

# Određivanje udjela proteina u visokoproteinskim pločicama

---

**Birovčec, Ivana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:606675>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-25**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Ivana Birovčec**

7090/PT

**ODREĐIVANJE UDJELA PROTEINA U VISOKOPROTEINSKIM  
PLOČICAMA**  
**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Analitika prehrambenih proizvoda

**Mentor:** Doc. dr. sc. Marina Krpan

**Zagreb, 2018.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda  
Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### ODREĐIVANJE UDJELA PROTEINA U VISOKOPROTEINSKIM PLOČICAMA

*Ivana Birovčec, 0058206744*

#### Sažetak:

U današnje vrijeme zanimanje za proteinskim dodacima u prehrani sportaša i tjelesno aktivnih osoba u stalnom je porastu. Oni ih koriste u više svrha pa tako i za povećanje mišićne mase ili na primjer preoblikovanje tijela, no često nisu dovoljno informirani o njima. Naime, sastav na nutritivnoj deklaraciji proizvoda nije uvijek u skladu sa stvarnim sastavom čime se ugrožavaju potrošači i kvaliteta samog proizvoda. Stoga je cilj ovog rada bio odrediti udjel proteina u visokoproteinskim pločicama i usporediti ga s prehrambenim deklaracijama proizvoda. Udio proteina određen je u 10 uzoraka visokoproteinskih pločica, a za određivanje je korištena metoda po Kjeldahlu. Svi analizirani uzorci s obzirom na %-tak proteina u skladu su s Uredbom (EZ) br. 1924/2006 o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama koje se navode na hrani te time spadaju u visokoproteinske proizvode. Utvrđena odstupanja deklaracije proizvoda nalaze se unutar dopuštene granice koju je odredila Hrvatska agencija za hranu.

**Ključne riječi:** Kjeldahl, proteini, sigurnost hrane, visokoproteinske pločice

**Rad sadrži:** 25 stranica, 1 sliku, 6 tablica, 32 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** Doc. dr. sc. Marina Krpan

**Pomoć pri izradi:** Saša Drakula, mag. ing.

**Datum obrane:** 18. lipnja 2018.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Food Technology**

**Department of Food Quality Control**  
**Laboratory for Food Quality Control**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Food Technology**

### DETERMINATION OF THE PROTEIN FRACTION IN HIGHPROTEIN BARS

*Ivana Birovčec, 0058206744*

#### **Abstract:**

Nowadays, interest in protein supplements diet for athletes and physically active people is steadily increasing. They use them for multiple purposes, as well as for increasing muscle mass or for example body transforming, but are often not sufficiently informed about them. Namely, the composition on the nutrition declaration of the product is not always in accordance with the actual composition, thus endangering consumers and the quality of the product itself. Therefore, the aim of this paper was to determine the protein fraction in high protein bars and compare it to the food labeling of the product. Protein content was determined in 10 samples of high protein bars. Kjeldahl method was used to determine it. All the analyzed samples considering the percentage of proteins are in accordance with national statute 1924/2006 and thus belong to high protein products. The established deviations of product declaration are within permitted limit set by the Croatian Food Agency.

**Keywords:** food safety, high protein bars, Kjeldahl, proteins

**Thesis contains:** 25 pages, 1 figure, 6 tables, 32 references

**Original in: Croatian Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** PhD. Marina Krpan, Assistant professor

**Technical support and assistance:** Saša Drakula, MSc

**Defence date: June 18<sup>th</sup> 2018**

## **SADRŽAJ:**

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	
2.1. Proteini općenito.....	2
2.2. Probava proteina.....	3
2.3. Metabolizam proteina.....	4
2.4. Prehrambeni unos proteina.....	4
2.4.1. Prekomjerni unos proteina.....	6
2.5. Proteini kao dodaci u proizvodima namijenjenima za sportaše.....	6
2.5.1. Proteini u treninzima izdržljivosti.....	8
2.5.2. Proteini u treninzima jakosti i snage.....	9
2.6. Kontrola kvalitete visokoproteinskih proizvoda u sportu.....	11
2.7. Prodaja visokoproteinskih proizvoda u svijetu.....	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	
3.1. Uzorci.....	13
3.2. Određivanje udjela vode u uzorcima visokoproteinskih pločica.....	15
3.2.1. Materijali.....	15
3.2.2. Metoda.....	15
3.3. Određivanje udjela proteina u uzorcima visokoproteinskih pločica.....	16
3.3.1. Materijali.....	16
3.3.2. Metoda.....	16
4. REZULTATI I RASPRAVA	
4.1. Određivanje udjela vode u uzorcima visokoproteinskih pločica.....	19
4.2. Određivanje udjela proteina u uzorcima visokoproteinskih pločica.....	20
5. ZAKLJUČAK .....	22
6. LITERATURA.....	23

## 1. UVOD

Iako su visokoproteinski proizvodi na samom početku primjene bili namijenjeni većinom atletičarima, danas je sve širi raspon njihovih kupaca pa se, osim za zadovoljenje gladi, kupuju i radi percepcije kao izvora nutrijenata te „zdravog obroka“ (Trier i Johnston, 2012). Zbog toga je prodaja proteinskih pločica odnosno proteinskih proizvoda u stalnom rastućem trendu (Rigik, 2011).

U današnje vrijeme mnogi ljudi uzimaju visokoproteinske proizvode kao što su prahovi, napitci, pločice, pudinzi, tablete, koncentрати i drugi proizvodi (Shang i sur., 2017). Također, različiti su razlozi zašto ljudi koriste ovakvu vrstu dodataka prehrani pa ih tako neki koriste kako bi povećali mišićnu masu, kako bi smršavili, preoblikovali svoje tijelo te poboljšali izdržljivost i izvedbu kod pojedinih sportova, radi bržeg oporavka, odnosno brže regeneracije mišića nakon treniranja. Kod postizanja željenih rezultata u obzir treba uzeti gensko nasljeđe koje sudjeluje u oblikovanju morfoloških karakteristika i funkcionalnih sposobnosti, zatim tehniku izvođenja treninga te pristup planiranju prehrane koji ovisi o individualnim razlikama u tjelesnoj masi, visini i sastavu tijela pojedinca (Štalić i sur., 2016). Osim što se koriste u sportskoj prehrani, proteinske pločice imaju prednosti i u prehrani bubrežnih bolesnika jer njihovom konzumacijom mogu nadoknaditi gubitak proteina tijekom dijalize (Meade, 2007).

Navedeni proizvodi se koriste u svrhu postizanja što boljih rezultata, a potrošači moraju biti sigurni koliko količinu proteina unose u organizam, kako ne bi premašili preporuke. Također, cijena takvih proizvoda je povećana upravo iz razloga što se u njima nalaze proteini povećanog udjela (Banović i sur., 2018).

Cilj ovog rada bio je kontrola udjela proteina u visokoproteinskim pločicama te usporedba s nutritivnim navodima koji se nalaze na deklaraciji, a sve u svrhu provjere sigurnosti proizvoda i time zaštite potrošača. Udjel proteina određen je pomoću Kjeldahlove metode.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Proteini općenito

Proteini su građeni od aminokiselina (AK) koje su međusobno povezane peptidnom vezom nastalom između  $\alpha$ -amino i  $\alpha$ -karboksilnih skupina susjednih AK (Berg i sur., 2013). Kao što ističu Štalić i sur. (2016) slijed AK određuje funkciju proteina, a on ovisi o pohranjenoj informaciji u deoksiribonukleinskoj kiselini (DNK) u jezgri stanice. Funkcije proteina u našem tijelu su raznolike. Proteini koji izgrađuju kolagen su strukturni proteini, a oni koji izgrađuju aktin i miozin u mišićima nazivaju se kontraktilnim proteinima, iako kontraktilni proteini nisu samo proteini koji izgrađuju mišiće, već i neke druge stanice u našem tijelu kao što su na primjer (npr.) leukociti. Proteini imaju i funkcije transportnih molekula kao što je npr. hemoglobin. Oni su i imunoproteini (antitijela) te također hormoni (npr. inzulin) i enzimi (npr. probavni enzimi) (Štalić i sur., 2016).

Optimalni dnevni unos proteina vodi do pravilnog rasta te zdravlja tijela, kose i kože. Nedostatak može dovesti do raznih simptoma kao što je gubitak tjelesne mase, kosa postaje tanka i lomljiva kao i nokti, koža je blijeda i podložna raznim osipima, mogu se pojaviti i simptomi kao što je opća slabost, glavobolja, nesvjestica te slabo spavanje (Yanu i Jakmune, 2017). Protein je bitan nutrijent za ljudsko zdravlje i igra ključne uloge u mnogim biološkim procesima (Shang i sur., 2017). Osim njihovog doprinosa nutritivnim svojstvima hrane kroz osiguravanje AK koje su neophodne za ljudski rast i održavanje, proteini daju strukturnu osnovu za različita funkcionalna svojstva hrane (Li Chan i Lacroix, 2017). Također, osim što se koriste kao izvor energije i za sintezu tjelesnih proteina, proteini hrane važni su biološki entiteti koji pomažu u održavanju cjelokupnog rasta i funkcioniranja staničnog metabolizma. Dokazano je da povećanje unosa prehrambenih proteina može uzrokovati anabolički odgovor. Isto tako povećani unos proteina može poboljšati snagu mišića i tjelesnu funkciju, zdravlje krvožilnog sustava i upravljanje tjelesnom masom, metabolizam masti i glukoze te modulirati imunološki sustav. Poznato je i da proteini povećavaju cirkulirajuće razine inzulinskog faktora rasta i apsorpcije kalcija koji imaju anabolički učinak na mišiće, kosti i cjelokupno zdravlje (Shang i sur., 2017).

Postoji više podjela AK. Gledano s kemijskog stajališta, možemo ih podjeliti na polarne, nepolarne, pozitivno i negativno nabijene te aromatske AK (Li Chan i Lacroix, 2017). Također, Štalić i sur. (2016) navode da u prirodi postoji stotinjak AK, a 20 ih se pojavljuje u proteinima hrane i ljudskog tijela. Te AK mogu se podijeliti u tri skupine esencijalne, uvjetno esencijalne i neesencijalne (Tablica 1.). Također AK s obzirom na njihovo metaboličko djelovanje djelimo na glukogene i ketogene. Ugljikove okosnice deaminiranih AK koje se prevode u acetyl-CoA i

acetoacetat koji se zatim prevode u ketonska tijela nazivaju se ketogene AK, a ugljikove okosnice deaminiranih AK koje se prevode u piruvat i međuprodukte ciklusa limunske kiseline koji također mogu ići u glukoneogenezu nazivamo glukogene AK (Berg i sur., 2013).

Tablica 1. Podjela aminokiselina (Štalić i sur., 2016)

Esencijalne aminokiseline	organizam ih ne može sintetizirati ili osigurati u dovoljnim količinama	leucin (Leu), izoleucin (Ile), valin (Val), treonin (Thr), fenilalanin (Phe), triptofan (Trp), lizin (Lys), histidin (His), metionin (Met)
Uvjetno esencijalne aminokiseline	postaju esencijalne uslijed manjka njihovog prekursora	tirozin (Tyr), cistein (Cys), glutamin (Gln), arginin (Arg)
Neesencijalne aminokiseline	organizam ih sam proizvodi uz pravilnu prehranu	glicin (Gly), alanin (Ala), prolin (Pro), asparagin (Asn), aspartat (Asp), glutamat (Glu), serin (Ser)

## 2.2. Probava proteina

Temeljni cilj pravilne prehrane je osiguravanje hranjivih tvari, vode i energije za organizam. Iako dolazi do probave ugljikohidrata, lipida i proteina u ovom poglavlju biti će riječi samo o probavi proteina, koju su pobliže opisali Štalić i sur. (2016).

Probava proteina započinje u želucu uz pomoć pepsina kojeg izlučuju želučane žlijezde u neaktivnom obliku (pepsinogen). Da bi se aktivirao mora doći u kontakt s kloridnom kiselinom iz želučanog soka ili već stvorenim pepsinom. Probava se nastavlja u tankom crijevu pod utjecajem tripsina iz gušterače te aminopeptidaza i dipeptidaza iz sluznice tankog crijeva do AK. Osim tripsina, tu su kimotripsin i karboksipeptidaza. Oni prelaze u aktivni oblik tek nakon dolaska u dvanaesnik kako ne bi uništili tkivo same gušterače. Detaljnije djelovanje tripsina i kimotripsina opisali su Berg i sur. (2013). Tripsin cijepa veze iza ostataka arginina i lizina čiji se bazični ogranci vežu u procjep aktivnog mjesta s kiselim ostatkom aspartata, a kimotripsin cijepa peptidne veze iza aromatskih aminokiselinskih ostataka fenilalanina, triptofana i tirozina, čiji se veliki hidrofobni pobočni ogranci mogu smjestiti u duboki hidrofobni džep enzima.



Probavni proteolitički enzimi oslobađaju AK i peptide, koji se lako apsorbiraju u krvotok i daju svoje biološke funkcije (Shang i sur., 2017).

Nastale AK i peptidi se u kotransportu s natrijem prenose se do krvotoka i odlaze u jetru. Jetra rabi AK za sintezu proteina, dobivanje energije te za pretvorbu u ugljikohidrate i masti. Da bi se to dogodilo AK se prvo trebaju deaminirati odnosno izgubiti  $\text{NH}_2$ . Deaminacijom se obično stvara štetan amonijak, no jetra iz amonijaka stvara ureu koja se zatim izlučuje mokraćom (Šatalić i sur., 2016).

### **2.3. Metabolizam proteina**

Višak AK koji se unese u organizam ne može se niti uskladištiti niti izlučiti nego se upotrebljava kao metaboličko gorivo. Da bi služile kao metaboličko gorivo, mora doći do deaminacije AK, a to se događa postepeno.

Prvo mora doći do hidrolize peptidne veze proteina. Proteolitički enzimi postepeno cijepaju molekulu proteina obzirom da je ona u obliku globule pa je početna proteoliza usporena sve dok više peptidnih veza ne bude dostupno djelovanju proteolitičkog enzima čime se ona ubrzava. Stanični proteini koji više nisu potrebni ili oni oštećeni obilježavaju se vezanjem malog proteina ubikvitina. Takvi proteini razgrađuju se u proteasomu u peptide duge 7-9 AK. Daljnja razgradnja AK započinje reakcijom transaminacije nakon koje tek tada slijedi reakcija deaminacije. Nastale aminoskupine odlaze u ciklus uree. Time se višak amino skupina izluči iz organizma, a ugljikove okosnice imaju više puteva, a to su odlazak u citratni ciklus, sinteza masnih kiselina ili sinteza glukoze ili glikogena (Berg i sur., 2013).

Ukratko su to objasnili i Šatalić i sur. (2016) koji navode da deaminirane AK iz jetre i mišića imaju trojaku sudbinu. Glukogene AK mogu ići u sintezu glukoze kroz glukoneogenezu; sve AK potencijalni su izvor acetyl-CoA te se zbog toga mogu pretvoriti u masti; AK mogu ući u proces oksidacije na nekom od mjesta u Krebsovom ciklusu i tako stvoriti određenu količinu energije. AK od kojih potječe energija su uglavnom razgranatih lanaca, a to su Leu, Ile, Val te Gln i Asp.

### **2.4. Prehrambeni unos proteina**

Proteine je bitno unositi u organizam zato što se oni svakodnevno razgrađuju i sintetiziraju. U ljudskom tijelu proteini i drugi spojevi koji sadržavaju dušik neprekidno se razgrađuju i pridonose aminokiselinskom bazenu iz kojeg se prekursori i AK ponovno koriste za različite već navedene funkcije. Proteini mišića tj. somatski proteini u ravnoteži su s

cirkulirajućim AK i svaki se dan jednaka količina proteina sintetizira odnosno razgradi (Štalić i sur., 2016). Proteini su strukturni nutrijenti, koji čine 75 % ukupne tjelesne mase na suhoj osnovi. Oni su od vitalnog značaja za život od početka začeća do starosti za održavanje pravilne funkcije organizma (WHO / FAO / UNU Expert Consultation, 2007).

Zahtjevi za unos proteina ovise o dobi, veličini i masi tijela, spolu, fiziološkim stanjima (uključujući trudnoću, bolest i kondiciju). Sva energija koju unosimo hranom ne potječe samo od proteina, već većinom od ugljikohidrata i masti. Preporučeni unosi proteina (Tablica 2.) međuostalim i za odrasle osobe je 0,8 g/kg tjelesne mase (TM) što se osigurava unosom proteina u rasponu od 10-35 % cjelodnevnog unosa energije. Ova preporuka podrazumijeva da je ostvarena energetska ravnoteža, što kod tjelesno aktivnih pojedinaca, često nije slučaj jer se unos energije namjerno ograničava radi postizanja željene mase. Dakle, preporučeni unos proteina za tjelesno aktivne osobe je drugačiji osobito u sportaša (Štalić i sur., 2016). Shang i sur. (2018) navode veći preporučeni unos proteina od 1 g/kg posebno za populaciju poput trudnica i dojilja, dojenčadi, predškolske djece i starijih osoba. Ljudi ne trebaju proteine kao energiju, već za povećanje mase tjelesnih stanica tijekom rasta, oporavka ili prilagodbe i održavaju je pod stalnim uvjetima. Adekvatan unos proteina neophodan je za održavanje proteinskog sadržaja određenih tkiva i organa uključujući kožu, mozak, srce, jetru i bubreg. Oni pomažu održati ravnotežu između anaboličkih i kataboličkih metabolizma, a bilo koji dulji gubitak proteina u tijelu igra glavnu ulogu u razvoju mnogih štetnih zdravstvenih problema (Shang i sur., 2018).

Osim toga, također se koriste kiselinški ili bazični tretmani u svrhu deaminiranja ili cijepanja peptidnih veza kako bi se proizveli hidrolizati (Li Chan i Lacroix, 2017). Unos potrebnih količina proteina temeljan je za ljudski rast i zdravlje. Unos hrane bogate visokokvalitetnim proteinima i peptidima, osobito onima s višestrukim funkcijama može imati golem utjecaj na zdravlje i dobrobit za organizam, biti u mogućnosti optimizirati zdravlje i stoga spriječiti infekcije, bolesti i druge zdravstvene poremećaje. To ima golem potencijal za smanjenje troškova zdravstvene skrbi za koje se očekuje da će u budućnosti dramatično porasti (Shang i sur., 2017).

Tablica 2. Preporuke za unos proteina (Burke i Deakin, 2010)

SKUPINA	g/kg TM
Tjelesno neaktivne osobe	0,8-1
Vrhunski sportaš (izdržljivost)	1,6
Tjelesna aktivnost umjerenog intenziteta (izdržljivost)*	1,2

Tablica 2. Preporuke za unos proteina (Burke i Deakin, 2010)-nastavak

Rekreativac (izdržljivost)**	0,8-1
Nogomet i sportovi snage	1,4-1,7
Početak (snaga)	1,5-1,7
Ravnotežno stanje (snaga)	1-1,2
Žene	10-20 % manje od muškaraca

\*45-60 min 4-5/tjedan

\*\*30 min 4-5/tjedan pri <55 % VO<sub>2max</sub>

### 2.4.1. Prekomjereni unos proteina

Proteini se smatraju novom strategijom za prevenciju osteoporoze jer su najvažniji i najznačajniji nutrijenti za ljudsko tijelo. Smatrali su se dvosjeklim mačem za održavanje zdravlja kostiju u posljednjih nekoliko desetljeća. Neki istraživači su izvijestili da bi neadekvatan, previsok unos proteina mogao imati štetne učinke te su smatrali da je prehrana visokim udjelom proteina faktor rizika za osteoporozu ili lom kostiju zbog poticanja povećanog izlučivanja kalcija putem mokraće i sistemske acidoze, čime se potiče razgradnja kostiju (Shang i sur., 2017). Također, Hunt i sur. (2009) navode kako je jedna od potencijalno negativnih posljedica previsokog unosa proteina povećani gubitak kalcija urinom. Posljedica toga je smanjenje rezerve kalcija u kostima, što povećava rizik od osteoporeze. Provedena su još neka istraživanja te se došlo do sljedećih zaključaka, s obzirom na previsoki unos proteina. Prehrana s visokim udjelom proteina rezultirala je povećanim izlučivanjem kalcija u urinu, ali također i povećanom apsorpcijom intestinalnog kalcija. Što je još važnije, nema dokaza koji ukazuju da povećana kalciurija pridonosi negativnoj ravnoteži kalcija i gubitku koštane mase (Shang i sur., 2016). Isto tako, ako se prehranom osigura omjer kalcija (mg) : proteina (g) > 20 : 1, tada povećani unos proteina nema štetan učinak na organizam.

Još neki štetni učinci previsokog unosa proteina su dehidracija zbog povećane potrebe za izbacivanjem uree, s obzirom da je za stvaranje mokraće potrebna voda, smanjenje razine testosterona te kod osoba s postojećom oslabljenom funkcijom bubrega visok unos proteina što ostavlja negativan učinak na bubrežnu funkciju (Šatalić i sur., 2016).

### 2.5. Proteini kao dodaci u proizvodima namijenjenima za sportaše

Visokoproteinske proizvode klasificiramo prema vremenu njihove konzumacije ovisno o fizičkoj aktivnosti. Mogu se koristiti prije vježbanja za povećanje mišićne mase i jakosti, za

vrijeme vježbanja za osiguravanje energije i izdržljivosti, a nakon vježbanja pomažu u oporavku mišića (De Ceglie i sur., 2015).

Ovi dodaci se koriste kada je cilj povećati tjelesnu masu, kada je energetska potrošnja iznimno velika, a raspored treninga ne omogućava preporučena tri dnevna obroka (zajutrok, ručak i večera) i dva međuobroka (doručak i užina). Korisno je rasporediti dnevni unos hrane u što veći broj obroka/međuobroka. Time se može postići veći ukupan dnevni unos energije i osigurava se kontinuirana opskrba proteinima (Štalić i sur., 2016). Smatra se da periodično unošenje smanjene količine ugljikohidrata i povišene količine proteinskih suplemenata može povećati prilagodbu na trening, dok visoka dostupnost ugljikohidrata i antioksidanskih suplemenata može smanjiti prilagodbu na trening (Close i sur., 2016). Proteinski proizvodi smatraju se bitnim dodatkom sportske prehrane, a na tržištu postoji mnogo komercijalnih proizvoda, kao što su proteinski prah, energetska pića, energetske i visokoproteinske pločice te drugi (Shang i sur., 2017). Većina proteinskih dodataka proizvedena je u obliku praha, bilo da se radilo o proteinima sirutke, kazeina, jaja ili soje, a prilikom konzumacije se prah pomiješa s vodom ili mlijekom. Bitno je da se dodaci uzimaju u ravnoteži s prehranom da ne bi došlo do narušavanja zdravlja ljudskog organizma (De Ceglie i sur., 2015). Najčešći izvori proteina kao suplemenata jesu iz mlijeka, jaja i soje. Mliječni proizvodi, koji sadrže razne bioaktivne proteine, su savršen izbor za poboljšanje sportskih izvedbi i pomažu u povećanju povoljne promjene sastava tijela u sportaša (Shang i sur., 2017). Mlijeko se sastoji od proteina sirutke (20 %) i proteina kazeina (80 %). Dodaci na bazi proteina sirutke i kazeina su široko dostupni i smatraju se korisnima za atletski učinak (Shang i sur., 2017). Jedini nedostatak mlijeka je taj što ga ne podnose osobe s intolerancijom laktoze jer imaju manjak enzima laktaze za probavu. Proteini sirutke se brže probavljaju i dopijevaju u krv (2-3 sata), za razliku od kazeina koji se sporije probavlja (6 h), jer u želucu dolazi do grušanja kazeina, ali on s tim osigurava dugotrajniji priljev AK u krv (Štalić i sur., 2016; Caballero i sur., 2016). Shang i sur. (2017) radili su istraživanje gdje su upotrijebili intrinzično obilježene frakcije proteina mlijeka kako bi se istražila pojava AK u cirkulaciji nakon uzimanja proteina i pokazali su da se kazein probavlja puno sporije od proteina sirutke. Iako je samo blago povećanje sinteze proteina bilo rezultat probave kazeina, značajna inhibicija razgradnje proteina upućuje na moguću funkciju kazeina u smanjenju katabolizma mišićnih proteina. Kazein ima antikataboličku funkciju, ali ne sudjeluje u poboljšanju sinteze proteina (Shang i sur., 2017; De Ceglie i sur., 2015). Uzimanje proteina sirutke izaziva visoku razinu AK u krvi koja potiče sintezu proteina. Proteini sirutke vrlo su bogati esencijalnim AK i imaju najveću prehrambenu vrijednost od svih prehrambenih proteina (Dullius i sur., 2108). U odnosu na ostale izvore proteina, sirutka sadrži veliki udio AK razgranatog lanca kao što su Leu, Ile i Val. Razgranata AK Leu smatra se ključnim regulatorom

postprandijalne sinteze proteina u mišićima. Leu inhibira sintezu triglicerida, potiče razgradnju masnih stanica (lipoliza) i povećava oksidaciju masti u mišićnim stanicama. Osim toga, Leu potiče mehanizme za inicijaciju translacije sinteze proteina mišića. Učinak Leu na sintezu mišićnih proteina može biti jedan od ključnih načina na koji mlijeko i mliječni proizvodi omogućavaju porast mišićne mase nakon vježbi izdržljivosti i štednju mišića tijekom gubitka tjelesne mase (Shang i sur., 2017; De Ceglie i sur., 2015). Ile i Val također stimuliraju sintezu proteina, iako je njihova ergogena aktivnost još uvijek predmet rasprave (De Ceglie i sur., 2015). Različita bioaktivnost proteina sirutke i kazeina sugerira da kombinacija proteina sirutke i kazeina može biti učinkovitija za izgradnju mišića i/ili održavanje i oporavak mišića. Nedostaci suplemenata proteina sirutke jesu visoka cijena i potrebno miješanje praha s vodom (Šatalić i sur., 2016). Uz mliječne proteine, meso, jaja i soja smatraju se visokokvalitetnim izvorom proteina korisnim za sportaše (Shang i sur., 2018). Visokokvalitetan protein definiran je kao onaj koji osigurava sve esencijalne AK u fiziološki potrebnim količinama, osigurava dovoljno drugih AK koje su izvor dušika za sintezu neesencijalnih AK i lako je probavljiv. Proteini soje osiguravaju sve esencijalne AK potrebne za sintezu proteina. Oni su nekoć smatrani manjkavima na metioninu, ali su zapravo potpuni. To su objasnili Šatalić i sur. (2016). Razlog prijašnje ocjene njihove kvalitete kao lošije je što laboratorijski štakori na kojima su provedena istraživanja imaju 50 % veće potrebe za metioninom (Met) u odnosu na čovjeka (Res i sur., 2012). Proteini soje osiguravaju sve AK u količini potrebnoj odraslom čovjeku pri unosu od najmanje 0,6 g/kg TM. Negativna strana soje je što je ona izvor fitoestrogena i postoje zabilježeni (rijetki) slučajevi ginekomastije (povećanje muške dojke) i sniženja razine testosterona u slučaju povećane konzumacije. Proteini jaja se s obzirom na aminokiselinski sastav također smatraju idealnim.

No, također treba znati da uz adekvatan unos energije i unos proteina u visini 15 % energetskeg unosa, dodaci prehrani s proteinima i AK nisu potrebni.

### **2.5.1. Proteini u treninzima izdržljivosti**

Trening izdržljivosti definira se izvedbom koja se sastoji od relativno niskog intenziteta kontrakcija mišića kroz relativno dugo vrijeme (Close i sur., 2016).

Danas su mnogi sportaši podvrgnuti treninzima izdržljivosti kao što su npr. atletičari, plesači, gimnastičari (Šatalić i sur., 2016). Trening izdržljivosti rezultira ne samo središnjom prilagodbom krvožilnog sustava već povećanom oksidacijom nekoliko AK, kao što je Leu te dodatno povećava ukupne zahtjeve za unos proteina (Shang i sur., 2017). Stoga je važno osigurati adekvatne količine proteina sportašima koji se bave treniranjem snage i izdržljivost.

Naime, potencijal povećane oksidacije AK koristan je ako dođe do manjka raspoloživih ugljikohidrata. Energiju za vježbe izdržljivosti ponajprije osiguravaju masti i ugljikohidrati. Skeletni mišići koriste i esencijalne razgranate AK (Leu, Ile, Val) te Lys, a kako su njihov jedini izvor hrana i tjelesni proteini, vježbe izdržljivosti povećavaju potreban unos proteina na 1,2-1,4 g/kg TM (Štalić i sur., 2016). Vježbe izdržljivosti korisno je započeti s odgovarajuće popunjenim rezervama glikogena jer se time sprječava degradacija mišićnih proteina. Tijekom vježbi izdržljivosti dodatak proteina ugljikohidratima ima ergogeni učinak tj. učinak koji poboljšava sportsku izvedbu, vjerojatno zbog osiguravanja dodatnog izvora energije (Štalić i sur., 2016). Uviđeno je da AK poboljšavaju sportsku izvedbu jer daju ergogene učinke koji su bitni za porast izlučivanja anaboličkih hormona, poboljšanje korištenja energije te za otpor na mentalni i tjelesni umor (De Ceglie i sur., 2015). Međutim, kad je opskrba ugljikohidratima tijekom i nakon vježbi izdržljivosti adekvatna, suplementacija proteinima ne rezultira dodatnim koristima u smislu poštede trošenja mišićnog glikogena (tijekom) ili njegova bržeg obnavljanja (nakon), ali suplementacija proteinima nakon aktivnosti ima koristan anabolički učinak pa pomaže oporavku mišića (Štalić i sur., 2016).

U slučaju treninga izdržljivosti, novi podaci upućuju na to da namjerna razdoblja smanjene dostupnosti ugljikohidrata mogu poboljšati prilagodbe na izdržljivost tako da se poboljša mitohondrijska biogeneza, poraste oksidacija masti i poveća otpor prema umoru (Close i sur., 2016).

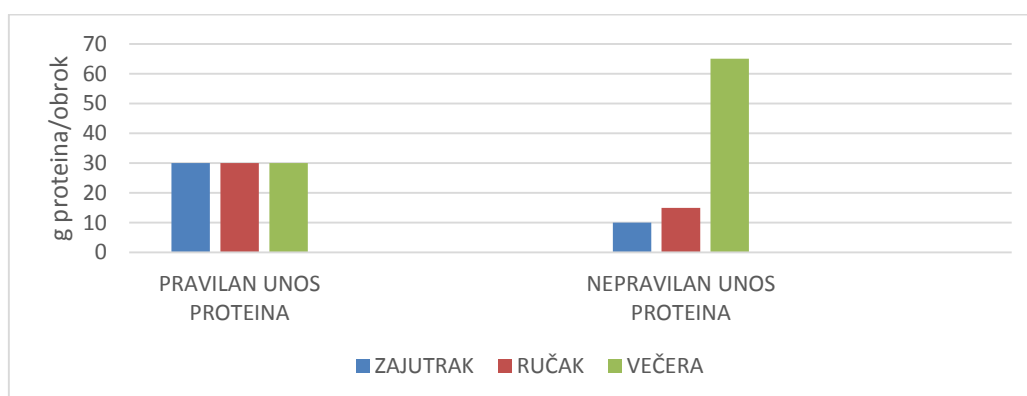
### **2.5.2. Proteini u treninzima jakosti i snage**

Treninzi jakosti i snage definiraju se izvedbom koja se sastoji od mišićnih kontrakcija relativno jakih intenziteta koji su podložni velikom otporu u relativno kratkom periodu (Close i sur., 2016).

U treninge jakosti i snage najčešće se svrstavaju treninzi *bodybuildera*. Njima također treba nešto veći unos proteina nego što bi trebalo osobama koje nisu aktivne, ali otprilike podjednak unos proteina kao i osobama koje primjenjuju treninge izdržljivosti (Tablica 2.). Štalić i sur. (2016) također navode da je zbog mišićnog rasta, posebno u početnika u prvim fazama treninga (3-6 mjeseci), preporučan unos proteina povećan. U iskusnih vježbača, zbog djelotvornijeg korištenja proteina unos može biti i manji, ali je ipak potreban nešto veći unos proteina u odnosu na tjelesno neaktivne pojedince zbog povećane sinteze/razgradnje proteina. U kontekstu treninga snage dobro je poznato da su proteinski dodaci potrebni za unaprjeđenje mišićnog rasta zbog dostupnosti potrebnih AK koje aktiviraju i unapređuju sintezu mišićnih proteina (Close i sur., 2016). Dobro je znati da ravnomjeran unos proteina po obrocima u

odnosu na manji unos ujutro i najveći navečer rezultira 25 % većom sintezom mišićnih proteina (Slika 1.). Sinteza proteina pojačana je 24-48 h nakon vježbi snage, također i razgradnja, ali odnos tih dvaju procesa je takav da su mišići u pozitivnoj ravnoteži. Poželjno je unos proteina osigurati 1 h nakon aktivnosti. Koristan je i unos prije vježbanja, ali zasigurno u manjoj mjeri. Također Res i sur. (2016) navode da nedavno objavljeno istraživanje prvi put nudi dokaze da se proteini uneseni 30 min prije spavanja (nekoliko sati nakon anaerobnog vježbanja) tijekom noći djelotvorno probavljaju i apsorbiraju te potiču sintezu mišićnih proteina. Za razliku od vježbi izdržljivosti gdje se povećava potreba za AK zbog njihove oksidacije, kod vježbi snage i jakosti se potreba za AK povećava radi održavanja hipertrofije mišića (Shang i sur., 2017). Dakle, u razdoblju nakon vježbi snage potrebno je osigurati hranjive tvari. Kombinacija proteina i ugljikohidrata osigurava AK za sintezu proteina potrebnu za hipertrofiju mišića, a ugljikohidrati ne potiču dodatnu sintezu, ali imaju povoljan utjecaj jer ublažavaju razgradnju mišića nakon aktivnosti. (Šatalić i sur., 2016). Kod vježbi snage i jakosti, preporučeni izvor proteina je mlijeko, što potvrđuju Shang i sur. (2017). U odnosu na proteine mlijeka, proteini soje slabije podržavaju hipertrofiju mišića. Iako, uočeno je da protein soje potiče sintezu mišićnih proteina u treninzima snage kod mladih muškaraca. Oko 20 g potpunih proteina (što odgovara količini od 8,6 g esencijalnih AK) osigurava maksimalnu sintezu proteina nakon vježbi snage. Većim unosima ne postižu se dodatni rezultati nego se suvišak proteina iskorištava kao izvor energije (Šatalić i sur., 2016). Provedena su brojna istraživanja o tome kako je mlijeko kao izvor proteina djelovalo na samu sintezu proteina nakon treninga snage.

Neki rezultati istraživanja bili su pozitivni. Pokazalo se da potrošnja mlijeka nakon vježbi snage povećava sintezu mišića proteina u većoj mjeri od ostalih izvora proteina. Kombinacija mlijeka i proteina sirutke u vježbama snage mogu izrazito povećati brzinu povećanja mišića s manjim razlikama između spolova (Shang i sur., 2017). Na slici 1. prikazan je unos proteina po obrocima.



Slika 1. Unos proteina po obrocima

(Šatalić i sur., 2016)

## 2.6 Kontrola kvalitete visokoproteinskih proizvoda

U sportskoj industriji je konzumacija dodataka prehrani doživjela procvat, ali je potrebna učestala kontrola njihove kvalitete, iako prema EU direktivi (2002) za dodatke prehrani oni moraju biti sigurni s obzirom na čistoću sastava i prema udjelima koji su navedeni na deklaraciji.

U časopisu *Appetite* objavljeno je istraživanje prema kojem su ispitanici nezadovoljni informacijama na deklaraciji te navode kako su deklaracije na proizvodima s visokim udjelom proteina sumnjive i upitne te zbog toga postoji potreba da se nadopune informacije o udjelu proteina navodeći točne oznake porijekla i količine proteina (Banović i sur., 2018). Na tržištu je moguće naći mnogo proizvoda koji se prodaju pod kategorijom sportske hrane s ergogenim dodacima. Dodaci u sportskoj prehrani podrazumijevaju pića i pločice kao posebnu alternativu hrani za trajne intenzivne, fizičke treninge. Dodaci prehrani su proizvodi bogati vitaminima, mineralnim tvarima i antioksidansima, dok su ergogeni dodaci obogaćeni specifičnim hranjivim tvarima kao što su kreatin, AK i izolirani proteini. Proizvodi potrebni za rast i sintezu mišića imaju visoki udjel proteina i stavljeni su na tržište kao AK, proizvodi za zamjenu obroka, kreatin i proteinski dodaci. Proteini sirutke u prahu prodaju se u obliku koncentrata, izolata ili hidrolizata, ali u pravilu je dostupnost koncentrata puno manja nego izolata (De Ceglie i sur., 2015). Kao i u prehrambenoj industriji i na polju sportskih dodataka postoje različiti tipovi prevara. Mnoge od njih su povezane s prisutnošću nedeklariranih sastojaka, kao što su zabranjeni stimulansi (Geyer i sur., 2008). Zatim može se dogoditi da je sadržaj proteina niži nego što je naznačeno na deklaraciji ili da se koriste proteini s niskom prehrambenom vrijednosti. U istraživanju Garrida i sur. (2016) provedena je kontrola kvalitete proteina sirutke pomoću proteomike gdje se pokazalo da kupci ne dobivaju kvalitetan proizvod iako ga skupo plaćaju jer su proteini sirutke zamijenjeni jeftinijim proteinima s nižom prehrambenom vrijednošću. Također patvorenja proteina sirutke su dosta često vezana za proizvod kao što je mlijeko u prahu. U njih se dodaju spojevi s visokim udjelom dušika koji maskiraju sadržaj proteina koji se mjeri Kjeldahlovom metodom (Abernethy i Higgs, 2013). Još jedna od metoda patvorenja proteina sirutke je dodatak slobodnih AK kao što je Gly koje su jeftinije nego koncentrat proteina sirutke. U Sjedinjenim Američkim Državama (engl. *United States of America*, SAD) ovakvi proizvodi se mogu naći u dućanima bez dozvole Američke uprave za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA), ali su prodavači odgovorni za njihovu kvalitetu i sigurnost te trebaju slijediti dobru proizvođačku praksu koja je odobrena od strane FDA. U Europskoj uniji (EU) Direktiva 2002/46/EC (EU, 2002) regulira samo dodatke koji sadrže vitamine i mineralne tvari (De Ceglie i sur., 2015). Iako su razvijene mnoge



analitičke metode u svrhu procjene autentičnosti proizvoda te u svrhu zaštite zdravlja potrošača, one se odnose uglavnom na procjenu prisutnosti kontaminanta kao što su steroidi (Geyer i sur., 2008), nedeklarirani sintetički lijekovi i anaboličke tvari (De Ceglie i sur., 2015). Suprotno tome, malo je studija posvećeno procjeni kvalitete visokoproteinskih proizvoda koji se koriste u prehrani sportaša.

Među brojnim tehnikama koje se koriste za ovakve analize, najbolja se pokazala metoda laserske desorpcijske ionizacije (engl. *Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry*, MALDI-TOF-MS), zato što ima mnoge prednosti pred elektroforetskim i kromatografskim metodama kao što su brzina, osjetljivost i jednostavnost primjene (De Ceglie i sur., 2015).

## **2.7. Prodaja visokoproteinskih proizvoda u svijetu**

Tržište proteinskih dodataka brzo raste osobito u području prehrane i zdravlja. Mnogi visokoproteinski proizvodi kao što su prahovi, napitci i pločice uspješno su stavljeni na tržište, a očekuje se da će ovaj trend nastaviti s rastom u nadolazećim desetljećima (Shang i sur., 2017).

Prodaja proteinskih pločica prema Rigiku (2011) povećala se od 1997. s 200 milijuna \$ do 2010. na 1,7 milijardi \$. Iako se sportska prehrana istražuje već preko 50 godina i dalje je zanimanje za nju u velikom porastu (Close i sur., 2016). U današnje vrijeme proteinski dodaci prehrani se jako brzo šire tržištem, a smatra se da je porast za njihovo zanimanje tek na početku te da će kroz naredne godine doživjeti još veći porast, a to potvrđuju i sljedeći navodi u kojima su navedeni mnogi proizvođači poznati u svijetu današnjice (Shang i sur., 2017). Proteinski dodaci su temelj u kategoriji sportske prehrane i sportskih proizvoda, osobito u zapadnim zemljama Amerike gdje promet sportske prehrambene industrije iznosi 33 milijarde dolara. Glavni proizvođači *Premier Nutrition*, *Dymatize* i *PowerBar*, proizvode visokoproteinske proizvode kao što su sirutka u prahu, proteinske napitci i proteinske pločice za sportaše (Premier Nutrition, 2017; Dymatize, 2017). Tu je još i *CytoSports* (2017) s proizvodima *Muscle Milk* i *Monster Protein*. Atkins se više usredotočuje na ljubitelje vježbanja, ali ne i na profesionalne sportaše. Njihove nove proteinske pločice i napitci sadržavaju visokokvalitetni protein sirutke kako bi zadovoljili potrebe proteina početnih zaljubljenika u vježbanje (Atkins, 2017). U Australiji je vodeći proteinski brend Aussie bodies, a neki od proizvoda jesu *Lo Carb protein bar*, *HPLC bar*, *protein FX* (Vitaco health, 2017).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Uzorci

U ovom radu ispitan je udjel proteina i udjel vode u deset uzoraka visokoproteinskih pločica koje pripadaju različitim brendovima dostupnim na hrvatskom tržištu, također prema nutritivnoj deklaraciji oni sadrže različite udjele proteina, a kretali su se od 30 do 50 %. Pločice su uglavnom bile čokoladnog okusa (1., 8., 6.), a nekoliko njih i voćnog (7., 9., 10.) (Tablica 3.). Svi analizirani uzorci sadržavaju proteine porijeklom iz mlijeka.

Tablica 3. Uzorci i njihov sastav naveden na deklaraciji proizvoda

UZORAK	NAZIV PROIZVODA I PROIZVOĐAČ	SASTAV	UDIO PROTEINA
1.	<i>Pločica</i> MilkyWay- Mars	Mliječna proteinska mješavina, mliječna čokolada, hidrolizirani kolagen, tvar za zadržavanje vlage (glicerol), glukozni sirup, frukto-oligosaharid, albumin jajeta, punomasno mlijeko u prahu, arome, suncokretovo ulje, ječmeni slad, sol, antioksidans	38
2.	<i>Pločica sa šećerima</i> Bounty-Mars	Mliječna proteinska mješavina, mliječna čokolada, hidrolizirani kolagen, tvar za zadržavanje vlage (glicerol), frukto-oligosaharid, glukozni sirup, albumin jajeta, arome, dehidrirani kokos, suncokretovo ulje, sol, antioksidans	37
3.	<i>Proteinska pločica sa sladilom, okus čokolada</i> Protein bar – Polleo sport	Mliječni proteini, mliječna čokolada sa sladilima, kakao maslac, cjelovito mlijeko u prahu, kakao masa, emulgator (sojin lecitin), arome, zgušnjivač, stabilizator, suncokretovo ulje, sol	> 31
4.	<i>Proteinska pločica s okusom tamne čokolade</i> Proteinissimo – Scitec	Protein sirutke, kalcij kazeinat, tamna čokolada, oligofruktozni sirup, emulgator (sojin lecitin)	30
5.	<i>Proteinska pločica s ugljikohidratima i čokoladnim preljevom</i> Protein burst – QNT	Mliječna proteinska mješavina, glukozni sirup, sirup frukto-oligosaharida, sirup fruktoze, preljev tamne čokolade, kokosovo ulje, aroma, tvar za povećanje volumena, kakao u prahu, emulgator, antioksidans.	30

Tablica 3. Uzorci i njihov sastav naveden na deklaraciji proizvoda-nastavak

6.	<i>Pločica prelivena mliječnom čokoladom, sa sladilima, nizak sadržaj šećera, okus čokolade</i>  Protein bar – Multipower	Mliječni proteini, hidrolizat kolagena, mliječna čokolada, voda, tvar za zadržavanje vlage (glicerol), aroma, sladila.	53
7.	<i>Pločica prelivena bijelom čokoladom, sa sladilima, okus šumskog voća i jogurta</i>  Protein bar - Multipower	Mliječni proteini, hidrolizat kolagena, bijela čokolada, voda, tvar za zadržavanje vlage, palmina mast, suhe zaslađene brusnice, limunska kiselina, sladila.	50
8.	<i>Pločica sa sladilima, okus jagoda</i>  Full protein – QNT	Mliječna proteinska mješavina, hidrolizat kolagena, čokoladna glazura, sredstvo za održavanje vlažnosti (glicerol), sladila, voda , sredstvo za povećanje volumena (polidekstroza), sojino ulje, aroma, regulator kiselosti (limunska kiselina), emulgator (sojin lecitin), bojilo (karmin), antioksidans.	50
9.	<i>Pločica prelivena mliječnom čokoladom, sa sladilima. Nizak sadržaj šećera, izvor dijetalnih vlakna, okus borovnica i vanilija</i>  Protein fit – Multipower	Izolat proteina sirutke, mliječna čokolada, hidrolizat kolagena, tvar za zadržavanje vlage (glicerol), sladilo (maltitol), liofilizirane borovnice, aroma, regulator kiselosti (limunska kiselina).	40
10.	<i>Pločica sa sladilima, nizak udio šećera, okus breskve i jogurta</i>  High protein fit - Multipower	Izolat i koncentrat proteina sirutke, bijela čokolada, hidrolizat kolagena, tvar za zadržavanje vlage (glicerol), sladilo (maltitol), liofilizirani komadići breskve (3 %), aroma, regulator kiselosti (limunska kiselina).	40

## 3.2. Određivanje udjela vode u uzorcima visokoproteinskih pločica

### 3.2.1. Materijali

Laboratorijsko posuđe i uređaji:

- aluminijska posudica
- analitička vaga tip JK 180, YMC CHYO, Mikrotehna, Zagreb
- zračna sušnica tip ST- 01/02, Instrumentaria, Zagreb
- eksikator

### 3.2.2. Metoda

Princip: Udjel vode određuje se indirektnim postupkom, metodom sušenja do konstantne mase. Važe se ostatak koji zaostaje nakon sušenja, a iz razlike u masi prije i nakon sušenja do konstantne mase uzorka izračunava se udjel vode. Gubitak na masi izražava se kao udjel vode u uzorku.

Postupak: Uzorke prvo treba usitniti i homogenizirati budući da su u obliku pločica. Svaku pločicu narezati na komadiće te ih dodatno usitniti u tarioniku s tučkom i homogenizirati kako bi sušenje bilo učinkovitije. U prethodno osušenu (pri 101 °C), ohlađenu u eksikatoru i izvaganu aluminijsku posudicu s poklopcem, staklenim štapićem i kvarcnim pijeskom odvažuje se 3 g (s točnošću ± 0,0001) homogeniziranog uzorka (promiješanog sa štapićem). Nepokrivena posudica s uzorkom i staklenim štapićem te poklopcem postavljenim sa strane suši se u zračnoj sušnici 2 sata pri 101 °C. Nakon toga, aluminijske posudice sa staklenim štapićem i uzorkom se ponovno zatvore i stavljaju u eksikator, gdje se hlade do sobne temperature. Slijedi vaganje s točnošću ± 0,0001, nakon čega se ponavlja postupak sušenja, hlađenja i vaganja sve dok razlika u masi između dva uzastopna vaganja ne bude manja od 0,5 mg. Sušenje do konstantne mase je trajalo ukupno 4 sata. Ostatak uzorka nakon sušenja predstavlja suhu tvar, a gubitak u masi udio vode u uzorku (Vahčić i sur., 2008).

Račun:

Gubitak mase sušenjem izražen kao udjel vode računa se prema sljedećoj formuli:

$$Udio\ vode\ (\%) = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

$m_1$  – masa prazne aluminijske posudice (g)

$m_2$  – masa aluminijske posudice s uzorkom prije sušenja (g)

$m_3$  – masa aluminijske posudice s uzorkom nakon 4 h sušenja (g)

### **3.3. Određivanje udjela proteina u uzorcima visokoproteinskih pločica**

#### **3.3.1. Materijali**

Laboratorijsko posuđe i uređaji:

- analitička vaga tip JK 180, YMC CHYO, Mikrotehna, Zagreb
- kiveta za Kjeltrec sustav (500 mL)
- menzura
- staklena čaša
- blok za spaljivanje, digestion system 6, 1007 digester, Tecator
- Kjeltrec™8100, Tecator™Line, Foss
- Erlenmeyerova tikvica (250mL)
- pipeta (25mL)
- bireta za titraciju

Kemikalije :

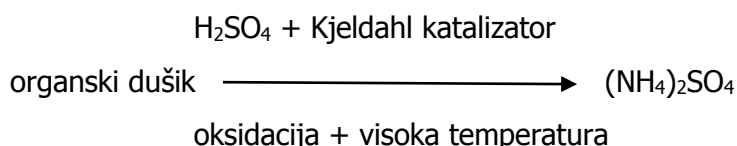
- 96 % sumporna kiselina
- Kjeldahlove tablete (smjesa soli  $K_2SO_4 + CuSO_4$ )
- $H_2O_2$
- 4 %-tna borna kiselina ( $H_3BO_3$ )
- 40 %-tni natrijev hidroksid (NaOH,  $c=0,1$  mol/L)
- klorovodična kiselina (HCl,  $c=0,1$  mol/L)

#### **3.3.2. Metode**

Princip: Jedan od najčešće primjenjivanih postupaka za određivanje udjela dušika i proteina je onaj po Kjeldahlu s ili bez korištenja Kjeltrecova sustava. Kjeldahlovim postupkom uz korištenje Kjeltrecova sustava određen je ukupni dušik prisutan u amino skupinama u hrani (npr. proteinski dušik, amino dušik i amido dušik). Iz udjela dušika je zatim izračunat udjel proteina množenjem postotka dušika s odgovarajućim faktorom pretvorbe  $F (100/X)$  pri čemu je  $X$  postotak dušika u proteinima određene namirnice ili skupine namirnica (Vahčić i sur., 2008).

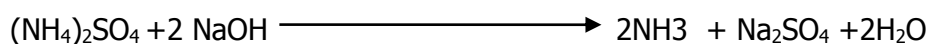
## 1. SPALJIVANJE

Organske tvari iz uzorka se razore zagrijavanjem uz sumpornu kiselinu i katalizatore koji dodatno povisuju vrelište kiseline. Pritom dolazi do oslobađanja proteinskog i neproteinskog dušika (osim dušika vezanog uz nitrite i nitrate), koji zaostaje u obliku amonijevih soli odnosno amonijeva sulfata (Vahčić i sur., 2008; Skoog i sur., 1999).

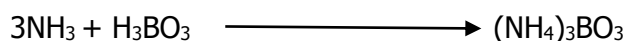


## 2. DESTILACIJA

Dodatkom NaOH u suvišku iz amonijeva sulfata oslobađa se amonijak.



Oslobodeni amonijak se predestilira u bornu kiselinu koja se nalazi u suvišku pri čemu nastaje amonijev borat.



## 3. TITRACIJA

Nastali amonijev borat titrira se klorovodičnom kiselinom pri čemu nastaje amonijev klorid i borna kiselina.



Postupak: Usitnjeni zamrznuti uzorci se samelju. Odvagane se 0,5 g (s točnošću  $\pm 0,0001$ ) uzorka i prenese u kivetu od 500 mL za Kjeltec sustav pomoću glatkog sjajnog papira i pincete pazeći da stjenke kivete ostanu čiste. Zatim se u kivetu stavi 15 mL 96 %-tne sumporne kiseline, 2 Kjeldahlove tablete za spaljivanje (oko 10 g smjese soli  $\text{K}_2\text{SO}_4$  i  $\text{CuSO}_4$ ) i 5 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Kiveta se u digestoru lagano zagrijava u bloku za spaljivanje, a kada se reakcija u kiveti smiri grije se jače. Kraj spaljivanja označava bistra plavo-zelena tekućina bez crnih ostataka. Kiveta se hladi do sobne temperature, a zatim ju se umetne u Kjeltec uređaj u jedinicu za destilaciju. Na izlazno postolje destilacijske jedinice postavi se Erlenmeyerova

tikvica s 25 mL 4 %-tne borne kiseline koja je unaprijed pripremljena dodatkom metilnog crvenila i brom krezol zelenila, pri tome treba paziti da je destilacijska cjevčica uronjena u otopinu borne kiseline. Prije destilacije potrebno je provjeriti količinu NaOH i destilirane vode te podesiti sljedeće uvjete za destilaciju: 80 mL vode za razrjeđenje, 60 mL 40 %-nog NaOH i vrijeme destilacije u trajanju od 5 minuta. Nakon završetka reakcije vidljiva je promjena boje iz ružičaste u zelenu, što ukazuje na prisustvo amonijaka. Slijedi titracija sadržaja Erlenmeyerove tikvice s klorovodičnom kiselinom uz indikator fenolftalein do promjene boje iz zelene u blijedoružičastu.

Račun :

Udjel dušika u uzorcima računa se prema sljedećoj formuli:

$$\text{Udio ukupnog N (\%)} = \frac{(T-B) \cdot N \cdot 14,007 \cdot 100}{m}$$

T – volumen HCl-a utrošen za titraciju uzorka (mL)

B – volumen HCl-a utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

N – molaritet kiseline

M – masa uzorka (mg)

Udjel proteina u uzorku računa se prema formuli:

$$\% \text{ proteina} = \% \text{ N} \cdot F$$

F – faktor preračunavanja postotka dušika u proteine; u ovom slučaju iznosi 6,38 jer se odnosi na mlijeko i mliječne proizvode.

#### 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom završnom radu određivan je udjel vode i udjel proteina u uzorcima visokoproteinskih pločica. Rezultati su uspoređeni s pripadajućim deklaracijama proizvoda. Rezultati udjela vode u visokoproteinskim pločicama prikazani su u Tablici 4., a rezultati udjela proteina u Tablici 5. i Tablici 6.

##### 4.1. Određivanje udjela vode u uzorcima visokoproteinskih pločica

Tablica 4. Udjel vode u uzorcima visokoproteinskih pločica

UZORAK	UDJEL VODE (%)
1	11,7
2	12,0
3	10,9
4	12,4
5	10,1
6	12,3
7	14,9
8	11,7
9	12,5
10	11,9

Iz rezultata je vidljivo da se udjel vode u uzorcima visokoproteinskih pločica kreće između 10,1 i 14,9 %.

Visokoproteinske pločice s voćnim okusom (uzorak 7, 9, 10) sadrže nešto veći udjel vode. Najveći udjel vode od 14,9 % sadrži uzorak broj 7. proizvođača *Multipower*, pločica s okusom šumskog voća i jogurta.

Ostale visokoproteinske pločice s čokoladnim okusom sadrže podjednake udjele vode koji su se kretali od 10,1 do 12,4 %. Najveći udjel vode u proizvodima čokoladnih okusa sadrži pločica s okusom tamne čokolade 12,4 %, proizvođača *Proteinissimo*.



## 4.2. Određivanje udjela proteina u uzorcima visokoproteinskih pločica

Tablica 5. Udjel dušika i udjel proteina u uzorcima visokoproteinskih pločica

UZORAK	UDIO DUŠIKA (%)	UDIO PROTEINA (%)
1	7,0	44,4
2	6,2	39,6
3	5,8	36,9
4	5,9	37,4
5	5,7	36,5
6	8,9	56,5
7	9,8	62,7
8	8,6	55,1
9	7,8	49,9
10	7,2	45,8

Udjel proteina u visokoproteinskim pločicama izračunat je preko udjela dušika određenog Kjeldahlovim postupkom i faktora F koji se odnosi na mlijeko i mliječne proizvode, zbog toga što su proteini u visokoproteinskim pločicama mliječnog porijekla. Račun se provodi prema formulama navedenima na stranica 18 i 19 ovog rada.

Udjel proteina u visokoproteinskim pločicama s okusom voća (uzorci 7,9 i 10) kretao se između 45,8 i 62,7 %. Dok se udjel proteina u visokoproteinskim pločicama s čokoladnim okusom također kretao u širom rasponu od 36,5 i 55,1 %.

Tablica 6. Usporedba određenih udjela proteina s vrijednostima na deklaraciji proizvoda

UZORAK	IZMJERENO g proteina/ 100 g pločice	DEKLARACIJA g proteina/ 100 g pločice	ODSTUPANJA OD DEKLARACIJE (%)
1	44,4	38	+ 6,4
2	39,6	37	+ 2,6
3	36,9	31	+ 5,9
4	37,4	32	+ 5,4
5	36,5	30	+6,5
6	56,5	53	+3,5
7	62,7	50	+12,7

Tablica 6. Usporedba određenih udjela proteina s vrijednostima na deklaraciji-nastavak

8	55,1	50	+5,1
9	49,9	40	+9,9
10	45,8	40	+5,8

Prema Uredbi br. 1924/2006 o prehranbenim i zdravstvenim tvrdnjama koje se navode na hrani, *hrana čiji je sastav bogat proteinima* je hrana kod koje najmanje 20 % ukupne energetske vrijednosti potječe od proteina. S obzirom na prikazane rezultate izmjerenih udjela proteina na 100 g pločica u 10 uzoraka visokoproteinskih pločica koji su se kretali od 36,5 do 62,7 % na deklaraciji se zasigurno može istaknuti tvrdnja: „Visok sadržaj proteina“.

Prihvatljiva odstupanja kod navođenja hranjivih vrijednosti hrane u ovom slučaju proteina (> 10 g/ 100 g proizvoda) prema mišljenju Ministarstva poljoprivrede i industrije jesu  $\pm 20$  % i  $\pm 25$  %. Iz prikazanih rezultata vidljivo je da su se odstupanja od deklaracije u 10 uzoraka visokoproteinskih pločica kretala između +2,6 i +12,7 % što je u skladu s postavljenim kriterijima.

Na deklaracijama uzoraka visokoproteinskih pločica naveden je i preporučeni dnevni unos kojeg bi trebalo poštivati. U suprotnom bi moglo doći do laksativnog učinka kod potrošača te previsok unos proteina, također može djelovati na pretjerano izlučivanje kalcija urinom, no ako se prehranom osigura omjer kalcija (mg) i proteina (g) veći od 20 : 1 tada povećani unos proteina nije štetan. Isto tako, još neki štetni učinci previsokog unosa proteina su dehidracija zbog povećane potrebe za izbacivanjem uree s obzirom da je za stvaranje mokraće potrebna voda, smanjenje razine testosterona te kod osoba s postojećom oslabljenom funkcijom bubrega, visok unos proteina ostavlja negativan učinak na bubrežnu funkciju (Šatalić i sur., 2016). Stoga, je od izuzetne važnosti da potrošači čitaju informacije na proizvodima te se educiraju o razumijevanju istih, a od proizvođača da sustavno prate kvalitetu svojih proizvoda učestalim kontrolama sastava, a sve zbog sigurnosti i zaštite potrošača.

## 5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata možemo zaključiti sljedeće:

1. Svi analizirani proizvodi prema sastavu spadaju u skupinu visokoproteinskih proizvoda s obzirom da im više od 20 % njihove ukupne energetske vrijednosti potječe od proteina.
2. Vrijednosti udjela proteina u analiziranim uzorcima kretale su se od 36,5 % do 62,7 %.
3. Utvrđena odstupanja od deklariranog udjela proteina kretala su se od + 2,6 do 12,7 %.
4. Usporedbom analiziranog udjela proteina i udjela navedenog na deklaraciji, utvrđeno je da se svi uzorci nalaze unutar prihvatljivog odstupanja od  $\pm 20$  % prema mišljenju Ministarstva poljoprivrede i  $\pm 25$  % za industriju.
5. Kontrola sastava visokoproteinskih proizvoda od izuzetne je važnosti za sigurnost te zaštitu potrošača od neadekvatnog konzumiranja takve vrste proizvoda, a samim time i od prekomjernog unosa proteina.

## 6. LITERATURA

- Abernethy G., Higgs K. (2013) Rapid detection of economic adulterants in fresh milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1288**: 10–20.
- Atkins (2017) <<https://www.atkins.ca/>> Pristupljeno 27. veljače 2018.
- Banović M., Arvola A., Pennanen K., Duta D. E., Brückner-Gühmann M., Grunert K. G., Lähteenmäkin L. (2018) Foods with increased protein content: A qualitative study on European consumer preferences and perceptions. *Appetite* **125**: 233-243.
- Berg J.M., Tymoczko J.L., Strayer L. (2013) Biokemija, 6. izd., 1. izd. (hrv.), str. 27-36, 650-671.
- Burke L., Deakin V. (2010) Clinical Sports Nutrition, 4. izd., McGraw-Hill
- Caballero B., Fingas P., Toldrá F. (2016) The Encyclopedia of Food and Health, 5. izd., Oxford: Academic Press. str. 120.
- CytoSports (2017) < <https://www.cytosport.com/> > Pristupljeno 27. veljače 2018.
- Close G. L., Hamilton D. L., Philp A., Burke L. M., Morton J. P. (2016) New strategies in sport nutrition to increase exercise performance. *Free Radical Biology and Medicine* **98**: 144-158.
- De Ceglie C., Calvano C. D., Zambonin C. G. (2015) MALDI-TOF MS for quality control of high protein content sport. *Food Chemistry* **176**: 396-402.
- Directive 2002/46/EC of the European Parliament and of the Council of 10 June 2002 on the approximation of the laws of the Member States relating to food supplement  
< [https://ec.europa.eu/food/safety/labelling\\_nutrition/supplements\\_en](https://ec.europa.eu/food/safety/labelling_nutrition/supplements_en) > Pristupljeno 25. veljače 2018.
- Dullius A., Goettert M. I., Volken de Souza C. F. (2018) Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods-Biotechnological facilitation of industrial scale-up. *Journal of Functional Foods* **42**: 58 - 74.
- Dymatize (2017) <[https://www.dymatize-athletic-nutrition.com/en\\_GB](https://www.dymatize-athletic-nutrition.com/en_GB)> Pristupljeno 27. veljače 2018.
- Garrido B. C., Souza H. M. F. G., Lourenço D. C., Fasciotti M. (2016) Proteomics in quality control: Whey protein-based supplements *Journal of proteomics* **147**: 48-55.
- Geyer H., Parr M. K., Koehler K., Mareck U., Schänzer W., Thevis M. (2008) Nutritional supplements cross-contaminated and faked with doping substances. *Journal of mass spectrometry* **43**: 892 - 902.

Hunt J. R., Johnson L. K., Fariba Roughead ZK (2009) Dietary protein and calcium interact to influence calcium retention: a controlled feeding study. *The American Journal of Clinical Nutrition* **89**: 1357-1365.

Meade A. (2007) Protein supplementation with sports protein bars in renal patients. *Journal of Renal Nutrition* **17**: 214 – 217.

Multipower (2018) <[https://www.multipower.com/hr/product/40-protein-bar/peach\\_yoghurt](https://www.multipower.com/hr/product/40-protein-bar/peach_yoghurt)> Pristupljeno 09. lipnja 2018.

HAH, Hrvatska agencija za hranu (2012) Prihvatljiva odstupanja kod navođenja hranjivih vrijednosti hrane, <[https://www.hah.hr/pregled-upisnika/?preuzmi\\_misljenje=24](https://www.hah.hr/pregled-upisnika/?preuzmi_misljenje=24)> Pristupljeno 09. lipnja 2018.

Premier Nutrition (2017) < <https://www.premiernutrition.com/> > Pristupljeno 27. veljače 2018.

Res P. T., Groen B., Pennings B., Beelen M., Wallis G. A., Gijzen A. P., Senden J. M., van Loon LJ. (2012) Protein Ingestion before Sleep Improves Postexercise Overnight Recovery. *Medicine Science Sport Exercise* **44**: 1560-1569.

Rigik, E. (2011) Forecasting snack bar sales. Convenience store decisions, < <https://www.cstoredecisions.com/2011/05/27/forecasting-snack-bar-sales/> > Pristupljeno 24. travnja 2018.

Skoog D. A., West D. M., Holler F. J. (1999) Osnove analitičke kemije , 6. izd., 1. izd. (hrv.), Školska knjiga str. 255-258; 823-825.

Sloan A. E., Sports nutrition products power up everyday performance. (2016)< <http://www.ift.org/food-technology/past-issues/2016/august/columns/consumer-trends-sports-nutrition-products-and-performance.aspx> > Pristupljeno 27. veljače 2018.

Šatalić Z., Sorić M., Mišigoj-Duraković M. (2016) Sportska prehrana , 1. izd., Znanje d. o. o. str 3; 86-87; 90; 95; 97; 112-113; 128-143.

Trier C. M., Johnston C. S. (2012) Ingestion of nutrition bars high in protein or carbohydrate does not impact 24-h energy intakes in healthy young adults. *Appetite* **59**: 778 -781.

UREDBA (EZ) br. 1924/2006 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 20. prosinca 2006. o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama koje se navode na hrani (SL L404, 30.12.2006., str. 9)

Vahčić N., Hruškar M., Marković K. (2008) Analitičke metode za određivanje osnovnih sastojaka hrane, praktikum. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2008.

WHO/FAO/UNU Expert Consultation (2007) <[www.fao.org/ag/humannutrition/35978-02317b979a686a57aa45](http://www.fao.org/ag/humannutrition/35978-02317b979a686a57aa45) > Pristupljeno 23. veljače 2018.

VITACO HEALTH (2017) <<http://aussiebodies.com.au/>> Pristupljeno 24. travnja 2018.

Yada R.Y. (2017) *Proteins in Food Processing*, 2. izd.: Properties of proteins in food systems: An introduction, Lacroix I.M.E., Li-Chan E.C.Y, str 1., Food proteins for health and nutrition; Chaplot S., Shang N., Wu J., str 301, 303-304, 318-322, 325.

Yanu P., Jakmunee J., (2017) Down scaled Kjeldahl digestion and flow injection conductometric system for determination of protein content in some traditional northern Thai foods. *Food Chemistry* **230**: 572-577.

ISO 1871:1975, Agricultural food products -- General directions for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method.