apsorbanciju u UV/VIS dijelu spektra, ali koriste se i drugi poput masenog spektrometra (MS), fotodiodnog, fluorescentnog i elektrokemijskog detektora (21,25).

Kod vitamina se najčešće koristi HPLC obratnih faza, kod koje je uobičajena stacionarna faza nepolarna. Silikagel je najčešće punilo kolone s lancima od osam ili osamnaest ugljikovih atoma (C8, C18). Što je više lipofilnih komponenata analita, lakše se adsorbiraju i eluiraju iz stupca smanjivanjem polariteta otapala (24). Za izokratno eluiranje koristi se jedno otapalo stalnog sastava dok se gradijentnim eluiranjem postiže bolje i brže odjelljivanje mijenjanjem sastava pokretne faze (25). Askorbinska kiselina i vitamini B skupine odvajaju se na C18 koloni, gradijentnim, a tiamin izokratnim eluiranjem. Za kvantitativnu analizu tiamina koristi se redoks reakcija sa cijanidom (kalijev heksacijanoferat (III)) dok se riboflavin određuje korištenjem acetonitrila ili metanola kao eluensa, povremeno uz dodatak pufera (21).



Slika 2. Shematski prikaz HPLC kromatografa (25).

Spektroskopske metode

Spektroskopskim metodama moguće je odrediti vitamine iz bioloških uzoraka (krvi, mokraće), hrane i lijekova. Za analizu vitamina koji fluoresciraju koristi se fluorimetrija dok se vitamini koji apsorbiraju u UV/VIS spektru mogu odrediti spektrofotometrijom. Spektrofotometrija je osjetljiva i pouzdana kvantitativna metoda prilikom analize uzoraka sa velikim koncentracijama vitamina (npr. multivitaminske tablete). Mjerenje apsorbancije provodi se spektrofotometrom koji se sastoji od izvora zračenja (lampa ili žarulja), filtera (monokromatora), kivete s uzorkom, detektora i računala (21).

Vitamini koji snažno apsorbiraju u UV dijelu spektra su riboflavin, piridoksin i cijanokobalamin pa se detektiraju spektrofotometrom. Valne duljine ekscitacije i emisije tiokroma su $\lambda=375\text{nm}$ i $\lambda=438\text{nm}$. Piridoksin i riboflavin pokazali su intrinzičnu prirodnu fluorescenciju ekscitacijskog i emisijskog maksimuma pri 325nm, 457nm (za piridoksin) te 415nm, 527nm (za riboflavin) (20). Apsorpcijski maksimum askorbinske kiseline je pri valnoj duljini $\lambda=245\text{nm}$ pa se za njeno određivanje koristi UV spektrometrija. Iz skupine liposolubilnih vitamina moguće je spektrofotometrijski odrediti retinoide, karotenoide i vitamin K. Za

određivanje samog retinola ili njegovih estera koristi se i fluorimetrija, budući da retinoična kiselina i retinal ne fluoresciraju. Prije svake spektroskopske metode poželjno je komponente smjese odvojiti, kako bi krajnji rezultat (spektar) bio što precizniji i točniji (21).

Kapilarna elektroforeza

Kapilarna elektroforeza kvantitativna je analitička metoda koja se provodi sa količinski manjim uzorcima. Visoko je efektivna i brza te koristi malo otapala. Komponente smjese razdvajaju se na temelju veličine i naboja uz djelovanje vanjskog električnog polja. Prednost ove metode je sposobnost analize više uzoraka istovremeno u višekapilarnim sustavima i mala potrošnja reagensa i pribora. Puferi koji se koriste prilikom ove metode jesu fosfatni i boratni puferi (20). Za razliku od klasične elektroforeze gdje se uzorci nanose na agarozni gel, kod kapilarne se uzorci nanose na kapilaru ispunjenu kvarcnim staklom i otopinom elektrolita. Molekule putuju medijem brzinom koja ovisi o njihovoj veličini (veća molekula putuje sporije). Suprotni kraj kapilare spojen je na detektor koji daje elektroferogram, sa izraženim vrpcama analiziranih komponenti. Za detekciju se koriste spektrometrija (UV-VIS), spektrometrija masa, potenciometrija ili konduktometrija (21).

Micelarna elektrokinetička kapilarna kromatografija (eng. *Micellar electrokinetic chromatography*-MEKC) omogućuje analizu neutralnih i nabijenih tvari u odnosu na klasičnu kapilarnu elektroforezu. Metoda radi uz korištenje micela koje nastaju dodavanjem natrij dodecilsulfata (SDS) puferu (21). Metoda je vrlo jednostavna, precizna, osjetljiva i selektivna, a za njenu primjenu potrebno je prilagoditi tlak injektora, pH, temperaturu te unutarnji promjer kapilare. Primijenjiva je za vitamine koji su nepolarni i nenabijeni (A, D, E, K) te one topljive u vodi. Pod optimiziranim uvjetima separacija smjese vitamina traje manje od 7 minuta (20).

2. Cilj rada

Svrha istraživačkog rada je izmjeriti vrijednosti vitamina A, B1, B2, B6 i vitamina C iz cjelodnevnih uzoraka hrane uzorkovanih u dječjim vrtićima te ih usporediti sa preporučenim dnevnim dozama za djecu vrtićke dobi.

3. Materijali i metode

Istraživanje je provedeno u laboratoriju Odsjeka za kontrolu hrane, predmeta opće uporabe, unapređenja prehrane i mikrobiologiju na Zdravstveno ekološkom odjelu u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske Županije. Zbog akreditacije laboratorija mjerenja su uz moju prisutnost izvršile djelatnice odsjeka.

Uzorci cjelodnevnih obroka hrane (zajutrak, doručak, ručak, užina) uzorkovani su u dječjim vrtićima grada Rijeke tijekom 2019. godine. Prema sklopljenim ugovorima, uzorkovanje se vrši četiri puta godišnje metodom slučajnih uzoraka. Po dolasku u laboratorij uzorci se homogeniziraju u za to predviđenom homogenizatoru te se konzerviraju do provođenja analize određivanja vitamina. Prema pravilniku "Izmjene i dopune Programa zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima" djeca bi u vrtiću kroz četiri servirana obroka trebala unijeti 80% dnevnih energetske i nutritivne potrebe, a preostalih 20% bi kroz večeru trebala unijeti kod kuće (8). Period praćenja vrijednosti vitamina je 10 godina. Uzorci za 2019. godinu prikupljeni su te potom obrađeni u laboratoriju, dok su izmjerene vrijednosti vitamina iz prethodnih godina uzete iz arhive Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo PGŽ. Dobiveni rezultati uspoređeni su s preporukama Prehrambenog standarda za planiranje prehrane u dječjim vrtićima.

Princip metoda

Retinol ili vitamin A ima ulogu u vidnom sustavu, modulator je genske ekspresije i sudjeluje u staničnoj diferencijaciji. Slobodni retinol kemijski je nestabilan pa je prisutan u esterima poput retinil palmitata, retinil acetata te alkoholima all-trans retinolu i 13-cis-retinolu (12). Saponifikacija se vrši otopinom kalijeve lužine u etanolu i ekstrahira otapalom za ekstrakciju, a određivanje tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC metodom) s fluorometrijskim (F) detektorom. Supstance se identificiraju na bazi retencijskog vremena i određuju na principu eksternog standarda koristeći površinu ili visinu pika. Vitamin A osjetljiv je na UV zračenje i oksidativna sredstva, stoga je prilikom rada spriječeno prodiranje UV svjetlosti i kisika korištenjem tamnog laboratorijskog posuđa i aluminijske folije. Zrak iznad tekućine prilikom saponifikacije zamijenjen je strujom dušika. Otapala su isparavana korištenjem rotavapora na temperaturi nižoj od 50°C.

Uloga tiamina je kontrola energetskog metabolizma u tijelu kroz metabolizam ugljikohidrata. Slobodni tiamin je nestabilan, pa se derivati poput tiamin klorid hidroklorida i tiamin monofosfat klorida koriste u obogaćivanju hrane i farmaceutskim pripravcima. Riboflavin ima ulogu u oksidaciji aminokiselina, glukoze i tiroidnih hormona te sintezi masnih kiselina. Vitamin B6 (skupina spojeva derivata 3-hidroksi-2-metilpiridina, piridoksal, piridoksamin i piridoksin) sudjeluje u radu živčanog sustava, metabolizmu aminokiselina, esencijalnih masnih kiselina i ugljikohidrata (12). Tiamin i piridoksin se ekstrahiraju iz hrane nakon hidrolize u kiselom mediju i defosforilacije pomoću enzimatskog tretmana. Određivanje se vrši na HPLC-u nakon derivatizacije tiamina u tiokrom te redukcije piridoksina uz natrij borhidrat (u alkalnom mediju).

Askorbinska kiselina, fiziološki aktivna forma vitamina C organski je antioksidans koji štiti tijelo od oksidativnog stresa i nalazi se u velikom broju namirnica, lijekovima, napitcima i kozmetičkim pripravcima (15). Ekstrahira

se iz uzorka hrane u vodenoj fazi te se njena koncentracija određuje HPLC metodom, pomoću RP-C 18 separiranja s UV detektorom kod 210 nm.

3.1. Saponifikacija uzorka i određivanje vitamina A

Reagensi

- n-heksan
- 2-propanol
- Etanol (C₂H₅OH), 96%
- Etanol apsolutni
- Natrijev sulfat, bezvodni
- Otopina KOH; pripremljena dodavanjem 28 g KOH u 100 mL otopine etanola (96%) i vode u omjeru 9:1
- Antioksidans askorbinska kiselina (AA)
- Otapalo n-heksan za ekstrakciju
- HPLC mobilna faza; n-heksan : 2-propanol = 98 : 2 (%V/V)

Standardi

- All-trans-retinol, vitamin A alkohol, M(C₂₀H₃₀O)=286,5 g/mol, čistoće najmanje 90%

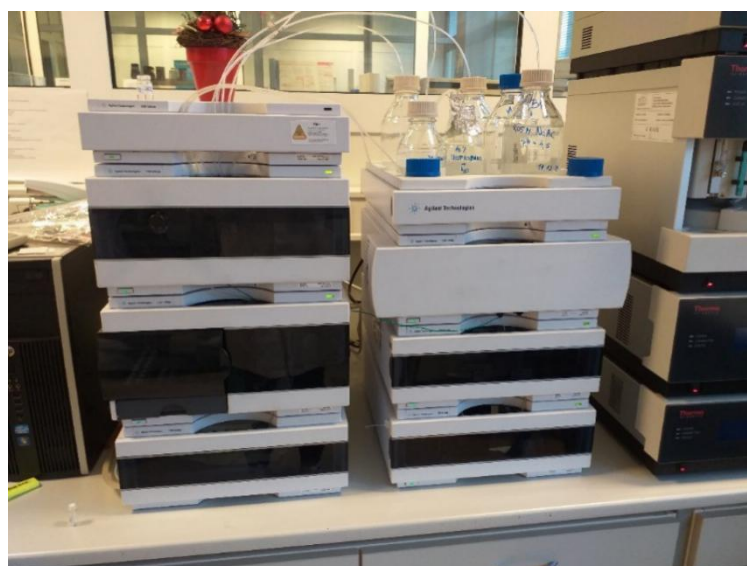
Stock i standardne otopine

- Stock standard otopina, All-trans-retinol: 500 µg/mL; 50 mg standarda All-trans-retinola otopljeno je u odmjernoj tikvici od 100 mL u n-heksanu i razrijeđeno do oznake.
- Standardna otopina all-trans-retinola
 - A otopina (25 µg/mL); Pipetirano je 5 mL Stock standarda all-trans-retinola u tikvicu od 100 mL i razrijeđeno do oznake n-heksanom.
 - B otopina (2,5 µg/mL); Pipetirano je 5 mL A-otopine u odmjernu tikvicu od 50 mL i razrijeđeno do oznake n-heksanom.

Stock otopine zaštićene su od svjetla i čuvane na temperaturi nižoj od 4°C.

Oprema

- Rotavapor sa vodenom kupelji i vakuum jedinicom.
- HPLC sistem, sastoji se od visokodjelotvornog tekućinskog kromatografa, pumpe, sprave za injektiranje uzorka, UV-VIS detektora i uređaja za obradu podataka (slika 3).
- Filter sredstva; široka i mala skala filter sredstva za filtriranje HPLC mobilne faze odnosno otopine uzoraka (veličine pora od 45 µm je adekvatna).
- Filteri za odvajanje faza



Slika 3. Tekućinski kromatograf Agilent Technologies 1220 Infinity II LC system, Katedra za zdravstvenu ekologiju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo PGŽ.

Postupak rada

Odvagano je 20 g homogeniziranog uzorka u tikvicu s okruglim dnom. Dodano je 150 mL 96% etanola, 1 g askorbinske kiseline (mora stajati 5-10 min) te 50 mL alkoholnog KOH. Saponifikacija se vrši 25 min, u grijaču sa povratnim hladilom (na temperaturi od 80°C do 100°C), preferirajući struju dušika uz dodane kuglice za vrenje. Nakon hlađenja otopina je filtrirana u menzuru i zabilježen je volumen. Otopina je iz menzure prebačena u lijevak za odjeljivanje te je, kako bi se spriječilo stvaranje emulzije, u saponificirani uzorak dodano 150 mL vode tako da omjer etanola i vode bude 1:1. Retinol je iz saponificiranog uzorka ekstrahiran

dodavanjem 50 mL n-heksana i snažnim mućkanjem. Nakon odvajanja slojeva i lijevku, donji sloj ispušten je u laboratorijsku čašu, a gornji (heksanski) sloj sakupljen je u drugi lijevak za odjeljivanje. Donji sloj iz laboratorijske čaše vraćen je u lijevak te je postupak sa n-heksanom ponovljen još dva puta (do ukupnog volumena 150 mL n-heksana). Heksanski sloj sakupljen u drugom lijevku ispiran je vodom sve do neutralne reakcije na indikator fenoftalein. Ekstrakt je preko filter papira propušten u menzuru (zabilježen je volumen) uz istovremeno uklanjanje ostataka vode bezvodnim Na₂SO₄. Potom je preliven u okruglu tikvicu sa ravnim dnom i uparen do suha na rotavaporu ispod sniženog tlaka i temperaturi ne višoj od 50°C. Nakon uparavanja, uzorak je otopljen dodavanjem 1 mL n-heksana uz mućkanje, kako bi se postigla adekvatna koncentracija za injektiranje u HPLC kolonu (konc. Koja pokriva kalibracijsku krivulju). Uz pomoć šprice uzorak je izvađen iz tikvice i profiltriran u vialku.

Korištenjem standardnih otopina A i B priređene su kalibracijske otopine za HPLC (pokriven analitički raspon) uz odgovarajuća otapala. Identificiran je all-trans-retinol uspoređivanjem vremena zadržavanja u kromatogramima uzorka uz sljedeće kromatografske uvjete:

Tablica 3. Kromatografski uvjeti prilikom provođenja HPLC analize vitamina A

Stacionarna faza	Dimenzija kolone (dužina x promjer)	Mobilna faza	Protok	Volumen injektiranja	Detekcija (λ/nm)
Merck Li Chrosorb® Si60, 5 μm	250 mm x 4 mm	n-heksan + 2-propanol	2 ml/min	20 μL	Fluorescencija: Ekstinkcija: 325nm Emisija: 480nm

Injektirano je 20 μL standardnih otopina i test otopina uzorka u HPLC sistem. Za provođenje određivanja metodom eksternog standarda,

integrirana je površina pika dobivena za test otopinu uzorka i rezultat je uspoređen sa odgovarajućim signalom standardnih supstanci sličnih retencijskih vremena. Injektiran je jednaki volumen otopine uzorka i standardnih otopina priređenih tako da budu kompatibilne sa HPLC sistemom. Provedena su dva neovisna određivanja. Prikazani rezultati izračunati su na temelju sljedećeg postupka:

$$\rho_{\text{all-trans}} = \frac{A_s * c_{\text{all-T}} * V_s * V_{st} * 100}{A_{\text{all-T}} * m * V_{ts} * 1000} [\mu\text{g}/100\text{g}]$$

Gdje je:

A_s = površina all-trans-retinola dobivena iz test otopine uzorka

$C_{\text{all-T}}$ = koncentracija all-trans-retinola izmjerena na UV , u $\mu\text{g}/\text{mL}$

V_s = ukupni volumen test otopine uzorka u mL

V_{st} = volumen injektiranja standardne otopine u μL

100= faktor za preračunavanje masene koncentracije na 100 g

$A_{\text{all-T}}$ = površina pika all-trans-retinola dobivena sa standardnom otopinom

m = masa test uzorka u g

V_{ts} =volumen injektiranja test otopine uzorka u μL

1000= faktor za preračunavanje μg u mg

3.2. Određivanje vitamina B1

Reagensi

- 0,05 mol/L $\text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow 2,8 \text{ mL } 96\% \text{ H}_2\text{SO}_4 / 1000 \text{ mL H}_2\text{O}$
- Deionizirana voda
- Metanol, HPLC grade
- Kloridna kiselina (0,1 mol/L) ; 8,5 mL koncentrirane kloridne kiseline (36,5%) razrijeđeno je destiliranom vodom u odmjernoj tikvici od 1000 mL
- Natrij acetat (2,5 mol/L); 205 g otopljeno je u 1000 mL destilirane vode
- Natrij acetat (0,5 mol/L); 41 g je otopljen u 1000 mL destilirane vode
- Taka diastasa
- Natrij hidroksid, otopina 150 g/L
- Kalij heksacijanoferat III otopina (stabilna 10 dana); 10g kalijheksacijanoferata III otopljeno je u 1000 mL destilirane vode
- Alkalna otopina kalij heksacijanoferata; razrijeđeno je 2 mL otopine kalijheksacijanoferata (10 g/L) u tikvici od 50 mL sa otopinom natrij hidroksida 150 g/L
- Mobilna faza- acetatni pufer pH 4,5; 4,1 g je otopljen u 1000mL destilirane vode. pH vrijednost je regulirana 80% octenom kiselinom (0,05 M) (pH 4,5-cca 5mL)

Standardi

- Tiamin klorid hidroklorid

Stock otopina

- Tiamin klorid hidroklorid (0,1 mg/mL); otopljeno je 10 mg standarda u 100 mL kloridne kiseline (0,1 M). Otopina je stabilna 4 tjedna na +4°C
- Tiamin monofosfat (0,1 mg/mL) otopljeno je 10 mg standarda u 100 mL kloridne kiseline (0,1 M) Otopina je stabilna 4 tjedna na -20°C

Radni standardi

- 1 mg/L; pipetirano je 1 mL stock otopine u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno kloridnom kiselinom (0,1 M)
- 2 mg/L; pipetirano je 2 mL stock otopine u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno kloridnom kiselinom (0,1 M)
- 5 mg/L; pipetirano je 5 mL stock otopine u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno kloridnom kiselinom (0,1 M)
- 10 mg/L; pipetirano je 10 mL stock otopine u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno kloridnom kiselinom (0,1 M)

Postupak rada

Izvagano je 10 g uzorka u Erlenmeyerovu tikvicu te je dodano 50 mL kloridne kiseline (0,1 M). pH vrijednost ne smije biti viša od pH 3,0. Tikvica je pokrivena satnim staklom i zagrijana na temperaturi od 100°C kroz 60 minuta. Nakon hlađenja uzorka na sobnu temperaturu pH vrijednost ekstrakta namještena je na pH 4,0 otopinom natrij acetata (2,5 M). Dodano je 0,1 g Taka diastase po gramu uzorka te je mješavina inkubirana na temperaturi od 37°C kroz 24h (korištena je magnetna mješalica). Nakon hlađenja na sobnu temperaturu otopina je prevedena u odmjernu tikvicu od 100 mL (zaštićenu aluminijskom folijom) i nadopunjena destiliranom vodom do oznake. Završna faza uključuje pre-column oksidaciju gdje je pipetiran 1 mL enzimski tretiranog uzorka u vialku, dodan je 1 mL otopine heksacijanoferata uz mućkanje točno 10 sekundi. Uzorak je ostavljen da stoji 1 minutu, filtriran je i potom injektiran u HPLC kolonu.

Kromatografski uvjeti prilikom provođenja HPLC analize bili su sljedeći:

Tablica 4. Kromatografski uvjeti prilikom provođenja HPLC analize vitamina B1

Stacionarna faza	Dimenzija kolone (dužina x promjer)	Mobilna faza	Protok	Volumen injektiranja	Detekcija (λ/nm)
Lichrospher 100 RP-18 (5 μm)	250 mm x 4 mm	Metanol: Acetatni pufer pH 4,5 (50:50)	0,7 ml/min	20 μL	Fluorescencija: Ekstinkcija: 368nm Emisija: 440nm

Nakon provedene analize rezultat se izračunava pomoću sljedeće formule:

$$W = f \times V / 10m \text{ [mg/100g]}$$

f-faktor kalibracijskog pavca

V-volumen uzorka nakon enzimatskog tretmana u mL

m-masa uzorka u g

3.3. Određivanje vitamina B2

Reagensi

- 0,05 mol/L $\text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow 2,8 \text{ mL } 96\% \text{ H}_2\text{SO}_4 / 1000 \text{ mL H}_2\text{O}$
- Deionizirana voda
- Metanol, HPLC grade
- Kloridna kiselina (0,1 M) ; 8,3 mL koncentrirane kloridne kiseline (37%) razrijeđeno je destiliranom vodom u odmjernoj tikvici od 1000 mL
- Natrij acetat (2,5 M) 205 g otopljeno je u 1000 mL destilirane vode
- Taka diastasa
- Octena kiselina (0,02 M) 1,14 mL ledene octene kiseline razrijeđeno je sa 1000 mL destilirane vode

Standard

- Riboflavin

Stock otopina

- Riboflavin (0,1 mg/mL); otopljeno je 10 mg standarda u 100 mL octene otopine (0,02 M)

*Korišteno je tamno laboratorijsko posuđe te je tako pripremljena otopina stabilna 2 mjeseca na temperaturi od $+4^{\circ}\text{C}$

Standardna otopina A

- (10 mg/L) pipetirano je 10 mL stock otopine u odmjernu tikvicu od 100mL i nadopunjeno octenom kiselinom (0,02 M) do oznake

Radni standardi

- 0,1 mg/L; pipetirano je 1 mL standardne otopine A u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno mobilnom fazom do oznake
- 0,2 mg/L; pipetirano je 2 mL standardne otopine A u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno mobilnom fazom do oznake
- 0,5 mg/L; pipetirano je 5 mL standardne otopine A u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno mobilnom fazom do oznake

- 1,0 mg/L; pipetirano je 10 mL standardne otopine A u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno mobilnom fazom do oznake

Postupak rada

Izvagano je 10 g uzorka u Erlenmeyerovu tikvicu te je dodano 50 mL sumporne kiseline (0,05 M). pH vrijednost ne smije biti viša od pH 2,0. Tikvica je pokrivena satnim staklom i zagrijana na temperaturi od 100°C kroz 60 minuta. Nakon hlađenja uzorka na sobnu temperaturu pH vrijednost ekstrakta namještena je na pH 4,0 otopinom natrij acetata (2,5 M, utrošak 2,5 mL). Dodano je 0,1 g Taka diastase po gramu uzorka te je mješavina inkubirana na temperaturi od 37°C kroz 24h (korištena je magnetna mješalica). Nakon hlađenja na sobnu temperaturu otopina je prevedena u odmjernu tikvicu od 100 mL (zaštićenu od svjetla aluminijskom folijom) i nadopunjena otopinom octene kiseline (0,02 M) do oznake. Uzorak je potom centrifugiran i bistri filtrat razrijeđen je mobilnom fazom (metanol i voda u omjeru 40:60) tako da je na 1 mL uzorka dodano 1mL mobilne faze. Uzorak je filtriran (0,45 µm) i injektiran u HPLC kolonu. Kromatografski uvjeti bili su sljedeći:

Tablica 5. Kromatografski uvjeti prilikom provođenja HPLC analize vitamina B2

Stacionarna faza	Dimenzija kolone (dužina x promjer)	Mobilna faza	Protok	Volumen injektiranja	Detekcija (λ/nm)
Lichrospher 100 RP-18 (5 µm)	250 mm x 4 mm	Metanol: Voda (40:60)	1 ml/min	20 µL	Fluorescencija: Ekstinkcija: 468nm Emisija: 520nm

Nakon provedene analize rezultat se izračunava pomoću sljedeće formule:

$$W = fV V_E / V_A m_S 10 - m_e E / m_S \text{ [mg/100g]}$$

F -faktor kalibracijskog pavca

V -konačni volumen (mL)

V_E –volumen nakon enzimskog tretmana

V_A -volumen alikvota u konačnom razrijeđenju (mL)

m_S -masa uzorka (g)

m_e-masa enzima korištena u analizi (g)

E -količina riboflavina prisutna u enzimu izražena kao mg/100g

3.4. Određivanje vitamina B6

Reagensi

- Natrij acetat (0,05 M), pH 4,5 (ledena octena)
- Metanol, HPLC grade
- Kloridna kiselina (0,1 M); 8,5 mL koncentrirane kloridne kiseline (36,5%) razrijeđeno je destiliranom vodom u odmjernoj tikvici od 1000 mL
- Natrij acetat (2,5 M) 205 g otopljeno je u 1000 mL destilirane vode
- Glioksilna kiselina; otopljeno je 4,7 g glioksilne kiseline monohidrata u 30 mL otopine natrijacetata (2,5 M). Otopinom natrijacetata (2,5 M) namještena je pH vrijednost na 4,5 i otopina je vodom razrijeđena do volumena 50 mL
- Otopina željeznog sulfata; otopljeno je 36,66 mg željezo (II) sulfata heptahidrata u 10 mL otopine natrijacetata (0,05 M) pH 4,5
- Kisela fosfataza
- Ledena octena kiselina (99,5%)
- *Mobilna faza; 940 mL deionizirane vode, 40 mL acetonitrila, 0,16 g natrij heptan sulfonata, 6,8 g kalij dihidrogen fosfata; pH vrijednost namještena je na 2,5 fosforom kiselinom te je sve nadopunjeno vodom do 1000 mL
- Natrij borhidrid (0,1 M); 378 mg natrij borhidrida razrijeđeno je natrijevim hidroksidom (0,2 M) u 100 mL
- NaOH (0,2M); 1,6 g na 200 mL H₂O

Standard

- Piridoksin hidroklorid

Stock otopina

- Vitamin B6 (0,5 mg/mL); otopljeno je 50 mg standarda u 100 mL destilirane vode. Otopina je stabilna 4 tjedna na +4°C na tamnom mjestu.

Standardna otopina A

- 10 mg/L- pipetirano je 1 mL stock otopine u odmjernu tikvicu od 50 mL i nadopunjeno destiliranom vodom. Otopinu se pripremalo svakodnevno za vrijeme trajanja određivanja.

Radni standardi

- 0,1 mg/L; pipetirano je 1 mL standardne otopine A u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake
- 0,2 mg/L; pipetirano je 2 mL standardne otopine A u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake
- 0,5 mg/L; pipetirano je 5 mL standardne otopine A u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake
- 1,0 mg/L; pipetirano je 10 mL standardne otopine A u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake

Otopine su pripremane svakodnevno.

Postupak rada

Izvagano je 2,5 g uzorka u Erlenmeyerovu tikvicu te je dodano 50 mL kloridne kiseline (0,1 M). Tikvica je pokrivena satnim staklom i zagrijana na temperaturi od 100°C kroz 30 minuta (termostat). Nakon hlađenja uzorka na sobnu temperaturu pH vrijednost ekstrakta namještena je na pH 4,0 otopinom natrij acetata (2,5 M, utrošak 4,2 mL +3-5 kapi). Dodano je 2,5 mL glioksilne kiseline (1 M; pH 4,5) te 400 µL otopine željeznog sulfata (0,0132 mol/L). Potom je dodano 20 mg enzima kisele fosfataze te je mješavina inkubirana na temperaturi od 37°C kroz 24h (korištena je magnetna mješalica) uz konstantno miješanje. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu otopina je prevedena u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopunjena destiliranom vodom do oznake. Nakon filtracije uzorka ("crna vrpca") alikvot od 5 mL pomiješan je sa 4,5 mL otopine natrij-borhidrata (0,1 M) i promućkan najmanje 3 minute. Kako bi se osigurala potpuna destrukcija dodavane su kapljice ledene octene kiseline uz mućkanje.

Uzorak je filtriran (0,45 µm) i injektiran u HPLC kolonu. Kromatografski uvjeti bili su sljedeći:

Tablica 6. Kromatografski uvjeti prilikom provođenja HPLC analize vitamina B6

Stacionarna faza	Dimenzija kolone (dužina x promjer)	Mobilna faza	Protok	Volumen injektiranja	Detekcija (λ/nm)
Lichrospher 100 RP-18 (5 µm)	250 mm x 4 mm	*vidi reagensi	1 ml/min	30 µL	Fluorescencija: Ekstinkcija: 290nm Emisija: 396nm

Nakon provedene analize rezultat se izračunava pomoću sljedeće formule:

$$W = (f \times 100 \times 2 \times 100 \times 0,822) / m \times 1000 [\text{mg}/100\text{g}]$$

f- faktor kalibracijskog pravca

100- volumen uzorka (mL)

2- faktor razrijeđenja u reakciji sa natrij borhidratom

1000- faktor konverzije iz mikrograma u miligrame

100-faktor za preračun u količinu u 100g

0,82- faktor konverzije iz piridoksin hidroklorida u piridoksin

3.5. Određivanje vitamina C

Reagensi

- Destilirana voda trećeg stupnja
- Metanol, LiChrosolv, Merck
- Askorbinska kiselina p.a.
- Fosfatna kiselina 0,05 M
- Kalij-dihidrogenfosfat (KH_2PO_4); 0,025 M; pH vrijednost namještena na 2,5 sa fosfatnom kiselinom koncentracije 0,05 M

Aparati i pribor

- Tekućinski kromatograf HPLC 1050 sa UV detektorom (HEWLETT PACKARD, USA)
- SOFTWARE: HP ChemStation Plus Family (Rev. A. 06. 03)
- Analitička vaga
- Elektronska precizna vaga
- pH-metar
- mikser za homogeniziranje
- ultrazvučna kupelj
- Vakuum pumpa sa uređajem za filtriranje i odplinjavanje otapala
- Menzura (50 mL-1000 mL)
- Pipete (1 mL-25 mL)
- Odmjerna tikvica (10 mL-1000 mL)
- Erlen-Meyerova tikvica sa ubrušenim čepom (za filtrirani uzorak)-vialke (10 mL)
- Plastična šprica za filtraciju uzorka (2 mL)
- HAMILTON šprica za injektiranje (50 μL , 100 μL)
- Kolona (za pročišćavanje uzorka): C 18 Sep-Pac

Priprema standarda

Stock standard: Askorbinska kiselina 1000 mg/L; vagano je 0,1 g askorbinske kiseline te je otopljeno u malo tople deionizirane vode u odmjernoj tikvici od 100 mL. Nadopunjeno je vodom do oznake.

Standardne otopine za izradu baždarne krivulje

- 10 mg/L; 1 mL stock standarda razrijeđeno je u odmjernej tikvici od 100 mL s deioniziranom vodom
- 25 mg/L; 2,5 mL stock standarda razrijeđeno je u odmjernej tikvici od 100 mL s deioniziranom vodom
- 50 mg/L; 5 mL stock standarda razrijeđeno je u odmjernej tikvici od 100 mL s deioniziranom vodom
- 100 mg/L; 10 mL stock standarda razrijeđeno je u odmjernej tikvici od 100 mL s deioniziranom vodom

Postupak

50 mL tekućeg uzorka mućkano je sa 50 mL 0,05 M fosforne kiseline. Provedena je centrifuga (10 min na 4000 okretaja) te je sakupljen supernatant u odmjernej tikvici od 100 mL koja je potom nadopunjena fosforom kiselinom do oznake. Ekstrakt je pročišćen na koloni Sep Pac kondenziranoj sa 2 mL acetonitrila te sa 5 mL destilirane vode. Uzorak je filtriran kroz filter papir te injektiran u instrument. Kromatografski uvjeti bili su sljedeći:

Tablica 7. Kromatografski uvjeti prilikom provođenja HPLC analize vitamina C

Stacionarna faza	Dimenzija kolone (dužina x promjer)	Mobilna faza	Plin	Protok	Volumen injektiranja	Detekcija (λ/nm)
Lichrospher 100 RP-18 (5 μ m)	250 mm x 4 mm	KH ₂ PO ₄ (0,025 M); pH 2,5	Helij (čistoće 99,999%)	2 ml/min	30 μ L	210 nm

Nakon provedene analize rezultat se izračunava pomoću sljedeće formule:

a) Koncentracija (mg/L) = $A/B \cdot C_{\text{std}} \cdot V_2/V_1 \cdot D$

b) Koncentracija (mg/kg) = $A/B \cdot C_{\text{std}} \cdot V_2/M \cdot D$

Gdje je:

A- Površina pika uzorka

B- Površina pika standarda

C_{std}- koncentracija standarda (mg/L)

M- količina analiziranog uzorka (g)

V1- količina analiziranog uzorka (mL)

V2- volumen otopine ekstrahiranog uzorka (mL)

D- faktor razrijeđenja

4. Rezultati

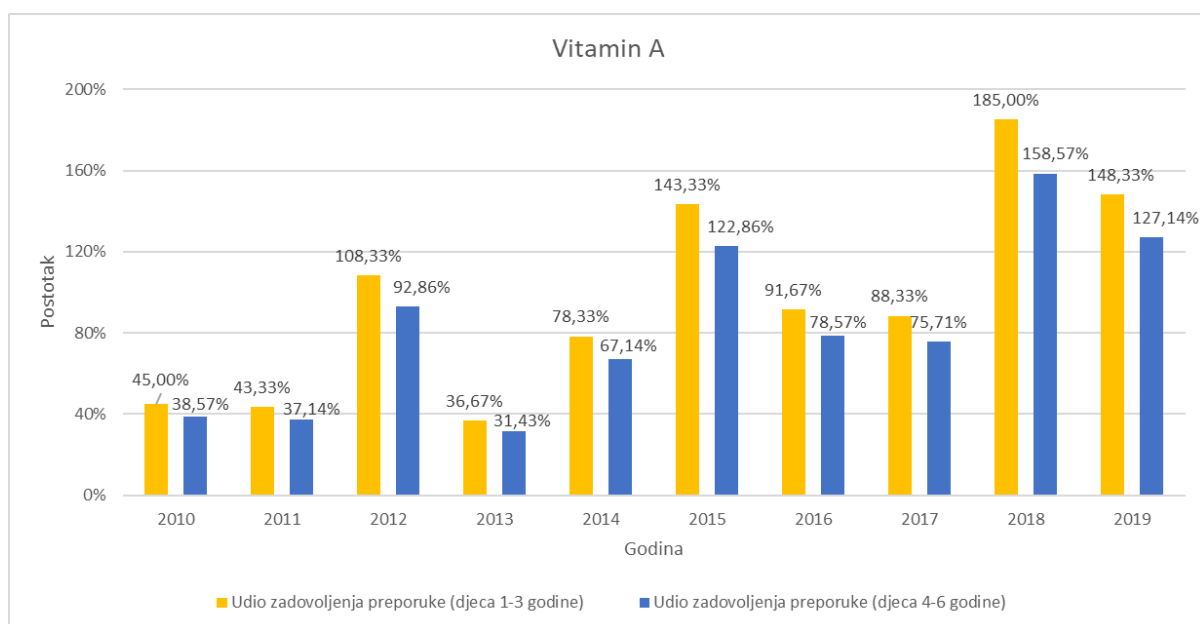
4.1. Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina A

U tablici 8. prikazane su minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti vitamina A za razdoblje praćenja od 10 godina. U periodu od 2010.-2013. godine vrijednosti su dobivene na temelju rezultata dva uzastopna mjerenja HPLC metodom dok je u periodu od 2014.-2019. godine ponovljeno šest mjerenja.

Tablica 8. Minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti te standardna devijacija (SD) za promatrano razdoblje praćenja vitamina A.

Vitamin A										
Godina	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Minimum	0,09	0,24	0,58	0,11	0,22	0,62	0,42	0,23	0,64	0,21
Maximum	0,45	0,29	0,72	0,33	0,56	1,03	0,86	0,94	1,59	1,43
$\bar{x}$	0,27	0,26	0,65	0,22	0,47	0,86	0,55	0,53	1,11	0,89
SD	0,18	0,02	0,07	0,11	0,12	0,13	0,15	0,25	0,37	0,41

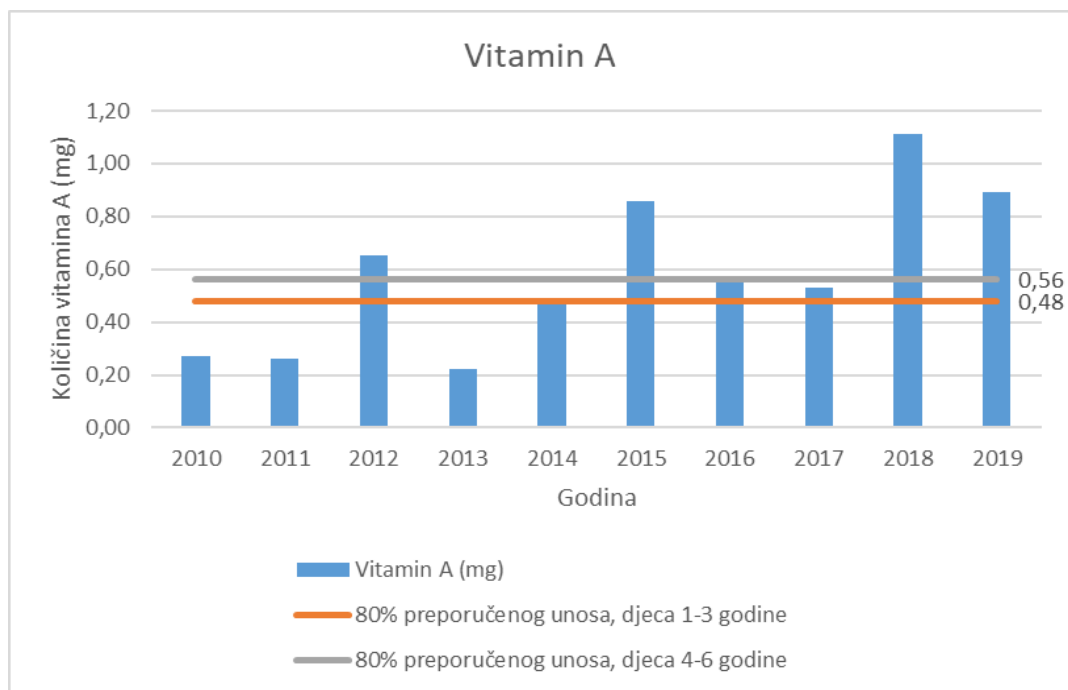
Na slici 4. grafički su prikazani postotci zadovoljenja preporuka prehrambenog standarda (PS) za vitamin A za djecu dobi 1-3 godine i stariju 4-6 godina.



Slika 4. Grafički prikaz postotnog zadovoljenja dnevnih preporuka vitamina A za promatrano razdoblje.

Preporučeni dnevni unos Vitamina A za djecu starosti od 1-3 godine iznosi 0,60 mg, a za djecu starosti 4-6 godina iznosi 0,70 mg. Rezultati su prikazani u postotku o odnosu na preporuku. Prosječna vrijednost unosa vitamina A 2010. godine iznosila je 0,27 mg što je 45,00% zadovoljenja u odnosu na preporučeni dnevni unos za djecu starosti od 1-3 godine te 38,57% za stariju dobnu skupinu. Navedene vrijednosti ne zadovoljavaju preporuke pravilnika tj. niže su od preporuka iz 2007. godine. Sljedeće, 2011. godine trend se nastavlja dok su vrijednosti za 2012. godinu bile više od 80% preporuke PS. Postotak zadovoljenja preporuke za mlađu dobnu skupinu iznosio je 108,33% dok je za stariju iznosio 92,86%. U godinama 2013. i 2014., postotci zadovoljenja bili su niži od preporuka PS za obje dobne skupine. Godine 2016. unos od 0,55 mg vitamina A zadovoljava više od 80% preporučenog unosa za djecu starosti 1-3 godine i manje od 2% je nedostatan za stariju dobnu skupinu. Iduće, 2017. godine postotci su vrlo slični onima iz 2016. uz vrlo mala odstupanja od standarda. U godinama 2015., 2018. i 2019. rezultati su pokazali postotke zadovoljenja koji su mnogo veći od preporučenih za obje dobne skupine.

Na grafikonu (Slika 5.) stupcima su prikazane srednje vrijednosti unosa vitamina A kroz promatrano razdoblje te horizontalnim crtama vrijednosti 80% preporučenih dnevnih doza unosa vitamina A za djecu starosti 1-3 godine (0,48 mg) i starije, 4-6 godina (0,56 mg).



Slika 5. Grafički prikaz zadovoljenja 80% preporučenog dnevnog unosa vitamina A za razdoblje praćenja od 10 godina.

80% unosa vitamina A za mlađu dobnu skupinu nije zadovoljeno u godinama 2010., 2011. i 2013. Godine 2012., 2015., 2018., i 2019. vrijednosti su veće od očekivanih dok u godinama 2016. i 2017. vidimo unos veći od preporuke PS-a, ali u manjoj mjeri. Godine 2014. srednja vrijednost vitamina A iznosila je 0,47 mg što je gotovo 100% očekivana vrijednost unosa vitamina A kroz 4 servirana obroka u dječjem vrtiću. 80% unosa vitamina A za stariju dobnu skupinu nije zadovoljen u godinama 2010., 2011., 2013., 2014. i 2017., a viši je od preporuke 2012., 2015., 2018. i 2019. U godini 2016. prosječni unos vitamina A bio je 0,55 mg što je gotovo 100% očekivana vrijednost unosa kroz 4 servirana obroka.

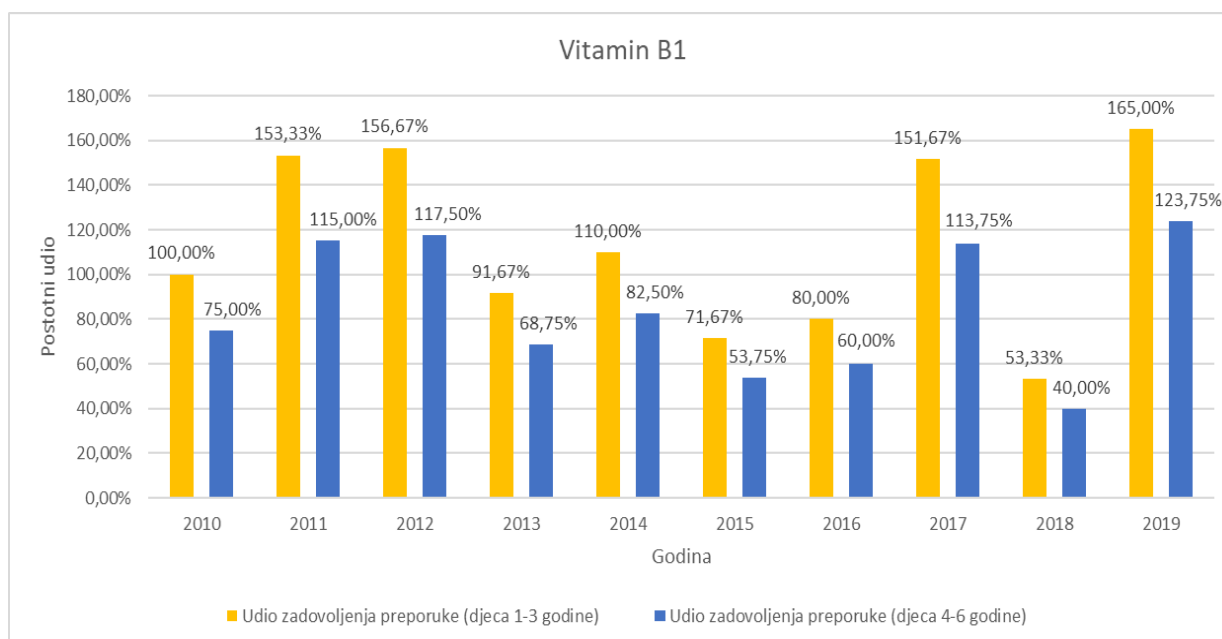
4.2. Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina B1

U tablici 9. prikazane su minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti vitamina B1 za razdoblje praćenja od 10 godina. U periodu od 2010.-2013. godine vrijednosti su dobivene na temelju rezultata dva uzastopna mjerenja HPLC metodom dok je u periodu od 2014.-2018. godine ponovljeno šest mjerenja. Posljednje 2019. godine ponovljeno je sedam mjerenja.

Tablica 9. Minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti te standardna devijacija za promatrano razdoblje praćenja vitamina B1.

Vitamin B1										
Godina	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Minimum	0,51	0,66	0,67	0,44	0,57	0,35	0,38	0,72	0,25	0,66
Maximum	0,69	1,18	1,20	0,65	0,77	0,54	0,56	1,20	0,40	1,18
$\bar{x}$	0,60	0,92	0,94	0,55	0,66	0,43	0,48	0,91	0,32	0,99
SD	0,09	0,26	0,27	0,11	0,06	0,07	0,06	0,19	0,05	0,18

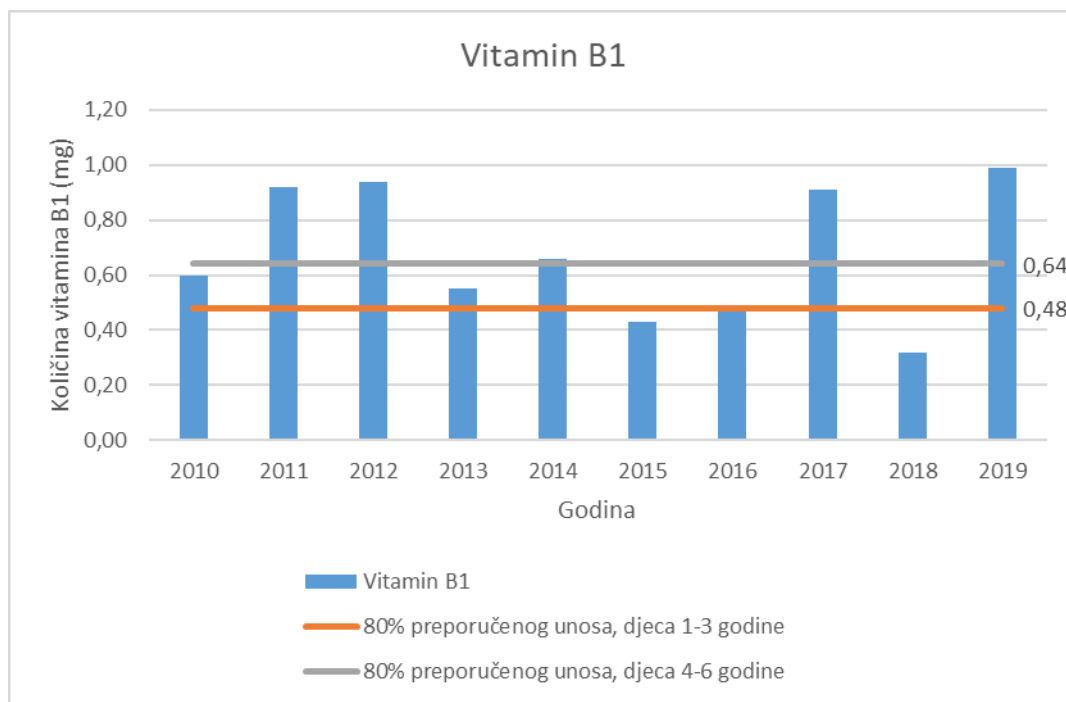
Na slici 8. grafički su prikazani postotci zadovoljenja preporuka PS za vitamin B1 za djecu dobi 1-3 godine i stariju 4-6 godina.



Slika 8. Grafički prikaz postotnog zadovoljenja dnevnih preporuka vitamina B1 za promatrano razdoblje.

Preporučeni dnevni unos Vitamina B1 za djecu starosti od 1-3 godine iznosi 0,60 mg, a za djecu starosti 4-6 godina iznosi 0,80 mg. Rezultati su prikazani u postotku o odnosu na preporuku. Prosječna vrijednost unosa vitamina B1 2010. godine iznosila je 0,60 mg i zadovoljava preporučeni dnevni unos za djecu starosti od 1-3 godine. Za stariju dobnu skupinu, postotak zadovoljenja iste godine je 75,00% i takav rezultat ne zadovoljava preporuku PS-a. Starija djeca zbog tjelesne težine i visine očekivano imaju potrebu za većim unosom vitamina u odnosu na mlađu dobnu skupinu. Godine 2011. unos od 0,92 mg vitamina B1 zadovoljava 153,33% preporuke PS za mlađu odnosno 115% preporuke za stariju dobnu skupinu. Sljedeće, 2012. godine prosječni unos od 0,94 mg veći je od preporuka za obje dobne skupine. 2013. godine, prosječni unos od 0,55 mg je iznad preporuka za mlađu dobnu skupinu, dok je nedovoljan za stariju dobnu skupinu. Godine 2014. postotci su viši od preporuka kao i 2017. i 2019. godine. U godinama 2015. i 2018. rezultati nisu unutar preporuka PS u obje dobne skupine. Godine 2016. prosječni unos od 0,48 mg vitamina B točno je 80% preporučenog dnevnog unosa za djecu dobi 1-3 godine no za stariju dobne skupine nije unutar PS.

Na grafikonu (Slika 9.) su stupcima prikazane srednje vrijednosti unosa vitamina B1 kroz promatrano razdoblje te horizontalnim crtama vrijednosti 80% preporučenih dnevnih doza unosa vitamina B1 za djecu starosti 1-3 godine (0,48 mg) i starije, 4-6 godina (0,64 mg).



Slika 9. Grafički prikaz zadovoljenja 80% preporučenog dnevnog unosa vitamina B1 za razdoblje praćenja od 10 godina.

Unos vitamina B1 za mlađu dobnu skupinu nije unutar preporuka u godinama 2015. i 2018. Godine 2011., 2012., 2017. i 2019. vrijednosti vitamina B1 su puno veće od očekivanih dok u godinama 2010., 2013. i 2014. vidimo unos veći od preporuke PS-a, ali u manjoj mjeri. Unos vitamina B1 za stariju dobnu skupinu nije unutar preporuka u godinama 2010., 2013., 2015., 2016. i 2018. Ostalih godina unos je unutar ili iznad preporuka PS za stariju dobnu skupinu.

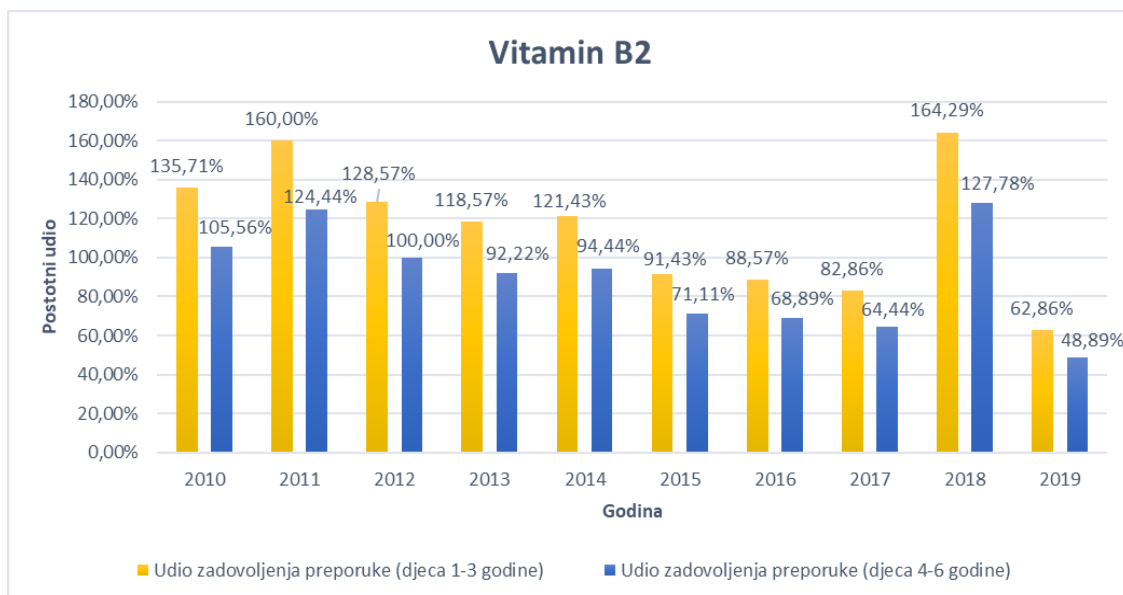
4.3. Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina B2

U tablici 10. prikazane su minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti vitamina B2 za razdoblje praćenja od 10 godina. U periodu od 2010.-2013. godine vrijednosti su dobivene na temelju rezultata dva uzastopna mjerenja HPLC metodom dok je u periodu od 2014.-2018. godine ponovljeno šest mjerenja. Posljednje 2019. godine ponovljeno je sedam mjerenja.

Tablica 10. Minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti te standardna devijacija za promatrano razdoblje praćenja vitamina B2.

Vitamin B2										
Godina	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Minimum	0,94	0,78	0,81	0,73	0,58	0,42	0,50	0,31	0,94	0,30
Maximum	0,96	1,46	0,99	0,92	1,17	0,75	0,90	0,85	1,52	0,59
$\bar{x}$	0,95	1,12	0,90	0,83	0,85	0,64	0,62	0,58	1,15	0,44
SD	0,01	0,34	0,09	0,10	0,19	0,11	0,15	0,19	0,19	0,09

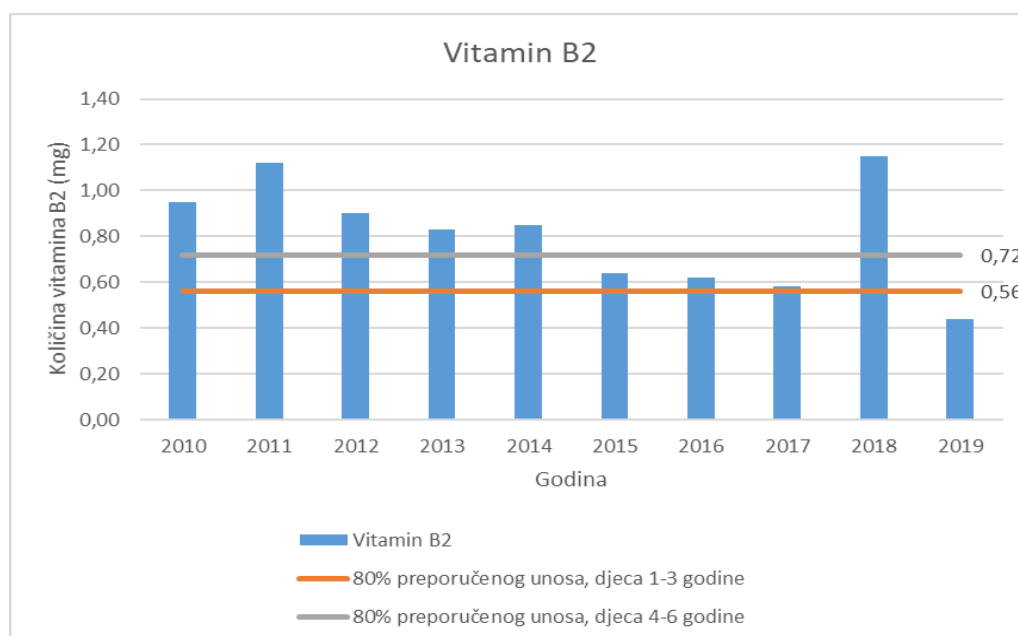
Na slici 10. grafički su prikazani postotci zadovoljenja preporuka PS za vitamin B2 za djecu dobi 1-3 godine i stariju 4-6 godina.



Slika 10. Grafički prikaz postotnog zadovoljenja dnevnih preporuka vitamina B1 za promatrano razdoblje.

Preporučeni dnevni unos Vitamina B2 za djecu starosti od 1-3 godine iznosi 0,70 mg, a za djecu starosti 4-6 godina iznosi 0,90 mg. Rezultati su prikazani u postotku o odnosu na preporuku. Godine 2010. prosječna vrijednost vitamina B2 iznosila je 0,95 mg i zadovoljava više od 80% preporučenog dnevnog unosa za obje dobne skupine. Više od 80% preporučenog dnevnog unosa vitamina B2 iznosile su izmjerene prosječne vrijednosti u godinama 2011., 2012., 2013. i 2014. za obje dobne skupine. U godinama 2015., 2016. i 2017. izmjerene prosječne vrijednosti vitamina B2 bile su unutar preporuka za djecu starosti 1-3 godina, a nisu zadovoljile preporuke za djecu 4-6 godina. U posljednjoj godini promatranja, 2019., prosječna vrijednost vitamina B2 iznosila je 0,44 mg i rezultat nije unutar preporuka PS obzirom da zadovoljava 62,86% preporuke za mlađu i 48,89% preporuke za stariju dobnu skupinu djece.

Na grafikonu (Slika 11.) stupcima su prikazane srednje vrijednosti unosa vitamina B2 kroz promatrano razdoblje te horizontalnim crtama vrijednosti 80% preporučenih dnevnih doza unosa vitamina B za djecu starosti 1-3 godine (0,56 mg) i starije, 4-6 godina (0,72 mg).



Slika 11. Grafički prikaz zadovoljenja 80% preporučenog dnevnog unosa vitamina B2 za razdoblje praćenja od 10 godina.

Unos vitamina B2 za mlađu dobnu skupinu nije unutar preporuka u posljednjoj godini promatranja dok je u ostalim godinama unos veći od preporuka u manjoj ili većoj mjeri. Godine 2017. rezultat je najbliži traženoj vrijednosti obzirom da prosječni unos vitamina B2 od 0,58 mg zadovoljava 82,86% preporuke PS-a. Za stariju dobnu skupinu unos vitamina B2 unutar preporuka je od 2010.-2014. godine i 2018. godine dok je u godinama 2015., 2016. 2017. i 2019. ispod preporuka PS.

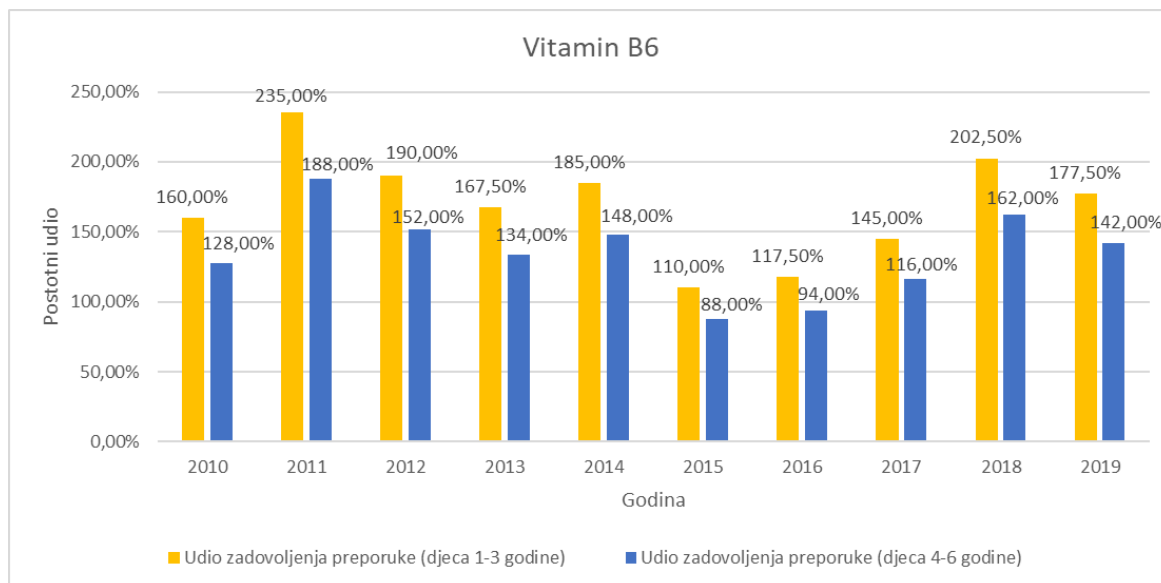
4.4. Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina B6

U tablici 11. prikazane su minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti vitamina B6 za razdoblje praćenja od 10 godina. U periodu od 2010.-2013. godine vrijednosti su dobivene na temelju rezultata dva uzastopna mjerenja HPLC metodom. Godine 2014. ponovljena su četiri mjerenja dok je u periodu od 2015.-2018. godine ponovljeno šest mjerenja. Posljednje 2019. godine ponovljeno je sedam mjerenja.

Tablica 11. Minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti te standardna devijacija za promatrano razdoblje praćenja vitamina B6.

Vitamin B6										
Godina	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Minimum	0,64	0,57	0,63	0,37	0,65	0,21	0,27	0,35	0,48	0,56
Maximum	0,64	1,34	0,88	0,97	0,88	0,77	0,79	0,72	1,00	1,11
$\bar{x}$	0,64	0,96	0,76	0,67	0,74	0,44	0,47	0,58	0,81	0,71
SD	0	0,39	0,13	0,30	0,09	0,20	0,22	0,13	0,17	0,18

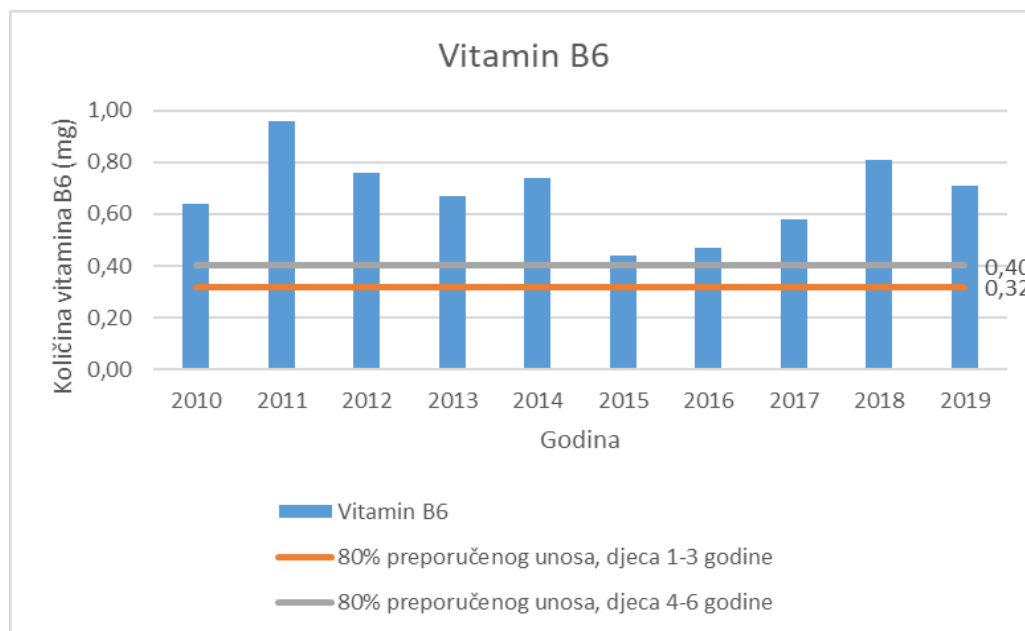
Na slici 12. grafički su prikazani postotci zadovoljenja preporuka PS za vitamin B6 za djecu dobi 1-3 godine i stariju 4-6 godina.



Slika 12. Grafički prikaz postotnog zadovoljenja dnevnih preporuka vitamina B6 za promatrano razdoblje.

Preporučeni dnevni unos Vitamina B6 za djecu starosti od 1-3 godine iznosi 0,40 mg, a za djecu starosti 4-6 godina iznosi 0,50 mg. Rezultati su prikazani u postotku o odnosu na preporuku. U svim promatranim godinama prosječni unos vitamina B6 bio je viši od 80% preporučenog dnevnog unosa. Godine 2011. prosječni unos od 0,96 mg vitamina B6 odgovara 240% preporučenog dnevnog unosa, što je 3 puta veći unos od preporuke koju je potrebno ostvariti kroz 4 vrtićka obroka. Postotak iste godine manji je za stariju dobnu skupinu (192%) no i dalje je u suvišku.

Na grafikonu (Slika 13.) su stupcima prikazane srednje vrijednosti unosa vitamina B2 kroz promatrano razdoblje te horizontalnim crtama vrijednosti 80% preporučenih dnevnih doza unosa vitamina B6 za djecu starosti 1-3 godine (0,56 mg) i starije, 4-6 godina (0,72 mg).



Slika 13. Grafički prikaz zadovoljenja 80% preporučenog dnevnog unosa vitamina B6 za razdoblje praćenja od 10 godina.

80% dnevni unos zadovoljen je u svim godinama promatranja za obje dobne skupine. Unos vitamina B6 je u suvišku u odnosu na preporučeni dnevni unos u obje dobne skupine u cijelom promatranom razdoblju.

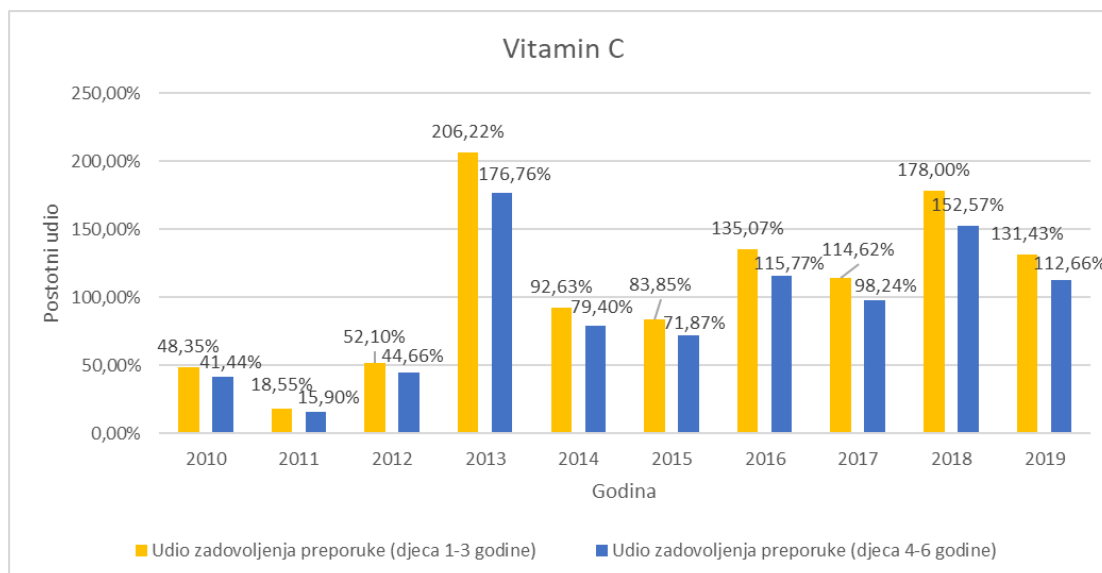
4.5. Praćenje i usporedba vrijednosti vitamina C

U tablici 12. prikazane su minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti vitamina B2 za razdoblje praćenja od 10 godina. U periodu od 2010.-2013. godine vrijednosti su dobivene na temelju rezultata dva uzastopna mjerenja HPLC metodom dok je u periodu od 2014.-2018. godine ponovljeno šest mjerenja. Posljednje 2019. godine ponovljeno je sedam mjerenja.

Tablica 12. Minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti te standardna devijacija za promatrano razdoblje praćenja vitamina C.

Vitamin C										
Godina	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Minimum	18,21	9,77	21,94	98,99	41,26	29,27	47,44	34,53	72,47	33,94
Maximum	39,8	12,49	40,58	148,46	62,69	61,43	117,12	93,45	132,11	145,81
$\bar{x}$	29,01	11,13	31,26	123,73	55,58	50,31	81,04	68,77	106,8	78,86
SD	10,8	1,36	9,32	24,74	7,07	10,98	25,25	20,22	19,48	39,98

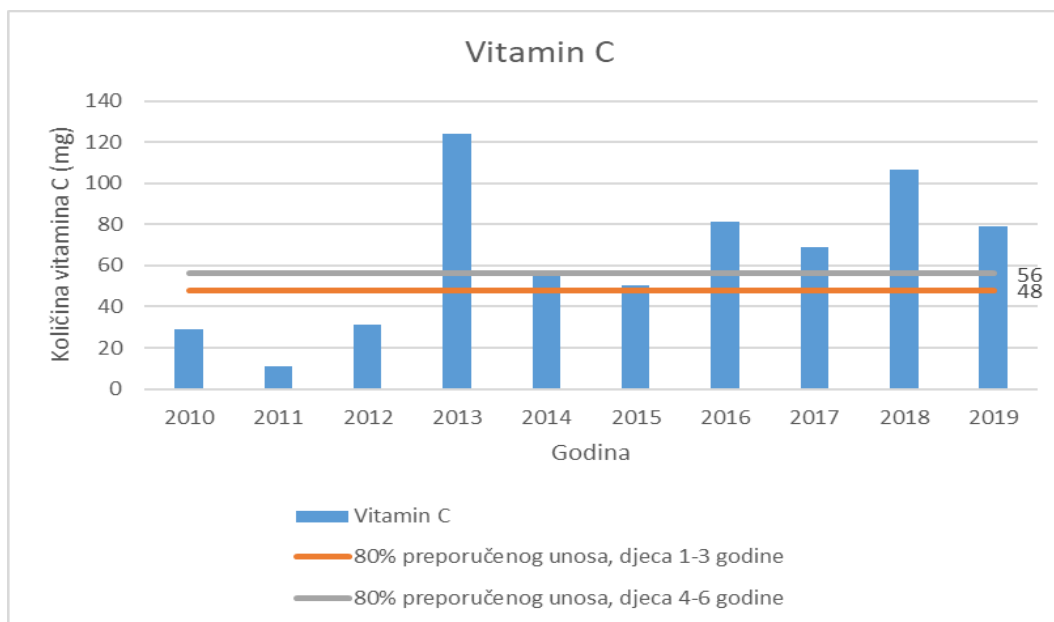
Na slici 14. grafički su prikazani postotci zadovoljenja preporuka PS za vitamin C za djecu dobi 1-3 godine i stariju 4-6 godina.



Slika 14. Grafički prikaz postotnog zadovoljenja dnevnih preporuka vitamina C za promatrano razdoblje.

Preporučeni dnevni unos Vitamina C za djecu starosti od 1-3 godine iznosi 60 mg, a za djecu starosti 4-6 godina iznosi 70 mg. Prve 3 godine promatranja unosa vitamina C, prosječne vrijednosti bile su ispod 80% preporučenog dnevnog unosa u obje dobne skupine. Godine 2013. prosječna vrijednost vitamina C iznosila je 123,73 mg što je dva i pol puta veći unos vitamina C od preporučenog, kroz četiri vrtićka obroka za djecu starosti 1-3 godine. Ista količina vitamina C za stariju dobnu skupinu zadovoljava 176,76% preporuke što je također u suvišku u odnosu na preporučeni unos. Godine 2014. prosječna vrijednost vitamina C iznosila je 55,58 mg što je unutar preporuke za djecu starosti 1-3 godine sa 92,63% zadovoljenja dok za djecu starosti 4-6 godina nije unutar preporuke za manje od 1%. 2015. godine prosječna vrijednost od 50,31 mg vitamina C zadovoljila je 83,85% preporuke za mlađu dobnu skupinu odnosno 71,87% preporuke za stariju dobnu skupinu. Rezultat nije unutar 80% preporuke za stariju dobnu skupinu. U razdoblju od 2016.-2019. postotci zadovoljenja veći su od preporuka za obje dobne skupine.

Na grafikonu (Slika 15.) su stupcima prikazane srednje vrijednosti unosa vitamina C kroz promatrano razdoblje te horizontalnim crtama vrijednosti 80% preporučenih dnevnih doza unosa vitamina C za djecu starosti 1-3 godine (48 mg) i starije, 4-6 godina (56 mg).



Slika 15. Grafički prikaz zadovoljenja 80% preporučenog dnevnog unosa vitamina C za razdoblje praćenja od 10 godina.

Više od 80% dnevnog unosa vitamina C za mlađu dobnu skupinu ostvareno je u periodu od 2013.-2019. a nije ostvareno u periodu od 2010.-2012. Za stariju dobnu skupinu unos veći od 80% zabilježen je u godini 2013. te u periodu od 2016.-2019. Nedovoljan unos zabilježen je u periodu od 2010.-2012. te 2015. Godine 2014. prosječan unos vitamina C od 55,58 mg je 79,40% dnevnog zadovoljenja, što je vrlo blizu traženog rezultata.

4.6. Unos promatranih vitamina u 2019. godini

Tablice 13. i 14. prikazuju prosječan unos promatranih vitamina u 2019. godini, 80% preporučenog unosa vitamina te postotke zadovoljenja u odnosu na preporuku.

Tablica 13.. Prosječan unos svih promatranih vitamina u 2019. godini i postotci zadovoljenja u odnosu na 80%-tni iznos preporuke za djecu starosti 1-3 godine.

2019.	Prosječan unos vitamina (mg)	80% preporučenog unosa, djeca 1-3 godine (mg)	Postotak zadovoljenja
Vitamin A	0,89	0,48	185,42%
Vitamin B1	0,99	0,48	206,25%
Vitamin B2	0,44	0,56	78,57%
Vitamin B6	0,71	0,32	221,88%
Vitamin C	78,86	48	164,29%

Tablica 14.. Prosječan unos svih promatranih vitamina u 2019. godini i postotci zadovoljenja u odnosu na 80%-tni iznos preporuke za djecu starosti 4-6 godina.

2019.	Prosječan unos vitamina (mg)	80% preporučenog unosa, djeca 4-6 godina (mg)	Postotak zadovoljenja
Vitamin A	0,89	0,56	158,93%
Vitamin B1	0,99	0,64	154,69%
Vitamin B2	0,44	0,72	61,11%
Vitamin B6	0,71	0,40	177,50%
Vitamin C	78,86	56	140,82%

U obje dobne skupine vrijednosti vitamina A, B1, B6 i C bile su veće od očekivanih, dok su vrijednosti vitamina B2 bile ispod preporuka PS.

5. Rasprava

Prehrana je jedan od važnijih faktora razvitka i razvoja ljudskog života jer njome u organizam unosimo tvari potrebne za pravilno funkcioniranje organa te za proizvodnju energije (1,2). Ukoliko djeca u ranom djetinjstvu steknu pravilne prehrane navike, biti će im usađene čitav život stoga je bitno pratiti kvalitetu prehrane u dječjim vrtićima. Na taj način preventivno djelujemo na kronična stanja poput kardiovaskularnih bolesti, osteoporoze, dijabetesa, pothranjenosti i pretilosti u starijoj životnoj dobi (6). Pravilna prehrana uključuje hranjive tvari, zastupljene i konzumirane u uravnoteženom omjeru. Prilikom slaganja obroka važno je poštovati preporuke (NN 121/2007) o strukturi obroka te količini unosa dnevno potrebnih tvari po jednom obroku (zajuttrak, doručak, ručak, užina i večera) (2,8).

Vitamini su tvari koje organizmu trebaju u relativno malim količinama međutim, sudjeluju u metaboličkim procesima, rastu, razvoju i očuvanju zdravlja. Njihov nedovoljan unos rezultira tjelesnom neravnotežom, zaostatom u razvoju te ostalim zdravstvenim poremećajima dok prekomjeren unos može rezultirati toksičnim učincima (10). Djeca koja konzumiraju raznovrsnu, uravnoteženu prehranu baziranu na piramidi pravilne prehrane dobivaju sve potrebne nutrijente u cjelodnevnim obrocima bez dodatne suplementacije (3).

Djeca u vrtićima grada Rijeke provedu u prosjeku 5 do 7 godina života te prosječno 8 – 10 sati na dan. U vremenu provedenom u vrtiću servirana su im 4 obroka (zajuttrak, doručak, ručak i užina) stoga se za usporedbu uzima 80% preporuka PS unosa vitamina A, B1, B2, B6 i C (2,8). Preostali obrok u danu (20% unosa) djeca konzumiraju van dječjeg vrtića i taj bi obrok trebao biti izbalansiran i u predviđenom vremenu (između 18:00-19:00 sati). Istraživanja su pokazala kako energetske i nutritivne vrijednosti obroka u dječjim vrtićima nisu uvijek u skladu sa preporukama

i standardima. Energetski unos veći je od preporuke, dok je unos voća, povrća i mlijeka koji su izvor vitamina i minerala manji od preporuke u obroku koji je djeci serviran izvan dječjeg vrtića. Pretilost je upravo radi toga povezana sa obrocima koje djeca konzumiraju kod kuće ili na nekom drugom mjestu (26).

Prilikom usporedbe dobivenih rezultata sa studijama drugih država bitno je napomenuti kako svaka država izdaje svoje prehrambene standarde koji se međusobno razlikuju i prema kojima se slažu jelovnici u dječjim vrtićima unutar države koja ih izdaje.

Vitamin A ima esencijalnu ulogu u očuvanju vida, sudjeluje u rastu i razmnožavanju, staničnoj diferencijaciji te pomaže radu imunološkog sustava (11). U promatranom razdoblju od 10 godina više od 80% dnevnog unosa vitamina A zadovoljeno je 2012., 2015., 2018., i 2019., a nije zadovoljeno 2010., 2011., 2013. i 2014. godine za obje dobne skupine. Godine 2016. i 2017. godine prosječni unos bio je dovoljan za mlađu, a nedovoljan za stariju dobnu skupinu (Slika 4.). Prema studiji Joanne Myszkowske-Ryciak i suradnice iz 2018. svi promatrani vrtići te godine u Poljskoj imali su vrijednosti vitamina A unutar preporuka PS (27). Nedovoljan unos vitamina A u usporednim studijama zabilježen je u Brazilu 2013. godine i u Kini u istraživanju provedenom 2017. godine. Manje od 1% populacije od 3058 Brazilske djece u dobi od 2-6 godina starosti nije dobilo dovoljnu količinu vitamina A dok je kod Kineske predškolske djece 25,3% promatrane populacije (dob 4-6 godina) primalo neadekvatnu količinu vitamina A (28,29). U Američkoj saveznoj državi Rhode Island-u u studiji provedenoj 2019. o praćenju unosa mikronutrijenata predškolaca koji pohađaju *Child Care Homes*, pokazalo se kako je unos vitamina A kroz promatrane obroke zadovoljio preporuku (30). U istraživanju provedenom u Hrvatskoj 2018. godine o energetskoj i nutritivnoj vrijednosti obroka u gradskom i privatnom vrtiću, unos vitamina A bio je 559,9 µg RE za gradski vrtić što je 93,3% preporuke za mlađu i 80,0% preporuke za stariju dobnu

skupinu. U privatnom vrtiću unos vitamina A iznosio je 409,9 µg RE što je 68,3% preporuke za mlađu i 58,6% preporuke za stariju dobnu skupinu (31). U odnosu na naše dobivene rezultate, unos u privatnom dječjem vrtićima je neadekvatan, dok je u gradskom vrtiću unutar preporuka 80% dnevnog unosa za obje dobne skupine.

Vitamin B1 (tiamin) sudjeluje u radu živčanog sustava i metabolizmu ugljikohidrata te je neophodan za pravilan rast i održavanje zdrave kože (17). U promatranom razdoblju od 10 godina više od 80% dnevnog unosa vitamina B1 zadovoljeno je 2011., 2012., 2014., 2017. i 2019. godine, a nije zadovoljeno 2015. i 2018. godine za obje dobne skupine. Godine 2013. i 2016. godine prosječni unos bio je dovoljan za mlađu, a nedovoljan za stariju dobnu skupinu (Slika 8.). Istraživanje u Poljskoj 2017. godine, studija u Brazilu iz 2013. godine i u Americi iz 2019. godine nisu zabilježile nedovoljan unos vitamina B1 za promatrane skupine djece (27,29,30). Studija Wanga i suradnika u Kini 2017. godine pokazala je da ukupno 68,3 % djece starosti 4-6 godina ne uzima adekvatnu dnevnu količinu tiamina u obrocima (28). Studija koju su u Srbiji proveli Bonić i suradnici obuhvatila je period od 2011-2014. godine. Dobiveni rezultati pokazali su kako unos vitamina B1 u promatranim godinama zadovoljava 34,25% preporuke i nije unutar standarda(32).

Vitamin B2 (riboflavin) sudjeluje u metabolizmu ugljikohidrata, amino kiselina i lipida te proizvodnji energije (11). U promatranom razdoblju od 10 godina više od 80% dnevnog unosa vitamina B2 zadovoljeno je u periodu od 2010.-2014. te 2018., a nije zadovoljeno 2019. godine za obje dobne skupine. Prosječan unos vitamina B2 u periodu od 2015.-2017. bio je dovoljan za djecu mlađe, a nedovoljan za djecu starije dobne skupine (Slika 10.). Istraživanje u Americi 2019. pokazalo je kako djeca starosti 2-5 godina dobivaju dovoljnu količinu vitamina B2 u obrocima dok je istraživanje u Kini iz 2017. pokazalo kako 66% djece starosti 4-6 godina nije dobilo dovoljnu količinu riboflavina kroz servirane obroke u danu

(28,30). Studije iz Poljske 2018. godine i Brazila 2013. godine također su pokazale kako djeca dobivaju dovoljnu količinu vitamina B2 u obrocima (27,29).

Vitamin B6 sudjeluje u više enzimskih reakcija u metabolizmu aminokiselina, esencijalnih masnih kiselina, masti, ugljikohidrata te u biosintezi hema. Nedostatak vitamina B6 utječe na oštećenje stanične i humoralne imunosti (11). U promatranom razdoblju od 10 godina vitamin B6 jedini je bio unutar preporuka čitavo vrijeme praćenja sadržaja u obrocima, za obje dobne skupine. U usporednim studijama nije zabilježen nedovoljan unos vitamina B6 (Slika 12.). Studije iz Poljske, Amerike i Brazila pokazale su kako su prosječne vrijednosti vitamina B6 unutar preporuka PS svake države pa je zaključak da djeca dobivaju dovoljnu količinu tog vitamina u svojim obrocima (27,29,30). Istraživanje u Hrvatskoj 2018. godine pokazalo je da udio zadovoljenja preporuke vitamina B6 u gradskom dječjem vrtiću iznosi 275,3% za mlađu odnosno 220,2% za stariju dobnu skupinu. U privatnom dječjem vrtiću udio zadovoljenja preporuke iznosi 181,9% za mlađu, odnosno 145,5% za stariju dobnu skupinu (31). Rezultati su vrlo slični vrijednostima dobivenim u ovom istraživanju.

Vitamin C organski je antioksidans koji štiti stanice domaćina od oksidativnog stresa uklanjajući slobodne radikale iz tijela i stimulira sintezu kolagena (19). U promatranom razdoblju od 10 godina vitamin C bio je niži od 80% preporučenog dnevnog unosa u periodu od 2010.-2012. godine. Godine 2013. dogodio se nagli skok u prosječnoj vrijednosti vitamina C u cjelodnevnim obrocima, međutim već iduće dvije godine prosječne vrijednosti zadovoljile su preporuke mlađe dobne skupine, a nisu bile unutar preporuka za stariju dobnu skupinu. U periodu od 2016.-2019. postotak zadovoljenja preporuka bio je viši od tražene vrijednosti pa je jasan trend porasta sadržaja vitamina C u obrocima 10 promatranih godina (Slika 14.). U promatranim studijama nedostatak vitamina C zabilježen je u Kini

2017. godine gdje je ukupno 53,9% djece u dobi od 4-6 godina unosilo nedovoljnu količinu vitamina kroz konzumaciju obroka (28). U studiji Bonić i suradnika u periodu od 2011-2014. godine zabilježen je unos vitamina C veći od preporuka što je suprotno rezultatima ovog istraživanja (32). Istraživanje provedeno u Hrvatskoj u privatnim i gradskim vrtićima također je pokazalo kako su postotci zadovoljenja preporuka veći od očekivanih (31).

Promatramo li zadnju godinu istraživanja, 2019. (Tablice 13. i 14.) gdje su postotci zadovoljenja svih promatranih vitamina osim B2 unutar preporuka za obje dobne skupine, možemo zaključiti kako se unatoč oscilacijama u posljednjih 10 godina, sve više pažnje posvećuje dovoljnom unosu mikronutrijenata u cjelodnevnim obrocima u dječjim vrtićima. Mlijeko, mliječni proizvodi, meso, riba, jaja, cjelovite žitarice, tamnozeleno lisnato povrće i grah izvori su vitamina B2 stoga bi se fokus u jelovnicima dječjih vrtića trebalo stavljati na ovakve namirnice kako bi djeca dobila dovoljnu količinu riboflavina koja je u skladu s preporukama PS.

Praćenje sadržaja vitamina u cjelodnevnim obrocima djece u dječjim vrtićima od iznimne je važnosti jer dobivamo povratnu informaciju o tome jesu li dnevne potrebe za vitaminima unutar preporuka ili nisu. Nedovoljan unos vitamina u promatranim godinama moguća je posljedica nedovoljne zastupljenosti pojedinih namirnica i skupina proizvoda u prehrani djece (mliječni proizvodi, povrće, cjelovite žitarice) ili je posljedica konzumacije obroka koji nisu energetske dovoljno veliki. Pri odabiru uvjeta i načina termičke obrade namirnica treba voditi računa da se hrana ne izlaže višim temperaturama i duljem vremenu pripreme, jer se na taj način čuvaju vitamini u hrani. Primjerice pretjerana termička obrada povrća i voća oslabi njegov sadržaj vitamina C za čak 25%. Ako je moguće, prilikom planiranja obroka-jelovnika prednost treba dati svježoj, termički neprerađenoj hrani kao što su voće, povrće i voćni sokovi. (3).

Ovo istraživanje pruža pregled sadržaja vitamina u cjelovitim obrocima u dječjim vrtićima grada Rijeke u proteklih 10 godina i može biti korisno za prehrambenu industriju i stručnjake koji se bave kontrolom kvalitete obroka u vrtićima i drugim ustanovama za odgoj djece. Međutim, osim jednog istraživanja provedenog 2019. godine nemamo podataka o tome koliko godišnje doba ima utjecaja na kvalitetu sadržaja obroka a znamo da svako godišnje doba ima različito voće i povrće bogato vitaminima (5). Također nemamo informacija o tome što i kako djeca konzumiraju izvan dječjeg vrtića te uzimaju li dodatnu suplementaciju vitamina. Kada je riječ o prehrani djece najranije dobi roditelji, ali i odgajatelji prepušteni su različitim neprovjerenim izvorima i informacijama na Internetu o kvaliteti i nutritivnoj vrijednosti namirnica. Praćenjem cjelovitosti obroka, pisanim dokazima i materijalima utemeljenim na istraživanjima te u konačnici edukacijom osoblja koje radi s djecom smanjit ćemo broj zdravstvenih i drugih poteškoća djece. Uz pravovremenu reakciju moguće je mijenjati jelovnike i više pažnje posvetiti odabiru namirnica kako bismo djeci omogućili nesmetani rast i razvoj uz dovoljnu količinu nutrijenata u tijelu.

6. Zaključci

1. Prosječni dnevni unosi vitamina u periodu promatranja nisu svake godine zadovoljili 80% preporuke prehrambenog standarda za djecu starosti 1-3 godine i starije, 4-6 godina.
2. Vitamin B6 jedini je od promatranih vitamina u istraživanju kontinuirano iznad preporuka PS.
3. U posljednjoj godini promatranja (2019.), prosječne vrijednosti promatranih vitamina, izuzev vitamina B2, zadovoljavaju 80% preporučenog dnevnog unosa za obje dobne skupine.
4. Prilikom odabira uvjeta i načina obrade namirnica prednost treba dati termičkoj obradi namirnica koja se provodi na temperaturama manjim od 100°C u što kraćem vremenu kako ne bi došlo do nutritivnog oslabljivanja namirnica.
5. Djeci treba osigurati raznolike namirnice iz svih skupina kako bi imala sve nutrijente za pravilan rast i razvoj. Prilikom planiranja jelovnika i obroka naglasak bi trebao biti na svježem, sezonskom voću i povrću koje ne zahtijeva daljnju termičku obradu i prirodno je bogato vitaminima i mineralima.
6. Daljnje praćenje sadržaja vitamina u cjelodnevnim obrocima dječjih vrtića je nužno kako bi pravovremeno utjecali na eventualne nedostatke i neadekvatne unose ovih esencijalnih mikronutrijenata kod djece. Na taj način sprječavamo da njihov nedovoljan unos rezultira tjelesnom neravnotežom, zaostatkom u razvoju i ostalim zdravstvenim poremećajima odnosno prekomjeren unos toksičnim učincima.
7. Ključna je edukacija roditelja i stručnjaka koji rade s djecom o zdravoj i pravilnoj prehrani te benefitima zdravih navika stečenih u djetinjstvu.

7. Literatura

1. Dobročinac M, Devčić B, Lovrić B. Prehrambene Navike, Nutritivni Status I Zdravi Stilovi Života Kod Adolescenata Na Području Vinkovaca. Hrana u Zdravlju i Bolesti: Znanstveno-stručni časopis za Nutricionizam i dijetetiku. 2019; Specijalno izdanje (11. Štamparovi dani):14.
2. Ćurin K, Mrša R. Procjena kakvoće obroka u predškolskim ustanovama grada Šibenika. Medica Jadertina. 2012;42 (1-2):33–42.
3. Vučemilović Lj.Vujić Šisler Lj. Prehrambeni standard za planiranje prehrane djece u dječjem vrtiću - jelovnici i normativi: Preporuke i smjernice za stručnjake koji rade na planiranju i pripremanju prehrane djece u dječjem vrtiću. Zagreb 2007;1–51.
4. Kukić E, Karakaš S, Paklarčić M. Razlike u prehrambenim navikama kod učenika uzrasta 15-18 godina u odnosu na spol na prostoru općine Travnik. Hrana u zdravlju i bolesti. 2016; 5(1):6–14. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/169137>
5. Šivak M. Procjena stupnja uhranjenosti djece te energetske i nutritivne kakvoće obroka u dječjem vrtiću [Diplomski rad]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet; 2019 Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:645225>
6. Pavičić Žeželj S, Kendel G, Međugorac B. Zdravstvena kontrola prehrane u dječjim vrtićima grada Rijeke. Hrvatski časopis za javno zdravstvo. 2007;3(2):7–10.
7. Program zdravstvene zaštite djece, higijene i pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima [Internet]. [pristupljeno 12.05.2020].Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/full/2002_09_105_1735.html
8. Izmjene i dopune Programa zdravstvene zaštite djece, higijene i

- pravilne prehrane djece u dječjim vrtićima [Internet]. [pristupljeno 12.05.2020]. Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2007_11_121_3527.html
9. Brown JE. Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Vitamins Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies [Internet]. Fluoride. 2011. 267-295. Available from: www.nap.edu.%0Awww.cengage.com/wadsworth
 10. Bender Vranešić D, Krstev S. Makronutrijenti i mikronutrijenti u prehrani čovjeka. Medicus. 2008;17(1):19–25.
 11. Sharlin J, Edelstein S. Essentials of Life Cycle Nutrition [Internet]. Jones and Bartlett Publishers. 2010. 98-123 :Dostupno na: <https://books.google.co.id/books?id=La-OVIpbxSgC>
 12. Bender DA. Nutritional Biochemistry of the Vitamins. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2003:1-269
 13. MSD priručnik dijagnostike i terapije: Vitamin A [Internet]. [pristupljeno 22.05.2020]. Dostupno na: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/poremecaji-prehrane/manjak-vitamina-ovisnost-o-njima-i-toksicnost/vitamin-a>
 14. Imdad A, Mayo-Wilson E, Herzer K, Bhutta ZA. Vitamin A supplementation for preventing morbidity and mortality in children from six months to five years of age. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2017;2017(3).
 15. Osmanović S. Važnost vitamina u prehrani djece mlađe školske dobi [Diplomski rad]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet za odgojne i obrazovne znanosti; 2017. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:141:388952>
 16. Kennedy DO. B vitamins and the brain: Mechanisms, dose and efficacy—A review. Nutrients. 2016;8(2).

17. Krstić N. Vitamini-nastavni proces [Diplomski rad]. Niš: Sveučilište u Nišu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Odjel za kemiju; 2015. Dostupno na: https://www.pmf.ni.ac.rs/download/master/master_radovi_hemija/hemija_master_radovi/2015/2015-12-30-KN.pdf
18. Internetska nutricionistička enciklopedija:Definicija hrane,Vitamini [Internet]. [pristupljeno 31.05.2020]. Dostupno na: <https://definicijahrane.hr/definicija/hranjive-tvari/vitamini/>
19. Vorilhon P, Arpajou B, Vaillant Roussel H, Merlin É, Pereira B, Cabaillet A. Efficacy of vitamin C for the prevention and treatment of upper respiratory tract infection. A meta-analysis in children [Internet]. Vol. 75, European Journal of Clinical Pharmacology. Springer Verlag; 2019 [pristupljeno 31.05.2020]. 303–311. Dostupno na: <http://link.springer.com/10.1007/s00228-018-2601-7>
20. Zhang Y, Zhou WE, Yan JQ, Liu M, Zhou Y, Shen X, et al. A review of the extraction and determination methods of thirteen essential vitamins to the human body: An update from 2010. Molecules. 2018;23(6):1–25.
21. Martinko A. Analitičke metode za određivanje vitamina [Završni rad]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2019. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:164136>
22. Luque-García, J. L., & Luque de Castro, M. D. . Extraction of fat-soluble vitamins. Journal of chromatography. A. 2001. 935(1-2). 3–11.
23. Drmić H, Jambrak AR. Ultrazvučna ekstrakcija bioaktivnih spojeva. Croatian Journal of Food Science and Technology. 2010;2(2):22–33.
24. Siouffi AM. High performance liquid chromatography. Handbook of Food Science, Technology, and Engineering - 4 Volume Set. 2005;859–900.

25. IX.1.3.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) [Internet]. [pristupljeno 22.06.2020]. Dostupno na: http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana_Luterotti/09/091/09131.htm
26. Robson SM, Khoury JC, Kalkwarf HJ, Copeland K. Dietary Intake of Children Attending Full-Time Child Care: What Are They Eating Away from the Child-Care Center?. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2015;115(9):1472–1478. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.jand.2015.02.029>
27. Myszkowska-Ryciak J, Harton A. Implementation of dietary reference intake standards in preschool menus in Poland. *Nutrients*. 2018;10(5).
28. Wang H, Wang D, Ouyang Y, Huang F, Ding G, Zhang B. Do Chinese children get enough micronutrients? *Nutrients*. 2017;9(4):1–10.
29. Bueno MB, Fisberg RM, Maximino P, Rodrigues G de P, Fisberg M. Nutritional risk among Brazilian children 2 to 6 years old: A multicenter study. *Nutrition*. 2013;29(2):405–410.
30. Cuadrado-Soto E, Risica PM, Gans KM, Mena NZ, Ellis C, Araujo CD, et al. Micronutrient adequacy in preschool children attending family child care homes. *Nutrients*. 2019;11(9):1–14.
31. Remenar S. Energetska i nutritivna vrijednost obroka u gradskom i privatnom dječjem vrtiću [Završni rad]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet; 2018. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:781187>
32. Bonić D, Stanković A, Krstić I, Davidović D, Radojković I, Veličković A, et al. The analysis of the collective diet of preschool children in Niš, Serbia and potential health risks. *Progress in Nutrition*. 2018;20(3):387–394.