



Cedevita HEALTHY OTG

Istraživačko-razvojni projekt sufinanciran sredstvima EU

Cedevita d.o.o.

Institut Ruđer Bošković



Sažetak

Cedevita vitaminski instant napitak, iz kategorije dodataka prehrani, ne samo da je tržišni lider u regiji, već je i sinonim za ovu kategoriju proizvoda. Jedan od ključnih razloga, već gotovo pedeset-godišnje uspješnosti ovog proizvoda, sigurno je kontinuirani istraživački rad i inovacije proizvoda. Iako Cedevita Go! predstavlja jedinstven (European Patent No. 2167395) i specifičan oblik pakiranja za klasični vitaminski dodatak prehrani, ipak, promatrajući proizvod u cjelini s aspekta sastava, zahtjeva ekologije i novih trendova vezanih uz zahtjeve potrošača, neminovno se nameće potreba za inoviranjem proizvoda.

Stoga je Cedevita d.o.o. sredinom 2016. godine pokrenula projekt Cedevita Healthy OTG. Cilj Projekta je bio Cedevitu GO! inovirati i značajno unaprijediti formulacijski, tehnološki i oblikom pakiranja. Inovacijske aktivnosti u Projektu bazirale su se na trendovima u znanosti o zdravlju i prehrani, te pozitivnim saznanjima i iskustvima postojećeg koncepta. Rezultat Projekta je nova grupa vitaminskih proizvoda iz kategorije dodataka prehrani, sa značajno smanjenim udjelom šećera, 50% u odnosu na postojeće proizvode, a funkcionalne karakteristike čepa prilagođene su novoj formulaciji. Novi dizajn pakiranja omogućuje jednostavnije odvajanje i zbrinjavanje, što s aspekta ekologije predstavlja značajno unapređenje.

S obzirom na izrazito visoke ciljeve Projekta, zahtjevne istraživačko – razvojne aktivnosti, u realizaciju Projekta, kao partner na Projektu, uključena je naša vodeća istraživačka i međunarodno najkompetitivnija nacionalna ustanova iz područja prirodnih znanosti i tehnologija – Institut Ruđer Bošković. Istraživanja Instituta Ruđer Bošković bila su usmjerena na provjeru stabiliteta, sastava i antioksidativne aktivnosti nove formulacije.

Projekt Cedevita Healthy OTG je istraživačko-razvojni projekt sufinanciran sredstvima Europske Unije iz Fonda za regionalni razvoj. Sadržaj ovog članka isključiva je odgovornost Cedevite d.o.o. i Instituta Ruđer Bošković.

Uvod

Prehrana i proizvodnja hrane, posebno u razvijenim zemljama, od davnina pa do danas značajno se promijenila. Međutim, naša urođena sklonost prema slatkom ostala je nepromijenjena, a „slatki okus“ gotovo da je postao opći sinonim za dobar okus hrane (Renwick i sur., 2016).

Slatki okus hrani daju zaslađivači: prirodni ili sintetski. Pod pojmom prirodni zaslađivač, najčešće se podrazumijeva konzumni bijeli šećer ili saharoza. Zbog prekomjerne konzumacije šećera, odnosno namirnica bogatih šećerom, šećer je postao „javno zdravstveni problem“ i jedan od uzročnika prekomjerne tjelesne mase i pretilosti. Pri tome su zaslađena pića (pića koja sadrže šećere iz bilo kojeg izvora) već više godina pod povećanom pozornosti kako javnosti tako i struke.

Pića sa šećerom samo su vrh sante leda (slika 1) i nikako se ne smije zanemariti utjecaj na zdravlje ostalih čimbenika kao što su loše prehrambene navike, neuravnotežena prehrana visoke energetske, a niske nutritivne vrijednosti, sjedilački stil življenja, neurološki i genetski čimbenici, laka dostupnost hrane, kultura, marketing prehrambenih proizvoda i mnogi drugi. Tako veliki broj i izrazito složena povezanost različitih čimbenika ne daje mogućnost da se šećer kao jedini makronutrijent



Slika 1. Shematski prikaz različitih čimbenika koji utječu na zdravlje, a povezani su s potrošnjom pića zaslađenih šećerom (SSB).

Figure 1. Schematic illustration of various health-related factors associated with the consumption of sweetened sugar beverages (SSB)



obilježi glavnim uzročnikom pretilosti. Još manje je vjerojatno da će se stavljanjem fokusa samo na jednu vrstu hrane (pića koja sadrže šećer) riješiti problem pretilosti kako u djece, kao najrizičnije grupe potrošača, tako i u odraslih (Arsenault i sur., 2017).

U posljednjih nekoliko godina znanstvenici su došli do spoznaje kako je pretilost povezana s nizom kroničnih nezaraznih bolesti kao što su dijabetes tipa 2, srčane bolesti ili neke vrste karcinoma, koje su vodeći uzročnici prerane smrtnosti, posebno u razvijenim zemljama svijeta (Tierney i sur., 2017).

Prema izvještaju Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) u 2016. godini je 39% (tj. 1,9 milijardi) odrasle svjetske populacije bilo pretjerane telesne težine, odnosno 13% (650 milijuna) ih je bilo u skupini pretilih (WHO 2016). U Hrvatskoj je pretilo 20,37% odraslog stanovništva (20,14% muškaraca i 20,60% žena), od čega u dobi od 45 do 54 godine 27,85% muškaraca i 32,82% žena, prema objavama Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, Odjela za prehranu, tjelesnu aktivnost i prevenciju debljine, od siječnja 2018.

Negativni medijski napisi o šećeru posljednjih godina značajno utječu na stav potrošača, tako da se više od 60% europskih potrošača izjašnjava da pazi na unos šećera. Na globalnom nivou 47% potrošača traže proizvode sa smanjenim sadržajem ili bez dodanog šećera, prema podacima navedenim u preglednom radu Sugar: What next? iz 2017., istraživačke kuće Ipsos (Baley i sur., 2017).

To su dovoljno značajni razlozi za prehrambenu industriju da proširi i poboljša svoju ponudu, razvojem različitih proizvoda sa sniženim udjelom šećera ili bez šećera, koristeći sladila koja zadovoljavaju sve zahtjevnije potrošače.

Danas se u prehrambenoj industriji za postizanje slatkog okusa koriste: prirodni zaslađivači biljnog podrijetla i umjetni ili sintetički zaslađivači. Pod prirodnim zaslađivačima podrazumijevaju se saharidi, šećeri, i poželjniji su u odnosu na sintetske zaslađivače ili sladila koja se uglavnom koriste kao zamjene za šećere. Šećeri su izvor energije (4 kcal/1g) dok su sladila, izuzev poliola, bez kalorija. Ovo je glavni razlog pojačanog interesa i uporabe sladila. Pored slatkoće i energije, šećer ima niz drugih kemijskih i funkcionalnih svojstava: utječe na boju, teksturu, rok valjanosti, sigurnost i kvalitetu u cjelini prehranbenog proizvoda (Burgos i sur., 2016).

Da bi se smanjila količina šećera u prehranbenim proizvodima, šećer se, djelomično ili u cijelosti, zamjenjuje sladilima. Pri tom se nastoji ostvariti osnovni cilj – smanjiti energetska vrijednost proizvoda i očuvati slatkoću i poželjna svojstva proizvoda (Renwick i sur., 2016). Kako bi sladilo bilo idealna zamjena za šećer i našlo svoju širu primjenu u prehranbenoj industriji, ono mora imati što više navedenih karakteristika (Priya, 2011):

1. Profil slatkoće što bliži šećeru
2. Učinkovito u malim koncentracijama
3. Stabilno u tehnološkim procesima proizvodnje hrane, posebno u širem temperaturnom rasponu
4. Dobre topivosti
5. Stabilno tijekom roka valjanosti proizvoda
6. Ne stupa u neželjene interakcije s drugim komponentama proizvoda
7. Niske kalorijske vrijednosti ili bez kalorijske vrijednosti
8. Dostupno i cjenovno povoljno

Svako sladilo ima svoj specifični profil okusa, karakteristike, prednosti i nedostatke u usporedbi sa šećerom. Niti jedno sladilo ili zamjena za šećer, kao pojedinačan sastojak, ne može nadomjestiti sve karakteristike i funkcionalna svojstva šećera. Za postizanje optimalne slatkoće i okusa proizvoda, što sličnijeg šećeru, proizvođači najčešće koriste različite kombinacije i mješavine sladila. Odabir jednog ili više sladila ovisi o vrsti proizvoda, tehnološkom procesu, uvjetima uskladištenja, roku valjanosti i ciljanoj cijeni proizvoda. Da se radi o izrazito zahtjevnom i složenom postupku dokazuju rezultati istraživanja Mintel-a provedenog 2016. godine u nekim zemljama Europe. Na pitanje „Slažete li se da sladila ne daju tako dobar okus hrani i pićima kao šećer?“ potvrdno je odgovorilo 22 - 30% potrošača u više europskih zemalja (30% Poljaka, 29% Nijemaca, 27% Španjolaca, 27% Francuza i 22% Talijana) (Mintel, 2017).

Uporaba sladila u EU definirana je direktivom vijeća EU 89/107/EC od 21.12.1988., dok direktiva 94/35/EC s dodatkom 2003/115/EC daje popis odobrenih sladila u različitim prehranbenim proizvodima ili kategorijama prehranbenih proizvoda s maksimalno dopuštenim količinama.

Sva sladila dopuštena u EU za uporabu u hrani, prije dobivanja odobrenja su bila podvrgnuta sveobuhvatnom ispitivanju na potencijalni toksikološki učinak prema načelima toksikološkog ispitivanja aditiva. Njihova sigurnost za uporabu procijenjena je od strane Znanstvenog odbora EU za hranu (SCF) i Agencije za hranu i poljoprivredu (FAO) / Stručnog odbora za prehranbene aditive (JECFA) Svjetske zdravstvene organizacije (WHO). Odbor (SCF) je bio znanstveni jamac za sigurnost prehranbenih aditiva za uporabu u EU od 1974. do ožujka 2003. Od travnja 2003. godine ovu odgovornost preuzela je Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA). Sveukupni zaključak je da su trenutno odobrena sladila koja se koriste u EU (tablica 1) temeljito provjerena i zdravstveno sigurna, kao i proizvodi koji sadrže sladila, pa čak i kad se konzumiraju u ne-realno velikim količinama koje premašuju primjerene dnevne unose (čak i do 100 puta). Dakle, sladila su sigurna – da li su i poželjna? Na ovo pitanje skrenuo je pozornost Nils-Georg Asp još 2006. godine u uredničkom predgovoru časopisa Scandinavian Journal of Food and Nutrition (Asp, 2006).



Tablica 1. Dozvoljena sladila u EU, tehnološka svojstva i primjena (Beltrami, 2018; The European Commission, 2018; Chattopadhyay i sur., 2014)

Table 1. Acceptable EU sweeteners, technological properties and application (Beltrami, 2018; The European Commission, 2018; Chattopadhyay i sur., 2014)

INTENZIVNA SLADILA/INTENSE SWEETENERS			
Sladilo/ Sweetener	E-Broj/E- Number	Tehnološko svojstvo	Primjena/ Application
Acesulfam K	E950	Dobro topiv u vodi, stabilan u čvrstom stanju, u kombinaciji s drugim sladilima ima sinergistički učinak na profil okusa, u većim koncentracijama ima izražen gorki i metalni naknadni okus	Stolna sladila Zamjena za šećer u različitim kategorijama prehrambenih proizvoda, kao što su različita bezalkoholna pića, bomboni, slastice, deserti, čokoladni proizvodi, džemovi, gume za žvakanje, ... Dodaci prehrani
Advantam	E969	Vrlo stabilan u krutom stanju, stabilnost ovisi o pH otopine, čiste slatkoća bez naknadnog neprijatnog okusa, slatkoća se osjeti nešto kasnije i zaostaje nakon konzumacije	
Aspartam	E951	Stabilan u kristalnom obliku, slabo topiv u vodi, čistog slatkog okusa, bez naknadnog neprijatnog okusa, umjerena slatkoća zaostaje nakon konzumacije, nestabilan u neutralnom pH području i na visokim temp.	
Ciklamati	E952	Vrlo stabilni u krutom stanju, topivi u vodi, slatkoća se brzo osjeti i ne zaostaje nakon konzumacije, izražen slabi gorko-slani okus, bez naknadnog neugodnog okusa	
Neohesperidin DC	E959	Vrlo stabilan u otopinama različitih pH vrijednosti, slatkoća se osjeti nešto kasnije i zaostaje dugotrajni gorko, hladni i slatki naknadni okus nakon konzumacije	
Neotame	E961	Vrlo stabilan u krutom stanju, slabo topiv u vodi, čiste slatkoća bez naknadnog neprijatnog okusa, zaostaje izražena, dugotrajna slatkoća nakon konzumacije	
Saharini	E954	Vrlo stabilni u krutom stanju i u otopini, lako topivi u vodi, slatkoća se brzo osjeti i ne zaostaje nakon konzumacije, gorko-slani naknadni okus	
Steviol glikozidi	E960	Bijeli do svijetlo žuti prah, lako topivi u vodi, vrlo stabilni, nestabilni pri izrazito visokim temperaturama u različitom pH području pri čemu se gubi slatkoća, izražen gorko-slatki naknadni okus	
Sukraloza	E955	Lako topiva u vodi i stabilna u otopinama u širokom pH području, nestabilna na visokim temperaturama, slatkoća se osjeti nešto kasnije i umjereno zaostaje nakon konzumacije, bez naknadno gorkog okusa	
Taumatina	E957	Topiv u vodi, stabilan pri termičkoj obradi u širem pH području, slatkoća se osjeti nešto kasnije i dugotrajno zaostaje slatko-gorki okus nakon konzumacije	
POLIOLI/POLIOLS			
Sladilo/ Sweetener	E-Broj/E- Number	Primjena/Application	
Eritritol	E968	Zamjena za šećer u različitim kategorijama prehrambenih proizvoda npr. proizvodi sa smanjenom energetsom vrijednošću, sa ili bez dodanih šećera kao što su: bomboni (tvrđi, meki, ...) fini pekarski proizvodi (kolači, biskviti, ...) sladoledi, deserti, ... džemovi, konzervirano voće, ... umaci, ... Stolna sladila Dodaci prehrani	
Izomalt	E422		
Laktitol	E965		
Maltitol	E953		
Manitol	E421		
Poliglicitol sirup	E964		
Sorbitol	E420		
Kslitol	E967		



S obzirom na povećanu stopu pretilosti i dijabetesa, sladi- la sigurno mogu biti važna alternativa šećeru i drugim kalorijskim zaslađivačima kao što su med, glukozno-fruktozni sirup, agava sirup, javorov sirup i sl. Sladila s niskom kalorijskom vrijednost ili bez kalorijske vrijednosti, kada se koriste umjesto šećera i kao dio uravnotežene prehrane, mogu biti koristan alat za smanjenje unosa energije i regulaciju tjelesne težine, a time i smanjenje rizika za razvoj dijabetesa tipa 2, kardiovaskularnih bolesti (CVD) i ostalih kroničnih nezaraznih bolesti.

U Europi su najčešće korištena sladila acesulfam K, aspartam, ciklomat, saharin, sukraloza i steviol glikozidi (Renwick i sur., 2016).

Početak 2000-tih mnoge nacionalne i internacionalne zdravstvene organizacije odobrile su steviol glikozide za uporabu u hrani i pićima. Od tada primjena stevije i steviol glikozida u prehrambenoj industriji raste. Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) odobrila je 2011. godine uporabu steviol glikozida 95% u hrani i pićima na nivou Europske unije.

Najveći rast proizvoda sa steviol glikozidima lansiranih na tržište zabilježen je u periodu od 2009. do 2015. godine: Najviše ih je lansirano u Europi, zatim u SAD-u (Arthur, 2017). U periodu između 2012. i 2017. godine postotak lansiranja novih napitaka sa steviol glikozidima na globalnom tržištu porastao je 161%, dok je postotak lansiranja novih prehrambenih proizvoda sa stevijom, u istom periodu, porastao 57%. Takvom rastu doprinijele su i dozvoljene tvrdnje u nekim zemljama kao što je „sladilo prirodno podrijetla“ (Shoup, 2017).

I u narednom razdoblju, prema podacima Euromonitora objavljenim početkom 2018., od 8 mega trendova u industriji hrane i pića, jedan od najznačajnijih za prehrambenu industriju, bit će „zdravo življenje i povratak prirodi“ uz konzumaciju prirodno funkcionalne hrane, sa sniženim sadržajem ili bez šećera (Euromonitor, 2018).

Potvrđuju to i rezultati istraživanja Mintel-a iz 2016. prema kojima 17% francuskih, 23% talijanskih, 26% poljskih i 31% španjolskih potrošača pokazuje zanimanje za proizvode s prirodnim, niskokaloričnim sladilima kao što je to npr. stevija (Mintel, 2017).

Ako se promatra globalno tržište iz perspektive sladi- la tada je ono u 2016. godini (Research and Markets, 2017a) iznosilo 1,807 milijuna dolara, a očekuje se da će do 2023. godine iznositi 2,134 milijuna dolara, sa godišnjim rastom od 2,3%. Rastuća zdravstvena zabrinutost povezana sa sladilima, kao što su aspartam i saharin, potiču interes potrošača za prirodnim sladilima. Steviol glikozidi uglavnom potiču rast potrošnje kategorije „prirodnih“ sladila s obzirom da ju potrošači doživljavaju kao prirodniju od ostalih sladila, bez obzira na službenu kategorizaciju.

Također se prema Research and Markets (2017b) očekuje kako će globalno tržište stevije i dalje rasti stopom rasta višom od 8% na godišnjem nivou u razdoblju od 2017. do 2022. godine. Dok se za tržište Europe procjenjuje da će potrošnja stevije rasti godišnjim stopom od 4,3% i najviše će ovisiti o primjeni stevije u proizvodnji pića, zapakiranih prehrambenih proizvoda, stolnih sladila, dodataka prehrani, pekarskih i mliječnih proizvoda (Sweet Green Fields, 2017).

Svrha i rezultati Projekta

Iako Cedevita multivitaminska zrnca, dobro poznata na ovim prostorima, sadrže umjerenu količinu šećera (6 – 7% u priređenom napitku), Cedevita d.o.o., kao društveno odgovoran proizvođač hrane, pića i dodataka prehrani, odlučila je reformulirati svoj najznačajniji proizvod i smanjiti udio šećera za 50%. Pored smanjenja šećera cilj je bio očuvati funkcionalna i organoleptička svojstva što bliža svojstvima proizvoda postojećeg Cedevita asortimana. Također je bilo važno razviti i definirati procesne parametre koji će dati proizvode tehnoloških karakteristika što bližih postojećim (veličina čestica, nasipna gustoća, protočnost, ...) i zadržati postojeći rok valjanosti.

Na osnovu trendova u prehrani i prehrambenoj industriji, literaturnih podataka o primjeni, stabilnosti i inercijama s drugim sastojcima u proizvodima (Kroyer, 2010) te vlastitih razvojnih aktivnosti, kao supstitut za dio šećera odabrano je sladilo steviol glikozidi.

Uredba komisije EU br. 231/2012 o utvrđivanju specifikacija za prehrambene aditive propisuje „najmanje 95 % steviolozida, rebaudiozida A, B, C, D, E i F, steviolbiozida, rubuzozida i dulkozida na suhoj osnovi“. Tijekom razvoja proizvoda testirani su steviol glikozidi različitih stupnjeva čistoće (95, 97 i 98%) i od različitih proizvođača. Najbolji steviol glikozidi odabrani su na temelju ocjene senzorskih karakteristika proizvoda. Nove proizvode ocjenjivao je educirani tim senzoričara koristeći vlastito razvijenu metodu za senzorsku procjenu, a kao referentni uzorci korišteni su postojeći proizvodi. Cilj testiranja je bio odrediti nivo razlike između uzorka i standardnog proizvoda, usporedbom i ocjenjivanjem slijedećih parametara: miris, efervescencija, aroma, kiselost, slatkoća, punoća i naknadni okus napitka. Nivo razlike svakog navedenog parametra ocjenjivan je ocjenama u rasponu od -2 do 2. Pri tome „0“ znači da nema razlike između uzorka i standarda, ocjene -2 i -1 označavaju premalo izražen, a ocjene 1 i 2 prejako izražen ispitivani parametar u odnosu na standard. Odabrani su uzorci s utvrđenim najmanjim razlikama u ocjenjivanim parametrima.

Procesni parametri, prvo su definirani i provjereni nizom pokusa na laboratorijskom uređaju za granulaciju u vrtložnom sloju, a zatim su provedeni pokusi u proizvodnim uvjetima. Uspješnost procesa izrade procijenjena je kroz ocjenu karakteristika dobivenog proizvoda. Tehnološke karakteristike dobivenih novih proizvoda testirane su prema metodama i zahtjevima definiranim Europskom farmakopejom (European pharmacopoeia, 2017).

Rezultati mjerenja nasipne gustoće (bez i sa potresivanjem), veličine čestice, te protočnosti određivanjem kuta polegnuća (angle of repose) i brzinom protjecanja (flow rate) odgovarali su postavljenim granicama za tehnološke karakteristike proizvoda iz standardnog asortimana i navedeni su u tablici 2.

**Tablica 2.** Rezultati tehnoloških karakteristika nove grupe proizvoda Cedevita healthy OTG**Table 2.** Technological characteristics results of products group Cedevita healthy OTG

Cedevita healthy OTG proizvodi / Cedevita healthy OTG products	Nasipna gustoća/Bulk density (g/L)		Protočnost/Flowability	
	Bez potresivanja / Bulk density	Sa potresivanjem / Tapped bulk density	Brzina istjecanja/ Flow rate (s/100g)	Kut polegnuća/Angle of repose (°)
Okus naranče	610 - 625	694 - 757	2,5 - 3,0	40,7 - 43,5
Okus limuna				
Okus bazga-limun				
Okus limeta				
Kids, okus naranča				
Kids, okus tropic				

Nakon razvojno formulacijskih aktivnosti, uspješno definiranih fizičkih, kemijskih i senzorskih karakteristika, tehnoloških i procesnih parametara, izrađeni su uzorci novih formulacija Cedevita Healthy OTG. Uzorci su podvrgnuti testiranju stabilnosti, nizu *in vivo* testiranja, uključujući i antioksidativnu aktivnost novih formulacija, na Institutu Ruđer Bošković.

Potencijalna antioksidativna aktivnost nove formulacije

Antioksidansi su spojevi/tvari koji mogu spriječiti oštećenja u tkivima i stanicama rezultiranih prekomjernim oslobađanjem slobodnih radikala u mitohondrijima. Antioksidansi se *in vivo* aktiviraju najčešće kao odgovor na oksidativni stres izazvan prekomjernom sintezom slobodnih radikala, te se najčešće stvaraju na mjestu nastanka slobodnih radikala. Takve antioksidanse zovemo endogeni antioksidansi i oni su u pravilu antioksidativni enzimi (SOD, Kat i GPx). Međutim, neki od antioksidansa se mogu unositi u organizam putem hrane i vode te tada govorimo o egzogenim antioksidansima među koje ubrajamo i vitaminske pripravke kao što je Cedevita i nova formulacija Cedevite s manjim udjelom šećera.

Same antioksidanse možemo prema mehanizmu djelovanja u organizmu podijeliti na:

1. neenzimske antioksidanse,
2. enzimске antioksidanse,
3. neenzimski antioksidansi („čistači slobodnih radikala“ engl. ROS scavengers)

1. Neenzimski antioksidansi najčešće vežu ione metala u stanici i u staničnoj okolini te time blokiraju stvaranje toksičnih molekula hidroksilnog radikala, putem Fentonove i HaberWeissove reakcije. U antioksidanse te skupine ubrajamo tkivne proteine kao što su feritin, transferin, L-arginin, metal-kelirajući proteini, i drugi.

2. Enzimski antioksidansi su izravno uključeni u neutralizaciju reaktivnih kisikovih i dušikovih vrsta (ROV i RNS), te katalitički razgrađuju slobodne radikale. U tu skupinu antioksidansa ubrajamo: superoksid dismutazu (SOD), katalazu (Kat), glutation peroksidazu (GPx).

3. Neenzimski antioksidansi skupine „Čistača“ slobodnih radikala su posljednja i najzastupljenija skupina antioksidanasa. Najpoznatiji pripadnici čistača su vitamini i to najviše vitamini A, C, E. Vitamine C i E možemo naći i u sastavu Cedevite. U istu skupinu ubrajamo i brojne fenole i polifenole prirodnog porijekla. Naposljetku, u ovoj skupini nalazi se i reducirani glutation (GSH) kao najučinkovitiji antioksidans te skupine i vjerojatno je najpotentnija obrambena molekula unutar stanice te djeluje kao snažan čistač slobodnih radikala/RKV-a.

Posebno treba spomenuti takozvanu veliku trojku antioksidansa (od kojih su dva zastupljena u Cedeviti, eng. "big three antioxidants"):

3.1. Vitamin E je glavni antioksidans topiv u mastima i ima važnu ulogu u zaštiti membrana stanica od oksidativnog oštećenja. Njegova je osnovna zadaća hvatati/čistiti peroksidne radikale.

3.2. Vitamin C ili askorbinska kiselina je antioksidans topiv u vodi koji djeluje na smanjenje slobodnih radikala iz različitih izvora. Izuzetno je važan u reakciji recikliranja radikala vitamina E koji nastaje u reakciji vitamina E sa slobodnim radikalima.

3.3. Glutacion je najvažniji antioksidans za staničnu obranu od oštećenja uzrokovanih slobodnim radikalima. Glutacion je tripeptid (glutamil-cisteinyl-glicin) koji sadrži SH skupinu koja nakon oksido-redukcijske reakcije međusobnom vezom tvori oksidirani oblik GSSG, dok je njegova reducirana GSH forma glutationa snažan antioksidans.

Obzirom da je u novoj formulaciji smanjen udio šećera u granulatu Cedevite te isti zamijenjen steviol-glikozidima koji su zaslađivači biljnog porijekla dobiveni ekstrakcijom iz stevije, napravljen je niz eksperimenata stabilnosti nove formulacije.

Stabilitet nove formulacije

Na stabilnost vitamina, bilo pojedinačnih ili u smjesama, utječu različiti faktori poput temperature, relativne vlažnosti zraka, pH vrijednosti medija, svjetlosti, prisutnosti kisika i trajanja skladištenja. Tako je askorbinska kiselina vrlo osjetljiva na vlagu i kisik, piridoksin i folna kiselina na povišenu temperaturu,

a tiamin na visoke pH vrijednosti. Raspadanje vitamina znači i njihovu manju biodostupnost u organizmu nakon konzumacije napitka što smanjuje njegovu vrijednost. Stoga je kod razvoja novog proizvoda ovog tipa neophodno provesti testiranje stabilnosti kako bi se dobio uvid u promjene kemijskog sastava multivitaminskog pripravka kroz vrijeme na temelju čega se daju smjernice o pravilnom načinu skladištenja gotovog napitka te procjenu roka trajanja. Proizvod Cedevida Healthy OTG dizajniran je tako da je granulata za pripremu napitka smješten u posebnoj čepu bočice, a voda u njenom donjem dijelu, čime do trenutka otvaranja nema kontakta vitamina s vodom. Donji dio čepa koji odvaja granulata i vodu izrađen je od kompozitne folije sa slojem aluminija. Pretpostavlja se da duže skladištenje odnosno transport u neadekvatnim uvjetima povišene temperature i vlage može potaknuti raspadanje vitamina.

Istraživanja vezana uz stabilnost, sastav i potencijalnu antioksidativnu aktivnost nove formulacije provedena su u tri djela:

- Stabilitet
- Kemijski sastav HPLC Maldi
- Učinak nove formulacije *in vivo*

Kako bi se istražio utjecaj povišene temperature i vlažnosti zraka na stabilnost vitamina u tri formulacije granulata (Cedevida Standard i dvije nove formulacije: Cedevida Healthy OTG CC i Cedevida Healthy OTG 51N) provedeni su testovi stabilnosti gotovih proizvoda tj. originalno zatvorenih bočica u klima-komorama s periodičkim uzorkovanjem i semikvantitativnom analizom vitamina metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC).

Mjerenja otpornosti/stabilnosti uzorka Cedevide radi se u komori Climacell comfort (slika 2), volumena 111 dm³, koja omogućuje kontrolu konvekcije zraka te održavanje konstantne temperature u rasponu 0°C < *t* < 99,9°C (+/- 0,5°C) i relativne vlažnosti 10% < *RH* < 90% (+/- 3%). Komora posjeduje integrirani priključak za printer i PC-software za MS-Windows što omogućuje praćenje zadanih postavki temperature i vlage (slika 3).

Kvalitativna metoda identifikacije relativnog sastava uzorka Cedevide provedena je na spektrometru Varian Cary 100 Bio (UV/VIS spektri) (tablica 3).

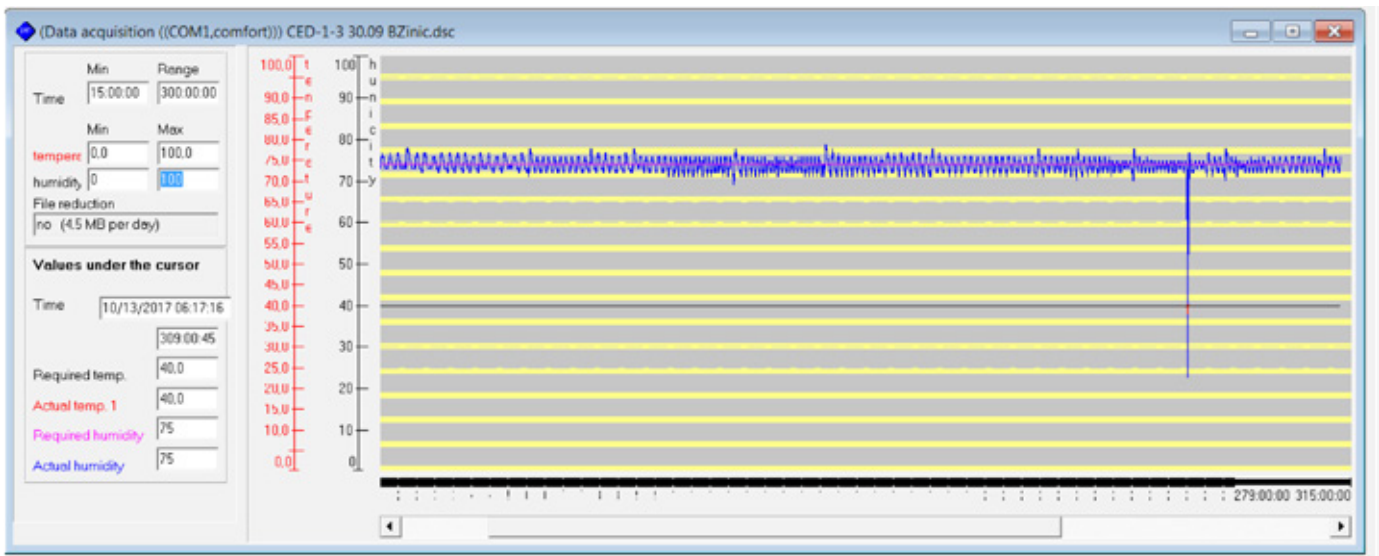
CLIMACELL



Volumen: 111 litra
Radna temperatura:
 bez vlage: 0,0° C do 99,9 °C
 uz vlagu: 10° C do 90,0 °C
Kontrola vlage:
 10 – 90 % RH
Mikroprocesorski kontroliran proces vlaženja i odvlaživanja.
 6 programa, programirani ciklusi
Software za dokumentaciju
 PC-software za MS-Windows

Slika 2. Climacell comfort komora

Figure 2. Climacell comfort chamber



Slika 3. Graf uvjeta u testu stabilnosti dobiven u Climacell comfort komori

Figure 3. Chart of the stability test conditions obtained in the Climacell comfort chamber

Iz slike 2 i 3 vidljiv je rad komore na 40°C uz relativnu vlagu 75% RH u okviru dozvoljenih odstupanja. Prilikom uzimanja uzorka i otvaranja vrata komore vidi se pad %-tka vlage i temperaturni-skok +2 °C, a nakon zatvaranja vrata temperatura i vlaga se stabiliziraju kroz ~8 min.



Tablica 3. Srednje vrijednosti^a UV/VIS maksimuma (λ/nm) i apsorbancija (Abs) za 3 uzorka iz grupa: Cedevita standard (ST), Cedevita Healthy OTG (CC) i Cedevita Healthy OTG (51N) za 0.5 i 1-3 mjeseca

Table 3. Mean values^a of UV/VIS maximum (λ/nm) and absorbance (Abs) for 3 samples from groups: Cedevita Standard (ST), Cedevita Healthy OTG (CC) and Cedevita Healthy OTG (51N) for 0,5 and 1-3 months

Vrijeme (mjesec) / Time (month)	cedevita ST (tri uzorka) / cedevita ST (three samples)		cedevita CC (tri uzorka) / cedevita CC (three samples)		cedevita 51N (tri uzorka) / cedevita 51N (three samples)	
	λ/nm	Abs	λ/nm	Abs	λ/nm	Abs
0.5	255	0.18	256	0.44	250	0.59
1	259	0.24	250	0.47	248	0.57
2	260	0.22	250	0.44	247	0.48
3	263	0.24	247	0.49	246	0.48

^a tri mjerenja iz tri različite boce istog uzorka Cedevita / ^a three measurements of three different bottles of the same Cedevita sample

Iz tablice 3 vidljivo je da su srednje vrijednosti UV/VIS maksimuma uzoraka Cedevite standard (ST) u rasponu od $\lambda_{\text{max}}=255-263$ nm uz apsorbanciju Abs=0.18 – 0.24; Cedevite Healthy OTG (CC) $\lambda_{\text{max}}=247-256$ nm i Abs=0.44–0.49 i Cedevite Healthy OTG (51N) $\lambda_{\text{max}}=246-250$ nm i Abs = 0.48–0.59.

Dobiveni rezultati s malim razlikama u apsorbanaciji i pomacima UV/Vis maksimuma istog uzorka unutar svake skupine Cedevite ukazuju na stabilnost svih testiranih formulacija. Vidljive varijacije se mogu objasniti velikom osjetljivošću UV/VIS metode s obzirom na male promjene u koncentracijama pojedinih komponenata uzorka.

Tablica 4. Određivani vitamini u granulatu Cedevite s pripadajućim retencijskim vremenima i valnim duljinama na kojima se detektiraju

Table 4. Vitamins determined in the Cedevita granulate with related retention times and detected wavelengths

Analit	t_R / min	RRT ¹	Detekcija / nm
Askorbinska kiselina (C)	3.6	3.77	268
Tiamin (B ₁)	7.1	1.91	268
Riboflavin (B ₂)	15.2	0.89	268
Nikotinska kiselina (B ₃)	4.4	3.09	268
Ca-pantotemat (B ₅)	13.1	1.03	220
Piridoksin (B ₆)	10.0	1.36	268
Folna kiselina (B ₉)	15.6	0.87	268
Tokoferil-acetat (E)	36.4	0.37	290
Cijanokaobalamin (B ₁₂)	13.6	-	268

¹Relativno retencijsko vrijeme (RRT) = t_R (ISTD) / t_R (analita) / ¹Relative retention time (RRT) = t_R (ISTD) / t_R (analite)

Na temelju usporedbe visina i površina pikova te retencijskih i relativnih retencijskih vremena kromatogramima (podaci nisu prikazani) uzoraka podvrgnutih testiranju stabilnosti pri uvjetima povišene temperature i vlažnosti može se zaključiti sljedeće:

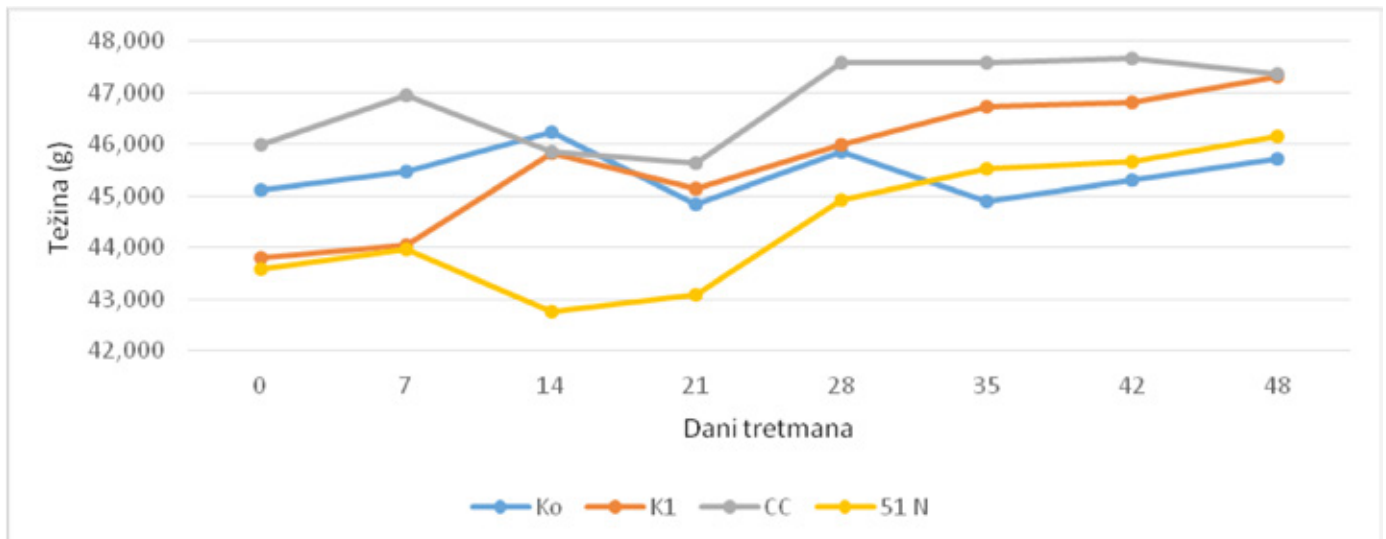
U uzorcima Cedevite tipa Standard, i nove formulacije CC i 51N podvrgnutim normalnom režimu testiranja stabilnosti pri 30° C i 70% RH tijekom šest mjeseci nema značajnih promjena u koncentraciji određivanih vitamina niti pojave razgradnih produkata.

Kemijski sastav HPLC Mald

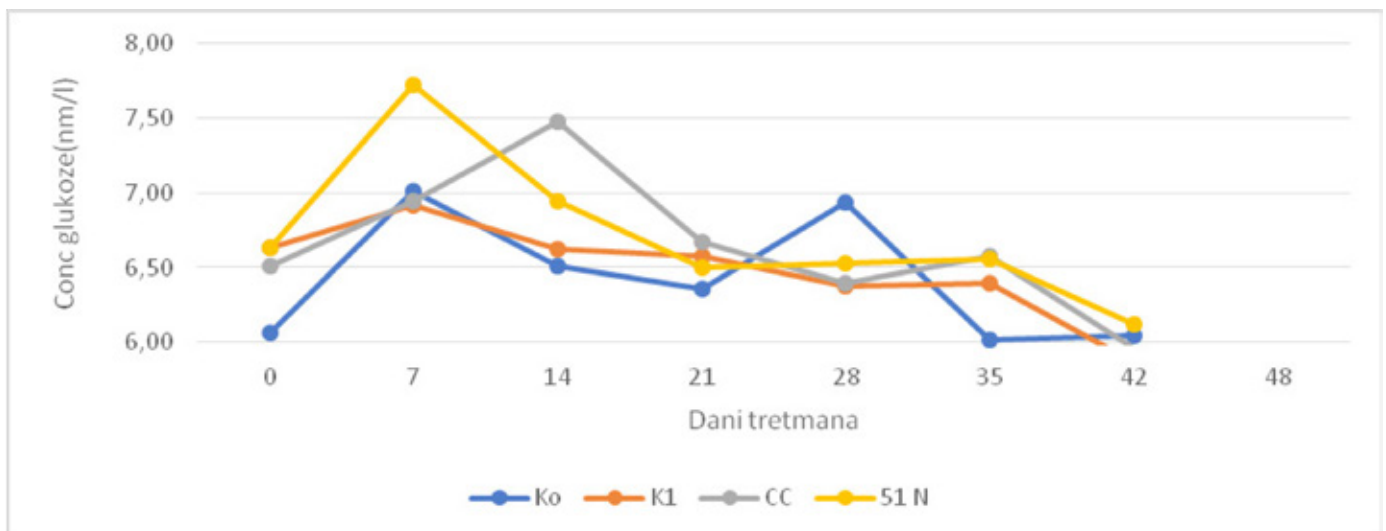
Cedevita sadrži osam vitamina uglavnom dobro topljivih u vodi (C, B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₉, B₁₂) i jedan slabo topljiv (E, u formi tokoferil-acetata). Pri razvoju kromatografske metode provedene sa zasebnim otopinama i smjesom čistih vitamina podjednake koncentracije nastojalo se obuhvatiti istovremeno praćenje svih analita u jednoj analizi i s jednom pripremom uzorka (tablica 4). Najbolji uspjeh postignut je upotrebom polarne C18 kolone uz gradijntni način eluiranja (HPLC sustav Agilent 1200 s PDA detektorom, Kolona: Waters Atlantis™ dC18, 4.6 x 250 mm, 5 μm , termostatarana na 25°C).

Učinak nove formulacije in vivo

Rezultati in vivo testiranja novih formulacija Cedevite (Cedevita standard, Cedevita Healthy OTG (CC), Cedevita Healthy OTG (51N)) prikazani su na slici 4. i 5. Rezultati prokazuju razinu glukoze te tjelesnu težinu nakon dugotrajnog tretiranja in vivo novim formulacijama Cedevite (CC i 51N u odnosu na kontrolne skupine K0 i K1).



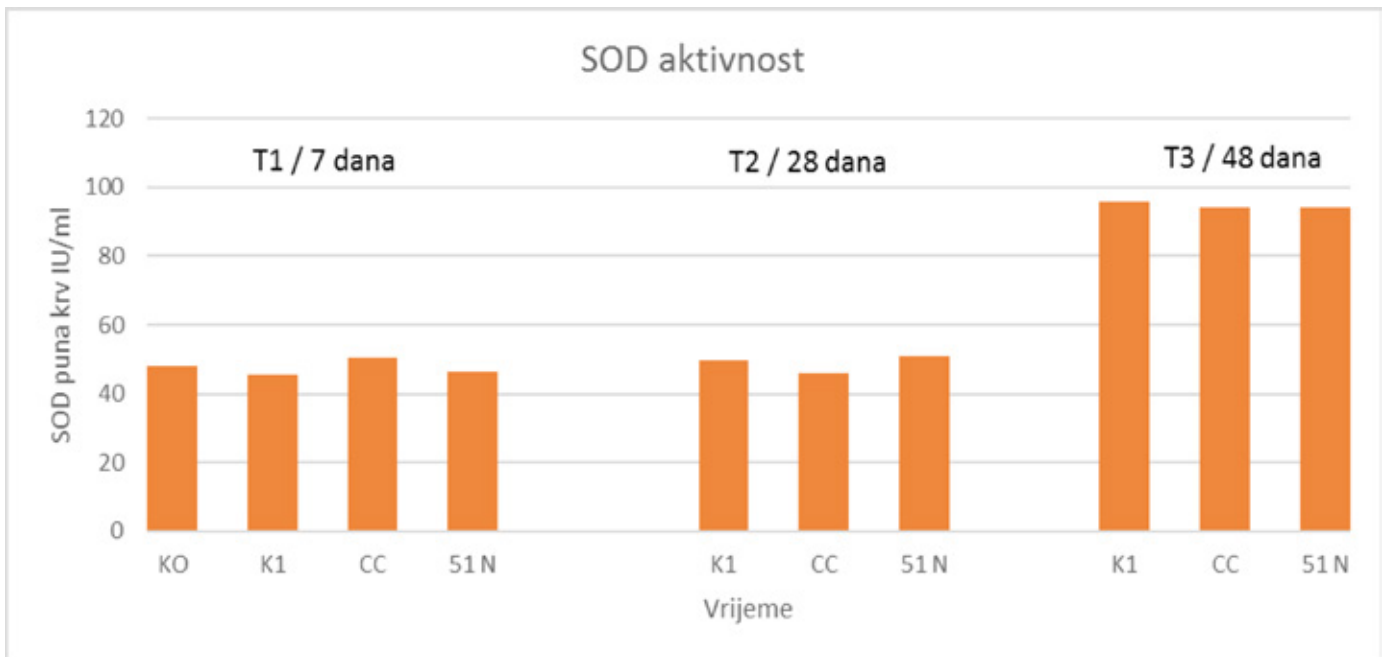
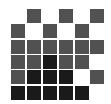
Slika 4. Težina eksperimentalnih životinja
Figure 4. Experimental animal weight



Slika 5. Koncentracija glukoze u krvi životinja
Figure 5. Glucose concentration in animal blood

Iz slike 4 i 5 vidljivo je da su varijacije u tjelesnoj težini u svim skupinama u dozvoljenim i očekivanim granicama, dok je razina glukoze u rasponu od 6-8 nm/l u granicama normale za životinje koje su imale stalan pristup hrani.

Slika 6 pokazuje kretanje razine antioksidativnog enzima superoksid dismutaze (SOD) tijekom eksperimenta, nakon 7, 28 i 48 dana.



Slika 6. Razina SOD antioksidativnog enzima nakon dugotrajnog tretiranja in vivo novim formulacijama (Cedevita standard K1, Cedevita Healthy OTG (CC), Cedevita Healthy OTG (51N) nakon 7, 28 i 48 dana

Figure 6. Level of SOD antioxidant enzyme after long-term in vitro treatment with new formulations (Cedevita standard K1, Cedevita Healthy OTG (CC), Cedevita Healthy OTG (51N) after 7, 28 and 48 days

Iz slike 6 vidljivo je da se SOD aktivnost u svim testiranim formulacijama Cedevite bitno ne razlikuje od kontrolnih vrijednosti K0 i K1. Isto tako primjetan je ukupni porast SOD aktivnosti u ovisnosti o vremenu tretmana s najvišim vrijednostima nakon 48 dana i to u svim testiranim formulacijama.

Zaključci

Rezultat uspješnih razvojno istraživačkih aktivnosti je nova grupa Cedevita proizvoda iz kategorije dodataka prehrani, sa smanjenim udjelom šećera (3% u priređenom napitku, što je 50% niža količina u odnosu na postojeće proizvode), različitih okusa: naranča, limun, bazga-limun i limeta, te dva okusa namijenjena djeci: naranča i tropic.

Rezultati istraživanja vezanih uz stabilnost, sastav i potencijalnu antioksidativnu aktivnost nove formulacije pokazali su da je nova formulacija s manjim udjelom šećera zadržala sve povoljne učinke na zdravlje ljudi.

Plasiranjem ovih proizvoda na tržište omogućit će se potrošačima da uz već postojeće doprinose Cedevite, koji proizlaze iz sastava i sadržaja vitamina, lakše upravljanje unosom kalorija, tjelesnom težinom i cjelokupnim zdravljem.

Literatura

Arsenault, B.J., Lamarche, B., Després, J.P. (2017) Targeting Overconsumption of Sugar-Sweetened Beverages vs. Overall Poor Diet Quality for Cardiometabolic Diseases Risk Prevention: Place Your Bets. *Nutrients*, 9 600. Dostupno na <http://www.mdpi.com/2072-6643/9/6/600>

Arthur, R. (2017) Stevia and consumers demand for natural and low calorie drinks continues to open opportunities

for stevia. Dostupno na: <https://www.beveragedaily.com/Article/2017/06/09/Stevia-and-consumers-demand-for-natural-low-calorie-drinks>

Asp, N.G. (2006) Sweeteners are safe: but when are they useful? *Scandinavian Journal of Food and Nutrition*, 50 (3) 103-103. Dostupno na: <https://foodandnutritionresearch.net/index.php/fnr/article/view/403/439>

Baley, P., Emes, C., Duffy, B., Shrimpton, H. (2017) Ipsos, Review Sugar: What next? Dostupno na: <https://www.ipsos.com/sites/default/files/ct/news/documents/2017-11/ipsos-sugar-what-next.pdf>

Beltrami, M.C., Döring, T., De Dea Lindner, J. (2018) Sweeteners and sweet taste enhancers in the food industry. *Food Science and Technology*, 38 (2) 181-187. Dostupno na: https://www.researchgate.net/publication/324544487_Sweeteners_and_sweet_taste_enhancers_in_the_food_industry

Burgos, K., Subramaniam, P., Arthur, J. (2016) Reformulation guide: Spotlight on sugars, *Leatherhead Food Research*, Dostupno na: https://www.fdf.org.uk/corporate_pubs/Reformulation-Guide-Sugars-Aug2016.pdf

Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. (2014) Artificial sweeteners – a review, *Journal of Food Science Technology*, 51 (4) 611–621. Dostupno na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3982014/pdf/13197_2011_Article_571.pdf

Direktiva vijeća EU 89/107/EC. Dostupno na: <https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Dir89.107.pdf>

Direktiva vijeća EU 94/35/EC. Dostupno na: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/94_35_EC.pdf

Dodatak direktivi 2003/115/EC. Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:024:0065:0071:EN:PDF>

Euromonitor (2018) Euromonitor unveils 8 Food Trends for 2018. Dostupno na: <https://blog.euromonitor.com/2018/02/8-food-trends-2018.html>



European pharmacopoeia, 9th edition, (2017) Dostupno na: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-9th-edition>

Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) Dostupno na: <http://efsa.europa.eu/>

Hrvatski zavod za javno zdravstvo (2018) Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-promicanje-zdravlja/odjel-za-prevenciju-debljine/>

Kroyer, G. (2010) Stevioside and Stevia-sweetener in food: application, stability and interaction with food ingredients. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 5 (2) 225–229.

Mintel (2017) Europe 17 Consumer Trends 2017. Dostupno na: [https://www.eurocommerce.eu/media/140094/European%20Consumer%20Trends%20Mintel%20\(2017\).pdf](https://www.eurocommerce.eu/media/140094/European%20Consumer%20Trends%20Mintel%20(2017).pdf)

Priya, K., Mohan Gupta, V.R., Srikanth, K. (2011) Natural Sweeteners: A Complete Review, *Journal of Pharmacy Research*, 4 (7) 2034-2039. Dostupno na: https://www.researchgate.net/publication/265163543_Natural_sweeteners_A_complete_review

Renwick, A., Drewnowski, A., La Vecchia, C. (2016) Low calorie sweeteners: Role and benefits. Bochure of International Sweeteners Association. Dostupno na: https://www.sweeteners.org/assets/uploads/articles/files/ISA_brochure_April2016.pdf

Research and Markets (2017a) High-intensity Sweeteners Market by Type - Global Opportunity Analysis and Industry Forecast 2017-2023. Dostupno na: <https://www.researchandmarkets.com/reports/4368958/high-intensity-sweeteners-market-by-type-global#relb0-4402799>

Research and Markets (2017b) Stevia Market - Growth, Trends and Forecasts (2017 - 2022). Dostupno na: <https://www.researchandmarkets.com/reports/4402672/stevia-market-growth-trends-and-forecasts>

Shoup, M.E. (2017) Beverage launches with stevia outpace new product launches in F&B category. Dostupno na: <https://www.beveragedaily.com/Article/2017/09/06/Beverage-launches-with-stevia-outpace-new-product-launches-in-F-B>

Sweet Green Fields (2017) Stevia Innovation: Improve taste attributes of drinks and tabletop products with lower cost in use. Dostupno na: https://www.impag.ch/fileadmin/user_upload/CH/Files/Nutrition_and_Health/Fokusberichte/New_stevia_improves_taste_attributes_with_lower_ost_in_use.pdf

The European Commission, Science and knowledge service (2018). Dostupno na: <https://ec.europa.eu/jrc/en/health-knowledge-gateway/promotion-prevention/nutrition/sugars-sweeteners>. Pristupljeno 12.6.2018.

Tierney, M., Gallagher, A.M., Giotis, E.S., Pentieva, K. (2017) An Online Survey on Consumer Knowledge and Understanding of Added Sugars. *Nutrients*, 9 37. Dostupno na: <http://www.mdpi.com/2072-6643/9/1/37>

Uredba komisije EU 231/2012. Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?qid=1533622606744&uri=CELEX:32012R0231>

World Health Organisation (2016) Obesity and Overweight. Dostupno na: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>