

# Primjena aditivne tehnike u razvoju funkcionalnog dječjeg proizvoda

---

Grgić, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

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:159:131153>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-12**



Repository / Repozitorij:

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



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

**Nikolina Grgić**

7875/PT

**PRIMJENA ADITIVNE TEHNIKE U RAZVOJU FUNKCIONALNOG DJEČJEG  
PROIZVODA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Fizikalna svojstva složenih sustava – hrane

**Mentor:** Prof. dr. sc. *Anet Režek Jambrak*

**Zagreb, 2021.**

**Zahvala:**

*Veliku zahvalnost dugujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak i Marineli Nutrizio, mag. nutr. koje su mi omogućile sav potreban materijal te su svojim cijenjenim savjetima i pomoći doprinijele izradi ovoga rada.*

*Zahvaljujem se Filipu Valjak, mag. ing. (Fakultet strojarstva i brodogradnje) na pomoći pri izradi modela u programu OnShape i svom prenesenom znanju o upotrebi tog softvera.*

*Također, zahvaljujem se svim kolegama koji su svojim nesebičnim radom pomogli pri provođenju eksperimentalnog dijela ovoga istraživanja.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

**Zavod za opće programe**  
**Laboratorij za održivi razvoj**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**  
**Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija**

**Primjena aditivne tehnike u razvoju funkcionalnog dječjeg proizvoda**

***Nikolina Grgić, 0058215995***

**Sažetak:** Cilj ovoga rada bio je primijeniti aditivnu tehniku za dobivanje funkcionalnog proizvoda namijenjenog mlađoj populaciji. U programu OnShape dizajniran je personalizirani oblik funkcionalnog bombona čija je receptura razvijena primjenom različitih sredstava za geliranje uključujući pektin, alginat i agar. Osim toga, u recepturi je korišten i biljni ekstrakt od origana koji je dobiven netoplinskom ekstrakcijom pomoću visokonaponskog električnog pražnjenja. Ekstrakt origana bogat je bioaktivnim spojevima koji daju ovom proizvodu funkcionalna svojstva. 3D isprintani funkcionalni bomboni bili su podvrgnuti analizi teksture, mjerenju udjela ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta te senzorskoj analizi. Senzorski najprihvatljiviji proizvod bio je funkcionalni bombon s pektinom i agarom koji je pokazao i dobre rezultate teksture, a samo s agarom je sadržavao najveći udjel polifenola i najveći antioksidacijski kapacitet. Ovo istraživanje je potvrdilo korištenje aditivne tehnike kao odličnog alata za izradu novog prehrambenog proizvoda složenog oblika i sa zdravstvenim doprinosima.

**Ključne riječi:** aditivna tehnika, 3D printanje, funkcionalni proizvod, geliranje, origano

**Rad sadrži:** 28 stranica, 11 slika, 9 tablica, 32 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** *Prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak*

**Pomoć pri izradi:** *Marinela Nutrizio, mag. nutr.*

**Datum obrane:** 8.srpanj 2021

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

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

**Department of General Programmes**  
**Laboratory for sustainable development**

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

**Application of additive technology in development of functional children's food product**

***Nikolina Grgić, 0058215995***

**Abstract:** The aim of this study was to apply an additive technology to obtain a functional product intended for the younger population. A personalized shape of functional candy was designed in an OnShape software. The recipe was developed by applying different gelling agents including pectin, alginate, and agar. Additionally, a herbal extract of oregano was used obtained by nonthermal high voltage electrical discharge extraction. Oregano extract is rich in bioactive compounds which give this product functional properties. 3D printed functional candies undergone texture analysis, measurement of total polyphenols and antioxidative capacity and sensory analysis. The most sensory acceptable product was functional candy with pectin and agar, while one with agar had the highest value of polyphenols and the highest antioxidative capacity. This research has confirmed the usage of additive technology as a great tool for making a new food product with complex shape and with health benefits.

**Keywords:** additive technology, 3D printing, functional product, gelling, oregano

**Thesis contains:** 28 pages, 11 figures, 9 tables, 32 references

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** *Anet Režek Jambrak, PhD, Full Professor*

**Technical support and assistance:** *Marinela Nutrizio, MSc*

**Defense date:** 8<sup>th</sup> July 2021

# Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. Aditivne tehnologije/proizvodnje .....	2
2.2. 3D printanje hrane.....	2
2.2.1. Metode 3D printanja hrane .....	3
2.3. Sredstva za geliranje .....	4
2.3.1. Pektin.....	4
2.3.2. Alginat .....	5
2.3.3. Agar .....	6
2.4. Netoplinske tehnike obrade hrane.....	7
2.4.1. Visokonaponsko električno pražnjenje (HVED) .....	7
2.5. Origano.....	8
3. MATERIJALI I METODE .....	10
3.1. Materijali.....	10
3.1.1 Pribor i aparatura .....	10
3.1.2. Kemikalije.....	10
3.2. Metode.....	11
3.2.1. Ekstrakcija visokonaponskim električnim pražnjenjem (HVED).....	11
3.2.2. Razvoj recepture funkcionalnih bombona.....	12
3.2.3. 3D printanje funkcionalnih bombona.....	14
3.2.4. Tekstura .....	15
3.2.5. Određivanje udjela ukupnih polifenola .....	15
3.2.6. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom .....	16
3.2.7. Senzorska analiza funkcionalnih bombona .....	17
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	20
4.1. Analiza teksture 3D printanih funkcionalnih bombona .....	20
4.2. Udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet.....	21
4.3. Senzorska analiza 3D printanih funkcionalnih bombona.....	22
5. ZAKLJUČCI.....	25
6. LITERATURA.....	26

## 1. UVOD

Aditivna tehnika proizvodnje, još poznata kao trodimenzionalno (3D) printanje, postala je ključna tehnologija za proizvodnju personaliziranih proizvoda zbog svoje sposobnosti kreiranja sofisticiranih objekata s naprednim karakteristikama. S obzirom na tradicionalnu proizvodnju, osnovne prednosti aditivne proizvodnje su mogućnosti oblikovanja i razvoj proizvoda (Horst i sur., 2018). 3D printanje hrane spaja 3D printanje i digitalnu gastronomiju mijenjajući proizvodnju hrane s prilagođenim oblikom, bojom, aromom, teksturom i prehrambenom vrijednošću. Stoga, prehrambeni proizvodi mogu biti dizajnirani i proizvedeni prema individualnim potrebama kontrolirajući količinu materijala za printanje i nutritivnu vrijednost (Sun i sur., 2015). 3D printanje hrane omogućuje inženjersko rješenje za proizvodnju hrane personaliziranog oblika i njezinu nutritivnu kontrolu. Također, predstavlja alat za izradu prototipova kako bi se olakšao razvoj novog prehrambenog proizvoda (Sun i sur., 2015).

Funkcionalna hrana može biti bilo koji prehrambeni proizvod koji je plasiran na tržište ili percipiran kao proizvod sa zdravstvenim doprinosima s obzirom na njegove osnovne nutritivne vrijednosti (Biliaderis, 2008). Postoji u različitim oblicima, a može biti funkcionalna ako sadrži endogene sastojke s dokazanim zdravstvenim koristima (Biliaderis, 2008). Razvoj funkcionalne hrane uključuje nekoliko različitih koraka, od koncepta do uspješne marketinške implantacije (Jones i Jew, 2007). Štoviše, potrošačka prihvatljivost i dokazanost zdravstvenih tvrdnji rezultiraju poboljšanim prodorom funkcionalnih proizvoda na tržište, što samo po sebi potiče inicijativu stvaranja novih proizvoda (Jones i Jew, 2007). Trenutna istraživanja u biomedicinskom području usmjerena su na pružanje dokaza tradicionalne upotrebe za razvoj funkcionalne hrane ili nutraceutika. Biljke koje sadrže fitokemikalije kao što su flavonoidi i fenolne kiseline su pokazale značajnu biološku aktivnost (Asif, 2015). Dokazano je da biljke koje sadrže fenolne spojeve posjeduju jaka antioksidativna svojstva, a antioksidativni kapacitet takvih spojeva se temelji na njihovoj sposobnosti doniranja vodikovog atoma slobodnim radikalima (Asif, 2015). Primjer jedne biljke koja posjeduje navedene spojeve je origano. *Origanum vulgare* L. je tradicionalna ljekovita biljka koja se koristi za ublažavanje mnogobrojnih zdravstvenih problema zbog svoje antimikrobne, karminativne i antioksidacijske aktivnosti (de Torre i sur., 2020).

Cilj ovog rada je osmisliti recepturu za dječji funkcionalni proizvod te primijeniti netoplinску ekstrakciju i aditivnu tehniku za dobivanje gotovog proizvoda. Osim toga, potrebno je odrediti parametre teksture, dokazati funkcionalno djelovanje i provesti senzorsku analizu.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. Aditivne tehnologije/proizvodnje**

Aditivna proizvodnja trenutno predstavlja jednu od najviše obećavajućih i najinovativnijih tehnologija. Može se definirati kao proces sastavljanja materijala prilikom izrade proizvoda prema uputama 3D modela, obično sloj po sloj. Smatra se jednim od devet tehnoloških stupova od kojih je zasnovana Industrija 4.0 (Motyl i Filippi, 2020). Termin Industrija 4.0 predstavlja četvrtu industrijsku revoluciju koja je objašnjena kao nova razina organizacije i kontrole cijelog lanca vrijednosti proizvoda, a usmjerena je prema rastućim individualiziranim zahtjevima potrošača. Još uvijek je vizionarski koncept, ali i realistični te uključuje: internet stvari (*Internet of things*, IoT), industrijski internet stvari (*Industrial Internet of things*, IIoT), pametnu proizvodnju (*Smart Manufacturing*, SM) i računalstvo u oblaku (*Cloud-based Manufacturing*, CMB) (Horst i sur., 2018). Iako postoje neke sumnje oko njezine primjene u masovnoj proizvodnji, korištenje aditivne tehnologije u Industriji 4.0 je u porastu uslijed novih unaprijeđena. Aditivna tehnologija može biti put do zamjene konvencionalnih tehnika proizvodnje u bliskoj budućnosti jer je tehnologija u razvoju koja stvara precizne objekte s visokom brzinom proizvodnje (Horst i sur., 2018). Štoviše, Industrija 4.0 podupire integraciju inteligentnog sistema proizvodnje i napredne tehnologije informacija dok se aditivna proizvodnja smatra bitnim dijelom u ovom novom pokretu (Horst i sur., 2018).

Prehrambena industrija ostvaruje značajan napredak s aditivnom tehnologijom koja je otvorila nove inovativne puteve za printanje hrane. Dostupan je širok izbor materijala za printanje hrane i napredni softveri (Saheb i Kumar, 2020). Budućnost aditivne proizvodnje ili 3D printanja je preuzimanje tradicionalnog procesa proizvodnje jer može uštedjeti mnogo novca i vremena proizvodnje te smanjiti količinu otpada u usporedbi s tradicionalnim metodama. Također, može proizvoditi komplicirane oblike sa samo nekoliko pritisaka gumbova (Saheb i Kumar, 2020).

### **2.2. 3D printanje hrane**

3D printanje je metoda koja može izraditi trodimenzionalne objekte na temelju dodavanja materijala sloj po sloj. Proizvodi su proizvedeni na osnovu 3D modela ili drugih elektroničkih izvora podataka i u teoriji mogu biti napravljeni u bilo kojem obliku (Yang i sur., 2017). Korištenjem tehnologije 3D printanja, odgovarajući sastojci mogu biti pomiješani i obrađeni u najsloženije oblike i strukture koje je nemoguće napraviti ili nije ekonomično proizvesti tradicionalnim proizvodnim procesom. Ovi tipovi hrane mogu imati potpuno nove

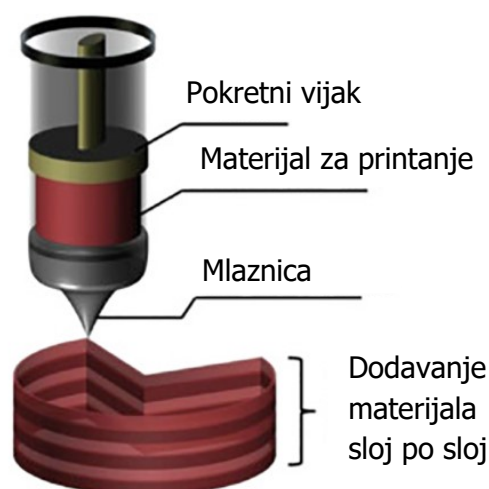


teksture i okuse koje je nezamislivo postići prilikom tradicionalnog postupka kuhanja (Yang i sur., 2017). Međutim, mogu postojati posebni i strogi zahtjevi za sastojke hrane koji su namijenjeni 3D printanju. Sastojci trebaju teći tijekom istiskivanja iz mlaznice i trebaju zadržati svoju strukturu nakon printanja. Stoga je važno razumijevanje staklenog prijelaza, geliranja, reologije i svojstava topljenja dok se karakteristike različitih sastojaka, otpornost na toplinu i svojstva kuhanja isprintanog materijala trebaju uzeti u obzir (Yang i sur., 2017). Istraživanja su pokazala da visine objekata mogu biti različite za različite materijale te da različiti materijali određuju različite visine ekstruzije. Promjer mlaznice je također vrlo kritičan jer mlaznica s premalim promjerom rezultira presporom brzinom ekstruzije, a mlaznica s prevelikim promjerom rezultira nepravilnom površinom prehrambenog proizvoda. Iz navedenoga se može zaključiti da je 3D printanje hrane daleko složenije nego kako izgleda (Yang i sur., 2017).

### 2.2.1. Metode 3D printanja hrane

Postoje četiri dostupne metode 3D printanja u prehrambenom sektoru i one su: printanje na bazi ekstruzije, printanje sa selektivnim laserskim sinteriranjem, printanje primjenom vezivnog sredstva i tintni ispis (Liu, 2017).

Primijenjena su tri mehanizma 3D printanja na bazi ekstruzije: ekstruzija na bazi vijaka, ekstruzija na bazi pritiska zraka i ekstruzija na bazi ubrizgivanja. Kod ekstruzije na bazi vijaka (slika 1), materijal za printanje se stavlja u dovod uzorka i prebacuje u mlaznicu pomoću pokretnog vijaka. Ova metoda nije prikladna za hranu visoke viskoznosti i velike mehaničke čvrstoće. Prilikom ekstruzije na bazi pritiska zraka se prehrambeni materijal, koji treba biti niske viskoznosti ili tekući, pritišće kroz mlaznicu pomoću tlaka zraka. Za ekstruziju na bazi ubrizgivanja su poželjni materijali visoke viskoznosti i velike mehaničke čvrstoće (Liu, 2017).



**Slika 1.** 3D printanje na bazi ekstruzije i vijaka (prema Pérez i sur., 2019)

Druga metoda 3D printanja je selektivno lasersko sinteriranje i ona koristi snagu lasera za selektivno spajanje čestica praha sloj po sloj do konačne 3D strukture. Pritom, svojstva materijala kao što su veličina čestice, tečnost, nasipna gustoća i vlažnost imaju značajan utjecaj na preciznost i točnost tako isprintanih proizvoda (Liu, 2017). Treća metoda printanja primjenjuje vezivno sredstvo na način da prilikom nanošenja materijala u prahu sloj po sloj, vezivno sredstvo se selektivno dodaje na vrh sloja svakog materijala na određenim područjima. Uslijed toga, dodani sloj vezivnog sredstva spaja prethodni i naknadni sloj praškastog materijala (Liu, 2017). Četvrta metoda printanja je tintni ispis; raspršivanje kapljice iz termalne ili piezoelektrične glave na određena područja površine prehrambenih proizvoda. Postoje dva tipa metode tintnog ispisa: kontinuirani mlazni ispis i ispis na zahtjev. Kod kontinuiranog mlaznog ispisa tinta se izbacuje kontinuirano kroz vibrirajući piezoelektrični kristal konstantne frekvencije, a kod ispisa na zahtjev tinta se izbacuje iz glave pod pritiskom koji se postiže pomoću ventila (Liu, 2017).

### **2.3. Sredstva za geliranje**

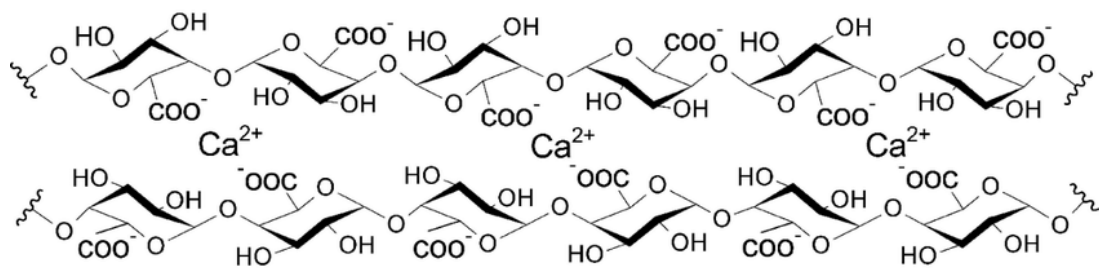
Materijal za printanje se treba lako ekstrudirati iz mlaznice printera, a isprintani proizvod treba zadržati svoju strukturu nakon printanja. Kako bi se osigurala potrebna svojstva materijala za printanje, u prehrambene proizvode se dodaju aditivi kao što su zgušnjivači i sredstva za geliranje (Pérez i sur., 2019).

#### **2.3.1. Pektin**

Pektin je polisaharid topljiv u vodi, a ekstrahira se iz staničnih stijenki biljaka. Molekule pektina imaju razgranate dijelove koji su građeni od  $\alpha$ -D-galakturonskih ostataka povezanih s 1→4 glikozidnim vezama i nerazgranate dijelove nogalakturonana I te ramnogalakturonana II koji sadrže monosaharide. Glavna komponenta pektina je galakturonska kiselina koja može biti djelomično metoksilirana ili amidirana. Pektin se prema stupnju metoksilacije dijeli u dvije grupe: visokometoksilirajući pektin sa stupnjem metoksilacije > 50 % i niskometoksilirajući pektin sa stupnjem metoksilacije < 50 % (Cao i sur., 2020).

Jedan od najvažnijih funkcionalnih svojstava pektina je geliranje ovisno o kalciju (Ca). Mehanizam geliranja je egg-box model (Slika 2) koji opisuje dva antiparalelna lanca poliuronida koji formiraju egg-box dimere s  $\text{Ca}^{2+}$  te međusobnim povezivanjem stvaraju polimere (Cao i sur., 2020). Osim utjecaja kemijske strukture, na mehanizam geliranja još utječu mnogi drugi čimbenici kao što su koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$ , način njegovog dodavanja, pH, ionska jakost, temperatura te druge komponente u otopini (Cao i sur., 2020). Pektin se ne može potpuno

otopiti ako se dodaje u vrlo velikim koncentracijama dok pri niskim koncentracijama ne gelira (Cao i sur., 2020). Na visokim temperaturama (otprilike većim od 80°C), molekule pektina se raspadaju na male fragmente koji formiraju kratke veze s  $\text{Ca}^{2+}$  što rezultira stvaranjem slabih gelova. Međutim, temperatura prelaska u gel stanje se povećava s povećanjem koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$ , a hlađenjem otopljene smjese se stabiliziraju elektrostatske interakcije i vodikove veze gel strukture (Cao i sur., 2020). Geliranje pektina inducirano kiselinom se postiže kada je pH ispod 3,5 dok Ca-inducirano geliranje je najefektivnije pri  $\text{pH} > 4,5$  kada su svi lanci potpuno nabijeni. Da bi se pojavila oba tipa geliranja, srednji raspon pH vrijednosti treba biti između pH 2 i 3.5. Također, pektin postaje potpuno neosjetljiv na prisutnost  $\text{Ca}^{2+}$  pri vrlo niskom pH (Capel i sur., 2006).



**Slika 2.** Shema modela egg-box (prema Gawkowska i sur., 2018)

### 2.3.2. Alginat

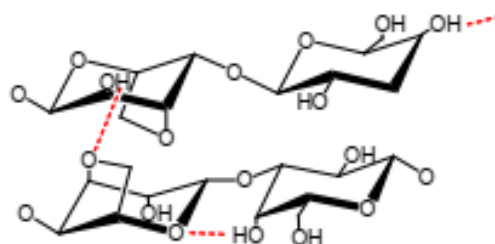
Alginat je polisaharid dobiven iz smeđih morskih algi ili nekih bakterija. Polimerni lanci alginata se sastoje od  $\beta$ -D-manuronske kiseline (ManA) i  $\alpha$ -L-guluronske kiseline (GulA) povezanih s 1→4 glikozidnim vezama. Relativna zastupljenost, raspodjela i kemijska modifikacija ManA i GulA jedinica može značajno utjecati na fizikalno-kemijska svojstva alginata. Štoviše, alginat koji je obogaćen sa GulA jedinicama pokazuje grubu molekulsku strukturu dok alginat sa zastupljenijim ManA jedinicama ima fleksibilnu strukturu. Udio i raspored GulA i ManA jedinica ovisi o vrsti morskih algi (Cao i sur., 2020).

Alginat je obično korišten u obliku hidrogela koji se može definirati kao trodimenzionalna umrežena struktura sačinjena od hidrofilnih polimera s visokim sadržajem vode (Lee i Mooney, 2012). Najčešća metoda pripreme hidrogela je miješanje vodene otopine alginata i otopine koja sadrži tvari za umrežavanje, a to su obično dvovalentni kationi. Jedan od najčešće korištenih tvari za ionsko umrežavanje alginata je kalcijev klorid ( $\text{CaCl}_2$ ), iako često uzrokuje brzo i nekontrolirano geliranje uslijed visoke topljivosti u vodenim otopinama (Lee i Mooney, 2012). Unatoč tom nedostatku, Ca-inducirano geliranje je jedan od najvažnijih

funkcionalnih svojstava alginata koja mu omogućuje široku primjenu u prehrambenoj industriji. Mehanizam geliranja je egg-box model kao i kod pektina, ali mnoga istraživanja su pokazala da se Ca-pektin gel i Ca-alginat gel različito povezuju prilikom formiranja egg-box dimera i zbog toga imaju različita svojstva gelova (Cao i sur., 2020). Na svojstva gela i proces geliranja utječe koncentracija alginata. Alginat dodan u niskoj koncentraciji teško formira stabilni gel zbog smanjene mogućnosti dolaska u kontakt s  $\text{Ca}^{2+}$  dok u visokoj koncentraciji može stvarati nakupine gelova bez Ca i time smanjiti učinak geliranja (Cao i sur., 2020). Osim koncentracije, značajan utjecaj na geliranje ima i temperatura o kojoj ovisi kemijska struktura alginata. Ca-alginat gelovi se mogu zagrijavati do određene temperature koja ne uzrokuje degradaciju molekula alginata (oko  $100^{\circ}\text{C}$ ), a formiranje stabilnog gela odvija se tijekom njegovog hlađenja (Cao i sur., 2020).

### 2.3.3. Agar

Agar predstavlja jaki gelirajući hidrokolooid koje se dobiva iz morskih algi. Kemijska struktura agara je karakterizirana s ponavljajućim jedinicama D-galaktoze i 3-6,anhidro-L-galaktoze, s nekoliko varijacija i malim sadržajem sulfatnih estera (Armisen i Gaiatas, 2009). Sastoji se od smjese agaroze i agaropektina u različitim omjerima ovisno o sirovom materijalu i načinu prerade (Armisen i Gaiatas, 2009). Agarozu je linearna, neutralna i može gelirati dok se agaropektin ne može gelirati i slabo je kiseo zbog prisutnosti ostataka glukuronske ili piruvatne kiseline te sulfatiranih estera (Holland i sur., 2018). Kao što je prikazano na slici 3, intramolekularne vodikove veze se pojavljuju između hidroksilnih skupina (OH-4) agaroze koje su aksijalno orijentirane prema  $\beta$ -D-galaktopiranozilu i susjednom poluacetalnom kisikovom atomu anhidro- $\alpha$ -L-galaktopiranozilnog ostatka (Tako i sur., 2014).



**Slika 3.** Mehanizam geliranja agaroze (agara). Crvene točke predstavljaju vodikove veze (prema Tako i sur., 2014)

Sjajna moć geliranja agara je isključivo temeljena na vodikovim vezama koje se formiraju između linearnih lanaca galaktana i omogućuju reverzibilnost pri temperaturama

otapanja i geliranja (Armisen i Gaiatas, 2009). Važno svojstvo agarovog gela, koje potječe od sadržaja agaroze, je vrlo visoka histereza geliranja. Histereza geliranja je temperaturna razlika između temperature geliranja koja iznosi oko 38°C i temperature otapanja agara koja iznosi oko 85°C. Drugi čimbenik koji se uzima u obzir prilikom pripreme gela je i koncentracija agara, a ona se obično kreće između 0,5% i 2% (Armisen i Gaiatas, 2009). Agar se upotrebljava uglavnom zbog velike moći geliranja, visoke histereze i savršene reverzibilnosti gela. Bezokusan je i ne može se osjetiti u namirnicama blagog okusa što je prednost u odnosu na sredstva za geliranje koji zahtijevaju prisutnosti kationa za geliranje i zbog toga se trebaju dodavati u prehrambene proizvode intenzivnih aroma kako bi maskirali specifične arome kationa (Armisen i Gaiatas, 2009).

## **2.4. Netoplinske tehnike obrade hrane**

Povećano zanimanje potrošača za visoko kvalitetnu hranu s većom nutritivnom vrijednošću i sa svježim senzorskim osobinama dovelo je do razvoja netoplinskih tehnika obrade hrane kao alternativa konvencionalnim toplinskim tehnikama obrade hrane (Stoica i sur., 2013). Među novim netoplinskim tehnologijama ubrajaju se visoki hidrostatski tlak (*High Hydrostatic Pressure, HHP*), pulsirajuća električna polja (*Pulsed Electric Fields, PEF*), visokonaponsko električno pražnjenje (*High Voltage Electrical Discharge, HVED*) i hladna plazma (*Cold Plasma, CP*). HHP služi kod konzerviranja hrane te štiti senzorska svojstva prehrambenih proizvoda uz minimalni gubitak kvalitete. PEF se komercijalno primjenjuje prilikom konzerviranja tekuće hrane, a prethodi procesima kao što su sušenje i ekstrakcija. HVED se može koristiti za inaktivaciju mikroorganizama tijekom pasterizacije tekućina tako što tijekom brzo postignutog električnog pražnjenja generira intenzivne valove i elektrolizu. Za ubijanje mikroorganizama može se koristiti i metoda CP koja ne zahtjeva ekstremne procesne uvjete (Stoica i sur., 2013).

### **2.4.1. Visokonaponsko električno pražnjenje (HVED)**

Ekstrakcija pomoću HVED-a je netoplinska i brza tehnika primjenjiva kod dekontaminacije hrane, obrade otpada i ekstrakcije bioaktivnih komponenata. To je proces koji oslobađa energiju između dvije elektrode uronjene u tekući medij što dovodi do poremećaja organskih stanica i pojačane ekstrakcije različitih spojeva. Pritom, električno pražnjenje uzrokuje formiranje električki nabijenih spojeva (iona, slobodnih radikala) što inducira kemijske promijene tretiranog materijala. Ako se prilikom HVED ekstrakcije koriste plinovi kao što su dušik (N<sub>2</sub>), ugljikov dioksid (CO<sub>2</sub>) ili argon (Ar), generirati će se plazma (Grgić i sur., 2021). Točnije, prilikom puštanja plina u reaktor dolazi do njegove ionizacije te se formira hladna

plazma. Ovaj fenomen utječe na biljnu stanicu te rezultira njezinim raspadanjem. To je proces u kojem električno polje povećava permeabilnost stanične membrane pri čemu se stvaraju pore na membrani i poboljšava se otpuštanje unutarstaničnih komponenata (Nutrizio i sur., 2020). Kao netopljinska tehnika, HVED ekstrakcija može ekstrahirati bioaktivne spojeve pri umjerenim temperaturama, a povišenje temperature nakon ekstrakcije je malo uslijed čega se može spriječiti termička degradacija ciljanih bioaktivnih komponenata (Li i sur., 2019).

## 2.5. Origano

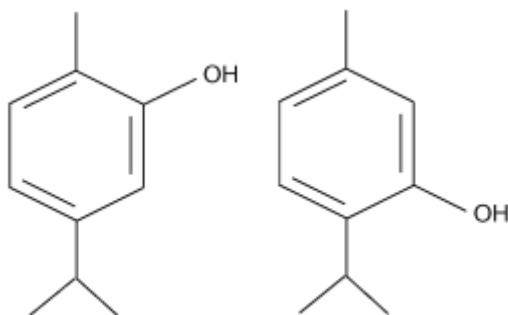
Origano (Slika 4) je diljem svijeta poznat kao začín zbog svog specifičnog okusa i arome. Osim što se koristi kao začín, prehrambena industrija ga upotrebljava i u obliku ulja i smole u hrani i napitcima (Kintzios, 2012). Biljka origano (*Origanum vulgare* L.) pripada porodici usnača (*Lamiaceae*) te potječe s Mediterana i usko je povezana s mažuranom. Smatra se višegodišnjom biljkom s puzavim korijenjem, razgranatom drvenastom stabljikom i dlakavim listovima koji se nalaze na peteljka. Na listovima se nalaze male žlijezde koje sadrže hlapljiva ili esencijalna ulja te daju biljki specifičnu aromu i okus (Kintzios, 2012). Svijetlo ružičasti cvjetovi su složeni u četverobridne čaške koje zajednički oblikuju metličaste cvatove (Grlić, 1990). Zbog svojih aromatičnih i ljekovitih svojstava origano se često koristi u tradicionalnoj medicini i smatra se da eterično ulje origana, ili mravinca kako se još naziva, ima jako antiseptičko djelovanje (Grlić, 1990).



**Slika 4.** *Origanum vulgare* L. (Anonymous 1)

Kemijske sastavnice izolirane iz origana uglavnom se odnose na hlapljiva ulja oštrog mirisa koja su u osnovi sastavljena od terpena, ali se razlikuju ovisno o vrsti genotipa. Origano je bogat fenolnim monoterpenima kao što su karvakrol i timol, čija je kemijska struktura prikazana na slici 5. Slični kemijski spojevi su  $\gamma$ -terpinen, p-cimen, timokinon, timohidrokinon,

metilni eteri timola i karvakrola te acetati timola i karvakrola kao što su p-cimennen, p-cimen-8-ol, p-cimen-7-ol. Druge kemijske grupe koje su često identificirane u origanu su aciklični monoterpeni u koje ubrajamo geraniol, geranil acetat, linalol, linalil acetat i  $\beta$ -mircen. Dalje, od spojeva tipa bornan nalaze se kamfen, kamfor, borneol, bornil i izobornil acetat. U eteričnom ulju origana nalaze se i sekviterpeni kao što su  $\beta$ -bisabolen,  $\beta$ -burbonen,  $\alpha$ -kardinol, germakren-D-4-ol i drugi (Kintzios, 2012).



**Slika 5.** Kemijska struktura timola (lijevo) i karvakrola (desno) (prema Kintzios, 2012)

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### **3.1. Materijali**

##### **3.1.1 Pribor i aparatura**

- staklena čaša (50 mL, 100 mL)
- stakleni lijevak
- odmjerne tikvice (10 mL, 25 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL)
- filter papir
- staklene epruvete
- staklene/kvarcne kivete
- mikropipete (100  $\mu$ L, 300  $\mu$ L, 500  $\mu$ L, 1 mL, 10 mL)
- analitička vaga - NBL-254i, Adam Equipment, Kingstone, Velika Britanija
- magnetska mješalica s grijačem - Dlab MS-H-S, Peking, Kina
- termometar
- 3D printer - Focus v1.0, ByFlow, Edinhoven, Nizozemska
- centrifuga - Rotina 35, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Njemačka
- UV/VIS spektrofotometar - Lambda 25, PerkinElmer Waltham, SAD
- HVED generator - IMS-SSPG-1200, Impel grupa, Zagreb, Hrvatska
- teksturometar - TA.HDPlus, Stable Micro Systems, Godalming, Velika Britanija

##### **3.1.2. Kemikalije**

- biljni materijal : origano - Suban, Samobor, Hrvatska
- agar - Biolife, Milano, Italija
- pektin - Fisher Chemical, Loughborough, Ujedinjeno Kraljevstvo
- natrijev alginat - Sigma-Aldrich, Darmstadt, Njemačka
- kalcijev klorid - Lach-Ner, Neratovice, Republika Češka
- limunska kiselina - Šafran, Turanovac, Hrvatska
- šećer - Viro, Osijek, Hrvatska
- Folin-Ciocalteu reagens - Kemika, Zagreb, Hrvatska
- natrijev karbonat - T.T.T., Sveta Nedelja, Hrvatska
- galna kiselina - Acros organics, Geel, Belgija
- metanol - T.T.T., Sveta Nedelja, Hrvatska
- 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal (DPPH) - abcr, Karlsruhe, Njemačka



- 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina (Trolox) - Acros organics, Geel, Belgija

## 3.2. Metode

### 3.2.1. Ekstrakcija visokonaponskim električnim pražnjenjem (HVED)

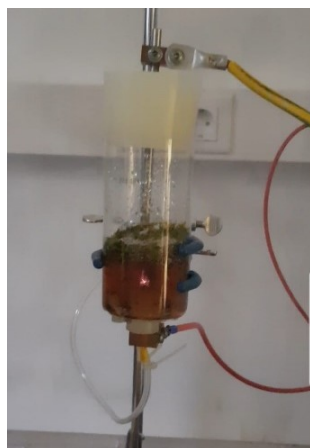
Kako bi se provela što kvalitetnija ekstrakcija bioaktivnih spojeva origana, korištena je netopljinska tehnika HVED. Također, HVED je korišten i jer je vrijeme ekstrakcije kratko, a učinkovitost ekstrakcije postiže se pri niskim temperaturama. Ekstrakcija uzorka origana provedena je u plazma generatoru IMP-SSPG-1200 (Impel grupa, Zagreb, Hrvatska), a parametri ekstrakcije određeni su prethodnim istraživanjima te su prikazani u tablici 1.

Napon od 25 kV uz dušik kao plin je odabran jer je važno imati značajni napon kako bi se postiglo električno pražnjenje. Štoviše, do pražnjenja neće doći ako je napon premali. Tijekom određivanja parametara, uočeno je da temperatura ne prelazi 30°C prilikom ekstrakcije uzoraka u periodu od 9 minuta (Žuntar i sur., 2019). Za HVED ekstrakciju se koristi voda koja predstavlja jeftino i ekološki prihvaćeno zeleno otapalo te odličnu zamjenu za toksična organska otapala (Nutrizio i sur., 2020).

**Tablica 1.** Parametri ekstrakcije visokonaponskim pražnjenjem

Vrijeme tretiranja	9 min
Plin	N <sub>2</sub>
Razmak između elektroda	1,5 cm
Napon istosmjerne struje	25 kV
Frekvencija	100 Hz
Jakost struje	20 mA
Puls	0,4 μS
Snaga	62 ± 4 W

Izvaže se 2,00 g origana i pomiješa se s 100 mL destilirane vode. Tako pripremljeni uzorak podvrgava se procesu HVED (Slika 6). Prije početka ekstrakcije namjeste se odgovarajući parametri za dobivanje ekstrakta. Dobiveni ekstrakt se profiltrira te se filtrat koristi za 3D printanje funkcionalnih bombona.

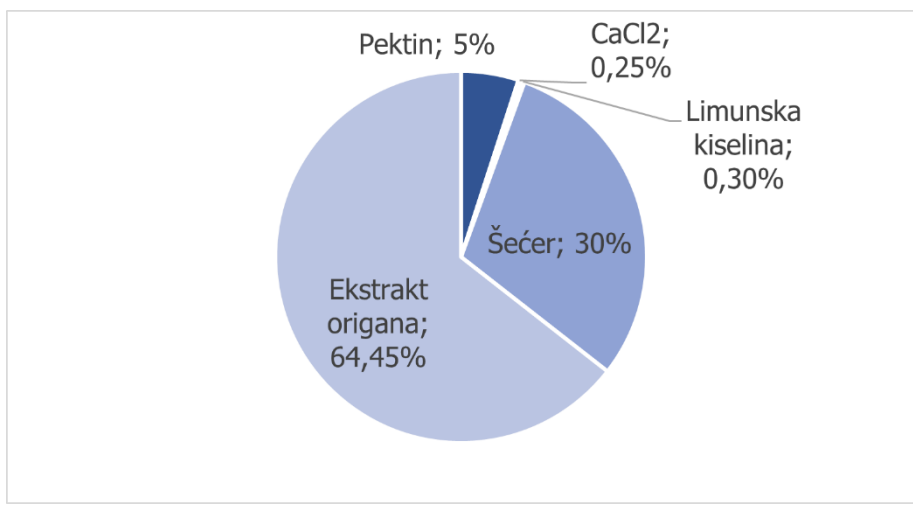


**Slika 6.** Visokonaponsko električno pražnjenje u suspenziji s origanom

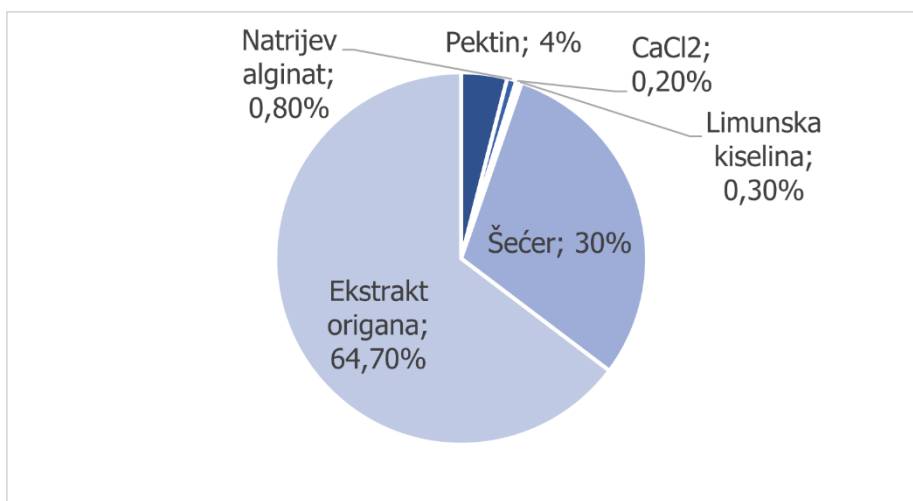
### **3.2.2. Razvoj recepture funkcionalnih bombona**

Tijekom razvoja recepture funkcionalnih bombona isprobane su različite kombinacije pojedinih komponenata, a optimalne recepture prikazane su na slikama 7 a-d. Pritom su korišteni konstantni udjeli šećera od 30% i limunske kiseline od 0,3% te konstantni omjer  $\text{CaCl}_2$  i pektina koji iznosi 0,05. Prema Vancuawenberghe i sur. (2017), dodatak  $\text{CaCl}_2$  otopini pektina je nužan kako bi se održala 3D struktura tijekom printanja, a smjesa za printanje mora biti u gel stanju koje se može kontrolirati namještanjem stehiometrijskog omjera koncentracija pektina i iona  $\text{Ca}^{2+}$ . Udio pektina u pojedinim funkcionalnim bombonima je 4% i 5%, agara 4% i 2%, a alginata 0,8%. Udjel ekstrakta origana varira kod različitih receptura, a ovisi o količini dodanog sredstva za geliranje.

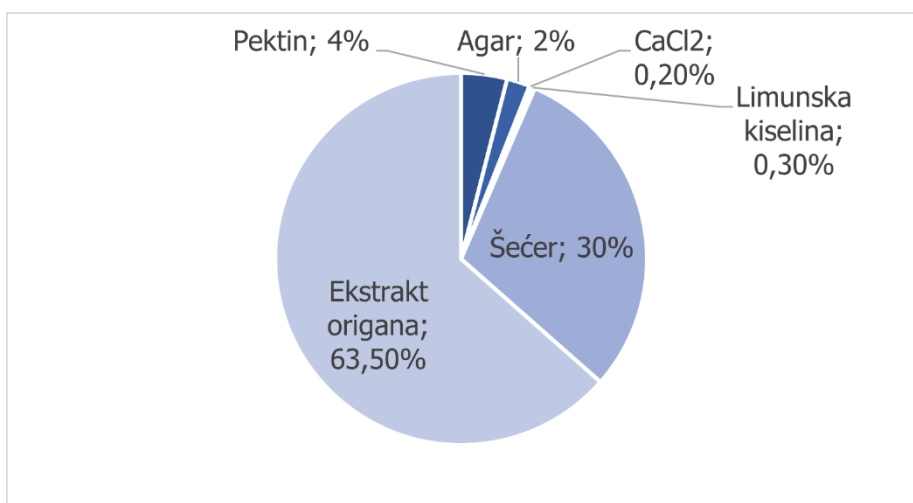
Receptura s pektinom, sa ili bez alginata, se polagano zagrijava do temperature od  $80^\circ\text{C}$  na magnetskoj miješalici. Kada se dostigne navedena temperatura i kada su svi sastojci potpuno otopljeni, dodaje se otopina  $\text{CaCl}_2$  kap po kap te se hidrokoloidna smjesa ostavi na hlađenje preko noći. Kod recepture s agarom, smjesa se zagrijava do  $85^\circ\text{C}$ , a spremna je za printanje kada joj temperature padne na oko  $40^\circ$ , ovisno o masi i volumenu smjese. Metoda pripreme smjese za printanje kod recepture s pektinom i agarom je kombinacija prethodnih metoda. Svi sastojci, osim otopine  $\text{CaCl}_2$  koja se dodaje pri  $80^\circ\text{C}$ , se zagrijavaju do  $85^\circ\text{C}$  te se smjesa ostavi na hlađenje do temperature od  $40^\circ\text{C}$ . Nakon što se postignu odgovarajuća temperatura i konzistencija, hidrokoloidni gelovi se prebacuju u dovod uzorka te se započinje s 3D printanjem funkcionalnih bombona.



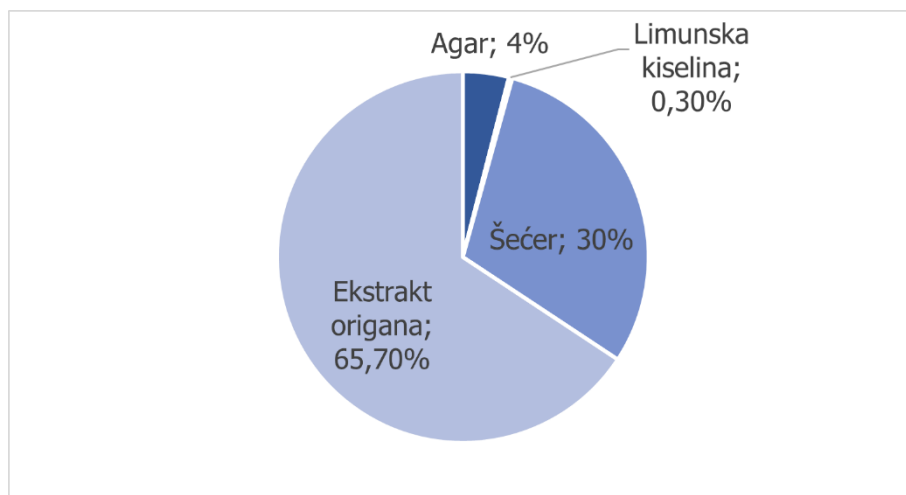
**Slika 7a.** Udjeli pojedinih komponenata u funkcionalnim bombonima s pektinom



**Slika 7b.** Udjeli pojedinih komponenata u funkcionalnim bombonima s pektinom i natrijevim alginatom



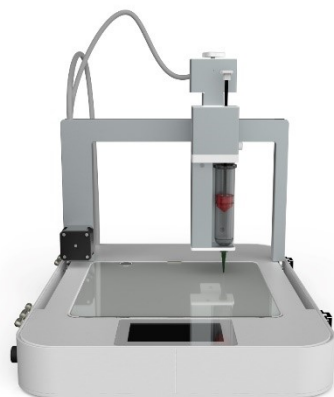
**Slika 7c.** Udjeli pojedinih komponenata u funkcionalnim bombonima s pektinom i agarom



**Slika 7d.** Udjeli pojedinih komponenata u funkcionalnim bombonima s agarom

### 3.2.3. 3D printanje funkcionalnih bombona

Funkcionalni bomboni printani su na uređaju Focus 3D Food Printer (ByFlow, Eindhoven, Nizozemska) (Slika 8). Navedeni 3D printer koristi se za printanje hrane na principu ekstruzije, a sadrži dovod uzroka (ekstruder) na koji se mogu staviti mlaznice različitih promjera.



**Slika 8.** Focus 3D Food Printer (ByFlow)

Model funkcionalnih bombona dizajniran je u programu za 3D modeliranje OnShape. Nakon toga je prebačen u program Slic3r gdje je 3D model preoblikovan u .gcode. Osim prebacivanja u potreban oblik, u Slic3r-u su namješteni i odabrani parametri za 3D printanje funkcionalnih bombona. Brzina ispisa je 90, brzina ekstruzije je 65, a promjer mlaznice iznosi 0,8 mm. S druge strane, širina (22,5 mm), dužina (30 mm), duljina luka na vrhu elipse (3,2 mm) te visina (3,2 mm + 1,6 mm) modela namješteni su prilikom modeliranja.

Nakon što su na računalu učinjene sve potrebne radnje, na printer se stavlja ekstruder s prethodno pripremljenom smjesom, namještaju se potrebni parametri, ekstrudira se i započinje s 3D printanjem funkcionalnih bombona.

### 3.2.4. Tekstura

Analiza teksture, odnosno ispitivanje pritiska uzorka, određena je pomoću TA.HDPlus analizatora teksture (Stable Micro Systems, Godalming). Analiza je provedena u 2 paralele na sobnoj temperaturi. Parametri za određivanje teksture uzoraka pojedinih funkcionalnih bombona prikazani su u tablici 2.

**Tablica 2.** Parametri za određivanje strukture pojedinih funkcionalnih bombona

PARAMETRI ANALIZE/UZORAK	Funkcionalni bombon s agarom/pektinom i agarom	Funkcionalni bombon s alginateom/pektinom i alginateom
Promjer sonde (mm)	5	5
Opterećenje ćelije (kg)	5	5
Brzina prodiranja (mm/s)	1	1
Brzina testa (mm/s)	0,5	0,5
Razmak (mm)	5	3
Snaga (trigger force) (g)	10	0,9

### 3.2.5. Određivanje udjela ukupnih polifenola

Pod fenole ubrajamo jednostavne fenole, fenolne kiseline (derivati benzojeve i cimetine kiseline), kumarine, stilbene te hidrolizirane i kondenzirane tanine, lignane i lignine. Ovi spojevi pripadaju najraširenijim sekundarnim metabolitima biljnog carstva te uglavnom služe za privlačenje oprašivača, ali i kao zaštitni te antioksidativni spojevi, a pritom doprinose biljnoj pigmentaciji (Blainski i sur., 2013).

Kolorimetrijska reakcija se koristi u UV/VIS spektrofotometrijskoj metodi koja je jednostavna za izvođenje, jeftina i primjenjiva u rutinskim laboratorijskim analizama. Ova metoda mjeri ukupnu koncentraciju fenolnih hidroksilnih grupa biljnog ekstrakta, a za to joj je potrebna referentna tvar. Pritom, polifenoli iz biljnog ekstrakta reagiraju sa specifičnim redoks reagensom (Folin-Ciocalteu reagens) te se formira plavo obojeni kompleks koji se može spektrofotometrijski kvantificirati u vidljivom dijelu spektra. Plavo obojeni kromofor sastoji se

od fosfovolframovog i fosfomolibdenovog kompleksa, a maksimum apsorpcije kromofora ovisi o alkalnoj otopini i koncentraciji fenolnih spojeva (Blainski i sur., 2013).

### Postupak određivanja

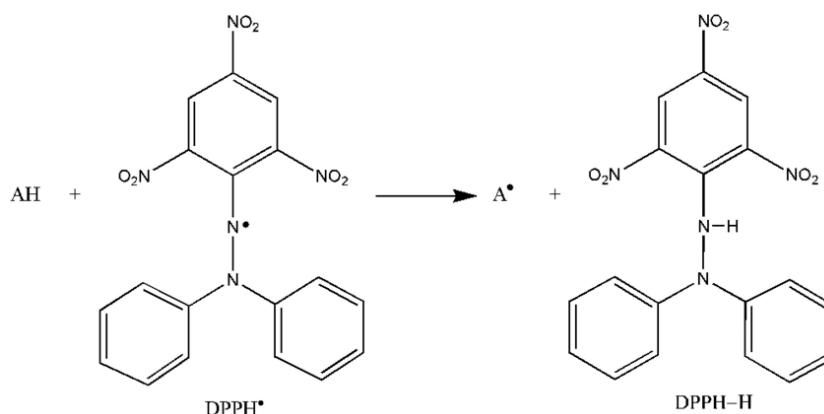
U epruvetu se pipetira 0,1 mL uzorka, 7,9 mL destilirane vode, 0,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa te 1,5 mL 20%-tne otopine natrijeva karbonata ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Sadržaj tikvice se dobro promiješa na vortex-u te se tako pripremljeni uzorci ostave stajati 2 sata na sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbanacija razvijenog plavog obojenja na 765 nm, u odnosu na slijepu probu. Slijepa proba priprema se na isti način kao i ispitivani uzorci s time da se umjesto uzorka u reakcijsku smjesu dodaje jednaki volumen destilirane vode.

### Izrada baždarnog pravca

Iz osnovne otopine standarda galne kiseline koncentracije  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , u odmjerne tikvice od 50 mL pripreme se sljedeća razrjeđenja: 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600 i  $800 \text{ mg L}^{-1}$ . Ponovi se prethodno opisani postupak, a umjesto uzorka u reakcijsku smjesu dodaje se 0,1 mL pripremljenih razrjeđenja galne kiseline.

### 3.2.6. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

Molekula 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) karakterizirana je kao stabilni slobodni radikal, a svoj slobodni elektron delokalizira preko cijele molekule tako da se molekule ne mogu dimerizirati. Kada se otopina DPPH miješa s tvari koja može donirati vodikov atom, molekula DPPH se reducira primajući vodikov atom te dolazi to promjene ljubičaste boje u žutu (Molyneux, 2014). Redukcijska sposobnost antioksidansa prema DPPH radikalima može se mjeriti promjenom apsorbanacije u vidljivom dijelu spektra (515 nm) kada se formira hidrazil  $\text{DPPH}_2$  što dovodi do žutog obojenja (Pyrzynska i Pełal, 2013) (slika 9).



**Slika 9.** Mehanizam reakcije DPPH radikala s antioksidantom (Pyrzynska i Pełal, 2013)

## **Postupak određivanja**

Pripremi se 0,094 mM otopina DPPH u metanolu. U epruvetu se otpipetira 100 µL uzorka i doda 3,9 mL 0,094 mM otopine DPPH te se vorteksira. Reakcija se odvija 30 minuta u mraku nakon čega se mjeri apsorbancija pri 515 nm u odnosu na slijepu probu koja umjesto uzorka sadrži metanol.

## **Izrada baždarnog pravca**

Iz osnovne otopine standarda Trolox-a koncentracije 1 mM, u odmjerne tikvice od 50 mL pripreme se sljedeća razrjeđenja: 0,1 mM, 0,25 mM, 0,5 mM i 0,75 mM. Ponovi se prethodno opisani postupak reakcije s DPPH radikalom, a umjesto uzorka u reakcijsku smjesu se dodaje 100 µL pripremljenih razrjeđenja standarda Trolox-a.

### **3.2.7. Senzorska analiza funkcionalnih bombona**

Senzorska analiza je znanstvena metoda koja dočarava, mjeri, analizira i objašnjava odgovore na pitanja o proizvodu percipirajući ih preko osjeta vida, mirisa, dodira, okusa i sluha (Lawless i Heymann, 2010). Deskriptivna senzorska analiza je sofisticirani alat kojeg koriste senzorski znanstvenici. Ove tehnike omogućuju znanstvenicima potpune odgovore na senzorske karakteristike proizvoda kako bi identificirali osnovne sastojke, procesirali varijable i odlučili koje senzorske osobine su važne za prihvaćanje. Pritom, osnovna deskriptivna analiza ima između 8 i 12 panelista (Lawless i Heymann, 2010) koji ocjenjuju specifične osobine proizvoda kako bi se dobila prosječna ocjena svih panelista za određeni proizvod (Rossi, 2001).

Za senzorsku analizu 3D printanih funkcionalnih bombona korišten je deskriptivni test čija obrada rezultata omogućuje grafički prikaz pomoću paukove mreže (spider chart). Senzorska analiza provedena je pomoću 14 panelista koji su bodovali dobivene uzorke funkcionalnih bodova na osnovu izgleda, boje, teksture, okusa i otapanja u ustima. Maksimalan broj bodova za svako svojstvo je 4, a uz ocjene 0-4 napisana su objašnjenja kako je prikazano u tablici 3. Panelisti su upisivali svoje ocjene na listiću za ocjenjivanje (tablica 4) gdje se nalaze i dodatna pitanja vezana uz funkcionalni proizvod namijenjen djeci. Oznake uzoraka i objašnjenje oznaka prikazani su u tablici 5.

**Tablica 3.** Tablica ocjena i svojstva s objašnjenjima za senzorsku analizu

SVOJSTVA	MAKSIMALAN BROJ BODOVA	OCJENA	
IZGLED	4	4	odličan, jasno se vide isprintani detalji, privlačan djeci
		3	dobar, detalji su pravilno isprintani
		2	loš, detalji se nejasno vide
		0-1	neprihvatljiv, detalji se ne vide, previše mjehurića
BOJA	4	4	odlična, prirodna i privlačna djeci
		3	dobra, karakteristična proizvodu
		2	pretamna, presvijetla
		0-1	neprihvatljiva, odbojna
TEKSTURA	4	4	odlična, čvrsti i elastični hidrokoloidni gel
		3	dobra, elastični, ali nedovoljno čvrsti hidrokoloidni gel
		2	loša, mekana tekstura
		0-1	neprihvatljiva, premekano
OKUS	4	4	odličan, jasno se osjeti aroma ekstrakta biljke, optimalan udio šećera
		3	dobar, slabije izražena aroma ekstrakta biljke, slatkoća više izražena
		2	loš, prisutne arome nekarakteristične za proizvod, dominira slatkoća
		0-1	neprihvatljiv, nejestivo, preslatko
OTAPANJE U USTIMA	4	4	odlično, lako se otapa u ustima
		3	dobro se otapa u ustima
		2	loše, potrebno duže vremena da se otopi
		0-1	neprihvatljivo, previše gumensto
UKUPNO	20		



**Tablica 4.** Listić za ocjenjivanje

Uzorak	IZGLED	BOJA	TEKSTURA	OKUS	OTAPANJE U USTIMA
110					
51					
705					
189					
Smatrate li da je proizvod prikladan za djecu?					
Što mislite, od koje je biljke korišten ekstrakt za printanje proizvoda?					

**Tablica 5.** Oznaka uzorka i objašnjenje oznake za senzorsku analizu

OZNAKA UZORKA	OBJAŠNJENJE
110	Funkcionalni bombon s pektinom i alginatom
51	Funkcionalni bombon s pektinom
705	Funkcionalni bombon s agarom
189	Funkcionalni bombon s pektinom i agarom

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Analiza teksture 3D printanih funkcionalnih bombona

Rezultati analize teksture pojedinih funkcionalnih bombona prikazani su u tablici 6. Određeni su tvrdoća, elastičnost i rad potreban za žvakanje. Tvrdoća je sila potrebna za sabijanje uzroka između sonde i podloge, a elastičnost je udaljenost putovanja sonde do točke loma svakog uzorka (Bourne, 2002; Belščak-Cvitanović sur., 2015).

**Tablica 6.** Rezultati analize teksture pojedinih funkcionalnih bombona

UZORAK	TVRDOĆA (N)	ELASTIČNOST (mm)	RAD (mJ)
FB s pektinom i agarom	0,597±0,024	4,969±0,023	370,111±13,998
FB s agarom	2,685±0,040	4,506±0,057	1172,185±169,735
FB s pektinom	0,140±0,002	2,864±0,118	39,289±29,621
FB s pektinom i alginatom	0,052±0,006	2,902±0,019	17,840±0,908

\* FB – funkcionalni bombon

Najveću tvrdoću od 2,685±0,040 N i rad od 1172,185±169,735 mJ imaju uzorci funkcionalnih bombona s agarom dok uzorci funkcionalnih bombona s pektinom i agarom ima najveću elastičnost koja iznosi 4,969±0,023 mm. S druge strane, najmanju tvrdoću od 0,052±0,006 N i rad od 17,840±0,908 mJ imaju uzorci funkcionalnih bombona s pektinom i alginatom, a najmanju elastičnost koja iznosi 2,864±0,118 mm imaju uzorci funkcionalnih bombona s pektinom.

Dobiveni rezultati analize funkcionalnih bombona pokazuju proporcionalan odnos tvrdoće i rada potrebnog za žvakanje dok elastičnost ne pokazuje korelaciju s drugim parametrima teksture. Uočena je promjena pojedinih parametara teksture kod uzoraka funkcionalnih bombona s pektinom sa ili bez alginata te sa ili bez agara, odnosno utjecaj sredstva za geliranje na tvrdoću, elastičnost i rad. Naime, dodatkom alginata smanjuje se tvrdoća i rad dok se elastičnost neznatno povećava, a dodatkom agara vidljivo se povećavaju svi određeni parametri teksture. Ova promjena može se povezati i s rezultatima analize uzoraka funkcionalnih bombona samo s agarom kao gelirajućim sredstvom. Kao što je već spomenuto, ti uzorci imaju najveće vrijednosti tvrdoće i rada, ali imaju manju vrijednost elastičnosti od uzoraka funkcionalnih bombona s pektinom i agarom. Navedena opažanja mogu ići u korist razvoja funkcionalnih bombona s pektinom i agarom s obzirom da im jedno gelirajuće sredstvo daje poželjne veće vrijednosti tvrdoće i rada dok drugo gelirajuće sredstvo daje niže vrijednosti elastičnosti.

## 4.2. Udio ukupnih polifenola i antioksidacijski kapacitet

Rezultati određivanja prosječnog udjela polifenola i prosječnog antioksidacijskog kapaciteta u uzorcima funkcionalnih bombona s različitim sredstvima za geliranje i u uzorku ekstraktu origana prikazani su u tablici 7.

**Tablica 7.** Rezultati određivanja udjela ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta u pojedinim funkcionalnim bombonima i ekstraktu origana

UZORAK	PROSJEČNI UDIO POLIFENOLA (mg EGK/g)	PROSJEČNI ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET ( $\mu$ mol ET/g)
FB s pektinom i agarom	1,166 $\pm$ 0,023	8,025 $\pm$ 0,275
FB s agarom	1,276 $\pm$ 0,015	9,583 $\pm$ 0,122
FB s pektinom	0,660 $\pm$ 0,008	5,092 $\pm$ 0,075
FB s pektinom i alginatom	0,942 $\pm$ 0,044	8,009 $\pm$ 0,074
Ekstrakt origana	82,570 $\pm$ 2,144	384,930 $\pm$ 0,558

\* FB - funkcionalni bombon, ET - ekvivalent Trolox-a, EGK – ekvivalenti galne kiseline ; rezultati za funkcionalne bombone su izraženi prema 1 g gela, a rezultati za ekstrakt origana prema 1 g biljnog materijala

Prema Nutrizio i sur. (2020), ekstrakt origana pokazuje jaka antioksidacijska svojstva koja se povezuju s bioaktivnima spojevima origana od kojih su najzastupljeniji fenoli i flavonoidi. Štoviše, primjenom HVED-a postiže se obnova polifenola iz biljnog materijala. Usporedno s konvencionalnom ekstrakcijom uzoraka origana, HVED pokazuje 0,9 do 6,5 puta veću učinkovitost s obzirom na udio ukupnih polifenola. Pritom su korišteni isti uvjeti ekstrakcije (Nutrizio i sur., 2020). Parametri HVED ekstrakcije za pripremu ekstrakta origana bazirani su na radu Nutrizio i sur. (2020) prema kojem svi HVED ekstrakti imaju veći antioksidacijski kapacitet od ekstrakata dobivenih konvencionalnom ekstrakcijom. Također, u navedenom radu su određeni optimalni uvjeti ekstrakcije koji su korišteni za ovo istraživanje.

Dobiveni rezultati pokazuju proporcionalan odnos udjela polifenola i antioksidacijskog kapaciteta ispitivanih uzoraka. Točnije, što je veći prosječni udio polifenola, veći je i prosječni antioksidacijski kapacitet. Prosječni udio polifenola u ekstraktu origana iznosi 82,570 $\pm$ 2,144 mg EGK/g, a prosječni antioksidacijski kapacitet iznosi 384,930 $\pm$ 0,558  $\mu$ mol ET/g. Zbog manjeg udjela ekstrakta, toplinske prerade smjese za 3D printanje i uslijed degradacije dijela polifenola tijekom čuvanja do analize dobivene su znatno manje vrijednosti ukupnog udjela polifenola i antioksidacijskog kapaciteta kod pojedinih uzoraka funkcionalnih bombona. Najmanji prosječni udio ukupnih polifenola (0,660 $\pm$ 0,008 mg EGK/g) i najmanji prosječni antioksidacijski

kapacitet ( $5,092 \pm 0,075 \mu\text{mol ET/g}$ ) ima uzorak funkcionalnog bombona s pektinom, a najveći prosječni udio ukupnih polifenola ( $1,276 \pm 0,015 \text{ mg EGK/g}$ ) i najveći prosječni antioksidacijski kapacitet ( $9,583 \pm 0,122 \mu\text{mol ET/g}$ ) ima uzorak funkcionalnog bombona s agarom. Uočeno je da uzorak s najvećim udjelom ekstrakta origana u svom sastavu ima i najveće izmjerene vrijednosti polifenola i antioksidacijskog kapaciteta. Dakle, dobivene vrijednosti udjela ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta razlikuju se kod pojedinih funkcionalnih bombona uslijed različitih udjela ekstrakta origana i različitih metoda dobivanja materijala za 3D printanje funkcionalnih proizvoda.

### 4.3. Senzorska analiza 3D printanih funkcionalnih bombona

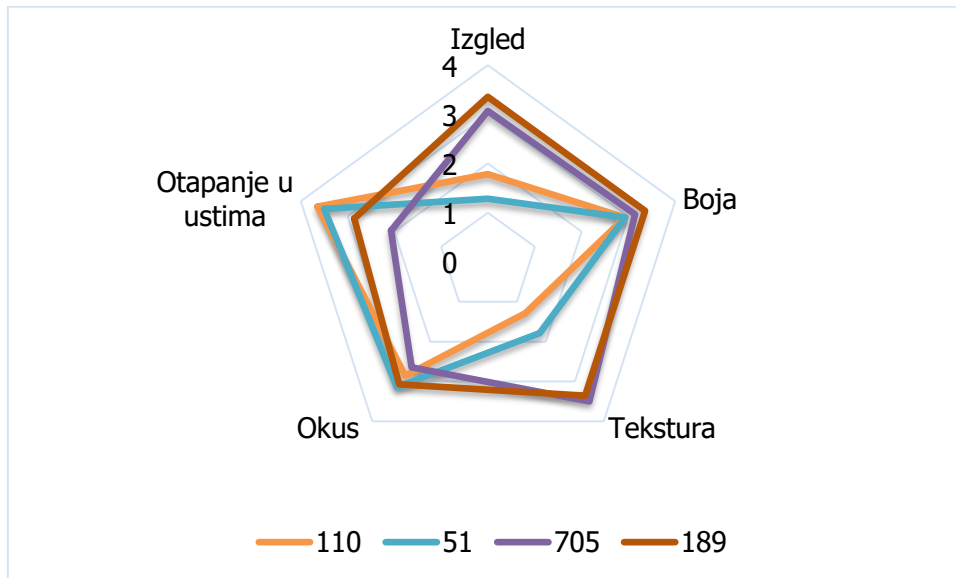
Senzorska analiza provedena je s ciljem utvrđivanja najprihvatljivijeg funkcionalnog proizvoda za djecu koji predstavlja 3D printani funkcionalni bombon od ekstrakta origana s određenim sredstvom za geliranje. U senzorskoj analizi sudjelovalo je 14 panelista koji su ispunjavali odgovore na listiću za ocjenjivanje te bodovali pojedine uzorke na osnovu 5 parametara, a to su izgled, boja, tekstura, okus i otapanje u ustima.

Prilikom obrade rezultata senzorske analize utvrđeno je da gotovo svi panelisti smatraju da je proizvod prikladan za djecu dok niti jedan panelist nije utvrdio od koje je biljke korišten ekstrakt za printanje proizvoda. Rezultati odgovora na listiću za ocjenjivanje prikazani su u tablici 8.

**Tablica 8.** Odgovori na listiću za ocjenjivanje

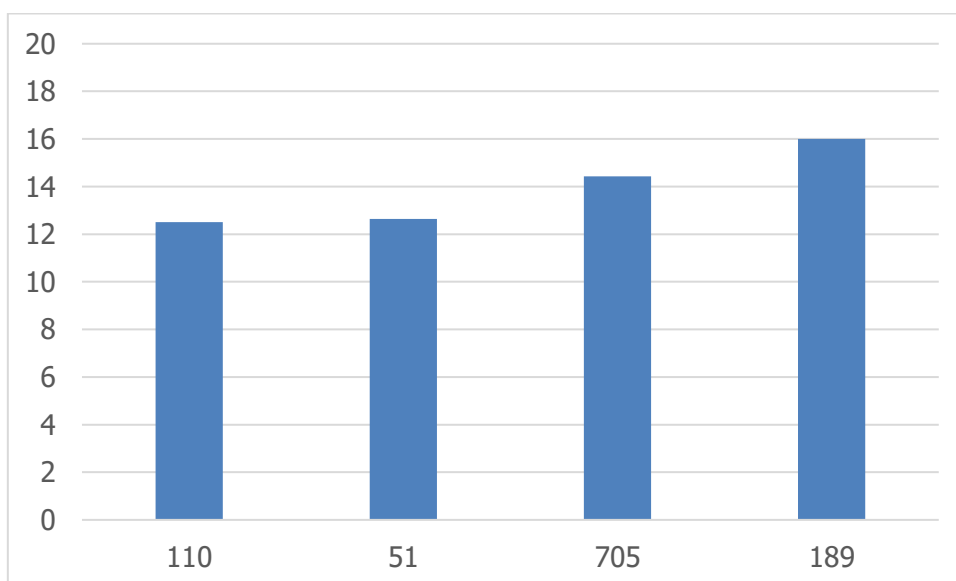
PITANJE	ODGOVOR	BROJ PANELISTA
Smatrate li da je proizvod prikladan za djecu?	Da	11
	Ne, prebrzo se otapaju u ruci i zrnatog su okusa, ni slatko ni gorko	1
	Da (705,189), ne (110,51)	1
	Da, ali ne u pretjeranim količinama	1
Što mislite, od koje je biljke korišten ekstrakt za printanje proizvoda?	Kadulja	4
	Ružmarin	1
	Mediterransko bilje	1
	Zeleni čaj	1
	Breskva	1

Rezultati senzorske analize, odnosno prosječni bodovi svakog ispitivanog parametra grafički su prikazani na slici 10. Najviše bodova za izgled i boju dobio je funkcionalni bombon s pektinom i agarom. Funkcionalni bombon s agarom dobio je najviše bodova za teksturu, funkcionalni bombon s pektinom i alginatom dobio je najviše bodova za otapanje u ustima, a funkcionalni bombon s pektinom dobio je najviše bodova za okus.



**Slika 10.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize





Rezultati srednjih ukupnih ocjena panelista za pojedini uzorak funkcionalnog bombona grafički su prikazani na slici 11 gdje se jasno vidi da je najveću ukupnu ocjenu dobio funkcionalni bombon s pektinom i agarom.



**Slika 11.** Grafički prikaz rezultata srednjih ukupnih ocjena panelista

Dobiveni rezultati senzorske analize pokazuju dobru prihvaćenost 3D printanog funkcionalnog proizvoda među potencijalnim potrošačima. Prema odgovorima panelista, svi funkcionalni bomboni pokazuju dobar okus i boju dok su izgled i otapanje u ustima djelomično dobri, a ovise o primijenjenom sredstvu za geliranje kod pojedinih funkcionalnih bombona. Uz dodatni razvoj funkcionalnog proizvoda, 3D printani funkcionalni bomboni od origana imaju potencijalnu primjenu među djecom u svrhu zamjene tradicionalnih konditorskim proizvoda sa proizvodom koji svojim osobinama predstavlja zdravstvenu doprinos. Može se koristiti u kućanstvu, vrtićima ili školama te kao dodatno sredstvo za ublažavanje grlobolje, probavnih tegoba ili nekih drugim zdravstvenih tegoba za koje bioaktivni spojevi u organu mogu imati djelotvorno rješenje. Slike 3D printanih funkcionalnih bombona prikazani su u tablici 9.

**Tablica 9.** Slike 3D printanih funkcionalnih bombona

	
<p>3D printani funkcionalni bombon s pektinom i alginatom</p>	<p>3D printani funkcionalni bombon s pektinom</p>
	
<p>3D printani funkcionalni bombon s agarom</p>	<p>3D printani funkcionalni bombon s pektinom i agarom</p>

## 5. ZAKLJUČCI

Primjenom aditivne tehnike uspješno se može razviti funkcionalni dječji proizvod, od same ideje pa sve do dobivanja gotovog proizvoda na kojemu se mogu vršiti razne analize koje doprinose tržišnom prihvaćanju.

- Uspješno je razvijena receptura za 3D printani funkcionalni bombon primjenom različitih sredstava za geliranje, a to su pektin, agar i alginat.
- U recepturi je korišten ekstrakt origana koji je dobiven HVED ekstrakcijom, a njegove zdravstvene dobrobiti povezane su s bioaktivnim spojevima od kojih su najpoznatiji polifenoli čija je prisutnost dokazana i kvantitativno izmjerena.
- Uspješno je provedeno 3D printanje funkcionalnih bombona u personaliziranom obliku čiji je model napravljen u programu za 3D modeliranje OnShape.
- Analiza teksture pomaže pri razvoju proizvoda u kojem sredstvo za geliranje određuje parametre teksture. Namještanjem udjela i vrste gelirajućeg sredstva može se postići poželjna tvrdoća, elastičnost i rad potreban za žvakanje.
- Senzorski najprihvatljiviji proizvod je bio funkcionalni bombon s pektinom i agarom kojem je izmjerena i najveća elastičnost te ona iznosi  $4,969 \pm 0,023$  mm. Najveći udio polifenola ( $1,276 \pm 0,015$  mg EGK/g) i najveći antioksidacijski kapacitet ( $9,583 \pm 0,122$   $\mu$ mol ET/g) pokazao je funkcionalni bombon s agarom. Također, taj bombon pokazao je i najveću tvrdoću od  $2,685 \pm 0,040$  N te najveći rad od  $1172,185 \pm 169,735$  mJ.

Daljnijim razvojem 3D printanog funkcionalnog bombona primjenom aditivne tehnike može se dobiti unaprijeđeni dječji proizvod koji svojim osobinama predstavlja inovativni proizvod na tržištu. Prednosti koje ga izdvajaju među proizvodima dobivenih konvencionalnim metodama su primjena aditivne tehnike i netoplinske zelene ekstrakcije, personalizirani oblik te zdravstvena korist.

## 6. LITERATURA

Anonymous 1 <<https://www.plantea.com.hr/origano/>> Pristupljeno 14. svibnja 2021.

Armisen, R., & Gaiatas, F. (2009). Agar: U Handbook of hydrocolloids, 2.izd., Phillips, G.O., Williams, P. A., ured., Woodhead Publishing, Great Albington, Cambridge, str. 82-107.

Asif, M. (2015). Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. *Chemistry international*, **1**: 35-52.

Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Dujmović, M., Karlović, M., Brnčić, M., & Ježek, D. (2015). Physical, bioactive and sensory quality parameters of reduced sugar chocolates formulated with natural sweeteners as sucrose alternatives. *Food chemistry*, **167**: 61-70.

Biliaderis, C. (2008). Funkcionalna hrana-trendovi, izgledi i izazovi za industriju hrane. *Časopis za procesnu tehniku i energetiku u poljoprivredi/PTEP*, **12**: 97-100.

Bourne, M. (2002). Food texture and viscosity: concept and measurement, 2. izd., Elsevier, str. 266.

Cao, L., Lu, W., Mata, A., Nishinari, K., & Fang, Y. (2020). Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review. *Carbohydrate polymers*, 116389.

Capel, F., Nicolai, T., Durand, D., Boulenguer, P., & Langendorff, V. (2006). Calcium and acid induced gelation of (amidated) low methoxyl pectin. *Food Hydrocolloids*, **20**: 901-907.

de Torre, M. P., Vizmonas, J. L., Cavero, R. Y., & Calvo, M. I. (2020). Improvement of antioxidant activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) with an oral pharmaceutical form. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **129**: 110424.

Gawkowska, D., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2018). Structure-related gelling of pectin and linking with other natural compounds: A review. *Polymers*, **10**: 762.

Grgić, I., Grec, M., Gryszkin, A., Zieba, T., Kopjar, M., Ačkar, Đ., Jozinović, A., Miličević, B., Zavadlav, S., Babić, J. (2021). Starches modified by phosphorylation and high-voltage electric discharge (HVED) treatment. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **71**.

Grlić, Lj. (1990). Mravinac. U: *Enciklopedija samoniklog jestivog bilja*, August Cesarec, ured., Zagreb, str. 272.



- Horst, D. J., Duvoisin, C. A., & de Almeida Vieira, R. (2018). Additive manufacturing at Industry 4.0: A review. *International journal of engineering and technical research*, **8**.
- Jones, P. J., & Jew, S. (2007). Functional food development: concept to reality. *Trends in Food Science & Technology*, **18**: 387-390.
- Kintzios, S. E. (2012). Oregano. U: Handbook of herbs and spices, Peter, K. V., ured., Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, str. 417-436.
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). Sensory evaluation of food: Principles and practices, 2.izd., Springer Science & Business Media, str. 227.
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in polymer science*, **37**: 106-126.
- Li, Z., Fan, Y., & Xi, J. (2019). Recent advances in high voltage electric discharge extraction of bioactive ingredients from plant materials. *Food chemistry*, **277**: 247-260.
- Liu, Z., Zhang, M., & Bhandari, B., & Wang, Y. (2017). 3D printing: Printing precision and application in food sector. *Trends in Food Science & Technology*, **69**: 83-94.
- Molyneux, P. (2014). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. sci. technol.* **26**: 211-219.
- Nutrizio, M., Maltar-Strmečki, N., Chemat, F., Duić, B., & Režek Jambrak, A. (2020). High-Voltage Electrical Discharge in Green Extraction of Bioactives from Oregano Leaves (*Origanum vulgare* L.) Using Water and Ethanol as Green Solvents Assessed by Theoretical and Experimental Procedures. *Food Engineering Reviews*, 1-14.
- Nutrizio, M., Pataro, G., Carullo, D., Carpentieri, S., Mazza, L., Ferrari, G., Chemat, F., Banović, M & Režek Jambrak, A. (2020). High Voltage Electrical Discharge as an Alternative Extraction Process of Phenolic and Volatile Compounds from Wild Thyme (*Thymus serpyllum* L.): U Sillico and Experimental Approaches for Solubility Assessment. *Molecules*, **25**: 4131
- Pérez, B., Nykvist, H., Brøgger, A. F., Larsen, M. B., & Falkeborg, M. F. (2019). Impact of macronutrients printability and 3D-printer parameters on 3D-food printing: A review. *Food chemistry*, **287**: 249-257.

- Pyrzyska, K., & Pełal, A. (2013). Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Analytical Methods*, **5**: 4288-4295.
- Rossi, F. (2001). Assessing sensory panelist performance using repeatability and reproducibility measures. *Food quality and preference*, **12**: 467-479.
- Saheb, S. H., & Kumar, J. V. (2020). A comprehensive review on additive manufacturing application. U: *AIP Conference Proceedings*, 2281
- Stoica, M., Mihalcea, L., Borda, D., & Alexe, P. (2013). Non-thermal novel food processing technologies. An overview. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, **19**: 212-217.
- Sun, J., Zhou, W., Huang, D., Fuh, J. Y., & Hong, G. S. (2015). An overview of 3D printing technologies for food fabrication. *Food and bioprocess technology*, **8**: 1605-1615.
- Tako, M., Tamaki, Y., Teruya, T., & Takeda, Y. (2014). The principles of starch gelatinization and retrogradation. *Food and Nutrition Science*, 2014.
- Vancuawenberghe, V., Katalagarianakis, L., Wang, Z., Meerts, M., Hertog, M., Verboven, P., Moldenaers, P., Hendrickx, M. E., Lammertyn, J., & Nicolai, B. (2017). Pectin based food-ink formulations for 3-D printing of customizable porous food simulants. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **42**: 138-150.
- Yang, F., Zhang, M., & Bhandari, B. (2017). Recent development in 3D food printing. *Critical reviews in food science and nutrition*, **57**: 3145-3153.
- Žuntar, I., Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Nutrizio, M., Šupljika, F., Poljanec, A., Dubrović, I., Barba, F. J., & Režek Jambrak, A. (2019). Phenolic and antioxidant analysis of olive leaves extracts (*olea europea* L.) obtained by high voltage electrical discharges (HVED). *Foods*, **8**: 248.

## Izjava o izvornosti

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

Nikolina Grgić

ime i prezime studenta