

# Određivanje biološki važnih metala u jabučnom octu i njihova fiziološka uloga

---

Ćelap, Lea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:192034>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Lea Čelap**

**Određivanje biološki važnih metala u jabučnom  
octu i njihova fiziološka uloga**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022. godina.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Klinička biokemija s hematologijom Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i eksperimentalni dio izrađen je u „Sample Control d.o.o.“ pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Donatelle Verbanac te suvoditeljstvom Anamarije Ilijaš, mag. ing. biotechn.

*Želim se zahvaliti svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Donatelli Verbanac na pomoći i stručnom vodstvu prilikom izrade ovog diplomskog rada, kao i na strpljenju prilikom svih mojih upita. Hvala i Lei Jocić, mag. ing. oecoiing. Na pomoći oko obrade rezultata i konačnom čitanju. Zahvaljujem se i dragim prijateljima i obitelji na potpori i pomoći koju su mi pružali. Posebne zahvale mojim roditeljima i bratu, koji su vjerovali u mene, bili tu za mene od početka do kraja neovisno o svim preprekama i bez kojih ne bih postigla sve što već jesam i ono što tek hoću. Hvala vam.*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1. JABUČNI OCAT.....	1
1.2. BIOLOŠKI VAŽNI METALI U JABUČNOM OCTU.....	2
1.2.1. Krom.....	2
1.2.1.1. Homeostaza kroma.....	3
1.2.1.2. Utjecaj kroma na kožu.....	3
1.2.2. Mangan.....	5
1.2.2.1. Homeostaza mangana.....	6
1.2.3. Željezo.....	7
1.2.3.1. Homeostaza željeza.....	8
1.2.3.2. Oksidativni stres.....	9
1.2.4. Bakar.....	10
1.2.4.1. Homeostaza bakra.....	10
1.2.4.2. Uloga bakra u enzimima.....	12
1.2.5. Cink.....	13
1.2.5.1. Homeostaza cinka.....	14
1.2.5.2. Cink i imunosni sustav.....	15
1.2.5.3. Antioksidativni učinak cinka.....	16
1.2.6. Kalcij.....	17
1.2.6.1. Homeostaza kalcija.....	18
1.2.6.2. Nedostatak kalcija.....	18
1.2.7. Magnezij.....	19
1.2.7.1. Homeostaza magnezija.....	20
1.2.7.2. Uloga magnezija u prevenciji nastanka bolesti.....	20
<b>2. OBRAZLOŽENJE TEME.....</b>	<b>23</b>
<b>3. MATERIJALI I METODE.....</b>	<b>24</b>
3.1. UZORCI ZA ANALIZU.....	24
3.2. KORIŠTENI INSTRUMENTI I OPREMA.....	24
3.3. KORIŠTENE KEMIKALIJE I REAGENSI.....	24
3.4. PRINCIP METODE.....	25
3.5. PRIPREMA UZORKA.....	25
3.6. MJERENJE.....	26
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>27</b>
4.1. REZULTATI.....	27
4.1.1. Sadržaj kroma u jabučnom octu.....	29
4.1.2. Sadržaj mangana u jabučnom octu.....	30
4.1.3. Sadržaj željeza u jabučnom octu.....	31
4.1.4. Sadržaj bakra u jabučnom octu.....	32
4.1.5. Sadržaj cinka u jabučnom octu.....	33
4.1.6. Sadržaj kalcija u jabučnom octu.....	34
4.1.7. Sadržaj magnezija u jabučnom octu.....	35
4.2. RASPRAVA.....	35
4.2.1. Med.....	37
4.2.2. Inulin.....	37
<b>5. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>38</b>
<b>6. POPIS KRATICA.....</b>	<b>40</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>42</b>
<b>8. SAŽETAK/SUMMARY.....</b>	<b>48</b>
<b>9. PRILOZI.....</b>	<b>50</b>
<b>10. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD</b>	

# 1. UVOD

Stil života s vremenom se značajno mijenja, užurbanost, svakodnevni stres i često puta korištena nepravilna prehrana dovele su do traženja alternativnih metoda očuvanja zdravlja te poboljšanja općeg stanja organizma. Iz tog razloga danas postoji i trend koji se okreće prema tradicionalnim metodama održavanja zdravlja, upotrebom namirnica koje su se kroz stoljeća koristile, a jedna od njih je i jabučni ocat.

## 1.1. JABUČNI OCAT

Tisućama godina se ocat koristi kao začim, za liječenje rana i zbog svojih blagotvornih učinaka na zdravlje prilikom redovite konzumacije. U Hipokratovim zapisima se spominje korištenje jabučnog octa s medom u borbi protiv infekcija i zaštita otvorenih rana na koži (Yagnik i sur., 2018). Pozitivni učinci upotrebe jabučnog octa proizlaze iz sadržaja biološki aktivnih tvari, poput polifenola, organskih kiselina, mikronutrijenta i drugih spojeva koji posjeduju farmakološki učinak (Ho i sur., 2017). Posebno se danas istražuje povoljan utjecaj konzumacije fermentiranog proizvoda, jabučnog octa s prisutnom probiotičkom kulturom u održavanju zdravlja i homeostaze crijevnih bakterija (mikrobiote). Octi su tekući produkti proizvedeni alkoholnom pa octenom fermentacijom iz ugljikohidratnih izvora. Jabučni ocat se proizvodi iz pulpe i kore jabuke kao početnog materijala te se kroz prvu fermentaciju jednostavni šećeri uz kvasac pretvaraju u alkohol. Nastali alkohol se zatim daljnjom oksidacijom pretvara u octenu kiselinu uz sudjelovanje bakterija octenog vrenja (Gullo i Giudici, 2008). Takozvane octene bakterije (eng. *Acetic acid bacteria* – kratica *AAB*) su grupa bakterija iz obitelji *Acetobacteriaceae*. *AAB* su obvezni aerobi koji su pozitivni na katalazu i negativni na oksidazu (Sengun i Karabiyikli, 2011).

Ocat ima antimikrobni, antioksidativni, antidijabetski i antihipertenzivni utjecaj te pozitivno djeluje u prevenciji kardiovaskularnih bolesti. Ti pozitivni utjecaji su prisutni zahvaljujući biofenolima i polifenolima, mikro nutrijentima i drugim bioaktivnim komponentama koje doprinose ciljanom farmakološkom djelovanju. U octu su prirodno prisutne brojne organske kiseline uključujući octenu, mliječnu, limunsku, propionsku, itd. Organske kiseline u octu prolaze kroz membranu stanica patogenih mikroorganizama te dovode do smrti bakterijske stanice. Bioaktivne komponente poput polifenola i vitamina u različitim octima štite od posljedica oksidativnog stresa zahvaljujući njihovom antioksidativnom efektu (Budak i sur., 2014).

Hiperglikemija i hiperlipidemija su stanja u kojima je izražen oksidativni stres. Posljedice oksidativnog stresa i kaskada neželjenih događaja dovode do komplikacije kod dijabetesa u obliku inzulinske rezistencije. Među glavnim komponentama jabučnog octa ubrajamo polifenol i octenu kiselinu. U nekoliko epidemioloških studija je pokazano da hrana bogata polifenolima uzrokuje bolje lipidne profile i glikemijske indekse te čak smanjuje incidenciju dijabetesa (Gheflati i sur., 2019). Često se spominju pozitivni učinci jabučnog octa na hiperglikemiju i hiperlipidemiju koji su posljedično rizični faktori za nastajanje kardiovaskularnih bolesti te je kliničkim studijama dokazano da unos jabučnog octa značajno smanjuje koncentracije ukupnog serumskog kolesterola, koncentraciju HbA1C te vrijednosti glukoze u plazmi natašte (Hadi i sur., 2021). Rađene su i studije koje su pokazale da jedna doza jabučnog octa prije obroka bogatog škrobom smanjuje razine postprandijalne glukoze i inzulinskog odgovora (Petsiou i sur., 2014).

## **1.2. BIOLOŠKI VAŽNI METALI U JABUČNOM OCTU**

Osim navedenih spojeva u octu nalazimo i biološki važne minerale, odnosno metale. Biogeni metali su uključeni u izgradnju molekula i tkiva svih živih bića na Zemlji. Organizmi trebaju te bioelemente u određenim količinama i omjerima kako bi preživjeli i rasli. (Peñuelas i sur., 2019)

Od njih su prikazani krom, mangan, željezo, bakar, cink, kalcij i magnezij.

### **1.2.1. Krom**

Krom je metal koji je sveprisutan i nalazi se u vodi, tlu i biološkim sustavima. Dvije forme kroma se uglavnom nalaze u biološkom okruženju, trovalentni  $\text{Cr}^{3+}$  koji je uglavnom u obliku kromata i dikromata te  $\text{Cr}^{6+}$ , čiji su kompleksi poznati toksini, mutageni i karcinogeni pogotovo prilikom inhaliranja i potencijalno kada su uneseni oralno u velikim količinama (Vincent i Lukaski, 2018). U 1950-tim krom je predložen kao esencijalni element u tragovima za sisavce s ulogom održavanja metabolizma ugljikohidrata i lipida. Dokazi za to su potekli iz studija prehrane rađenima na glodavcima i studija apsorpcije i transporta kroma. Međutim, od tada je osporavana esencijalnost kroma kao elementa te je 2014. Europska agencija za sigurnost hrane objavila da nisu nađeni dokazi da je krom esencijalni element te je utvrđeno da nema dokaza o korisnosti kroma prilikom unosa kod zdravih pojedinaca. Nadalje, komisija smatra da se prosječna potreba za obavljanje fizioloških funkcija ne može definirati (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2014a).

Krom je i multi sistemski toksični metal, fiziološki efekti izloženosti kromu uključuju više sistema. Na koži su moguće alergijske reakcije, osip, iritacija, suhoća, oticanje, ulceracije u respiratornom traktu i perforacija septuma, krvarenje iz nosa, rak pluća, u gastrointestinalnom traktu čir, kardiovaskularne poteškoće, povećani enzimi jetre, genotoksičnost, promjene u krvnim parametrima i mnogi drugi. Ovi učinci su posljedica  $\text{Cr}^{6+}$  reaktivnosti s biološkim molekulama kao i njegovim nadražujućim i korozivnim svojstvima. Sama jačina ovih učinaka je povezana s opsegom izloženosti. Toksični efekti povezani s  $\text{Cr}^{6+}$  dolaze od fizioloških procesa koji uključuju višestruke putove i interakcije s velikim brojem bioloških molekula, uključujući proteine, nukleinske kiseline i DNA (Pavesi i Moreira, 2020).

#### **1.2.1.1. Homeostaza kroma**

Krom se apsorbira pasivnom difuzijom kada je primijenjen oralno. Krom se pretežno apsorbira u tankom crijevu i transportira u cirkulaciju vezan na albumin i transferin. Nakon dolaska u krvotok,  $\text{Cr}^{3+}$  se gotovo isključivo veže na transportni protein željeza transferin, samo oko 5% se nalazi u nevezanom obliku. Apsorpcija  $\text{Cr}^{3+}$  iz hrane je procijenjena na oko 0,4 do 2,4% (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2014a), ali ovisi o mnogim faktorima kao što su kemijska svojstva unesenog izvora i prisutnost drugih prehrambenih sastojaka. Primijećeno je da vitamin C poboljšava apsorpciju kroma kod žena kada je primijenjen kao kromov klorid (Offenbacher, 1994). Nadalje, uočeno je prije više desetljeća na eksperimentalnim životinjama štakorima, kako je ftalat smanjio apsorpciju, a oksalat poboljšao apsorpciju kroma (Chen i sur., 1973). Krom je nađen u srcu, mozgu, bubrezima, gušterači, a intravenozno primijenjeni krom se akumulira u jetri i slezeni. Glavni put ekskrecije je kroz urin, a male količine se izluče i kroz znoj i žuč. Krom izlučen kroz feces sastoji se od neapsorbiranog kroma (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2014a).

#### **1.2.1.2. Utjecaj kroma na kožu**

Popratno redukciji  $\text{Cr}^{6+}$ , nastaju reaktivne kisikove vrste (ROS), kao što su hidroksilni radikali, hidrogen peroksid, superoksidni anionski radikali te  $\text{Cr(V)}$  i  $\text{Cr(IV)}$  intermedijeri, iz Fenton i Haber-Weissove reakcija. Oni su potencijalni izvori staničnog oštećenja. Enzimski procesi uključuju nekoliko enzimskih sustava od kojih su neki citokrom P450, glutacion peroksidaza (GPX), glutacion reduktaza (GSH-Rd), nikotinamid adenin dinukleotid fosfat reduktaza (NADPH) i citokrom c reduktaza. NADPH oksidaza porodica je enzima koja ima ključnu ulogu u  $\text{Cr(VI)}$  induciranoj produkciji ROS-a i  $\text{Cr(VI)}$  izazvanom oksidativnom stresu

i karcinogenezi. NADPH oksidaza je važan generator superoksida prilikom proučavanja patogeneze plućnih bolesti, neovisno o prisutnosti kroma, te su njegove izoforme izražene u nekoliko stanica deriviranih iz ljudskih karcinoma (Pavesi i Moreira, 2020). Penetracija kroma kroz *stratum corneum* (SC) potiče aktivaciju kožnog imunskog sistema. Bioraspoloživost kromovih soli je neophodna za preosjetljivost i izazivanje alergijskog kontaktnog dermatitisa. Presudni faktori za prodiranje kromovih soli uključuju oksidacijsko stanje kroma. Cr(VI) lakše prolazi kožnu barijeru od Cr(III), povećana koncentracija Cr(VI) rezultira u povećanoj koncentraciji u koži, veće vrijeme izloženosti rezultira višim koncentracijama kroma koje se apsorbiraju kožom. Iako kromovi(VI) ioni lakše prolaze kroz epidermis, stanje kožne barijere ima kritičnu ulogu, jer će na oštećenoj koži apsorpcija biti veća (Bregnbak i sur., 2015).

Iako je Cr(VI) taj koji jače prolazi kroz kožu, jednom kada penetrira kožu, on se reducira u Cr(III) i trovalentni krom je taj koji se veže za imunosne stanice kože i to je oblik koji je odgovoran za dermalnu toksičnost. Osobe senzibilizirane na krom obično pate od perzistentnog dermatitisa. Dok kronična izloženost niskim koncentracijama kroma rezultira alergijskim kontaktnim dermatitisom, izloženost višim koncentracijama Cr(VI) ili nižim koncentracijama, ali pri pogodnim uvjetima kao što su oštećena koža, velika vlažnost i temperature, mogu rezultirati „kromovim čirevima“. Ovakvi čirevi se češće javljaju kod radnika izloženih cementu na ekstremitetima (Shelnutt i sur., 2007). Walsh (1953) je opisao kromove čireve kao „izbočene lezije, 2 do 5 mm u promjeru, s podignutom učvršćenom granicom nekoliko milimetara širokom (...) Upala je minimalna i lezije su relativno bezbolne, osim kada su blizu zgloba. Uglavnom zarastaju, ostavljajući atrofični ožiljak, iako su bili viđeni i hipertrofični ožiljci.“

Gornja granica unosa (eng. *upper limit*, UL) nije definirana za krom jer nije uočena toksična razina iz izvora hrane ili dugotrajnog uzimanja visokih doza dodataka prehrani (Boston i Ma, 2021).

U tablici u nastavku su prikazane referentne prehrambene vrijednosti (prehrambeni referentni unos (DRI – *Dietary Reference Intakes*)) za krom (Tablica 1.).



**Tablica 1.** Referentne prehrambene vrijednosti za krom ( $\mu\text{g}/\text{dne}$ ) (Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients, 2001)

<b>DOB</b>	<b>SPOL</b>	<b>Optimalan unos AI (<i>Adequate Intake</i>)</b>
<b>0-6 mjeseci</b>	M/Ž	0,2
<b>7-12 mjeseci</b>	M/Ž	5,5
<b>1-3 godine</b>	M/Ž	11
<b>4-8 godina</b>	M/Ž	15
<b>9-13 godina</b>	M	25
<b>9-13 godina</b>	Ž	21
<b>14-18 godina</b>	M	21
<b>14-18 godina</b>	Ž	24
<b>19-50 godina</b>	M	35
<b>19-50 godina</b>	Ž	25
<b>&gt;51 godina</b>	M	30
<b>&gt;51 godina</b>	Ž	20
<b>14-18 godina trudnice</b>	Ž	29
<b>19-50 godina trudnice</b>	Ž	30
<b>14-18 godina dojilje</b>	Ž	44
<b>19-50 godina dojilje</b>	Ž	45

### 1.2.2. Mangan

Mangan je 12-ti po redu, najzastupljeniji element na Zemlji te se u živim organizmima najčešće nalazi u oksidacijskom stanju  $\text{Mn}^{2+}$  i  $\text{Mn}^{3+}$ . Unos kroz hranu i piće je primarni način unosa mangana za većinu ljudi (Chen i sur., 2018). Mangan je esencijalni prehrambeni element koji primarno služi kao koenzim u nekoliko bioloških procesa. Neki od tih procesa su stvaranje kosti, metabolizam makronutrijenata, imunosni sustav te sinteza neurotransmitera u mozgu. Nalazi se u svim tkivima te je važna komponenta mnogih proteina i enzima, ali veće koncentracije se nalaze u jetri, gušterači, kostima, bubrezima i mozgu. Međutim, prekomjerna izloženost manganu putem kontaminirane vode za piće ili putem industrijskog otpada može dovesti do nakupljanja mangana te njegove toksičnosti koja rezultira neurološkim

oštećenjima. Prvi simptomi su iritabilnost, promjene u raspoloženju, smanjena brzina odgovora te kompulzivno ponašanje (Erikson i Aschner, 2019).

### 1.2.2.1. Homeostaza mangana

Mangan se apsorbira ingestijom, inhalacijom i dermalnom penetracijom. Apsorpcija u gastrointestinalnom traktu je brza te se zatim širi po ostalim tkivima kroz krvotok. U stanice ulazi pasivnom difuzijom ili aktivnim transportom (Leblondel i Allain, 1999). Divalentni metalni transporter (eng. *divalent metal transporter 1* - DMT1) je odgovoran za većinu priljeva mangana. Transporteri mangana nisu nužno specifični za mangan, već reguliraju priljev i drugih metala kao što su željezo, bakar, cink, itd. Pojedinci s deficijencijom željeza su pod većim rizikom od trovanja manganom, pošto se apsorpcija mangana može povećati prilikom niskih koncentracija željeza. Životna dob je također jedan od faktora apsorpcije mangana. Dojenčad i djeca su skloni apsorpciji viših koncentracija mangana zahvaljujući većoj potrebi tijela za tim elementom nego u odraslih (Chen i sur., 2018). Intravenozna primjena pripravaka s visokim koncentracijama mangana izbjegava prolaz kroz gastrointestinalni trakt i rezultira 100%-tnom apsorpcijom metala. Često se nedonoščadi zbog nerazvijenog gastrointestinalnog trakta ili određenih bolesti daje potpuna parenteralna prehrana koja ima mnoge elemente u tragovima koji su potrebni za život. Normalne koncentracije u krvi iznose od 4 do 15  $\mu\text{g/L}$  i žene imaju oko 30% veće koncentracije mangana od muškaraca. Trenutno je mehanizam apsorpcije mangana u crijevima i isporuka u plazmu još nerazjašnjena. Eritrociti su odgovorni za distribuciju mangana zahvaljujući njihovoj sposobnosti da prenose mangan uz prisutnost raznih transportera, uključujući DMT1 i transferin receptor na površini stanice. Oblik  $\text{Mn}^{2+}$  je dominantan u krvi i kompleksiran je s raznim molekulama, uključujući albumin (84%), heksahidrirani ion (6%), bikarbonat (6%) i citrat (2%). Skoro sav  $\text{Mn}^{3+}$  je vezan za transferin kako bi nastao stabilniji kompleks. Dnevno se u prosjeku apsorbira 2,3 do 8,8 mg mangana, međutim samo 2,3 mg/dnevno je potrebno za muškarce te 1,8 mg/dnevno za žene, ostatak se eliminira i to većinom konjugiran sa žuči i eliminiran fecesom. Iz tog razloga su osobe kod kojih jetra ne radi dobro, pri većem riziku od intoksikacije manganom (Chen i sur., 2018).

Nedostatak mangana se rijetko javlja zbog njegove prisutnosti u širokom rasponu hrane te se normalnom prehranom mogu održavati koncentracije u organizmu (Chen i sur., 2015). Najviše kliničkih slučajeva vezanih uz intoksikaciju manganom su posljedica profesionalne izloženosti. Udisanje mangana glavni je put izloženosti kod profesionalnog trovanja. Industrijski radnici i zavarivači udišu značajne količine dima i prašine koji sadrže mangan

(Huang i sur., 1989). Inhalirani mangan je apsorbiran u plućima te ulazi u cirkulaciju odakle može biti transportiran u olfaktorni bulbus i ući u mozak uz dva transportera cinka, ZIP8 i ZIP14 (Chen i sur., 2015). Toksičnost mangana je moguća prilikom unosa kontaminirane vode, kod ovisnika o drogama koji konzumiraju metkatinon kontaminiran manganom te kod duge primjene parenteralne prehrane. Neurološki simptomi manganizma uključuju razdražljivost, promjene raspoloženja, a klinički simptomi su ukočenost udova, poremećaji hoda, pretjerano slinjenje, itd. (Winslow i sur., 2020)

U tablici u nastavku prikazane su referentne prehrabene vrijednosti za mangan (Tablica 2.).

**Tablica 2.** Referentne prehrabene vrijednosti za mangan (mg/dne) (Scientific Opinion on Dietary Reference Values for manganese | EFSA)

<b>DOB</b>	<b>SPOL</b>	<b>Optimalan unos AI (<i>Adequate Intake</i>)</b>
<b>7-11 mjeseci</b>	M/Ž	0,02-0,5
<b>1-3 godine</b>	M/Ž	0,5
<b>4-6 godina</b>	M/Ž	1,0
<b>7-10 godina</b>	M/Ž	1,5
<b>11-14 godina</b>	M/Ž	2,0
<b>15-17 godina</b>	M/Ž	3,0
<b>≥18 godina</b>	M/Ž	3,0

### 1.2.3. Željezo

Željezo je prijelazni element i esencijalni konstituent skoro svih živućih organizama i stanica. Kao komponenta mnogih metaloproteina uključen je u ključne biokemijske procese kao što su transport kisika u tkivima, oksigenacija mišića mioglobinom, generiranje ATP-a, sinteza i popravak DNA, metabolizam ksenobiotika itd. Također sudjeluje u nekoliko enzimskih reakcija u citosolu i drugim staničnim komponentama. Međutim, previsoke koncentracije željeza kataliziraju nastajanje reaktivnih radikala kisika (ROS) koje vode do oksidativnog stresa te dovode do prekida oksido-redukcijske homeostaze (Galaris i sur., 2019). Pojačano nastajanje ROS-a je izraženo kod akutnih upala i rezultira oštećenjem membrane stanice domaćina, što je posebno prisutno kod katalizatora prijelaznih metala kao što su željezo i bakar. Koža je naročito osjetljiva na višak željeza pošto je bogata višestruko nezasićenim masnim kiselinama te je izložena ultraljubičastom zračenju, koje pospješuje nastajanje ROS-a

(Trenam i sur., 1992). Sposobnost željeza da kruži između svog oksidiranog ( $\text{Fe}^{3+}$ ) i reduciranog ( $\text{Fe}^{2+}$ ) stanja doprinosi nastajanju slobodnih radikala koji oštećuju biomolekule, uključujući proteine, lipide i DNA. Reguliranu, neapoptoznu smrt stanice feroapoptozu vodi lipidna peroksidacija ovisna o  $\text{Fe}^{2+}$  koja može biti spriječena kelacijom željeza ili genetskom inhibicijom staničnog unosa željeza. Stoga, homeostaza željeza mora biti čvrsto regulirana kako bi se izbjegla toksičnost željeza (Venkataramani, 2021).

### **1.2.3.1. Homeostaza željeza**

Apsorpcija željeza se primarno odvija u duodenumu i proksimalnom dijelu tankog crijeva. Apsorpcija uključuje unos željeza iz lumena crijeva u enterocite, zatim transfer unutar enterocita te naknadnu translokaciju preko bazolateralne membrane do nosača u plazmi portalne cirkulacije. Tijelo nema specifičan mehanizam izlučivanja željeza te su stoga stroga kontrola unosa i prijenosa željeza u tijelo neophodni za sprječavanje preopterećenja željezom. Nakon digestije hrane, željezo koje se oslobađa uključuje nehemsko željezo, hemsko željezo i feritin. Solubilizacija nehemskog željeza se odvija u kiselom mediju želudca i proksimalnom duodenumu dok bazični medij jejunuma smanjuje topljivost nevezanog, slobodnog željeza. Unos željeza u enterocite započinje pretvorbom feri oblika ( $\text{Fe}^{2+}$ ) u fero oblik ( $\text{Fe}^{3+}$ ) uz duodenalnu citokrom b reduktazu koja je locirana na luminalnoj strani enterocita. To željezo se zatim transportira s protonima uz transmembranski DMT1 preko apikalne membrane u citoplazmu (Montalbetti i sur., 2013). Prijenos željeza preko bazolateralne membrane feroportinom zahtijeva da se oksidira u feri oblik, a to radi hefestin, feroksidaza ovisna o bakru vezana za bazolateralnu membranu. Feri ion se zatim prenosi apotransferinu za transport u jetru i sistemsku cirkulaciju. Regulacija crijevne apsorpcije željeza integrirana je s onom sistemske kinetike i distribucije željeza (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015c). Oslobođanje željeza iz makrofaga, enterocita i drugih stanica u plazmu je negativno kontrolirano hepcidinom, peptidnim hormonom porijeklom iz jetre. Hepcidin je proizveden od strane hepatocita te djeluje vezanjem za feroportin u ciljnim stanicama, promicanjem internalizacije, ubikvitinacije i razgradnje u lizosomima. Vezanje hepcidina blokira istjecanje željeza iz feroportina. Ovi odgovori ograničavaju ulazak željeza u plazmu i uzrokuju njegovo zadržavanje u tkivima. Ekspresija hepcidina uglavnom je inducirana željezom ili upalom, a potisnuta nedostatkom željeza ili visoke eritropoetske potrebe. Unos željeza stimulira hepcidin da sprječava hiperferemiju i daljnju apsorpciju dijetalnog željeza (Galaris i sur., 2019). Dostupnost željeza za apsorpciju ovisi o kemijskoj formi željeza u duodenumu i tankom crijevu i fiziološkoj potrebi koja određuje količinu

slobodnog željeza koje se unosi enterocite i transportira u krv. Stoga čimbenici prehrane koji olakšavaju ili ometaju unos željeza u crijeva postaju sve važniji kada se povećavaju sistavne potrebe. Kalcij tako smanjuje apsorpciju i hemske i nehemske željeza.

Tijelo nema mehanizam izlučivanja željeza i kontrola željeza u tijelu ovisi o učinkovitoj koordinaciji unosa u crijeva i prijenosa željeza, pri čemu se reciklira željezo iz crvenih krvnih stanica i drugih tkiva, skladišti i otpušta željezo iz jetre te kod žena, menstrualni gubici. Izlučivanje se događa kroz ispadanje kože, deskvamacije stanica, kroz genito-urinarni trakt, znoj i menstrualnu krv. Dostupnost željeza za apsorpciju u duodenumu i tankom crijevu također ovisi o drugim dijetalnim konstituentima, koji djeluju kao inhibitori (pojedini polifenoli, poput onih prisutnih u zelenom čaju) i pojačivači (askorbinska kiselina) (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015c).

#### **1.2.3.2. Oksidativni stres**

Pretjerana proizvodnja ROS-a, koja se događa prilikom akutnih upala, rezultira u oštećenju membrane stanice domaćina te prevladava u prisutnosti metalnih katalizatora kao što su željezo i bakar. Nekontrolirana proizvodnja ROS-a dovodi do oštećenja biomolekula uzrokujući bolesti kože. Fotodermatološke reakcije povezane s ROS-om uključuju kontaktnu fotosenzitizaciju, porfirije i fotosenzitivnost kod sistemskog eritemskog lupusa (SLE). Koža posjeduje niz obrambenih mehanizama protiv auto-oksidativnih oštećenja. Ukupan iznos željeza u ljudskom tijelu iznosi oko 4-5 g, a 1g se apsorbira i izlučuje dnevno iz tijela, ovisno o individualnim metaboličkim potrebama. Koža je značajno mjesto izlučivanja željeza, oko 0,24-0,6 mg željeza se gubi dnevno deskvamacijom epitelnih stanica kao i izlučivanjem znoja. Izlučivanje može biti pojačano kroz epidermis i dermis prilikom preopterećenja željezom tj. hemokromatoze i sekundarnog preopterećenja željezom kao što su transfuzijska hemosideroza (Trenam i sur., 1992). Hemokromatoza je nasljedna genetska bolest, karakterizirana povećanom apsorpcijom željeza. Najčešći oblik bolesti je kod nasljedne mutacije HFE gena koji regulira gastrointestinalnu apsorpciju željeza proteinom hepcidinom. Klinički simptomi uključuju cirozu, hiperpigmentaciju kože, endokrinu i egzokrinu insuficijenciju gušterače (Murphree i sur., 2020).

U tablici u nastavku su prikazane referentne prehrambene vrijednosti za željezo (Tablica 3.).

**Tablica 3.** Referentne prehrambene vrijednosti za željezo (mg/dne) (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015c)

<b>DOB</b>	<b>SPOL</b>	<b>Prosječno potreban unos AR (Average Requirement)</b>
<b>7-11 mjeseci</b>	M/Ž	8
<b>1-6 godina</b>	M/Ž	5
<b>7-11 godina</b>	M/Ž	8
<b>12-17 godina</b>	M	8
<b>12-17 godina</b>	Ž	7
<b>≥18 godina</b>	M	6
<b>≥18 godina (premenopauza)</b>	Ž	7
<b>≥18 godina (postmenopauza)</b>	Ž	6
<b>trudnice</b>	Ž	7
<b>dojlje</b>	Ž	7

#### **1.2.4. Bakar**

Bakar je kod ljudi treći najzastupljeniji esencijalni prijelazni metal. Kao kofaktor nekoliko enzima uključen je u brojne fiziološke puteve te je povezan s bitnim biološkim procesima kao što su angiogeneza, odgovor na hipoksiju i neuromodulacija (Scheiber i sur., 2013). Međutim, povećane koncentracije bakra dovode do progresije karcinoma, te s obzirom na njegovu ulogu u progresiji karcinoma, homeostaza bakra je česta meta u liječenju karcinoma (Li, 2020). Bakar se nalazi u hrani, vodi i okolišu, ali glavni izvor bakra iz hrane su žitarice. Akutno trovanje bakrom je rijetko, a kada se dogodi je uglavnom posljedica kontaminacije hrane ili vode bakrom. Kronična toksičnost bakra se manifestira kao Wilsonova bolest, indijska dječja ciroza, idiopatska toksičnost bakra te je rezultat kombinacije genetske osjetljivosti i visokog unosa bakra (Barceloux, 1999; EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015a).

##### **1.2.4.1. Homeostaza bakra**

Većina dijetalnog bakra se apsorbira u tankom crijevu uz pomoć visoko afinitetnog Cu transportera 1 lociranog na apikalnoj strani enterocita (CTR1) te je on uglavnom u obliku

$\text{Cu}^{2+}$  iz kojeg se reducira u  $\text{Cu}^+$  prije apsorpcije u enterocite. Za prijenos bakra u portalnu venu s bazolateralne površine enterocita je odgovorna ATP-aza A (ATP7A) te se zatim prenosi u jetru putem plazminih proteina, albumina i transkupreina. ATP7A je odgovorna za distribuciju bakra po tijelu i održavanje sigurnih koncentracija. ATP7B je transporter koji je odgovoran za regulaciju bilijarne sekrecije bakra (Scheiber i sur., 2013; Li, 2020). Apsorpcija bakra ovisi o više čimbenika od kojih su neki interakcije s drugim metalima kao što su cink i selen, kemijska forma bakra i druge dijetalne komponente. Blokiranje apsorpcije bakra moguće je povećanjem koncentracije cinka čime se pojačava stvaranje intestinalnog metalotioneina, koji stvara komplekse s bakrom u crijevnim stanicama (Barceloux, 1999). Regulacijom brzine unosa bakra u tanko crijevo i izbacivanjem bakra iz jetre u žuč se postiže i održava koncentracija bakra u tijelu. Kada bakar dođe do krvi, bakar na ceruloplazminu je dostupan za unos u tkiva kroz cijeli organizam te je ceruloplazmin glavni izvor bakra za druga tkiva u normalnim uvjetima. Izlučivanje bakra iz tijela se primarno događa iz hepatocita putem žuči (Tapiero i sur., 2003). Bakar stvara komplekse koji sprječavaju reapsorpciju u žuč, te zatim izmetom napušta tijelo. Unosom dijetalnog bakra količina bakra u fecesu raste skoro linearno (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015b). Održavanje tih mehanizama je izuzetno bitno zbog bolesti kao što su autosomni recesivni poremećaj zvan Wilsonova bolest (WND) te Menkesova bolest i progresija upala, razvoja karcinoma, Alzheimerove bolesti kao i drugih neurodegenerativnih bolesti (Kirsipuu i sur., 2020). Simptomi nedostatka bakra su raznovrsni zbog brojnih enzima koji koriste bakar kao kofaktor. Neki od njih su, neutropenija, hiperkolesterolemija, hipokromna anemija (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015b).

Wilson i Menkes proteini su visoko homologni P-tip ATP-aza te oba proteina sudjeluju u staničnom izvozu bakra tako što istiskuju bakar iz stanice (Tapiero i sur., 2003). Menkesova bolest je jedan od najtežih slučajeva uzrokovan deficijencijom bakra te nastaje kao posljedica neadekvatnog transporta bakra iz enterocita u krv zbog mutacija u ATP7A genu. Klinički simptomi uključuju hipotoniju, pogoršanje živčanog sustava, intelektualne nesposobnosti (Li, 2020). Wilsonova bolest je karakterizirana mutacijama u ATP7B genu zbog kojeg dolazi do smanjenja sposobnosti prijenosa bakra iz jetre u žuč te zatim prijenosa bakra u ceruloplazmin. Kod oboljelih se bakar akumulira u jetri i mozgu te dovodi do ciroze jetre i neurodegeneracije (Tapiero i sur., 2003).

#### 1.2.4.2. Uloga bakra u enzimima

Bakar je esencijalni kofaktor u mnogim enzimima bitnim za metabolizam koji su uključeni u redoks reakcije. S obzirom na njihova optička svojstva i elektronsku paramagnetsku rezonancu (EPR), enzimi ovisni o bakru se dijele na tip 1, 2 i 3 (Scheiber i sur., 2013). Neki od enzima ovisnih o bakru su amino oksidaza koja deaminira primarne amine, ceruloplazmin koji je feroksidaza uključena u metabolizam željeza, Cu/Zn superoksid dismutaza koja sudjeluje u dismutazi superoksida, citokrom c oksidaza koja sudjeluje u transportu elektrona, lizil oksidaza koja sudjeluje u umrežavanju kolagena i elastina, tirozinaza koja sudjeluje u sintezi melanina te dopamin  $\beta$ - monoooksigenaza koja sudjeluje u konverziji dopamina u noradrenalin (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015b). Citokrom C oksidaza je terminalna oksidaza na unutarnjoj mitohondrijskoj membrani u oksidativnoj fosforilaciji koja reducira molekularni kisik ( $O_2$ ) u vodu. Postoje 4 aktivna mjesta s vezanim metalima s redoks svojstvima, 2 mjesta za hem na koja se veže željezo i 2 mjesta za vezanje bakra (CuA i CuB), te je zbog ta 2 mjesta bakar esencijalni element za funkcioniranje enzima (Tapiero i sur., 2003; Scheiber, 2013).

Bakar/cink superoksid dismutaza (Cu/Zn-SOD) spada u sveprisutnu porodicu superoksid dismutaza koja konvertira superoksidne anione u peroksid za daljnje odlaganje katalazom i glutation peroksidazom te je još jedan enzim za čije je djelovanje bakar neophodan. Tri tipa superoksid dismutaza su pronađena u sisavcima, a tip SOD1 sadrži katalitički bakar i strukturalne cinkove ione u aktivnim mjestima (Scheiber, 2013; Miao i St. Clair, 2009). U stanju manjka bakra, u određenim stanicama, Cu/Zn-SOD je jedan od prvih enzima koji gubi svoju aktivnost (Tapiero i sur., 2003).

Amiotrofična lateralna skleroza uzrokovana je mutacijama u Cu/ZnSOD te je ta neurodegenerativna bolest karakterizirana progresivnim gubitkom motoričkih neurona koja rezultira disfunkcijom somatskih mišića u tijelu (Miao i St. Clair, 2010; Grad i sur., 2017). Lizil oksidaza koja je dio ekstracelularnog matriksa organa i tkiva u tijelu, ima presudnu ulogu u formaciji, sazrijevanju i stabilizaciji vezivnog tkiva (Tapiero i sur., 2003). To je amino oksidaza s veznim mjestom za bakar, koja katalizira ključan enzimski korak u umrežavanju kolagena i elastina (Johnston i Lopez, 2018; Vallet i Ricard-Blum, 2019). U Menkesovoj bolesti koja je karakteriziran deficijencijom bakra, promijenjen je razvoj vezivnog tkiva (Tapiero i sur., 2003).

U tablici u nastavku su prikazane referentne prehrambene vrijednosti za bakar (Tablica 4.).



**Tablica 4.** Referentne prehrambene vrijednosti za bakar (mg/dne) (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015b)

<b>DOB</b>	<b>SPOL</b>	<b>Optimalan unos AI (<i>Adequate Intake</i>)</b>	<b>Gornja granica unosa UL (<i>Upper Limit</i>)</b>
<b>7-11 mjeseci</b>	M/Ž	0,4	ND
<b>1-2 godine</b>	M/Ž	0,7	1
<b>3 godine</b>	M/Ž	1,0	1
<b>4-6 godina</b>	M/Ž	1	2
<b>7-9 godina</b>	M/Ž	1	3
<b>10 godina</b>	M	1,3	3
<b>10 godina</b>	Ž	1,1	3
<b>11-17 godina</b>	M	1,3	4
<b>11-17 godina</b>	Ž	1,1	4
<b>≥18 godina</b>	M	1,6	5
<b>≥18 godina</b>	Ž	1,3	5
<b>trudnice</b>	Ž	1,5	ND
<b>dojilje</b>	Ž	1,5	ND

### 1.2.5. Cink

Cink je drugi najzastupljeniji element u tragovima neophodan za sva živa bića, te postoji kao dvovalentni kation (Kambe i sur., 2015). Poznato je da se 57% ukupnog cinka u organizmu nalazi u skeletnim mišićima. Zbog neadekvatnog unosa cinka, njegov nedostatak može uzrokovati anemiju, disfunkciju neurona kao i kardiovaskularne bolesti kod graničnog nedostatka cinka (Choi i sur., 2018). Cink ima ključnu ulogu kao strukturalna (kristalizacija inzulina cinkom), katalitička (aktivacija supstrata u enzimu stabilizacijom negativnog naboja) i signalna komponenta (Kambe i sur., 2015). Više od 300 enzima treba cink za katalitičku aktivaciju, te se cink veže za 2500 proteina te mnogima i održava strukturalni integritet. Kao metalni ion, cink može direktno regulirati kinaze i fosfataze. Sa svojim svojstvima i ulogama, cink ima ključnu ulogu u održavanju ljudskog zdravlja, pogotovo s protuupalnim svojstvom i kod oksidativnog stresa (Choi i sur., 2018). Meso, jaja, riba i žitarice su bogate dijetalnim cinkom (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2014b). Endogeni

cink se u tkivima i organima nalazi u 2 oblika, kao vezan za metaloenzime i manja količina cinka koja je slobodna. Količine endogenog cinka utječu na broj i funkciju različitih tipova imunskih stanica kao što su makrofagi, neutrofilni, T stanice i ostale imunogene stanice. Nadalje, ima bitnu ulogu u imunskom sustavu te utječe na stečeni i urođeni imunitet (Gao i sur., 2018). S obzirom da cink nema prostor u tijelu u kojem se skladišti u obliku da se može lako mobilizirati prilikom neadekvatnog unosa, potreban je redoviti unos hranom (Lowe i sur., 2009). Prema World Health Organization (WHO), nedostatak cinka je peti vodeći uzrok mortaliteta u zemljama u razvoju (World health report : 2002).

### **1.2.5.1. Homeostaza cinka**

Regulacija homeostaze cinka se primarno odvija u gastrointestinalnom traktu te su tu u sinergiji apsorpcija cinka i endogeno izlučivanje u feces (King i sur., 2000). Većina cinka se apsorbira u tankom crijevu. Cink koji je unesen hranom će biti čvrsto vezan i to posebno za proteinske tjele i dušikove ligande (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2014b). Pošto cink ne zahtijeva redoks reakciju za membranski transport, ekspresija transportera za cink je neophodna za održavanje homeostaze. Unos i izbacivanje cinka kontroliraju 2 porodice transportera, cink transporter (ZnT) i Zrt-, Irt- povezani proteini (ZIP). Za unos dijetalnog cinka preko apikalne membrane intestinalnih epitelnih stanica je ZIP4 esencijalan, pa mutacije u genu za ZIP4 rezultiraju rijetkim genetskim recesivnim poremećajem povezanim s nedostatkom cinka (Nishito i Kambe, 2018). Detektirano je 9 ZnT i 14 ZIP transportera. ZnT transporteri mobiliziraju cink iz citosola u izvanstanični prostor i lumen unutarstaničnog prostora te spadaju u porodicu SLC30A (*solute-linked carrier 30*). ZIP transporteri nadoknađuju citosolni cink iz izvanstaničnog prostora i lumena unutarstaničnog prostora (Kambe i sur., 2015). Luminalni sadržaj duodenuma i jejunuma, te tu posebno utječe fitat, može imati veliki utjecaj na postotak cinka dostupnog za apsorpciju. U dijetama siromašnim fitatima i cinkom, frakcija cinka koja se apsorbira može biti i do 60% ili više te se taj postotak progresivno smanjuje s povećanjem dijetalnog cinka. S obzirom na količinu unesenog cinka, regulira se unos cinka od strane enterocita te je taj odnos apsorbiranog i unesenog cinka u tijelu najbolje prikazan modelom zasićenja (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2014b). U portalnoj i sistemske cirkulaciji, albumin je glavni transporter cinka te skoro nema cinka koji cirkulira nevezan. 80% je vezano za albumin, a 20% za makroglobulin (Gao i sur., 2018). Albumin veže cink slabim afinitetom,  $\alpha_2$  – makroglobulin srednjim afinitetom i transferin velikim afinitetom (Wessels i sur., 2017). Količina endogenog fekalnog cinka je bitna u održavanju homeostaze cinka i određena je s

količinom apsorbiranog cinka i statusom cinka (Hambidge i sur., 2010). Mala količina endogenog cinka se izlučuje urinom, a koncentracija urinarnog cinka se povećava kako se povećava unos cinka suplementacijom (Lowe i sur., 2009).

Nedostatak cinka se može podijeliti na tešku i marginalnu. Teški nedostatak uglavnom nastaje zbog nemogućnosti apsorpcije cinka u crijevima. Javlja se kod pacijenata s kroničnom dijarejom, kod pacijenata na parenteralnoj prehrani bez cinka, kod pretjeranog unosa alkohola. Ta vrsta nedostatka se prezentira kao smanjena aktivnost stanica ubojica, limfopenija i povećana citotoksičnost monocita. Najteži slučajevi su viđeni kod akrodermatitis enteropatika (Wessels i sur., 2017). Akrodermatitis enteropatika je nasljedni autosomno recesivni malapsorpcijski oblik nedostatka cinka uzrokovan nedostatkom u apsorpciji cinka. Sistemske simptome uključuju dijareju, anoreksiju, letargiju, anemiju, hipogonadizam. Međutim, svi simptomi se mogu poboljšati unosom dovoljne količine i suplementacije cinka, 3 mg/kg/dnevno (Jagadeesan i Kaliyadan, 2022). Marginalan nedostatak cinka je karakteriziran gubitkom težine, grubom kožom i hiperamonemijom. Uzrokovan je nedostatkom cinka u hrani, što se često prezentira kod vegetarijanaca zbog unosa visoke koncentracije tvari koje kelatiraju cink. Lignin i fitati sprječavaju apsorpciju cinka vezujući ga i smanjujući njegovu bioraspodivnost (Wessels i sur., 2017).

#### **1.2.5.2. Cink i imunosni sustav**

Cink utječe i na adaptivni i stečeni imunitet, što je posebno vidljivo prilikom nedostatka cinka prilikom čega se javljaju stanja poput limfopenije, atrofije timusa, hipogonadizma, kognitivna oštećenja te neuravnotežene imunološke reakcije koje mogu uzrokovati alergijske reakcije i autoimune bolesti (Maares i Haase, 2016; Wessels i sur., 2017). Nedostatak cinka narušava fagocitozu, proizvodnju citokina pomoću makrofaga, sposobnost unutarstaničnog ubijanja, a svi ti ishodi potječu iz disregulacije osnovnih funkcija stanice kao što su replikacija DNA, transkripcija RNA, proliferacija i aktivacija stanice (Hojo i Fukada, 2016). Stoga s poremećenom homeostazom cinka dolazi do oslabljene imunološke funkcije što rezultira smanjenom mogućnošću obrane domaćina i povećanog rizika od prekomjernih upala (Maares i Haase, 2016). Homeostaza cinka je ključna za hematopoezu, sazrijevanje i diferencijaciju stanica te ispravno funkcioniranje imunosnih stanica. U imunološkim stanicama povećane koncentracije unutarstaničnog cinka mogu djelovati toksično na patogene i citoprotektivno neutralizirajući reaktivne kisikove vrste (ROS) i dušikove vrste (RNS). Nedostatak cinka također negativno utječe na sazrijevanje i funkciju T i B stanica, zbog disregulacije osnovnih bioloških funkcija na staničnoj razini (Wessels i sur., 2017).

Cink je bitan i prilikom neutralizacije patogena, i nedostatak i suvišak cinka djeluju kao inhibitori nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfata (NADPH) koji regulira proizvodnju superoksidnih aniona odgovornih za uništenje patogena nakon fagocitoze. Također, potiče adheziju monocita za endotelne stanice *in vitro* te je bitan za proizvodnju pro-upalnih citokina poput interleukina IL-1 $\beta$ , IL-6 i faktora nekroze tumora (TNF- $\alpha$ ) (Bonaventura i sur., 2015). Osim u urođenom, cink ima bitnu ulogu i u stečenom imunom sustavu. Tijekom nedostatka cinka dolazi do smanjenja broja T-stanica zbog oslabljenje aktivnosti timulina. Riječ je o peptidnom hormonu timusa koji zahtijeva cink za svoju aktivnost te je neophodan za diferencijaciju i funkciju T-stanica. Smanjena proliferacija i diferencijacija utječu na funkciju T<sub>H</sub>-stanica i stvaranje citokina. Zbog smanjene limfopoeze tijekom nedostatka cinka, smanjuje se i broj pre-B-stanica, a B stanice imaju ključnu ulogu u humoralnom imunološkom odgovoru stvaranjem antitijela (Maares i Haase, 2016).

Uzimajući u obzir sve navedeno, promijenjena homeostaza utječe na i stečeni i adaptivni imunitet, te se suplementacijom cinka mogu poništiti negativni učinci nedostatka.

### **1.2.5.3. Antioksidativni učinak cinka**

Oksidativni stres je status neravnoteže između proizvodnje slobodnih radikala (ROS i RNS) i sposobnosti stanice da provodi detoksikaciju, čime se povećava oksidativno oštećenje DNA, lipida i proteina (Choi i sur., 2018). U osnovi molekularnih mehanizama odgovornih za razvoj mnogih upalnih bolesti kao što su, reumatoidni artritis, dijabetes melitus, arteroskleroza, rak i neurodegeneracija je oksidativni stres (Jarosz i sur., 2017). Niska koncentracija cinka u organizmu dovodi do oksidativnog stresa zbog promjene u aktivaciji i koncentraciji enzima i drugih komponenta u oksidacijskom obrambenom mehanizmu. Tu dolazi do povećane aktivnosti CuZn superoksid dismutaze i aktivnosti i ekspresije Mn superoksid dismutaze te snižene koncentracije glutaciona (Oteiza i Mackenzie, 2005). Prekomjerna količina oksidansa uzrokuje promjene u normalnoj strukturi i funkciji DNA, proteina i lipida te to uzrokuje mutagenozu i oksidativno oštećenje u stanici (Lee, 2018).

Primarni mehanizam stanica za obranu od oksidativnog stresa prilikom nedostatka cinka je održavanje homeostaze cinka. Ti mehanizmi uključuju kontrolu unosa i izbacivanja cinka iz stanica i vezanje za proteine poput metalotioneina (Eide, 2011).

U tablici u nastavku su prikazane referentne prehrambene vrijednosti za cink (Tablica 5.)

**Tablica 5.** Referentne prehrambene vrijednosti za cink (mg/dne) (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2014b)

<b>DOB</b>	<b>SPOL</b>	<b>Prosječno potreban unos AR (<i>Average Requirement</i>)</b>	<b>Gornja granica unosa UL (<i>Upper Limit</i>)</b>
<b>7-11 mjeseci</b>	M/Ž	2,4	ND
<b>1-3 godine</b>	M/Ž	3,6	7
<b>4-6 godina</b>	M/Ž	4,6	10
<b>7-10 godina</b>	M/Ž	6,2	13
<b>11-14 godina</b>	M/Ž	8,9	18
<b>15-17 godina</b>	M	11,8	22
<b>15-17 godina</b>	Ž	9,9	22
<b>≥18 godina</b>	M	10,1	25
<b>≥18 godina</b>	Ž	8,3	25
<b>trudnice</b>	Ž	(+) 1,6	25
<b>dojilje</b>	Ž	(+) 2,4	25

### 1.2.6. Kalcij

Divalentni kalcij je jedna od najvažnijih signalnih molekula te je najzastupljenija komponenta kosti u kojoj se nalazi kao hidroksiapatit, u kostima se nalazi i 99% tjelesnog kalcija. U kostima ne samo da održava snagu kostiju već služi i kao zaliha za održavanje serumskih vrijednosti kalcija. Primarni izvor kalcija iz hrane su mliječni proizvodi (Weaver i Peacock, 2011; Moe, 2016). Moguće su promjene u ravnoteži kalcija u kostima ovisno o drugim sastavnicama hrane. Te promjene mogu biti pozitivne u prisutnosti npr. vitamina D i vitamina K te negativne u prisutnosti fitata i natrija. Ostatak kalcija koji se nalazi u tijelu djeluje kao unutarstanični glasnik u tkivima i stanicama. Ima kritičnu ulogu u mnogim fiziološkim funkcijama uključenima u regulaciju metabolizma, uključujući kontrakciju mišića, aktivaciju enzima, funkcioniranje enzima. Također zbog sposobnosti kompleksiranja

aniona kao što su citrati i bikarbonati, ionizirani kalcij je najčešći element prijenosa signala u organizmu (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015a).

### **1.2.6.1. Homeostaza kalcija**

U održavanju serumskih vrijednosti kalcija uključen je složeni homeostatski sustav u koji su uključeni paratireoidna žlijezda, crijeva, bubrezi i kosti. Također su uključeni i hormoni u regulaciju izvanstaničnih razina kalcija, paratireoidni hormon (PTH), faktor rasta fibroblasta 23 (FGF23) te vitamin D (primarno 25(OH)D ili 1,25(OH)<sub>2</sub>D). Ovi hormoni bar djelomično djeluju kroz bubrege pa kod pacijenata s bubrežnim bolestima dolazi do poremećene homeostaze kalcija (Moe, 2016). Kalcij u plazmi se nalazi u 3 oblika: ionizirani kalcij, kalcij vezan za proteine i kalcij kompleksiran s anionima (Hall and Guyton, 2011). Apsorpcija kalcija se odvija u 2 faze, aktivna i pasivna. Kod niskih koncentracija za apsorpciju je odgovoran aktivni transport no on se brzo zasiti i difuzija preuzima kod većih koncentracija (Nordin, 1990). Prilikom aktivnog transporta 1,25(OH)<sub>2</sub>D tj. kalcitrol kontrolira unos kalcija u enterocite. Transcelularna apsorpcija kalcija započinje ulaskom kalcija iz lumena crijeva kroz TRPV kanal te je TRPV6 najbitniji. Nakon što se nađe u unutarstaničnom prostoru, na bazolateralnu membranu kalcij se prenosi uz kalcij vezujući protein, kalbindin (CaBP). Iz crijevnog enterocita bazolateralni izlaz protiv koncentracijskog gradijenta se odvija uz pumpu crijevne plazme, PMCA1b. Pasivni transport je paracelularan, odvija se kroz tijesne spojeve i strukture kroz unutarstanične prostore duž cijelih crijeva. Apsorpcija kalcija iz crijeva je relativno slaba, ali vitamin D pospješuje tu apsorpciju i oko 35% unesenog kalcija je apsorbirano. Iz tog razloga je unos vitamina D uz kalcij neophodan (Hall i Guyton, 2011; EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015a; Moe, 2016).

Ostatak kalcija koji se ne apsorbira, izlučuje se iz organizma fecesom kao neapsorbirani dijetalni kalcij. Pojavljuje se u fecesu i endogeni fekalni kalcij podrijetlom iz crijeva (Nordin, 1997).

### **1.2.6.2. Nedostatak kalcija**

Nedostatak kalcija je lako induciran zbog obaveznih gubitaka kalcija kroz crijeva, bubrege i kožu. Nedostatak kalcija najčešće u nekom trenutku života dovodi do osteoporoze, koja je i inače obilježje starenja. Smanjenje gustoće kostiju kod žena počinje u vrijeme menopauze, te u oba spola dovodi do povećane stope prijeloma kostiju (Nordin, 1997).

Osteoporozna je poremećaj smanjene mase kosti te propadanje mikroarhitekture kosti. Bitan element u prevenciji je adekvatna prehrana te odgovarajući unos kalcija i vitamina D (Lane i sur., 2000).

U tablici u nastavku su prikazane referentne prehrane vrijednosti za kalcij (Tablica 6.).

**Tablica 6.** Referentne prehrane vrijednosti za kalcij (mg/dne) (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015a)

DOB	SPOL	Optimalan unos AI ( <i>Adequate Intake</i> )	Prosječno potreban unos AR ( <i>Average Requirement</i> )
7-11 mjeseci	M/Ž	280	ND
1-3 godine	M/Ž	ND	390
4-10 godina	M/Ž	ND	680
11-17 godina	M/Ž	ND	960
18-24 godina <sup>(a)</sup>	M/Ž	ND	860
≥25 godina <sup>(a)</sup>	M/Ž	ND	750

### 1.2.7. Magnezij

Magnezij spada u esencijalne minerale za funkcioniranje metaboličkih funkcija. Polovica ga se u tijelu nalazi u kostima, a druga polovica u mišićima i drugim mekim tkivima (Guerrera i sur., 2009). Magnezij je kofaktor u mnogim enzimskim sistemima bilo kao supstrat ili kao komponenta samog enzima. Neke od biokemijskih reakcija regulirane tim enzimima su sinteza DNA i RNA, sinteza proteina, prijenos signala. Također ima ključnu ulogu u održavanju normalne funkcije mišića i živaca, kontrakcije mišića, održavanja krvnog tlaka te metabolizma glukoze i inzulina (Volpe, 2013). Za aktivni transport natrija i kalcija kroz stanične membrane potreban je magnezij, a taj proces je neophodan za provođenje živčanih impulsa i normalni srčani ritam (Gröber i sur., 2015). Magnezij inhibira ulazak kalcijevih iona u stanice blokirajući N-metil-D-aspartat (NMDA) receptore, te pritom stvara analgetski učinak (Shin i sur., 2020).

Koncentracija kao i homeostaza magnezija su strogo regulirane, te se promjene u koncentraciji magnezija u plazmi mogu pojaviti samo nakon dugotrajnog i značajnog manjka magnezija. Nije poznat ni jedan hormonski faktor koji je posebno uključen u regulaciju metabolizma magnezija, ali mnogi hormoni kao što su paratiroidni hormon (PTH), kalcitonin, vitamin D, utječu na ravnotežu i transport magnezija (Barbagallo i sur., 2009).

#### **1.2.7.1. Homeostaza magnezija**

Magnezij unesen hranom se apsorbira kao ioni  $Mg^{2+}$  u tankom crijevu. Trećina magnezija se apsorbira, dok se ostatak izlučuje kroz stolicu. Resorbirani magnezij se uglavnom izlučuje urinom i djelomično kroz žučni mjehur i znoj (Seitz i sur., 2014).

Bubreg je glavni regulator serumske koncentracije i ukupnog tjelesnog sadržaja magnezija. Hipermağnezemija nije održiva prilikom normalne bubrežne funkcije jer se bubrežno izlučivanje povećava proporcionalno opterećenju bubrega. Prilikom nedostatka, bubrezi čuvaju magnezij (Reinhart, 1988). Pri nižim koncentracijama magnezija u tijelu, više ga se apsorbira u crijevima, stoga je relativna apsorpcija magnezija visoka kada je unos nizak i obrnuto (Gröber i sur., 2015). Resorbirani magnezijevi ioni u unutarstaničnom prostoru se uglavnom nalaze unutar koštanog tkiva te u srčanim mišićima i jetri, dok se izvanstanični magnezij nalazi unutar krvne plazme gdje je 62% u ioniziranom obliku, a 33% vezano za proteine kao komponenta kompleksa (Seitz i sur., 2014). Fitinska kiselina kao i fosfati potencijalno može inhibirati apsorpciju magnezija dok unos topivih dijetalnih vlakana može poboljšati apsorpciju. TRPM7 (eng. *transient receptor potential melastatin 7*) je transportni sustav odgovoran za unos magnezija u tkiva. Negativno je reguliran unutarstaničnim magnezijem i kompleksom magnezij-nukleotid (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015d). TRPM7 je sveprisutan i odgovoran za homeostazu u pojedinačnim stanicama dok je TRPM6 odgovoran za homeostazu magnezija u cijelom tijelu kroz crijevnu apsorpciju i bubrežnu resorpciju, zbog njegove lokalizacije u debelom crijevu i distalno uvijenom tubulu nefrona (Romani, 2011).

#### **1.2.7.2. Uloga magnezija u prevenciji nastanka bolesti**

Manjak magnezija kod ljudi je uglavnom marginalan do umjeren, tj. između 50% i 90% preporučenog dnevnog unosa, te može biti povezan sa stanjima kroničnog upalnog odgovora. Status magnezija se može odrediti preko koncentracije ukupnog magnezija u serumu, razine ioniziranog magnezija i razine magnezija u mokraći pomoću testa opterećenja magnezijem (Volpe, 2013). Niske razine magnezija su povezane s raznim kroničnim i upalnim bolestima



kao što su astma, hipertenzija, Alzheimerova bolest, migrene i osteoporoza (Gröber i sur., 2015).

Migrena je česti neurobiološki poremećaj popraćen jakom glavoboljom te uzrokovan povećanom ekscitabilnosti centralnog živčanog sustava (Silberstein, 2004). Smatra se jednostranom pulsirajućom glavoboljom, praćenom osmofobijom, povraćanjem, proljevom i osjetljivosti na pokrete (Dolati i sur., 2020). Glutamat kao najzastupljeniji ekscitatorni neurotransmiter je povezan s prevencijom i liječenjem migrena. Magnezij je predložen za liječenje migrena zbog svojeg antagonističkog učinka na NMDA receptore koji aktivno doprinose prijenosu boli (Kirkland i sur., 2018). Dušikov oksid (NO) je značajan vazodilatator i modulator moždanog krvotoka, te smanjene razine magnezija koji je inhibitor proizvodnje NO, također može povećati razine NO (Dolati i sur., 2020).

Alzheimerova bolest (AD) je najčešći neurodegenerativni uzrok demencije koja je karakterizirana kognitivnim promjenama koja uključuju pogoršanje učenja i pamćenja (Oboudiyat i sur., 2013). Ključna patološka obilježja bolesti su nakupljanje beta-amiloida i tau čvorova, te upala i atrofija. Primijećene su niže razine ioniziranog magnezija kod pacijenata oboljelih od AD-a (Volpe, 2013). Zbog svoje sposobnosti da utječe na vaskularnu funkciju i funkciju neurona, magnezij može utjecati na kognitivne funkcije te su potrebna daljnja istraživanja oko funkcije magnezija u patologiji Alzheimerove bolesti (Kirkland i sur., 2018). Teška hipermagnezija se rijetko javlja u ljudi, ali hipomagnezija nije neuobičajena, pogotovo u zapadnom svijetu. Definirana je kao koncentracija magnezija u serumu ispod 0,75 mmol/L (Gröber i sur., 2015). Jačina i vrsta kliničkih simptoma ovise o stupnju hipomagnezije, dužini trajanja samoga stanja te drugim poremećajima povezanih elektrolita kao što su hipokalcemija i hipokalijemija. Neki od njih su umor i slabost, tremor, bradikardija te kod teže hipomagnezije i apneja i srčani zastoj (Van Laecke, 2019). U tablici u nastavku su prikazane referentne prehrambene vrijednosti za magnezij (Tablica 7.).

**Tablica 7.** Referentne prehrambene vrijednosti za magnezij (mg/dne) (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015d)

<b>DOB</b>	<b>SPOL</b>	<b>Optimalan unos AI (<i>Adequate Intake</i>)</b>
<b>7-11 mjeseci</b>	M/Ž	80
<b>1-&lt;3 godine</b>	M/Ž	170
<b>3-&lt;10 godina</b>	M/Ž	230
<b>10-&lt;18 godina</b>	M	300
<b>10-&lt;18 godina</b>	Ž	250
<b>≥18 godina</b>	M	350
<b>≥18 godina</b>	Ž	300

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Ocat se tisućama godina nalazi u upotrebi kroz civilizacije diljem svijeta te postoje brojne studije koje pokazuju njegovu zdravstvenu korist. Ocat sadrži bioaktivne komponente kao što su katehin, octena kiselina, ferulična kiselina te mnoge druge aminokiseline, polifenoli, vitamini i minerali koje djeluju antioksidativno, antimikrobno, antihipertenzivno te antidijabetski. Sama koncentracija kao i vrsta navedenih komponenata povezane su sa sirovinama koje se koriste kao i tehnologijom proizvodnje (Budak i sur., 2014).

Opći cilj ovog rada bio je odrediti koncentracije fiziološki važnih elemenata, prvenstveno metala, tehnikom masene spektrometrije s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS) u jabučnim octima s različitim dodacima, te proučiti utjecaj bioaktivnih komponenata na zdravlje ljudi s naglaskom na elemente u tragovima čija je fiziološka uloga te dobrobit za organizam detaljnije opisana.

S obzirom na koncentracije biološki važnih metala koje su određene, može se vidjeti kako i prisutnost drugih tvari u jabučnom octu (med, vlakna inulina) utječe na njegovu dobrobit.

### 3. MATERIJALI I METODE

Za određivanje kalcija, magnezija, mangana, cinka, bakra, željeza i kroma u uzorcima jabučnog octa, te jabučnog octa infuziranog vlaknima agavinog inulina i sirovim medom, korištena je tehnika induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom. (*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*). Mjerenje je odrađeno u tvrtki „Sample Control d.o.o.“ na ICP-MS Agilent 7800.

#### 3.1. UZORCI ZA ANALIZU

Za analizu su upotrijebljeni uzorci octa proizvođača Cidrani j.d.o.o. dobiveni od same tvrtke Cidrani. Korišten je premium eko nepasterizirani jabučni ocat s tzv. „*wild mother*“ kulturom, premium eko nepasterizirani jabučni ocat s „*wild mother*“ kulturom infuziran vlaknima agavinog inulina te premium eko nepasterizirani jabučni ocat s „*wild mother*“ kulturom infuziran sirovim medom.

#### 3.2. KORIŠTENI INSTRUMENTI I OPREMA

- Analitička vaga (*Sartorius Croatia*)
- Pipeta (*Mettler, Toledo*)
- Mikrovalna peć *Speedwave Xpert (Berghof)*
- *Innductive Coupled Plasma Mass Spectrometer Agilent 7800*
- *Falcon* kivete

#### 3.3. KORIŠTENE KEMIKALIJE I REAGENSI

- 69%-tna dušična kiselina (*VWR International BVBA*)
- 30%-tni vodikov peroksid (*Honeywell*)
- *TraceSELECT* 34-37%-tna klorovodična kiselina (*Honeywell*)
- Standard zlata – 1001 µg/mL Au u 10% HCl (*Inorganic Ventures*)

- Mješavina standarda – 10 µg/mL Ag, Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn u 5% HNO<sub>3</sub> (*Inorganic Ventures*)

### 3.4. PRINCIP METODE

Masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS) je tehnika u kojoj se kao ionizacijski izvor koristi induktivno spregnuta plazma, a detekcija se vrši masenom spektrometrijom. ICP u potpunosti atomizira većinu molekula u uzorku. ICP-MS se koristi kod određivanja elemenata čije su razine u tragovima, te je njegova glavna prednost mogućnost mjerenja više elemenata istovremeno u jednoj analizi. Također se koristi kod kvantitativnog određivanja lijekova koji sadrže metale te određivanje elemenata u biološkim tekućinama. Uzorci se za analizu u ICP-MSu termički obrade ili razrijede uglavnom koristeći kiseline kao što su dušična i klorovodična kiselina. Prije uvođenja uzorka u ICP tekući uzorci se prvo raspršuju nebulizatorom, stvarajući aerosol koji se prenosi u plazmu argona. Visoko temperaturna plazma atomizira i ionizira uzorak, stvarajući ione koji se zatim ekstrahiraju u skup elektrostatičkih leća nazvanih ionska optika. Ta ionska optika fokusira i vodi ionski snop do kvadrupolnog analizatora mase. Analizator mase razdvaja ione na temelju njihovih omjera masa i naboja ( $m/z$ ) i ti ioni se mjere na detektoru. Odvojeni ioni na detektoru stvaraju signal, te on detektirane ione označava u jedinicama *counts per second* (CPS). CPS označava broj iona koje detektor zabilježi u jednoj sekundi. Nakon napravljene kalibracije standarda, vrijednost CPS se prevodi u jedinicu koncentracije na temelju te kalibracije, te se iz nje izvodi kalibracijska krivulja te se uz nju očitaju dobivene koncentracije pojedinih elemenata u uzetom uzorku (Wilschefski i Baxter, 2019).

### 3.5. PRIPREMA UZORKA

Na analitičkoj vagi je odvagano po 0,5 grama svakog uzorka. Uzorci su vagani u plastičnim posudicama koje se unose u kivete u kojima se odvija mikrovalna digestija. Korištene posudice i kivete su prije vaganja očišćene s 5 mL destilirane vode i 5 mL koncentrirane dušične kiseline uz zagrijavanje u mikrovalnoj (Speedwave, Berghof). Posudice s izvaganim uzorcima stavljene su u kivete te se u svaku stavilo po 1 mL 30%-tnog vodikovog peroksida (Honeywell) i 3 mL 69%-tne dušične kiseline (VWR International BVBA). Pripremljene

kivete s uzorcima su postavljene u mikrovalnu, učvršćene odgovarajućim vijcima i pokrenut je program spaljivanja. U programu je postavljena metoda u trajanju od 40 minuta, dok je tlak 35 bara, koja u vremenskim intervalima postepeno podiže temperaturu do 190°C te ju nakon u određenim intervalima i spušta. Nakon završetka spaljivanja, uzorci su se hladili 45 minuta. Zatim se sadržaj iz svake pojedinačne kivete prebacio u zasebnu *Falcon* kivetu volumena 50 mL te kiveta isprala vodom. U svaku *Falcon* kivetu u kojoj su uzorci je dodano 250 µL standarda zlata (1001 µg/mL Au u 10% HCl (*Inorganic Ventures*)), 700 µL *TraceSELECT* 34-37%-tna klorovodična kiselina (*Honeywell*) te je ostatak do 50 mL nadopunjen destiliranom vodom. Tako pripremljeni uzorci su spremni za analizu na ICP-MSu.

### **3.6. MJERENJE**

Mjerenja su provedena u duplikatu na uređaju ICP-MS (Agilent 7800) s plazmom argona. Prije samog mjerenja uzoraka, provedena je kalibracija. Rezultati su očitani softverom *MassHunter* u sklopu uređaja te obrađeni u programu *Excel*.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. REZULTATI

Nakon što su dobiveni rezultati (CPS), izračunate su koncentracije biometala te im je određena srednja vrijednost i standardna devijacija dvaju mjerenja. Rezultat je izražen u mg/100 g, tj.  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  za svaki odabrani element koji se nalazi u uzorcima jabučnog octa.

Koncentracije metala u uzorcima jabučnog octa izmjerene su tehnikom masene spektrometrije s induktivno spregnutom plazmom. Mjerenje je provedeno na 3 različita uzorka jabučnog octa. Na uzorku jabučnog octa s „*wild mother*“ kulturom i bez drugih dodataka, na uzorku jabučnog octa s „*wild mother*“ kulturom infuziran sirovim medom te uzorkom jabučnog octa s „*wild mother*“ kulturom infuziran vlaknima agavinog inulina. Mjerenje svih uzoraka ponovljeno je, kao što je već rečeno, dva puta. Dobiveni rezultati prikazani su kao srednja vrijednost uz standardnu devijaciju te su uz podatke iz literature prikazani u tablici (Tablica 8.).

**Tablica 8.** Ukupni prikaz dobivenih srednjih vrijednosti koncentracija i standardnih devijacija kroma, mangana, željeza, bakra, cinka, kalcija i magnezija u uzorcima jabučnog octa i literaturni podaci (FoodData Central, 2018., <http://fdc.nal.usda.gov>, pristupljeno, 05.03.2022.)

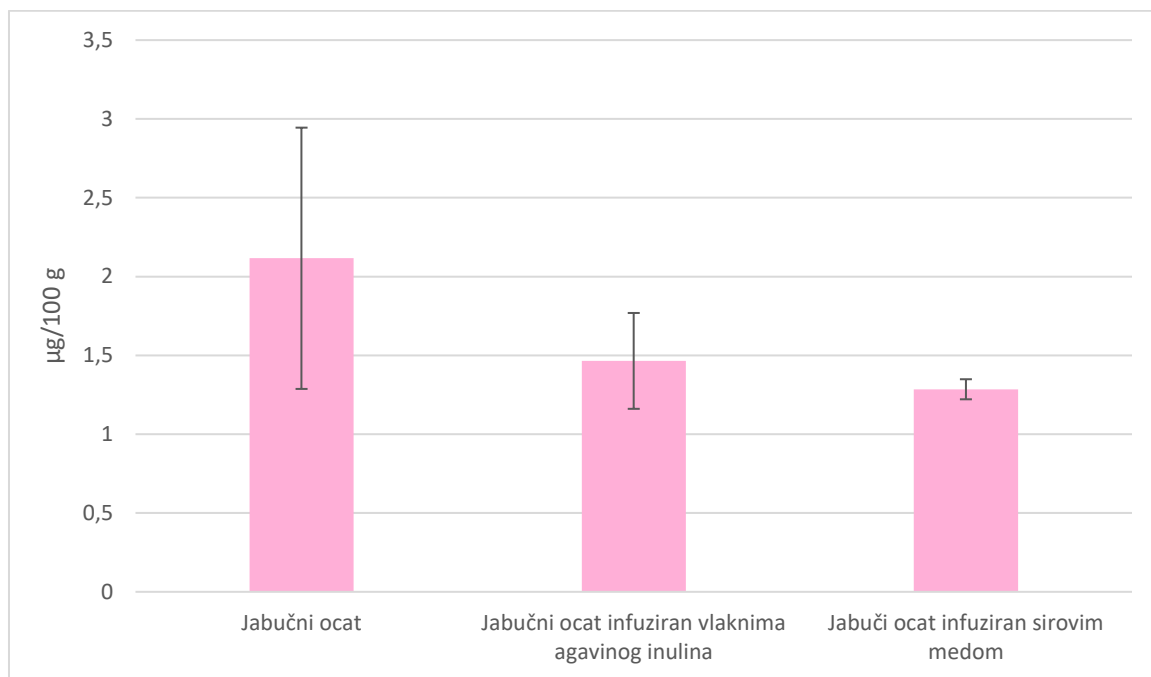
	<b>Jabučni ocat</b>			
	<b>Jabučni ocat</b>	<b>infuziran vlaknima agavinog inulina</b>	<b>Jabučni ocat infuziran sirovim medom</b>	<b>Jabučni ocat (literatura)</b>
<b>Krom (Cr) /</b> <b>(<math>\mu\text{g}/100\text{ g}</math>)</b>	2,12 $\pm$ 0,83	1,47 $\pm$ 0,31	1,28 $\pm$ 0,07	N/A
<b>Mangan (Mn)/</b> <b>(<math>\mu\text{g}/100\text{ g}</math>)</b>	12,66 $\pm$ 0,60	9,22 $\pm$ 0,32	10,98 $\pm$ 0,52	249 $\pm$ 0,0
<b>Željezo (Fe)</b> <b>/(<math>\mu\text{g}/100\text{ g}</math>)</b>	86,53 $\pm$ 23,62	60,01 $\pm$ 7,70	50,58 $\pm$ 7,37	200 $\pm$ 0,0
<b>Bakar (Cu) /</b> <b>(<math>\mu\text{g}/100\text{ g}</math>)</b>	18,77 $\pm$ 9,76	8,55 $\pm$ 2,86	18,19 $\pm$ 2,27	8 $\pm$ 0,0
<b>Cink (Zn) /</b> <b>(<math>\mu\text{g}/100\text{ g}</math>)</b>	46,73 $\pm$ 45,52	55,24 $\pm$ 64,43	29,32 $\pm$ 8,45	40 $\pm$ 0,0
<b>Kalcij (Ca) /</b> <b>(mg/100 g)</b>	1,14 $\pm$ 0,04	1,00 $\pm$ 0,07	1,02 $\pm$ 0,10	7 $\pm$ 0,0
<b>Magnezij (Mg)/</b> <b>(mg/100 g)</b>	2,76 $\pm$ 0,15	1,97 $\pm$ 0,14	1,82 $\pm$ 0,15	5 $\pm$ 0,0



#### 4.1.1. Sadržaj kroma u jabučnom octu

Usporedba sadržaja kroma prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (Slika 1.). U jabučnom octu infuziranom sirovim medom izmjereno je najmanji sadržaj kroma – 1,28  $\mu\text{g}$  na 100 g uzorka. Jabučni ocat koji nije dodatno infuziran sadrži najviše kroma, 2,12  $\mu\text{g}$  na 100 g. Adekvatan unos kroma za odraslu mušku osobu iznosi 35  $\mu\text{g}/\text{dan}$  i 25  $\mu\text{g}/\text{dan}$  za odraslu žensku osobu (Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients, 2001).

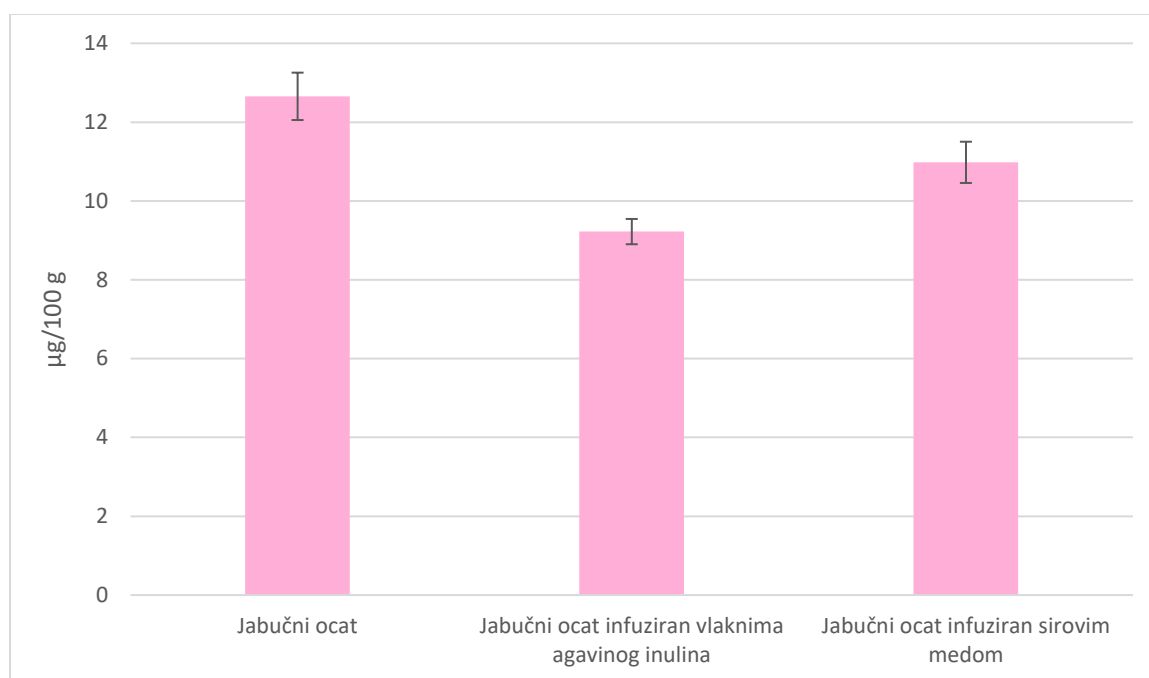
Prema ovim vrijednostima, u 100 g jabučnog octa se za odraslog muškarca nalazi 6,06% kroma za adekvatan unos, te za odraslu ženu 8,48% kroma za adekvatan unos.



**Slika 1.** Usporedba sadržaja kroma ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u analiziranim jabučnim octima

#### 4.1.2. Sadržaj mangana u jabučnom octu

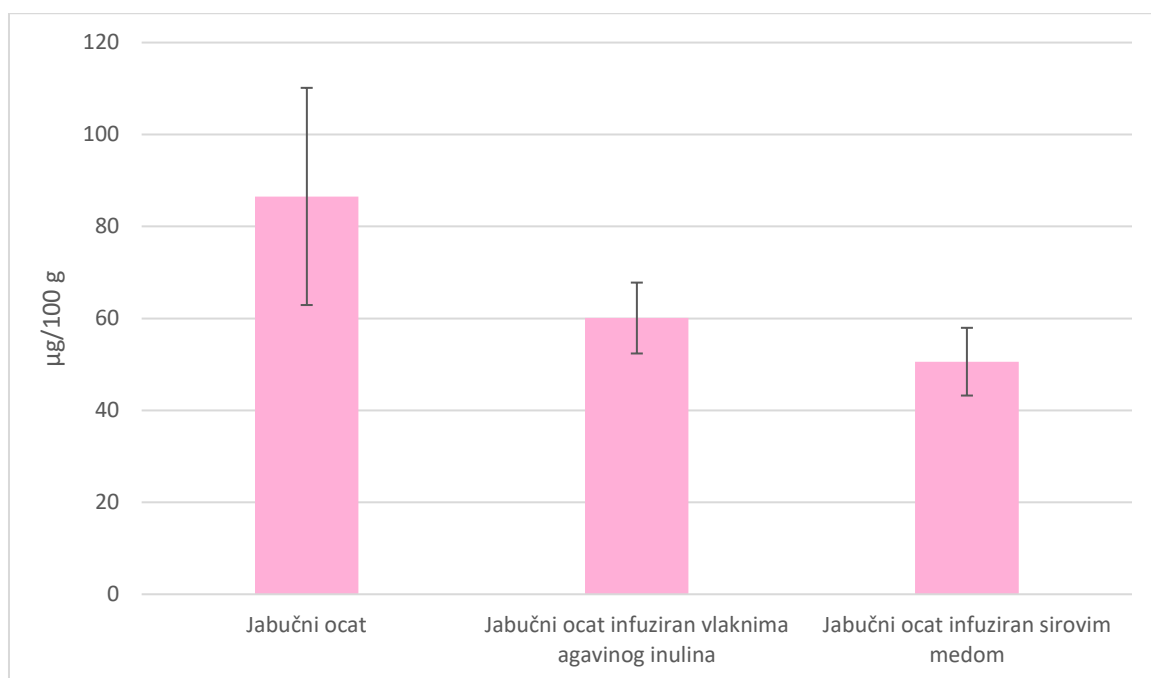
Usporedba sadržaja mangana prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (Slika 2.). U jabučnom octu infuziranom vlaknima agavinog inulin izmjeren je najmanji sadržaj mangana – 9,22  $\mu\text{g}$  na 100 g uzorka. Jabučni ocat koji nije dodatno infuziran sadrži najviše mangana, 12,66  $\mu\text{g}$  na 100 g, što iznosi oko 0,42% preporučenog dnevnog unosa (Scientific Opinion on Dietary Reference Values for manganese / *EFSA*).



**Slika 2.** Usporedba sadržaja mangana ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u analiziranim jabučnim octima

### 4.1.3. Sadržaj željeza u jabučnom octu

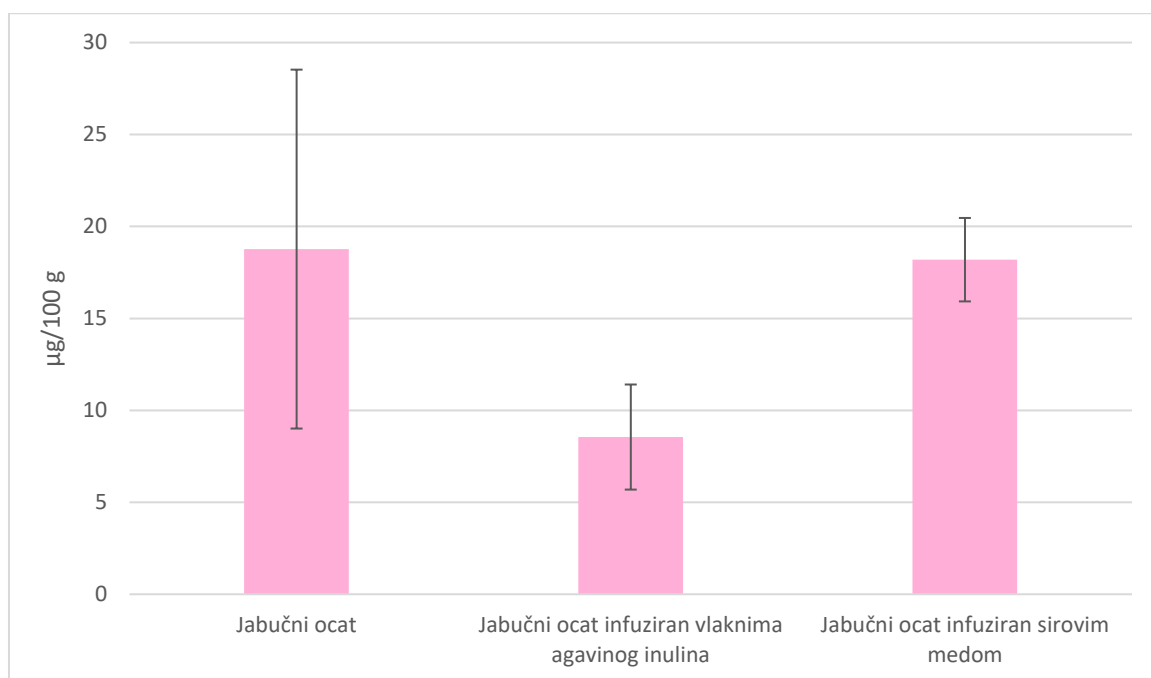
Usporedba sadržaja željeza prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (Slika 3.). U jabučnom octu infuziranom sirovim medom izmjeren je najmanji sadržaj željeza – 50,58  $\mu\text{g}$  na 100 g uzorka. Jabučni ocat koji nije dodatno infuziran sadrži najviše željeza, 86,53  $\mu\text{g}$  na 100 g, što iznosi oko 0,87% preporučenog dnevnog unosa prema prosječnom potrebnom dnevnom unosu za žene i muškarce (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015c).



**Slika 3.** Usporedba sadržaja željeza ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u analiziranim jabučnim octima

#### 4.1.4. Sadržaj bakra u jabučnom octu

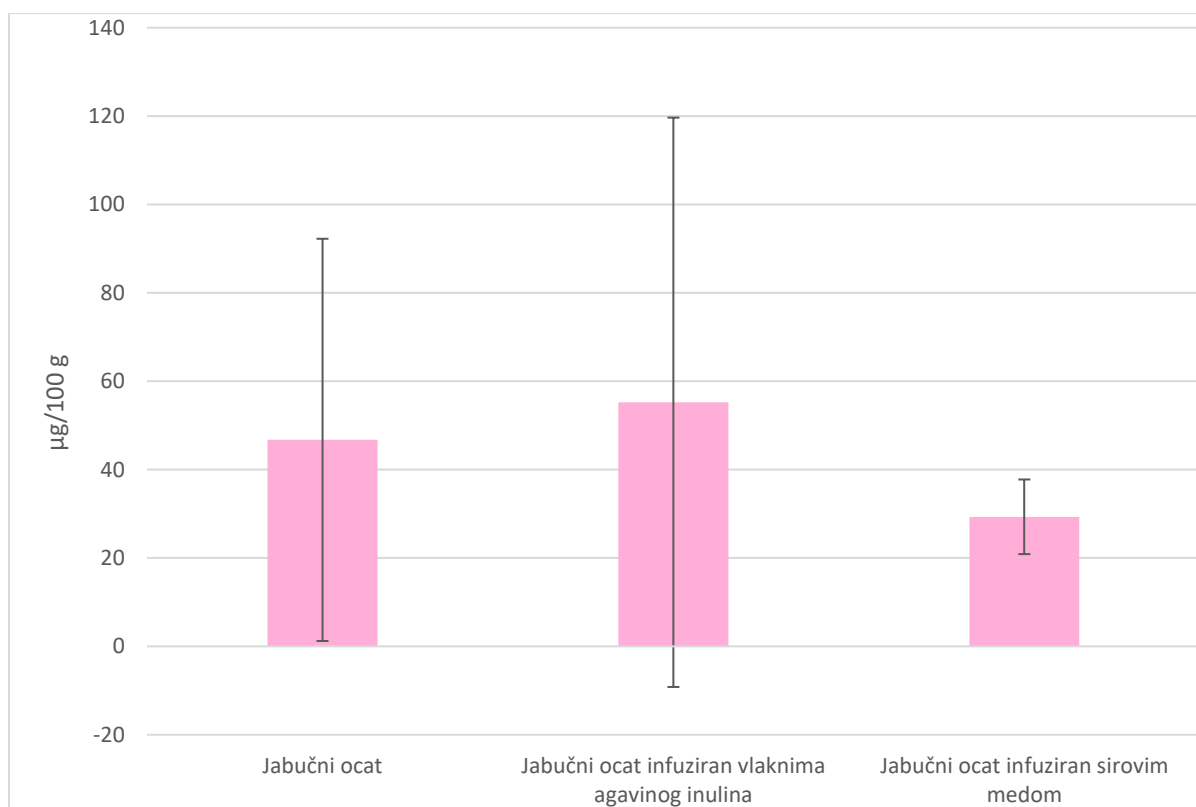
Usporedba sadržaja bakra prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (Slika 4.). U jabučnom octu infuziranom vlaknima agavinog inulina izmjeren je najmanji sadržaj bakra – 8,55  $\mu\text{g}$  na 100 g uzorka. Jabučni ocat koji nije dodatno infuziran sadrži najviše bakra, 18,77  $\mu\text{g}$  na 100 g. Prema ovim vrijednostima, u 100 g jabučnog octa se za odraslog muškarca nalazi 1,17% bakra za adekvatan unos, te za odraslu ženu 1,44% bakra za adekvatan unos (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015b).



**Slika 4.** Usporedba sadržaja bakra ( $\text{mg}/100\text{g}$ ) u analiziranim jabučnim octima

#### 4.1.5. Sadržaj cinka u jabučnom octu

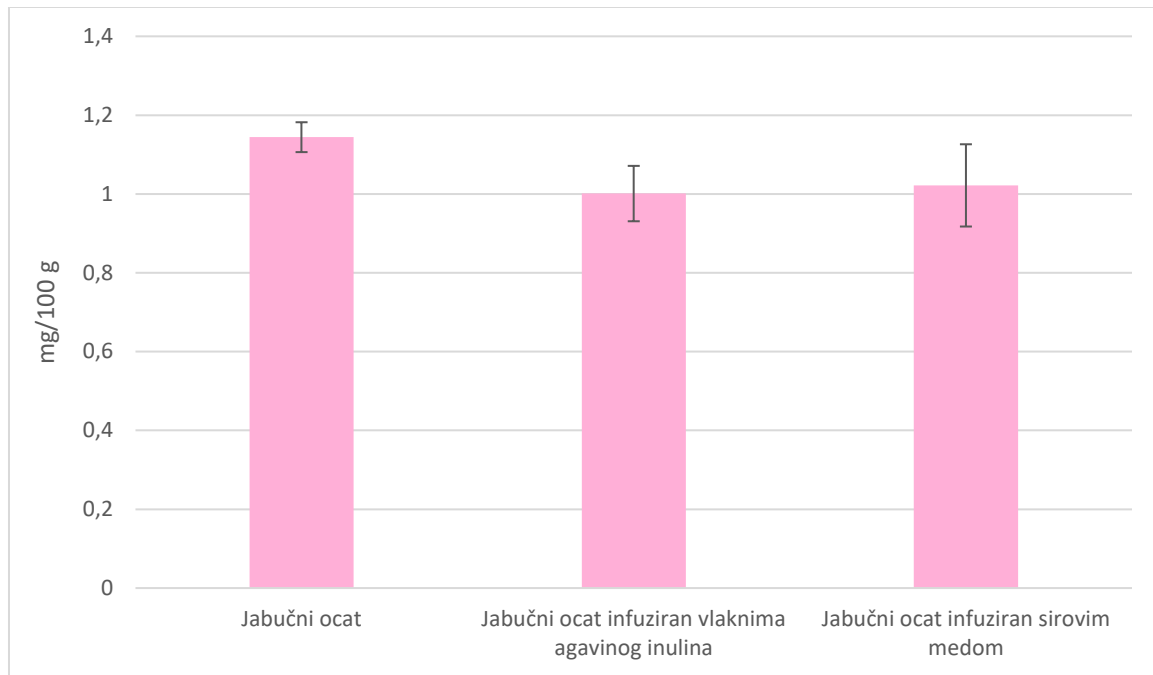
Usporedba sadržaja cinka prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (Slika 5.). U jabučnom octu infuziranom sirovim medom izmjereno je najmanji sadržaj cinka – 29,32  $\mu\text{g}$  na 100 g uzorka. Jabučni ocat infuziran vlaknima agavinog inulina sadrži najviše cinka, 55,24  $\mu\text{g}$  na 100 g. Rasap pojedinih mjerenja je veliki, što se vidi i u dobivenim standardnim devijacijama. Stoga je preporuka da se kod ovog metala ubuduće moraju provesti barem šest uzastopnih mjerenja, što nama nije bilo moguće zbog zahtjeva simultanog određivanja metala u uzorku. Zbog utjecaja fitinske kiseline na obujam apsorpcije cinka, vezanjem cinka u gastrointestinalnom traktu, preporučene dnevne koncentracije cinka ovise i o dnevnom unosu fitinske kiseline te iznosi od 6,2 do 12,7 mg (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2014b).



**Slika 5.** Usporedba sadržaja cinka ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u analiziranim jabučnim octima

#### 4.1.6. Sadržaj kalcija u jabučnom octu

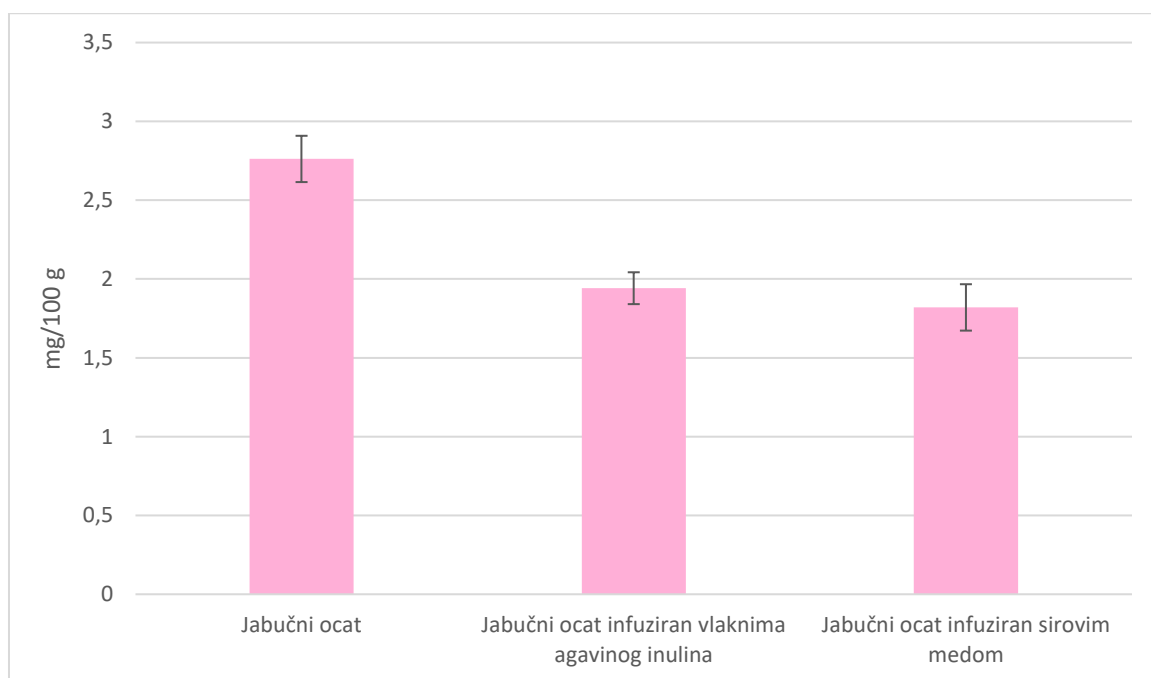
Usporedba sadržaja kalcija prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (Slika 6.). U jabučnom octu infuziranom vlaknima agavinog inulina izmjeren je najmanji sadržaj kalcija – 1,00 mg na 100 g uzorka. Jabučni ocat koji nije dodatno infuziran sadrži najviše kalcija, 1,14 mg na 100 g, što iznosi oko 0,15% prosječne dnevne potrebe kod muškaraca i žena starijih od 25 godina (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015a).



**Slika 6.** Usporedba sadržaja kalcija (mg/100 g) u analiziranim jabučnim octima

#### 4.1.7. Sadržaj magnezija u jabučnom octu

Usporedba sadržaja magnezija prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (Slika 7.). U jabučnom octu infuziranom sirovim medom izmjereno je najmanji sadržaj magnezija – 1,82 mg na 100 g uzorka. Jabučni ocat koji nije dodatno infuziran sadrži najviše magnezija, 2,76 mg na 100 g, što iznosi oko 0,79% adekvatnog dnevnog unosa za odrasle muškarce te 0,92% adekvatnog dnevnog unosa za odraslu ženu (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015d).



**Slika 7.** Usporedba sadržaja magnezija (mg/100g) u analiziranim jabučnim octima

#### 4.2. RASPRAVA

Dobiveni rezultati ICP-MS analize biogenih metala u uzorcima jabučnog octa razlikuju se od pojedinih literaturnih vrijednosti. Isto tako, primijećena je i razlika između pojedinačnih uzoraka za pojedine metale. Koncentracija kroma u jabučnom octu prema literaturi nije dostupna, a u trima analiziranim uzorcima jabučnog octa izmjereno je između 1,28 i 2,12  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  kroma. Najveća izmjerena koncentracija kroma odgovara 6,06% adekvatnog dnevnog unosa za odraslog muškarca, te 8,48% adekvatnog unosa za odraslu ženu (Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients, 2001).

Prema literaturi, jabučni ocat sadrži 249  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  mangana. U uzorcima su izmjerene koncentracije od 9,22 do 12,66  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  koje su značajno niže od literaturnih podataka (FoodData Central, 2018., <https://fdc.nal.usda.gov>, pristupljeno, 05.03.2022.).

Najviša izmjerena koncentracija mangana odgovara 0,42% preporučenog dnevnog unosa mangana (Scientific Opinion on Dietary Reference Values for manganese | EFSA).

Literaturni podaci navode da jabučni ocat sadrži 200  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  željeza (FoodData Central, 2018., <https://fdc.nal.usda.gov>, pristupljeno, 05.03.2022.) što je značajno veća vrijednost od koncentracija željeza u uzorcima, izmjerene u rasponu od 50,58 do 86,53  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ . Najviša koncentracija željeza izmjerena je u octu bez dodataka te odgovara 0,87% preporučenog dnevnog unosa (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015c).

Prema literaturnim podacima, jabučni ocat sadrži 8  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  bakra (FoodData Central, 2018., <https://fdc.nal.usda.gov>, pristupljeno, 05.03.2022.). Koncentracija bakra u jabučnom octu infuziranom vlaknima agavinog inulina odgovara literaturnim vrijednostima, dok su u preostala dva uzorka one značajno više. Najveća koncentracija bakra, u jabučnom octu bez dodataka, odgovara 1,17% adekvatnog dnevnog unosa za odraslog muškarca, odnosno 1,44% za odraslu ženu (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 2015b).

U uzorku jabučnog octa infuziranom sirovim medom su izmjerene niže koncentracije cinka od literaturnih (40  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ), a u uzorcima jabučnog octa bez dodataka i u onom infuziranom vlaknima agavinog inulina, više koncentracije od literaturnih (FoodData Central, 2018., <https://fdc.nal.usda.gov>, pristupljeno, 05.03.2022.). Isto tako, zbog velikog rasapa pojedinih mjerenja, bilo bi potrebno provesti barem šest uzastopnih mjerenja.

Literaturni podaci navode da jabučni ocat sadrži 7 mg/100 g kalcija, te 5 mg/100 g magnezija. U svim uzorcima za oba metala su izmjerene značajno niže koncentracije kalcija i magnezija (FoodData Central, 2018., <https://fdc.nal.usda.gov>, pristupljeno, 05.03.2022.). Najveća izmjerena koncentracija kalcija odgovara 0,15% prosječne dnevne potrebe odraslih osoba. Najveća izmjerena koncentracija magnezija odgovara 0,79%, odnosno 0,92% adekvatnog dnevnog unosa za odraslog muškarca, odnosno ženu (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies(NDA), 2015a, 2015d).

Iz svega navedenog, primjećuje se kako je dodatak meda odnosno vlakna agavinog inulina u jabučni ocat rezultirao povećanjem, ali i smanjenjem određenih biogenih metala u jabučnom octu. U nastavku ove rasprave, pobliže je opisano djelovanje samih komponenti meda i vlakna inulina.



#### **4.2.1. Med**

Med je prirodni prehrambeni proizvod kojeg proizvode medonosne pčele (lat. *Apis mellifera*), te se smatra jednim od najstarijih tradicionalnih lijekova. Često se spominje antibakterijsko djelovanje meda te je utvrđeno da nezagrijani med ima široko antibakterijsko djelovanje na patogene bakterije (Mandal i Mandal, 2011). Mnogi istraživački radovi su prikazali i upotrebu meda za liječenje rana i infekcija. Med potiče stvaranje granulacijskog tkiva i epitelizaciju rana. Također potiče rast tkiva, sintezu kolagena i razvoj novih krvnih žila na mjestu rane (Al-Waili i sur., 2011). Biološki aktivne komponente u medu se mogu podijeliti na antibakterijske i antioksidativne. Antibakterijske komponente meda su visok sadržaj šećera, vodikov peroksid, niska aktivnost vode, prisutnost jakih kiselina te flavonoida i pčelinjeg defenzin-1. Uz antibakterijsko djelovanje, za antioksidativno su odgovorni polifenolni spojevi, vitamin C, vitamin E te enzimi poput katalaze i elementi u tragovima. Sastav meda prvenstveno ovisi o njegovom cvjetnom izvoru, ali i o sezonskim i ekološkim čimbenicima, tako da je kemijski sastav meda iznimno varijabilan. Različite vrste meda razlikuju se po biološkoj aktivnosti i kemijskom sastavu (Džugan i sur., 2018).

#### **4.2.2. Inulin**

Inulin je polisaharid topljiv u vodi te spada u skupinu neprobavljivih ugljikohidrata, fruktane. Često se koristi u prerađenoj hrani kao zamjena masti ili šećera te kako bi se postigle željene karakteristike, a daje samo 25-35% energije u usporedbi s probavljivim ugljikohidratima. Također potiče rast i razvoj pravilne mikrobiote crijeva u gastrointestinalnom traktu jer inulin djeluje kao prebiotik. Osim toga, inulin je prikladan za pripremu niskokaloričnih obroka za dijabetičare (Shoaib i sur., 2016). Inulin je pokazao nekoliko potencijalnih terapijskih prednosti poput smanjenja rizika nastajanja različitih karcinoma, poboljšanja apsorpcije kalcija, magnezija i željeza, uklanjanja zatvora te antioksidativnog djelovanja. Jedna od teorija povećane apsorpcije metala je smanjenje crijevnog pH, pošto prilikom fermentacije inulina u crijevima nastaju kratkolančane masne kiseline ili dodatne organske kiseline koje rezultiraju sniženjem pH debelog crijeva. Posljedično, niži pH povećava i bioraspoloživost kalcija (Shoaib i sur., 2016; Gupta i sur., 2019). Nekoliko studija je pokazalo i indirektno stimuliranje T stanica i NK stanica imunskog sustava (Shoaib i sur., 2016).

## 5. ZAKLJUČCI

1. Jabučni ocat predstavlja jedinstveni prirodni proizvod koji pridonosi zdravlju i osigurava homeostazu u staničnom metabolizmu.
2. Tehnikom masene spektrometrije s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS) u ispitivanim uzorcima jabučnog octa izmjerena je relativno mala količina kroma, mangana, željeza, bakra, cinka, kalcija i magnezija, mikroelemenata koji su važnih za održavanje funkcionalnosti mnogih biokemijskih proces u organizmu. Nedostatak ili suvišak tih mikroelemenata može dovesti do funkcionalnih poremećaja i kroničnih bolesti u organizmu.
3. Izmjereni sadržaj kroma u uzorcima jabučnog octa iznosi od 1,28 do 2,12  $\mu\text{g}$  na 100 g, ovisno o dodacima u jabučnom octu. Zbog slabe apsorpcije u gastrointestinalnom sustavu rijetke su nuspojave ingestije kroma te nije definirana gornja granica unosa. Inhalacija ili kontakt s kožom uzrokuju veću toksičnost za organizam te su odgovorni za dermalnu toksičnost i ulceracije u respiratornom traktu.
4. Izmjereni sadržaj mangana u uzorcima jabučnog octa iznosi od 9,22 do 12,66  $\mu\text{g}$  na 100 g, ovisno o dodacima u jabučnom octu. Primarna uloga mu je koenzim u biološkim procesima, te kontaminirana voda može dovesti do toksične akumulacije mangana u mozgu.
5. Izmjereni sadržaj željeza u uzorcima jabučnog octa iznosi od 50,58 do 86,53  $\mu\text{g}$  na 100 g, ovisno o dodacima u jabučnom octu. Željezo je neophodno u ljudskom organizmu te kao komponenta mnogih metaloproteina sudjeluje u brojnim biokemijskim procesima kao što su transport kisika u tkivima te metabolizam ksenobiotika. Sekundarno preopterećenje željezom moguće je uglavnom nakon davanja egzogenog željeza, npr. prilikom obilnih transfuzija krvi.
6. Izmjereni sadržaj bakra u uzorcima jabučnog octa iznosi od 8,55 do 18,77  $\mu\text{g}$  na 100 g, ovisno o dodacima u jabučnom octu. Bakar je esencijalni kofaktor u enzimima neophodnim za metabolizam, sudjeluje u antioksidativnom sustavu organizma te je održavanje koncentracija bakra bitno za prevenciju nastanka bolesti vezanih uz njegov manjak.
7. Izmjereni sadržaj cinka u uzorcima jabučnog octa iznosi od 29,32 do 55,24  $\mu\text{g}$  na 100 g, ovisno o dodacima u jabučnom octu. Rasap dobivenih vrijednosti usporedbom pojedinih mjerenja je najveći kod ovog elementa u tragovima. Na apsorpciju cinka utječe prisutnost fitinske kiseline, pa preporučeni dnevni unos cinka ovisi i o unosu fitinske kiseline. Aktivira brojne enzime, sudjeluje u pravilnom funkcioniranju imunološkog sustava i antioksidacijskog

sustava. Prilikom nedostatka javljaju se brojni poremećaji u nekoliko organskih sustava, te je dovoljan unos cinka kroz hranu i suplemente važan za funkcioniranje organizma.

8. Izmjereni sadržaj kalcija u uzorcima jabučnog octa iznosi od 1,00 do 1,14 mg na 100 g, ovisno o dodacima u jabučnom octu. Ravnoteža kalcija u organizmu ovisi o drugim sastavnicama hrane kao što su vitamin D i natrij. Služi za održavanje snage kostiju te je najzastupljenija komponenta u kostima. Dostatan unos vitamina D uz kalcij je neophodan za veću apsorpciju kalcija.

9. Izmjereni sadržaj magnezija u uzorcima jabučnog octa iznosi od 1,82 do 2,76 mg na 100 g, ovisno o dodacima u jabučnom octu. Magnezij ima ključnu ulogu u održavanju normalne funkcije i kontrakcije mišića. Niske razine magnezija u organizmu su povezane s raznim kroničnim i upalnim bolestima.

10. Dodatak meda i vlakna inulina nije doveo do povećanih koncentracija ispitivanih bioloških metala u jabučnom octu. Kod kroma, mangana, željeza, bakra, kalcija i magnezija su koncentracije metala manje u jabučnim octima sa sirovim medom i vlaknima inulina nego u jabučnom octu bez dodataka.

11. Svakodnevno uzimanje 1-2 žlice jabučnog octa razrijeđenog u 100 mL vode prije obroka, smanjuje razine postprandijalne glukoze te opskrbljuje organizam biološko važnim metalima koji su odgovorni za ispravno funkcioniranje i održavanje procesa u organizmu.

## 6. POPIS KRATICA

AAB	octene bakterije (eng. <i>Acetic acid bacteria</i> )
AD	Alzheimerova bolest (eng. <i>Alzheimer's disease</i> )
AI	optimalan unos (eng. <i>Adequate Intake</i> )
ATP7A	transportna ATP-aza bakra <i>alfa</i> (eng. <i>ATPase copper transporting alpha</i> )
ATP7B	transportna ATP-aza bakra <i>beta</i> (eng. <i>ATPase copper transporting beta</i> )
AR	prosječno potreban unos (eng. <i>average requirement</i> )
CaBP	kalbindin
CPS	eng. <i>counts per second</i>
CTR1	transportni protein bakra 1 (eng. <i>copper transport protein 1</i> )
Cu/Zn-SOD	bakar/cink super oksid dismutaza
DMT1	divalentni metalni transporter 1 (eng. <i>divalent metal transporter 1</i> )
DNA	deoksiribonukleinska kiselina (eng. <i>Deoxyribonucleic acid</i> )
DRI	prehrambeni referentni unos (eng. <i>Dietary Reference Intakes</i> )
EPR	elektronska paramagnetska rezonanca
GPX	glutation peroksidaza
GSH-RD	glutation reduktaza
HbA1C	glikozilirani hemoglobin
ICP-MS	induktivno spregnuta plazma s masenom spektrometrijom (eng. <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> )
IL-1 $\beta$	interleukin 1 <i>beta</i>
IL-6	interleukin 6
mg	miligram
mmol/L	milimol po litri
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
ND	nije definirano
NK stanice	stanice ubojice (eng. <i>Natural killer cells</i> )
NMDA	N-metil D-aspartat
PTH	paratireoidni hormon
RNA	ribonukleinska kiselina (eng. <i>Ribonucleic acid</i> )
RNS	reaktivni dušikovi radikali

ROS	reaktivni kisikovi radikali
SC	<i>stratum corneum</i>
SLE	sistemski eritemski lupus
TNF- $\alpha$	faktor nekroze tumora (eng. <i>Tumor necrosis factor</i> )
UL	gornja granica unosa (eng. <i>upper limit</i> )
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (eng. <i>World Health Organization</i> )
WND	Wilsonova bolest (eng. <i>Wilson's disease</i> )
$\mu\text{g}$	mikrogram

## 7. LITERATURA

- Al-Waili, N., Salom, K. and Al-Ghamdi, A.A. (2011) 'Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice', *TheScientificWorldJournal*, 11, pp. 766–787. doi:10.1100/tsw.2011.78.
- Barbagallo, M., Belvedere, M. and Dominguez, L.J. (2009) 'Magnesium homeostasis and aging', *Magnesium Research*, 22(4), pp. 235–246. doi:10.1684/mrh.2009.0187.
- Barceloux, D.G. (1999) 'Copper', *Journal of Toxicology. Clinical Toxicology*, 37(2), pp. 217–230. doi:10.1081/clt-100102421.
- Bonaventura, P. *et al.* (2015) 'Zinc and its role in immunity and inflammation', *Autoimmunity Reviews*, 14(4), pp. 277–285. doi:10.1016/j.autrev.2014.11.008.
- Boston, 677 Huntington Avenue and Ma 02115 +1495-1000 (2021) *Chromium*, *The Nutrition Source*. Available at: <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/chromium/> (Accessed: 20 April 2022).
- Bregnbak, D. *et al.* (2015) 'Chromium allergy and dermatitis: prevalence and main findings', *Contact Dermatitis*, 73(5), pp. 261–280. doi:10.1111/cod.12436.
- Budak, N.H. *et al.* (2014) 'Functional Properties of Vinegar', *Journal of Food Science*, 79(5), pp. R757–R764. doi:10.1111/1750-3841.12434.
- Chen, N.S., Tsai, A. and Dyer, I.A. (1973) 'Effect of chelating agents on chromium absorption in rats', *The Journal of Nutrition*, 103(8), pp. 1182–1186. doi:10.1093/jn/103.8.1182.
- Chen, P. *et al.* (2015) 'Manganese homeostasis in the nervous system', *Journal of Neurochemistry*, 134(4), pp. 601–610. doi:10.1111/jnc.13170.
- Chen, P., Bornhorst, J.B. and Aschner, M. (Invalid date) 'Manganese metabolism in humans', *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 23(9), pp. 1655–1679. doi:10.2741/4665.
- Choi, S., Liu, X. and Pan, Z. (2018) 'Zinc deficiency and cellular oxidative stress: prognostic implications in cardiovascular diseases', *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(7), pp. 1120–1132. doi:10.1038/aps.2018.25.
- Dolati, S. *et al.* (2020) 'The Role of Magnesium in Pathophysiology and Migraine Treatment', *Biological Trace Element Research*, 196(2), pp. 375–383. doi:10.1007/s12011-019-01931-z.
- Džugan, M. *et al.* (2018) 'Antioxidant Activity as Biomarker of Honey Variety', *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(8), p. E2069. doi:10.3390/molecules23082069.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2014a) 'Scientific Opinion on Dietary Reference Values for chromium', *EFSA Journal*, 12(10), p. 3845. doi:10.2903/j.efsa.2014.3845.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2014b) ‘Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc’, *EFSA Journal*, 12(10), p. 3844. doi:10.2903/j.efsa.2014.3844.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2015a) ‘Scientific Opinion on Dietary Reference Values for calcium’, *EFSA Journal*, 13(5), p. 4101. doi:10.2903/j.efsa.2015.4101.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2015b) ‘Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper’, *EFSA Journal*, 13(10), p. 4253. doi:10.2903/j.efsa.2015.4253.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2015c) ‘Scientific Opinion on Dietary Reference Values for iron’, *EFSA Journal*, 13(10), p. 4254. doi:10.2903/j.efsa.2015.4254.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2015d) ‘Scientific Opinion on Dietary Reference Values for magnesium’, *EFSA Journal*, 13(7), p. 4186. doi:10.2903/j.efsa.2015.4186.

Eide, D.J. (2011) ‘The oxidative stress of zinc deficiency’, *Metallomics: Integrated Biometal Science*, 3(11), pp. 1124–1129. doi:10.1039/c1mt00064k.

Erikson, K.M. and Aschner, M. (2019) ‘Manganese: Its Role in Disease and Health’, *Metal Ions in Life Sciences*, 19, p. /books/9783110527872/9783110527872-016/9783110527872-016.xml. doi:10.1515/9783110527872-016.

*FoodData Central* (no date). Available at: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/173469/nutrients> (Accessed: 18 April 2022).

Galaris, D., Barbouti, A. and Pantopoulos, K. (2019) ‘Iron homeostasis and oxidative stress: An intimate relationship’, *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Cell Research*, 1866(12), p. 118535. doi:10.1016/j.bbamcr.2019.118535.

Gao, H. *et al.* (2018) ‘The Role of Zinc and Zinc Homeostasis in Macrophage Function’, *Journal of Immunology Research*, 2018, p. 6872621. doi:10.1155/2018/6872621.

Gheflati, A. *et al.* (2019) ‘The effect of apple vinegar consumption on glycemic indices, blood pressure, oxidative stress, and homocysteine in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia: A randomized controlled clinical trial’, *Clinical nutrition ESPEN*, 33, pp. 132–138. doi:10.1016/j.clnesp.2019.06.006.

Grad, L.I. *et al.* (2017) ‘Clinical Spectrum of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)’, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 7(8), p. a024117. doi:10.1101/cshperspect.a024117.

Gröber, U., Schmidt, J. and Kisters, K. (2015) ‘Magnesium in Prevention and Therapy’, *Nutrients*, 7(9), pp. 8199–8226. doi:10.3390/nu7095388.

Guerrera, M.P., Volpe, S.L. and Mao, J.J. (2009) ‘Therapeutic Uses of Magnesium’, *American Family Physician*, 80(2), pp. 157–162.

- Gullo, M. and Giudici, P. (2008) 'Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: phenotypic traits relevant for starter cultures selection', *International Journal of Food Microbiology*, 125(1), pp. 46–53. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.076.
- Gupta, N. *et al.* (2019) 'Inulin: A novel and stretchy polysaccharide tool for biomedical and nutritional applications', *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, pp. 852–863. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.03.188.
- Hadi, A. *et al.* (2021) 'The effect of apple cider vinegar on lipid profiles and glycemic parameters: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials', *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), p. 179. doi:10.1186/s12906-021-03351-w.
- Hall, J.E. and Guyton, A.C. (2011) *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 12th ed. Philadelphia, Pa: Saunders/Elsevier.
- Hambidge, K.M. *et al.* (2010) 'Zinc bioavailability and homeostasis', *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), pp. 1478S–1483S. doi:10.3945/ajcn.2010.28674I.
- Ho, C.W. *et al.* (2017) 'Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review', *Food Chemistry*, 221, pp. 1621–1630. doi:10.1016/j.foodchem.2016.10.128.
- Hojyo, S. and Fukada, T. (2016) 'Roles of Zinc Signaling in the Immune System', *Journal of Immunology Research*, 2016, p. 6762343. doi:10.1155/2016/6762343.
- Huang, C.-C. *et al.* (1989) 'Chronic Manganese Intoxication', *Archives of Neurology*, 46(10), pp. 1104–1106. doi:10.1001/archneur.1989.00520460090018.
- Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients (2001) *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington (DC): National Academies Press (US). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222310/> (Accessed: 26 March 2022).
- Jagadeesan, S. and Kaliyadan, F. (2022) 'Acrodermatitis Enteropathica', in *StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441835/> (Accessed: 2 April 2022).
- Jarosz, M. *et al.* (2017) 'Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF- $\kappa$ B signaling', *Inflammopharmacology*, 25(1), pp. 11–24. doi:10.1007/s10787-017-0309-4.
- Johnston, K.A. and Lopez, K.M. (2018) 'Lysyl oxidase in cancer inhibition and metastasis', *Cancer Letters*, 417, pp. 174–181. doi:10.1016/j.canlet.2018.01.006.
- Kambe, T. *et al.* (2015) 'The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism', *Physiological Reviews*, 95(3), pp. 749–784. doi:10.1152/physrev.00035.2014.
- King, J.C., Shames, D.M. and Woodhouse, L.R. (2000) 'Zinc homeostasis in humans', *The Journal of Nutrition*, 130(5S Suppl), pp. 1360S–6S. doi:10.1093/jn/130.5.1360S.



- Kirkland, A.E., Sarlo, G.L. and Holton, K.F. (2018) 'The Role of Magnesium in Neurological Disorders', *Nutrients*, 10(6), p. E730. doi:10.3390/nu10060730.
- Kirsipuu, T. *et al.* (2020) 'Copper(II)-binding equilibria in human blood', *Scientific Reports*, 10(1), p. 5686. doi:10.1038/s41598-020-62560-4.
- Lane, J.M., Russell, L. and Khan, S.N. (2000) 'Osteoporosis', *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (372), pp. 139–150. doi:10.1097/00003086-200003000-00016.
- Leblondel, G. and Allain, P. (1999) 'Manganese transport by Caco-2 cells', *Biological Trace Element Research*, 67(1), pp. 13–28. doi:10.1007/BF02784271.
- Lee, S.R. (2018) 'Critical Role of Zinc as Either an Antioxidant or a Prooxidant in Cellular Systems', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, p. 9156285. doi:10.1155/2018/9156285.
- Li, Y. (2020) 'Copper homeostasis: Emerging target for cancer treatment', *IUBMB life*, 72(9), pp. 1900–1908. doi:10.1002/iub.2341.
- Lowe, N.M., Fekete, K. and Decsi, T. (2009) 'Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review', *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(6), pp. 2040S–2051S. doi:10.3945/ajcn.2009.27230G.
- Maares, M. and Haase, H. (2016) 'Zinc and immunity: An essential interrelation', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 611, pp. 58–65. doi:10.1016/j.abb.2016.03.022.
- Mandal, M.D. and Mandal, S. (2011) 'Honey: its medicinal property and antibacterial activity', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), pp. 154–160. doi:10.1016/S2221-1691(11)60016-6.
- Miao, L. and St. Clair, D.K. (2009) 'Regulation of Superoxide Dismutase Genes: Implications in Diseases', *Free radical biology & medicine*, 47(4), pp. 344–356. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.018.
- Moe, S.M. (2016) 'Calcium Homeostasis in Health and in Kidney Disease', *Comprehensive Physiology*, 6(4), pp. 1781–1800. doi:10.1002/cphy.c150052.
- Montalbetti, N. *et al.* (2013) 'Mammalian iron transporters: families SLC11 and SLC40', *Molecular Aspects of Medicine*, 34(2–3), pp. 270–287. doi:10.1016/j.mam.2013.01.002.
- Murphree, C.R. *et al.* (2020) 'Diagnosis and management of hereditary haemochromatosis', *Vox Sanguinis*, 115(4), pp. 255–262. doi:10.1111/vox.12896.
- Nishito, Y. and Kambe, T. (2018) 'Absorption Mechanisms of Iron, Copper, and Zinc: An Overview', *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 64(1), pp. 1–7. doi:10.3177/jnsv.64.1.
- Nordin, B.E. (1990) 'Calcium homeostasis', *Clinical Biochemistry*, 23(1), pp. 3–10. doi:10.1016/0009-9120(90)90309-i.
- Nordin, B.E. (1997) 'Calcium and osteoporosis', *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 13(7–8), pp. 664–686. doi:10.1016/s0899-9007(97)83011-0.

- Oboudiyat, C. *et al.* (2013) 'Alzheimer's disease', *Seminars in Neurology*, 33(4), pp. 313–329. doi:10.1055/s-0033-1359319.
- Oteiza, P.I. and Mackenzie, G.G. (2005) 'Zinc, oxidant-triggered cell signaling, and human health', *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4–5), pp. 245–255. doi:10.1016/j.mam.2005.07.012.
- Pavesi, T. and Moreira, J.C. (2020) 'Mechanisms and individuality in chromium toxicity in humans', *Journal of applied toxicology: JAT*, 40(9), pp. 1183–1197. doi:10.1002/jat.3965.
- Peñuelas, J. *et al.* (2019) 'The bioelements, the elementome, and the biogeochemical niche', *Ecology*, 100(5), p. e02652. doi:10.1002/ecy.2652.
- Petsiou, E.I. *et al.* (2014) 'Effect and mechanisms of action of vinegar on glucose metabolism, lipid profile, and body weight', *Nutrition Reviews*, 72(10), pp. 651–661. doi:10.1111/nure.12125.
- Reinhart, R.A. (1988) 'Magnesium metabolism. A review with special reference to the relationship between intracellular content and serum levels', *Archives of Internal Medicine*, 148(11), pp. 2415–2420. doi:10.1001/archinte.148.11.2415.
- Romani, A.M.P. (2011) 'Cellular magnesium homeostasis', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 512(1), pp. 1–23. doi:10.1016/j.abb.2011.05.010.
- Scheiber, I., Dringen, R. and Mercer, J.F.B. (2013) 'Copper: effects of deficiency and overload', *Metal Ions in Life Sciences*, 13, pp. 359–387. doi:10.1007/978-94-007-7500-8\_11.
- Scientific Opinion on Dietary Reference Values for manganese / EFSA* (no date). Available at: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3419> (Accessed: 18 April 2022).
- Seitz, J.-M. *et al.* (2014) 'Magnesium degradation products: effects on tissue and human metabolism', *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 102(10), pp. 3744–3753. doi:10.1002/jbm.a.35023.
- Sengun, I.Y. and Karabiyikli, S. (2011) 'Importance of acetic acid bacteria in food industry', *Food Control*, 22(5), pp. 647–656. doi:10.1016/j.foodcont.2010.11.008.
- Shelnutt, S.R., Goad, P. and Belsito, D.V. (2007) 'Dermatological toxicity of hexavalent chromium', *Critical Reviews in Toxicology*, 37(5), pp. 375–387. doi:10.1080/10408440701266582.
- Shin, H.-J., Na, H.-S. and Do, S.-H. (2020) 'Magnesium and Pain', *Nutrients*, 12(8), p. E2184. doi:10.3390/nu12082184.
- Shoaib, M. *et al.* (2016) 'Inulin: Properties, health benefits and food applications', *Carbohydrate Polymers*, 147, pp. 444–454. doi:10.1016/j.carbpol.2016.04.020.
- Silberstein, S.D. (2004) 'Migraine', *Lancet (London, England)*, 363(9406), pp. 381–391. doi:10.1016/S0140-6736(04)15440-8.

Tapiero, H., Townsend, D.M. and Tew, K.D. (2003) 'Trace elements in human physiology and pathology. Copper', *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 57(9), pp. 386–398. doi:10.1016/s0753-3322(03)00012-x.

Trenam, C.W., Blake, D.R. and Morris, C.J. (1992) 'Skin inflammation: reactive oxygen species and the role of iron', *The Journal of Investigative Dermatology*, 99(6), pp. 675–682. doi:10.1111/1523-1747.ep12613740.

Vallet, S.D. and Ricard-Blum, S. (2019) 'Lysyl oxidases: from enzyme activity to extracellular matrix cross-links', *Essays in Biochemistry*, 63(3), pp. 349–364. doi:10.1042/EBC20180050.

Van Laecke, S. (2019) 'Hypomagnesemia and hypermagnesemia', *Acta Clinica Belgica*, 74(1), pp. 41–47. doi:10.1080/17843286.2018.1516173.

Venkataramani, V. (2021) 'Iron Homeostasis and Metabolism: Two Sides of a Coin', *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1301, pp. 25–40. doi:10.1007/978-3-030-62026-4\_3.

Vincent, J.B. and Lukaski, H.C. (2018) 'Chromium', *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)*, 9(4), pp. 505–506. doi:10.1093/advances/nmx021.

Volpe, S.L. (2013) 'Magnesium in disease prevention and overall health', *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)*, 4(3), pp. 378S–83S. doi:10.3945/an.112.003483.

Weaver, C.M. and Peacock, M. (2011) 'Calcium', *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)*, 2(3), pp. 290–292. doi:10.3945/an.111.000463.

Wessels, I., Maywald, M. and Rink, L. (2017) 'Zinc as a Gatekeeper of Immune Function', *Nutrients*, 9(12), p. E1286. doi:10.3390/nu9121286.

Wilschefski, S.C. and Baxter, M.R. (2019) 'Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects', *The Clinical Biochemist Reviews*, 40(3), pp. 115–133. doi:10.33176/AACB-19-00024.

Winslow, J.W.W., Limesand, K.H. and Zhao, N. (2020) 'The Functions of ZIP8, ZIP14, and ZnT10 in the Regulation of Systemic Manganese Homeostasis', *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), p. E3304. doi:10.3390/ijms21093304.

*World health report : 2002* (no date). Available at: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9241562072> (Accessed: 18 April 2022).

Yagnik, D., Serafin, V. and J Shah, A. (2018) 'Antimicrobial activity of apple cider vinegar against Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Candida albicans; downregulating cytokine and microbial protein expression', *Scientific Reports*, 8(1), p. 1732. doi:10.1038/s41598-017-18618-x.

## 8. SAŽETAK/SUMMARY

Jabučni ocat je jedinstveni prirodni fermentirani proizvod bogat polifenolima, organskim kiselinama te drugim farmakološko aktivnim komponentama. Zbog blagotvornog utjecaja na metabolizam lipida i glukoze te antioksidativnog i antibakterijskog svojstva upotreba mu je sve češća. U jabučnom octu se nalaze i biološki važni metali koji su neophodni za ispravno funkcioniranje ljudskog organizma. Oni djeluju kao kofaktori u mnogim enzimima, imaju antioksidativno svojstvo, te je održavanje njihovih koncentracija u organizmu neophodno u prevenciji nastanka patoloških stanja. Sadržaj pojedinih metala u uzorcima jabučnih octi određen je metodom induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom (ICP-MS). Dodatak meda i vlakna inulina u jabučni ocat omogućio je međusobnu usporedbu s osnovnom namirnicom, jabučnim octom, i praćenje promjene koncentracije metala u tim uzorcima kao i utjecaj dodanih komponenti na sam sadržaj pojedinih metala.

Apple cider vinegar is a unique natural fermented product rich in polyphenols, organic acids and other pharmacologically active components. Due to its beneficial effect on lipid and glucose metabolism, as well as its antioxidant and antibacterial properties, its everyday use is becoming more frequent. Apple cider vinegar also contains biologically relevant metals that are necessary for the proper functioning of the human body. They act as cofactors for many enzymes and possess antioxidant properties. Maintaining their homeostasis in the body is necessary in the prevention of different pathological conditions. The content of individual metals in apple cider vinegar samples was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Addition of honey and inulin fiber to the apple cider vinegars made it possible to compare the biometals' concentrations of the „basic starter ingredient“, apple cider vinegar, and monitor changes in metal concentrations in the samples with addition of other supplements (honey and inulin). Moreover, the impact of added components on the content of individual metals was also assessed and discussed.

## 9. PRILOZI

**Tablica 9.** Rezultati mjerenja sadržaja kroma ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u jabučnom octu u duplikatu, srednje vrijednosti i standardne devijacije

	Jabučni ocat	Jabučni ocat infuziran vlaknima agavinog inulina	Jabučni ocat infuziran sirovim medom
1.	1,53	1,25	1,33
2.	2,70	1,68	1,24
$\bar{x}$	2,12	1,47	1,28
SD	0,83	0,31	0,07

**Tablica 10.** Rezultati mjerenja sadržaja mangana ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u jabučnom octu u duplikatu, srednje vrijednosti i standardne devijacije

	Jabučni ocat	Jabučni ocat infuziran vlaknima agavinog inulina	Jabučni ocat infuziran sirovim medom
1.	12,23	8,99	11,35
2.	13,08	9,45	10,61
$\bar{x}$	12,66	9,22	10,98
SD	0,60	0,32	0,52

**Tablica 11.** Rezultati mjerenja sadržaja željeza ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u jabučnom octu u duplikatu, srednje vrijednosti i standardne devijacije

	Jabučni ocat	Jabučni ocat infuziran vlaknima agavinog inulina	Jabučni ocat infuziran sirovim medom
1.	69,84	54,63	55,80
2.	103,23	65,53	45,38
$\bar{x}$	86,53	60,08	50,59
SD	23,62	7,70	7,37

**Tablica 12.** Rezultati mjerenja sadržaja bakra ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u jabučnom octu u duplikatu, srednje vrijednosti i standardne devijacije

	<b>Jabučni ocat</b>	<b>Jabučni ocat infuziran vlaknima agavinog inulina</b>	<b>Jabučni ocat infuziran sirovim medom</b>
<b>1.</b>	25,67	6,53	19,80
<b>2.</b>	11,87	10,57	16,59
$\bar{x}$	18,77	8,55	18,19
<b>SD</b>	9,76	2,86	2,27

**Tablica 13.** Rezultati mjerenja sadržaja cinka ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) u jabučnom octu u duplikatu, srednje vrijednosti i standardne devijacije

	<b>Jabučni ocat</b>	<b>Jabučni ocat infuziran vlaknima agavinog inulina</b>	<b>Jabučni ocat infuziran sirovim medom</b>
<b>1.</b>	14,54	9,68	35,30
<b>2.</b>	78,91	100,79	23,35
$\bar{x}$	46,723	55,24	29,32
<b>SD</b>	45,52	64,43	8,45

**Tablica 14.** Rezultati mjerenja sadržaja kalcija ( $\text{mg}/100\text{ g}$ ) u jabučnom octu u duplikatu, srednje vrijednosti i standardne devijacije

	<b>Jabučni ocat</b>	<b>Jabučni ocat infuziran vlaknima agavinog inulina</b>	<b>Jabučni ocat infuziran sirovim medom</b>
<b>1.</b>	1,12	0,95	1,10
<b>2.</b>	1,17	1,05	0,95
$\bar{x}$	1,14	1,00	1,02
<b>SD</b>	0,04	0,07	0,10

**Tablica 15.** Rezultati mjerenja sadržaja magnezija (mg/100 g) u jabučnom octu u duplikatu, srednje vrijednosti i standardne devijacije

	<b>Jabučni ocat</b>	<b>Jabučni ocat infuziran vlaknima agavinog inulina</b>	<b>Jabučni ocat infuziran sirovim medom</b>
<b>1.</b>	2,66	1,87	1,92
<b>2.</b>	2,87	2,01	1,72
$\bar{x}$	2,76	1,94	1,82
<b>SD</b>	0,15	0,10	0,15



**10. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC  
DOCUMENTATION CARD**

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju  
Ante Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### ODREĐIVANJE BIOLOŠKI VAŽNIH METALA U JABUČNOM OCTU I NJIHOVA FIZIOLOŠKA ULOGA

Lea Čelap

#### SAŽETAK

Jabučni ocat je jedinstveni prirodni fermentirani proizvod bogat polifenolima, organskim kiselinama te drugim farmakološko aktivnim komponentama. Zbog blagotvornog utjecaja na metabolizam lipida i glukoze te antioksidativnog i antibakterijskog svojstva upotreba mu je sve češća. U jabučnom octu se nalaze i biološki važni metali koji su neophodni za ispravno funkcioniranje ljudskog organizma. Oni djeluju kao kofaktori u mnogim enzimima, imaju antioksidativno svojstvo, te je održavanje njihovih koncentracija u organizmu neophodno u prevenciji nastanka patoloških stanja. Sadržaj pojedinih metala u uzorcima jabučnih octi određen je metodom induktivno spregnute plazme s masenom sprektrometrijom (ICP-MS). Dodatak meda i vlakna inulina u jabučni ocat omogućio je praćenje koncentracija metala te utjecaj tih dodanih komponenti.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 52 stranice, 7 grafičkih prikaza, 15 tablica i 86 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Jabučni ocat, ICP-MS, krom, mangan, željezo, bakar, cink, kalcij, magnezij, med, vlakna inulina

Mentor: **Izv. prof. dr. sc. Donatella Verbanac**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Prof. dr. sc. Lidija Bach Rojecky**, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*  
**Prof. dr. sc. Roberta Petlevski**, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: svibanj 2022.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Medical Biochemistry and Hematology  
Ante Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma Thesis

### DETERMINATION OF BIOLOGICALLY IMPORTANT METALS IN APPLE CIDER VINEGAR AND THEIR PHYSIOLOGICAL ROLE

Lea Čelap

#### SUMMARY

Apple cider vinegar is a unique natural fermented product rich in polyphenols, organic acids and other pharmacologically active components. Due to its beneficial effect on lipid and glucose metabolism, as well as its antioxidant and antibacterial properties, its everyday use is becoming more frequent. Apple cider vinegar also contains biologically relevant metals that are necessary for the proper functioning of the human body. They act as cofactors for many enzymes and possess antioxidant properties. Maintaining their homeostasis in the body is necessary in the prevention of different pathological conditions. The content of individual metals in apple cider vinegar samples was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Addition of honey and inulin fiber to the apple cider vinegars made it possible to compare the biometals' concentrations of the „basic starter ingredient“, apple cider vinegar, and monitor changes in metal concentrations in the samples with addition of other supplements (honey and inulin). Moreover, the impact of added components on the content of individual metals was also assessed and discussed.

The Thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 52 pages, 7 figures, 15 tables and 86 references. Original is written in Croatian language.

Keywords: Apple cider vinegar, ICP-MS, chromium, manganese, iron, copper, zinc, calcium, magnesium, honey, inulin fiber

Mentor: **Donatella Verbanac, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Lidija Bach Rojecky, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Robert Petlevski, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The Thesis was accepted: May 2022.