

Udio proteina u uzorcima visokoproteinskih pločica

Krajcer, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:597493>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Petra Krajcer

7341/N

UDIO PROTEINA U UZORCIMA VISOKOPROTEINSKIH PLOČICA

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Analitika hrane

Mentor: prof.dr.sc. Ksenija Marković

Zagreb, 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

UDIO PROTEINA U UZORCIMA VISOKOPROTEINSKIH PLOČICA

Petra Krajcer, 0058209223

Sažetak: Određivanje proteina u prehrambenim proizvodima je kompleksno, a u okviru metoda određivanja ukupnih proteina indirektno preko dušika metodom po Kjeldahl-u ima najširu primjenu u praksi. Tijekom ovog istraživanja primijenjena je s ciljem određivanja udjela proteina u uzorcima različitih visokoproteinskih pločica ($n = 19$), a dobivene analitičke vrijednosti uspoređene su sa podacima o sadržaju proteina navedenim u okviru nutritivnih deklaracija analiziranih proizvoda. Rezultati su pokazali kako se udio proteina kretao u rasponu od 31,84 % do 53,53 %, a utvrđena odstupanja od deklariranog udjela proteina iznosila su od 0,53 % do 2,36 % za uzorke s pozitivnim odstupanjem, te od 0,65 % do 3,03 % za uzorke s negativnim odstupanjem.

Ključne riječi: metoda po Kjeldahl-u, nutritivna deklaracija, udio proteina, visokoproteinske pločice

Rad sadrži: 29 stranica, 1 sliku, 8 tablica, 43 literaturna 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: prof.dr.sc. Ksenija Marković

Pomoć pri izradi: Valentina Hohnjec, tehnički suradnik

Datum obrane: 9. rujna 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

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

Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Nutrition

PROTEIN CONTENT IN THE SAMPLES OF HIGH-PROTEIN BARS

Petra Krajcer, 0058209223

Abstract: Protein determination in food products is complex, and within the framework of total protein determination methods indirectly through nitrogen, the Kjeldahl method is most commonly used in practice. During this study, it was applied to determine the protein content in samples of different high-protein bars ($n = 19$), and the obtained analytical values were compared with the protein content data provided within the nutritional declarations of the analysed products. The results showed that the protein content ranged from 31.84 % to 53.53 %, and the detected deviations from the declared protein content ranged from 0.53 % to 2.36 % for samples with positive deviation, and from 0.65 % to 3.03 % for samples with negative deviation.

Keywords: high-protein bars, Kjeldahl method, nutrition declaration, protein content

Thesis contains: 29 pages, 1 figure, 8 tables, 43 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. Ksenija Marković, Full professor

Technical support and assistance: Valentina Hohnjec, Technical Associate

Defence date: September 9th 2019

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Svojstva i funkcije proteina	2
2.2. Probava i apsorpcija proteina	5
2.3. Značaj proteina u prehrani.....	5
2.4. Analitičke metode određivanja ukupnih proteina u hrani.....	9
2.5. Označavanje hranjive vrijednosti prehrambenih proizvoda.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	17
3.1. Materijal	17
3.1.1. Uzorci.....	17
3.1.2. Laboratorijsko posuđe i uređaji.....	17
3.1.3. Reagensi	17
3.2. Metode rada.....	18
3.2.1. Princip određivanja	18
3.2.2. Postupak određivanja	19
4. REZULTATI I RASPRAVA	21
5. ZAKLJUČAK.....	24
6. LITERATURA	25

1. UVOD

Proteini su esencijalni makronutrijenti potrebni ljudskom tijelu za rast i održavanje. Smatra se kako je protein visokokvalitetan ukoliko osigurava sve esencijalne aminokiseline (AK) u fiziološki potrebnim količinama, osigurava dovoljno drugih AK koje su izvor dušika za sintezu neesencijalnih AK i lako je probavljiv (Hoffman i Falvo, 2004).

Ranijih godina, proteinske dodatke konzumirali su samo sportaši koji su se bavili intenzivnim vježbanjem. Međutim, u današnje vrijeme, proteinski dodaci postali su uobičajeni kako za ljubitelje teretane, tako i za javnost. Veliki se dio opće populacije oslanja na dodavanje proteina za zamjenu obroka i smanjenje tjelesne mase (Bartels i Miller, 2003). Navedeni proizvodi također su u prednosti pred tradicionalnim izvorima proteina zbog njihove lake dostupnosti i jednostavne upotrebe pa su često predmet obožavanja kako kod sportaša tako i kod ostalih tjelesno aktivnih osoba (Samal i Samal, 2017).

Međutim, potreban je oprez kako se ne bi ograničila pravilna prehrana koja pruža bitne hranjive tvari i pruža raznolikost namirnica potrebnih za adekvatno zadovoljavanje prehrambenih potreba (St. Jeor i sur., 2001). Kako bi potrošač dobio sve relevantne informacije o proizvodu kojega kupuje, obveza svih proizvođača hrane jest osigurati visoku razinu zaštite potrošača, odnosno proizvedena hrana osim što mora biti zdravstveno ispravna mora biti i pravilno deklarirana (Knežević i Rimac Brnčić, 2014).

Stoga je cilj ovog istraživanja bio laboratorijskim analizama odrediti udio proteina u devetnaest uzoraka različitih visokoproteinskih pločica te dobivene analitičke rezultate usporediti sa vrijednostima udjela proteina navedenim u okviru nutritivnih deklaracija analiziranih proizvoda.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Svojstva i funkcije proteina

Proteini su makromolekule čiju osnovnu građevnu jedinicu čine aminokiseline. Aminokiselina se sastoji od karboksilne (-COOH) i amino (-NH₂) skupine, vodikovog atoma te jednog od 20 mogućih različitih funkcionalnih nastavaka (-R) vezanih za ugljikov atom (α -atom). Aminokiseline su u proteinima povezane peptidnim vezama koje povezuju α -karboksilnu skupinu jedne i α -amino skupinu druge aminokiseline te tako stvaraju takozvanu primarnu strukturu proteina, odnosno nerazgranati polipeptidni lanac izgrađen od pravilno ponavljane okosnice i ogranaka koji su međusobno različiti. Sekundarna struktura je prostorni odnos aminokiselinskih ostataka koji su u linearnom slijedu međusobno blizu, a njezini sastavni elementi su α -uzvojnica, β -nabrana ploča i β -okret. α -uzvojnica i β -nabrana ploča su stabilizirane vodikovim vezama između amino i karboksilnih skupina u okosnici lanca, dok β -okret nastaje povezivanjem karboksilne skupine ostataka n i amino skupine ostataka $n+3$ vodikovom vezom i na taj način omogućuje promjene smjera proteinskog lanca i njegovo smatanje u kuglasti, globularni oblik. Tercijarna struktura proteina je prostorni odnos međusobno vrlo udaljenih aminokiselinskih ostataka u linearnom slijedu. Ona je stabilizirana povezivanjem odgovarajućih grupa pobočnih lanaca aminokiselinskih ostataka s nekovalentnim vezama (vodikovim, ionskim i Van der Waalsovima te hidrofobnim interakcijama). Proteini koji sadrže više od jednog proteinskog lanca imaju i kvaternu strukturu, kao dodatnu strukturnu razinu. Svaki se polipeptidni lanac u takvom oligomernom proteinu naziva podjedinica. Oligomerni proteini mogu biti građeni od istih ili različitih podjedinica koje su međusobno povezane nekovalentnim vezama između pobočnih lanaca njihovih aminokiselinskih ostataka (Stryer, 1991).

Svaka vrsta proteina ima jedinstven slijed aminokiselina koji određuje njegovu funkciju te je genetski određen, odnosno ovisi o informaciji pohranjenoj u DNK u jezgri stanice. Od svega stotinjak aminokiselina, koliko ih ima u prirodi, samo njih 20 se pojavljuje u proteinima hrane i ljudskog tijela (Štalić i sur., 2016). Postoje razne podjele aminokiselina. Obzirom na vrstu bočnog ogranka svrstavaju se u alifatske, hidroksilne, aromatske, bazične, kisele te one sa sumpornim bočnim ogrankom (Stryer, 1991). Ugljikovi skeleti aminokiselina metaboliziraju se do sedam glavnih metaboličkih međuprodukata, a to su piruvat, acetyl-CoA, acetoacetyl-CoA, α -ketoglutarat, sukcinil-CoA, fumarat i oksaloacetat. Aminokiseline koje se razgrađuju do acetyl-CoA i acetoacetyl-CoA nazivaju se ketogenim aminokiselinama budući da se iz njih ne može sintetizirati glukoza, već one daju keto tijela. Samo su leucin i lizin isključivo ketogene aminokiseline. Aminokiseline koje se razgrađuju na preostale međuprodukte, odnosno na međuprodukte ciklusa limunske kiseline (α -ketoglutarat, sukcinil-CoA, fumarat i oksaloacetat)

i piruvat nazivaju se glukogenim aminokiselinama jer se iz tih međuprodukata može sintetizirati glukoza (Berg i sur., 2002). No ipak, glavna podjela aminokiselina koje se pojavljuju u proteinima hrane i ljudskog tijela je u tri skupine, koje su prikazane u Tablici 1., a to su esencijalne, uvjetno esencijalne i neesencijalne aminokiseline (Štalić i sur., 2016). Esencijalne aminokiseline je potrebno unijeti hranom jer ih organizam nije u stanju sam sintetizirati ili ih ne može sintetizirati dovoljno. Uvjetno esencijalne aminokiseline postaju esencijalne prilikom manjka njihovih prekursora ili u određenim stanjima, poput arginina koji postaje esencijalan u stanjima traume, opekline ili zatajenja bubrega. Neesencijalne aminokiseline jetra može proizvesti sama pa ih nije nužno unositi hranom (Štalić i sur., 2016; Scibior i Czczot, 2004).

Tablica 1. Podjela aminokiselina na esencijalne, uvjetno esencijalne i neesencijalne (Štalić i sur., 2016)

ESENCIJALNE	UVJETNO ESENCIJALNE	NEESENCIJALNE
metionin (Met), leucin (Leu), izoleucin (Ile), lizin (Lys), valin (Val), treonin (Thr), triptofan (Trp), histidin (His), fenilalanin (Phe)	tirozin (Tyr), cistein (Cys), glutamin (Gln), arginin (Arg), glicin (Gly), prolin (Pro)	alanin (Ala), serin (Ser), asparagin (Asn), aspartat (Asp), glutamat (Glu)

Proteini imaju glavne uloge u svim biološkim procesima. Oni su neophodni za život, od početka začeca do starosti, za održavanje funkcija organizma. Adekvatan unos proteina neophodan je za održavanje proteinskog sadržaja određenih tkiva i organa uključujući srce, mozak, jetru, bubreg i kožu. Oni pomažu održati ravnotežu između anaboličkih i kataboličkih metaboličkih procesa, a bilo koji dulji gubitak proteina u tijelu igra glavnu ulogu za razvoj brojnih štetnih zdravstvenih problema (Shang i sur., 2018).

Neke od njihovih važnijih funkcija jesu enzimski kataliza, prijenos i pohrana raznih molekula i iona, mehanička čvrstoća, koordinirano kretanje, imunosna zaštita, stvaranje i provođenje živčanih impulsa te kontrola rasta i diferencijacija (Stryer, 1991).

S obzirom na svoje uloge, proteini u tijelu mogu biti strukturni (npr. kolagen), kontraktilni (aktin i miozin u mišićima), transportne molekule (hemoglobin kao prenositelj kisika), enzimi (npr. probavni), hormoni (inzulin i glukagon), imunoproteini (antitijela) te oni koji održavaju kiselinsko-baznu ravnotežu (Štalić i sur., 2016).

Sinteza proteina zahtjeva prisutnost svih aminokiselina, esencijalnih i neesencijalnih, zastupljenih u tom proteinu. Aminokiselina koja se smatra ograničavajućim faktorom u građi proteina je limitirajuća aminokiselina, odnosno esencijalna aminokiselina koje ima u najmanjoj mjeri. Preporuke za glavne limitirajuće aminokiseline prikazane su u Tablici 2.

Kako bi se odredila kvaliteta proteina pojedinih namirnica, je li protein punovrijedan ili ne, uspoređuje se njezin aminokiselinski sastav s potrebama djeteta u dobi od 2 – 5 godina, pri čemu se uzima u obzir i probavljivost. Kada govorimo o proteinima u prehrani čovjeka, oni dolaze iz hrane biljnog ili životinjskog podrijetla. Proteini hrane životinjskog podrijetla, u koje spadaju meso, perad, jaja, riba te mliječni proizvodi, smatraju se punovrijednim, budući da osiguravaju dostatnu količinu svih esencijalnih aminokiseline potrebnih za zadovoljavanje potreba organizma. Za razliku od njih, probavljivost proteina hrane biljnog podrijetla je 10 – 30 % slabija zbog slabije dostupnosti probavnih enzima, stoga se ne smatraju potpuni proteini, odnosno manjkavi su s obzirom na pojedine esencijalne aminokiseline. Međutim, postoje i iznimke, odnosno proteini hrane biljnog podrijetla koji su potpuni, a to su proteini soje i konoplja (Štalić i sur., 2016).

Kako bi se osigurale sve esencijalne aminokiseline proteini hrane se kombiniraju, što se naročito preporučuje u prehrani vegetarijanaca koja može biti neadekvatna ukoliko nije pravilno planirana. Konzumiranjem takvih komplementarnih proteina, kombiniranih biljnih proteina, kompenzira se manjak esencijalnih aminokiselina u pojedinoj namirnici (Vranešić Bender i Krstev, 2008). Tako se mahunarke kojima manjka metionin i triptofan kombiniraju s žitaricama koje su manjkave s obzirom na lizin i leucin, a odlične kombinacije čine i žitarice i mliječni proizvodi te mahunarke i sjemenke (Štalić i sur., 2016). Vranešić Bender i Krstev (2008) navode kako nije nužno konzumirati komplementarne proteine u istom obroku, ali bi ih trebalo unijeti unutar 3-4 sata kako bi sve esencijalne aminokiseline bile dostupne kada su potrebne (Vranešić Bender i Krstev, 2008).

Dakle, može se reći kako je protein visokokvalitetan ukoliko osigurava sve esencijalne AK u fiziološki potrebnim količinama, osigurava dovoljno drugih AK koje su izvor dušika za sintezu neesencijalnih AK i lako je probavljiv (Hoffman i Falvo, 2004).

Tablica 2. Glavne limitirajuće aminokiseline (Štalić i sur., 2016)

PROTEIN	Lizin	Treonin	Triptofan	Aminokiseline sa sumporom (Metionin i Cistein)
PREPORUKA*	51	27	7	25

*količina potrebna da se pri unosu proteina od 0,8 gkg⁻¹ TM dobije dovoljna količina esencijalnih aminokiselina

2.2. Probava i apsorpcija proteina

Uneseni protein prolazi složen niz razgradnih procesa, koji nastaju hidroliznim enzimima koji potiču iz želuca, gušterače i tankog crijeva. Rezultat tog proteolitičkog djelovanja je mješavina aminokiselina i malih peptida koje brzo i učinkovito apsorbiraju enterociti tankog crijeva (Erickson i Kim, 1990).

Razgradnja proteina započinje u želucu, gdje kiselo okruženje pogoduje denaturaciji proteina. Primarni proteolitički enzim u želucu je pepsin, nespecifična proteaza koja je maksimalno aktivna pri pH 2. Dakle, pepsin može biti aktivan u visoko kiselom okruženju želuca, iako se ostali proteini podvrgavaju denaturaciji. Razgradnja proteina se nastavlja u lumenu crijeva zbog aktivnosti proteolitičkih enzima koje luči gušterača (Berg i sur., 2002).

Enzimi gušterače koji razgrađuju proteine jesu tripsin, kimotripsin i karboksipolipeptidaza. Oni se izlučuju u neaktivnom obliku kako bi se spriječilo oštećivanje tkiva same gušterače, a u aktivni oblik prelaze nakon dolaska u dvanaesnik. Međutim, u slučaju da njihova aktivacija nastupi u gušterači, uzrokuju pankreatitis, odnosno upalu ili infekciju gušterače (Šatalić i sur., 2016). Tripsin cijepa peptidne veze na karboksilnoj strani osnovnih aminokiselina (Arg, Lys), dok kimotripsin favorizira veze u kojima je karbonilna skupina aromatska (Tyr, Phe, Trp) (Erickson i Kim, 1990). Probava proteina je dodatno poboljšana aminopeptidazama i dipeptidazama iz sluznice tankog crijeva. Aminopeptidaze razgrađuju proteine sa amino-terminalnog kraja. Pojedinačne aminokiseline, kao i di- i tripeptidi, transportiraju se u crijevne stanice iz lumena i nakon toga se oslobađaju u krv radi apsorpcije u drugim tkivima (Berg i sur., 2002).

Proteini se uglavnom apsorbiraju u obliku aminokiselina. Nastale aminokiseline i peptidi se u kotransportu (oblik transporta u kojem se obje molekule transportiraju u istom smjeru) s natrijem prenose do krvotoka i odlaze u jetru. Jetra rabi aminokiseline prvenstveno za sintezu proteina, no i za dobivanje energije te za pretvorbu u ugljikohidrate i masti. Kako bi se sve to moglo odvijati, aminokiseline prvo trebaju izgubiti NH_2 skupinu, odnosno deaminirati se, a upravo se to događa u jetri. Kako bi se spriječilo nakupljanje amonijaka, nusprodukta deaminacije, jetra iz amonijaka sintetizira ureu koja se putem mokraćne izlučuje iz organizma (Šatalić i sur., 2016).

2.3. Značaj proteina u prehrani

Zahtjevi za unos proteina ovise o dobi, spolu, veličini i masi tijela, tjelesnoj aktivnosti te određenim stanjima organizma kao što su trudnoća i bolesti. Preporuka za unos proteina računa se po jedinici tjelesne mase (TM), a ne s obzirom na energetske udio jer bi, ukoliko je unos energije iznimno nizak ili iznimno visok, takav izračun davao nedovoljnu, odnosno

pretjeranu količinu proteina. Kod odraslih osoba preporučeni unos proteina iznosi $0,8 \text{ gkg}^{-1}$ tjelesne mase (TM), a osigurava se unosom proteina u rasponu 10 – 35 % cjelodnevnog unosa energije. Tjelesno aktivni pojedinci troše popriličnu količinu energije koju je ponekad teško nadoknaditi ili namjerno ograničavaju unos energije radi postizanja željene tjelesne mase, što im posljedično onemogućuje ostvarivanje stanja energetske ravnoteže pa se kod njih nije u mogućnosti primijeniti navedena preporuka za unos proteina od $0,8 \text{ gkg}^{-1}$ TM. Dakle, preporučeni je unos proteina za tjelesno aktivne osobe, posebice za sportaše, drugačiji, odnosno veći, a prikazan je u Tablici 3. (Šatalić i sur., 2016). Uz to, Lonnie i suradnici (2018) navode i veći preporučeni unos proteina od 1 gkg^{-1} za trudnice i dojilje, novorođenčad i malu djecu, starije osobe te za niz bolesti i stanja kao što su akutne ili kronične bolesti, prijelomi, opekline i nedovoljna uhranjenost (Lonnie i sur., 2018).

Tablica 3. Preporuke za unos proteina (Burke i Deakin, 2010)

SKUPINA	gkg^{-1} TM
Tjelesno neaktivne osobe	0,8 - 1
Vrhunski sportaš (izdržljivost)	1,6
Tjelesna aktivnost umjerenog intenziteta (izdržljivost)*	1,2
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_2max

Ako unos proteina, odnosno esencijalnih aminokiselina nije adekvatan, može doći do gubitka tjelesnih proteina te neadekvatne ravnoteže dušika (Vranešić Bender i Krstev, 2008). Često nedostatak proteina nastaje zajedno s nedostatkom mikronutrijenata (poput cinka) i negativnog unosa energije (Manary, 2013). Dva najčešća stanja koja se javljaju uslijed dugotrajnog razdoblja nedovoljnog unosa proteina, odnosno proteinsko-energetske malnutricije (PEM), jesu kwashiorkor i marazam. Njihova je glavna razlika u ukupnom energetske unosu, koji kod kwashiorkor može biti osiguran povećanim unosom ugljikohidrata pa prvenstveno postoji deficit proteina, dok je kod marazam stanja on smanjen zbog djelomičnog ili potpunog gladovanja (Mann i Truswell, 2002).

S druge strane, previše proteina u prehrani je štetno budući da se urinom izlučuje previše kalcija, što može uzrokovati razne bolesti kao što su karcinom (osobito kolona i dojke), aterosklerozu i osteoporozu (Vranešić Bender i Krstev, 2008). Međutim, ukoliko omjer kalcija (mg) : proteina (g) osiguran prehranom iznosi $> 20 : 1$ te ukoliko je 20% kcal na bazi proteina, smatra se da tada visok unos proteina nije štetan, budući da se pod tim uvjetima povećava apsorpcija kalcija i nadoknađuju se njegovi gubitci urinom. Ostale potencijalno negativne posljedice previsokog unosa proteina jesu negativan učinak na bubrežnu funkciju kod osoba s postojećom oslabljenom funkcijom bubrega, pojava dehidracije, zbog povećane potrebe za izbacivanjem uree, te smanjenje razine testosterona (Štalić i sur., 2016).

Proteini u odnosu na ostale makronutrijente najviše pridonose osjećaju sitosti te imaju najveći termički učinak. Termički učinak makronutrijenata iznosi 20-35% za proteine, 5-15% za ugljikohidrate i 0-3% za masti pa je termički učinak uobičajene prehrane 10% ukupnog energetskog unosa (Štalić i sur., 2016).

Simpson i Raubenheimer (2005) su predložili tzv. hipotezu poluge prema kojoj se unos hrane, energije, masti i ugljikohidrata regulira prema unosu proteina, odnosno gustoći proteina s obzirom na sadržaj proteina. Prema toj hipotezi nizak unos proteina vodit će prejedanju, i obrnuto. Štalić i suradnici (2016) navode kako je svrha povećanog unosa proteina očuvati mišićnu masu uz istovremeno ostvarenje većeg gubitka masnog tkiva i tjelesne mase, a to se ostvaruje kombiniranjem vježbanja s visokim unosom proteina (uglavnom dobivenih iz mliječne hrane) što potvrđuju i Josse i suradnici (2011).

Naime, povećavanje prehrambenih zaliha proteina može povećati cirkulacijsku razinu arginina, što povećava osjetljivost na inzulin, potiče oksidaciju masnih kiselina i glukoze u skeletnim mišićima, potiče potrošnju energije cijelog tijela te smanjuje bijelo masno tkivo u pretilih ljudi. Visokoproteinska prehrana izaziva učinak sitosti, odnosno smanjuje unos hrane i energije, tako što inhibira oslobađanje grelina (hormon koji potiče apetit) i potiče oslobađanje peptida YY i peptida sličnog glukagonu 1 (hormoni koji suzbijaju apetit) (Wu, 2016).

Suprotno tome, nedostatak proteina u prehrani često povećava potrošnju hrane te tjelesnu i masnu masu. Pezeshki i suradnici (2016) navode da prehrana bez proteina (0% proteina) smanjuje unos energije i povećava potrošnju energije, prehrana sa vrlo malo proteina (5% proteina) povećava unos i potrošnju energije, dok prehrana s umjereno niskim proteinima (10% proteina) povećava unos energije bez utjecaja na potrošnju energije, u odnosu na kontrolnu prehranu (15% proteina). Ove promjene prehrane izazvane različitim unosom proteina dijelom su posredovane pojačanom serotonergičkom i β -adrenergičkom signalizacijom u kombinaciji s regulacijom ključnih termogenih markera u smeđem masnom tkivu i koštanim mišićima. Prehrana bez proteina i vrlo malo proteina smanjila je koncentraciju

esencijalnih aminokiselina, anoreksigenih (hormoni koji smanjuju osjet gladi i tjelesnu masu) i metaboličkih hormona u plazmi, uzrokovala masnu jetru te smanjila probavljivost energije i tjelesnu masu, dok je prehrana s umjereno niskom količinom proteina posredovala porastu tjelesne mase i masnog tkiva (Pezeshki i sur., 2016).

Šatalić i suradnici (2016) navode kako temelj kod planiranja prehrane sportaša predstavljaju proteini. U usporedbi s normalno aktivnim ljudima, sportaši imaju različite prehrambene potrebe. Iako su prehrambene potrebe povezane s izvedbama koje su različite za različite sportove, izgradnja ili održavanje koštane mišićne mase i mišićne funkcije presudna je za uspjeh u gotovo svim sportskim poduhvatima (Shang i sur., 2017). Tijekom razdoblja treninga, promet proteina potiče aktiviranje i oštećenje mišića. Nedostatak dovoljne razine proteina rezultirat će negativnom ravnotežom proteina, što će dovesti do gubitka mišića i odgođenog oporavka od vježbanja (Wilborn i sur., 2013). Kerksick i suradnici (2007) navode kako je suplementacija proteinima prije ili nakon vježbanja od ključne važnosti u promicanju rasta mišića, poboljšanju nadopune glikogena, sprečavanju oštećenja mišića i poboljšanju oporavka snage, što potvrđuju Cintineo i suradnici (2018).

Najčešći izvori proteina kao suplemenata jesu iz mlijeka, jaja i soje. Mliječni su proizvodi savršen izbor za poboljšanje sportskih izvedbi pošto sadrže različite bioaktivne proteine (Shang i sur., 2017). Proteini koji čine sastav mlijeka jesu proteini kazeina (80 %) i proteini sirutke (20 %). Proteini sirutke i kazeina glavni su proteinski dodatci, široko su rasprostranjeni i veoma važni za atletski učinak (Šatalić i sur., 2016; Shang i sur., 2017). Njihova glavna razlika je u brzini probave i dospijevanju u krvotok. Proteini sirutke se brže probavljaju i dospijevaju u krv (oko 3 sata), za razliku od kazeina koji se dvostruko sporije probavlja (6 h), jer u želucu dolazi do grušanja kazeina, no s tim osigurava dugotrajniji priljev aminokiselina u krv (Šatalić i sur., 2016). U odnosu na ostale izvore proteina, proteini sirutke su vrlo bogati razgranatim aminokiselinama, a naročito leucinom koja se smatra ključnim regulatorom postprandijalne sinteze proteina u mišićima (Šatalić i sur., 2016). Leucin potiče razgradnju masnih stanica (lipolizu), povećava oksidaciju masti u mišićnim stanicama, inhibira sintezu triglicerida te potiče mehanizme za inicijaciju translacije sinteze proteina mišića. Jedan od važnih faktora koji mlijeku i mliječnim proizvodima omogućuje porast mišićne mase nakon vježbi izdržljivosti, a istovremeno štedi mišiće uslijed smanjena tjelesne mase je učinak leucina na sintezu mišićnih proteina (Shang i sur., 2017). Glavni nedostatak mlijeka je taj što ga ne podnose osobe s intolerancijom laktoze pošto imaju manjak enzima laktaze za probavu, a suplemenata proteina sirutke visoka cijena i potrebno miješanje praha s vodom. Proteini soje slabije podržavaju hipertrofiju mišića u odnosu na proteine mlijeka, iako osiguravaju sve esencijalne aminokiseline potrebne za sintezu proteina. Zdravstvene koristi povezane sa sojinim proteinima povezane su

s fiziološki aktivnim komponentama koje su dio soje, poput inhibitora proteaze, fitosterola, saponina i izoflavona. Za ove komponente primijećeno je da djeluju na smanjenje lipidnog profila u plazmi, povećavaju oksidaciju LDL-kolesterola i imaju blagotvorno djelovanje na snižavanje krvnog tlaka (Hoffman i Falvo, 2004). Međutim, ukoliko se konzumira u povećanoj mjeri, pošto je izvor fitoestrogena, negativno djeluje na organizam tako što snižava razinu testosterona, a zabilježeni su i (rijetki) slučajevi ginekomastije (povećanje muške dojke). Proteini jaja se s obzirom na aminokiselinski sastav također smatraju idealnim te su referentne vrijednosti potrebe predškolske djece (Šatalić i sur., 2016).

Shang i suradnici (2017) navode kako se proteinski proizvodi smatraju bitnim dodatkom sportske prehrane, da su u prednosti nad tradicionalnim izvorima proteina zbog njihove lakoće dostupnosti i upotrebe, što potvrđuju Samal i Samal (2017). No, valja napomenuti kako proteinski dodaci prehrani nisu potrebni ukoliko je osiguran adekvatan unos energije i unos proteina u visini 15 % energetske unosa, te je svakako bolja opcija cjelovita hrana jer paralelno osigurava energiju, makro- i mikronutrijente te fitokemikalije što su objasnili Šatalić i suradnici (2016).

Proteinske pločice jesu jedan od najpoznatijih proteinskih dodataka, uz proteinski prah i energetska pića, koje sadrže visok udio proteina u odnosu na ugljikohidrate i masti te se smatraju idealnim za tjelesno aktivne osobe pošto su lako dostupne i jednostavne za konzumaciju, a uz to se na tržištu mogu pronaći u raznovrsnim okusima. Tržište visokoproteinskih pločica u posljednje je vrijeme u znatnom porastu, budući da su i trendovi grickalica i visokoproteinskih proizvoda u porastu. Zbog ovog rasta proizvođači donose više novih formulacija kako bi se zadovoljile potrebe potrošača. Dodavanje ili zamjena različitih sastojaka poput proteina, lipida, zaslađivača i inkluzija može potencijalno povećati probleme proizvodnje proteinskih pločica. Uobičajeni problemi proizvodnje uključuju lijepljenje materijala na površinu proteinske pločice koja podliježe obradi, začepljenje strojeva i hladni protok, gdje se pločice nakon rezanja spuštaju pod vlastitom težinom pa izgube sposobnost uklapanja u predviđeno pakiranje (Sparkman i sur., 2019).

2.4. Analitičke metode određivanja ukupnih proteina u hrani

Analiza proteina hrane nije nužno jednostavan postupak. Djelomično je to zbog hrane koja je heterogena, a sastoji se od niza različitih hranjivih sastojaka, poput lipida, ugljikohidrata i raznih mikronutrijenata. Sastav, struktura hrane ili matrica i interakcije između različitih hranjivih sastojaka mogu umanjiti dostupnost proteina što dovodi do podcjenjivanja sadržaja proteina (Mæhre i sur., 2018).

Analiza proteina je potrebna kada se želi saznati ukupni sadržaj proteina, sadržaj određenog proteina u smjesi, sadržaj proteina tijekom izolacije i pročišćavanja proteina, neproteinski dušik, sastav aminokiselina te nutritivna vrijednost proteina (Chang, 2010). Brojne su metode razvijene za mjerenje sadržaja proteina. Osnovna načela ovih metoda uključuju određivanje dušika, peptidnih veza, aromatskih aminokiselina, sposobnost vezanja boje, ultraljubičastu apsorpciju proteina i svojstva raspršivanja svjetlosti. Pri tome najširu primjenu imaju metode zasnovane na određivanju dušika, pri čemu se uklanjaju dušikovi spojevi koji ne pripadaju proteinima (slobodne AK, mali peptidi, nukleinske kiseline, fosfolipidi, amino šećeri, porfirini i neki vitamini, alkaloidi, mokraćna kiselina, urea i amonijevi ioni) (Chang, 2010). Nakon određivanja dušika, sadržaj proteina izračunava se korištenjem faktora pretvorbe. Izvorni, i još uvijek često korišteni, faktor preračunavanja % dušika u proteine iznosi 6,25 što se temelji na pretpostavci da je opći sadržaj dušika u prehranbenim proteinima 16 % i da je sav dušik u hrani povezan s proteinima. Međutim, taj faktor u većini slučajeva precjenjuje sadržaj proteina jer relativni udio dušika varira između aminokiselina, a sastav aminokiselina varira između prehranbenih proteina. Pored toga, široki spektar drugih spojeva, poput nitrata, amonijaka, uree, nukleinskih kiselina, slobodnih aminokiselina, klorofila i alkaloida sadrži dušik. Ti se spojevi nazivaju neproteinski dušik i njihov relativni sadržaj često je veći u hrani biljnog podrijetla nego u hrani životinjskog podrijetla (Mæhre i sur., 2018).

Osim toga, različite se metode temelje na različitim analitičkim principima, određujući sadržaj proteina izravno ili neizravno. Izravno određivanje proteina uključuje metode tijekom kojih se sadržaj proteina izračuna na osnovu analize aminokiselinskih ostataka. Neizravno određivanje proteina može se, na primjer, zaključiti nakon određivanja sadržaja dušika ili nakon kemijskih reakcija s funkcionalnim skupinama unutar proteina (Mæhre i sur., 2018). Primjeri metoda određivanja proteina indirektno preko dušika jesu metoda po Dumas-u, metoda po Will-Varrentropp-u, metoda po Meulen-Heslingu-u i metoda po Kjeldahl-u. Pri tome se metoda po Dumas-u i metoda po Kjeldahl-u često koriste kao referentne metode u kontroli kvalitete i za potrebe pružanja informacija o hrani putem nutritivnih deklaracija (Vahčić i sur., 2008). U obje se metode ukupni dušik u uzorku oslobađa pri visokoj temperaturi. Kod Kjeldahlove metode dušik se oslobađa u jaku kiselinu, a sadržaj se mjeri nakon neutralizacije i titracije. Kod metode po Dumas-u, dušik se oslobađa u plinovitom obliku i određuje se detektorom toplinske provodljivosti, nakon uklanjanja ugljikovog dioksida i vodenih aerosola (Mæhre i sur., 2018). Dva glavna nedostatka metode po Kjeldahlu jesu dugo razdoblje potrebno za cijelu analizu i nužnost provođenja dvije analize kako bi se utvrdila razlika između neproteinskog dušika i ukupnog proteinskog dušika (Kamizake i sur., 2003). Također, korištenje opasnih i potencijalno toksičnih kemikalija pri provođenju Kjeldahlove analize dovodi

do zabrinutosti. Metoda po Dumasu je jeftinija, brža, lakša za izvođenje, sigurnija i ekološki prihvatljivija, za razliku od metode po Kjeldahlu (Owusu-Apenten, 2002).

Osnovni princip određivanja proteina metodom po Will-Varrentropp-u temelji se na spaljivanju namirnice s vapnom i lužinama pri čemu se oslobađa amonijak, dok se Meulen-Hesling metodom namirnica zagrijava u struji vodika uz nikal kao katalizator pri čemu amino dušik prelazi u amonijak koji se određuje (Marković i sur., 2017).

Proteini se često određuju i raznim bojenim i taložnim reakcijama od kojih su najčešće korištene biuret reakcija, ksantoproteinska reakcija, primjena azo bojila, a u pojedinim slučajevima koriste se i Sørensenova formolna titracija, elektroforeza, infracrvena spektroskopija te Metoda po Lowry-u (Vahčić i sur., 2008). Biuretska metoda mjeri peptidne veze, a Lowryjeva metoda mjeri kombinaciju peptidnih veza i aminokiselina triptofan i tirozin. Biuret metoda temelji se na reakciji Cu^{2+} iona s peptidnom vezom u alkalnim uvjetima pri čemu nastaje ljubičasto obojenje. Apsorbancija se mjeri pri 540 nm, a intenzitet nastale boje je proporcionalan sadržaju proteina u uzorku. Metoda po Lowry-u kombinira biuret reakciju s redukcijom pomoću Folin-Ciocalteu Fenolnog reagensa (fosfomolibdenska-fosfotungstična kiselina) pomoću tirozina i triptofan ostataka u proteinima. Intenzitet nastalog plavog obojenja očitava se pri 750 nm (uz visoku osjetljivost za niske koncentracije proteina) ili 500 nm (niska osjetljivost za visoke koncentracije proteina). Metoda po Lowry-u je 50-1100 puta osjetljivija od biuret metode, međutim varijacije u boji su u puno većoj mjeri nego kod biuret reakcije (Chang, 2010). Infracrvena spektroskopija neizravna je metoda za procjenu sadržaja proteina koja se temelji na energiji apsorbiranoj kada je uzorak izložen valnoj duljini infracrvenog zračenja specifičnoj za peptidnu vezu (Mæhre i sur., 2018).

Kjeldahlova metoda ističe se između ostalih metoda i zbog toga što je još uvijek prepoznata kao službena metoda za određivanje proteina u hrani od strane AOAC International (Official methods of analysis of AOAC International, 1995).

2.5. Označavanje hranjive vrijednosti prehrambenih proizvoda

Obveza svih proizvođača hrane je osigurati visoku razinu zaštite potrošača, što znači da proizvedena hrana mora biti zdravstveno ispravna i pravilno deklarirana te treba osigurati da potrošač dobije sve relevantne informacije o proizvodu kojega kupuje (Knežević i Rimac Brnčić, 2014). Kako bi se postigla visoka razina zaštite potrošača i zajamčilo njihovo pravo na informacije, potrebno je osigurati primjereno informiranje potrošača u vezi s hranom koju konzumiraju. Na izbor potrošača utječu, između ostalog, zdravstvene, gospodarske, okolišne, socijalne i etičke okolnosti. Opće je načelo zakona o hrani pružiti potrošačima osnovu kojom

će im se omogućiti da budu informirani pri odabiru hrane koju konzumiraju te da se spriječe svi postupci kojima se potrošača može dovesti u zabludu (Uredba (EU) br. 1169/2011).

Feunekes i suradnici (2008) navode da je za potrošače prihvatljivije da informacije na proizvodima budu kraće zbog informacijskog preopterećenja uslijed izloženosti prevelikoj količini informacija, naročito na mjestu kupnje, gdje potrošači uglavnom imaju ograničenu količinu vremena za donošenje odluke o odabiru proizvoda, što potvrđuju Golan i suradnici (2001). S druge strane postoji sve veća potreba za pružanjem potrošačima čim više informacija o proizvodu radi izbalansirane i uravnotežene prehrane (Temple i Fraser, 2014).

Budući da se stvarne hranjive vrijednosti hrane mogu razlikovati od deklariranih vrijednosti, vrlo je važno definirati i navoditi prosječnu hranjivu vrijednost na proizvodu. Prosječna vrijednost je vrijednost koja najbolje predstavlja količinu hranjive tvari koju sadrži određena hrana te odražava odstupanja stvarne vrijednosti uzrokovane sezonskim promjenama, načinima prehrane i drugim čimbenicima (Uredba (EU) br. 1169/2011).

Proizvođači hrane su dužni navesti prosječne vrijednosti za energetske vrijednosti i sadržaj hranjivih tvari na proizvodu. Vrijednosti hranjivih tvari na deklaraciji mogu se dobiti temeljem analize hrane od strane proizvođača, izračuna iz poznatih ili stvarnih prosječnih vrijednosti upotrijebljenih sastojaka ili izračuna iz opće utvrđenih i prihvaćenih podataka (Knežević i Rimac Brnčić, 2014; Uredba (EU) br. 1169/2011).

Krajem 2012. godine Europska Komisija je donijela zajedničke smjernice kojima su na nivou Europske unije definirana dozvoljena odstupanja nutritivnih vrijednosti na deklaracijama proizvoda (European Commission, 2012) koje su prikazane u Tablici 4.

Mjerna nesigurnost je kriterij za ocjenu analitičke metode, a karakterizira ju raspršenost vrijednosti oko mjerne veličine i odražava vrijednosti koje mogu biti prihvatljive s određenom vjerojatnošću. Tolerancija je prihvatljivo odstupanje stvarne hranjive vrijednosti hrane u usporedbi s deklariranim vrijednostima. Postavljene granice tolerancija predstavljaju sporazumni dogovor različitih zemalja članica Europske unije. Dozvoljene tolerancije su podijeljene u tri dijela a to su dopuštena odstupanja koja su prihvatljiva za deklariranje nutritivne vrijednosti hrane, osim dodataka prehrani, za vitamine i minerale u dodatcima prehrani, kod obogaćene hrane ili kada se na hrani navode prehrambene ili zdravstvene tvrdnje (Knežević i Rimac Brnčić, 2014).

Tablica 4. Odstupanja za hranu s uključenom mjernom nesigurnosti (European Commission, 2012)

	Odstupanja za hranu (s uključenom mjernom nesigurnosti)	
Vitamini	+ 50 %	- 35 %
Minerali	+ 45 %	- 35 %
Ugljikohidrati Šećer Proteini Vlakna	< 10g na 100g 10-40g na 100g > 40g na 100g	± 2g ± 20% ± 8g
Masti	< 10g na 100g 10-40g na 100g > 40g na 100g	± 1,5g ± 20% ± 8g
Zasićene masti Mono-nezasićene masti Poli-nezasićene masti	< 4g na 100g ≥ 4g na 100g	± 0,8g ± 20%
Natrij	< 0,5g na 100g ≥ 0,5g na 100g	± 0,15g ± 20%
Sol	< 1,25g na 100g ≥ 1,25g na 100g	± 0,375g ± 20%

Vrijednosti navedenih dopuštenih odstupanja obuhvaćaju mjernu nesigurnost pridruženu izmjerenoj vrijednosti. Stoga pri odlučivanju je li izmjerena vrijednost usklađena s navedenom vrijednošću nije potrebno dopustiti dodatna odstupanja zbog mjerne nesigurnosti (Knežević i Rimac Brnčić, 2014).

Prihvatljiva odstupanja kod označavanja hranjivih vrijednosti hrane prema preporukama Hrvatske agencije za hranu (HAH, 2012), koja od 2019. godine djeluje u okviru Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH), prikazana su u Tablici 5.

Tablica 5. Prihvatljiva odstupanja kod označavanja hranjivih vrijednosti hrane (HAH, 2012)

Energija i hranjive tvari	Prijedlog prihvatljivih odstupanja
Energetska vrijednost	± 10%
Proteini	± 15%
Ugljikohidrati	± 15%
Masti	± 15%
Kolesterol	± 15%
Vlakna	± 20%
Natrij	± 20%

Tablica 5. (nastavak): Prihvatljiva odstupanja kod označavanja hranjivih vrijednosti hrane (HAH, 2012)

Vitamini, dodani, topljivi u vodi	± 50% , - 20%
Vitamini, dodani, topljivi u mastima	± 20%
Minerali, dodani	± 20%
Vitamini i minerali prirodno prisutni u hrani	± 50%

Prema Uredbi (EU) br. 1169/2011 Europskoga parlamenta i Vijeća o informiranju potrošača o hrani etiketa je bilo koja oznaka, robna marka, žig, znak, slikovni ili drugi opisni prikaz, napisan, tiskan, otisnut, označen, reljefno nanesen ili utisnut na ili pričvršćen za ambalažu ili spremnik s hranom (Uredba (EU) br. 1169/2011).

Kako bi informacije o hranjivim tvarima informirale potrošače o odabiru hrane i prehrane kada donose odluke, one moraju biti jednostavne, jasne i lako razumljive. Jedan od glavnih razloga potrošačevog nezadovoljstva s etiketama hrane jesu nečitljive informacije o proizvodu, stoga je laka čitljivost važan čimbenik koji povećava vjerojatnost da označena informacija utječe na one koji ju gledaju. Kako bi se uzeli u obzir svi aspekti povezani s čitljivošću informacija, trebalo bi razviti sveobuhvatni pristup, uključujući veličinu i vrstu slova, boju i kontrast. Također, informacije o hranjivim tvarima trebalo bi navoditi u istom vidnom polju jer ukoliko se informacije o hranjivim vrijednostima nalaze djelomično u glavnom vidnom polju (na prednjoj strani ambalaže), a djelomično na drugoj strani ambalaže, to bi moglo zbuniti potrošače, i to posebno one koji nisu dovoljno educirani o prehrani. Međutim, najvažnije se stvari na nutritivnoj deklaraciji mogu ponoviti u glavnom vidnom polju kako bi se potrošačima pomoglo da prilikom kupnje hrane lako uoče ključne informacije o hranjivim vrijednostima. Prema Uredbi (EU) br. 1169/2011 o informiranju potrošača o hrani deklaracija obvezno mora sadržavati naziv hrane; popis sastojaka; sve sastojke ili pomoćne tvari u procesu proizvodnje; količinu određenih sastojaka ili kategorija sastojaka; neto količinu hrane; datum minimalne trajnosti ili „upotrijebiti do“ datum; posebne uvjete čuvanja i/ili upotrebe; ime ili naziv i adresu subjekta u poslovanju hranom; zemlju ili mjesto podrijetla; upute za upotrebu ili pripremu, kada u nedostatku takve upute ne bi bila moguća pravilna upotreba hrane; za pića koja sadrže više od 1,2 % vol. alkohola, stvarnu alkoholnu jakost po volumenu; nutritivnu deklaraciju. Na deklaraciji zapakirane hrane u istom vidnom polju, odnosno u području u kojem je sve navedeno vidljivo istovremeno, moraju se nalaziti naziv hrane, neto količina (količina punjenja), rok valjanosti (upotrebe) ili naznaka mjesta gdje se on nalazi na proizvodu te sadržaj alkohola. Prema Uredbi (EU) br. 1169/2011 nutritivna deklaracija ili označavanje hranjivih vrijednosti podrazumijevaju informacije o energetske vrijednosti i hranjivim tvarima (proteinima, ugljikohidratima, mastima, vlaknima, natriju te vitaminima i mineralima). Pri tome

proteini podrazumijevaju količinu proteina izračunatu po Kjeldahlovoj metodi množeći ukupni dušik s faktorom 6,25. Ugljikohidrati podrazumijevaju sve ugljikohidrate koji se prerađuju metabolizmom čovjeka, uključujući i poliole. Šećeri podrazumijevaju sve monosaharide i disaharide zastupljene u hrani, osim poliola. Masti podrazumijevaju ukupne lipide uključujući i fosfolipide. Zasićene masne kiseline podrazumijevaju masne kiseline bez dvostruke veze, jednostruko nezasićene masne kiseline s cis dvostrukom vezom, a višestruko nezasićene masne kiseline s dvije ili više cis, cis-metilen prekinutom dvostrukim vezama. Vlakna čine jestivi polimeri ugljikohidrata koji mogu biti prirodno prisutni u hrani ili dobiveni fizikalnim, enzimskim ili kemijskim postupkom iz sirovine, a imaju znanstveno dokazan pozitivan fiziološki učinak na organizam (Uredba (EU) br. 1169/2011). Radi lakšeg uspoređivanja proizvoda u ambalaži različite veličine, primjereno je i dalje zadržati da se obvezna nutritivna deklaracija mora navoditi na količinu od 100 g ili 100 mL i da se prema potrebi dopuste dodatni navodi po obroku. Stoga, kako bi navodi o obrocima ili jedinicama konzumacije bili usporedivi, Komisija bi trebala imati ovlasti za donošenje pravila o navođenju nutritivne deklaracije po obroku ili po jedinici konzumacije za određenu kategoriju hrane. Mjerne jedinice energetske vrijednosti i količine hranjivih tvari ili njihovih sastojaka u hrani jesu kJ i kcal za energetske vrijednosti, g za bjelančevine, ugljikohidrate, masti, natrij i vlakna, mg za kolesterol, a za vitamine i minerale uglavnom mg i µg. Energetska vrijednost koja se navodi izračunava se korištenjem određenih faktora preračunavanja koji su prikazani u Tablici 6. Podaci o šećerima, polioluma i škrobu navode se odmah nakon navođenja količine ugljikohidrata, a podaci o količinama i vrstama masnih kiselina (zasićene te jednostruko i višestruko nezasićene) te o kolesterolu odmah nakon navođenja ukupne količine masti (Uredba (EU) br. 1169/2011).

Tablica 6. Faktori pretvorbe za izračun energije (Uredba (EU) br. 1169/2011)

Hranjive vrijednosti hrane	Faktori pretvorbe
Ugljikohidrati (osim poliola)	4 kcal/g – 17 kJ/g
Polioli	2,4 kcal/g – 10 kJ/g
Proteini	4 kcal/g – 17 kJ/g
Masti	9 kcal/g – 37 kJ/g
Salatrim (strukturirani triglicerid niže energetske vrijednosti)	6 kcal/g – 25 kJ/g
Alkohol (etanol)	7 kcal/g – 29 kJ/g
Organske kiseline	3 kcal/g – 13 kJ/g
Vlakna	2 kcal/g – 8 kJ/g
Eritritol	0 kcal/g – 0 kJ/g

U današnje vrijeme, stavovi potrošača prema prehrambenom aspektu hrane i pravilnim prehrambenim navikama u naglom su porastu. Potrošači više brinu o uravnoteženoj i zdravijoj prehrani, a upravo im deklaracije prehrambenih proizvoda pružaju relevantne informacije o prehrani (Bandara i sur., 2016). McNeal (1992) navodi kako tadašnje obitelji nemaju uvijek pravilne prehrambene odabire jer na njihovo odlučivanje utječu djeca koja preferiraju nezdravu prehranu s visokim sadržajem šećera i masti što rezultira negativnim posljedicama za javno zdravlje (poput pretilosti), a to potvrđuju i Kümpel Nørgaard i Brunsø (2009).

Na temelju podataka iz istraživanja Kümpel Nørgaard i Brunsø (2009) razvijene su tri nove prehrambene etikete, uz tradicionalnu, kako bi se utvrdilo koje su više preferirane među potrošačima. Prva etiketa je tradicionalna siva, tehnička tablica s velikom količinom informacija i bez vizualnih aspekata, dok druga sadrži srednju količinu informacija i malo vizualnih aspekata koja se sastoje od tri boje dodane sivoj boji. Pri tome plava boja predstavlja masti, zelena proteine a narančasta ugljikohidrate. Treća je etiketa nova vizualna etiketa s malom količinom informacija u kombinaciji s pet krugova i tri boje dodane sivoj boji, dok četvrta sadrži srednju količinu informacija u kombinaciji s četiri plave elipse. Od ukupno pet krugova, prvi sivi predstavlja energiju, drugi zeleni proteine, treći narančasti ugljikohidrate, četvrti plavi masti dok zadnji peti krug karakterizira raspodjelu energije u proizvodu. Što su potrošači slabije educirani u pogledu prehrane veća je vjerojatnost da će preferirati etikete s manje informacija, manje tehničkih obrazaca a više vizualnih aspekata, kao što su one s pet krugova i četiri plave elipse (Kümpel Nørgaard i Brunsø, 2009).

Vasiljevic i suradnici (2015) navode kako su emotikoni na prehrambenim etiketama imali snažniji učinak na percepciju grickalica od etiketa u boji. Prilikom signaliziranja zdravlja i ukusnosti žitnih pločica, ljuti je emotikon davao snažniji učinak od sretnog emotikona. Također, smatra se da je postavljanje prehrambenih oznaka na prednju stranu ambalaže jedan od načina za povećanje izbora prikladnijih odabira hrane (Vasiljevic i sur., 2015).

Razmatrajući kriterije za označavanje proteina, značajno je voditi računa i o tvrdnjama vezanim uz njihov sadržaj. Prema Pravilniku o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama (Pravilnik, 2010) koje se navode na hrani, tvrdnja da je neka hrana izvor proteina, kao i svaka tvrdnja za koju je vjerojatno da ima isto značenje za potrošača, može se stavljati samo ako najmanje 12 % energetske vrijednosti neke hrane potječe od proteina. Tvrdnja da je neka hrana bogata proteinima, kao i svaka tvrdnja za koju je vjerojatno da ima isto značenje za potrošača, može se stavljati samo ako najmanje 20 % energetske vrijednosti neke hrane potječe od proteina (Pravilnik, 2010).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijal

3.1.1. Uzorci

Tijekom ovog istraživanja određen je udio proteina u devetnaest uzoraka različitih visokoproteinskih pločica prikupljenih izravno od proizvođača, a namijenjenih različitim tržištima. Za potrebe istraživanja uzorci su označeni rednim brojevima od 1. do 19. Prema nutritivnoj deklaraciji navedenoj na uzorcima, udio proteina kretao se u rasponu od 30 do 53 %. Uzorci visokoproteinskih pločica međusobno su se razlikovali obzirom na dodatke koji su bili pretežito voćni ili orašasti. Svi analizirani uzorci sadržavali su proteine podrijetlom iz mlijeka.

3.1.2. Laboratorijsko posuđe i uređaji

Tijekom laboratorijskih analiza korišteni su sljedeći uređaji i posuđe:

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

3.1.3. Reagensi

- 96 %-tna sumporna kiselina (H_2SO_4)
- Kjeldahlove tablete (smjesa soli $K_2SO_4 + CuSO_4$)
- vodikov peroksid 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)

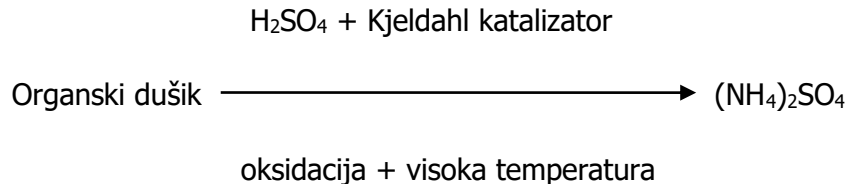
3.2. Metode rada

3.2.1. Princip određivanja

Jedan od najčešće primjenjivanih postupaka za određivanje udjela dušika i proteina je onaj po Kjeldahlu sa ili bez korištenja Kjeltceva sustava. Kjeldahlovim postupkom uz korištenje Kjeltceva sustava određuje se ukupni dušik prisutan u amino skupinama u analiziranim uzorcima (npr. proteinski dušik, amino dušik i amido dušik). Iz udjela dušika se zatim izračunava udio 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). Prije konačnog izračunavanja postotka dušika, postupak određivanja uključuje spaljivanje uzoraka, nakon čega se provodi destilacija i titracija pri čemu se navedeni postupci odvijaju prema sljedećim principima:

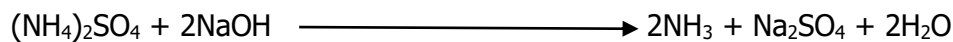
1. SPALJIVANJE

Organske se tvari iz uzorka razore zagrijavanjem sa sumpornom kiselinom i katalizatorima ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i K_2SO_4) koji joj povisuju vrelište i na taj način ubrzavaju reakciju. Dolazi do oslobađanja proteinskog i neproteinskog dušika (osim dušika vezanog uz nitrate i nitrite) koji zaostaje u obliku amonijevog sulfata (Vahčić i sur., 2008; Skoog i sur., 1999).

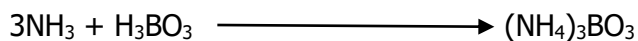


2. DESTILACIJA

Dodatkom NaOH iz amonijevog sulfata oslobađa se amonijak.

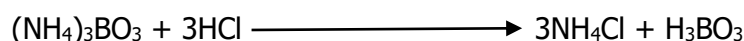


Oslobodeni amonijak se predestilira u bornu kiselinu pri čemu nastaje amonijev borat.



3. TITRACIJA

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



3.2.2. Postupak određivanja

Prethodno usitnjeni uzorci proteinskih pločica su radi lakšeg usitnjavanja i mljevenja zamrznuti, a zatim samljeveni. Izvagano je 1,0 g (s točnošću $\pm 0,0001$) homogeniziranog uzorka te pomoću folije i pincete preneseno u kivetu (od 500 mL) za Kjelttec sustav pazeći da grlo kivete ostane čisto. Zatim je u kivetu dodano 15 mL 96 %-tne sumporne kiseline, 2 Kjeldahlove tablete za spaljivanje (oko 10 g smjese soli K_2SO_4 i $CuSO_4$) i 5 mL 30% H_2O_2 . Kiveta je postavljena u blok za spaljivanje u digestoru te je lagano zagrijavana, na način da se grijanje pojačava kada se reakcija u kiveti smiri. Nastanak bistre plavo-zelene tekućine bez neizgorenih crnih komadića uzorka označavao je kraj spaljivanja. Sadržaj u kiveti je ohlađen do sobne temperature, a za to je vrijeme u Erlenmeyerovu tikvicu dodano 25 mL 4 % borne kiseline. Kada je sadržaj u kiveti ohlađen, kiveta je postavljena u destilacijsku jedinicu Kjelttec uređaja (Slika 1), a na izlazno postolje destilacijske jedinice postavljena je Erlenmeyerova tikvica s pripremljenom bornom kiselinom, pazeći da je destilacijska cjevčica uronjena u otopinu borne kiseline. Prije destilacije provjerena je količina destilirane vode i NaOH te su podešeni sljedeći uvjeti za destilaciju: 80 mL destilirane vode, 60 mL NaOH i vrijeme trajanja destilacije 5 minuta. Tijekom postupka destilacije uočena je promjena boje iz ružičaste u zelenu, što ukazuje na prisustvo amonijaka. Slijedila je titracija sadržaja Erlenmeyerove tikvice klorovodičnom kiselinom do promjene boje iz zelene u blijedoružičastu. Isti postupak proveden je i za slijepu probu.



Slika 1. Kjelttec sustav (vlastita fotografija)

Udio dušika u uzorku izračunat je prema jednadžbi:

$$\% \text{ ukupnog N} = \frac{(T-B) \times N \times 14,007 \times 100}{m} \quad [1]$$

gdje je: 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].

Udio proteina u uzorku izračunat je prema jednadžbi:

$$\% \text{ Proteina} = \% \text{N} \times F \quad [2]$$

gdje je: F - faktor preračunavanja % dušika u proteine; za analizirane uzorke on iznosi 6,38 (faktor preračunavanja koji se odnosi na mlijeko i mliječne proizvode).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Tijekom ovog istraživanja, metodom po Kjeldahl-u, određen je udio proteina u devetnaest uzoraka (1.-19.) različitih visokoproteinskih pločica. Dobiveni analitički rezultati uspoređeni su s nutritivnim deklaracijama analiziranih proizvoda. Dobiveni rezultati prikazani su u Tablici 7. i Tablici 8.

Tablica 7. Udio proteina (%) u uzorcima visokoproteinskih pločica (n = 19)

UZORAK	UDIO DUŠIKA (%)	UDIO PROTEINA (%)
1.	5,97	38,09
2.	5,07	32,35
3.	5,93	37,83
4.	5,48	34,96
5.	5,97	38,09
6.	4,99	31,84
7.	5,38	34,32
8.	5,62	35,86
9.	5,57	35,54
10.	5,24	33,43
11.	7,35	46,89
12.	8,39	53,53
13.	5,47	34,90
14.	5,43	34,64
15.	5,39	34,39
16.	5,97	38,09
17.	6,17	39,36
18.	5,23	33,37
19.	5,99	38,22
Raspon	4,99 – 8,39	31,84 – 53,53
Prosjek	5,82	37,14

Udio proteina u analiziranim uzorcima određen je indirektnim putem pri čemu je najprije određen udio dušika Kjeldahlovim postupkom. Vrijednosti udjela dušika, kako bi se odredio udio proteina, pomnožene su s faktorom (F) preračunavanja koji je iznosio 6,38, a koji se odnosi na mlijeko i mliječne proizvode obzirom da su proteini u analiziranim uzorcima visokoproteinskih pločica mliječnog podrijetla. Dobivene vrijednosti udjela dušika kretale su se u rasponu od 4,99 % do 8,39 %, prosječno 5,82 %. Udio proteina u devetnaest analiziranih uzoraka visokoproteinskih pločica kretao se u rasponu od 31,84 % do 53,53 %, prosječno 37,14 %. Promatrajući udio proteina u analiziranim uzorcima obzirom na njihov sastav u smislu različitih dodataka kao što su čokolada, komadići orašastih plodova ili komadići voća, najveće razlike uočene su kod uzoraka na bazi čokolade. Udio proteina u uzorcima visokoproteinskih pločica na bazi čokolade (uzorci 2., 3., 9., 11., 12., 14., 15., 17., 18.) kretao se u širokom

rasponu od 32,35 % do 53,53 %, dok se u uzorcima koji su sadržavali komadiće orašastih plodova (uzorci 1., 4., 5., 6., 8., 13., 19.) kretao između 31,84 i 38,22 %, a kod uzoraka s komadićima voća (uzorci 7., 10., 16.) u rasponu od 33,43 % do 38,09 %.

Dobiveni analitički podaci o udjelu proteina uspoređeni su sa informacijama navedenim na ambalaži analiziranih proizvoda, odnosno sa vrijednostima o udjelu proteina naznačenim u okviru nutritivnih deklaracija (Tablica 8).

Tablica 8. Usporedba vrijednosti udjela proteina dobivenih laboratorijskim analizama sa vrijednostima udjela proteina navedenim na deklaraciji proizvoda

UZORAK	ODREĐENO ANALITIČKI g proteina/ 100 g pločice	NAVEDENO U OKVIRU NUTRITIVNE DEKLARACIJE g proteina/ 100 g pločice	ODSTUPANJA ANALITIČKIH PODATAKA OD NUTRITIVNE DEKLARACIJE (%)
1.	38,09	36	+2,09
2.	32,35	33	-0,65
3.	37,83	36	+1,83
4.	34,96	36	-1,04
5.	38,09	36	+2,09
6.	31,84	30	+1,84
7.	34,32	33	+1,32
8.	35,86	34	+1,86
9.	35,54	34	+1,54
10.	33,43	32	+1,43
11.	46,89	45	+1,89
12.	53,53	53	+0,53
13.	34,90	33	+1,90
14.	34,64	33	+1,64
15.	34,39	33	+1,39
16.	38,09	36,4	+1,69
17.	39,36	37	+2,36
18.	33,37	36,4	-3,03
19.	38,22	36	+2,22

Kao što je vidljivo iz Tablice 8, utvrđena odstupanja od deklariranog udjela proteina kretala su se u rasponu od 0,53 % do 2,36 % za uzorke s pozitivnim odstupanjem, te od 0,65 % do 3,03 % za one s negativnim odstupanjem. Vrijednosti odstupanja, i pozitivnih i negativnih, ne prelaze dopuštena odstupanja za proteine (>10 g proteina / 100 g proizvoda) određena od strane Hrvatske agencije za hranu (koja od 2019. godine djeluje u okviru Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu), a prema mišljenju Ministarstva poljoprivrede (± 20 %) i industrije (± 25 %) (HAH, 2012).

Vrijednosti hranjivih tvari koje sadrži nutritivna deklaracija mogu se, osim analize hrane, dobiti i iz izračuna iz poznatih ili stvarnih prosječnih vrijednosti upotrijebljenih sastojaka ili izračuna iz opće utvrđenih i prihvaćenih podataka, a obvezno pružanje informacija o hranjivoj vrijednosti na ambalaži prehrambenih proizvoda omogućuje potrošačima da budu informirani pri odabiru (Knežević i Rimac Brnčić, 2014; Uredba (EU) br. 1169/2011).

5. ZAKLJUČAK

Na temelju prikazanih rezultata i provedene rasprave, može se zaključiti sljedeće:

1. Udio proteina u analiziranim uzorcima visokoproteinskih pločica kretao se u rasponu od 31,84 % do 53,53 %, prosječno 37,14 %.
2. Odstupanja analitičkih podataka od vrijednosti udjela proteina navedenih u okviru nutritivnih deklaracija analiziranih proizvoda kretala su se u rasponu od - 3,03 % do + 2,36 %.
3. Pronađena odstupanja analitičkih podataka od vrijednosti navedenih na nutritivnim deklaracijama ne prelaze dopuštena odstupanja za proteine.

6. LITERATURA

Bandara B.E.S., De Silva D.A.M., Maduwanthi B.C.H., Warunasinghe W.A.A.I. (2016) Impact of Food Labeling Information on Consumer Purchasing Decision: With Special Reference to Faculty of Agricultural Sciences. *Procedia Food Science* **6**: 309–313.

Bartels C., Miller S. (2003) Dietary supplements marketed for weight loss. *Nutrition in Clinical Practice*. **18(2)**: 156–169.

Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. (2002) Biochemistry. 5th edition. New York: W.H. Freeman. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22453/>>; <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22600/>> Pristupljeno 20. kolovoza 2019.

Chang S.K.C. (2010) Protein Analysis. U: Food Analysis, Part II: Compositional Analysis of Foods, 4. izd., Nielsen, S.S., ur., Springer Science+Business Media, New York, SAD, str. 133-146.

Cintineo H.P., Arent M.A., Antonio J., Arent S.M. (2018) Effects of Protein Supplementation on Performance and Recovery in Resistance and Endurance Training. *Frontiers in Nutrition*, **5**: 83.

Erickson R.H., Kim Y.S. (1990) Digestion and Absorption of Dietary Protein. *Annual Review of Medicine* **41(1)**: 133–139.

European Commission (2012) Guidance document for competent authorities for the control of compliance with EU legislation with regard to the setting of tolerances for nutrient values declared on a label, <https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/labelling_nutrition-vitamins_minerals-guidance_tolerances_1212_en.pdf> Pristupljeno: 29.kolovoza 2019.

Feunekes G. I., Gortemaker I. A., Willems A. A., Lion R. van den Kommer M. (2008) Front-of-pack nutrition labelling: Testing effectiveness of different nutrition labelling formats front-of-pack in four European countries. *Appetite* **50(1)**: 57–70.

Golan E., Kuchler F., Mitchell L., Greene C., Jessup A. (2001) Economics of food labeling. *Journal of Consumer Policy* **24(2)**: 117-184.

HAH, Hrvatska agencija za hranu (2012) Prihvatljiva odstupanja kod navođenja hranjivih vrijednosti hrane <hah.hr/upisnik_z_m.php?preuzmi_misljenje=24>

Pristupljeno: 20.kolovoza 2019.

Hoffman J.R., Falvo M.J. (2004) Protein-Which is best? *Journal of Sports Science and Medicine* **3(3)**: 118–130.

Josse A. R., Atkinson S. A., Tarnopolsky M. A., Phillips S. M. (2011) Increased consumption of dairy foods and protein during diet- and exercise-induced weight loss promotes fat mass loss and lean mass gain in overweight and obese premenopausal women. *The Journal of Nutrition* **141(9)**: 1626–1634.

Kamizake N.K., Gonçalves M.M., Zaia C.T.B., Zaia D.A. (2003) Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric methods. *Journal of Food Composition and Analysis* **16(4)**: 507–516.

Karlson P. (1993) Biokemija, Školska knjiga, Zagreb, str. 33-45.

Kerksick C.M., Rasmussen C., Lancaster S., Starks M., Smith P., Melton C., Almada A., Kreider R. (2007) Impact of differing protein sources and a creatine containing nutritional formula after 12 weeks of resistance training. *Nutrition* **23(9)**: 647-656.

Knežević N., Rimac Brnčić S. (2014) Označavanje hranjive vrijednosti na deklaraciji prehrambenih proizvoda. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **9(1-2)**: 17-25.

Kümpel Nørgaard M., Brunsø K. (2009) Families' use of nutritional information on food labels. *Food Quality and Preference* **20**: 597–606.

Lonnie M., Hooker E., Brunstrom J.M., Corfe B.M., Green M.A., Watson A.W., Williams E.A., Stevenson E.J., Penson S., Johnstone A.M. (2018) Protein for Life: Review of Optimal Protein Intake, Sustainable Dietary Sources and the Effect on Appetite in Ageing Adults. *Nutrients* **10(3)**

Mæhre H.K., Dalheim L., Edvinsen G.K., Elvevoll E.O., Jensen I.J. (2018) Protein Determination-Method Matters. *Foods* **7(1)**: 5.

Manary M. (2013) Inadequate Dietary Protein Intake: When does it occur and what are the consequences? *Food and Nutrition Bulletin* **34(2)**: 247–248.

Mann J., Truswell S. (2002) Essentials of human nutrition, 2.izd., *Oxford University Press*, str. 55 - 77.; str. 289 – 297.

Marković K., Vahčić N., Hruškar M. (2017) Analitika prehrambenih proizvoda, Interna skripta Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

McNeal J.U. (1992) Children as a market of influencers. In Kids as customers – A handbook of marketing to children, Lexington Books, The Free Press, New York, str. 63-87.

Official Methods of Analysis of AOAC International (1995), 16. izd., Vol. 2., Arlington, SAD.

Owusu-Apenten R.W. (2002) Food protein analysis: Quantitative effects on processing, 1. izd., Marcel Dekker, Inc., New York, str. 7-10.

Pezeshki A., Zapata R.C., Singh A., Yee N.J., Chelikani P.K. (2016) Low protein diets produce divergent effects on energy balance. *Scientific Reports* **6(1)**

Pravilnik o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama (2010) *Narodne novine* **84** (NN 84/2010).

Samal J., Samal I. (2017) Protein Supplements: Pros and Cons. *Journal of Dietary Supplements* **15(3)**: 365–371

Scibior D., Czczot H. (2004) Arginine - metabolism and functions in the human organism. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* **58**: 321-332.

Shang N., Chaplot S., Wu J.(2018) Food proteins for health and nutrition. Proteins in Food Processing, str. 301 - 336.

Simpson S.J., Raubenheimer D. (2005) Obesity: the protein leverage hypothesis. *Obesity Reviews* **6(2)**:133-42.

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

Sparkman K., Joyner H.S., Smith B. (2019). Understanding How High-Protein Bar Formulations Impact Their Mechanical and Wear Behaviors Using Response Surface Analysis. *Journal of Food Science* **84(8)**: 2209-2221.

St. Jeor S.T., Howard B.V., Prewitt T.E., Bovee V., Bazzarre T., Eckel R.H. (2001) Dietary protein and weight reduction: A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the council on nutrition, physical activity, and metabolism of the American heart association. *Circulation* **104(15)**: 1869–1874.

Stryer L. (1991) Biokemija, Školska knjiga, Zagreb, str. 11-33.

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

Temple N.J., Fraser J. (2014) Food labels: A critical Assessment. *Nutrition* **30**: 257-260.

Uredba (EU) br.1169/2011 Europskog parlamenta i Vijeća od 25. listopada 2011. o informiranju potrošača o hrani. <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=CELEX%3A32011R1169>> Pristupljeno: 20.kolovoza 2019.

Vahčić N., Hruškar M., Marković K. (2008) Analitičke metode za određivanje osnovnih sastojaka hrane, Praktikum. Interna skripta Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

Vasiljevic M., Pechey R., Marteau T.M. (2015) Making food labels social: The impact of colour of nutritional labels and injunctive norms on perceptions and choice of snack foods. *Appetite* **91**: 56–63.

Vranešić Bender D., Krstev S. (2008) Makronutrijenti i mikronutrijenti u prehrani čovjeka. *Medicus* **17**: 19-25.

Wilborn C.D., Taylor L.W., Outlaw J., Williams L., Campbell B., Foster C.A., Smith-Ryan A., Urbina S., Hayward S. (2013) The effects of pre- and post-exercise whey vs. casein protein consumption on body composition and performance measures in collegiate female athletes. *Journal of Sports Science and Medicine* **12(1)**: 74–79.

Wu G. (2016) Dietary protein intake and human health. *Food & Function* **7(3)**: 1251-1265.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Petra Krajcer

ime i prezime studenta