

Razvoj receptura i primjena 3D ispisa u stvaranju funkcionalnih mliječnih proizvoda

Šiptar, Paula

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:701160>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-14**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

Paula Šiptar

**RAZVOJ RECEPTURA I
PRIMJENA 3D ISPISA U
STVARANJU FUNKCIONALNIH
MLIJEČNIH PROIZVODA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za procesno-prehrambeno inženjerstvo na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Tomislave Vukušić Pavičić, te uz pomoć dr. sc. Višnje Stulić.

ZAHVALA

Veliko hvala mojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Tomislavi Vukušić Pavičić na svim savjetima, strpljenju i uloženom vremenu te dr. sc. Višnji Stulić i mag. ing. Miji Ivanov na svoj pomoći te vrlo ugodnoj, prijateljskoj atmosferi u laboratoriju kojem sam se rado vraćala.

Hvala teti Vesni, najboljoj teti iz referade!

Zahvaljujem svojoj obitelji, svim svojim cimerima i kolegicama što su bili dio ove priče.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za procesno-prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

RAZVOJ RECEPTURA I PRIMJENA 3D ISPISA U STVARANJU FUNKCIONALNIH MLIJEČNIH PROIZVODA

Paula Šiptar, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0058213233

Sažetak: Tehnologija trodimenzionalnog (3D) ispisa hrane omogućuje proizvodnju funkcionalne i personalizirane hrane prilagođenog oblika. Cilj ovog rada razvoj je receptura smjesa funkcionalnih mliječnih proizvoda pogodnih za 3D ispis na principu ekstruzije te provjera stabilnosti ispisanih 3D oblika tijekom skladištenja. Smjese su načinjene od svježeg posnog ili polumasnog sira te praha cikla i otopine guar gume u različitim koncentracijama. Određeni su reološki parametri (prividna viskoznost, indeks tečenja, koeficijent konzistencije), pH, iskorištenje te brzina ekstruzije smjesa, a dobiveni rezultati statistički su obrađeni. Utvrđen je statistički značajan utjecaj dodatka otopine guar gume i praha cikla na reološke parametre. Veće iskorištenje smjesa te veća brzina ekstruzije zabilježena je kod smjesa posnog sira. Provedena je mikrobiološka analiza i određivanje promjene boje 3D ispisanih oblika pakiranih u modificiranu atmosferu te skladištenih pri 4 °C tijekom 21 dana. Patogene bakterije nisu detektirane niti kod jednog uzorka za vrijeme skladištenja. Utvrđena je primjetna promjena boje svih skladištenih oblika.

Glavne riječi: *3D ispis hrane, funkcionalna hrana, mliječni proizvodi, reologija, mikrobiologija*

Rad sadrži: 52 stranica, 13 slika, 16 tablica, 51 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Tomislava Vukušić Pavičić

Pomoć pri izradi: dr. sc. Višnja Stulić

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Zoran Herceg (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Tomislava Vukušić Pavičić (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Irena Barukčić Jurina (član)
4. izv. prof. dr. sc. Katarina Lisak Jakopović (zamjenski član)

Datum obrane: 22. rujna 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Food Processes Engineering

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

DEVELOPMENT OF RECIPES AND APPLICATION OF 3D PRINTING IN THE CREATION OF FUNCTIONAL DAIRY PRODUCTS

Paula Šiptar, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0058213233

Abstract: Three-dimensional food printing (3DFP) technology enables the production of functional and personalized food with a customized shape. The aim of this work is to develop a recipe for functional dairy products suitable for extrusion-based 3DFP, and to verify the stability of the 3D-printed samples during storage. The rheological parameters (apparent viscosity, flow index, consistency coefficient), pH, utilization and extrusion speed of the mixture, made from fresh skimmed or partially skimmed cheese, beetroot powder and guar gum solution in different concentrations were determined and statistically evaluated. A statistically significant influence of the addition of guar gum solution and the beetroot powder on the rheological parameters was found. A higher utilization of the mixture and a higher extrusion speed were observed for the skimmed cheese mixtures. Microbiological analyses and determination of color change of 3D-printed samples packed in a modified atmosphere and stored at 4 °C for 21 days were performed. No pathogenic bacteria were found during storage and a clear color change was detected.

Keywords: *3D food printing, functional food, dairy products, rheology, microbiology*

Thesis contains: 52 pages, 13 figures, 16 tables, 51 references, 0 supplements

Original in: Croatian

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

Mentor: PhD Tomislava Vukušić Pavičić, Associate Professor

Technical support and assistance: PhD Višnja Stulić

Reviewers:

1. PhD Zoran Herceg, Full professor (president)
2. PhD Tomislava Vukušić Pavičić, Associate Professor (mentor)
3. PhD Irena Barukčić Jurina, Associate professor (member)
4. PhD Katarina Lisak Jakopović, Associate professor (substitute)

Thesis defended: September 22nd, 2023

Sadržaj:

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. TRODIMENZIONALNI ISPIS	3
2.2. 3D ISPIS NA PRINCIPU EKSTRUZIJE	5
2.2.1. Mehanizmi ekstruzije	5
2.2.2. Materijali za ispis	6
2.2.3. Svojstva materijala za ispis.....	7
2.2.4. Procesni parametri ispisa	8
2.2.5. Ostali fizikalno-kemijski parametri.....	8
2.3. FUNKCIONALNA I PERSONALIZIRANA HRANA	9
2.4. SVJEŽI SIR	10
2.4.1. Nutritivna vrijednost.....	10
2.4.2. Mikrobiološka osjetljivost	11
2.4.3. Pakiranje u modificiranoj atmosferi.....	11
2.4.4. Reologija.....	11
2.5. PREHRAMBENI ADITIVI.....	12
2.5.1. Guar guma	13
2.6. POVRĆE U PRAHU	14
2.6.1. Cikla u prahu.....	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	15
3.1. MATERIJALI.....	15
3.1.1. Pribor i aparatura.....	17
3.2. METODE RADA.....	18
3.2.1. Priprema smjesa za 3D ispis	18
3.2.2. Izvedba ispisa.....	19
3.2.3. Iskorištenje smjese	21

3.2.4.	Brzina ekstruzije.....	21
3.2.5.	Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika pripremljenih smjesa	22
3.2.6.	Parametri boje	23
3.2.7.	Pakiranje u struji dušika	24
3.2.8.	Skladištenje ispisanih oblika.....	25
3.2.9.	Mikrobiološka analiza	25
3.2.10.	Statistička analiza podataka	26
4.	REZULTATI I RASPRAVA	27
4.1.	FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE SMJESA.....	27
4.1.1.	Reološki parametri	27
4.1.2.	pH.....	30
4.2.	MJERENJE MASE ISPISANIH OBLIKA	31
4.3.	STABILNOST BOJE ISPISANIH OBLIKA	33
4.4.	MIKROBIOLOŠKA STABILNOST ISPISANIH OBLIKA.....	35
4.5.	STATISTIČKA ANALIZA	39
5.	ZAKLJUČCI	46
6.	LITERATURA	47

1. UVOD

Trodimenzionalni (3D) ispis bilježi sve veći globalni interes u raznim poljima, a među njima se nalazi i prehrambena industrija (Leontiou i sur., 2023). Prednosti 3D ispisa hrane koje se najviše ističu, a zbog kojih ova tehnologija biva sve popularnija, mogućnost su prilagodbe dizajna hrane te proizvodnja funkcionalne i personalizirane hrane (Kewuyemi i sur., 2022). Proizvodnjom funkcionalne i personalizirane hrane mogle bi se zadovoljiti nutritivne potrebe nekih manjih skupina potrošača (poput osoba s problemima s gutanjem, trudnica,..), a mogućnost prilagođenog dizajna poboljšava privlačnost obroka (npr. kod djece) čime se smanjuje izbjegavanje konzumacije određenih sastojaka (Kewuyemi i sur., 2022; Portanguen i sur., 2019).

3D ispis automatizirani je proizvodni proces kojim nastaje trodimenzionalni oblik na temelju virtualnog trodimenzionalnog modela dizajniranog pomoću softvera za oblikovanje s pomoću računala (CAD) (Kewuyemi i sur., 2022). Postoji više tehnologija 3D ispisa, a u prehrambenoj industriji primjenjive su selektivno sinteriranje laserom, selektivno sinteriranje vrućim zrakom, primjenom tekućeg vezivnog sredstva te primjenom ekstruzije. 3D ispis na principu ekstruzije najčešće je korištena tehnologija 3D ispisa hrane, a upravo je ona korištena i u ovom radu. Takav 3D ispis provodi se nanošenjem materijala na podlogu na principu "sloj po sloj" čime se formira odabran, precizan 3D oblik (Leontiou i sur., 2023).

Za uspješan 3D ispis na principu ekstruzije potrebno je odabrati materijal s odgovarajućim reološkim svojstvima, a osim toga potrebno je i optimizirati operacijske parametre 3D pisaa (promjer mlaznice, udaljenost mlaznice od podloge, brzinu ispisa, visinu sloja, temperaturu ispisa). Kao materijali u dosadašnjim istraživanjima koristili su se različiti tipovi proteina (proteini insekata, ribe, soje, jaja), povrće, voće, izolirani polisaharidi, pire od krumpira, tijesto, sir, mlijeku u prahu i čokolada (Zhang i sur., 2022).

Veliki problem kod 3D ispisa je vrlo ograničen rok trajanja gotovo sve 3D ispisane hrane (Agunbiade i sur., 2022). Iz tog razloga, kako bi se proizveli sigurni 3D proizvodi, u obzir treba uzeti sadržaj vlage, aktivitet vode, boju te mikrobiološku sigurnost ispisanih oblika, a nužno je i provođenje čišćenja te dezinfekcije 3D pisaa zbog kontakta koji se ostvaruje tijekom ispisa između materijala i raznih dijelova 3D pisaa koji potencijalno mogu biti mjesta nakupljanja mikroorganizama (Zhang i sur., 2022).

Cilj ovog rada bio je razviti smjese funkcionalnih mliječnih proizvoda pogodnih za 3D ispis. Smjese su pripremljene od svježeg posnog sira ili svježeg polumasnog sira te otopine guar gume

(poboljšanje reoloških svojstva) i praha cikle (učinkovita biološka aktivnost). Smjesama su određeni reološki parametri, pH, iskorištenje i brzina ekstruzije, a dobiveni rezultati statistički su obrađeni. Također, cilj ovog rada bio je i praćenje mikrobiološke stabilnosti te stabilnosti boje ispisanih oblika pakiranih u modificiranoj atmosferi tijekom 21 dana skladištenja pri 4 °C.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. TRODIMENZIONALNI ISPIS

Trodimenzijski (3D) ispis, drugog naziva aditivna tehnologija, znanstveno se proučava i primjenjuje u mnogim područjima već četrdeset godina, a u zadnjih desetak godina bilježi sve veći globalni interes i porast popularnosti (Leontiou i sur., 2023). Riječ je o automatiziranom proizvodnom procesu kojim nastaje 3D struktura na principu nanošenja slojeva materijala ili na principu povezivanja materijala (Kewuyemi i sur., 2022). Kao materijal za 3D ispis koristi se plastika, smola, grafit, ugljična vlakna, keramika, papir ili hrana. Nastali složeni, inovativni 3D proizvodi nalaze svoju primjenu u raznim poljima poput zdravstva, biomedicinskog i strojarstva, inženjerstva, zrakoplovstva, arhitekture, industrije robe široke potrošnje, obrazovanja, tekstilne i prehrambene industrije (Leontiou i sur., 2023). 3D ispis u prehrambeni sektor prvi su uveli istraživači sa Sveučilišta Cornell, a njihov pisac - Fab@Home, radio je na principu ekstruzije (Jiang i sur., 2021).

Tehnologije 3D ispisa primjenjive u prehrambenoj industriji mogu se podijeliti u četiri glavne kategorije; selektivno sinteriranje laserom (engl. *Selective Laser Sintering, SLS*), selektivno sinteriranje vrućim zrakom (engl. *Hot Air Sintering, HAS*), primjenom tekućeg vezivnog sredstva (engl. *Liquid Binding*) te primjenom ekstruzije (engl. *Extrusion Method*). Materijali koji se koriste u navedenim tehnologijama se razlikuju. Neke tehnologije zahtijevaju više praškaste materijale, a druge paste (Mantihal i sur., 2020).

Tehnike 3D ispisa selektivno sinteriranje laserom i selektivno sinteriranje vrućim zrakom pripadaju skupini 3D ispisa u kojima se 3D proizvod dobiva sinteriranjem, odnosno pretvaranjem svježe praškaste sirovine, stvrdnjavanjem, u strukturirani proizvod (engl. *powder bed fusion*). Kod obje tehnike, potrebno je prvo nanijeti svježi sloj praškastog materijala koji se potom izlaže djelovanju sinterirajućeg izvora, odnosno lasera ili vrućeg zraka. Navedeni proces kontinuirano se ponavlja sve dok se ne dobije odabrani 3D objekt. Laser ili vrući zrak primjenjuje se direktno na praškasti materijal, stoga nema potrebe za pomicanjem postolja 3D pisaa što čini ove tehnike bržima od ostalih. Selektivnim sinteriranjem može se proizvesti hrana koja sadržava više slojeva, a svaki može biti od različitih prehrambenih komponenti. Prednost ove tehnike je mogućnost izrade složenih makroskopskih modela (Leontiou i sur., 2023). Obje tehnike ograničene su na praškaste materijale s relativno niskim temperaturama tališta npr. šećerne sirovine, NesQuik (Vukušić Pavičić i Herceg, 2020).

Kod 3D ispisa primjenom tekućeg vezivnog sredstva glava pisača nanosi tekuće vezivno sredstvo na točno određeni, tanak sloj praha koji se potom povezuje. Nakon svakog nanosa vezivnog sredstva slijedi nanos praškaste sirovine. Povezivanje čestica praha može biti posljedica sinteriranja, kemijske reakcije ili formacije tekućih mostova. Prednost ove tehnike je mogućnost stvaranja proizvoda visokog udjela suhe tvari, proizvodnja s različitim sastavima sirovina i jednostavan ispis u boji na različitim dijelovima 3D proizvoda. Negativno je da ovako nastao 3D proizvod zahtjeva dodatnu obradu nakon 3D ispisa (npr. stvrdnjavanje na visokoj temperaturi) zbog vrlo hrapave površine (Leontiou i sur., 2023). Materijali koji se koriste su praškaste sirovine poput šećera i škroba na koje se nanosi tekuće vezivno sredstvo (Pulatsu i Lin, 2021).

Najčešće korištena tehnologija 3D ispisa je 3D ispis na principu ekstruzije gdje se kao materijali koriste relativno viskozni sastojci hrane kako bi se, nakon ekstruzije, osiguralo zadržavanje željenog oblika (Leontiou i sur., 2023; Agunbiade i sur., 2022). 3D ispis na principu ekstruzije provodi se nanošenjem materijala na platformu na principu "sloj po sloj" čime se formira proizvod preciznog geometrijskog oblika (Leontiou i sur., 2023).

Bez obzira o kojoj se tehnologiji 3D ispisa radi, potrebno je izraditi virtualni 3D model koji se dizajnira pomoću softvera za oblikovanje s pomoću računala, odnosno CAD (engl. *Computer Aided Design*) (Kewuyemi i sur., 2022). Potom se CAD 3D model sprema u STL (engl. *Stereolithography*) format koji se zatim pretvara u geometrijski kod, poznat pod nazivom G kod. Pisač "razumije" programski jezik G kod te prema tome kontrolira radnje. Radnje koje kontrolira kod 3D ispisa na principu ekstruzije su pomicanje glave pisača (što je odgovorno za otpuštanje materijala tijekom 3D ispisa), temperaturu ekstrudera, kada treba pauzirati, brzinu kretanja glave pisača, visinu sloja itd. Kretanje glave pisača odvija se u tri osi – X, Y i Z, odnosno slijeva nadesno, sprijeda prema natrag, gore i dolje (Leontiou i sur., 2023).

3D ispis nema nikakve sličnosti s drugim proizvodnim procesima. Prednosti koje donosi ova tehnika su: brz dizajn, isplativost proizvodnje prototipova i modela, automatiziran proizvodni proces koji se provodi u jednom koraku pomoću jednog komada opreme, nema potrebe za dodatnim priborom, zahtjeva malo ili nimalo ljudskog nadzora, mogućnost stvaranja višekomponentnih sustava s minimalno otpada i jedino što je potrebno (osim 3D pisača) je materijal od kojeg će objekt biti načinjen (Leontiou i sur., 2023). Osim toga, potencijalne prednosti 3D ispisa su i prilagođen dizajn hrane, proizvodnja personalizirane hrane, proširenje izvora prehrambenih materijala te učinkovito korištenje sirovina (Kewuyemi i sur., 2022).

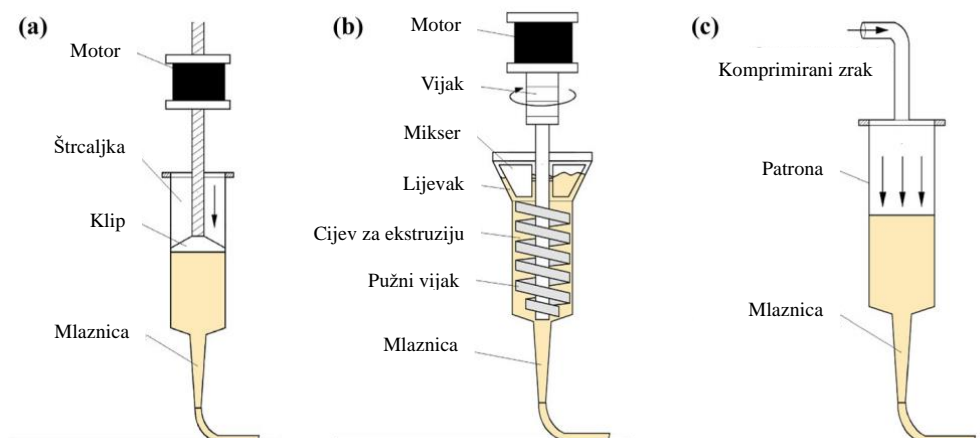
Kao i kod svake tehnologije, tako i kod 3D ispisa, uz razne prednosti postoje i razna ograničenja te nedostaci. Neki od njih, kod 3D ispisa na principu ekstruzije, su česta potreba za dodatkom tvari koje će poboljšati protok, odnosno utjecati na mehanička i reološka svojstva materijala kako bi se provela uspješna ekstruzija. S druge strane, neki materijali se vrlo lako ekstrudiraju, no ne mogu zadržati 3D strukturu nakon ispisa. Također, na 3D strukturu nekih materijala mogu utjecati i procesi obrade nakon ispisa npr. pečenje. U obzir treba uzeti i različita kemijska svojstva, zahtjeve za skladištenje te međudjelovanje svake komponente u smjesi. Još neki od nedostataka su vrlo kratki rok trajanja 3D ispisanih prehrambenih proizvoda koji je ograničen na svega nekoliko sati, ograničena upotreba sastojaka hrana kao materijala za 3D ispis, opća preferencija javnosti prema tradicionalnoj hrani, male komore za ispis koje ograničavaju veličinu proizvoda te značajno sporiji proces proizvodnje u usporedbi s konvencionalnim tehnikama obrade hrane (Leontiou i sur., 2023; Kewuyemi i sur., 2022).

2.2. 3D ISPIS NA PRINCIPU EKSTRUZIJE

Ispis na principu ekstruzije aditivna je tehnologija u kojoj se materijal stavljen u štrcaljku ili cilindar, bez zračnih prostora, istiskuje, primjenom vanjske sile, kroz mlaznicu na platformu u oblik koji je prethodno dizajniran te pohranjen u softver instrumenta u obliku prostornih podataka (Zhang i sur., 2022; Hussain i sur., 2021).

2.2.1. Mehanizmi ekstruzije

Postoje tri mehanizma ekstruzije, kao što se može vidjeti na slici 1: (a) ekstruzija pomoću štrcaljke, (b) ekstruzija pomoću pužnog vijka, (c) ekstruzija pomoću komprimiranog zraka (Hussain i sur., 2021).



Slika 1. Grafički prikaz mehanizama ispisa na principu ekstruzije (a) ekstruzija pomoću štrcaljke, (b) ekstruzija pomoću pužnog vijka, (c) ekstruzija pomoću komprimiranog zraka (prema Hussain i sur., 2021)

Ekstruzijom pomoću štrcaljke, kroz mlaznicu, pomoću koračnog motora, ispuštaju se polukruti materijali poput čokolade, tijesta (Hussain i sur., 2021). Kod ekstruzije pomoću pužnog vijka materijal se kontinuirano transportira iz širokog otvora prema mlaznici, kroz patronu koja sadrži pužni vijak (Pulatsu i Lin, 2021). Zbog svoje visoke mehaničke čvrstoće, poput gela, vrlo viskozni materijali nisu prikladni za ekstruziju pomoću pužnog vijka jer dolazi do komprimiranja, deformacija te smanjene stabilnosti 3D ispisanog oblika zbog oslabljenih veza između slojeva (Hussain i sur., 2021). Kod ekstruzije pomoću komprimiranog zraka, pneumatska pumpa generira komprimirani zrak koji istiskuje materijal kroz mlaznicu (Pulatsu i Lin, 2021).

Tijekom 3D ispisa na principu ekstruzije vrlo se često kontrolira temperatura, stoga se osim navedene podjele mehanizama ekstruzije, može spomenuti i podjela na ekstruziju s vrućim taljenjem (engl. *hot-melt extrusion*), ekstruziju na sobnoj temperaturi (engl. *room temperature extrusion*) i ekstruziju kojom se stvara hidrogel (engl. *hydrogel-forming extrusion*). Sistem za ekstruziju s vrućim taljenjem ima grijač koji povišenjem temperature dovodi do ukapljivanja materijala poput čokolade. Okolina i platforma na koju se materijal ispušta niže su temperature što dovodi do skrućivanja materijala nakon ekstruzije. Materijali nalik pasti (npr. tijesto, Nutella, humus) ekstrudiraju se na sobnoj temperaturi jer se prirodno dobro ispisuju na temperaturi okoline. Ekstruzija kojom se stvara hidrogel upotrebljava polimerne i hidrokolojne otopine koje imaju sposobnost stvaranja gela. Kada se takav materijal ispiše na platformu dolazi do stvaranja gela zbog umrežavanja molekula poput kalcijeva klorida i alginata ili kalcijeva klorida i pektina (Pulatsu i Lin, 2021).

2.2.2. Materijali za ispis

Kako bi se proveo uspješan 3D ispis potrebno je odabrati materijal koji zadovoljava razne kriterije. Uspješnim 3D ispisom smatra se ispis kada materijal neometano prolazi kroz mlaznicu, a ispisan 3D objekt zadržava svoj oblik i strukturu. Uglavnom, uspješnost ispisa ovisi o reološkim svojstvima i svojstvima površine korištenog materijala (Zhang i sur., 2022).

Uspješan ispis može se postići korištenjem materijala čija su reološka svojstva takva da materijal pokazuje svojstva elastične krutine do određene razine naprezanja, poznate kao granica tečenja, a iznad te vrijednosti teče poput tekućine. Primjer takvih materijala su materijali koji sadrže mreže koloidnih čestica ili polimera poput koncentrirane emulzije ili kristalizirane masti. Također, uspješan ispis postiže se i s materijalima koji prelaze iz tekućeg u kruto kao odgovor na neku promjenu u sustavu i okolini, (promjenu temperature ili djelovanje sredstva za umrežavanje) zahvaljujući kristalizaciji masti ili geliranju hidrokolojda. Promjene

reoloških svojstava tijekom ispisa pod utjecajem naprežanja, promjene temperature, dodatka sredstva za geliranje ovise o vrsti sastojaka hrane od kojih se materijal sastoji, njihovoj koncentraciji, strukturnoj organizaciji i interakciji (Zhang i sur., 2022). Materijali koji se koriste za 3D ispis hrane mogu se kategorizirati na materijale prirodno pogodne za ispis (čokolada, humus), materijale koji tradicionalno nisu pogodni za ispis (voće, povrće, riža, meso) i alternativne sastojke (prah insekta kao izvor proteina, komponente algi za poboljšanje nutritivne vrijednosti) (Pulatsu i Lin, 2021).

Makronutrijenti - ugljikohidrati, proteini i masti glavne su strukturne komponente u hrani za 3D ispis. Hrana bogata ugljikohidratima; pire od krumpira, tijesto, povrće, voće, izolirani polisaharidi korišteni su u raznim istraživanjima kao materijali za 3D ispis. Različiti tipovi proteina također su korišteni u formulacijama materijala za 3D ispis zbog svojih sposobnosti geliranja. Proteini, ovisno o molekularnoj strukturi, mogu stvoriti gel na različite načine; utjecajem povišene temperature (globularni proteini), utjecajem snižene temperature (želatina), promjenom ionskog naboja (nabijeni proteini), utjecajem enzima (većina proteina). U istraživanjima su korišteni proteini insekata, ribe, soje, jaja. Djelomično kristalizirani lipidi u hrani mogu tvoriti polukrute materijale s plastičnim reološkim svojstvima pogodnim za ispis. Dosadašnja istraživanja 3D ispisa materijala na bazi lipida provedena su na siru (25 % masti), poluobranom mlijeku u prahu (9 % masti), a najviše na čokoladi. Mast potencijalno poboljšava 3D ispis djelujući kao mazivo, no ključno je pronaći takav materijal koji sadrži lipide s odgovarajućim profilom kristalizacije i taljenja (Zhang i sur., 2022).

2.2.3. Svojstva materijala za ispis

Ključna svojstva materijala za uspješan 3D ispis uključuju reološka svojstva i teksturu, a oni su posljedica sastojaka od kojih se materijal sastoji, njihove koncentracije i strukture. Reološka svojstva upućuju na uspješnost ispisivanja materijala (Zhang i sur., 2022). Reološki gledano, hrana koja se koristi kao materijal za 3D ispis može biti viskoelastična ili pseudoplastična. Viskoelastični prehrambeni materijali mogu se ponašati kao newtonovke (viskoznost ovisi o brzini smicanja) i nenewtonovske tekućine (viskoznost neovisna o brzini smicanja), dok se pseudoplastični prehrambeni materijali uglavnom ponašaju kao nenewtonovske tekućine (Agunbiade i sur., 2022; Zhang i sur., 2022). Prehrambeni materijali trebaju biti konzistentni i imati takvu viskoznost koja omogućava glatki protok materijala kroz mlaznicu (Agunbiade i sur., 2022). Kako bi se poboljšala reološka svojstva materijala za 3D ispis, u mnogim istraživanjima, korišteni su razni dodaci – agar, alginat, NaCl, želatina, celulozna nanovlakna, kukuruzni škrob. Tekstura (tvrdoća, žvakljivost, adhezivnost,

kohezivnost, otpornost, elastičnost) govori o strukturnoj stabilnosti gotovog proizvoda, a osim toga daje informaciju o osjećaju hrane u ustima te senzorskim karakteristikama (Zhang i sur., 2022).

2.2.4. Procesni parametri ispisa

Osim svojstva materijala, optimizirati treba i operacijske parametre 3D pisača kao što su promjer mlaznice, udaljenost mlaznice od podloge, brzinu ispisa, visinu sloja, temperaturu ispisa. Navedeni parametri, kao i već opisana svojstva materijala, ključni su za uspješnu provedbu 3D ispisa jer utječu na strukturu i stabilnost 3D ispisanih oblika. Temperatura utječe na reološka i teksturalna svojstva materijala. Povišenjem temperature smanjuje se viskoznost materijala čime se povećava tečenje materijala kroz mlaznicu. Brzina ispisa utječe na strukturnu stabilnost, povećanjem brzine ispisa smanjuje se razlučivost ispisanih oblika i stabilnost zbog neravnomjerne formacije slojeva, netočne ekstruzije i nemogućnosti mlaznice da održi zadanu brzinu. S druge strane, smanjenjem brzine ispisa produljuje se sam proces ispisa i tako nastaju slojevi koji dulje vrijeme podupiru sami sebe što dovodi do strukturne nestabilnosti oblika. Previsoka ili preniska visina sloja također dovodi do strukturne nestabilnosti. Promjer mlaznice i njena udaljenost od podloge utječu na volumen i visinu ispisanih oblika. Ukoliko je udaljenost između mlaznice i podloge premala može doći do spajanja mlaznice s oblikom, dok s prevelikom udaljenošću mlaznice od podloge dolazi do niže preciznosti ispisa oblika. Također, preciznost ispisa smanjuje se i povećanjem promjera mlaznice (Zhang i sur., 2022).

2.2.5. Ostali fizikalno-kemijski parametri

Kako bi se proizvela sigurna, visokokvalitetna 3D ispisana hrana potrebno je obratiti pozornost i na fizikalno-kemijske parametre - sadržaj vlage, aktivitet vode, boju, mikrobiološku sigurnost. Sadržaj vode utječe na razna svojstva hrane; viskoznost, rok trajanja, masu, teksturu i mikrobiološku sigurnost. Aktivitet vode indikator je roka trajanja i mikrobiološke sigurnosti. Mjerenje boje hrane vrlo je važno jer se početna procjena potrošača o izgledu i kvaliteti hrane temeljena upravo na njoj. Nedovoljna higijena opreme za 3D ispis te nepravilno skladištenje hrane mogu dovesti do trovanja hranom izazvanog mikroorganizmima (bakterijama, plijesnima i kvascima). Tijekom ispisa prehrambeni materijal dolazi u kontakt s raznim dijelovima pisača (ekstruder, klip, cijev) koji potencijalno mogu biti mjesta nakupljanja mikroorganizama (Zhang i sur., 2022). Gotovo sva 3D ispisana hrana ima vrlo ograničen rok trajanja, stoga se procesi 3D ispisa moraju pridržavati stroge higijene i propisa o kvaliteti prije nego što se primijene u tvornicama ili restoranima (Agunbiade i sur., 2022). Zato je, nakon čišćenja, potrebno provesti dezinfekciju površina koje dolaze u kontakt s hranom kako bi se uklonili mikroorganizmi. Za

čišćenje površina mogu se upotrijebiti surfaktanti te alkalni proizvodi, a za provedbu dezinfekcije najčešće se koristi natrijev hipoklorit. Dezinfekcija se potencijalno može provesti pomoću ultrazvuka, UV svjetla i kemikalija (vodikov proksid, kalcijev laktat, elektrolizom oksidirana voda) (Zhang i sur., 2022).

2.3. FUNKCIONALNA I PERSONALIZIRANA HRANA

Termin “funkcionalna hrana“ smišljen je u Japanu 1980-ih. Japan je prva zemlja koja je formulirala poseban regulatorni postupak za odobravanje funkcionalne hrane, odnosno koncept hrane za određenu zdravstvenu upotrebu (FOSHU). Ne postoji jedna točna definicija funkcionalne hrane (Arihara, 2006). Donn i sur. (2022) funkcionalnu hranu definiraju kao hranu koja, osim nutritivne vrijednosti, ima pozitivan utjecaj na zdravlje zbog prisutnosti bioaktivnih spojeva ili funkcionalnih sastojaka koji nisu prisutni u konvencionalnoj hrani. Primjeri takvih spojeva su vitamini, minerali, polifenoli, fitosteroli, topiva vlakna, ω -3 masne kiseline, probiotici, aminokiseline, proteini, karotenoidi, antioksidansi, itd. Funkcionalna hrana može se proizvesti dodavanjem bioaktivnih spojeva, ekstrahiranih iz raznih izvora (npr. iz raznih nusproizvoda iz proizvodnje hrane – alga, mikroalga) u konvencionalnu hranu. (Donn i sur., 2022).

Veliki potencijal 3D ispisa hrane je mogućnost prilagodbe njene teksture, oblika i nutritivnog sastava, a upravo se time omogućuje njegovo korištenje u svrhu razvoja funkcionalne i personalizirane hrane (Donn i sur., 2022; Zhang i sur., 2022).

Personalizirana prehrana koristi informacije specifične za pojedinca kojima se utječe na promjenu odabira prehrane što posljedično rezultira zdravstvenim dobrobitima. Osim nutritivnih potreba, 3D ispisom moguće je prilagoditi i izgled (oblik i boju), okus, teksturu hrane prema preferencijama pojedinca (Zhang i sur., 2022). Mogućnost prilagodbe dizajna 3D ispisane hrane dovodi do poboljšanja privlačnosti obroka kod djece i drugih dobnih skupina čime se smanjuje izbjegavanje konzumacije određenih sastojaka (npr. vitamina, minerala). Također, takva hrana mogla bi zadovoljiti i nutritivne potrebe određenih, manjih skupina potrošača, poput vegetarijanaca, vojnika, astronauta, atletičara, trudnica, osoba s alergijama, osoba s raznim medicinskim stanjima (problemima sa žvakanjem, gutanjem ili poteškoćama s probavom) (Kewuyemi i sur., 2022; Portanguen i sur., 2019).

2.4. SVJEŽI SIR

Prema Pravilniku o sirevima i proizvodima od sireva (NN 20/2009), sirevi su svježi proizvodi ili proizvodi s različitim stupnjem zrelosti koji se proizvode odvajanjem sirutke nakon koagulacije mlijeka (kravljeg, ovčjeg, kozjeg, bivoljeg mlijeka i/ili njihovih mješavina), vrhnja, sirutke, ili kombinacijom navedenih sirovina. Obzirom na udio vode u bezmasnoj tvari sira, konzistenciju i građu, sirevi se proizvode i stavljaju na tržište pod nazivima: ekstra tvrdi sir, tvrdi sir, polutvrđi sir, meki sir, svježi sir. Udio vode u bezmasnoj tvari svježeg sira iznosi 69 % – 85 % (ne odnosi se na svježe sireve proizvedene od vrhnja). Vrste sira obzirom na udio mliječne masti u suhoj tvari sira prikazane su u tablici 1 (Pravilnik, 2009).

Tablica 1. Vrste sira obzirom na udio mliječne masti u suhoj tvari sira (Pravilnik, 2009)

Vrsta sira obzirom na udio mliječne masti u suhoj tvari	Udio mliječne masti u suhoj tvari (%)
Ekstramasni	≥ 60
Punomasni	≥ 45 i < 60
Masni	≥ 25 i < 45
Polumasni	≥ 10 i < 25
Posni	< 10

Svježi sirevi imaju meku konzistenciju, percipirani su “zdravo“ od strane potrošača te je njihova raznolikost velika (u pogledu konzistencije i okusa zbog mogućnosti promjena u procesu sirenja, dodavanja šećera, voćnih kaša i začina) (Fox i sur., 2017a). Zbog mogućnosti promjena u procesu sirenja, moguće je u svježi sir dodati probiotike čime se stvara funkcionalna hrana (Castro i sur., 2015).

2.4.1. Nutritivna vrijednost

Postoji mnogo različitih sireva, a njihova nutritivna vrijednost varira ovisno o količini i nutritivnoj vrijednosti pojedinih sastojaka od kojih se sastoji. Glavni sastojci sira su proteini i mliječna mast. Sir se uglavnom sastoji od proteina kazeina, no ako se sir proizvodi od pasteriziranog mlijeka tada će sadržavati i dio proteina sirutke koji su nutritivno vrijedniji od kazeina. Sir može zadovoljiti potrebe organizma za esencijalno važnim aminokiselinama (osim metionina + cistina). Sir ima vrlo visoku probavljivost, skoro potpunu, a time je i iskorištenje aminokiselina visoko. Pretpostavlja se da je upravo to razlog da nema zabilježenih pojava alergija na proteine sira. Svježi sirevi proizvode se od obranog mlijeka, stoga sadržavaju vrlo

malo masti u suhoj tvari. Mliječna mast se u siru nalazi u obliku emulzije, a njena probavljivost je također vrlo visoka. U njoj se nalaze u masti topljivi vitamini (A, D, E, K i β -karoten). Udio laktoze u svježem siru je nizak i iznosi 1 % – 3,5 %. Sir sadrži i nešto mliječne kiseline koja utječe na bolje iskorištenje kalcija i fosfora iz sira te posjeduje sposobnost inhibicije nepoželjnih bakterija u organizmu. Od mineralnih tvari važno je spomenuti Ca i P koji se nalaze u omjeru koji je hranjivo vrlo poželjan (Tratnik i Božanić, 2012).

2.4.2. Mikrobiološka osjetljivost

U industriji se sir obično proizvodi od pasteriziranog mlijeka (van Asselt i sur., 2017). Svježi sir pruža izvrsnu okolinu za rast mnogih mikroorganizama, osobito gram-negativnih i psihrotrofnih bakterija, kvasaca i plijesni. Visok udio vode i proteina te pH svježeg sira pogoduju rastu nekih acido-tolerantnih bakterija (Ho i sur., 2016). Najčešći patogeni odgovorni za trovanje hranom konzumacijom sira od 1980 bili su *Listeria monocytogenes*, enteropatogena *Escherichia coli*, *Salmonella* i *Staphylococcus aureus* (Fox i sur., 2017b). Upravo je mikrobiološko kvarenje glavni faktor koji ograničava rok trajanja svježeg sira (Mortensen i sur., 2010). Znakovi kvarenja svježeg sira, skladištenog na temperaturi hladnjaka (4 °C – 7 °C), pojava je želatinozne sluzi nakon čega slijede negativne promjene u boji, okusu i izgledu (Ho i sur., 2016). Kako bi se smanjila kontaminacija sira potrebno je posebnu pozornost obratiti na higijenu tijekom proizvodnje i skladištenja (Fox i sur., 2017b).

2.4.3. Pakiranje u modificiranoj atmosferi

Jedan od načina produljenja roka trajanja svježeg sira je pakiranje u modificiranoj atmosferi čime se inhibira rast mikroorganizama koji uzrokuju njegovo kvarenje. Pakiranje u modificiranoj atmosferi podrazumijeva zamjenu zraka iz pakovanja s određenom smjesom plinova koji mogu biti kisik (O₂), dušik (N₂) ili ugljikov dioksid (CO₂). Između njih, za pakiranje u modificiranoj atmosferi, najvažniji je CO₂ koji posjeduje bakteriostatska svojstva, topiv je u vodi i masti. S druge strane, N₂ je inertan plin, bez okusa, praktički netopiv u vodi i masti. N₂ u pakovanju s modificiranom atmosferom sudjeluje u inhibiciji razvoja aerobnih bakterija kvarenja tako što zamjenjuje O₂ u prostoru između proizvoda i ambalažnog materijala (Ho i sur., 2016).

2.4.4. Reologija

Reologija je znanstvena disciplina čiji je cilj mjerenje i interpretacija tečenja i deformacije čvrstih i tekućih materijala. Tečenje predstavlja kontinuiranu promjenu deformacije s vremenom, a deformacija promjenu oblika i dimenzija nekog tijela pod utjecajem sile (Lovrić, 2003). Hrana, odnosno prehrambeni materijali vrlo su kompleksni sustavi, sastoje se od

proteina, mati, ugljikohidrata, vlakana i vode, a svi oni značajno utječu na reološka svojstva hrane (Ahmed i sur., 2017). Osim kemijskog sastava, na reologiju prehrambenih proizvoda utječu različite operacije, procesi te procesni uvjeti (posebno značajan utjecaj temperature) (Lovrić, 2003). U prehrambenoj industriji vrlo je važno poznavanje reologije hrane jer ono omogućuje određivanje na koji način sastojci hrane mogu biti miješani i procesirani, kakva se tekstura proizvoda može postići te koliko će proizvod biti stabilan. Drugim riječima, pomaže pri optimiziranju procesa proizvodnje i proizvoda. Svojstva proizvoda povezana s reologijom su senzorske/perceptivne karakteristike (npr. tekstura), stabilnost, aspekt primjene (npr. doziranje, punjenje, porcioniranje) te nutritivne karakteristike (npr. kinetika otpuštanja, sitost) (Day i Golding, 2016).

Temeljno reološko svojstvo tekućih materijala je viskoznost, a krutih elastičnost i plastičnost. Kod idealno elastičnih materijala sila je proporcionalna nastaloj deformaciji. Materijal je plastičan ako podliježe trajnoj deformaciji kada se postigne određeni prag naprezanja. Ukoliko materijal pokazuje i elastična i viskozna svojstva, odnosno svojstva i tekućih i krutih materijala, govori se o viskoelastičnom sustavu. Viskoznost je unutrašnje trenje koje djeluje unutar tekućine (Lovrić, 2003).

Svi sustavi mogu se podijeliti na newtonske sustave i nenevtonske sustave. Newtonske tekućine imaju konstantan linearan odnos napona smicanja i brzine smicanja. Tekućine kod kojih viskoznost nije stalna i mijenja se s promjenom smične brzine nazivaju se nenevtonovske tekućine. Njihova viskoznost naziva se prividna viskoznost jer ovisi o brzini pri kojoj se određuje što znači da je kod svake smične brzine različita, a u nekim slučajevima ona ovisi i o vremenu (Režek Jambrak i Vukušić, 2017). Nenevtonovske tekućine koje ne ovise o vremenu smicanja mogu biti pseudoplastični, dilatantni, binghamski plastični ili kvaziplastični sustavi. Nenevtonovske tekućine ovisne o vremenu smicanja mogu biti tiksotropni, reopektički ili viskoelastični sustavi (Lovrić, 2003).

Širok raspon sastava i tehnika proizvodnje svježeg sira dovode do varijacija u njihovim reološkim svojstvima. Neki su vremenski neovisni (viskoznost ne ovisi o vremenu djelovanja sile smicanja), dok su drugi vremenski ovisni (viskoznost ovisi o vremenu djelovanja sile smicanja), no u svakom slučaju svježiji sirevi su viskoelastični (McCarthy, 2011).

2.5. PREHRAMBENI ADITIVI

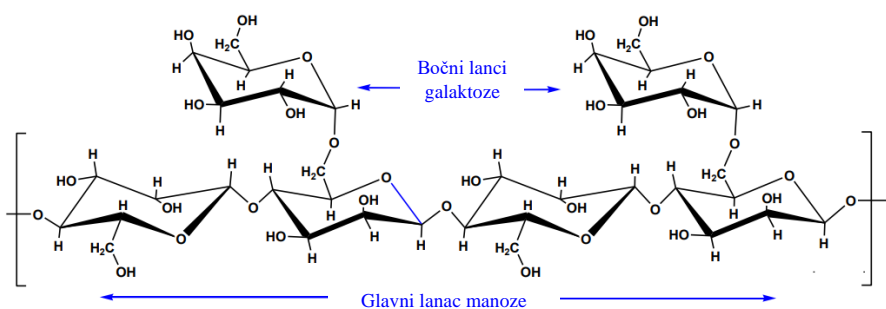
Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN 62/2010), prehrambeni aditiv jest svaka tvar koja se sama po sebi ne konzumira kao hrana, niti je prepoznatljiv sastojak određene hrane

bez obzira na hranjivu vrijednost, a čije je dodavanje hrani namjerno zbog tehnoloških razloga u proizvodnji, preradi, pripremi, obradi, pakiranju, prijevozu ili skladištenju i ima za posljedicu, ili se može očekivati da će imati za posljedicu, da će aditiv ili njegov derivat postati izravno ili neizravno sastojak hrane. Podjela aditiva prema tehnološkim i funkcionalnim svojstvima je na sladila, bojila, konzervanse, antioksidanse, nosače, kiseline, regulatore kiselosti, tvari za sprečavanje zgrudnjavanja, tvari protiv pjenjenja, tvari za povećavanje volumena, emulgatore, emulgatorske soli, učvršćivače, pojačivači arome, tvari za pjenjenje, tvari za želiranje, tvari za poliranje, tvari za zadržavanje vlage, modificirani škrobovi, plinovi za pakiranje, potisni plinovi, tvari za rahljenje, sekvestranti, stabilizatori i zgušnjivači, tvari za tretiranje brašna (Pravilnik, 2010).

2.5.1. Guar guma

Guar guma je aditiv koji pripada kategoriji zgušnjivača, a njen E-broj je E 412. Prema Pravilniku o prehranbenim aditivima (NN 62/2010) zgušnjivači su tvari koje povećavaju viskoznost otopina ili hrane. Guar guma namirnicama se dodaje po pravilu *quantum satis*, što označava da nije određena najviša numerička vrijednost i da se aditiv upotrebljava u skladu s dobrom proizvođačkom praksom (DPP) u količini koja nije viša od nužne za postizanje svrhe, uz uvjet da ne dovodi potrošača u zabludu (Pravilnik, 2010). Europska agencija za sigurnost hrane (engl. *The European Food Safety Authority, EFSA*) zaključila je da je guar guma sigurna za upotrebu, praktički neprobavljiva, ne apsorbira se te da ju značajno fermentiraju crijevne bakterije (Mortensen i sur., 2017).

Guar guma praškasti je endosperm iz sjemena biljke *Cyamopsis tetragonolobus* koja pripada obitelji *Fabaceae* ili *Leguminosae* (Thombare i sur., 2016). Uglavnom se sastoji od galaktomanana, heteropolisaharida, kojeg čine D-manoze (glavni lanac) i D-galaktoze (bočni lance) čiji je omjer 2:1 kao što se može vidjeti na slici 2 (Kontogiorgos, 2019). Zahvaljujući hidroksilnim skupinama, vodikovim vezama, veže se s vodom čime značajno utječe na viskoznost i zgušnjavanje otopine (Thombare i sur., 2016).



Slika 2. Struktura guar gume (prema Thombare i sur., 2016)

Guar guma dolazi u obliku bijelog do žućkasto-bijelog praha, gotovo bez mirisa (Mortensen i sur., 2017). Široko se koristi u prehrambenoj industriji zahvaljujući svojstvima emulgiranja, vezanja i geliranja, brze topljivosti u hladnoj vodi, stabilnosti u širokom rasponu pH, sposobnosti formiranja filma te biorazgradivosti (Thombare i sur., 2016). U hrani se rijetko kada koristi u koncentracijama većim od 1 % w/v zbog značajnog povećanja viskoznosti. Dodatkom guar gume u sir kontrolira se sinereza te se utječe na teksturu (Kontogiorgos, 2019).

2.6.POVRĆE U PRAHU

Zbog visokog udjela vlage korjenasto povrće (kao i voće i ostalo povrće) vrlo je kvarljivo, stoga je potrebno korištenjem raznih metoda konzerviranja produljiti njihov vijek trajanja, smanjiti otpad poljoprivrednih proizvoda, troškove njegova odlaganja te ekološke probleme koji dolaze s time. Jedno od rješenja navedenih problema je prerada hrane u prah (Salehi i Aghajanzadeh, 2019). Osim toga, prah omogućuje i manju nasipnu težinu, isplativije i pogodnije skladištenje i transport, pogodnost korištenja, mogućnost visoke stope proizvodnje, razne primjene te posjeduje relativno visoku stabilnost (Intipunya i Bhandari, 2010). Povrće ima vrlo dobru nutritivnu vrijednost; polisaharidi od kojih se sastoje načinjeni su uglavnom od dijetalnih vlakana, ima nisku kalorijsku vrijednost, sadrži različite vitamine, minerale, antioksidanse, a svi oni povoljno utječu na smanjenje rizika od nastanka raznih bolesti. Zbog toga se proizvodi u koje je dodano povrće u prahu mogu nazvati funkcionalnom hranom (Salehi i Aghajanzadeh, 2019).

2.6.1. Cikla u prahu

Cikla (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva* Alef.) potencijalna je funkcionalna hrana zbog svoje učinkovite biološke aktivnosti (Chen i sur., 2021). Radi se o korjenastom povrću, crvene boje, koje je tisućama godina uzgajano u medicinske svrhe (Chhikara i sur., 2019; Baranski i sur., 2016). Cikla sadrži proteine, ugljikohidrate, mast, aminokiseline (esencijalne i neesencijalne), masne kiseline (zasićene, mononezasićene, polinezasićene), minerale (kalcij, kalij, natrij, željezo, magnezij) vlakna, fitosterole, biološki aktivne fitonutrijente. Od biološki aktivnih fitonutrijenata sadrži betaine, betalaine (betacijanine (betain i izobetain) i betaksantine), fenole, polifenole, saponine, flavonoide, vitamine i nitrate. Dokazano je da sastojci cikle imaju učinkovitu biološku aktivnost, odnosno pokazuju antioksidacijsku i antitumornu aktivnost, djeluju na krvni tlak te glukozu i lipide u krvi, pokazuju protektivno djelovanje na jetru i bubrege, poboljšavaju kognitivne funkcije i sportsku performansu (Chen i sur., 2021).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Kao sirovine u pripremi smjesa korišteni su svježi polumasni sir ('z bregov, Vindija, Hrvatska), svježi posni sir (Pilos, Njemačka), cikla u prahu (Farma), guar guma (Nutrigold). Ispisani oblici pakirani su u struji dušika (4.6) (Messer Croatia Plin d.o.o.). Nutritivne vrijednosti svježeg polumasnog sira, svježeg posnog sira cikla u prahu te guar gume prikazani su u tablicama 2–5.

Tablica 2. Nutritivna vrijednost svježeg polumasnog sira na 100 g

Energetska vrijednost (kJ/kcal)	449/107
Masti (g)	5,0
Zasićene masne kiseline (g)	3,6
Ugljikohidrati (g)	4,8
Šećeri (g)	4,8
Bjelančevine (g)	10,7
Sol (g)	0,18

Tablica 3. Nutritivna vrijednost svježeg posnog sira na 100 g

Energetska vrijednost (kJ/kcal)	288/68
Masti (g)	0,3
Zasićene masne kiseline (g)	0,2
Ugljikohidrati (g)	4,0
Šećeri (g)	4,0
Bjelančevine (g)	11,8
Sol (g)	0,10

Tablica 4. Nutritivna vrijednost cikle u prahu na 100 g

Energetska vrijednost (kJ/kcal)	1419/340
Masti (g)	1
Zasićene masne kiseline (g)	0,2
Ugljikohidrati (g)	56
Šećeri (g)	56
Vlakna	23
Bjelančevine (g)	13
Sol (g)	2

Tablica 5. Nutritivna vrijednost guar gume na 100 g

Energetska vrijednost (kJ/kcal)	778/186
Masti (g)	1,0
Zasićene masne kiseline (g)	0,3
Ugljikohidrati (g)	1,0
Šećeri (g)	1,0
Vlakna	82,0
Bjelančevine (g)	5,0
Sol (g)	0,55

Za pripremu podloga za uzgoj mikroorganizama korišteni su ksiloza lizin dezoksiholat agar (XLD agar, Biolife, Italija), m-triptozna glukoza kvasac bujon (m – Tryptic Glucose Yeast Broth, Biolife, Italija), ljubičasto crveno žučni glukoza agar (Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG), Biolife, Italija), bujon sa ekstraktom slada (Malt Extract Broth, Biolife, Italija), hranjivi bujon (Nutrient Broth, Biolife, Italija) te agar (Agar Technical, Biolife, Italija).

3.1.1. Pribor i aparatura

Pribor:

Aluminijske lađice za vaganje
Metalne špatule i žlice
Staklene čaše (100 i 150 mL)
Menzura (100 mL)
Plastične štrcaljke (60 i 20 mL)
Magnet
Papir za pečenje
Mikropipeta (100 – 1000 μ L)
Nastavci za mikropipetu
Sterilne plastične posudice s poklopcem
Folija u roli za vakuumiranje
Škare
Mikroeprovete
Stalak za mikroeprovete
Štapić po Drigalskom
Petrijeve zdjelice

Aparatura:

Tehnička vaga Axis BTA2100D, Poljska
Analitička vaga Kern ALJ 220-4NM, Njemačka
3D pisac Createbot 3D food printer, Kina
Rotacijski reometar Rheometric Scientific RM – 180, Njemačka
Spektrofotometar Konica Minolta CM-700d, Japan
Beskontaktni infracrveni termometar PCE Instruments, PCE-777, SAD
Magnetska miješalica s grijanjem IKA RCT basic safety control, Njemačka
Inkubator Benchmark MyTemp Mini Digital incubators H2200-HC, SAD
Inkubator BTES-frigomat, Termo medicinski aparati, Hrvatska
Stolna varilica Audion 421 SK, Nizozemska
Laboratorijski autoklav, INKO Lab d.o.o., Hrvatska
Izvor komprimiranog dušika, Messer Croatia Plin d.o.o. Dušik 4.6
pH-metar, Hanna instruments edge Multiparameter pH Meter, Rumunjska

3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema smjesa za 3D ispis

Preliminarnim pokusima određene su optimalne recepture pogodne za 3D ispis ekstrudiranjem. Svaka smjesa sastojala se od svježeg polumasnog sira koji sadrži 5 % mliječne masti ili svježeg posnog sira koji sadrži 0,3 % mliječne masti, praha cikla te otopine guar gume. Pripremljeno je 9 smjesa sa svježim polumasnim sirom te 9 smjesa sa svježim posnim sirom u kojima je udio praha cikla varirao od 0,5 % do 1 % , a udio pripremljene otopine guar gume od 1 % do 3 %. Kombinacije korištenih udjela cikla u prahu te otopine guar gume prikazane su u tablici 6.

Tablica 6. Kombinacije udjela cikla u prahu i otopine guar gume dodavanih u svježi polumasni sir te u svježi posni sir pri pripremi smjesa za 3D ispis

Smjesa	Cikla u prahu (%)	Otopina guar gume (%)
1	1,5	2
2	1	3
3	0,5	1
4	1	1
5	1,5	3
6	0,5	2
7	0,5	3
8	1,5	1
9	1	2

Guar guma dodavana je u obliku 0,5 %-tne vodene otopine. Otopina je pripremljena otapanjem 0,25 g praha guar gume u 50 mL zaključale destilirane vode. Potom je otopina zagrijavana još 10 min pri oko 80 °C na magnetnoj miješalici s grijanjem. Mjerenje temperature provedeno je pomoću beskontaktnog infracrvenog termometra. Prije dodavanja u smjesu, otopinu je ohlađena na sobnu temperaturu.

Primjer pripreme smjese: u 50 g svježeg polumasnog sira ili svježeg posnog sira dodaje se određena kombinacija udjela cikla u prahu i otopine guar gume (npr. za smjesu 1 (vidi tablicu 6) dodaje se 0,75 g cikla u prahu te 1 mL otopine guar gume). Smjesa se miješa metalnom špatulom u staklenoj čaši sve dok ne postane homogena.

Dobivena smjesa puni se, pomoću metalne špatule, u plastičnu štrcaljku od 60 mL. Pomoću plastične štrcaljke od 60 mL prenosi se u manju, plastičnu štrcaljku od 20 mL kao što se može vidjeti na slici 3. Prebacivanje iz veće u manju štrcaljku provodi se s ciljem što bolje eliminacije mogućih, zaostalih mjehurića zraka iz smjese, koji bi mogli stvarati probleme prilikom njenog ekstrudiranja. Manja se štrcaljka potom stavlja u 3D pisac.

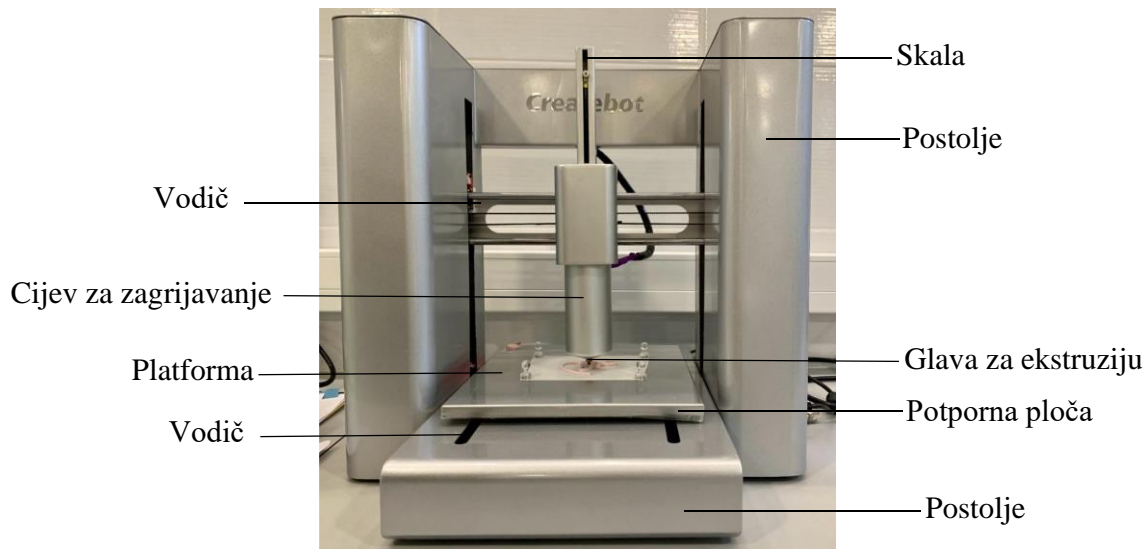
Ostatak smjese koristi se za određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika, odnosno reoloških parametara i pH.



Slika 3. Prijenos pripremljene smjese iz veće u manju štrcaljku s ciljem što bolje eliminacije mjehurića zraka (*vlastita fotografija*)

3.2.2. Izvedba ispisa

Za 3D ispis pripremljene smjese korišten je Createbot 3D food printer-multi ingredient support prikazan na slici 4. Ispis se provodi ekstrudiranjem smjese kroz mlaznicu koja može biti promjera od 0,4 mm do 1,55 mm. Maksimalna brzina ispisa iznosi 30 mm/s, a maksimalna veličina ispisanog oblika $150 \times 150 \times 100$ mm. Pisač sadrži i sistem kontrole temperature, odnosno mogućnost podešavanja i zadržavanja željene temperature smjese pripremljene za ispis (The 3D Printer Store, 2023).



Slika 4. 3D pisač Createbot (*vlastita fotografija*)

a) Dezinficiranje pisača

Budući da se smjese sastoje od svježeg sira, odnosno namirnice vrlo sklone mikrobiološkom kvarenju, a u ovom radu praćena je i mikrobiološka stabilnost gotovih oblika, bilo je potrebno svaki dio pisača, koji bi potencijalno mogao doći u kontakt sa smjesom (cijev za zagrijavanje iznutra i izvana, platforma), dezinficirati. Dezinficiranje se provodilo nanosom 70 %-tnog etanola svaki put prije umetanja nove smjese u pisač.

b) Odabir oblika

Prije samog ispisa, odabran je oblik koji će se ispisivati. Odabran je oblik cvijeta (flower) nalik visibabi koji je već bio pohranjen u datoteci na pisaču.

c) Postavke ispisa

Nakon umetanja plastične štrcaljke napunjene smjesom u 3D pisač, potrebno je postaviti mlaznicu te odabrati odgovarajuće parametre ispisa. Preliminarnim pokusima određeni su sljedeći parametri:

- Metalna mlaznica promjera: 1,244 mm
- Udaljenost mlaznice od podloge: 1,8 mm
- Brzina ispisa: 25 mm/s
- Trajanje ispisa: 4 min 41 s
- Broj slojeva odabranog oblika (visibabe): 6
- Visina sloja 0,4 mm

Nakon podešavanja parametara, a prije ispisa svakog oblika, potrebno je napraviti testno ekstrudiranje smjese kako bi se provjerila prohodnost mlaznice. Nakon toga na ekranu pisača pokreće se ispis. Sa svakom pripremljenom smjesom, napunjenom u štrcaljku, provodio se ispis do maksimalnog broja gotovih oblika. Radi higijene te lakšeg rukovanja gotovim oblicima, ispis se provodio na papir za pečenje koji se postavio na podlogu koja se nalazi na platformi pisača. Kako se papir za pečenje ne bi pomicao učvršćen je magnetima kao što se može vidjeti na slici 4.

d) Sušenje ispisanih oblika

Ispisani oblici namijenjeni su za konzumaciju u svježem obliku. S ciljem provjere njihove mikrobiološke stabilnosti, oblike je bilo potrebno upakirati u plastičnu foliju. Kako bi lakše proveli proces pakiranja u plastičnu foliju, odnosno kako bi se što je moguće više spriječilo lijepljenje gotovih oblika po foliji, oblici su sušeni na zraku u blizini upaljenog plamenika 20 min.

3.2.3. Iskorištenje smjese

Na tehničkoj vagi određivana je masa svake smjese prije početka ekstrudiranja te masa svakog gotovog ispisanog oblika. Iz navedenih podataka računa se iskorištenje smjese prema jednadžbi [1].

$$\text{Iskorištenje smjese (\%)} = \frac{m_1 + m_2 + m_3 + \dots}{m} \times 100 \quad [1]$$

Gdje su:

$m_1 + m_2 + m_3 + \dots$ - zbroj masa svih ispisanih oblika jedne smjese

m – masa smjese prije ispisa

3.2.4. Brzina ekstruzije

Brzina ekstruzije, odnosno masa smjese ispisana u jedinici vremena, izračunata je prema jednadžbi [2] (Manithal i sur., 2017).

$$\text{Brzina ekstruzije (g/min)} = \frac{\text{masa oblika (g)}}{\text{vrijeme printanja (min)}} \quad [2]$$

3.2.5. Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika pripremljenih smjesa

a) Određivanje reoloških parametara

Reološki parametri pripremljenih smjesa određeni su pomoću rotacijskog reometra Rheometric Scientific RM – 180. Na tijelo uređaja pričvršćuje se cilindrično vreteno te vanjski plašt s uzorkom. Potrebno je staviti dovoljno uzorka kako bi vreteno, tijekom rotiranja, bilo potpuno uronjeno u njega što je iznosilo oko 10 g uzorka smjese. Za svaki uzorak zadan je raspon brzine smicanja u kojem je reometar izmjerio napon smicanja. Na temelju dobivenih rezultata, brzine smicanja i napona smicanja, izračunati su reološki parametri; indeks tečenja i koeficijent konzistencije. Do indeksa tečenja i koeficijenta konzistencije dolazi se primjenom linearne regresije. Koeficijent konzistencije jednak je antilogaritamskoj vrijednosti konstante linearne regresije vrijednosti napona smicanja i brzine smicanja dok indeks tečenja odgovara koeficijentu linearne regresije. Prilikom izračunavanja indeksa tečenja i koeficijenta konzistencije upotrijebljen je Ostwald-de Waele-ov zakon:

$$\tau = k \cdot D^n \quad [3]$$

kojeg je za primjenu linearne regresije potrebno linearizirati:

$$\log \tau = \log k + n \cdot \log D \quad [4]$$

pri čemu je:

τ – napon smicanja (Pa)

k – koeficijent konzistencije (Pasⁿ)

D – brzina smicanja (s⁻¹)

n – indeks tečenja

Prividni viskozitet izračunat je prema Newtonovom zakonu:

$$\tau = \mu \cdot D \quad [5]$$

pri čemu je:

τ - napon smicanja (Pa)

μ – viskozitet (Pas)

D – brzina smicanja (s⁻¹) (Režek Jambrak i Vukušić, 2017)

b) pH

Prije prvog mjerenja, Hanna instruments edge Multiparameter pH metar izbaždaren je puferima poznatih pH vrijednosti. Određena je pH vrijednost svake pripremljene smjese direktnim uranjanjem elektorde u smjesu te očitanjem pH vrijednosti na zaslonu uređaja.

3.2.6. Parametri boje

$L^*a^*b^*$ prostor boja, poznatiji po nazivu CIELAB, jedan je od najčešće korištenih prostora boja za mjerenje boja objekata. $L^*a^*b^*$ prostor boja definiran je od strane Međunarodne komisije za osvjetljenje (engl. *International Commission on Illumination*) 1976. godine (Konica Minolta, 1998).

CIELAB sastoji se od tri koordinate L^* , a^* i b^* koje predstavljaju svjetlinu boje, njenu poziciju između crvene/magenta i zelene te njenu poziciju između žute i plave, a njima se mogu opisati sve boje vidljive ljudskom oku. U ovom prostoru boja, L^* koordinata označava intenzitet svjetline objekta na skali od 0 do 100, gdje 0 predstavlja crnu, a 100 bijelu. S druge strane a^* i b^* su koordinate kromatičnosti, odnosno a^* koordinata predstavlja poziciju boje objekta između potpuno zelene ($a^*=-127$) i potpuno crvene ($a^* = 127$), a b^* koordinata između potpuno plave ($b^*=-127$) i potpuno žute ($b^*=127$) (Ganesan i sur., 2010).

Koordinate omogućuju izračun udaljenosti između dviju različitih boja, što je direktno proporcionalno razlici boja koju percipira ljudsko oko, prema jednadžbi [6]. Dobiveni rezultat daje informaciju o razlici u boji ali ne i o tome po čemu su boje različite (Ganesan i sur., 2010; Konica Minolta, 1998).

Parametri boje smjese (L^* , a^* , b^*) određeni su pomoću spektrofotometra Konica Minolta CM-700d. S ciljem utvrđivanja stabilnosti boje, provedeno je mjerenje parametara boje na ispisanim oblicima 0., 7., 14. te 21. dan. Mjerenje je provedeno naslanjanjem spektrofotometra na uzorak preko plastične prozirne folije kao što se može vidjeti na slici 5.



Slika 5. Određivanje parametara boje na ispisanom uzorku primjenom spektrofotometra Konica Minolta CM-700d (*vlastita fotografija*)

Izračunata je promjena boje nastala tijekom vremena skladištenja između ispisnih oblika skladištenih 0 i 7 dana, 0 i 14 dana te 0 i 21 dan. Promjena boje ΔE izračunata je na temelju izmjerenih L^* , a^* , b^* parametara prema jednadžbi [6].

$$\Delta E = \sqrt{(L_x^* - L_y^*)^2 + (a_x^* - a_y^*)^2 + (b_x^* - b_y^*)^2} \quad [6]$$

Gdje su:

L_x^* – svjetlina boje ispisanog oblika pojedine smjese 0. dana skladištenja

L_y^* – svjetlina boje ispisanog oblika pojedine smjese 7., 14. ili 21. dana skladištenja

a_x^* – parametar boje ispisanog oblika pojedine smjese 0. dana skladištenja

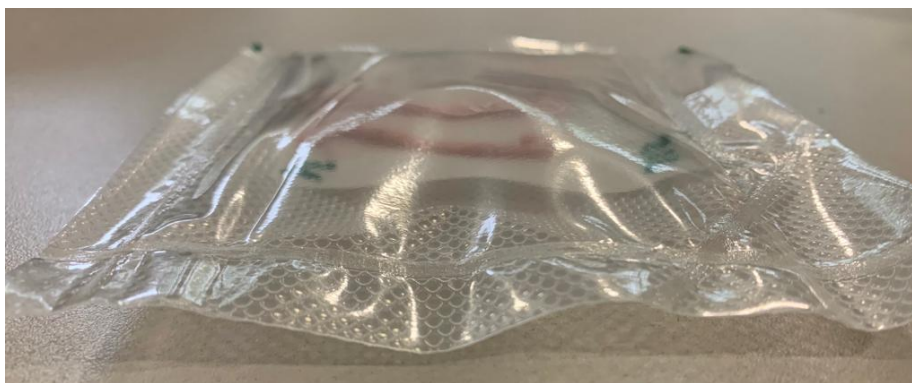
a_y^* – parametar boje ispisanog oblika pojedine smjese 7., 14. ili 21. dana skladištenja

b_x^* – parametar boje ispisanog oblika pojedine smjese 0. dana skladištenja

b_y^* – parametar boje ispisanog oblika pojedine smjese 7., 14. ili 21. dana skladištenja

3.2.7. Pakiranje u struji dušika

Kako bi se povećala mikrobiološka stabilnost oblika, svi oblici pakirani su u struji dušika. Gotovi oblici zajedno s papirom za pečenje stavljeni su u prethodno formirane plastične vrećice, plastične vrećice zatvorene su varilicom, a prije potpunog zavarivanja ostavljen je maleni otvor kroz koji je upuhan plin-dušik. Na slici 6 prikazan je upakirani ispisan oblik u plastičnoj vrećici s dušikom.



Slika 6. Gotovi ispisani oblik u plastičnoj vrećici s dušikom (*vlastita fotografija*)

3.2.8. Skladištenje ispisanih oblika

Nakon pakiranja ispisanih oblika u modificiranu atmosferu, provedeno je njihovo skladištenje u hladnjaku pri 4 °C. Oblici su se skladištili 21 dan koliko je potrebno za praćenje mikrobiološke stabilnosti.

3.2.9. Mikrobiološka analiza

Mikrobiološka kontrola ispisanih oblika provodila se 0., 7., 14. i 21. dan skladištenja.

Razrjeđenje uzorka provelo se otapanjem 100 mg uzorka u 900 µL sterilne destilirane vode. Za pripremu drugog decimalnog razrjeđenja otpipetiran je volumen od 100 µL početnog uzorka u 900 µL sterilne destilirane vode. Postupak je ponavljan do 3 razrjeđenja. Samo naciepljivanje provodilo se nanosom 100 µL pripremljenog razrjeđenja na čvrste podloge u Petrijevim zdjelicama. Uzorak se po površini Petrijevih zdjelica razmazao štapićem po Drigalskom. Korištene su sljedeće hranjive podloge:

- m-triptoza glukoza kvasac bujon – za uzgoj ukupnog broja bakterija
- nutrient bujon – za uzgoj stanica *Escherichia coli*
- bujon sa ekstraktom slada - za uzgoj stanica kvasaca i plijesni
- ljubičasto crveno žučni glukoza agar - za selektivan uzgoj *Enterobacteriaceae*
- ksiloza lizin dezoksiholat agar - za selektivni uzgoj stanica *Salmonelle* i *Shigelle*

Podloge sa naciepljenim uzorcima za ukupan broj mikroorganizama inkubirane su 72 h pri 30 °C, one za uzgoj stanica kvasaca i plijesni 48 h pri 30 °C, a za selektivan uzgoj *Enterobacteriaceae* te za selektivan uzgoj stanica *Salmonelle* i *Escherichia coli* 24 h pri 37 °C. Nakon provedene inkubacije prebrojane su porasle kolonije mikroorganizama te je izračunat broj kolonija u analiziranim uzorcima prema jednadžbi [7].

$$CFU \left(\frac{CFU}{mL} \right) = \frac{\text{broj poraslih kolonija}}{\text{volumen uzorka}} \times \text{recipročna vrijednost decimalnog razrijeđenja} [7]$$

a) Priprema hranjivih podloga

Za uzgoj ukupnog broja bakterija korišten je m-triptozna glukoza kvasac bujon (engl. *m – Tryptic Glucose Yeast Broth*). Za pripremu čvrste podloge m-triptozna glukoza kvasac bujona u 8,5 g praha na 1000 mL destilirane vode dodano je 20 g agara. Otopina je sterilizirana u autoklavu 15 min pri temperaturi 121 °C i tlaku 1,01x10⁵ Pa.

Za pripremu čvrste podloge hranjivog bujona (engl. *Nutrient Broth*) u 8 g praha na 1000 mL destilirane vode dodano je 20 g agara. Otopina je sterilizirana u autoklavu 15 min pri temperaturi 121 °C i tlaku 1,01x10⁵ Pa.

Za uzgoj stanica kvasaca i plijesni korišten je bujon sa ekstraktom slada (engl. *Malt Extract Broth*). Za pripremu čvrste podloge bujona sa ekstraktom slada u 20 g praha na 1000 mL destilirane vode dodano je 20 g agara. Otopina je sterilizirana u autoklavu 15 min pri temperaturi 121 °C i tlaku 1,01x10⁵ Pa.

Za selektivan uzgoj *Enterobacteriaceae* korišten je ljubičasto crveno žučni glukoza agar (engl. *Violet Red Bile Glucose Agar, VRBG*). U 1000 mL destilirane vode otopljeno je 41,5 g VRBG agara, otopina je zagrijana do vrenja, ohlađena do 45 – 50 °C te razlivena u sterilne Petrijeve zdjelice.

Za selektivni uzgoj stanica *Salmonelle* korišten je ksiloza lizin dezoksiholat agar (engl. *Xylose Lysine Deoxycholate agar, XLD agar*). U 1000 mL destilirane vode otopljeno je 55 g XLD agara, otopina je zagrijana do vrenja, ohlađena do 45 – 50 °C te razlivena u sterilne Petrijeve zdjelice.

3.2.10. Statistička analiza podataka

Kako bi se utvrdio statistički utjecaj dodataka otopine guar gume, cikle u prahu te njihove kombinacije na reološke parametre, pH, iskorištenje smjesa te brzinu ekstruzije, provedena je statistička obrada rezultata (analiza varijance (ANOVA)) modela pomoću programskog paketa Statgraphics centurion 19, (Statgraphics technologies, SAD). Dobiveni rezultati su prikazani kao srednja vrijednost tri paralelna mjerenja ± standardna devijacija, a razina značajnosti svih korištenih statističkih metoda bila je 95 %.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu provedeno je razvijanje receptura smjesa funkcionalnih mliječnih proizvoda pogodnih za 3D ispis. Za pripremu smjesa korišten je svježi posni sir ili svježi polumasni sir te prah cikla i otopina guar gume u različitim koncentracijama. Time je sveukupno dobiveno 18 smjesa kojima su određene i uspoređene razne karakteristike. Smjesama su određeni reološki parametri jer uspješnost ispisa ovisi uglavnom o njima (Zhang i sur., 2022). Reološki parametri prikazani su u tablicama 7-8 te slikama 7-8. Osim toga, provjeravan je i pH smjesa (tablica 9), iskorištenje smjesa (slike 10-11) te brzina ekstruzije. (slika 12). Dobiveni rezultati mjerenja statistički su obrađeni pomoću programskog paketa Statgraphics centurion 19. Statistički rezultati prikazani su u tablicama 13-16. Kao što je već ranije spomenuto u tekstu, 3D hrana ima vrlo ograničen rok trajanja, a i sam svježi sir vrlo je podložan mikrobiološkom kvarenju. Osim toga, dosadašnjih istraživanja koji se bave mikrobiološkom analizom 3D hrane vrlo je malo (Zhang i sur., 2022). Stoga je cilj ovog istraživanja bio i provjeriti mogućnost skladištenja gotovih, ispisanih 3D oblika, pakiranih u modificiranoj atmosferi, u hladnjaku pri 4 °C. Stabilnost ispisanih oblika praćena je provedbom mikrobiološke analize 0., 7., 14. te 21. dan skladištenja. Rezultati mikrobiološke analize prikazani su u tablicama 11-12. Osim mikrobiološke analize, 0., 7., 14. te 21. dan skladištenja određivana je i promjena boje ispisanih oblika koja je prikazana u tablici 10. Kao što je već ranije spomenuto u tekstu, praćenje boje vrlo je bitno jer se početna procjena potrošača o kvaliteti hrane temelji upravo na njoj.

4.1.FIZIKALNO-KEMIJSKE KARAKTERISTIKE SMJESA

4.1.1. Reološki parametri

Reološki parametri ispitivanih smjesa prikazani su u tablicama 7-8 te na slikama 7-8. Mjerenje reoloških parametara, kao i sam 3D ispis, provedeno je pri sobnoj temperaturi koja je iznosila oko 25 °C. Reološki parametri za smjese posnog sira mjereni su u rasponu brzine smicanja od 50 s⁻¹ do 240 s⁻¹, a za smjese polumasnog sira u rasponu brzine smicanja od 20 s⁻¹ do 270 s⁻¹. Dobiveni rezultati prikazani su kao srednja vrijednost tri paralelna mjerenja ± standardna devijacija.

S obzirom da je svježi sir nenewtonovske tekućina, nema stalnu viskoznost već se ona mijenja s promjenom smične brzine. Takva viskoznost naziva se prividna viskoznost te je kod svake smične brzine različita. Stoga su reološka svojstva ispitivanih smjesa izražena indeksom tečenja te koeficijentom konzistencije (Režek Jambrak i Vukušić, 2017). Indeks tečenja, za sve ispitivane smjese, vrijednost je veća od nule, a manja od jedan što upućuje na to da su ispitivane

smjese pseudoplastični fluidi. Upravo su pseudoplastični fluidi vrlo poželjni za 3D ispis na principu ekstruzije jer se takve smjese mogu lagano ekstrudirati (Liu i sur., 2018). Također, da se radi o pseudoplastičnoj tekućini može se zaključiti i prema slikama 7-8 gdje je vidljivo da viskoznost smjesa opada s povećanjem brzine smicanja (Berk, 2009).

Na reološke parametre smjesa utjecala je koncentracija dodataka. Prema rezultatima statističke analize, dodatak otopine guar gume kao i kombinacija dodatka otopine guar gume i cikle u prahu statistički su značajni faktori za prividnu viskoznost smjesa posnog kao i smjesa polumasnog sira, a navedeno se može vidjeti u tablicama 13-16. Također, utvrđen je i statistički značajan utjecaj dodataka kombinacije otopine guar gume i cikle u prahu na indeks tečenja te koeficijent konzistencije smjesa posnog i smjesa polumasnog sira

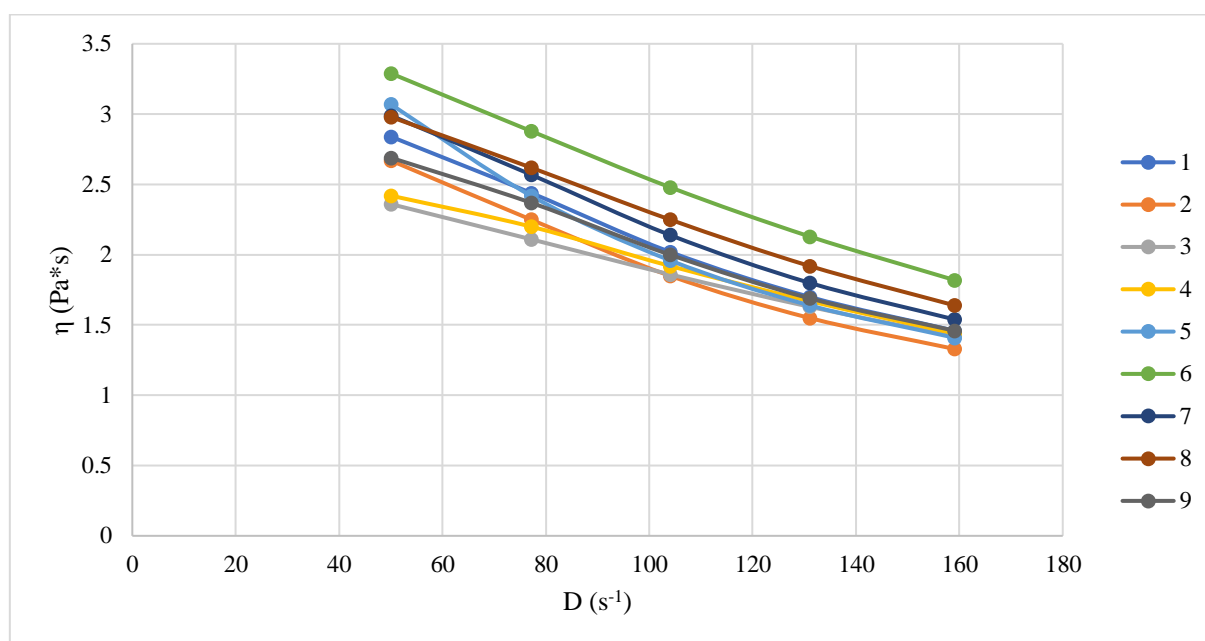
Sve pripremljene smjese imale su reološke parametre pogodne za laganu ekstruziju i teksturu koja omogućuje zadržavanje željenog oblika nakon ispisa na podlogu čime je postignut uspješan 3D ispis (Zhang i sur., 2022). Treba napomenuti da su poneki zaostali mjehurići zraka u smjesi doveli do vrlo kratkotrajnog prekida ekstruzije, no to nije utjecalo na konačni izgled proizvoda. Zaostali mjehurići zraka posljedica su načina punjenja smjese u štrcaljku. Na slici 9 prikazani su 3D ispisani oblici smjese 6 posnog sira (lijevo) i smjese 8 polumasnog sira (desno).

Tablica 7. Reološki parametri ispitivanih smjesa posnog sira

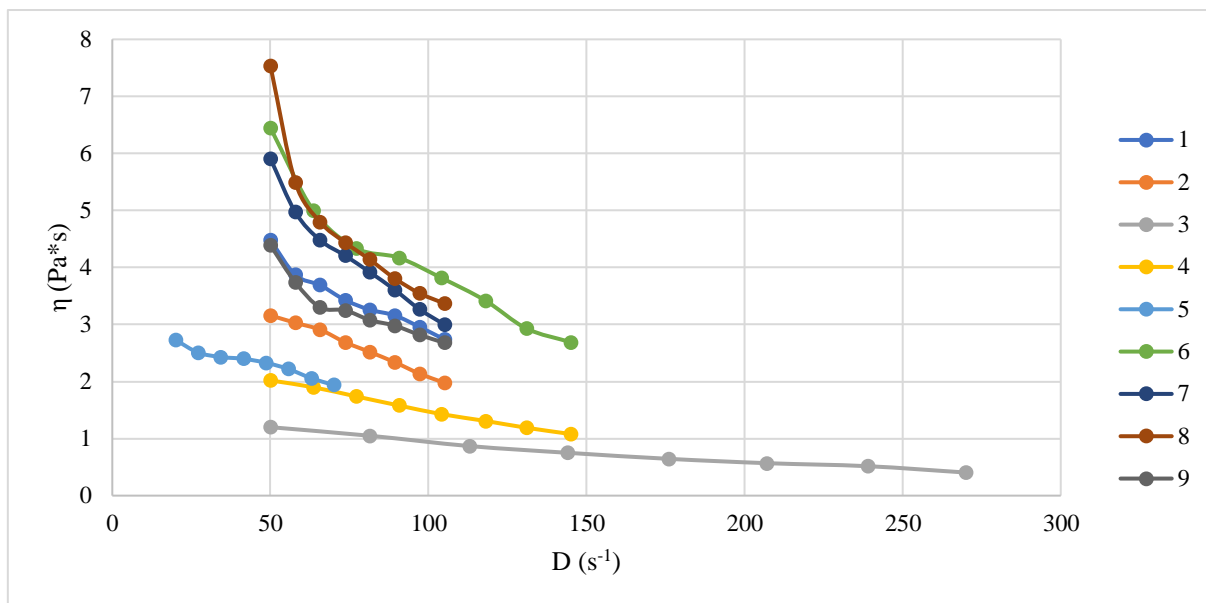
Smjesa	Prividna viskoznost (Pas)	Indeks tečenja	Koeficijent konzistencije (Pas ⁿ)
1	1,45±0,06	0,42±0,21	27,40±0,55
2	1,32±0,17	0,39±0,29	29,22±0,62
3	1,42±0,09	0,57±0,33	12,82±0,29
4	1,44±0,08	0,56±0,07	13,56±0,15
5	0,98±0,16	0,26±0,22	55,82±0,63
6	1,39±0,15	0,40±0,37	35,55±0,34
7	1,53±0,10	0,43±0,28	27,90±0,08
8	1,42±0,09	0,44±0,32	26,90±0,81
9	1,45±0,07	0,47±0,34	21,41±0,83

Tablica 8. Reološki parametri ispitivanih smjesa polumasnog sira

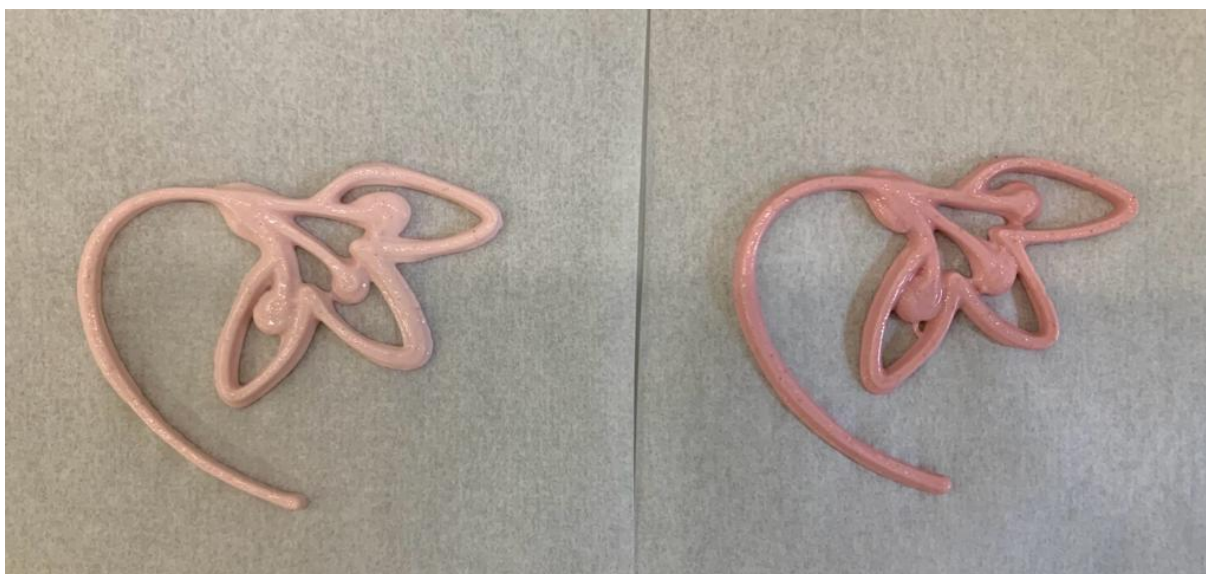
Smjesa	Prividna viskoznost (Pas)	Indeks tečenja	Koeficijent konzistencije (Pas ⁿ)
1	2,74±0,20	0,44±0,21	36,49±0,64
2	2,34±0,48	0,48±0,03	24,00±0,56
3	0,47±0,22	0,41±0,12	12,20±0,39
4	1,31±0,29	0,48±0,09	15,24±0,48
5	1,94±0,43	0,76±0,23	5,48±0,43
6	3,42±0,52	0,43±0,27	52,91±0,63
7	3,61±0,22	0,29±0,40	87,60±0,92
8	3,37±0,37	0,23±0,33	118,80±1,93
9	2,68±0,26	0,49±0,39	28,28±0,09



Slika 7. Grafički prikaz ovisnosti viskoznosti o brzini smicanja za smjese posnog sira



Slika 8. Grafički prikaz ovisnosti viskoznosti o brzini smicanja za smjese polumasnog sira



Slika 9. Ispisani 3D oblici smjese 6 posnog sira (lijevo) i smjese 8 polumasnog sira (desno) (vlastita fotografija)

4.1.2. pH

pH vrijednosti ispitivanih smjesa mogu se vidjeti u tablici 9. Dobiveni rezultati prikazani su kao srednja vrijednost tri paralelna mjerenja \pm standardna devijacija. pH vrijednosti smjesa posnog sira niže su od pH vrijednosti smjesa polumasnog sira. pH svih smjesa nije se značajno razlikovao.

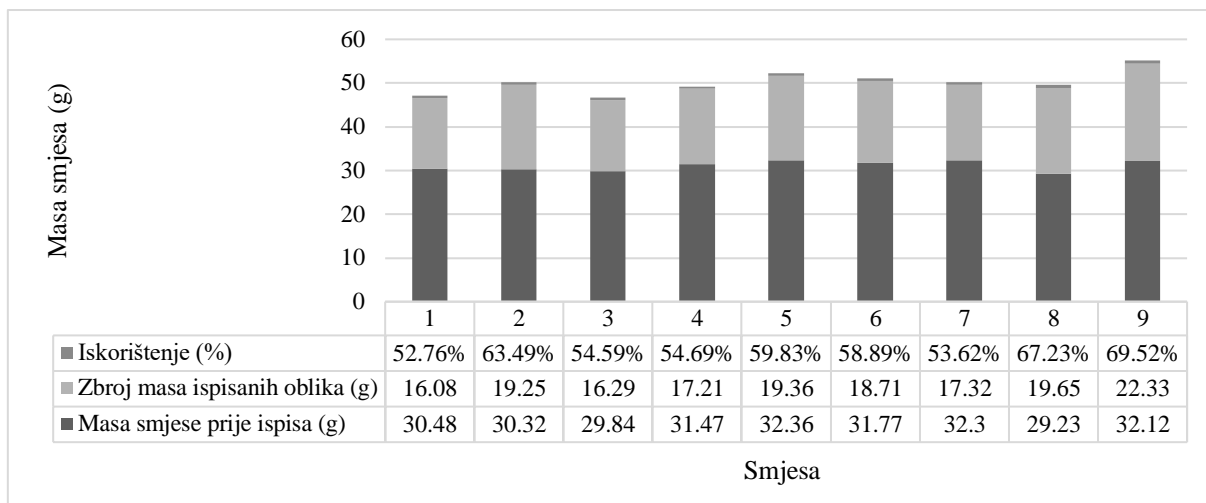
Tablica 9. pH pripremljenih smjesa posnog sira i smjesa polumasnog sira

Smjesa	pH	
	Posni sir	Polumasni sir
1	4,37±0,04	4,48±0,04
2	4,33±0,02	4,42±0,02
3	4,34±0,01	4,41±0,02
4	4,36±0,04	4,32±0,03
5	4,34±0,03	4,33±0,04
6	4,33±0,04	4,34±0,03
7	4,36±0,02	4,55±0,04
8	4,35±0,00	4,44±0,03
9	4,33±0,04	4,42±0,02

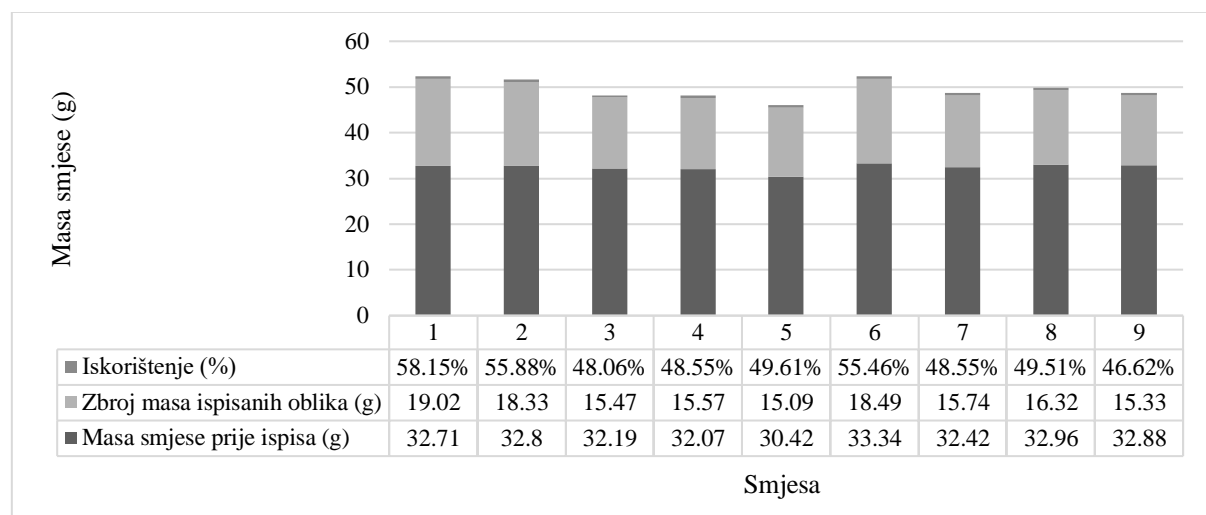
4.2.MJERENJE MASE ISPISANIH OBLIKA

Mjerena je masa svake smjese prije početka ispisa kao i masa svakog ispisanog 3D oblika te je na temelju tih informacija izračunato iskorištenje svake smjese. Osim toga, na temelju mase pojedinog ispisanog oblika te poznatog vremena potrebnog za ispis oblika, izračunata je brzina ekstruzije.

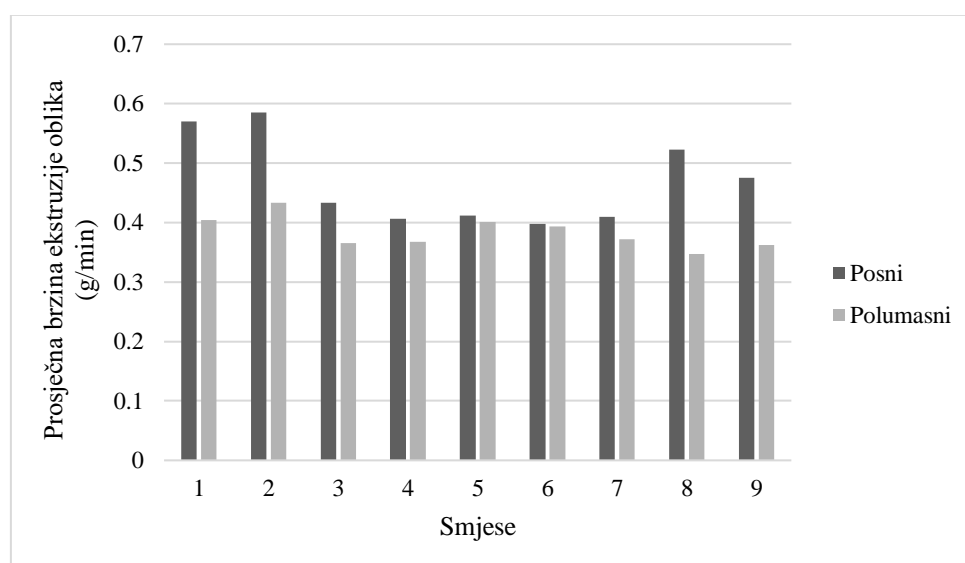
Svaka šarža sadržavala je $31,76 \pm 1,92$ g pripremljene smjese te je iz svake šarže ispisan maksimalan broj 3D oblika. Na slici 10 prikazana su iskorištenja svih smjesa pripremljenih s posnim sirom, dok su na slici 11 prikazana iskorištenja smjesa pripremljenih s polumasnim sirom. Veće iskorištenje postignuto je kod smjesa pripremljenih od posnog sira nego kod smjesa polumasnog sira, a ono je iznosilo između 52,76 % i 69,52 %. Iskorištenje smjesa načinjenih od polumasnog sira kretalo se između 46,62 % i 58,15 %. Testno ekstrudiranje, koje se provodilo prije ispisa svakog oblika, glavni je razlog gubitka smjese tijekom ispisa, odnosno niskog iskorištenja smjesa. Na iskorištenje smjese utjecala je i brzina ekstruzije, smjese pripremljene od posnog sira, kao što se može vidjeti na slici 12, imale su veću prosječnu brzinu ekstruzije od smjesa pripremljenih od polumasnog sira. Prosječna brzina ekstruzije smjesa posnog sira kretala se između 0,39 g/min i 0,59 g/min, dok je ista kod smjesa polumasnog sira iznosila između 0,35 g/min i 0,43 g/min.



Slika 10. Prikaz rezultata iskorištenja smjesa posnog sira



Slika 11. Prikaz rezultata iskorištenje smjesa polumasnog sira



Slika 12. Prikaz rezultata prosječne brzine ekstruzije smjesa posnog sira te smjesa polumasnog sira

4.3. STABILNOST BOJE ISPISANIH OBLIKA

Boja površine hrane prvi je parametar na temelju kojeg potrošači određuju kvalitetu proizvoda, a ujedno je i kritičan za njegovo prihvaćanje. Već na temelju boje potrošači mogu prepoznati određene anomalije ili defekte hrane (León i sur., 2006). Boja hrane, tijekom skladištenja, često se degradira kao posljedica enzimskih i neenzimskih reakcija, oksidacije i drugih fizikalnih i kemijskih reakcija. Stoga se mjerenje boje često koristi kao mjera kvalitete hrane tijekom skladištenja (Kong i Singh, 2011).

Određivanje stabilnosti boje ispisanih oblika, upakiranih u modificiranoj atmosferi te skladištenih pri 4 °C provedeno je tijekom 21 dana mjerenjem parametara boje (L^* , a^* , b^*). Mjerenje je provedeno za sve pripremljene smjese posnog sira kao i za sve pripremljene smjese polumasnog sira što čini ukupno 18 smjesa. Na temelju izmjerenih parametara boje određena je ukupna promjena boje (ΔE) između oblika iste smjese skladišteni 0 i 7 dana, 0 i 14 dana te 0 i 21 dan. Rezultate navedene promjene boje moguće je vidjeti u tablici 10.

Ukoliko je vrijednost ΔE između 0 i 0,5 promjena boje nije uočljiva, ΔE između 0,5 i 1,5 upućuje na slabo primjetnu promjenu boje, ΔE između 1,5 i 3 je primjetna promjena boje, ΔE između 3 i 6 je dobro vidljiva promjena boje, dok je ΔE između 6 i 12 odlično vidljiva promjena boje (Barba i sur., 2013). Prema tome, od ispisanih oblika, ne postoji oblik koji nema barem slabo primjetnu promjenu boje, već nakon 7. dana, pošto je ΔE za sve oblike veća od 0,5.

Promjena boje smjesa načinjenih od posnog sira, kreće se između 0,64 i 3,33, dok kod smjesa načinjenih od polumasnog sira između 0,58 i 17,09. Veća promjena boje kod smjesa polumasnog sira može se pripisati pojavi vidljivog mikrobiološkog kvarenja na ispisanim oblicima već nakon 7. dana koje je postajalo sve izraženije tijekom vremena. Mikrobiološko kvarenje bilo je vidljivo po pojavi bijelih nakupina na pojedinim mjestima ispisanog oblika poput onih prikazanih na slici 13. Posebno izražajne bijele nakupine pojavile su se na smjesama polumasnog sira pod brojem 1 i 9 nakon 21. dana što je rezultiralo vrlo velikom promjenom boje kao što se može vidjeti u tablici 10. Također, na nekim oblicima osim bijelih nakupina, pojavilo se i mikrobiološko kvarenje u obliku žućkaste boje kao što je bio slučaj kod oblika iz smjese polumasnog sira broj 4 nakon 21. dana skladištenja.

Kod oblika ispisanih iz smjesa posnog sira nije bilo vidljivog mikrobiološkog kvarenja te je promjena boja iznosila manje od 3 što upućuje na to da je promjena boje bila primjetna ali ne i dobro vidljiva. Iznimka je promjena boje jednog oblika (smjesa broj 1, nakon 14. dana) koja je bila viša od 3.

Na dobivene rezultate promjene boje ispisanih oblika tijekom skladištenja, koji su posljedica fizikalno-kemijskih promjena, kao i mikrobiološkog kvarenja, mogao je utjecati sam 3D ispis, način pakiranja, odabir mjesta na kojima su određivani parametri boje te koncentracija kisika unutar pakovanja.

Tablica 10. Ukupna razlika u boji 3D ispisanih oblika iz smjese posnog sira i smjese polumasnog sira, nakon 7., 14. i 21. dana skladištenja u modificiranoj atmosferi pri 4 °C

Smjesa	Posni sir			Polumasni sir		
	ΔE 7. dan	ΔE 14. dan	ΔE 21. dan	ΔE 7. dan	ΔE 14. dan	ΔE 21. dan
1	2,31	3,33	2,15	4,91	15,22	13,05
2	1,95	1,60	2,48	1,09	9,06	1,08
3	2,43	1,86	1,72	1,59	2,72	3,88
4	0,91	1,10	2,19	0,58	9,21	10,93
5	0,64	0,89	2,54	3,50	2,66	1,00
6	0,82	1,71	2,40	1,00	1,11	0,96
7	1,05	1,79	2,91	1,31	11,87	2,93
8	0,85	1,25	2,34	2,79	10,97	0,94
9	1,04	1,97	1,84	2,33	13,01	17,09



Slika 13. Ispisani 3D oblik iz smjese polumasnog sira, skladišten 14 dana u modificiranoj atmosferi pri 4 °C, s vidljivom pojavom mikrobiološkog kvarenja (bijeke nakupine) koje je utjecalo na promjenu boje oblika (*vlastita fotografija*)

4.4. MIKROBIOLOŠKA STABILNOST ISPISANIH OBLIKA

Rezultate provedene mikrobiološke analize 3D oblika ispisanih iz smjesa posnog sira, pakiranih u modificiranoj atmosferi te skladištenih pri 4 °C kroz 21 dan moguće je vidjeti u tablici 11. Dok su u tablici 12 prikazani rezultati provedene mikrobiološke analize 3D oblika ispisanih iz smjesa polumasnog sira, pakiranih u modificiranoj atmosferi te skladištenih pri 4 °C kroz 21 dan. Rezultati su iskazani kao logaritama broja poraslih kolonija po g uzorka (log CFU/g). Prije pripreme smjesa provedena je mikrobiološka kontrola otopine guar gume kao i praha cikle čime se isključila mogućnost unakrsne kontaminacije.

Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (2011) daje preporuke da u svježim sirevima od pasteriziranog mlijeka ne smije biti prisutna *Salmonella*, da broj *Escherichia coli* bude manji od 2 log CFU/g, broj *Enterobacteriaceae* manji od 3 log CFU/g, broj kvasaca manji od 3 log CFU/g, a broj plijesni manji od 2 log CFU/g. Također, u Vodiču (2011) se navodi da je kod prerađenog kravljeg mlijeka koje se upotrebljava za pripremanje mliječnih proizvoda dopušten broj mikroorganizama (broj kolonija na podlozi) pri 30 °C do 5 log CFU/ml. Zato je kao maksimalna preporučena granica ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija u svježem siru uzeta vrijednost 5 log CFU/g.

Rezultati pokazuju da niti jedan od ispitivanih uzoraka nije sadržavao patogene bakterije čak i nakon 21 dana skladištenja. Osim toga, uzorci ispisan iz smjesa posnog sira nisu sadržavali niti kvasce i plijesni tijekom 21 dana skladištenja.

Kod svih analiziranih 3D ispisanih oblika, načinjenih od smjesa posnog sira, nije detektiran porast ukupnog broja bakterija nulti dan. Skladištenjem dolazi do rasta ukupnog broja bakterija te je ukupan broj bakterija 14. dan, kod nekih uzoraka, prešao maksimalnu preporučenu granicu.

Kod analiziranih 3D ispisanih oblika, načinjenih od smjesa polumasnog sira, kod nekih uzoraka već nulti dan zabilježen je porast ukupnog broja bakterija iznad maksimalne preporučene granice. Svježi sir sadrži bakterije mliječne kiseline koje potječu od starter kultura korištenih za fermentaciju mlijeka u sir, ali i od uobičajene mikroflore mlijeka koja nije inaktivirana prethodno primijenjenim postupcima toplinske obrade (Trejo-González i sur., 2022). Stoga bi se visok broj ukupnog broja bakterija, određen nultog dana skladištenja, mogao pripisati upravo tome. Kao i kod 3D oblika ispisanih iz smjesa posnog sira, tako i kod oblika ispisanih od polumasnog sira, vremenom skladištenja dolazi do rasta ukupnog broja bakterija te 14. dana svi analizirani uzorci prelaze maksimalnu preporučenu granicu ukupnog broja bakterija.

Porast broja ukupnih aerobnih mezofilnih bakterija u smjesama polumasnog sira slaže se s trendom porasta istih kod svježeg sira upakiranog u modificiranoj atmosferi (60 % N₂ i 40 % CO₂) te skladištenog tijekom 18 dana pri 4 °C u istraživanju kojeg su proveli Barukčić i sur. (2020a), gdje je ukupan broj bakterija prvog dana skladištenja bio je oko 5,5 log CFU/g, 6. dana skladištenja oko 6,5 log CFU/g, a 12. dana skladištenja oko 7 log CFU/g.

Polumasni sir korišten za pripremu smjesa načinjen je od pasteuriziranog mlijeka. Budući da se kvasci i plijesni uništavaju tijekom pasteurizacije, a niti u jednoj smjesi načinjenoj od posnog sira kvasci i plijesni nisu detektirani, čime se isključuje mogućnost kontaminacije smjesa kvascima i plijesnima tijekom priprema smjesa, 3D ispisa i pakiranja, pretpostavka je da su kvasci i plijesni u smjesama polumasnog sira posljedica kontaminacije sira tijekom fermentacije mlijeka i izdvajanja sirutke (Sabljak i sur., 2013). Sve pripremljene smjese su kisele (vidi tablicu 9), a pretpostavlja se da aktivnost prisutnih aerobnih mezofilnih bakterija dodatno snižava pH uzoraka tijekom skladištenja (Barukčić i sur., 2020b). Takvi uvjeti pogodni su za rast kvasaca i plijesni (Sabljak i sur., 2013) te je već 7. dan skladištenja, kod svih uzoraka polumasnog sira, zabilježen porast kvasaca i plijesni iznad preporučene granice.

Veliku zabrinutost kod 3D ispisa hrane predstavljaju površine koje direktno dolaze u kontakt s hranom. Takve površine potrebno je očistiti te provesti dezinfekciju (Hamilton i Gibson, 2023). Iako su sve površine koje su dolazile u kontakt sa smjesom za 3D ispis te gotovim 3D oblicima očišćene te dezinficirane sa 70 %-tnim etanolom ne može se isključiti mogućnost da je do određene kontaminacije došlo tijekom pripreme smjese, 3D ispisa ili pakiranja. Pretpostavka je da upravo zato određeni uzorci, po broju ukupnih bakterija, odskakuju od broja ukupnih bakterija ostalih uzoraka analiziranih isti dan skladištenja. Severini i sur. (2018) proveli su mikrobiološku analizu 3D oblika ispisanih iz smjese voća i povrća. Dio uzoraka skladištiti su u modificiranoj atmosferi, a dio u zraku. Iako su sve sirovine za pripremu smjese dobro oprali kako bi smanjili početni broj mikroorganizama, nulti dan skladištenja zabilježen je porast mezofilnih bakterija iznad 5 log CFU/g te porast plijesni iznad 4 log CFU/g za uzorke skladištene u zraku kao i za one skladištene u modificiranoj atmosferi. Severini i sur. (2018) navode kako je do mikrobiološke kontaminacije moglo doći tijekom pripreme smjese kao i tijekom samog 3D ispisa.

Tablica 11. Broj mikroorganizama (log CFU/g) 3D ispisanih oblika posnog sira pakiranih u modificiranoj atmosferi te skladištenih kroz 21 dan pri 4 °C

Tip mikroorganizma	Smjesa	Dani skladištenja			
		0	7	14	21
Aerobne mezofilne bakterije	1	n.d.	4,41	4	4,95
	2	n.d.	4,39	4,57	>5
	3	n.d.	4,42	4,83	>5
	4	n.d.	4,34	4	>5
	5	n.d.	4,43	>5	4,93
	6	n.d.	4,36	4,04	4,45
	7	n.d.	4,47	4,53	4,91
	8	n.d.	4,29	4,59	4,79
	9	n.d.	4,41	>5	>5
<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Salmonella</i> <i>Escherichia coli</i> Kvasci i plijesni	1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. nije dokazano

Tablica 12. Broj mikroorganizama (log CFU/g) 3D ispisanih oblika polumasnog sira pakiranih u modificiranoj atmosferi te skladištenih kroz 21 dan pri 4 °C

Tip Mikroorganizma	Smjesa	Dani skladištenja			
		0	7	14	21
Aerobne mezofilne bakterije	1	>5	>5	>5	>5
	2	>5	>5	>5	>5
	3	4,48	4,07	>5	>5
	4	n.d.	>5	>5	>5
	5	n.d.	>5	>5	>5
	6	4,40	>5	>5	>5
	7	n.d.	4,04	>5	>5
	8	n.d.	>5	>5	>5
	9	n.d.	3,91	>5	>5
<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Salmonella</i> <i>Escherichia coli</i>	1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Kvasci i plijesni	1	n.d.	>5	>5	>5
	2	n.d.	>5	>5	>5
	3	n.d.	4,06	>5	>5
	4	n.d.	>5	>5	>5
	5	n.d.	>5	>5	>5
	6	3	4,95	>5	>5
	7	n.d.	4,04	>5	>5
	8	3,48	4,46	>5	>5
	9	n.d.	3,79	>5	>5

n.d. nije dokazano

4.5. STATISTIČKA ANALIZA

Rezultati provedene statističke analize prikazani su u tablicama 13-16.

Sve P-vrijednosti manje od 0,05 % ukazuju na statističku značajnost određenog faktora pri razini značajnosti od 95 % ili višoj.

Kao što se može vidjeti u tablici 13 i tablici 15, dodatak otopine guar gume, kao i kombinacija dodatka otopine guar gume i dodatka cikle u prahu statistički su značajni faktori za prividnu viskoznost smjesa posnog sira kao i smjesa polumasnog sira. Kombinacija dodatka otopine guar gume i dodatka cikle u prahu statistički je značajan faktor za indeks tečenja te koeficijent konzistencije smjesa posnog sira kao i smjesa polumasnog sira.

Također, iz tablice 13 i tablice 15 vidljivo je i to da dodatak otopine guar gume, dodatak cikle u prahu ili njihova kombinacije nisu statistički značajni faktori za pH smjesa posnog i polumasnog sira kao ni za njihovo iskorištenje, brzinu ekstruzije te promjenu boje 7., 14. i 21. dan skladištenja.

Tablica 13. Analiza varijance parametara posnog sira

Izvor		A: guar guma	B: cikla u prahu	AA	AB	BB	Ukupna pogreška	Ukupna korekcija
Suma kvadrata	Prividna viskoznost (Pas)	3,46	0,11	1,00	5,22	0,24	0,67	8,83
	Indeks tečenja	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,03	0,17
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	455,47	4,76	90,90	8903,81	1308,33	896,59	11256,80
	pH	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,03	0,05
	Iskorištenje smjese (%)	21,12	0,06	18,06	0,04	0,41	124,32	164,63
	Brzina ekstruzije (g/min)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	ΔE 7. dan	0,01	0,08	0,01	0,34	0,01	3,41	3,86
	ΔE 14. dan	1,61	0,08	1,70	0,02	0,12	2,14	3,99
	ΔE 21. dan	0,00	0,00	0,11	0,25	0,06	0,17	1,05
Stupnjevi slobode	Prividna viskoznost (Pas)	1	1	1	1	1	3	8
	Indeks tečenja	1	1	1	1	1	3	8
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	1	1	1	1	1	3	8
	pH	1	1	1	1	1	3	8
	Iskorištenje smjese (%)	1	1	1	1	1	3	8
	Brzina ekstruzije (g/min)	1	1	1	1	1	3	8
	ΔE 7. dan	1	1	1	1	1	3	8
	ΔE 14. dan	1	1	1	1	1	3	8
	ΔE 21. dan	1	1	1	1	1	3	8

Tablica 13. Analiza varijance parametara posnog sira – *nastavak*

Srednje odstupanje	Prividna viskoznost (Pas)	3,46	0,11	1,00	5,22	0,24	0,22	
	Indeks tečenja	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,01	
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	455,47	4,76	90,90	8903,81	1308,33	298,864	
	pH	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	
	Iskorištenje smjese (%)	21,12	0,06	18,06	0,04	0,41	41,44	
	Brzina ekstruzije (g/min)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	ΔE 7. dan	0,01	0,08	0,01	0,34	0,01	1,14	
	ΔE 14. dan	1,61	0,08	1,70	0,02	0,12	0,71	
	ΔE 21. dan	0,00	0,00	0,11	0,25	0,06	0,06	
F-vrijednost	Prividna viskoznost (Pas)	15,47	0,47	4,46	23,31	1,08		
	Indeks tečenja	0,54	0,17	0,07	13,06	0,42		
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	1,52	0,02	0,30	29,79	4,38		
	pH	0,19	0,02	0,02	1,79	0,08		
	Iskorištenje smjese (%)	0,51	0,00	0,44	0,00	0,01		
	Brzina ekstruzije (g/min)	0,07	0,39	0,26	1,84	0,07		
	ΔE 7. dan	0,01	0,07	0,01	0,30	0,00		
	ΔE 14. dan	2,26	0,11	2,38	0,03	0,17		
	ΔE 21. dan	0,05	0,08	1,92	4,32	1,06		

Tablica 13. Analiza varijance parametara posnog sira – nastavak

P- vrijednost	Prividna viskoznost (Pas)	0,03	0,54	0,13	0,02	0,37		
	Indeks tečenja	0,52	0,71	0,81	0,04	0,56		
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	0,30	0,91	0,62	0,01	0,13		
	pH	0,69	0,89	0,91	0,27	0,80		
	Iskorištenje smjese (%)	0,53	0,97	0,56	0,98	0,93		
	Brzina ekstruzije (g/min)	0,81	0,58	0,64	0,27	0,81		
	ΔE 7. dan	0,92	0,81	0,92	0,62	0,95		
	ΔE 14. dan	0,23	0,77	0,22	0,87	0,71		
	ΔE 21. dan	0,84	0,80	0,26	0,13	0,38		

Tablica 14. Statistički parametri regresije i analize posnog sira

	Prividna viskoznost (Pas)	Indeks tečenja	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	pH	Iskorištenje smjese (%)	Brzina ekstruzije (g/min)	ΔE 7. dan	ΔE 14. dan	ΔE 21. dan	
R - kvadratna vrijednost (%)	92,39	85,90	92,04	46,59	24,49	64,71	11,75	46,30	83,88	
R – kvadratna (prilagođen za stupnjeve slobode) (%)	79,70	61,57	78,76	0,00	0,00	5,90	0,00	0,00	57,00	
Standardna pogreška	0,47	0,09	17,29	0,09	6,44	0,02	1,07	0,84	0,24	
Srednja apsolutna pogreška	0,24	0,05	8,76	0,05	2,92	0,01	0,54	0,43	0,12	
P - vrijednost	A: guar guma	0,03	0,52	0,3	0,69	0,53	0,81	0,92	0,23	0,84
	B: cikla u prahu	0,54	0,71	0,91	0,89	0,97	0,58	0,81	0,77	0,8
	AA	0,13	0,81	0,62	0,91	0,56	0,64	0,92	0,22	0,26
	AB	0,02	0,04	0,01	0,27	0,98	0,27	0,62	0,87	0,13
	BB	0,37	0,56	0,13	0,8	0,93	0,81	0,95	0,71	0,38

Tablica 15. Analiza varijance parametara polumasnog sira

Izvor		A: guar guma	B: cikla u prahu	AA	AB	BB	Ukupna pogreška	Ukupna korekcija
Suma kvadrata	Prividna viskoznost (Pas)	3,71	0,02	1,20	5,22	0,46	0,58	8,76
	Indeks tečenja	0,01	0,00	0,00	0,11	0,01	0,02	0,17
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	547,76	59,00	43,43	8903,81	1768,94	707,35	11576,1
	pH	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,02	0,04
	Iskorištenje smjese (%)	24,70	1,55	22,89	0,04	2,91	97,79	138,60
	Brzina ekstruzije (g/min)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	ΔE 7. dan	1,27	1,766	1,75	0,24	2,80	1,98	15,81
	ΔE 14. dan	31,42	57,35	8,26	76,21	18,02	74,46	205,85
ΔE 21. dan	70,00	64,55	95,40	0,26	69,78	117,27	310,62	
Stupnjevi slobode	Prividna viskoznost (Pas)	1	1	1	1	1	3	8
	Indeks tečenja	1	1	1	1	1	3	8
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	1	1	1	1	1	3	8
	pH	1	1	1	1	1	3	8
	Iskorištenje smjese (%)	1	1	1	1	1	3	8
	Brzina ekstruzije (g/min)	1	1	1	1	1	3	8
	ΔE 7. dan	1	1	1	1	1	3	8
	ΔE 14. dan	1	1	1	1	1	3	8
ΔE 21. dan	1	1	1	1	1	3	8	

Tablica 15. Analiza varijance parametara polumasnog sira - *nastavak*

Srednje odstupanje	Prividna viskoznost (Pas)	3,71	0,02	1,20	5,22	0,46	0,19	
	Indeks tečenja	0,01	0,00	0,00	0,11	0,01	0,01	
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	547,76	59,00	43,43	8903,81	1768,94	235,79	
	pH	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	
	Iskorištenje smjese (%)	24,70	1,55	22,89	0,04	2,91	32,60	
	Brzina ekstruzije (g/min)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	
	ΔE 7. dan	1,27	1,76	1,75	0,25	2,80	0,66	
	ΔE 14. dan	31,42	57,35	8,26	76,21	18,02	24,82	
	ΔE 21. dan	70,00	64,55	95,40	0,26	69,78	39,09	
F-vrijednost	Prividna viskoznost (Pas)	19,35	0,12	6,23	27,20	2,42		
	Indeks tečenja	0,86	0,07	0,03	17,22	0,96		
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	2,32	0,25	0,18	37,76	7,50		
	pH	0,33	0,02	0,00	2,02	0,38		
	Iskorištenje smjese (%)	0,76	0,05	0,70	0,00	0,09		
	Brzina ekstruzije (g/min)	0,00	0,00	0,01	0,87	0,12		
	ΔE 7. dan	1,92	2,67	2,66	0,37	4,25		
	ΔE 14. dan	1,27	2,31	0,33	3,07	0,73		
	ΔE 21. dan	1,79	1,65	2,44	0,01	1,79		

Tablica 15. Analiza varijance parametara polumasnog sira - nastavak

P- vrijednost	Prividna viskoznost (Pas)	0,02	0,76	0,08	0,01	0,22		
	Indeks tečenja	0,42	0,81	0,87	0,03	0,40		
	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	0,22	0,65	0,70	0,01	0,07		
	pH	0,60	0,90	0,98	0,25	0,58		
	Iskorištenje smjese (%)	0,45	0,84	0,46	0,97	0,78		
	Brzina ekstruzije (g/min)	1,00	0,95	0,94	0,42	0,75		
	ΔE 7. dan	0,26	0,20	0,20	0,59	0,13		
	ΔE 14. dan	0,34	0,23	0,60	0,18	0,46		
	ΔE 21. dan	0,27	0,29	0,22	0,94	0,27		

Tablica 16. Statistički parametri regresije i analize polumasnog sira

	Prividna viskoznost (Pas)	Indeks tečenja	Koeficijent konzistencije (Pasⁿ)	pH	Iskorištenje smjese (%)	Brzina ekstruzije (g/min)	ΔE 7. dan	ΔE 14. dan	ΔE 21. dan	
R - kvadratna vrijednost (%)	93,43	89,15	93,89	48,50	29,44	56,56	87,50	63,83	62,25	
R – kvadratna (prilagođen za stupnjeve slobode) (%)	82,47	71,07	83,71	0,00	0,00	0,00	66,66	3,54	0,0	
Standardna pogreška	0,44	0,08	15,36	0,09	5,71	0,03	0,81	4,98	6,25	
Srednja apsolutna pogreška	0,21	0,04	7,74	0,04	2,66	0,01	0,41	2,43	3,16	
P - vrijednost	A: guar guma	0,02	0,42	0,22	0,6	0,45	1	0,26	0,34	0,27
	B: cikla u prahu	0,76	0,81	0,65	0,9	0,84	0,95	0,2	0,23	0,29
	AA	0,08	0,87	0,7	0,98	0,46	0,94	0,2	0,6	0,22
	AB	0,01	0,03	0,01	0,25	0,97	0,42	0,59	0,18	0,94
	BB	0,22	0,4	0,07	0,58	0,78	0,75	0,13	0,46	0,27

5. ZAKLJUČCI

1. Uspješno su razvijene recepture smjesa funkcionalnih mliječnih proizvoda pogodnih za 3D ispis na principu ekstruzije.
2. Utvrđen je statistički značajan utjecaj dodataka otopine guar gume kao i kombinacija dodatka otopine guar gume i cikle u prahu na prividnu viskoznost smjesa posnog i smjesa polumasnog sira.
3. Utvrđen je statistički značajan utjecaj dodataka kombinacije otopine guar gume i cikle u prahu na indeks tečenja te koeficijent konzistencije smjesa posnog i smjesa polumasnog sira.
4. Dodatak otopine guar gume, dodatak cikle u prahu ili njihova kombinacija nisu statistički značajni faktori za pH, iskorištenje i brzinu ekstruzije svih smjesa kao niti za promjenu boje ispisanih oblika tijekom skladištenja.
5. Veće iskorištenje smjesa postignuto je kod smjesa posnog sira (52,76 - 69,52 %) nego kod smjesa polumasnog sira (46,62 - 58,15 %).
6. Veća prosječna brzina ekstruzije postignuta je kod smjesa posnog sira (0,39 - 0,59 g/min) nego kod smjesa polumasnog sira (0,35 - 0,43 g/min).
7. Na promjenu boje 3D ispisanih oblika tijekom skladištenja značajno utječe pojava vidljivog mikrobiološkog kvarenja, promjena boje 3D ispisanih oblika bez vidljivog mikrobiološkog kvarenja bila je primjetna ali ne i dobro vidljiva tijekom 21 dana skladištenja.
8. Nije dokazana pojava patogenih bakterija u uzorcima 3D ispisanih oblika upakiranih u modificiranu atmosferu tijekom 21 dana skladištenja pri 4 °C.
9. Svježi sir odličan je medij za razvoj mikroorganizama te je kod nekih uzoraka već 7 dana skladištenja zabilježen broj mikroorganizama koji prelazi maksimalnu preporučenu granicu

6. LITERATURA

- Agunbiade AO, Song L, Agunbiade OJ, Ofoedu CE, Chacha JS, Duguma HT i sur. (2022) Potentials of 3D extrusion-based printing in resolving food processing challenges: A perspective review. *J Food Process Eng* **45**, e13996. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13996>
- Ahmed J, Ptaszek P, Basu S (2017) Chapter 1 - Food Rheology: Scientific Development and Importance to Food Industry. U: Ahmed J, Ptaszek P, Basu S (ured.) *Advances in Food Rheology and Its Applications*, [online], Woodhead Publishing, Cambridge, str. 1-4. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100431-9.00001-2> Pristupljeno 15. srpnja 2023.
- Hamilton AN, Gibson KE (2023) Efficacy of Manufacturer Recommendations for the Control of Salmonella Typhimurium and Listeria monocytogenes in Food Ink Capsules Utilized in 3D Food Printing Systems. *J Food Prot* **86**, 100030. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2022.100030>
- Arihara K (2006) Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Sci*, **74**, 219-229. [10.1016/j.meatsci.2006.04.028](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.028)
- Baranski R, Goldman I, Nothnagel T, Scott JW (2016) Improving Color Sources by Plant Breeding and Cultivation. U: Carle R, Schweiggert RM, Woodhead Publishing, [online], str. 429-472. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00019-1> Pristupljeno 17. srpanja 2023.
- Barba FJ, Esteve MJ, Frigola A (2013) Physicochemical and nutritional characteristics of blueberry juice after high pressure processing. *Food Res Int* **50**, 545–549. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.038>
- Barukčić I, Ščetar M, Marasović I, Lisak Jakopović K, Galić K, Božanić R (2020a) Evaluation of quality parameters and shelf life of fresh cheese packed under modified atmosphere. *J Food Sci Technol* **57**, 2722-2731. [10.1007/s13197-020-04308-6](https://doi.org/10.1007/s13197-020-04308-6)
- Barukčić I, Keškić M, Lisak Jakopović K, Karlović S, Božanić R (2020b) Effect of selected starter cultures on production, properties and shelf life of fresh type cheese. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **15**, 124-132. <https://doi.org/10.31895/hcptbn.15.3-4.4>
- Berk Z (2009) Fluid Flow. U: Steve LT (ured.) *Food Process Engineering and Technology*, [online], Academic Press, str. 27–68. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373660-4.00002-8> Pristupljeno 09. kolovoza 2023.

- Castro JM, Tornadijo ME, Fresno, JM, Sandoval H (2015) Biocheese: A Food Probiotic Carrier. *Biomed Res Int*, 2015, <https://doi.org/10.1155/2015/723056>
- Chhikara N, Kushwaha K, Sharma P, Gat Y, Panghal A (2019) Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. *Food Chem*, **272**, 192–200. 10.1016/j.foodchem.2018.08.022
- Chen L, Zhu Y, Hu Z, Wu S, Jin C (2021) Beetroot as a functional food with huge health benefits: Antioxidant, antitumor, physical function, and chronic metabolomics activity. *Food Sci Nutr*, **9**, 6406-6420. 10.1002/fsn3.2577
- Day L i Golding M (2016) Food Structure, Rheology, and Texture. U: Melton L, Shahidi F, Varelis P (ured.) Encyclopedia of Food Chemistry, [online], Academic Press, Amsterdam/Oxford/Cambridge, str. 125–129. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03412-0> Pristupljeno 15. srpnja 2023.
- Donn P, Prieto MA, Mejuto JC, Cao H, Simal-Gandara J (2022) Functional foods based on the recovery of bioactive ingredients from food and algae by-products by emerging extraction technologies and 3D printing. *Food Biosci* 49, 101853. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101853>
- Fox PF, Guinee, TP, Cogan TM, McSweeney PLH (2017a) Fresh Cheese Products: Principals of Manufacture and Overview of Different Varieties. U: Fox PF, Guinee, TP, Cogan TM, McSweeney PLH (ured.) Fundamentals of Cheese Science, [online], Springer US, Boston, MA, str. 545. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_16 Pristupljeno 12. srpnja 2023.
- Fox PF, Guinee, TP, Cogan TM, McSweeney PLH (2017b) Pathogens in Cheese and Foodborne Illnesses. U: Fox PF, Guinee, TP, Cogan TM, McSweeney PLH (ured.) Fundamentals of Cheese Science, [online], Springer US, Boston, MA, str. 681–713. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_19 Pristupljeno 12. srpnja 2023.
- Ganesan P, Rajini V, Rajkumar RI (2010) Segmentation and edge detection of color images using CIELAB color space and edge detectors. *INTERACT-2010*, Chennai, str. 393-397. 10.1109/INTERACT.2010.5706186
- Ho TM, Howes T, Bhandari B (2016). Methods to extend the shelf-life of cottage cheese – a review. *Int J Dairy Technol* **69**, 313-327. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12309>

Hussain S, Malakar S, Arora VK (2021) Extrusion-Based 3D Food Printing: Technological Approaches, Material Characteristics, Printing Stability, and Post-processing. *Food Eng Rev* **14**, 1-20. <https://doi.org/10.1007/s12393-021-09293-w>

Intipunya P, Bhandari BR (2010) Chemical deterioration and physical instability of food powders. U: Skibsted LH, Risbo J, Andersen ML (ured.) *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages*, [onlin], Woodhead Publishing, str. 663-700. <https://doi.org/10.1533/9781845699260.3.663> Pristupljeno 17. srpanja 2023.

Jiang Q, Zhang M, Mujumdar AS (2022) Novel evaluation technology for the demand characteristics of 3D food printing materials: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* **62**, 4669-4683. [10.1080/10408398.2021.1878099](https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1878099)

Kewuyemi YO, Kesa H, Adebo OA (2022) Trends in functional food development with three-dimensional (3D) food printing technology: prospects for value-added traditionally processed food products. *Crit Rev Food Sci Nutr* **62**, 7866-7904. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1920569>

Kong F, Singh RP (2011) Advances in instrumental methods to determine food quality deterioration. U: Kilcast D, Subramaniam P (ured.) *Food and Beverage Stability and Shelf Life*, [online], Woodhead Publishing, str. 381–404. <https://doi.org/10.1533/9780857092540.2.381> Pristupljeno 10. kolovoza 2023.

Konica Minolta (1998) Precise color communication. <https://www.konicaminolta.eu/en/navigation/featured-business-areas/measuring-instruments/learning-centre/colour-measurement/precise-colour-communication>. Pristupljeno 20. svibnja 2023.

Kontogiorgos V (2019) Galactomannans (Guar, Locust Bean, Fenugreek, Tara). U: Melton L, Shahidi F, Varelis P (ured.) *Encyclopedia of Food Chemistry*, [online], Academic Press, str. 109-113. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21589-8> Pristupljeno 16. srpanja 2023.

León K, Mery D, Pedreschi F, León J (2006) Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Res Int* **39**, 1084–1091. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.03.006>

Leontiou A, Georgopoulos S, Karabagias VK, Kehayias G, Karakassides A, Salmas CE, i sur. (2023) Three-Dimensional Printing Applications in Food Industry. *Nanomanufacturing* **3**, 91-112. <https://doi.org/10.3390/nanomanufacturing3010006>

Liu Z, Zhang M, Bhandari B, Yang C (2018) Impact of rheological properties of mashed potatoes on 3D printing. *J Food Eng* **220**, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.017>

Lovrić T (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Hinus, Zagreb, str. 32-38.

Mantihal S, Kobun R, Lee B-B (2020) 3D food printing of as the new way of preparing food: A review. *Int J Gastron Food Sci* **22**, 100260. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100260>

Mantihal S, Prakash S, Godoi FC, Bhandari B (2017) Optimization of chocolate 3D printing by correlating thermal and flow properties with 3D structure modeling. *Innov Food Sci Emerg Technol*, **44**, 21–29. [10.1016/j.ifset.2017.09.012](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.012)

McCarthy OJ (2011) Rheology of Liquid and Semi-Solid Milk Products. U: Fuquay JW, McSweeney PLH, Fox PF (ured.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2. izd. [online], Academic Press, Mississippi State University, MS str. 520-531. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00029-7> Pristupljeno 13. srpnja 2023.

Mortensen A, Aguilar F, Crebelli R, Di Domenico A, Frutos MJ, Galtier P, i sur. (2017) Scientific Opinion on the re-evaluation of guar gum (E 412) as a food additive. *EFSA J*, **15** <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4669>

Mortensen G, Andersen U, Nielsen JH, Andersen HJ (2010) Chemical deterioration and physical instability of dairy products. U: Skibsted LH, Risbo J, Andersen ML (ured.) *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages*, [online], Woodhead Pub., Oxford, Boca Raton, str. 731. <https://doi.org/10.1533/9781845699260.3.726> Pristupljeno 12. srpnja 2023.

Pulatsu E, Lin M (2021) A review on customizing edible food materials into 3D printable inks: Approaches and strategies. *Trends Food Sci Technol* **107**, 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.023>

Portanguen S, Tournayre P, Sicard J, Astruc T, Mirade P-S (2019) Toward the design of functional foods and biobased products by 3D printing: A review. *Trends Food Sci* **86**, 188-198. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.023>

Pravilnik (2009) Pravilnik o sirevima i proizvodima od sireva. Narodne novine 20, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_02_20_446.html Pristupljeno 11. srpnja 2023.

Pravilnik (2010) Pravilnik o prehranbenim aditivima. Narodne novine 62, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_05_62_1981.html Pristupljeno 15. srpnja 2023.

Režek Jambak A, Vukušić T (2017) Fizikalna svojstva složenih sustava – priručnik za studente, Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Sabljak V, Lisak-Jakopović K, Barukčić I, Pejaković A, Božanić R (2013) Određivanje trajnosti tradicionalnog svježeg sira. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* **8**, 115-112. <https://hrcak.srce.hr/115928>

Salehi F, Aghajanzadeh S (2019) Effect of dried fruits and vegetables powder on cakes quality: A review. *Trends Food Sci Technol*, **95**, 162-172. 10.1016/j.tifs.2019.11.011

Severini C, Derossi A, Ricci I, Caporizzi R, Fiore A (2018) Printing a blend of fruit and vegetables. New advances on critical variables and shelf life of 3D edible objects. *J Food Eng* **220**, 89-100. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.08.025>

The 3D Printer Store (2023) Createbot 3D Food Printer. <https://the3dprinterstore.com/products/createbot-3d-food-printer-multi-ingredient-support>. Pristupljeno 17. svibanja 2023.

Thombare N, Jha U, Mishra S, Siddiqui MZ (2016) Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *Int J Biol Macromol*, **88**, 361-372. 10.1016/j.ijbiomac.2016.04.001

Tratnik LJ, Božanić R (2012) Mlijeko i mliječni proizvodi. U: Bašić Z (ured.), Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb str. 348-354.

Trejo-González L, Gutiérrez-Carrillo AE, Rodríguez-Hernández AI, Del Rocío López-Cuellar M, Chavarría-Hernández N (2022) Bacteriocins Produced by LAB Isolated from Cheeses within the Period 2009-2021: a Review. *Probiotics Antimicrob* **14**, 238-251 10.1007/s12602-021-09825-0

van Asselt ED, van der Fels-Klerx HJ, Marvin HJP, van Bokhorst-van de Veen H, Groot MN (2017) Overview of Food Safety Hazards in the European Dairy Supply Chain. *Compr Rev Food Sci Food Saf* **16**, 59-75. [10.1111/1541-4337.12245](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12245)

Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (3. izmijenjeno izdanje) (2011) Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja

Vukušić Pavičić T, Herceg Z (2020) Application of 3D Food Printing in Food Industry Development. *Engineering Power: Bulletin of the Croatian Academy of Engineering* **15**, 20-23.

Zhang JY, Pandya JK, McClements DJ, Lu J, Kinchla AJ (2022) Advancements in 3D food printing: a comprehensive overview of properties and opportunities. *Crit Rev Food Sci Nutr* **62**, 4752-4768. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1878103>

Zhang L, Noort M, van Bommel K (2022) Towards the creation of personalized bakery products using 3D food printing. *Adv Food Nutr Res* **99**, 1-35. [10.1016/bs.afnr.2021.11.002](https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.11.002)

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Paula Šiptar