

Primjena ekstrakta trave ive (*Teucrium montanum* L.) u razvoju formulacija gumenih bombona različitog udjela šećera

Bunić, Magdalena

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:211939>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

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



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

Magdalena Bunić
0058217344

**Primjena ekstrakta trave ive (*Teucrium montanum* L.) u
razvoju formulacija gumenih bombona različitog udjela
šećera**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Tehnologija ugljikohidrata i konditorskih proizvoda

Znanstveno-istraživački projekt: Formuliranje inkapsuliranih sustava bioaktivnih sastojaka tradicionalnih biljnih vrsta: trave ive i dobričice namijenjenih razvoju inovativnih funkcionalnih prehrambenih proizvoda (FUNCBIOCAP, IP-2019-04-5879)

Mentor: dr.sc. Aleksandra Vojvodić Cebin

Zagreb, 2023.
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Primjena ekstrakta trave ive (*Teucrium montanum* L.) u razvoju formulacija gumenih bombona
različitog udjela šećera**

Magdalena Bunić, 0058217344

Sažetak:

Prehrambena industrija, prateći zahtjeve i potrebe osviještenih potrošača, sve više teži proizvodnji funkcionalnih prehrambenih proizvoda. Konditorski proizvodi su često pogodni oblici za kreiranje takvih novih proizvoda zbog svog slatkog okusa te različitih aroma, boja i tekstura u kojima su dostupni, što može povećati prihvatljivost i dostupnost funkcionalnih sastojaka. Neki od najčešćih funkcionalnih dodataka u konditorskim proizvodima su biljni ekstrakti, probiotici, prebiotici i polioli. Cilj ovoga rada bio je razviti formulacije gumenih bombona različitog udjela šećera primjenom saharoze te poliola ksilitola i maltitola, uz primjenu vodenog ekstrakta trave ive (*Teucrium montanum* L.) kao tekuće faze za pripremu sirovina u njihovoj izradi. Dodatkom prebiotika inulina, fruktooligosaharida i ksilooligosaharida u formulacije, kreirani su gumeni bomboni potencijalno višestrukih funkcionalnih karakteristika. Pripremljenim bombonima određeni su sljedeći parametri kakvoće: udio suhe tvari, aktivitet vode, pH vrijednost, udio polifenola te senzorska kakvoća. Udio suhe tvari iznosio je 70 - 75 %, aktivitet vode 0,69 - 0,79, a pH vrijednost 3,54 - 3,91. HPLC analizom određena je prisutnost feniletanoidnih glikozida kao dominantnih fenolnih spojeva podrijetlom iz trave ive, izraženih bioaktivnih karakteristika. Senzorskom analizom utvrđena je najveća prihvatljivost formulacija sa saharozom i sa smanjenim udjelom saharoze, bez prebiotika, dok je dodatak inulina najviše utjecao na smanjenje prozirnosti bombona. Uklapanjem u sastav gumenih bombona, postignuta je visoka prihvatljivost konzumacije ekstrakta trave ive koji izvorno ima vrlo izraženu gorčinu.

Ključne riječi: gumeni bomboni, funkcionalna hrana, prebiotici, polioli, trava iva

Rad sadrži: 35 stranica, 8 slika, 4 tablice, 53 literaturnih navoda, 3 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: dr. sc. Aleksandra Vojvodić Cebin

Datum obrane: 5. srpnja 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

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

Department of Food Engineering
Laboratory for Chemistry and Technology of Carbohydrates and Confectionery Products

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Implementation of mountain germander extract (*Teucrium montanum* L.) in the development of gummy candy formulations of various sugar content

Magdalena Bunić, 0058217344

Abstract:

Following the demands and needs of health-aware consumers, the food industry is increasingly aiming to produce functional food products. Confectionery products are often suitable forms for creating such new products due to their sweet taste and a variety of presenting aromas, colour and textures which can increase the acceptance and the availability of functional ingredients. Some of the most common functional supplements in confectioneries are plant extracts, probiotics, prebiotics and polyols. The aim of this work was to develop gummy candy formulations of various sugar content by combining sucrose, xylitol and maltitol, while based on mountain germander (*Teucrium montanum* L.) water extract, used as the liquid phase for ingredient preparation in candy production. Alongside mentioned, the addition of prebiotics inulin, fructooligosaccharides and xylooligosaccharides, potentially enabled multiple functional characteristics of the created gummy candy. After production, the gummy candies were evaluated for quality parameters: dry matter content, water activity, pH value, polyphenol content, and sensory acceptance. Dry matter content ranged from 70 to 75 %, water activity from 0,69 to 0,79, and pH value from 3,54 to 3,91. HPLC analysis revealed the presence of phenylethanoid glycosides as the most dominant phenolic compounds arising from the mountain germander herb, characterized by a notable bioactive value. Sensory analysis revealed the highest acceptance of formulations containing sucrose and reduced sucrose content, without prebiotics, while the addition of inulin had the strongest impact on reducing the transparency of the candy. Although originally very bitter, the mountain germander extract was highly acceptable for consumption upon its incorporation into gummy candy formulation.

Keywords: gummy candy, functional food, prebiotics, polyols, mountain germander

Thesis contains: 35 pages, 8 figures, 4 tables, 53 references, 3 supplements

Original in: Croatian

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

Mentor: Aleksandra Vojvodić Cebin, PhD

Thesis defended: 5th July 2023

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. BOMBONSKI PROIZVODI.....	2
2.1.1. GUMENI BOMBONI.....	2
2.2. FUNKCIONALNA HRANA.....	4
2.2.1. FUNKCIONALNI BOMBONSKI PROIZVODI.....	5
2.3. FUNKCIONALNI DODACI U BOMBONSKIM PROIZVODIMA.....	6
2.3.1. BILJNI EKSTRAKTI.....	6
2.3.2. TRAVA IVA.....	6
2.3.3. PREBIOTICI.....	9
2.3.4. POLIOLI.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	13
3.1. MATERIJAL.....	13
3.1.1. SIROVINE U PROIZVODNJI GUMENIH BOMBONA.....	13
3.1.2. KEMIKALIJE.....	14
3.1.3. APARATURA I PRIBOR.....	14
3.2. METODE.....	16
3.2.1. IZRADA GUMENIH BOMBONA.....	16
3.2.2. ODREĐIVANJE UDJELA SUHE TVARI.....	18
3.2.3. ODREĐIVANJE AKTIVITETA VODE.....	18
3.2.4. ODREĐIVANJE PH.....	19
3.2.5. ODREĐIVANJE UDJELA POJEDINAČNIH POLIFENOLNIH SPOJEVA.....	19
3.2.6. SENZORSKA ANALIZA.....	20
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	21
4.1. UDIO SUHE TVARI, AKTIVITET VODE I PH VRIJEDNOST.....	21
4.2. UDIO POJEDINAČNIH POLIFENOLA.....	24
4.3. SENZORSKA ANALIZA.....	26
5. ZAKLJUČCI.....	30
6. POPIS LITERATURE.....	31
7. PRILOZI.....	1

1. UVOD

Globalizacija i modernizacija društva potaknule su potrošače na veću brigu o zdravlju. Prehrambena industrija, prateći globalne trendove, ali i potrebe i zahtjeve osviještenih potrošača, teži razvoju i proizvodnji funkcionalnih prehrambenih proizvoda koji omogućuju brz i jednostavan unos sastojaka koji djeluju stimulirajuće na cjelokupno zdravlje. Formuliranje funkcionalnih konditorskih proizvoda predstavlja svojevrsan izazov prehrambene industrije, zbog njihove česte percepcije kao „nezdravih“ namirnica, uvjetovano visokim udjelom šećera i niskom nutritivnom vrijednosti. Gumeni bomboni su vrsta konditorskih proizvoda, vrlo popularnih među potrošačima, posebice u mlađoj populaciji, te je stoga razvoj njihovih funkcionalnih inačica vrlo zanimljiv istraživačima i industriji. U kontekstu bombonskih proizvoda, funkcionalnost se najčešće postiže smanjenjem udjela šećera, pr. zamjenom saharoze poliolima, te dodatkom biljnih ekstrakta, vitamina, probiotika i prebiotika. Zamjenom saharoze poliolima, kao što su maltitol i ksilitol, dobiva se proizvod smanjene kalorijske vrijednosti i glikemijskog indeksa, što ga čini dostupnijim različitim skupinama potrošača, pr. oboljelima od dijabetesa. Dodatkom prebiotika postiže se potencijalni učinak stimuliranja rasta probiotičkih intestinalnih bakterija, što rezultira poboljšanom probavom i jačim imunološkim sustavom. Biljni ekstrakti, osim što mogu doprinijeti boji i/ili biti nositelji karakterističnih aroma, zahvaljujući bogatom polifenolnom sastavu mogu iskazivati antioksidacijske i druge vezane učinke. Trava iva je ljekovita biljna vrsta koja ima dugu povijest primjene u narodnoj medicini. Ipak, njezina široka primjena je ograničena prvenstveno zbog gorkog i trpkog okusa, koju ju čine neugodnom za konzumaciju. Uklapanjem ekstrakta trave ive u formulacije gumenih bombona potencijalno bi se mogao nadići problem senzorske prihvatljivosti te obogatiti sastav mnogima omiljenog bombona u smjeru kreiranja inovativnog funkcionalnog konditorskog proizvoda.

S obzirom na navedeno, cilj ovoga rada bio je razviti formulacije gumenih bombona sa šećerom te smanjenim udjelom šećera i bez šećera, primjenom ksilitola i maltitola te stevije kao zamjenskih sladila, uz primjenu vodenog ekstrakta trave ive kao tekuće faze za pripremu sirovina u izradi bombonske mase. U svrhu postizanja višestruke komplementarne funkcionalnosti proizvoda, što potencijalno udovoljava širem spektru potrošača, u sastav formulacija su dodani i prebiotici: inulin, fruktooligosaharidi i ksilooligosaharidi. Kao pokazatelji potencijalno funkcionalnog i komercijalnog značaja novokreiranog proizvoda, određeni su bioaktivni sastav te senzorske karakteristike.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. BOMBONSKI PROIZVODI

Bombonski proizvodi jedna su od kategorija proizvoda konditorske prehrambene industrije koje karakterizira iznimna senzorska prihvatljivost za konzumaciju zbog karakterističnog slatkog okusa te različitih dostupnih aroma, oblika i tekstura. Prema „Pravilniku o proizvodima sličnim čokoladi, krem-proizvodima i bombonskim proizvodima“ bombonski proizvodi definiraju se kao proizvodi dobiveni odgovarajućim tehnološkim postupcima od šećera, drugih sirovina, aditiva i tvari koje se dodaju radi povećanja biološke vrijednosti proizvoda. Mogu biti s dodacima, mogu se puniti, prelijevati, djelomično prelijevati, dražirati, komprimirati, kandirati, ukrašavati, prosipavati i drugo (Pravilnik, 2005).

Primarni sastojak u proizvodnji bombona su različite šećerne sirovine, kao što su: saharoza, glukoza, invertni šećer, škrobni sirup, laktoza i fruktoza. Kao zamjena za šećere mogu se koristiti i poliolni: sorbitol, ksilitol, maltitol, izomalt, maltitol, maltitol-sirup, laktitol i polidekstroza. U bombonsku masu mogu se dodavati i kava, kandirano voće i povrće, sladni ekstrakti, med i sl. Također je dozvoljen i dodatak aditiva za postizanje arome, boje, kiselosti, želiranja, za postizanje konzerviranja i sl. Bombonski proizvodi podijeljeni su u različite kategorije, od kojih su najzastupljeniji i najpoznatiji: tvrdi bomboni, tvrdi punjeni bomboni, svileni bomboni, svileni punjeni bomboni, draže bomboni, proizvodi karamele, žele proizvodi i gumeni bomboni (Goldoni, 2004).

Bombonski proizvodi zastupaju visok udio u konditorskoj industriji te njihovo tržište ubrzano raste. Prema dostupnim podacima, globalna vrijednost tržišta bombonskih proizvoda za 2023. godinu procjenjuje se na 53,21 milijardi USD, dok bi do 2033. ta vrijednost mogla doseći 81,07 milijardi USD (Future Market Insights, 2023).

2.1.1. Gumeni bomboni

Prema „Pravilniku o proizvodima sličnim čokoladi, krem-proizvodima i bombonskim proizvodima“ gumeni bomboni se definiraju kao proizvod dobiven od šećera uz dodatak sredstva za želiranje i drugih sirovina, koje mu daju odgovarajuću konzistenciju (Pravilnik, 2005). Kao sredstva za želiranje mogu se koristiti škrob, želatina, agar-agar i pektin. Udio suhe tvari u gumenim bombonima trebao bi iznositi 78 %, a udio topljivih sastojaka najmanje 70 % (Goldoni, 2004).

Kod proizvodnje gumenih bombona, posebno se pripremaju otopina želatine i šećerno-sirupna otopina. Želatina se prethodno moči u dvostrukoj količini vode, a zatim dodaje u

ukuhanu šećerno-sirupnu otopinu. Prvi korak u pripremi šećerno-sirupne otopine je otapanje kristal šećera u vodi uz zagrijavanje, a zatim se u tu otopinu dodaje glukozni sirup. Dobivena masa se ukuhava sve dok ne dosegne temperaturu vrenja od 118 do 121 °C. Kad se masa ohladi na približno 72 °C, uz miješanje dodaje se želatina. Zatim se u odležanu masu bez mjehurića dodaju kiselina, arome ili boje i stavlja se na ponovno odležavanje i hlađenje. U trenutku kad masa postigne temperaturu od oko 60 °C spremna je za lijevanje u kalupe. Bomboni se ostavljaju da odleže 5 – 7 dana u kalupima na temperaturi od 43 do 49 °C. Kao završni korak, bomboni se dorađuju različitim postupcima nanošenja šećera na površinu ili sjajanjem površine s prirodnim mastima i voskovima (Goldoni, 2004).

Glavni sastojak gumenih bombona je saharoza koja čini 40 – 50% bombonske smjese (Hartel i sur., 2018). Ona utječe na karakteristike kao što su slatkoća, boja, aroma, volumen smjese, tekstura, stabilnost, kristalizacija, vlažnost i mikrobiološka sigurnost. Morfologija kristala šećera, raspodjela veličine čestica i intramolekulske veze utječu na viskoznost, tvrdoću i intenzitet slatkoće bombona. Šećerni sirupi koji se kombiniraju sa saharozom imaju funkciju kontroliranja kristalizacije i modificiranja slatkoće i teksture. Najčešće se u tu svrhu koriste glukozni sirup (Gunes, 2022). Osim saharoze, glavnu ulogu u formulaciji teksture ima želatina koja se koristi kao sredstvo za želiranje. Poželjno je da želatina bude bez boje, okusa i mirisa, a za izradu gumenih bombona koristi se želatina jakosti 180 – 250 Blooma (Goldoni, 2004).

Kako bi se definirale karakteristike gumenih bombona, nužno je razumijevanje proizvodnog procesa i sastojaka koji se koriste, kao i njihove potencijalne međusobne reakcije. Temperature zagrijavanja i hlađenja šećerne otopine, upjenjavanje i vrsta dodanog hidrokoloida određuju karakteristike bombonske mase, a to se odražava na kvalitetu krajnjeg proizvoda. Ovisno o tome koji se hidrokoloid koristi (želatina, škrob, pektin), gotovi proizvodi razlikuju se po svojim senzorskim svojstvima, uključujući izgled, okus i teksturu. Stoga je esencijalan korak u razvoju, reformulaciji i kontroli kvalitete konditorskih proizvoda upravo senzorska evaluacija, koju provode panelisti ili instrumenti (Gunes, 2022). Jedna od najvažnijih karakteristika gumenih bombona je boja, koja značajno uvjetuje prihvatljivost bombonskih proizvoda i stoga je jedan od parametara stabilnosti proizvoda (Gunes, 2022). Iako je jedan od trendova u prehrambenoj industriji uporaba prirodnih boja kao što su: antocijanini, karamela, kurkuminoidi, karotenoidi i klorofil, najčešća je uporaba sintetičkih boja zbog njihove otpornosti na visoke temperature, kiseli medij i stabilnosti prilikom skladištenja (Gunes, 2022).

Među najvažnijim parametrima koji utječu na konačnu kvalitetu gumenih bombona i koje je, stoga, potrebno kontrolirati tijekom proizvodnje, su aktivitet vode i pH vrijednost. Udio vode u gumenim bombonima varira između 10 do 20 %. Povećanje udjela vode može dovesti

do promjena u proizvodu kao što su preuranjena kristalizacija, pojava nepoželjnih parametara ljepljivosti, žvackljivosti i tvrdoće. Aktivitet vode mora biti održan između 0,45 i 0,75 kako bi se očuvala mikrobiološka stabilnost proizvoda. Također, važno je kontrolirati pH vrijednost kako bi se održala stabilnost proizvoda, budući da pH utječe na formaciju gela. U kiselijem mediju, tj. kod niskog pH, želatina će biti slabija što će rezultirati mekanijom strukturom bombona (Gunes, 2022).

2.2. FUNKCIONALNA HRANA

Tržište prehrambenih proizvoda naglo se povećava uslijed globalizacije društva, te se trendovi u prehrani ubrzano mijenjaju. Tako se, primjerice, u prošlosti smatralo da hrana mora zadovoljiti osjećaj gladi, dok se danas posebice obraća pažnja na nutritivnu i kalorijsku vrijednost prehrambenih proizvoda. Sukladno tome, prehrambena industrija teži proizvodnji funkcionalne hrane (Sahlan i sur., 2019). Kako bi se hrana klasificirala kao funkcionalna, osim svoje osnovne nutritivne vrijednosti mora iskazivati blagotvoran i stimulativan učinak na jednu ili više ciljanih funkcija tijela, tako da smanjuje rizike razvoja pojedinih bolesti (Roberfroid, 2002).

IFIC (International Food Information Council) definirao je funkcionalnu hranu kao hranu koja pruža veću dobrobit za zdravlje nego osnovna prehrana. FUFOSÉ (The European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe) definira funkcionalnu hranu kao:

- konvencionalnu i svakodnevnu
- koja se može konzumirati kao dio uobičajene prehrane
- koja je prirodnog sastava s komponentama koje se mogu prirodno pronaći u toj hrani ili su dodane u tu hranu u većoj količini od koncentracije specifične za tu hranu
- ima pozitivan utjecaj na fiziološke funkcije, može poboljšati opće zdravstveno stanje ili smanjiti rizik od bolesti i ima potvrđene i utemeljene zdravstvene tvrdnje (Roberfroid, 2002; Diplock i sur., 1999).

Pandemija COVID-19 potaknula je svijest o važnosti održavanja snažnog imunološkog sustava, zbog čega su prirodni pripravci i namirnice postali sve popularniji. Zahvaljujući bioaktivnim komponentama namirnica koje pozitivno djeluju na imunološki sustav, između ostalog, može se smanjiti se vjerojatnost virusnih infekcija. Funkcionalna hrana obogaćena vitaminima A, B, C i D, mineralima (selen, cink i željezo) i polifenolima (kvercetin, resveratrol, katehini i antocijanini) može doprinijeti kao prirodno terapijsko sredstvo u borbi

protiv virusa SARS-CoV-2 ili kao preventivna terapija za COVID-19 pacijente (Farzana i sur., 2022).

2.2.1. Funkcionalni bombonski proizvodi

Bombonski proizvodi najčešće se percipiraju kao kategorija hrane koju je potrebno što rjeđe konzumirati te u malim količinama zbog visokog udjela šećera i visoke kalorijske, a male nutritivne vrijednosti. Cilj razvoja funkcionalnih bombonskih proizvoda je postizanje nutritivno vrijednije alternative konvencionalnom proizvodu, uz dodanu vrijednost pozitivnog učinka na zdravlje konzumenta. U kontekstu bombonskih proizvoda, uporaba prirodnih sladila (stevija, voćni sokovi i koncentрати, med), boja (biljni pigmenti i ekstrakti, mikroalge), aroma (biljni ekstrakti) i zamjena za šećere (dijetalna vlakna, prebiotici) te dodatak biljnih bioaktivnih sastojaka (vitamini, polifenoli, bioaktivni peptidi) čine proizvod funkcionalnim (Mandura i sur., 2020).

Funkcionalni dodaci često su neugodnog okusa, stoga su konditori idealna grupa proizvoda za dodatak funkcionalnih sastojaka kojeg će učiniti prihvatljivim i pristupačnim. Jedan od mogućih problema je to što potrošači mogu takav proizvod shvatiti kao neozbiljan da bi upotpunio svoju svrhu. Još jedan mogući problem predstavlja prekomjerna konzumacija ovakvog tipa proizvoda i popratne nuspojave, primjerice, prekomjernom konzumacijom konditora koji sadrže poliole može doći do nuspojava kao što su grčevi u želucu i dijareja (Pickford i Jardine, 2000).

Najranijim funkcionalnim konditorskim proizvodima smatraju se bomboni za zdravlje grla i osvježavanje usne šupljine (Pickford i Jardine, 2000). Daljnjim razvojem tržišta počeli su se pojavljivati i bomboni za mučnine prilikom vožnje, za liječenje mamurluka, za održavanje oralne higijene pa sve do onih za održavanje tjelesne težine i poboljšanje mentalnih i fizičkih performansi (Pickford i Jardine, 2000). Trenutni globalni trendovi u konditorskoj industriji uključuju konditorske proizvode koji su bez šećera, tzv. „sugar-free“ i proizvode smanjene energijske vrijednosti, tzv. „low calorie“, zatim proizvode obogaćene fitokemikalijama, polifenolima, bez želatine, s prebioticima i probioticima (Konar, 2022).

Općenito, kod formiranja funkcionalnih konditorskih proizvoda, pa tako i bombonskih proizvoda, važno je predznanje o funkcionalnim sastojcima koji se žele primijeniti u formulaciji, njihovo ponašanje u uvjetima proizvodnog procesa, uključujući, primjerice, visoku temperaturu, trenje i potencijalne reakcije s drugim sastojcima, ali i čuvanju gotovog proizvoda. Dodatak nekog funkcionalnog sastojka može utjecati na pojedine parametre gotovog proizvoda, primjerice na udio suhe tvari, aktivitet vode, pH, viskoznost, teksturu ili

pojavu kristalizacije. Također je moguća pojava naknadnih okusa. Ipak, funkcionalni sastojci ne bi smjeli značajno narušavati karakterističan okus gotovog proizvoda, niti značajno utjecati na njegovu ukupnu kvalitetu i trajnost. U tu svrhu, potrebno je prilagoditi recepturu novog funkcionalnog proizvoda ili dio tehnološkog procesa proizvodnje kako bi se postigla zadovoljavajuća kvaliteta gotovog proizvoda. Primjerice, mogu se dodati sastojci koji će zamaskirati nepoželjan, naknadni okus nekog funkcionalnog dodatka ili, pak, u slučaju dodatka prebiotika, zbog njihove smanjene slatkoće, potrebno je nadoknaditi slatkoću primjenom intenzivnijih sladila (Pickford i Jardine, 2000).

Kako bi se pratio razvoj proizvoda, važne su povratne informacije od potrošača i same mogućnosti tržišta. O tome koliko će proizvod biti prihvaćen ovisi i o socio-demografskim faktorima. Potrebno je osvijestiti potrošače o zdravijim mogućnostima prehrane i razumijevanju uske povezanosti prehrane i zdravlja. Želja za poboljšanjem osobnog zdravlja, nova istraživanja, starenje populacije i povećani troškovi zdravstvene zaštite potiču razvoj funkcionalnih proizvoda (Pickford i Jardine, 2000).

2.3. FUNKCIONALNI DODACI U BOMBONSKIM PROIZVODIMA

2.3.1. Biljni ekstrakti

Uporaba biljaka u medicinske, kozmetičke i prehrambene svrhe poznata je od davnina. Biljni ekstrakti česta su zamjena za sintetičke aditive te tako, osim što obogaćuju proizvod antioksidativnim i antimikrobnim svojstvima, poboljšavaju i senzorska svojstva proizvoda. Takvi proizvodi, obogaćeni biljnim ekstraktima, privlače pozornost potrošača, a vrlo često se za obogaćivanje konvencionalnih prehrambenih proizvoda koriste ekstrakti zelenog ili bijelog čaja i limunske trave (Granato i sur., 2017).

Mnoge komponente biljnih ekstrakata, među kojima: proteini, minerali, fenoli, antioksidansi, alkaloidi i mnogi drugi sekundarni metaboliti, iskazuju biološku aktivnost zahvaljujući kojoj im se pripisuju protuupalna, imunostimulirajuća, antikancerogena i druga svojstva koja doprinose očuvanju i poboljšanju zdravlja konzumenata.

2.3.2. Trava iva

Trava iva (*Teucrium montanum* L.) pripada polimorfnom i široko rasprostranjenom rodu *Teucrium* L., iz porodice usnača (*Lamiaceae*), koji broji više od 300 vrsta. Unutar roda nalaze se različiti grmovi, šikare i višegodišnje zeljaste biljke rasprostranjene uglavnom na sjevernoj polutki, u području umjerene klime, gdje raste približno 93 % vrsta roda *Teucrium*. Čak jedna

trećina vrsta raširena je na području vapnenačkih stijena, suhiv livada i pašnjaka Mediterana (Petrović, 2014).

Trava iva (Slika 1) raste u obliku malih, okruglih i polegnutih grmova, visine 5 do 30 cm. Stabljike grma su razgranate i tanke, okrugle u presjeku. Listovi su linearno lancetasti i postupno suženi. Donji dio lista prekriven je bijelim dlačicama, dok je gornji, tamnozeleni dio lista, rijetko prekriven dlačicama. Cvjetovi su blijedožučkasti, s kratkom peteljkom, grupirani u guste loptaste glavice na vrhovima stabljika. Vjenčić čine dvije usne; gornju usnu grade dva režnja, a donju tri. Trava iva cvate u razdoblju od svibnja pa do kraja ljeta.

Ova biljka poznata je i pod nazivima: dubčac, dučac, dubačac, gorski cmilj i ivica. Najviše je poznata po svojim ljekovitim svojstvima, stoga se nadzemni dio biljke koristi u fitoterapiji. Zbog svog ljekovitog djelovanja, postoji i narodna izreka „Trava iva od mrtva pravi živa“ (Petrović, 2014). U narodnoj medicini koristi se kao diuretik, analgetik i antispazmodik, a posjeduje i antibakterijska, antifungalna, protuupalna i antioksidativna svojstva (Tumbas i sur., 2004). Biljka je opora i gorka okusa, specifičnog mirisa, a najčešće se konzumira u obliku biljne infuzije (čaja) (Petrović, 2014).

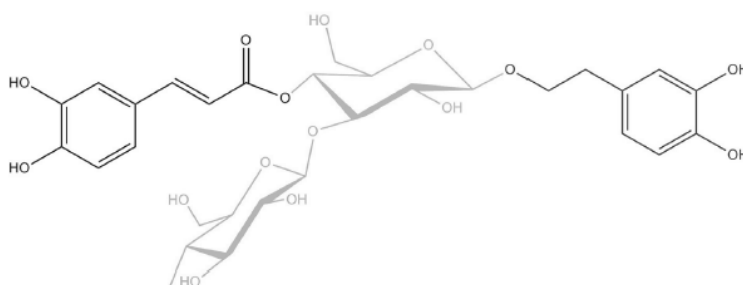


Slika 1. *Teucrium montanum* L. (Anonymous 1, 2023)

Teucrium vrste izvor su brojnih bioaktivnih komponenta kao što su fenoli, steroli, terpenoidi, diterpenoidi, flavonoidi i iridoidi (Dinić i sur., 2020). U kontekstu funkcionalnih dodataka u prehrambenoj industriji, posebno se ističu polifenoli zbog izraženih antioksidacijskih svojstava s kojima su povezani i brojni potencijalni zdravstveni učinci. Istraživanjima sastava identificirano je oko 78 različitih fenolnih spojeva iz 48 vrsta roda *Teucrium*. Najzastupljeniju skupinu fenolnih spojeva činili su flavonoidi, posebice flavonoli. Kao najraširenije zastupljen flavonoid ističe se luteolin, identificiran u čak 42 od 48 vrsta iz roda *Teucrium* (Stanković, 2020).

Najzastupljeniji polifenloni spojevi trave ive su verbaskozid i ehinakozid (Šeremet i sur., 2022). Ovi spojevi pripadaju skupini feniletanoidnih glikozida koje karakterizira C6-C2 struktura feniletal-alkohola vezanog glikozidnom vezom za β -glukopiranozu ili β -alopiranozu, a ova osnovna podjedinica je često dodatno supstituirana skupinama poput aromatskih kiselina (kafeinska, kumarinska, cimeta, ferulinska i izoferulinska kiselina) te različitih šećera (ramnoza, ksiloza, apioza, glikoza, liksoza, aloza i arabinoza) putem esterskih i glikozidnih veza (Xue i Yang, 2016). Ovi spojevi topivi su u vodi i široko su rasprostranjeni u biljnom svijetu, posebice u ljekovitim biljnim vrstama.

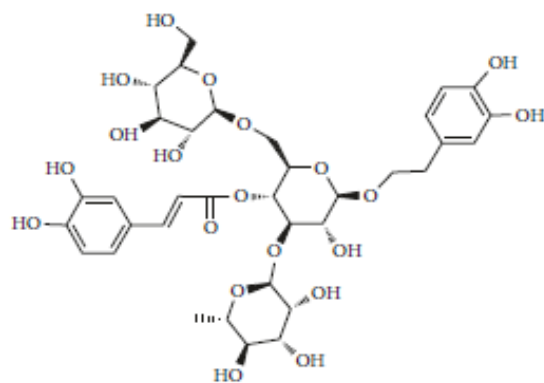
Verbaskozid (akteozid ili kuzagnin) po prvi puta je izoliran iz *Verbascum sinuatum* L., a identificiran je u više od 200 biljnih vrsta. Zastupljen je u podzemnom i nadzemnom dijelu biljaka, no u različitim udjelima. Industrijski nusprodukti, kao što su ostaci prerade masline u proizvodnji maslinovog ulja, još su jedan od vrijednih izvora ovog spoja (Cardinali i sur., 2012). Istraživanjima su potvrđena antimikrobna, antifungalna i antiandrogena svojstva verbaskozida, zahvaljujući kojima trava iva ima potencijalnu primjenu kod liječenja akni. Verbaskozid pokazuje i neuroprotektivno djelovanje putem antioksidativnih i protuupalnih mehanizama, posebice kod kronične upale crijeva (Alipeva i sur., 2014).



Slika 2. Kemijska struktura verbaskozida (Alipeva i sur., 2014)

Ehinakozid je po prvi puta izoliran iz *Echinacea angustifolia* L., a nalazi se u više od 40 biljnih vrsta. Najzastupljeniji je u rodovima *Cistanches* i *Echinacea*. Ehinakozid pokazuje potencijal u liječenju Parkinsonove i Alzheimerove bolesti (Liu i sur., 2018). Dosadašnja istraživanja ehinakozida dokazala su i značajnu zaštitnu ulogu protiv UVB induciranog oštećenja DNA (Zhang, 2017).

Osim verbaskozida i ehinakozida, fitokemijskom profilu trave ive doprinose i galna, protokatehinska, gentsinska, vanilinska, siringinska, klorogenska, kafeinska, kumarinska i ferulinska kiselina. Zahvaljujući biološkoj aktivnosti ovih spojeva, kao i prethodno spomenutih feniletanoidnih glikozida, trava iva pronalazi potencijalno značajnu medicinsku primjenu (Tumbas i sur., 2004).



Slika 3. Kemijska struktura ehinakozida (Zhang, 2017)

2.3.3. Prebiotici

Kemijski definirano, prebiotici su najčešće kratkolančani ugljikohidrati topljivi u 80 %-tnom etanolu (Al-Sheraji, 2013). U nutritivnom smislu, radi se o neprobavljivim sastojcima prehrane koji pozitivno utječu na domaćina uslijed selektivne stimulacije rasta i/ili aktivnosti crijevne mikrobiote (najčešće bifidobakterije i bakterije mliječne kiseline). Kriteriji koje neki sastojak mora zadovoljiti da bi se svrstao u kategoriju prebiotika su:

- a) Otpornost na želučanu kiselinu, hidrolitičke enzime u sisavaca i na gastrointestinalnu apsorpciju
- b) Fermentabilnost od strane intestinalne mikrobiote
- c) Selektivna stimulacija rasta i/ili aktivnosti intestinalne mikrobiote koja rezultira brojnim pozitivnim učincima na zdravlje domaćina (Roberfroid, 2007).

Prema ovim kriterijima, u prebiotike se ubrajaju di-, oligo- i polisaharidi, rezistentni škrobovi i šećerni alkoholi. Njihovim metaboliziranjem nastaju kratkolančane masne kiseline koje služe kao izvor energije domaćinu ili drugim dionicima intestinalne mikrobiote. Najpopularniji prebiotici na tržištu su: laktuloza, galaktooligosaharidi, fruktooligosaharidi, inulin i maltooligosaharidi. Prebiotički oligosaharidi mogu se proizvesti na tri načina: izolacijom iz biljnog izvora, mikrobnom produkcijom ili enzimskom sintezom te enzimskom razgradnjom polisaharida. U proizvode se često dodaju i kombinacije prebiotika i probiotika zbog njihovog singerističkog djelovanja (Al-Sheraji, 2013).

Inulin je naziv za polidisperznu smjesu oligomera i polimera glukopiranozil-fruktofuranozil fruktoze i fruktopiranozil-fruktofuranozil-fruktoze različitog stupnja polimerizacije linearnih ili razgranatih molekula (Vitali Čepo i Dragojević, 2012). Općenito se može definirati kao fruktanski tip polimera sastavljen od fruktoznih jedinica dominantno povezanih β -(2,1) glikozidnim vezama, dok se na krajevima lančanih molekula obično nalazi jedna molekula

glukoze. Inulin je rezervni/skladišni biljni polisaharid prisutan u više od 36 000 biljnih vrsta, a komercijalno najvažnijim izvorima inulina smatraju se korijen cikorije (*Cichorium intybus* L.) i jeruzalemska artičoka-čičoka (*Helianthus tuberosus* L.) (Vitali Čepo i Dragojević, 2012). Inulin iz biljaka karakterizira relativno niski stupanj polimerizacije ($SP < 200$), dok mikrobnom proizveden inulin ima veći stupanj polimerizacije ($SP > 10000$) i za 15 % više je razgranat (Shoaib i sur., 2016). Ovisno o stupnju polimerizacije, mijenjaju se funkcionalna svojstva inulina. Inulin izoliran iz cikorije umjereno je topljiv u vodi, što omogućuje jednostavno dodavanje u vodeni medij prilikom proizvodnje hrane. Vodene otopine inulina relativno su niske viskoznosti, neznatno promijenjenih temperatura smrzavanja i vrenja. Inulin hidrolizira pri uvjetima niskog pH i visoke temperature, stoga su ovo kritični parametri na koje se mora obratiti pažnja u procesnim uvjetima. Inulin je niske kalorijske vrijednosti (1,5 kcal/g ili 6,3 kJ/g) (Shoaib i sur., 2016), a prosječan dnevni unos u zapadnjačkoj prehrani se procjenjuje na 1 - 10 g/dan (Miremadi i Shah, 2012).

Fruktooligosaharidi (FOS) su fruktanski oligomeri građeni od fruktoznih jedinica povezanih β -(2,1) glikozidnim vezama koji na krajevima završavaju molekulom glukoze. Stupanj polimerizacije komercijalno dostupnih FOS iznosi od 3 do 9. Prirodno su prisutni u šparogama, šećernoj repi, luku i češnjaku, cikoriji, jeruzalemskoj artičoki, pšenici, banani, rajčici, raži, ječmu te u drugim biljnim vrstama koje se koriste u prehrani ljudi. Fruktooligosaharidi se najčešće proizvode enzimskim putem i to transfruktolizacijom, tj. dodavanjem po jedne jedinice fruktoze na ishodišnu molekulu saharoze ili, pak, kontroliranom enzimskom hidrolizom inulina ekstrahiranih iz prirodnih izvora, najčešće iz korijena cikorije. FOS su dobro topljivi u vodi (oko 80 %), pokazuju relativno dobru stabilnost u mediju niskog pH i visoke temperature (do 140°C). Kao i inulin, imaju nisku kalorijsku vrijednost (1 – 1,7 kcal/g) (Kumar, 2018). Fruktooligosaharidi u adekvatnim količinama mogu doprinijeti ublažavanju simptoma sindroma iritabilnog crijeva i dijareje, regulaciji kolesterola i poticanju apsorpcije magnezija, pri dnevnoj dozi unosa manjoj od 15 g/danu (Olesen i Gudmand-Høyer, 2000).

Ksilooligosaharidi (XOS) su linearni oligosaharidi građeni od jedinica D-ksiloze koje su povezane β -(1,4) glikozidnim vezama, a stupanj polimerizacije im varira između 2 i 12. Prirodno su prisutni u nekom voću i povrću, zatim medu, mlijeku i izdancima bambusa, ali u malim količinama, što ih čini ekonomski neprikladnima za masovnu proizvodnju. Stoga, najčešći način proizvodnje ksiloooligosaharida je enzimska hidroliza ksilana izdvojenog iz lignoceluloznih sirovina, dominantno klipova kukuruza (Palaniappan, 2021). Kao potencijalno novi izvori ksiloooligosaharida istražuju se, primjerice, drvo eukaliptusa globulusa, klipovi kukuruza, ljuske ječma i riže (Parajó i sur., 2004). Fizikalna i kemijska svojstva

ksilooligosaharida čine ih prihvatljivima za uklapanje u različite prehrambene proizvode. Neka od tih svojstava su dobra topljivost u vodi, niska kalorijska vrijednost, visoka higroskopnost, niska relativna slatkoća (50 % slatkoće saharoze), visoka stabilnost u kiselom mediju te prihvatljiva senzorska svojstva. Ujedno, zahvaljujući ovim svojstvima, ksilooligosaharidi pokazuju određene tehnološke prednosti primjene u odnosu na druge, konvencionalne oligosaharide (inulin, fruktooligosaharide i galaktooligosaharide) (Palaniappan, 2021). Ksilooligosaharidi do ksilotetraoze pokazuju prebiotička svojstva (Gullon i sur., 2008). Preporučena dnevna doza XOS je do 12 g/dan (Palaniappan, 2021).

Implementiranjem prebiotika u sastav hrane poboljšavaju se senzorska svojstva i nutritivna vrijednost proizvoda. Prema istraživanju koje je proveo Walter (1999), dodavanjem prebiotika u kruh i biskvit postigla se sočnija tekstura, a produljila se i trajnost proizvoda. Funkcionalni aspekti primjene prebiotičkih oligosaharida uključuju i njihovu primjenu kao zamjenu za masti te se kao takvi upotrebljavaju u raznim namazima i krem sirevima, čime se ujedno i smanjuje kalorijska vrijednost proizvoda (Zimeri i Kokini, 2003).

Konzumacija prebiotika djeluje stimulirajuće na imunološki sustav kroz poboljšanje integriteta crijeva, smanjenje pojavnosti i trajanja intestinalnih infekcija te poboljšanje probave. Istraživanja mehanizma djelovanja prebiotika te njihove primjene, potaknuta sve većom potražnjom potrošača, od velikog su potencijalnog značenja za prehrambenu i farmaceutsku industriju (Sharma i sur., 2012).

2.3.4. Polioli

Uslijed osvještavanja potrošača o negativnom utjecaju šećera na zdravlje, konditorska industrija sve više je usmjerena na proizvode sa smanjenim udjelom šećera (Erickson i Carr, 2020). Prekomjernom konzumacijom hrane s visokim udjelom šećera povećava se rizik od metaboličkih bolesti povezanih s debljinom te nastanka karijesa. Kao adekvatna zamjena za glukozu i saharozu često se koriste šećerni alkoholi, odnosno polioli. Polioli su derivati saharida u kojima je keto ili aldehidna skupina zamijenjena hidroksilnom (Zumbe i sur., 2001). Neki od njih su: sorbitol, maltitol, manitol, izomalt, krislitol, eritritol i laktitol.

Topljivost poliola ovisi o temperaturi i važan je faktor kod proizvodnje konditorskih proizvoda. Općenito su slabije topljivi u odnosu na saharozu, što povećava rizik od kristalizacije u proizvodu. U senzorskom smislu, otopine poliola ugodnog su i neutralnog okusa. Karakteristično svojstvo nekih poliola je efekt hlađenja prilikom otapanja u ustima, što je poželjno, primjerice, kod proizvodnje žvakaćih guma s okusom mentola, te doprinosi ukupnoj senzorskoj kvaliteti takvog proizvoda (Zumbe i sur., 2001). Polioli imaju nižu

kalorijsku vrijednost (2,4 kcal/g) u odnosu na saharozu (4 kcal/g) (EC, 1990). Manje su kariogeni u odnosu na saharozu, fruktozu i glukozu (Grenby, 1982), te primijenjeni u „sugar-free“ proizvodima ne predstavljaju rizik za dentalno zdravlje. Preporučeni dnevni unos poliola je 40 – 50 g za odrasle i 30 g za djecu, a potencijalni neugodni učinci prekomjerne konzumacije uključuju dijareju i povećanu nadutost, koji se javljaju zbog teže apsorpcije i ekstenzivne fermentacije (Gosh i Sudha, 2011).

Glavni ograničavajući faktor primjene poliola u prehrambenim proizvodima je njihova cijena, s obzirom da su skuplji od saharoze, koja je najčešće korišteno sladilo u prehrambenoj industriji, te se obično koriste u većem udjelu kako bi se kompenzirala njihova smanjena slatkoća u odnosu na saharozu (Zumbe i sur., 2001).

Ksilitol je polioli – pentitol, građen od 5 ugljikovih atoma na svaki od kojih je vezan po jedna hidroksilna skupina. Food and Drug Administration (FDA) je 1960-tih odobrila njegovu konzumaciju i proglašen je sigurnim za korištenje i u proizvodima namijenjenima djeci (Gosh i Sudha, 2012). Prirodno je prisutan u malim količinama u voću i povrću kao što su: šljive, jagode, maline, cvjetača i tikva, neznatno za industrijsku proizvodnju. Komercijalna proizvodnja ksilitola, u konvencionalnom smislu, temelji se na kemijskoj hidrogenaciji/redukciji ksiloze dobivene iz lignoceluloznih sirovina. Međutim, danas se sve više istražuju različiti mikroorganizmi u biotehnološkim postupcima, kao i novi lignocelulozni izvori ksilana (Ur-rehman i sur., 2017; Vallejos i sur., 2017). Ksilitol se najčešće primjenjuje kao sladilo, tj. zamjena za saharozu u različitim prehrambenim, neprehrambenim (npr. proizvodi za njegu usne šupljine) i farmaceutskim proizvodima. Karakteriziraju ga visoka relativna slatkoća, tj. slatkoća gotovo jednaka slatkoći saharoze, smanjena kalorijska vrijednost i glikemijski indeks te stabilnost u širokom pH području (Mäkinen, 2014). U konditorskoj industriji, ksilitol je najzastupljeniji u proizvodnji žvakaćih guma, posebice proizvoda bez šećera, gdje osim slatkoće doprinosi i efektom hlađenja (Ur-rehman i sur., 2017).

Maltitol je polioli vrlo slične slatkoće kao saharoza (relativna slatkoća iznosi 0,8 – 0,9) (Gosh i Sudha, 2012). Slične je topljivosti kao i saharoza, a zbog toga i prilikom otapanja u ustima rezultiraju sličnim očekivanim slatkoćama (Saraiva, 2020). Najmanje je higroskopan od svih poliola, što olakšava njegovu primjenu u procesiranju, a produljuje i trajnost i stabilnost proizvoda (Ghosh i Sudha, 2012). Čest je sastojak u pekarskim i mliječnim proizvodima, čokoladama, žvakaćim gumama i bombonima s okusom mentola. Prirodno se nalazi u različitom voću i povrću, a zastupljen je i u prženom sladu i listovima cikorijske. Komercijalno se proizvodi katalitičkom hidrogenacijom D-maltoze, a kao sirovina se koristi škrob kukuruza, pšenice ili krumpira (Saraiva, 2020).

Ksilitol i maltitol su jedni od adekvatnijih zamjena za saharozu zbog njihove slične relativne slatkoće. Osim toga, niskog su glikemijskog indeksa te je njihov utjecaj na krvni šećer minimalan, a to ih čini idealnim sastojcima za konditorske proizvode namijenjene dijabetičarima. Neka svojstva ksilitola i maltitola navedena su u Tablici 1.

Tablica 1. Svojstva ksilitola i maltitola (Salminen i Hallikainen, 2001)

Poliol	Molekulska masa (g/mol)	Slatkoća (saharoza=100)	Talište (°C)	Topljivost pri 25°C (g/100 g H ₂ O)	Utjecaj na šećer u krvi
Ksilitol	152,15	90-100	93-94,5	64	jako nizak
Maltitol	344,31	80-90	149-152	lako topljiv	nizak

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJAL

3.1.1. Sirovine u proizvodnji gumenih bombona

U ovome radu, kao vodena faza u izradi gumenih bombona, korišten je ekstrakt trave ive (*Teucrium montanum* L.). Ekstrakt je pripremljen ekstrakcijom osušenog nadzemnog dijela biljke s prokuhalom demineraliziranom vodom, u omjeru 1:20 (m/v), tijekom 10 min. Po završetku ekstrakcije, ekstrakt je izdvojen filtracijom pomoću običnog filter papira te ostavljen pri sobnoj temperaturi kako bi se ohladio. Ukupna količina ekstrakta iznosila je približno 2 L, što je bilo dostatno za izradu svih receptura gumenih bombona. Ekstrakt je do korištenja čuvan u hladnjaku pri 4 °C.

Uz ekstrakt trave ive, u izradi gumenih bombona korištene su sljedeće sirovine:

- šećer (saharoza), bijeli kristal (Aragold; Zagreb, Hrvatska)
- glukozni sirup, DE 36 – 40,5 (Fractal Colors; Csomar, Mađarska)
- goveđa želatina, bloom 220 (Nutrigold) (Galleria Internazionale; Zagreb, Hrvatska)
- limunska kiselina (Šafram; Zagreb, Hrvatska)
- pročišćeni, praškasti ekstrakt lista stevije (*Stevia rebaudiana*), 98 % rebaudiozid A/steviozidi (Wellgreen; Xi'an, Kina)
- ksilitol (Nutrigold) (Galleria Internazionale; Zagreb, Hrvatska)
- maltitol (Iggos) (Reire s.r.l.; Reggio Emilia, Italija)
- inulin (Orafti®GR) (Beneo GmbH, Mannheim, Njemačka)

- oligofruktoza/fruktooligosaharidi (Orafti®P95) (Beneo GmbH, Mannheim, Njemačka)
- ksilooligosaharidi (XOS 95P, iz kukuruznih oklasaka) (Shandong Longlive Biotechnology Co., Ltd.; Shandong, Kina)

3.1.2. Kemikalije

Sve korištene kemikalije u ovome radu bile su visoke analitičke (p.a.) i/ili HPLC čistoće.

Određivanje udjela pojedinačnih polifenola

- etanol, 96 % (Kemika; Zagreb, Hrvatska)
- acetonitril, HPLC grade (Merck Millipore, Burlington, Massachusetts, SAD)
- mravlja kiselina, koncentrirana (Fisher Chemicals, Hampton, NH, SAD)
- standardi polifenolnih spojeva:
 - klorogenska kiselina (Sigma-Aldrich, Merck Group; St.Louis, SAD)
 - verbaskozid (Sigma-Aldrich, Merck Group; St.Louis, MO, SAD)
 - ehinakozid (Sigma-Aldrich; Merck Group, St.Louis, MO, SAD)

3.1.3. Aparatura i pribor

Izrada gumenih bombona

U izradi gumenih bombona korištena je sljedeća oprema:

- laboratorijska vaga (A&D Instruments, GF-3000 EC; Japan)
- grijaa ploča (Tristar, Smartwares Group; Tilburg, Nizozemska)
- refraktometar (Kern optics, ORF 85BM, Kern&Sohn GmbH; Balingen, Njemačka)
- termometar (Testo, 108-2; Titisee, Njemačka)
- vodena kupelj (Inko, VK2; Zagreb, Hrvatska)
- metalne posude (0,4 L), silikonska špatula, plastične i staklene posude, silikonski kalupi u obliku medvjedića

Određivanje udjela suhe tvari

Za određivanje udjela suhe tvari korištena je sljedeća oprema:

- analitička vaga (Mettler-Toledo, New Classic ML204/01; Zürich, Švicarska)
- aluminijske posude s poklopcem
- eksikator
- laboratorijski sušionik (Instrumentia ST-06; Zagreb, Hrvatska)

Određivanje aktiviteta vode

Za određivanje aktiviteta vode korištena je sljedeća oprema:

- analizator aktiviteta vode (HygroPalm HP23 Rotronic; Bassersdorf, Švicarska)
- pripadajuće plastične posude za uzorke

Određivanje pH vrijednosti

Za određivanje pH vrijednosti gotovih bombona korištena je sljedeća oprema:

- pH-metar (Mettler Toledo, Five Easy FE20; Zürich, Švicarska)
- grijaći blok (Dlab HB120-S; Peking, Kina)
- vorteks homogenizator (Dlab MX-S; Peking, Kina)
- laboratorijske čaše, staklene epruvete s navojnim čepom, pinceta, staničevina

Određivanje udjela pojedinačnih polifenola

Za određivanje udjela korištena je sljedeća oprema:

- analitička vaga (Mettler-Toledo, New Classic ML204/01; Zürich, Švicarska)
- blok za grijanje (Dlab HB120-S; Peking, Kina)
- vorteks homogenizator (Dlab MX-S; Peking, Kina)
- rotacijski vakuum uparivač (rotavapor) (IKA VACSTAR digital; Staufen, Njemačka)
- tekućinski kromatograf visoke učinkovitosti (Agilent 1200 Series HPLC) s DAD (Diode Array Detector) i RID (refractive Index Detector) detektorima (Agilent Technologies; Santa Clara, CA, SAD)
- kromatografska (HPLC) kolona Zorbax Extend C18, 4,6x250 mm, 5 μ m (Agilent Technologies; Santa Clara, CA, SAD)
- ultrazvučna kupelj Elmasonic (S60H) (Elma; Singen, Njemačka)
- laboratorijsko posuđe (staklo i plastika) i pribor: laboratorijske čaše, menzure, odmjerne tikvice, reagens boce, tikvice s okruglim dnom (50 i 100 mL), epruvete s navojnim čepom s PTFE septom, Falcon epruvete (15 mL), plastične Eppendorf epruvete (2 mL), plastične Pasteur pipete, lađice za vaganje, špatulice, mikrofilteri, HPLC viala

Senzorska analiza

Panel za senzorsko ocjenjivanje gotovih gumenih bombona činilo je 10 osoba ženskog spola, od kojih 8 zaposlenica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta s prethodnim iskustvom u senzorskom ocjenjivanju različitih prehrambenih proizvoda te 2 studentice Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, prethodno upoznate s teorijskim osnovama senzorske analize.

3.2. METODE

3.2.1. Izrada gumenih bombona

Gumeni bomboni pripremljeni su kombiniranjem sastojaka prema prethodno definiranim recepturama, kako je navedeno u Tablici 2.

Ugljikohidratne sirovine se pripremaju u obliku šećerno-sirupne, odnosno šećerne otopine, dok se želatina priprema zasebno, također u obliku otopine, kao i limunska kiselina, tj. smjesa limunske kiseline i stevije. Navedene otopine se pri definiranim uvjetima miješaju u bombonsku masu koja se zatim lijeva u silikonske kalupe i stavlja na hlađenje.

Tablica 2. Masa (g) pojedinih sirovina korištenih u izradi gumenih bombona. HS – „high sugar“, formulacije sa saharozom, LS – „low sugar“, formulacije sa smanjenim udjelom saharoze, NS – „no sugar“, formulacije bez saharoze, b – bazne formulacije – bez dodataka prebiotika, FOS – fruktooligosaharidi, XOS – ksilooligosaharidi

Sirovine / gramaža	Oznake receptura											
	HS _b	LS _b	NS _b	HS _{inulin}	LS _{inulin}	NS _{inulin}	HS _{FOS}	LS _{FOS}	NS _{FOS}	HS _{XOS}	LS _{XOS}	NS _{XOS}
Želatina	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
Ekstrakt za želatinu	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Saharoza	150	75	-	100	25		100	25	-	100	25	-
Glukoзни sirup	75	75	-	75	75	-	75	75	-	75	75	-
Ksilitol	-	75	75	-	75	75	-	75	75	-	75	75
Maltitol	-	-	150	-	-	100	-	-	100	-	-	100
Inulin	-	-	-	50	50	50	-	-	-	-	-	-
FOS	-	-	-	-	-	-	50	50	50	-	-	-
XOS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	50	50
Limunska kiselina	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Stevija	-	-	-	-	0,3	0,3	-	0,3	0,3	-	0,3	0,3
UKUPNO	318	318	318	318	318	318	318	318	318	318	318	318

Priprema šećerno-sirupne/šećerne otopine

Odvaže se 60 g ekstrakta trave ive u lončić za kuhanje te se stavi zagrijavati na grijaću ploču podešenu na niski stupanj zagrijavanja. Kada je ekstrakt blizu ključanja, usipavaju se prethodno odvagane ugljikohidratne sirovine (Tablica 2), postupno i uz blago miješanje, do njihovog potpunog otapanja. Zatim se podesi grijanje prema srednjoj jakosti i otopina se ostavi da polako

ključa (ukuhava) tijekom približno 15 min, bez dodatnog miješanja. Tijekom ukuhavanja se kontinuirano prati temperatura otopine kao i udio suhe tvari refraktometrijski do postizanja približno 85 °Bx, što odgovara temperaturi kuhanja 115 – 120 °C, ovisno o sastavu otopine. Dobivena otopina naziva se šećerno-sirupna otopina ukoliko se u njezinom sastavu nalazi i glukozni sirup, odnosno šećerna otopina ukoliko se u sastavu nalaze samo praškaste ugljikohidratne sirovine – polioli i punila (inulin, fruktooligosaharidi i ksilooligosaharidi). Pripremljena otopina se skida s grijaće ploče i ostavlja kratko hladiti pri sobnoj temperaturi do temperature pogodne za miješanje s ostalim pripremljenim otopinama u bombonsku masu.

Priprema otopine želatine

Prethodno odvagana želatina se polagano usipava u prethodno odvagano količinu ekstrakta trave ive (Tablica 2) u laboratorijskoj čaši prikladnog volumena, uz stalno miješanje. Dobije se gusta smjesa koja se ostavi stajati pri sobnoj temperaturi tijekom približno 10 min kako bi se želatina hidrirala. Zatim se čaša uroni u toplu vodenu kupelj, zagrijanu pri 60 °C kako bi se želatina u potpunosti otopila. Toplu otopinu želatine potrebno je nekoliko puta promiješati tijekom temperiranja. Želatinu je poželjno pripremiti paralelno s pripremom šećerno-sirupne, tj. šećerne otopine.

Priprema otopine limunske kiseline (i stevije)

Prethodno odvagana količina limunske kiseline, tj. limunske kiseline i stevije (u recepturama gdje je predviđena) miješaju se s malom količinom ekstrakta, približno 1,5 mL te se zagrijavaju pri 60 °C do potpunog otapanja.

Izrada bombonske mase

Kada se šećerno-sirupna, tj. šećerna otopina ohladi do približno 75 °C, dodaje se otopina limunske kiseline (i stevije) te se otopina dobro promiješa. Odmah zatim se dodaje topla otopina želatine te se sve sjedini u bombonsku masu uz miješanje. Bombonska masa se zatim lijeva u staklene čaše i stavlja u vodenu kupelj pri 60 °C 10 – 15 min kako bi se na površinu izdvojili mjehurići zraka koji se ugrađuju u masu uslijed miješanja.

Lijevanje i hlađenje bombonske mase

Topla bombonska masa iz kupelji lijeva se u čiste silikonske kalupe pomoću specijalizirane plastične kapaljke. Pritom je potrebno pripaziti da se u potpunosti ispuni oblik kalupa te da ne zaostaju mjehurići zraka unutar mase ili na površini. Lijevanje bombonske mase potrebno je provesti što je brže moguće (uz zadanu preciznost) s obzirom da se hlađenjem masa skrućuje. Izlivena masa u kalupe stavlja se hladiti u hladnjak pri 4 °C tijekom 1 h, a zatim se ostavlja pri sobnoj temperaturi približno 15 – 24 h.

Oblikovanje i čuvanje gotovih gumenih bombona

Gumeni bomboni se vade iz kalupa i premazuju tankim slojem jestivog ulja (maslinovo ulje). U tu svrhu, mala količina ulja se nanosi na unutrašnji dio rukavica, posebice u području prsta, te se bomboni nježno valjaju između namašćenih rukavica. Tako pripremljeni bomboni spremaju se u prozirne polipropilenske vrećice s oznakom recepture i čuvaju pri sobnoj temperaturi.

3.2.2. Određivanje udjela suhe tvari

Udjel suhe tvari u gumenim bombonima određen je gravimetrijski nakon sušenja do konstantne mase pri 105 °C. U čiste i prethodno izvagane (nakon sušenja do konstantne mase) aluminijske posudice dodaje se kvarcni pijesak (do 1/3 visine posudice) i uzorak bombona mase približno 2 g te se zapiše ukupna masa posudice. Posudica s uzorkom se stavlja u sušionik pri 105 °C tijekom 4 h te se nakon hlađenja u eksikatoru do sobne temperature ponovno važe. Postupak se ponavlja do ustaljivanja mase posudice (razlika 2 vaganja ≤ 0.001 g). Iz razlike u masi posudica prije i nakon sušenja izračuna se udio suhe tvari prema izrazu:

$$\% \text{ suhe tvari} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100$$

Gdje je:

m_1 - masa prazne aluminijske posudice (g)

m_2 - masa aluminijske posudice s uzorkom prije sušenja (g)

m_3 - masa aluminijske posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

Određivanje udjela suhe tvari provedeno je u duplikatu, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost s odgovarajućom standardnom devijacijom.

3.2.3. Određivanje aktiviteta vode

Aktivitet vode u gumenim bombonima određen je pomoću uređaja HygroPalm HP23 (Rotronic, Švicarska). Uređaj mjeri tlak pare iznad proizvoda unutar zatvorenog sustava. Približno 10 g gumenih bombona se usitni te stavi u plastičnu posudicu za mjerenje i poklopi. Uzorak se ostavi najmanje pola sata (a poželjno je uzorak ostaviti i duže) prije mjerenja kako bi se prostor posudice zasitio vodenom parom iz uzorka, tj. kako bi se postigla ravnoteža tlaka pare. Posudica s uzorkom se stavlja u utor uređaja te se u jednom potezu posudica otklopi i odmah stavi mjerni dio uređaja koji u potpunosti mora prianjati na otvor posudice. Na uređaj se potom aktivira mjerenje tijekom kojeg se uređaj ekvilibrira 15 – 20 min te nakon zvučnog signala daje izmjerenu ustaljenu vrijednost aktiviteta vode – a_w . Mjerenje je provedeno u načinu rada „a_wQ“ (a_w quick). Mjerenja aktiviteta vode provedena su u duplikatu, a rezultati su

izraženi kao srednje vrijednosti s pripadajućom standardnom devijacijom.

3.2.4. Određivanje pH

Za određivanje pH vrijednosti gumenih bombona, potrebno je bombone prethodno otopiti u demineraliziranoj vodi. Približno 4 g bombona (2 bombona), za svaku recepturu, otopljeno je u 2 mL vode u začepljenoj staklenoj epruveti pri 50 °C tijekom približno pola sata, uz povremenu homogenizaciju na vorteksu. Otopljeni bomboni kvantitativno su preneseni u odmjerne tikvice od 10 mL. Tako pripremljenim uzorcima izmjerene su pH vrijednosti pomoću pH metra.

Određivanje pH vrijednosti provedeno je u duplikatu, a rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti s pripadajućom standardnom devijacijom.

3.2.5. Određivanje udjela pojedinačnih polifenolnih spojeva

Pojedinačni polifenolni spojevi određeni su tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti (HPLC) prema definiranoj metodi, čemu je prethodila priprema uzorka.

Priprema uzorka

Izvaže se masa jednog bombona (približno 2 g) u staklene epruvete s navojem te se doda 500 µL otopine klorogenske kiseline (500 µg/mL) i 500 µL demineralizirane vode. Epruvete s uzorcima se stavljaju grijati u grijaći blok zagrijan pri 50 °C, na 30 minuta, kako bi se bomboni otopili, uz homogenizaciju na vorteksu svakih 10 minuta. U dobivenu gustu otopinu se dodaje ukupno 8 mL 96 % etanola u 2 porcije po 4 mL i uz intenzivno miješanje na vorteksu. Dodavanjem etanola dolazi do precipitacije želatine. Precipitacija se dodatno inducira hlađenjem uzoraka tijekom 30 min u hladnjaku pri 4 °C. Uzorci se zatim centrifugiraju pri 4000 o/min i temperaturi 4 °C, tijekom 10 min. Supernatant se prelije u tikvicu s okruglim dnom, a talog u epruveti se ispiri s 5 mL 78 % etanola te se ponovi centrifugiranje. Dobiveni supernatant se združi s izvornim u tikvici s okruglim dnom. Dobivena etanolna otopina se zatim uparava na rotavaporu pri 40 °C dok se ne otpari etanol. Preostala vodena otopina u tikvici kvantitativno se prenese u odmjernu tikvicu od 5 mL te se nadopuni vodom do oznake. Dobivena otopina bombona profiltrira se kroz mikrofilter (regenerirana celuloza) veličine pora 0,2 µm (Macherey-Nagel, Njemačka) u HPLC vialu.

HPLC analiza

Pripremljeni uzorci analizirani su kromatografijom obrnutih faza na HPLC koloni Zorbax Extend C18 (4,6x250 mm, 5µm) (Agilent Technologies), metodom razvijenom prema metodi

objavljenoj u radu Belščak-Cvitanović i suradnika (2011). Uzorak je injektiran u volumenu 5 μL , a elucija je provedena dvokomponentnom mobilnom fazom (A – 0,1 % mravlja kiselina u vodi, B – 0,1 % mravlja kiselina u acetonitrilu) pri protoku 1 mL/min, prema definiranom gradijentu: 0. min – 7 % B, 5. min – 7 % B, 45. min – 40 % B, 47. min – 70 % B, 52. min – 70 % B + 10 min ekvilibracije na početne uvjete analize. Temperatura kolone iznosila je 25 °C. Za detekciju je korišten detektor s diodama u nizu (engl. *diode array detector* – DAD), te je odabrana valna duljina snimanja eluata 320 nm.

Identifikacija pikova na kromatogramima uzoraka provedena je usporedbom retencijskih vremena s kromatogramima čistih standarada te dodatno, usporedbom apsorpcijskih spektara snimljenih u valnom području 190 – 600 nm. Kvantifikacija identificiranih spojeva provedena je internim standardom – klorogenskom kiselinom. U tu svrhu, pripremljene su otopine standarada u rasponu koncentracija 10 – 100 $\mu\text{g/mL}$, u 5 razina, te uz dodatak klorogenske kiseline u istoj koncentraciji (u svakoj koncentracijskoj razini) kao i u uzorku (50 $\mu\text{g/mL}$). Baždarni pravci konstruirani su nanošenjem omjera površine standarda i internog standarda na ordinatu, odnosno koncentracije standarda i internog standarda na apscisu.

Priprema uzorka, kao i HPLC analiza, provedena je u duplikatu, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti s pripadajućom standardnom devijacijom.

3.2.6. Senzorska analiza

Senzorsko ocjenjivanje gotovih gumenih bombona provedeno je od strane panela koji je činilo 10 ženskih osoba, od kojih 8 zaposlenica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta te 2 studentice Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta. Ocjenjivanje je provedeno u specijaliziranom senzorskom laboratoriju deskriptivnim testom. Uzorci su označeni šiframa te su ocjenjivani u grupama po 3 bombona, podijeljenima prema udjelu šećera (saharoze). Ocjenjivanje je provedeno u zasebnim odjeljcima, uz danje svjetlo, a između uzoraka je ponuđena voda sobne temperature i neslani rižin kreker za neutralizaciju okusa. Ocjenjivan je intenzitet (test procjene jačine) 4 senzorska parametara: izgled – prozirnost, okus – slatkoća i okus – gorčina, te tekstura – tvrdoća prema intenzitetu, na ljestvici 1 – 9, gdje 1 označava da svojstvo uopće nije izraženo, 5 da je svojstvo umjereno izraženo i 9 da je svojstvo izrazito intenzivno izraženo. Također je određen parametar opće prihvatljivosti na hedonističkoj skali 1 – 9, gdje 1 označava neprihvatljiv proizvod, 5 umjereno prihvatljiv proizvod, a 9 izrazito prihvatljiv proizvod. Primjer senzorskog listića nalazi se u Prilogu 1.

Rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti s pripadajućom standardnom devijacijom.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovome radu istraživana je primjenjivost ekstrakta trave ive u formulacijama gumenih bombona različitog udjela šećera u svrhu formiranja funkcionalnog konditorskog proizvoda. Kao parametri kvalitete funkcionalnih gumenih bombona na bazi ekstrakta trave ive određeni su: suha tvar, aktivitet vode, pH vrijednost, udio polifenolnih spojeva, te je provedena senzorska analiza. Dobiveni gumeni bomboni različitih formulacija razlikovali su se izgledom (Slika 4) i to s obzirom na prozirnost te intenzitet boje.

Svi bomboni zadržali su karakterističan oblik kalupa (medvjedić) te su se iz njih lako i jednostavno vadili. Osnovna boja bombona za sve recepture potjecala je isključivo od ekstrakta trave ive te se može okarakterizirati kao zlatno-žuta. Razlike u nijansama, tj. izraženosti boje, kao i u prozirnosti, proizlazile su iz prisutnosti različitih sastojaka u formulaciji. Na Slici 4. vidljivo je da su formulacije s dodatkom inulina bile najmanje prozirne, a također je i bazna formulacija (bez dodatka prebiotika) bez saharoze (NSb) rezultirala manje prozirnim proizvodom nego bazne formulacije sa saharozom i smanjenim udjelom saharoze. Formulacije s dodatkom ksilooligosaharida bile su najtamnije te su zadržale visoku prozirnost, kao i formulacije s dodatkom fruktooligosaharida te bazne formulacije sa saharozom.

4.1. Udio suhe tvari, aktivitet vode i pH vrijednost

Udio suhe tvari u gumenim bombonima određen je metodom sušenja do konstantne mase te je, u svim formulacijama, iznosio približno 70 – 75 % (Tablica 3). Na udio suhe tvari izravno je utjecao način pripreme gumenih bombona, točnije, priprema šećerno-sirupne, tj. šećerne otopine čijim kuhanjem dolazi do smanjenja udjela tekuće faze (ekstrakta, u ovome radu) uslijed isparavanja. U ovome radu je udio suhe tvari šećerno-sirupne otopine praćen refraktometrijski do postizanja približno 85 °Bx, koliko je bilo maksimalno moguće odrediti pomoću korištenog refraktometra. Povećanje udjela suhe tvari u šećerno-sirupnoj otopini bilo je također praćeno povećanjem temperature vrelišta otopine, što je, općenito, važno koligativno svojstvo u šećernoj konditorskoj industriji (Lees i Jackson, 1992). U konvencionalnom smislu, u izradi gumenih bombona se šećerno-sirupna otopina kuha do temperature 118 – 121 °C (Goldoni, 2004), odnosno do tzv. „hard ball“ faze, tj. faze čvrste kuglice kada se naglim hlađenjem sirupa može lako formirati kuglica koja zadržava oblik tijekom vremena. U navedenom stupnju kuhanja otopine, postignuti udio suhe tvari iznosi približno 90 %.



Slika 4. Izgled gotovih gumenih bombona na bazi ekstrakta trave ive pripremljenih u različitim formulacijama s obzirom na udjel šećera i prisutnost prebiotika (HS „high sugar“, formulacije sa saharozom, LS „low sugar“, formulacije sa smanjenim udjelom saharoze, NS „no sugar“, formulacije bez saharoze, b „bazna“ – formualcija bez dodatka prebiotika, FOS – fruktooligosaharidi, XOS – ksilooligosaharidi) (vlastita fotografija)

Dodavanjem različitih drugih sastojaka (osim saharoze i glukoznog sirupa), povećanje temperature vrelišta se mijenja (Lees i Jackson, 1992), stoga je u ovome radu udio suhe tvari sirupa određen i refraktometrijski kako bi postupak izrade gumenih bombona bio približno jednak za sve formulacije. Ipak, zbog nedovoljne preciznosti referaktometrijskog mjerenja pri visokim udjelima suhe tvari, a također i prisutnosti zarobljenih mjehurića zraka u sirupu, proizvedene su šećerno-sirupne/šećerne otopine različitog udjela suhe tvari, što je rezultiralo i različitim udjelima suhe tvari gotovih gumenih bombona. Udio dodane tekuće faze (ekstrakta) u otopini želatine bio je jednak u svim recepturama te nije utjecao na promjenu udjela suhe tvari u gotovom proizvodu. Udio vode u gotovom proizvodu, u kontekstu svih konditorskih proizvoda na bazi šećera, pa tako i gumenih bombona, značajno utječe na teksturu koja je pak iznimno važna s aspekta senzorske prihvatljivosti proizvoda.

Tablica 3. Udio suhe tvari, aktivitet vode i pH vrijednost gumenih bombona različitih formulacija

UZORAK	% s.tv.	a_w	pH
HS _b	71,35 ± 0,47	0,76 ± 0,001	3,71 ± 0,07
LS _b	69,74 ± 0,73	0,76 ± 0,002	3,84 ± 0,02
NS _b	75,72 ± 0,14	0,71 ± 0,004	3,80 ± 0,02
HS _{inulin}	71,41 ± 0,40	0,79 ± 0,002	3,76 ± 0,09
LS _{inulin}	69,85 ± 0,64	0,78 ± 0,009	3,84 ± 0,02
NS _{inulin}	75,29 ± 0,24	0,79 ± 0,009	3,54 ± 0,09
HS _{FOS}	72,89 ± 0,94	0,79 ± 0,002	3,76 ± 0,05
LS _{FOS}	72,07 ± 0,56	0,77 ± 0,005	3,7 ± 0,02
NS _{FOS}	74,54 ± 0,19	0,75 ± 0,003	3,78 ± 0,08
HS _{XOS}	70,17 ± 0,47	0,77 ± 0,003	3,83 ± 0,01
LS _{XOS}	70,40 ± 0,18	0,73 ± 0,000	3,91 ± 0,01
NS _{XOS}	74,65 ± 0,14	0,69 ± 0,001	3,78 ± 0,01

Osим udjela suhe tvari, važan parametar kakvoće gumenih bombona je i aktivitet vode (a_w) koji predstavlja omjer tlaka pare prehrambenog proizvoda u postignutom ravnotežnom stanju bez utjecaja vanjskog medija (zraka) i tlaka pare vode pri jednakim uvjetima (U.S. Food and Drug Administration, 1984). Vrijednosti aktiviteta vode posebno su važni u smislu mikrobiološke stabilnosti i trajnost proizvoda, a povišene vrijednosti (iznad 0,6) pružaju povoljne uvjete za rast i razmnožavanje mikroorganizama kao što su kvasci i plijesni, odnosno bakterije pri vrijednostima blizu 0,9 (Ergun i sur., 2010). Vrijednosti aktiviteta vode gumenih bombona proizvedenih u ovome radu iznosile su 0,69 – 0,79 (Tablica 3) što je nešto više nego u konvencionalno formiranim proizvodima te vrste (0,50 – 0,75) (Ergun i sur., 2010) te je najvjerojatnije povezan s povećanim udjelom suhe tvari u odnosu na konvencionalne proizvode (78 – 92 %). Oba parametra predstavljaju svojevrsan rizik od preuranjenog mikrobiološkog kvarenja, ali i za razvoj nepoželjnih fizikalno-kemijskih pojava uslijed migracije vlage u proizvodu, a koje se prvenstveno odražavaju na smanjenje njegove senzorske kvalitete (Ergun i sur., 2010). Vrijednosti pH proizvedenih gumenih bombona bile su u kiselom području zbog dodatka limunske kiseline kao regulatora kiselosti, a iznosile su 3,54 – 3,91 (Tablica 3). S obzirom da je pH tekuće faze (najčešće vodene) tijekom pripreme bombonskih proizvoda od velike važnosti te je poželjno da je u neutralnom području kako bi se spriječila prekomjerna inverzija saharoze pri visokim temperaturama kuhanja, a time i negativan utjecaj na boju (posmeđivanje) i teksturu (ljepljivost, smanjenje jakosti hidrokolooidnog gela), kiselinu je potrebno dodati pred sam kraj pripreme bombonske mase te u ohlađenu masu. U ovome radu,

osim kao regulator kiselosti, dodatak limunske kiseline može djelovati kao konzervans, što je potencijalno važno s obzirom na relativno visok udio vode u proizvodu te a_w vrijednosti.

4.2. Udio pojedinačnih polifenola

Polifenolni spojevi u gumenim bombonima proizvedenima u ovome radu potječu iz vodenog ekstrakta trave ive koji je korišten kao tekuća faza u pripremi šećernih sirovina i želatine. Količina ekstrakta bila je jednaka u svim formulacijama (Tablica 4). Primjenom tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti analiziran je ekstrakt trave ive korišten u izradi bombona kao i gotovi bomboni različitih formulacija. Primjenom vanjskih standarada, identificirana su dva feniletanoidna glikozida – ehinakozid (retencijsko vrijeme približno 20 min) i verbaskozid (retencijsko vrijeme približno 24,5 min), kako u ekstraktu trave ive, tako i u svim formulacijama gotovih bombona. Usporedbom kromatograma, može se zaključiti da nije došlo do promjene profila prisutnih polifenola, u kvalitativnom smislu (Prilozi 2 i 3; dodatan pik na 13,9 min na kromatogramu gumenog bombona se odnosi na klorogensku kiselinu koja je dodana kao interni standard za kvantifikaciju ostalih spojeva). Daljnjim uvidom u apsorpcijske spektre (390 – 600 nm) pojedinih pikova na kromatogramima, vidljivo je gotovo idealno preklapanje spektra pikova u retencijskom području 23 – 25 min, što indicira da se radi o strukturno sličnim spojevima, najvjerojatnije također iz skupine feniletanoidnih glikozida; međutim standardi za njihovu identifikaciju nisu bili dostupni. Ipak, može se zaključiti da su feniletanoidni glikozidi dominantni polifenolni spojevi u vodenom ekstraktu trave ive, od kojih se ističe ehinakozid. U Tablici 4. prikazani su udjeli ehinakozida i verbaskozida u gumenim bombonima, izraženi po serviranju, koje za bombonske proizvode, prema preporuci FDA, iznosi 30 g (FDA, 2022). Konzumacijom 1 serviranja gumenih bombona na bazi ekstrakta trave ive, unosi se približno 15,0 – 20,5 mg ehinakozida te 2,2 – 2,8 mg verbaskozida. Male varijacije udjela ovih spojeva, s obzirom na formulaciju, mogu se pripisati različitim udjelima vode u proizvedenim gumenim bombonima kao i uvjetima njihove pripreme pri kojima je potencijalno moglo doći do degradacije (u vrlo malom udjelu). S obzirom da je u izradi svih formulacija korišten jednak volumen ekstrakta trave ive te da su uvjeti pripreme bili gotovo jednaki, očekivan je približno jednak udio ehinakozida i verbaskozida u svim gumenim bombonima. Ako se uzme u obzir da je pri izradi gumenih bombona iznosilo u prosjeku najmanje 80 – 100 %. S obzirom da je trava iva, pripremljena kao biljna infuzija (vodeni ekstrakt), izrazito gorkog okusa, većinom nepoželjnog pa i odbojnog za konzumaciju, gumeni bomboni predstavljaju potencijalno poželjan oblik unosa polifenola iz trave ive, a konzumacijom 1 serviranja takvih

bombona unosi se približno 10 % količine polifenola prisutnih u 100 mL koncentriranog biljnog napitka. Daljnje obogaćivanje gumenih bombona s obzirom na udio polifenola potencijalno je moguće pripremom još koncentriranijeg ekstrakta kao tekuće faze u izradi bombona, međutim, istovremeno bi se povećao udio i ostalih spojeva – nositelji gorkog okusa te bi senzorska prihvatljivost bila upitna.

Tablica 4. Udio ehinakoziida i verbaskoziida u različitim formulacijama gumenih bombona

UZORCI	mg (ehinakoziida)/serviranje*	mg (verbaskoziida)/serviranje*
HS _b	19,90 ± 1,50	2,73 ± 0,18
LS _b	17,88 ± 1,30	2,68 ± 0,09
NS _b	20,43 ± 1,02	2,81 ± 0,12
HS _{inulin}	18,81 ± 0,28	2,58 ± 0,04
LS _{inulin}	17,29 ± 0,73	2,40 ± 0,13
NS _{inulin}	15,94 ± 0,37	2,18 ± 0,06
HS _{FOS}	17,08 ± 0,45	2,39 ± 0,04
LS _{FOS}	16,07 ± 0,32	2,23 ± 0,06
NS _{FOS}	15,14 ± 1,77	2,27 ± 0,23
HS _{xos}	17,16 ± 1,24	2,19 ± 0,12
LS _{xos}	18,05 ± 0,48	2,55 ± 0,08
NS _{xos}	16,67 ± 0,26	2,32 ± 0,05
	mg/100 mL**	mg/100 mL**
Ekstrakt trave ive**	160,29	20,00

*30 g

**pri uvjetima ekstrakcije kako je definirano u poglavlju 3.1.1

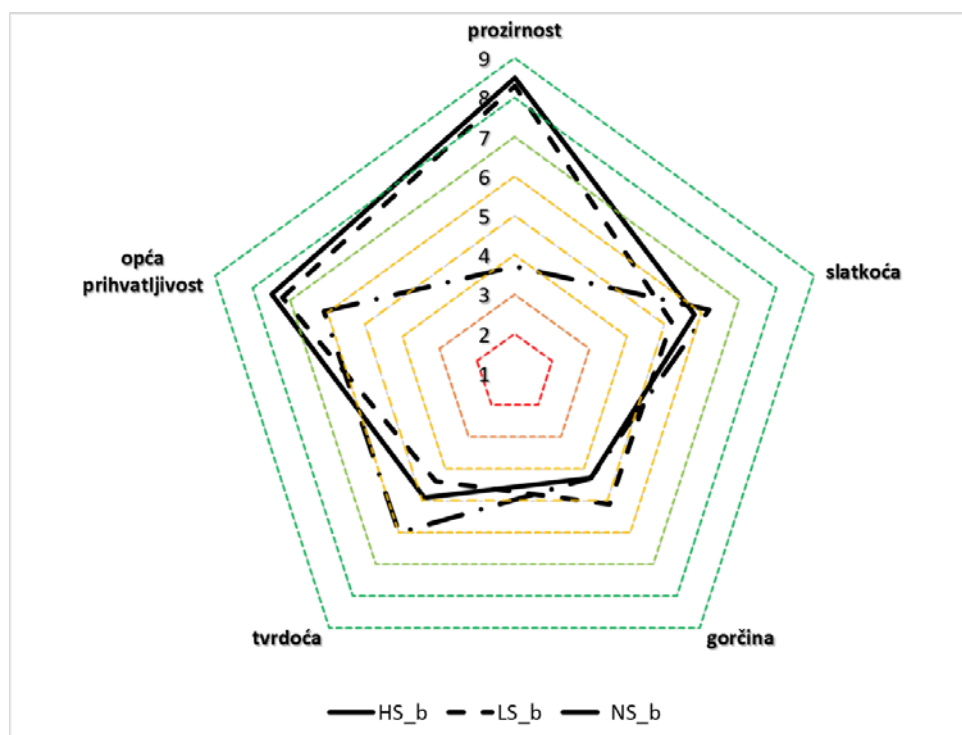
Osim obogaćivanjem polifenolima podrijetlom iz trave ive, potencijalni funkcionalni aspekt proizvedenih gumenih bombona dodatno je istaknut primjenom prebiotika u formulacijama. U tu svrhu korišteni su inulin, fruktooligosaharidi i ksilooligosaharidi. Konzumacija prebiotika može potencijalno blagotvorno djelovati na cjelokupno zdravlje konzumenta putem složenih mehanizama interakcije intestinalne mikrobiote i domaćina. S obzirom na udio prebiotika u formulaciji (Tablica 2) od približno 13 – 15 % na masu gotovog bombona, konzumacijom 1 serviranja gumenih bombona pripremljenih s prebioticima, unosi se približno 4 – 4,5 g istih, odnosno, proizvedeni gumeni bomboni bi se mogli deklarirati kao visoko bogati vlaknima (Pravilnik, 2010).

4.3. Senzorska analiza

Senzorsku analizu proveo je panel s prethodnim iskustvom u evaluaciji senzorskih parametara različitih prehrambenih proizvoda. Analiza je obuhvaćala procjenu intenziteta vizualnih, okusnih i teksturalnih karakteristika: prozirnosti, slatkoće, gorčine i tvrdoće. Također je određena i opća prihvatljivost na hedonističkoj skali. Rezultati, kao srednje vrijednosti iskazanih intenziteta za pojedino svojstvo, kao i opće prihvatljivosti, prikazani su na Slikama 5-8. Usporedbom formulacija gumenih bombona bez dodatka prebiotika, tzv. „baznih“ formulacija (Slika 5), uočljiva je visoka opća prihvatljivost formulacija sa saharozom i smanjenim udjelom saharoze (HSb, 7,5 i LSb, 7,2), koja je karakterizirana visokom prozirnošću gumenih bombona (8-9) te umjerenom slatkoćom (5-6), niskom do umjereno izraženom gorčinom i tvrdoćom (4-5). Gumeni bomboni bez saharoze bili su niže ocijenjeni s obzirom na opću prihvatljivost (NSb, 6,1), u odnosu na formulacije sa saharozom, što je najvjerojatnije rezultat smanjene prozirnosti ovih bombona (3,7) te nešto veće tvrdoće (6,0), budući da su intenzitet slatkoće i gorčine ocijenjeni slično kao i za formulacije sa saharozom. Gorčina, općenito vrlo izražena u čistom ekstraktu trave ive, je najintenzivije percipirana u formulaciji LS, što je negativno koreliralo s percepcijom slatkoće. Dodatak prebiotika u formulacije sa saharozom rezultirao je smanjenom općom prihvatljivosti (6-6,5) i smanjenom prozirnosti gumenih bombona (Slika 6). Pritom, dodatak inulina je najznačajnije utjecao na smanjenje prozirnosti (HSinulin, 1,6). Slatkoća je također bila ocijenjena kao manje intenzivna, dodatkom prebiotika, što je bilo i očekivano s obzirom da prebiotici imaju manju slatkoću od saharoze, a njihovim dodatkom u formulacije je u istom postotku smanjen udio saharoze. Gorčina je bila najizraženija s dodatkom ksilooligosaharida, ali i dalje umjerenog intenziteta (4,9). Dodatak prebiotika je rezultirao povećanom tvrdoćom gumenih bombona sa saharozom. Općenito se može zaključiti da, iako se dodatak prebiotika najviše odrazio na percepciju prozirnosti, ista nije bila odlučujuća za formiranje opće prihvatljivosti, kojoj su više pridonosile male razlike u doživljenom intenzitetu slatkoće, gorčine i tvrdoće između uzoraka. Usporedbom formulacija smanjenog udjela saharoze i s dodatkom različitih prebiotika (Slika 7), vidljivo je također smanjenje opće prihvatljivosti u odnosu na baznu formulaciju, neovisno o dodanom prebiotiku, ali to smanjenje je manje izraženo nego u slučaju formulacija sa saharozom. Dodatak prebiotika inulina, i u ovoj formulaciji je značajno smanjio prozirnost gumenih bombona (2,3). Intenzitet slatkoće je ostao približno jednak, odnosno nešto jače izražen u slučaju dodatka fruktooligosaharida. Intenzitet gorčine gumenih bombona je bio donekle smanjen, a tvrdoća povećana, neovisno o vrsti dodanog prebiotika. U formulacijama bez šećera (Slika 8), dodatak prebiotika fruktooligosaharida i ksilooligosaharida

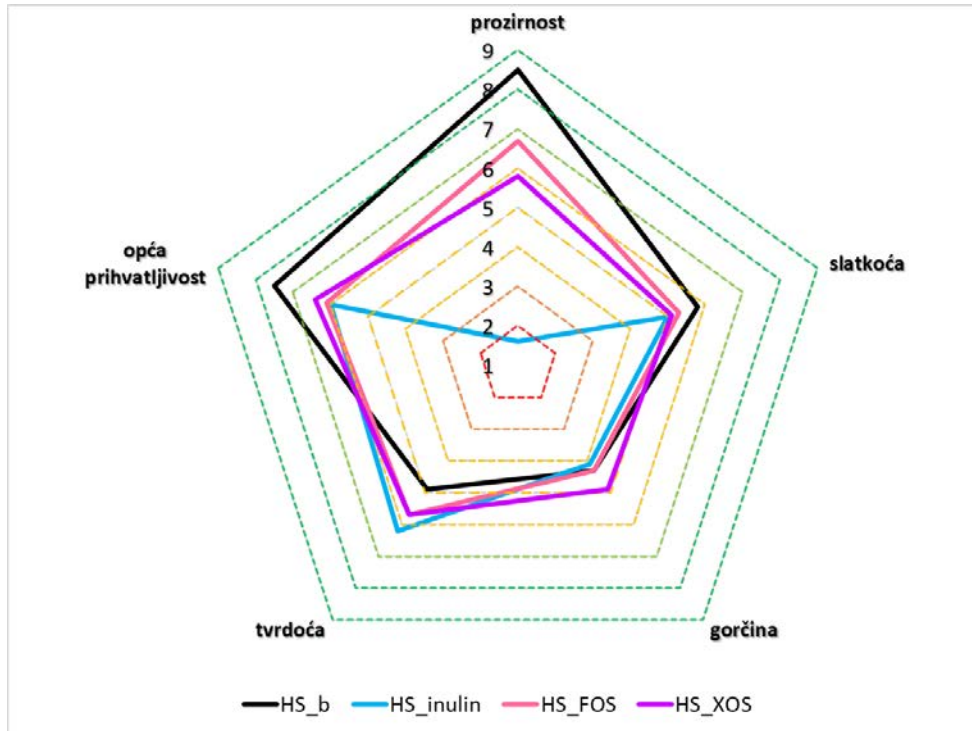
pozitivno je utjecao na prozirnost gumenih bombona te je ista bila značajno povećana. Kao i u formulacijama sa saharozom, dodatak inulina je smanjio prozirnost gumenih bombona. Intenziteti slatkoće, gorčine i tvrdoće su bili slični baznoj formulaciji (NSb), s nešto manje izraženom tvrdoćom i gorčinom u bombonima s dodatkom ksilooligosaharida. Opća prihvatljivost gumenih bombona s dodatkom prebiotika u formulaciji bez saharoze nije se mijenjala u odnosu na baznu formulaciju. Okusne i teksturalne karakteristike imale su veći utjecaj na formiranje opće prihvatljivosti od vizualne percepcije, tj. promjene intenziteta prozirnosti.

Osim senzorskih karakteristika koje su ocjenjivane, neki panelisti su primijetili prisutnost drugih okusnih atributa, poput arome lipinog meda i biljne arome, a također i nepoželjnog naknadnog okusa, poblizje definiranog kao „gorčina koja zaostaje“. Intenzitet ovih dodatnih okusnih atributa je bilo teško ocijeniti budući da panelisti nisu jednako značajno mogli definirati te okuse. Budući da su evaluirani okusni atributi slatkoće i gorčine znatno doprinosili formiranju opće prihvatljivosti, za pretpostaviti je da je i prisutnost drugih okusnih atributa koje je panelist mogao ocijeniti, također utjecala na formiranje opće prihvatljivosti, bio u pozitivnom ili negativnom smislu. Prisutnost naknadnog okusa mogla je biti potencirana dodatkom stevije (steviol glikozida) u nekim formulacijama, a svrha kojeg je bila održati slatkoću sličnu baznoj recepturi.

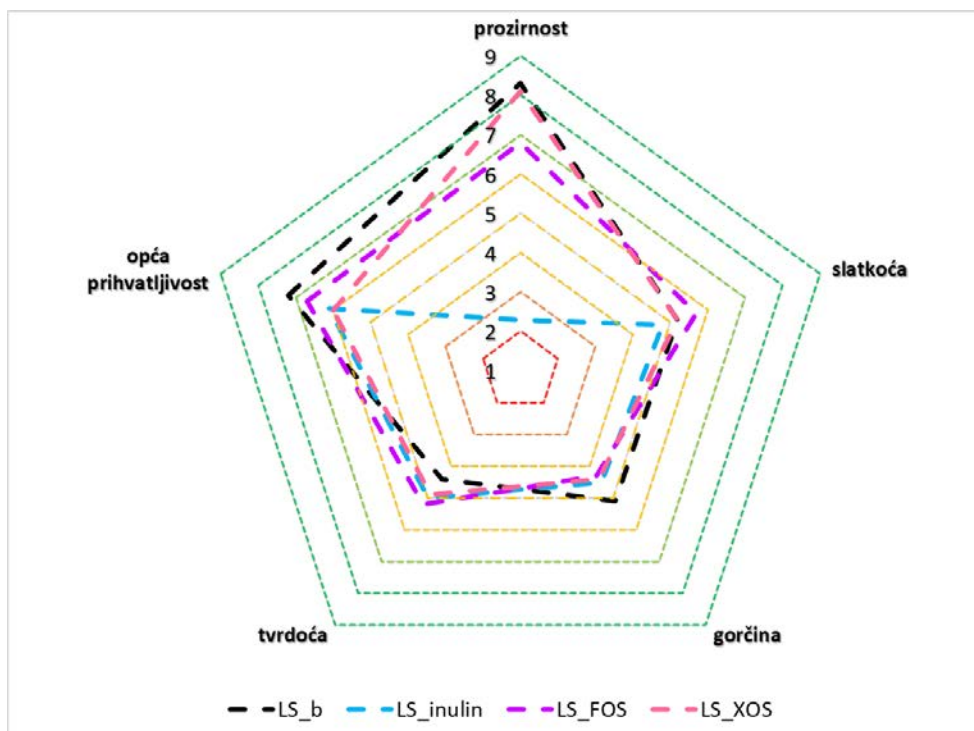


Slika 5. Rezultati senzorske analize gumenih bombona različitog udjela šećera bez dodatka

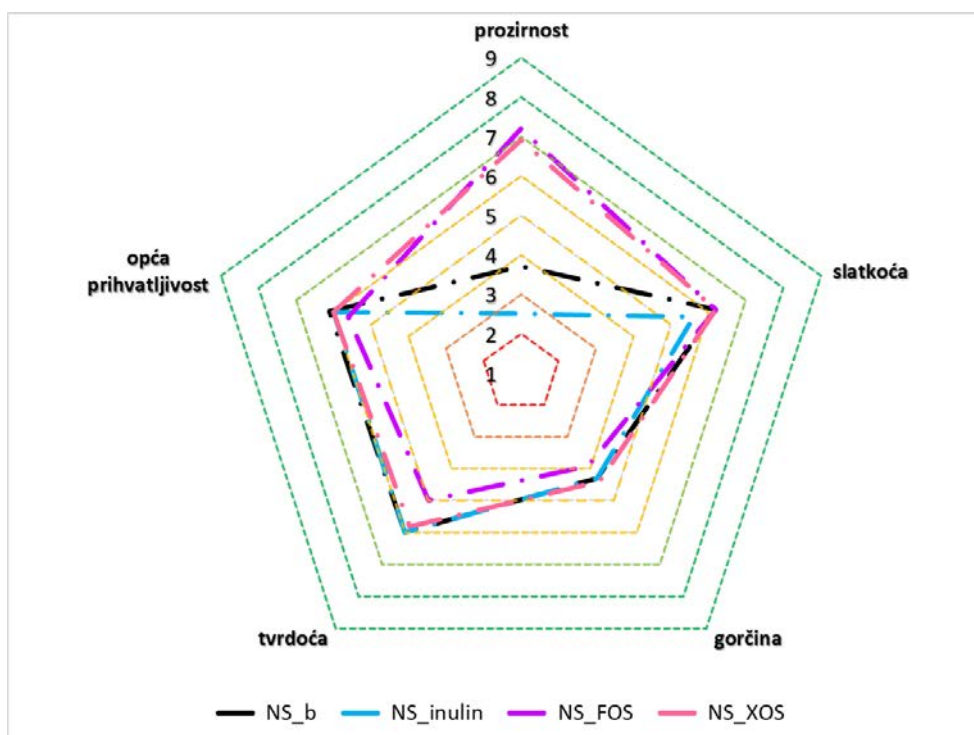
prebiotika (HS „high sugar“ – formulacija sa saharozom, LS „low sugar“ – formulacija sa smanjenim udjelom saharoze, NS „no sugar“ – formulacija bez saharoze)



Slika 6. Rezultati senzorske analize formulacija gumenih bombona sa saharozom (HS) i različitim dodanim prebioticima (b „bazna“ – formulacija bez dodatka prebiotika, FOS – fruktooligosaharidi, XOS – ksilooligosaharidi)



Slika 7. Rezultati senzorske analize formulacija gumenih bombona sa smanjenim udjelom saharoze (LS) i različitim dodanim prebioticima (b „bazna“ – formulacija bez dodatka prebiotika, FOS – fruktooligosaharidi, XOS – ksilooligosaharidi)



Slika 8. Rezultati senzorske analize formulacija gumenih bombona bez saharoze (NS) i različitim dodanim prebioticima (b „bazna“ – formulacija bez dodatka prebiotika, FOS – fruktooligosaharidi, XOS – ksilooligosaharidi)

5. ZAKLJUČCI

1. Formulacije gumenih bombona različitog udjela šećera, sa ili bez dodatka prebiotika, na bazi vodenog ekstrakta trave ive, rezultirale su gotovim proizvodom karakterističnog oblika kalupa i teksture elastične na dodir, dok je boja proizvoda potjecala od dodanog ekstrakta.
2. U pripremljenim gumenim bombonima postignut je udio suhe tvari od približno 70-75 %, što predstavlja donju granicu zahtjeva za tu kategoriju bombonskih proizvoda i izravna je posljedica duljine kuhanja šećerno-sirupne otopine u pripremi bombonske mase. Vrijednosti aktiviteta vode gotovih gumenih bombona (0,69-0,79) indiciraju povećani rizik od neželjenih učinaka uslijed migracije vode u proizvodu te potencijalno smanjenu mikrobiološku stabilnost proizvoda.
3. Primjenom HPLC analize, u pripremljenim gumenim bombonima s dodatkom ekstrakta trave ive određeni su feniletanoidni glikozidi: ehinakozid i verbaskozid, od kojih je ehinakozid određen u približno deset puta većem udjelu. Udio ovih spojeva ostao je očuvan tijekom pripreme gumenih bombona.
4. Senzorskom analizom utvrđena je visoka opća prihvatljivost pripremljenih gumenih bombona, posebice formulacija sa saharozom (7,5/9) i smanjenim udjelom saharoze (7,2/9), bez dodatka prebiotika. Visoka prihvatljivost bila je korelirana s umjerenim intenzitetima slatkoće, gorčine i tvrdoće.
5. Iako se najveći utjecaj dodatka prebiotika očitovao se kroz intenzitet prozirnosti te su gumeni bomboni s dodatkom inulina ocijenjeni kao najmanje prozirni, okusni i teksturalni parametri su se pokazali važnijima za formiranje opće prihvatljivosti proizvoda. Dodatak prebiotika općenito je rezultirao smanjenjem opće prihvatljivosti gumenih bombona, do razine umjerene prihvatljivosti.
6. Gumeni bomboni su se pokazali kao pogodan oblik prehrambenog proizvoda za uklanjanje ekstrakta trave ive, pri čemu je bilo moguće kreirati visoko prihvatljiv proizvod umjerene gorčine koji odgovara različitim prehrambenim potrebama s obzirom na unos šećera i energije te isti dodatno obogatiti prebiotičkim vlaknima kako bi se potencijalno ostvarili funkcionalni učinci na imunološki sustav.

6. POPIS LITERATURE

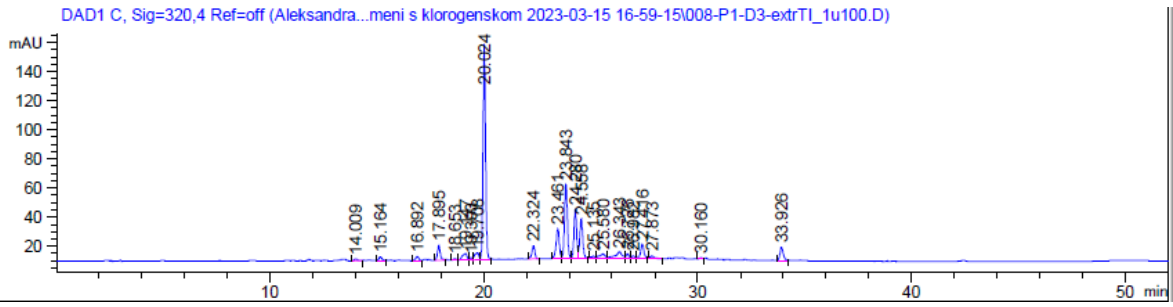
- Alipieva K, Korkina L, Orhan IE, Georgiev M I (2014). Verbascoside- A review of its occurrence, (bio) synthesis and pharmacological significance. *Biotechnology Advances*, **32**(6), 1065-1076. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.07.001>
- Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, Mustafa S, Yusof RM, Hassan FA (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, **5**(4), 1542-1553. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.009>
- Anonymous 1 (2023) <https://botany.cz/en/teucrium-montanum/>. Pristupljeno 8. svibnja 2023.
- Belščak-Cvitanović A, Stojanović R, Manojlović V, Komes D, Juranović Cindrić i, Nedović V, Bugarski B (2011) Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate-chitosan system enriched with ascorbic acid by electrostatic extrusion. *Food Research International*, **44**, 1094-1101. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.030>
- Cardinali A, Pati S, Minervini F, D'Antuono I, Linsalata V, Lattanzio V (2012). Verbascoside, isoverbascoside, and their derivatives recovered from olive mill wastewater as possible food antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60**(7), 1822-1829. <https://doi.org/10.1021/jf204001p>
- Diplock AT, Aggett PJ, Ashwell M, Bornet F, Fern FB, Roberfroid MB, (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document, *British Journal of Nutrition*, **81**(1), 1-27. doi:10.1017/S0007114599000471
- Ergun R, Lietha R, Hartel RW (2010). Moisture and shelf life in sugar confections. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **50**(2), 162-192. <https://doi.org/10.1080/10408390802248833>
- Erickson, S., Carr, J. (2020). The technological challenges of reducing the sugar content of foods. *Nutrition Bulletin*, **45**(3), 309-314. <https://doi.org/10.1111/nbu.12454>
- European Communities (1990) Council Directive 90/496/EEC of 24th of September 1990 on nutrition labelling for foodstuffs. Official Journal of the European Communities No. L 276, 6.10.90, pp. 40, Luxembourg.
- Farzana M, Shahriar S, Jeba FR, Tabassum T, Araf Y, Ullah MA, i sur. (2022). Functional food: complementary to fight against COVID-19. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, **11**(1), 33. <https://doi.org/10.1186%2Fs43088-022-00217-z>
- FDA (2014) Water activity (a_w) in foods. FDA-U.S. Food and drug administration, <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-technical-guides/water-activity-aw-foods>. Pristupljeno 2. lipnja 2023.

- FDA (2022) Serving Size Updates on the New Nutrition Facts Label. FDA-U.S. Food and drug administration, <https://www.fda.gov/food/new-nutrition-facts-label/serving-size-updates-new-nutrition-facts-label>. Pristupljeno 18. lipnja 2023.
- Future Market Insights (2023) Sugar Confectionery Market: Sugar Confectionery Market Outlook. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/sugar-confectionery-market>. Pristupljeno 20. svibnja 2023.
- Ghosh S, Sudha ML (2012). A review on polyols: new frontiers for health-based bakery products. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **63**(3), 372-379. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.627846>
- Gok S, Toker OS, Palabiyik I, Konar N (2020). Usage possibility of mannitol and soluble wheat fiber in low calorie gummy candies. *LWT*, **128**, 109531. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109531>
- Goldoni L (2004) Tehnologija konditorskih proizvoda, Dio 2: Bombonski proizvodi, Kugler, Zagreb.
- Granato D, Santos JS, Salem RDS, Mortazavian AM, Rocha RS, Cruz AG (2018). Effects of herbal extracts on quality traits of yogurts, cheeses, fermented milks, and ice creams: a technological perspective, *Current Opinion in Food Science*, **19**, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.11.013>
- Grenby TH (1982) Nutritive sucrose substitutes and dental health. U: *Developments in Sweeteners - 2*, pp. 51-88 [TH Grenby, KJParker and MG Lindley, editors]. London: Applied Science Publishers.
- Gullon P, Moura P, Esteves MP, Girio FM, Domínguez H, Parajo JC (2008). Assessment on the fermentability of xylooligosaccharides from rice husks by probiotic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 7482–7487. <https://doi.org/10.1021/jf800715b>
- Gunes R, Palabiyik I, Konar N, Toker OS (2022). Soft confectionery products: Quality parameters, interactions with processing and ingredients. *Food Chemistry*, **385**, 132735. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132735>
- Hartel RW, Joachim H, Hofberger R (2018). *Confectionery science and technology*, Vol. 536. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer, str 330. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-61742-8>
- Konar N, Gunes R, Palabiyik I, Toker OS (2022). Health conscious consumers and sugar confectionery: Present aspects and projections. *Trends in Food Science & Technology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.001>

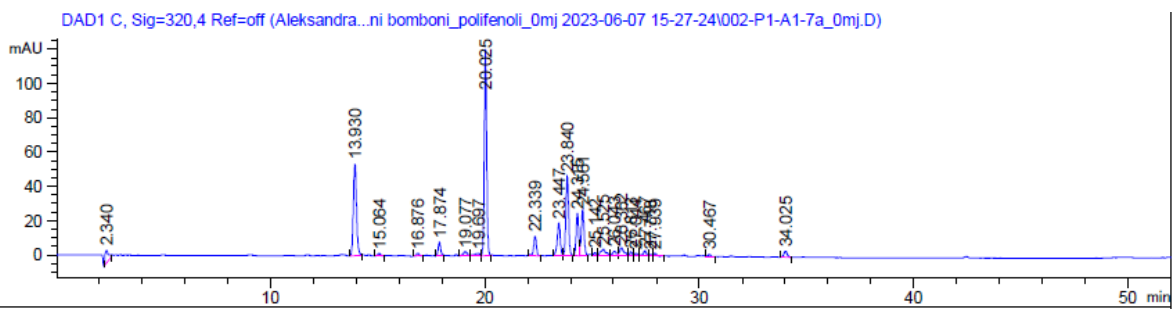
- Kumar CG, Sripada S, Poornachandra Y (2018). Status and future prospects of fructooligosaccharides as nutraceuticals. *Role of Materials Science in Food Bioengineering*, 451-503. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811448-3.00014-0>
- Lees R, Jackson EB (1992) Sugar Confectionery and Chocolate Manufacture. Blackie Academic & Professional, London.
- Liu J, Yang L, Dong Y, Zhang B, Ma X. (2018). Echinacoside, an inestimable natural product in treatment of neurological and other disorders. *Molecules*, **23**(5), 1213. <https://doi.org/10.3390/molecules23051213>
- Liu MQ, Huo WK, Xu X, Weng XY (2017). Recombinant *Bacillus amyloliquefaciens* xylanase A expressed in *Pichia pastoris* and generation of xylooligosaccharides from xylans and wheat bran. *International Journal of Biological Macromolecules*, **105**, 656–663. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.073>
- Mäkinen KK (2014). Authorised EU health claims for xylitol and sugar-free chewing gum (SFCG). U: Sadler MJ, ur., *Nutrients and Food Ingredients with Authorised EU Health Claims*. Woodhead Publishing, str. 46-72. <https://doi.org/10.1533/9780857098481.2.46>
- Mandura A, Šeremet D, Ščetar M, Vojvodić Cebin A, Belščak-Cvitanović A, Komes D (2020). Physico-chemical, bioactive, and sensory assessment of white tea-based candies during 4-months storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, **44**(8), e14628. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.14628>
- Miremadi F, Shah NP (2012). Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. *International Food Research Journal*, **19**(4).
- Olesen M, Gudmand-Høyer E (2000). Efficacy, safety, and tolerability of fructooligosaccharides in the treatment of irritable bowel syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **72**(6), 1570-1575. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.6.1570>
- Palaniappan A, Antony U, Emmambux MN (2021). Current status of xylooligosaccharides: Production, characterization, health benefits and food application. *Trends in Food Science & Technology*, **111**, 506-519. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.047>
- Parajó JC, Garrote G, Cruz JM, Dominguez H (2004). Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of lignocellulosic materials. *Trends in Food Science & Technology*, **15**(3-4), 115-120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.009>
- Petrović D (2014). Trava iva od mrtva pravi živa. *Pčela - časopis saveza pčelara „Kadulja“* **6**: 7-8.
- Pickford EF, Jardine NJ (2000). Functional confectionery. U: Gibson GR i Williams CM (ur.), *Functional Foods*. Cambridge: Woodhead Publishing, str. 259-286.

- Pravilnik (2005) Pravilnik o proizvodima sličnim čokoladi, krem-proizvodima i bombonskim proizvodima. Narodne novine 75, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2005_06_73_1442.html. Pristupljeno 20. svibnja 2023.
- Pravilnik (2010) Pravilnik o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama. Narodne novine 84, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_07_84_2402.html Pristupljeno 17. lipnja 2023.
- Roberfroid M (2002): Global view on functional foods: European perspectives, *British Journal of Nutrition*, **88**(Suppl. 2) (S133–S138) <https://doi.org/10.1079/bjn2002677>
- Roberfroid M (2007). Prebiotics: the concept revisited. *The Journal of Nutrition*, **137**(3), 830S-837S. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.830S>
- Sahlan M, Ridhowati A, Hermansyah H, Wijanarko A, Rahmawati O, Pratami DK (2019). Formulation of hard candy contains pure honey as functional food. U: AIP Conference Proceedings 2092 - Proceedings of the International Symposium of Biomedical Engineering (ISBE) 2018, Jakarta, 040010. <http://dx.doi.org/10.1063/1.5096743>
- Saint-Eve A, Déléris I, Panouillé M, Dakowski F, Cordelle S, Schlich P, i sur. (2011). How texture influences aroma and taste perception over time in candies. *Chemosensory Perception*, **4**(1-2), 32. <http://dx.doi.org/10.1007/s12078-011-9086-4>
- Salminen S, Halikainen A (2001). Sweeteners: Nutritive sweeteners. U: Larry Branen A (ur.) Food Additives: Second Edition Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker, Inc, str. 447-476.
- Sharma S, Agarwal N, Verma P (2012). Miraculous health benefits of prebiotics. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **3**(6), 1544.
- Shoib M, Shehzad A, Omar M, Rakha A, Raza H, Sharif HR, i sur. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, **147**, 444-454. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>
- Singh RD, Talekar S, Muir J, Arora A (2019). Low degree of polymerization xylooligosaccharides production from almond shell using immobilized nanobiocatalyst. *Enzyme and Microbial Technology*, **130**, 109368. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109368> ,.
- Stanković M (2020). Teucrium species: Biology and Applications. Springer International Publishing.
- Šeremet D, Vugrinec K, Petrović P, Butorac A, Kuzmić S, Vojvodić Cebin A, Mandura A, Lovrić M, Pjanović R, Komes D (2022). Formulation and characterization of liposomal encapsulated systems of bioactive ingredients from traditional plant mountain germander

- (*Teucrium montanum* L.) for the incorporation into coffee drinks. *Food Chemistry*, **370**, 131257. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131257>
- Tumbas VT, Mandić AI, Četković GS, Đilas SM, Čanadanović-Brunet JM (2004). HPLC analysis of phenolic acids in mountain germander (*Teucrium montanum* L.) extracts. *Acta Periodica Technologica*, (35), 265-273. DOI: 10.2298/APT0435265T
- Vitali Čepo D, Vedrina Dragojević I (2012). Inulin i oligofruktoza u prehrani i prevenciji bolesti. *Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, **1**(1), 36-43.
- Walter T (1999). Bread goes prebiotic. *International Food Ingredients*, **2**, 20-21.
- Xue Z, Yang B (2016) Phenylethanoid glycosides: Research advances in their phytochemistry, pharmacological activity and pharmacokinetics. *Molecules*, **21**(8), 991. <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules21080991>
- Zhang D, Lu C, Yu Z, Wang X, Yan L, Zhang J, i sur. (2017). Echinacoside alleviates UVB irradiation-mediated skin damage via inhibition of oxidative stress, DNA damage, and apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2017**, 6851464 <https://doi.org/10.1155/2017/6851464>
- Zimeri JE, Kokini JL (2003). Rheological properties of inulin–waxy maize starch systems. *Carbohydrate Polymers*, **52**(1), 67-85. [http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00268-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00268-0)
- Zumbe A, Lee A, Storey D (2001). Polyols in confectionery: the route to sugar-free, reduced sugar and reduced calorie confectionery. *British Journal of Nutrition*, **85**(S1), S31-S45. <https://doi.org/10.1079/BJN2000260>



Prilog 2. Kromatogram ekstrakta trave ive



Prilog 3. Kromatogram gumenih bombona obogaćenih ekstraktom trave ive

Izjava o izvornosti

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

Vlastoručni potpis