Određivanje udjela proteina u prijelaznoj hrani za dojenčad

Nejašmić, Diana

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

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:159:142060

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Diana Nejašmić

6707/PT

ODREĐIVANJE UDJELA PROTEINA U PRIJELAZNOJ HRANI ZA DOJENČAD

ZAVRŠNI RAD

Modul: Analitika prehrambenih proizvoda

Mentor: Doc. dr. sc. Marina Krpan

Zagreb, 2016.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda

Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

ODREĐIVANJE UDJELA PROTEINA U PRIJELAZNOJ HRANI ZA DOJENČAD

Diana Nejašmić, 6707/PT

Sažetak:

Humano mlijeko je po svom sastavu idealna hrana za prehranu dojenčadi. Iznimno, kada je dojenje iz opravdanih razloga onemogućeno, jedina adekvatna zamjena za prehranu dojenčadi su adaptirana mlijeka odnosno prema Pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 39/13), početna i prijelazna hrana za dojenčad. S obzirom da su dojenčad izrazito osjetljiva dobna skupina, nužne su redovite kontrole sastava, kvalitete i zdravstvene ispravnosti početne i prijelazne hrane za dojenčad. Proteini su od iznimne važnosti za njihov pravilan rast i razvoj, stoga je cilj ovoga rada bio odrediti udio proteina u uzorcima prijelazne hrane za dojenčad, usporediti ih s deklaracijama proizvoda i utvrditi jesu li analizirane vrijednosti u skladu s Pravilnikom o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 39/13). Proteini su određeni metodom po Kjeldahlu direktno iz udjela dušika upotrebom Kjeltec uređaja. Udio proteina određen u svim ispitivanim uzorcima je u granicama propisanim pravilnikom, a utvrđena odstupanja od podataka na deklaracijama su u dozvoljenim granicama prihvatljivosti.

Ključne riječi: dojenčad, hrana, početna i prijelazna hrana za dojenčad, proteini

Rad sadrži: 26 stranica, 3 tablice, 46 literaturnih navoda, 3 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: Doc. dr. sc. Marina Krpan

Pomoć pri izradi: Valentina Hohnjec

Rad predan: 4. srpnja 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food Technology

Department of Food Quality Control

Laboratory for Food Quality Control

DETERMINATION OF PROTEIN CONTENT IN FOLLOW-ON FORMULA

Diana Nejašmić, 6707/PT

Abstract:

Human milk is the optimal food for infants. Exceptionally, when breastfeeding is for certain medical reasons prevented, adequate replacement for human milk is adapted milk produced under the regulations and called the infant and follow-on formula. Since infants and toddlers are particularly sensitive population group, regular monitoring of composition, quality control and foos safety are necessary. Proteins are extremely important for their growth and development, so the goal of this study was to determine the final protein content in samples of follow-on formulas and compare them with product labels and determine whether obtained results are in accordance with the regulations (NN 39/13). Proteins were determined by Kjeldahl method directly from nitrogen content using Kjeltec devices. Protein content of all analized samples is within the limits prescribed by the regulations and minimum deviation of the data are obtained in the declarations.

Keywords: follow-on formula, food, infants, infant formula, proteins

Thesis contains: 26 pages, 3 tables, 46 references, 3 supplements

Original in: Croatian

Final work in printed and eletronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: PhD Marina Krpan, Assistant professor

Technical support and assistance: Valentina Hohnjec

Thesis delivered: July 4th, 2016.

SADRŽAJ:

1. UVOD.....1
2. TEORIJSKI DIO
   2.1. Povijesni pregled najvažnijih otkrića vezanih uz hranu za dojenčad.....2
   2.2.Sastav prijelazne hrane za dojenčad.....3
   2.3.Građa i funkcija proteina.....4
   2.4.Proteini u prijelaznoj hrani za dojenčad.....5
      2.4.1. Kazein i proteini sirutke.....5
      2.4.2. Izvori proteina u hrani za dojenčad.....6
      2.4.3. Usporedba proteina u humanom mlijeku i hrani za dojenčad.....8
      2.4.4. Podjela hrane za dojenčad.....9
   2.5. Kontrola kvalitete početne i prijelazne hrane za dojenčad.....9
3. EKSPERIMENTALNI DIO
   3.1.Uzorci.....11
   3.2. Određivanje udjela vode u prijelaznoj hrani za dojenčad.....11
      3.2.1. Materijali.....11
      3.2.2. Metoda.....12
   3.3.Određivanje udjela proteina u prijelaznoj hrani za dojenčad..... 13
      3.3.1. Materijali.....13
      3.3.2. Metoda.....13
4. REZULTATI I RASPRAVA
   4.1. Određivanje udjela vode u prijelaznoj hrani za dojenčad.....15
   4.2. Određivanje udjela proteina u prijelaznoj hrani za dojenčad.....16
5. ZAKLJUČAK.....18
6. LITERATURA.....19
7. PRILOZI.....23

1. UVOD

U vrijeme prije industrijalizacije vjerojatnost preživljavanja dojenčadi ovisila je isključivo o dojenju. Kada dojenje nije bilo moguće, koristile su se zamjene poput životinjskog mlijeka, unaprijed prožvakane hrane i kaše. Ove zamjene su bile neadekvatnog sastava, siromašne nutrijentima ili kontaminirane mikroorganizmima, što je uzrokovalo mnoge tegobe i visoku stopu smrtnosti dojenčadi. Početkom industrijalizacije, potaknuta nedostatkom uspješne zamjene za dojenje, započinje potraga za hranom za dojenčad. (1)

Danas se hranom za dojenčad smatra početna hrana, prerađena hrana za posebne prehrambene potrebe dojenčadi u prvim mjesecima života koja zadovoljava prehrambene potrebe dojenčadi do uvođenja odgovarajućeg dodatnog hranjenja i prijelazna hrana, prerađena hrana za posebne prehrambene potrebe dojenčadi kada se uvodi odgovarajuće dodatno, sve raznolikije, pretežno tekuće hranjenje. (2)

Dojenčad i mala djeca su vrlo podložna raznim oboljenjima, zato što njihovi organizmi još uvijek nisu u potpunosti razvijeni. Početna i prijelazna hrana za dojenčad uspijeva oponašati neke nutritivne komponente humanog mlijeka, ali ne može u potpunosti sadržavati raznolikost nutritivnih elemenata i tvari koje sadrži humano mlijeko, a koje se stalno mijenjaju prema potrebama dojenčadi.(3) Stoga je dojenje jedina optimalna hrana za dojenčad, no ukoliko ono nije moguće, početna i prijelazna hrana za dojenčad su jedina adekvatna zamjena jer zadovoljavaju sve nutritivne potrebe dojenčeta do uvođenja dohrane. Svjetska zdravstvena organizacija preporuča isključivo dojenje do šest mjeseci te dojenje uz dohranu do dvije godine djetetova života. (4) Budući da dojenčad svrstavamo u posebno osjetljivu dobnu skupinu, radi zaštite zdravlja, primjereno je provoditi redovite i stroge kontrole kvalitete, kako sirovina tako i gotove početne i prijelazne hrane za dojenčad. (5)

Cilj ovoga rada bio je odrediti udio proteina u uzorcima prijelazne hrane za dojenčad, domaćih i stranih proizvođača, dostupnima na hrvatskom tržištu, za djecu od 6-12 mjeseci. Dobiveni rezultati će se usporediti s podatcima na deklaracijama i utvrditi jesu li udjeli proteina u granicama propisanim Pravilnikom o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad. (2)

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Povijesni pregled najvažnijih otkrića vezanih uz hranu za dojenčad

Tijekom povijesti, kada majka nije mogla dojiti, dojenče je najčešće bilo osuđeno na smrt. Stanje se počelo mijenjati razvojem stočarstva, kada se kao zamjena za humano mlijeko počelo koristiti životinjsko. U drevnim civilizacijama, dojenčad su prihvaćale i hranile druge dojilje, no mnogi zapisi svjedoće o tome da ih se hranilo i drugom hranom poput kravljeg mlijeka i meda. U srednjem vijeku se počelo preporučati hranjenje dojenčadi isključivo humanim mlijekom, ukoliko nije moguće majčinim, tada mlijekom zamjenske dojilje. Slična vjerovanja, ali druga, poput hranjenja dojenčadi unaprijed prožvakanom hranom i recepturama od mlijeka, piva, vina, povrtnog ili mesnog temeljca i vode održala su se sve do novog vijeka i industrijske revolucije. Žene su počele raditi u tvornicama i rasla je potreba za razvojem kvalitetne zamjene za humano mlijeko. Razvoj hrane za dojenčad započeo je 1838. godine otkrićem spoznaje da kravlje mlijeko sadrži više proteina i manje ugljikohidrata od humanog. Tadašnji stručnjaci su počeli preporučati razrijeđeno kravlje mlijeko te je time stopa smrtnosti dojenčadi znatno pala, no ubrzo se uvidjelo da ta dojenčad ne napreduje i tada su preporučali dodavanje šećera i vrhnja u razrijeđeno mlijeko. Leibig je 1867. g razvio prvu komercijalnu hranu za dojenčad (6) koja se sastojala od pšeničnog brašna, slada i kalijevog bikarbonata pomiješanog s prethodno zagrijanim mlijekom, a nekoliko godina kasnije i prvu potpunu umjetnu hranu za dojenčad koju nije bilo potrebno miješati s mlijekom, već samo s vodom, jer je sadržavala mlijeko u prahu zahvaljujući otkriću metode za kondenzaciju mlijeka. Razvojem znanosi otkrivale su se posebne potrebe za nutrijentima kod dojenčadi i priprema hrane za dojenčad se počela temeljiti na pravilnim omjerima, u cilju smanjivanja kazeina u kravljem mlijeku i čineći ga što sličnijem sastavu humanog mlijeka. 1885. godine, istovremeno Meigs u Sjedinjenim Američkim Državama i Biedet u Njemačkoj otkrili su točan sastav humanog mlijeka (7) potvrđujući tezu o malom udjelu proteina, svega 1,1g/100mL od čega 60 % čine proteini sirutke a 40 % kazein u usporedbi sa kravljim mlijekom, 3,5g/100mL proteina od čega 18 % čine proteini sirutke a 82 % kazein. U sljedećih nekoliko desetaka godina dogodio se veliki porast proizvodnje hrane za dojenčad, a one zamjene koje su se održale na tržištu do 60-ih godina prošlog stoljeća su slične kondenziranom mlijeku s dodanim vitaminima, mineralnim tvarima i biljnim uljima. Tehnološki napredak omogućio je da se sastav hrane za dojenčad stalno mijenja i prilagođava novim saznanjima o sastavu humanog mlijeka i prehrani s ciljem da se zadovolje sve nutritivne potrebe dojenčadi. (1)

2.2. Sastav prijelazne hrane za dojenčad

Prijelazna hrana za dojenčad svih proizvođača slična je po svojem sastavu, budući da su količine makronutrijenata i mikronutrijenata, dodanih nutrijenata i tvari te energetska vrijednost, određeni pravilnicima. (8) Prijelazna hrana za dojenčad proizvodi se od proteina podrijetlom iz kravljeg mlijeka, hidrolizata proteina, te iz izolata proteina soje, samih ili u mješavini s proteinima kravljega mlijeka.

Prema pravilniku o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 39/13), količina proteina u prijelaznoj hrani proizvedenoj iz proteina kravljeg mlijeka smije se kretati od 0, 45-0,8 g/100 kJ (1,8-3,5 g/100 kcal), iz hidrolizata proteina od 0,56-0,8 g/100 kJ (2,25-3,5 g/100 kcal), a iz izolata proteina soje ili u mješavini s proteinima kravljega mlijeka od 0,56-0,8/100 kJ (2,25-3,5 g/100 kcal). Dozvoljeno je dodavati aminokiseline isključivo u količinama potrebnima za poboljšanje prehrambene vrijednosti, no ukoliko se dodaje taurin, njegov sadržaj ne smije biti veći od 2,9 mg/100 kJ (12 mg/100 kcal). Prijelazna hrana za dojenčad mora sadržavati najmanje 0,96 g/100 kJ (4,0 g/100 kcal), a najviše 1,4 g/100 kJ (6,0 g/100 kcal) masti. Zabranjeno je dodavati sezamovo ulje i ulje sjemenki pamuka, laurinska i miristinska kiselina posebno ili zajedno, smiju biti dodane u količini do najviše 20 % od ukupnog sadržaja masti, trans masne kiseline najviše do 3 % ukupnog sadržaja masti, dok sadržaj eruka kiseline ne smije prekoračiti 1 % od ukupnoga sadržaja masti. Sadržaj linolne kiseline u prijelaznoj hrani za dojenčad je od 70-285 mg/100 kJ (300-1200 mg/100 kcal), alfa-linoleinske ne smije biti manji od 12 mg/100 kJ (50 mg/100 kcal) uz uvijet da odnos između linolne i alfa-linoleinske kiseline ne bude manji od 5 ni veći od 15. Dozvoljeno je dodati dugolančane višestruko nezasićene kiseline, od 20 i 22 atoma ugljika ako njihov sadržaj nije veći od 1 % ukupnoga sadržaja masti za n-3 dugolančanih višestruko nezasićenih kiselina odnosno 2% za n-6 dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina uz iznimku da sadržaj eikosapentaenske kiseline ne smije prekoračiti sadržaj dokosaheksaenske kiseline i sadržaj dokosaheksaenske kiseline ne smije prekoračiti sadržaj n-6 dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina. Sadržaj fosfolipida u prijelaznoj hrani za dojenčad ne smije biti veći od 2 g/L. Količina ugljikohidrata u prijelaznoj hrani za dojenčad iznosi 2,2-3,4 g/100 kJ (9-14 g/100 kcal) no zabranjeno je upotrebljavati sastojke koji sadrže gluten. Količina laktoze mora biti veća od 1,1 g/100 kJ (4,5 g/100 kcal) osim za prijelaznu hranu u kojoj izolati proteina soje predstavljaju više od 50 % ukupnoga sadržaja proteina. Saharoze, fruktoze i meda (prethodno obrađenog tako da se unište spore *Clostridum botulinum*) dozvoljeno je dodati, posebno ili zajedno najviše 20 % od ukupnoga sadržaja ugljikohidrata. Glukoza se smije dodati samo u prijelaznoj

hrani proizvedenoj od hidrolizata proteina. U tom slučaju njen sadržaj ne smije prekoračiti 0,5 g/100 kJ (2 g/100 kcal). Frukto-oligosaharidi i galakto-oligosaharidi mogu se dodati u prijelaznu hranu, ako njihov sadržaj ne prekorači 0,8 g/100 ml u kombinaciji 90 % oligogalaktozil-laktoze i 10 % oligofruktozil-saharoze velike molekularne težine. U prijelaznu hranu za dojenčad mogu se dodati nukleotidi: citidin 5'-monofosfat, uridin 5'-monofosfat, adenozin 5'-monofosfat, gvanozin 5'-monofosfat i inozin 5'-monofosfat u količini koja je definirana Pravilnikom o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 39/13) za pojedini nukleotid, no ukupna količina nukleotida ne smije biti veća od 1,2 mg/100 kJ (5 mg/100 kcal). Prijelazna hrana za dojenčad mora sadržavati vitamine: A, B6, B12, C, D, E, K, tiamin, riboflavin, niacin, pantotensku kiselinu, biotin i folnu kiselinu te mineralne tvari: natrij, kalij, klorid, kalcij, fosfor, magnezij, željezo, cink, bakar, jod, selen i mangan u količinama propisanima za pojedini vitamin i mineral Pravilnikom o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 39/13). Energetska vrijednost prijelazne hrane za dojenčad može se kretati od 250 kJ/100mL pripremljenog obroka (60 kcal/ 100mL) do 295 kJ/100 mL (70 kcal/ 100mL). Za pripremu gotove prijelazne hrane za dojenčad dodaje se samo voda. Prijelazna hrana za dojenčad ne smije sadržavati niti jednu tvar u količini koja bi mogla ugroziti zdravlje dojenčadi i male djece. (2)

2.3. Građa i funkcija proteina

Proteine ubrajamo u osnovne gradivne tvari. Sastoje se od aminokiselina koje mogu biti esencijalne (moramo ih unositi putem hrane, organizam ih ne može sam sintetizirati) i ne esencijalne (organizam ih može sam sintetizirati odnosno nadomjestiti). (9) Po građi spadaju u velike makromolekule koje nastaju povezivanjem većeg broja aminokiselina peptidnom vezom koja nastaje povezivanjem α-karboksilne skupine jedne aminokiseline i α-amino skupine druge aminokiseline. Tako nastaje nerazgranati polipeptidni lanac (primarna struktura) izgrađen od pravilno ponavljane okosnice i međusobno različitih ogranaka. Sekundarnu strukturu čine dvije periodične strukture koje su stabilizirane vodikovim vezama između NH- i CO- skupina u okosnici lanca: α-uzvojnicu i β-nabranu ploču. β-okret je opći strukturni element sekundarne strukture proteina, ostvaruje promjene smjera proteinskog lanca, a nastaje povezivanjem CO-skupine ostataka n i NH-skupine ostatka n+3 vodikovom vezom. Na taj je način omogućeno smatanje proteinskog lanca u kuglasti, globularni oblik. Tercijarna struktura je prostorni odnos aminokiselinskih ostataka međusobno vrlo udaljenih u linearnom slijedu. Stabilizirana je velikim brojem različitih nekovalentnih veza (ionskim,

vodikovim, Van der Waalsovim vezama i hidrofobnim interakcijama) između odgovarajućih grupa u pobočnim lancima aminokiselinskih ostataka. Proteini se mogu sastojati od jednog polipeptidnog lanca ili više njih. Dodatnu strukturnu razinu, kvartenarnu strukturu, imaju oligomerni proteini koji sadrže više od jednog proteinskog lanca. Svaki polipeptidni lanac u ovakvom proteinu zove se podjedinica i međusobno su povezane nekovalentnim vezama između pobočnih lanaca njihovih aminokiselinskih ostataka. Neki oligomerni proteini su građeni od istih, a neki od različitih podjedinica.(10)

Proteini obavljaju mnoštvo funkcija u našem organizmu. Kao gradivne tvari, od izuzetne su važnosti za rast i razvoj organizma, a sudjeluju i u nadoknadi istrošenog tkiva: mišića, krvi, kože, tjelesnih organa i vezivnog tkiva. Enzimi i hormoni su po građi proteini koji reguliraju sve tjelesne procese. Proteini su također i bitni sastavni dio antitijela, koja sudjeluju u obrani organizma od bolesti. Neki proteini imaju ulogu da prenose nutrijente i druge molekule npr. hemoglobin koji omogućuje odvijanje procesa disanja u svim stanicama u kojima se taj ciklus odvija i lipoprotein koji omogućuje prijenos masti u vodenoj sredini krvi. Važnu ulogu imaju i u održavanju normalne ravnoteže tjelesnih tekućina i acidobazne ravnoteže. (9)

2.4. Proteini u prijelaznoj hrani za dojenčad

Proteini su od iznimne važnosti za pravilan rast i razvoj djeteta, s obzirom da su dojenčad i mala djeca u razdoblju ubrzanog rasta za razliku od odraslih ljudi, oni zahtijevaju i veći unos proteina kada je prehrana u skladu s potrebama organizma**.** Količina proteina u početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad mora biti dostatna kako bi se namirile potrebe za dušikom i potrebe za aminokiselinama. (11)

2.4.1. Kazein i proteini sirutke

Kazein je potpuni protein mlijeka (sadrži sve aminokiseline koje ulaze u sastav proteina) koji se sastoji od tri frakcije: α-kazeina, β-kazeina i γ-kazeina. Sadrži relativno velike količine glutaminske kiseline i prolina te sadrži i znatne količine leucina, lizina, valina i asparaginske kiseline. U strukturi micele kazeina nalazi se fosfor u obliku fosforne kiseline vezan za peptidne lance kemijskim vezama. Sumpora u kazeinu ima relativno malo što govori o maloj količini cisteina i metionina. Zbog nedostataka ovih esencijalnih aminokiselina biološka vrijednost kazeina je nešto niža od proteina sirutke. (12)

U proteine sirutke ubrajamo sve proteine u mlijeku osim kazeina, većinom su to laktoalbumini i laktoglobulini. Laktoalbumini se razlikuju od kazeina po tome što sadrže

znatno veću količinu sumpora, a ne sadrže fosfor. Laktoglobulini se u mlijeku nalaze u veoma malim količinama izuzev u kolostrumu i u slučaju oboljenja. Sastoje se od imunoglobulina koji se sintetizira u organizmu radi zaštite od nepoželjnih faktora, što znači da ovi proteini dospjevaju u mlijeko preko krvotoka, što objašnjava njihovu malu količinu u normalnom mlijeku i znatnu količinu u kolostrumu (preko njih se prenosi imunitet sa majke na potomstvo). (13)

2.4.2. Izvori proteina u hrani za dojenčad

Kao izvori proteina za prijelaznu hranu za dojenčad upotrebljavaju se proteini izolirani iz kravljeg mlijeka ili iz soje u odgovarajućim omjerima.

Nemodificirano kravlje mlijeko može izazvati mnoge probleme i smetnje ukoliko ga se daje dojenčadi. Struktura i količina proteina te sastav aminokiselina su najbitniji parametri koji moraju biti usklađeni potrebama dojenčadi i njihovom ne do kraja razvijenom probavnom sustavu. Humano mlijeko ima manji udio kazeina od kravljeg mlijeka što je značajno jer iz tog razloga ostaje kraće u želucu i brže se probavlja. (14) Također, proteini kravljeg mlijeka imaju mnogo veći puferski učinak pa konzumiranje nemodificiranog kravljeg mlijeka može dovesti do smanjene kiselosti. Sa smanjenjem kiseline u želucu baktericidni učinak postaje nedovoljan i može doći do gastrointestinalnih infekcija kod dojenčadi. (15) Stoga, samo jednostavna imitacija sastava aminokiselina u humanom mlijeku neće biti dovoljna za razvijanje hrane za dojenčad. Detaljno praćenje dojenčadi i uspoređivanje njihovog rasta i napretka, ukupnih proteina u serumu, dušika iz uree, aminokiselina u plazmi i sulfata u urinu pokazalo je da unatoč sličnom sastavu aminokiselina u hrani za dojenčad i humanom mlijeku, postoje značajne razlike u sastavu plazme djece hranjene hranom za dojenčad i one koja su dojena. (11,16)

Hrana za dojenčad, bazirana na proteinima soje može se upotrebljavati kao zamjena za dojenje kod dojenčadi koja su alergična na kravlje mlijeko ili laktozu. (14) Iako su istraživanja pokazala da dojenčad hranjena hranom na bazi proteina soje ne zaostaje u rastu i razvoju za dojenom djecom, preporuča se da količina proteina u takvoj hrani bude viša u odnosu na hranu za dojenčad baziranu na proteinima kravljeg mlijeka, kako bi se osigurala jednaka količina slobodnih aminokiselina. Oba izvora mogu se smatrati nutritivno prikladna u hrani za dojenčad, međutim mišljenje stručnjaka je da hrana za dojenčad bazirana na proteinima soje treba biti namijenjena za specifične situacije te da je kravlje mlijeko prikladniji izvor proteina. (17) Proteini soje kao izvor proteina u hrani za dojenčad često se

koriste za prehranu dojenčadi s alergijama na proteine kravljeg mlijeka, no nedavna su istraživanja pokazala kako dojenčad koja ima alergiju na proteine kravljeg mlijeka također pokazuje alergijske reakcije i na proteine soje (18). Postoje dvije vrste alergija na proteine kravljeg mlijeka i proteine soje, one posredovane imunoglobulinom E i one ne posredovane imunoglobulinom E (19). Kod dojenčadi koja pati od alergije ne posredovane imunoglobulinom E na proteine kravljeg mlijeka, vjerojatnost je 60 % da će biti alergični i na proteine soje, dok je vjerojatnost za isto kod dojenčadi koja pati od alergije posredovane imunoglobulinom E mnogo manja, od 0-14 % (18, 20, 21, 22). Stoga, možemo zaključiti da su proteini soje dobra zamjena za proteine kravljeg mlijeka za većinu dojenčadi. Hrana za dojenčad s proteinima soje sadrži visoke koncentracije izoflavona (fitoestrogen) koji može djelovati na spolni razvoj dojenčadi. Bez obzira na nedostatak kliničkih dokaza o estrogenom djelovanju soje, pojavila se zabrinutost za upotrebu takve hrane za dojenčad. (23, 24)

Hidrolizati proteina su također dozvoljeni kao izvor proteina za hranu za zdravu nedojenu dojenčad uz rizik od pojave atrofičnih bolesti. Kolličina imunoreaktivnog proteina u takvoj hrani mora biti manja od 1 % tvari koje sadrže dušik, kako bi se osigurala najmanja moguća količina antigena. Hidrolizirani proteini se lakše i brže probavljaju za razliku od cijelih proteina, što utječe na brži i veći porast udjela ukupnih aminokiselina, esencijalnih aminokiselina i razgranatih aminokiselina u plazmi u kombinaciji s povišenom razinom inzulina. Ovi faktori mogu utjecati pozitivno na sintezu proteina, ali mogu i rezultirati povećanom oksidacijom aminokiselina. (25) Iako se pokazalo da hidrolizati smjese proteina sirutke i kazeina slično kao i smjese s nehidroliziranim proteinima omogućuju normalan rast i razvoj dojenčadi i uzorke plazme slične dojenoj djeci, neki proizvodi nisu bili nutritivno dostatni. (16) Problem dojenčadi koja je alergična na proteine uspješno se rješava hranom s hidroliziranim proteinima. Ukoliko je alergično dijete dojeno, majka se mora pridržavati stroge bezproteinske dijete, jer humano mlijeko može sadržavati antigene iz majčine prehrane. Iako hrana za dojenčad s hidroliziranim proteinima smanjuje učestalost alergijskih reakcija, pogotovo na proteine kravljeg mlijeka, stručnjaci se slažu da su potrebna daljnja istraživanja. (26) Osim uporabe hidroliziranih proteina u svrhu prevencije alergije, također se mogu koristiti i u drugim ciljnim skupinama, primjerice za olakšavanje dojenačkih kolika. (27) Dojenčad hranjena hranom s nehidroliziranim proteinima imala je značajne razlike u koncentraciji aminokiselina u plazmi i mineralnoj ravnoteži od one hranjene hranom s hidroliziranim proteinima (28), dok su neka istraživanja pokazala urednu koncentraciju aminokiselina u plazmi i rast i razvoj dojenčadi (29, 30) pa se danas smatra da su hidrolizati proteina adekvatan izvor proteina za početnu i prijelaznu hranu za dojenčad. Trenutno ne

postoje istraživanja koja bi potvrdila da postoji ijedan prikladniji izvor proteina za početnu i prijelaznu hranu za zdravu dojenčad od kravljeg mlijeka. (24)

2.4.3. Usporedba proteina u humanom mlijeku i hrani za dojenčad

Sastav humanog mlijeka mijenja se ovisno o dobi dojenčeta zato što se potrebe dojenčeta tijekom njegova rasta i razvoja mijenjaju. Ključni sastojak koji se mijenja upravo su proteini. (31) Količina dušika se drastično mijenja u humanom mlijeku, naročito prvih nekoliko dana nakon rođenja, u kolostrumu. Izraženo kao postotak energetske vrijednosti, proteini čine 17 % u kolostrumu, a svega 7 % u zrelom mlijeku. Također, mijenja se i koncentracija različitih proteina u humanom mlijeku. Tijekom laktacije mijenja se omjer proteina sirutke i kazeina: 90:10 u kolostrumu, 55:45 u zrelom mlijeku i 50:50 u kasnoj laktaciji, a dolazi i do porasta u ukupnom udjelu proteina. Količina dušika u hrani za dojenčad može biti puno veća od one u humanom mlijeku jer ovisi o dodavanju aminokiselina radi optimiziranja njenog sastava. Samo peptidi i aminokiseline, koji doprinose od 5 % do 7 % od ukupnog dušika u humanom mlijeku, a između 2 % i 8 % od ukupnog dušika u hrani za dojenčad, će biti dostupni za sintezu proteina. Osim 8 esencijalnih aminokiselina za odrasle**;** fenilalanin, valin, treonin, triptofan, izoleucin, metionin, leucin i lizin dojenčad nema u potpunosti razvijen mehanizam pretvorbe histidina, cisteina i tirozina pa je i njih nužno unositi prehranom. Humano mlijeko sadrži svih 11 neophodnih aminokiselina, dok kravlje, iako ima ostale aminokiseline u suvišku, sadrži jako malo cisteina. (16,32). Taurin je dominantna slobodna aminokiselina u humanom mlijeku, a u hrani za dojenčad će biti prisutna samo ako je se naknadno doda. (16, 33) Većina prijelazne hrane za dojenčad sadrži omjer proteina i energetske vrijednosti otprilike 2g/100 kcal, no ne zna se pouzdano je li ovaj omjer uistinu optimalan za dojenčad pošto je očito da dojenčad hranjena humanim mlijekom ima niži unos proteina (24, 34). Prema dosadašnjim saznanjima, hrana za dojenčad s omjerom proteina i energetske vrijednosti višim od 1,7g/100 kcal zadovoljava sve potrebe dojenčadi za proteinima, no nema značajnih razlika u rastu i razvoju djece hranjene hranom za dojenčad s varirajućim koncentracijama proteina. Iako humano mlijeko sadrži manje proteina, hrana za dojenčad sa nižom koncentracijom proteina ne utječe pozitivno na rast i razvoj dojenčadi. (24, 35)

2.4.4. Podjela hrane za dojenčad

Razvojem i poboljšavnjem hrane za dojenčad nastoje se postići kvalitativna i kvantitativna svojstva humanog mlijeka. (36) U cilju što boljeg imitiranja sastava humanog mlijeka, hrana za dojenčad se dijeli prema udjelu ukupnih proteina i omjeru pojedinih sastojaka te se označava brojevima 1, 2 i 3. Početna hrana za dojenčad se označava brojem 1 i namjenjena je za prehranu dojenčadi od rođenja do 6 mjeseci. Hrana za dojenčad označena brojevima 2 i 3 smatra se prijelaznom hranom i namjenjena je dojenčadi od 6-12 mjeseci odnosno starijoj od 12 mjeseci. U početnoj hrani, označenoj brojem 1, proizvedenoj od kravljeg mlijeka, ukupni udio proteina je manji od onog u prijelaznoj hrani, a prevladavaju proteini sirutke u odnosu na kazein. Kao takva bolje je prilagođena nezrelom organizmu dojenčeta. U prijelaznoj hrani, označenoj brojem 2, veći je udio kazeina u odnosu na proteine sirutke, nego što je to slučaj u početnoj hrani za dojenčad. Prijelazna mliječna hrana za dojenčad s brojem 2 daje se starijem dojenčetu nakon navršenog 6 mjeseca života, istodobno kada započinje dohrana. Nakon navršene prve godine može se uvesti kravlje mlijeko u prehranu. U hrani označenoj brojem 3, udio i sastav proteina se ne razlikuje mnogo od onoga u kravljem mlijeku. Takvi pripravci imaju višestruko veću koncentraciju željeza i nutritivni sastav optimiran za potrebe male djece od prve godine života. (36, 37)

2.5.Kontrola kvalitete početne i prijelazne hrane za dojenčad

Dojenčad lišena humanog mlijeka zahtijeva visoko kvalitetnu hranu za dojenčad kako dobili sve hranjive tvari koje su im potrebne, posebno prijevremeno rođena novorođenčad i ona s visokim rizikom slabog rasta. Kontrola kvalitete hrane za dojenčad je, dakle, jednako važna kao i samo hranjenje u sprječavanju zdravstvenih problema. Postoji niz smjernica i sustava pripremljenih od strane nacionalnih vlada u cilju održavanja kvalitete hrane za dojenčad. Samo proizvodi koji su u skladu sa standardima kvalitete mogu se staviti na tržište kao hrana za dojenčad. Niti jedan drugi proizvod se ne može prodavati kao hrana koja zadovoljava nutritivne potrebe dojenčadi. U vrlo ranoj dobi, organi dojenčadi su još uvijek u razvoju i veoma su osjetljivi na okoliš i faktore koji utječu na hranjenje, tako da su štetne tvari u hrani za dojenčad neprihvatljive. Budući da proizvođači hrane za dojenčad stalno predlažu nove sastojke hrane za dojenčad u cilju poboljšavanja sastava i čineći hranu za dojenčad što sličnijom humanom mlijeku, neizbježne su stalne preinake propisanih kontrola kvalitete. Prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije (WHO), proizvođači hrane za dojenčad

trebaju usvojiti GMP i HACCP sustave, uspostaviti sustav osiguravanja kvalitetne proizvodnje, izbjeći određene faktore rizika i poduzeti korake za prevenciju rizika. (38) HACCP je koncept sustavnog približavanja upravljanju sigurnošću hrane baziran na principima kojima je cilj prepoznati opasnosti koje se mogu dogoditi u bilo kojoj fazi proizvodnog lanca ("od polja do stola") i staviti ih pod kontrolu kako bi se spriječila pojava opasnosti. Ovaj sustav je alat koji pomaže proizvođačima hrane prilikom identifikacije, procjene i kontrole opasnosti koje mogu biti vezane za određeni proizvod ili cijelu proizvodnu liniju. Postao je općeprihvaćeni standard i zakonska obveza za sve poslovne subjekte koji se bave proizvodnjom hrane diljem svijeta te je potvrđen od strane Nacionalne akademije znanosti SAD-a, Komisije Codex Alimentarius (uspostavlja međunarodne norme glede hrane) i Nacionalnog savjetodavnog vijeća o mikrobiološkim kriterijima za hranu SAD-a. (39) Da bi HACCP sustav bilo učinkovit, određeni programi i aktivnosti moraju biti zadovoljeni, ovisno o nacionalnim propisima. Dobra proizvođačka praksa (GMP) dio je sustava kontrole kvalitete koji osigurava izvrsnost i sigurnost proizvoda. Uključuje niz strogih zahtjeva koje proizvođač mora poštivati u svim dijelovima proizvodnog postupka – od odabira sirovina preko uvjeta proizvodnje i higijene do svih procesnih kontrola. Dobra proizvođačka praksa pomaže u sprječavanju onečišćenja i pogrešaka i osigurava siguran proizvod ujednačene kvalitete. GMP pruža opće uvjete za proizvodnju hrane za dojenčad s učinkovitom kontrolom sastojaka, sastava proizvoda, procesa, postrojenja i opreme koja se koristi, te uključuje potvrdu sigurnosti hrane tijekom procesa, prevenciju protiv stranih tijela u proizvodu, mikrobiološku stabilnost, uspostavu dvojnog sustava nadzora, smanjenje gubitaka, upravljanje označavanjem, arhiviranje izvještaja i održavanje kvalitete. Bez učinkovite provedbe GMP-a , proizvođači hrane za dojenčad ne mogu imati sigurnost, dosljednost kvalitete i adekvatnu prehrambenu kvalitetu proizvoda. Svi standardi i smjernice moraju biti ocijenjeni, kako bi se utvrdila valjanost, korisnost i učinkovitost mogućih formula za hranu za dojenčad. Međutim, još uvijek postoji potreba za razvijanjem preciznijih standarda, na temelju GMP, HACCP i sličnih sustava, za aditive koji se sve više koriste za poboljšanje kvalitete hrane za dojenčad. Početna i prijelazna hrana za dojenčad nije sterilna i potrebno je provesti opsežna testiranja na određene mikroorganizme kako bi se osigurala sigurnost. Drugi način prevencije uključuje edukaciju roditelja i skrbnika o pravilnoj pripremi, rukovanju i skladištenju te o potencijalno prisutnim štetnim bakterijama. (40)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1.Uzorci

Određen je udio vlage i proteina u 12 uzoraka prijelazne hrane za dojenčad, u praškastom obliku, domaćih i stranih proizvođača, dostupnih na hrvatskom tržištu. Od toga, 8 uzoraka prijelazne hrane za dojenčad od kravljeg mlijeka, namjenjene dojenčadi od 6-12 mjeseci, 1 uzorak prijelazne hrane za dojenčad od kozjeg mlijeka, namjenjene dojenčadi od 6-12 mjeseci i 3 uzorka prijelazne hrane za dojenčad od kravljeg mlijeka, namjenjene dojenčadi starijoj od 10 mjeseci.

UZORAK	PROIZVOD
1	Lactana 2
2	Hipp 2
3	Nan 2
4	Baby love 2
5	Holle 2 bio kozje
6	Holle 2 bio kravlje
7	Milumil 2
8	Aptamil 2 (pronutra+)
9	Novalac 2
10	Bebimil 3
11	Baby love 3
12	Hipp 3

3.2. Određivanje udjela vode u uzorcima prijelazne hrane za dojenčad

3.2.1. Materijali

Laboratorijsko posuđe i uređaji:

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

3.2.2. Metoda

Princip:

Iz razlike u masi uzorka, prije i nakon sušenja do konstantne mase, indirektno se određuje udio vode u uzorku. Razlika u masi prije i nakon sušenja izražava se kao masa vode u uzorku. (41)

Postupak:

Otvorena aluminijska posudica s poklopcem stavi se u sušionik i zagrijava približno jedan sat na 101°C. Zatvorena posudica ostavi se da se ohladi u eksikatoru do sobne temperature i zatim izvaže s točnošću od 0,1 mg. U posudicu se doda približno 5 g praha prijelazne hrane za dojenčad, zatvori posudica i izvaže s točnošću od 0,1 mg. Otvorena posudica s poklopcem stavi se u sušionik dva sata na 101°C. Zatvorena posudica se ostavi da se ohladi u eksikatoru do sobne temperature i zatim izvaže s točnošću od 0,1 mg. Otvorena posudica s poklopcem ponovno se zagrijava u sušioniku jedan sat. Ponovi se postupak hlađenja i vaganja. Postupak sušenja, hlađenja i vaganja se ponavlja dok razlika u masi između dva uzastopna vaganja ne bude manja od 0,5 mg. Uzorci hrane za dojenčad ukupno su se sušili pet sati do konstantne mase.(42)

Račun:

Gubitak mase sušenjem, udio vode, izražen kao postotak mase, izračunava se na sljedeći način:

$$\%\,\text{vode} = \frac{\text{m2} - \text{m3}}{\text{m2} - \text{m1}} \times 100$$

m_1- masa prazne posudice [g]

m_2- masa posudice s uzorkom prije sušenja [g]

m_3- masa posudice s uzorkom, nakon 5h sušenja [g] (41)

3.3.Određivanje udjela proteina u prijelaznoj hrani za dojenčad

3.3.1. Materijali

Laboratorijsko posuđe i uređaji:

- analitička vaga tip JK 180, YMC CHYO, Mikrotehna, Zagreb
- kiveta za Kjeltec sustav (500mL)
- menzura
- blok za spaljivanje, digestion system 6, 1007 digester, Tecator
- erlenmeyerova tikvica (250 mL)
- Kjeltec^{TM}8100, Tecator^{TM}Line, Foss
- bireta za titraciju

Kemikalije:

- 96 % sumporna kiselina (H_2SO_4)
- tableta za spaljivanje (smjesa soli K_2SO_4 i $CuSO_4$)
- 4 % borna kiselina (H_3BO_3) sa indikatorima
- natrijev hidroksid (NaOH, c= 0,1 mol/L)
- klorovodična kiselina (HCl, c=0,1 mol/L)

3.3.2. Metoda

Princip:

Organske tvari u uzorku se razore zagrijavanjem sa sumpornom kiselinom i pri tome dolazi do oslobađanja proteinskog i neproteinskog dušika koji zaostaje u obliku amonijevog sulfata.

$$\text{organski dušik} \xrightarrow[\text{oksidacija + visoka temperatura}]{H_2SO_4\text{+ Kjeldahl katalizator}} (NH_4)_2SO_4$$

U Kjeltec uređaju provodi se alkalizacija u suvišku i potom destilacija u bornu kiselinu u suvišku.

$$(NH_4)_2SO_4 + 2\ NaOH \longrightarrow 2NH_3 + Na_2SO_4 + 2H_2O$$

$$3NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow (NH_4)_3BO_3$$

Potom se vrši titracija amonijevog borata klorovodičnom kiselinom.

$$(NH_4)_3BO_3 + 3HCl \longrightarrow 3(NH_4)Cl + H_3BO_3 \qquad (41,43)$$

Postupak:

Odvaže se približno 1 g s točnošću 0,1 mg homogeniziranog uzorka u kivetu od 500mL, tako da uzorak ne zaostane ne stijenkama. U kivetu se stave dvije tablete za spaljivanje (oko 10 g) i 15 mL 96 % sumporne kiseline. Uzorak se spali u bloku za spaljivanje u digestoru. Uzorak je u potpunosti spaljen kada nema crnih zaostataka nego kada zaostane samo plavo-zelena tekućina. (Prilog 1) Sadržaj u kiveti se ohladi na sobnu temperaturu. Kiveta se umetne u kjeltec uređaj u jedinicu za destilaciju, a na izlaz se postavi erlenmeyerova tikvica s 25 mL 4 % borne kiseline unaprijed pripremljene tako da je otopljenoj bornoj kiselini dodano metilno crvenilo i brom krezol zeleno, na način da je izlazna cijev uronjena u otopinu borne kiseline. Podese se uvjete destilacije: vrijeme destilacije- 5 minuta; razrijeđenje- 80 mL destilirane vode; lužina- 60 mL NaOH i pokrene destilacija. (Prilog 2) Nakon završetka reakcije, otopina se titrira klorovodičnom kiselinom do promjene boje iz zelene u ružičastu. (Prilog 3) (41,44)

Račun:

Udio dušika u uzorku se izračunava na sljedeći način:

$$\%N = \frac{(T - B) \times N \times 14{,}007 \times 100}{m}$$

$$\%P = \%N \times F$$

T- volumen titranta V(HCl)

B- volumen titranta slijepe probe V(HCl)

N- normalitet

m- masa uzorka [mg]

F- faktor pretvorbe za proteine, iznosi 6,25 za hranu za dojenčad (44)

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Određivanje udjela vode u uzorcima prijelazne hrane za dojenčad

Tablica 1: Udio vode u uzrocima prijelazne hrane za dojenčad

UZORAK		Udio vode [%]	Udio vode [%] (srednja vrijednost ± standardna devijacija)		
1	1.1.	2,15	2,27	±	0,16
	1.2	2,38			
2	2.1.	2,22	2,23	±	0,01
	2.2.	2,23			
3	3.1.	2,57	2,48	±	0,13
	3.2.	2,38			
4	4.1.	1,99	2,07	±	0,11
	4.2.	2,15			
5	5.1.	2,01	2,01	±	0,01
	5.2.	2,00			
6	6.1.	1,47	1,49	±	0,02
	6.2.	1,50			
7	7.1.	3,56	3,61	±	0,07
	7.2.	3,66			
8	8.1	3,14	3,11	±	0,04
	8.2.	3,08			
9	9.1.	3,55	3,55	±	0,00
	9.2.	3,55			
10	10.1.	4,42	4,50	±	0,11
	10.2.	4,57			
11	11.1.	3,95	3,94	±	0,01
	11.2.	3,93			
12	12.1.	3,87	4,06	±	0,26
	12.2.	4,24			

Iz rezultata je vidljivo da prijelazna hrana za dojenčad, u praškastom obliku, sadrži mali udio vode, svega 1,49 - 4,50 % mase nepripremljenog praha. Rezultati su u skladu sa očekivanjima jer mlijeko u prahu ne smije sadržavati više od 5 % vode. (45)

4.2.Određivanje udjela proteina u prijelaznoj hrani za dojenčad

Tablica 2: Udio dušika (N) i proteina (P) u prijelaznoj hrani za dojenčad

UZORAK		% N	%N (srednja vrijednost ± standardna devijacija)			% P	%P (srednja vrijednost ± standardna devijacija)		
1	1.1.	1,77	1,77	±	0,00	11,06	11,07	±	0,01
	1.2.	1,77				11,07			
2	2.1.	1,73	1,73	±	0,01	10,79	10,77	±	0,04
	2.2.	1,72				10,74			
3	3.1.	1,59	1,60	±	0,01	9,94	10,01	±	0,09
	3.2.	1,61				10,07			
4	4.1.	1,62	1,63	±	0,01	10,11	10,17	±	0,08
	4.2.	1,64				10,22			
5	5.1.	1,81	1,81	±	0,00	11,32	11,32	±	0,00
	5.2.	1,81				11,32			
6	6.1.	1,81	1,82	±	0,01	11,30	11,33	±	0,04
	6.2.	1,82				11,36			
7	7.1.	1,45	1,48	±	0,04	9,04	9,22	±	0,25
	7.2.	1,50				9,40			
8	8.1.	1,44	1,46	±	0,03	9,01	9,14	±	0,18
	8.2.	1,48				9,26			
9	9.1.	1,67	1,68	±	0,01	10,47	10,53	±	0,08
	9.2.	1,69				10,58			
10	10.1.	1,61	1,62	±	0,01	10,08	10,11	±	0,04
	10.2.	1,62				10,14			
11	11.1.	2,19	2,21	±	0,02	13,17	13,52	±	0,49
	11.2.	2,22				13,87			
12	12.1.	1,60	1,66	±	0,08	10,01	10,34	±	0,47
	12.2.	1,71				10,67			

Tablica 3. Usporedba dobivenih rezultata s podacima na deklaracijama:

UZORAK	g proteina/ 100g praha (izmjereno)	g proteina/ 100g praha (deklaracija)	g proteina/ 100kcal (izmjereno)	g proteina/ 100kcal (deklaracija)	Odstupanje od deklaracije (%)
1	11,07	11,0	2,21	2,2	0,64
2	10,77	10,2	2,22	2,1	5,59
3	10,01	9,6	1,98	1,9	4,27
4	10,17	10,7	2,09	2,2	-4,95
5	11,32	10,9	2,28	2,2	3,85
6	11,33	11,0	2,27	2,2	3,00
7	9,22	9,6	1,82	1,9	-3,96
8	9,14	9,5	2,02	2,1	-3,79
9	10,53	11,0	2,10	2,2	-4,27
10	10,11	10,6	2,00	2,1	-4,62
11	13,52	13,6	2,78	2,8	-0,59
12	10,34	10,7	2,03	2,1	-3,36

Udio proteina u uzorcima prijelazne hrane za dojenčad kreće se između 1,82- 2,8 g/100 kcal. Dobiveni rezultati su u skladu sa rezultatima drugih autora koji su provodili određivanje proteina u prijelaznoj hrani za dojenčad. (46) Svi rezultati su unutar dozvoljenog odstupanja od deklaracija proizvoda (± 15%) te su u granicama (1,8- 3,5 g/ 100 kcal) propisanim Pravilnikom o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 39/13). (2, 47)

5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata možemo zaključiti sljedeće:

1. Humano mlijeko je najbolja hrana za dojenčad, ukoliko dojenje nije moguće, početna i prijelazna hrana za dojenčad predstavlja adekvatan izvor proteina u skladu s prehrambenim potrebama dojenčeta.

2. Prijelazna hrana za dojenčad, u praškastom obliku, sadrži mali udio vode od 1,49 do 4,50 % mase nepripremljenog praha, što je u skladu sa dozvoljenom količinom vode u mlijeku u prahu (manje od 5%).

3. U svim ispitanim uzorcima, udio proteina se kreće između 1,82- 2,8 g/100 kcal pripremljenog obroka.

4. Količina proteina u prijelaznoj hrani za dojenčad mora biti dostatna kako bi se namirile potrebe za dušikom i potrebe za aminokiselinama. Svi rezultati su unutar dozvoljenog odstupanja od deklaracija proizvoda te su u skladu s Pravilnikom o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (NN 39/13).

6. LITERATURA

1. Castilho S.D., Barros Filho A.A.(2010) The history of infant nutrition. *Jornal de Pediatria*. 86(3),179-188
2. Pravilnik o početnoj i prijelaznoj hrani za dojenčad (2013) *Narodne novine* **39,** Zagreb (NN 39/2013)
3. Anonymous (2012) Sve prednosti dojenja (na jednom mjestu), < http://www.klinfo.hr/ >. Pristupljeno 7. lipnja 2016.
4. World health organization (WHO) Breastfeeding, < http://www.who.int/en/ >. Pristupljeno 6. lipnja 2016.
5. Uredba komisije o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani (2006) *Službeni list Europske unije* **1881,** Bruxelles **(EZ 1881/2006)**
6. Barness L.A. (1987) History of infant feeding practices. *Am J Clin Nutr*. **46**,70-168.
7. Greenberg M.H. Neonatal Feeding, Smith G.F., Vidyasagar D. Historical Review and Recent Advances in Neonatal and Perinatal Medicine. Mead Johnson Nutritional Division, 1980. < http://www.neonatology.org/classics/mj1980/ch04.html > Pristupljeno 5. lipnja 2016.
8. Vranešić Bender D. (2013) Dojenački mliječni pripravci. InPharma. Br. 23, god. 4, siječanj/veljača 2013.
9. Anonymous (2013) Funkcije proteina u tijelu, < http://www.zdravlje-prehrana.com/ >. Pristupljeno 10. lipnja 2016.
10. Stryer L. (1991) Biokemija, Školska knjiga, Zagreb, str. 11-39.
11. Report of the Scientific Committee on Food on the Revision of Essential Requirements of Infant Formulae and Follow-on Formulae (2003),B-1049 Bruxelles/ Brussels - Belgium, str 26.
12. Zdravko Šumić (2008)Tehnologija hrane- Kazein, <http://www.tehnologijahrane.com/>. Pristupljeno 18. lipnja 2016.
13. Zdravko Šumić (2008)Tehnologija hrane- Proteini sirutke, <http://www.tehnologijahrane.com/>. Pristupljeno 18. lipnja 2016.
14. Davis T.A., Nguyen H.V., Garcia-Bravo R., Fiorotto M.L., Jackson E.M., Lewis D.S., Lee D.R., Reeds P.J. (1994) Amino acid composition of human milk is not unique. *J Nutr*. **124**, 1126–32.

15. Urbien´e S., Ciuckinas A., Margelyte J. (1997) Physical and chemical properties and the biological value of goat's, cow's and human milk. *Milchwissenschaft*. **52**, 427–30.
16. Thompkinson D.K., Suman K. (2007) Aspects of Infant Food Formulation. Comprehensive reviews in food science and food safety. **24**,79-102.
17. Dean TP, Adler BR, Ruge F, Warner JO. (1993) In vitro allergenicity of cow's milk substitutes. *Clin Exp Allergy* **23**, 205–10.
18. Zeiger R.S., Sampson H.A., Bock S.A., (1999)et al. Soy allergy in infants and children with IgE-associated cows' milk allergy. *J Pediatr*. **134(5)**, 614–22.
19. Host A. (1994) Cows' milk protein allergy and intolerance in infancy. Some clinical, epidemiological and immunological aspects. Pediatr Allergy Immunol. **5(5)**, 1–36.
20. Hill D.J., Davidson G.P., Cameron D.J., Barnes G.L. (1979) The spectrum of cows' milk allergy in childhood. Clinical, gastroenterological and immunological studies. *Acta Paediatr Scand*. **68(6)**, 847–52.
21. Bock S.A., Atkins F.M. (1990) Patterns of food hypersensitivity during sixteen years of double-blind, placebo–controlled food challenges. J Pediatr. **117(4)**, 561–7.
22. Ragno V., Giampietro P.G., Bruno G., Businco L.(1993) Allergenicity of milk protein hydrolysate formulae in children with cows' milk allergy. *Eur J Pediatr*. **52(9)**,760–2.
23. European Commission Scientific Committee on Food. Report of the scientific committee on food on the revision of essential requirements of infant formulae and follow-on formulae. SCF/CS/NUT/IF/65 Final. 18 May 2003.
24. Alles M.S., Scholtens P.A.M.J., Bindels J.G. (2004) Current trends in the composition of infant milk formulas. *Current Paediatrics* **14**, 51–63.
25. Calbet J.A.L., MacLean D.A.(2002) Plasma glucagon and insulin responses depend on the rate of appearance of amino acids after ingestion of different protein solutions in humans. *J Nutr*. **132**, 2174–82.
26. Host A., Koletzko B., Dreborg S., (1999) et al. Dietary products used in infants for treatment and prevention of food allergy. Joint Statement of the European Society for Paediatric Allergology and Clinical Immunology (ESPACI) Committee on Hypoallergenic Formulas and the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. Arch Dis Child; 81(1):80–4.
27. Lucassen P.L., Assendelft W.J., Gubbels J.W., van Eijk J.T., Douwes A.C. (2000) Infantile colic: crying time reduction with a whey hydrolysate: a double-blind, randomized, placebocontrolled trial. *Pediatrics*. **106 (6)**, 1349–54.

28. Rigo J., Salle B.L., Picaud J.C., Putet G., Senterre J. (1995) Nutritional evaluation of protein hydrolysate formulas. *Eur J Clin Nutr*. 49 (Suppl. 1):S26.
29. Mihatsch W.A., Pohlandt F. (1999) Protein hydrolysate formula maintains homeostasis of plasma amino acids in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. **29 (4)**, 406–10.
30. Picaud J.C., Rigo J., Normand S. (2001) et al. Nutritional efficacy of preterm formula with a partially hydrolyzed protein source: a randomized pilot study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. **32 (5),** 555–61.
31. Anonymous (2012) Važnost proteina u prehrani beba i male djece, < http://www.klinfo.hr/ >. Pristupljeno 10. lipnja 2016.
32. Dewey K.G., Beaton G., Fjeld C., L¨onnerdal B., Reeds P. (1996) Protein requirements of infants and children. *Eur J Clin Nutr*. 50(S1):S119–50.
33. Agostoni C., Carrat `u B, Boniglia C., Riva E., Sanzini E. (2000) Free amino acid content in standard infant formulas: comparison with human milk. *J Am Coll Nutr*. 19:434–8.
34. Janas J.M., Picciano M.F., Hatch T.F. (1985) Indices of protein metabolism in term infants fed human milk, whey-predominant formula or cows milk formula. *Pediatrics*. 75(4):775-84.
35. Raiha N., Minoli I., Moro G. (1986) Milk protein intake in the term infant. I. Metabolic responses and effects on growth. *Acta Paediatr Scand*. 75:881–6.
36. Vranešić Bender D. (2013) Dojenački mliječni pripravci. InPharma. Br. 23, god. 4, siječanj/veljača 2013.
37. Anonymus, Choosing a formula for your baby's stage: 1, 2 or 3? <http://www.forbaby.co.nz/>. Pristupljeno 10. lipnja 2016.
38. World health organization (WHO), Food and Agriculture Organization of the United Nations (2007) Safe preparation, storage and handling of powdered infant formula-Guidelines, Switzerland
39. HAH (2016) Hrvatska agencija za hranu. HACCP, < http://www.hah.hr/ >. Pristupljeno 23. lipnja 2016.
40. Ahmad S.(2014) Infant formula quality control. Human Milk Biochemistry and Infant Formula Manufacturing Technology (Guo M., ured.),Woodhead publishing limited is an imprint of Elsevier, Cambridge/Waltham/Kidlinkton, str. 246-272.

41. Vahčić N., Hruškar M., Marković K. (2008) Analitičke metode za određivanje osnovnih sastojaka hrane, praktikum. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2008.
42. Pravilnik o metodama uzorkovanja i analiza ugušćenog (kondenziranog) mlijeka i mlijeka u prahu namjenjanih za konzumaciju (2008), *Narodne novine* **46**, **155,** Zagreb (NN 46/07 i NN 155/08)
43. ISO 1871:1975, Agricultural food products -- General directions for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method.
    HRN ISO 1871:1999, Poljoprivredni prehrambeni proizvodi -- Općenite upute za određivanje dušika Kjeldahlovom metodom (osnovna referentna metoda)
44. ISO 8968-3:2004, Determination of nitrogen in milk and milk products- Kjeldahl method
45. Pravilnik o ugušćenom (kondenziranom) mlijeku i mlijeku u prahu (2007), *Narodne novine* **46**, Zagreb (NN 46/2007)
46. Bellomonte G., Boniglia C., Carratu B., Filesi C., Giammarioli S., Mosca M., Sanzini E.(1990) Protein and lipid composition of human milk and infant formulas: comparison and nutritional consequences. *Ann.1st.Super.Sanita*. **9**, 131-140.
47. (HAH) Hrvatska agencija za hranu (2012) Prihvatiljiva odstupanja kod navođenja hranjivih vrijednosti hrane. Znanstveno mišljenje. OB-34-01.

7. PRILOZI

Prilog 1:

Fotografija uzorka prije spaljivanja

Fotografija spaljivanja uzorka

Fotografija uzorka nakon spaljivanja

Prilog 2:

Fotografija Kjeltec uređaja s uzorkom u prvoj minuti destilacije

Fotografija Kjeltec uređaja s uzorkom u trećoj minuti destilacije

Fotografija Kjeltec uređaja s uzorkom u petoj minuti destilacije

Prilog 3:

Fotografija prije titracije

Fotografija nakon titracije