

# Primjena blisko-infracrvene spektroskopije u analizi dojenačkih formula

---

Zajec, Marta

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:159:353651>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

Marta Zajec

**PRIMJENA BLISKO-  
INFRACRVENE  
SPEKTROSKOPIJE U ANALIZI  
DOJENAČKIH FORMULA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju na Zavodu za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof.dr.sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić.

*Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof. dr. sc. Jasenki Gajdoš Kljusurić, na ukazanoj podršci, strpljenju, pomoći i razumijevanju koje je uvijek pružala tijekom izrade ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se i svojoj obitelji, a posebno mami, Franu, tetki, Zdraveku i Tihomiru, koji su mi svojom bezuvjetnom ljubavi i podrškom olakšali svaki dan studiranja i završavanje pisanja ovog rada. Hvala vam što ste vjerovali u mene.*

*Volim vas!*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za procesno inženjerstvo  
Laboratorij za mjerenje, regulaciju i automatizaciju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

## PRIMJENA BLISKO-INFRACRVENE SPEKTROSKOPIJE U ANALIZI DOJENAČKIH FORMULA

*Marta Zajec, univ. bacc. nutr. 0058211083*

**Sažetak:** Za pravilan rast i razvoj, pravilna prehrana od iznimne je važnosti u najranijoj dobi. Mnoge majke ne mogu dobiti te zbog navedenog koriste dojenačke formule. Stoga je cilj ovoga rada bio analizirati i usporediti energetske i kemijske sastave šest dojenačkih formula, namijenjenih dojenčadi do 6. mjeseca starosti, te ispitati potencijal primjene blisko-infracrvene (NIR) spektroskopije u praćenju njihove kvalitete. U tu svrhu su korištena dva uređaja: (i) laboratorijski te (ii) prijenosni NIR uređaji (raspon 900 - 1699 nm). Također su mjereni parametri boje, vodljivosti te ukupnih otopljenih tvari. NIR spektrima su pridruženi svi mjereni podaci te podaci o energiji i kemijskom sastavu dojenačkih formula. Primjenom multivarijantnih alata (ispitana je mogućnost neinvazivne NIR spektroskopije u kvalitativnoj i kvantitativnoj detekciji kvalitete. Potvrđen je kvalitativan i kvantitativan potencijal oba uređaja za promatranih 22 parametra, gdje je kvantitativni potencijal procijenjen kao izvrstan za parametre modela:  $R^2 > 0,9$ ;  $RPD > 4$  te  $RER > 10$ .

**Ključne riječi:** *dojenačke formule, NIR spektroskopija, kemometrija, PCA, PLS*

**Rad sadrži:** 66 stranica, 39 slika, 12 tablica, 59 literaturnih navoda, 4 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. izv. prof. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Maja Benković (član)
4. izv. prof. dr. sc. Irena Keser (zamjenski član)

**Datum obrane:** 29. rujna 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Department of Process Engineering**  
**Laboratory for Measurement, Control and Automatisation**

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Nutrition

**Graduate university study programme:** Nutrition

### APPLICATION OF NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY IN THE ANALYSIS OF INFANT FORMULAS

*Marta Zajec, univ. bacc. nutr., 0058211083*

**Abstract:** To ensure proper growth and development of infants, proper nutrition is important at an early age. Many mothers, for various reasons, cannot breastfeed and therefore use infant formula. Therefore, the goal of this work was to analyze and compare the energy and chemical composition of six infant formulas. Formulas are intended for infants up to 6 months of age, and the potential of using near-infrared spectroscopy in monitoring their quality is examined. Two devices were used: (i) laboratory and (ii) portable NIR devices (900-1699 nm). Parameters of color, conductivity and total dissolved substances were also measured. Measured data and data on the energy and chemical composition of infant formulas are affiliated to the NIR spectra. Using multivariate tools, the effectiveness of non-invasive NIR spectroscopy in qualitative and quantitative quality assessment was examined. The qualitative and quantitative potential of both devices was confirmed for the observed 22 parameters, where the quantitative potential was assessed as excellent for model parameters:  $R^2 > 0.9$ ;  $RPD > 4$  and  $RER > 10$ .

**Keywords:** *infant formulas, NIR spectroscopy, chemometrics, PCA, PLS*

**Thesis contains:** 66 pages, 39 figures, 12 tables, 59 references, 4 supplements

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in:** The Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** Jasenka Gajdoš Kljusurić, PhD, Full professor

#### **Reviewers:**

1. Ana Jurinjak Tušek, PhD, Associate professor (president)
2. Jasenka, Gajdoš Kljusurić, PhD, Full professor (mentor)
3. Maja, Benković, PhD, Associate professor (member)
4. Irena Keser, PhD, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** September 29<sup>th</sup>, 2023

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. PREHRANA DOJENČADI.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2. DOJENJE.....</b>	<b>3</b>
2.2.1. Nutritivni sastav i važnost majčinog mlijeka .....	4
<b>2.3. DOJENAČKE FORMULE .....</b>	<b>5</b>
2.3.1. Povijesni razvoj dojenačkih formula.....	5
2.3.2. Nutritivni sastav početnih dojenačkih formula .....	6
2.3.3. Praćenje kvalitete dojenačkih formula .....	10
<b>2.4. METODE PRAĆENJA KVALITETE HRANE .....</b>	<b>11</b>
2.4.1. Spektroskopija.....	12
2.4.2. NIR spektroskopija .....	12
2.4.3. Kolorimetar .....	13
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1. MATERIJALI .....</b>	<b>14</b>
3.1.1. Priprema uzoraka .....	15
<b>3.2. METODE .....</b>	<b>18</b>
3.2.1. Energetsko-nutritivni i kemijski sastav dojenačkih formula.....	18
3.2.2. Vodljivost i ukupna otopljena kruta tvar.....	18
3.2.3. Apsorpcijski spektri u blisko-infracrvenom području .....	19
3.2.4. Boja pripremljenih dojenačkih formula .....	20
3.2.5. Obrada podataka.....	21
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1. SLIČNOSTI / RAZLIČITOSTI ODVAGA MJERICA .....</b>	<b>23</b>
4.1.1. Sličnosti / različitosti približno napunjenih i vrhom punih mjerica.....	23
4.1.2. Sličnosti / različitosti deklariranih masa mjerica te vrhom punih mjerica.....	24
<b>4.2. ENERGETSKA VRIJEDNOST I UDIO MAKRONUTRIJENATA U     DOJENAČKIM FORMULAMA.....</b>	<b>25</b>
<b>4.3. BOJA DOJENAČKIH FORMULA.....</b>	<b>30</b>
4.3.1. Kolorimetrija .....	30
4.3.2. Usporedba boja dojenačkih formula i mlijeka u prahu .....	37
<b>4.4. VODLJIVOST I UKUPNE OTOPLJENE KRUTE TVARI (TDS) U     DOJENAČKIM FORMULAMA.....</b>	<b>39</b>
<b>4.5. ANALIZA NIR SPEKTARA .....</b>	<b>40</b>



4.5.1.	Spektri apsorbancije (AU) snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom .....	41
4.5.2.	Spektri apsorbancije (AU) snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom .	45
<b>4.6.</b>	<b>KEMOMETRIJSKA ANALIZA DOJENAČKIH FORMULA .....</b>	<b>52</b>
4.6.1.	Analiza glavnih komponenata.....	53
4.6.2.	Kvantitativna analiza.....	57
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČCI.....</b>	<b>60</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>61</b>
<b>PRILOZI.....</b>		

# 1. UVOD

Dojenačke se formule prema Saveznom zakonu o hrani, lijekovima i kozmetici (engl. *Federal Food, Drug and Cosmetics Act*, FDCA) definiraju kao hrana koja se predstavlja ili je predstavljena za posebnu prehrambenu upotrebu, isključivo dojenčadi, zbog svoje sličnosti majčinom mlijeku ili zbog svoje prikladnosti kao djelomične ili potpune zamjene za majčino mlijeko (Corkins i Shurley, 2016).

Pravilna prehrana dojenčadi ključna je za njihov adekvatan rast i razvoj u kasnijoj životnoj dobi. Takva prehrana sastoji se od majčinog mlijeka i/ili dojenačkih formula koje su po svom sastavu što sličnije majčinom mlijeku. Budući da su jedini izvor prehrane za dojenčad, podliježu strogoj zakonskoj regulativi te se svi sastojci u dojenačkim formulama moraju smatrati „općenito priznatim sigurnima“ (engl. *generally regarded as safe*, GRAS) (Corkins i Shurley, 2016). Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*, WHO) i Američka pedijatrijska akademija (engl. *American Academy of Pediatrics*, AAP) preporučuju isključivo dojenje do navršenog 6. mjeseca starosti, međutim stvarna je situacija nešto drugačija. U svijetu je manje od 40 % dojenčadi isključivo dojeno, a u Sjedinjenim Američkim Državama čak više od 80 % dojenčadi hranjeno je dojenačkim formulama prije 6. mjeseca života (Gilmore i sur., 2020; Đurđa, 2014). Unatoč tako velikoj zastupljenosti upotrebe dojenačkih formula, većina roditelja i skrbnika dobiva malo informacija i uputa o pravilnoj pripremi dojenačke formule te samom hranjenju, što može dovesti do smanjenog i/ili povećanog energetskeg i nutritivnog unosa te posljedično negativnih posljedica na rast i razvoj dojenčeta, kao što su na primjer brže debljanje ili povećane razine masti (Gilmore i sur., 2020).

Dojenačke su formule, uz majčino mlijeko, jedini mliječni proizvodi koje medicinska zajednica smatra nutritivno prihvatljivim za djecu mlađu od godinu dana (Đurđa, 2014).

Osnovni cilj ovog diplomskog rada bio je snimanje blisko-infracrvenog spektra te povezivanje s nutritivnim sadržajem 6 dojenačkih formula, različitih proizvođača. U tu svrhu pratili su se sljedeći parametri: (i) sličnosti/razlike odvaga mjerica, (ii) energetske sastav i udio makronutrijenata, (iii) boja, (iv) vodljivost i ukupne otopljene tvari te (v) blisko-infracrveni (engl. *Near Infrared*, NIR) spektri ispitivanih dojenačkih formula. U istraživanju su korištena dva različita mjerna uređaja blisko-infracrvene spektroskopije. Prvi je laboratorijski NIR uređaj s rasponom valnih duljina od 904 do 1699 nm, dok je drugi mikro NIR (koji je ujedno i prijenosni) uređaj s rasponom valnih duljina od 900-1700 nm. Mikro NIR uređaj korišten je sa

svrhom utvrđivanja njegove točnosti za jednostavnu i brzu analizu sastava dojenačkih formula. Dobiveni rezultati obrađeni su standardnim statističkim metodama (srednja vrijednost i standardna devijacija) te kemometrijskim alatima kao što su metoda analize glavnih komponenata te parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. PREHRANA DOJENČADI**

Pravilnik o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013-2618), definira „dojenčad“ kao djecu do 12 mjeseci starosti te „malu djecu“ kao djecu u dobi od jedne do tri godine.

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji pravilna prehrana dojenčadi ključan je faktor za kontinuirano zdravlje djeteta, od rođenja pa sve do odrasle dobi. Tijekom prve tri godine života, pravilna prehrana osobito je važna za smanjenje rizika od smrti te kroničnih bolesti tijekom cijelog životnog vijeka, a takva prehrana ujedno promiče i pravilan mentalni te tjelesni razvoj. Idealan način prehrane za dojenče tijekom prve godine života je dojenje, uz isključivo dojenje tijekom prvih 4 do 6 mjeseci, kako bi se postigao optimalan rast, razvoj i zdravlje. Poslije šestog mjeseca, zbog rastućih nutritivnih potreba, uz dojenje je potrebno uvesti i dohranu (Vranešić Bender, 2017; Ćibarić, 2016).

Dojenčad, kao i djeca te odrasle osobe, imaju određene potrebe za ugljikohidratima, proteinima, lipidima, vodom, vitaminima i mineralima.

Energetske se potrebe za dojenče tijekom prvih šest mjeseci određuju prema količini posisanog mlijeka te u dobi od 0 do 3 mjeseca iznose oko 400-500 kilokalorija (kcal), što je ekvivalent oko 850 mL posisanog mlijeka (Matek Sarić, 2023).

Dnevna bazalna potreba novorođenčeta za vodom je 60 mL/kg tjelesne mase (TM), a dojenčeta 100-150 mL/kg TM. Ta količina vode koja se unosi u organizam pokriva samo normalne fiziološke gubitke djeteta koje leži u krevetu. Potrebe za proteinima u prvim mjesecima života iznose oko 2,3 g/kg TM/dan, a do kraja prve godine života one se smanjuju te iznose 1,2 g/kg TM/dan. Ugljikohidrati bi u ovoj dobi trebali osiguravati 30-40 % ukupnog energetskeg unosa, a masti 35-50 % (Ćibarić, 2016).

### **2.2. DOJENJE**

Stvaranje majčina mlijeka započinje još u trudnoći, od 12. do 16. tjedna, a nakon poroda započinje njegovo izlučivanje. Najbitnije mlijeko je ono koje se luči u prvim danima i naziva se kolostrum.

Kolostrum je gusto, žućkasto i pomalo ljepljivo mlijeko koje ima nizak sadržaj masti te visok sadržaj proteina i zaštitnih tvari, otkud i potječe njegova glavna vrijednost – zaštita djeteta od infekcija. Bogat je energijom (67 kcal/dL) te se izlučuje u vrlo malim količinama, od 2 do 20 mL po obroku u prva tri dana (Armano i sur., 2018).

Dojenje je proces u kojem majka hrani dojenče ili malo dijete mlijekom iz svojih grudi. Taj proces je izrazito bitan zbog uspostavljanja osjećaja sigurnosti i topline kod dojenčeta te se njime stvara poseban odnos između majke i djeteta (Armano i sur., 2018). Samim time, kravlje mlijeko ili adaptirana mliječna formula ne mogu ga zamijeniti.

Svjetska zdravstvena organizacija te Međunarodni fond za djecu (engl. *United Nations International Children's Emergency Fund*, UNICEF) opisuju strategiju za promicanje prirodne prehrane dojenčadi, prema kojima je upravo majčino mlijeko najvrjednija hrana za dojenčad (Podgorelec i sur., 2015).

Ukoliko majka odluči da neće dojiti, za nju i dijete javljaju se određeni rizici. Kod djece dolazi do povećanog rizika od više vrsta zaraznih bolesti (npr. infekcije probavnog i dišnog sustava, infekcije uha, mokraćnog sustava i slično) te nezaraznih i kroničnih bolesti (npr. dijabetes tip I i tip II, alergije, sindrom iznenadne smrti djeteta, hipertenzija, neki oblici karcinoma), neuhranjenosti, malokluzije (nepravilnog zagriz), smrtnosti i hospitalizacije dojenčadi i male djece te smanjenog razvoja mozga.

Rizici koji se povećavaju kod majke su post porođajno krvarenje i sporija maternična involucija, smanjeni intervali između trudnoća i povećan gubitak krvi menstruacijom, sporiji povratak na tjelesnu masu prije trudnoće, povećani rizik za karcinom dojke i jajnika te za osteoporozu i lom kuka nakon menopauze (Armano i sur., 2018).

Na proces dojenja utječu i razni zdravstveni problemi koji se mogu pojaviti kod majke, ali i kod dojenčeta. Oni koji se mogu pojaviti kod majke su: bol u bradavicama ili trauma, prepunjenost dojki, upalna stanja dojki (npr. mastitis, absces dojke ili infekcija kandidom), krv u mlijeku, nedostatak mlijeka, post porođajna depresija te drugi poremećaji mentalnog zdravlja, dok se kod dojenčeta mogu javiti: odbijanje dojke, bljuckanje i gastroezofagealni refluks, eozinofilni ezofagitis, fiziološka žutica, dojenačka žutica, ankiloglosija (vezan jezik) te orofaringealna disfagija (Jovanovski Dašić i sur., 2014).

### 2.2.1. Nutritivni sastav i važnost majčinog mlijeka

Sastav majčinog mlijeka čine nutrijenti u lako probavljivom obliku, što novorođenčetu i odgovara s obzirom da njegovi tjelesni sustavi nisu funkcionalno zreli, te se mijenja kroz period laktacije ovisno o potrebama djeteta. Najviše promjena javlja se u prvom mjesecu nakon poroda.

Kolostrum se luči do petog dana nakon poroda, a od petog do petnaestog dana luči se prijelazno mlijeko koje je u odnosu na kolostrum bogatije mastima, ugljikohidratima i veće je energetske

vrijednosti. Nakon šesnaestog dana luči se zrelo mlijeko, koje je bogato ugljikohidratima i mastima te ima nešto manji udio proteina.

Zrelo majčino mlijeko u prosjeku sadržava do 4,5 % masti i ono čini 50-60 % energetske vrijednosti mlijeka, od čega 98 % čini triacilglicerol, 0,7 % fosfolipidi te oko 0,5 % kolesterol. Esencijalne masne kiseline te višestruko nezasićene masne kiseline važne su za razvoj mozga i živčanog sustava.

Proteini čine oko 20 % energetske vrijednosti mlijeka i ima ih u količini 11,5 g/L, a kao najvažniji ističu se imunoglobulini sa svojom zaštitnom ulogom.

Šećera u majčinom mlijeku ima 70 g/L te oni čine oko 40% energetske vrijednosti mlijeka. Glavni šećer je laktoza (disaharid sastavljen od glukoze i galaktoze) koji je potreban za osiguravanje energije i razvoj mozga.

Većina se potrebnih vitamina nalazi u majčinom mlijeku u dovoljnim količinama, međutim iznimka su vitamin K i vitamin D. Vitamin K se mora dodatno davati novorođenčadi neposredno nakon rođenja, a za postizanje adekvatnih razina vitamina D preporuča se umjereno izlaganje djece suncu te suplementacija vitamina D u obliku kapi (Komes, 2019).

### **2.3. DOJENAČKE FORMULE**

Dvije su osnovne vrste dodatne hrane za dojenčad – početna i prijelazna hrana. Prema Pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani (NN 122/2013-2618), „početna hrana“ je prerađena hrana za posebne prehrambene potrebe dojenčadi u prvim mjesecima života koja zadovoljava prehrambene potrebe dojenčadi do uvođenja odgovarajućeg dodatnog hranjenja, a „prijelazna hrana“ je prerađena hrana za posebne prehrambene potrebe dojenčadi kada se uvodi odgovarajuće dodatno, sve raznolikije, pretežno tekuće hranjenje.

#### **2.3.1. Povijesni razvoj dojenačkih formula**

Upotreba životinjskog mlijeka za prehranu dojenčadi zabilježena je još 2000 godina prije Krista. Od tada pa do danas, razvili su se alternativni izvori mlijeka, odnosno umjetne dojenačke formule. Vrsta životinjskog mlijeka koja se koristila ovisila je o životinji koja je bila dostupna, a uglavnom je to bilo kravlje mlijeko. U 18. stoljeću počele su se provoditi prve kemijske analize humanog i životinjskog mlijeka. Tada je Jean Charles Des-Essartz na temelju dobivenih rezultata zaključio da je humano mlijeko najbolji izvor nutrijenata za dojenčad (Lemaire i sur., 2018; Radbill, 1981).

1865. godine, Justus von Liebig razvio je, patentirao i plasirao na tržište prvu hranu za dojenčad

u tekućem obliku, a zatim i u obliku praha zbog boljeg očuvanja. Njegova formula sastojala se od kravljeg mlijeka, pšeničnog brašna, brašna ječmenog slada i kalijevo bikarbonata te se smatrala savršenom hranom za dojenčad (Lemaire i sur., 2018).

Do 1883. godine na tržištu se nalazi 27 različitih patentiranih dojenačkih formula u obliku praha, a sastojali su se od ugljikohidrata, kao što su šećer, škrob i dekstrini. Takve formule povećavale su tjelesnu masu dojenčadi, no nedostajali su im proteini, vitamini i minerali. Ti su se nutrijenti s vremenom individualno dodavali u dojenačke formule (Kouwenhoven i sur., 2022).

1920.-ih godina, znanstvenici su za dojenčad alergičnu na kravlje mlijeko počeli razvijati formule bez mlijeka. Prva ne mliječna formula temeljila se na sojinom brašnu te je 1929. godine postala dostupna javnosti. Kao i prethodno razvijenim formulama, i ovoj su nedostajali neki ključni nutrijenti, ponajviše vitamini. Kasnije je taj problem riješen obogaćivanjem formula vitaminima (Stevens i sur., 2009).

Zatim su se počele koristiti dojenačke formule koje su se temeljile na mlijeku u prahu. Prva takva sadržavala je mlijeko u prahu, vodu, ulje bakalara (zbog adekvatne opskrbe vitaminima topljivim u mastima), narančin sok ili sladilo kao što je med.

Moderno doba dojenačkih formula započelo je razvojem komercijalnih pripravaka na bazi kravljeg mlijeka s dodatkom životinjske i biljne masti, kako bi se lipidni profil približio sastavu humanog mlijeka. Današnje se dojenačke formule dobivaju preradom kravljeg mlijeka, kako bi bile prilagođenije potrebama dojenčadi (Vranešić Bender, 2017).

### 2.3.2. Nutritivni sastav početnih dojenačkih formula

U tablici 1 prikazane su najmanje i najveće količine osnovnih sastojaka koje početna hrana za dojenčad (proizvedena od proteina kravljeg mlijeka), pripravljena prema uputama proizvođača, treba sadržavati.

**Tablica 1.** Količine osnovnih sastojaka početne hrane za dojenčad prema Pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013-2618)

NUTRIJENT	NAJMANJA KOLIČINA	NAJVEĆA KOLIČINA
ENERGIJA (kcal/100 mL)	60	70
PROTEINI (g/100 kcal)	1,8	3
TAURIN (ako se dodaje) (mg/100 kcal)	/	12
KOLIN (mg/100 kcal)	7	50

**Tablica 2.** Količine osnovnih sastojaka početne hrane za dojenčad prema Pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013-2618) - nastavak

<b>MASTI (g/100 kcal)</b>	4,4	6
<b>Laurinska kiselina i miristinska kiselina</b>	/	Posebno ili zajedno 20 % od ukupnog sadržaja masti
<b>Trans-masne kiseline</b>	/	3 % ukupnog sadržaja masti
<b>Eruka kiselina</b>	/	1 % ukupnog sadržaja masti
<b>Linolna kiselina (mg/100 kcal)</b>	300	1200
<b><math>\alpha</math>-linolenska kiselina (mg/100 kcal)</b>	50	/
<b>FOSFOLIPIDI (g/1 L)</b>	/	2
<b>INOZITOL (mg/100 kcal)</b>	4	40
<b>UGLJIKOHIDRATI (g/100 kcal)</b>	9	14
<b>Laktoza (g/100 kcal)</b>	4,5	/
<b>Aktivirani i/ili želatinirani škrob (g/100 mL)</b>	/	2 i 30 % od ukupnog sadržaja ugljikohidrata
<b>FRUKTO-OLIGOSAHARIDI i GALAKTO-OLIGOSAHARIDI (g/100 mL)</b>	/	0,8 u kombinaciji 90% oligogalaktozil-laktoze i 10 % oligofruktozil saharoze velike Mr

Pravilnik o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013 – 2618) nalaže i sljedeće:

- Sadržaj bjelančevina računa se kao sadržaj dušika pomnožen sa faktorom 6,25.
- Aminokiseline se početnoj hrani za dojenčad smiju dodavati samo za poboljšanje prehrambene vrijednosti proteina i samo u količinama potrebnima u tu svrhu.
- Od masti, zabranjena je uporaba sezamovog ulja te ulja sjemena pamuka.
- Linolna kiselina dodaje se u obliku glicerida = linoleata.
- Odnos između linolne i  $\alpha$ -linolenske kiseline ne smije biti manji od 5 niti veći od 15.
- Mogu se dodati dugolančane višestruko nezasićene masne kiseline (20 i 22 C atoma), ali one ne smiju prekoračiti 1 % ukupnoga sadržaja masti za n-3 dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina i 2 % ukupnoga sadržaja masti za n-6 dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina.
- Sadržaj eikozapentaenske kiseline (EPA) ne smije prekoračiti sadržaj



dokozaheksaenske kiseline (DHA).

- Sadržaj DHA ne smije prekoračiti sadržaj n-6 dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina.
- Od ugljikohidrata smiju se upotrebljavati samo: laktoza, maltoza, saharoza, glukoza, maltodekstrini, glukozni sirup ili osušeni glukozni sirup, aktivirani škrob – prirodno bez glutena te želatinirani škrob – prirodno bez glutena.
- Saharoza i glukoza smiju se dodavati samo početnoj hrani za dojenčad proizvedenoj od hidrolizata proteina.
- Za pripremu gotove početne hrane za dojenčad dodaje se samo voda.
- Početna hrana za dojenčad ne smije sadržavati ostatke pojedinih pesticida u razinama višim od 0,01 mg/kg u proizvodu koji je spreman za konzumaciju ili pripremljen prema uputama proizvođača.

U tablici 2 prikazane su najmanje i najveće količine mineralnih tvari na 100 kcal koje početna hrana za dojenčad (proizvedena od proteina kravljeg mlijeka), pripravljena prema uputama proizvođača, treba sadržavati.

**Tablica 3.** Količine mineralnih tvari na 100 kcal koje početna hrana za dojenčad mora sadržavati prema Pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013-2618)

<b>MINERALNE TVARI</b>	<b>NAJMANJA KOLIČINA</b>	<b>NAJVEĆA KOLIČINA</b>
<b>Natrij (mg)</b>	20	60
<b>Kalij (mg)</b>	60	160
<b>Klorid (mg)</b>	50	160
<b>Kalcij (mg)</b>	50	140
<b>Fosfor (mg)</b>	25	90
<b>Magnezij (mg)</b>	5	15
<b>Željezo (mg)</b>	0,3	1,3
<b>Cink (mg)</b>	0,5	1,5
<b>Bakar (µg)</b>	35	100
<b>Jod (µg)</b>	10	50
<b>Selen (µg)</b>	1	9
<b>Mangan (µg)</b>	1	100
<b>Fluorid (µg)</b>	/	100

Pravilnik o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013 -2618) također nalaže da odnos između kalcija i fosfora ne bi trebao biti manji od 1 niti veći od 2.

U tablici 3 prikazane su najmanje i najveće količine vitamina na 100 kcal koje početna hrana za dojenčad (proizvedena od proteina kravljeg mlijeka), pripravljena prema uputama proizvođača, treba sadržavati.

**Tablica 4.** Količine vitamina na 100 kcal koje početna hrana za dojenčad mora sadržavati prema Pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013-2618)

VITAMINI	NAJMANJA KOLIČINA	NAJVEĆA KOLIČINA
Vitamin A ( $\mu\text{g-RE}$ ) <sup>1</sup>	60	180
Vitamin D ( $\mu\text{g}$ ) <sup>2</sup>	1	2,5
Tiamin ( $\mu\text{g}$ )	60	300
Riboflavin ( $\mu\text{g}$ )	80	400
Niacin ( $\mu\text{g}$ ) <sup>3</sup>	300	1500
Pantotenska kiselina ( $\mu\text{g}$ )	400	2000
Vitamin B <sub>6</sub> ( $\mu\text{g}$ )	35	175
Biotin ( $\mu\text{g}$ )	1,5	7,5
Folna kiselina ( $\mu\text{g}$ )	10	50
Vitamin B <sub>12</sub> ( $\mu\text{g}$ )	0,1	0,5
Vitamin C (mg)	10	30
Vitamin K ( $\mu\text{g}$ )	4	25
Vitamin E (mg $\alpha$ -TE) <sup>4</sup>	0,5/g višestruko nezasićenih masnih kiselina, izraženih kao linolna kiselina i izraženo na dvostruku vezu <sup>5</sup> , ali ne manje od 0,5 mg na raspoloživih 100 kcal	5

<sup>1</sup> RE = svi ekvivalenti trans retinola.

<sup>2</sup> U obliku kolekalciferola, od čega 10  $\mu\text{g}$  = 400 IU vitamina D.

<sup>3</sup> Niacin u gotovu, formiranom obliku.

<sup>4</sup>  $\alpha$ -TE = ekvivalent d-  $\alpha$ -tokoferola.

<sup>5</sup> 0,5 mg  $\alpha$ -TE/1 g linolne kiseline (18:2 n-6); 0,75 mg  $\alpha$ -TE/1 g  $\alpha$ -linolenske kiseline (18:3 n-3); 1,0 mg  $\alpha$ -TE/1 g arahidonske kiseline (20:4 n-6); 1,25 mg  $\alpha$ -TE/1 g eikozapentaenske kiseline (20:5 n-3); 1,5 mg  $\alpha$ -TE/1 g dokozaheksaenske kiseline (22:6 n-3).

Prema Pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013-2618), u početnu hranu za dojenčad smiju se dodavati i određeni nukleotidi, a njihova ukupna koncentracija ne smije prekoračiti 5 mg/100 kcal.

U tablici 4 prikazane su najveće količine nukleotida koje se smiju dodavati u početnu hranu za dojenčad (proizvedenu od proteina kravljeg mlijeka), pripravljenu prema uputama proizvođača.

**Tablica 5.** Najveće količine nukleotida koje početna hrana za dojenčad mora sadržavati prema Pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 122/2013-2618)

<b>NUKLEOTIDI</b>	<b>NAJVEĆA KOLIČINA (mg/100 kcal)</b>
<b>Citidin 5'-monofosfat</b>	2,50
<b>Uridin 5'-monofosfat</b>	1,75
<b>Adenozin 5'-monofosfat</b>	1,50
<b>Gvanozin 5'-monofosfat</b>	0,50
<b>Inozin 5'-monofosfat</b>	1,00

### 2.3.3. Praćenje kvalitete dojenačkih formula

Hrana namijenjena dojenčadi i maloj djeci uređena je zakonima Europske zajednice te se smatra hranom za posebne prehrambene potrebe (dijetetskom hranom). Ona mora biti sigurna, imati poseban sastav, razlikovati se od normalne hrane, biti prikladna za ispunjavanje određenih nutritivnih zahtjeva te treba, pri stavljanju na tržište, naznačivati takvu prikladnost (Idrio i sur., 2022; Salminen i sur., 2020).

Odbor za prehranu Europskog društva za pedijatrijsku gastroenterologiju, hepatologiju i prehranu (engl. *The European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*, ESPGHAN) predložio je određena načela kojih bi se u procjeni preinaka dojenačkih formula trebalo pridržavati (s obzirom na njihovu prikladnost i sigurnost za posebne prehrambene potrebe):

- a) Promjene izvan utvrđenih standarda trebale bi se temeljiti na očekivanoj koristi (prehrambenoj, tehnološkoj, funkcionalnoj ili drugoj), na sustavnom pregledu koji stvara jasnu hipotezu o očekivanoj koristi i sigurnosti te biti temelj za odluke o daljnjim prekliničkim ili kliničkim ispitivanjima.
- b) Adekvatne podatke potrebno je dostaviti za detaljan opis preinake (sastojak, sastav, korišteni postupak), kao i kompletan sastav (posebno za one spojeve koji mogu biti

promijenjeni ili novo sintetizirani- uključujući moguće kontaminante, nečistoće, ostatke alergena,...).

- c) Potrebno je prikazati način dodavanja novih sastojaka i opis tehnološkog procesa (suho ili mokro miješanje), kao i učinak na nove ili postojeće sastojke procesa.
- d) Potrebno je prijaviti sve dostupne biološke i toksikološke informacije (bioraspoloživost, metabolizam, distribucija, biološki učinci, interakcije i toksični učinci).
- e) Ako informacije o *in vitro* i *in vivo* studijama na životinjskim modelima osiguravaju dodatne informacije o nutritivnoj adekvatnosti, potencijalnoj dobrobiti i sigurnosti, moraju se navesti.
- f) Ako inovacija spada pod definiciju *nove hrane*, moraju se slijediti odgovarajuće direktive i smjernice.
- g) Ako se koristi genetski modificirani sastojak ili njegov izvor, potrebno je pratiti smjernice Znanstvenog odbora za hranu (engl. *The Scientific Committee on Food, SCF*) o procjeni sigurnosti genetski modificiranih organizama.
- h) Često su potrebna klinička ispitivanja za daljnju karakterizaciju prikladnosti i sigurnosti preinaka.
- i) Za rast, potrebno je napraviti usporedbe ili s dojenom djecom ili s djecom hranjenom referentnom formulom, u trajanju od najmanje 3 mjeseca, s mjerenjem duljine, težine i opsega glave najmanje jednom mjesečno (Hernell, 2012).

## **2.4. METODE PRAĆENJA KVALITETE HRANE**

Praćenje kvalitete hrane iznimno je važno iz nekoliko razloga, a kao dva najvažnija ističu se zdravstvena ispravnost te ujednačenost završnog proizvoda.

U proizvodnim pogonima, lancima distribucije te na prodajnim mjestima velika je mogućnost kontaminacije proizvoda te je vrlo bitno pratiti zdravstvenu ispravnost proizvoda kako ne bi došlo do štetnih i opasnih posljedica na krajnjeg konzumenta.

Istovremeno je bitno pratiti i ujednačenost proizvoda, kako ne bi došlo do velikih varijacija, odnosno odstupanja u težini ili obliku nekog proizvoda. Kada bi postojale velike razlike u težini proizvoda, nutritivne deklaracije na tom proizvodu više ne bi bile odgovarajuće zbog velikih razlika u količinama makro- i mikronutrijenata.

### 2.4.1. Spektroskopija

Spektroskopija je grana analitičke kemije koja se bavi dobivanjem informacija o kemijskom sastavu i strukturi tvari na temelju separacije, detekcije i mjerenja energetskih promjena koje se događaju u atomskim jezgrama, atomskom elektronskom omotaču ili u molekulama kao rezultat njihove interakcije s elektromagnetskim zračenjem sa česticama (Jurinjak Tušek i sur., 2021).

Razne spektroskopske metode omogućavaju dobivanje velikog broja kvalitativnih i kvantitativnih informacija te se mogu primjenjivati u laboratoriju, u industrijskom pogonu ili na terenu. U prehrambenoj industriji, upotreba i primjena spektroskopskih metoda sve više raste te nam one omogućavaju rješavanje raznih problema u proizvodnji, ali i distribuciji hrane (Matijević i Blažić, 2008).

### 2.4.2. NIR spektroskopija

Tijekom posljednjih 40 godina, bliska infracrvena (engl. *Near-infrared*, NIR) spektroskopija postala je jednom od najkorištenijih metoda za analizu i kontrolu kvalitete hrane, a temelji se na apsorpciji elektromagnetskog zračenja u području raspona od 780 nm (nanometara) do 2500 nm (Beć i sur., 2022; Osborne, 2006). NIR se, kao i svako zračenje, ponaša kao val sa svojstvom jedinstvenog harmonijskog gibanja (Osborne, 2006).

Prehrambeni proizvodi, kao i njihova pouzdanost, ovise o kvaliteti proizvoda od kojih su dobiveni. Jednom od najboljih metoda za predviđanje primarnih karakteristika proizvoda, a to su: ukupna topljivost čvrste tvari, sadržaj topljivih čvrstih tvari, titrabilna kiselost i pH vrijednost, smatra se upravo NIR spektroskopija (Pandiselvam i sur., 2022).

NIR spektroskopija, kao i svaka metoda, ima određene prednosti i nedostatke. Njegove glavne prednosti su što obično nije potrebna prethodna priprema uzorka, analiza je ne destruktivna, jednostavna i brza (između 15 i 90 sekundi) i činjenica da za analizu nisu potrebna nikakva dodatna kemijska otapala, što ga čini ekološki prihvatljivijom metodom analize u odnosu na neke druge poznate i dostupne metode. Također, ona omogućuje istovremeno mjerenje nekoliko različitih sastojaka te je moguća analiza hrane s visokim sadržajem vlage (Beć i sur., 2022; Osborne, 2006).

Neki nedostaci primjene NIR spektroskopije su standardna pogreška u laboratoriju koja uzrokuje standardnu pogrešku u predviđanju i problemi u izvedbi zbog bioloških varijacija, a glavno ograničenje NIR spektroskopije u analizi hrane je njeno ovisnost o manje preciznim referentnim metodama (Pandiselvam i sur., 2022; Osborne, 2006).

### 2.4.3. Kolorimetar

Kolorimetar je relativno jednostavan senzorski uređaj sastavljen od izvora svjetlosti, držača uzorka (odnosno kivete), senzora intenziteta svjetlosti te sredstva za kontrolu izvora svjetlosti i integriranje intenziteta propuštene svjetlosti. Koristeći CIELAB skalu boja, prati svjetlinu (engl. *Lightness*,  $L^*$ ) od crne do bijele na ljestvici od 0-100, kao i kromatičnost s parametrima  $a^*$  i  $b^*$ . Negativan  $a^*$  odgovara zelenoj boji, pozitivan - crvenoj, negativan  $b^*$  odgovara plavoj, a pozitivan – žutoj.

Kolorimetrijske se metode naširoko koriste u prehrambenoj industriji, posebice za ispitivanje hrane kao što su kruh, mlijeko ili čokolada tijekom njihova skladištenja (Anzalone i sur., 2013).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

Osnovni cilj istraživanja je praćenje nutritivnog sastava dojenačkih formula koje su kupljene u slobodnoj prodaji.

Pribor:

- 6 dječjih bočica volumena 250 mL
- Staklena čaša volumena 2 L
- Staklena čašica od 100 mL
- Lijevak

Aparatura:

- Analitička vaga
- Konduktometar (Omron uređaj, SevenCompact. MettlerToledo, Švicarska)
- Stolni NIR spektrometar (Control Development inc., NIR-128-1.7-USB/6.25/50 $\mu$ m, s instaliranim Control Development softverom Spec32)
- Prijenosni, Mikro-NIR spektrometar (NIR-S-G1, InnoSpectra Corporation, Kina)
- Kolorimetar (CM-700d (Konica Minolta Sensing INC, New York, USA))
- Android tablet s aplikacijom za pohranjivanje spektralnih podataka (ISC-NIRScan, InnoSpectra Corporation, Kina)

#### 3.1. MATERIJALI

Ukupno je ispitano 6 dojenačkih formula koje su kupljene u slobodnoj prodaju te čuvane na sobnoj temperaturi u laboratoriju. U tablici 5 prikazane su oznake ispitivanih dojenačkih formula.

**Tablica 6.** Oznake dojenačkih formula

Dojenačka formula 1	<b>A</b>
Dojenačka formula 2	<b>B</b>
Dojenačka formula 3	<b>C</b>
Dojenačka formula 4	<b>D</b>
Dojenačka formula 5	<b>E</b>
Dojenačka formula 6	<b>F</b>

### 3.1.1. Priprema uzoraka

Svaki uzorak određene dojenačke formule pripremio se prema uputama na pakiranju, a ovisio je o dobi dojenčeta.

Broj pripremljenih uzoraka za svaku dojenačku formulu prikazan je u tablici 6.

**Tablica 6.** Broj pripremljenih uzoraka dojenačkih formula

DOJENAČKA FORMULA	BROJ UZORAKA (volumeni u mL)
<b>A</b>	6 (60-210)
<b>B</b>	5 (90-210)
<b>C</b>	4 (90-210)
<b>D</b>	4 (90-180)
<b>E</b>	4 (90-180)
<b>F</b>	6 (60-210)

Postupak pripreme svakog uzorka dojenačke formule:

Na analitičkoj vagi odvagana je definirana masa (prema uputi s ambalaže) dojenačke formule koja je ovisila o broju mjerica potrebnim za pripremu svakog uzorka. Na primjer, za dojenačku formulu A prosječna masa jedne mjerice na pakiranju je deklarirana kao 4,3 grama te se za svaki uzorak te dojenačke formule A broj mjerica množio sa faktorom 4,3. Isti postupak primjenjuje se i na ostale dojenačke formule. Zatim se svaki uzorak pomiješao sa količinom prokuhane vodovodne vode koja je navedena na pakiranju. Temperatura prokuhane vode koja se koristila ovisila je o temperaturi navedenoj na pakiranju. Na primjer, za dojenačku formulu A vodu je potrebno ohladiti na 40-50 °C, dok je za dojenačku formulu C vodu potrebno ohladiti na približno 37 °C. Svi uzorci miješali su se u kupovnim dječjim bočicama, označenim od 1 do 6, ovisno o broju uzorka koji se pripremao (slika 1).





**Slika 1.** Bočice u kojima su se miješali uzorci dojenačkih formula, na primjeru dojenačke formule A (*vlastita fotografija*)

Načini pripreme svake dojenačke formule prikazani su u nadolazećim tablicama.

U tablici 7 prikazana je priprema uzoraka dojenačke formule A.

Prosječna masa jedne mjerice na pakiranju je deklarirana kao 4,3 grama.

**Tablica 7.** Način pripreme uzoraka dojenačke formule A

<b>BROJ UZORKA</b>	<b>BROJ MJERICA</b>	<b>KOLIČINA VODE (mL)</b>
1	2	60
2	3	90
3	4	120
4	5	150
5	6	180
6	7	210

U tablici 8 prikazana je priprema uzoraka dojenačke formule B.

Prosječna masa jedne mjerice na pakiranju je deklarirana kao 4,5 grama.

**Tablica 8.** Način pripreme uzoraka dojenačke formule B

<b>BROJ UZORKA</b>	<b>BROJ MJERICA</b>	<b>KOLIČINA VODE (mL)</b>
1	3	90
2	4	120
3	5	150
4	6	180
5	7	210

U tablici 9 prikazana je priprema uzoraka dojenačke formule C.

Prosječna masa jedne mjerice na pakiranju je deklarirana kao 4,5 grama.

**Tablica 9.** Način pripreme uzoraka dojenačke formule C

<b>BROJ UZORKA</b>	<b>BROJ MJERICA</b>	<b>KOLIČINA VODE (mL)</b>
<b>1</b>	3	90
<b>2</b>	5	150
<b>3</b>	6	180
<b>4</b>	7	210

U tablici 10 prikazana je priprema uzoraka dojenačkih formula D te E.

Prosječna masa jedne mjerice na pakiranju je deklarirana kao 4,5 grama.

Obje dojenačke formule pripremaju se na jednak način te su iz toga razloga prikazane u samo jednoj tablici.

**Tablica 10.** Način pripreme uzoraka dojenačkih formula D i E

<b>BROJ UZORKA</b>	<b>BROJ MJERICA</b>	<b>KOLIČINA VODE (mL)</b>
<b>1</b>	3	90
<b>2</b>	4	120
<b>3</b>	5	150
<b>4</b>	6	180

U tablici 11 prikazana je priprema uzoraka dojenačke formule F.

Prosječna masa jedne mjerice na pakiranju je deklarirana kao 4,3 grama.

**Tablica 11.** Način pripreme uzoraka dojenačke formule F

<b>BROJ UZORKA</b>	<b>BROJ MJERICA</b>	<b>KOLIČINA VODE (mL)</b>
<b>1</b>	2	60
<b>2</b>	3	90
<b>3</b>	4	120
<b>4</b>	5	150
<b>5</b>	6	180
<b>6</b>	7	210

## 3.2. METODE

Uzorci prokuhane i ohlađene vodovodne vode te uzorci pripremljenih dojenačkih formula prvo su pripremljeni u zadanom volumenu.

### 3.2.1. Energetsko-nutritivni i kemijski sastav dojenačkih formula

Za svaki pripremljeni volumen dojenačke formule izračunat je energetsko-nutritivni sadržaj te kemijski sastav, na osnovu podataka iz priloga 1 i 2. U prilogu 1 i 2 prikazane su energetske i nutritivne vrijednosti ispitivanih dojenačkih formula te njihov sastav. Za energetske i nutritivne vrijednosti (prilog 1) izrađene su matrice sastavljene od 9 stupaca te 59 redaka te se u njima nalaze informacije preuzete sa nutritivnih deklaracija ispitivanih formula. U prilogu 2 nalaze se informacije o kemijskom sastavu ispitivanih dojenačkih formula, preuzete sa pakiranja te su prikazane u obliku matrice sastavljene od 8 stupaca i 66 redaka.

### 3.2.2. Vodljivost i ukupna otopljena kruta tvar

Pri sobnoj temperaturi (cca 22 °C) mjerena je električna vodljivost i sadržaj ukupne otopljene krute tvari (engl. *total dissolved solids*, TDS). Korišten je konduktometar Omron (SevenCompact. MettlerToledo, Švicarska) čija je sonda uronjena u pripremljeni volumen dojenačke formule te je ovisno o uključenoj skali mjerena vodljivost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) ili otopljena kruta tvar (TDS). Sva mjerenja provedena su u triplikatu.

Prema Rusydi (2017) iz vrijednosti vodljivosti lako se mogu izračunati vrijednosti ukupnih otopljenih krutih tvari te se njihova međusobna ovisnost može procijeniti sljedećom jednačinom:

$$TDS \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = k \cdot \text{vodljivost} \left( \frac{\mu\text{S}}{\text{cm}} \right) \quad [1]$$

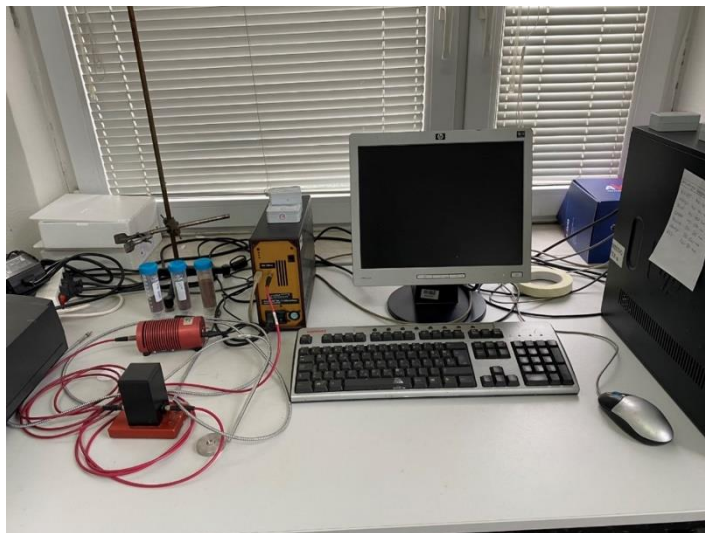
Vrijednost  $k$  rasti će proporcionalno s povećanjem koncentracije iona u vodi. Međutim odnos između vodljivosti i TDS-a neće biti i nije izravno linearan, zato što on ovisi o aktivnosti specifičnih otopljenih iona, prosječnoj aktivnosti svih iona u tekućini te ionskoj jakosti (Rusydi, 2017).

### 3.2.3. Apsorpcijski spektri u blisko-infracrvenom području

Dva mjerna uređaja blisko-infracrvene spektroskopije korištena su u ovom radu – laboratorijski i mikro uređaj. Prvo su snimani praškasti uzorci dojenačkih formula te su nakon pripreme različitih volumena dojenačke formule otpipetirana 4 mL u plastične kivete i mjerene su apsorpcije tekućih uzoraka.

#### 3.2.3.1. Laboratorijski NIR instrument

Korišten je procesni NIR spektrometar Control Development inc., NIR-128-1.7-USB/6.25/50 $\mu$ m, s instaliranim Control Development softverom Spec32 (slika 2). Uzorci su snimani pomoću sonde (prah i formule). Pripremljene dojenačke formule snimane su u kivetama, u tamnoj posudici, sa što manje svjetla iz okoline. Valno područje mjerenja stolnog instrumenta je 904 do 1699 nm. Spektar svakog uzorka sniman je u triplikatu.



**Slika 2.** Laboratorijski NIR instrument (*vlastita fotografija*)

#### 3.2.3.2. Mikro NIR instrument

Raspon mjernog područja mikro-NIR spektrometra (NIR-S-G1, InnoSpectra Corporation, Kina) je 900–1700 nm (točnost  $\pm$  1nm). Mikro-NIR spojen je putem bluetooth-a s tabletom, s instaliranom aplikacijom za Android, ISC-NIRScan (InnoSpectra Corporation, Kina) (slika 3). Apsorpcijski spektri su i na ovom uređaju snimani u triplikatu.



**Slika 3.** Mikro NIR instrument (Ćorić, 2023)

#### 3.2.4. Boja pripremljenih dojenačkih formula

Za praćenje boja uzoraka, korišten je kolorimetar CM-700d (Konica Minolta Sensing INC, New York, USA) (slika 4), a bilježene su vrijednosti prema uputama internacionalne komisije za rasvjetu (franc. *Commision Internationale de l'Eclairage*, CIE) te je korištena CIELAB skala boja. U triplikatu su bilježeni sljedeći parametri: svjetlina ( $L^*$ ), raspon od crvene ( $a^*$ ) do zelene ( $-a^*$ ), raspon od žute ( $b^*$ ) do plave ( $-b^*$ ), ton boje (Hue) te zasićenje (Chroma) (Strgar Kurečić, 2023; HunterLab, 2008).

Računate su i razlike za mjerene uzorke u odnosu na mlijeko u prahu ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$  i  $\Delta E^*$ ).  $\Delta E$  vrijednost računa se kao srednja vrijednost razlika između  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti standarda (mlijeko u prahu) i vrijednosti izmjerene na uzorku (dojenačke formule), prema navedenoj formuli:

$$\Delta E = ((\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2)^{1/2} \quad [2]$$

gdje je:

$$\Delta L = L_1 - L_2, \text{ razlika u svjetlini uzorka } (-L^* \text{ do } L^*) \quad [3]$$

$$\Delta a = a_1 - a_2, \text{ razlika u dominaciji crvene } (+a^*) / \text{ zelene } (-a^*) \text{ boje} \quad [4]$$

$$\Delta b = b_1 - b_2, \text{ razlika u dominaciji žute } (+b^*) / \text{ plave } (-b^*) \text{ boje.} \quad [5]$$

$*_1$  – mlijeko u prahu ;  $_2$  – dojenačka formula



**Slika 4.** Kolorimetar (Gamed, 2023)

### 3.2.5. Obrada podataka

Rezultati su prikazani u tablicama i grafovima. Za sve mjerene parametre je kao mjera centralne tendencije računata aritmetička sredina, a kao mjera raspršenja – standardna devijacija.

Za obradu spektralnih podataka korišteni su MS Excel te dodatni program XL STAT (*Free Trial* verzija), a multivarijatni alati korišteni u obradi NIR spektara su: analiza glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA) te parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata (engl. *Partial Least Squares regression*, PLS). Navedeni modeli procijenjeni su na temelju parametara: (i) koeficijenta determinacije ( $R^2$ ), (ii) standardne pogreške predikcije (engl. *The ratio of prediction to deviation*, RPD) te (iii) omjera standardne pogreške predikcije i raspona mjernih podataka (engl. *ratio of error range*, RER) (Sun i sur., 2021).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

S obzirom na zadani cilj ovoga istraživanja, ispitivani parametri te dobiveni rezultati podijeljeni su u 6 glavnih skupina:

- (i) Sličnosti/različitosti odvaga mjerica različitih dojenačkih formula (slike 5-6) ,
- (ii) Energetska vrijednost i udio makronutrijenata u dojenačkim formulama (slike 7-9),
- (iii) boja ( $L^*$   $a^*$   $b^*$ ) dojenačkih formula (slike 10-16) ,
- (iv) vodljivost i ukupne otopljene krute tvari (TDS) u dojenačkim formulama (slika 17),
- (v) analiza NIR spektara (slike 18-35) te
- (vi) kemometrijska analiza dojenačkih formula (slike 36-39, tablica 12).

Sličnosti/razlike odvaga mjerica prikazane su pomoću stupičastih dijagrama te se pomoću njih nastoje uočiti razlike u deklariranim masama mjerica različitih proizvođača te vrhom punih i približno napunjenih mjerica. Iz dobivenih rezultata dolazi se do zaključaka o točnosti deklariranih podataka te energetske i nutritivnom unosu dojenčadi.

Energetske vrijednosti ispitivanih dojenačkih formula (preuzete sa pakiranja) prikazane su za različitu starosnu dob pomoću stupičastih dijagrama, dok su udjeli makronutrijenata za svaku dojenačku formulu (preuzeti sa pakiranja) prikazani kružnim dijagramima. Pomoću ovih dijagrama nastoje se uočiti razlike u energetske vrijednostima ovisno o starosnoj dobi te razlike u udjelima makronutrijenata.

Stupičastim dijagramima prikazani su parametri boje  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  i  $h^*$  za sve uzorke ispitivanih dojenačkih formula, a radar-dijagramima prikazana su odstupanja boje uzoraka ispitivanih dojenačkih formula u odnosu na boju mlijeka u prahu. Dobiveni podatci omogućuju razlikovanje boje uzoraka iste dojenačke formule te razlikovanje između uzoraka različitih dojenačkih formula.

Vodljivost i ukupne otopljene krute tvari (TDS) prikazane su također stupičastim dijagramima, s ciljem utvrđivanja potencijalnih odstupanja između uzoraka.

Spektroskopska analiza uzoraka provedena je i pomoću dva različita NIR spektrometra (laboratorijskog i mikro) kako bi se istražio makronutritivni sastav na molekularnoj razini te uočile kvalitativne sličnosti i/ili razlike.

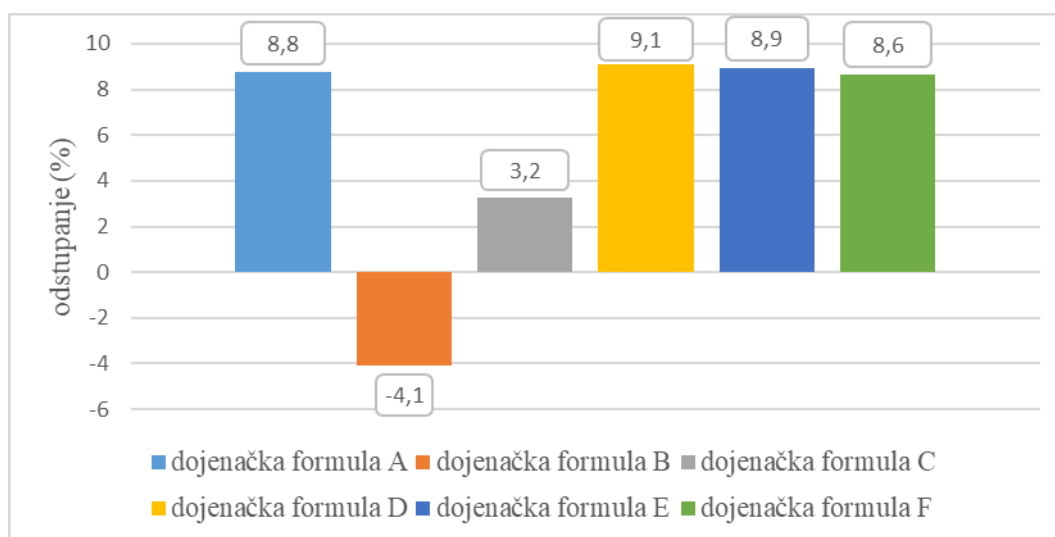
Na kraju je provedena kemometrijska analiza na svim prikupljenim podacima.

#### 4.1. SLIČNOSTI / RAZLIČITOSTI ODVAGA MJERICA

Na slikama koje slijede prikazana su odstupanja približno napunjenih i vrhom punih mjerica (slika 5) te odstupanja vrhom punih mjerica u odnosu na masu mjerice navedene na pakiranju (slika 6).

##### 4.1.1. Sličnosti / različitosti približno napunjenih i vrhom punih mjerica

Svi su uzorci vagani na analitičkoj vagi, a svaka se odvaga ponovila pet puta. Iz tih odvaga kasnije se izračunala srednja vrijednost mase mjerice.



**Slika 5.** Odstupanje masa približno uzetih mjerica i vrhom napunjenih mjerica

S obzirom da dio roditelja i/ili skrbnika dobivene mjerice ne napuni vrhom, već ih napune približno, potrebno je promotriti masenu razliku do koje u tom slučaju dolazi. Poznato je da se velika odstupanja masa mjerica povezuju sa povećanim rizikom te pojavnošću debljine uslijed povećanog energetskeg unosa, a tu hipotezu potvrđuju i Appleton i sur. (2018) koji su otkrili da je kod dojenčadi hranjenje dojenačkim formulama, a kod kojih su te iste formule bile napravljene s većom energetskeg vrijednošću, tjelesna težina nakon 6 mjeseci bila veća.

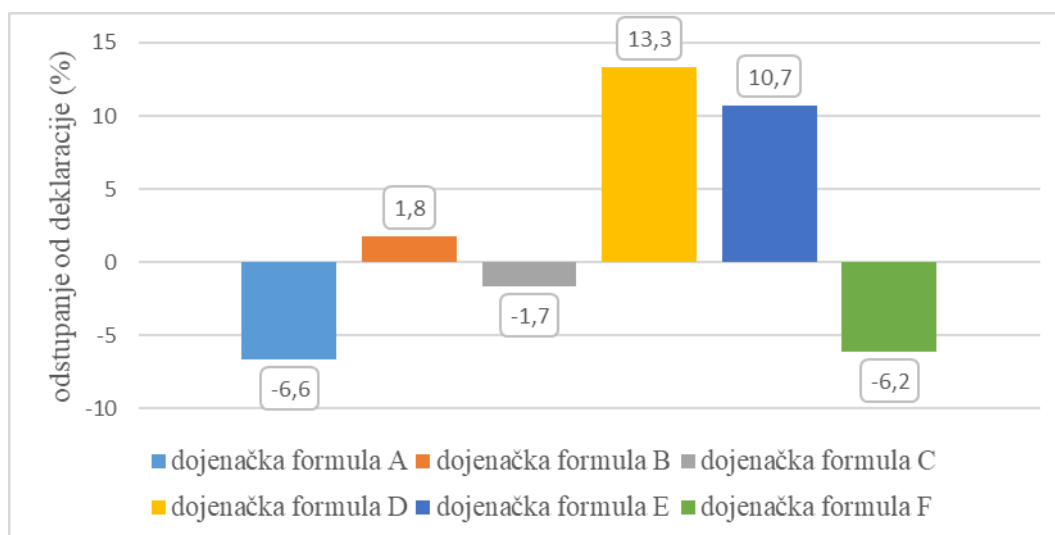
Kod svih uzoraka dojenačkih formula postoji određena razlika u masama približno napunjenih i vrhom punih mjerica, što je i za očekivati s obzirom da je preciznost mjerenja kod približno napunjenih mjerica narušena. Kod 5 od 6 ispitivanih dojenačkih formula (83,3 %) ustanovljeno je da je približno napunjena mjerica veća od vrhom napunjene mjerice. Tako je kod dojenačke formule A približno napunjena mjerica za 8,8 % veća od vrhom napunjene mjerice, kod



dojenačke formule D to odstupanje iznosi 9,1 %, kod dojenačke formule E 8,9 % te kod dojenačke formule F 8,6 %. Vrlo malo odstupanje prisutno je kod dojenačke formule C te ono iznosi 3,2 %. Iznimku predstavlja dojenačka formula B kod koje je približno napunjena mjerica za 4,1 % manja u odnosu na vrhom napunjenu mjericu (slika 5).

#### 4.1.2. Sličnosti / različitosti deklariranih masa mjerica te vrhom punih mjerica

Postotci odstupanja vrhom punih mjerica u odnosu na masu mjerice navedene na pakiranju prikazani su stupičastim dijagramom, a svaka je odvaga ponovljena pet puta.



**Slika 6.** Postotak odstupanja vrhom pune mjerice u odnosu na masu mjerice na pakiranju

Uspoređujući mase vrhom punih mjerica te mase deklarirane na pakiranju, vidljivo je da je kod pola uzoraka dojenačkih formula (50 %) masa mjerice manja u odnosu na onu deklariranu na pakiranju te da je kod druge polovice uzoraka ta masa veća u odnosu na onu deklariranu na pakiranju. Manje mase mjerica vidljive su kod uzoraka dojenačkih formula A, C i F, dok su veće mase primijećene kod uzoraka B, D i E (slika 6).

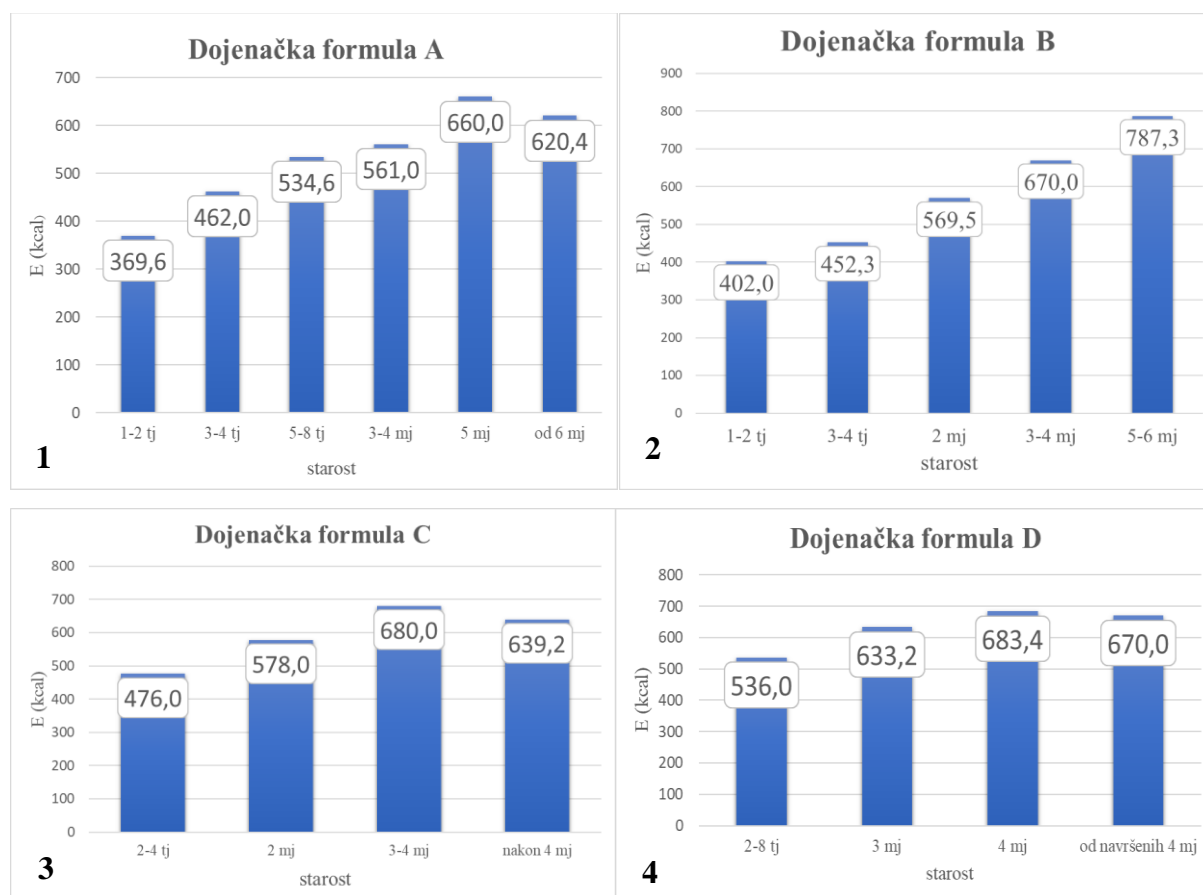
Masa mjerice uzorka A manja je za 6,6 % od one deklarirane, uzorka C 1,7 %, a uzorka F 6,2 %. S druge strane, masa mjerice uzorka B veća je od one deklarirane za 1,8 %. Značajna odstupanja u masama mjerica u odnosu na deklarirane pokazuju uzorci D i E, gdje uzorak D odstupa za čak 13,3 %, a uzorak E za 10,7 % (slika 6).

Prema studiji Altazan i sur. iz 2019.godine, koristeći standardne upute pripreme proizvođača, 80 % pripremljenih dojenačkih formula sadržavalo je količine formule u prahu veće od preporučene, što je dovelo do potencijalnog prekomjernog unosa od približno 11 % dnevnih energetske potreba.

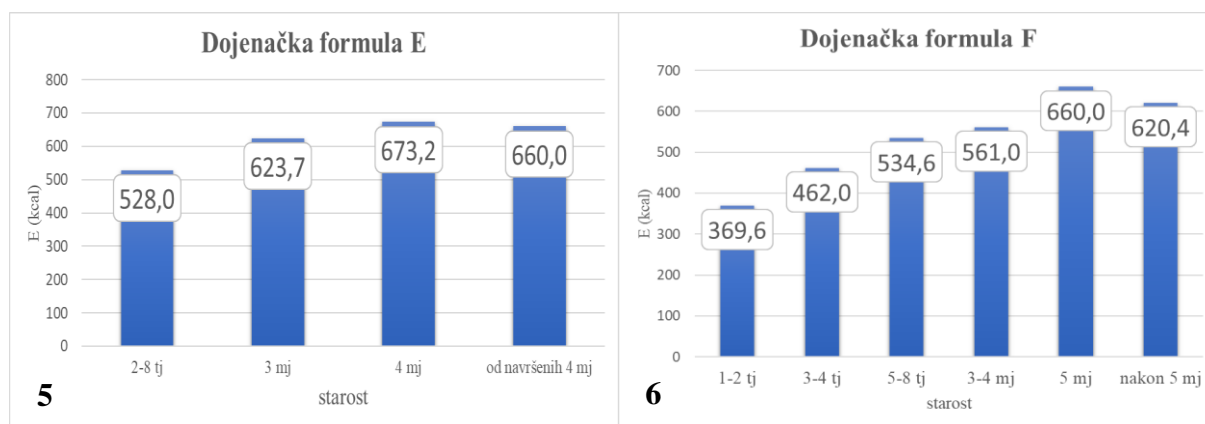
#### 4.2. ENERGETSKA VRIJEDNOST I UDIO MAKRONUTRIJENATA U DOJENAČKIM FORMULAMA

Energetska vrijednost te udio makronutrijenata u dojenačkim formulama s obzirom na dob, izračunati su prema podatcima navedenim na pakiranju.

Na slici 7 prikazane su energetske vrijednosti dojenačkih formula s obzirom na starosnu dob, preuzete sa deklaracije.



**Slika 7.** Energetske vrijednosti dojenačkih formula A(1)-F(6) prema starosti dojenčadi



**Slika 7.** Energetske vrijednosti dojenačkih formula A(1)-F(6) prema starosti dojenčadi -  
*nastavak*

Iz slike 7 vidljiv je trend povećanja energetske vrijednosti dojenačkih formula sa starosnom dobi. Dojenačka formula A najveću energetska vrijednost pokazuje za starosnu dob od 5 mjeseci, jednako kao i dojenačka formula F. Dojenačke formule C, D te E najviše vrijednosti energetskeg unosa pokazuju za starosnu dob od 4 mjeseca.

Kod dojenačkih formula A, C, D, E i F energetska vrijednost nakon 4. ili 5. mjeseca starosti (ovisno o dojenačkoj formuli) pada, što se povezuje sa potrebom za uvođenjem dohrane kako bi se zadovoljile potrebe dojenčadi (UNICEF Parenting, 2023; Babycentre, 2021). Jedina je iznimka dojenačka formula B kod koje energetska vrijednost nakon 5. mjeseca starosti ne pada radi uvođenja dohrane, već nastavlja rasti, i to za čak 117 kcal.

Energetske potrebe dojenčadi hranjene dojenačkim formulama, u dobi od jednog mjeseca, veće su za oko 15 %, dok su u dobi od 6 mjeseci te potrebe za oko 7 % veće, u usporedbi s dojenom djecom. Takva dojenčad unosi oko 26 % više energije te pokazuje viši prosjek povećanja tjelesne težine u odnosu na dojenu dojenčad. Ova povećana brzina ranog debljanja povezuje se sa povećanjem rizika od razvoja pretilosti i dijabetesa tip 2 u kasnijoj životnoj dobi (Fleddermann i sur., 2014).

2005. godine objavljen je rad u kojemu se navode energetske potrebe dojenčadi (dječaka i djevojčica) hranjene isključivo dojenačkim formulama (Butte, 2005). Prema tome je radu energetska potreba dojenčadi starosne dobi jednog mjeseca približno 534 kcal, dok su kod ispitivanih dojenačkih formula te vrijednosti u rasponu od 452 do 536 kcal. Energetske potrebe dojenčadi starosne dobi dva mjeseca prema istome radu iznose oko 583 kcal, dok ispitivane dojenačke formule za istu starosnu dob sadržavaju 528 do 578 kcal. Za starosnu dob tri do četiri mjeseca energetske potrebe dojenčadi prema Butte (2005) iznose oko 609 odnosno 584 kcal,

dok ispitivane dojenačke formule sadržavaju između 561 te 683 kcal. Energetske potrebe za dojenčad starosne dobi pet do šest mjeseci prema navedenom radu iznose između 619 te 642 kcal, dok ispitivane dojenačke formule sadržavaju između 620 te 787 kcal. Dakle, te se energetske vrijednosti u odnosu na energetska vrijednost ispitivanih dojenačkih formula minimalno razlikuju, ali s obzirom da se radi o radu iz 2005.godine, za vjerovati je da su se vrijednosti do danas korigirale.



**Slika 8.** Udjeli makronutrijenata za uzorke dojenačkih formula A(1)-F(6)

Iz slike 8 vidljivo je da gotovo sve ispitivane dojenačke formule sadržavaju jednake količine proteina, dok se udjeli masti i ugljikohidrata razlikuju. Sve dojenačke formule sadržavaju oko 8-9 % proteina, što se povezuje sa sporijim debljanjem te smanjenim rizikom od razvoja

pretilosti kod djece do 6 godina (Echavez, 2019). Tako uzorci A i F sadržavaju 43 % ugljikohidrata te 49 % masti, dok uzorci B, C, D i E sadržavaju 47-48 % ugljikohidrata te 43-45 % masti. Dakle, uzorci A i F sadržavaju veći udio masti i manji udio ugljikohidrata, dok je kod uzoraka B, C, D i E obrnuto - veći je udio ugljikohidrata te je manji udio masti.

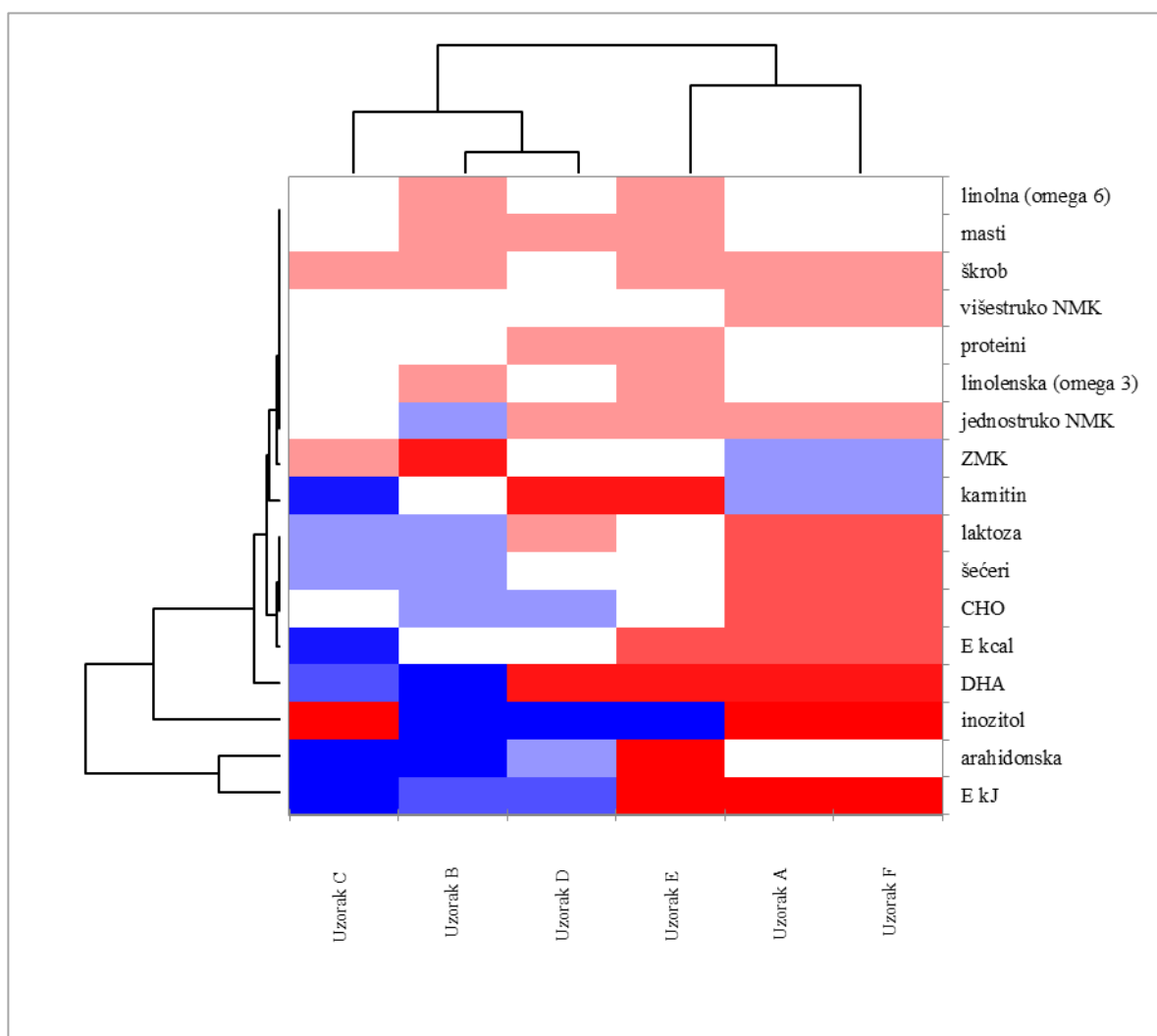
Prema Ćibarić (2016), masti bi u ovoj dobi trebale osiguravati 35-50 % ukupnog unosa energije, što odgovara dobivenim vrijednostima. Ugljikohidrati bi trebali osiguravati 30-40 % ukupnog unosa energije, međutim sve ispitivane dojenačke formule sadrže nešto veće vrijednosti (u rasponu su od 43 % do 48 %).

Uspoređujući udjele makronutrijenata ispitivanih dojenačkih formula sa udjelima makronutrijenata u majčinom mlijeku prema Komes (2019) vidljivi su sljedeći rezultati – udio masti u dojenačkim formulama (43-49 %) manji je u odnosu na udio masti u majčinom mlijeku (50-60 %), udio proteina (8-9 %) gotovo je upola manji u odnosu na udio proteina u majčinom mlijeku (20 %), dok je udio ugljikohidrata u dojenačkim formulama (43-48 %) veći u odnosu na majčino mlijeko (40 %).

Sastav makronutrijenata dojenačkih formula razlikuje se od proizvođača do proizvođača, a na rast i razvoj dojenčadi ima značajan utjecaj. Prema Mennella i sur. (2018) razlike u sastavu makronutrijenata utječu na okus, zasićenost te brzinu povećanja tjelesne težine u dojenčadi koja se njima hrani. Također je ustanovljeno da se razlike u sastavu makronutrijenata povezuju i sa razlikama u antropometrijskim parametrima dojenčadi (Young, 2020). Nadalje, Mennella i sur. (2022) dokazali su povezanost između razlika u makronutritivnom sastavu različitih dojenačkih formula te sastava crijevne mikrobiote.

Iako su nutritivne i energetske vrijednosti dojenačkih formula standardizirane te nastoje biti što sličnije majčinom mlijeku, to može biti i problem. Naime, energetske i hranjive potrebe dojenčadi ovise o mnogim čimbenicima, kao što su dob, tjelesna visina te brzina rasta. Dojena su djeca obično sposobna regulirati unos hrane kako bi zadovoljili svoje energetske potrebe, a i majčino tijelo može proizvesti takvo mlijeko koje će sastavom biti prilagođeno djetetovim energetske i makronutritivnim potrebama u različitim fazama rasta. Nasuprot tome, dojenačke formule zbog svojih standardiziranih vrijednosti mogu osigurati dojenčadi pretjeranu energetske vrijednost te hranjive tvari ovisno o stupnju razvoja, a i hranjenje na bočicu često potiče dojenčad da jede više od onoga što im je potrebno. Iz toga su razloga mnoga istraživanja pokazala da dojenčad hranjena dojenačkim formulama ima veću vjerojatnost razvoja prekomjerne tjelesne mase (Liu, 2013; Hester i sur., 2012).

Kako bi se ispitala sličnost među dojenačkim formulacijama, svi podaci o nutritivnom sastavu za svih 6 dojenačkih formula analiziran je primjenom toplinske mape (slika 9). Analiza značajnosti varijabli pokazala je kako se parametri do karnitina (prilog 1) trebaju uzeti u razmatranje sličnosti i razlika. Toplinske mape bojom pokazuju sličnosti/razlike te je u ovom prikazu – tamnocrveno ono što je količinski najniže, pa preko bijele (srednje vrijednosti) do tamnoplave koje predstavljaju najveće količine promatranog parametra. Ista boja ukazuje na iste ili vrlo slične količine promatranog parametra. U studiji Chen-a i suradnika (2022) upravo su toplinske mape korištene u istraživanju formula za dojenčad nadopunjenu 1,3-olein-2-palmitinom koja regulirala imunitet, crijevnu mikrobiotu i metabolite miševa koloniziranih izmetom zdrave dojenčadi (Chen i sur., 2022).



**Slika 9.** Toplinska mapa za osnovni kemijski sastav za analizirane dojenačke formule

Analizom toplinske mape (slike 9), vodoravni dendrogram pokazuje kako se navedenih 6 dojenačkih formula može podijeliti u dvoje osnovne skupine, gdje zadnje tri čine jednu skupinu,

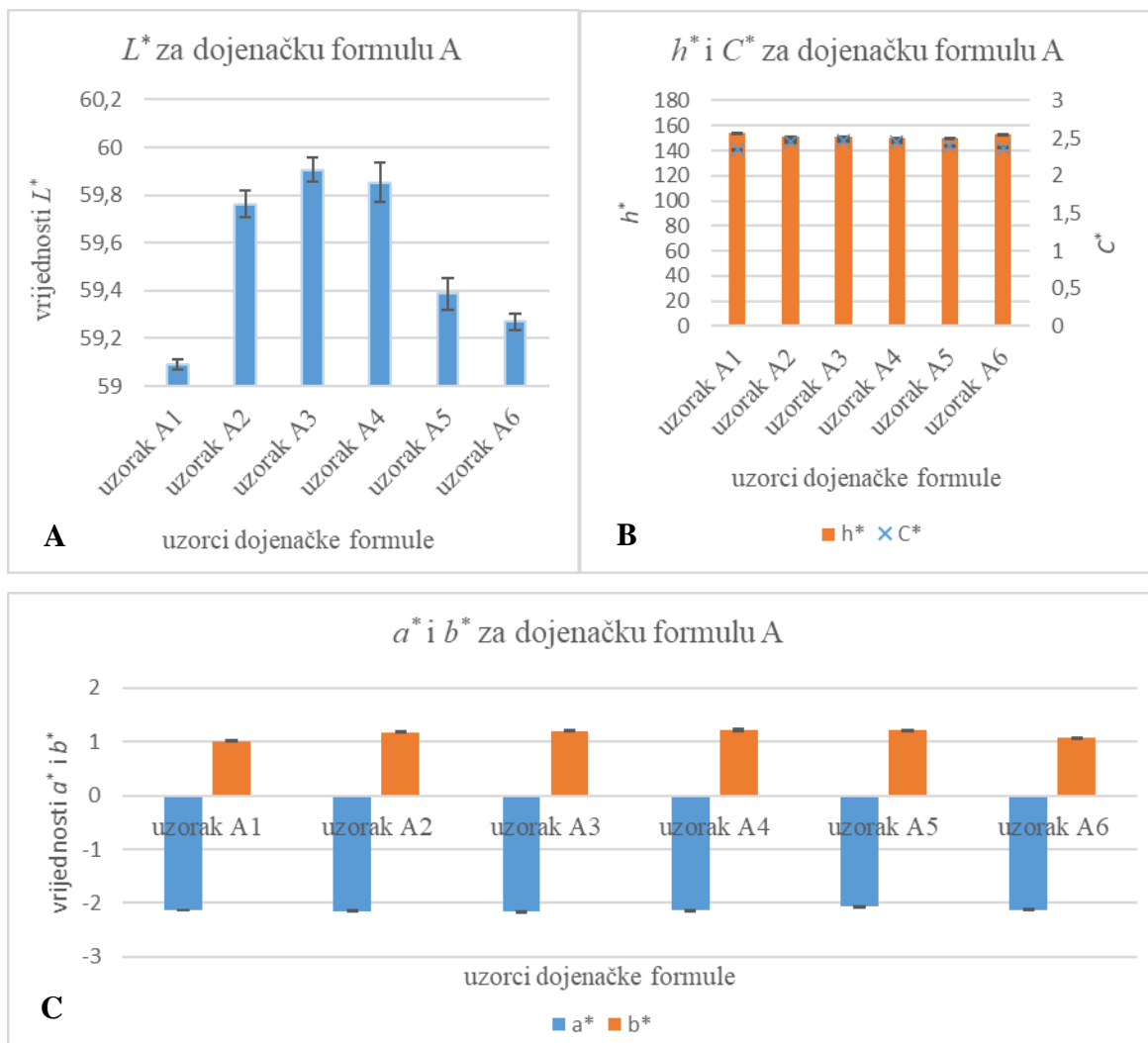
a prve tri drugu skupinu, međutim u toj skupini je veća sličnost između dojenačke formule B i D. Okomiti dendrogram upućuje grupiranje promatranih energetske-nutritivnih parametara (koji su izdvojeni kao značajni) te je po bojama vidljivo kako su zadnje dvije (formula A i F) gotovo identične po sadržaju promatranih parametara te se značajno razlikuju od dojenačke formule B u gotovo svim promatranim parametrima, osim sadržaju proteina koji su 1,4 vs 1,5 g u promatranim dojenačkim formulama. Toplinske mape se koriste kao alat za kvalitativno utvrđivanje sličnosti uzoraka (Barton i sur., 2020), što potvrđuje i primjena na grupiranje dojenačkih formula prema kemijskom sastavu (tj. varijablama koje su se izdvojile kao značajne).

### 4.3. BOJA DOJENAČKIH FORMULA

#### 4.3.1. Kolorimetrija

Boja je temeljno optičko svojstvo prehrambenih proizvoda, zbog svoje uloge u pokazivanju kritičnih podataka kao što su ispravnost, dozrijevanje ili svježina proizvoda. Vrijednost  $L^*$  opisuje stupanj svjetline boje te može imati vrijednosti od 0 (crno) do 100 (bijelo). Ona se povezuje sa ukupnim sadržajem pigmenata u prehrambenim proizvodima, odnosno veći sadržaj pigmenata podrazumijeva veću apsorpciju svjetlosti te posljedično manju refleksiju ili propusnost, čineći proizvod tamnijim ili neprozirnijim. Zasićenje boje ( $C^*$ ) i ton boje ( $h^*$ ) izravno se dobivaju iz vrijednosti  $a^*$  i  $b^*$  te su bolje u korelaciji s ljudskom vizualnom percepcijom boja (Saluena i sur., 2019). Vrijednost  $a^*$  predstavlja kretanje boje od crvene ( $+a^*$ ) do zelene ( $-a^*$ ), dok vrijednost  $b^*$  predstavlja kretanje boje od žute ( $+b^*$ ) do plave ( $-b^*$ ) (Milovanovic i sur., 2020).

Na slikama 10-15 prikazane su  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  i  $h^*$  vrijednosti za dojenačke formule A-F.



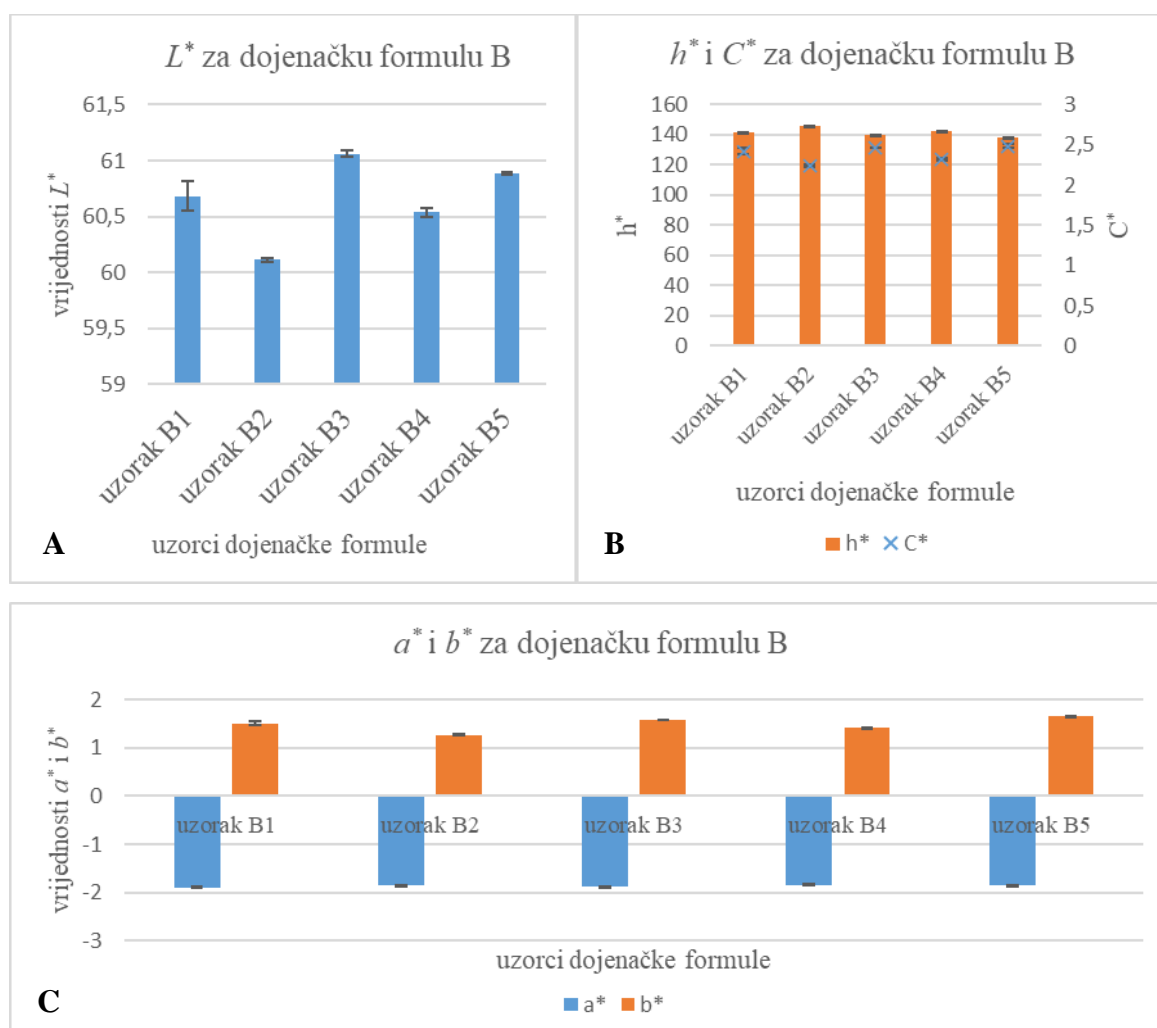
**Slika 10.** Vrijednosti (A) svjetline  $L^*$ , (B) parametri  $h^*$ ,  $C^*$  te (C) parametri boje  $a^*$  i  $b^*$ , za dojenačku formulu A

Zasićenje bojom (Croma,  $C^*$ ), odnosno svjetlina ( $L^*$ ), mijenja se ovisno o dojenačkoj formuli pripremljenoj za različitu starosnu dob, za koju je taj uzorak namijenjen.

Za dojenačku formulu A najsvjetlijim se uzorkom pokazao uzorak A3 ( $L^*=59,9$ ), koji je namijenjen dojenčadi dobi 5-8 tjedana, zatim uzorak A4 ( $L^*=59,85$ ) za starosnu dob 3-4 mjeseca, A2 ( $L^*=59,8$ ) za starosnu dob 3-4 tjedana, A5 ( $L^*=59,4$ ) za starosnu dob 5 mjeseci te A6 ( $L^*=59,3$ ) za starosnu dob starijih od 6 mjeseci. Najmanje svijetlim pokazao se uzorak A1 ( $L^*=59,1$ ), namijenjen za dojenčad dobi 1-2 tjedna. Dakle, iz dobivenih rezultata vidljivo je da su svi uzorci dojenačke formule A približno jednako svijetli (slika 10). Nijansa boje ( $h^*$ ) najizraženija je za uzorak A1 te iznosi 154,5, dok je najmanje izražena za uzorak A5 te iznosi 149,7. Sukladno tim vrijednostima, uzorak A1 pokazuje najmanje zasićenje boje ( $C^* = 2,4$ ), dok najveće zasićenje boje pokazuje uzorak A4 ( $C^*=2,5$ ). Vrijednost  $a^*$  za sve je uzorke

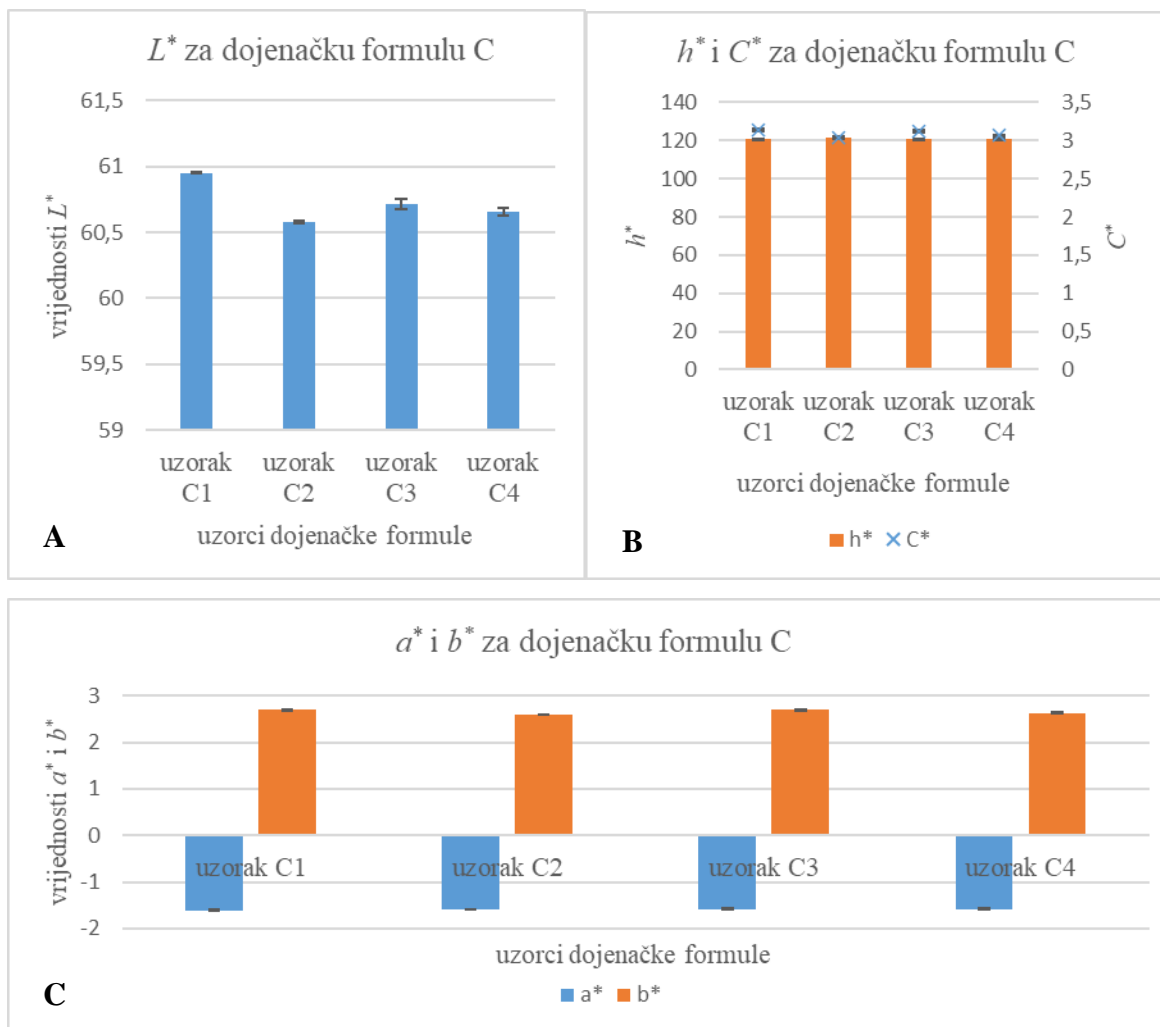


dojenačke formule A negativna te iznosi između -2,1 i -2,2 što govori o dominaciji zelene boje. Obrnuto vrijednosti  $a^*$ , vrijednosti  $b^*$  za sve su uzorke pozitivne te iznose između 1,0 i 1,2 što ukazuje na dominaciju žute boje.



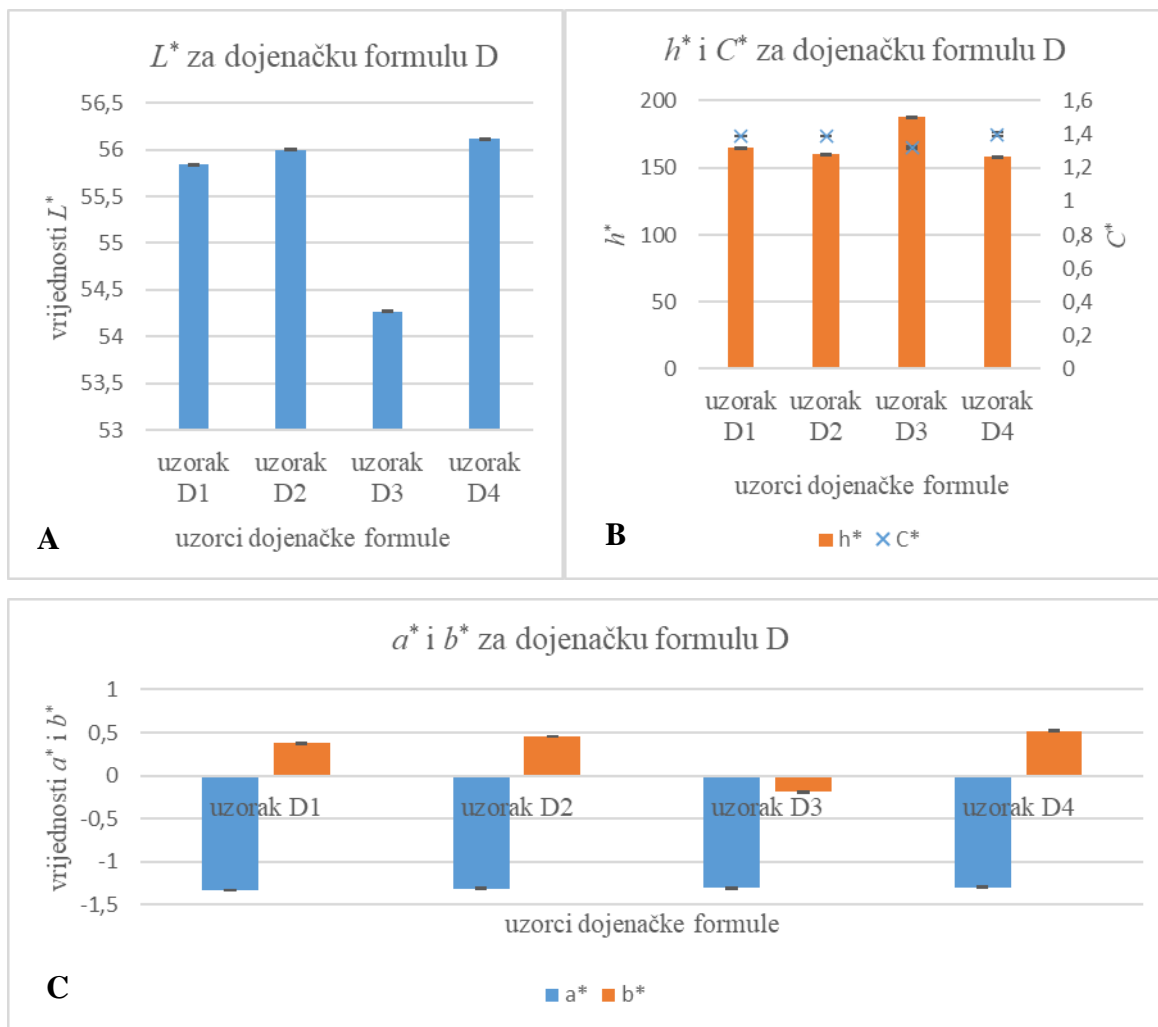
**Slika 11.** Vrijednosti (A) svjetline  $L^*$ , (B) parametri  $h^*$ ,  $C^*$  te (C) parametri boje  $a^*$  i  $b^*$ , za dojenačku formulu B

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da su svi uzorci dojenačke formule B približno jednako svijetli ( $L^*$ ) te im se vrijednosti kreću između 60,1 za uzorak B2 i 61,1 za uzorak B3 (slika 11). Nijansa boje ( $h^*$ ) najizraženija je za uzorak B2 te iznosi 145,7, dok je najmanje izražena za uzorak B5 te iznosi 138,3. Sukladno tome, uzorak B2 sa najizraženijom nijansom boje pokazuje najmanje zasićenje boje ( $C^*=2,2$ ), a uzorak B5 sa najmanje izraženom nijansom boje pokazuje najveće zasićenje boje ( $C^*=2,5$ ). Vrijednost  $a^*$  za sve je uzorke dojenačke formule B negativna te iznosi između -1,8 i -1,9 što govori o dominaciji zelene boje. Obrnuto vrijednosti  $a^*$ , vrijednosti  $b^*$  za sve su uzorke pozitivne te iznose između 1,3 i 1,7 što ukazuje na dominaciju žute boje.



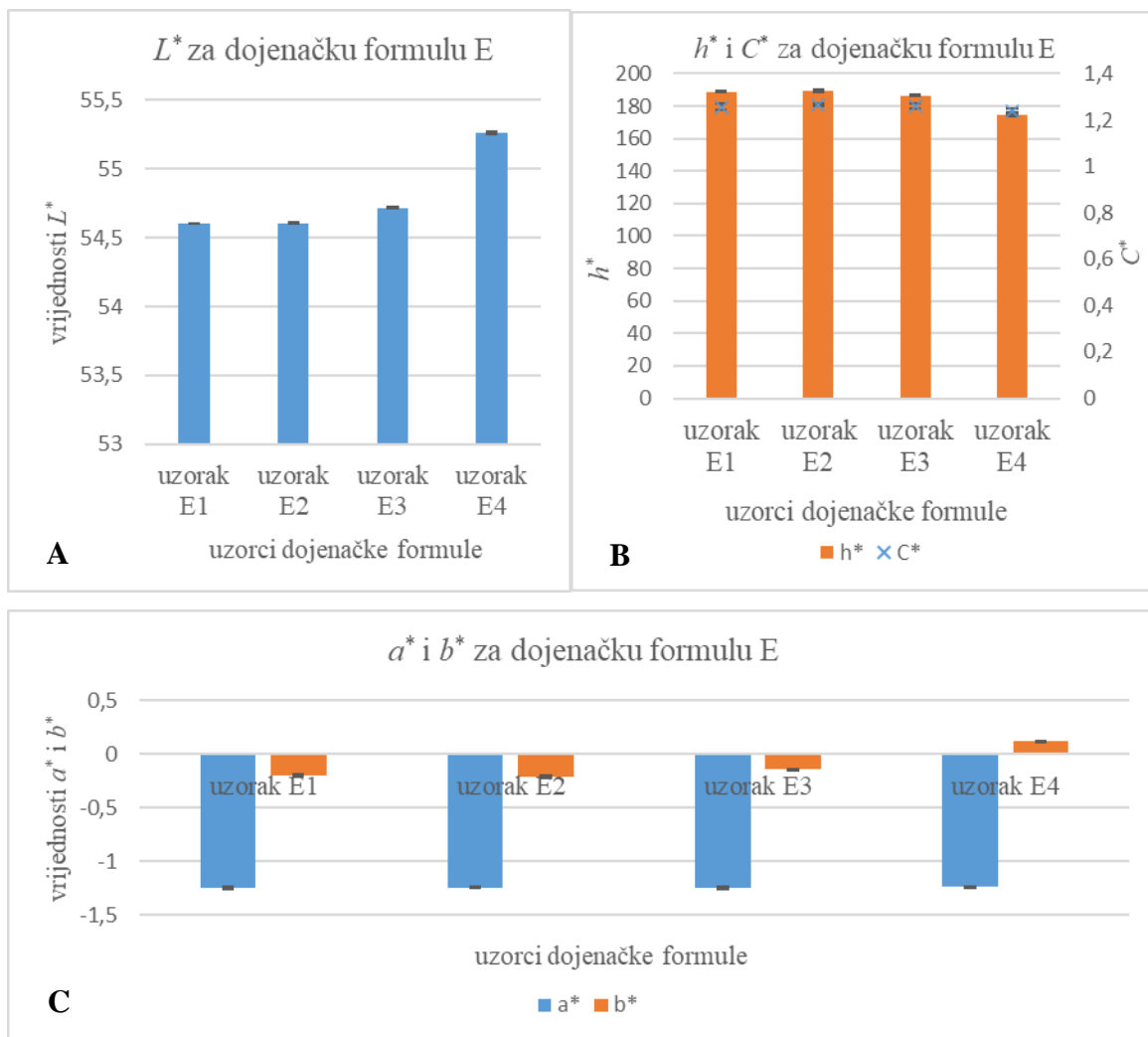
**Slika 12.** Vrijednosti (A) svjetline  $L^*$ , (B) parametri  $h^*$ ,  $C^*$  te (C) parametri boje  $a^*$  i  $b^*$ , za dojenačku formulu C

Svi uzorci dojenačke formule C približno su jednako svijetli te poprimaju vrijednosti između  $L^*=60,6$  za uzorak C2 i  $L^*=61$  za uzorak C1 (slika 12). Nijansa boje ( $h^*$ ) najizraženija je za uzorak C2 te iznosi 121,7, dok je najmanje izražena za uzorak C3 te iznosi 120,6. Sukladno tim vrijednostima, uzorak C2 pokazuje najmanje zasićenje boje ( $C^*=3,0$ ). Najveće zasićenje boje pokazuje uzorak C1 ( $C^*=3,1$ ). Vrijednost  $a^*$  za sve je uzorke dojenačke formule C negativna te iznosi između -1,58 i -1,61 što govori o dominaciji zelene boje. Obrnuto vrijednosti  $a^*$ , vrijednosti  $b^*$  za sve uzorke poprimaju pozitivne vrijednosti te iznose između 2,6 i 2,7 što ukazuje na dominaciju žute boje.



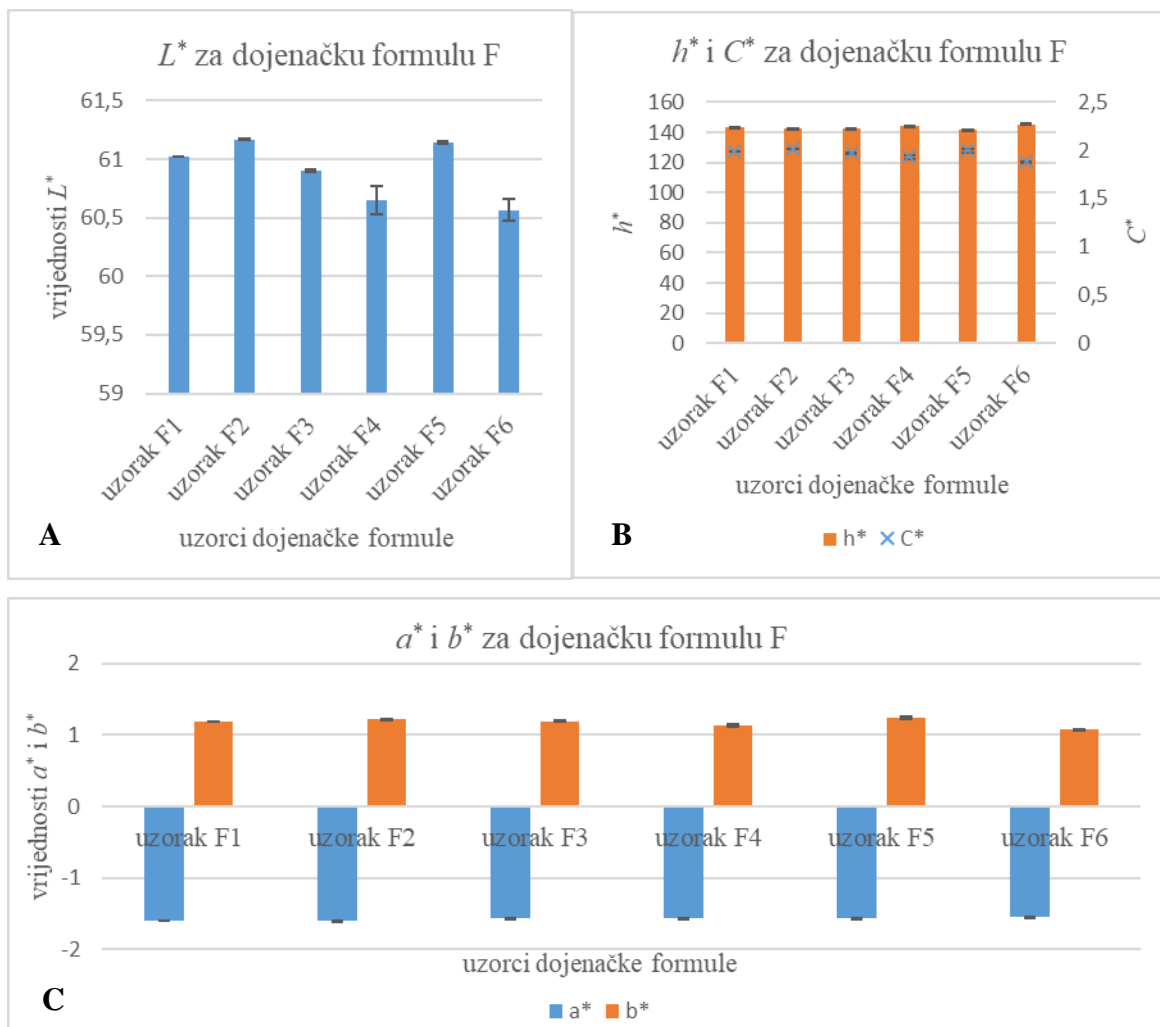
**Slika 13.** Vrijednosti (A) svjetline  $L^*$ , (B) parametri  $h^*$ ,  $C^*$  te (C) parametri boje  $a^*$  i  $b^*$ , za dojenačku formulu D

Za dojenačku formulu D, najsvjetlijim se uzorkom pokazao D4 ( $L^*=56,1$ ) namijenjen dojenčadi od navršениh 4 mjeseca, zatim D2 ( $L^*=56,0$ ) namijenjen starosnoj dobi od 3 mjeseca te D1 ( $L^*=55,8$ ) namijenjen starosnoj dobi od 2-8 tjedana, dok se najmanje svijetlim pokazao uzorak D3 ( $L^*=54,3$ ) namijenjen dojenčadi starosne dobi 4 mjeseca (slika 13). Nijansa boje najizraženija je za uzorak D3 ( $h^*=188,1$ ), dok je zasićenje boje za isti uzorak najmanje ( $C^*=1,3$ ). Uzorak D4 pokazuje najmanje izraženi  $h^*=158,2$ , a sukladno tome taj isti uzorak pokazuje najveće zasićenje boje ( $C^*=1,4$ ). Vrijednost  $a^*$  za sve uzorke dojenačke formule D poprima negativne vrijednosti između -1,3 i -1,34, što upućuje na dominaciju zelene boje. Vrijednosti  $b^*$  za uzorke D1 (0,4), D2 (0,5) i D4 (0,52) poprimaju pozitivne vrijednosti što upućuje na dominaciju žute boje. Uzorak D3 pokazuje negativnu  $b^*$  vrijednost (-0,2) što, uz dominaciju žute boje, ukazuje i na dominaciju plave boje.



**Slika 14.** Vrijednosti (A) svjetline  $L^*$ , (B) parametri  $h^*$ ,  $C^*$  te (C) parametri boje  $a^*$  i  $b^*$ , za dojenačku formulu E

Kod dojenačke formule E, svjetlina uzoraka poprilično je ujednačena te se kreće između vrijednosti  $L^*=54,6$  za uzorak E1 i  $L^*=55,3$  za uzorak E4 (slika 14). Najveće zasićenje boje ( $C^*$ ) pokazuje uzorak E2 (1,3), dok najmanje zasićenje boje pokazuje uzorak E4 (1,2). Zanimljivo je da uzorak E2 sa najvećim zasićenjem boje pokazuje i najizraženiju nijansu boje ( $h^*=189,4$ ), dok uzorak E4 sa najmanjim zasićenjem boje pokazuje najmanje izraženu nijansu boje ( $h^*=174,3$ ). Vrijednosti  $a^*$  poprimaju negativne vrijednosti za sve uzorke u rasponu od -1,2 do -1,3 što ukazuje na dominaciju zelene boje. Vrijednosti  $b^*$  za uzorke E1, E2 i E3 poprimaju negativne predznake te iznose -0,19, -0,21 i -0,1 što ukazuje na dominaciju plave boje, dok uzorak E4 poprima pozitivan predznak (0,1) što ukazuje na dominaciju žute boje.



**Slika 15.** Vrijednosti (A) svjetline  $L^*$ , (B) parametri  $h^*$ ,  $C^*$  te (C) parametri boje  $a^*$  i  $b^*$ , za dojenačku formulu F

Vrijednosti svjetline uzoraka ( $L^*$ ) za dojenačku formulu F pokazuju najviše vrijednosti kod uzorka F2 (61,2) što ukazuje da je on najsvjetliji (slika 15). Suprotno tome, najmanje svijetli uzorak, sa najnižom vrijednosti  $L^*$ , je uzorak F6 (60,6). Nijansa boje najizraženija je za uzorak F6 te iznosi  $h^*=145,5$ , dok je najmanje izražena nijansa boje primijećena za uzorak F5 te iznosi  $h^*=141,7$ . Sukladno tome, najmanje zasićenje boje ( $C^*$ ) primijećeno je za uzorak F6 sa najizraženijom nijansom te iznosi 1,9. Najveće zasićenje boje primijećeno je za uzorak F2 te iznosi 2,0. Vrijednosti  $a^*$  za sve uzorke dojenačke formule F poprimaju negativne vrijednosti te iznose između -1,55 i -1,6 što ukazuje na dominaciju zelene boje, dok vrijednosti  $b^*$  za sve uzorke poprimaju pozitivne vrijednosti između 1,1 i 1,2 što ukazuje na dominaciju žute boje.

Svjetlina uzoraka ispitivanih dojenačkih formula ( $L^*$ ) poprilično je ujednačena za sve uzorke te se kreće u rasponu od 54,3 do 61,1.

Vrijednosti  $a^*$  za sve su uzorke ispitivanih dojenačkih formula negativnog predznaka, što ukazuje na dominaciju zelene boje.

Vrijednosti  $b^*$  pozitivnog su predznaka za sve uzorke dojenačkih formula A, B, C i F, što upućuje na dominaciju žute boje. Međutim, kod uzoraka D3 te E1, E2 i E3 te vrijednosti poprimaju negativan predznak što upućuje na dominaciju plave boje. S obzirom da uzorci D1, D2 i D4 poprimaju pozitivne vrijednosti, u ovome se slučaju vjerojatno radi o ljudskoj pogrešci ili neujednačenosti sastava te dojenačke formule.

Kod dojenačkih formula A, B te D može se vidjeti da su vrijednosti  $C^*$  i  $h^*$  obrnuto – proporcionalne, odnosno da je kod uzoraka sa najvećim  $C^*$  prisutan najmanji  $h^*$ , i obrnuto. Ta obrnuto – proporcionalna povezanost ovih parametara dokazana je i u istraživanju Majić (2023). Dojenačka formula E za najveću vrijednost  $C^*$  pokazuje i najveću vrijednost  $h^*$ , ali isto tako za najmanju vrijednost  $C^*$  pokazuje najmanju vrijednost  $h^*$  te se na nju ne može primijeniti obrnuto – proporcionalno svojstvo.

#### 4.3.2. Usporedba boja dojenačkih formula i mlijeka u prahu

Prema Strgar Kurečić (2023), jedna od najvažnijih prednosti kolorimetra je mogućnost izračuna delta  $E$  ( $\Delta E$ ) vrijednosti – vrijednosti razlike boja na temelju razlika u svjetlini, tonu i kromatičnosti.

Na osnovi vrijednosti kolorimetrijske razlike može se provesti jednostavno ocjenjivanje odstupanja boja i to prema slijedećim kriterijima:

Ukoliko je:  $\Delta E < 0,2$  ; razlika boja nije primjetna

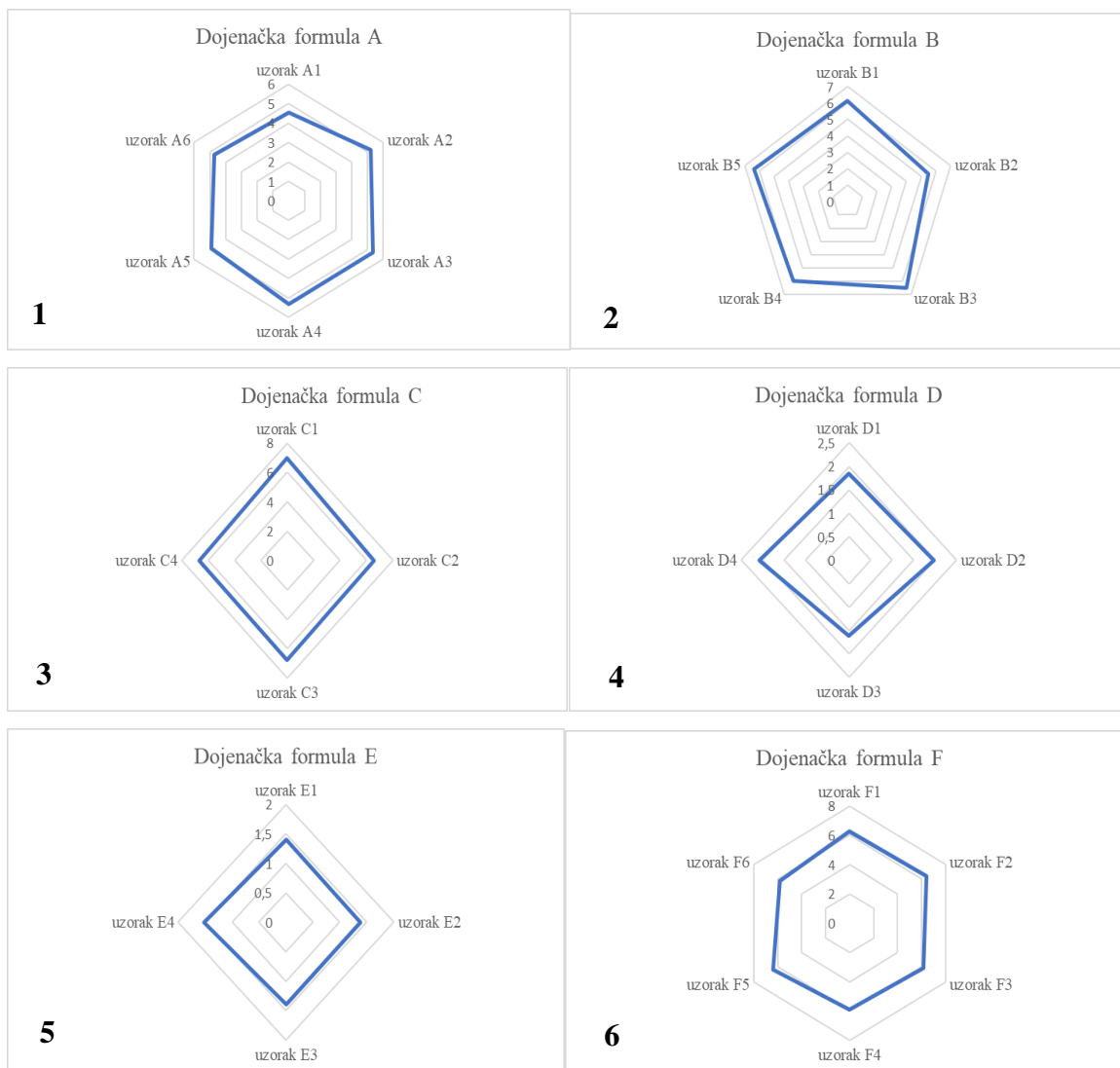
$\Delta E = 0,2 - 1$  ; razlika boja je primjetna

$\Delta E = 1 - 3$  ; razlika boja se vidi

$\Delta E = 3 - 6$  ; razlika boja se dobro vidi

$\Delta E > 6$  ; postoje očigledna odstupanja boja (Strgar Kurečić, 2023).

Koristeći  $\Delta E$  vrijednost, na slici 16 prikazane su razlike u boji dojenačkih formula A-F u odnosu na mlijeko u prahu.



**Slika 16.** Razlike u boji dojenačkih formula A(1)-F(6) i mlijeka u prahu

Boja je jedna od osnovnih percepcija te je od iznimne važnosti za povezivanje i procjenjivanje sličnosti uzoraka, upravo sa parametrom kao što je  $\Delta E$  (Mokrzycki i Tatol, 2011).

Vrijednosti  $\Delta E$  za uzorke dojenačkih formula D i E iznose između 1,3 i 2, što ukazuje na razlike u boji ovih dojenačkih formula i mlijeka u prahu koja je vidljiva.

$\Delta E$  za uzorke dojenačke formule A varira između 4,5 te 5,3 što znači da se razlika u boji ove dojenačke formule i mlijeka u prahu dobro vidi.

Kod uzoraka dojenačke formule C,  $\Delta E$  vrijednost iznosi  $> 6$ , što ukazuje na postojanje očiglednog odstupanja u boji ove dojenačke formule u odnosu na mlijeko u prahu.

Kod dojenačkih formula B i F,  $\Delta E$  vrijednosti variraju između 5,5 te 6,4. S obzirom na veću prisutnost rezultata  $> 6$ , kod ovih dojenačkih formula postoje očigledna odstupanja u boji u odnosu na mlijeko u prahu.

U istraživanju Majić (2023), gdje su proučavane razlike u boji dojenačkih formula za posebne potrebe i mlijeka u prahu, ustanovljeno je pak da niti jedna dojenačka formula ne pokazuje očigledno odstupanje u boji u odnosu na boju mlijeka u prahu ( $\Delta E > 6$ ).

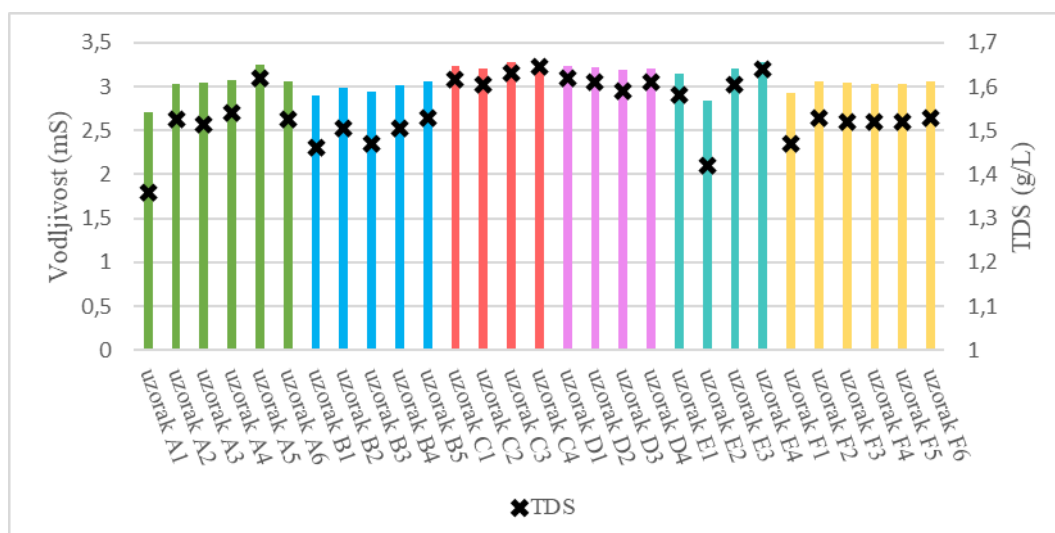
#### **4.4. VODLJIVOST I UKUPNE OTOPLJENE KRUTE TVARI (TDS) U DOJENAČKIM FORMULAMA**

Vodljivost je mjera sposobnosti vode da provodi električnu struju i uobičajeno se mjeri u mikro- ili milisiemensima po centimetru ( $\mu\text{S/cm}$  ili  $\text{mS/cm}$ ). Ta sposobnost izravno se povezuje s koncentracijom iona u vodi, a ovi vodljivi ioni potječu od otopljenih soli i anorganskih materijala kao što su lužine, kloridi, sulfidi i karbonati. Spojevi koji se otapaju u ione, također su poznati kao elektroliti. Vodljivost vode biti će veća što je u njoj više iona prisutno, odnosno njena vodljivost biti će manja što je u vodi prisutno manje iona (Fondriest, 2014). U nekoliko objavljenih istraživanja, vodljivost se koristila za mjerenje sadržaja soli u suhoj šunki, oslobađanja soli u ustima te kvalitete krvi i vode (Ali i sur., 2023).

Ukupne otopljene krute tvari (TDS) zbroj su svih ionskih čestica manjih od 2 mikrona ( $0,0002\text{ cm}$ ). To uključuje sve disocirane elektrolite te druge spojeve kao što su otopljene organske tvari, a najčešće se izražavaju u miligramima po litri ( $\text{mg/L}$ ) (Fondriest, 2014).

Izvori materijala za vodljivost i TDS mogu potjecati iz prirode, to jest geoloških uvjeta i morske vode, ali i iz ljudskih aktivnosti, odnosno kućnog i industrijskog otpada te poljoprivrede (Rusydi, 2017).





**Slika 17.** Vodljivost i TDS (ukupne otopljene krute tvari) za sve uzorke dojenačkih formula

Iz slike 17 vidljivo je da vrijednosti TDS-a prate vrijednosti vodljivosti te da su one vrlo slične za sve uzorke određene dojenačke formule, što je i za očekivati s obzirom da vodljivost i TDS međusobno ovise. Također je uočeno da najveće vrijednosti TDS-a pokazuju uzorci dojenačke formule C te dojenačke formule D.

#### 4.5. ANALIZA NIR SPEKTARA

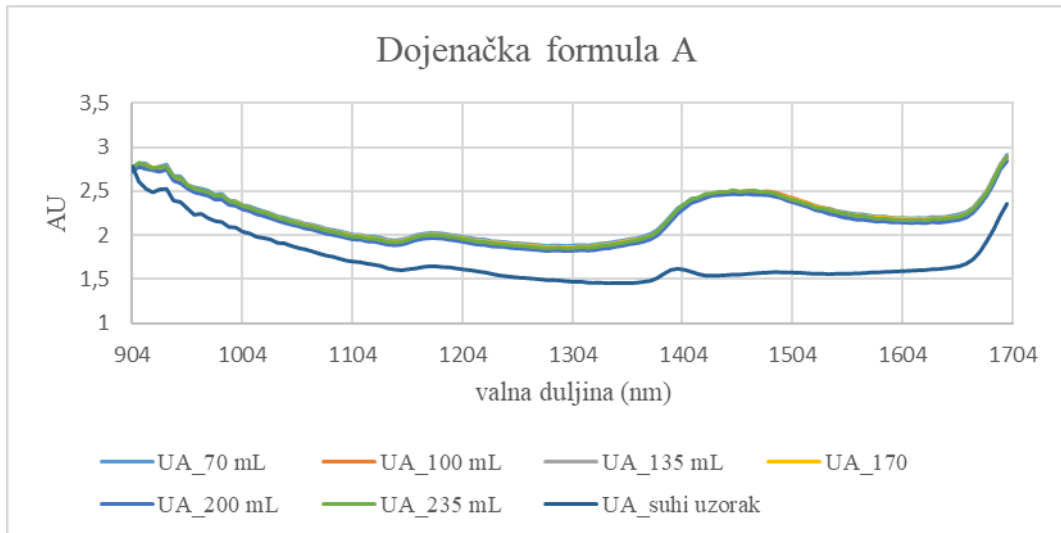
NIR spektroskopija uobičajeno se koristi za određivanje sastava te funkcionalnu i senzorsku analizu sastojaka hrane (Osborne, 2006). Prema Matijević i Blažić (2008) spektroskopija se, osim za kvalitativnu i kvantitativnu analizu sastojaka mlijeka i mliječnih proizvoda, može koristiti i za utvrđivanje ukupnog broja bakterija u sirovom mlijeku. Balabin i Smirnov (2011) utvrdili su da je upravo NIR spektroskopija učinkovit alat za otkrivanje melamina u mliječnim proizvodima, kao što su mlijeko, mlijeko u prahu ili dojenačke formule.

Implementacija NIR spektroskopije u prehrambenoj industriji nudi brojne prednosti koje uključuju optimizaciju i kontrolu sirovina, smanjenje vremena procesiranja, zamjenu skupih i sporih laboratorijskih ispitivanja, a što je najvažnije, omogućava kontinuirano učenje, zamišljanje i inovaciju proizvoda (Grassi i Casiraghi, 2022).

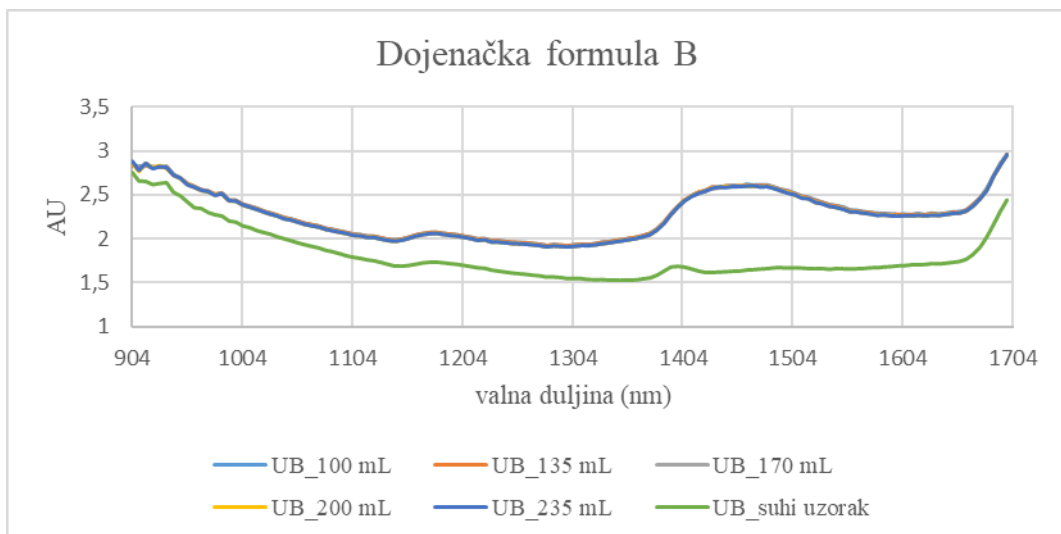
Apsorbancija mjerena laboratorijskim NIR spektrometrom mjerena je kako bi se ustanovile potencijalne sličnosti i razlike uzoraka dojenačkih formula na molekularnoj razini. Laboratorijski NIR spektrometar imao je raspon valnih duljina od 904 do 1699 nm.

#### 4.5.1. Spektri apsorbancije (AU) snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom

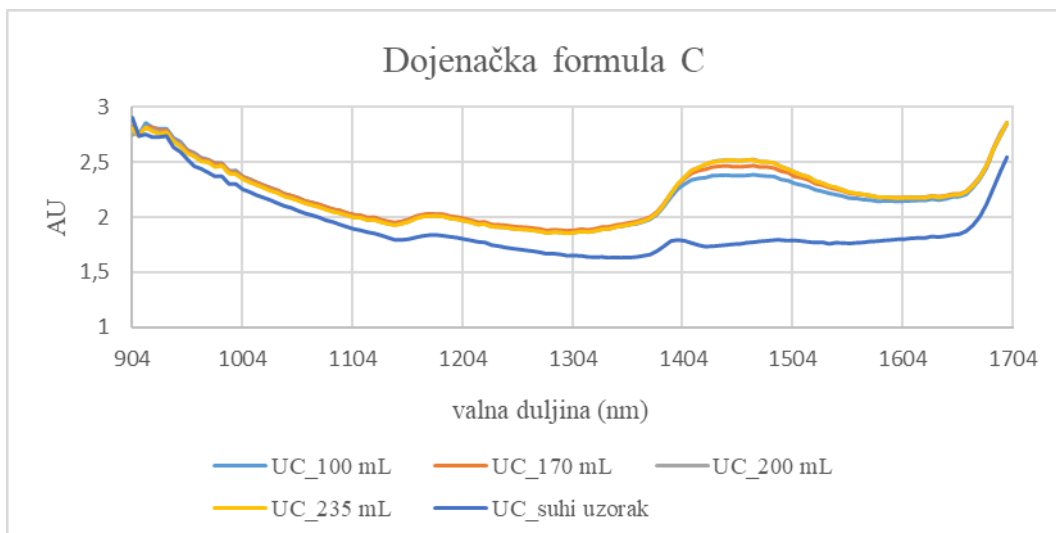
Slikama 18-23 prikazane su sličnosti i razlike spektara različitih volumena dojenačkih formula te suhih uzoraka.



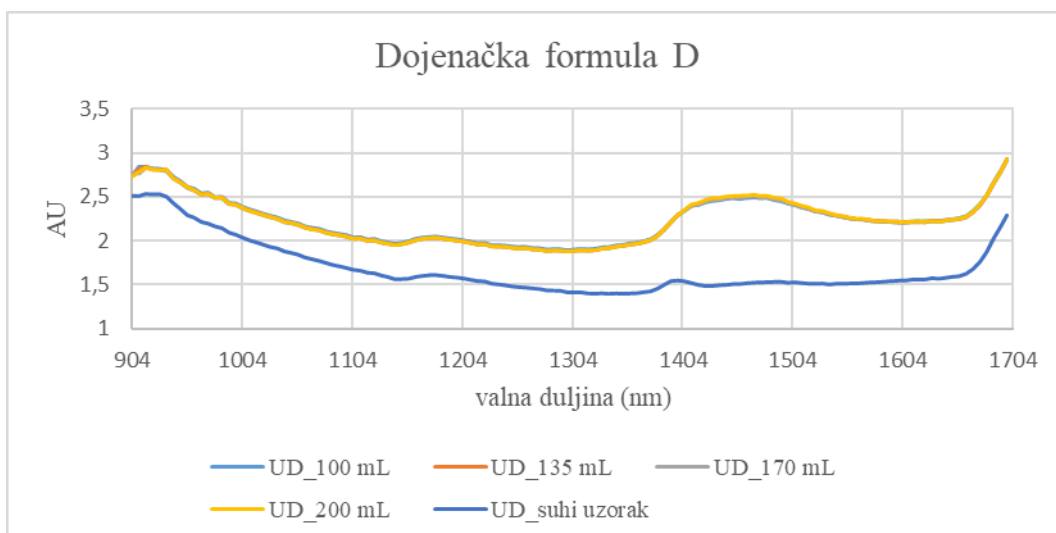
**Slika 18.** Spektri apsorbancije uzoraka dojenačke formule A (UA), snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom



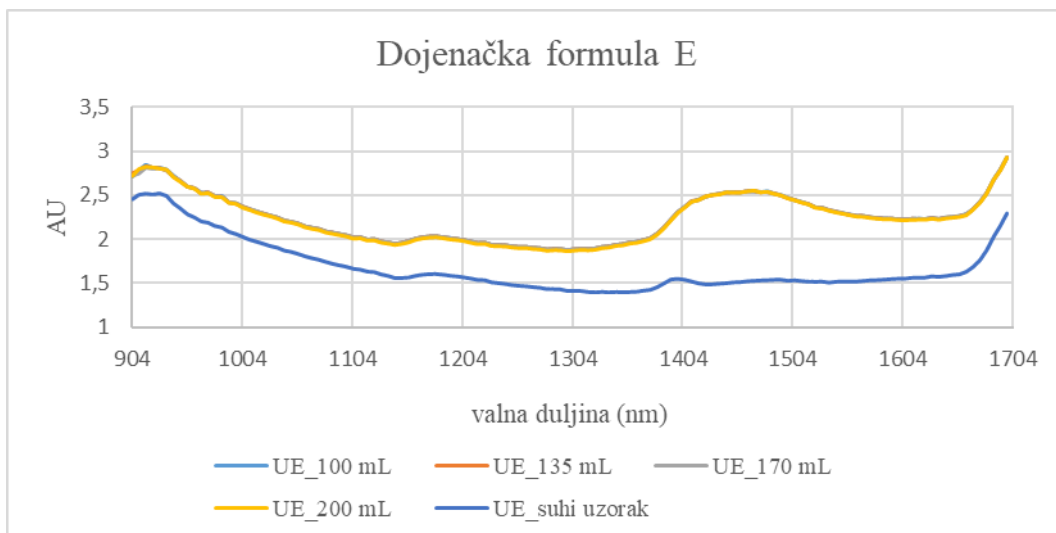
**Slika 19.** Spektri apsorbancije uzoraka dojenačke formule B (UB), snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom



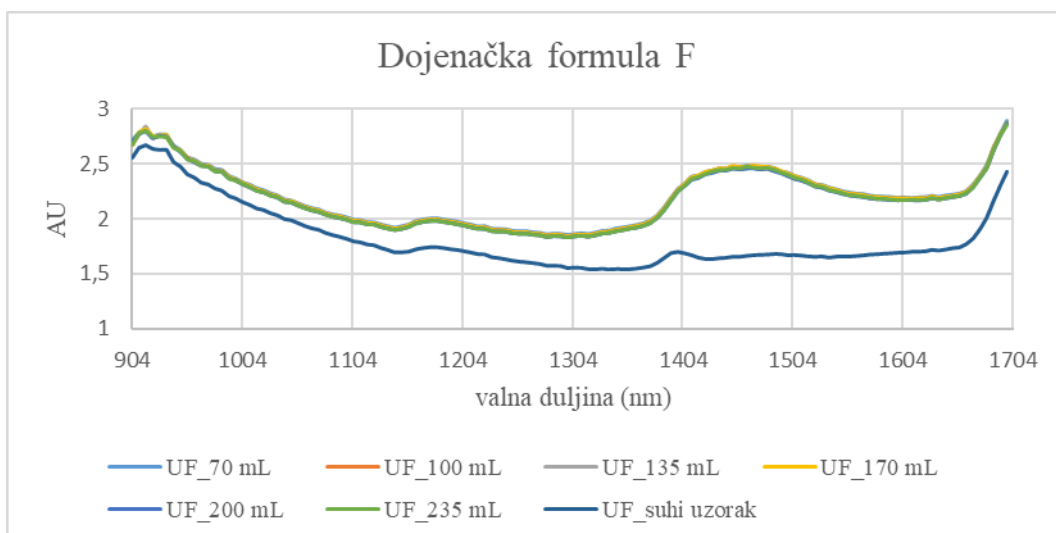
**Slika 20.** Spektri apsorbancije uzoraka dojenačke formule C (UC), snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom



**Slika 21.** Spektri apsorbancije uzoraka dojenačke formule D (UD), snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom



**Slika 22.** Spektri apsorpcije uzoraka dojenačke formule E (UE), snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom



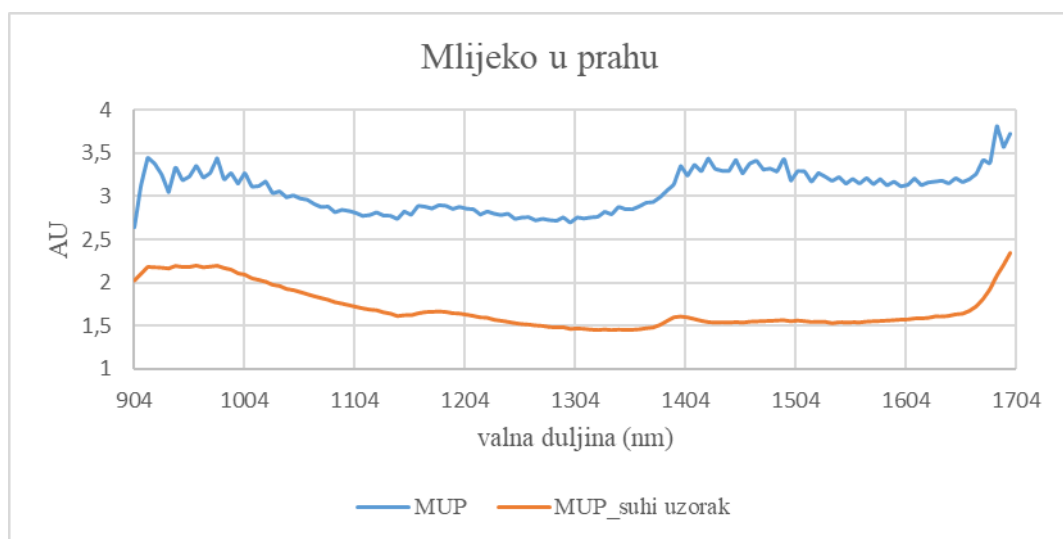
**Slika 23.** Spektri apsorpcije uzoraka dojenačke formule F (UF), snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom

Iz navedenih slika vidljivo je da je trend različitih volumena dojenačkih formula vrlo sličan te ga prati i trend suhog uzorka.

Apsorpcijske krivulje svih pripremljenih dojenačkih formula pokazuju *peakove* karakteristične za određene funkcionalne skupine. Prvi *peak* vidljiv je pri valnoj duljini od približno 950 nm, što prema apsorpcijskoj vrpici iz priloga 3. odgovara N-H vezi te upućuje na prisutnost proteina. Sljedeći *peak* javlja se pri valnoj duljini od približno 1150 nm, što prema apsorpcijskoj vrpici

(prilog 3) odgovara C-H vezi te govori o prisutnosti ugljikohidrata u ispitivanim dojenačkim formulama. Pri valnoj duljini od približno 1400-1500 nm javlja se *peak* karakterističan za hidroksilnu skupinu (O-H), a koji govori o prisutnosti vode (prilog 3). Kod približno 1650 nm valne duljine dolazi do porasta apsorpcijske krivulje što prema apsorpcijskoj vrpici iz priloga 3. ukazuje na prisutnost C-H veza, odnosno ugljikohidrata.

Apsorpcijske krivulje suhих uzoraka zbog nedostatka vode nemaju specifičan oblik apsorpcijskih krivulja (u rasponu valnih duljina od 1400 do 1550 nm) pripremljenih dojenačkih formula.



**Slika 24.** Spektar apsorpcije mlijeka u prahu (MUP), snimljen laboratorijskim NIR spektrometrom

Na slici 24 prikazan je spektar apsorpcije pripremljenog mlijeka u prahu te suhog uzorka mlijeka u prahu, snimljen laboratorijskim NIR spektrometrom. Kod suhog uzorka prvi *peak* vidljiv je pri valnoj duljini od približno 1150 nm, što prema apsorpcijskoj vrpici iz priloga 3. ukazuje na prisutnost C-H veza, odnosno ugljikohidrata. Pri približno 1400 nm valne duljine pojavljuje se *peak* koji ukazuje na prisutnost OH- skupine (prilog 3), odnosno vode, koju ovaj uzorak, iako se radi o suhom uzorku, sadržava. Kao i kod pripremljenih dojenačkih formula, pri približno 1650 nm valne duljine dolazi do porasta apsorpcijske krivulje, što ukazuje na prisutnost C-H veza, odnosno ugljikohidrata (prilog 3).

Prema Pu i sur. (2019) u odnosu na punomasno mlijeko (udio masti 3-5 %) koje obiluje masnim globulama i uzrokuje raspršenje svjetla, kroz obrano mlijeko NIR svjetlost lakše prodiere te samim time daje detaljniji spektar apsorbancije i više informacija o njegovu sastavu.

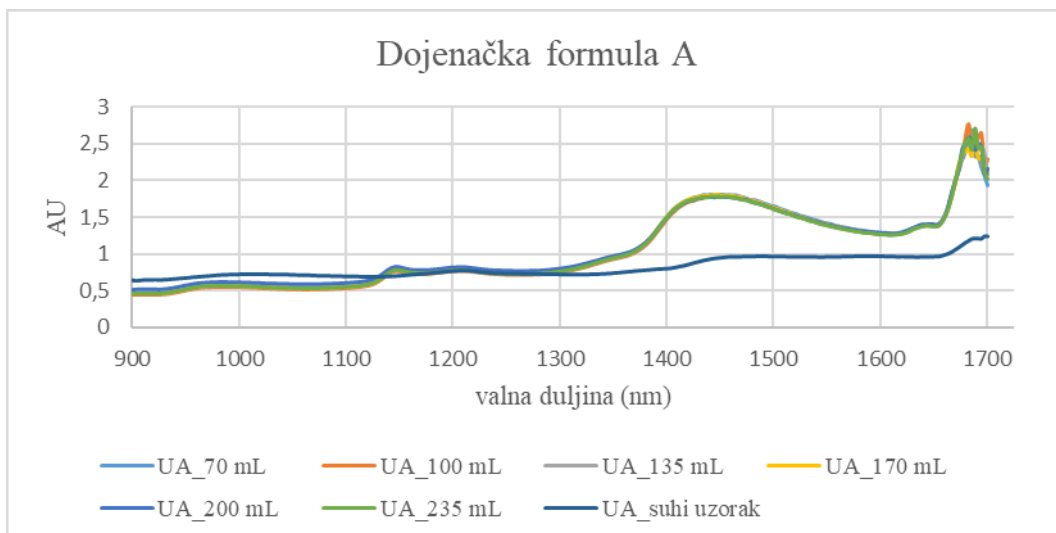
#### 4.5.2. Spektri apsorbancije (AU) snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom

Primjena mikro NIR spektroskopa donosi značajne prednosti u području analize hrane. Kombinacija njegove prenosivosti i izravne primjene na licu mjesta s visokom propusnošću i neinvazivnim načinom analize, odlučujuća je prednost u prehrambenoj industriji koja se odlikuje raznolikim lancem proizvodnje i opskrbe. Ovaj uređaj lako je primjenjiv i u borbi protiv raznih rizika sigurnosti hrane, gdje narušena, odnosno ugrožena kvaliteta može biti rezultat slučajne ili namjerne pogreške. Posebno važnu primjenu, osim u prehrambenoj industriji i to analizi mlijeka i mliječnih proizvoda, pronalaze i u poljoprivredi (Beć i sur., 2022).

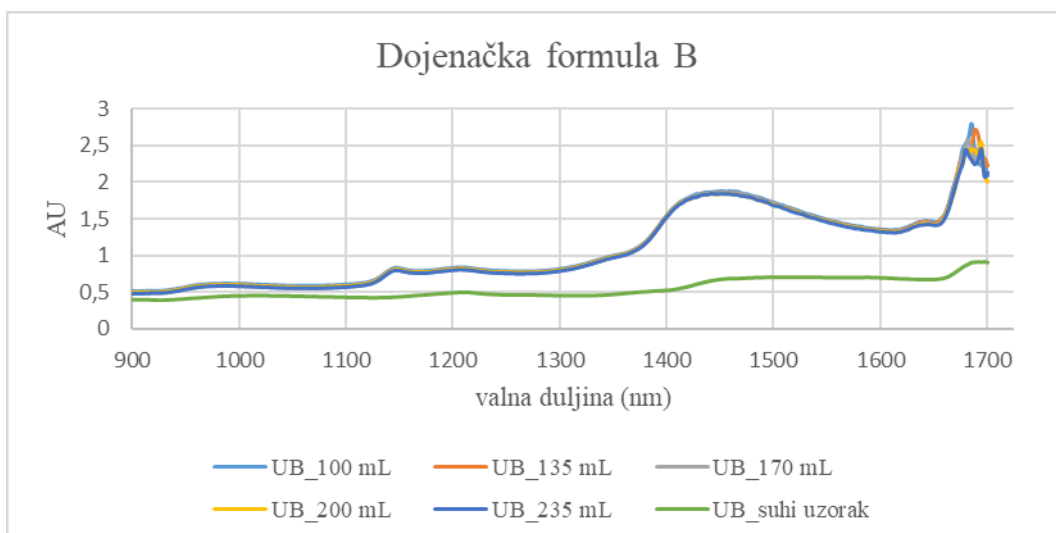
Prema Beć i sur., 2022. u procesu praćenja sigurnosti hrane, mikro NIR spektrometar potpuno je prikladan za provođenje brzog otkrivanja doza zračenja mlijeka u prahu, analizu sastava mlijeka u prahu te razlikovanje čistog i patvorenog mlijeka u prahu.

Mikro NIR spektrometar korišten u ovom istraživanju imao je raspon 900-1700 nm te je korišten za snimanje uzoraka dojenačkih formula od A do F.

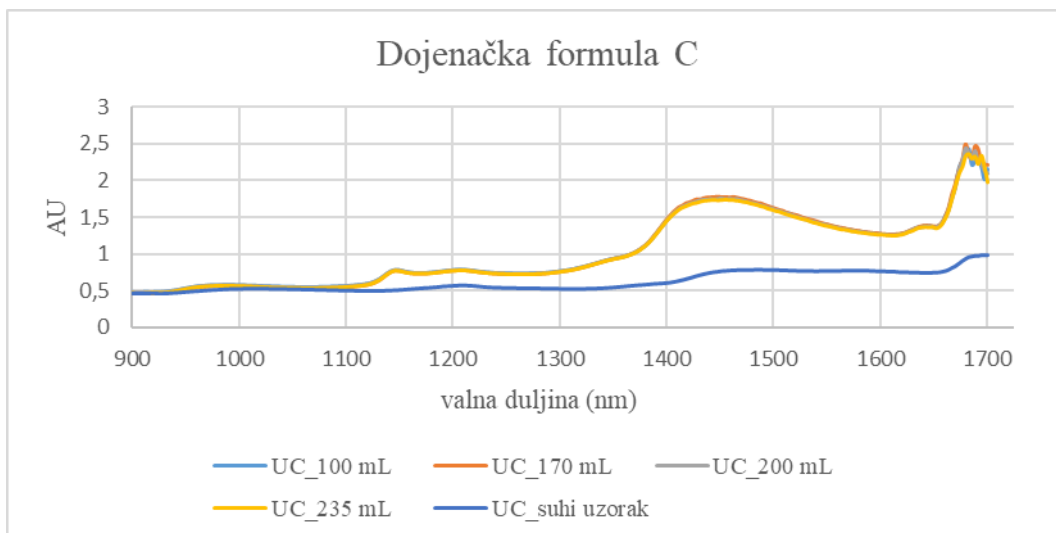
Slikama 25-30 prikazane su sličnosti i razlike spektara različitih volumena dojenačkih formula te suhih uzoraka.



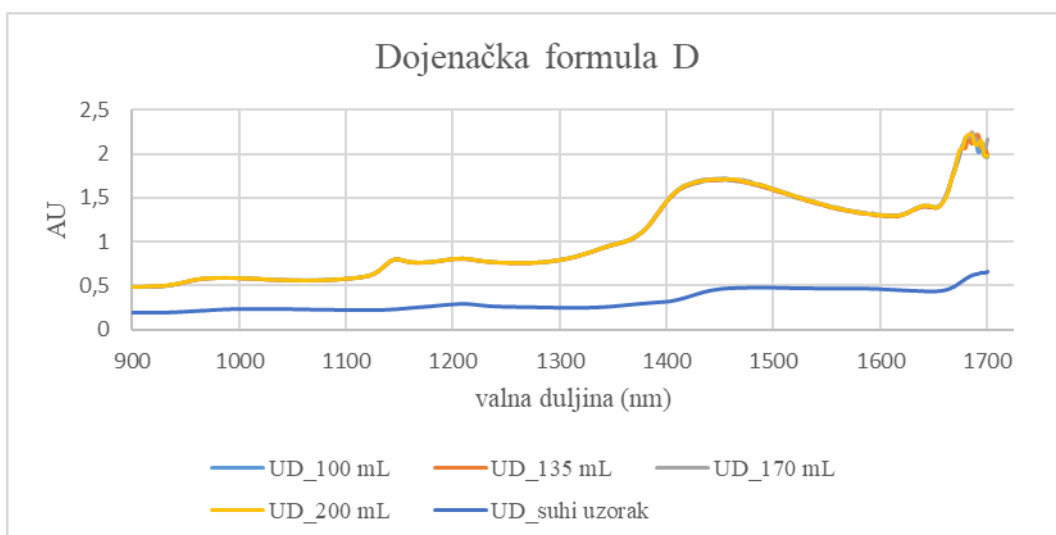
**Slika 25.** Spektri apsorbanције uzoraka dojenačke formule A (UA), snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom



**Slika 26.** Spektri apsorbanције uzoraka dojenačke formule B (UB), snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom

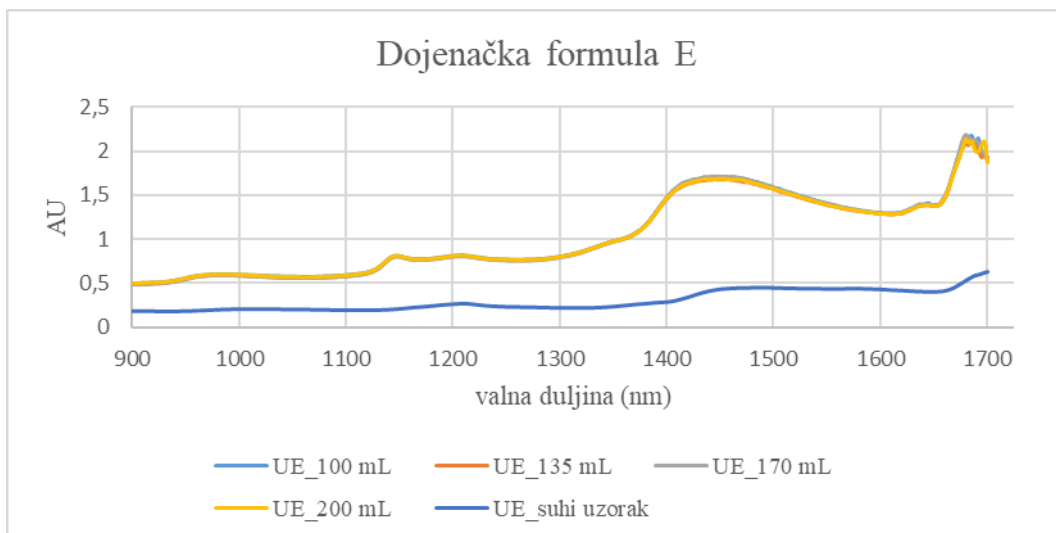


**Slika 27.** Spektri apsorbancije uzoraka dojenačke formule C (UC), snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom

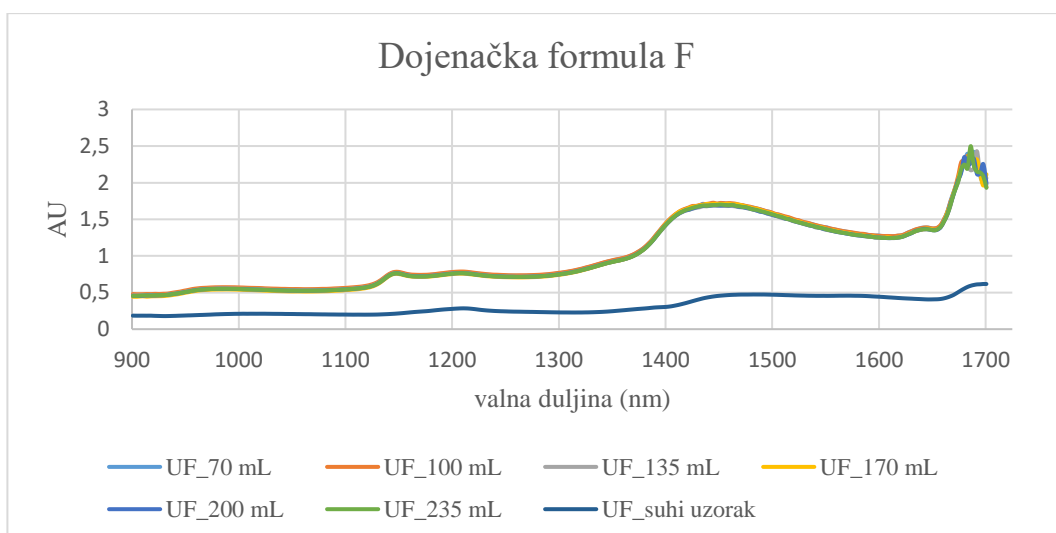


**Slika 28.** Spektri apsorbancije uzoraka dojenačke formule D (UD), snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom





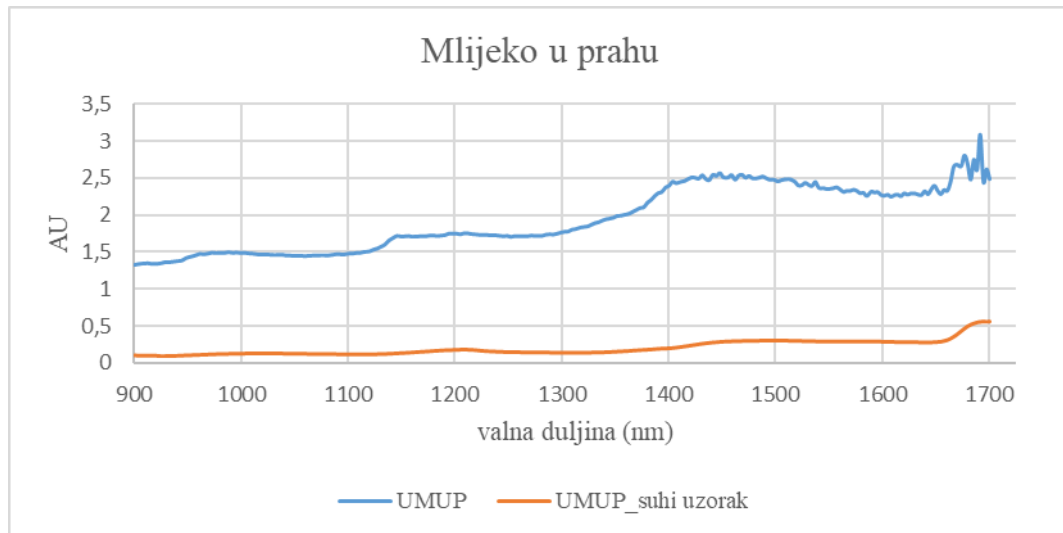
**Slika 29.** Spektri apsorpcije uzoraka dojenačke formule E (UE), snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom



**Slika 30.** Spektri apsorpcije uzoraka dojenačke formule F (UF), snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom

Iz slika 25-30 vidljivo je da su apsorpcijske krivulje snimljene mikro NIR spektrometrom gotovo jednake onima snimljenim laboratorijskim NIR spektrometrom, odnosno da pokazuju *peakove* za određene funkcionalne skupine pri jednakim valnim duljinama. Također, jednako kao i kod uzoraka snimanih laboratorijskim NIR spektrometrom, apsorpcijske krivulje suhih uzoraka nalaze se ispod apsorpcijskih krivulja različitih volumena dojenačkih formula uslijed nedostatka vode. Iz navedenih slika vidljivo je da je i u ovom slučaju trend različitih volumena dojenačkih formula vrlo sličan te ga prati i trend suhog uzorka.

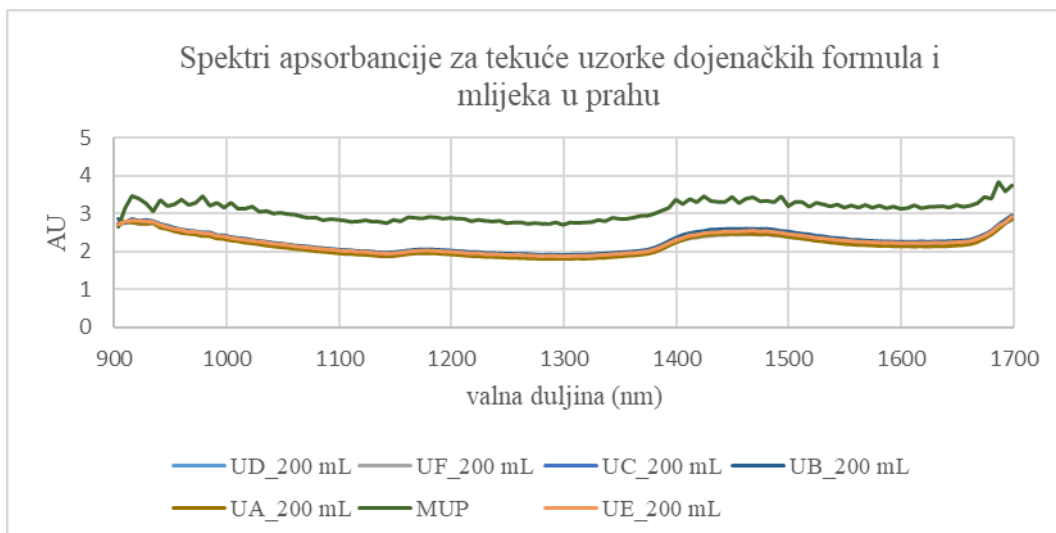
Prvi *peak* pojavljuje se pri valnoj duljini od približno 950 nm, što prema apsorpcijskoj vrpci iz priloga 3. odgovara N-H vezama te ukazuje na prisutnost proteina. Sljedeći *peak* javlja se pri valnoj duljini od približno 1150 nm te upućuje na prisutnost C-H veza odnosno ugljikohidrata. Prisutnost C-H veza, odnosno ugljikohidrata također je vidljiva i iz porasta apsorpcijske krivulje pri valnoj duljini od približno 1650 nm (prilog 3). Kao i kod laboratorijskih apsorpcijskih spektara, i ovdje se javlja specifični skok pri valnoj duljini od približno 1450 nm koji ukazuje na prisutnost hidroksilne skupine, odnosno vode (prilog 3).



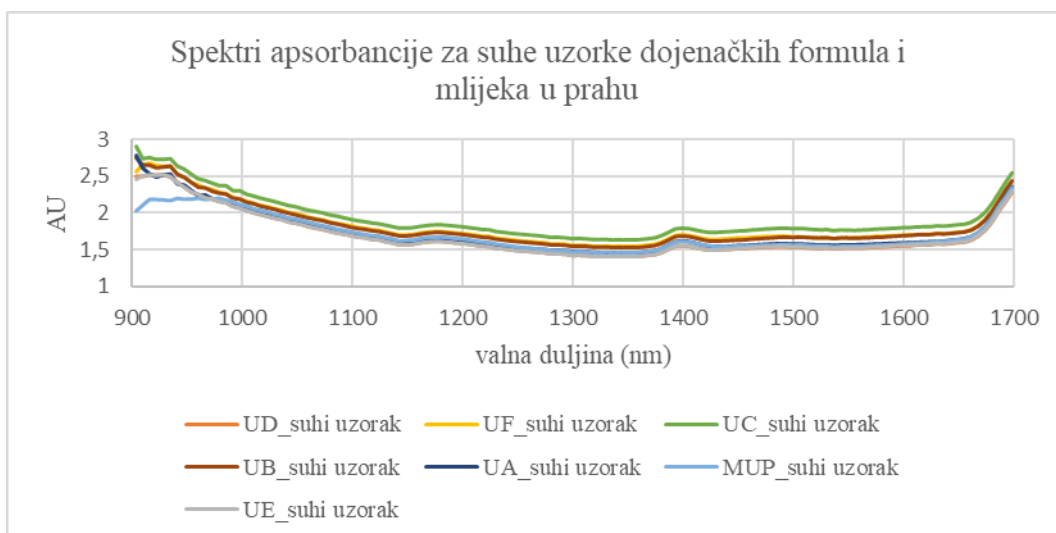
**Slika 31.** Spektar apsorpcije mlijeka u prahu (MUP), snimljen prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom

Na slici 31 prikazan je spektar apsorpcije pripremljenog mlijeka u prahu te suhog uzorka mlijeka u prahu, snimljen prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom. Ovdje *peakovi* nisu izraženi kao i kod suhog uzorka snimljenog laboratorijskim uređajem, međutim naziru se pri određenim valnim duljinama. Jedan *peak* vidljiv je pri valnoj duljini od približno 1200 nm, što prema apsorpcijskoj vrpci iz priloga 3. upućuje na prisutnost C-H veza, odnosno na prisutnost ugljikohidrata. Pri približno 1450 nm valne duljine javlja se idući *peak*, koji prema apsorpcijskoj vrpci (prilog 3) upućuje na prisutnost OH- veze, odnosno vode. Iz porasta apsorpcijske krivulje pri približno 1650 nm valne duljine vidljiva je prisutnost C-H veza, što upućuje na prisutnost ugljikohidrata.

Slika 32 prikazuje spektre apsorpcije tekućih uzoraka ispitivanih dojenačkih formula te mlijeka u prahu, dok slika 33 prikazuje spektre apsorpcije suhih uzoraka ispitivanih dojenačkih formula te mlijeka u prahu snimljenih laboratorijskim NIR spektrometrom.



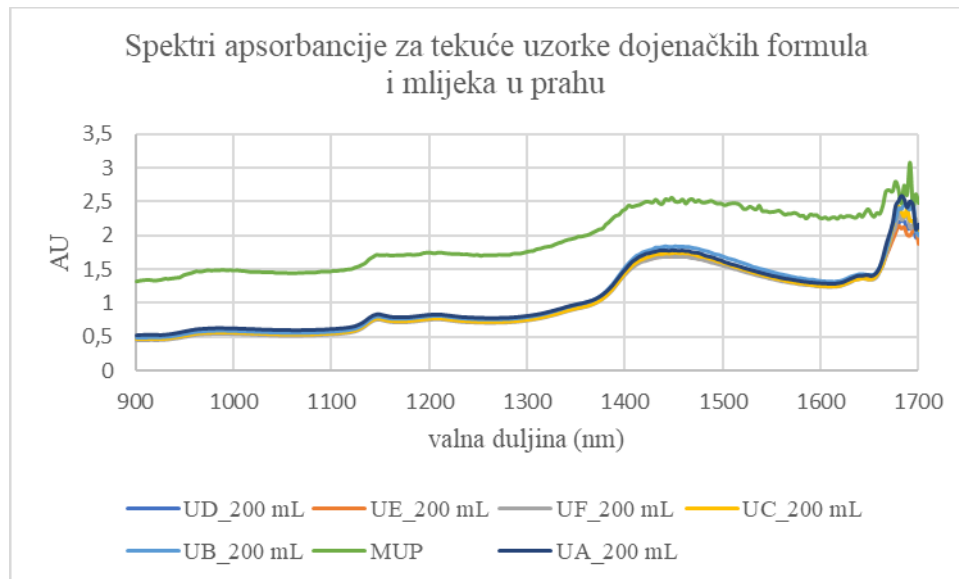
**Slika 32.** Spektri apsorbancije za tekuće uzorke dojenačkih formula (UA-UF) te mlijeka u prahu (MUP), snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom



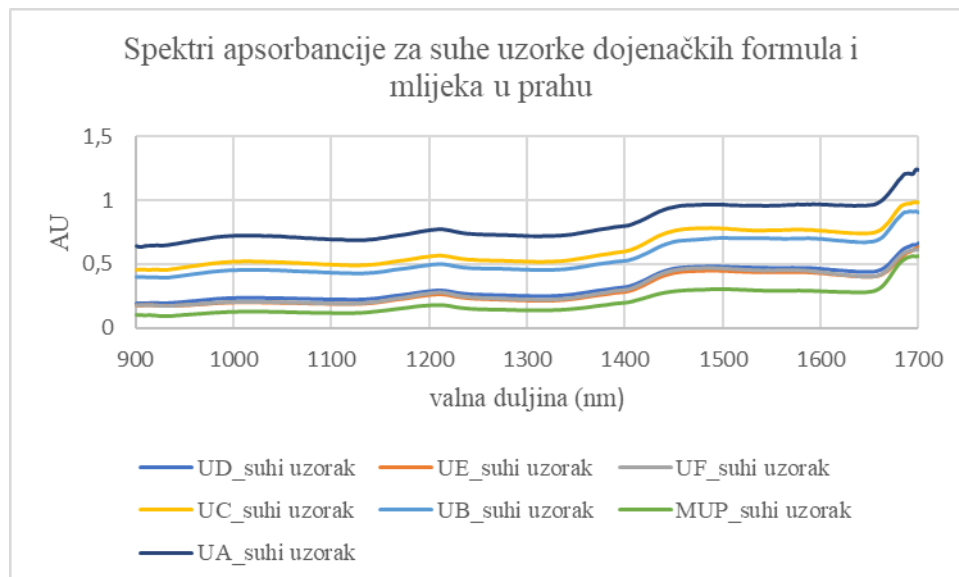
**Slika 33.** Spektri apsorbancije za suhe uzorke dojenačkih formula (UA-UF) te mlijeka u prahu (MUP), snimljeni laboratorijskim NIR spektrometrom

Iz slika 32 i 33 vidljivo je da je trend apsorpcijskih vrpca različitih volumena pripremljenih dojenačkih formula i suhih uzoraka dojenačkih formula u odnosu na mlijeko u prahu (snimljenih laboratorijskim NIR spektrometrom) sličan te da pokazuju *peakove*, odnosno prisutnost funkcionalnih skupina, u istim područjima valnih duljina.

Slika 34 prikazuje spektre apsorbancije tekućih uzoraka ispitivanih dojenačkih formula te mlijeka u prahu, dok slika 35 prikazuje spektre apsorbancije suhih uzoraka ispitivanih dojenačkih formula te mlijeka u prahu snimljenih prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom.



**Slika 34.** Spektri apsorbancije za tekuće uzorke dojenačkih formula (UA-UF) te mlijeka u prahu (MUP), snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom



**Slika 35.** Spektri apsorbancije za suhe uzorke dojenačkih formula (UA-UF) te mlijeka u prahu (MUP), snimljeni prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom

Iz slika 34 i 35 također je vidljivo da je trend apsorpcijskih vrpca različitih volumena pripremljenih dojenačkih formula i suhih uzoraka dojenačkih formula u odnosu na mlijeko u prahu (snimljenih prijenosnim (mikro) NIR spektrometrom) sličan te da pokazuju *peakove*, odnosno prisutnost funkcionalnih skupina, u istim područjima valnih duljina, kao i kod uzoraka snimanih laboratorijskim NIR spektrometrom.

Chang i sur. 2020.godine dokazali su da svaka dojenačka formula sadržava određene količine hranjivih tvari te da se upotrebom metode „otiska prsta“ NIR spektroskopije mogu prepoznati različite marke. Dakle, kombinacija NIR spektroskopije i analize glavnih komponenata (PCA) učinkovita je metoda za identifikaciju određene marke dojenačke formule i primjenjiva je za različite marke dojenačkih formula.

#### **4.6. KEMOMETRIJSKA ANALIZA DOJENAČKIH FORMULA**

Kemometrija je nova disciplina nastala 1970.godine upotrebom statističkih te matematičkih modela u kemiji, a jedna od njenih osnovnih uloga pojednostavljenje je složenih matematičkih modela te pronalaženje njihove praktične primjene. Definira se kao „kemijska disciplina koja koristi matematičke i statističke metode da oblikuje ili odabere optimalan mjeriteljski postupak ili eksperiment i omogući dobivanje maksimalnog broja informacija analizom dobivenih informacija“. Njezinu primjenu pojednostavljaju razvoj statističkih i numeričkih softwera, a odvojeno od matematičkih i statističkih modela primjenjuje se u automatizaciji laboratorija, na metode za upravljanje analitičkim i spektroskopskim bazama podataka, metodama umjetne inteligencije te u industriji. Mnoga istraživanja kvalitativnih i kvantitativnih parametara u procesu prerade hrane koriste spektroskopske tehnike u kombinaciji sa kemometrijskim metodama (Matijević i Blažić, 2008). Tako je, na primjer, kombinirana primjena NIR spektroskopije i kemometrije korištena u kontroli svježine šumskog voća (Gajdoš Kljusurić i sur., 2016).

Najčešće korišteni alati u kemometrijskoj analizi podataka su (i) analiza glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA), (ii) kanonička korelacijska analiza (engl. *Canonical Correlation Analysis*, CCA), (iii) analiza zajedničkih komponenata i određene težine (engl. *Common Components and Specific Weight Analysis*, CCSWA), (iv) faktorska diskriminativna analiza (engl. *Factorial Discriminant Analysis*, FDA), (v) regresija glavnih komponenata (engl. *Principal Component Regression*, PCR) i (vi) parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata (engl. *Partial Least Square regression*, PLSR) (Matijević i Blažić, 2008).

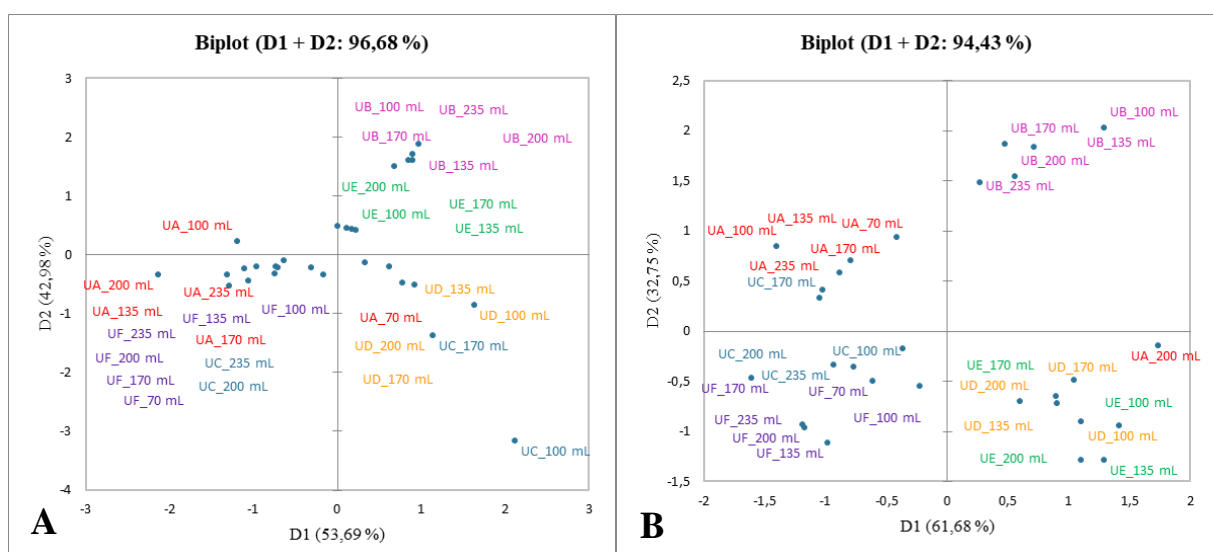
Prema Gajdoš Kljusurić i sur. (2016), NIR spektroskopija u kombinaciji s multivarijatnom analizom obećavajuća je tehnika za brza i ekološki prihvatljiva (održiva) mjerenja te omogućava dobru kalibraciju, validaciju i mogućnost predviđanja promatranih parametara.

U obradi NIR spektara ispitivanih dojenačkih formula, od gore spomenutih alata primijenjene su PCA i PLS.

#### 4.6.1. Analiza glavnih komponenta

Analiza glavnih komponenta (PCA) je multivarijatna metoda koja se uglavnom koristi kod obrade podataka s više varijabli i njena svrha je analiza korelacija unutar jednog skupa varijabli te posljedične redukcije dimenzionalnosti prostora, kako bi se što veći broj varijabli objasnio pomoću što manjeg broja varijabli. Kada korelacije nema, PCA analizu nije moguće primijeniti (Matijević i Blažić, 2008). Ova metoda omogućava kvalitativno razlikovanje raznih uzoraka obuhvaćenih analizom, a grupiranje tih uzoraka upućuje na postojanje sličnosti i/ili razlika između istih. Te razlike mogu prikazivati namjerno dodane kontaminante ili različite koncentracije. Tako su Liu i sur. (2021) dojenačkim formulama dodali različite koncentracije melamina te hidroliziranog proteina sirutke kako bi, između ostalog, procijenili potencijal kvantitativne analize PCA.

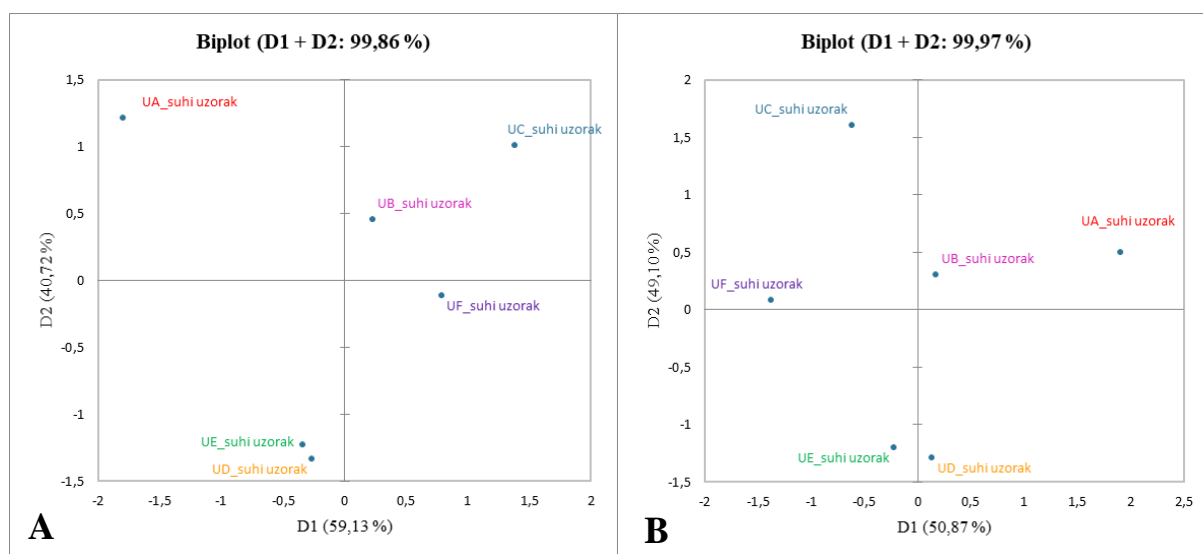
Analiza glavnih komponenta provela se na: (i) NIR spektrima tekućih (slika 36) i praškastih uzoraka (slika 37), snimljenih laboratorijskim i mikro (prijenosnim) NIR uređajem, (ii) na osnovu TDS-a i vodljivosti za tekuće uzorke dojenačkih formula (slika 38) te (iii) na osnovu nutritivnog i energetskog sastava dojenačkih formula (slika 39).



**Slika 36.** PCA za NIR spektre tekućih uzoraka, snimljenih laboratorijskim (A) i mikro (B) NIR uređajem

Na osnovi apsorpcijskih spektara tekućih uzoraka snimljenih laboratorijskim NIR uređajem (slika 36A), unutar biplota PCA analize, dojenačke formule B i E grupiraju se unutar prvog kvadranta. Dojenačka formula A grupira se u trećem kvadrantu, međutim iznimke su uzorak od 100 mL koji se jedini nalazi u drugom kvadrantu te uzorak od 70 mL koji se nalazi unutar četvrtog kvadranta. Unutar trećeg kvadranta još se grupira i dojenačka formula F. Pola uzoraka dojenačke formule C nalazi se u trećem kvadrantu – uzorci od 200 mL te 235 mL, dok se druga polovica nalazi u četvrtom kvadrantu – uzorci od 100 mL te 170 mL. Svi uzorci dojenačke formule D grupirali su se unutar četvrtog kvadranta.

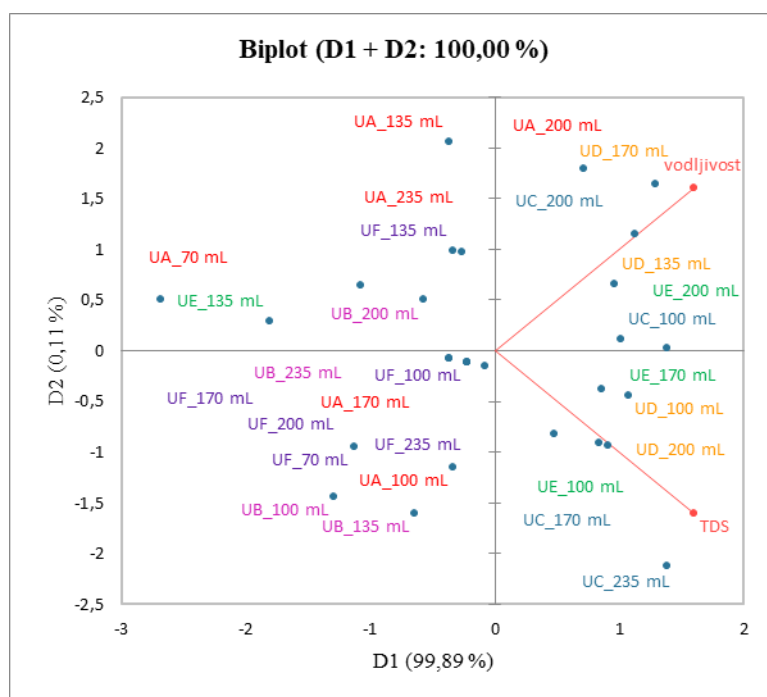
Na osnovi apsorpcijskih spektara tekućih uzoraka snimljenih mini NIR uređajem (slika 36B), unutar biplota PCA analize, dojenačka formula B (svih pripremljenih volumena) smjestila se unutar prvog kvadranta, te upućuje na neku specifičnost na molekularnoj razini koja ju razlikuje od ostalih (Majić, 2023). Dojenačka formula A smjestila se unutar drugog kvadranta, sa iznimkom uzorka od 200 mL koji se smjestio u četvrti kvadrant. Dojenačka formula F smjestila se u treći kvadrant, zajedno sa dojenačkom formulom C, međutim i ovdje se javlja iznimka uzorka od 170 mL koji se smjestio u drugi kvadrant. Unutar četvrtog kvadranta smjestile su se dojenačke formule D te E. Pozicioniranje u isti kvadrant upućuje na velike sličnosti na molekularnoj razini (Hanousek Čiča i sur., 2019) te su očito dojenačke formule C i F sličnije jedna drugoj, kao i D i E, nego što su A i B. Kako bi se ovaj navod potvrdio (ili opovrgao), provedena je PCA analiza na praškastim uzorcima (slika 37).



**Slika 37.** PCA za NIR spektre praškastih uzoraka, snimljenih laboratorijskim (A) i mikro (B) NIR uređajem

Na osnovi apsorpcijskih spektara suhих uzoraka snimljenih laboratorijskim NIR uređajem (slika 37A), unutar biplota PCA analize, dojenačke formule B i C grupiraju se unutar prvog kvadranta, dojenačka formula A unutar drugog kvadranta, dojenačke formule D i E unutar trećeg kvadranta, a dojenačka formula F smjestila se u četvrti kvadrant.

Na osnovi apsorpcijskih spektara suhих uzoraka snimljenih mikro NIR uređajem (slika 37B), dojenačke formule A i B grupirale su se unutar prvog kvadranta, dok su se u drugi kvadrant grupirale dojenačke formule C i F. Dojenačka formula E smjestila se u treći kvadrant, a dojenačka formula D u četvrti kvadrant. Navedena raspodjela nije kvalitativno jednako raspodijelila uzorke, što ukazuje na činjenicu da NIR spektre treba pridružiti nekim podacima kemijskog sastava i slično, kako bi se utvrdio razlog takvog grupiranja (Gajdoš Kljusurić i sur., 2017). Prvi pridruženi parametri NIR spektrima bili su TDS i vodljivost (slika 38).

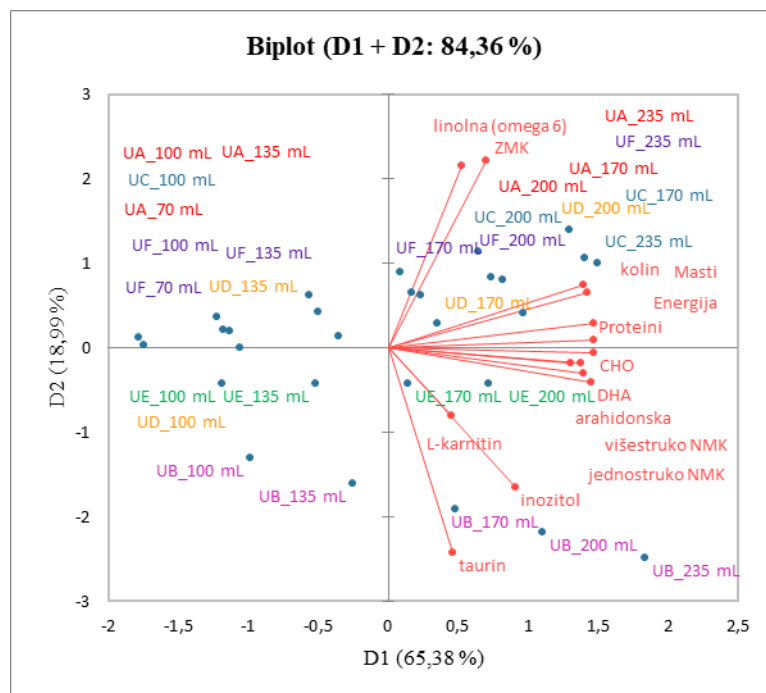


**Slika 38.** PCA tekućih uzoraka za TDS i vodljivost

Na slici 38 prikazana je PCA analiza u kojoj su NIR spektrima tekućih uzoraka pridodane vrijednosti TDS-a i vodljivosti, te su se dojenačke formule raspodijelile ovisno o volumenu, ali i vrsti formule. U desnim kvadrantima (1. i 4. kvadrantu) smjestile su se dojenačke formule C, E i D, uz iznimku formule A, najvećeg volumena, dok su preostale formule (od najvećeg do najmanjeg volumena) pozicionirane u lijevom dijelu koordinatnog sustava (2. i 3. kvadrantu).



Ta činjenica ukazuje na niže vrijednosti vodljivosti i otopljenih krutih tvari u onim dojenačkim formulama koje su u lijevim kvadrantima. Navedeno ukazuje kako treba očekivati povezanost NIR spektara sa kemijskim sastavom ispitanih formula (slika 39). Stoga je spektrima pridružen skup podataka o sadržaju energije, makro- i mikronutrijenata te su se kao značajne varijable izdvojili parametri kao što su: energija, sadržaj masti, proteina, ugljikohidrata, zasićenih masnih kiselina, jednostruko- i višestruko-nezasićenih masnih kiselina, omega-6, kolina, inozitola, L-karnitina te dokozaheksaenske kiseline (DHA: dugolančana višestruko nezasićena masna kiselina koja pripada skupini omega-3 masnih kiselina). Očekivano je grupiranje dojenačkih formula većeg volumena, ali i dalje ostaje specifično izdvajanje većih volumena za dojenačke formule E i B, koje su se u slici 36A grupirale u isti kvadrant (NIR spektri snimani laboratorijskim uređajem), a na slici 36B na istu stranu (desnu) koordinatnog sustava biplota.



**Slika 39.** PCA za tekuće uzorke prema sadržaju nutrijenata i energije

Sada je jasno (slika 39) kako je razlog tome udio nezasićenih masnih kiselina (DHA, jednostruko i višestruko NMK) koje su znatno veće u dojenačkim formulama B i E (NMK u uzorku B=2,6 g, a u uzorku E=2,1 g; a sadržaj inozitola u obje dojenačke formule je 10 mg).

Ono što svakako potvrđuje zaključak o vezi NIR spektara i kemijskog sastava je obuhvat svih varijacija u promatranom skupu podataka koji se opisuje s dvije glavne komponente koji je u

rasponu od 84-100 %. Studije koje su koristile istovjetne kemometrijske alate navode kako ovako dobar kvalitativni potencijal može upućivati i na mogućnost kvantitativne predikcije promatranih parametara na osnovu NIR spektara (Ćorić, 2023; Beć i sur., 2022; Grassi i Casiraghi, 2022;).

#### 4.6.2. Kvantitativna analiza

Parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata (PLS) je najčešće primjenjivana metoda kvantitativne analize koja povezuje promatrane parametre s NIR spektrima (Beć i sur., 2022) i ona rješava problem višestruke regresije, kao što je korelacije između nezavisnih varijabli. Ova metoda omogućava uzimanje u obzir većine varijacija između promatranih informacija (u našem slučaju iz NIR spektra) i predviđanja zavisne varijable (Matijević i Blažić, 2008). U tablici 12 prikazani su uobičajeno korišteni parametri kao što su koeficijent determinacije ( $R^2$ ), standardna pogreška predikcije (RPD) te omjer standardne pogreške predikcije i raspona mjernih podataka (RER) (Sun i sur., 2021).

**Tablica 12.** Parametri ocjene veze molekulskih vibracija u NIR spektru s promatranim parametrima za dojenačke formule prema primijenjenoj parcijalnoj regresijskoj analizi metodom najmanjeg kvadrata

Parametar	Laboratorijski NIR			Mikro NIR		
	$R^2$	RPD	RER	$R^2$	RPD	RER
Energija	0,835	2,510	8,300	<b>0,965</b>	5,468	18,108
Masti	0,826	2,44	8,190	<b>0,963</b>	5,266	17,665
Proteini	0,840	2,540	8,780	<b>0,973</b>	6,146	21,226
Ugljikohidrati	0,848	2,830	9,230	<b>0,966</b>	5,493	19,452
ZMK	0,862	2,740	9,872	<b>0,958</b>	4,941	17,793
Jednostruko NMK	0,864	2,780	10,112	<b>0,978</b>	6,928	25,408
Višestruko NMK	0,861	2,730	9,066	<b>0,946</b>	4,367	14,500
Linolna	0,645	1,707	5,141	0,888	3,036	9,140
Arahidonska	0,815	2,365	8,802	<b>0,963</b>	5,286	19,674
DHA	0,862	2,734	10,546	<b>0,980</b>	7,149	27,568
Inozitol	<b>0,913</b>	3,442	12,334	<b>0,984</b>	7,916	28,367
Karnitin	0,892	3,089	10,006	<b>0,956</b>	4,868	15,767
Kolin	0,824	2,423	8,258	<b>0,962</b>	5,207	17,747
Taurin	<b>0,925</b>	3,720	12,929	<b>0,948</b>	4,445	15,449
L-karnitin	0,894	3,125	9,504	<b>0,962</b>	5,211	15,842
L*	<b>0,964</b>	5,386	15,021	<b>0,907</b>	3,331	9,290
a*	<b>0,970</b>	5,875	17,213	<b>0,972</b>	6,059	17,751
b*	<b>0,973</b>	6,206	21,666	<b>0,965</b>	5,442	12,434
h*	<b>0,936</b>	4,027	14,070	<b>0,963</b>	5,267	18,400

**Tablica 12.** Parametri ocjene veze molekularskih vibracija u NIR spektru s promatranim parametrima za dojenačke formule prema primijenjenoj parcijalnoj regresijskoj analizi metodom najmanjeg kvadrata – *nastavak*

C*	<b>0,976</b>	6,514	20,618	<b>0,974</b>	6,358	20,123
Vodljivost	0,675	1,786	7,084	<b>0,936</b>	4,032	15,997
TDS	0,673	1.780	7,250	<b>0,932</b>	3,897	15,865

Koeficijentom determinacije ( $R^2$ ) može se ocijeniti koliko je neki model reprezentativan. Što je on bliži jedinici, to je model reprezentativniji (Gajdoš Kljusurić i sur., 2017) te se prema koeficijentu determinacije uspješnosti povezivanja molekularnih vibracija u NIR spektru, razlikuje ovisno o korištenom uređaju te je primjenom mikro-NIR uređaja (prijenosni NIR) gotovo 77,3 % promatranih parametara imalo koeficijent determinacije veći od 0,95. Kod laboratorijskog uređaja je navedeni trend utvrđen za promatrane parametre boje ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h^*$  i  $C^*$ ), dok je od energetske-nutritivnih parametara jedino NIR spektar pokazao iznimno čvrstu povezanost sa inozitolom.

Modeli ocijenjeni prema  $R^2$ , RPD i RER obično su tumačeni prema smjernicama, te će model NIR kalibracije biti ocijenjen kao dobar i kvalitativno koristan ako je  $R^2$  u rasponu od 0,83–0,9; a kvantitativno prihvatljiv za vrijednosti  $> 0,9$ , dok su minimalno prihvatljive vrijednosti parametara RPD i RER postavljene na vrijednosti 3 i 10 (Williams & Norris, 2001). Kako se navodi u radu Bursać Kovačević i suradnika (2016), vrijednosti za RPD i RER više od gore navedenih, osiguravaju vrlo dobru i izvrsnu ocjenu povezanosti promatranih parametara s NIR spektrima.

U prilogu 4 dan je primjer PLS modela za DHA, prikazujući odnos stvarnih DHA vrijednosti i onih izračunatih prema PLS modelu za DHA, a prema NIR spektrima. Jasno je vidljivo kako je kod nižih vrijednosti  $R^2$ , RPD i RER širi interval pouzdanosti, te su točke znatno raspršenije. Pri tome su vrijednosti parametara, prema tablici 2 sljedeći:

- Laboratorijski NIR:  $R^2=0,86$ ; RPD<3; RER>10 te
- Mikro NIR:  $R^2=0,98$ ; RPD>7 te RER >27.

Ono što svakako utječe na veći udio parametar ocjene modela u visoko prihvatljivom području, za mikro-uređaj je i manji broj valnih duljina koje uređaj bilježi (228 vs 796 (laboratorijski)) te je kao značajne valne duljine izdvojio 21 valnu duljinu (901 nm, 905 nm, 914 nm, 1391 nm, 1394 nm, 1545 nm, 1548 nm, 1551 nm, 1555 nm, 1558 nm, 1561 nm, 1564 nm, 1567 nm, 1570

nm, 1640 nm, 1643 nm, 1646 nm, 1649 nm, 1655 nm, 1680 nm te 1689 nm) dok je taj broj kod laboratorijskog uređaja bio znatno viši. Naime, PLS modeli na manjem skupu podataka mogu dati i lažno pozitivne rezultate jer je moguće da su pri tom u NIR spektru izgubljene potencijalno ključne informacije (Hanousek Čiča i sur., 2019), ali s druge strane – lakše je utvrditi potencijalni „otisak“ na molekularnoj razini (Gajdoš Kljusurić i sur., 2016) koja je povezana sa promatranim parametrima za dojenačke formule.

Ovaj je rad pokazao da NIR spektroskopija pokazuje potencijal u razlikovanju dojenačkih formula te se iz toga razloga laboratorijski i mini NIR uređaji mogu koristiti na kvalitativnoj razini, ali su uređaji pokazali potencijal i na kvantitativnoj razini.

## 5. ZAKLJUČCI

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

1. Kod svih uzoraka dojenačkih formula postoji razlika između približno napunjenih te vrhom punih mjerica. Za uzorke dojenačkih formula A, C, D, E i F približno napunjene mjerice veće su u odnosu na vrhom pune te se te razlike kreću u rasponu od 3,2 % do 9,1 %. Iznimka je dojenačka formula B kod koje je približno napunjena mjerica za 4,1 % manja od vrhom pune mjerice.
2. Energetska vrijednost dojenačkih formula A, C, D, E i F raste sve do 4. ili 5. mjeseca starosti, a zatim pada zbog uvođenja dohrane. Izuzetak je dojenačka formula B, kod koje se dohrana ne uzima u obzir te energetska vrijednost nakon 5. mjeseca nastavlja rasti i to za 117 kcal.
3. Sadržaj proteina konstantan je u svim dojenačkim formulama (8-9 %), dok se udjeli masti i ugljikohidrata razlikuju. Dojenačke formule A i F sadržavaju više masti (49 %) u odnosu na ugljikohidrate (43 %), dok dojenačke formule B, C, D i E sadržavaju više ugljikohidrata (47-48 %) u odnosu na masti (43-45 %). Uspoređujući te vrijednosti sa sastavom majčinog mlijeka, ispitivane dojenačke formule sadržavaju više ugljikohidrata u odnosu na majčino mlijeko (40 %), gotovo upola manje proteina u odnosu na majčino mlijeko (20 %) te manje masti u odnosu na majčino mlijeko (50-60 %).
4.  $\Delta E$  vrijednost daje značajne informacije o razlikama u boji dojenačkih formula te mlijeka u prahu. Kod svih ispitivanih dojenačkih formula vidljiva je određena razlika u boji u odnosu na mlijeko u prahu. Kod dojenačkih formula D i E razlika u boji je vidljiva ( $\Delta E=1,3-2$ ), a kod dojenačke formule A ona je dobro vidljiva ( $\Delta E=4,5-5,3$ ). Uzorci dojenačke formule C ukazuju na očigledno odstupanje boje ( $\Delta E > 6$ ) u odnosu na mlijeko u prahu, jednako kao i dojenačke formule B i F ( $\Delta E > 6$ ).
5. Vrijednosti ukupnih otopljenih krutih tvari (TDS) prate vodljivost. Najveće vrijednosti TDS-a pokazuju uzorci dojenačkih formula C te D.
6. Analizom NIR spektara, snimljenih laboratorijskim i mikro NIR spektroskopom, utvrđeni su karakteristični *peakovi* pri određenim valnim duljinama koji ukazuju na prisutnost ugljikohidrata, proteina te vode, ali su utvrđeni i otisci koji omogućuju razlikovanje uzoraka i promatranih 22 parametra (boja, TDS, vodljivost te energetska-nutritivni sastav) na kvalitativnoj i kvantitativnoj razini gdje je kvantitativni potencijal procijenjen kao izvrstan za parametre  $R^2 > 0,9$ ;  $RPD > 4$  te  $RER > 10$ .

## 6. LITERATURA

Ali SA, Mahboob R, Islam T (2023) An Intelligent Food Salt Tester Using Cross-Conductive Sensor. *IEEE – Trans Instrum Meas* **2**, 8000213. <https://doi:10.1109/OJIM.2023.3280502>

Anzalone GC, Glover AG, Pearce JM (2013) Open-source colorimeter. *Sens* **13**, 5338-5346. <https://doi:10.3390/s130405338>

Appleton J, Russell CG, Laws R, Fowler C, Campbell K, Denney-Wilson E (2018) Infant formula feeding practices associated with rapid weight gain: A systematic review. *Matern Child Nutr.* **14**, e12602. <https://doi.org/10.1111/mcn.12602>

Armano A, Gracin I, Jovančević M (2018) Priručnik za dojenje, 1. izd., Gradski ured za zdravstvo, Grad Zagreb.

Babycentre (2021) How much milk does my six-month-old baby need after starting solids? <https://www.babycentre.co.uk/x552734/how-much-milk-does-my-six-month-old-baby-need-after-starting-solids>. Pristupljeno 6. lipnja 2023.

Balabin RM, Smirnov SV (2011) Melamine detection by mid- and near-infrared (MIR/NIR) spectroscopy: a quick and sensitive method for dairy products analysis including liquid milk, infant formula, and milk powder. *Talanta* **85**, 562-568. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.04.026>

Barton A, Hayward L, Richardson CD, McSweeney MB (2020) Use of different panellists (experienced, trained, consumers and experts) and the projective mapping task to evaluate white wine, *Food Qual Pref* **83**, 103900. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103900>

Beć KB, Grabska J, Huck CW (2022) Miniaturized NIR spectroscopy in food analysis and quality control: Promises, challenges and perspectives. *Foods* **11**, 1465. <https://doi.org/10.3390/foods11101465>

Bursać Kovačević D, Gajdoš Kljusurić J, Putnik P, Vukušić T, Herceg Z, Dragović-Uzelac V (2016) Stability of polyphenols in chokeberry juice treated with gas phase plasma. *Food Chem* **212**(1), 323-331. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.192>

Butte NF (2005) Energy requirements of infants. *Public Health Nutr* **8**, 953-967. <https://doi:10.1079/phn2005790>

Chang S, Yin C, Liang S, Lu M, Wang P, Li Z (2020) Confirmation of brand identification in infant formulas by using near-infrared spectroscopy fingerprints. *Anal Methods* **12**, 2469-2475. <https://doi:10.1039/d0ay00375a>

Chen Q, Xie Q, Jiang C, Evivie SE, Cao T, Wang Z, Zhao L, Liang S, Li B, Huo G (2022) Infant formula supplemented with 1,3-olein-2-palmitin regulated the immunity, gut microbiota, and metabolites of mice colonized by feces from healthy infants. *J Dairy Sci* **105**, 6405-6421. <https://doi:10.3168/jds.2021-21736>

Corkins K G, Shurley T (2016) What's in the bottle? A review of infant formulas. *Nutr Clin Pract* **6**, 723-729. <https://doi:10.1177/0884533616669362>

Ćibarić M (2016) Prehrana u dojenačkoj dobi (završni rad), Sveučilište Sjever, Koprivnica.

Ćorić L (2023) Funkcionalna blisko-infracrvena (NIR) spektroskopija u senzorskoj ocjeni gorkih biljnih likera (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Đurđa I (2014) Upotreba mliječnih komponenata za proizvodnju dječje hrane (završni rad), Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.

Echavez SC (2019) Macronutrients in human milk and infant formula – bioactivity and health effects (diplomski rad), Sveučilište poljoprivrednih znanosti u Švedskoj, Švedska.

Fleddermann M, Demmelmair H, Koletzko B (2014) Energetic efficiency of infant formulae: A review. *Ann Nutr Metab* **64**, 276-283. <https://doi:10.1159/000365034>

Fondriest Environmental (2014) Conductivity, salinity and total dissolved solids. *Fundamentals of Environmental Measurements*, <https://www.fondriest.com/environmental-measurements/parameters/water-quality/conductivity-salinity-tds/>. Pristupljeno 17. lipnja 2023.

Gajdoš Kljusurić J, Mihalev K, Bečić I, Polović I, Georgieva M, Đaković S, Kurtanjek Ž (2016) Near-infrared spectroscopic analysis of total phenolic content and antioxidant activity of berry fruits. *Food Technol Biotechnol* **54**(2), 236-242. <https://doi:10.17113/ft b.54.02.16.4095>

Gajdoš Kljusurić J, Valinger D, Jurinjak Tušek A, Benković M., Jurina T (2017) Application of Near Infrared Spectroscopy (NIRs), PCA and PLS models for the analysis of dried medicinal plants. U: Science within Food: Up-to-date Advances on Research and Educational Ideas, (Méndez-Vilas, A., ured.) Formatex Research Center, Badajoz, str. 28-35.

Gilmore LA, Altazan AD, Flanagan EW, Beyer AG, Olson KN, O'Connell AA, Nguyen TH, Beyl RA, Redman LM (2020) Modifications to Infant Formula Instructions Improve the Accuracy of Formula Dispensing. *Nutrients* **12**, 1150. <https://doi:10.3390/nu12041150>

Gramed (2023) Kolorimetri i spektrofotometri za određivanje boje. <https://gramed.rs/tag/kolorimetar/>. Pristupljeno 29. svibnja 2023.

Grassi S, Casiraghi E (2022) Advances in NIR Spectroscopy analytical technology in food industries. *Foods* **11**, 1250. <https://doi.org/10.3390/foods11091250>

Hanousek Čiča K, Rupert M, Koczon P, Derewiaka D, Gajdoš Kljusurić J, Petravić Tominac V, Mrvčić J, Stanzer D (2019) Characterisation of flavour compounds in Biska – a herbal spirit produced with mistletoe. *J Inst Brew* **125**, 143-154. <https://doi.org/10.1002/jib.526>

Hernell O (2012) Current safety standards in infant nutrition – A European perspective. *Ann Nutr Metab* **60**, 188-191. <https://doi:10.1159/000338210>

Hester SN, Hustead DS, Mackey AD, Singhal A, Marriage BJ (2012) Is the Macronutrient Intake of Formula-Fed Infants Greater Than Breast-Fed Infants in Early Infancy? *J Nutr Metab* **2012**. <https://doi:10.1155/2012/891201>

HunterLab (2008) Insight on Color: CIE L\*a\*b\* Color Scale. Vol. 8, No. 7.

Jovanovski Dašić M, Simović S, Dakić D, Dukić M, Đuranović M, Vujnović A (2014) Vodič za dojenje, Ministarstvo zdravlja Crne Gore.

Jurinjak Tušek AJ, Benković M, Malešić E, Marić L, Jurina T, Gajdoš Kljusurić JG, Valinger D (2021) Rapid quantification of dissolved solids and bioactives in dried root vegetable extracts using near infrared spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **261**, 120074.

Komes T (2019) Prehrana novorođenčeta i dojenčeta (završni rad), Sveučilište Sjever, Koprivnica.



Kouwenhoven SMP, Muts J, Finken MJJ, Goudoever JBV (2022) Low-Protein Infant Formula and Obesity Risk. *Nutrients* **14**, 2728. <https://doi.org/10.3390/nu14132728>

Lemaire M, Le Huërou-Luron I, Blat S (2018) Effects of infant formula composition on long-term metabolic health. *J Dev Orig Health Dis* **9**, 573-589. <https://doi.org/10.1017/S2040174417000964>

Liu M (2013) Macronutrients in infant formula. *Food Safety Focus*, **78**. [https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia\\_pub/multimedia\\_pub\\_fsf\\_78\\_02.html#](https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_pub/multimedia_pub_fsf_78_02.html#). Pristupljeno 10. lipnja 2023.

Liu Y, Zhou S, Han W, Li C, Liu W, Qiu Z, Chen H. (2021) Detection of Adulteration in Infant Formula Based on Ensemble Convolutional Neural Network and Near-Infrared Spectroscopy. *Foods* **10**, 785. <https://doi.org/10.3390/foods10040785>

Majić I (2023) Potencijal blisko-infracrvene spektroskopije u praćenju kvalitete dojenačkih formula za posebne potrebe (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Matek Sarić M (2023) Planiranje i evaluacija obroka (interna skripta), Sveučilište u Zadru, Zadar.

Matijević B, Blažić M (2008) Primjena spektroskopskih tehnika i kemometrijskih metoda u tehnologiji mlijeka. *Mljekarstvo* **58** (2), 151-169. <https://hrcak.srce.hr/23058>

Mennella JA, Inamdar L, Pressman N, Schall JI, Papas MA, Schoeller D, Stallings VA, Trabulsi JC (2018) Type of infant formula increases early weight gain and impacts energy balance: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* **108**, 1-11. <https://doi/10.1093/ajcn/nqy188/5122715>

Mennella JA, Li Y, Bittinger K, Friedman ES, Zhao C, Li H, Wu GD, Trabulsi JC (2022) The Macronutrient Composition of Infant Formula Produces Differences in Gut Microbiota Maturation That Associate with Weight Gain Velocity and Weight Status. *Nutrients* **14**, 1241. <https://doi.org/10.3390/nu14061241>

Milovanovic B, Djekic I, Miocinovic J, Djordjevic V, Lorenzo JM, Barba FJ, Morlein D, Tomasevic I (2020) What Is the Color of Milk and Dairy Products and How Is It Measured? *Foods* **9**, 1629. <https://doi:10.3390/foods9111629>

Mokrzycki W, Tatol M (2011) Color difference Delta E – A survey. *Mach Graph Vis* **20**(4), 383-411.

Osborne BG (2006) Near-infrared spectroscopy in food analysis. *Enc Anal Chem*, 1-14. <https://doi:10.1002/9780470027318.a1018>

Otto TW, Saupe R, Weiss A, Stock V, Wiesner K, Lampe U, Fleischer M, Gessner T (2008) Dual detector optical MEMS spectrum analyzer: advances, applications and prospects. *Proc SPIE – Int Soc Opt Engl* **6887**. <https://doi:10.1117/12.768356>

Pandiselvam R, Prithviraj V, Manikantan MR, Kothakota A, Rusu AV, Trif M, Khaneghah AM (2022) Recent advancements in NIR spectroscopy for assessing the quality and safety of horticultural products: A comprehensive review. *Front Nutr*, 1-23. <https://doi:10.3389/fnut.2022.973457>

Podgorelec V, Brajnović Zaputović S, Kiralj R (2015) Majčino mlijeko najbolji je izbor prehrane za novorođenče i dojenče. *SG/NJ* **21**, 33-40. <https://doi:10.11608/sgnj.2016.21.007>

Pravilnik (2013) Pravilnik o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad. Narodne novine 122, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013\\_10\\_122\\_2618.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_10_122_2618.html). Pristupljeno 22. veljače 2023.

Pu YY, O'Donnell C, Tobin J, O'Shea N (2019) Review of near-infrared spectroscopy as a process analytical technology for real-time product monitoring in dairy processing, *Intl Dairy J*. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104623>

Radbill S (1981) Infant feeding through the ages. *Clin Pediatr* **20**(10), 613-621. <https://doi:10.1177/000992288102001001>

Rusydi AF (2018) Correlation between conductivity and total dissolved solid in various type of water: A review. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* **118**. <https://doi:10.1088/1755-1315/118/1/012019>

Saluena BH, Gamasa CS, Rubial JMD, Odriozola CA (2019) CIELAB color paths during meat shelf life. *Meat sci.* **157**. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107889>

Stevens EE, Patrick TE, Pickler R (2009) A history of infant feeding. *J Perinat Educ* **18**(2), 32-39. <https://doi:10.1624/105812409X426314>

Strgar Kurečić, M (2023) Kontrola boja - od percepcije do mjerenja. Dostupno na [http://repro.grf.unizg.hr/media/download\\_gallery/OSNOVE%20O%20BOJI.pdf](http://repro.grf.unizg.hr/media/download_gallery/OSNOVE%20O%20BOJI.pdf). Pristupljeno 11. travnja 2023.

Sun D, Cruz J, Alcalá M, Romero del Castillo R, Sans S, Casals J (2021) Near infrared spectroscopy determination of chemical and sensory properties in tomato. *JNIRS*, **29**, 289-300. <https://doi.org/10.1177/09670335211018759>

UNICEF Parenting (2023) Feeding your baby: 6-12 months. UNICEF – the United Nations International Children's Emergency Fund. <https://www.unicef.org/parenting/food-nutrition/feeding-your-baby-6-12-months> . Pristupljeno 6. lipnja 2023.

Vranešić Bender D (2017) Dojenački mliječni pripravci – Vitaminoteka. <https://vitamini.hr/zdravlje-z/zdravlje-djece/dojenacki-mlijecni-pripravci-13037/>. Pristupljeno 21. veljače 2023.

WHO (2023) Infant Nutrition. WHO – World Health Organization, [https://www.who.int/health-topics/infant-nutrition#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/infant-nutrition#tab=tab_1). Pristupljeno 21. veljače 2023.

Young B (2020) Variation in Infant Formula Macronutrient Ingredients Is Associated with Infant Anthropometrics. *Nutrients*, **12**, 3465. <https://doi.org/10.3390/nu12113465>

Zhao X, Wang Y, Liu X, Jiang H, Zhao Z, Niu X, Li C, Pang B, Li Y (2022) Single- and Multiple-Adulterants Determinations of Goat Milk Powder by NIR Spectroscopy Combined with Chemometric Algorithms. *Agriculture* **12**, 434. <https://doi.org/10.3390/agriculture12030434>

# PRILOZI

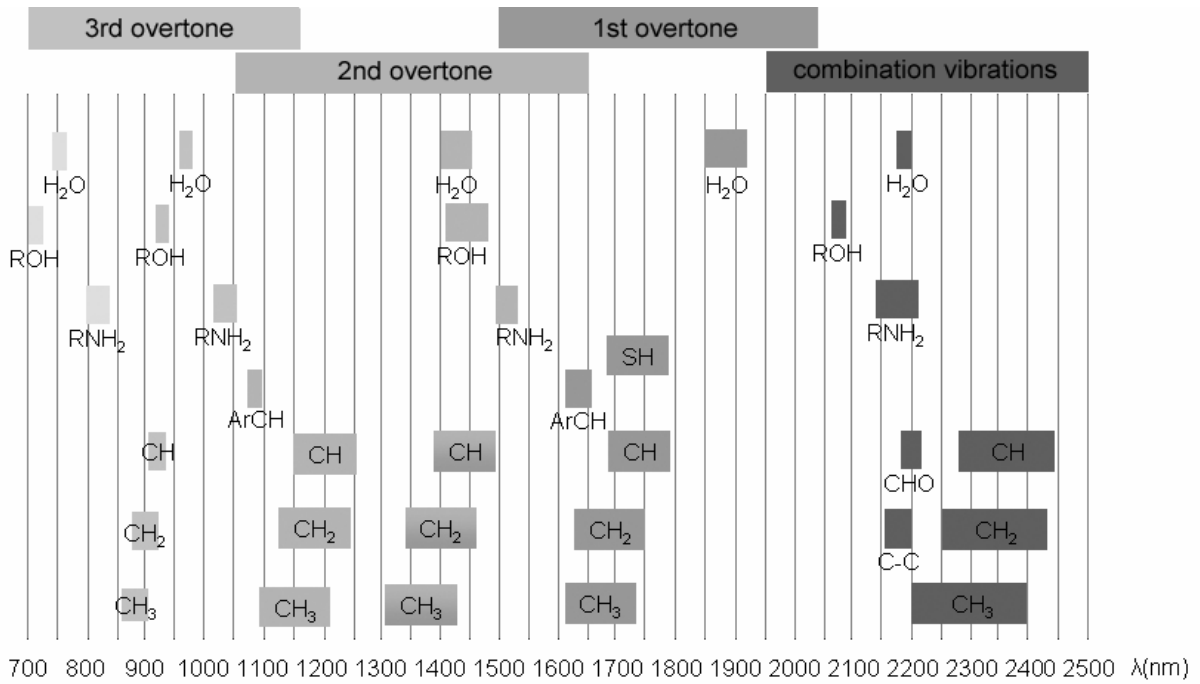
**Prilog 1.** Energetske i nutritivne vrijednosti ispitivanih dojenačkih formula, preuzete sa pakiranja.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1			jedinice	Uzorak A	Uzorak B	Uzorak C	Uzorak D	Uzorak E	Uzorak F
2	E kj		kJ/100 mL pripremljenog napitka	278	281	286	281	277	278
3	E kcal		kcal/100 mL pripremljenog napitka	66	67	68	67	66	66
4	<b>masti</b>		g	3,6	3,2	3,4	3,3	3,3	3,6
5		ZMK	g	1,5	0,3	1	1,2	1,2	1,5
6		jednostruko NMK	g	1,6	2	1,8	1,3	1,4	1,6
7		višestruko NMK	g	0,5	0,6	0,6	0,7	0,7	0,5
8		linolna (omega 6)	g	0,4		0,546	0,612		0,4
9		arahidonska	mg	13,2	17	15	13,5	6,8	13,2
10		linolenska (omega 3)	g	0,06	0,044	0,054	0,0539		0,06
11		DHA	mg	13,2	17	15	13,5	13,5	13,2
12	<b>CHO</b>		g	7,1	8,2	8	8,2	7,8	7,1
13		šećeri	g	7,1	8,2	8	7,7	7,8	7,1
14		laktoza	g	7,1	8,2	8	7,6	7,7	7,1
15		inozitol	mg	4	10	4,6	10	10	4
16		škrob	g				0,35		
17	<b>Vlakna</b>		g					0,03	<0,1
18		galaktooligosaharidi	g						
19	<b>proteini</b>		g	1,4	1,5	1,4	1,3	1,3	1,4
20		karnitin	mg	1,8	1,2	2,2			1,8
21	<b>minerali</b>								
22	natrij		mg	20	20	24	27,9	28,1	20
23	kalij		mg	76	90	82,2	87,8	87,8	76
24	klorid		mg	51	52	50,9	60,6	60,6	51
25	kalcij		mg	51	45	59,9	62,8	62,8	51
26	fosfor		mg	30	28	35,9	37,8	37,9	30
27	magnezij		mg	4,5	5,4	5,4	6,6	6,6	4,5
28	<b>elementi u tragovima</b>								
29	željezo		mg	0,5	0,31	0,54	0,62	0,62	0,5
30	cink		mg	0,5	0,54	0,45	0,5	0,5	0,5
31	bakar		mg	0,053	0,05	0,055	0,05	0,05	0,053
32	mangan		mg	0,005	0,02	0,053	0,03	0,03	0,005
33	fluorid		mg	<0,005	<0,0081	<0,010	0,004	0	<0,0050
34	selen		microg	3,8	3,7	3,9	3,8	3,8	3,8
35	jod		microg	15	14	14,2	14,4	14,4	15
36	krom		microg						
37	molibden		microg						
38	<b>vitamini</b>								
39	vitamin A		microg	54	61	54,8	60,8	60,8	54
40	vitamin D		microg	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
41	vitamin E		mg	0,8	1,5	0,9	1,8	1,9	0,8
42	vitamin K		microg	5,1	4,7	5,4	8,5	8,6	5,1
43	vitamin C		mg	8,9	10	6,1	10,5	10,7	8,9
44	Vitamin B1 (tiamin)		mg	0,05	0,07	0,035	0,11	0,11	0,05
45	Vitamin B2 (riboflavin)		mg	0,1	0,15	0,18	0,15	0,15	0,1
46	niacin		mg	0,34	0,52	0,35	0,63	0,63	0,34
47	vitamin B6		mg	0,029	0,04	0,03	0,06	0,06	0,029
48	folna kiselina		microg	10		10,1	12,4	12,4	10
49	folati		microg DFE		20	16,9			
50	vitamin B12		microg	0,1	0,19	0,14	0,19	0,19	0,1
51	biotin		microg	1,5	1,6	1,6	2,8	2,8	1,5
52	pantotenska kiselina		mg	0,34	0,54	0,35	0,78	0,78	0,34
53									
54	<b>ostalo</b>		mg						
55									
56		kolina	mg	25	21	22	24,8	24,8	25
57		taurin	mg		4,3				
58		L-karnitin	mg		1,2		1,7	1,8	1,8
59		mio inozitol	mg						

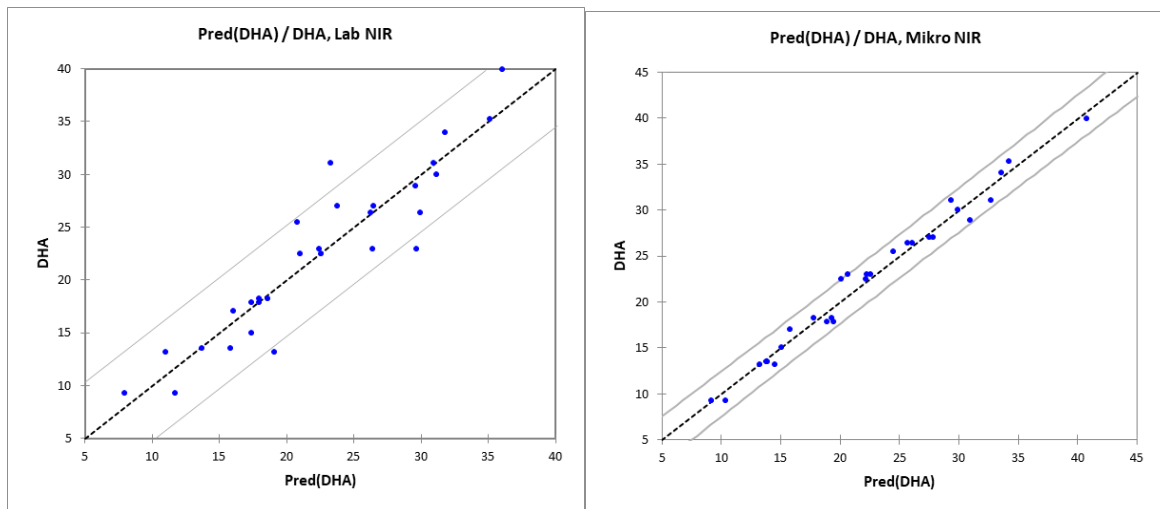
**Prilog 2.** Nutritivni sastavi ispitivanih dojenačkih formula, preuzeti sa pakiranja.

	A	B	C	D	E	F	G	H
			Uzorak A	Uzorak B	Uzorak C	Uzorak D	Uzorak E	Uzorak F
1								
2	obrano mlijeko		+	+	+	+	+	+
3	pripravak sirutke		+	+	+	+	+	+
4	biljna ulja		+	+	+	+	+	+
5		palmino ulje	+		+	+	+	+
6		repičino ulje	+		+	+	+	+
7		repičino ulje s niskim sadržajem eruka kiseline		+				
8		suncokretovo ulje	+	+	+	+	+	+
9		suncokretovo ulje bogato oleinskom kiselinom		+				
10		ulje gljive <i>Mortierella alpina</i>	+	+	+	+	+	+
11		ulje mikroalge <i>Schizochytrium sp.</i>		+	+	+	+	
12		ulje palminih koštica				+	+	
13	laktoza		+	+	+	+	+	+
14	riblje ulje		+					+
15	sojin lecitin		+	+				
16	DHA		+					+
17	škrob					+		
18	kolin		+					+
19	kalcijski ortofosfati		+		+	+	+	+
20	kolin bitartrat			+	+	+	+	
21	L-fenilalanin					+	+	
22	L-tirozin		+		+	+	+	+
23	L-triptofan				+	+	+	+
24	L-karnitin			+				
25	kalijev klorid			+	+	+	+	+
26	natrijev klorid		+	+	+			
27	magnezijev klorid			+				
28	natrijev citrat					+	+	+
29	kalcijev citrat		+	+				
30	kalijev citrat			+		+	+	
31	kalijev hidroksid			+				
32	kalijev jodid		+	+	+	+		
33	kalijev jodat						+	+
34	kalcijev karbonat				+	+	+	+
35	magnezijev karbonat		+		+	+	+	+
36	L-sulfat		+					
37	bakrov sulfat			+	+	+	+	
38	željezov sulfat		+	+	+			+
39	cinkov sulfat			+	+	+	+	+
40	manganov sulfat		+	+	+	+	+	+
41	natrijev selenit		+	+	+			+
42	natrijev selenat					+	+	
43	željezov bisglicinat					+	+	
44	vitamin A		+	+	+	+	+	+
45	vitamin D		+	+	+	+	+	+
46	vitamin E		+	+	+	+	+	+
47	vitamin K		+	+	+	+	+	+
48	vitamin C		+	+	+	+	+	+
49	vitamin B1 (tiamin)		+	+	+	+	+	+
50	vitamin B2 (riboflavin)		+	+	+	+	+	+
51	vitamin B3 (niacin)		+	+	+	+	+	+
52	vitamin B5 (pantotenska kiselina)		+	+	+	+	+	+
53	vitamin B6 (piridoksin)		+	+	+	+	+	+
54	biotin (vitamin B7)		+	+	+	+	+	+
55	folna kiselina (vitamin B9)		+	+	+	+	+	+
56	vitamin B12 (cijanokobalamin)		+	+	+	+	+	+
57	taurin			+		+	+	
58	inozitol		+	+		+	+	+
59	limunska kiselina			+				
60	izolat bjelančevina sirutke?			+				
61	nukleotidi					+	+	
62	citidin-5'-monofosforna kiselina					+	+	
63	natrijeve soli uridin-5'-fosforne kiseline					+	+	
64	adenozin-5'-fosforna kiselina					+	+	
65	natrijeve soli inozin-5'-fosforne kiseline					+	+	
66	natrijeve soli gvanozin-5'-fosforne kiseline					+	+	

**Prilog 3.** Apsorpcijska vrpca NIR spektra (Otto i sur., 2008)



**Prilog 4.** Primjer parcijalne regresije metodom najmanjeg kvadrata, za dva NIR uređaja za dokozaheksaensku kiselinu (DHA)



## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, Marta Zajec, izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

*Zajec Marta*

---

Vlastoručni potpis