Primjena ekstruzije sa superkritičnim \(CO_{2}\) u razvoju nutritivno obogaćenih snack proizvoda

Panak Balentić, Jelena

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:298682

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Jelena Panak Balentić

PRIMJENA EKSTRUZIJE SA SUPERKRITIČNIM CO_2 U RAZVOJU NUTRITIVNO OBOGAĆENIH SNACK PROIZVODA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Poslijediplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za tehnologiju ugljikohidrata
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska
UDK: 664.696.2(043.3)
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Znanstvena grana: Inženjerstvo
Tema rada je prihvaćena na X. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 13. srpnja 2017.
Mentor: prof. dr. sc. *Drago Šubarić*

PRIMJENA EKSTRUZIJE SA SUPERKRITIČNIM CO_2 U RAZVOJU NUTRITIVNO OBOGAĆENIH SNACK PROIZVODA

Jelena Panak Balentić, 67/D

Sažetak: Cilj ovog istraživanja bio je primjenom ekstruzije sa superkritičnim CO_2 (SCFX) proizvesti snack proizvode treće generacije (3G), na bazi kukuruzne krupice, obogaćene nusproizvodima prehrambene industrije, organoleptičkih svojstava sličnih ili poboljšanih u odnosu na klasični proces ekstruzije. Indirektna ekspanzija provodila se primjenom mikrovalova. Dodani nusproizvodi su pogača lješnjaka (*Corylus sp*. L.), podlanka (*Camelina sativa* L. Crantz), buče (*Cucurbita pepo* L.) i industrijske konoplje (*Cannabis sativa* L.) u udjelima 3, 6 i 9 %. Navedene pogače dobivene su prešanjem sirovina te odmašćene ekstrakcijom s CO_2 u superkritičnom stanju. Osim toga, istraživanje je obuhvatilo određivanje fizikalnih, reoloških i kemijskih svojstava neekstrudiranih i ekstrudiranih uzoraka dobivenih klasičnim postupkom ekstruzije i SCFX postupkom uz ekspanziju mikrovalovima, kao i senzorskih svojstava odabranih snack proizvoda.

Ključne riječi: ekstruzija, superkritični CO_2, indirektna ekspanzija, nusproizvodi, pogače uljarica
Rad sadrži: 133 stranice
70 slika
8 tablica
3 priloga
242 literaturne reference
Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	izv. prof. dr. sc. *Đurđica Ačkar*	predsjednik
2.	prof. dr. sc *Jurislav Babić*	član
3.	dr. sc. *Gordana Šimić*, znan. savj.	član
4.	doc. dr. sc. *Antun Jozinović*	zamjena člana

Datum obrane: 21. studenog 2018.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Rektoratu sveučilišta u Osijeku i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, te u **elektroničkom (pdf format) obliku u** Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici Osijek i Repozitoriju Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek

BASIC DOCUMENTATION CARD

DOCTORAL THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Postgraduate University Study-Food Engineering
Department of Food Technologies
Subdepartment of Carbohydrates Technology
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia
UDC: 664.696.2(043.3)
Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. X. held on July 13, 2017.
Mentor: *Drago Šubarić*, PhD, prof.

APPLICATION OF EXTRUSION WITH SUPERCRITICAL CO_2 IN DEVELOPMENT OF NUTRITIONALLY IMPROVED SNACK PRODUCTS

Jelena Panak Balentić, 67/D

Summary: The aim of this study was to apply the extrusion with supercritical CO_2 (SCFX) for production of third generation snack products (3G), corn based, enriched with by-products of the food industry, with organoleptic properties similar or improved in comparison to the classical extrusion process. Indirect expansion was carried out using microwaves. The added by-products were hazelnut (*Corylus sp.* L.), camelina (*Camelina sativa* L. Crantz), pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) and industrial hemp press-cakes (*Cannabis sativa* L.) in 3, 6 and 9%. The press-cakes were obtained by pressing the raw material and deffated by extraction with CO_2 in the supercritical state. In addition, the research included the determination of physical, rheological and chemical properties of non-extruded and extruded samples obtained by classical extrusion and SCFX procedure with expansion by microwaves, as well as the sensory properties of selected snack products.

Key words: extrusion, supercritical CO_2, indirect expansion, by-products, oil press cakes
Thesis contains: 133 pages
70 figures
8 tables
3 supplements
242 references
Original in: Croatian

Defense committee:

1.	*Đurđica Ačkar*, PhD, associate prof.	chair person
2.	*Jurislav Babić*, PhD, prof.	member
3.	*Gordana Šimić*, PhD, scientific advisor	member
4.	*Antun Jozinović*, PhD, assistant prof.	stand-in

Defense date: November 21, 2018.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek; University of Osijek, President's office and in National and University Library in Zagreb; and as **electronic (pdf format) version in** City and University Library of Osijek and Rapository of the Faculty of Food Technology Osijek

Hvala mom dragom mentoru prof. dr. sc. Dragi Šubariću, prvenstveno što je mene izabrao za suradnicu u mnoštvu drugih kandidata te što je uvijek imao prave riječi i savjete za izlaz iz „bezizlazne“ situacije. Hvala mu na strpljenju i pomoći!

Hvala mojoj dragoj ekipi s Katedre za tehnologiju ugljikohidrata: izv. prof. dr. sc. Đurđica Ačkar, doc. dr. sc. Antun Jozinović, tehničarka Daniela Paulik, mag. ing. Veronika Barišić, prof. dr. sc. Jurislav Babić i prof. dr. sc. Borislav Miličević. Bez njih i njihove pomoći, bilo u laboratoriju ili pisanju, obradi podataka, rješavanju problema (pokidani uređaji i sl.), bez njihovih savjeta, bodrenja, lijepih riječi… ova disertacija ne bi bila ovakva. Stoga ekipa, HVALA od srca!

Hvala svim kolegicama i kolegama s fakulteta, asistentima, profesorima, tehničarkama…svima koji su mi nesebično ustupili svoju opremu, laboratorije, pribor, svima koji ste mi davali savjete i na bilo koji način pružili pomoć, HVALA Vam!

Također hvala profesorima i kolegama s drugih institucija (Odjel za Matematiku Osijek, PBF Zagreb, Zavod za javno zdravstvo Osijek) na svoj pruženoj pomoći prilikom obrade podataka i eksperimentalnog dijela izrade ove disertacije.

Hvala mojim dragim prijateljicama i kolegicama, mladim snagama PTF-a, cure uz vas je prethodnih nekoliko mjeseci bio smijeh do suza i na tome Vam veliko HVAAAALAAAA!!!!!

Hvala mojim prijateljima i prijateljicama van fakulteta, svoj rodbini i obiteljskim prijateljima na svim riječima ohrabrenja, podrške, na svim minutama koje ste posvetili meni i mom „kukanju“, na svim bit će bolje, riješit će se i drugim riječima utjehe, na svim feštama i druženjima koja ste organizirali, HVALA vam jer ste pravi prijatelji i obitelj!

Hvala mojoj dragoj obitelji, mojim predivnim roditeljima, bratu i seki koji su mi pružali uvijek i u svakom trenu podršku i pomoć na bilo koji način, koji su imali razumijevanja na moje odsustvo i zauzetost, koji me vole bez obzira na sve, Zbog Vas sam ovo što jesam i HVALA Vam što vas imam i što me volite bezuvjetno! Volim i ja Vas!

Hvala i mojoj svekrvi i svekru, šogorici i šogoru, strininim dječacima Ivanu i Luki, što ste uvijek našli načina da me nasmijete, oraspoložite, zabavite i saslušate!

Najveća HVALA ide mom najboljem prijatelju, srodnoj duši, životnom suputniku, ljubavi i smislu mog života, mom svjetlu na kraju tunela, mojoj boljoj polovici, onom za koga moje srce kuca i zbog koga ustajem svako jutro, ***MOM SUPRUGU SLAVKU!*** *Ljubavi bez tebe ova disertacija ne bi postojala stoga ti posvećujem svaku stranicu, sliku, slovo i znak.*

Hvala ***dragom Bogu*** *na svim uslišanim molitvama, što je uz mene svaki dan, prati me na mom putu i neizmjerno mi pomaže! Bože HVALA TI!*

Ovaj rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom broj 1321.

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 5

2.1. EKSTRUZIJA 6

2.1.1. Prednosti ekstruzije 6

2.1.2. Uređaji za ekstruziju 7

2.2. PRIMJENA SUPERKRITIČNOG CO_2 U PROCESU EKSTRUZIJE 8

2.2.1. Superkritični CO_2 8

2.2.2. Superkritična CO_2 ekstruzija 10

2.2.3. Primjena u prehrambenoj industriji 12

2.3. INDIREKTNA EKSPANZIJA 17

2.3.1. Opis proizvoda i procesa proizvodnje 18

2.3.2. Ekspanzija prženjem u ulju 20

2.3.3. Ekspanzija u struji vrućeg zraka 21

2.3.4. Ekspanzija mikrovalnim zagrijavanjem 21

2.4. SIROVINE ZA PROIZVODNJU EKSTRUDATA 24

2.4.1. Kukuruz 24

2.4.2. Pogače - nusproizvodi prehrambene industrije 25

2.4.2.1 Pogača lješnjaka 26

2.4.2.2 Pogača podlanka 27

2.4.2.3 Pogača buče 30

2.4.2.4 Pogača industrijske konoplje 31

2.4.3. Pektini 34

3. EKSPERIMENTALNI DIO 36

3.1. ZADATAK 37

3.2. MATERIJALI 39

3.3. METODE 40

3.3.1. Priprema sirovina i zamjesa za ekstruziju 40

3.3.2. Ekstruzija 42

3.3.3. Određivanje fizikalnih svojstava 43

3.3.3.1 Ekspanzijski omjer peleta, 2G i 3G proizvoda (EO) 43

3.3.3.2 Nasipna masa peleta, 2G i 3G proizvoda (BD) 43

3.3.3.3 Tekstura (lomljivost i hrskavost) 2G i 3G proizvoda 44

3.3.3.4 Boja zamjesa i ekstrudata 45

3.3.3.5 Indeks apsorpcije vode (WAI) i indeks topljivosti u vodi (WSI) 46

3.3.3.6 Određivanje viskoznosti brašna Brabenderovim viskografom 47

3.3.4. Određivanje kemijskih svojstava 48

3.3.4.1 Određivanje udjela suhe tvari (ISO 6540) 48

3.3.4.2 Određivanje udjela pepela u sirovinama (ISO 5984) 49

3.3.4.3 Određivanje udjela masti u sirovinama (ISO 6492) ... 50
3.3.4.4 Određivanje udjela proteina u sirovinama (ISO 5983-2) ... 51
3.3.4.5 Određivanje udjela sirove ugljikohidratne frakcije u sirovinama ... 53
3.3.4.6 Određivanje ukupnih, topljivih i netopljivih vlakana (AOAC 991.43) ... 53
3.3.4.7 Određivanje udjela rezistentnog škroba (AOAC 2002.02) ... 57
3.3.4.8 Određivanje stupnja oštećenosti škroba (AACC 76-31.01) ... 59
3.3.4.9 Određivanje udjela ukupnih polifenola Folin-Ciocalteuovom metodom ... 60
3.3.4.10 Određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH metodom ... 60
3.3.4.11 Određivanje akrilamida (AA) i hidroksimetilfurfurala (HMF-a) ... 61
3.3.5. Određivanje senzorskih svojstava ... 63
3.3.6. Statistička obrada podataka ... 63
4. REZULTATI ... 65
4.1. FIZIKALNA SVOJSTVA ... 66
4.1.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO) ... 66
4.1.2. Nasipna masa ekstrudata (BD) ... 67
4.1.3. Tekstura (lomljivost i hrskavost) ekstrudata ... 68
4.1.4. Boja zamjesa i ekstrudata ... 70
4.1.5. Indeks apsorpcije (WAI) i indeks topljivosti u vodi (WSI) ... 73
4.1.6. Reološka svojstva zamjesa i ekstrudata ... 75
4.2. KEMIJSKA SVOJSTVA ... 78
4.2.1. Kemijski sastav sirovina ... 78
4.2.2. Udio ukupnih (UV), topljivih (TV) i netopljivih vlakana (NV) ... 79
4.2.3. Udio rezistentnog (RS), nerezistentnog (NRS) i ukupnog škroba (TS) ... 82
4.2.4. Stupanj oštećenosti škroba (DS) ... 85
4.2.5. Udio ukupnih polifenola (TPC) i antioksidativna aktivnost ... 86
4.2.6. Udio akrilamida (AA) i hidroksimetilfurfurala (HMF-a) ... 88
4.3. SENZORSKA SVOJSTVA ... 89
4.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA ... 90
5. RASPRAVA ... 92
5.1. FIZIKALNA SVOJSTVA ... 93
5.1.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO) ... 93
5.1.2. Nasipna masa ekstrudata (BD) ... 94
5.1.3. Tekstura (lomljivost i hrskavost) ekstrudata ... 95
5.1.4. Boja zamjesa i ekstrudata ... 96
5.1.5. Indeks apsorpcije (WAI) i indeks topljivosti u vodi (WSI) ... 97
5.1.6. Reološka svojstva zamjesa i ekstrudata ... 99
5.2. KEMIJSKA SVOJSTVA ... 100
5.2.1. Osnovni kemijski sastav (udio suhe tvari, proteina, masti, pepela i sirovih ugljikohidrata) ... 100
5.2.2. Udio ukupnih (UV), topljivih (TV) i netopljivih vlakana (NV) ... 101
5.2.3. Udio rezistentnog (RS), nerezistentnog (NRS) i ukupnog škroba (TS) ... 103

5.2.4. Stupanj oštećenosti škroba (DS) 104
5.2.5. Udio ukupnih polifenola (TPC) i antioksidativna aktivnost 104
5.2.6. Udio akrilamida (AA) i hidroksimetilfurfurala (HMF-a) 106
5.3. SENZORSKA SVOJSTVA 107
6. ZAKLJUČCI 108
7. LITERATURA 112
8. PRILOZI 130

Popis oznaka, kratica i simbola

AA	akrilamid
AMG	amiloglukozidaza
ANOVA	analiza varijance (engl. *analysis of variance*)
AO	antioksidativna aktivnost
AOAC	eng. *Association of Official Analytical Chemists*
APCI	kemijska ionizacija pod atmosferskim tlakom (engl. *chemical ionization under atmospheric pressure*)
BD	nasipna masa (engl. *bulk density*)
BU	Brabenderove jedinice (engl. *Brabender Units*)
C	zasićenost boje (engl. *Chroma*)
CO_2	ugljikov dioksid
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DS	stupanj oštećenosti škroba
EC	Europska komisija (engl. *European Commission*)
EFSA	Europska agencija za sigurnost hrane (engl. *European Food Safety Authority*)
EO	ekspanzijski omjer
EU	Europska Unija
FAOSTAT	Organizacija za poljoprivredu i hranu Ujedinjenih naroda (eng. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*)
GAE	ekvivalenti galne kiseline (engl. *gallic acid equivalents*)
GOPOD	glukoza oksidaza-peroksidaza-aminoantipirin reagens
GRAS	Generalno prihvaćeno kao sigurno (engl. *Generally Recognized as Safe*)
h°	ton boje (engl. *hue angle*)
HMF	hidroksimetilfurfural
HPLC	visoko djelotvorna/tlačna tekućinska kromatografija (engl. *high performance/pressure liquid chromatography*)
HTST	visoka temperatura kratko vrijeme (engl. *High Temperature Short Time*)
IARC	eng. *International Agency for Research on Cancer*
ISO	eng. *International Standard Organisation*
L*, a*, b*	parametri CIELab sustava za boje
LOD	limit detekcije

MES	2-N-morfolino-etansulfonska kiselina
MRM	višestruko praćenje reakcija (engl. *multiple reaction monitoring*)
MS	masena spektrometrija
NN	Narodne novine (službeno glasilo RH)
NRS	nerezistentni škrob
NV	netopljiva prehrambena vlakna
PVDF	polivinil difluorid
RS	rezistentni škrob
RTE	spremno za konzumiranje (engl. *ready-to-eat*)
SC-CO_2	superkritični ugljikov dioksid
SCF	superkritični fluid
SCFX	ekstruzija sa superkritičnim CO_2
SME	specifična mehanička energija
THC	tetrahidrokanabinol
TPC	ukupni polifenoli
TRIS	tris-hidroksimetil-aminometan
TS	ukupni škrob
TV	topljiva prehrambena vlakna
UV	ukupna prehrambena vlakna
UV	ultraljubičasto (engl. *ultraviolet*)
w_A	udio pepela
WAI	indeks apsorpcije vode (engl. *water absorption index*)
w_M	udio masti
w_N	udio dušika
w_P	udio proteina
$w_{S.\,tv.}$	udio suhe tvari
WSI	indeks topljivosti u vodi (engl. *water solubility index*)
w_U	udio sirovih ugljikohidrata
ΔE	ukupna promjena boje
2G	druga generacija snack proizvoda, direktno ekspandirani
3G	treća generacija snack proizvoda, indirektno ekspandirani

1. UVOD

Ekstruzija je proces u kojem istodobno djeluju visok tlak, smicanje i povišena temperatura, pri čemu se materijal prisiljava na gibanje, izlazi kroz suženi otvor, te se tako oblikuje (npr. tjestenina) ili ekspandira (npr. snack proizvodi). Najzastupljeniji prehrambeni proizvodi koji se dobivaju procesom ekstruzije su: snack proizvodi, tjestenina, žitarice za doručak, modificirana brašna, hrana za kućne ljubimce itd. (Jozinović, 2015.). Suvremeni postupci ekstruzije pripadaju u grupu tzv. HTST (engl. *High Temperature Short Time*) procesa što je posebno značajno kada se obrađuju sirovine koje sadrže osjetljive sastojke (proteini, aminokiseline, vitamini…) (Móscicki, 2011.). Prilikom ekstruzije dolazi do značajnih promjena u strukturi i probavljivosti pojedinih sastojaka hrane, kao i nastanka različitih korisnih, ali i neželjenih spojeva. Kako bi se očuvali sastojci sirovina, a istodobno dobio proizvod prihvatljiv za potrošača, često se klasični postupci konzerviranja i obrade namirnica inoviraju postupcima razvijenim u drugim područjima znanosti i tehnologije. Proces ekstruzije se tako, koliko god pozitivan bio, može poboljšati primjenom nižih temperatura, što dovodi do značajno manjih gubitaka termolabilnih nutrijenata u odnosu na klasičnu ekstruziju (Rizvi i sur., 1995.; Sharif i sur., 2014.). Međutim, niže temperature tijekom procesa ekstruzije zahtijevaju upotrebu viših udjela vode, koja smanjuje ekspanziju konačnog proizvoda, što je kod snack proizvoda nepoželjno. Kako bi se u tom slučaju riješio problem ekspanzije postoji mogućnost primjene ekstruzije sa superkritičnim CO_2. Superkritični fluid utječe na povećanje ekspanzije ekstrudiranih proizvoda, jer unutar proizvoda povećava zračne prostore te zamjenjuje vodenu paru kao osnovno sredstvo za ekspanziju u klasičnom procesu ekstruzije. Superkritični CO_2 (SC-CO_2) je netoksičan, neeksplozivan, nezapaljiv, nekorozivan, jeftin i lako dostupan fluid, bez boje i mirisa. Osim toga, ima oznaku GRAS (engl. *Generally Recognized as Safe*) te je potpuno siguran za primjenu u proizvodnji i preradi hrane. CO_2 u superkritičnom stanju trenutačno ima najveću primjenu u ekstrakciji eteričnih ulja i drugih komponenti koje se koriste u farmaceutskim proizvodima.

Snack proizvodi predstavljaju značajnu grupu proizvoda koju konzumiraju sve skupine potrošača. Jedna od novijih skupina snack proizvoda su proizvodi tzv. treće generacije (3G). Procesom ekstruzije dobije se poluproizvod, tzv. pelet, koji svoj konačan oblik dobiva naknadnim prženjem u ulju, ekspanzijom u struji vrućeg zraka, naknadnom ekspanzijom u ekstruderu ili upotrebom mikrovalnog ili infracrvenog zagrijavanja (Huber i Rokey, 1990.). Svi navedeni procesi pružaju velike mogućnosti proizvodnje novih proizvoda koji, osim što su ukusni imaju i poboljšana nutritivna svojstva.

Osnovne sirovine za proizvodnju ekstrudiranih proizvoda uglavnom su sirovine bogate škrobom i proteinima, kao što su kukuruz i pšenica, odnosno krupice te proteini sirutke i sojini proteini. Posljednjih nekoliko godina u svrhu povećanja nutritivne vrijednosti proizvoda koriste se brašna drugih žitarica i pseudožitarica, te različiti dodaci kao npr. dehidratirano voće, povrće

i sl. (Kosović i sur., 2016.; Obradović i sur., 2014.; 2015.a, 2015.b). Osim toga, poboljšanje nutritivnih svojstava hrane, pa tako i snack proizvoda, može se postići na različite načine, a jedan od njih može biti i primjena nusproizvoda prehrambene industrije koji tijekom proizvodnje hrane nastaju u velikim količinama. Tako je, npr. u 2013. godini u Europi, prema statistikama Organizacije za poljoprivredu i hranu Ujedinjenih naroda (FAOSTAT, 2013.), samo iz prerade voća i povrća generirano 12,45 kt otpada, a iz proizvodnje suncokretovog ulja 5 kt otpada. Do sada se problem nusproizvoda prehrambene industrije rješavao odlaganjem na deponije ili, u boljem slučaju, upotrebljavani su kao sirovine za proizvodnju stočne hrane, kao gnojivo u obradi zemlje ili za proizvodnju biogoriva, ali sve više se istražuje mogućnost primjene u daljnjoj proizvodnji hrane (Altan i sur., 2008.a, 2008.b; 2009.; Bisharat i sur., 2013.; Karkle i sur., 2012.; Stojceska i sur., 2008.a, 2008.b; 2009.; Upadhyay i sur., 2010.; Yağcı i Göğüş, 2008.).

Značajne količine nusproizvoda koji nastaju u proizvodnji ulja iz različitih sirovina su pogače bogate proteinima, vlaknima, esencijalnim masnim kiselinama, aminokiselinama, fenolnim spojevima i mineralnim tvarima. Međutim, u pogači zaostaje određeni udio ulja (oko 10 %) koji bi smetao ekspanziji u proizvodnji snack proizvoda, zbog čega je potrebno ukloniti zaostalo ulje. Jedan od suvremenih načina je primjena ekstrakcije s CO_2 u superkritičnom stanju, kojom se gotovo u potpunosti uklanja zaostalo ulje.

Cilj ovog istraživanja bio je primjenom ekstruzije sa superkritičnim CO_2 (SCFX) proizvesti snack proizvode treće generacije, na bazi kukuruzne krupice, obogaćene nusproizvodima prehrambene industrije, organoleptičkih svojstava sličnih ili poboljšanih u odnosu na klasični proces ekstruzije. Dodani nusproizvodi su pogača lješnjaka (*Corylus sp*. L.), podlanka/cameline (*Camelina sativa* L. Crantz), buče (*Cucurbita pepo* L.) i industrijske konoplje (*Cannabis sativa* L.) u udjelima 3, 6 i 9 %. Navedene pogače dobivene su prešanjem sirovina i odmašćene ekstrakcijom s CO_2 u superkritičnom stanju. Pogača lješnjaka bogata je proteinima (35-41 %), vlaknima (10 %) i fenolnim spojevima kao što su: galna, kava, *p*-kumarna, ferulična i sinapinska kiselina (Shahidi i sur., 2007.; Yağcı i Göğüş, 2010.; 2009.a, 2009.b). Pogača podlanka sadrži visok udio polifenola (oko 7,7 mg GAE/g) i ima visoku antioksidativnu aktivnost (4,0 μg/ml) (Terpinc i sur., 2012.a, 2012.b). Sjemenke buče bogat su izvor vitamina i minerala te sadrže razne bioaktivne sastojke kao što su: fitosteroli, fenolne tvari, skvaleni, *γ*-aminobutanska kiselina (Qi i sur., 2012.). Djelomično odmašćena pogača industrijske konoplje sadrži oko 10 % ulja (ovisno o stupnju odmašćivanja), 30 % proteina, 50 % ugljikohidrata i 8 % pepela (Apostol i sur., 2015.). Prilikom proizvodnje snack proizvoda klasičnim postupkom ekstruzije, dodan je pektin u udjelu 1 % zbog slabije ekspanzije i pojave loših fizikalnih svojstava zbog dodatka sirovina bogatih proteinima i vlaknima (Ačkar i sur., 2018.). Budući su navedene pogače jeftin, lako dostupan i nutritivno vrlo vrijedan proizvod,

ispitan je utjecaj njihovog dodatka na fizikalna, kemijska i reološka svojstva ekstrudata te je određena senzorska prihvatljivost novih proizvoda. S obzirom na to da tijekom ekstruzije mogu nastati štetni sastojci, a dodaju se sirovine bogate njihovim prekursorima, ispitan je utjecaj ekstruzije na razvoj akrilamida (AA) i hidroksimetilfurfurala (HMF).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. EKSTRUZIJA

Ekstruzija je proces koji se koristi u mnogim industrijama, posebice u industriji plastike gdje se široko primjenjuje. U prehrambenoj industriji ekstruzija se naziva ekstruzijskim kuhanjem (engl. *extrusion cooking*). Definicija koja najbolje opisuje proces ekstruzije glasi: „Ekstruzija je proces u kojem se materijal prisiljava na gibanje, uz istovremeno miješanje i/ili zagrijavanje/hlađenje, kroz suženi otvor kako bi se proizvod oblikovao i/ili ekspandirao uz sušenje“ (Babić, 2011.). Ekstruzijskim kuhanjem omogućena je proizvodnja velikog broja prehrambenih proizvoda (**Slika 1**), uz primjenu različitih sirovina. Ekstruzija uključuje jedan ili više procesa, a to su: aglomeracija, uklanjanje plinova, želatinizacija, kuhanje, ekspanzija, dehidratacija, homogenizacija i miješanje, usitnjavanje, pasterizacija i sterilizacija, denaturacija proteina, oblikovanje, promjena teksture namirnica i dr. (Riaz, 2000.).



Slika 1 Najznačajniji primjeri primjene procesa ekstruzije

2.1.1. Prednosti ekstruzije

Ekstruzija je proces koji za razliku od klasičnih postupaka obrade hrane ima brojne prednosti, jer je ekstruzijom moguća proizvodnja širokog spektra različitih proizvoda i razvoj novih proizvoda. Mali su gubitci energije, visoko je iskorištenje energije, niski su operativni troškovi, proces je kontinuiran, proizvodi su visoke kvalitete jer je minimalan gubitak nutrijenata, mala je količina otpada, samim time i zagađenje okoliša (Riaz, 2000.). U procesu ekstruzije moguće je primjenjivati različite sirovine. Klasične sirovine mogu se miješati s drugim sirovinama koje

nisu pokazale veliki potencijal za samostalnu primjenu ili su karakterizirane kao otpad, što je još jedan pokazatelj pozitivnog utjecaja na smanjenje zagađenja okoliša (Móscicki, 2011.).

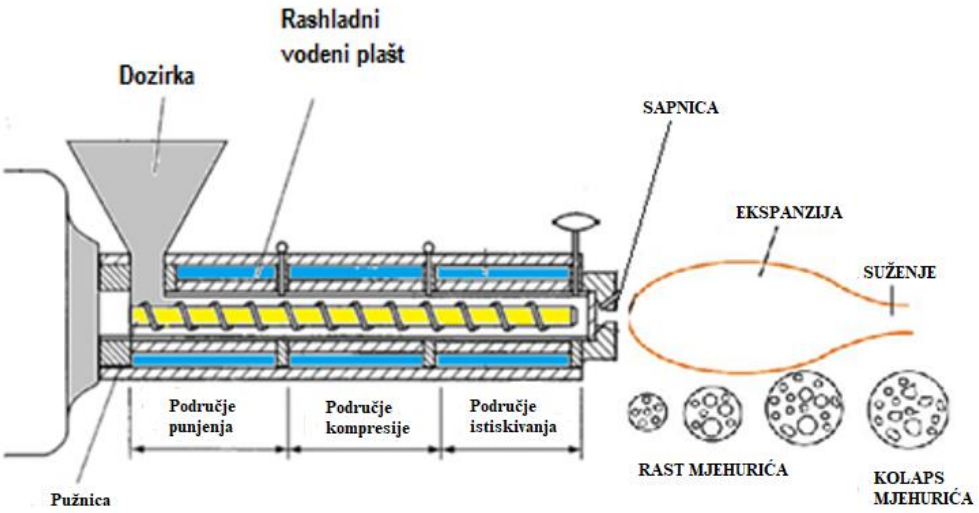
Razlikuju se tri osnovna postupka ekstruzije:

- hladno ekstrudiranje (40 – 70 °C; 60 – 90 bar);
- želatinizacija (želiranje) (70 – 120 °C; 70 – 130 bar);
- toplo ekstrudiranje (130 – 180 °C; 120 – 250 bar) (Lovrić, 2003.).

Ovisno o željenoj vrsti proizvoda i upotrijebljenoj sirovini, razlikuju se i procesi ekstruzije. Također, niže temperature uglavnom zahtijevaju više udjele vlage u zamjesu, dok je kod viših temperatura udio vlage oko 15 – 20 %.

2.1.2. Uređaji za ekstruziju

Suvremeni uređaji za ekstruziju nazivaju se ekstruderi. Specifični su po tome što omogućuju postupak kuhanja pod visokim tlakom, što je značajno za osjetljive sastojke hrane (vitamini, aminokiseline, proteini…), jer pri tretiranju visokom temperaturom kroz kratko vrijeme neće doći do značajnog nastanka neželjenih promjena i gubitka ovih vrijednih sastojaka (Móscicki, 2011.). Iako postoje različite izvedbe i podjele ekstrudera s obzirom na način stvaranja tlaka, veličinu smicanja, termodinamičke uvjete rada, najpoznatija podjela je s obzirom na način stvaranja tlaka. Tako se razlikuju klipni i pužni ekstruderi, a pužni ekstruderi se mogu još podijeliti na jednopužne i dvopužne ekstrudere (Lovrić, 2003.). Princip rada ekstrudera najlakše je objasniti na jednopužnom ekstruderu prikazanom na **Slici 2**.



Slika 2 Shematski prikaz jednopužnog ekstrudera i ekspanzije mjehurića prilikom izlaska kroz sapnicu ekstrudera

Kao što je vidljivo na **Slici 2**, ekstruder se sastoji od tri zone: zone uvlačenja/punjenja, zone kompresije i zone istiskivanja. Materijal za ekstruziju (zamjes) se usipa u dozirku, koja osigurava konstantno i jednolično doziranje materijala, pomoću puža koji ima mogućnost podešavanja broja okretaja. Ulaskom u zonu uvlačenja, materijal (praškasti ili u obliku granula) se prihvaća i transportira u zonu kompresije. U zoni kompresije materijal se prisiljava na gibanje i vrši se kompresija, mehanička energija pretvara se u toplinu, zbog čega raste temperatura te dolazi do plastificiranja materijala. U zoni istiskivanja dolazi do homogenizacije materijala koji se protiskuje kroz sapnicu pri konstantnom tlaku. Maksimalan tlak postiže se na kraju puža, a nakon prolaska kroz sapnicu tlak pada na atmosferski i dolazi do ekspanzijskog sušenja. Brzina istjecanja materijala kroz sapnicu ovisi o obliku i promjeru sapnice, viskoznosti materijala, razlici u tlaku te brzini okretaja puža. Prilikom ekspanzijskog sušenja voda isparava iz materijala i zbog toga dolazi do ekspanzije (povećanja volumena) (Babić, 2011.; Jozinović, 2015.).

2.2. PRIMJENA SUPERKRITIČNOG CO_2 U PROCESU EKSTRUZIJE

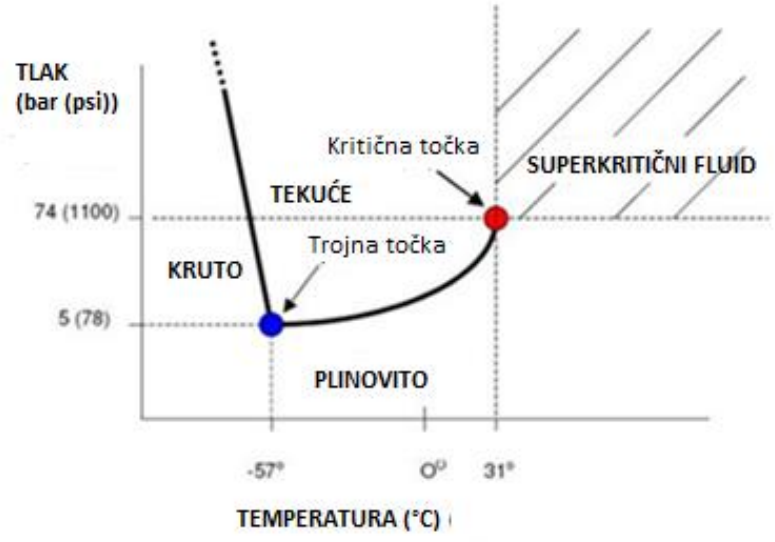
Iako je ekstruzija HTST proces, još uvijek mogu nastati neželjeni produkti tijekom procesa proizvodnje, koji su potencijalno štetni za ljudsko zdravlje. Kako bi se to riješilo, pristupilo se razvoju drugačijeg procesa ekstruzije. Proces ekstruzije može biti kombiniran sa superkritičnim fluidom, točnije sa superkritičnim CO_2 koji se najčešće koristi. Superkritična CO_2 ekstruzija može se koristiti za širok asortiman ekspandiranih proizvoda s poboljšanim svojstvima teksture, boje i okusa. Superkritični fluid povećava ekspanziju ekstrudiranih proizvoda, jer unutar proizvoda stvara zračne prostore te zamjenjuje vodenu paru kao osnovno sredstvo za ekspanziju u klasičnom procesu ekstruzije. Upotreba nižih temperatura i tlakova obično dovodi do minimalnih procesnih gubitaka termolabilnih nutrijenata, u odnosu na klasičnu ekstruziju. Specifičnost SCFX procesa je ta što se primjenjuje u dvopužnim ekstruderima (Ačkar i sur., 2017.; Panak Balentić i sur., 2017.; Rizvi i sur., 1995.; Sharif i sur., 2014.).

2.2.1. Superkritični ugljikov dioksid

Superkritični fluid (SCF) postaje superkritičan kada se podigne iznad svoje kritične točke i za temperaturu i za tlak. Ima svojstva između plinova i tekućina. Vodik, neon, dušik, kisik, metan, ugljikov tetrafluorid, etilen, ugljikov dioksid, etan, propan, itd. su neki od plinova koji se mogu koristiti u superkritičnim uvjetima. Procesi koji uključuju SCF su održivi, ekološki i troškovno učinkoviti. Superkritični fluidi imaju izvanredna svojstva prijenosa topline pa su predloženi kao održiva alternativa tekućinama koje se koriste danas u klimatizacijskim uređajima i hladnjacima. SCF su osjetljivi na male promjene u temperaturi i tlaku u području visokog stupnja kompresije koja nudi mogućnost kontroliranja veličine i oblika čestica u širokom

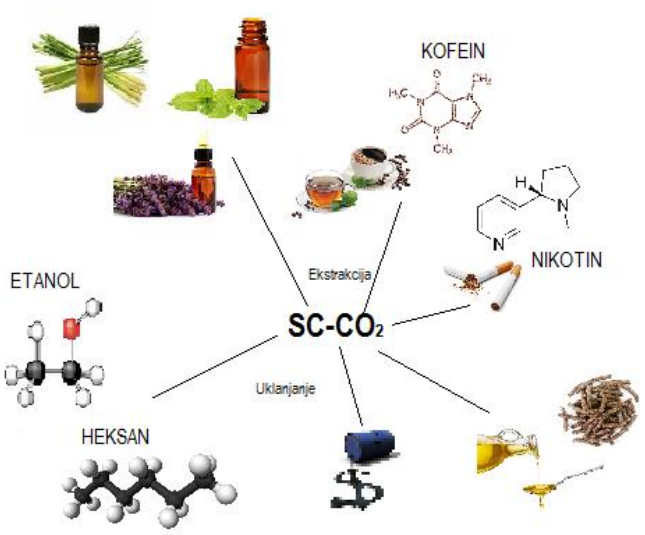
rasponu, s malom prilagodbom uvjetima postupka. Oni se već primjenjuju u nekoliko procesa u farmaceutskoj, prehrambenoj i tekstilnoj industriji (Knez i sur., 2013.; Palmer i Ting, 1995.; Panak Balentić i sur., 2017.).

SC-CO_2 je netoksičan, neeksplozivan, nezapaljiv, nekorozivan, jeftin i lako dostupan, nema miris ni boju. Kritična točka ugljikovog dioksida je na 31,06 °C i 7,386 MPa (Rozzi i Singh, 2002.) (**Slika 3**). SC-CO_2 ima sposobnost odvajanja spojeva koji su manje hlapivi, imaju veću molekularnu masu i/ili su više polarni s porastom tlaka, otapa nepolarne ili blago polarne spojeve (alkani, alkeni, terpeni), pri čemu se snaga otapanja smanjuje s povećanjem molekularne mase spojeva (Aladić, 2015.; Panak Balentić i sur., 2017.).



Slika 3 Fazni dijagram za CO_2 (Panak Balentić i sur., 2017.)

SC-CO_2 ima veliku mogućnost primjene u mnogim procesima, istražuje se njegova primjena u tehnologiji ekstrudiranja, ali uglavnom se koristi za ekstrakciju eteričnih ulja, aromatičnih sastojaka iz biljnih sirovina, kao i sastojaka s antioksidativnim i antibakterijskim djelovanjem, biljnih ulja i masti, ekstrakata za parfeme, izdvajanju kofeina (kava, čaj), ekstrakciji nikotina iz duhana, frakcioniranju glicerida (riblje ulje), ekstrakciji otapala iz proizvoda dobivenih klasičnom metodom ekstrakcije (heksan, etanol), ekstrakciji neželjenih komponenti iz različitih frakcija nafte i drugih sastojaka (Skala i sur., 2002.) (**Slika 4**). Nadalje, prema literaturnim podacima SC-CO_2 ima potencijalno značajnu primjenu u ekstrakciji ulja zaostalog u pogačama nakon proizvodnje hladno prešanih ulja (Aladić i sur., 2015.; 2016.; Jokić i sur., 2011.; 2016.). Osim toga, superkritični CO_2 ima oznaku GRAS. Nadalje, činjenica da je CO_2 pri sobnoj temperaturi plin pridonosi tome da može biti uklonjen iz proizvoda vrlo lako, izbjegavajući skupe procese sušenja i uklanjanja otapala, što je vrlo važno u obradi hrane (Kazarian, 2000.; Cvjetko Bubalo i sur., 2015.; Panak Balentić i sur., 2017.).



Slika 4 Slikoviti prikaz primjene ugljikovog dioksida u superkritičnom stanju

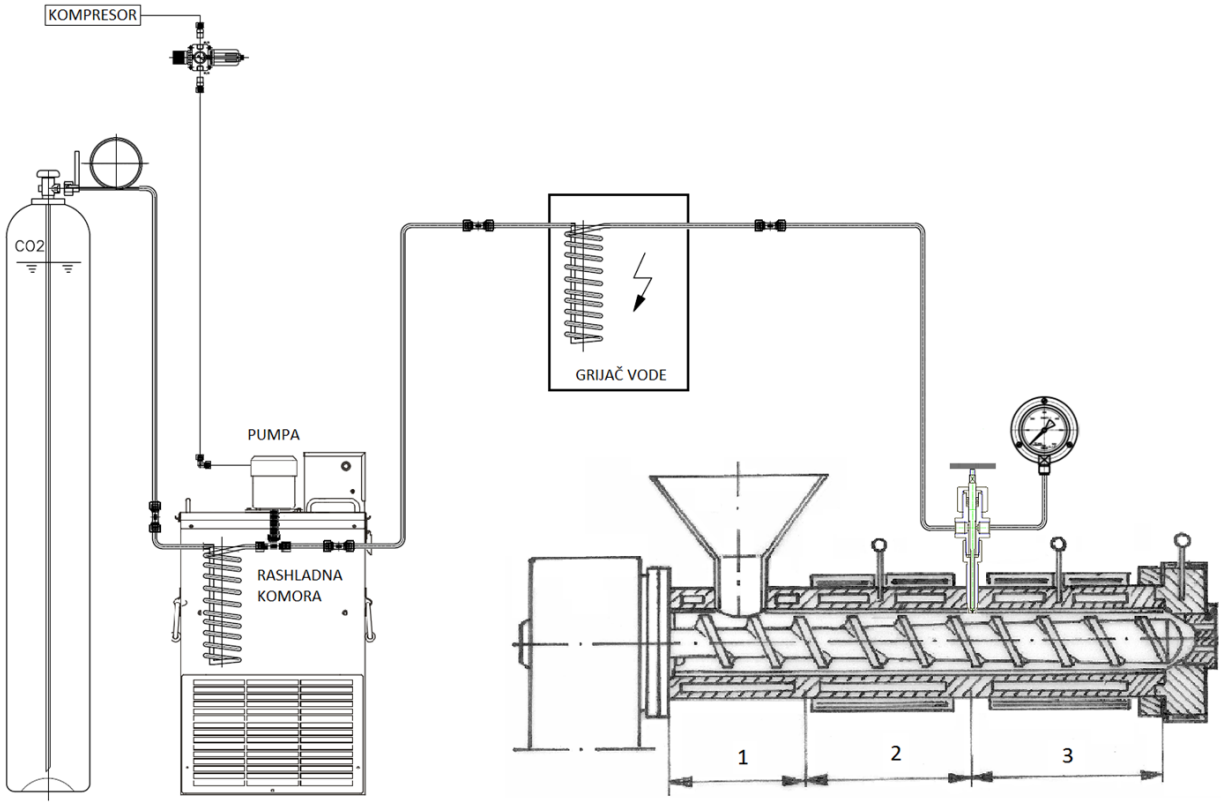
Primjena SCFX procesa prvenstveno se odnosi na obradu i proizvodnju plastike, pa su tako brojni istraživači pratili utjecaj SC-CO_2 na reološka svojstva, poroznost, temperaturu staklastog prijelaza te svojstva plastificiranja i tečenja različitih polimera (polistirena, polietilena, polipropilena,…), kao i mogućnost primjene SC-CO_2 kao plastifikatora i sredstva za stvaranje pjene (Gourgouillon i sur., 1998.; Kazarian, 2000.; Lee i sur., 1999.; 2006.; Nalawade i sur., 2006.; Sauceau i sur., 2007.; Sato i sur., 1999.). Tako je utvrđeno smanjenje temperature staklastog prijelaza za polistiren dodatkom SC-CO_2, kao i smanjenje viskoznosti. Prisutnost SC-CO_2 u procesu ekstruzije mijenja reološka svojstva polimera unutar ekstrudera i djeluje kao pjenilo tijekom opuštanja u prolazu kroz sapnicu. Dakle, njegova visoka topljivost u polimeru rezultira intenzivnom ekspanzijom na sapnici (Sauceau i sur., 2007.). Sauceau i sur. (2007.) u svom su radu ispitivali utjecaj ekstruzije sa SC-CO_2 na poroznost polistirena te utvrdili da povećanje količine dodanog CO_2 ima značajniji utjecaj na bolju poroznost pri nižoj temperaturi. Verreck i sur. (2006.) ispitivali su mogućnost primjene CO_2 kao plastifikatora i sredstva za stvaranje pjene u proizvodnji ekstrudiranih farmaceutskih polimera te utvrdili da se primjenom CO_2 može smanjiti temperatura ekstruzije te se dobiva proizvod bolje poroznosti.

2.2.2. Superkritična CO_2 ekstruzija

Ekstruziju sa superkritičnim fluidom razvili su i patentirali 1992. godine Rizvi i Mulvaney (Rizvi i Mulvaney, 1992.). To je proces u kojem se superkritični CO_2 ubrizgava za kontrolu ekspanzije prilikom ekstrudiranja. Injektiranje ugljikovog dioksida služi kao jeftina alternativa za široku proizvodnju proizvoda pri nižim temperaturama (Boyaci i sur., 2012.). Upotreba SCF-a u procesu ekstruzije se temelji na četiri koraka procesa koji uključuju:

1) Razvoj tijesta sa svojstvima zadržavanja plina miješanjem, kuhanjem ili miješanjem i hlađenjem ako je potrebna temperatura ispod 100 °C, kao u škrobnim otopinama;
2) Injektiranje SC-CO_2 u tijesto unutar ekstrudera, do količine koja ne prelazi granicu zasićenja i miješanje kako bi se stvorila jedinstvena faza u ekstruderu;
3) Stvaranje kontrolirane termodinamičke nestabilnosti manipulacijom tlaka i/ili temperature u ekstruderu;
4) Kontrola stupnja rasta proizvoda tijekom prolaska kroz odgovarajući otvor odnosno oblik sapnice na izlazu, prilikom ekstruzijskog sušenja nakon izlaska iz sapnice i procesa hlađenja proizvoda (Rizvi i sur., 1995.).

SCFX parametri poput brzine ubrizgavanja superkritičnog CO_2 i stupnja pada tlaka su kritični i mogu se prilagoditi kako bi se proizvodio široki spektar proizvoda različite veličine, gustoće i stupnja ekspanzije. Da bi CO_2 prešao u superkritično stanje potrebno ga je ohladiti i tlačiti, hladi ga se preko rashladne kupelji, a potom se tlači pomoću visokotlačne pumpe te vodi do kupelji za zagrijavanje i injektira se pod tlakom u potpuno kuhanu smjesu u ekstruderu (Panak Balentić i sur., 2017.). Shematski dijagram superkritičnog sustava CO_2 zajedno s ekstruderom prikazan je na **Slici 5.**

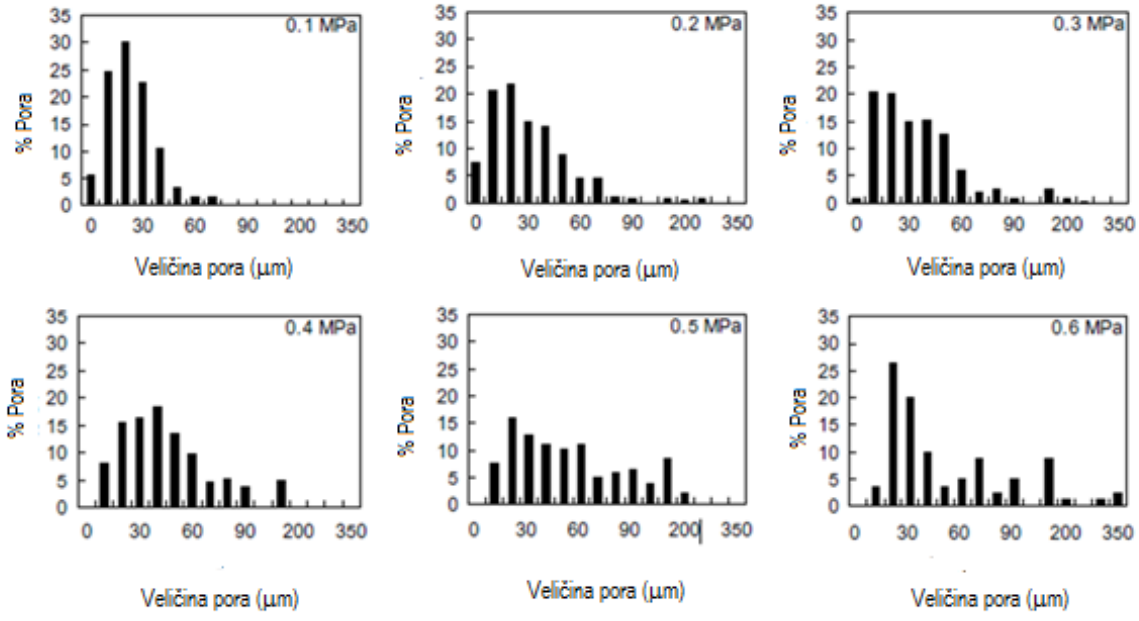


Slika 5 Shematski prikaz ekstrudera sa sustavom za dodatak CO_2

2.2.3. Primjena u prehrambenoj industriji

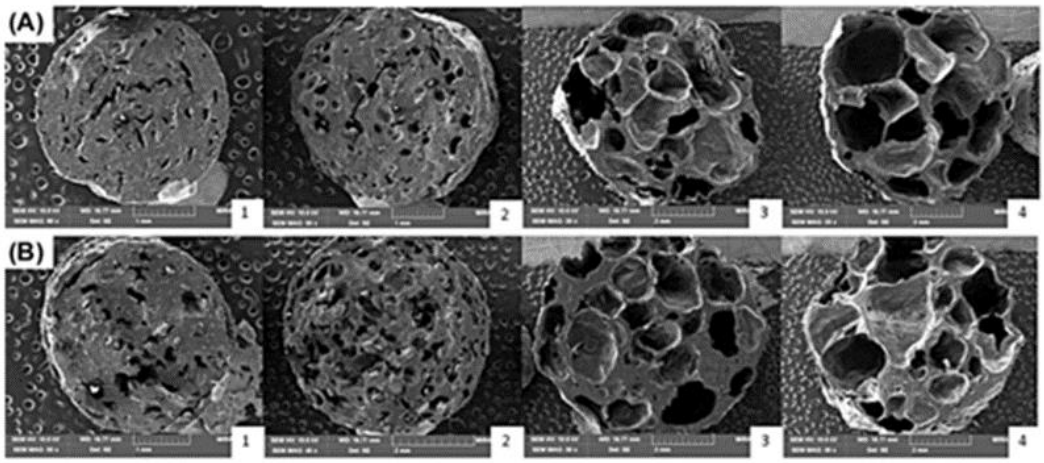
Osim u obradi različitih polimera u novije vrijeme sve se više ekstruzija sa SC-CO_2 počinje primjenjivati u proizvodnji i preradi hrane. Prvenstveno se ispitivala mogućnost primjene ekstruzije sa SC-CO_2 u svrhu proizvodnje ekstrudata pri nižim temperaturama, što bi smanjilo energetske troškove, ali i osiguralo bolju kvalitetu proizvoda očuvanjem termički labilnih sastojaka u hrani, kao što su antioksidativne komponente, polifenoli, tiamin, riboflavin, proteini, vlakna i dr. Također ispitivane su i različite modifikacije brašna, škroba i proteina primjenom SCFX, ali traže se i zamjene za kvasac, pa tako postoje istraživanja primjene SC-CO_2 u proizvodnji kruha (Boyaci i sur., 2012.; Jeong i Toledo, 2004.; Manoi i Rizvi, 2008.; 2010.; Ondo i sur., 2013.; Panak Balentić i sur., 2017.; Ruttarattanamongkol i sur., 2011.; Wang i Ryu, 2013.a, 2013.b).

Jeong i Toledo (2004.) koristili su SC-CO_2 u proizvodnji ekstrudata od preželatiniziranog rižinog brašna. Proces su proveli na dvopužnom ekstruderu pri niskim temperaturama (40 – 60 °C) s ciljem poboljšanja ekspanzije. Zaključili su da se na ovaj način dobivaju proizvodi velike poroznosti, lako topljivi u vodi (**Slika 6**). Temperatura ekstruzije, brzina puža i dodatak CO_2 imaju značajniji utjecaj na fizikalna svojstva u odnosu na prehrambenu vrijednost, zaključak je koji su donijeli Singkhornart i sur. (2014.) na osnovi rezultata svog istraživanja. Ispitali su utjecaj klijanja i procesa ekstruzije s dodatkom SC-CO_2 na fizikalno-kemijska svojstva pšeničnih ekstrudata. Brašna cjelovitog zrna pšenice i proklijalog zrna ekstrudirana su u laboratorijskom korotirajućem dvopužnom ekstruderu uz dodatak CO_2. Proces ekstruzije proveden je pri dvije različite temperature (90 i 130 °C) te pri okretaju puževa 150 i 200 rpm.



Slika 6 Veličina i udio pora pri različitim tlakovima ubrizgavanja CO_2 (Jeong i Toledo, 2004.)

CO_2 u procesu ekstruzije je poboljšao ekspanziju na nižim temperaturama te je pokazao i utjecaj na boju i sadržaj reducirajućih šećera, koji su povezani s karamelizacijom i Maillardovim reakcijama. **Slika 7** prikazuje ekstrudate od cijelog zrna pšenice bez dodatka CO_2 (A) i s dodatkom CO_2 (B) pri različitim uvjetima ekstruzije: 1) temperatura na izlazu 90 °C, brzina puža 150 rpm; 2) temperatura na izlazu 90 °C, brzina puža 200 rpm; 3) temperatura na izlazu 130 °C, brzina puža 150 rpm; 4) temperatura na izlazu 130 °C, brzina puža 200 rpm (Singkhornart i sur. 2014.).



Slika 7 Mikrostruktura ekstrudata od cijelog zrna pšenice bez (A) i s dodatkom CO_2 (B) pri različitim uvjetima ekstrudiranja 1- temperatura na izlazu 90 °C, brzina puža 150 rpm; 2- temperatura na izlazu 90 °C, brzina puža 200 rpm; 3- temperatura na izlazu 130 °C, brzina puža 150 rpm; 4- temperatura na izlazu 130 °C, brzina puža 200 rpm (Singkhornart i sur. 2014.)

Cho i Rizvi (2008.) utvrdili su da početni presjek SCFX ekstrudata ovisi o vremenu, koncentraciji SC-CO_2 i padu tlaka. U usporedbi s klasičnom ekstruzijom, vrijeme rasta SCFX ekstrudata je otprilike 30-200 puta duže. Utvrđeno je da je visoki pad tlaka pogodan za dobivanje SCFX ekstrudata većeg ekspanzijskog omjera. Primjenom sapnice promjera 5,9 mm došlo je do značajnog kolapsa u strukturi zbog gubitka plina. Međutim, struktura ekstrudata, odnosno volumen, može se regulirati koristeći sapnice manjih promjera. Utjecaj procesnih parametara na fizikalna svojstva škrobnih kukuruznih ekstrudata primjenom SCFX ispitali su Lee i sur. (1999.). Indeks ekspanzije ekstrudata dobivenih primjenom SCFX je bio relativno nizak, a kao rezultat toga nasipna masa (>0,3 g/cm^3) bila je viša nego za obične ekstrudate (0,1 – 0,2 g/cm^3). SCFX je imala pozitivan utjecaj na indeks topljivosti u vodi i indeks apsorpcije vode. SEM (*Scanning* elektronska mikroskopija) analiza pokazala je da je površina ekstrudata sa SC-CO_2 neobično glatka. Presjek takvih ekstrudata bio je s pravilno raspoređenim porama.

Utjecaj SCFX na kemijski sastav ekstrudata ispitalo je nekoliko istraživačkih skupina. Wang i Ryu (2013.a, 2013.b.) proveli su istraživanja o svojstvima ekstrudata kukuruzne krupice obogaćenih kukuruznim vlaknima uz primjenu ekstruzije s i bez dodatka CO_2. Zaključili su da je temperatura ekstruzije značajan čimbenik za fizikalna svojstva ekstrudata kod oba tipa ekstruzije, bez i s dodatkom CO_2 (200 mL/min). CO_2 daje bolje rezultate pri nižim temperaturama ekstruzije (90 i 105 °C), u odnosu na višu temperaturu (120 °C). Dodatkom CO_2 površina ekstrudata je glađa te im je lomljivost manja. Osim toga, ekstrudati dobiveni pri nižim temperaturama uz dodatak CO_2 imali su bolje raspoređene zračne prostore, s tankim stijenkama. Boja i antioksidativna svojstva ekstrudata relativno su stabilni kod ekstruzije pri višoj temperaturi (120 °C) uz dodatak CO_2, u odnosu na ekstruziju bez dodatka CO_2. Indeks apsorpcije vode povećao se nakon provedenog procesa ekstruzije i to značajnije kod ekstruzije s dodatkom CO_2 pri nižoj temperaturi. SCFX je pokazala prednosti u proizvodnji rižinog čipsa s dodatkom mikronutrijenata i proteina soje. Povećanjem udjela proteina soje od 25 do 40 g / 100 g, smanjili su se omjer ekspanzije čipsa i hrskavost, a povećali nasipna masa i tvrdoća. Oplemenjivanje nutrijentima povećalo je udio proteina i prehrambenih vlakana. Postupkom ekstruzije zadržao se cjelokupni udio dodanih minerala i oko 50 % vitamina A i C u završnom proizvodu (Sharif i sur., 2014.). Masatcioglu i sur. (2014.) su u kukuruznu krupicu dodavali ječmeno brašno i proizveli ekstrudate primjenom klasične ekstruzije i ekstruzije s dodatkom SC-CO_2. Ekstrudati proizvedeni postupkom injektiranja CO_2 imali su ravnomjerniju ekspanziju i glatku površinu. Nije bilo utjecaja na smanjenje udjela β-glukana korištenjem CO_2 ekstruzije, a to se može koristiti kao alternativna metoda za proizvodnju žitarica za doručak i snack proizvoda obogaćenih β-glukanom. Usporedbu klasične ekstruzije i ekstruzije s dodanim CO_2 na sadržaj riboflavina i tiamina u kukuruznim ekstrudatima u svom su radu ispitali Boyaci i sur. (2012.). Zaključili su da postupak hladne ekstruzije s dodatkom CO_2 može utjecati na modifikaciju strukture kukuruznih ekstrudata, kao i povećati zadržavanje vrijednih sastojaka koji su osjetljivi na visoke temperature, kao što je tiamin.

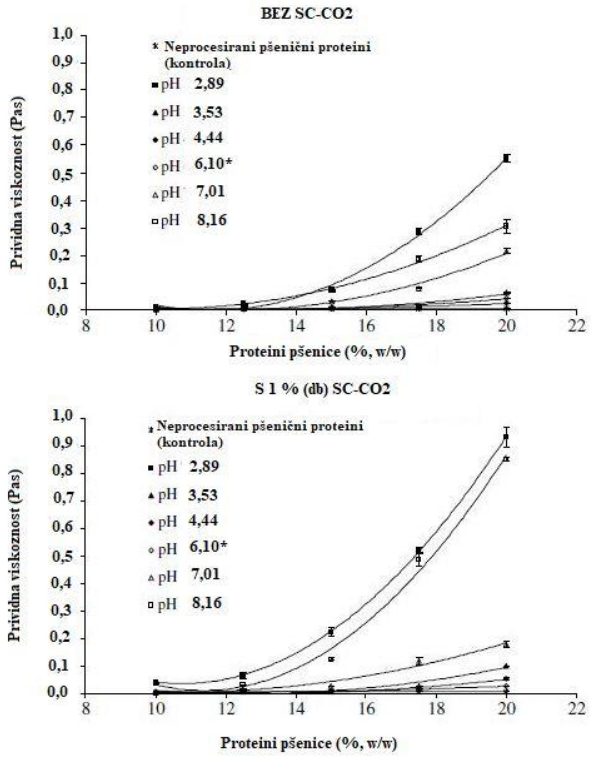
Cho i Rizvi (2009.) su istraživali utjecaj reologije i procesnih stanja na ekspanziju 3D mikrostrukturalnih biopolimernih pjena, proizvedenih pomoću SCFX. Rezultati su pokazali da se indeks tečenja povećao dodatkom SC-CO_2, najniža *n* vrijednost postignuta je kod uzoraka bez dodatka SC-CO_2. Ovo ukazuje da SC-CO_2 djeluje kao plastifikator smanjujući križanje amiloze. Iako CO_2 utječe na snižavanje viskoznosti, SCFX ekspanzija je rasla injektiranjem SC-CO_2. To su potvrdili i Chen i Rizvi (2006.), kada su ispitali reologiju i ekspanziju vodeno-škrobno - CO_2 smjese s kontroliranom želatinizacijom pomoću SCFX. SC-CO_2 se pokazao kao učinkovit škrobni plastifikator za smjesu vode i škroba u količini 0,45 g SC-CO_2 / 100 g uzorka, smanjujući viskoznost otopine u prosjeku za 14 %. SC-CO_2 bio je dobro sredstvo za napuhavanje stvarajući neporozni sloj i izrazito ekspandiranu mikrocelularnu morfologiju za

smjesu škrob – voda sa stupnjem želatinizacije škroba na ili iznad 80 %. Paraman i sur. (2012.) koristili su SCFX za proizvodnju ekspandirane riže obogaćene proteinima, prehrambenim vlaknima i mikronutrijentima. SC-CO_2 služio je kao plastifikator za sniženje viskoznosti i sredstvo ekspanzije tijekom procesa. SCFX omogućila je zadržavanje svih dodanih minerala, 55 − 58 % zadržavanja vitamina A, 64 − 76 % zadržavanja vitamina C. Sve esencijalne aminokiseline, uključujući lizin, zadržane su u visokom postotku (98,6 %), te nije bilo gubitaka tijekom Maillardovih reakcija i oksidacije. Autori su pokazali da je moguće proizvoditi obogaćene proizvode na bazi žitarica, s višestrukim dodatkom mikro i makronutrijenata, te na taj način liječiti nedostatke tih nutrijenata kod određenih populacija.

Patel i sur. (2009.) razvili su umrežene škrobne mikrocelularne pjene koristeći reaktivnu SCFX i izmjenu otapala. Neki rezultati su pokazali da prisutnost CO_2 tijekom procesa ekstruzije škroba umreženog epiklorhidrinom uzrokuje povećanje broja pora i uzrokuje bimodalnu raspodjelu pora. Veće pore se nalaze u sredini ekstrudata, a manje prema površini. Umreženi i SCFX ekstrudati su jedini uzorci koji su pokazali znatno povećanje indeksa topljivosti u vodi. Koristeći SCFX Alavi i Rizvi (2005.) pokušali su povećati ekspanziju mikrocelularne pjene na bazi škroba. Također su pokušali riješiti problem visoke difuzivnosti CO_2 u porama matriksa koja pogoduje odlasku plina u okoliš, što smanjuje količinu plina dostupnog za difuziju u mjehuriće. Imali su dva pristupa za rješavanje problema: povećanje stope nukleacije i konačne gustoće mjehurića u pjeni i smanjenje temperature topljenja. Zaključili su da su obje strategije korisne u kontroli i povećanju ekspanzije, potvrđujući to s određivanjem svojstava teksture ekspandiranih prehrambenih proizvoda. Fosforilirani umreženi škrob proizveden ekstruzijom s SC-CO_2, može biti poželjan kao biorazgradivi materijal zbog dobre otpornosti na vodu (Manoi i Rizvi, 2010.). Ayoub i Rizvi (2007.) istraživali su svojstva SCFX na umreženim škrobnim ekstrudatima. Škrobne pjene proizvedene su pomoću SCFX koristeći prirodne i preželatinizirane škrobne smjese. SCFX proces pokazao je visok stupanj kontrole nad ekspanzijom, te kontrolu mikrostrukture doziranjem SC-CO_2. Rezultati su pokazali da je modifikacija epiklorhidrinom sa SC-CO_2 kao sredstvom ekspanzije, obećavajuća tehnika za proizvodnju mikroporoznih pjena koje mogu služiti u razne svrhe.

Alavi i sur. (1999.) ispitali su strukturna svojstva ekstrudata na bazi škroba uz dodatak proteina, dobivenih pomoću SCFX. Koristili su SCFX za proizvodnju preželatiniziranog kukuruznog i krumpirovog škrobnog ekstrudata, uz dodatak 4 - 10 % termostatiranog bjelanjka jajeta ili koncentrata proteina sirutke. Ekspanzijski omjer povećan je do 341 %, a gustoća smanjena i do 74 %, kako se temperatura ekstrudiranja povećavala od 22 do 100 °C. Najbolja ekspanzija, zadržavajući netaknutu staničnu strukturu, uočena je za uzorke ekstrudirane pri 85 °C koji sadrže 7 % bjelanjka jajeta ili 7 % koncentrata proteina sirutke. Primjenu SCFX u proizvodnji koncentrata teksturiranih proteina sirutke ispitali su Manoi i Rizvi (2008.) i utvrdili da se SCFX

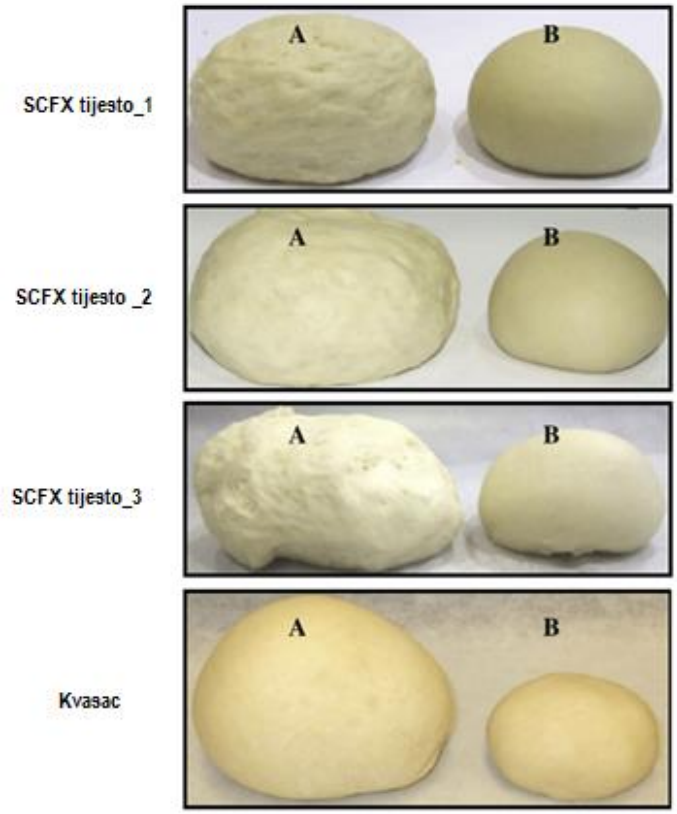
procesom može dobiti koncentrat sirutke koji služi za poboljšanje teksture u hrani u širokom temperaturnom intervalu. Na **Slici 8** prikazana je razlika u prividnoj viskoznosti koncentrata proteina, dobivenih sa i bez dodavanja SC-CO_2, pri različitim pH vrijednostima.



Slika 8 Prividna viskoznost različitih uzoraka sa i bez primjene SC-CO_2 (Manoi i Rizvi, 2008.)

Nadalje, Nor Afizah i sur. (2012.) te Nor Afizah i Rizvi (2014.) radili su na modifikaciji koncentrata proteina sirutke pomoću SCFX, i proizveli novi koncentrat proteina sirutke koji formira proteinske gelove i emulzije gelova na sobnoj temperaturi. Zaključili su da se modificirani koncentrat proteina sirutke stvoren pri niskim i visokim temperaturama ekstruzije, može koristiti za različite proizvode koji zahtijevaju ciljane fizikalno-kemijske funkcionalnosti. Modificirani koncentrat proteina sirutke ekstrudiran pri 50 i 70 °C oblikuje koncentrate meke teksture s većom topljivošću od proizvoda iz otopine pri 90 °C koja daje proteinski koncentrat s manjom topljivošću. Reaktivna SCFX koncentrata proteina sirutke pri 50 i 70 °C izaziva samo minimalan gubitak topljivosti proteina, dok su pri 90 °C proteini znatno denaturirani, uzrokuje se značajno povećanje veličine čestica i smanjenje topljivosti.

Primjena SCFX tehnologije moguća je i u proizvodnji dizanog tijesta bez kvasca putem utiskivanja SC-CO_2 u tijesto. Na ovaj način se značajno smanjuje vrijeme proizvodnje tijesta, a time i ukupni troškovi proizvodnje. Razlika u izgledu dizanog tijesta s kvascem i bez kvasca uz primjenu SC-CO_2 pri tri različite recepture, prikazana je na **Slici 9** (Ruttarattanamongkol i sur., 2011.).



Slika 9 Dizano tijesto s dodatkom SC-CO_2 u tri različite smjese i klasično dizano tijesto primjenom kvasca, A-odležano tijesto, B-ne odležano tijesto (Ruttarattanamongkol i sur., 2011.)

2.3. INDIREKTNA EKSPANZIJA

Zbog ubrzanog života posljednjih desetljeća, sve se više ljudi odlučuje za konzumaciju tzv. „*ready to eat*“ (RTE) hrane. To je hrana koja je spremna i jednostavna za konzumaciju, uz minimalne potrebe za daljnjom obradom. Ekstrudirani snack proizvodi su dobar primjer takve hrane jer se konzumiraju širom svijeta. Mogu biti ekspandirani direktno procesom ekstruzije, kao što je ranije navedeno, što je tzv. druga generacija snack proizvoda (2G) ili indirektno ekspandirani u struji vrućeg zraka, prženjem u ulju, pečenjem ili mikrovalnim zagrijavanjem. Indirektno ekspandirani proizvodi se nazivaju i trećom generacijom snack proizvoda (3G). Ekstruzija za proizvodnju 3G proizvoda je ekonomična i efikasna, a sami proizvodi su dugog roka trajanja, ukusni i prihvatljivi potrošačima (Huber, 2001.; Moraru i Kokini, 2003.; Tovar-Jiménez i sur., 2016.). Osim što ekstruzija pruža mogućnost proizvodnje široke palete proizvoda, zanimljiva je jer pruža mogućnost obogaćivanja ekstrudiranih proizvoda različitim prirodnim dodacima kao što su: leguminoze, proteini pšenice, voće i povrće te nusproizvodi prehrambene industrije (Jozinović, 2011.; Jozinović i sur., 2012.a; 2014.; 2016.; Kosović i sur.,

2016; Larrea i sur., 2005.; Obradović, 2014.; Obradović i sur., 2014.; 2015.a, 2015.b; Panak Balentić i sur., 2018.; Stojceska i sur., 2008.a, 2008.b; 2010.).

2.3.1. Opis proizvoda i procesa proizvodnje

3G snack proizvodi ili peleti, još se nazivaju i poluproizvodi, jer se nakon procesa ekstruzije moraju sušiti do stabilnog udjela vlage i potom ekspandirati prženjem u ulju, u struji vrućeg zraka ili pomoću mikrovalnog ili infracrvenog zagrijavanja, što su novije metode. Nakon ekspanzije, proizvodi se začinjavaju i pakiraju te prodaju kao RTE snack proizvodi. Također, mogu biti začinjeni prije ekspanzije, zapakirani i prodani kao peleti, za pripremu u domaćinstvu (Panak Balentić i sur., 2018.; Sevatson i Huber, 2000.). Zbog svoje stabilnosti tijekom skladištenja i visoke nasipne mase, pružaju mogućnost za proizvodnju široke palete proizvoda, od korištenja različitih osnovnih sirovina za proizvodnju, do obogaćivanja proizvoda različitim sastojcima (Huber i Rokey, 1990., Panak Balentić i sur., 2018.).

Dva su načina ekstruzije kojim se mogu dobiti peleti: hladna ekstruzija i topla ekstruzija (kuhanje). Ukoliko se koristi hladna ekstruzija, sastojci se moraju prethodno preželatinizirati, kako bi se dobila zadovoljavajuća ekspanzija konačnog proizvoda. Nakon miješanja suhih sastojaka, moguće je dodavati tekuće sastojke, arome i sl. u dozirku ekstrudera ili injektiranjem u ekstruder. Važno je kombinirati temperaturu, vrijeme zadržavanja i udio vlage tijekom procesa ekstruzije, kako bi škrob potpuno želatinizirao, odnosno kako bi se zamjes potpuno skuhao (Huber, 2001.; Panak Balentić i sur., 2018.; Schaaf, 1992.). Parametri ekstruzije koji se najčešće koriste za proizvodnju 3G proizvoda su: temperatura 100 – 150 °C, vlažnost 20 – 25 % i vrijeme zadržavanja u ekstruderu 30 – 45 s. Specifična mehanička energija je obično niska, jer se razvija toplinska energija koja je dovoljna za želatinizaciju škroba. Kuhani, zgusnuti i oblikovani proizvodi, imaju nešto višu vlagu po izlasku iz ekstrudera, nego što je potrebna za daljnju ekspanziju. Potrebno je pravilnim sušenjem spustiti vlagu na 10 – 12 %, što je također važan korak u proizvodnji 3G proizvoda, potom slijedi ekspanzija na neki od prethodno navedenih načina (Huber, 2001.; Panak Balentić i sur., 2018.)

Sirovine koje se koriste za proizvodnju 3G proizvoda su bogate škrobom, kako bi ekspanzija konačnog proizvoda bila što bolja. Ukoliko je udio škroba u sirovini niži od 60 %, proizvod će imati nižu ekspanziju, veću hrskavost i tvrđu teksturu. Osim na ekspanziju, škrob utječe i na okus, kalorijsku vrijednost, otpornost, vezivanje sastojaka, viskoznost, tvrdoću, hrskavost i dr. Zbog toga je važno koje će se žitarice, škrob, proteini i ostali sastojci koristiti u pripremi. Primjerice, amilopektin ima bolji kapacitet zadržavanja vode nego amiloza, te su zbog toga škrobovi u kojima dominira amilopektin bolji izbor od visokoamiloznih, jer škrobovi s visokim udjelom amiloze ne mogu potpuno želatinizirati tijekom ekstruzije (Sjoqvistl i Gatenholm, 2005.). Kako bi se smanjila ljepljivost, kontrolirala ekspanzija i proizveo proizvod s pravilnim

rasporedom zračnih mjehurića unutar proizvoda dodaju se različiti tipovi eng. *shortenings*, biljnih ulja, soli i emulgatora. Sol olakšava migraciju vode, natrijev hidrogenkarbonat daje poseban okus i teksturu nakon ekspanzije. Monogliceridi mogu utjecati na smanjenje ekspanzije, ukoliko su dodani u udjelima višim od 0,5 %. U 3G proizvode moguće je dodati različite vrste proteina i proteinskih poboljšivača kao npr. meso (škampi, piletina, govedina i dr.), mliječne proizvode (mlijeko u prahu, sir, jogurt) i proteine leguminoza (soja, grah, grašak). Moguće ih je dodati 30 – 35 % u zamjes i zadržati kvalitetu završnog proizvoda (Riaz, 2006.). Neke osnovne recepture za proizvodnju 3G proizvoda prikazane su u **Tablici 1.**

Tablica 1 Osnovne recepture za proizvodnju 3G proizvoda

Tvrda, hrskava tekstura	
92 % Kukuruzno brašno 5 % Kukuruzni škrob 0,5 % Monogliceridi 2,5 % Tekući *shortenings*	Huber (2001.)
94,5 % Kukuruzno ili pšenično brašno 5 % Kukuruzni ili pšenični škrob 0,5 % Monogliceridi	Moscicki (2011.)
Mekana, porozna tekstura	
55 % Kukuruzni škrob 30 % Pšenični škrob 14 % Škrob tapioke 1 % Odmašćeni lecitin	Huber (2001.)
56 % Kukuruzni škrob 27,5 % Pšenični škrob 14 % Škrob tapioke 2,5 % Biljno ulje	Moscicki (2011.)
7 % Pšenični škrob 9 % Rižin škrob 80 % Škrob tapioke 13 % Biljno ulje 1 % Sol	Moscicki (2011.)

Brašno cijelog krumpira, plavi kukuruz (eng. *blue corn*), ostatci naranče samo su neke sirovine koje su u posljednje vrijeme istraživači koristili za proizvodnju 3G proizvoda te su pokazali kako imaju potencijala za proizvodnju ove vrste proizvoda bez narušavanja kvalitete uz dodatne

prednosti zbog svojih nutritivnih svojstava i utjecaja na zdravlje (Bastos-Cardoso i sur., 2007.; Camacho-Hernandez i sur., 2014.; Navarro-Cortez i sur., 2014; Panak Balentić i sur., 2018.; Tovar- Jiménez i sur., 2015.).

2.3.2. Ekspanzija prženjem u ulju

Prženje u ulju je jedinična operacija koja uključuje uranjanje, kuhanje i prženje hrane u vrućem ulju (150 – 180 °C), što omogućava brzi prijenos topline i kratko vrijeme kuhanja (30 – 40 s). Cilj je postići zadovoljavajuće karakteristike proizvoda (boja, okus, tekstura) u što kraćem vremenu. U središtu pržene hrane temperatura ne prelazi 100 °C, zbog čega je gubitak tvari topljivih u vodi minimalan. Prženjem u ulju u samom proizvodu zaostaju velike količine ulja, što je glavni nedostatak ovog načina pripreme hrane te ga se na razne načine pokušava nadomjestiti. Za opis procesa apsorpcije ulja predložena su tri mehanizma: zamjena vode, efekt hlađenja i površinski aktivne tvari, međutim niti jedan mehanizam ne objašnjava navedeni problem u potpunosti (Dana i Saguy, 2006.; Huber i Rokey, 1990.; Panak Balentić i sur., 2018.). Viskoznost ulja, mikrostruktura i površinska struktura proizvoda imaju glavnu ulogu kod upijanja ulja u proizvod, jer se većina ulja upije kada se hrana ukloni iz pržionika i to mehanizmom zamjene vode. Nastanak površinski aktivnih tvari može objasniti djelomično upijanje ulja kod produženog prženja, ali veći udio apsorbiranog ulja je povezan s povećanjem viskoznosti ulja uzrokovanih reakcijama polimerizacije, koje su odgovorne za degradaciju ulja (Dana i Saguy, 2006.).

Nekoliko je kritičnih faktora koji utječu na pravilnu ekspanziju. Ekspanzija je optimalna kod udjela vlage gdje se linija staklastog prijelaza i ključanja preklapaju (van der Sman i Broeze, 2014.a). Ekspanzija za slane snack proizvode odvija se pri istim uvjetima kao i za neslane, osim što je udio vlage potreban za ekspanziju slanih proizvoda niži nego za neslane (van der Sman i Broeze, 2014.b). Okus i tekstura su najvažniji atributi pržene hrane. Kako bi bili zadovoljavajući, potrebno je prije procesa ekstruzije pravilno pripremiti zamjes, podesiti odgovarajuću vlagu, veličinu čestica, udio škroba, proteina i aditiva, kako bi se dobio konačan proizvod željene teksture. Osim toga, važno je kontrolirati i procesne parametre kako u procesu ekstruzije (vlaga, temperatura, vrijeme zadržavanja) tako i prilikom prženja (vrijeme prženja, temperatura ulja, uvjeti hlađenja) (Shieh i sur., 2004.). Mekana tekstura i glatka površina proizvoda mogu se postići niskim temperaturama i visokim udjelima vlage u procesu ekstruzije. Visoke temperature i niski udjeli vlage rezultiraju tvrdim i hrskavim proizvodima (van Laarhoven i Staal, 1991.). Hrskavost proizvoda, tvrdoća, boja, ljepljivost u ustima direktno ovise o temperaturi ulja za prženje i vremenu prženja. Ovisno o zahtjevima proizvoda mijenjaju se i navedeni parametri (Bahramparvar i sur., 2012.).

Budući da se 3G proizvodi mogu obogatiti različitim proteinskim dodacima, potrebno je pripaziti na udjele dodanih sastojaka, jer prženjem u ulju dolazi do degradacije određenih sastojaka koji mogu dovesti do narušavanja kvalitete. Primjerice, Choi (2002.) i Choi i sur. (2007.) su dodavali djelomično odmašćeno brašno kikirikija u snack proizvode. Zaključili su kako udio kikirikija direktno utječe na kvalitetu proizvoda kako na fizikalno-kemijska svojstva, tako i na senzorsku ocjenu potrošača. Slično je i s dodavanjem sirovina animalnog podrijetla (npr. meso ribe), ali ovdje je važno i koji dio životinja se dodaje, jer su proteini mišića skloniji degradaciji, dok mast utječe na sam proces proizvodnje i ekspanziju konačnog proizvoda (Wianecki, 2007.).

2.3.3. Ekspanzija u struji vrućeg zraka

Ekspanzija snack proizvoda prženjem u ulju nastoji se izbjegavati zbog velike količine ulja koje bude apsorbirano u konačnom proizvodu. Zbog toga se ekspanzija u struji vrućeg zraka smatra alternativnom metodom, kojom se udio ulja u konačnom proizvodu reducira s 30 % na 10 %. Peleti se izlažu vrućem zraku, pomoću kojeg isparava voda iz proizvoda. Kako bi se ovo moglo odvijati na željeni način, važna je potpuna želatinizacija škroba u procesu ekstruzije i udio vlage u peletu (Guraya i Toledo, 1994.). Također, glavnu ulogu ima temperatura vrućeg zraka jer se iznad temperature staklastog prijelaza (*Tg*) polimer ponaša djelomično plastično te je zbog toga ekspanzija lakša. Kako bi se poboljšala ekspanzija, moguće je dodati natrijev klorid, kalijev klorid ili dekstrin (Boischot i sur., 2003.; Chen i Yeh, 2000.; Norton i sur., 2011.; Panak Balentić i sur., 2018.).

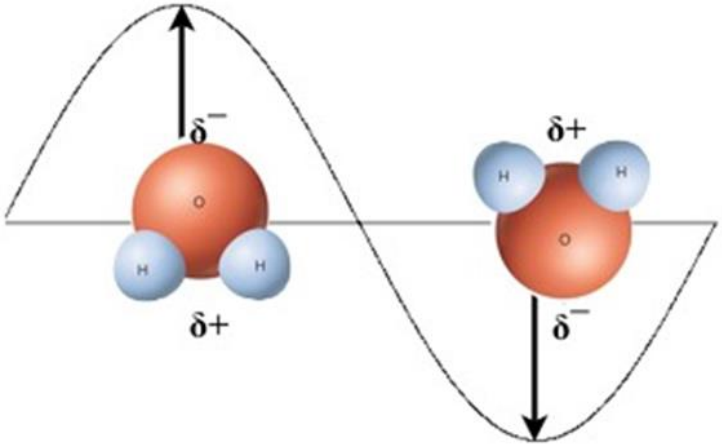
2.3.4. Ekspanzija mikrovalnim zagrijavanjem

Kuhanje, zagrijavanje i ekspandiranje hrane mikrovalovima je brz, jednostavan i jeftin način pripreme hrane. Tradicionalnim metodama kuhanja, hrana se podvrgava visokoj temperaturi i u određenom vremenu apsorbira toplinu iz peći i posude, dok se kod kuhanja mikrovalovima hrana postavlja u elektromagnetsko polje pri sobnoj temperaturi, a toplina se stvara u hrani i širi prema van. Prolaskom mikrovalova kroz namirnicu dolazi do usmjeravanja i trenja vodenih molekula prisutnih u namirnici, te na taj način dolazi do zagrijavanja namirnice. U nekim slučajevima i ambalaža može razviti toplinu kada se podvrgne mikrovalovima (Panak Balentić i sur., 2018.; Vujković i sur., 2007.).

Mikrovalovi su oblik elektromagnetskog zračenja visoke frekvencije i određene valne duljine. Iako se ne vide, svjedočimo njihovom djelovanju. Kako svjetlost prolazi kroz zrak, staklo i plastiku, mikrovalovi prolaze kroz papir, porculan, plastiku i staklo. Postoje dva glavna mehanizma po kojima mikrovalovi proizvode toplinu u hrani:

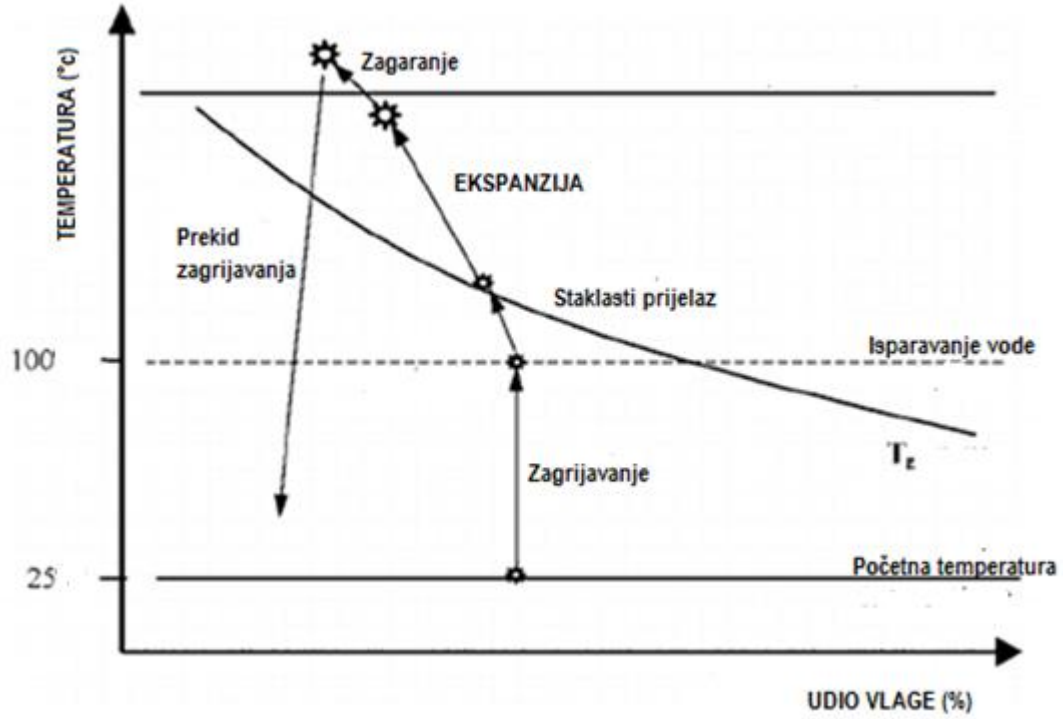
1. Dipolna rotacija – u prisutnosti električnog polja, polarne molekule (najčešće voda) se nastoje poravnati, te se mijenja polarnost polja (**Slika 10**). U tom polju molekula se ponaša kao dipol i dok oscilira oko osi, stječe potencijalnu energiju dok se pokušava domoći pozitivnog ili negativnog pola. Prikupljena energija se oslobađa kao nasumična kinetička energija ili toplina.

2. Ionska polarizacija – zbog električnog polja ioni (nose električne naboje) se pokreću u vodi i ubrzavaju. Međusobno se sudaraju i pri tome se kinetička energija pretvara u toplinu. Što je otopina koncentriranija, veća je učestalost sudara. Pri frekvenciji mikrovalova događa se mnogo sudara što rezultira oslobađanjem energije. Ionska polarizacija manjeg je značaja od dipolne rotacije (Robertson, 1993.).



Slika 10 Rotacija molekula vode pod utjecajem električnog polja u elektromagnetnom valu (Crna strelica predstavlja električno polje) (preuzeto s Web 1)

Mehanizam mikrovalne ekspanzije bazira se na prijelazu matriksa iz amorfnog do gumenog odnosnog tekućeg stanja, koje se događa tijekom mikrovalnog zagrijavanja. Vlaga se pretvara u pregrijanu paru, koja se akumulira u središtu staklastog matriksa stvarajući visok tlak u tim predjelima. Matriks prelazi iz staklastog u gumeno stanje i pod utjecajem tlaka pregrijane pare popušta i dolazi do ekspanzije. Kada vlaga ispari iz matriksa, prekida se mikrovalno zagrijavanje, matriks se ohladi i ponovno vraća u staklasto stanje i poprima konačnu strukturu (**Slika 11**). Takozvani kolaps se događa kada je matriks previše mekan, odnosno pri visokim udjelima vlage (Boischot i sur., 2003.; Gutiérrez i sur., 2017.; Moraru i Kokini, 2003.; Panak Balentić i sur., 2018.; Tovar-Jiménez i sur., 2016.).



Slika 11 Fazni dijagram za mikrovalnu ekspanziju proizvoda od žitarica (Boischot i sur., 2003.)

Kod ekspanzije mikrovalovima također je važan stupanj želatinizacije. Optimalna ekspanzija se postiže kada je pelet poluželatiniziran i kada je vlaga peleta oko 10 %. Potpuno osušeni peleti ne bi uopće ekspandirali mikrovalovima, vlaga je ovdje ključan faktor (Delgado-Nieblas i sur., 2012.; Lee i sur., 2000.; Maisont i Narkrugsa, 2010.; Panak Balentić i sur., 2018.; Sjoqvist i Gatenholm, 2007.). Osim vlage, važna je i snaga mikrovalova. Što je veća, viša je i temperatura unutar proizvoda koja uzrokuje viši tlak pare i na kraju viši ekspanzijski volumen (Kraus i sur., 2013.). Temperature ekstrudera također utječu na ekspanziju mikrovalovima. Pri višim temperaturama u procesu ekstruzije, nastaju amiloza-lipid kompleksi koji prilikom ekspandiranja u mikrovalnoj pećnici imaju važnu ulogu u postizanju bolje ekspanzije konačnog proizvoda (Aguilar-Palazuelos i sur., 2006.; Delgado-Nieblas i sur., 2012.).

Dodatak masnoća također utječe na ekspanziju peleta mikrovalovima. Čvrste masti pozitivno pridonose poboljšanju ekspanzije peleta, dok peleti koji sadrže tekuće masnoće imaju niži stupanj ekspanzije i grublju strukturu. Dodatak 6 % krutih masti u proizvodnju peleta daje konačne proizvode zadovoljavajućih svojstava (Ernoult i sur., 2002.). Saharoza također može utjecati na povećanje ekspanzije i povećanja broja pora u konačnom proizvodu (Kraus i sur., 2013.), a dodatak soli utječe na smanjenje gustoće matriksa i pretvara stijenke stanica u plastično stanje, što u konačnici rezultira proizvodom većih perforacija (Maisont i Narkrugsa, 2010.; Zhou i sur., 2006.). Prije procesa ekstruzije u zamjes se mogu dodati različite gume,

poput karboksimetilceluloze (CMC) ili ksantan gume (XG) kako bi se poboljšali volumen, struktura i tekstura proizvoda. Utječu na zadržavanje vlage i reološka svojstva smjese tako što proširene hidrokoloidne makromolekule isprepliću polimerni matriks škroba i stvaraju šupljine koje služe kao mjesta nukleacije u procesu ekspanzije (Gimeno i sur., 2004.).

Može se zaključiti da je sastav peleta ključan jer utječe na dielektrična svojstva, zbog međusobnih interakcija biopolimera, vode, šećera, soli i masnoća. Osim toga, nije svejedno je li matriks u području staklastog prijelaza ili su nastale kristalne komponente koje se mogu otopiti tijekom zagrijavanja (van der Sman i Bows, 2017.).

2.4. SIROVINE ZA PROIZVODNJU EKSTRUDATA

Osnovne sirovine za proizvodnju ekstrudiranih snack proizvoda su prvenstveno sirovine bogate škrobom i/ili proteinima. Najčešće su to kukuruz, pšenica, riža i krumpir, ali u posljednje vrijeme u svrhu povećanja nutritivne vrijednosti proizvoda koriste se i druge žitarice kao što su raž, ječam, zob i heljda. Također, moguće je dodati i različite biljne proteine izolirane iz sojinog brašna, slada, sjemenki suncokreta, proteini sirutke, ili različite proteinske frakcije žitarica, tipa pšenični gluten (Móscicki, 2011.) te različite dodatke kao npr. dehidratirano voće, povrće i sl. (Kosović i sur., 2016.; Obradović i sur., 2014.; 2015.a, 2015.b).

2.4.1. Kukuruz

Uz pšenicu i rižu, kukuruz (*Zea mays* L.) je jedna od najvažnijih žitarica u svijetu, koja ima veliku ulogu kako u prehrambenoj industriji, tako i u proizvodnji stočne hrane. Također, najvažnija je i najčešće korištena sirovina za proizvodnju ekstrudiranih proizvoda. Kukuruz obiluje škrobom (72 %), ali sadrži i proteine (10 %), masti (5 %), pepeo (1 %) i šećere (2 %) (Chaudhary i sur., 2014.; Eckhoff i Watson, 2009.; Móscicki, 2011.; Singh i sur., 2014.).

U ekstrudiranim proizvodima koristi se u obliku kukuruzne krupice određene granulacije, ovisno o vrsti proizvoda, ali i u obliku kukuruznog škroba. Glavna je sirovina za proizvodnju flipsa, ali se koristi i kod proizvodnje žitarica za doručak, hrane za životinje i ostalih proizvoda dobivenih ekstruzijom. **Slika 12** prikazuje kukuruznu krupicu prikladnu za proizvodnju flipsa.



Slika 12 Kukuruzna krupica

2.4.2. Pogače - nusproizvodi prehrambene industrije

Industrija hrane i pića, kao jedan od najvećih industrijskih sektora, ima veliko značenje za gospodarstvo, stanovništvo, ali sve više se govori o utjecaju prehrambene industrije na okoliš. Prema podacima EUROSTAT-a za 2012. godinu, u EU se proizvede preko 2,5 milijuna tona otpada (od čega oko 10 % predstavlja otpad iz proizvodnih industrija), samo 10 % se reciklira, a ostatak odlazi na spaljivanje ili na odlagališta. Tijekom proizvodnje hrane nastaje značajna količina otpada, odnosno nusproizvoda (u nekim slučajevima i preko 80 %) koji uglavnom predstavljaju opterećenje industriji. Najčešće se problem rješava korištenjem otpada u gnojidbi tla ili u hranidbi stoke. Kako je riječ o velikoj količini pokvarljivog materijala, bogatog tvarima koje se mogu upotrijebiti kao vrijedne sirovine u proizvodnji različitih prehrambenih, kozmetičkih ili farmaceutskih proizvoda, kao izvor energije i na druge načine kvalitetnije iskoristiti, provode se brojna znanstvena i stručna istraživanja koja su na ovome području urodila nizom rješenja. Primjerice, primjena nusproizvoda prehrambene industrije u izolaciji različitih bioaktivnih komponenti, proizvodnji biogoriva, hranidbi stoke, proizvodnji proizvoda za ljudsku prehranu, obogaćenih biološki vrijednim sastojcima i sa smanjenom kalorijskom vrijednošću (Altan i sur., 2008.a, 2008.b; 2009.; Bisharat i sur., 2013.; Karkle i sur., 2012.; Stojceska i sur., 2008.a, 2008.b; 2009.; Upadhyay i sur., 2010.; Yağcı i Göğüş, 2008.).

Nusproizvodi mogu biti otpad od industrije prerade voća i povrća (trop rajčice, jabuke, citrusa, mrkve, grožđa…), industrije šećera (izluženi repini rezanci), proizvodnje piva (pivski trop), industrije ulja (pogače zaostale nakon prešanja ulja), industrije prerade mlijeka (sirutka), proizvodnje čokolade (kakaova ljuska) i brojne druge sirovine čiji se potencijal još može mnogo istraživati (Jozinović i sur., 2014.). Jedan od ciljeva ove disertacije je upravo pokazati mogućnosti primjene pogača zaostalih nakon prešanja ulja u proizvodnji ekstrudiranih 2G i 3G proizvoda.

2.4.2.1 Pogača lješnjaka

Lješnjak (*Corylus avellana* L.) je plod lijeske, sredozemne biljke koja zahtijeva puno sunca, dovoljno vlage i za razliku od drugih voćki cvate zimi, a ne u proljeće. Kada je pun rod jedno stablo daje od 8 do 12 kg ploda, a od ploda oko 50 % je ljuska. Ovisno o uzgojnom obliku, sadnji, starosti i drugim čimbenicima, prinosi se kreću od 2,2 do 3,6 t/ha. Lješnjak je nutritivno vrijedna sirovina čija je upotreba široko rasprostranjena. Plod je bogat uljem (53 – 65 %), proteinima (11 – 14 %), ugljikohidratima (16 %), mineralima i vitaminima. Više od 90 % ulja sastoji se od nezasićenih masnih kiselina, od toga 80 % oleinske i 6 – 12 % linolenske. Zbog svog nutritivnog sastava ulje lješnjaka se preporučuje kao dio zdrave prehrane, jer doprinosi boljem zdravstvenom statusu organizma i pomaže pri liječenju raznih bolesti kao što su rak, bolesti krvožilnog sustava, jačanje imuniteta i sl. To se pripisuje visokom udjelu arginina, vitamina E i B6 te β-sitosterola. Također, plod lješnjaka je jedan od najboljih biljnih izvora željeza, kalcija i cinka (Dimić, 2005.; Jokić i sur., 2016.; Yağcı i Göğüş, 2009.c).

Pogača lješnjaka je nusproizvod proizvodnje hladno prešanog lješnjakovog ulja (**Slika 13**). Bogata je proteinima (35 – 41 %), vlaknima (10 %) i fenolnim spojevima kao što su: galna kiselina, kafeinska kiselina, *p*-kumarna kiselina, ferulična i sinapinska kiselina (Shahidi i sur., 2007.; Yağcı i Göğüş, 2009.a, 2009.b, 2009.c).



Slika 13 Plod i odmašćena pogača lješnjaka

Jokić i sur. (2016.) su u svom istraživanju pomoću superkritičnog CO_2 ekstrahirali svo ulje iz pogače zaostale nakon prešanja ulja. Zaključili su kako je takva pogača izvrsna za daljnju upotrebu u prehrambenoj industriji i razvoj novih funkcionalnih proizvoda. Yağcı i Göğüş (2008.; 2009.a, 2009.b, 2009.c) koristili su djelomično odmašćenu pogaču lješnjaka za proizvodnju ekstrudata na bazi rižinog brašna. Ispitali su fizikalna, kemijska i senzorska svojstva ekstrudata. Udio ukupnih polifenola i antioksidativna aktivnost su rasli dodatkom pogače lješnjaka, a smanjile su se vrijednosti za probavljivost škroba i stupanj želatinizacije škroba. Proizvodi su bili senzorski prihvatljivi, ocjena je bila bolja za one s manjim udjelom

pogače. Bates i sur. (2013.) svojim su istraživanjem zaključili kako je brašno lješnjaka odlična sirovina za proizvodnju kolača sa smanjenim udjelom glutena, bez narušavanja okusa.

Osim pogače lješnjaka kao nusproizvoda zaostalog nakon prešanja ulja, i drugi nusproizvodi prerade lješnjaka imaju korisna svojstva. Shahidi i sur. (2007.) pokazali su kako su lišće lješnjaka, zeleni omotač i tvrda ljuska ploda te omotač jezgre (ovojnica) odlični izvori prirodnih antioksidanasa.

2.4.2.2 Pogača podlanka

Camelina (**Slika 14**) ili podlanak (*Camelina sativa* L. Crantz) je uljarica koja se uglavnom uzgaja na sjeveru Europe. Potiče iz Njemačke od oko 600. godine prije Krista. Često se naziva *gold of pleasure*, lažni lan, divlji lan ili njemački sezam. Lako se uzgaja, raste na slabije plodnim tlima uz minimalna ulaganja, što je neobično za uljarice i prilagođena je hladnijim klimatskim uvjetima i izrazito niskim temperaturama. Može preživjeti s jako malo vode te gotovo bez dodanih gnojiva i pesticida. Prinos po ha ovisi radi li se o ljetnim ili zimskim vrstama, a kreće se od 2,6 do 3,3 t/ha (Roberts, 2014.; Zubr, 1997.).



Slika 14 Podlanak (Amédée Masclef - Atlas des plantes de France, 1891.)

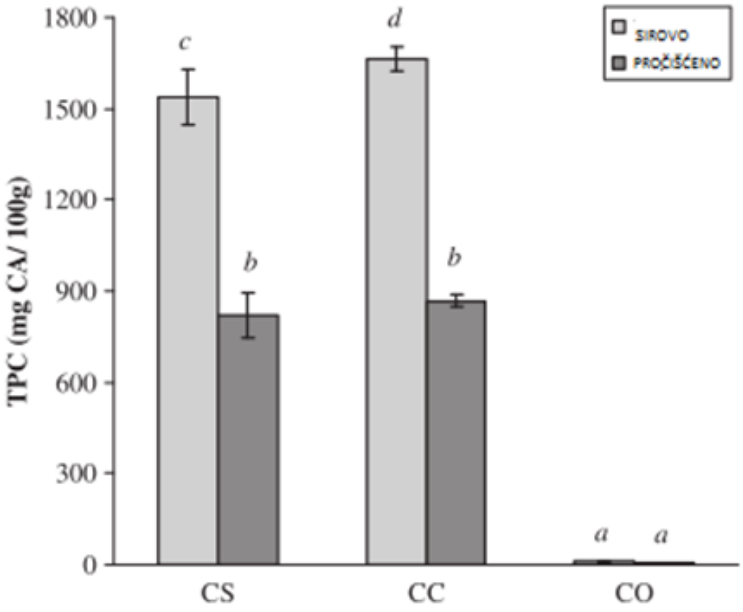
Sjemenke podlanka sadrže 38 – 43 % ulja i 27 – 32 % proteina. Udio masnih kiselina u ulju prikazan je u **Tablici 2**. Udio tokoferola je otprilike 700 mg/kg, vitamina oko 200 mg/g, te oko 5 % minerala (Budin i sur., 1995.; Zubr, 1997.; 2010.).

Tablica 2 Sastav masnih kiselina ulja podlanka (Abramovič i Abram, 2005.)

MASNE KISELINE	SADRŽAJ MASNIH KISELINA (%)			
	Abramovič i Abram (2005.)	**Budin i sur. (1995.)**	**Eidhin i sur. (2003.)**	**Zubr i sur. (2002.)**
Palmitinska (16:0)	6,43	5,7-8,4	5,5	5,3-5,6
Stearinska (18:0)	2,57	1,4-3,5	2,3	2,3-2,7
Oleinska (18:1)	17,40	14,2-19,4	14,9	14,0-16,9
Linolna (18:2 ω6)	16,90	19,0-24,0	15,8	13,5-16,5
α-linolenska (18:3 ω3)	35,20	27,1-34,7	28,9	34,9-39,7
Arahidonska (20:0)	1,24	1,1	0,4	1,2-1,5
Eikosadienska (20:2)	2,12	2,0	2,1	1,7-2,0
Eikosatrienska (20:3)	1,61	1,5	1,3	1,3-1,7
Eruka (22:1)	1,62	0,0-4,0	2,4	2,6-3,0

Budući da je prisutan velik udio nezasićenih masnih kiselina, Budin i sur. (1995.) pretpostavili su kako je nehidrogenirano ulje podlanka neprihvatljivo za ljudsku prehranu jer je podložno autooksidaciji. Međutim, teorijsko predviđanje dovodi do zablude jer je Zubr (2009.) u svom radu zaključio kako se pri optimalnim uvjetima (tamno i hladno) ulje podlanka može čuvati godinama i to bez promjene na kvaliteti ulja. Visoki udio *α*-linolenske kiseline, tokoferola, fitosterola i fenola čine prirodno ulje podlanka prikladnim za obogaćivanje hrane.

Pogača zaostala nakon prešanja ulja podlanka predstavlja vrlo važan i bogat „otpad“ prehrambene industrije. Sadrži oko 10 % zaostalog ulja, 45 % sirovih bjelančevina, 13 % vlakana, 5 % minerala i nešto vitamina. Najvažnije aminokiseline prisutne u pogači podlanka su: arginin, cistein, glicin, lizin, metionin i treonin (Zubr, 1997.). Također, uspoređujući je s drugim pogačama ima velik udio polifenola (oko 7,7 mg/GAE g), te visok koeficijent antioksidativne aktivnosti (66 %), određen β-karoten testom (Terpinc i sur., 2012.a). Sama pogača podlanka ima sličan udio polifenola kao sjemenka, odnosno u ulju nema gotovo ništa polifenola (**Slika 15**) (Terpinc i Abramovič, 2016.; Terpinc i sur., 2012.b).



Slika 15 Ukupni sadržaj polifenola u sjemenci podlanka (CS), pogači (CC) i ulju (CO) (Terpinc i sur., 2012.b)

Najveća upotreba ove pogače je uglavnom za proizvodnju hrane za životinje, posebice peradi (Frame i sur., 2007.; Zubr, 1997.) i biogoriva (Blackshaw i sur., 2011.; Brandess, 2012.; Campbell i sur., 2013.; Kolodziejczyk i sur., 2012.; Lu, 2008.). Budući da ima sve više saznanja kako je pogača bogata nutritivno vrijednim tvarima, sve češće se razmatra njeno korištenje u prehrani ljudi. Dodatnim odmašćivanjem zaostali udio ulja se može svesti na <1 %, što je čini stabilnom sirovinom za daljnju upotrebu (**Slika 16**).



Slika 16 Odmašćena pogača i sjemenke podlanka

2.4.2.3 Pogača buče

Bundeva ili buča (*Cucurbita pepo* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka, sadrži koštice bez ljuske (golice) ili s ljuskom (ovojnicom), koje su bogate uljem (42 – 51 %), proteinima (30 – 33 %), vlaknima (oko 22 %) visoke biološke vrijednosti, zbog raznih sastojaka koji pokazuju pozitivni utjecaj u ljudskom organizmu i povoljnog sastava masnih kiselina (**Tablica 3**) (Dessi i sur., 2002.; Dimić, 2005.; Phillips i sur.,2005.; Rezig i sur., 2012.). Osim toga, sjemenke buče bogat su izvor vitamina i minerala te sadrže razne bioaktivne sastojke kao što su fitosteroli, fenolne tvari, skvaleni, *γ*-aminobutanska kiselina (Qi i sur., 2012.). Prehrana bogata bučinim košticama povezuje se sa smanjenom pojavom karcinoma pluća, dojke, želuca i crijeva (Huang i sur., 2004.). Ulje golice važan je izvor esencijalnih masnih kiselina n-6 (*ω*-6) i n-3 (*ω*-3) reda, od kojih su najvažnije linolna i linolenska, koje čine oko 50 % svih masnih kiselina u bučinom ulju. Bučino ulje sadrži oko 35 % jednostruko nezasićenih masnih kiselina (koje čine palmitoleinska i oleinska kiselina) te samo oko 17 % zasićenih masnih kiselina. Za zasićene masne kiseline se smatra da ukoliko su prisutne u većim količinama potiču sintezu kolesterola (Applequist i sur., 2006.; Plourde i Cunnane, 2007.). Ulje je bogat izvor mineralnih tvari, posebice kalija, željeza, cinka, selena i fosfora (Glew i sur., 2006.), a zelena boja ulja potiče od klorofila, koji pokazuje prisutnost magnezija, a magnezijevi ioni potrebni su kao kofaktori u brojnim enzimskim reakcijama metabolizma (Delaš i sur., 2008.; Wene i sur., 1975.).

Tablica 3 Kemijski sastav sjemenki buče (Rezig i sur., 2012.)

Komponenta	Udio (*)
Vlaga[a]	8,46±0,62
Sirovo ulje[a]	31,57±3,71
Sirovi proteini[a]	33,92±3,16
Sirova vlakna[a]	21,97±4,32
Ukupni pepeo[a]	3,97±0,02
Ukupni šećeri[a]	0,11±0,08
Bakar[b]	36,66±4,93
Cink[b]	25,19±0,63
Željezo[b]	15,37±0,87
Mangan[b]	3,42±0,76
Magnezij[b]	146,13±9,91
Natrij[b]	356,75±18,43
Kalcij[b]	271,89±24,81
Kalij[b]	886,56±16,34
Fosfor[b]	824,53±21,38
*Srednja vrijednost ± SD 3 paralele	
a= % (w/w); b= mg/100 g s.tv.	

Pogača buče je sirovina zaostala nakon hladnog prešanja koštice buče u svrhu dobivanja hladno prešanog bučinog ulja. Najčešće u pogači zaostane oko 10 % ulja, ali primjenom ekstrakcije pomoću superkritičnog CO_2 moguće je udio ulja svesti na manje od 1 % (**Slika 17**). Na taj način dobije se nutritivno vrlo vrijedna sirovina koja može imati širok spektar primjene u prehrambenoj industriji. Nažalost, ta primjena još uvijek nije široko rasprostranjena i njene mogućnosti se tek otkrivaju.



Slika 17 Odmašćena pogača i sjemenke bundeve golice

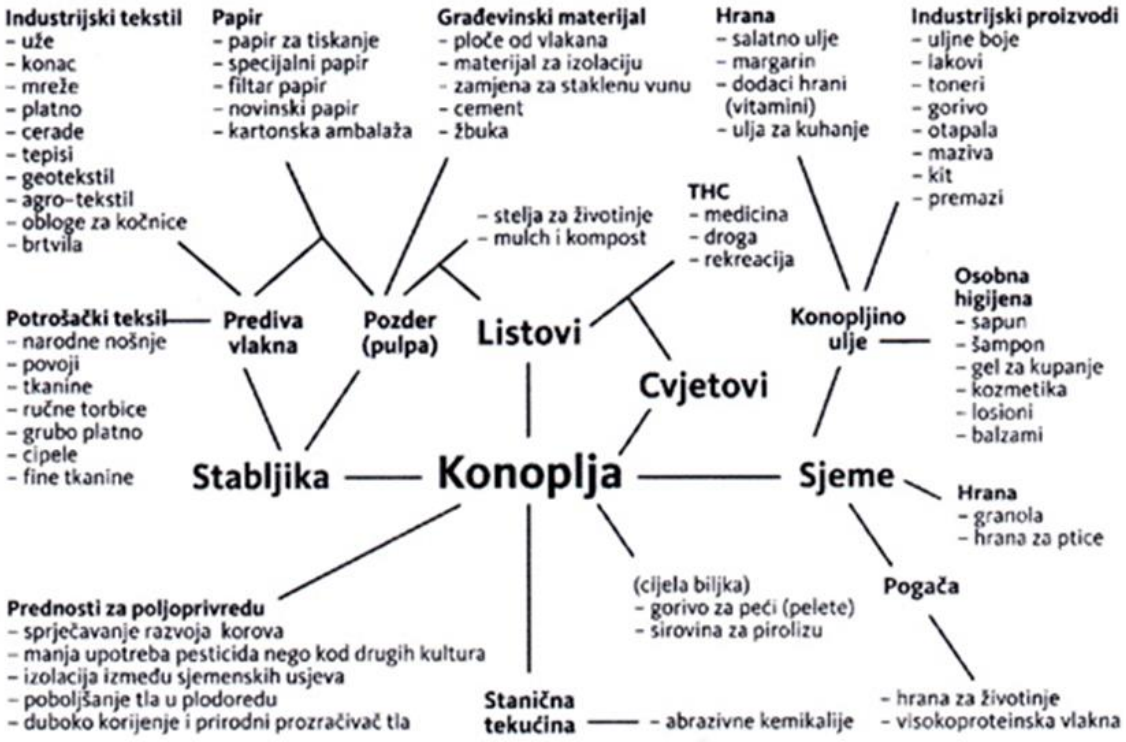
U pogači buče nalazi se oko 598 g/kg sirovih proteina te velik udio masnih kiselina, oleinska (50,4 %) i linolna (29,9 %). Osim toga, pogača buče bogata je aminokiselinom triptofan, a sadrži i određeni udio fenolnih spojeva (Zdunczyk i sur., 1999.). Odmašćena pogača buče sadrži više fenolnih kiselina nego što ih sadrži sjemenka, koje su dostupnije u slobodnom obliku, te ih je lakše ekstrahirati (Peričin i sur., 2009.).

2.4.2.4 Pogača industrijske konoplje

Industrijska konoplja (*Cannabis sativa* L.) je jednogodišnja listopadna biljka. Može se uzgajati na tri načina: za vlakno, sjemenku ili obje svrhe. Bila je jedna od prvih i najvećih poljoprivrednih kultura na planeti te najvažnija sirovina za industrijsku proizvodnju sve do kraja prošlog stoljeća, kada joj je zabranjen slobodan uzgoj. Stabljika industrijske konoplje sadrži manje od 0,3 % psihoaktivne tvari δ-9-tetrahidrokanabinola (THC). Danas je na području Europske unije dozvoljen uzgoj industrijske konoplje s manje od 0,2 % THC-a (Sarmento i sur., 2015.). U Hrvatskoj je dozvoljen uzgoj industrijske konoplje uz odobrenje Ministarstva poljoprivrede i šumarstva za proizvodnju proizvoda iz sjemenki (ulje i pogača) (NN 107/01).

Osim sjemenki industrijske konoplje i svi ostali dijelovi biljke mogu se iskoristiti za proizvodnju široke palete proizvoda, što je detaljno prikazano na **Slici 18**. Procjenjuje se da se globalno tržište konoplje sastoji od više od 25 000 proizvoda iz različitih kategorija: poljoprivreda, tekstil,

recikliranje, automobilska industrija, namještaj, hrana, papir, građevinski materijali i osobna njega (Johnson, 2015.).



Slika 18 Prikaz iskorištenja pojedinih dijelova industrijske konoplje (Web 2)

Sjemenke industrijske konoplje sadrže šest esencijalnih masnih kiselina koje pomažu jačanju imuniteta, 19 aminokiselina (devet esencijalnih) (**Tablica 4**), 30 - 35 % masnoća, 22 - 25 % proteina, 30 - 35 % ugljikohidrata, oko 35 % vlakana, vitamine (A, B1, B2, B6, B3, C, D, E) i bogat su izvor kalcija, kalija i željeza (Callaway i Pate, 2009.; Kolodziejczyk i sur., 2012.; Oomah i sur., 2002.). Ulje sjemenki industrijske konoplje ima savršen omjer esencijalnih masnih kiselina, linolne i linolenske (3:1) (Aladić i sur., 2015.; Oomah i sur., 2002.). Esencijalne masne kiseline važne su gradivne tvari staničnih membrana i bitne su za nekoliko funkcija tijela i regulacijskih mehanizama. Naš organizam ih ne može sintetizirati, stoga se moraju unositi putem prehrane (Kolodziejczyk i sur., 2012.).

Tablica 4 Aminokiselinski sastav sjemenke industrijske konoplje (Kolodziejczyk i sur., 2012.)

Aminokiselina	% od ukupnih proteina sjemenke
Triptofan	1,63
Treonin	4,19
Izoleucin	4,90
Leucin	6,76
Lizin	4,72
Metionin	2,03
Cistein	1,86
Fenilalanin	5,24
Tirozin	2,70
Arginin	10,53
Valin	5,87
Histidin	2,58
Alanin	5,06
Asparaginska	11,20
Glutaminska	22,10
Glicin	6,83
Prolin	4,41
Serin	5,31

Pogača industrijske konoplje (**Slika 19**) je nusproizvod zaostao nakon prešanja sjemenki industrijske konoplje u svrhu proizvodnje hladno prešanog ulja. To je nutritivno vrlo bogat proizvod koji se može koristiti u hranidbi stoke, ali sve više svoje mjesto zauzima u prehrani ljudi. Prilikom prešanja ulja, u pogači zaostane određeni udio ulja koji se dodatno odmašćuje ne bi li se uklonilo ulje koje bi moglo izazvati nestabilnost proizvoda. Djelomično odmašćena pogača industrijske konoplje sadrži otprilike 10 % masti (ovisno o stupnju odmašćivanja), 30 % proteina, 50 % ugljikohidrata, 45 % ukupnih vlakana, 8 % pepela (Apostol i sur., 2015.).



Slika 19 Odmašćena pogača i sjemenka industrijske konoplje

Najčešća upotreba pogače industrijske konoplje za sada je zabilježena uglavnom kod hranidbe stoke, pilića, u hrani za ribe, ptice i sl. U ljudskoj prehrani, ako se konoplja i koristi, to je uglavnom u obliku hladno prešanog ulja ili kapsula kao dodataka prehrani. Budući da je i sama pogača nutritivno vrlo vrijedna sirovina, potrebno je istražiti potencijal njene primjene u prehrani ljudi, jer kao jeftin izvor može itekako pridonijeti pravilnom radu ljudskog organizma.

Karlsson i sur. (2010.) su pogaču industrijske konoplje dodavali u smjesu za hranidbu muznih krava te su zaključili kako pogača može poslužiti kao proteinski dodatak prehrani dajući jako dobre rezultate za proizvodnju mlijeka. Kalmendal (2008.) je u svom istraživanju ispitao primjenu pogače konoplje u hranidbi pilića. Zaključio je da nema negativnih učinaka na proizvodnju ili okus hrane za piliće, a budući da je smjesa znatno nutritivno obogaćena preporuča se primjena pogače industrijske konoplje u peradarstvu.

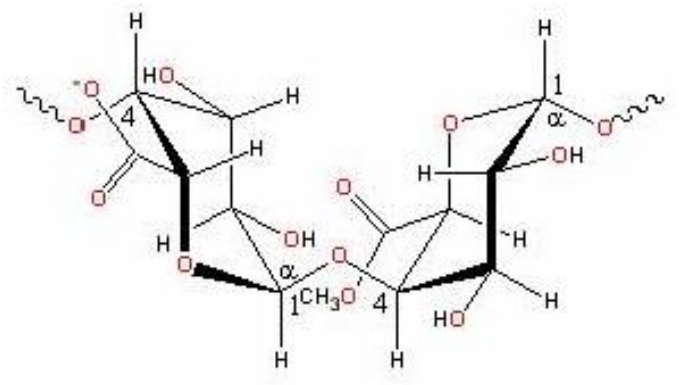
Norajit i sur. (2011.) ispitali su utjecaj dodatka praha i djelomično odmašćenog praha konoplje na udio polifenola i antioksidativnu aktivnost rižinih energetskih pločica. Zaključili su kako se konoplja može koristiti kao funkcionalni sastojak u proizvodnji ekstrudiranih proizvoda. U svom istraživanju Wang i sur. (2013.) koristili su samljevene sjemenke industrijske konoplje i dodavali ih u rižino brašno, potom su smjesu modificirali postupkom ekstruzije, te dobiveno brašno koristili u zamjesu za pripremu kruha, miješajući ga sa pšeničnim brašnom. Rezultati su pokazali kako je ekstruzija utjecala na smanjenje specifičnog volumena kruha, a dodatak konoplje je povećao taj volumen te utjecao na smanjenje tvrdoće kruha tijekom skladištenja.

2.4.3. Pektini

Pektini su heteropolisaharidni polimeri, osnovna gradivna jedinica im je D-galakturonska kiselina, međusobno povezana α-1,4 glikozidnim vezama (**Slika 20**). Sastojci su staničnih stijenki većine viših biljaka, najviše u voću i povrću. Glavni lanac polimera može biti kombiniran i s ramnozom, prema tome se razlikuju tri osnovna polisaharidna tipa pektina: poligalakturonan

(sastavljen od jedinica D-galakturonske kiseline), ramnogalakturonan I (sastavljen od L-ramnoze i D-galakturonske kiseline), ramnogalakutronan II (sastavljen od visoko razgranatih polisaharida) (Izydorczyk i sur., 2005.).

Ovisno o stupnju esterifikacije metilnom skupinom razlikuju se visokoesterificirani i niskoesterificirani pektin. Visokoesterificirani pektin sadrži više od 50 % esterificiranih karboksilnih grupa, ima 7 – 13,5 % metoksilnih skupina i želira s povećanom količinom šećera (više od 50 %), a ako je taj udio niži od 50 % radi se o niskoesterificiranom pektinu. Niskoesterificirani pektin sadrži ispod 7 % metoksila i želira s manjom količinom šećera (10 – 30 %), ali u prisutnosti metalnih iona (Jozinović, 2015.).



Slika 20 Glavni lanac poligalakturonske kiseline povezane α-1,4-glikozidnim vezama

Najčešće se proizvode iz nusproizvoda prehrambene inustrije, kao što su kora citrusa, trop jabuke i izluženi repini rezanci. Češće se koriste pektini iz jabuke i citrusa jer su im svojstva želiranja puno bolja (Jozinović, 2015.; Lopes da Silva i Rao, 2006.).

Što se tiče primjene pektina u ekstrudiranim proizvodima, odnosno sirovina bogatih pektinom, postoji nekoliko istraživanja koja se osvrću na povećanje poroznosti i uzdužne ekspanzije ekstrudata dodatkom pektina (Karkle i sur., 2012.; Yağcı i Göğüş, 2008.; Yanniotis i sur., 2007.). Naime, Ačkar i sur. (2018.) su u svom istraživanju dokazali da se dodatkom pektina u udjelu 1 % (s. tv.) može riješiti problem loših fizikalnih osobina ekstrudata s pivskim tropom i repinim rezancima. Takve ekstrudate u tom slučaju je moguće upotrijebiti u obliku gotovih snack proizvoda. Prema tome se i u ovoj disertaciji dodavao pektin za proizvodnju 2G proizvoda, kako bi se poboljšala fizikalna svojstva.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Ciljevi istraživanja ove disertacije bili su:

- Primjenom ekstruzije sa superkritičnim CO_2 proizvesti snack proizvode treće generacije, organoleptičkih svojstava sličnih ili poboljšanih u odnosu na klasični proces ekstruzije;
- Provesti naknadnu ekspanziju primjenom mikrovalova;
- Utvrditi mogućnost primjene nusproizvoda prehrambene industrije (odmašćene pogače lješnjaka, podlanka, buče i konoplje) u dobivanju snack proizvoda klasičnim postupkom ekstruzije i SCFX + mikrovalovi;
- Odrediti fizikalna svojstva ekspandiranih proizvoda dobivenih klasičnim postupkom ekstruzije, SCFX + mikrovalovi i neekspandiranih peleta;
- Odrediti kemijska i reološka svojstva proizvoda dobivenih klasičnim postupkom ekstruzije i SCFX + mikrovalovi;
- Senzorski ocijeniti i provjeriti kvalitetu snack proizvoda treće generacije.

U svrhu uspješne realizacije postavljenih ciljeva provedene su sljedeće aktivnosti:

1. Priprema sirovina, zamjesa i provedba ekstruzije

- Prešanje lješnjaka, podlanka, buče i industrijske konoplje na laboratorijskoj pužnoj preši ElektroMotor - Šimon d.o.o.; SPU 20;
- Odmašćivanje dobivenih pogača nakon prešanja pomoću ekstrakcije sa SC-CO_2, do udjela ulja <2 %;
- Određivanje udjela suhe tvari u sirovinama (ISO 6540);
- Priprema zamjesa za ekstruziju sastavljenih od kukuruzne krupice kao osnovne sirovine, uz dodatak odmašćenih pogača lješnjaka, podlanka, buče i konoplje u udjelima 3, 6 i 9 % s. tv., te dodatak pektina u udjelu 1 % s. tv. u zamjese za proizvodnju 2G proizvoda, odnosno direktno ekspandiranih snack proizvoda dobivenih klasičnim postupkom ekstruzije;
- Ekstruzija zamjesa u jednopužnom laboratorijskom ekstruderu 19/20 DN, Brabender GmbH, Duisburg, Njemačka;
- Sušenje ekstrudata (2G) i peleta na sobnoj temperaturi, pakiranje dijela ekstrudata i peleta u vrećice sa zatvaračem za fizikalne analize i mljevenje preostalog dijela

ekstrudata na laboratorijskom mlinu IKA MF10 uz upotrebu sita otvora 2 mm, za kemijske analize i određivanje reoloških svojstava;

- Ekspanzija peleta mikrovalnim zagrijavanjem, upotrebom mikrovalne pećnice Samsung MC28H5135CK;
- Pakiranje dijela 3G proizvoda za fizikalne analize i mljevenje preostalog dijela za kemijske i reološke analize na mlinu IKA MF10 uz upotrebu sita otvora 2 mm.

2. Određivanje fizikalnih svojstava

- Ekspanzijski omjer peleta, 2G i 3G proizvoda – računski iz podataka o promjeru ekstrudata i sapnice (Brnčić i sur., 2008.);
- Nasipna masa peleta, 2G i 3G proizvoda – računski iz podataka o duljini, promjeru i masi ekstrudata (Alvarez-Martinez i sur., 1988.);
- Hrskavost i lomljivost 2G i 3G proizvoda pomoću analizatora teksture TA.HD Plus, Stable Micro System, uz primjenu metode za mjerenje linearne udaljenosti i broja pikova snack proizvoda pomoću Kramer ćelije s 5 oštrica (Stablemycrosystems);
- Boja zamjesa, peleta, 2G i 3G proizvoda pomoću kromametra Konica Minolta CR-400, Japan, s nastavkom za praškaste materijale u sustavima CIELab i LCh;
- Određivanje indeksa apsorpcije (WAI) i indeksa topljivosti u vodi (WSI) zamjesa, peleta, 2G i 3G proizvoda (Anderson i sur., 1969.).

3. Određivanje reoloških svojstava

- Određivanje viskoznosti zamjesa te samljevenih 2G i 3G proizvoda Brabenderovim viskografom (Jozinović i sur., 2012.b).

4. Određivanje kemijskih svojstava

- Suha tvar (ISO 6540);
- Udio pepela u sirovinama (ISO 5984);
- Udio masti u sirovinama (ISO 6492);
- Udio proteina u sirovinama (ISO 5983-2);
- Udio sirove ugljikohidratne frakcije – računski iz osnovnog kemijskog sastava;
- Udio ukupnih, topljivih i netopljivih vlakana (AOAC 991.43);
- Određivanje udjela rezistentnog škroba (AOAC 2002.02);
- Određivanje stupnja oštećenosti škroba (AACC 76-31.01);

- Udio ukupnih polifenola Folin – Ciocalteuovom metodom (Wang i Ryu, 2013.b);
- Antioksidativna aktivnost DPPH metodom (Wang i Ryu, 2013.b);
- Udio akrilamida pomoću LC-MS/MS (Jozinović, 2015.)
- Udio HMF-a (hidroksimetilfurfurala) pomoću LC-MS/MS (Jozinović, 2015.).

5. Određivanje senzorskih svojstava 3G proizvoda

- Određivanje senzorskih svojstava prema metodi kvantitativnih skala odgovora (ISO 4121:2003).

6. Obrada podataka

- Statistička obrada podataka napravljena je uz primjenu programa Statistica 13.3 (StatSoft) i Microsoft Office Excel 2013, rezultati su prikazani grafički i tablično.

3.2. MATERIJALI

Materijali korišteni u istraživanju su:

- Kukuruzna krupica darovana iz mlina Đakovo, tvrtke Žito d.o.o. Osijek (proizvedena 2015. godine);
- Odmašćena pogača lješnjaka (*Corylus sp.* L.) – uljarica darovana od PP Orahovica (proizvedena 2015. godine); isprešana na laboratorijskoj pužnoj preši ElektroMotor – Šimon d. o. o. SPU 20. Dobivena pogača odmašćena je na ekstraktoru sa SC-CO_2, izrađenom na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek;
- Odmašćena pogača podlanka (*Camelina sativa* L.) - uljarica OPG Anita Mikac, Gornje Bazje (proizvedena 2014. godine); Isprešana na laboratorijskoj pužnoj preši ElektroMotor - Šimon d.o.o. SPU 20, dobivena pogača odmašćena na ekstraktoru sa SC-CO_2, izrađenom na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek;
- Odmašćena pogača buče (*Cucurbita pepo* L.) - uljarica Organica Vita, Vraneševci (proizvedena 2015. godine); Isprešana na laboratorijskoj pužnoj preši ElektroMotor - Šimon d.o.o. SPU 20, dobivena pogača odmašćena na ekstraktoru sa SC-CO_2, izrađenom na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek;
- Odmašćena pogača industrijske konoplje (*Cannabis sativa* L.) - uljarica sorte Fedora 17, Organica Vita (Vraneševci, Hrvatska) (proizvedena 2015. godine); Isprešana na laboratorijskoj pužnoj preši ElektroMotor - Šimon d.o.o. SPU 20, dobivena pogača odmašćena na ekstraktoru sa SC-CO_2, izrađenom na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek;

- Visokoesterificirani pektin darovan iz tvornice Kandit d.o.o. (GENU® Pectin 150 USA-SAG type D slow set, CP Kelco A Huber Company, SAD), dodan je u zamjese za 2G proizvode u udjelu 1 %, kako bi se poboljšala ekspanzija proizvoda (Ačkar i sur., 2018.).

3.3. METODE

3.3.1. Priprema sirovina i zamjesa za ekstruziju

Kukuruzna krupica i pektin nisu tretirani prije upotrebe, nego su korišteni u dobivenom obliku, dok su lješnjak, podlanak, buča i industrijska konoplja isprešani na laboratorijskoj pužnoj preši ElektroMotor – Šimon d. o. o. SPU 20 (Senta, Srbija) (**Slika 21**). Parametri prešanja postavljeni su tako da temperatura dobivenog ulja ne pređe 50 °C, a da pri tome bude minimalno zaostalog ulja u pogači. Dobivene pogače potom su odmašćene na laboratorijskom uređaju za ekstrakciju pomoću SC-CO_2 izrađenom na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek (**Slika 22**) (Aladić, 2015.; Jokić i sur., 2014.; Moslavac i sur., 2014.). Pogače su smještene u posudu ekstraktora, a ulje je sakupljano u separatoru, pri tlaku 1,5 MPa i temperaturi 25 °C. Ekstrakcija je trajala nekoliko h, ovisno o količini zaostalog ulja u pogači, nakon čega su pogače u potpunosti odmašćene. Proces ekstrakcije odvijao se pri temperaturi od 40 °C, tlaku 300 bar i protoku CO_2 od 1,95 kgh^{-1}. Za svaku ekstrakciju korišteno je 250 g pogače (dobivene prešanjem). Prije procesa ekstruzije, odmašćene pogače samljevene su na laboratorijskom mlinu IKA MF10, Staufen, Njemačka (**Slika 23**) kroz sito otvora 2 mm.



Slika 21 Preša ElektroMotor – Šimon d. o. o. SPU 20 (Senta, Srbija) (Web 3)



Slika 22 Laboratorijski uređaj za ekstrakciju pomoću SC-CO_2 na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek

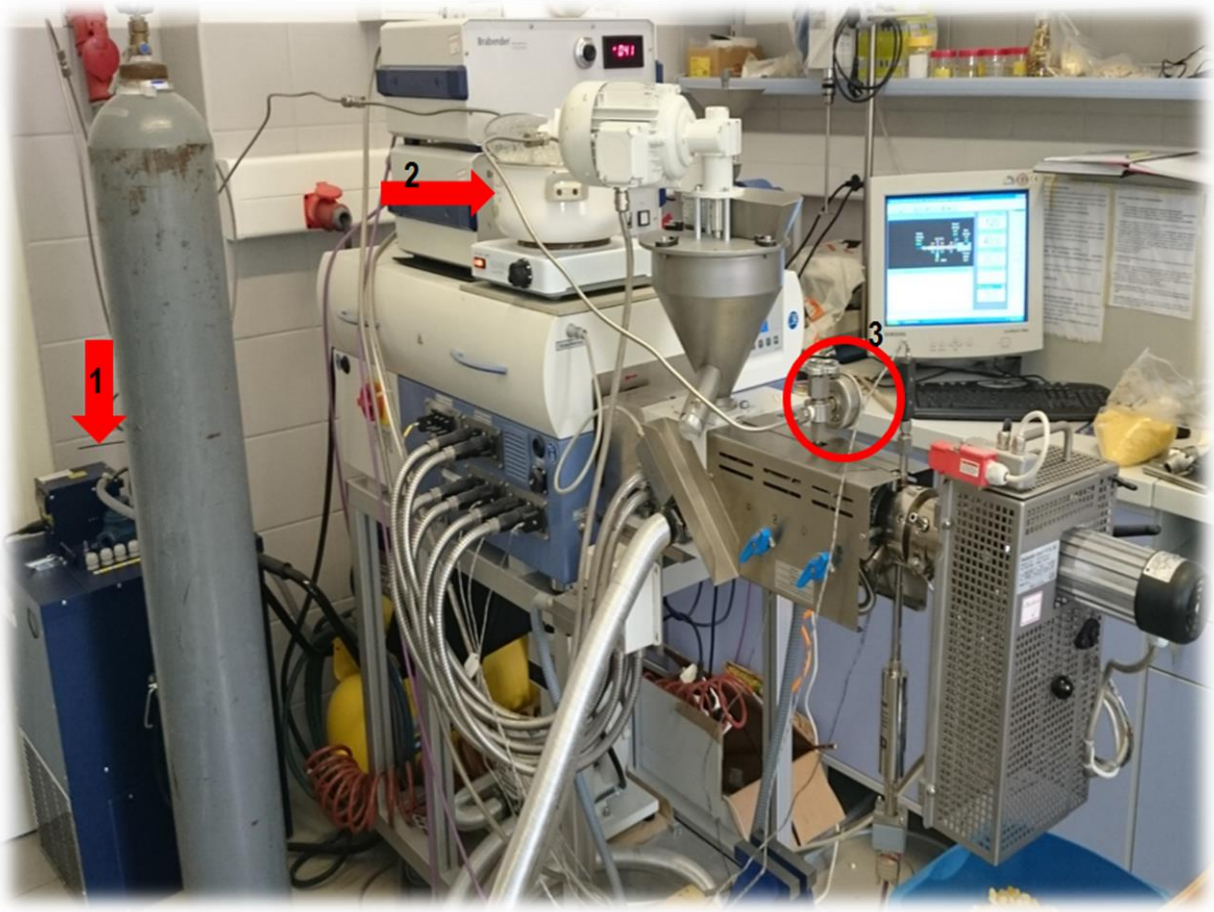
Pripremljene pogače pomiješane su s kukuruznom krupicom u udjelima 3, 6 i 9 % s. tv. U zamjese za proizvodnju 2G proizvoda dodan je pektin u udjelu 1 % s. tv. kako bi se poboljšala ekspanzija proizvoda (Ačkar i sur., 2018.). Zamjesi su pripremljeni pomoću laboratorijskog miksera, pri čemu im je podešena vlažnost na 15 % za 2G proizvode i 25 % za 3G proizvode dodatkom demineralizirane vode, nakon čega su ostavljeni u rashladnoj vitrini na temperaturi 4 °C, 24 h, kako bi se vlaga ravnomjerno rasporedila (**Prilog 1**). Zamjesi su prije ekstruzije izvađeni na sobnu temperaturu, kako bi se temperirali. Dio zamjesa spremljen je za analize i čuvan u rashladnoj vitrini na 4 °C, ostatak je ekstrudiran.



Slika 23 Laboratorijski mlin IKA MF10 (Staufen, Njemačka)

3.3.2. Ekstruzija

Ekstruzija pripremljenih zamjesa provedena je u jednopužnom laboratorijskom ekstruderu 19/20 DN, Brabender GmbH, Duisburg, Njemačka, uz određene modifikacije uređaja, kako bi se mogao dodati CO_2 u superkritičnom stanju. Instalacija opreme za dodavanje SC-CO_2 provedena je u suradnji s firmom Đuro Đaković d.d. Nepovratni igličasti ventil ugrađen je u ekstruder između druge i treće zone zagrijavanja, u rashladnu kupelj uronjena je visokotlačna pumpa, gdje se CO_2 tlači i hladi, a potom se vodi do kupelji za zagrijavanje i takav se dodaje u materijal u ekstruderu (**Slika 24**).



Slika 24 Laboratorijski jednopužni ekstruder Brabender 19/20 DN s instaliranom opremom za dodavanje SC-CO_2 (1-rashladna komora s uronjenom visokotlačnom pumpom; 2-kupelj za zagrijavanje CO_2; 3-nepovratni igličasti ventil)

Ekstruzija je provedena pri dva režima:

Režim za direktno ekspandirane snack proizvode (2G):

- temperaturni profil ekstrudera: 135/170/170 °C,
- konfiguracija puža: 4:1,
- promjer sapnice: 4 mm.

Režim za indirektno ekspandirane proizvode (3G), proizvedene pomoću SCFX:

- temperaturni profil ekstrudera: 90/110/120 °C,
- konfiguracija puža: 3:1,
- promjer sapnice: 4 mm,
- tlak zraka: 2,2 bar,
- tlak CO_2: 140 bar,
- kupelj za zagrijavanje CO_2: 90 °C.

Primjenom SCFX dobiveni su peleti koji su sušeni pri sobnoj temperaturi tijekom 48 h, potom ekspandirani u mikrovalnoj pećnici (Samsung MC28H5135CK) pri 900 W, 40 s. 2G proizvodi su osušeni tijekom 24 h na sobnoj temperaturi. Dio 2G i 3G proizvoda zapakiran je u vrećice sa zatvaračem za određivanje fizikalnih i senzorskih svojstva, a preostali dio samljeven je na laboratorijskom mlinu IKA MF10 uz upotrebu sita otvora 2 mm, zapakiran u vrećice sa zatvaračem i čuvan u rashladnoj vitrini na temperaturi 4 °C do provedbe kemijskih analiza i određivanja reoloških svojstava.

3.3.3. Određivanje fizikalnih svojstava

3.3.3.1 Ekspanzijski omjer peleta, 2G i 3G proizvoda (EO)

Ekspandiranim suhim uzorcima izmjeren je promjer pomoću pomičnog mjerila (u milimetrima) (**Slika 25**), u pet paralela. Ekspanzijski omjer, koji predstavlja vrijednost omjera promjera ekstrudata i promjera sapnice ekstrudera (4 mm) izračunat je prema formuli **(1)** (Brnčić i sur., 2008.). Dobiveni rezultati izraženi su kao srednja vrijednost uz prikaz standardne devijacije mjerenja te su prikazani grafički korištenjem programa Statistica 13.3.

$$EO = \frac{d_e}{d_s} \qquad \textbf{(1)}$$

gdje je: EO – ekspanzijski omjer,

d_e – promjer ekstrudata [mm],

d_s – promjer sapnice [mm].

3.3.3.2 Nasipna masa peleta, 2G i 3G proizvoda (BD)

Nasipna masa određena je prema metodi Alvarez-Martinez i sur. (1988.), prema formuli **(2)**, mjerena je masa, promjer i dužina ekstrudata u pet paralelnih mjerenja. Dobiveni rezultati

izraženi su kao srednja vrijednost uz prikaz standardne devijacije mjerenja te su prikazani grafički korištenjem programa Statistica 13.3.

$$BD = \frac{4\,m}{\pi d^2 L} \qquad \textbf{(2)}$$

gdje je: *BD* – nasipna masa ekstrudata [gcm^{-3}],

m – masa ekstrudata [g],

d – promjer ekstrudata [cm],

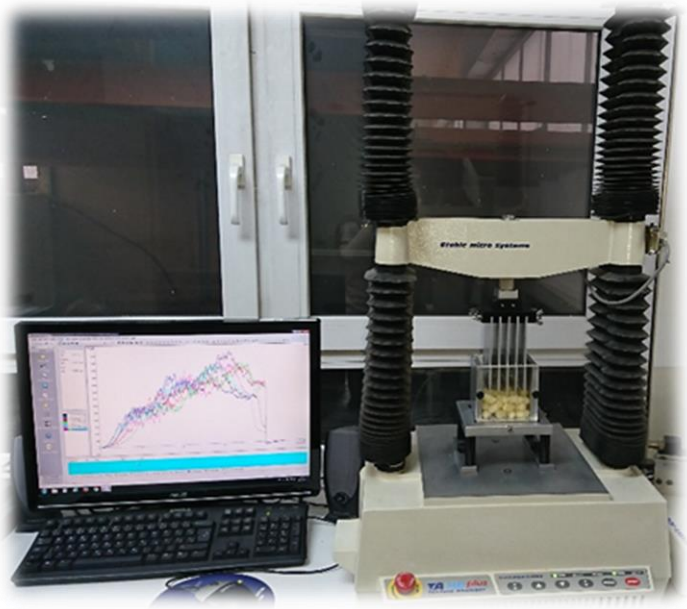
L – dužina ekstrudata [cm].



Slika 25 Mjerenje promjera ekstrudata

3.3.3.3 Tekstura (hrskavost i lomljivost) 2G i 3G proizvoda

Hrskavost i lomljivost uzoraka određena je pomoću analizatora teksture TA.HD Plus, Stable Micro System, Velika Britanija (**Slika 26**), uz primjenu metode za mjerenje linearne udaljenosti i broja pikova snack proizvoda pomoću Kramer ćelije s pet oštrica. Mjerenje je provedeno u 10 paralelnih mjerenja, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost sa standardnom devijacijom te su prikazani grafički korištenjem programa Statistica 13.3.



Slika 26 Analizator teksture TA.HD Plus, Stable Micro System

Kramer ćelija je popunjena do pola uzorkom i uzorci su podvrgnuti sljedećem testu:

- brzina prije mjerenja: 2,0 mms^{-1};
- brzina za vrijeme mjerenja: 1,0 mms^{-1};
- brzina nakon mjerenja: 10 mms^{-1};
- udaljenost: 40 mm.

3.3.3.4 Boja zamjesa i ekstrudata

Za određivanje boje zamjesa i samljevenih snack proizvoda korišten je kromametar Konica Minolta CR-400 (**Slika 27**) s nastavkom za praškaste materijale. Mjerenje je provedeno u Lab i LCh sustavima, u pet paralela za svaki uzorak.



Slika 27 Kromametar Konica Minolta CR-400

Ukupna promjena boje (ΔE) računata je prema formuli **(3)** i prikazana grafički korištenjem programa Statistica 13.3. Veza između ljudske percepcije i izračunate ukupne promjene boje prikazana je u **Tablici 5.**

$$\Delta E = \sqrt{(\mathrm{L} - \mathrm{L}_0)^2 + (\mathrm{b} - \mathrm{b}_0)^2 + (\mathrm{a} - \mathrm{a}_0)^2} \qquad \textbf{(3)}$$

gdje je:

L* - svjetlina (engl. *Luminosity*), vrijednosti u rasponu 0 (crno) – 100 (bijelo);

a* - ukoliko su dobivene vrijednosti pozitivne u domeni su crvene boje; a ukoliko su dobivene vrijednosti negativne, u domeni su zelene boje,

b* - ukoliko su dobivene vrijednosti pozitivne u domeni su žute boje, a ukoliko su vrijednosti negativne, u domeni su plave boje,

C - zasićenost boje (engl. *Chroma*), kreće se u rasponu 0 (potpuno nezasićeno) do 100 (maksimalno zasićenje);

h° - ton boje (engl. *hue angle*), kreće se u rasponu od 0° (crvena), 90° (žuta), 180° (zelena), 270° (plava) te natrag do 0° (Ačkar, 2010.; Jozinović, 2012.a).

Parametri s indeksom „0“ označavaju vrijednosti boje za kontrolni neekstrudirani uzorak kukuruzne krupice (krupica zamjes).

Tablica 5 Veza između ljudske percepcije i izračunate ukupne promjene boje (ΔE) (Bucić-Kojić, 2008.)

Ljudska percepcija	ΔE
Nije vidljiva razlika	<0,2
Vrlo mala vidljivost razlike	0,2 – 1
Mala vidljivost razlike	1 – 3
Prosječna vidljivost razlike	3 – 6
Velika vidljivost razlike	>6

3.3.3.5 Indeks apsorpcije vode (WAI) i indeks topljivosti u vodi (WSI)

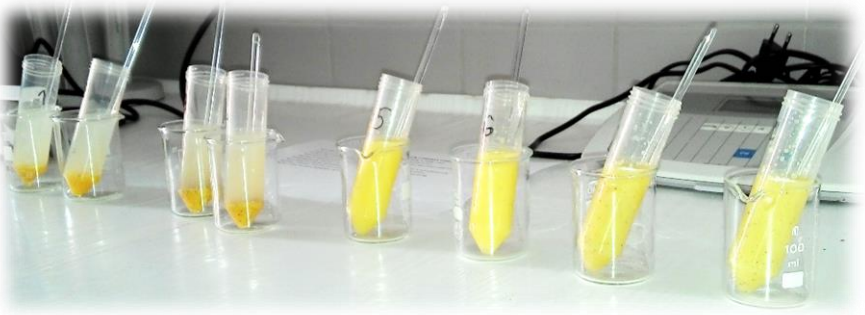
Za određivanje WAI i WSI korištena je metoda za žitarice Anderson i sur. (1969.). Samljeveni uzorak (2,5 g) izvagan je u tariranu kivetu te je dodano 30 mL destilirane vode. Uzorci se povremeno miješaju (svakih 5 minuta) kroz 30 min (**Slika 28**). Centrifugiranje se provodi pri 3000 okretaja u minuti tijekom 15 minuta. Supernatant se dekantira u prethodno osušene i izvagane posudice za sušenje (za određivanje WSI) i suši na 105 °C do konstantne mase. Gel koji je ostao u kiveti se važe i služi za određivanje WAI.

WAI se određuje prema formuli **(4)**, gdje masa gela predstavlja masu dobivenog gela nakon dekantiranja supernatanta.

$$WAI\ [gg^{-1}] = \frac{masa\ gela}{masa\ suhe\ tvari\ u\ početnom\ uzorku} \qquad \textbf{(4)}$$

WSI predstavlja masu suhe tvari u supernatantu (odredi se vaganjem posudica nakon sušenja), izraženu kao postotak suhe tvari u početnom uzorku, a računa se prema formuli **(5)**.

$$WSI\ [\%] = \frac{masa\ suhe\ tvari\ u\ supernatantu}{masa\ suhe\ tvari\ u\ početnom\ uzorku} \times\ 100 \qquad \textbf{(5)}$$



Slika 28 Uzorci u kivetama, miješanje štapićima

3.3.3.6 Određivanje viskoznosti brašna Brabenderovim viskografom

Određivanje viskoznosti brašna provedeno je prema metodi Jozinović i sur. (2012.b), primjenom Brabenderovog Mikro visko-amilografa, Brabender, Duisburg, Njemačka (**Slika 29**).



Slika 29 Brabenderov Mikro visko-amilograf

Uzorak neekstrudiranih zamjesa i samljevenih ekstrudata izvaže se u posudu Brabenderovog Mikro visko-amilografa, kako bi se pripravilo 115 g vodene suspenzije s 14 % s. tv. Kod mjerenja reoloških svojstava uzorci su bili podvrgnuti temperaturnom programu:

- Zagrijavanje 30 - 92 °C, brzina zagrijavanja 7,5 °Cmin^{-1};
- Izotermno zadržavanje na 92 °C, 5 minuta;
- Hlađenje 92 - 50 °C, brzina hlađenja 7,5 °Cmin^{-1};
- Izotermno zadržavanje na 50 °C, 1 minuta.

Mjerenje je provedeno pri okretanju mjernog tijela od 250 okretaja min^{-1}, pri čemu se dobiju sljedeći parametri:

1. Početna temperatura želatinizacije škroba [°C];
2. Viskoznost vrha - označava maksimalnu vrijednost viskoznosti nastale želatinizacijom škroba. Vrijednost se izražava u *Brabenderovim jedinicama* [BU];
3. Vrijednost viskoznosti pri 92 °C [BU];
4. Vrijednost viskoznosti nakon 5 minuta miješanja na 92 °C [BU];
5. Vrijednost viskoznosti pri 50 °C [BU];
6. Vrijednost viskoznosti nakon 1 minute miješanja na 50 °C [BU];
7. Kidanje - izračunava se oduzimanjem vrijednosti viskoznosti nakon 5 minuta miješanja na 92 °C od vrijednosti viskoznosti vrha. Označava stabilnost tijekom miješanja pri visokim temperaturama (92 °C) [BU];
8. „*Setback*“ - izračunava se oduzimanjem vrijednosti viskoznosti nakon 5 minuta miješanja na 92 °C od vrijednosti viskoznosti pri 50 °C. Ova vrijednost označava sklonost škrobne paste retrogradaciji [BU].

3.3.4. Određivanje kemijskih svojstava

3.3.4.1 Određivanje udjela suhe tvari (ISO 6540)

Sušenje je provedeno na 130 °C do konstantne mase u laboratorijskom sušioniku s ventilacijom, Memmert UFE 500 (**Slika 30**), Schwabach, Njemačka. Udio suhe tvari ($w_{s.\ tv.}$) računa se prema formuli **(6)**:

$$w_{s\ tv.}\,[\%] = \frac{m_2}{m_1} \times 100 \qquad \textbf{(6)}$$

gdje je: $w_{s.\ tv.}$ – udio suhe tvari [%],

m_1 – masa uzorka prije sušenja [g],

m_2 – masa uzorka nakon sušenja [g].



Slika 30 Sušionik Memmert UFE 500 (Schwabach, Njemačka)

3.3.4.2 Određivanje udjela pepela u sirovinama (ISO 5984)

Uzorci se važu u porculanske lončiće za spaljivanje te se predspaljuju na električnoj grijaćoj ploči dok uzorak ne karbonizira, potom se prebace u prethodno zagrijanu mufolnu peć (Nabertherm, Njemačka) na 550 °C i žare u trajanju od 180 minuta (**Slika 31**).



Slika 31 Hlađenje uzoraka na termorezistentnoj ploči nakon spaljivanja

Udio pepela računa se prema formuli **(7)**:

$$w_A\,[\%] = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \qquad \textbf{(7)}$$

gdje je: w_A – udio pepela [% s. tv.],

m_0 - masa praznog lončića [g],

m_1 - masa lončića s uzorkom [g],

m_2 - masa lončića i pepela [g].

3.3.4.3 Određivanje udjela masti u sirovinama (ISO 6492)

Ekstrakcija masti provodi se u ekstraktoru po Soxhletu (**Slika 32**). Korišteno otapalo je petroleter. Ekstrakcija traje 4 sata i to tako da se osigura oko 10 prelijevanja po satu.



Slika 32 Aparatura za ekstrakciju masti po Soxhletu

Mjerenje je provedeno u tri paralele, a udio masti računa se prema formuli **(8)**:

$$w_M\ [\%] = \frac{m_M}{m_0} \times 100 \qquad \textbf{(8)}$$

gdje je: w_M – udio masti [%],

m_M – masa ekstrahirane masti [g],

m_0 – masa uzorka [g].

3.3.4.4 Određivanje udjela proteina u sirovinama (ISO 5983-2)

Za analizu je korišten blok za spaljivanje (**Slika 33**). Uzorak se zagrijava s koncentriranom sumpornom kiselinom uz dodatak katalizatora bakrovog (II) sulfata ($CuSO_4$) i soli za povišenje vrelišta natrijev sulfat (Na_2SO_4) prilikom čega dolazi do potpune oksidacije organske tvari, a dušik se pri tome oslobađa u obliku amonijeva sulfata $(NH_4)_2SO_4$. U drugoj fazi određivanja (destilacija) (**Slika 34**), djelovanjem lužine na $(NH_4)_2SO_4$ oslobađa se amonijak koji se predestilira vodenom parom u tikvicu s kiselinom poznatog molariteta. Višak kiseline odredi se titracijom.



Slika 33 Blok za digestiju s uzorcima nakon spaljivanja



Slika 34 Destilacija na destilacijskoj jedinici

Titracija se provodi s 0,1 M HCl i izračuna se udio dušika prema formuli **(9)**:

$$w_N\ [\%] = \frac{\{(a-b) \times\ c_{kis}\ \times\ f_{kis}\ \times 1{,}4007\}}{m_{uzorka}} \qquad \textbf{(9)}$$

gdje je: w_N – udio dušika [%],

a – volumen HCl-a utrošen za titraciju uzorka [mL],

b – volumen HCl-a utrošen za titraciju slijepe probe [mL],

c – molaritet kiseline [molL^{-1}],

f – faktor kiseline,

m – masa uzorka [g].

Udio proteina računa se iz dobivenog udjela dušika prema formuli **(10)**:

$$w_P\ [\%] = w_N\ \times F \qquad \textbf{(10)}$$

gdje je: w_P – udio proteina [%],

F – faktor za preračunavanje udjela dušika u proteine; za prehrambene proizvode (F = 6,25).

3.3.4.5 Određivanje udjela sirove ugljikohidratne frakcije u sirovinama

Udio ugljikohidratne frakcije izračuna se kao razlika ukupnog zbroja udjela pepela, proteina i masti do 100 %, izraženo kao udio u suhoj tvari **(11)**. Za ovu skupinu sastojaka korišten je naziv „sirovi ugljikohidrati“, jer se radi o procjeni udjela ugljikohidrata (može sadržavati i druge neugljikohidratne komponente).

$$w_U\ [\%\ s.tv.] = 100 - (w_A + w_M + w_P) \qquad \textbf{(11)}$$

gdje je: w_U – udio sirovih ugljikohidrata [% s. tv.],

w_A – udio pepela [% s. tv.],

w_M – udio masti [% s. tv.],

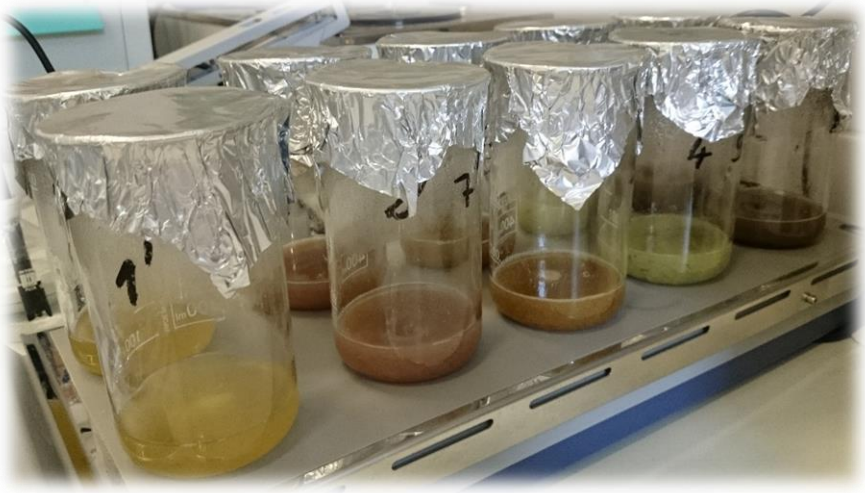
w_P – udio proteina [% s. tv.].

3.3.4.6 Određivanje ukupnih, topljivih i netopljivih vlakana (AOAC 991.43)

Određivanje ukupnih, topljivih i netopljivih vlakana zasniva se na enzimskoj hidrolizi materijala primjenom termostabilne α-amilaze, proteaze i amiloglukozidaze.

Enzimska hidroliza

U izvagani uzorak doda se MES-TRIS puferska otopine (pH 8,2). Uzorci se homogeniziraju laganim miješanjem na magnetskoj miješalici (**Slika 35**). Doda se otopina termostabilne α-amilaze i uzorci se inkubiraju pri 98 °C uz kontinuirano miješanje, 30 minuta (**Slika 36**). Nakon miješanja uzorci se ohlade na 60 °C. Potom se u uzorke doda otopina proteaze te se ponovno inkubiraju u kupelji s tresilicom, ali na 60 °C u trajanju od 30 min. Nakon toga doda se 5 mL otopine 0,561 M HCl-a uz miješanje na magnetskoj miješalici. Slijedi provjera pH. Ukoliko je potrebno podesi se na vrijednost 4,1 – 4,8 dodatkom otopine 5 %-tnog HCl ili 5 %-tnog NaOH. Nakon što je pH ujednačen u svim uzorcima doda se otopina amiloglukozidaze uz miješanje na magnetskoj miješalici i inkubiraju se pri 60 °C u trajanju od 30 min.



Slika 35 Miješanje uzoraka za određivanje vlakana na magnetnoj miješalici



Slika 36 Inkubacija uzoraka u vodenoj kupelji s tresilicom (Julabo SW22)

Određivanje netopljivih vlakana (NV)

Sadržaj čaša dobiven nakon uzastopnih enzimskih hidroliza filtrira se pomoću vakuuma kroz sinterirane lončiće s Celitom (**Slika 37**). NV su talog zaostao na sinter lončićima koji je potrebno kvantitativno prenijeti u potpunosti iz čaše na sinter lončić, zbog toga se čaša ispire vodom (topljiva vlakna prelaze u filtrat, netopljiva zaostaju na lončiću). Nakon filtracije potrebno je dobiveni filtrat sačuvati za određivanje topljivih vlakana. Talog zaostao na sinteriranom lončiću ispere se 95 %-tnim etanolom i acetonom. Sinterirani lončići s talogom suše se preko noći na 103 °C (**Slika 39**).



Slika 37 Filtracija netopljivih vlakana i izgled na sinteriranom lončiću prije sušenja

Određivanje topljivih vlakana (TV)

U sakupljeni filtrat doda se 95 %-tni etanol zagrijan na 60 °C i dobro promiješa. Uzorci se ostave 60 min na sobnoj temperaturi (**Slika 38**), kako bi se istaložila TV nakon čega se filtriraju pomoću vakuuma na sinter lončićima s Celitom. Sadržaj iz čaše kvantitativno se prenese na lončić i ispere sa 78 %-tnim etanolom, 95 %-tnim etanolom i acetonom. Lončići s talogom (TV) suše se preko noći na 103 °C (**Slika 39**).



Slika 38 Taloženje topljivih vlakana etanolom



Slika 39 Sušenje sinteriranih lončića s netopljivim i topljivim vlaknima

Nakon vaganja sinteriranih lončića jedna paralela koristi se za određivanje pepela, druga za određivanje proteina. To su korekcijske analize za udjele (mase) pepela i proteina u ostacima analize NV i TV, koje je potrebno izvršiti kako bi se dobili što točniji rezultati. Kod analize pepela talog se mineralizira u lončićima na 525 °C u trajanju od 5 h. Kod analize proteina potrebno je kvantitativno prenijeti talog (zajedno s Celitom) s lončića u Kjeldahl kivete te se odredi udio proteina Kjeldahl-ovom metodom uz upotrebu faktora korekcije 6,25 za izračun mase proteina. Masa NV i TV određuje se iz razlike konstantne mase lončića s talogom (nakon sušenja na 103 °C) te opranog i žarenog lončića s pomoćnim filtracijskim sredstvom, dok se udio istih računa prema formuli **(12)**. Udio ukupnih prehrambenih vlakana (UV) dobije se kao zbroj korigiranih vrijednosti za netopljiva i topljiva vlakna **(13)**.

$$NV(TV)\ [\%] = \frac{\frac{R_1 + R_2}{2} - p - A - B}{\frac{m_1 + m_2}{2}} \times 100 \qquad \textbf{(12)}$$

$$UV\ [\%] = NV + TV \qquad \textbf{(13)}$$

gdje je: R_1 i R_2 – masa ostatka (vlakana) iz uzorka m_1 i m_2 [g],

m_1 i m_2 – masa početnog uzorka za analizu [g],

p – masa proteina iz ostatka R_1 [g],

A – masa pepela iz ostatka R_2 [g],

B – slijepa proba **(14)** [g].

$$B = \frac{BR_1 + BR_2}{2} - BP - BA \quad \textbf{(14)}$$

gdje je: *BR* – masa ostatka slijepe probe [g],

BP – masa proteina iz BR_1 [g],

BA – masa pepela iz BR_2 [g].

3.3.4.7 Određivanje udjela rezistentnog škroba (AOAC 2002.02)

Inkubacija uzoraka odvija se u tresućoj vodenoj kupelji sa želučanom α-amilazom i amiloglukozidazom (AMG) 16 sati na 37 ºC (**Slika 40**). Tijekom toga vremena NRS se otapa i hidrolizira do glukoze kombiniranim djelovanjem enzima.

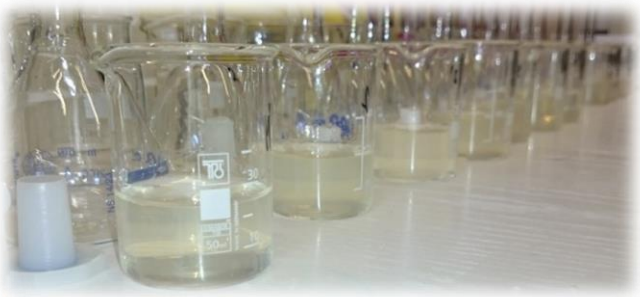
Reakcija se prekida dodatkom etanola ili industrijskog špirita (IMS, denaturirani etanol) te se RS oslobađa u obliku zrnaca (kuglica) centrifugiranjem. Dobiveni RS ispire se dva puta sa suspenzijom u tekućem IMS ili etanolu (50 % v/v), nakon čega slijedi centrifugiranje. Supernatant se skuplja za određivanje NRS škroba (**Slika 41**), a rezistentni škrob (RS) izdvojen je u obliku taloga.

RS u talogu se otapa u 2 M KOH snažnim miješanjem u ledenoj kupelji na magnetskoj miješalici. Otopina se neutralizira acetatnim puferom te se škrob kvantitativno hidrolizira do glukoze s AMG. Udio glukoze određen je spektrofotometrijski (510 nm), nakon reakcije s glukoza oksidaza-peroksidaza-aminoantipirin (GOPOD) reagensom, a iz dobivene vrijednosti izračunat je udio RS-a u uzorku prema formuli **(15)**.

Nerezistentni (topljivi) škrob određuje se skupljanjem početnog supernatanta i pranjem, prilagođavanjem volumena do 100 mL i mjerenjem sadržaja glukoze sa GOPOD-om, a iz dobivene vrijednosti izračunat je udio NRS-a u uzorku prema formuli **(16)**.



Slika 40 Položaj epruveta u kupelji s tresilicom za inkubaciju od 16 h



Slika 41 Skupljanje supernatanta u čašicu za određivanje nerezistentnog škroba

Udio ukupnog škroba (TS) dobije kao zbroj udjela RS i NRS **(17)**.

$$RS\ [\%\ s.tv.] = \Delta E \times F \times \frac{10{,}3}{0{,}1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 9{,}27 \quad \textbf{(15)}$$

$$NRS\ [\%\ s.tv.] = \Delta E \times F \times \frac{100}{0{,}1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 90 \quad \textbf{(16)}$$

$$TS\ [\%\ s.tv.] = RS + NRS \quad \textbf{(17)}$$

gdje je:

RS	udio rezistentnog škroba [% s. tv.]
NRS	udio nerezistentnog škroba [% s. tv.]
TS	udio ukupnog škroba [% s. tv.]
Δ*E*	razlika apsorbance uzorka i apsorbance slijepe probe,
F	konverzija apsorbance u µg (odredi se apsorbanca za 100 µg glukoze u reakciji sa GOPOD i računa: F = 100 (µg glukoze) / apsorbanca GOPOD sa 100 µg glukoze),
10,3/0,1	korekcija volumena (0,1 mL uzet iz 10,3 mL),
100/0,1	korekcija volumena (0,1 mL uzet iz 100 mL),
1/1000	konverzija µg u mg,
W	masa suhe tvari uzorka = masa uzorka × udio suhe tvari,
162/180	faktor koji pretvara slobodnu glukozu, koja se detektira, u bezvodnu glukozu koja se nalazi u škrobu.

3.3.4.8 Određivanje stupnja oštećenosti škroba (AACC 76-31.01)

Izvaže se 100 mg u epruvete, doda se 1 mL fungalne α-amilaze, potom se inkubira 10 min na 40 °C. Ovim uvjetima omogućena je gotovo potpuna hidroliza oštećenih škrobnih granula i minimalna razgradnja neoštećenih granula. Produkti hidrolize su maltooligosaharidi i α-granični dekstrini. Reakcija se prekida dodatkom razrijeđene sulfatne kiseline. Uzorak se centrifugira, a u alikvot supernatanta doda se AMG. Nastala glukoza s glukoza oksidaza-peroksidaza reagensom (GOPOD) stvara obojenje, čiji se intenzitet određuje spektrofotometrijski (**Slika 42**). Stupanj oštećenosti škroba izračunat je prema formuli **(18)**.



Slika 42 Reakcija glukoze s GOPOD, određivanje intenziteta obojenja spektrofotometrijski

$$DS\ [\%] = \Delta E \times F \times 60 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 5{,}4 \quad \textbf{(18)}$$

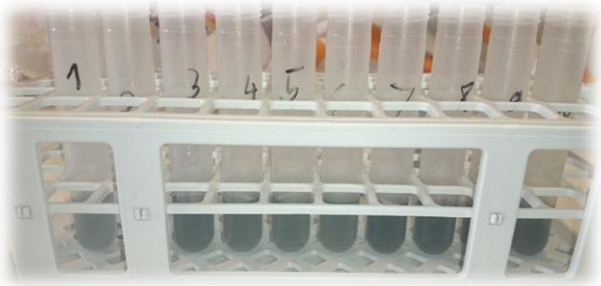
gdje je:

DS	stupanj oštećenosti škroba [%]
Δ*E*	razlika apsorbance uzorka i apsorbance slijepe probe,
F	konverzija apsorbance u µg (odredi se apsorbanca za 150 µg glukoze u reakciji sa GOPOD i računa: F = 150 (µg glukoze) / apsorbanca GOPOD sa 150 µg glukoze),
60	korekcija volumena (0,1 mL uzet iz 6,0 mL),
1/1000	konverzija µg u mg,
100/*W*	faktor za izražavanje DS-a kao postotak od uzorka (W – masa uzorka [mg]),
162/180	faktor koji pretvara slobodnu glukozu, koja se detektira, u bezvodnu glukozu koja se nalazi u škrobu.

3.3.4.9 Određivanje udjela ukupnih polifenola (TPC) Folin-Ciocalteuovom metodom

Određivanje udjela ukupnih polifenola provedeno je prema metodi Wang i Ryu (2013.b). U 1 g uzorka doda se 10 mL otopine metanol:voda (80:20 v/v) i ekstrakcija se provodi miješanjem pri sobnoj temperaturi u trajanju od 2 h. Potom se uzorci profiltriraju kroz Whatman-ov No 1 filter. Ekstrakt dobiven filtarcijom koristi se za određivanje ukupnih polifenola i antioksidativne aktivnosti.

U alikvot (300 µL) ekstrakta doda se 1,5 mL svježe razrijeđenog (10 puta) Folin-Ciocalteuovog reagensa. Nakon toga se doda 1,5 mL otopine natrijeva karbonata (60 gL^{-1}). Pripremljeni uzorci stoje 90 min na sobnoj temperaturi, nakon čega se mjeri apsorbancija razvijenog plavog obojenja (**Slika 43**) na 725 nm, koristeći 80 %-tni metanol kao slijepu probu. Intenzitet obojenja proporcionalan je udjelu polifenolnih spojeva u ispitivanom uzorku. Analiza je provedena u deset paralelnih mjerenja, a udio ukupnih polifenola u uzorcima izražen je u mg ekvivalenata galne kiseline (engl. *gallic acid equivalents*; GAE) u 100 g suhe tvari uzorka. Za izračun je korištena jednadžba dobivena iz kalibracijske krivulje galne kiseline (y=1,4818x - 0,0417; R^2=0,9971) (**Prilog 2**).



Slika 43 Plavo obojenje nastalo redukcijom Folin-Ciocalteuovog reagensa do volframovih i molbidenovih oksida

3.3.4.10 Određivanje antioksidativne aktivnosti (AO) DPPH metodom

Određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH metodom provedeno je prema metodi Wang i Ryu (2013.b). U 200 µL ekstrakta doda se 3,9 mL svježe pripremljene otopine DPPH u metanolu (0,1 mM). Promiješa se i stoji na sobnoj temperaturi u tamnom tijekom 30 min, nakon čega se izmjeri apsorbancija na 517 nm. Sparivanjem elektrona na DPPH radikal dolazi do promjene ljubičaste boje (oksidirani oblik radikala) otopine u žutu (reducirani oblik radikala) (**Slika 44**). Kontrola je provedena upotrebom 80 %-tnog metanola. Postotak inhibicije DPPH radikala izračunat je prema formuli **(19)**.



Slika 44 Boja u uzorcima nakon 30 min stajanja u tamnom

$$\%\ inhibicije = \frac{A_0 - A_u}{A_0} \times 100 \qquad \textbf{(19)}$$

gdje je: A_0 – apsorbancija kontrole,

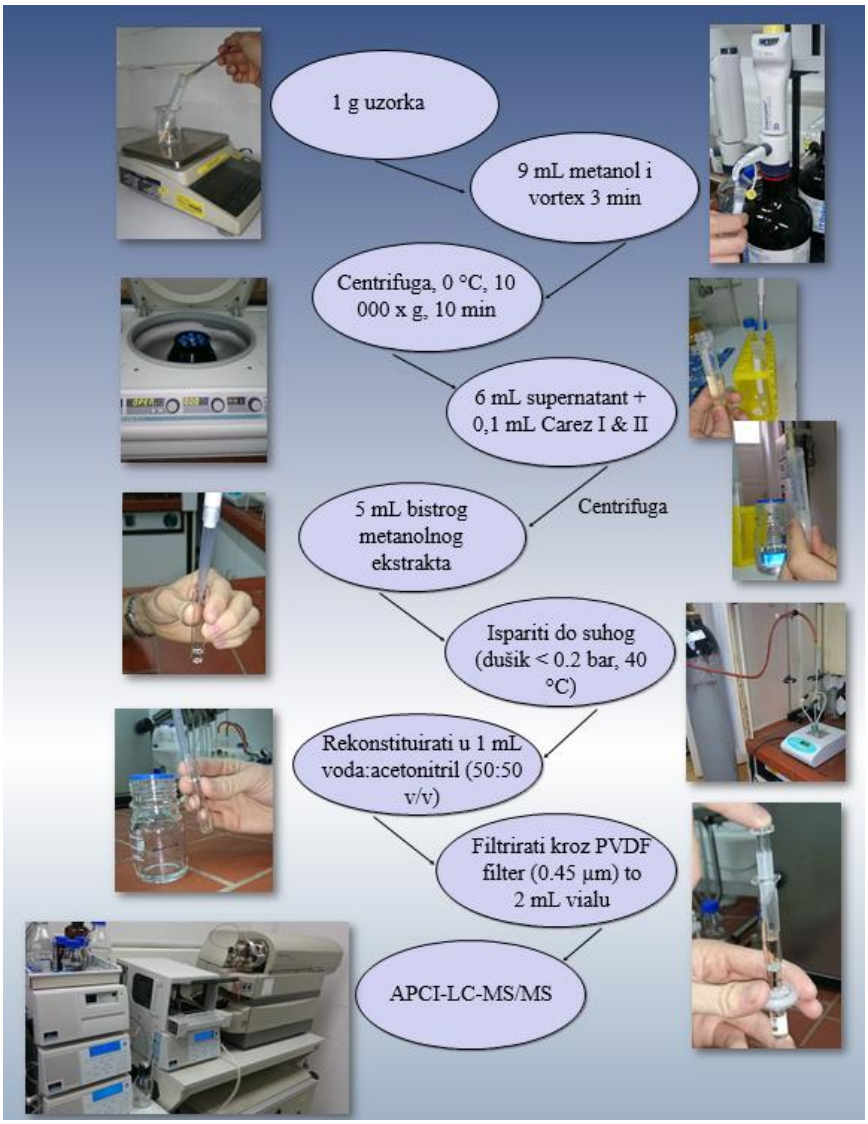
A_u – apsorbancija uzorka.

3.3.4.11 Određivanje akrilamida (AA) i hidroksimetilfurfurala (HMF-a)

Udio AA i HMF određen je prema Jozinović (2015.).

Priprema uzorka i ekstrakcija

Ekstrakcija AA i HMF iz uzorka provodi se kako je prikazano na **Slici 45**. Nakon vaganja uzorka doda se metanol. Uzorci se centrifugiraju, uzima se supernatant u drugu kivetu. Kako bi se istaložili proteini i druge koloidne tvari koje su se ekstrahirale dodaju se otopine Carrez I (15 g kalijevog heksacijanoferata u 100 mL vode) i Carrez II (20 g cinkova sulfata u 100 mL vode) te se smjesa vorteksira. Uzorci se ostave stajati na sobnoj temperaturi 20 min, nakon čega se uzorci centrifugiraju. Odpipetira se 5 mL bistrog metanolnog ekstrakta u staklene kivete. Ekstrakti se otpare u blagoj struji dušika do suhog i rekonstituiraju se u 1 mL smjese voda:acetonitril (50:50 v/v), vorteksira se 2 min. Uzorak se filtrira kroz PVDF (polivinil difluorid) filter za špricu (0,45 µm veličina pora) u 2 mL viale za autosampler. U LC kolonu injektirano je 20 µL uzorka i provedena je analiza na LC-MS/MS sustavu.

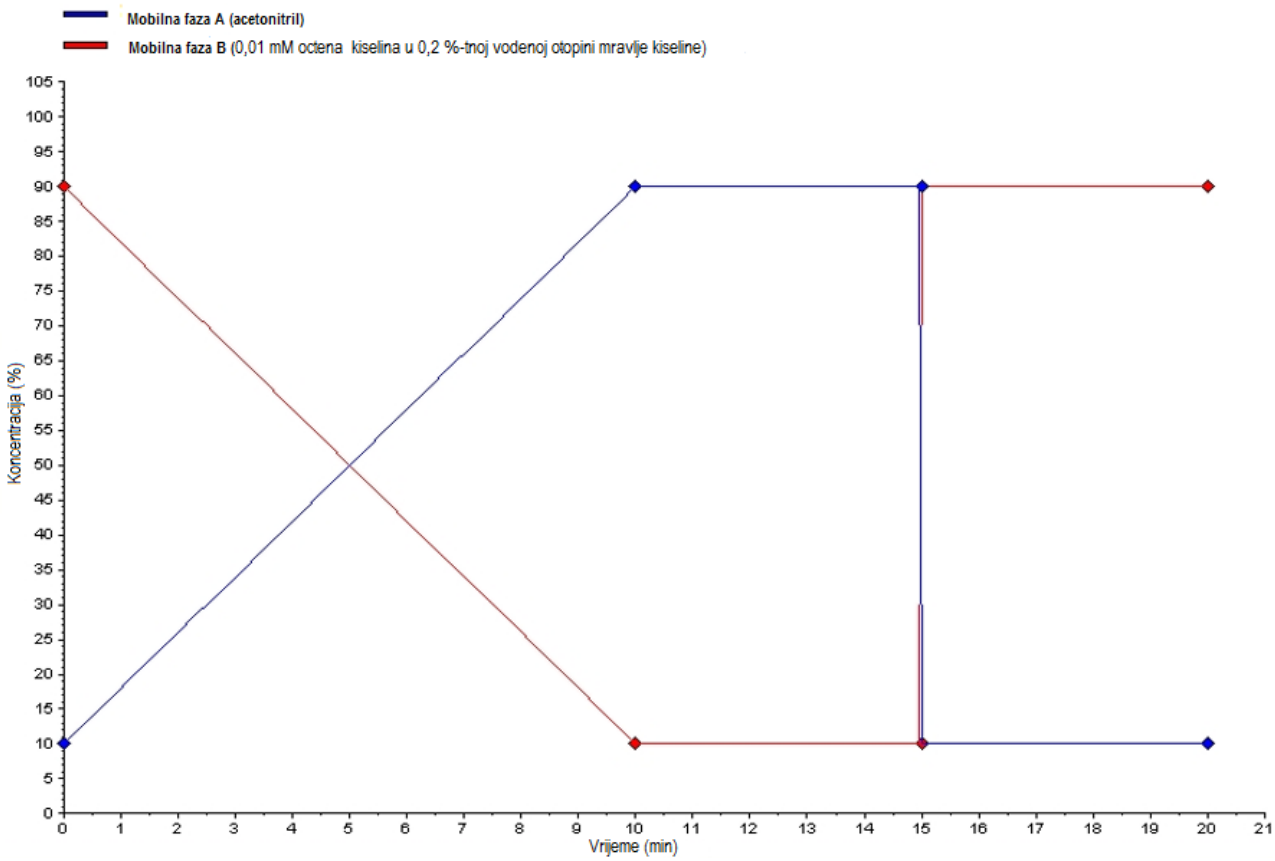


Slika 45 Ekstrakcija AA i HMF iz uzorka, priprema za analizu (Jozinović i sur., 2015.)

LC-MS/MS analiza akrilamida i HMF-a

Sustav korišten za analizu je API 2000 MS/MS (QqQ) (Applied Biosystems/MDS SCIEX), s HPLC sustavom (PerkinElmer) koji se sastoji od binarne pumpe s vakuum otplinjačem, autosamplerom (PerkinElmer), komore za uzorke i grijačem kolona. Ionizacija je provedena s APCI (engl. *atmospheric pressure chemical ionization*) ionskim izvorom, a separacija iona trostrukim kvadropolom (tandemski MS).

Separacija je provedena uz primjenu Zorbax C18 kolone uz mobilne faze acetonitril (mobilna faza A) i 0,01 mM octena kiselina u 0,2 %-tnoj vodenoj otopini mravlje kiseline (mobilna faza B). Eluacija je provedena pri temperaturi 25 °C uz protok 0,3 $mLmin^{-1}$ uz primjenu gradijenta prikazanog na **Slici 46.**



Slika 46 Koncentracijski gradijent mobilnih faza

Analiza traje 20 min, pri čemu je prvih 8 min eluat ide u otpad, nakon čega je do 17 min propuštan na MS, a zatim je do kraja analize ponovno ispuštan u otpad kako bi se što manje kontaminirao APCI izvor.

Ionizacija je provedena u APCI pozitivnom modu. Kvantifikacija je provedena u MRM (engl. *multiple reaction monitoring*) modu, pri čemu se za kvantifikaciju akrilamida pratila ionska tranzicija *m/z* 72,01 → *m/z* 54,93; dok je za kvantifikaciju HMF-a praćena ionska tranzicija: *m/z* 126,98 → *m/z* 108,77, a za kvalitativnu provjeru: *m/z* 126,98 → *m/z* 80,74.

3.3.5. Određivanje senzorskih svojstava

Određivanje senzorskih svojstava 3G proizvoda provedeno je prema metodi kvantitativnih skala odgovora (ISO 4121:2003). Ocjenjivački panel sastojao se od 5 treniranih ocjenjivača koji su ocjenjivanje proveli prema ocjenjivačkom listiću (**Prilog 3**).

3.3.6. Statistička obrada podataka

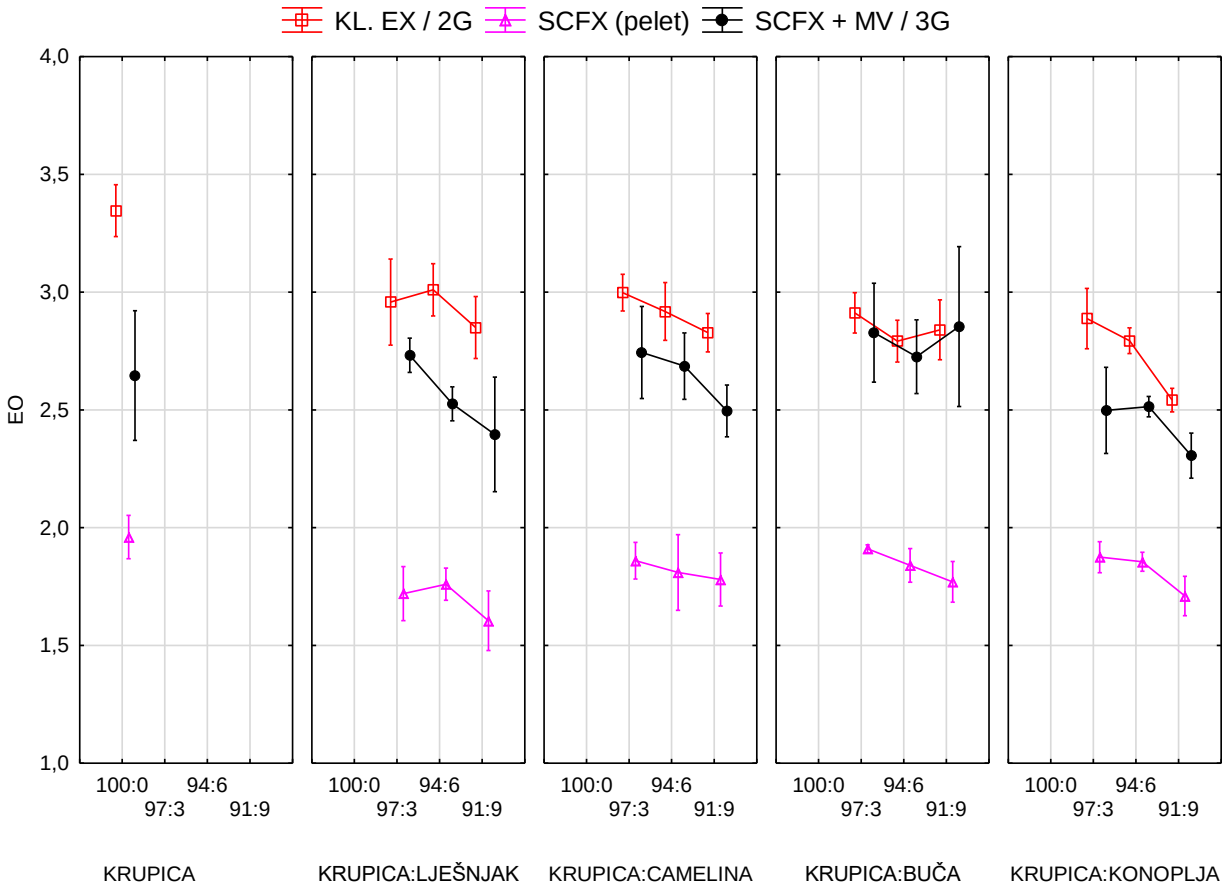
Statistička obrada podataka napravljena je primjenom programa Statistica 13.3 (StatSoft) i Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft). Prilikom obrade rezultata u programu Statistica 13.3

korištena je deskriptivna statistika, kategorizirani (interakcijski) plotovi, jednostruka analiza varijance (ANOVA) i Welch-ov F test.

4. REZULTATI

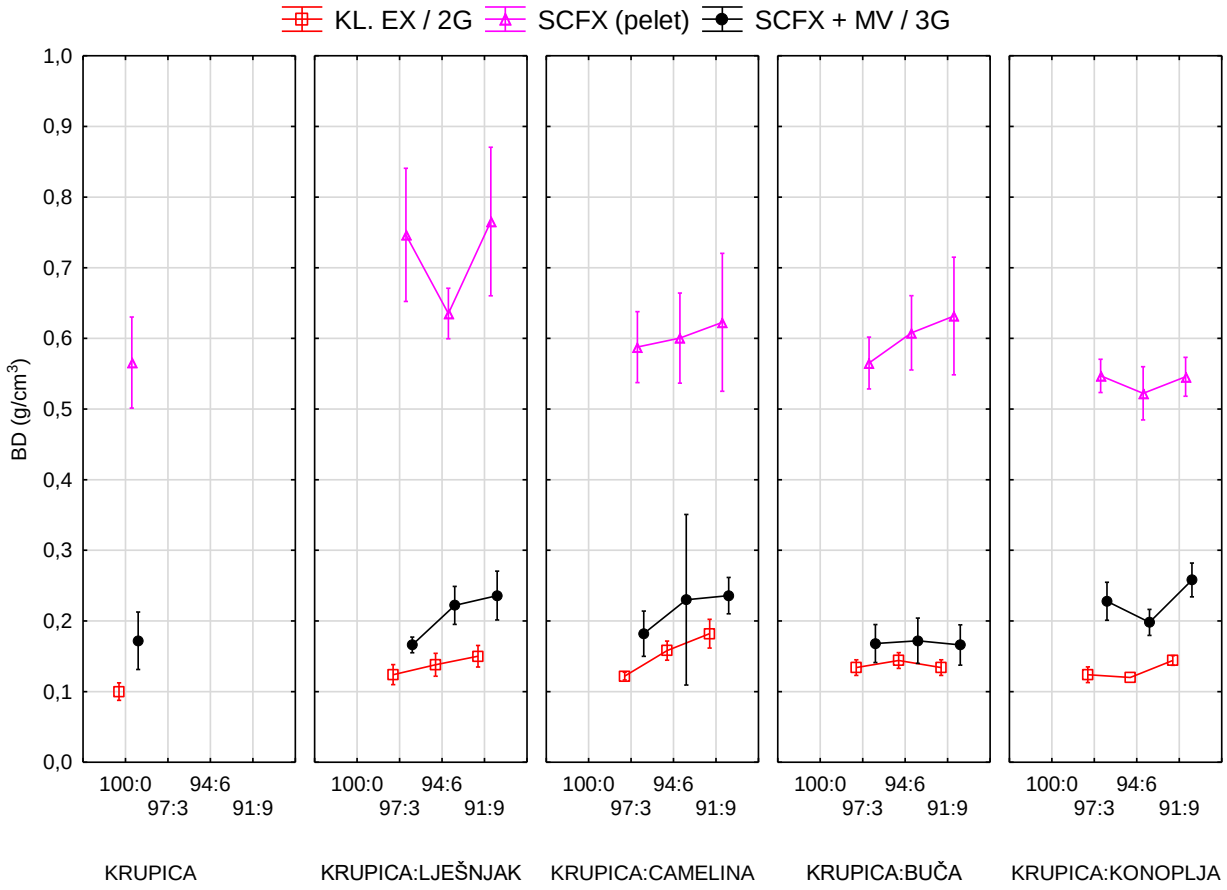
4.1. FIZIKALNA SVOJSTVA

4.1.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO)



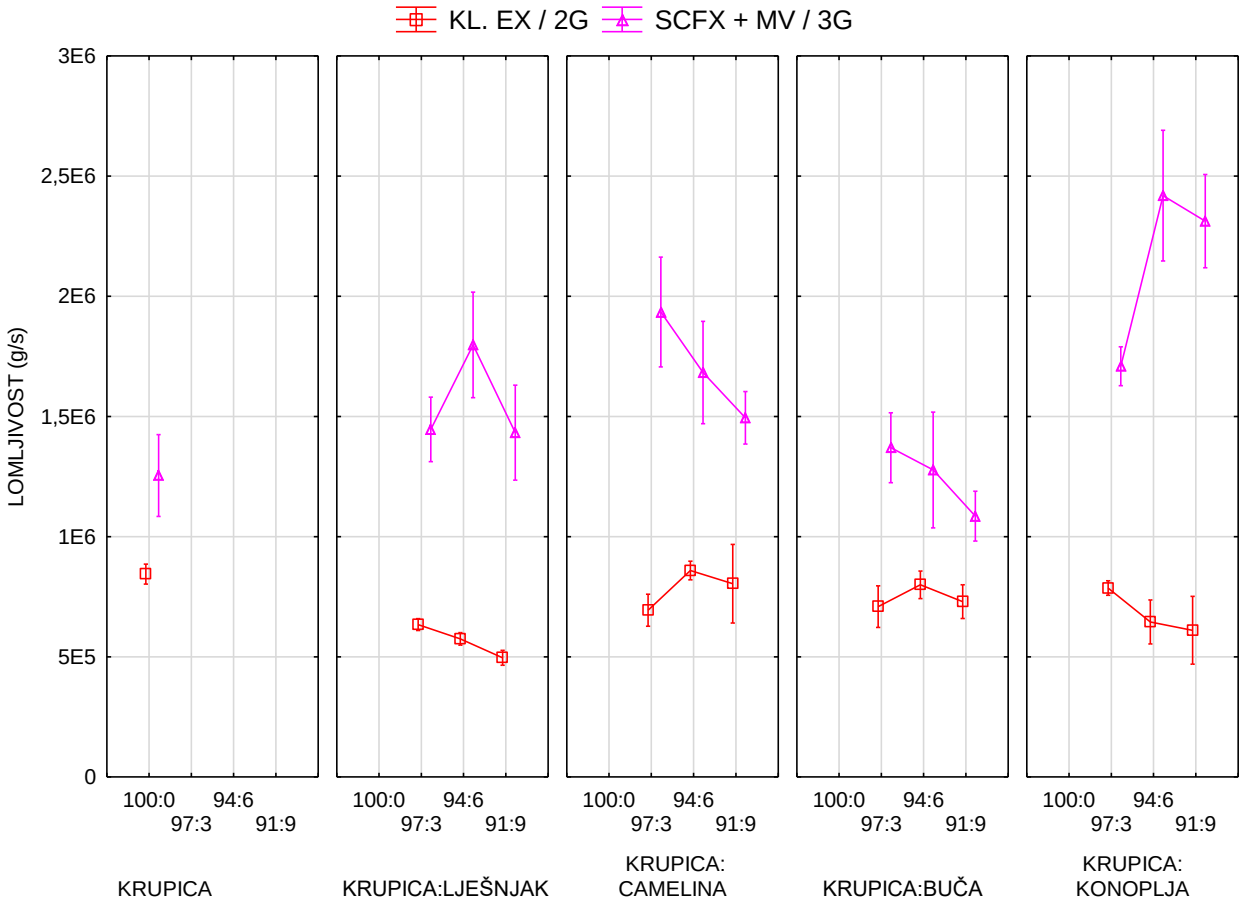
Slika 47 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije na ekspanzijski omjer ekstrudata

4.1.2. Nasipna masa ekstrudata (BD)

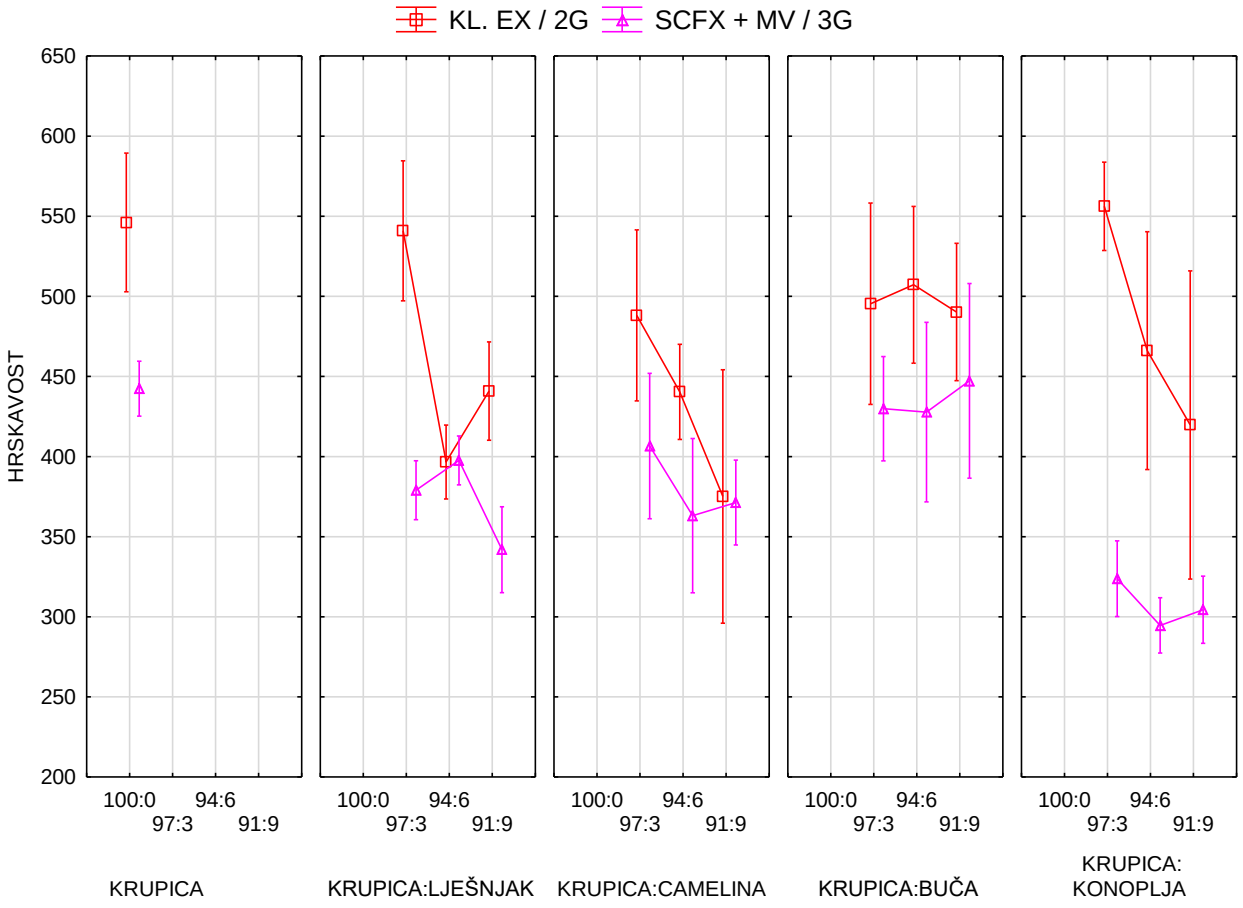


Slika 48 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije na nasipnu masu (BD) ekstrudata

4.1.3. Tekstura (lomljivost i hrskavost) ekstrudata

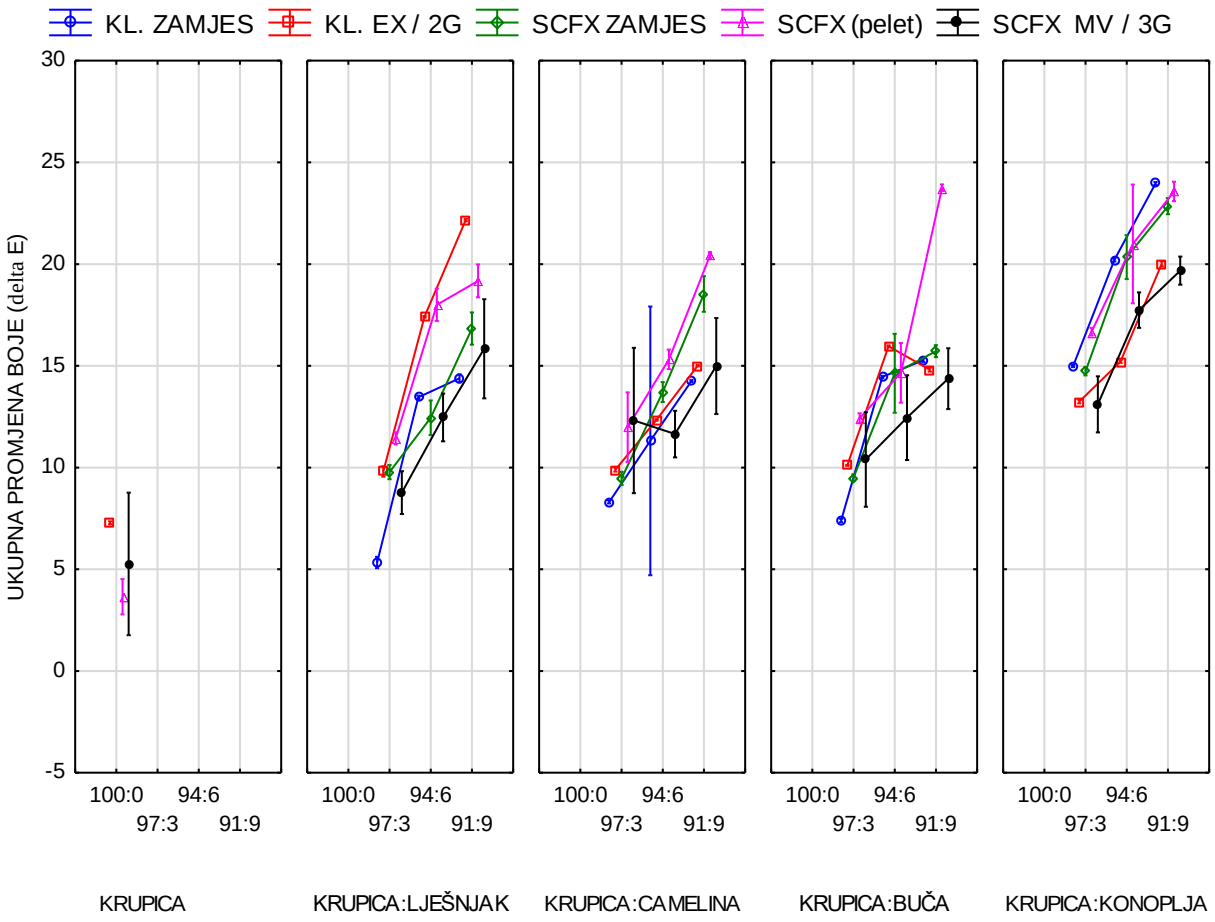


Slika 49 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije na lomljivost ekstrudata

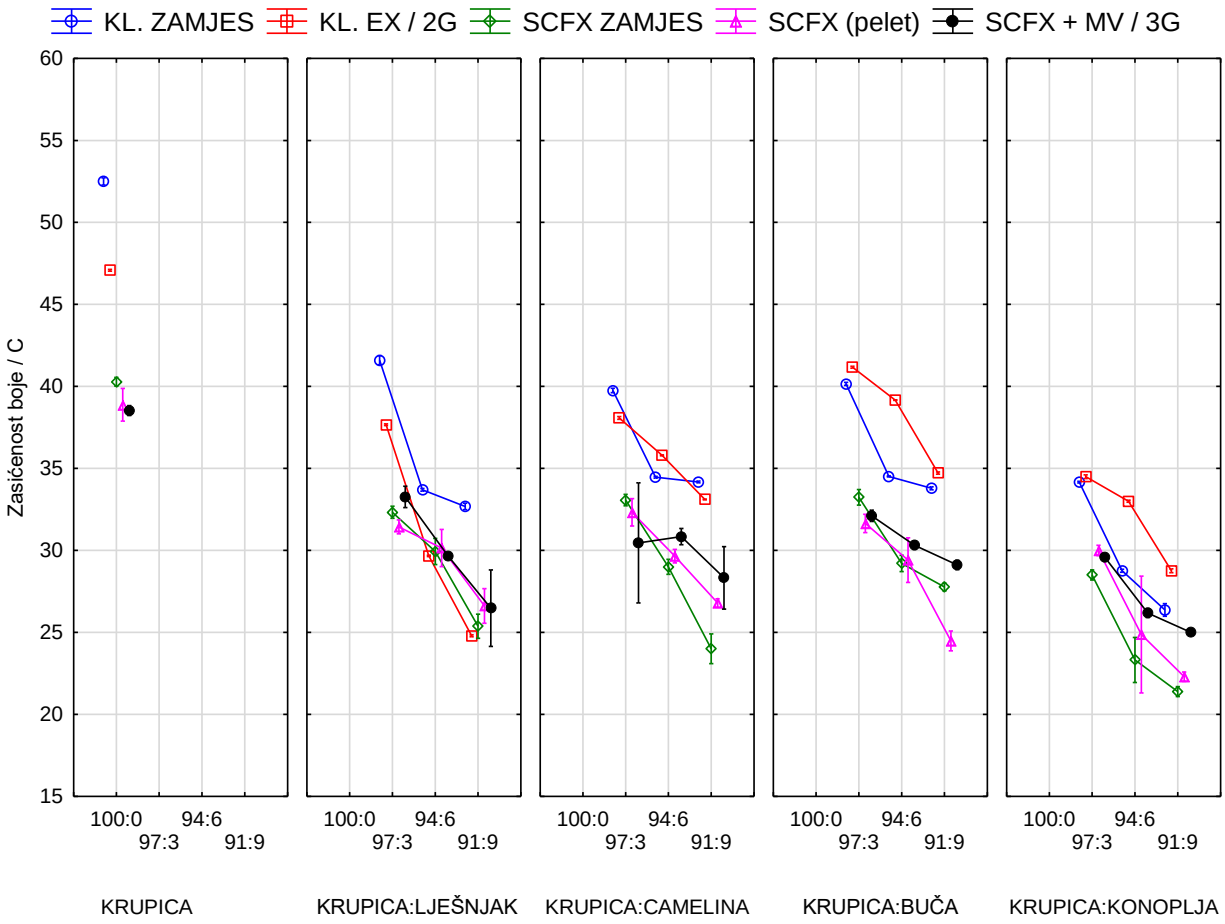


Slika 50 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije na hrskavost ekstrudata

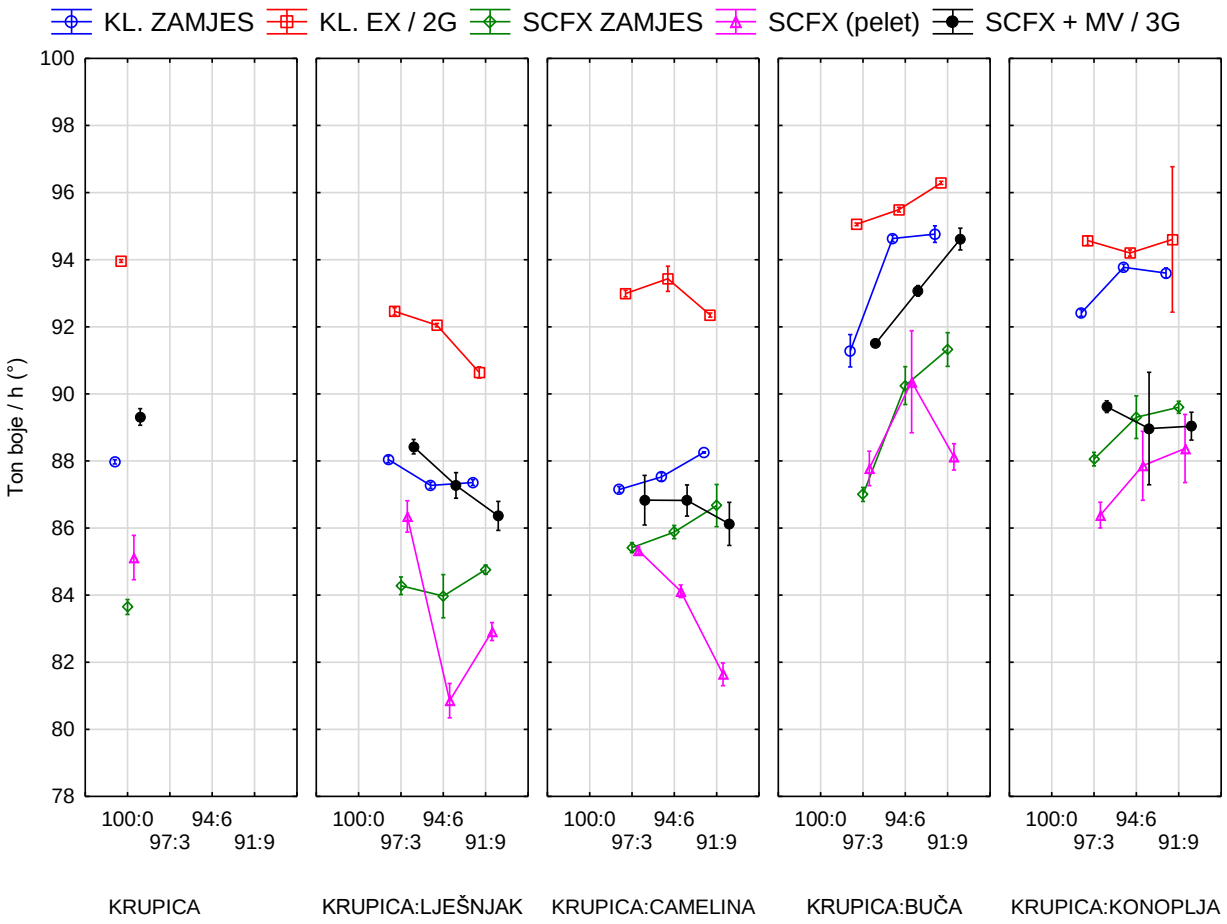
4.1.4. Boja zamjesa i ekstrudata



Slika 51 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na ukupnu promjenu boje zamjesa i ekstrudata

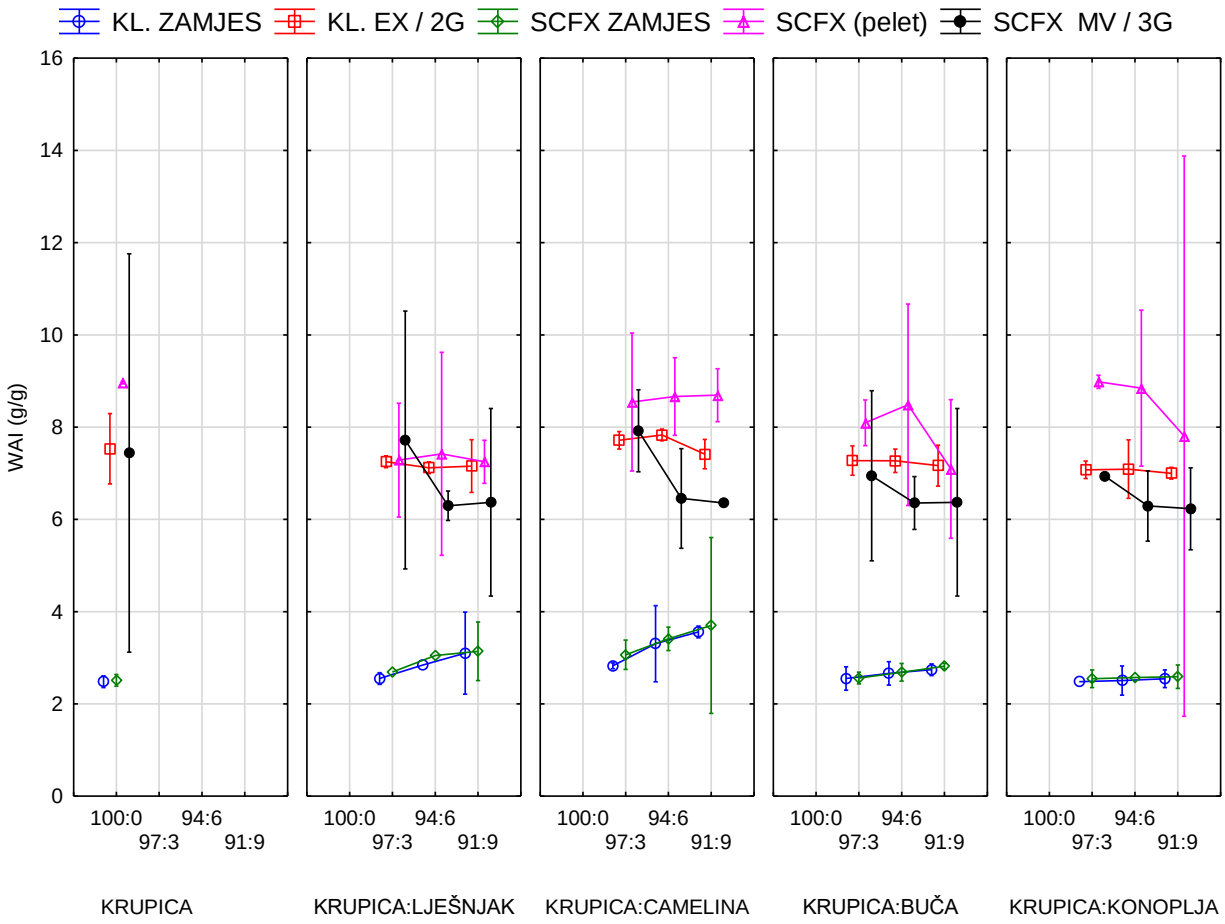


Slika 52 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na zasićenost boje zamjesa i ekstrudata

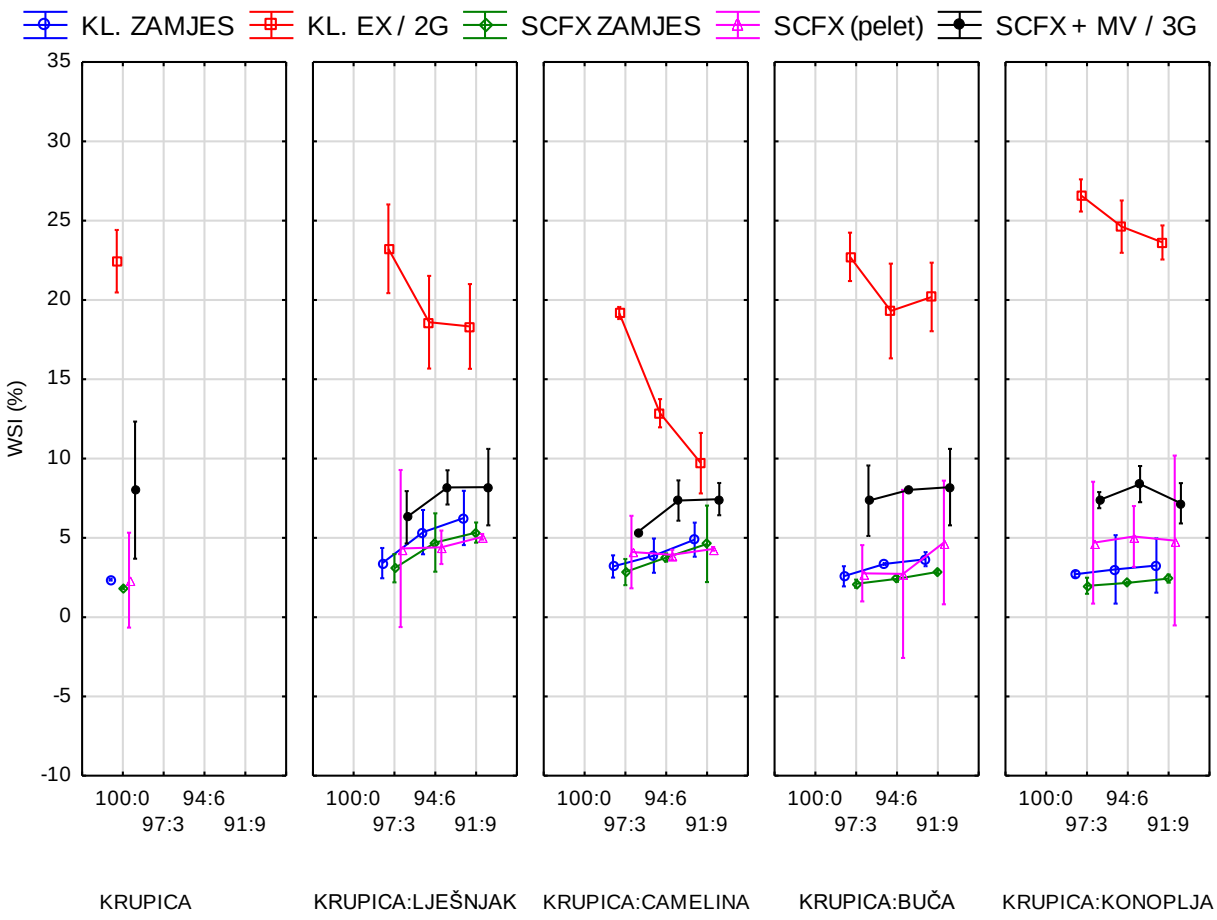


Slika 53 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na ton boje zamjesa i ekstrudata

4.1.5. Indeks apsorpcije (WAI) i indeks topljivosti u vodi (WSI)

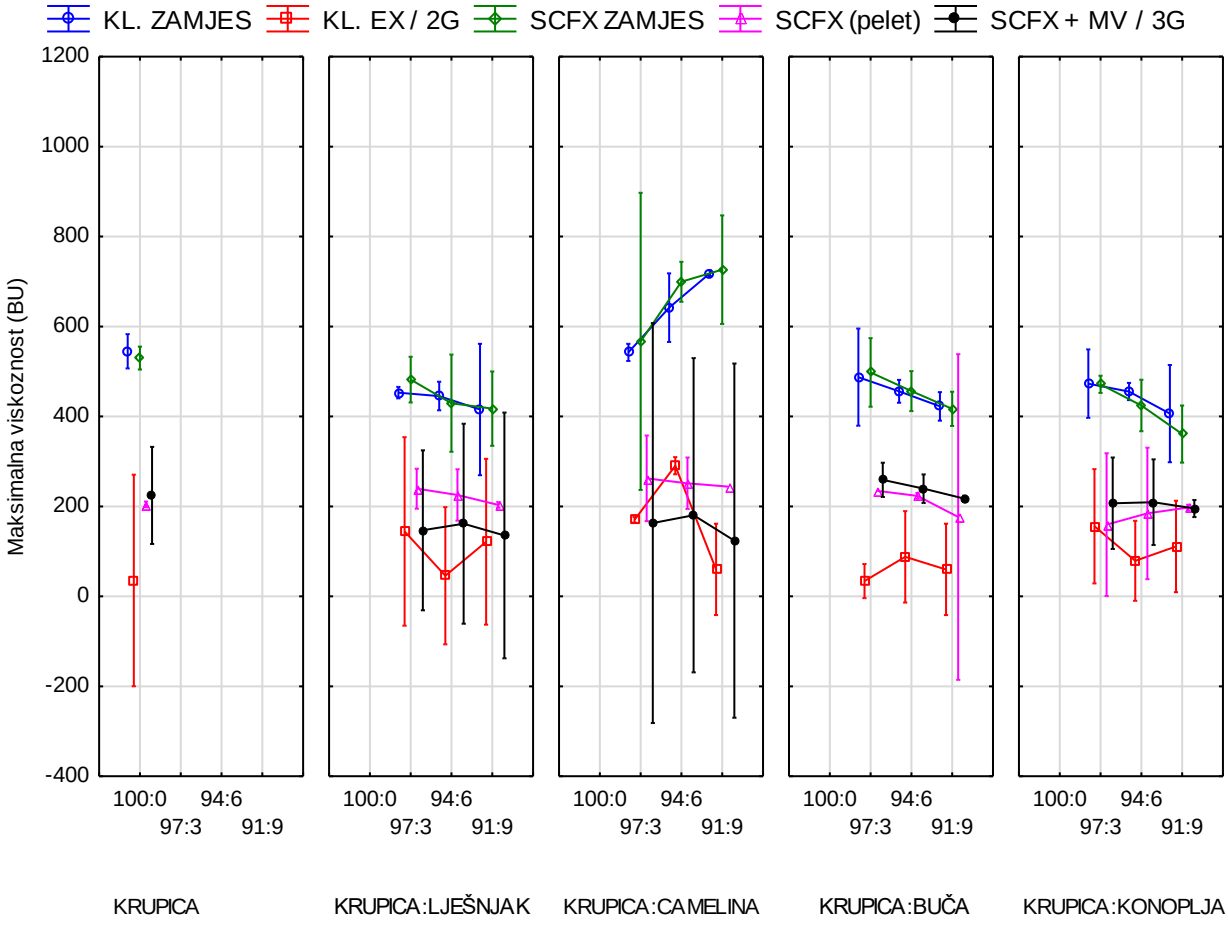


Slika 54 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na indeks apsorpcije vode (WAI) kukuruznih zamjesa i ekstrudata

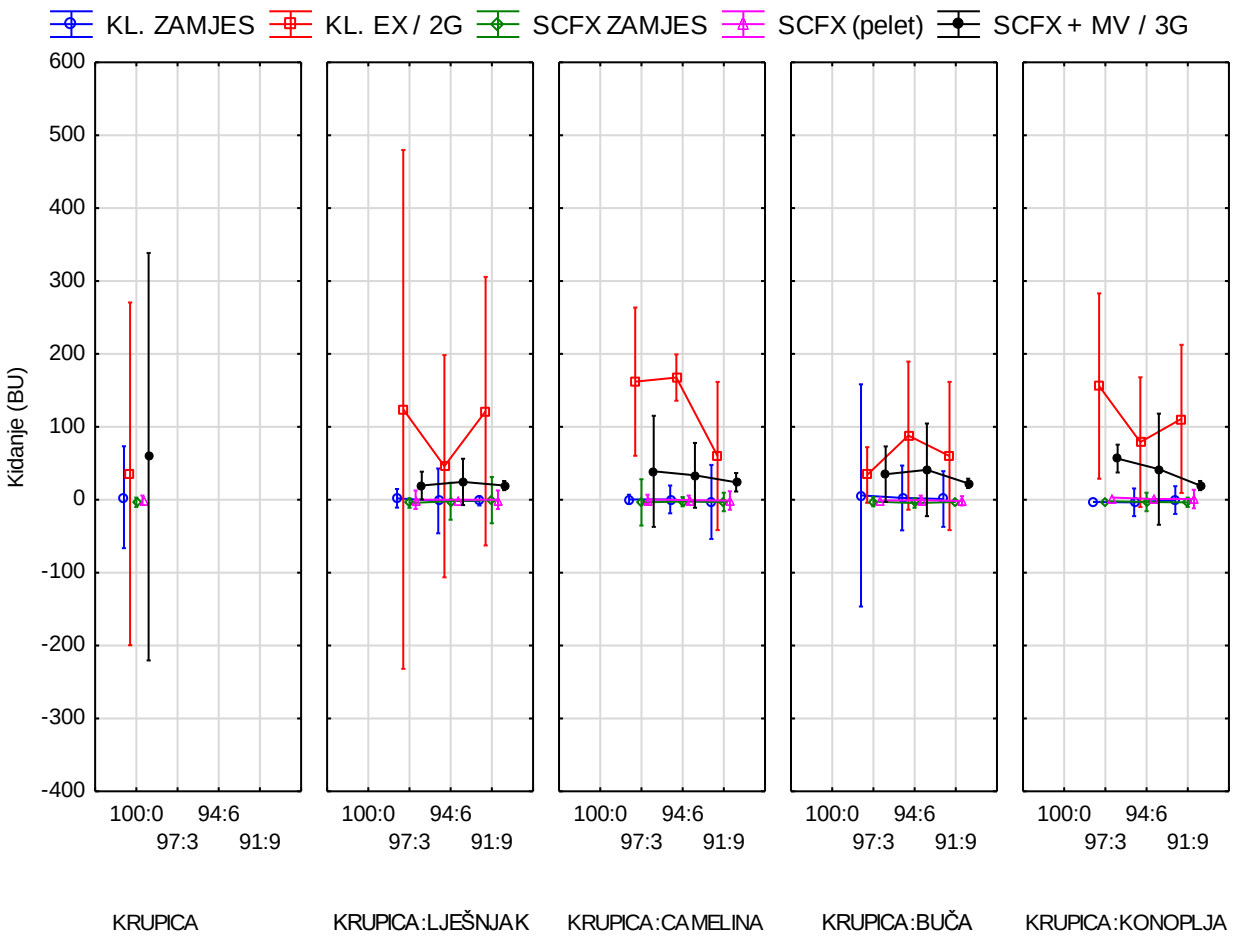


Slika 55 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na indeks topljivosti u vodi (WSI) kukuruznih zamjesa i ekstrudata

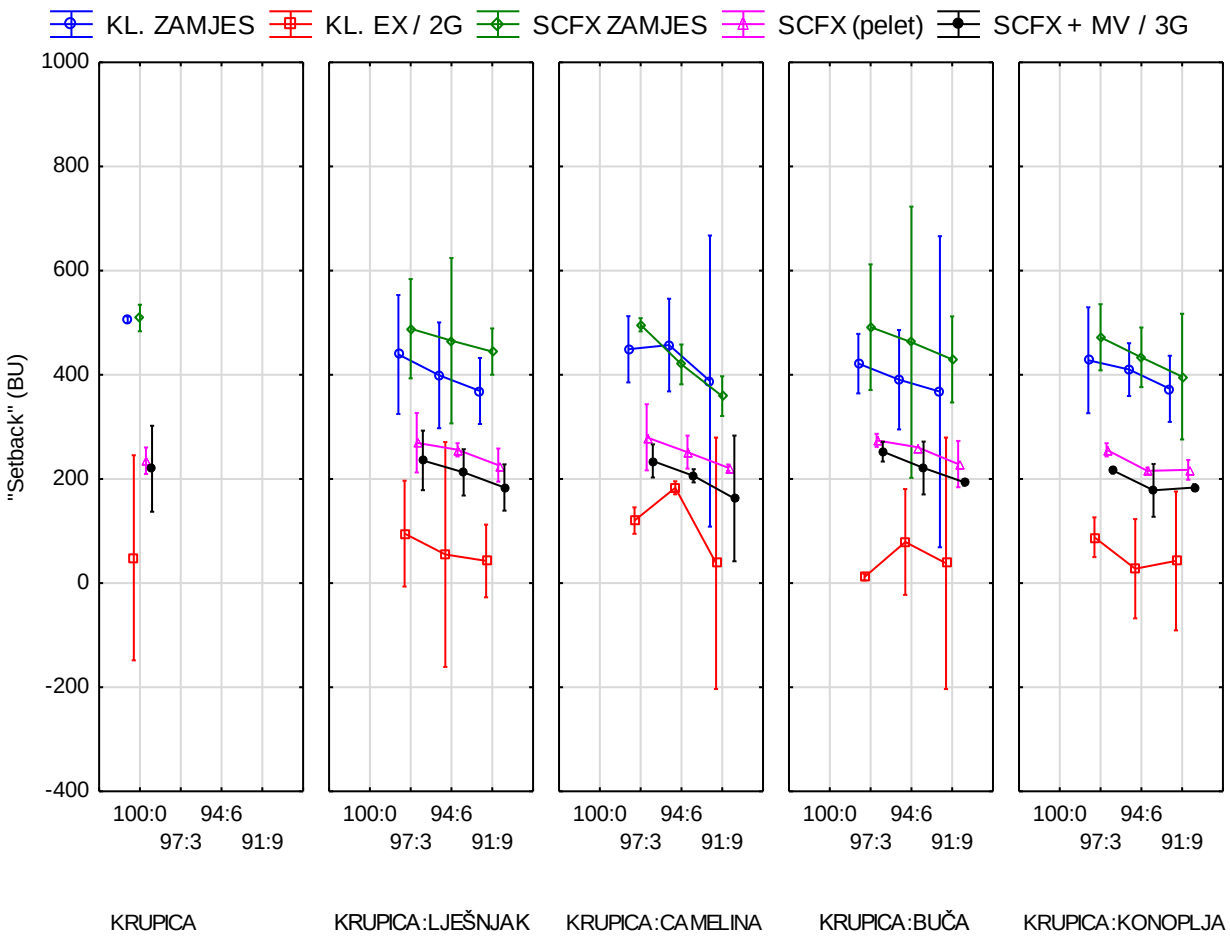
4.1.6. Reološka svojstva zamjesa i ekstrudata



Slika 56 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na maksimalnu viskoznost kukuruznih zamjesa i ekstrudata



Slika 57 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na vrijednosti kidanja kukuruznih zamjesa i ekstrudata



Slika 58 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na „*Setback*“ kukuruznih zamjesa i ekstrudata

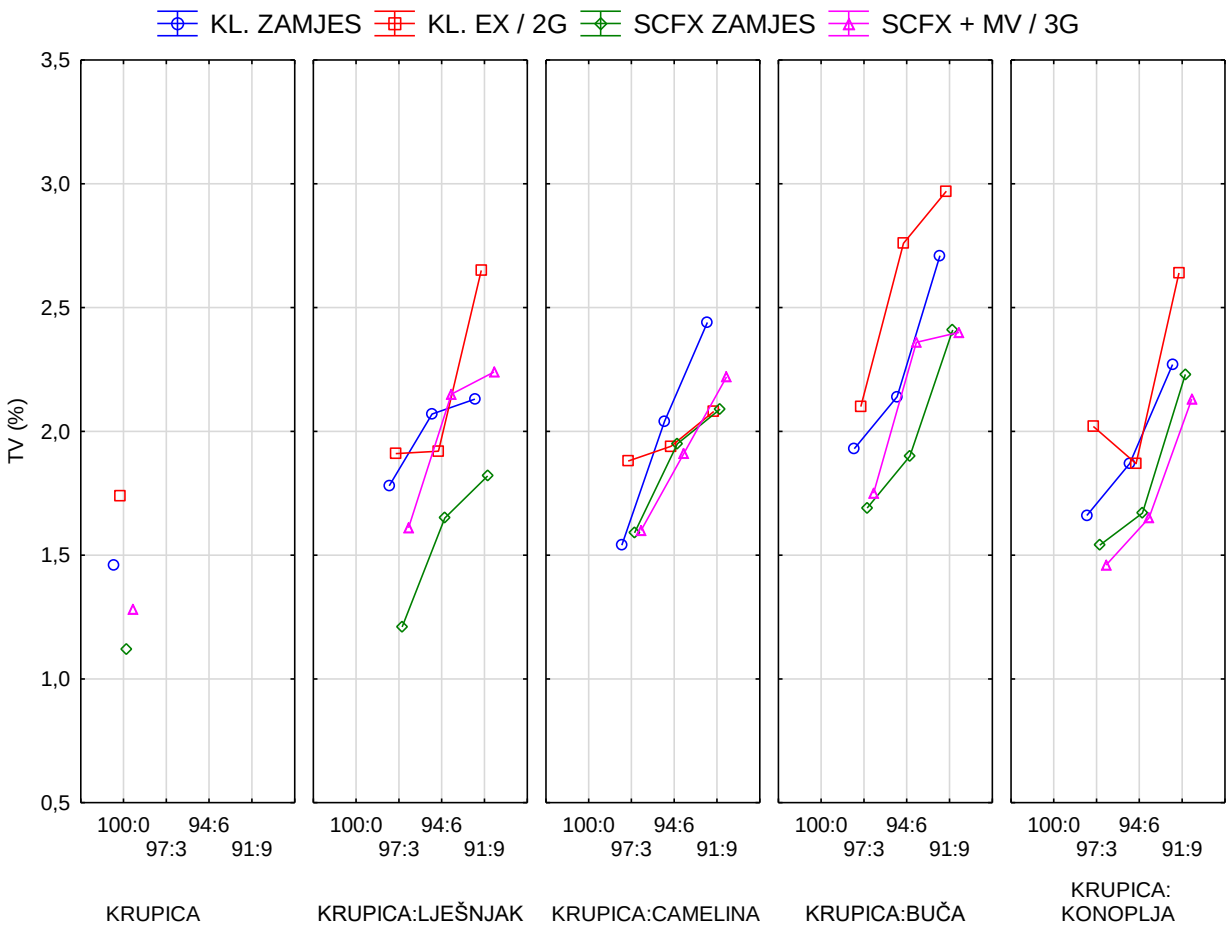
4.2. KEMIJSKA SVOJSTVA

4.2.1. Kemijski sastav sirovina

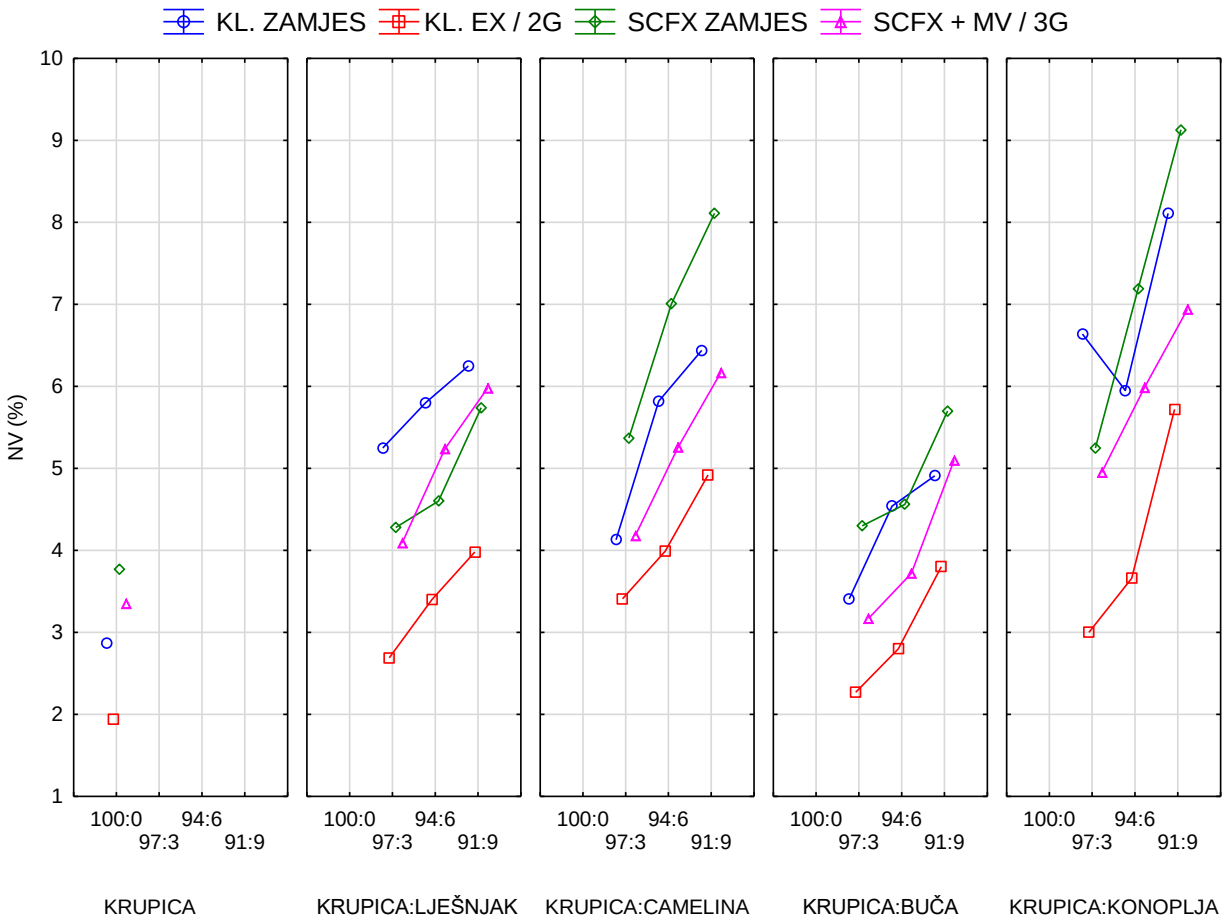
Tablica 6 Osnovni kemijski sastav sirovina i dodatna kemijska svojstva sirovina

Parametar	Uzorak				
	Kukuruzna krupica	Odmašćena pogača lješnjaka	Odmašćena pogača cameline	Odmašćena pogača buče	Odmašćena pogača konoplje
Suha tvar (%)	86,6 ± 0,09	92,37 ± 0,03	90,27 ± 0,01	91,99 ± 0,00	90,63 ± 0,00
Proteini (% s.tv.)	6,75 ± 0,08	32,78 ± 0,04	32,32 ± 0,18	60,94 ± 0,18	32,07 ± 0,53
Masti (% s.tv.)	0,66 ± 0,01	1,80 ± 0,04	1,05 ± 0,00	0,94 ± 0,04	0,97 ± 0,00
Pepeli (% s.tv.)	0,38 ± 0,03	7,77 ± 0,11	7,89 ± 0,06	9,93 ± 0,01	9,65 ± 0,05
Ugljikohidrati (% s.tv.)	92,21	57,65	58,74	28,19	57,31
Topljiva vlakna (% s.tv.)	0,95 ± 0,001	5,27 ± 0,003	6,48 ± 0,01	7,32 ± 0,01	4,08 ± 0,001
Netopljiva vlakna (% s.tv.)	2,87 ± 0,003	33,81 ± 0,01	38,39 ± 0,01	24,02 ± 0,002	45,43 ± 0,001
Ukupna vlakna (% s.tv.)	3,82 ± 0,005	39,08 ± 0,006	44,87 ± 0,002	31,34 ± 0,002	49,51 ± 0,001
Polifenoli (mg GAE/100 g s.tv.)	44,88 ± 0,04	203,40 ± 6,55	1467,55 ± 3,32	81,40 ± 5,19	279,30 ± 18,10
DPPH (%)	13,08 ± 1,14	46,33 ± 3,42	567,15 ± 11,41	17,75 ± 2,62	93,34 ± 0,43

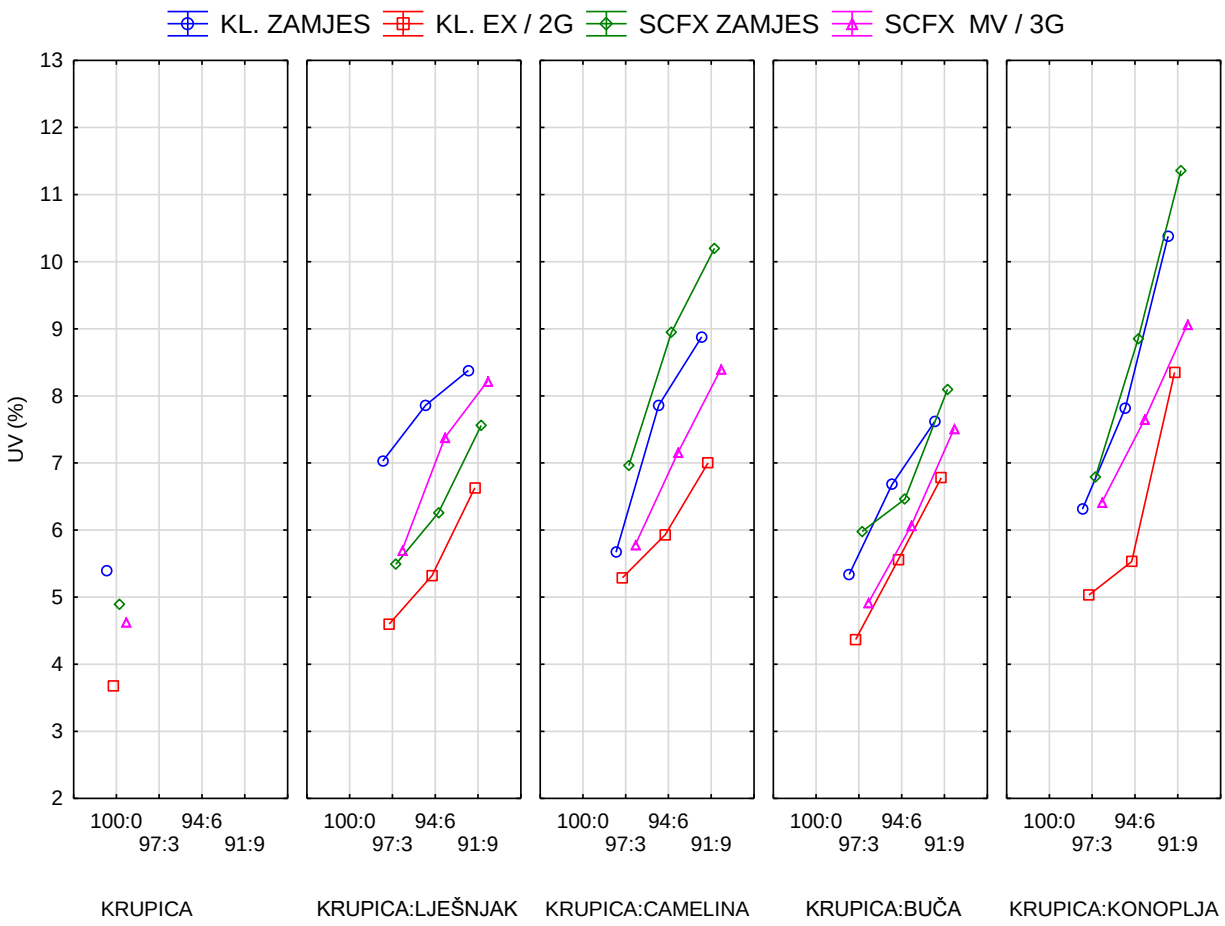
4.2.2. Udio ukupnih (UV), topljivih (TV) i netopljivih vlakana (NV)



Slika 59 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na udio topljivih vlakana u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

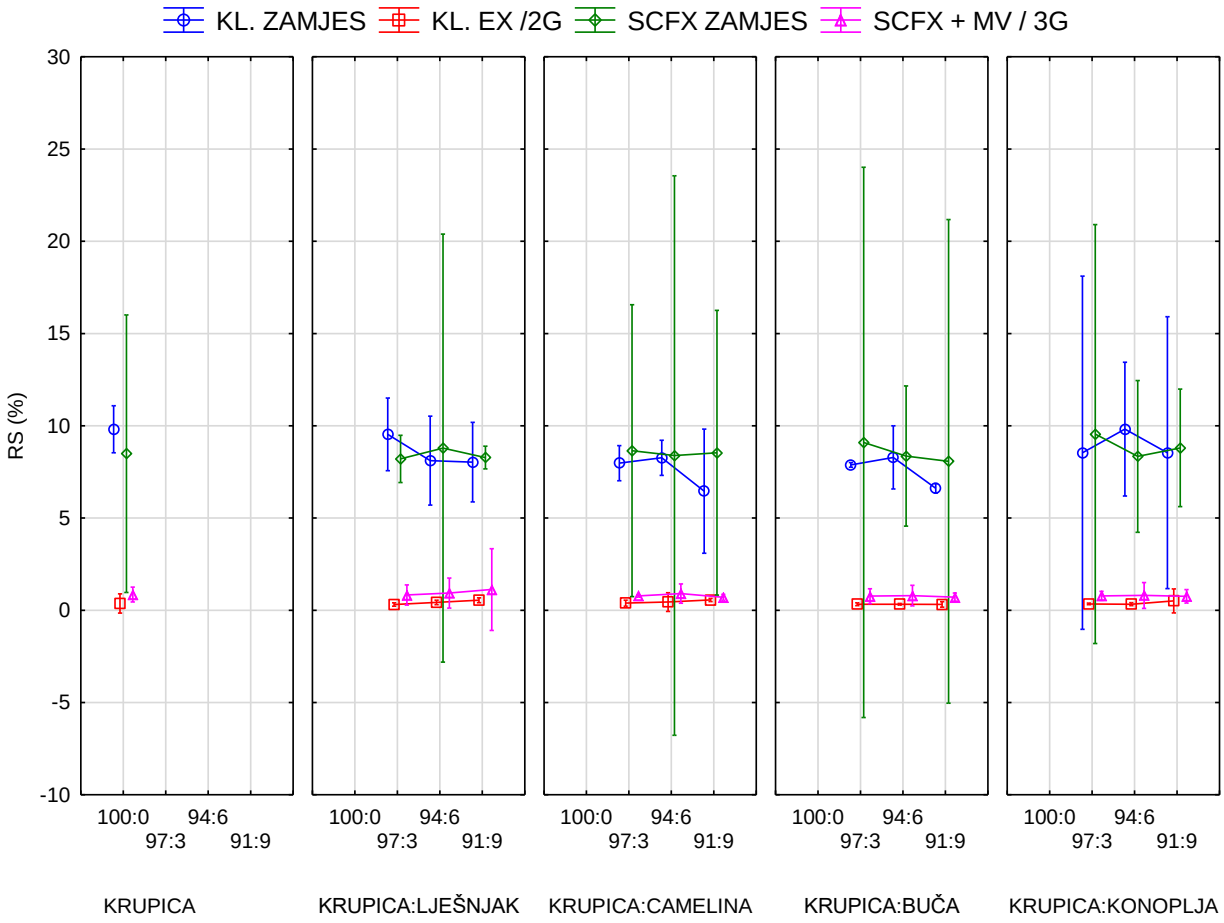


Slika 60 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na udio netopljivih vlakana u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

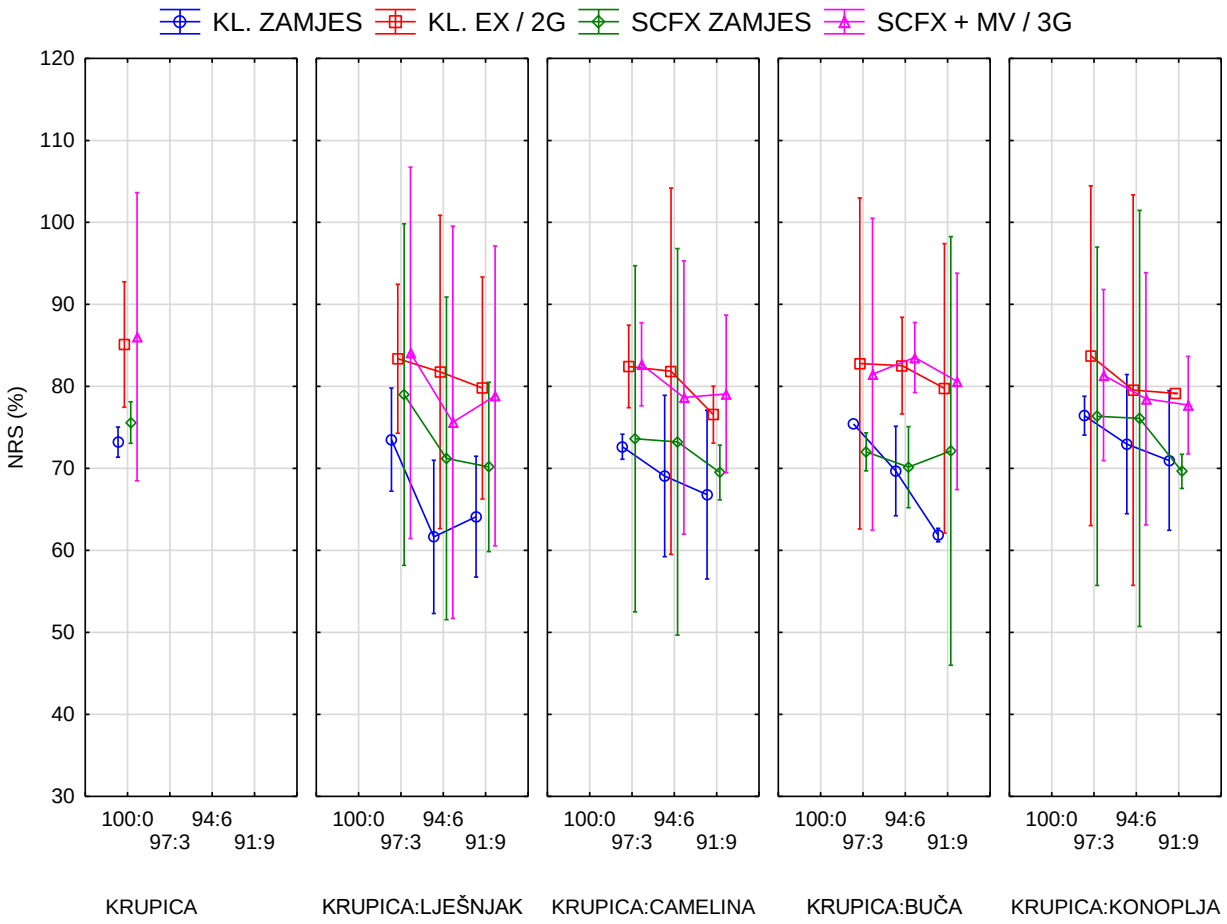


Slika 61 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na udio ukupnih vlakana u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

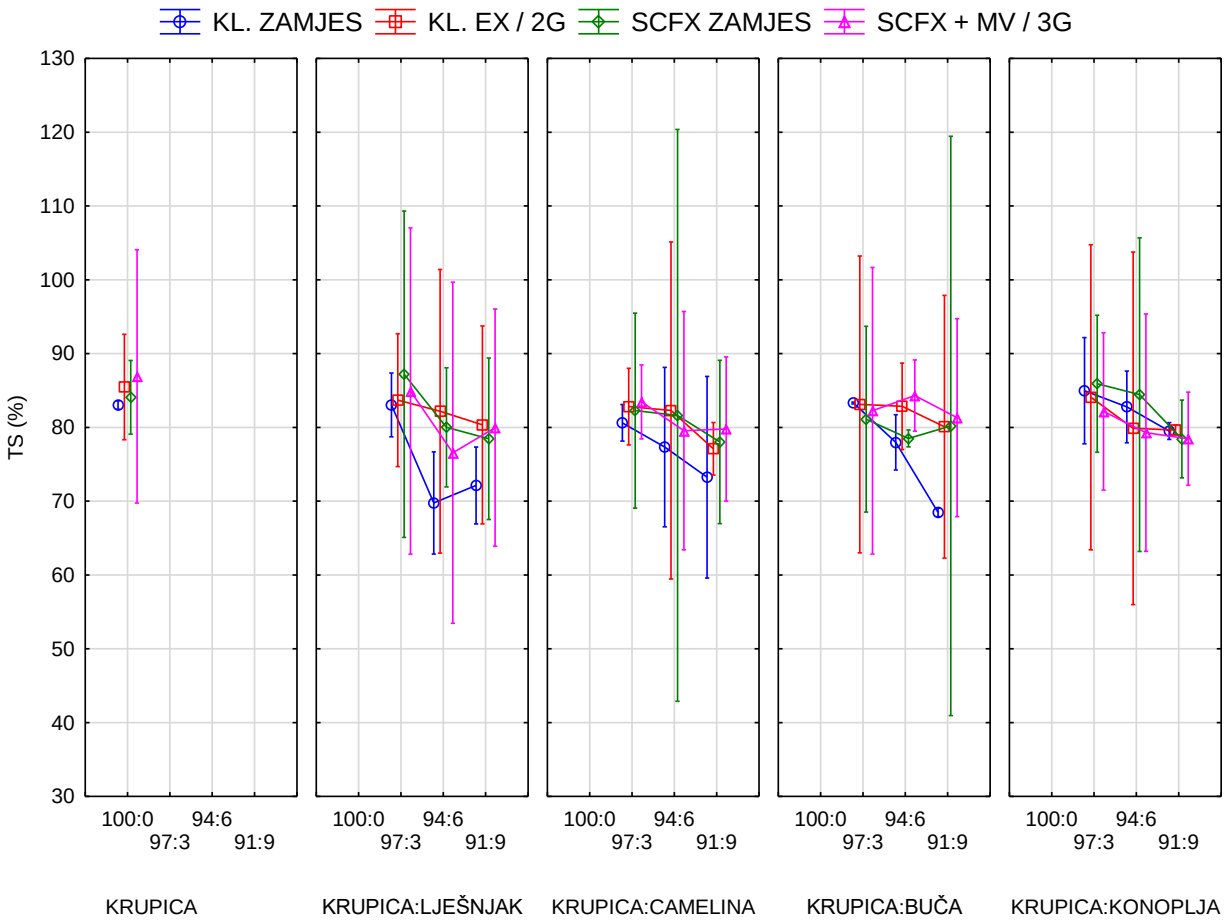
4.2.3. Udio rezistentnog (RS), nerezistentnog (NRS) i ukupnog škroba (TS)



Slika 62 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na udio rezistentnog škroba u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

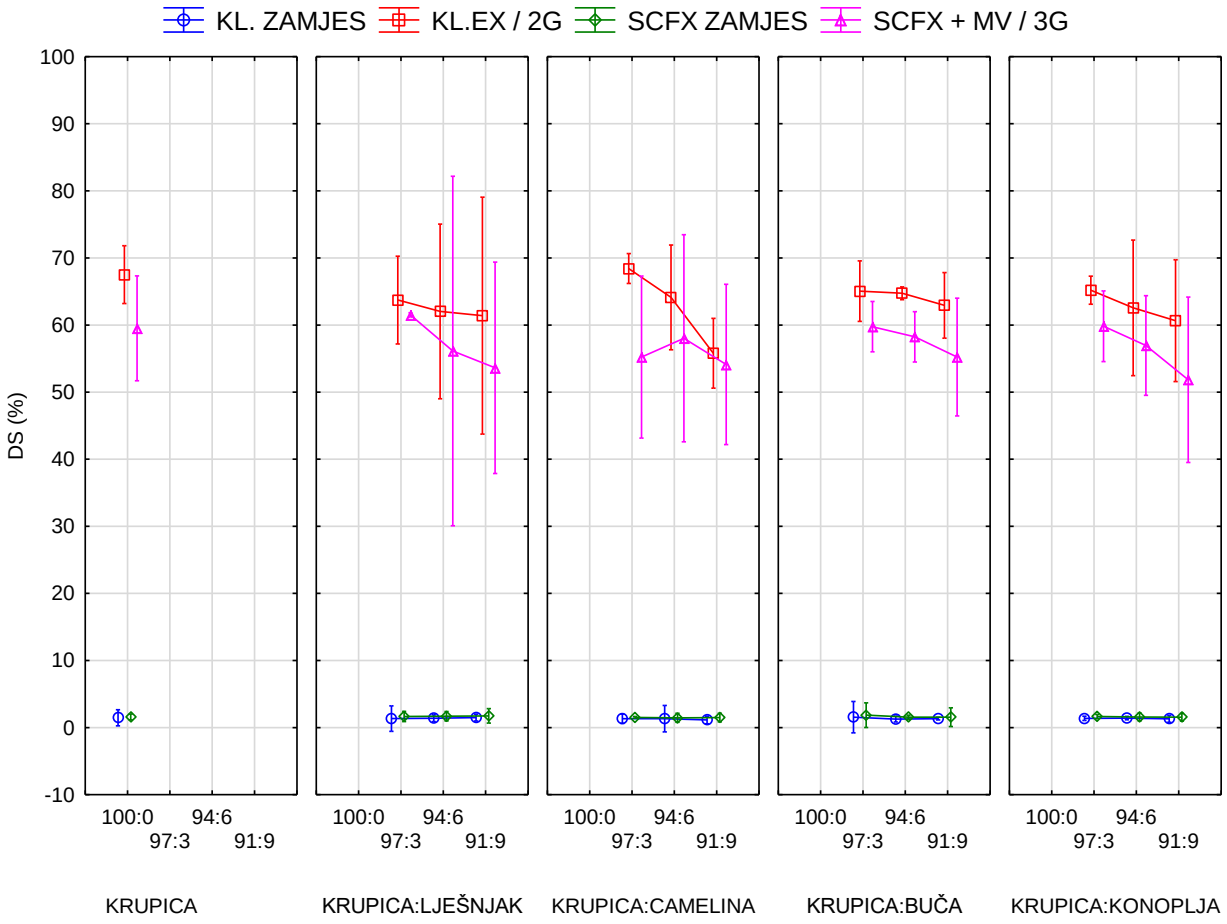


Slika 63 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na udio nerezistentnog škroba u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima



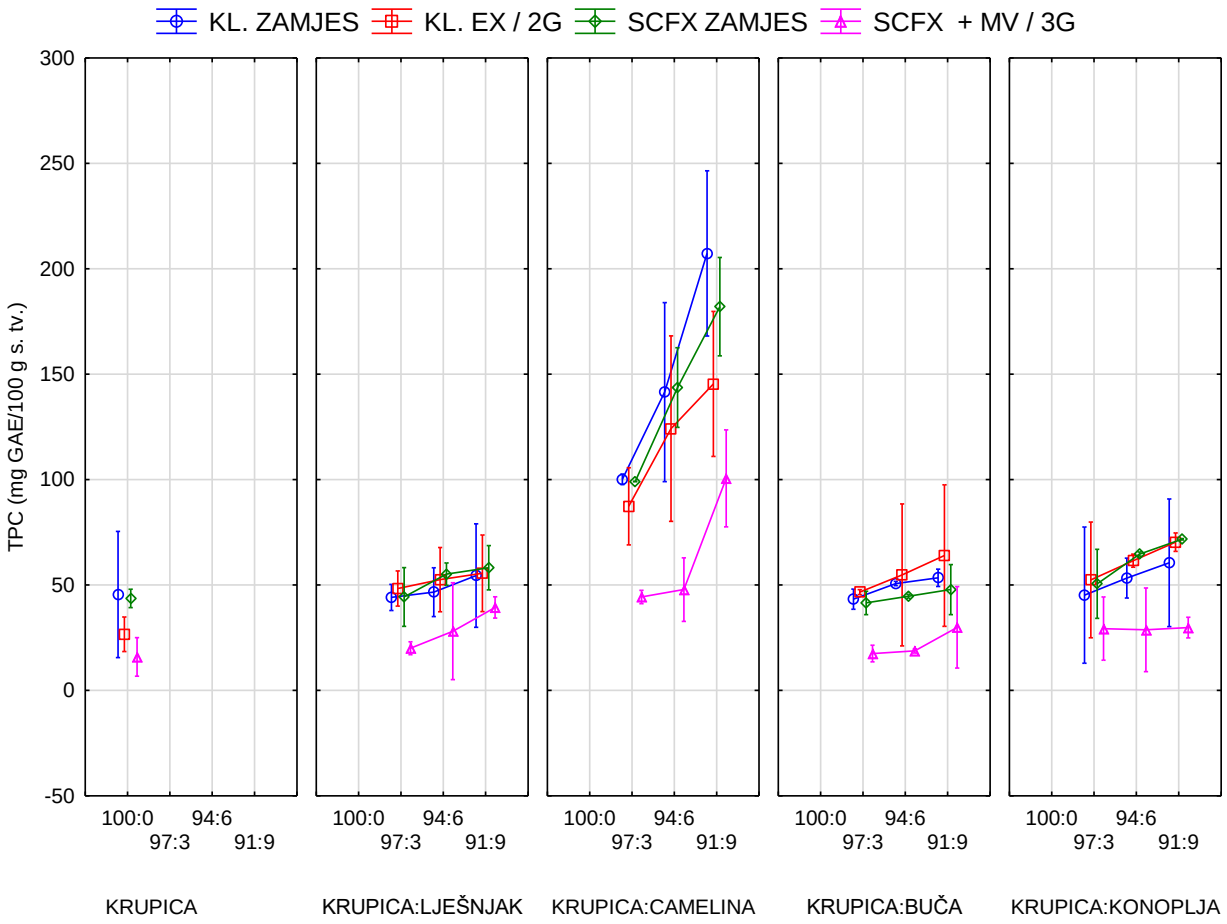
Slika 64 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na udio ukupnog škroba u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

4.2.4. Stupanj oštećenosti škroba (DS)

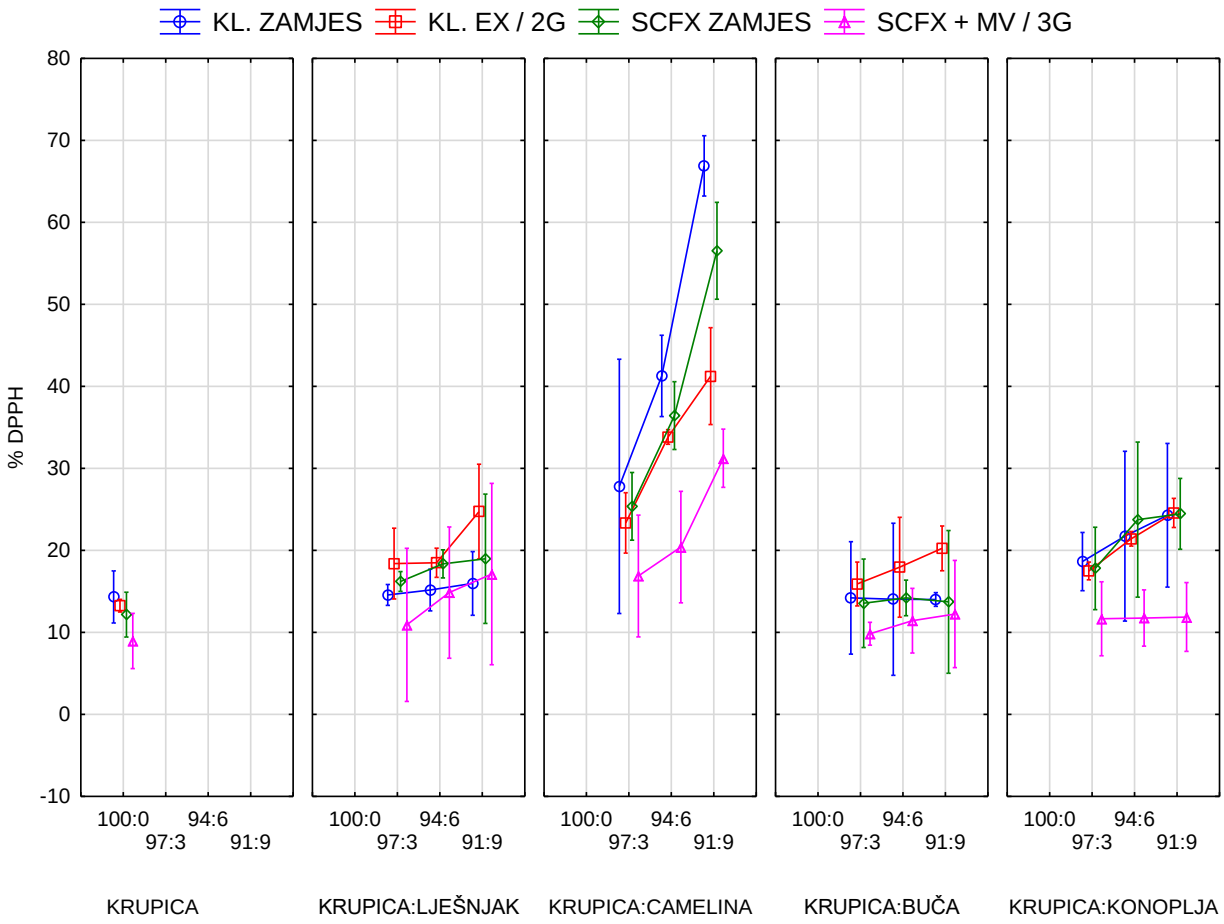


Slika 65 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na stupanj oštećenosti škroba u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

4.2.5. Udio ukupnih polifenola (TPC) i antioksidativna aktivnost



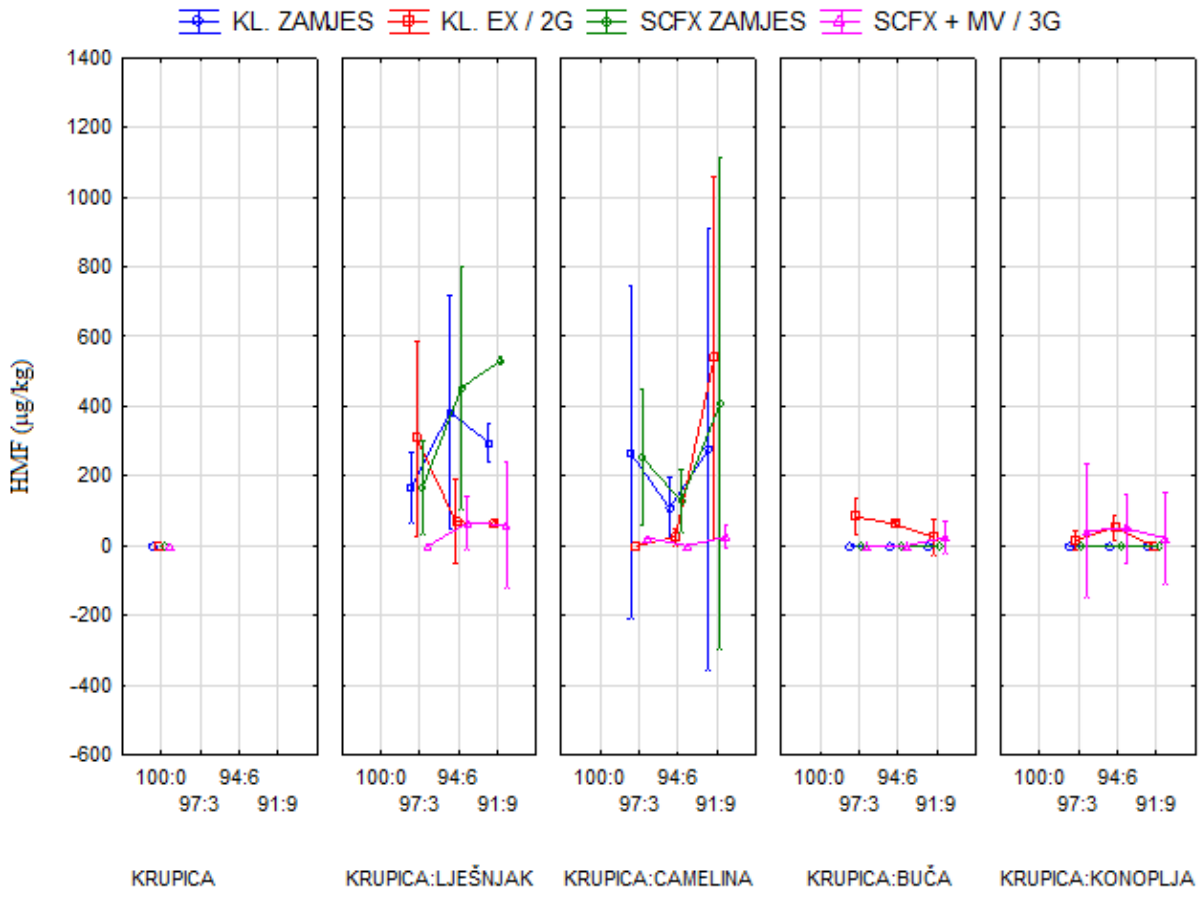
Slika 66 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na udio polifenola u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima



Slika 67 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na antioksidativnu aktivnost (% DPPH) u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

4.2.6. Udio akrilamida (AA) i hidroksimetilfurfurala (HMF-a)

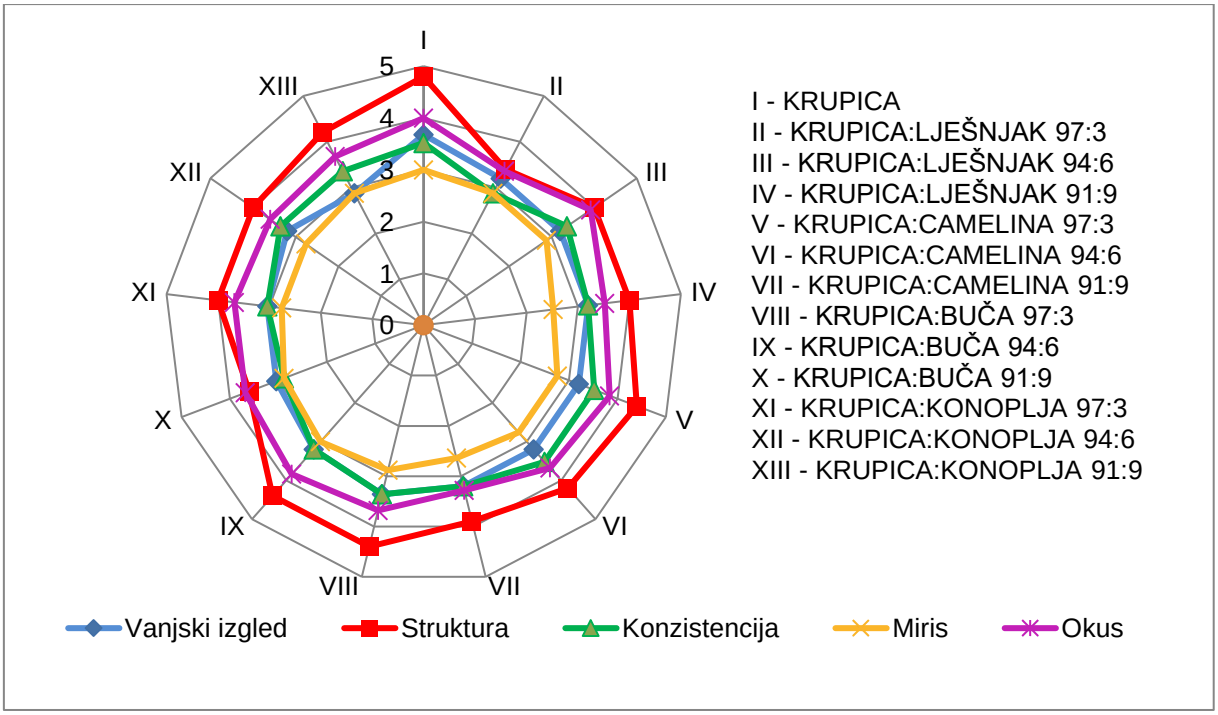
Udio AA u svim uzorcima je bio ispod limita detekcije (<3.79 μg/kg), zbog čega rezultati nisu prikazani.



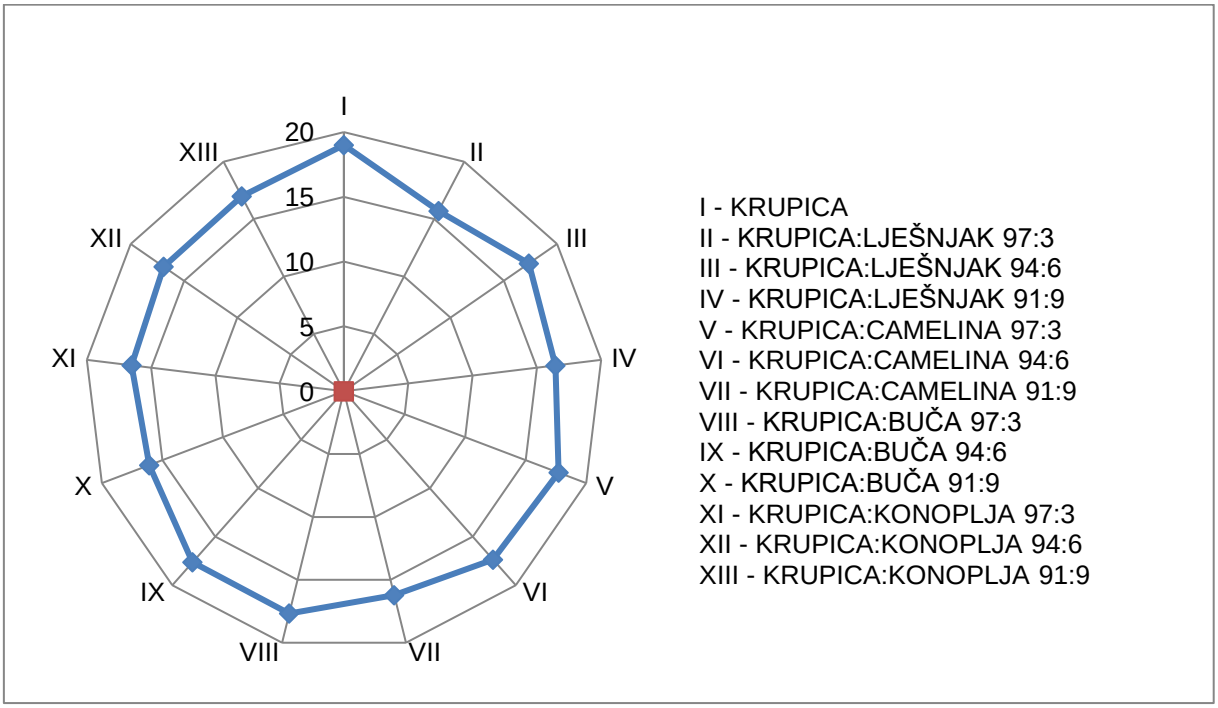
*Uzorci na grafu prikazani kao nule / „0“ predstavljaju uzorke čije su vrijednosti HMF bile ispod limita detekcije (<22,05 μg/kg)

Slika 68 Utjecaj vrste i udjela pogače te vrste ekstruzije i zamjesa na udio HMF u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

4.3. SENZORSKA SVOJSTVA



Slika 69 Senzorska svojstva snack proizvoda ekspandiranih mikrovalovima (3G)



Slika 70 Ukupna senzorska ocjena snack proizvoda ekspandiranih mikrovalovima (3G)

4.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Tablica 7 Jednostruka analiza varijance, uz korekciju s Welsh-F-testom, za fizikalna svojstva

VARIJABLE	Grupirajuće varijable	Welch p
EO	Pogača	0,243449
	Omjer	0,160065
	Postupak	<0,000001
BD (g/cm^3)	Pogača	0,752525
	Omjer	0,766437
	Postupak	<0,000001
WAI (g/g)	Pogača	0,864550
	Omjer	0,976510
	Postupak	<0,000001
WSI (%)	Pogača	0,672508
	Omjer	0,998612
	Postupak	<0,000001
LOMLJIVOST (g/s)	Pogača	0,004041
	Omjer	0,232656
	Postupak	<0,000001
HRSKAVOST	Pogača	0,000001
	Omjer	0,000005
	Postupak	0,001317
∆E	Pogača	0,000001
	Omjer	<0,000001
	Postupak	0,001446
C	Pogača	<0,000001
	Omjer	<0,000001
	Postupak	<0,000001
h (°)	Pogača	<0,000001
	Omjer	0,388935
	Postupak	<0,000001
MAKSIMALNA VISKOZNOST (BU)	Pogača	0,331952
	Omjer	0,947046
	Postupak	<0,000001
KIDANJE (BU)	Pogača	0,695487
	Omjer	0,741627
	Postupak	<0,000001
"*SETBACK*" (BU)	Pogača	0,965463
	Omjer	0,370908
	Postupak	<0,000001

*Crveno označene vrijednosti su značajne pri p<0.05000

Tablica 8 Jednostruka analiza varijance, uz korekciju s Welsh-F-testom, za kemijska svojstva

VARIJABLE	GRUPIRAJUĆE VARIJABLE	Welch p
% NV	Pogača	0,004470
	Omjer	0,001572
	Postupak	0,000306
% TV	Pogača	0,006119
	Omjer	0,000053
	Postupak	0,074449
% UV	Pogača	0,000791
	Omjer	0,000010
	Postupak	0,017343
% RS	Pogača	0,992569
	Omjer	0,978441
	Postupak	<0,000001
% NRS	Pogača	0,404401
	Omjer	0,002242
	Postupak	<0,000001
% TS	Pogača	0,000016
	Omjer	<0,000001
	Postupak	0,031838
% DS	Pogača	0,999850
	Omjer	0,983659
	Postupak	<0,000001
TPC (mg GAE/100 g s. tv.)	Pogača	<0,000001
	Omjer	0,000115
	Postupak	0,000009
% DPPH	Pogača	<0,000001
	Omjer	<0,000001
	Postupak	0,000203
HMF (μg/kg)	Pogača	0,000004
	Omjer	0,358336
	Postupak	0,000195

*Crveno označene vrijednosti su značajne pri p<0.05000

5. RASPRAVA

Osnovni cilj ove disertacije bio je primjenom ekstruzije sa superkritičnim CO_2 (SCFX) proizvesti snack proizvode treće generacije obogaćene nusproizvodima prehrambene industrije (odmašćene pogače lješnjaka, cameline, buče i industrijske konoplje) u udjelu 3, 6 i 9 %. Prikazani rezultati u četvrtom poglavlju u ovom su poglavlju detaljno objašnjeni.

5.1. FIZIKALNA SVOJSTVA

5.1.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO)

Rezultati za EO, prikazani su na **Slici 47**. Direktno ekspandirani proizvodi (KL. EX / 2G), imaju više vrijednosti za EO od 3G proizvoda, koje se smanjuju dodatkom odmašćenih pogača, zbog višeg udjela prehrambenih vlakana i masti te naravno smanjenog udjela škroba (Bisharat i sur., 2013.; Karkle i sur., 2012.; Makowska i sur., 2013.). Viši ekspanzijski omjer 2G proizvoda vezan je uz primjenu viših temperatura i niže vlage u procesu ekstruzije, dok je pri proizvodnji peleta temperatura ekstruzije bila niža, a vlaga viša. SC-CO_2 je služio kao sredstvo ekspanzije i nije bilo potrebe za kemijskim sredstvima napuhivanja. Proteini također mogu smanjiti EO, zbog svog utjecaja na raspored vode u matriksu, ali konačni rezultat ovisi o makromolekularnoj strukturi proteina (Moraru i Kokini, 2003.).

U 3G proizvodima (SCFX + MV) EO se povećavao dodatkom 3 % pogače, uspoređujući s uzorcima bez dodatka pogača, osim za uzorke s pogačom konoplje. Sa 6 % i 9 % dodatka pogače konoplje, EO se smanjio na niže vrijednosti uspoređujući s uzorkom bez dodatka pogače. Svi uzorci s dodatkom pogače buče imali su više vrijednosti EO uspoređujući s 3G kontrolnim uzorkom kukuruzne krupice. Drugi znanstvenici ustanovili su smanjenje EO s dodatkom vlakana u SCFX ekstrudatima (Bashir i sur., 2017.; Sun i sur., 2015.). Smanjene vrijednosti EO u ekstrudatima s dodatkom sastojaka bogatih vlaknima primijećene su pri proizvodnji 3G proizvoda, ekspandiranih mikrovalnim zagrijavanjem u istraživanju Delgado-Nieblas i sur. (2012.), što nije u potpunosti u skladu s ovim istraživanjem. van der Sman i Bows su zaključili da pravilna raspodjela vlakana (netopljivih) sprječava napuhivanje ekstrudata u prvom koraku mikrovalne ekspanzije, a topljiva vlakna povećavaju otpor na kidanje pri visokom tlaku (eng. "*rupture stress*"), omogućujući pravilniju ekspanziju u četvrtom koraku mikrovalnog zagrijavanja (van der Sman i Bows, 2017.). U ovom istraživanju može se vidjeti pravilna i nepravilna ekspanzija 2G, peleta i 3G proizvoda, na što upućuju standardne devijacije na grafu. Ovo može biti povezano s procesom ekstruzije, mikrovalnom ekspanzijom, injektiranjem SC-CO_2 i drugim faktorima na koje je nemoguće utjecati (nekontrolirana želatinizacija, nagli porasti tlakova itd.).

Slika 47 prikazuje i razliku između peleta (SCFX proizvoda) i 3G proizvoda (peleti ekspandirani mikrovalovima). Vidljivo je kako SC-CO_2 može zamijeniti druga sredstva napuhivanja u proizvodnji 3G snack proizvoda ekspandiranih mikrovalovima. Monogliceridi se najčešće

dodaju kako bi se poboljšao konačni izgled proizvoda (Navarro-Cortez i sur., 2014.). Kod peleta, EO se smanjivao proporcionalno dodatku nusproizvoda, osim kod uzoraka s dodatkom pogače lješnjaka. Uspoređujući 2G i 3G proizvode, može se primijetiti vrlo mala razlika u EO za uzorke s pogačom lješnjaka, konoplje i cameline i gotovo da nema razlike u EO za uzorke s pogačom buče.

SC-CO_2 dodan tijekom procesa ekstruzije u jednopužnom ekstruderu stvara zračne mjehuriće koji pomažu ekspanziji prilikom oslobađanja pare tijekom mikrovalnog zagrijavanja (Moraru i Kokini, 2003.). SC-CO_2 obično se koristi za direktno ekspandiranje u ekstruderu, pri nižim temperaturama, ali takva primjena se odnosi na dvopužne ekstrudere (Alavi i Rizvi, 2005.; Cho i Rizvi, 2009.; Paraman i sur., 2012.). U dosadašnjim istraživanjima nije proučavana SCFX u jednopužnim ekstruderima. Jednostruka analiza varijance (**Tablica 7**) pokazuje da je vrsta proizvoda (2G, pelet ili 3G) imala utjecaj na EO ($p<0,05$), za razliku od vrste i udjela pogače.

5.1.2. Nasipna masa ekstrudata (BD)

BD je fizikalni parametar kvalitete ekstrudata koji prikazuje radijalnu i longitudinalnu ekspanziju. Niže vrijednosti BD su poželjne za ekspandirane proizvode. **Slika 48** pokazuje rezultate za BD. Dodatkom odmašćenih pogača BD se povećavala u svim uzorcima što je već ustanovljeno u prijašnjim istraživanjima (Bisharat i sur., 2013.; Stojceska i sur., 2009.; Tovar-Jiménez i sur., 2015.). Različiti nusproizvodi povećavaju BD proizvoda, što je u korelaciji s EO, što je niža vrijednost ekspanzije proizvoda, viša je BD, budući proizvodi s višim EO formiraju pore s tanjom opnom (Bisharat i sur., 2013.; Stojceska i sur., 2009.; Tovar-Jiménez i sur., 2015.). Međutim, na BD utjecaj mogu imati i vrsta i udio vlakana te uvjeti ekstruzije. Wang i Ryu (2013.a) ispitali su utjecaj kukuruznih vlakana na fizikalna svojstva kukuruznih ekstrudata proizvedenih pomoću SCFX i ustanovili su niže vrijednosti za BD kod uzoraka s dodatkom vlakana. Rezultati dobiveni u ovom istraživanju pokazuju da peleti imaju više vrijednosti BD, ali to odgovara njihovom opisu: stabilni tijekom skladištenja, s visokom BD (Panak Balentić i sur., 2018.). Nadalje, može se primijetiti mala razlika u BD između direktno ekspandiranih proizvoda dobivenih klasičnim postupkom ekstruzije i indirektno ekspandiranih, pri čemu su kod direktno ekspandiranih proizvoda vrijednosti bile ipak nešto niže. Prethodna istraživanja pokazuju da viša vlaga u procesu ekstruzije povećava vrijednosti BD, a to se može primijetiti i u ovom istraživanju, jer je prilikom SCFX procesa primijenjena viša vlaga i niža temperatura, nego kod klasičnog procesa ekstruzije (Aguilar-Palazuelos i sur., 2006.; Liu i sur., 2018.; Tovar- Jiménez i sur., 2015.). Na povišenje BD u SCFX proizvodima može utjecati udio škroba, maltodekstrin i šećer što su potvrdili Liu i sur. (2018.), ali kako u ovom istraživanju nisu dodavani, ne može se usporediti s prikazanim rezultatima. Jednostruka analiza varijance

pokazuje da vrsta proizvoda ima značajan utjecaj na BD ($p<0,05$), za razliku od udjela i vrste dodane pogače (**Tablica 7**).

5.1.3. Tekstura (lomljivost i hrskavost) ekstrudata

Instrumentalna analiza teksture ekstrudiranih proizvoda važna je jer oponaša žvakanje proizvoda u ustima. Ekspandirani proizvodi trebali bi biti lomljivi i hrskavi u ustima, ali nepravilno procesiranje, promjena sastojaka i vlage tijekom proizvodnje i skladištenja utjecat će na teksturu proizvoda i mogli bi utjecati na gubitak senzorskih svojstava snack proizvoda. U ovom istraživanju ispitana su dva svojstva: lomljivost i hrskavost ekspandiranih proizvoda. Lomljivost opisuje sposobnost razaranja proizvoda u dijelove dok se grize, a hrskavost predstavlja zvuk koji nastaje tijekom žvakanja (Paula i Conti-Silva, 2014.). Lomljivost 3G proizvoda viša je nego kod 2G (**Slika 49**), iako je u prethodnim istraživanjima pokazano kako su uzorci s višim EO lomljiviji (Ačkar i sur., 2018.). Dodatak odmašćenih pogača utjecao je na različite načine na lomljivost 2G i 3G proizvoda. 3G proizvodi imali su više vrijednosti za lomljivost dodatkom pogača, osobito uzorci s pogačom konoplje. Povećanjem udjela pogače uglavnom je došlo do smanjenja lomljivosti. Iznimka su uzorci sa 6 % lješnjaka i konoplje. Kod 2G proizvoda lomljivost se smanjila dodatkom pogača u odnosu na uzorak bez dodatka, i uglavnom se smanjivala osim sa 6 % dodatka cameline i buče, gdje je došlo do blagog porasta. Razlog tome je niz procesa koji se odvijaju ekstruzijom te mogu dovesti do neproporcionalnih promjena. Jednostruka analiza varijance (**Tablica 7**) pokazuje da vrsta proizvoda i vrsta pogače imaju značajan utjecaj na lomljivost ($p<0,05$).

Hrskavost je poželjno svojstvo kod snack proizvoda. Važno ju je očuvati tijekom skladištenja, jer potrošači ne bi uživali u “spužvastom” snack proizvodu. Obje vrste proizvoda su hrskavi s nešto višim vrijednostima za 2G proizvode (**Slika 50**). Dodatak pogače konoplje u 3G proizvode rezultirao je najnižim vrijednostima za hrskavost i najvišim za lomljivost. To se može povezati s visokim udjelom netopljivih vlakana koji mogu uzrokovati problem tijekom ekspanzije. U usporedbi s čistim uzorkom kukuruznog ekstrudata, dodatkom pogača hrskavost se smanjila u gotovo svim uzorcima (iznimke su 91:9 3G buča i 97:3 2G konoplja). Prethodnim istraživanjima utvrđeno je kako dodatak vlakana ima negativan utjecaj na fizikalna svojstva, ali su ona i dalje prihvatljiva, što se može vidjeti po senzorskoj ocjeni uzoraka (Dehghan-Shoar i sur., 2010.; Lazou i Krokida, 2010.; Nascimento i sur., 2012.; Yanniotis i sur., 2007.). Liu i sur. (2018.) u svom istraživanju uspoređuju svoje proizvode dobivene SCFX s komercijalnim proizvodima na tržištu. Zaključili su da nema značajne razlike u hrskavosti ta dva tipa proizvoda, ali da su komercijalni proizvodi bili manje hrskavi. Razlog zašto rezultati ove disertacije nisu u skladu sa spomenutim istraživanjem je u recepturi proizvoda. Naime, autori su osim SC-CO_2 koristili lecitin, maltodekstrin i šećer, za koje je već spomenuto kako utječu

na poboljšanje ekspanzije i fizikalnih svojstava proizvoda. Jednostruka analiza varijance (**Tablica 7**) pokazala je kako sve tri grupirajuće varijable (vrsta proizvoda, vrsta pogače i udio pogače) imaju statistički značajan utjecaj na hrskavost proizvoda ($p<0,05$).

5.1.4. Boja zamjesa i ekstrudata

Hrskavost i lomljivost, kao i ekspanzijski omjer i nasipna masa važni su parametri kvalitete, koji utječu na prihvatljivost proizvoda kod potrošača, ali boja proizvoda je također važan parametar jer direktno utječe na izgled proizvoda. Rezultati prikazuju vrijednosti ukupne promjene boje / ΔE (**Slika 51**), zasićenosti boje / C (**Slika 52**) i tona boje / h°(**Slika 53**).

Ukupna promjena boje predstavlja promjenu boje zamjesa, peleta i ekspandiranih uzoraka u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice. Na **Slici 51** vidljivo je kako se ΔE proporcionalno povećava dodatkom nusproizvoda, najviše dodatkom konoplje. Kod uzoraka s dodatkom pogače lješnjaka, najveća promjena boje dogodila se kod 2G proizvoda i to s najvišim udjelom pogače lješnjaka, dok kod uzoraka s drugim pogačama 2G uzorci imaju niže vrijednosti ΔE od peleta, pa čak i zamjesa. 3G uzorci imaju najniže vrijednosti ukupne promjene boje s dodatkom pogače lješnjaka (izuzetak je uzorak klasičnog zamjesa s 3 % pogače lješnjaka). U uzorcima s dodatkom pogače cameline i buče, najvišu vrijednost ΔE imali su peleti s 9 % dodatka, dok su 3G proizvodi imali najniže vrijednosti ΔE (osim u usporedbi s klasičnim zamjesom s 3 % dodatka). Wang i Ryu (2013.b) zaključili su da injektiranje CO_2 unutar proizvoda smanjuje utjecaj temperature na promjenu boje, to je u skladu s ovim istraživanjem, jer se manja promjena boje dogodila u 3G proizvodima nego u 2G. Također, promjena boje događa se i zbog različitih reakcija koje se odvijaju pri višim temperaturama kao što su Maillardove reakcije, reakcije karamelizacije, hidrolize i degradacije pigmenta (Santillan-Moreno i sur., 2011.), što se može potvrditi i u ovom istraživanju, jer se veća ΔE dogodila kod 2G proizvoda za čiju su proizvodnju korištene više temperature ekstruzije nego kod 3G proizvoda. Prema drugim istraživanjima, razlog može biti i inkorporacija zraka unutar proizvoda prilikom procesa ekstruzije, što je za 3G proizvode znatno više jer su pomoću SC-CO_2 stvoreni zračni prostori kroz koje je voda mogla ispariti prilikom ekspanzije pomoću mikrovalova (Altan i sur., 2008.a; Maisont i Narkrugsa, 2010.; Sjoqvist i Gatenholm, 2005.). U uzorcima s dodatkom konoplje osim najviših vrijednosti ΔE može se vidjeti nekoliko odstupanja od uzoraka s ostalim nusproizvodima. Primjerice, klasični zamjesi i SCFX zamjesi imaju više vrijednosti ΔE od 2G i 3G proizvoda te 2G i 3G proizvodi imaju približno jednake vrijednosti ΔE, dok se u uzorcima s dodatcima drugih pogača razlikuju.

Može se primijetiti različit utjecaj vrste pogače, udjela pogače i postupka procesiranja na ΔE, na što ukazuje i jednostruka analiza varijance (**Tablica 7**), koja pokazuje kako sva tri utjecaja imaju statistički značajnu razliku ($p<0,05$) na ΔE. Utjecaj dodatka različitih nusproizvoda i

sirovina na boju ekstrudiranih proizvoda ispitan je u brojnim istraživanjima (Ačkar i sur., 2018.; Ainsworth i sur., 2007.; Jozinović i sur., 2017.; Sacchetti i sur., 2004.; Stojceska i sur., 2008.b) te se može zaključiti kako različita sirovina, ovisno o udjelu šećera, proteina, masti i dr., može različito utjecati na promjenu boje finalnog proizvoda. Prema **Tablici 5**, vidljivo je kako gotovo svi uzorci imaju vrijednosti $\Delta E>6$, što pokazuje veliku vidljivost razlike u boji u odnosu na kontrolni uzorak krupice. Uspoređujući vrijednosti ΔE za 3G proizvode s rezultatima senzorske analize za izgled proizvoda (**Slika 69**) vidljivo je da je uzorak s 9 % konoplje ocijenjen najnižom ocjenom (2,88 ± 0,44), a kod njega je primijećena i najviša ΔE za 3G proizvode.

Trend smanjenja parametra C zabilježen je u svim uzorcima s dodacima pogača, ali ne i primjenom procesa ekstruzije. U uzorcima s dodatkom cameline, buče i konoplje 2G proizvodi su imali više vrijednosti od klasičnih zamjesa, dok je ranijim istraživanjima potvrđen trend smanjena parametra C primjenom procesa ekstruzije (Jozinović, 2015.). U ovom istraživanju smanjenje vrijednosti parametra C nakon procesa ekstruzije dogodilo se samo u uzorcima s dodatkom pogače lješnjaka i u uzorcima s kukuruznom krupicom bez dodatka pogača. Kod proizvodnje 3G proizvoda također je porastao parametar C primjenom procesa ekstruzije te još više nakon ekspanzije mikrovalovima.

Ne utječe samo ekstruzija na zasićenost boje, nego i kemijske reakcije koje se odvijaju prilikom procesa proizvodnje, a ovise o kemijskom sastavu sirovina. Na **Slici 52** može se vidjeti kako su vrijednosti zasićenja boje znatno više za direktno ekspandirane proizvode nego kod proizvoda ekspandiranih mikrovalovima, što ukazuje na utjecaj mikrovalova na zasićenje boje, odnosno proizvodi s višim EO imali su više vrijednosti parametra C. U svim uzorcima vrijednosti za parametar C opadaju povišenjem udjela pogače, osim u uzorku s pogačom cameline kod 3G proizvoda. Prema **Tablici 7** vidljivo je kako vrsta i udio pogače te postupak ekstruzije statistički značajno utječu na zasićenje boje ($p<0,05$).

Rezultati za ton boje (h°) prikazani su na **Slici 53**. Postupak ekstruzije i vrsta pogače utječu na ton boje, statistički značajno (**Tablica 7**), ali udio pogače se nije pokazao statistički značajnim za ove rezultate. Ukupno gledajući, klasični ekstrudati imaju najviše vrijednosti parametra h°, koji su u domeni žute boje (90°), dok najniže vrijednosti imaju peleti. Nema trenda povećanja ili smanjenja vrijednosti parametra h° dodatkom pogača, važno je naglasiti kako su se vrijednosti klasičnim postupkom ekstruzije povisile u odnosu na zamjese, dok su kod SCFX vrijednosti smanjene u odnosu na zamjes, a povećane nakon ekspanzije mikrovalovima.

5.1.5. Indeks apsorpcije (WAI) i indeks topljivosti u vodi (WSI)

WAI i WSI važni su parametri procjene kvalitete ekstrudiranih proizvoda. WAI može koristiti kao indirektna procjena poroznosti ekstrudiranih proizvoda (Colonna i sur., 1989.), a WSI je

često korišten kao indikator degradacije molekularnih sastojaka i mjera količine topljivih polisaharida oslobođenih iz škroba nakon ekstruzijskog kuhanja (Yang i sur., 2008.).

Utjecaj dodatka različite vrste i količine nusproizvoda te vrste ekstruzije na WAI i WSI ispitanih uzoraka prikazani su na **Slikama 54** i **55**. Rezultati za WAI pokazuju povećanje dodatkom pogača, ali u zamjesima, dok je u ekstrudiranim proizvodima došlo do smanjenja WAI dodatkom pogača. Povećanje WAI u zamjesima i smanjenje WAI dodatkom različitih nusproizvoda i sirovina bogatih vlaknima nakon procesa ekstruzije zabilježeno je i u prethodnim istraživanjima (Jozinović, 2015.; Makovska i sur., 2013; Milan-Carrillo i sur., 2000.; Singh i sur., 2007.). Kao razlog povišenja WAI dodatkom pogača u zamjesima autori navode viši udio topljivih vlakana. Ekstruzija je utjecala na povišenje WAI, ali su 2G proizvodi i peleti imali više vrijednosti od proizvoda ekspandiranih mikrovalovima. Može se vidjeti kako su vrijednosti WAI za pelete bile najviše. Wang i Ryu (2013.b.) u svom istraživanju navode kako je dodatak CO_2 u procesu ekstruzije utjecao na povišenje WAI u odnosu na ekstruziju bez dodatka CO_2. Ekstruzija je uzrokovala povišenje WAI, što je ustanovljeno i u prethodnim istraživanjima, jer je došlo do djelomičnog narušavanja škrobne granule i želatinizacije škroba (Ding i sur., 2005.; Jozinović i sur., 2012.a, 2012.b; Zhu i sur., 2010.), međutim povišenje udjela vode uzrokovalo je najviše vrijednosti WAI što je u skladu s istraživanjima koje su proveli da Silva i sur. (2009.) i Ding i sur. (2005.). Voda, niža temperatura ekstruzije i injektiranje SC-CO_2 smanjili su degradaciju škrobnih granula, što je rezultiralo proizvodima s višim WAI (peleti), u odnosu na 2G i 3G proizvode, gdje dolazi do gotovo potpunog oštećenja škrobnih granula, što se može vidjeti na **Slici 65**. WAI ovisi o dostupnosti hidrofilnih grupa koje vežu molekule vode i o sposobnosti makromolekula u formiranju gela. Kada postigne svoje maksimalne vrijednosti, WAI opada (rezultati nakon ekspanzije mikrovalovima), kao rezultat visokog stupnja dekstrinizacije škroba zbog promjena koje se događaju prilikom ekspanzije (Camacho-Hernandez i sur., 2014.).

Vrijednosti za WSI povećavale su se dodatkom nusproizvoda u svim uzorcima osim direktno ekspandiranih (2G) proizvoda. Naime, u 2G proizvodima udio pogača utjecao je na smanjenje indeksa topljivosti u vodi, ali sami ekstrudati imali su više vrijednosti WSI od svih drugih uzoraka. U zamjesima i peletima WSI je bio najniži, ali se povećavao proporcionalno dodatku pogača, osim u uzorcima s konopljom gdje je došlo do neznatnog odstupanja. Proizvodi ekspandirani mikrovalovima imaju više vrijednosti WSI od zamjesa i peleta koji se proporcionalno povećavao dodatkom pogača, osim u uzorku s konopljom gdje je došlo do malog pada WSI s dodatkom 9 % pogače konoplje. Proces ekstruzije utjecao je na želatinizaciju, razgradnju i depolimerizaciju molekula škroba te se na taj način utjecalo na povišenje WSI u svim proizvodima u odnosu na zamjese, međutim 2G proizvodi proizvedeni su na najvišim temperaturama, što je razlog najviših vrijednosti WSI u tim proizvodima (Camire,

2000.; de Mesa i sur., 2009.; Reyes-Jaquez i sur., 2011.). Također, visoke temperature ekstruzije uzrokovale su smanjenje WSI dodatkom pogača jer su proteini i lipidi stvorili komplekse s molekulama amiloze tijekom ekstruzijskog kuhanja koje su netopljive u vodi (Bhatnagar i Hanna, 1994.), što nije bio slučaj kod SCFX ekstruzije i ekspanzije mikrovalovima. Injektiranjem SC-CO_2 u proces ekstruzije nije bilo potrebno koristiti visoke temperature u samom procesu, što je rezultiralo nešto višim vrijednostima za WSI u odnosu na zamjese, što je potvrđeno i u prethodnim istraživanjima (Ondo i sur., 2013.; Singkhornart i sur., 2014.).

Statistička analiza varijance pokazala je kako jedino vrsta ekstruzije, odnosno ekspanzije ima statistički značajan utjecaj ($p<0,05$) na WAI i WSI, dok vrsta i udio pogače nemaju (**Tablica 7**).

5.1.6. Reološka svojstva zamjesa i ekstrudata

Utjecaj dodatka nusproizvoda i vrste ekstruzije na reološka svojstva zamjesa i ekstrudata određen je na Brabenderovom Mikro visko-amilografu. Prikazani rezultati su viskoznost vrha (maksimalna viskoznost nastala želatinizacijom škroba) (**Slika 56**), kidanje, tj. stabilnost tijekom miješanja pri visokim temperaturama (kidanje = viskoznost vrha – viskoznost na 92 °C / 5 min) (**Slika 57**) i „*setback*“, koji označava sklonost škrobne paste retrogradaciji („*setback*“ = viskoznost pri 50 °C - viskoznost na 92 °C / 5 min) (**Slika 58**).

Maksimalna viskoznost ekstrudiranih uzoraka je znatno niža nego što je u zamjesima, a klasični ekstrudati imaju najniže vrijednosti maksimalne viskoznosti škroba, jer je pri višim temperaturama ekstruzije došlo do bolje želatinizacije i depolimerizacije škroba, odnosno do višeg stupnja oštećenosti škroba nego što je to bilo kod peleta i uzoraka nakon ekspanzije mikrovalovima. Povišenjem stupnja oštećenosti škroba (**Slika 65**) gubi se sposobnost formiranja gela pa je zbog toga u ekstrudiranim uzorcima viskoznost znatno opala. Do sličnih zaključaka došli su i drugi istraživači (Gupta i sur., 2008.; Hagenimana i sur., 2006.; Jozinović, 2015.; Jozinović i sur. 2012.a, 2012.b; Martinez i sur., 2014.; Navarro-Cortez i sur., 2014.; Wang i sur., 2012.). Na **Slici 56** može se vidjeti i utjecaj dodatka nusproizvoda na viskoznost zamjesa i ekstrudata. U većini uzoraka vrijednosti viskoznosti snižene su povećanjem udjela nusproizvoda, što je i očekivano jer se dodatkom pogača smanjuje udio ukupnog škroba u uzorcima. Međutim, u uzorcima s pogačom cameline to nije bio slučaj, što se najbolje može vidjeti u zamjesima, gdje je dodatkom pogače cameline došlo do povišenja viskoznosti u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice. Pogača cameline bogata je proteinima, od kojih je najviše globulina. Iako su to neglutenski proteini, u škrobnoj suspenziji se otapaju i stvaraju komplekse koji su privremeno stabilni, te utječu na povišenje viskoznosti, međutim daljnjim miješanjem se ta mreža raspada i poprimaju svojstva svih ostalih uzoraka (Pilgeram i sur., 2007.; Russo i Reggiani, 2015.; Singh i Skerritt, 2001.).

Može se primijetiti i kako je maksimalna viskoznost uzoraka s pogačom lješnjaka i cameline u 3G proizvodima niža nego kod peleta, dok je s pogačama buče i konoplje nešto viša.

Stabilnost miješanja pri visokim temperaturama prikazana je na **Slici 57**. Vidljivo je kako su najviše vrijednosti imali 2G proizvodi, odnosno uzorci ekstrudirani pri visokim temperaturama s niskim udjelom vode, gdje je došlo do više želatinizacije škroba i višeg stupnja degradacije molekula škroba što je vidljivo i u rezultatima za DS prikazanim na **Slici 65**. Zamjesi očekivano imaju najniže vrijednosti, jer oni nisu ni podvrgnuti visokim temperaturama procesiranja, ali zanimljivo je da je SCFX i ovdje pokazala svoje prednosti jer su vrijednosti za pelete bile gotovo identične zamjesima, dok su uzorci ekspandirani mikrovalovima imali nešto više vrijednosti od peleta, a dosta niže od 2G proizvoda. Pri višim temperaturama procesiranja dolazi do znatno većeg oštećenja škrobnih granula, što je vidljivo na **Slici 65**. Dodatkom pogača vrijednosti kidanja su bile gotovo nepromijenjene za sve uzorke, ali ponovno ne i kod 2G uzoraka, gdje nema linearnog rasta ili pada vrijednosti kidanja dodatkom pogača. Razlog tome su promjene koje se događaju u samom procesu ekstruzije, koje nije moguće potpuno kontrolirati, odnosno utjecati na samu želatinizaciju i ekspanziju proizvoda.

Sklonost škrobne paste retrogradaciji prikazana je na **Slici 58**. Na grafu se uočava značajan pad vrijednosti za „*Setback*“, počevši s SCFX zamjesima kao najvišim vrijednostima, potom slijede klasični zamjesi, zatim peleti, 3G proizvodi, pa 2G proizvodi. Razlog nižih vrijednosti kod klasičnih zamjesa, nego kod SCFX zamjesa je pektin, koji je imao stabilizirajući utjecaj tijekom hlađenja, zbog svojih svojstava stabilizacije emulzije i pjene, što je dokazao Jozinović (2015.). Dodatak nusproizvoda je utjecao na smanjenje „*Setback*“ vrijednosti kod svih uzoraka osim kod 2G proizvoda. Slično kao i za vrijednosti kidanja, nema linearnog rasta ili pada „*Setback*“ vrijednosti dodatkom pogača u 2G proizvodima. Proizvodi dobiveni klasičnim postupkom ekstruzije su najmanje skloni retrogradaciji, dok razlika u vrijednostima između peleta i 3G proizvoda nije velika.

Kod sva tri ispitana reološka parametra niti vrsta pogače, niti udio iste nisu imali statistički značajan utjecaj na promjene ispitanih svojstava. Vrsta procesa je imala statistički značajan utjecaj na promjene ispitanih parametara ($p<0,05$) (**Tablica 7**).

5.2. KEMIJSKA SVOJSTVA

5.2.1. Kemijski sastav sirovina

Kemijski sastav sirovina (kukuruzne krupice, odmašćene pogače lješnjaka, cameline, buče i konoplje) prikazan je u **Tablici 6**. Rezultati su izraženi na suhu tvar i prikazuju najviši udio proteina u odmašćenoj pogači buče (60,94 %) dok u pogači lješnjaka, cameline i konoplje ima približno jednak udio proteina ≈ 32 %. Sva četiri nusproizvoda imaju primjetno više udjele

proteina, pepela i vlakana u usporedbi s kukuruznom krupicom. Pogača konoplje ima najviši udio UV (49,51 %) i NV (45,43 %), ali najniži udio TV (4,08 %). Razlog visokog udjela netopljivih vlakana je udio celuloze prisutan u ljusci sjemenke konoplje, koja nije uklonjena prije prešanja. Osim proteina, pogača buče ima najviši udio pepela (9,93 %) i TV (7,32 %). Udio masti najniži je u kukuruznoj krupici, dok pogače imaju ≈ 1 % masti, pri čemu je nešto više masti zaostalo u pogači lješnjaka (1,80 %). Pogača cameline je vrlo bogata polifenolnim tvarima (1467,55 mg GAE/ 100 g s.tv.) i ima visoku antioksidativnu aktivnost (567,15 % DPPH). Sve pogače imaju znatno viši udio polifenolnih tvari i višu antioksidativnu aktivnost od kukuruzne krupice, ali znatno niže vrijednosti u odnosu na camelinu. Visok udio polifenola u camelini potvrdili su Terpinc i sur. (2012.a). Slične vrijednosti ukupnih vlakana (45,87 %), proteina (31,26 %) i pepela (7,84 %) u djelomično odmašćenom brašnu konoplje dobili su i Apostol i sur. (2015.). Rezultati ovog istraživanja slažu se i s rezultatima djelomično odmašćenog brašna lješnjaka, gdje je udio proteina iznosio 33,51 %, a pepela 6,61 % (Yağcı i Göğüş, 2009.a). Niže vrijednosti od rezultata dobivenih u ovoj disertaciji za brašno sjemenke buče utvrdili su Navarro-Cortez i sur. (2016.) – proteina 26,39 g /100 g, sirovih vlakana 1,13 g /100 g, pepeli 5,56 g /100 g, ugljikohidrati 9,89 g /100 g, ali radilo se o neodmašćenom brašnu sjemenke buče. Nusproizvodi korišteni u ovoj disertaciji su nutritivno vrlo vrijedni, zbog visokog udjela proteina, vlakana, mineralnih tvari, polifenola te mogu poboljšati kvalitetu proizvoda.

5.2.2. Udio ukupnih (UV), topljivih (TV) i netopljivih vlakana (NV)

Prehrambena vlakna su važni sastojci hrane koji imaju pozitivne učinke na zdravlje čovjeka. Ne probavljaju se u probavnom sustavu ljudi, ali stimuliraju fermentaciju stolice, utječu na smanjenje glukoze i kolesterola u krvi, a postoje istraživanja koja ukazuju na moguću prevenciju raka ili ublažavanje simptoma kod alergija i astme (Elleuch i sur., 2011.; Sharma i sur., 2008.; Web 4). Osim kod ljudi, važna su i u postupku prerade hrane jer utječu na: vezanje vode, viskoznost, kapacitet vezanja ulja, teksturu, produljenje roka trajanja i senzorska svojstva. Razlikuju se netopljiva (celuloza, hemiceluloza i lignin) i topljiva vlakna (β-glukani, gume, pektin, neke hemicelulozne molekule i rezistentni škrob) (Elleuch i sur., 2011.; Sharma i sur., 2008.; Web 4). Udio topljivih, netopljivih i ukupnih vlakana prikazan je na **Slikama 59, 60** i **61**.

Vidljivo je da se udio TV (**Slika 59**) povećavao proporcionalno dodatku pogača u svim uzorcima. Budući da se radi o topljivim vlaknima, očekivano su klasični zamjesi i 2G proizvodi imali ukupno gledajući više TV od SCFX zamjesa i 3G proizvoda, jer je u klasične zamjese dodano 1 % pektina kako bi se poboljšala ekspanzija. Klasičan proces ekstruzije je utjecao na povišenje udjela TV u odnosu na klasične zamjese, dok je kod SCFX uzoraka bila nešto drugačija situacija. Naime, slične vrijednosti se mogu vidjeti kako za zamjese tako i za 3G

proizvode kod svih pogača, uz mala odstupanja kod pogače lješnjaka. 3G proizvodi imali su nešto više vrijednosti od SCFX zamjesa dodatkom pogače lješnjaka. Može se vidjeti kako SCFX i mikrovalovi nisu imali previše utjecaja na promjenu udjela TV u odnosu na zamjese. Statistička analiza varijance pokazuje da vrsta ekstruzije i zamjesa nema statistički značajan utjecaj na promjenu TV, dok vrsta i udio pogače statistički značajno utječu na promjenu TV (**Tablica 8**). Kako pogača buče ima najviši udio TV (**Tablica 6**), uzorci s dodatkom pogače buče također imaju više TV od uzoraka s dodatkom drugih pogača, ali daleko više vrijednosti TV su u svim uzorcima nego je to u uzorku kukuruzne krupice bez dodatka. Pogače su dobar primjer nutritivnog obogaćivanja ove vrste proizvoda.

Udio NV prikazan je na **Slici 60**. Kao i kod TV dodatkom pogača povećao se udio NV proporcionalno dodatku pogača. Ekstruzija je utjecala na smanjenje NV u uzorcima, što je pogotovo vidljivo u klasičnim ekstrudatima. 3G proizvodi imali su viši udio NV od 2G proizvoda, ali također nešto niži udio u odnosu na zamjese. Najviše NV imaju uzorci s dodatkom pogače konoplje, jer sama sirovina sadrži najviši udio NV u odnosu na ostale sirovine (**Tablica 6**). U **Tablici 8** prikazana je statistička analiza varijance, koja pokazuje utjecaj vrste ekstruzije te vrste i udjela pogače kao statistički značajne ($p<0,05$) za promjenu udjela NV u ispitanim uzorcima.

Utjecaj procesa ekstruzije na udio vlakana dobro je istražen, a rezultati ove disertacije u skladu su s prethodnim istraživanjima (Jing i Chi, 2013.; Jozinović, 2015.; Pérez-Navarrete i sur., 2006.; Sobota i sur., 2010.; Vasanthan i sur., 2002.; Wolf, 2010.). Tovar-Jiménez i sur. (2015.) u svom istraživanju potvrdili su da utjecaj ekstruzije i mikrovalne ekspanzije također utječu na povećanje udjela topljivih vlakana i smanjenje udjela netopljivih vlakana u uzorcima što je djelomično u skladu s ovom disertacijom. Naime, neki su rezultati slični i u zamjesima i nakon ekspanzije mikrovalovima, što ukazuje na utjecaj SCFX, jer nije došlo do potpune depolimerizacije makromolekula i pretvorbe netopljivih vlakana u topljive pri nižim temperaturama ekstruzije. To su u svom istraživanju potvrdili Wang i Ryu (2013.b).

Udio UV očekivano je najviši u uzorcima s pogačom konoplje, jer ona sadrži najviši udio UV. Međutim na **Slici 61** vidljivo je da su najniže vrijednosti UV u 2G, odnosno direktno ekspandiranim proizvodima. To je pokazatelj da SCFX i mikrovalna ekspanzija pozitivno utječu na svojstva proizvoda, odnosno na maksimalno zadržavanje vlakana prilikom procesiranja u odnosu na neekstrudirane uzorke. U **Tablici 8** je vidljivo kako sva tri ispitana utjecaja statistički značajno utječu na promjenu udjela UV u uzorcima ($p<0,05$).

5.2.3. Udio rezistentnog (RS), nerezistentnog (NRS) i ukupnog škroba (TS)

Rezistentni škrob se ne probavlja u tankom crijevu, nerazgrađen prelazi u debelo crijevo u kojem podliježe fermentaciji. Poželjno svojstvo hrane je visok udio RS-a jer RS ima brojne prednosti. Primjerice, RS uzrokuje mali odgovor sekrecije inzulina, za razliku od vlakana koji se uglavnom dodaju u hranu, RS ne mijenja okus i teksturu proizvoda, a niska kalorijska vrijednost može se koristiti kao sredstvo za povećanje volumena itd. (Ačkar, 2010.). Udio RS-a u ispitivanim uzorcima je prikazan na **Slici 62**.

Udio i vrsta pogače nisu utjecali previše na promjenu RS-a u uzorcima. Nešto manji utjecaj se primijeti kod zamjesa, ali je razlog nehomogen uzorak, zbog čega je bilo potrebno raditi u pet i više paralela kako bi se dobili usporedivi rezultati. To je također vidljivo iz standardnih devijacija na grafu. Ekstruzija je utjecala na smanjenje udjela RS-a u svim uzorcima. Iz grafa je vidljivo da su indirektno ekspandirani uzorci imali nešto više udjele RS-a i od direktno ekspandiranih uzoraka, ali očito SCFX i ekspanzija mikrovalovima nisu imali previše utjecaja na zadržavanje RS-a. Sukladno tome, povisio se udio NRS (**Slika 63**), odnosno povećala se probavljivost škroba postupkom ekstruzije. Također, nešto niže vrijednosti su za 3G uzorke, što se može povezati s manjim oštećenjem škrobnih granula primjenom SCFX. Najniže vrijednosti NRS su u zamjesima, ali uspoređujući klasične i SCFX zamjese, vidljivo je da je pektin u klasičnim zamjesima utjecao na smanjenje NRS u odnosu na SCFX zamjese. Jozinović (2015.) u svom istraživanju pokazuje da pektin nije imao značajan utjecaj na udio RS i NRS, što je i u ovom istraživanju slučaj za kontrolni uzorak kukuruzne krupice, ali dodatkom pogača se u zamjesima s pektinom udio NRS smanjio u odnosu na zamjese bez pektina. Iako interakcije s proteinima smanjuju prinos RS (Ačkar, 2010.), očigledno je došlo do interakcija s pektinom koje su utjecale na smanjenje udjela NRS.

Prethodnim istraživanjima je utvrđen utjecaj ekstruzije na smanjenje udjela RS-a (Faraj i sur., 2004.; Jozinović, 2015.; Jozinović i sur., 2012.a, 2012.b; Martínez i sur., 2014.), što je u skladu s rezultatima ove disertacije. Također, postoje istraživanja modifikacije brašna postupkom ekstruzije u kojem je došlo do povišenja udjela RS nakon ekstruzije (Hagenimana i sur., 2006.). Razlog je viši udio amiloze u sirovini, koji utječe na povišenje udjela RS nakon provedenog postupka ekstruzije. To je detaljno objasnila i Ačkar (2010.).

Ukupni škrob u uzorcima izračunat je zbrajanjem vrijednosti za RS i NRS. Na **Slici 64** vidljivo je smanjenje udjela TS dodatkom pogača u odnosu na kontrolne uzorke kukuruzne krupice. Udio TS proporcionalno se smanjivao dodatkom pogača, odnosno sirovinama bogatim proteinima i vlaknima. Udio TS ne razlikuje se značajno između zamjesa i ekstrudata te varira približno od 75 % do 83 %.

5.2.4. Stupanj oštećenosti škroba (DS)

O DS je već bilo govora u prethodnim poglavljima, jer se i EO, WAI, WSI, reološka svojstva, pa i DS mogu povezati sa stupnjem depolimerizacije, dekstrinizacije, želatinizacije škroba. Ekstruzija je imala značajan utjecaj na navedena svojstva jer primjenom visokih temperatura i vlage dolazi do želatinizacije škroba, odnosno do narušavanja škrobnih granula. Rezultati prikazani na **Slici 65** pokazuju kako u zamjesima gotovo uopće nema oštećenih granula škroba te ni vrsta ni udio pogače nemaju statistički značajan utjecaj na promjenu vrijednosti ovog svojstva, kako u zamjesima tako i u ekstrudatima (**Tablica 8**). Ekstruzijom se povećao DS u svim uzorcima i to značajno, ali dodatkom nusproizvoda je taj udio bio nešto niži u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice. Približno 10 % niže vrijednosti DS imali su uzorci dobiveni SCFX procesom i ekspandirani mikrovalovima nego uzorci dobiveni klasičnim postupkom ekstruzije. Primjena nižih temperatura, viših udjela vlage, SC-CO_2 i mikrovalova u proizvodnji ekspandiranih kukuruznih snack proizvoda pokazala se kao dobra tehnika za smanjenje stupnja oštećenosti škroba u uzorcima.

Rezultati ove disertacije slažu se s prethodno provedenim istraživanjima, gdje se navodi kako parametri ekstruzije (temperatura, tlak, smicanje, udio vlage, injektiranje SC-CO_2), stupanj želatinizacije i depolimerizacije škroba, direktna ili indirektna ekspanzija utječu na izgled proizvoda, reološka svojstva, topljivost u vodi, probavljivost i kemijska svojstva proizvoda (Camacho-Hernandez i sur., 2014.; Manoi i Rizvi, 2010.; Martínez i sur., 2014.; Tovar-Jiménez i sur., 2016.; Wang i sur., 2014.).

5.2.5. Udio ukupnih polifenola (TPC) i antioksidativna aktivnost (AO)

Polifenoli su aromatski spojevi rasprostranjeni u prirodi u esterificiranom ili konjugiranom obliku. Budući da se mogu naći u velikim količinama u voću i povrću, žitaricama, čokoladi, čaju, vinu itd., neizostavan su dio ljudske prehrane. Mnoge studije upućuju kako unos polifenola prehranom može smanjiti rizik od mnogih kroničnih bolesti npr. kardiovaskularne bolesti, osteoporoza, dijabetes i rak (Čović i sur., 2009.; Scalbert i sur., 2005.). Polifenoli imaju visoku antioksidacijsku aktivnost jer sadrže fenolnu skupinu koja može primiti elektron stvarajući stabilan radikal i na taj način prekinuti lančanu reakciju oksidacije u stanicama. Upravo je jedan od ciljeva ove disertacije bio obogatiti snack proizvode nusproizvodima prehrambene industrije bogatim polifenolima.

Rezultati prikazani na **Slici 66 i 67** prikazuju povećanje udjela TPC i AO dodatkom svih pogača u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice. Sve promjene udjela polifenola popraćene su identičnim povećanjem ili smanjenjem AO. Najviše vrijednosti su u uzorcima s pogačom cameline, gdje su se TPC i AO povećavali proporcionalno dodatku. Pogača cameline sadrži

daleko viši udio polifenola od ostalih pogača što je već komentirano ranije. Ekstruzija nije utjecala na smanjenje TPC u svim uzorcima u odnosu na zamjese, tj. dodatkom pogača lješnjaka, buče i konoplje TPC i AO su se povećali u odnosu na zamjese ili su imali približno iste vrijednosti, dok su se dodatkom pogače cameline TPC i AO smanjili u klasičnim ekstrudatima u odnosu na zamjese. Iako je u većini provedenih istraživanja zabilježeno smanjenje TPC i AO nakon ekstruzije, postoji istraživanje koje pokazuje povećanje TPC nakon ekstruzije, ovisno o sorti sirovine. Korus i sur. (2007.) su u svom istraživanju koristili različite sorte graha te su utvrdili da pri istim uvjetima ekstruzije može doći do povišenja TPC ovisno o sorti graha. Polifenolne tvari u pogači cameline detaljno su razrađene u istraživanju Terpinc i sur. (2012.a). Najvećim udjelom je zastupljena protokatehinska kiselina, *p*-hidroksi benzojeva kiselina i elagična kiselina, ali sadrži još brojne druge fenolne tvari. Zbog velikog udjela fenolnih tvari u pogači cameline, došlo je do njihove degradacije prilikom procesa ekstruzije koje su dovele do smanjenja TPC prilikom procesa ekstruzije, a dodatkom drugih pogača do njegovog povećanja. Također, u istraživanju koje su proveli Lv i sur., (2018.) SCFX je utjecao na povećanje AO u snack proizvodima s brašnom leće, jer je došlo do smanjenja sadržaja inhibitora tripsina, te se dobio proizvod s uravnoteženijim prehrambenim i antioksidativnim sastavom. Ekstruzija različito utječe na sastojke hrane te nije moguće predvidjeti rezultate. Unatoč smanjenju, nakon ekstruzije i dalje je najviši udio TPC i AO u uzorcima s camelinom,. Porast TPC dodatkom buče, kao i povišenjem temperature ekstruzije zabilježili su su Peksa i sur. (2016). Delgado-Licon i sur. (2009.) te Yağcı i Göğüş (2009.c) također bilježe visok udio polifenola nakon provedenog procesa ekstruzije. S druge strane, zabilježeno je i smanjenje udjela polifenola dodatkom različitih sirovina i nusproizvoda prehrambene industrije u istraživanjima drugih autora (Jozinović, 2015.; Jozinović i sur., 2012.a; Obradović i sur., 2015.a; Sarawong i sur., 2014.).

Međutim, ekspanzija mikrovalovima je uzrokovala smanjenje u odnosu na klasične ekstrudate dodatkom svih pogača. Navarro-Cortez i sur. (2014.) u svom istraživanju navode utjecaj mikrovalova na smanjenje antocijana u snack proizvodima od plavog kukuruza i kukuruznog škroba. To se može usporediti s ovim istraživanjem. Istraživanje koje su proveli Wang i Ryu (2013.b) pokazuje na manje smanjenje TPC u uzorcima dobivenim ekstruzijom uz dodatak CO_2 u usporedbi s klasičnom ekstruzijom bez dodatka CO_2. Međutim, autori nisu imali naknadnu ekspanziju mikrovalovima, koja je u ovom istraživanju utjecala na veće smanjenje TPC u 3G proizvodima nego što je to kod 2G proizvoda. **Tablica 8** prikazuje statistički značajan utjecaj svih ispitanih parametara na TPC i AO u uzorcima ($p<0,05$).

5.2.6. Udio akrilamida (AA) i hidroksimetilfurfurala (HMF-a)

AA i HMF su produkti Maillardovih reakcija. Mehanizam nastanka AA (primarni) vezan je uz Maillardovu reakciju između slobodnog asparagina i karbonilne skupine (najčešće reducirajući šećeri). HMF nastaje Maillardovim reakcijama, tijekom degradacije heksoza i karamelizacije (Teixidó i sur., 2008.; 2011.). Procesiranje pri visokim temperaturama je glavni faktor nastanka HMF-a u hrani, ali može ovisiti i o vrsti šećera, aktivitetu vode, pH vrijednosti, te udjelu dvovalentnih kationa (Capuano i Fogliano, 2011.). AA je klasificiran kao „potencijalno karcinogen za ljude“ jer ima genotoksična i kancerogena svojstva (IARC, 1994.).

Rezultati analize AA nisu prikazani, jer je udio u svim uzorcima bio ispod limita detekcije (<3,79 μg/kg), što ukazuje da se postupkom ekstruzije uz navedene sirovine mogu dobiti proizvodi sigurni za potrošača. Pretpostavka je da nema dovoljno prekursora u sirovini koji uzrokuju nastanak AA, kako primjenom klasične ekstruzije, tako i primjenom SCFX postupka uz ekspanziju mikrovalovima.

Rezultati za HMF prikazani su na **Slici 68**. Vidljivo je kako u kontrolnom uzorku kukuruzne krupice nije došlo do formiranja HMF-a niti u jednom uzorku. Dodatkom nusproizvoda HMF je detektiran i kvantificiran u zamjesima s pogačom lješnjaka i cameline, ali ne i kod dodataka pogače buče i konoplje. To pokazuje da je HMF bio formiran u sirovinama, odnosno pogačama lješnjaka i cameline. Razlog tome može biti u polaznoj sirovini (sjemenci), nakon sušenja i skladištenja sirovine i formiranje prešanjem ulja, iako se radilo o hladnom prešanju. Porast udjela (ili količine) HMF-a nije bio proporcionalan udjelu pogače u uzorku, a zbog nehomogenosti zamjesa bilo je potrebno raditi u 8 i više ponavljanja kako bi se dobile vrijednosti koje se mogu statistički obraditi, na što ukazuje i standardna devijacija na grafu. U uzorcima uz dodatak buče i konoplje došlo je do blagog povećanja udjela HMF-a nakon ekstruzije, ali u 3G proizvodima vrijednosti su bile nešto niže od 2G. Sirovine bogate proteinima dobri su prekursori za stvaranje HMF-a procesiranjem na visokim temperaturama, ali unatoč tome vrijednosti su bile tolike niske da se slobodno može reći kako su zanemarive. U uzorcima s pogačama lješnjaka i cameline došlo je do smanjenja udjela HMF-a nakon provedenog procesa ekstruzije. Pretpostavka je kako je došlo do termičke razgradnje HMF-a u prisutnosti aminokiseline glicin do 2-acetil-5-metilfurana i 5-[(dimetilamino)metil]-2-furanmetanola (Nikolov i Yaylayan, 2011.), jer lješnjak i camelina sadrže glicin (Zubr, 1997.; Web 5). Statističkom analizom dokazano je kako vrsta pogače i postupka imaju statistički značajan utjecaj na udio HMF-a ($p<0,05$) (**Tablica 8**).

Jozinović (2015.) je u svom istraživanju naveo kako nema zabilježenih podataka o udjelu HMF-a u ekstrudiranim proizvodima s dodatkom nusproizvoda. Ispitao je utjecaj dodatka različitih nusproizvoda prehrambene industrije na formiranje AA i HMF u kukuruznim ekstrudatima. Iako

je primjenom procesa ekstruzije došlo do nastanka oba spoja, vrijednosti su bile zanemarive u odnosu za do sada propisane vrijednosti za različite grupe proizvoda (Alinorm 01/25, 2001.; Directive 2001/110/EC, 2001.; EC, 2013.). Navedeni zaključak u skladu je s rezultatima ove disertacije, jer upotreba pogača i primjena dva tipa ekstruzije nisu dovele do formiranja AA, a udio HMF-a nije bio visok.

5.3. SENZORSKA SVOJSTVA

Senzorska analiza proizvoda je provedena na indirektno ekspandiranim proizvodima, kako bi se pokazala prihvatljivost nove vrste proizvoda koji su dobiveni postupkom superkritične CO_2 ekstruzije, ekspandirani korištenjem mikrovalova i obogaćeni nusproizvodima prehrambene industrije, bez dodanih aditiva. **Slika 69** predstavlja rezultate senzorske ocjene kvalitete proizvoda za: vanjski izgled (nepravilnosti, boja), strukturu (poroznost, hrskavost), konzistenciju (žvakanje), miris i okus, dok je ukupna senzorska ocjena, zbroj ocjena za pojedino svojstvo, prikazana na **Slici 70**.

Uzorak bez dodatka pogača bio je visoko ocijenjen za svih pet svojstava, ali može se reći da je to očekivano, jer imaju poznata svojstva, bez dodanih novih sastojaka, odnosno prepoznatljiv izgled na koji su ocjenjivači navikli. Ostali uzorci su dobili slične ocjene, ali šest uzoraka se može izdvojiti kao najbolji: krupica:lješnjak 94:6, krupica:camelina 97:3 i 94:6, krupica:buča 97:3 i 94:6 i krupica:konoplja 91:9. Ovih šest uzoraka dobilo je najviše ukupne ocjene (17 – 17,72). Za uzorke s 3 % buče i lješnjaka senzorski analitičari su ostavili komentar kako je preslab okus, dok je ugodan osjet lješnjaka i buče bio u uzorcima sa 6 % dodatka. Uzorak s 9 % pogače konoplje imao je najniže vrijednosti za hrskavost, i najviše vrijednosti lomljivosti, ali unatoč tome ocijenjen je kao ukusan snack proizvod prihvatljivih svojstava. U drugim istraživanjima, povišenjem udjela dodane voćne komponente (bogate vlaknima, flavonoidima) snižena je senzorska prihvatljivost proizvoda (Choi i sur., 2007.; Ruiz-Armenta i sur., 2017.). U ovom istraživanju povišenje udjela dodanih nusproizvoda nije imalo previše utjecaja na senzorske ocjene. To se najbolje može vidjeti na primjeru uzorka s 3 % dodatka lješnjaka i 9 % dodatka buče. Naime ova dva uzorka su imali najlošije ocjene za strukturu proizvoda, ali također i najniže vrijednosti lomljivosti proizvoda. Analitičari su dali komentar kako je uzorak s 9 % buče nedovoljno ekspandiran i pretvrd. Moguće je da prilikom procesa ekstruzije nije došlo do dovoljne inkorporacije SC-CO_2 u materijal što je dovelo do nepravilne strukture u procesu ekspanzije proizvoda mikrovalovima. Peksa i sur. (2016.) u svom istraživanju nisu dobili dobre senzorske ocjene za kukuruzne snack proizvode obogaćene brašnom buče, te su čak isključili brašno buče kao sirovinu koja je dobra za proizvodnju ove vrste proizvoda, jer je negativno utjecalo i na strukturu proizvoda. U ovoj disertaciji je pokazano kako pogača buče ipak može biti dobra i kvalitetna sirovina za proizvodnju snack proizvoda.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi dobivenih rezultata i provedene rasprave u ovoj disertaciji mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Dodatkom pogača proporcionalno se smanjivao EO u svim uzorcima. 3G uzorci imali su nešto niži EO nego 2G uzorci, ali su i dalje dovoljno ekspandirani da zadovolje karakteristična svojstva proizvoda. SC-CO_2 se može koristiti kao sredstvo ekspanzije, pri nižim temperaturama ekstruzije;
- BD se povećala proporcionalno dodatku pogača u svim uzorcima. Peleti, kao neekspandirani proizvodi imali su najviše vrijednosti, a 2G proizvodi kao najbolje ekspandirani su imali najniže vrijednosti. 3G proizvodi su imali nešto više vrijednosti od 2G proizvoda, jer su bili manje ekspandirani;
- Lomljivost 3G proizvoda viša je nego kod 2G, uz različit utjecaj dodatka pogača u usporedbi s kontrolnim uzorkom kukuruzne krupice bez dodatka pogače. 3G proizvodi imali su više vrijednosti lomljivosti s dodatkom pogača, posebice uzorci s konopljom. 2G proizvodi imali su niže vrijednosti lomljivosti s dodatkom pogača;
- Hrskavost proizvoda smanjila se s dodatkom pogača u odnosu na kontrolni uzorak. 3G proizvodi imali su niže vrijednosti hrskavosti od 2G proizvoda, koji su i dalje bili pogodni za konzumaciju;
- Ukupna promjena boje proporcionalno se povećavala dodatkom svih pogača u svim uzorcima. Najviša ΔE zabilježena je dodatkom pogače konoplje. Peleti su imali najvišu ΔE, osim u uzorcima s pogačom lješnjaka gdje je najviša ΔE zabilježena u 2G proizvodima. Ukupno gledajući, u 3G proizvodima je došlo do najmanje ΔE u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice;
- Dodatak pogača utjecao je na smanjenje parametra C proporcionalno udjelu. U 2G uzorcima došlo je do povećanja parametra C dodatkom pogače cameline, buče i konoplje, a do smanjenja parametra C dodatkom pogače lješnjaka, u odnosu na zamjese. Parametar C u 3G proizvodima je porastao u odnosu na zamjese;
- Nema trenda povećanja ili smanjenja vrijednosti parametra h° dodatkom pogača. U 2G proizvodima se povisio u odnosu na zamjese, kao i u 3G proizvodima, dok se u peletima smanjio u odnosu na zamjes;
- Dodatkom pogača u zamjesima došlo je do povećanja WAI, a u ekstrudiranim proizvodima do njegovog smanjenja. Ekstruzija je utjecala na povišenje WAI u odnosu na zamjese, ali 3G proizvodi imali su niže vrijednosti od 2G proizvoda. Peleti su imali najviše vrijednosti WAI;
- WSI se povećao proporcionalno dodatku nusproizvoda u odnosu na kontrolne uzorke, osim u 2G proizvodima. Pogače su utjecale na smanjenje WSI u 2G proizvodima, ali su također kod tih uzoraka zabilježene najviše vrijednosti, ako se usporedi sa

zamjesima, peletima i 3G proizvodima. Zamjesi i peleti imali su najniži WSI, a nešto viši bio je u 3G proizvodima;

- Ekstruzija je značajno utjecala na sniženje maksimalne viskoznosti uzoraka u odnosu na zamjese, a najniže vrijednosti zabilježene su u 2G proizvodima. Dodatkom pogača došlo je do sniženja viskoznosti u gotovo svim uzorcima. Dodatkom pogače cameline viskoznost se povećala u odnosu na kontrolni uzorak, zbog velikog sadržaja globulina;
- Najniže vrijednosti stabilnosti miješanja imaju zamjesi i peleti, nešto više 3G proizvodi te najviše 2G proizvodi. Dodatkom pogača vrijednosti kidanja bile su nepromijenjene kod svih uzoraka osim kod 2G proizvoda. Svaki udio određene pogače različito je utjecao na vrijednosti kidanja;
- Klasična ekstruzija je utjecala na značajan pad "*Setback*" vrijednosti u odnosu na zamjese, dok kod peleta i 3G proizvoda pad nije bio značajan. Dodatkom pogača došlo je do proporcionalnog smanjivanja "*Setback*" vrijednosti u odnosu na kontrolni uzorak, osim kod 2G proizvoda gdje nije zabilježen pravilan trend;
- Sve četiri pogače imaju znatno više vrijednosti udjela proteina, pepela i vlakana u odnosu na kukuruznu krupicu, dok je najviši udio proteina zabilježen u pogači buče. Pogača konoplje imala je najviši udio TV i UV dok je pogača cameline bila najbogatija polifenolima i imala najvišu AO. Odabrane pogače su nutritivno izrazito bogate i vrlo vrijedni nusproizvodi uljne industrije, a odmašćene mogu pronaći svoju primjenu u proizvodnji velikog broja novih prehrambenih proizvoda;
- Udio TV se povećavao proporcionalno dodatku pogača u svim uzorcima. Klasični zamjesi i 2G proizvodi imali su nešto više vrijednosti TV zbog dodanog pektina. 3G proizvodi imali su nešto više TV od SCFX zamjesa, odnosno SCFX i mikrovalovi nisu previše utjecali na promjenu TV u odnosu na zamjese. Uzorci s pogačom buče imali su najviše vrijednosti TV, jer je u sirovini bio najviši udio TV;
- Dodatkom pogača povećao se udio NV u svim uzorcima. Ekstruzija je utjecala na smanjenje udjela NV, pa su 2G uzorci imali najniže vrijednosti. Uzorci s pogačom konoplje sadrže najviše NV, jer je u sirovini bilo najviše NV;
- Najviše vrijednosti UV su u uzorcima s pogačom konoplje. Najniže vrijednosti zabilježene su u 2G proizvodima. SCFX i ekspanzija mikrovalovima nisu uzrokovali značajno smanjenje udjela vlakana u odnosu na zamjese kao klasična ekstruzija, što je pozitivan pokazatelj primjene ovog načina proizvodnje snack proizvoda;
- Udio RS se značajno smanjio u 2G i 3G proizvodima u odnosu na zamjese. Pogače nisu značajno utjecale na rast RS u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice. 3G proizvodi su imali nešto više vrijednosti RS od 2G proizvoda;

- Udio NRS se povisio nakon ekstruzije, uz isti ili nešto niži udio za 3G proizvode. Klasični zamjesi imali su najniži udio NRS, zbog dodanog pektina;
- Udio TS smanjio se dodatkom pogača u svim uzorcima, ali ne razlikuje se previše u zamjesima i ekstrudatima, što znači da ekstruzija nije imala značajnu promjenu na udio TS;
- DS se povećao u svim uzorcima nakon ekstruzije. U zamjesima je gotovo jednak nuli, dok je u ekstrudatima više od 60 %. 2G proizvodi imaju viši stupanj DS, što znači da su SCFX i mikrovalovi uzrokovali manje oštećenje škroba. Niže vrijednosti zabilježene su dodatkom pogača u usporedbi s kontrolnim uzorkom;
- Pogače su uzrokovale povišenje sadržaja polifenola i antioksidativne aktivnosti u odnosu na kukuruznu krupicu, uz značajno najviše vrijednosti dodatkom pogače cameline. Klasičnom ekstruzijom TPC i AO su se povećali u odnosu na zamjese osim uz dodatak pogače cameline. 3G proizvodi imali su znatno niži udio TPC i AO u odnosu na zamjese, odnosno mikrovalovi su utjecali na sniženje sadržaja TPC i AO;
- AA nije detektiran niti u jednom uzorku, što ukazuje da su odabrane pogače i uvjeti ekstruzije prigodni za proizvodnju snack proizvoda, bez nastanka AA;
- Udio HMF-a povećao se u zamjesima dodatkom pogača lješnjaka i cameline, dok u zamjesima s bučom i konopljom nije detektiran. Ekstruzija je uzrokovala blago povećanje udjela HMF-a u uzorcima s pogačom buče i konoplje, a smanjenje u uzorcima s pogačama cameline i lješnjaka. Pretpostavlja se kako je došlo do termičke razgradnje HMF-a u prisutnosti aminokiseline glicin do 2-acetil-5-metilfurana i 5-[(dimetilamino)metil]-2-furanmetanola. Udio HMFa nije visok, te ne predstavlja opasnost za konzumiranje;
- Svi uzorci su ocijenjeni visokim ocjenama uz komentare dobre prihvatljivosti proizvoda. Najvišu senzorsku ocjenu proizvoda dobilo je šest uzoraka: krupica:lješnjak 94:6, krupica:camelina 97:3 i 94:6, krupica:buča 97:3 i 94:6 i krupica:konoplja 91:9. To je dobar pokazatelj primjene ovih nusproizvoda i SCFX u proizvodnji obogaćenih 3G proizvoda;
- Iz svega se može zaključiti kako je SCFX dobra tehnika za proizvodnju indirektno ekspandiranih snack proizvoda, bez dodavanja sredstva napuhivanja ili poboljšivača ekspanzije. Moguće je proizvesti pelete koji se mogu naknadno ekspandirati i konzumirati svježe pripremljeni;
- Odabrane pogače dobar su primjer obogaćivanja proizvoda i zbrinjavanja nusproizvoda uljne industrije.

7. LITERATURA

Abramovič H, Abram V: Physico-chemical properties, composition and oxidative stability of Camelina sativa oil. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1):63–70, 2005.

Ačkar Đ: Izoliranje, modificiranje i karakteriziranje škroba pšenice. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2010.

Ačkar Đ, Jozinović A, Babić J, Miličević B, Panak Balentić J, Šubarić D: Resolving the problem of poor expansion in corn extrudates enriched with food industry by-products. *Innovative Food Science & Emerging Techologies*, 47:517-514, 2018.

Ačkar Đ, Panak Balentić J, Jozinović A, Babić J, Miličević B, Aladić K, Jokić S, Šubarić D: Supercritical CO_2 Extrusion – Novel Technology in Food Industry. *Engineering Power*, 12 (1):13-15, 2017.

Aguilar-Palazuelos E, Zazueta-Morales JdeJ, Martínez-Bustos F: Preparation of high-quality protein-based extruded pellets expanded by microwave oven. *Cereal Chemistry*, 83(4):363–369, 2006.

Ainsworth P, İbanoğlu Ş, Plunkett A, İbanoğlu E, Stojceska, V: Effect of brewers spent grain addition and screw speed on the selected physical and nutritional properties of an extruded snack. *Journal of Food Engineering,* 81:702-709, 2007.

Aladić K: Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog (*Cannabis sativa* L.) ulja superkritičnim CO_2 iz pogače nakon hladnog prešanja. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.

Aladić K, Jarni K, Barbir T, Vidović S, Vladić J, Bilić M, Jokić S: Supercritical CO_2 extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. *Industrial Crops and Products*, 76:472-478, 2015.

Aladić K, Vidović S, Vladić J, Balić D, Jukić H, Jokić S: Effect of supercritical CO_2 extraction process parameters on oil yield and pigment content from by-product hemp cake. Int. *Journal of Food Science and Technology,* 51:885-893, 2016.

Alavi SH, Gogoi BK, Khan M, Bowman BJ, Rizvi SSH: Structural properties of protein-stabilized starch-based supercritical fluid extrudates, *Food Research International,* 32:107–118, 1999.

Alavi S, Rizvi SSH: Strategies for Enhancing Expansion in Starch-Based Microcellular Foams Produced by Supercritical Fluid Extrusion. *International Journal of Food Properties,* 8:23–34, 2005.

Alinorm 01/25. *Codex Alimentarius*., 2001.

Altan A, McCarthy KL, Maskan M: Evaluation of snack foods from barley-tomato pomace blends by extrusion processing. *Journal of Food Engineering,* 84:231-242, 2008.a.

Altan A, McCarthy KL, Maskan M: Twin-screw extrusion of barley-grape pomace blends: Extrudate characteristics and determination of optimum processing conditions. *Journal of Food Engineering*, 89(1):24-32, 2008.b.

Altan A, McCarthy KL, Maskan M: Effect of extrusion cooking on functional properties and in vitro starch digestibility of barley-based extrudates from fruit and vegetable by-products. *Journal Food Science*, 74(2):77-86, 2009.

Alvarez-Martinez L, Kondury KP, Karper JM: A general model for expansion of extruded products. *Journal of Food Science*, 53:609–615, 1988.

Amédée Masclef - Atlas des plantes de France. 1891, https://commons.wikimedia.org/wiki/File:36_Camelina_sativa_Fries.jpg [27.11.2017.]

American Association of Cereal Chemists: *Starch Damage*. AACC 76-31.01.

Anderson RA, Conway HFM, Pfeiffer VF, Griffin EJ: Gelatinization of corn grits by roll- and extrusion cooking. *Cereal Science Today*, 14:4–12, 1969.

Applequist WL, Avula B, Schaneberg BT, Wang YH, Khan IA: Comparative fatty acid content of seeds of four Cucurbita species grown in a common (shared) garden. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19:606–611, 2006.

Apostol L, Popa M, Mustatea G: Cannabis sativa L partially skimmed flour as source of bio-compounds in the bakery industry. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(5):10835–10844, 2015.

Association of Official Analytical Chemists: *Resistant starch in starch and plant materials*. Official methods of analysis of the AOAC international (18th ed.). AOAC International, Gaithersburg, Maryland, 2002. AOAC 2002.02.

Association of Official Analytical Chemists: *Total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods: enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer.* AOAC 991.43.

Ayoub A, Rizvi SSH: Properties of Supercritical Fluid Extrusion-Based Crosslinked Starch Extrudates. *Journal of Applied Polymer Science*, 107:3663–3671, 2007.

Babić J: Materijali s predavanja na kolegiju „Tehnologija ugljikohidrata i konditorskih proizvoda“. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2011.

Bahramparvar M, Moghaddam TM, Razavi SMA: Effect of deep-fat frying on sensory and textural attributes of pellet snacks. *Journal of Food Science and Technology*, DOI 10.1007/s13197-012-0914-6, 2012.

Bashir S, Sharif MK, Butt MS, Rizvi SSH, Paraman I, Ejaz R: Preparation of Micronutrients Fortified Spirulina Supplemented Rice-Soy Crisps Processed Through Novel Supercritical Fluid Extrusion. *Journal of Food Processing and Preservation,* 41, 2017. https://doi.org/10.1111/jfpp.12986

Bastos-Cardoso I, Zazueta-Morales JdeJ, Martínez-Bustos F, Kil-Chang Y: Development and characterization of extruded pellets of whole potato (Solanum tuberosum L.) flour expanded by microwave heating. *Cereal Chemistry,* 84(2):137–144, 2007.

Bates D, Bueno R, Perkins T: Effect of using hazelnut flour as a replacer of all-purpose flour on texture, appearance, and palatability of gluten-free cupcakes. NUTR 45300 Reseach Project, 2013. http://www.cfs.purdue.edu/fn/fn453/Project_Archive/Fall_2013/Use_of_hazelnut_flour_in_cupcakes.pdf [27.11.2017.]

Bhatnagar S, Hanna MA: Extrusion processing conditions for amylase-lipid complexing. *Cereal Chemistry*, 71:587-593, 1994.

Bisharat GI, Oikonomopoulou VP, Panagiotou NM, Krokida MK, Maroulis ZB: Effect of extrusion conditions on the structural properties of corn extrudates enriched with dehydrated vegetables. *Food Research International*, 53:1-14, 2013.

Blackshaw RE, Johnson EN, Gan Y, May WE, McAndrew DW, Barthet V, Wispinski, D: Alternative oilseed crops for biodiesel feedstock on the Canadian prairies. *Canadian Journal of Plant Science*, 91(5):889–896, 2011.

Boischot C, Moraru CI, Kokini JL: Factors that influence the microwave expansion of glassy amylopectin extrudates. *Cereal Chemistry*, 80(1):56–61, 2003.

Boyaci BB, Han JY, Masatcioglu MT, Yalcin E, Celik S, Ryu GH, Koksel H: Effects of cold extrusion process on thiamine and riboflavin contents of fortified corn extrudates. *Food Chemistry,* 132:2165–2170, 2012.

Brandess A: Modeling The Profitability Of Camelina Sativa As A Biofuel Feedstock In Eastern Colorado. *Thesis*. Fort Collins, Colorado: Colorado State University, Department of Agricultural and Resource Economics, 2012.

Brnčić M, Ježek D, Rimac Brnčić S, Bosiljkov T, Tripalo B: Utjecaj dodatka koncentrata proteina sirutke na teksturalna svojstva izravno ekspandiranog kukuruznog ekstrudata. *Mljekarstvo,* 58(2):131-149*,* 2008.

Bucić-Kojić A: Utjecaj procesnih uvjeta i načina kruto-tekuće ekstrakcije na ekstraktibilnost fenolnih tvari iz sjemenki grožđa. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2008.

Budin JT, Breene WM, Putnam DH: Some Compositional Properties of Camelina (*Camelina sativa* L . Crantz). *Seeds and Oils. JAOCS*, 72(3):309–315, 1995.

Callaway JC, Pate DW: Hempseed oil. U *Gourmet and Health- Promoting Specialty Oils Urbana Il* (Moreau URA, Kamal-Eldin A, ur.) American Oil Chemists Society Press, 185-213, 2009.

Camacho-Hernandez IL, Zazueta-Morales JJ, Gallegos-Infante JA, Aguilar-Palazuelos E, Rocha-Guzman NE, Navarro-Cortez RO, Jacobo-Valenzuela N, Gomez-Aldapa CA: Effect of extrusion conditions on physicochemical characteristics and anthocyanin content of blue corn third- generation snacks. *CyTA - Journal of Food,* 12(4):320–330, 2014.

Camire ME: Chemical and Nutritional changes in Food during Extrusion. U *Extruders in Food Applications* (Riaz MN, ur.). CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Philadelphia, 127-148, 2000.

Campbell MCA, Rossi AFA, Erskine WA: Camelina (*Camelina sativa* (L.) Crantz): agronomic potential in Mediterranean environments and diversity for biofuel and food uses. *Crop & Pasture Science*, 64:388–398, 2013.

Capuano E, Fogliano V: Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 44:793-810, 2011.

Chaudhary DP, Kumar S, Yadav OP: Nutritive Value of Maize: Improvements, Applications and Constraints. U *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses* (Chaudhary DP, Kumar S, Langyan S, ur.). Springer, New Delhi, 3-20, 2014.

Chen KH, Rizvi SSH: Mixtures with Controlled Gelatinization by Supercritical Fluid Extrusion. *International Journal of Food Properties*, 9:863–876, 2006.

Chen CM, Yeh AI: Expansion of Rice Pellets : Examination of Glass Transition and Expansion Temperature. *Journal of Cereal Science,* 32:137–145, 2000.

Cho KY, Rizvi SSH: The time-delayed expansion profile of supercritical fluid extrudates. *Food Research International*, 41:31–42, 2008.

Cho KY, Rizvi SSH: 3D microstructure of supercritical fluid extrudates I: Melt rheology and microstructure formation. *Food Research International,* 42:595–602, 2009.

Choi ID: Development, physical, and sensory characterization of extruded, indirectly puffed peanut-based snack products. *Dissertation*. Graduate Faculty, University of Georgia, Athens, Georgia, 2002.

Choi ID, Phillips RD, Resurreccion AVA: Consumer-Based Optimization of a Third-Generation Product Made from Peanut and Rice Flour. *Journal of Food Science,* 72(7):443–449, 2007.

Colonna P, Tayler J, Mercier C: Extrusion cooking of starch and starchy products. U *Extrusion cooking* (Mercier C, Linko P, Harper JM, ur.), American Association of Cereal Chemistry, St. Paul MN, USA, 247-319, 1989.

Cvjetko Bubalo M, Vidović S, Radojčić Redovniković I, Jokić S: Green solvents for green technologies. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90:1631–1639, 2015.

Čović D, Bojić M, Medić-Šarić M: Metabolizam flavonoida i fenolnih kiselina. *Farmaceutski glasnik*, 65:693-704, 2009.

Dana D, Saguy IS: Review: Mechanism of oil uptake during deep- fat frying and the surfactant effect-theory and myth. *Advances in Colloid and Interface Science,* 128–130:267–272, 2006.

da Silva MC, Piler de Carvalho CW, Tristao Andrade C: The effects of water and sucrose contents on the physicochemical properties of non-directly expanded rice flour extrudates. *Tecnologia de Alimentos, Campinas,* 29(3):661-666, 2009.

Deghan-Shoar Z, Hardacre AK, Brennan CS: The physico-chemical characteristics of extruded snacks enriched with tomato lycopene. *Food Chemistry,* 123:1117-1122, 2010.

Delgado-Licon E, Ayala ALM, Rocha-Guzman NE, Gallegos-Infante JA, Atienzo-Lazos M, Drzewiecki J, Martinez-Sanchez CE, Gorinstein S: Influence of extrusion on the bioactive compounds and the antioxidant capacity of the bean/corn mixtures. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60:522-532, 2009.

Delgado-Nieblas C, Aguilar-Palazuelos E, Gallegos-Infante A, Rocha-Guzmán N, Zazueta-Morales J, Caro-Corrales J: Characterization and Optimization of Extrusion Cooking for the Manufacture of Third-Generation Snacks with Winter Squash (*Cucurbita moschata* D.) Flour*. Cereal Chemistry,* 89(1):65–72, 2012.

Delaš I, Popović M, Petrović T, Delaš F, Ivanković D: Changes in the Fatty Acid Composition of Brain and Liver Phosphlipids from Rats Fed Fat-Free Diet. *Food Technology and Biotechnology,* 46(3):278-285, 2008.

de Mesa NJ, Alavi S, Singh N, Shi V, Dogan H, Sang Y: Soy protein-fortified expanded extrudates: Baseline study using normal corn starch. *Journal of Food Engineering,* 90:262-270, 2009.

Dessi MA, Deiana M, Day BW, Rosa A, Banni S, Corongiu FP: Oxdative stability of polyunsaturated fatty acid: effect of squalene. *European Journal of Lipid Science and Technology,* 104:506-512, 2002.

Dimić E: *Hladno ceđena ulja*. Tehnološki fakultet, Novi sad, 2005.

Ding QB, Ainsworth P, Tucker G, Marson H: The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. *Journal of Food Engineering,* 66:283–289, 2005.

Directive 2001/110/EC: *Official Journal of the European Communities*, 47–52, 2001.

EC (European Commission), 2013: Commission recommendations of 8. November 2013. on the monitoring of acrylamide levels in food. *Official Journal of the European Union*, 301/15, 12.11.2013.

Eckhoff SR, Watson SA: Corn and sorghum starches: Production. U *Starch: Chemistry and technology* (BeMiller J, Whistler R, ur.). Academic Press, USA, 373-439, 2009.

Eidhin DN, Burke J, O'Brine D: Oxidative stability of ω-3-rich camelina oil and camelina oil-based spread com- pared with plant and fish oils and sunflower spread. *Journal of Food Science,* 68:345–353, 2003.

Elleuch M, Bedigian D, Roiseux O, Besbes S, Blecker C, Attia H: Dietary fibre and fibre rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry,* 124:411-421, 2011.

Ernoult V, Moraru CI, Kokini JL: Influence of Fat on Expansion of Glassy Amylopectin Extrudates by Microwave Heating. *Cereal Chemistry*, 79(2):265–273, 2002.

Eurostat: The „food waste plug-in" date- reference year 2012. https://www.google.hr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjD59ivrt7XAhXJDZoKHTPnDHYQFggnMAA&url=https%3A%2F%2Fcircabc.europa.eu%2Fsd%2Fa%2Fec3f307e-1107-4d5e-8f7e-12d2ff43b464%2F20150702_FW_plugin.docx&usg=AOvVaw1z1uBrFIAKXn7Hn83F225S [27.11.2017.]

Food and Agriculture Organization of the United Nations: *Food Balance Sheets.* FAOSTAT, 2013. http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS [11.5.2017]

Faraj A, Vasanthan T, Hoover R: The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. *Food Research International,* 37:517-525, 2004.

Frame DD, Palmer M, Peterson B: Use of Camelina sativa in the Diets of Young Turkeys 1. *The Journal of Applied Poultry Research,* 16:381–386, 2007.

Gimeno E, Moraru CI, Kokini JL: Effect of Xanthan Gum and CMC on the Structure and Texture of Corn Flour Pellets Expanded by Microwave Heating. *Cereal Chemistry*, 81(1):100–107, 2004.

Glew RH, Glew RS, Chuang LT, Huang Y-S, Mill-Son M, Constans D, Vanderjagt DJ: Amino acid, mineral and fatty acid content of pumpkin seeds (*Cucurbita* spp) and Cyperus

esculentusnuts in the Republic of Niger*. Plant Foods for Human Nutrition*, 61:51–56, 2006.

Gourgouillon D, Avelino HMNT, Fareleira JMNA, Nunes da Ponte M: Simultaneous viscosity and density measurement of supercritical CO_2-saturated PEG 400. *The Journal of Supercritical Fluids*, 13:177–185, 1998.

Gupta M, Bawa AS, Semwal AD: Effect of barley flour on development of rice-based extruded snacks. *Cereal Chemistry*, 85(2):115-122, 2008.

Guraya HS, Toledo RT: Volume Expansion during Hot Air Puffing of a Fat-free Starch-Based Snack. *Journal of Food Science,* 59(3):641–643, 1994.

Gutiérrez JD, Catalá-Civera JM, Bows J, Peñaranda-Foix FL: Dynamic measurement of dielectric properties of food snack pellets during microwave expansion. *Journal of Food Engineering,* 202:1–8, 2017.

Hagenimana A, Ding X, Fang T: Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, 43(1):38-46, 2006.

Huang XE, Hirose K, Wakai K, Matsuo K, Ito H, Xiang J, Toshiro Takezaki T, Tajima K: Comparison of lifestyle risk factors by family history for gastric, breast, lung and colorectal cancer. Asian Pacific Journal of CancerDragsted L, Strube M, Larsen, JC: *Cancer Prevention*, 5(4):419-427, 2004.

Huber G: Snack foods from cooking extruders. U *Snack Foods Processing* (Lusas, EW, Rooney, LW, ur.), CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Philadelphia, 356–359, 2001.

Huber GR, Rokey GJ: Extruded Snacks. U *Snack Food* (Booth RG, ed.), Anavibook, Van Nostrand Reinhold, New York, 123, 1990.

International Agency for Research on Cancer (IARC): *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: Acrylamide*. Lyon, 60:389–433, 1994.

International Standard Organisation: *Animal feeding stuffs – Determination of crude ash.* ISO 5984:2002.

International Standard Organisation: *Animal feeding stuffs – Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content – Part 2: Block digestion/steam distillation method.* ISO 5983-2:2005.

International Standard Organisation: *Animal feeding stuffs – Determination of fat content*. ISO 6492:1999.

International Standard Organisation: *Maize – Determination of moisture content (on milled grains and on whole grains).* ISO 6540:1980.

International Standard Organisation: *Sensory analysis – Guidelines for the use of quantitative response scales.* ISO 4121:2003.

Izydorczyk M, Cui SW, Wang Q: Polysaccharide Gums: Structures, Functional Properties, and Applications. U *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications* (Cui SW, ur.). CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 353-412, 2005.

Jeong H, Toledo R: Twin-screw extrusion at low temperature with carbon dioxide injection to assist expansion: extrudate characteristics. *Journal of Food Engineering,* 63:425–432, 2004.

Jing Y, Chi YJ: Effects of twin screw extrusion on soluble dietary fibre and physicochemical properties of soybean residue. *Food Chemistry,* 138:884-889, 2013.

Johnson R: Hemp as an Agricultural Commodity. *Congressional Research Service,* 2015, https://fas.org/sgp/crs/misc/RL32725.pdf [27.10.2017.]

Jokić S, Bijuk M, Aladić K, Bilić M, Molnar M: Optimization of supercritical CO_2 extraction of grape seed oil using response surface methodology. *International Journal of Food Science and Technology*, 51:403-410, 2016.

Jokić S, Horvat G, Aladić K: Design of SFE system using a holistic approach -problems and challenges. U *Supercritical Fluid Extraction: Technology, Applications and Limitations*. Nova Science Publishers, Inc., NY, USA, str. 95-122, 2014.

Jokić S, Nagy B, Velić D, Bucić A, Bilić M: Kinetički modeli za ekstrakciju uljarica superkritičnim CO_2 - pregledni rad. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 3:39–542, 2011.

Jozinović A: Utjecaj ekstruzije na svojstva smjesa kukuruzne krupice s heljdinim i kestenovim brašnom. *Diplomski rad.* Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2011.

Jozinović A: Svojstva kukuruznih snack proizvoda obogaćenih s nusproizvodima prehrambene industrije. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.

Jozinović A, Ačkar Đ, Babić J, Miličević B, Panak J, Šarkanj B, Šubarić D: Development of LC-MS/MS method for determination of acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural in extruded products. U *8th International Congress Flour – Bread '15, Book of Abstracts*, 45-45, Faculty of Food Technology Osijek, 2015.

Jozinović A, Ačkar Đ, Jokić S, Babić J, Panak Balentić J, Banožić M, Šubarić D: Optimisation of Extrusion Variables for the Production of Corn Snack Products Enriched with Defatted Hemp Cake. *Czech Journal of Food Science*, 35(6):507-516, 2017.

Jozinović A, Šubarić D, Ačkar Đ, Babić J, Klarić I: Influence of buckwheat and chestnut flour addition on properties of corn extrudates. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 4(1):26-33, 2012.a.

Jozinović A, Šubarić D, Ačkar Đ, Babić J, Planinić M, Pavoković M, Blažić M: Effect of screw configuration, moisture content and particle size of corn grits on properties of extrudates. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 4(2):95-101, 2012.b.

Jozinović A, Šubarić D, Ačkar Đ, Miličević B, Babić J, Jašić M, Valek Lendić K: Food industry by-products as raw materials in functional food production. *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku,* 3(1):22-30, 2014.

Jozinović A, Šubarić D, Ačkar Đ, Babić J, Miličević B: Influence of spelt flour addition on properties of extruded products based on corn grits. *Journal of Food Engineering,* 172:31-37, 2016.

Kalmendal R: Hemp seed cake fed to broilers. *Master's thesis*. Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Nutrition and Management, Uppsala, 2008.

Karlsson L, Finell M, Martinsson K: Effects of increasing amounts of hempseed cake in the diet of dairy cows on the production and composition of milk. *Animal,* 4:11,1854–1860, 2010.

Karkle EL, Alavi S, Dogan H: Cellular architecture and its relationship with mechanical properties in expanded extrudates containing apple pomace. *Food Research International,* 46:10-21, 2012.

Kazarian SG: Polymer Processing with Supercritical Fluids. *Polymer Science, Series C*, 42:78–101, 2000.

Knez Ž, Markočič E, Leitgeb M, Primožič M, Knez Hrnčič M, Škerget M: Industrial applications of supercritical fluids: A review. *Energy,* 77:235–243, 2013.

Kolodziejczyk P, Ozimek L, Kozłowska J: The application of flax and hemp seeds in food, animal feed and cosmetics production. U *Handbook of Natural Fibres* (Vol. 2). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 329-366, 2012.

Korus J, Gumul D, Czechowska K: Effect of Extrusion on the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Dry Beans of *Phaseolus vulgaris* L. *Food Technology and Biotechnology,* 45(2):139-146, 2007.

Kosović I, Jukić M, Jozinović A, Ačkar Đ, Koceva Komlenić D: Influence of chestnut flour addition on quality characteristics of pasta made on extruder and minipress. *Czech Journal of Food Science*, 34:166-172, 2016.

Kraus S, Sólyom K, Schuchmann HP, Gaukel V: Drying Kinetics and Expansion of Non-predried Extruded Starch-Based Pellets during Microwave Vacuum Processing. *Journal of Food Process Engineering,* 36(6):763–773, 2013.

Larrea MA, Chang YK, Martinez-Bustos F: Some functional properties of extruded orange pulp and its effect on the quality of cookies. *LWT - Food Science and Technology,* 38:213–220, 2005.

Lazou A, Krokida M: Structural and textural characterization of corn–lentil extruded snacks. *Journal of Food Engineering*, 100:392–408, 2010.

Lee SM, Han JH, Kim KY, Ahn YJ, Lee JW: High--pressure rheology of polymer melts containing supercritical carbon dioxide. *Korea-Australia Rheology Journal*, 18:83–90, 2006.

Lee EY, Lim K II, Lim JK, Lim ST: Effects of gelatinization and moisture content of extruded starch pellets on morphology and physical properties of microwave-expanded products. *Cereal Chemistry*, 77(6):769–773, 2000.

Lee EY, Ryu G, Lim S: Effects of Processing Parameters on Physical Properties of Corn Starch Extrudates Expanded Using Supercritical CO_2 Injection. *Cereal Chemistry*, 76:63–69, 1999.

Liu H, Hebb RL, Putri N, Rizvi SSH: Physical properties of supercritical fluid extrusion products composed of milk protein concentrate with carbohydrates. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(3):847-856, 2018.

Lopes da Silva JA, Rao MA: Pectins: Structure, Functionality, and Uses. U *Food Polysaccharides and Their Applications* (Stephen AM, Phillips GO, Williams PA, ur.). CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 353-412, 2006.

Lovrić T: Ekstruzija (Ekstruzijsko kuhanje). U *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva* (Lovrić T, ur.). Hinus, Zagreb, 287-299, 2003.

Lu C: Camelina sativa : A Potential Oilseed Crop for Biofuels and Genetically Engineered Products. *ISB News Report*, (January):18–20, 2008.

Lv Y, Glahn RP, Hebb RL, Rizvi SSH: Physico-chemical properties, phytochemicals and DPPH radical scavenging activity of supercritical fluid extruded lentils. *LWT - Food Science and Technology*, 89:315-321, 2018.

Maisont S, Narkrugsa W: Effects of Salt, Moisture Content and Microwave Power on Puffing Qualities of Puffed Rice. *Kasetsart Journal - Natural Science,* 44:251–261, 2010.

Makowska A, Mildner-Szkudlarz S, Obuchowski W: Effect of brewers spent grain addition on properties of corn extrudates with an increased dietary fibre content. *Polish Journal of Food and Nutrition Science,* 63:19-24, 2013.

Manoi K, Rizvi SSH: Rheological characterizations of texturized whey protein concentrate-based powders produced by reactive supercritical fluid extrusion. *Food Research International*, 41:786–796, 2008.

Manoi K, Rizvi SSH: Physicochemical characteristics of phosphorylated cross-linked starch produced by reactive reactive supercritical fluid extrusion. *Carbohydrate Polymers*, 81:687-694, 2010.

Martínez MM, Rosell CM, Gómez M: Modification of wheat flour functionality and digestibility through different extrusion conditions. *Journal of Food Engineering,* 143:74–79, 2014.

Masatcioglu TM, Yalcin E, Hwan PJ, Ryu GH, Celik S, Koksel H: Hull-less barley flour supplemented corn extrudates produced by conventional extrusion and CO_2 injection process. *Innovative Food Science and Emerging Technologies,* 26:302–309, 2014.

Milan-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Armienta-Rodelo E, Carábez-Trejo A, Mora-Escobedo R: Physicochemical and Nutritional Characteristics of Extruded Flours from Fresh and Hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L). *LWT - Food Science and Technology*, 33:117-123, 2000.

Moraru CI, Kokini JL: Nucleation and expansion during extrusion and microwave heating of cereal foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2:147-165, 2003.

Móscicki L: *Extrusion - Cooking Techniques: Applications, Theory and Sustainability*. WILEY-VCH, Weinheim, Germany, 2011.

Moslavac T, Jokić S, Šubarić D, Aladić K, Vukoja J, Prce N: Pressing and supercritical CO_2 extraction of Camelina sativa oil. *Industrial Crops and Products*, 54:122-129, 2014.

Nalawade SP, Picchioni F, Janssen LPBM: Supercritical carbon dioxide as a green solvent for processing polymer melts: Processing aspects and applications. *Progress in Polymer Science*, 31:19–43, 2006.

Nascimento EMDGC, Carvalho CWP, Takeiti CY, Freitas DDGC, Ascheri JLR: Use of sesame oil cake (*Sesamum indicum* L.) on corn expanded extrudates. *Food Research International,* 45:434–443, 2012.

Navarro-Cortez RO, Aguilar-Palazuelos E, Zazueta-Morales JJ, Castro-Rosas J, Hernández-Ávila J, Gómez-Aldapa CA, Aguirre-Tostado FS: Microstructure of an Extruded Third-Generation Snack Made from a Whole Blue Corn and Corn Starch Mixture. International journal of food processing technology, 1:10–17, 2014.

Navarro-Cortez RO, Hernandez-Santos B, Gomez-Aldapa CA, Castro-Rosas J, Herman-Lara E, Martınez-Sanchez CE, Juarez-Barrientos JM, Antonio-Cisneros CM, Rodrıguez-Miranda J: Development of Extruded Ready-To-Eat Snacks Using Pumpkin Seed (*Cucurbita Pepo*) and Nixtamalized Maize (*Zea Mays*) Flour Blends. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(2):409-422, 2016.

Nikolov PY, Yaylayan VA: Thermal decomposition of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) and its further transformations in the presence of glycine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 59(18):10104–10113, 2011.

NN 107/01 Zakon o Suzbijanju Zlouporabe Opojnih Droga

Nor Afizah M, Rizvi SSH: Functional properties of whey protein concentrate texturized at acidic pH: Effect of extrusion temperature. *LWT- Food Science and Technology,* 57:290–298, 2014.

Nor Afizah M, Ruttarattanamongkol K, Rizvi SSH: The effects of supercritical fluid extrusion process on surface hydrophobicity of whey protein concentrate and its relation to storage and heat stability of concentrated emulsions. *Food Research International,* 48:470–477, 2012.

Norajit K, Gu BJ, Ryu G-H: Effects of the addition of hemp powder on the physicochemical properties and energy bar qualities of extruded rice. *Food Chemistry,* 129:1919–1925, 2011.

Norton AD, Greenwood RW, Noble I, Cox PW: Hot air expansion of potato starch pellets with different water contents and salt concentrations. *Journal of Food Engineering,* 105:119–127, 2011.

Obradović V: Utjecaj temperature i dodataka na fizikalna, kemijska i senzorska svojstva kukuruznih ekstrudata. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2014.

Obradović V, Babić J, Šubarić D, Ačkar Đ, Jozinović A: Improvement of nutritional and functional properties of extruded food products. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(3):189-206, 2014.

Obradović V, Babić J, Šubarić D, Jozinović A, Ačkar Đ, Klarić I: Influence of dried Hokkaido pumpkin and ascorbic acid addition on chemical properties and colour of corn extrudates. *Food Chemistry*, 183:136–143, 2015.a.

Obradović V, Babić J, Šubarić D, Jozinović A, Ačkar Đ: Physico-chemical Properties of Corn Extrudates Enriched with Tomato Powder and Ascorbic Acid. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 29(3):325-342, 2015.b.

Ondo SE, Singkhornart S, Ryu GH: Effects of die temperature, alkalized cocoa powder content and CO_2 gas injection on physical properties of extruded cornmeal. *Journal of Food Engineering,* 117:173–182, 2013.

Oomah BD, Busson M, Godfrey DV, Drover JC: Characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. *Food Chemistry*, 76(1):33–43, 2002.

Palmer MV, Ting SST: Applications for supercritical fluid technology in food processing. *Food Chemistry*, 52:345–352, 1995.

Panak Balentić J, Ačkar Đ, Jozinović A, Babić J, Miličević B, Jokić S, Pajin B, Šubarić D: Application of supercritical carbon dioxide extrusion in food processing technology. *Hemijska Industrija*, 71(2):127–134, 2017.

Panak Balentić J, Babić J, Jozinović A, Ačkar Đ, Miličević B, Šubarić D,: Production of third-generation snacks. *Croatan Journal of Food Science and Technology*, 10(1):98-105, 2018.

Paraman I, Wagner ME, Rizvi SSH: Micronutrient and Protein Fortified Whole Grain Puffed Rice Made by Supercritical Fluid Extrusion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 60:11188–11194, 2012.

Patel S, Venditti RA, Pawlak JJ, Ayoub A, Rizvi SSH: Development of Cross-Linked Starch Microcellular Foam by Solvent Exchange and Reactive Supercritical Fluid Extrusion. *Journal of Applied Polymer Science,* 111:2917–2929, 2009.

Paula AM, Conti-Silva AC: Texture profile and correlation between sensory and instrumental analyses on extruded snacks. *Journal of Food Engineering,* 121:9-14, 2014.

Peksa A, Kita A, Carbonell-Barrachina AA, Miedzianka J, Kolniak-Ostek J, Tajner-Czopek A, Rytel E, Siwek A, Miarka D, Drozdz W: Sensory attributes and physicochemical features of corn snacks as affected by different flour types and extrusion conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 72:26-36, 2016.

Peričin D, Krimer V, Trivić S, Radulović L: The distribution of phenolic acids in pumpkin' s hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. *Food Chemistry*, 113, 450–456, 2009.

Pérez-Navarrete C, González R, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D: Effect of extrusion on nutritional quality of maize and Lima bean flour blends. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14):2477–2484, 2006.

Phillips KM, Ruggio DM, Ashraf-Khorassani M: Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:9436–9445, 2005.

Pilgeram AL, Sands DC, Boss D, Dale N, Wichman D, Lamb P, Lu C, Barrows R, Kirkpatric M, Thompson B, Johnosn DL: *Camelina sativa*, a Montana omega-3 and Fuel Crop. *Reprint iz: Issues in new crops and new uses* (Janick J i Whipkey A, ur.). ASHS Press, Alexandria, VA, 2007.

Plourde M, Cunnane SC: Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: Implications for their dietary essentiality and use as supplements. *Applied Physiology of Nutrition Metabolism,* 32:619-634, 2007.

Qi H, Yang Y, Wang L, Xu Y, Qu S; Determination of Bioactive Ingredients in Five Pumpkin Seeda Cultivars. *2nd International Conference on Chemical Engineering and Advanced Materials*, CEAM 2012, Guangzhou, 13-15 July, 2012, 554-556:985-989, 2012.

Reyes-Jáquez D, Vargas-Rodríguez J, Delgado-Licon E, Rodríguez-Miranda J, Araiza-Rosales EE, Andrade-González I, Solís-Soto A, Medrano-Roldan H: Optimization of the Extrusion Process Temperature and Moisture Content on the Functional Properties

and in vitro Digestibility of Bovine Cattle Feed Made out of Waste Bean Flour. *Journal of Animal Science Advances,* 1(2):100-110, 2011.

Rezig L, Chouaibi M, Msaada K, Hamdi S: Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. *Industrial Crops and Products,* 37:82-87, 2012.

Riaz MN: Introduction to Extruders and Their Principles. U *Extruders in Food Applications* (Riaz MN, ur.). CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Philadelphia, 1-24, 2000.

Riaz MN: Extruded Snacks. U *Handbook of Food Science Technology, and Engineering* (Hui Y H ur.), CRC Press, Boca Raton, USA, 4:168/6-168/7, 2006.

Rizvi SSH, Mulvaney SJ: Extrusion processing with supercritical fluids. U. S. patent, 5,120,559, 1992.

Rizvi SSH, Mulvaney S J, Sokhey AS: The combined application of supercritical fluid and extrusion technology. *Trends in Food Science & Technology*, 6:232–240, 1995.

Roberts S: Gold rush. *Oil & Fats Magazine*, (February Biofuels), 2014.

Robertson GL: *Food Packaging- Principles and Practice*. Marcel Dekker, New York, USA, 383-391, 1993.

Rozzi NL, Singh RK: Supercritical Fluids and the Food Industry, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1:33–44, 2002.

Ruiz-Armenta XA, Zazueta-Morales JdeJ, Aguilar-Palazuelos E, Delgado-Nieblas CI, López-Diaz A, Camacho-Hernández IL, Gutiérrez-Dorado R, Martínez-Bustos F: Effect of extrusion on the carotenoid content, physical and sensory properties of snacks added with bagasse of naranjita fruit: optimization process. *CyTA – Journal of Food*, 16:172–180, 2017.

Russo R, Reggiani R: Seed Protein in *Camelina sativa* (L.) Crantz var. Calena. *International Journal of Plant & Soil Science*, 8(2):1-6, 2015.

Ruttarattanamongkol K, Wagner ME, Rizvi SSH: Properties of yeast free bread produced by supercritical fluid extrusion (SCFX) and vacuum baking. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12:542–550, 2011.

Sacchetti G, Pinnavaia GG, Guidolin E, Dalla Rosa M: Effects of extrusion temperature and feed composition on the functional, physical and sensory properties of chestnut and rice flour-based snack-like products. *Food Research International*, 37(5):527-534, 2004.

Santillán-Moreno A, Martínez-Bustos F, Castaño-Tostado E, Amaya-Llano SL: Physicochemical Characterization of Extruded Blends of Corn Starch–Whey Protein Concentrate–*Agave tequilana* Fiber. *Food and Bioprocess Technology,* 4(5):797-808, 2011.

Sarawong C, Schoenlechner R, Sekiguchi K, Berghofer E, Ng PKW: Effect of extrusion cooking on the physicochemical properties, resistant starch, phenolic content and antioxidant capacities of green banana flour. *Food Chemistry,* 143:33-39, 2014.

Sarmento L, Carus M, Grotenhermen F, Kruse D: Scientifically Sound Guidelines for THC in Food in Europe. *Nova-Institute*, 1–75, 2015.

Sato Y, Fujiwara K, Takikawa T, Sumarno, Takishima S, Masuoka H: Solubilities and diffusion coefficients of carbon dioxide and nitrogen in polypropylene, high-density polyethylene, and polystyrene under high pressures and temperatures. *Fluid Phase Equilibria*, 162:261–276, 1999.

Sauceau M, Nikitine C, Rodier E, Fages J: Effect of supercritical carbon dioxide on polystyrene extrusion. *The Journal of Supercritical Fluids*, 43:367–373, 2007.

Scalbert A, Manach C, Moran C, Remesy C: Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45:287-306, 2005.

Schaaf HJ: Method of making expanded foodstuffs. Germany, US Patent 5153017 A, 1992.

Sevatson E, Huber GR: Extruders in Food Industry. U *Extruders in Food Applications* (Riaz, MN ur.), CRC Press, Boca Raton, USA, 193–204, 2000.

Shahidi F, Alasalvar C, Liyana-Pathirana CM: Antioxidant Phytochemicals in Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:1212–1220, 2007.

Sharif MK, Rizvi SSH, Paraman I: Characterization of supercritical fluid extrusion processed rice–soy crisps fortified with micronutrients and soy protein. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2):414–420, 2014.

Sharma A, Yadav BS, Ritika A: Resistant starch: physiological roles and food applications. *Food Reviews International,* 24:193-234, 2008.

Shieh CJ, Chang CY, Chen CS: Improving the texture of fried food. U *Texture in food*, (Kilcast D, ur.), CRC Press, New York, USA, 501-523, 2004.

Singh B, Sekhon KS, Singh N: Effects of moisture, temperature and level of pea grits on extrusion behaviour and product characteristics of rice. *Food Chemistry,* 100:198-202, 2007.

Singh J, Skerritt JH: Chromosomal Control of Albumins and Globulins in Wheat Grain Assessed using Different Fractionation Procedures. *Journal of Cereal Science*, 33:163-181, 2001.

Singh N, Kaur A, Shevkani K: Maize: Grain Structure, Composition, Milling, and Starch Characteristics. U *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses* (Chaudhary DP, Kumar S, Langyan S, ur.). Springer, New Delhi, 65-76, 2014.

Singkhornart S, Edou-Ondo S, Ryu GH: Influence of germination and extrusion with CO_2 injection on physicochemical properties of wheat extrudates. *Food Chemistry*, 143:122–131, 2014.

Sjoqvist M, Gatenholm P: The Effect of Starch Composition on Structure of Foams Prepared by Microwave Treatment. *Journal of Polymers and the Environment,* 13(1):29–37, 2005.

Sjoqvist M, Gatenholm P: Effect of Water Content in Potato Amylopectin Starch on Microwave Foaming Process. *Journal of Polymers and the Environment*, 15:43–50, 2007.

Skala D, Žižović I, Gavrančić S: Primena natkritične ekstrakcije u prehrambenoj industriji. *Hemijska Industrija*, 56:179-190, 2002.

Sobota A, Sykut-Domańska E, Rzedzicki Z: Effect of extrusion-cooking process on the chemical composition of corn-wheat extrudates, with particular emphasis on dietary fibre fractions. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences,* 60(3):251-259, 2010.

Stojceska V, Ainsworth P, Plunkett A, İbanoğlu E, İbanoğlu Ş: Cauliflower by-products as a new source of dietary fibre, antioxidants and proteins in cereal based ready-to-eat expanded snacks. *Journal of Food Engineering,* 87:554–563, 2008.a.

Stojceska V, Ainsworth P, Plunkett A, İbanoğlu Ş: The recycling of brewers processing by-product into ready-to-eat snacks using extrusion technology. *Journal of Cereal Science,* 47:469-479, 2008.b.

Stojceska V, Ainsworth P, Plunkett A, İbanoğlu Ş: The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat snacks made from food by-products. *Food Chemistry*, 114:226–232, 2009.

Stojceska V, Ainsworth P, Plunkett A, İbanoğlu Ş: The advantage of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food Chemistry,* 121:156-164, 2010.

Sun VZ, Paraman I, Rizvi SSH: Supercritical Fluid Extrusion of Protein Puff Made with Fruit Pomace and liquid Whey. *Food Bioprocess* Technology, 8:1707–1715, 2015. https://doi.org/10.1007/s11947-015-1526-8

Teixidó E, Moyano E, Javier Santos F, Teresa Galceran M: Liquid chromatography multi-stage mass spectrometry for the analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods. *Journal of Chromatography A*, 1185:102–108, 2008.

Teixidó E, Núñez O, Javier Santos F, Teresa Galceran M: 5-Hydroxymethylfurfural content in foodstuffs determined by micellar electrokinetic chromatography. *Food Chemistry*, 126:1902–1908, 2011.

Terpinc P, Abramovič H: Oljna pogača navadnega rička (*Camelina sativa* (L.) Crantz) – neizkoriš č eni vir fenolnih spojin. *Acta Agriculturae Slovenica*, 107(1):243–250, 2016.

Terpinc P, Čeh B, Ulrih NP, Abramovič H: Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. *Industrial Crops and Products*, 39(1):210–217, 2012.a.

Terpinc P, Polak T, Makuc D, Ulrih NP, Abramovič H: The occurrence and characterisation of phenolic compounds in *Camelina sativa* seed, cake and oil. *Food Chemistry*, 131(2):580–589, 2012.b.

Tovar-Jiménez X, Aguilar-Palazuelos E, Gómez-Aldapa C, Caro-Corrales JJ: Microstructure of a Third Generation Snack Manufactured by Extrusion from Potato Starch and Orange Vesicle Flour. *Journal of Food Processing and Technology,* 7(3), 2016.

Tovar-Jiménez X, Caro-Corrales J, Gómez-Aldapa CA., Zazueta-Morales J, Limón-Valenzuela V, Castro-Rosas J, Hernández-Ávila J, Aguilar-Palazuelos E: Third generation snacks manufactured from orange by-products: physicochemical and nutritional characterization. *Journal of Food Science and Technology,* 52(10):6607–6614, 2015. DOI: 10.4172/2157-7110.1000563

Upadhyay A, Sharma HK, Sarkar BC: Optimization of carrot pomace powder incorporation on extruded product quality by response surface methodology. *Journal of Food Quality*, 33(3):350–369, 2010.

van der Sman RGM, Bows JR: Critical factors in microwave expansion of starchy snacks. *Journal of Food Engineering,* 211:69–84, 2017.

van der Sman RGM, Broeze J: Multiscale analysis of structure development in expanded starch snacks. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 26:1–11, 2014.a.

van der Sman RGM, Broeze J: Function Effects of salt on the expansion of starchy snacks: a multiscale analysis Multiscale model. *Food & Function,* 5:3076–3082, 2014.b.

van Laarhoven GJM, Staal G: Rheology of the Paste from Gelatinization by Extrusion During the Production of Third-Generation Snacks. *Journal of Food Engineering,* 14:53–70, 1991.

Vasanthan T, Gaosong J, Yeung J, Li J: Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. *Food Chemistry,* 77:35-40, 2002.

Verreck G, Decorte A, Li H, Tomasko D, Arien A, Peeters J, Brewster ME: The effect of pressurized carbon dioxide as a plasticizer and foaming agent on the hot melt extrusion process and extrudate properties of pharmaceutical polymers. *The Journal of Supercritical Fluids*, 38:383-391, 2006.

Vujković I, Galić K, Vereš M: *Ambalaža za pakiranje namirnica*. Tectus, Zagreb, Croatia, 427-433, 2007.

Wang N, Maximuk L, Toews R: Pea starch noodles: Effect of processing variables on characteristics and optimisation of twin-screw extrusion process. *Food Chemistry,* 133:742-753, 2012.

Wang YY, Norajit K, Kim MH, Kim YH, Ryu GH: Influence of Extrusion Condition and Hemp Addition on Wheat Dough and Bread Properties. *Food Science and Biotechnology*, 22(S):89-97, 2013.

Wang YY, Ryu GH: Physical properties of extruded corn grits with corn fibre by CO_2 injection extrusion. *Journal of Food Engineering*, 116:14–20, 2013.a.

Wang YY, Ryu GH: Physicochemical and antioxidant properties of extruded corn grits with corn fiber by CO_2 injection extrusion process. *Journal of Cereal Science,* 58(1):110-116, 2013.b.

Wang N, Warkentin TD, Vandenberg B, Bing DJ: Physicochemical properties of starches from various pea and lentil varieties, and characteristics of their noodles prepared by high temperature extrusion. *Food Research International,* 55:119–127, 2014.

Web 1 The Physics of Microwave Ovens: http://tobyzerner.com/microwaves/ [12.10.2016.]

Web 2 Folnovic T: Povratak industrijske konoplje za opstanak čovječanstva: http://blog.agrivi.com/hr/post/povratak-industrijske-konoplje-za-opstanak-covjecanstva [27.11.2017.]

Web 3 Preša za ulje: http://www.elektromotorsimon.com/proizvodi/masine_za_preradu/presa_za_ulje/ [27.11.2017.]

Web 4 Jessie Szalay: What is fiber? https://www.livescience.com/51998-dietary-fiber.html [17.7.2018.]

Web 5 Nonessential amino acids in hazelnuts or filberts nuts, dry roasted without salt added: http://www.dietpal.org/food/nuts, hazelnuts or filberts, dry roasted, without salt added/nonessential amino acids [21.7.2018.]

Wene JD, Connor WE, DenBesten L: The development of essential fatty acid deficiency in healthy men fed fat-free diets intravenously and orally. *Journal of Clinical In-vestigation*, 56(1):127-134, 1975.

Wianecki M: Evaluation of Fish And Squid Meat. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria,* 6(4):29–44, 2007.

Wolf B: Polysaccharide functionality through extrusion processing. *Current opinion in Colloid & Interface Science,* 15:50-54, 2010.

Yağcı S, Göğüş F: Response surface methodology for evaluation of physical and functional properties of extruded snack foods developed from food-by-products. *Journal of Food Engineering,* 86(1):122-132, 2008.

Yağcı S, Göğüş F: Selected Physical Properties of Expanded Extrudates from the Blends of Hazelnut Flour-Durum Clear Flour-Rice. *International Journal of Food Properties*, 12:405–413, 2009.a.

Yağcı S, Göğüş F: Development of extruded snack from food by-products: A response surface analysis. *Journal of Food Process Engineering*, 32(4):565–586, 2009.b.

Yağcı S, Göğüş F: Effect of Incorporation of Various Food By-products on Some Nutritional Properties of Rice-based Extruded Foods. *Food Science and Technology International*, 15(6):571–581, 2009.c.

Yağcı S, Göğüş F: Effect of incorporation of various food by-products on some nutritional properties of rice-based extruded foods. *Food Science and Technology International*, 15(6):571-581, 2010.

Yang S, Peng J, Lui W, Lin J: Effects of adlay species and rice flour ratio on the physicochemical properties and texture characteristic of adlaybased extrudates. *Journal of Food Engineering,* 84:489-494, 2008.

Yanniotis S, Petraki A, Soumpasi E: Effect of pectin and wheat fibers on quality attributes of extruded cornstarch. *Journal of Food Engineering*, 80:594–599, 2007.

Zdunczyk Z, Minakowski D, Frejnagel S, Flis M: Comparative study of the chemical composition and nutritional value of pumpkin seed cake, soybean meal and casein. *Nahrung*, 43(6):392–395, 1999.

Zhou J, Song J, Parker R: Structure and properties of starch-based foams prepared by microwave heating from extruded pellets. *Carbohydrate Polymers,* 63(4):466–475, 2006.

Zhu LJ, Shukri R, de Mesa-Stonestreet NJ, Alavi S, Dogan H, Shi YC: Mechanical and microstructural properties of soy protein-high amylase corn starch extrudates in relation to physicochemical changes of starch during extrusion: *Journal of Food Engineering,* 100:232-238, 2010.

Zubr J: Oil-seed crop: Camelina sativa. *Industrial Crops and Products*, 6:113–119, 1997.

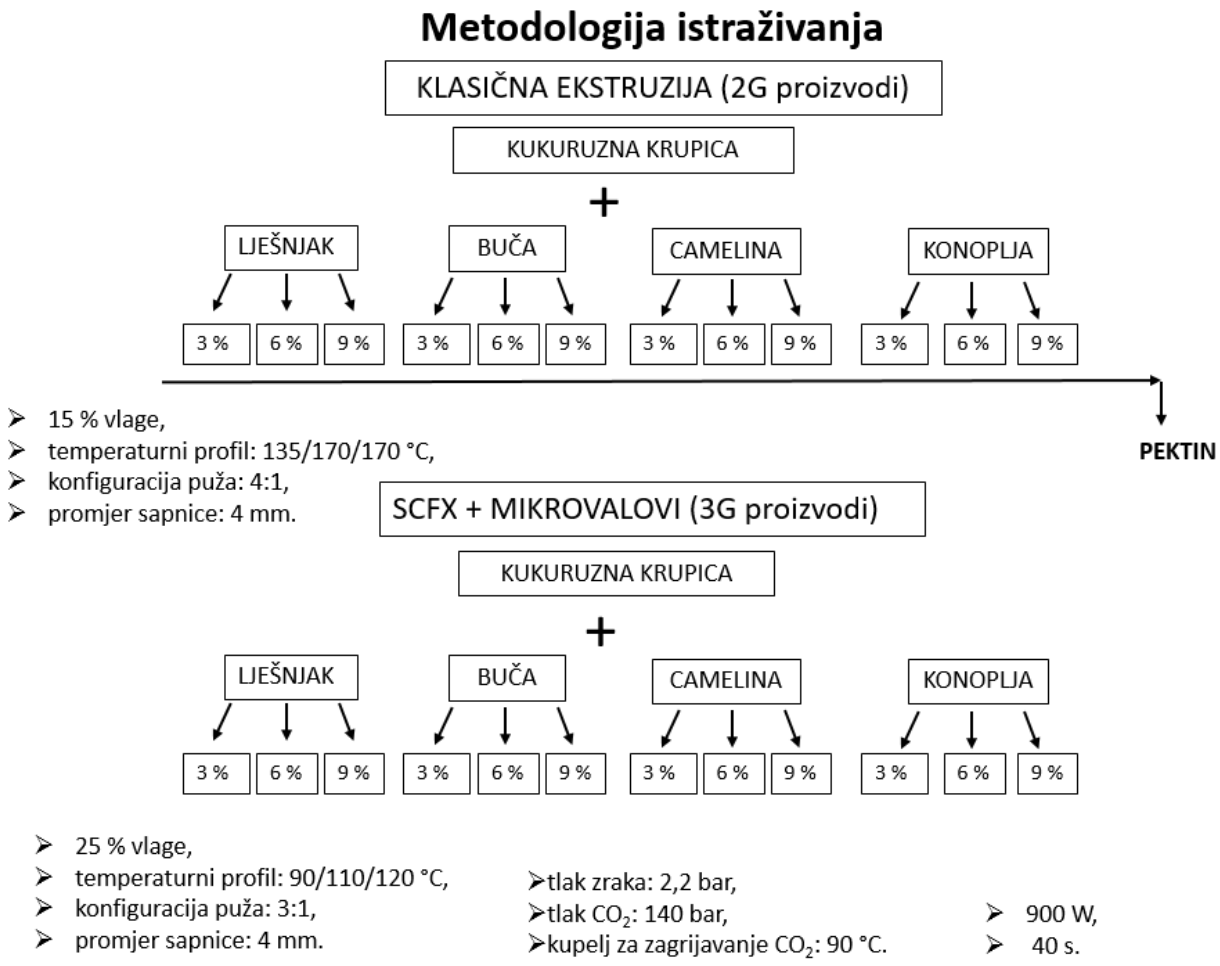
Zubr J: Unique dietary oil from Camelina sativa seed. *Agro FOOD Industry Hi Tech*, 20(2):42–46, 2009.

Zubr J: Carbohydrates, vitamins and minerals of Camelina sativa seed. *Nutrition & Food Science*, 40(5):523–531, 2010.

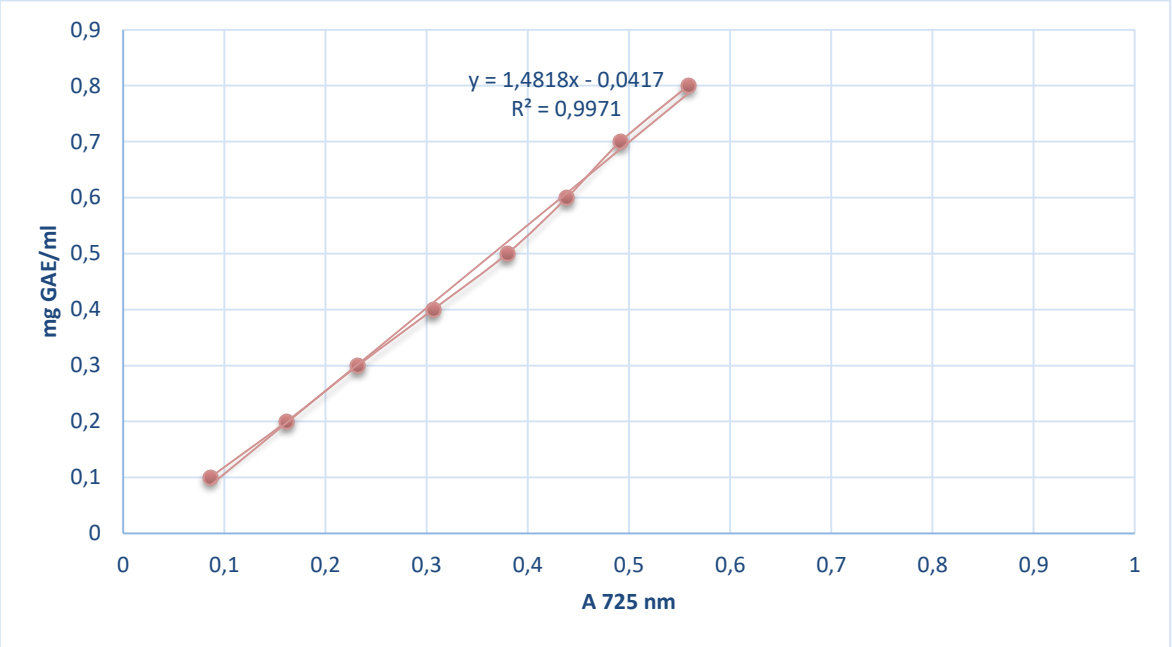
Zubr J, Matthäus B: Effects of growth conditions on fatty acids and tocopherols in Camelina sativa oil. *Industrial Crops and Products,* 15:155–162, 2002.

8. PRILOZI

Prilog 1 Shematski prikaz pripreme zamjesa za ekstruziju i režima za provedbu ekstruzije i ekspanzije mikrovalovima



Prilog 2 Kalibracijska krivulja galne kiseline, korištena za izračun udjela ukupnih polifenola



Prilog 3 Primjer ocjenjivačkog listića za senzorsku ocjenu ekstrudata

OCJENJIVAČKI LIST

Vrsta proizvoda: snack proizvodi (flips, preliveni flips, pahuljice od žitarica)

Ocjenjivač: _____

ČIMBENICI KAKVOĆE PROIZVODA	OCJENA (BODOVI)	ČIMBENIK ZNAČAJA	PONDERIRANI BODOVI
1. Vanjski izgled (ujednačenost, rastresitost, boja)		0,8	
2. Struktura, poroznost, prhkost		1,0	
3. Konzistencija (žvakanje)		0,8	
4. Miris		0,6	
5. Okus		0,8	

UKUPNO BODOVA:	
PROCJENA KAKVOĆE: $\frac{\sum(P.B.)}{\sum(Č.Z.)}$	

Napomena ocjenjivača: Potpis ocjenjivača:

_____ _____