

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2018.

Diana Nejašmić

967/USH

**UTJECAJ KRIOMLJEVENJA I
ULTRAZVUKA VISOKOG
INTENZITETA NA
PREHRAMBENA VLAKNA
POSIJA PROSA I BUČINE
POGAČE**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji na Zavodu za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc. Marine Krpan te uz pomoć Saše Drakula, mag. ing.

Diplomski rad izrađen je u okviru znanstveno-istraživačkog projekta Od nusproizvoda u preradi žitarica i uljarica do funkcionalne hrane primjenom inovativnih procesa (IP-2016-06-3789), financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost.

Zahvaljujem se svojoj mentorici, doc. dr. sc. Marini Krpan na brojnim savjetima i prenesenom znanju tijekom izrade rada ali i tijekom cjelokupnog studija.

Veliko hvala Saši Drakula, mag. ing. na pomoći, susretljivosti te uloženom trudu i vremenu pri izradi ovog rada.

Posebno hvala mojim roditeljima, na svemu što su mi omogućili, pružili i što su me uvijek podržavali.

Hvala mojoj obitelji, prijateljima i dečku na podršci, razumijevanju i strpljenju.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

UTJECAJ KRIOMLJEVENJA I ULTRAZVUKA VISOKOG INTENZITETA NA PREHRAMBENA VLAKNA POSIJA PROSA I BUČINE POGAČE

Diana Nejašmić, 967/USH

Sažetak: U ovom radu ispitan je utjecaj uvjeta mljevenja na udjel netopljivih (IDF), vlakana topljivih u vodi, a netopljivih u 78 % etanolu (SDFP) i vlakana topljivih u vodi i 78 % etanolu (SDFS) u posijama prosa i bučinoj pogači te utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta (UVI) na udjel vlakana u posijama prosa. Mljevenje je provedeno sa i bez primjene hlađenja i intermedijarnog hlađenja tekućim dušikom u trajanju od 2, 4, 8 i 12 minuta, a tretman UVI s amplitudama 60 %, 80 % i 100 %, u trajanju 5, 12,5 i 20 minuta. Rezultati pokazuju kako kriomljevenje i tretman UVI imaju statistički značajan utjecaj na udjel SDFS u posijama prosa, dok kriomljevenje nema statistički značajan utjecaj na vlakna bučine pogače. Najveći udjel SDFS u posijama prosa ($1,01 \pm 0,00$ %) tretiranim mljevenjem određen je u uzorku mljevenom uz primjenu hlađenja tijekom 8 minuta, a tretiranim UVI primjenom amplitude 100 % tijekom 20 minuta ($0,75 \pm 0,00$ %).

Ključne riječi: bučina pogača, kriomljevenje, prehrambena vlakna, proso, ultrazvuk

Rad sadrži: 50 stranica, 13 slika, 8 tablica, 56 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: doc. dr. sc. Marina Krpan

Pomoć pri izradi: Saša Drakula, mag. ing.

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof. dr. sc. Mirjana Hruškar
2. Doc. dr. sc. Marina Krpan
3. Doc. dr. sc. Nikolina Čukelj
4. Prof. dr. sc. Ines Panjkota Krbavčić (zamjena)

Datum obrane: 24. rujna 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

INFLUENCE OF CRYOGENIC GRINDING AND HIGH INTENSITY ULTRASOUND TREATMENT ON DIETARY FIBER OF MILLET BRAN AND PUMPKIN SEED CAKE

Diana Nejašmić, 967/USH

Abstract: This study investigated the effect of grinding on insoluble (IDF), dietary fiber soluble in water but precipitated with 78 % ethanol (SDFP) and dietary fiber soluble in water and 78 % ethanol (SDFS) of millet bran and pumpkin seed cake. The effect of high intensity ultrasound treatment (HIU) on fiber content of millet bran was also investigated. Grinding was performed with and without cooling and intermediate cooling with liquid nitrogen, during 2, 4, 8, and 12 minutes. HIU treatment was performed with amplitude of 60 %, 80 %, and 100 %, during 5, 12,5 and 20 minutes. The results showed statistically significant effect of cryogenic grinding and HIU treatment on the SDFS content in millet bran, while cryogenic grinding had no statistically significant effect on the fiber content in pumpkin seed cake. The highest SDFS content in millet bran treated with grinding was determined in a sample grinded with application of cooling for 8 minutes ($1,01 \pm 0,00$ %) and in millet bran treated with HIU under conditions of 100 % amplitude and 20 minutes ($0,75 \pm 0,00$ %).

Keywords: cryogenic grinding, dietary fiber, millet, pumpkin seed cake, ultrasound

Thesis contains: 50 pages, 13 figures, 8 tables, 56 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Marina Krpan, PhD, Assistant professor

Technical support and assistance: Saša Drakula, MSc

Reviewers:

1. PhD. Mirjana Hruškar, Full professor
2. PhD. Marina Krpan, Assistant professor
3. PhD. Nikolina Čukelj, Assistant professor
4. PhD. Ines Panjkota Krbavčić, Full professor (substitute)

Thesis defended: September 24, 2018.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. <i>KRIOMLJEVENJE</i>	3
2.2. <i>ULTRAZVUK VISOKOG INTENZITETA</i>	4
2.2.1. Zvuk i podjela prema frekvenciji.....	4
2.2.2. Ultrazvuk.....	4
2.2.2.1. Ultrazvuk niskog intenziteta.....	4
2.2.2.2. Ultrazvuk visokog intenziteta.....	4
2.3. <i>PREHRAMBENA VLAKNA</i>	5
2.3.1. Podjela i svojstva prehrambenih vlakana	6
2.3.1.1. Netopljiva prehrambena vlakna.....	7
2.3.1.2. Topljiva prehrambena vlakna	8
2.3.2. Izvori prehrambenih vlakana	9
2.3.3. Utjecaj prehrambenih vlakana na zdravlje.....	11
2.4. <i>PROSO</i>	12
2.4.1. Kemijski sastav prosa.....	12
2.5. <i>BUČINA POGAČA</i>	13
2.5.1. Buča	13
2.5.2. Bučina pogača.....	13
2.5.3. Sastav bučine pogače.....	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO	15
3.1. <i>UZORCI</i>	15
3.2. <i>METODA ODREĐIVANJA VLAKANA</i>	17
3.2.1. Princip AOAC metode 2011.25	18
3.2.2. Kemikalije.....	18
3.2.3. Uređaji i ostala oprema	19
3.2.4. Priprema lončića za filtraciju.....	20
3.2.5. Priprema uzorka.....	20
3.2.6. Određivanje netopljivih vlakana (IDF).....	21

3.2.7.	Određivanje vlakana topljivih u vodi, a netopljivih u 78 % etanolu (SDFP)	22
3.2.8.	Određivanje vlakana topljivih u vodi i 78 % etanolu (SDFS)	23
3.2.8.1.	Deionizacija uzorka	23
3.2.8.2.	Postupak određivanja SDFS	24
3.2.9.	Priprema slijepe probe.....	25
3.3.	<i>METODA ODREĐIVANJA PROTEINA</i>	25
3.3.1.	Kemikalije.....	25
3.3.2.	Uređaji i ostala oprema	25
3.3.3.	Princip određivanja	26
3.3.4.	Postupak određivanja	26
3.4.	<i>METODA ODREĐIVANJA PEPELA</i>	27
3.4.1.	Uređaji i ostala oprema	27
3.4.2.	Postupak određivanja	27
3.5.	<i>METODA ODREĐIVANJA VODE/SUHE TVARI</i>	28
3.5.1.	Uređaji i oprema	28
3.5.2.	Postupak određivanja	28
3.6.	<i>OBRADA REZULTATA</i>	28
4.	REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1.	<i>UTJECAJ KRIOMLJEVENJA NA UDJEL VLAKANA U UZORCIMA POSIJA PROSA</i>	29
4.2.	<i>UTJECAJ KRIOMLJEVENJA NA UDJEL VLAKANA U UZORCIMA BUČINE POGAČE</i>	35
4.3.	<i>UTJECAJ ULTRAZVUKA VISOKOG INTENZITETA NA UDJEL VLAKANA U POSIJAMA PROSA</i>	38
5.	ZAKLJUČCI	44
6.	LITERATURA	45

1. UVOD

U novije vrijeme istraživanja na području prehrambene tehnologije su sve više usmjerena na razvoj novih tehnika procesiranja hrane kojima će biti moguće osigurati bolju kvalitetu prehrambenih proizvoda. Tako su kriomljevenje i ultrazvuk visokog intenziteta (UVI) jedne od istraživanih tehnika. Poznato je kako je mljevenje jedna od najstarijih tehnika procesiranja hrane čiji je cilj smanjenje veličine čestica materijala koji se melje. Tijekom tradicionalnog mljevenja dolazi do povišenja temperature uslijed trenja što može izazvati nepoželjne promjene na materijalu i gubitak nutritivno vrijednih komponenti. Stoga mljevenje pri vrlo niskim temperaturama sprječava porast temperature i povećava krhkost materijala kako bi se postigla manja veličina čestica. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta izaziva fizičke i kemijske promjene na tretiranom materijalu što dovodi do inaktivacije mikroorganizama i enzima, olakšanog emulgiranja, bolje homogenizacije, ekstrakcije i drugih posljedica (Režek Jambrak i sur., 2014; Kaur i Srivastar, 2018).

U zadnjih desetak godina, zanimanje potrošača za funkcionalnu hranu, koja pored osnovnih nutrijenata potrebnih za rast i razvoj organizma, sadrži i komponente koje pozitivno utječu na zdravlje ili smanjuju rizik od nastanka bolesti, sve više raste. Zbog svog znanstveno dokazanog pozitivnog utjecaja na zdravlje čovjeka, prehrambena vlakna su vrlo važna bioaktivna komponenta funkcionalne hrane. Posljednjih godina postoji trend pronalaženja novih izvora prehrambenih vlakana koji se mogu koristiti u prehrambenoj industriji. Iz tog razloga cilj mnogih istraživanja postaje mogućnost uporabe nusproizvoda namirnica biljnog porijekla, koji zaostaju nakon njihove primarne prerade, kao alternativne, jeftine i važne sirovine za dobivanje prehrambenih vlakana. Svijest o njihovim pozitivnim učincima na zdravlje dovela je do razvoja velikog i potencijalnog tržišta za proizvode i sirovine bogate vlaknima. Cilj prehrambene industrije je povećati udjel vlakana u hrani poput kolača, krekeri i ostalih proizvoda na bazi žitarica, kao i napitaka, začina, sira, umaka i drugih (Kralik i sur., 2010; Gaćina, 2014; Chau i Huang, 2003).

Sirovine poput neoljuštenog zrna prosa i bučinih sjemenki predstavljaju dobar izvor prehrambenih vlakana, nisu u širokoj primjeni za ljudsku prehranu, a imaju veliki potencijal to postati. Proso je jedinstven u svom kemijskom sastavu jer sadrži više prehrambenih vlakana, ali i drugih bioaktivnih komponenti u odnosu na druge žitarice. Udjel vlakana u neoljuštenom zrnu prosa ovisi o vrsti prosa, a iznosi u prosjeku 9,6 %, od čega 36 % čine

topljiva vlakna (Issoufou i sur., 2013; Kalinova, 2007; Tarek-Tilistyak i sur., 2017). Neoljuštene bučine sjemenke sadrže oko 16 % vlakana te su bogate fitosterolima, antioksidansima, omega-3 masnim kiselinama i mineralnim tvarima poput magnezija i cinka (Alfawaz, 2004; Mercola, 2013). Bučina pogača se dobiva kao nusproizvod pri proizvodnji bučinog ulja prešanjem bučinih sjemenki, a sadrži oko 4,5 % vlakana, a bogata je i drugim prethodno navedenim spojevima koji imaju pozitivan utjecaj na zdravlje (Tarek-Tilistyak i sur., 2017; Pirman i sur., 2007).

Mnoga istraživanja ukazuju kako topljiva vlakna imaju značajniji pozitivan utjecaj na zdravlje od netopljivih (Lattimer i Haub, 2010), stoga je jedan od ciljeva ovoga rada ispitati utjecaj kriomljevenja i ultrazvuka visokog intenziteta na povećanje udjela topljivih vlakana.

U ovom diplomskom radu istražiti će se utjecaj kriomljevenja na udjel netopljivih vlakana (IDF), vlakana topljivih u vodi, netopljivih u 78 % etanolu (SDFP) i vlakana topljivih u vodi i 78 % etanolu (SDFS) u uzorcima posija prosa i bučine pogače. Također, istražiti će se i utjecaj tretmana ultrazvukom visokog intenziteta na udjel navedenih skupina vlakana u uzorcima posija prosa. Za određivanje udjela vlakana koristit će se AOAC metoda 2011.25.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. KRIOMLJEVENJE

Mljevenje je jedna od najstarijih tehnika procesiranja hrane čiji je cilj smanjenje veličine čestica materijala koji se melje (Kaur i Srivastar, 2018). Kriomljevenje je mljevenje uz hlađenje kriogenicima poput tekućeg dušika ili ugljikovog (IV) dioksida (CO₂) pri vrlo niskoj temperaturi od -196 °C i pri atmosferskom tlaku. Ono se koristi za mljevenje prehrambenih proizvoda kao što su kava, začini, bilje, kakao, sjemenke i orašasti plodovi te hrana podložna promjeni okusa i gubitku arome tijekom tradicionalnog mljevenja (Linde, 2018; Anonymous 1, 2018). Tijekom tradicionalnog mljevenja dolazi do povišenja temperature uslijed trenja što može izazvati nepoželjne promjene na materijalu ili gubitak nutritivno vrijednih komponenti. Stoga mljevenje uz hlađenje kriogenicima sprječava porast temperature i povećava krhkost materijala kako bi se postigle čestice manje veličine (Kaur i Srivastar, 2018).

Uporaba tekućeg dušika ili CO₂ kao sredstva za hlađenje povećava učinkovitost mljevenja. Proces kriomljevenja uvelike povećava produktivnost i donosi uštedu energije zahvaljujući većoj krhkosti proizvoda i velikoj brzini mljevenja. Inertna atmosfera sprječava oksidaciju proizvoda te umanjuje opasnost od eksplozije čime se povećava sigurnost procesa. Prilikom mljevenja smanjeno je trošenje mlina, kao i lijepljenje proizvoda na stjenke opreme. Zahvaljujući niskim temperaturama ne dolazi do raspada termolabilnih komponenti proizvoda kao kod tradicionalnog mljevenja (Linde, 2018; Anonymous 1, 2018). U prilog smanjenom gubitku biološki aktivnih komponenti govori i rad Kaura i Srivastara (2018) u kojem je primijećena veća antioksidativna aktivnost kore manga tretirane kriomljevenjem u usporedbi s tradicionalnim mljevenjem (Kaur i Srivastar, 2018). Singh i Goswami (2000) navode kako gubitak hlapivih ulja začina može biti značajno smanjen primjenom kriomljevenja. Niska temperatura kriogenika ohladi začine i apsorbira toplinu tijekom mljevenja, a isparavanje kriogenika stvara inertnu i suhu atmosferu koja dodatno doprinosi očuvanju njihove kvalitete (Singh i Goswami, 2000). Gouveia i sur. (2002) u svom radu zaključuju kako je kriomljevenje vrlo uspješan proces brzog usitnjavanja čestica. Niže temperature mljevenja dovode do manjih veličina čestica pa je time postignut i bolji stupanj homogenizacije. Iako postoji opasnost od kontaminacije kriogenicima, postignuta veličina čestica i stupanj homogenizacije predstavljaju značajne prednosti (Gouveia i sur., 2002).

2.2. ULTRAZVUK VISOKOG INTENZITETA

2.2.1. Zvuk i podjela prema frekvenciji

Zvuk je val koji se širi prostorom ispunjenim medijem pogodnim za širenje zvučnih valova. Prema frekvenciji titranja zvučnog vala, zvuk možemo podijeliti na infrazvuk, zvuk i ultrazvuk. Frekvencija infrazvuka je manja od 16 Hz, zvuka od 16 Hz do 20 kHz, a ultrazvuka veća od 20 kHz. Kako ljudsko uho može čuti zvukove frekvencija u rasponu od 16 Hz do 16 kHz, frekvencija ultrazvuka je viša od praga njegove osjetljivosti (Brnčić i sur., 2009; Herceg, 2009).

2.2.2. Ultrazvuk

Ultrazvuk se može podijeliti na ultrazvuk niskog intenziteta i ultrazvuk visokog intenziteta (Herceg, 2009).

2.2.2.1. *Ultrazvuk niskog intenziteta*

Ultrazvuk niskog intenziteta obuhvaća ultrazvučne valove visoke frekvencije, a naziva se i dijagnostički ultrazvuk. Valovi frekvencija od 1 do 10 MHz, intenziteta manjeg od 1 W cm^{-2} ne izazivaju fizikalna i kemijska oštećenja materijala kroz koji prolaze te se zato ultrazvuk niskog intenziteta smatra neinvazivnom tehnikom. U prehrambenoj industriji može se koristiti u analitičke svrhe za određivanje sastava, strukture ili viskoznosti hrane, kao i za stimulaciju aktivnosti živih stanica, površinsko čišćenje hrane, ekstrakciju, kristalizaciju, emulgiranje, filtraciju, procese sušenja i zamrzavanja te omekšavanje mesa. Pogodan je za procjenu kvalitete prehrambenih proizvoda i praćenje njihovih karakteristika tijekom proizvodnog procesa (Herceg, 2009; Herceg i sur., 2009; Drmić i Režek Jambrak, 2010).

2.2.2.2. *Ultrazvuk visokog intenziteta*

Ultrazvukom visokog intenziteta smatraju se zvučni valovi niskih frekvencija od 20 do 100 kHz, a intenziteta od 10 do 1000 W cm^{-2} . Upravo zbog velike snage ultrazvuk visokog intenziteta uzrokuje fizičke promjene materijala te određene kemijske reakcije u materijalima na kojima je primijenjen. Prolazak ultrazvučnih valova visokog intenziteta kroz materijal

uzrokuje ubrzavanje procesa difuzije i poboljšava dispergiranje agregata. Također, uništava enzime i mikroorganizme (Režek Jambrak i sur., 2014).

Ultrazvuk visokog intenziteta se u prehrambenoj industriji najčešće stvara na način da se električna energija pretvara u energiju zvuka pomoću ultrazvučnih pretvarača. Tijekom prolaska vala medijem stvara se izmjenični pritisak i ekspanzijski vrtlozi koji uzrokuju negativan tlak. Kada je tlak dovoljno nizak da savlada intramolekularne sile dolazi do formiranja mjehurića – kavitacije. Zbog velike snage ultrazvuka veličina mjehurića jako oscilira te se tijekom svakog ciklusa ekspanzije i kompresije povećava. Kada mjehurić postigne kritičnu veličinu mjehurić se urušava sam u sebe – implodira, stvarajući mikropodručja s visokom temperaturom i visokim tlakom što dovodi do mijenjanja fizikalnih i kemijskih svojstava lokalnih molekula (Herceg, 2009; Herceg i sur., 2009; Drmić i Režek Jambrak, 2010). Primjenjuje se za odzračivanje tekuće hrane, induciranje reakcija oksidacije/redukcije, ekstrakciju enzima i proteina, inaktivaciju enzima i indukciju nukleacije kod kristalizacije (Režek Jambrak i sur., 2014).

2.3. PREHRAMBENA VLAKNA

U jednoj od prvih definicija prehrambenih vlakana, vlakna se karakteriziraju kao komponente koje čine staničnu stjenku biljaka. Od tada je definicija vlakana doživjela nekoliko izmjena. Stručnjaci iz raznih područja znanosti vlakna opisuju kao dijelove biljnih organa, skupinu kemijskih spojeva ili kao tvari s pozitivnim učinkom na ljudsko zdravlje. Prehrambena vlakna tek su kasnije definirana kao sveprisutna komponenta hrane biljnog podrijetla koja uključuje materijale različite kemijske i morfološke strukture, otporne na djelovanje ljudskih enzima (Dhingra i sur., 2012). Prema Pravilniku o navođenju hranjivih vrijednosti hrane vlakna čine polimeri ugljikohidrata s tri ili više monomernih jedinica koji nisu probavljivi niti se apsorbiraju u tankom crijevu, a pripadaju jednoj od sljedećih kategorija:

- jestivi polimeri ugljikohidrata prirodno prisutni u hrani
- jestivi polimeri ugljikohidrata dobiveni fizikalnim, enzimskim ili kemijskim postupkom iz sirovine i koji imaju znanstveno dokazan pozitivan fiziološki učinak na organizam
- jestivi sintetski polimeri ugljikohidrata koji imaju znanstveno dokazan pozitivan fiziološki učinak na organizam (NN 29/2009).

Prehrambena vlakna mogu se opisati kao ugljikohidratna komponenta hrane koja se ne probavlja, nije hidrolizirana endogenim enzimima u tankom crijevu, već prolazi u debelo crijevo gdje djelomično ili u potpunosti fermentira (Megazyme, 2013a). Najčešći spojevi koje podrazumijevamo pod zajedničkim imenom prehrambena vlakna su hemiceluloza, celuloza, lignin, oligosaharidi, pektin, gume i voskovi (Dhingra i sur., 2012).

2.3.1. Podjela i svojstva prehrambenih vlakana

Postoji nekoliko različitih klasifikacijskih sustava za podjelu vlakana: na temelju njihove uloge u biljci, vrste polisaharida, topljivosti u probavnom sustavu, mjesta probave, produkata razgradnje i fiziološke klasifikacije. Međutim, ni jedna od ovih podjela nije u potpunosti prihvatljiva jer je granice vrlo teško jednoznačno definirati. Najčešće prihvaćena podjela vlakana je ona prema njihovoj topljivosti u vodi, prikazana u Tablici 1 (Dhingra i sur., 2012).

Tablica 1. Podjela prehrambenih vlakana prema topljivosti, komponentama i glavnim prehrambenim izvorima (Dhingra i sur., 2012)

Karakteristike	Komponente vlakana	Glavni prehrambeni izvori
netopljiva prehrambena vlakna, manje fermentabilna	celuloza	povrće
	hemiceluloza	žitarice
	lignin	drvenaste biljke
topljiva prehrambena vlakna, lako fermentabilna	pektin	voće, povrće, mahunarke, šećerna repa, krumpir
	gume	mahunarke, ekstrakti morskih trava, mikrobne gume
	sluzi	akacija, biljke roda <i>Sterculia</i>

Topljivost vlakana povezana je sa strukturom samih vlakana na način da ukoliko im je struktura pravilna, biti će netopljiva te ukoliko im je struktura nepravilna, biti će topljiva. Također, prisustvo funkcionalnih skupina poput karboksilne ili sumporne povećati će njihovu topljivost (Elleuch i sur., 2011).

Osim prema topljivosti, prehrambena vlakna, moguće je podijeliti prema molekulskoj masi na vlakna velike i male molekulske mase. U Tablici 2 prikazana je podjela prehrambenih vlakana prema molekulskoj masi u usporedbi s podjelom prema topljivosti (Megazyme, 2013a).

Tablica 2. Podjela prehrambenih vlakana prema molekulskoj masi i topljivosti (Megazyme, 2013a)

Kratica	Definicija	Primjeri
HMWDF (HMWDF = IDF + SDFP)	prehrambena vlakna velike molekulske mase	celuloza, neprobavljiv škrob, β -glukani u žitaricama, određeni ksilani
IDF	netopljiva prehrambena vlakna	celuloza, neprobavljiv škrob, određeni ksilani
SDFP	prehrambena vlakna topljiva u vodi, netopljiva u 78 % etanolu	β -glukani u žitaricama, guar guma
SDFS = LMWDF	prehrambena vlakna topljiva u vodi i 78 % etanolu (SDFS), prehrambena vlakna male molekulske mase (LMWDF)	fruktooligosaharidi, galaktooligosaharidi, polidekstroza, inulin i neprobavljivi maltodekstrini

Promjene kojima prehrambena vlakna podliježu tijekom prolaska kroz probavni sustav ovise o njihovoj topljivosti u vodi. Budući da to ujedno određuje i njihova fiziološka funkcionalna svojstva, uobičajeno se posebno razmatraju netopljiva i topljiva prehrambena vlakna (Koprivnjak, 2014).

2.3.1.1. Netopljiva prehrambena vlakna

Netopljiva prehrambena vlakna (celuloza, hemiceluloza, neprobavljiv škrob) u debelom crijevu vežu na sebe veliku količinu vode, pri čemu bubre, povećavaju volumen stolice te potiču crijevnu pokretljivost. Manjim dijelom, ova prehrambena vlakna mogu podlijeći mikrobnj razgradnji u crijevima. Specifičnu skupinu netopljivih prehrambenih vlakana čini neprobavljiv ili rezistentan škrob koji je prisutan unutar stanične strukture hrane (kod kuhanog cjelovitog zrna žitarica, u pojedinoj sirovoj i nedozreloj hrani poput sirovog krumpira i nedozrelih banana), koji nastaje uslijed retrogradacije škroba u ohlađenoj termički

obrađenoj hrani ili se radi o kemijski, fizikalno ili enzimski modificiranim škrobovima (Koprivnjak, 2014).

Celuloza, kao glavna komponenta stanične stijenke, građena je od nerazgranatog lanca D-glukoze, povezanih β -1,4-glikozidnim vezama. Mehanička čvrstoća, otpornost na enzimsku razgradnju i kiselu hidrolizu te niska topljivost u vodi posljedica su vezanja vodika unutar mikrofibrila. Hemiceluloza se od celuloze razlikuje po tome što su lanci hemiceluloze manji, razgranati i građeni od različitih šećera, najčešće ksiloze, galaktoze, manoze, arabinoze i drugih. Lignin nije polisaharid, već je građen od fenilpropanskih jedinica uključujući i koniferilne, sinapilne i *p*-kumarilne alkohole. Lignini se razlikuju po molekulskoj masi i sadržaju metoksilne skupine, a vrlo su inertni zahvaljujući jakim intramolekularnim vezama ugljik-ugljik (Dhingra i sur., 2012).

2.3.1.2. Topljiva prehrambena vlakna

Topljiva prehrambena vlakna (pektini, inulin, amiloza, β -glukani, gume, sluzi, algalni polisaharidi, ksantani, polidekstroza) otapanjem u vodi stvaraju strukturu gela te su podložna mikrobnj razgradnji u crijevima. Pritom nastaju kratkolančane masne kiseline (octena, propionska i maslačna) koje služe kao izvor energije i potiču obnavljanje sluznice debelog crijeva (Koprivnjak, 2014). Topljiva prehrambena vlakna uključuju vlakna koja su topljiva u vodi, ali se talože u 78 % etanolu (SDFP) poput β -glukana, guar gume i ona topljiva u vodi i 78 % etanolu (SDFS) poput fruktooligosaharida, galaktooligosaharida, polidekstroze, inulina i neprobavljivih maltodekstrina (McCleary i sur., 2011).

β -glukani i pojedine gume poput guar gume svrstavaju se u skupinu vlakana topljivih u vodi, ali netopljivih u 78 % etanolu. β -glukani su po svojem sastavu glukozni polimeri mnogo razgranatiji u odnosu na celulozu budući da su glukozne jedinice vezane β -1-4- i β -1-3-glikozidnom vezom (Katalinić, 2011).

Pektinske tvari uz celulozu, hemicelulozu i lignin izgrađuju staničnu stijenku biljaka. To su heterosaharidi razgranate strukture sastavljene od glavnog i bočnih lanaca. Glavni lanac čini D-galakturonska kiselina povezana α (1-4) vezom, djelomično esterificirana metilnim alkoholom i mjestimično isprekidana molekulama L-ramnoze. Bočni oligosaharidni lanci sastavljeni su većinom od D-galaktoze i L-arabinoze. Pektin je dobro topljiv u vodi, ima gelirajuća svojstva te stoga može usporiti vrijeme prolaska hrane kroz probavni sustav. Gume

i sluzi nisu dijelovi stanične stjenke, već se formiraju u specijaliziranim sekretornim stanicama biljaka. Ovi polisaharidi su vrlo razgranati, vežu vodu i tvore gelove (Jenkins i sur., 1978). Zbog sposobnosti vezanja vode i stvaranja strukture gela, upotrebljavaju se i kao prehrambeni aditivi, tj. sredstva za želiranje i zgušnjavanje. Koriste se prehrambena vlakna izdvojena iz prirodnih sirovina poput alginata i agara iz morskih algi, guar gume iz sjemenki mahunarke *Cyamopsis tetragonoloba*, lokust gume iz sjemenki rogača i drugih. Također se kao sredstva za želiranje i zgušnjavanje koriste prehrambena vlakna dobivena od mikroorganizama (ksantani) te prehrambena vlakna dobivena modifikacijom celuloze kao što su hidroksipropilmetilceluloza, karboksimetilceluloza i metilceluloza (Koprivnjak, 2014).

2.3.2. Izvori prehrambenih vlakana

Prehrambena vlakna su prirodno prisutna u žitaricama, povrću, voću, sjemenkama i orašastim plodovima. Udjel i sastav vlakana razlikuje se ovisno o namirnici. U Tablici 3 naveden je udjel prehrambenih vlakana u pojedinim namirnicama. Preporučeni dnevni unos vlakana za zdravu osobu iznosi 20 – 30 g (Howarth i sur., 2001).

Tablica 3. Udjel prehrambenih vlakana u namirnicama (Dhingra i sur., 2012; Dodevska i sur., 2015; Reyes-Caudillo i sur., 2008)

Izvor	Prehrambena vlakna (g 100 g ⁻¹ jestive porcije)		
	Ukupna	Netopljiva	Topljiva
Žitarice			
Ječam	17,3	–	–
Kukuruz	13,4	–	–
Zob	10,3	6,5	3,8
Riža	1,3	1,0	0,3
Pšenica	12,6	10,2	2,3
Povrće			
Krumpir	1,30	1,0	0,30
Cikla	7,8	5,4	2,4
Špinat	2,6	2,1	0,5
Repa	2,0	1,5	0,5
Rajčica	1,2	0,8	0,4

Tablica 3. Udjel prehrambenih vlakana u namirnicama (Dhingra i sur., 2012; Dodevska i sur., 2015; Reyes-Caudillo i sur., 2008) – nastavak

Izvor	Prehrambena vlakna (g 100 g ⁻¹ jestive porcije)		
	Ukupna	Netopljiva	Topljiva
Mahunarke			
Soja	15,0	–	–
Grašak	3,5	3,2	0,3
Leća	11,4	10,3	1,1
Bijeli grah	17,7	13,4	4,3
Voće			
Jabuka	2,3	1,7	0,6
Jagoda	2,2	1,1	1,1
Trešnja	2,1	1,0	1,1
Borovnica	2,9	2,1	0,8
Kupina	5,1	3,4	1,8
Malina	5,5	2,6	2,9
Kruška	3,0	2,0	1,0
Breskva	1,9	1,0	0,9
Orašasti plodovi			
Orah	7,5	6,4	1,0
Lješnjak	9,5	8,1	1,4
Badem	14,9	13,9	1,0
Indijski orah	5,2	4,2	1,0
Sjemenke			
Sezam	7,8	6,0	1,9
Lan	22,3	10,2	12,2
Chia	41,8	35,0	6,8

Prema Uredbi (EZ) br. 1924/2006, na proizvodima je dopušteno navoditi prehrambene tvrdnje o vlaknima ukoliko proizvod sadrži određenu minimalnu propisanu količinu vlakana. Prehrambena tvrdnja da je neka hrana izvor prehrambenih vlakana dopuštena je samo ako taj proizvod sadrži najmanje 3 g prehrambenih vlakana na 100 g proizvoda. Prehrambena tvrdnja da je neka hrana visoko obogaćena vlaknima može biti istaknuta samo na proizvodima koji sadrže najmanje 6 g prehrambenih vlakana na 100 g (Uredba (EZ) br. 1924/2006). Kod

označavanja hranjive vrijednosti proizvoda, navođenje udjela prehrambenih vlakana nije obavezno, ali ga je moguće navesti nakon podatka o udjelu šećera (Koprivnjak, 2014; Uredba Komisije (EU) br. 432/2012).

2.3.3. Utjecaj prehrambenih vlakana na zdravlje

Dvije glavne karakteristike vlakana koje rezultiraju dokumentiranim pogodnostima za zdravlje proizlaze iz činjenice da ona prolaze netaknuta kroz probavni sustav sve do debelog crijeva gdje se, ovisno o vrsti vlakna, u potpunosti ili djelomično fermentiraju (Megazyme, 2013a).

Tradicionalno se smatralo da su vlakna dobra jer djeluju kao sredstvo za čišćenje probavnog sustava mehaničkim prolazom kroz njega. Danas postoje znanstveni dokazi koji potvrđuju ove tvrdnje. Vlakna smanjuju vrijeme prolaza hrane kroz probavni sustav i time smanjuju kontakt između kancerogenih spojeva i stanica sluznice. Također, vlakna mogu i vezati potencijalne luminalne kancerogene poput sekundarnih žučnih kiselina (Lattimer i Haub, 2010; Macfarlane i Macfarlane, 2012). U novije vrijeme znanstvena istraživanja ukazuju na pozitivni utjecaj prehrambenih vlakana na crijevni mikrobiom. Konzumacijom određenih vlakana, uglavnom prebiotika, može se utjecati na porast broja dobrih bakterija u probavnom sustavu. Povećanjem broja zdravih bakterija raste broj kratkolančanih masnih kiselina poput butanske kiseline, propanske kiseline i octene kiseline koje se metaboliziraju i korisne su za organizam. Zadnjih nekoliko godina proizvođači hrane sve više koriste znanstvene spoznaje u ovom području kako bi razvili proizvode bogate vlaknima (Parnell i Reimer, 2012; Wong i sur., 2006)

Prema Uredbi komisije (2012) za pojedina prehrambena vlakna postoji mogućnost isticanja zdravstvenih tvrdnji na hrani koja ih sadrži u propisanom udjelu. Za vlakna pšeničnih posija, ječma, zobi i šećerne repe dopušteno je istaknuti da doprinose povećanju volumena stolice, vlakna pšeničnih posija doprinose i ubrzanju prolaska crijevnog sadržaja, a za vlakna raži dopušteno je istaknuti da doprinose normalnoj funkciji crijeva. Arabinoksilan iz pšeničnih klica, β -glukani iz zobi i ječma, hidroksipropilmetilceluloza, neprobavljiv škrob i pektini doprinose smanjenju porasta glukoze u krvi poslije obroka dok kitozan, glukomanan konjac, hidroksipropilmetilceluloza i pektini doprinose održavanju normalne razine kolesterola u krvi (Koprivnjak, 2014; Uredba komisije, 2012).

2.4. PROSO

Proso je jedna od prvih kultiviranih žitarica koja spada u porodicu trava *Panicoideae*. Postoje brojne vrste prosa, a neke od najpoznatijih su: biserno proso (*Pennisetum glaucum*), koji čini 40 % svjetske proizvodnje prosa, obično proso (*Panicum miliaceum*) i afričko proso (*Eleusine coracana*). Iako se tradicionalno konzumira u Aziji, u današnje vrijeme postaje jedna od alternativnih žitarica u proizvodnji novih prehrambenih proizvoda u razvijenim zemljama. Vodeće zemlje po proizvodnji prosa su Indija, Nigerija, Niger, Kina i Rusija te čine 75 % ukupne svjetske proizvodnje. Proso je vrlo bitna žitarica za zemlje u razvoju zbog svoje otpornosti na sušu, štetočine i bolesti te kratkog vremena potrebnog za rast u usporedbi s drugim žitaricama. Glavni prehrambeni proizvodi dobiveni preradom prosa su oljuštena zrna, brašno, posije i pahuljice prosa koji se mogu konzumirati direktno ili koristiti za proizvodnju kruha i tjestenine (Kalinova, 2007; Sarita i Singh, 2016; Issoufou i sur., 2013).

2.4.1. Kemijski sastav prosa

Proso je jedinstven u svom kemijskom sastavu jer sadrži više kalcija i prehrambenih vlakana u odnosu na druge žitarice (Issoufou i sur., 2013). Sadrži 60 – 70 % ugljikohidrata, 7 – 11 % proteina, 1,5 – 5 % masti, 2 – 7 % vlakana te je bogat vitaminima i mineralnim tvarima (Kalinova, 2007). Usporedba udjela proteina, vlakana, mineralnih tvari, željeza i kalcija u najpoznatijim vrstama prosa prikazana je u Tablici 4.

Tablica 4. Usporedba kemijskog sastava oljuštenog zrna najpoznatijih vrsta prosa (Sarita i Singh, 2016)

Vrsta prosa	Proteini (g 100 g ⁻¹)	Sirova vlakna (g 100 g ⁻¹)	Mineralne tvari (g 100 g ⁻¹)	Željezo (mg 100 g ⁻¹)	Kalcij (mg 100 g ⁻¹)
biserno proso	10,6	1,3	2,3	16,9	38
obično proso	12,5	2,2	1,9	0,8	14
afričko proso	7,3	2,6	2,7	3,9	344

Proteini prosa dobar su izvor esencijalnih aminokiselina metionina i cisteina. Budući da ne sadrži gluten, prepoznato je kao jedna od žitarica za prehranu osoba koje boluju od celijakije.

Udjel vlakana u oljuštenom zrnu prosa iznosi 0,8 – 1,2 %, a u neoljuštenom zrnu oko 9,6 % (Kalinova, 2007). Topljiva vlakna iznose oko 36 % ukupnih vlakana. Stanična stjenka prosa izgrađena je od lignina, ksiloglukana, arabinoksilana, uronskih kiselina, arabinozila, galaktozilnih ostataka, arabinogalaktana i β -D glukana, što je slično drugim vrstama trava (Kalinova, 2007).

Osim vlakana, proso je odličan izvor vitamina B, magnezija i antioksidansa. Također sadrži i druge mineralne tvari poput mangana, fosfora, željeza i kalcija (Kalinova, 2007; Sarita i Singh, 2016). Po energetske vrijednosti (341 kcal 100 g⁻¹) može se usporediti s pšenicom, kukuruzom ili rižom (348, 358, 362 kcal 100 g⁻¹) (Kalinova, 2007).

2.5. BUČINA POGAČA

2.5.1. Buča

Buča je biljka iz porodice *Curcubitaceae* čiji se plod koristi za prehranu ljudi i životinja. Postoji nekoliko vrsta buča: *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* i *Cucurbita mixta*. Plodovi imaju čvrstu koru, mekano, sočno meso, a variraju u veličini, boji i obliku. U sredini mesa buče nalazi se šupljina ispunjena sjemenkama. Bučine sjemenke koriste se za proizvodnju bučinog ulja ili kao snack proizvod i dobar su izvor ulja i proteina (Alfawaz, 2004; Asgary i sur., 2011).

2.5.2. Bučina pogača

Bučina pogača se dobiva kao nusproizvod pri proizvodnji bučinog ulja prešanjem. Pogača bučinih sjemenki može se upotrebljavati na razne načine, kao stočna hrana, ali i kao hrana za ljudsku prehranu. Tako se primjerice mljevena pogača bučinih sjemenki miješa s pšeničnim brašnom pri proizvodnji posebnih vrsta kruha s većim udjelom proteina podrijetlom iz bučine pogače (Pirman i sur., 2007; Moslavac i sur., 2014). Kruh takvog sastava obogaćen je bioaktivnim komponentama koje imaju pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje poput prehrambenih vlakana i nezasićenih masnih kiselina (Tarek-Tilistiyak i sur., 2017).

2.5.3. Sastav bučine pogače

Razlike u mljevenju, temperaturi, vremenu prženja i prešanja sjemenki uvelike utječu na sastav pogače. Prema istraživanju Pirman i sur. (2007), uzorak bučine pogače sadržavao je 52,02 g sirovih proteina, 28,34 g sirove masti, 4,50 g sirovih vlakana i 6,95 g pepela na 100 g suhe tvari. Također, određene su visoke vrijednosti udjela fosfora (1,52 g na 100 g suhe tvari) i kalija (1,29 g na 100 g suhe tvari) (Pirman i sur., 2007). Razlika u kemijskom sastavu cijelih sjemenki i jezgri sjemenki buče prikazana je u Tablici 5 (Alfawaz, 2004).

Tablica 5. Kemijski sastav bučinih sjemenki (Alfawaz, 2004)

Udjel (%)	Cijele bučine sjemenke	Jezgra bučine sjemenke
Proteini	39,25 ± 0,66	39,22 ± 2,46
Masti	27,83 ± 0,91	43,69 ± 3,92
Pepeo	4,59 ± 0,16	5,14 ± 1,23
Vlakna	16,84 ± 0,81	2,13 ± 0,57
Jednostavni ugljikohidrati	11,48 ± 2,53	9,82 ± 2,70

Tarek-Tilistyak i sur. (2017) ispitivali su sastav različitih pogača sjemenki uljarica. Određen je sljedeći sastav pogače bučinih sjemenki: 7,2 ± 0,2 % vlage, 50,4 ± 0,5 % proteina, 8,2 ± 0,3 % masti, 7,2 ± 0,3 % pepela, 27,0 ± 1,3 % ukupnih ugljikohidrata, 23,2 ± 0,5 % ukupnih vlakana i 16,2 ± 0,2 % topljivih vlakana. Određena energetska vrijednost iznosi 383 kcal 100 g⁻¹ (Tarek-Tilistyak i sur., 2017).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. UZORCI

U eksperimentalnom dijelu ovog diplomskog rada ispitivan je utjecaj kriomljevenja na udjel netopljivih vlakana, vlakana topljivih u vodi, a netopljivih u 78 % etanolu i topljivih vlakana u uzorcima frakcije posija prosa i bučine pogače. Za provedbu ovog istraživanja korištena je frakcija posija običnog prosa sorte Sonček (*Panicum miliaceum*) uzgojenog 2017. godine, uzetog iz industrijske prerade tvrtke Mlinopek (Murska Sobota, Slovenija) s česticama manjim od 500 µm. Odabrana frakcija je prehrambeno bogatija od ukupnih posija jer sadrži povišeni udjel masti i proteina (rezultati nisu prikazani u ovom radu) te se može pretpostaviti da sadrži aleuronski sloj zrna (Habuš, 2018). Bučina pogača dobivena je od proizvođača bučinog ulja, tvrtke Grbić d.o.o., Požega, usitnjena je na laboratorijskom mlinu, prosijana i za analizu su korištene čestice manje od 1 mm (Dorić i Vidaković, 2018).

Mljevenje posija prosa i bučine pogače provedeno u okviru istraživanja Habuš (2018) i Dorić i Vidaković (2018). Kriomljevenje je provedeno na kriomlinu Retsch Cryomill (Njemačka). Uzorci posija prosa mljeveni su u trajanju od 2, 4, 8 i 12 minuta s i bez primjene hlađenja tekućim dušikom (Tablica 6). Uzorci bučine pogače mljeveni su na kriomlinu u trajanju od 4, 8 i 12 minuta bez primjene hlađenja, s primjenom hlađenja te s primjenom hlađenja i intermedijarnog hlađenja (svake dvije minute mljevenja stanka za dvije minute intermedijarnog hlađenja) (Tablica 7). Prije postupka određivanja vlakana, uzorci bučine pogače su odmašćeni postupkom ekstrakcije s heksanom i acetonom kako je opisano u radu Dorić i Vidaković (2018). Udjel vlakana određen je i u kontrolnim uzorcima posija prosa i bučine pogače, pri čemu su bučina pogača i oljušteno zrno prosa usitnjeni pomoću laboratorijskog mlina.

Tablica 6. Uvjeti mljevenja uzoraka posija prosa na kriomlinu

Uzorak	Trajanje mljevenja (min)	Hlađenje tijekom mljevenja
0	–	–
2H	2	da
4H	4	da
8H	8	da
12H	12	da
2BH	2	ne
4BH	4	ne
8BH	8	ne
12BH	12	ne
OZ	Oljučeno zrno samljeveno na laboratorijskom mlinu i prosijano kroz sito s veličinom pora 450 µm	

Tablica 7. Uvjeti mljevenja uzoraka bučine pogače na kriomlinu

Uzorak	Trajanje mljevenja (min)	Hlađenje tijekom mljevenja
0	–	–
4BH	4	bez hlađenja
8BH	8	bez hlađenja
12BH	12	bez hlađenja
4H	4	s hlađenjem
8H	8	s hlađenjem
12H	12	s hlađenjem
4HI	4	s hlađenjem i intermedijarnim hlađenjem
8HI	8	s hlađenjem i intermedijarnim hlađenjem
12HI	12	s hlađenjem i intermedijarnim hlađenjem

Također, ispitan je i utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na udjel netopljivih vlakana, vlakana topljivih u vodi, a netopljivih u 78 % etanolu i topljivih vlakana u uzorcima posija prosa (veličina čestica < 500 µm). Tretman ultrazvukom proveden je u okviru istraživanja Gudelj (2018). Uzorci su tretirani ultrazvučnim procesorom Hielscher UP400S snage 400 W, frekvencije titranja 24 kHz, sa sondom promjera 22 mm pri 100 %, 80 % i 60 % amplitude ultrazvučnog vala, u trajanju od 5, 12,5 i 20 minuta. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta

proveden je u staklenoj čaši volumena 600 mL s 45 g uzorka posija prosa i 300 mL vode. Kontrolni uzorak je podvrgnut miješanju na magnetskoj miješalici kroz 20 minuta bez tretmana ultrazvukom. Nakon tretmana uzorci su liofilizirani i čuvani pri -18 °C do analize (Gudelj, 2018). Plan pokusa izrađen je prema centralnom kompozitnom dizajnu, a amplituda i vrijeme tretmana pojedinog uzorka posija prosa prikazani su u Tablici 8.

Tablica 8. Uvjeti tretmana uzoraka posija prosa ultrazvukom visokog intenziteta

Uzorak	Amplituda (%)	Vrijeme (min)
K 20'	–	20
60A 5'	60	5
60A 12,5'	60	12,5
60A 20'	60	20
80A 5'	80	5
80A 12,5'	80	12,5
80A 12,5'	80	12,5
80A 12,5'	80	12,5
80A 12,5'	80	12,5
80A 12,5'	80	12,5
80A 20'	80	20
100A 5'	100	5
100A 12,5'	100	12,5
100A 20'	100	20

3.2. METODA ODREĐIVANJA VLAKANA

Udjel vlakna u analiziranim uzorcima određen je pomoću enzimsko-gravimetrijske metode i tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti s detektorom indeksa refrakcije (engl. *High Performance Liquid Chromatography with Refractive Index Detector* – HPLC-RI). Za određivanje vlakana netopljivih u vodi (IDF), topljivih u vodi i netopljivih u 78 % etanolu (SDFP) te topljivih u vodi i u 78 % etanolu (SDFS) korištena je AOAC metoda 2011.25.

3.2.1. Princip AOAC metode 2011.25

Uzorci se inkubiraju s α -amilazom porijeklom iz gušterače i amiloglukozidazom. Uslijed djelovanja navedenih enzima, nerezistentni škrob se hidrolizira do D-glukoze, maltoze i djelomično rezistentnih maltodekstrina u tragovima. Reakcija se zaustavlja prilagođavanjem pH na 8,2 i kratkim zagrijavanjem. Proteini u uzorku se zatim razgrađuju i denaturiraju proteazom. Netopljiva prehrambena vlakna se izdvajaju filtracijom, ispiru, suše i važu. Prehrambena vlakna topljiva u vodi i netopljiva u 78 % etanolu zaostala u filtratu se potom talože s 78 % etanolom, a talog se potom filtrira, suši i važe. Masa obaju taloga korigira se s obzirom na udjel proteina i pepela. Preostali filtrat se koncentrira, potom deionizira, otopi u vodi te se udjel vlakana topljivih u vodi i 78 % etanolu odredi HPLC-RI metodom (Megazyme, 2013b).

3.2.2. Kemikalije

- celit, analytical grade, Megazyme
- otopina sredstva za pranje lončića, 2 %, Micro-90
- aceton, pro analysi, Gram-mol
- etanol, 95 %, Kefo
- etanol, 78 % (v/v) (Priprema: u odmjernu tikvicu od 1 L dodati 180 mL destilirane vode i nadopuniti 95 % etanolom do oznake.)
- smola Amberlite 200CNa, ROHM AND HAAS FRANCE S.A.S., Dow (aktivacija natapanjem 30 minuta u dvostruko većem volumenu 7 % HCl, potom ispiranje)
- smola Amberlite FPA53, ROHM AND HAAS FRANCE S.A.S., Dow
- kalcijev klorid dihidrat, Sigma-Aldrich
- maleatna kiselina, ≥ 99 %, ReagentPlus, Sigma-Aldrich
- natrij-maleatni pufer, 50 mM, pH = 6,0 s kalcij klorid dihidratom (Priprema: u 800 mL vode u odmjernoj tikvici od 1 L otopiti 5,8 g maleinske kiseline te potom podesiti pH na 6,0 s 4 M NaOH. Dodati 0,3 g kalcijevog klorida dihidrata i nadopuniti tikvicu do oznake.)
- octena kiselina, 2 M (Priprema: iz ledene octene kiseline, 99,5 %, Macron)
- kalcij dinatrij EDTA hidrat, $\geq 97,0$ %, Fluka

- 2-amino-2-(hidroksimetil)-1,3-propanediol, primarni standard i pufer, $\geq 99,9\%$, TI503, Sigma-Aldrich
- tris pufer, 0,75 M (Priprema: otopiti 90,8 g 2-amino-2-(hidroksimetil)-1,3-propanediola u 800 mL deionizirane vode ($\text{pH} \approx 10,5$) u odmjernu tikvicu od 1 L i nadopuniti vodom do oznake)
- D-sorbitol, Megazyme kit (Priprema: vodena otopina koncentracije $100,4 \text{ mg mL}^{-1}$)
- amiloglukozidaza 3300 jedinica mL^{-1} , otopljena u 50 % (v/v) glicerolu, Megazyme kit
- pankreasna α -amilaza 50 jedinica mL^{-1} , Megazyme kit
- proteaza 50 mg mL^{-1} ; 350 jedinica tirozina mL^{-1} , otopljena u 50 % (v/v) glicerolu, Megazyme kit.

3.2.3. Uređaji i ostala oprema

- analitička vaga, ALS220-4N, Kern
- vodena kupelj s tresilicom, SBS40, Stuart
- štoperica, Oregon
- pH metar 3510, Jenway
- magnetska miješalica RT 5, IKA-WERKE
- rotavapor, Hiedolph
- termometar, Quartz
- sušionik ST-01/02, Instrumentaria
- mufolna peć, KR170, W. C. HERAEUS HANAU
- najlonski membranski filter, $0,45 \mu\text{m}$ HNWP, Kefo
- najlonski filter za špricu, $0,45 \mu\text{m}$, Labex Ltd., FilterBio
- HPLC uređaj, Shimadzu
 - pumpa LC-10AD, Shimadzu
 - odzračivač DGU-14A, Shimadzu
 - pećnica CTO-10AS, Shimadzu
 - detektor indeksa loma RID-10A, Shimadzu
 - program LCsolution Version 1.22 SP1, Shimadzu
- staklene Duran boce s čepom, 250 mL, 500 mL i 1 L
- lončići za filtraciju, Duran 2
- odisna boca

- stakleni adapter za lončiće za filtraciju
- gumeni prsten
- eksikator
- graduirane pipete (20 mL)
- automatska propipeta
- menzura (50 mL, 100 mL, 1 L)
- okrugla tikvica s ravnim dnom (250 mL, 500 mL)
- špatula
- plastične Eppendorf epruvete (1,5 mL)
- plastične Falcon epruvete (15 mL, 50 mL)
- set magneta
- kolona za deionizaciju
- staklena čaša (100 mL)
- vata

3.2.4. Priprema lončića za filtraciju

Lončići su spaljivani 7 sati u mufolnoj peći na 525 °C. Ohlađeni lončići su namočeni u 2 % otopinu za pranje i ostavljeni 1 sat. Nakon namakanja, lončići su isprani najprije vodom, potom s oko 10 mL acetona. U suhe lončiće odvagano je oko 1 g celita. Lončići su spaljivani 7 sati u mufolnoj peći na 525 °C, zatim ohlađeni u eksikatoru i izvagani.

3.2.5. Priprema uzorka

Prije određivanje vlakana, uzorci bučine pogače odmašćeni su postupkom ekstrakcije s heksanom i acetonom kako je opisano u radu Dorić i Vidaković (2018). Uzorke posija prosa nije bilo potrebno odmastiti jer sadrže manje od 10 % masti (Habuš, 2018).

Izvagano je $1,0000 \pm 0,0050$ g mljevenog uzorka (2 paralelne probe za svaki uzorak) u Duran boce od 250 mL s čepom te je potom uzorak navlažen s 1 mL 95 % etanola. Pripremljena je otopina pankreasne α -amilaze i amiloglukozidaze u Na-maleatnom puferu koncentracije pankreasne α -amilaze 50 jedinica mL⁻¹ i koncentracije amiloglukozidaze 3,4 jedinice mL⁻¹. Pripremljena otopina homogenizirana je 5 minuta na magnetskoj miješalici nakon čega je

uzorku dodano 40 mL iste. Tako pripremljeni uzorak homogeniziran je na magnetskoj miješalici 5 minuta prije inkubacije. Uzorak je inkubiran 16 h u vodenoj kupelji, pri 37 °C, uz orbitalno miješanje brzinom 120 okr. min⁻¹. Nakon 16 sati inkubacije reakcija je zaustavljena dodatkom 3,0 mL 0,75 M TRIS pufera. Uzorak je potom homogeniziran na magnetskoj miješalici 2 minute i stavljen u drugu vodenu kupelj temperiranu na 90 – 100 °C, 20 minuta, pri čemu je vrijeme mjereno nakon što je uzorak postigao temperaturu od 90 °C. Nakon 20 minuta, uzorak je ohlađen na temperaturu od 60 °C, a zatim mu je dodano 100 µL proteaze. Uzorak je homogeniziran 2 minute na magnetskoj miješalici te potom stavljen na inkubaciju u vodenu kupelj 30 minuta, pri 60 °C, uz orbitalno miješanje brzinom 120 okr. min⁻¹. Po isteku vremena, uzorak je izvađen iz kupelji te mu je odmah dodano 4 mL 2 M octene kiseline i 1 mL otopine internog standarda sorbitola. Uzorak je homogeniziran 1 minutu na magnetskoj miješalici te je bio spreman za filtraciju.

3.2.6. Određivanje netopljivih vlakana (IDF)

Na prethodno spaljeni i izvagani lončići s celitom dodano je 10 mL 78 % etanola, celit je promiješan špatulom kako bi se ravnomjerno rasporedio na dnu lončića za filtraciju te je zatim dodani etanol uklonjen filtracijom pod vakuumom u odsisnu bocu. Uzorak je potom kvantitativno prenesen i filtriran preko istog lončića za filtraciju. Zaostatak uzorka na stjenkama boce za inkubaciju prenesen je na lončić ispiranjem s 35 mL vode zagrijane na 60 °C, u obrocima od 5 mL. Po završetku filtracije, filtrat je iz odsisne boce prenesen u menzuru od 100 mL, nadopunjen destiliranom vodom do 85 mL i čuvan za određivanje SDFP. Lončić s talogom ispran je dva puta s 15 mL 78 % etanola, dva puta s 15 mL 95 % etanola i dva puta s 15 mL acetona. Isprani lončić s IDF pokriven aluminijskom folijom stavljen je na sušenje 7 sati pri 105 °C. Nakon sušenja, lončić je ohlađen u eksikatoru i izvagan.

Masa IDF izračunata je prema jednadžbi [1]:

$$m_1 = m_3 - m_2 \quad [1]$$

m_1 – masa IDF u uzorku (g)

m_2 – masa lončića s celitom (g)

m_3 – masa lončića s celitom i IDF u uzorku (g)

U jednom preostalom talogu određen je udjel proteina, a u drugom udjel pepela (prema metodama u poglavljima 3.3. i 3.4.) te je masa IDF korigirana s obzirom na udjel proteina i pepela prema jednadžbi [2]:

$$m_2 = \frac{m_1 - \frac{\text{udjel proteina (\%)} * m_1}{100} - \frac{\text{udjel pepela (\%)} * m_1}{100} - sp}{m_3} \quad [2]$$

m_1 – masa IDF u uzorku (g)

m_2 – masa IDF korigirana za udjel proteina i pepela, u 1 g uzorka (g)

m_3 – masa uzorka uzetog u analizu (g)

sp – slijepa proba (g)

Udjel suhe tvari u uzorku određen je prema metodi u poglavlju 3.5. i rezultat je izražen kao masa IDF u 100 g suhe tvari (g) prema jednadžbi [3]:

$$m (IDF) = \frac{m_1}{\text{udjel suhe tvari (\%)}} * 100 \quad [3]$$

m (IDF) – masa IDF u 100 g suhe tvari uzorka (g)

m_1 – masa IDF korigirana za udjel proteina i pepela, u 1 g uzorka (g)

3.2.7. Određivanje vlakana topljivih u vodi, a netopljivih u 78 % etanolu (SDFP)

Filtrat i 95 % etanol ugrijani su na 60 °C, pomiješani, ručno dobro protreseni i stavljeni na taloženje najmanje 1 sat pri sobnoj temperaturi. Na prethodno spaljeni i izvagani lončić s celitom dodano je 10 mL 78 % etanola, celit je promiješan špatulom te je zatim dodani etanol uklonjen filtracijom pod vakuumom u odsisnu bocu. Uzorak je potom kvantitativno prenesen i filtriran preko istog lončića za filtraciju. Stjenke boce su radi kvantitativnog prenošenja isprane u lončić s 78 % etanolom. Dobiveni filtrat je prenesen u menzuru, a potom pola volumena filtrata u okruglu tikvicu s ravnim dnom za uparavanje. Filtrat je uparen na rotavaporu pod vakuumom pri 60 °C do suhog. Upareni uzorak otopljen je u 5 mL deionizirane vode uz rotaciju 2 minute na rotavaporu i kao takav je čuvan zamrznut do određivanja topljivih vlakana. Lončić s talogom ispran je dva puta s 15 mL 78 % etanola, dva puta s 15 mL 95 % etanola i dva puta s 15 mL acetona. Isprani lončić s SDFP pokriven aluminijskom folijom stavljen je na sušenje 7 sati pri 105 °C. Nakon sušenja, lončić je ohlađen u eksikatoru i izvagan.

Masa SDFP izračunata je prema jednadžbi [4]:

$$m_1 = m_3 - m_2 \quad [4]$$

m_1 – masa SDFP iz uzorka (g)

m_2 – masa lončića s celitom (g)

m_3 – masa lončića s celitom i SDFP (g)

U jednom preostalom talogu određen je udjel proteina, a u drugom udjel pepela (prema metodama u poglavljima 3.3. i 3.4.) te je SDFP je korigirana s obzirom na udjel proteina i pepela prema jednadžbi [5]:

$$m_2 = \frac{m_1 - \frac{\text{udjel proteina (\%)} * m_1}{100} - \frac{\text{udjel pepela (\%)} * m_1}{100} - sp}{m_3} \quad [5]$$

m_1 – masa SDFP iz uzorka (g)

m_2 – masa SDFP korigirana za udjel proteina i pepela, u 1 g uzorka (g)

m_3 – masa uzorka uzetog u analizu (g)

sp – slijepa proba (g)

Udjel suhe tvari u uzorku određen je prema metodi u poglavlju 3.5. i rezultat je izražen kao masa SDFP u 100 g suhe tvari prema jednadžbi [6]:

$$m (SDFP) = \frac{m_1}{\text{udjel suhe tvari (\%)}} * 100 \quad [6]$$

$m (SDFP)$ – masa SDFP u 100 g suhe tvari uzorka (g)

m_1 – masa SDFP korigirana za udjel proteina i pepela, u 1 g uzorka (g)

3.2.8. Određivanje vlakana topljivih u vodi i 78 % etanolu (SDFS)

3.2.8.1. Deionizacija uzorka

Najprije je odvagano 4 g smole Amberlite 200CNa i 4 g smole Amberlite FPA53 u čašu te je dodano malo vode, sadržaj je dobro homogeniziran i preliven u kolonu za deionizaciju s otvorenim ventilom. Na vrh smole u koloni stavljeno je malo vate te je kolona potom isprana

s 20 mL vode. Na kolonu je nanoseno 2 mL uzorka te potom 2 mL vode. Protok elucije iznosio je 1 mL min⁻¹ (1 kapi u 3 sekunde). Nakon elucije uzorka, na kolonu je dodano 20 mL vode i eluirano istom brzinom u plastičnu epruvetu od 50 mL. Eluat je prebačen u tikvicu za uparavanje od 250 mL i uparen na rotavaporu uz vakuum pri 60 °C do suhog. Upareni uzorak otopljen je u 2 mL vode, uz rotaciju 2 minute na rotavaporu. Ovako pripremljeni uzorak filtriran je preko 0,45 µm filtera za špricu, prebačen u plastičnu Eppendorf epruvetu od 1,5 mL i čuvan zamrznut do određivanja HPLC metodom.

3.2.8.2. Postupak određivanja SDFS

SDFS određena su na HPLC uređaju s detektorom indeksa loma (RI) pri sljedećim uvjetima analize:

Kolona: METACARB 67C, Agilent Technologies

Mobilna faza: vodena otopina kalcij dinatrij EDTA hidrata, 50 mg L⁻¹, profiltrirana i odzračena u ultrazvučnoj kupelji

Protok mobilne faze: 0,5 mL min⁻¹

Temperatura kolone: 80 °C

Temperatura ćelije RI detektora: 40 °C

Masa SDFS (mg 100 g⁻¹) izračunata je prema jednadžbi [7]:

$$m(SDFS) = Rf * m(IS) * \frac{PA_{SDFS}}{PA_{IS}} * \frac{100}{m} \quad [7]$$

m (SDFS) – masa topljivih vlakana (mg 100 g⁻¹)

Rf – faktor odgovora

m (IS) – masa internog standarda u 1 mL otopine (mg)

PA_SDFS – površina pika topljivih vlakana

PA_IS – površina pika internog standarda

m – masa uzorka čiji filtrat je analiziran (g)

3.2.9. Priprema slijepe probe

Kako bismo uklonili greške u analizi izazvane utjecajem reagenasa i postupka, napravljena je slijepe proba u koju nije dodan uzorak, ali je daljnja priprema bila pri istim uvjetima, identična ostalim uzorcima, prema protokolu metode. Masa slijepe probe (mg) izračunata je prema jednadžbi [8]:

$$\text{slijepe proba (mg)} = \frac{m \text{ s.p.1} - m \text{ s.p.2}}{2} - m (\text{proteina}) - m (\text{pepela}) \quad [8]$$

$m \text{ s.p.1}$ – masa ostatka za prvu paralelu slijepe probe (mg)

$m \text{ s.p.2}$ – masa ostatka za drugu paralelu slijepe probe (mg)

$m (\text{proteina})$ – masa proteina određena iz rezidua slijepe probe (mg)

$m (\text{pepela})$ – masa pepela određena iz rezidua slijepe probe (mg)

(Megazyme, 2013b; AOAC 2011.25)

3.3. METODA ODREĐIVANJA PROTEINA

3.3.1. Kemikalije

- borna kiselina, 40 g L⁻¹ (priprema: iz borne kiseline, 99 – 100 %, Gram-mol uz dodatak 12,5 mg L⁻¹ indikatora bromkrezol-zeleno i 8,75 mg L⁻¹ indikatora metilno crvenilo)
- sumporna kiselina, 96 %, CARLO ERBA Reagents S.A.S.
- klorovodična kiselina, 0,01 mol L⁻¹ (priprema: iz klorovodične kiseline, 37 %, CARLO ERBA Reagents S.A.S.)
- natrijev hidroksid, 0,01 mol L⁻¹ (priprema: iz natrijevog hidroksida, 98 %, Samago d.o.o.)
- kjeldahl tablete bez Se i Hg, 5 g/tableta, MerckKGaA

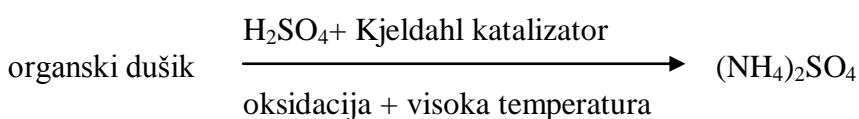
3.3.2. Uređaji i ostala oprema

- blok za spaljivanje 1007, Tecator
- KjeltecTM8100, TecatorTMLine

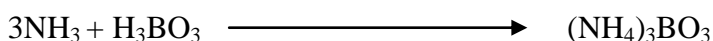
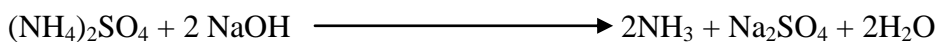
- Kjeltec kivete
- Erlenmeyerove tikvice (250 mL)

3.3.3. Princip određivanja

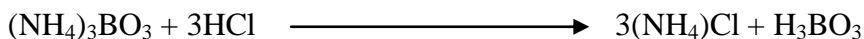
Udjel proteina određen je metodom po Kjeldahl-u. Organske tvari u uzorku se razore zagrijavanjem sa sumpornom kiselinom i pri tome dolazi do oslobađanja proteinskog i neproteinskog dušika koji zaostaje u obliku amonijevog sulfata.



U Kjeltec uređaju provodi se alkalizacija u suvišku i potom destilacija u bornu kiselinu u suvišku.



Potom se provodi titracija amonijevog borata klorovodičnom kiselinom.



3.3.4. Postupak određivanja

Uzorak i celit iz lončića su preneseni u Kjeldahlovu kivetu. U svaku kivetu je dodana jedna Kjeldahl tableta i 12 mL 96 % sumporne kiseline. Uzorak je spaljivan u bloku za spaljivanje do postizanja plavo-zelene boje bez vidljivih crnih ostataka te su potom kivete s uzorkom ohlađene prije daljnje analize. U Erlenmeyerovu tikvicu dodano je 25 mL 4 % borne kiseline s indikatorima. Tikvica s bornom kiselinom i kiveta sa spaljenim uzorkom postavljene su u Kjeltec uređaj, na kojem je destilacija provedena pri sljedećim uvjetima:

- Volumen vode: 80 mL
- Volumen lužine: 50 mL
- Vrijeme destilacije: 4 minute.

Dobiveni destilat je potom titriran klorovodičnom kiselinom koncentracije 0,01 mol L⁻¹ do promjene boje iz zelene u ružičastu. Udjel dušika izračunat je prema jednadžbi [9], a udjel proteina u uzorku prema jednadžbi [10]:

$$\text{udjel dušika (\%)} = \frac{(T-B) \times N \times 14,007 \times 100}{m} \quad [9]$$

$$\text{udjel proteina (\%)} = \text{udjel dušika (\%)} \times F \quad [10]$$

T – volumen titranta uzorka V (HCl) (mL)

B – volumen titranta slijepe probe V (HCl) (mL)

N – molaritet klorovodične kiseline

m – masa uzorka (mg)

F – faktor pretvorbe za proteine – 6,25

(ICC 105/2; Megazyme, 2013b)

3.4. METODA ODREĐIVANJA PEPELA

3.4.1. Uređaji i ostala oprema

- mufolna peć, KR170, W. C. HERAEUS HANAU
- eksikator
- analitička vaga, ALS220-4N, Kern

3.4.2. Postupak određivanja

Lončić s uzorkom spaljivan je u mufolnoj peći 7 sati pri 525 °C, potom je ohlađen u eksikatoru i izvagan. Udjel pepela u uzorku izračunat je prema jednadžbi [11]:

$$\text{udjel pepela (\%)} = \frac{m_3 - m_2}{m_1} * 100 \quad [11]$$

m₁ – masa vlakana bez korekcije (g)

m₂ – masa lončića s celitom (g)

m₃ – masa lončića s celitom i pepelom (g)

(Megazyme, 2013b)

3.5. METODA ODREĐIVANJA VODE/SUHE TVARI

3.5.1. Uređaji i oprema

- aluminijska posudica
- sušionik ST-01/02, Instrumentaria
- eksikator
- analitička vaga, ALS220-4N, Kern

3.5.2. Postupak određivanja

U prethodno osušenu, ohlađenu i izvaganu aluminijsku posudicu izvagano je $3,000 \pm 0,0001$ g uzorka. Uzorak je sušen u sušioniku pri 130 °C, do postizanja konstantne mase. Prije vaganja uzorak je ohlađen u eksikatoru.

Iz razlike u masi uzorka izračunat je udjel vode prema jednadžbi [12] i udjel suhe tvari prema jednadžbi [13]:

$$\text{udjel vlage (\%)} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100 \quad [12]$$

$$\text{udjel suhe tvari (\%)} = 100 (\%) - \text{udjel vlage(\%)} \quad [13]$$

m_1 – masa prazne posudice (g)

m_2 – masa posudice s uzorkom prije sušenja (g)

m_3 – masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

(NN 28/2011)

3.6. OBRADA REZULTATA

Rezultati su obrađeni i grafički prikazani pomoću programa Excel 2007. Statistička analiza napravljena je u programu Statistica 10, Stat Soft Inc. Primijenjeni su testovi analiza varijance (ANOVA) i Tukey test, uz razinu statističke značajnosti $\alpha = 0,05$.

4. REZULTATI I RASPRAVA

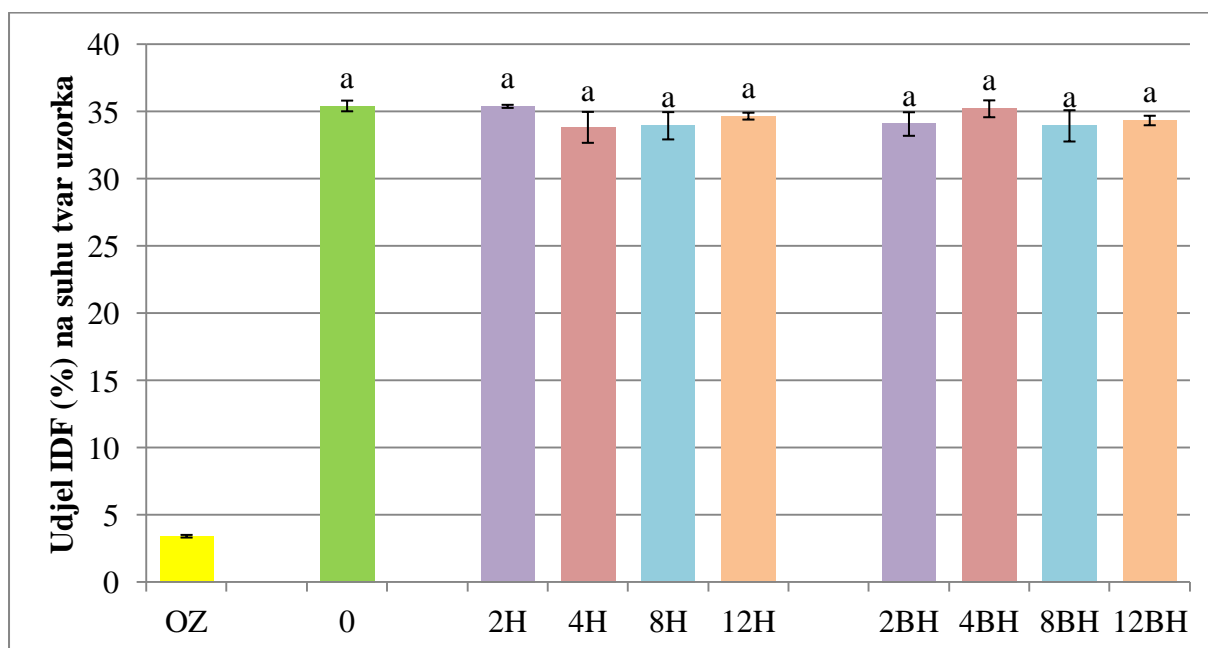
U ovom diplomskom radu ispitan je utjecaj kriomljevenja na udjel netopljivih vlakana (IDF), vlakana topljivih u vodi, a netopljivih u 78 % etanolu (SDFP) i vlakana topljivih u vodi i 78 % etanolu (SDFS) u uzorcima posija prosa i bučine pogače, kao i utjecaj tretmana ultrazvukom visokog intenziteta na udjel navedenih vlakana u uzorcima posija prosa. Također, u radu je ispitan i sastav vlakana oljuštenog zrna prosa, kao uobičajenog oblika konzumacije prosa, a s ciljem usporedbe s odabranom frakcijom posija prosa.

Za određivanje IDF, SDFP i SDFS korištena je AOAC metoda 2011.25. Rezultati određene srednje vrijednosti i standardne devijacije udjela vlakana na suhu tvar uzorka su prikazani grafički.

4.1. UTJECAJ KRIOMLJEVENJA NA UDJEL VLAKANA U UZORCIMA POSIJA PROSA

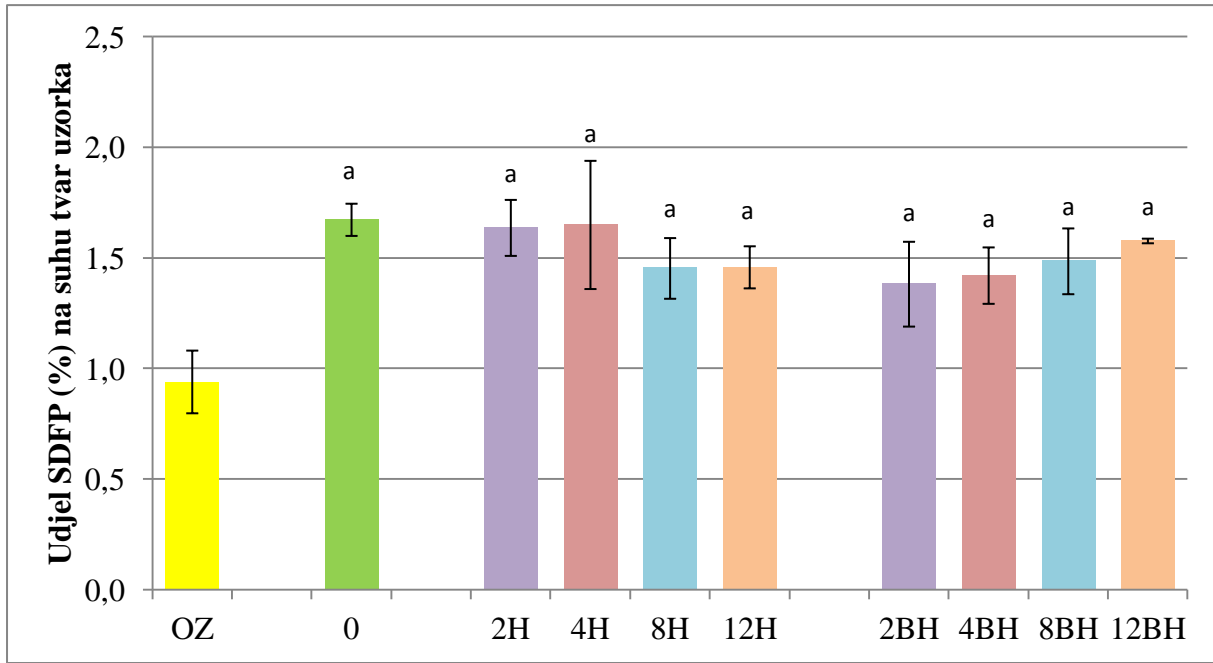
Na sljedećim slikama prikazani su dobiveni rezultati udjela navedenih skupina vlakana u uzorcima posija prosa tretiranih kriomljevenjem.

Udjel IDF u uzorcima posija prosa tretiranih kriomljevenjem prikazan je na Slici 1.



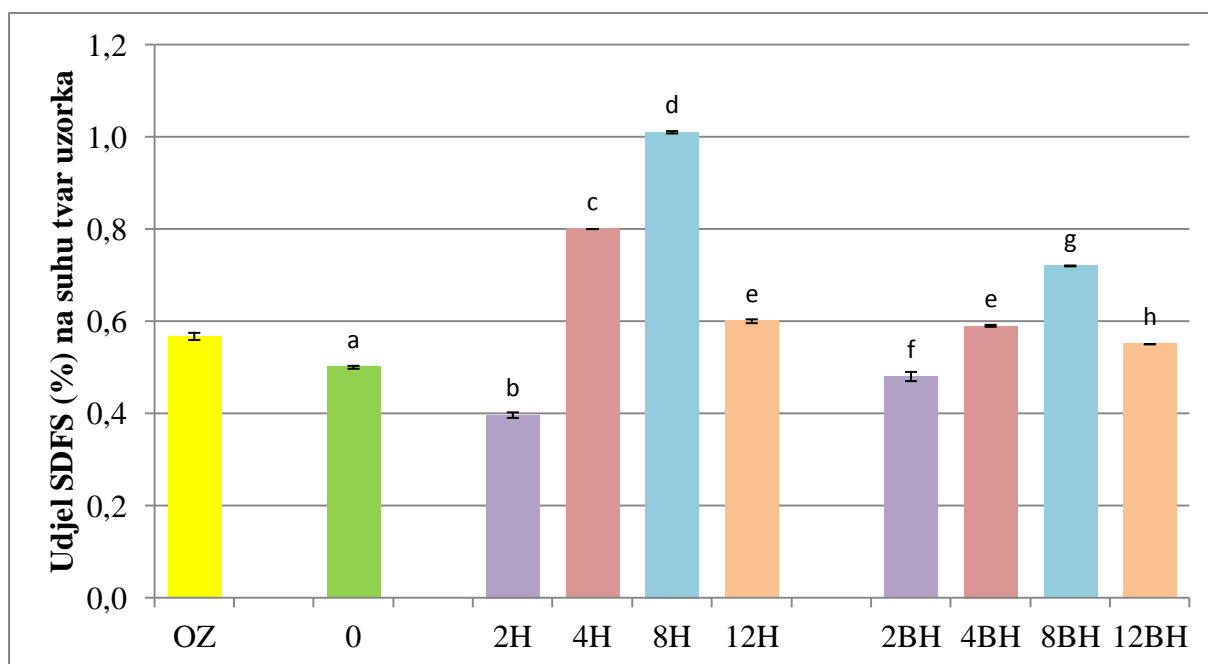
Slika 1. Udjel IDF u uzorcima posija prosa mljevenim na kriomlinu (istim slovom označene su vrijednosti među kojima nema statistički značajne razlike ($p > 0,05$))

Udjel IDF iznosio je od 33,82 % do 35,41 % za uzorke posija prosa, dok je udjel IDF za uzorak oljuštenog zrna prosa iznosio $3,41 \pm 0,10$ % (Slika 1). Iz navedenog je vidljiv značajno niži udjel IDF (~9,4 puta niži) u oljuštenom zrnu (OZ) u odnosu na netretirani uzorak posija prosa (0). Udjel SDFP u uzorcima posija prosa tretiranim kriomljevenjem prikazan je na Slici 2.



Slika 2. Udjel SDFP u uzorcima posija prosa mljevenim na kriomlinu (istim slovom označene su vrijednosti među kojima nema statistički značajne razlike ($p > 0,05$))

Udjel SDFP iznosio je od 1,38 % do 1,67 % u uzorcima posija prosa, dok je udjel SDFP u oljuštenom zrnu iznosio $0,94 \pm 0,14$ %. Najveći udjel SDFP ($1,67 \pm 0,07$ %) izmjeren je u netretiranom uzorku (0) (Slika 2). Udjel SDFP u uzorku oljuštenog zrna (OZ) bio je 78,0 % niži od njihovog udjela u uzorku netretiranih posija prosa (0). Udjel SDFS u uzorcima posija prosa tretiranim kriomljevenjem prikazan je na Slici 3.

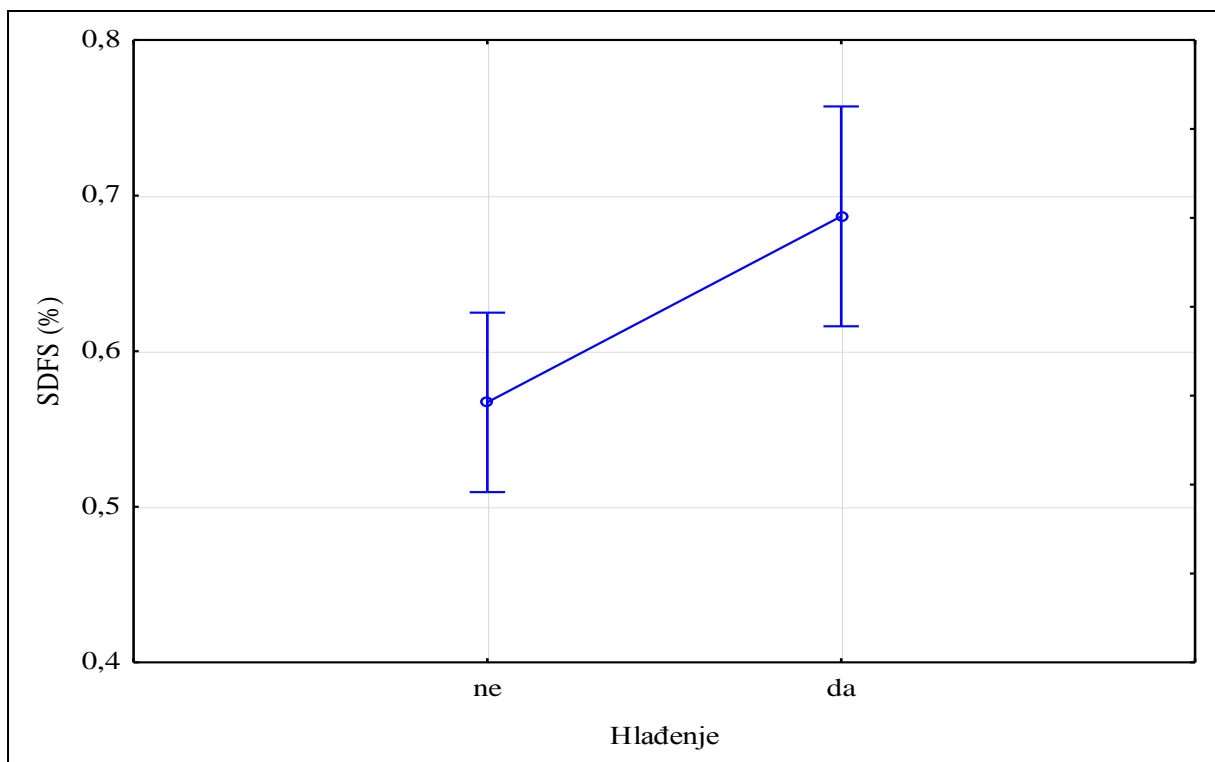


Slika 3. Udjel SDFS u uzorcima posija prosa mljevenim na kriomlinu (različitim slovima su označene statistički značajne razlike između dobivenih vrijednosti ($p \leq 0,05$))

Udjel SDFS u uzorcima posija prosa iznosio je od 0,40 % do 1,01 %, a u oljuštenom zrnu $0,57 \pm 0,01$ % (Slika 3). Udjel SDFS u oljuštenom zrnu (OZ) je za 13,41 % veći u odnosu na netretirane posije prosa (0).

ANOVA testom utvrđeno je kako, s obzirom na sve rezultate, hlađenje ($p = 0,045$) i vrijeme mljevenja ($p = 0,011$) imaju statistički značajan utjecaj na udjel svih vlakana u uzorcima posija prosa. Prema rezultatima Tukey testa vrijeme mljevenja i primjena hlađenja tijekom mljevenja posija prosa nemaju statistički značajan utjecaj na udjel IDF i SDFP. Statistički značajan utjecaj vremena mljevenja i primjene hlađenja tijekom mljevenja utvrđen je samo za udjel SDFS (Slika 4 i Slika 5).

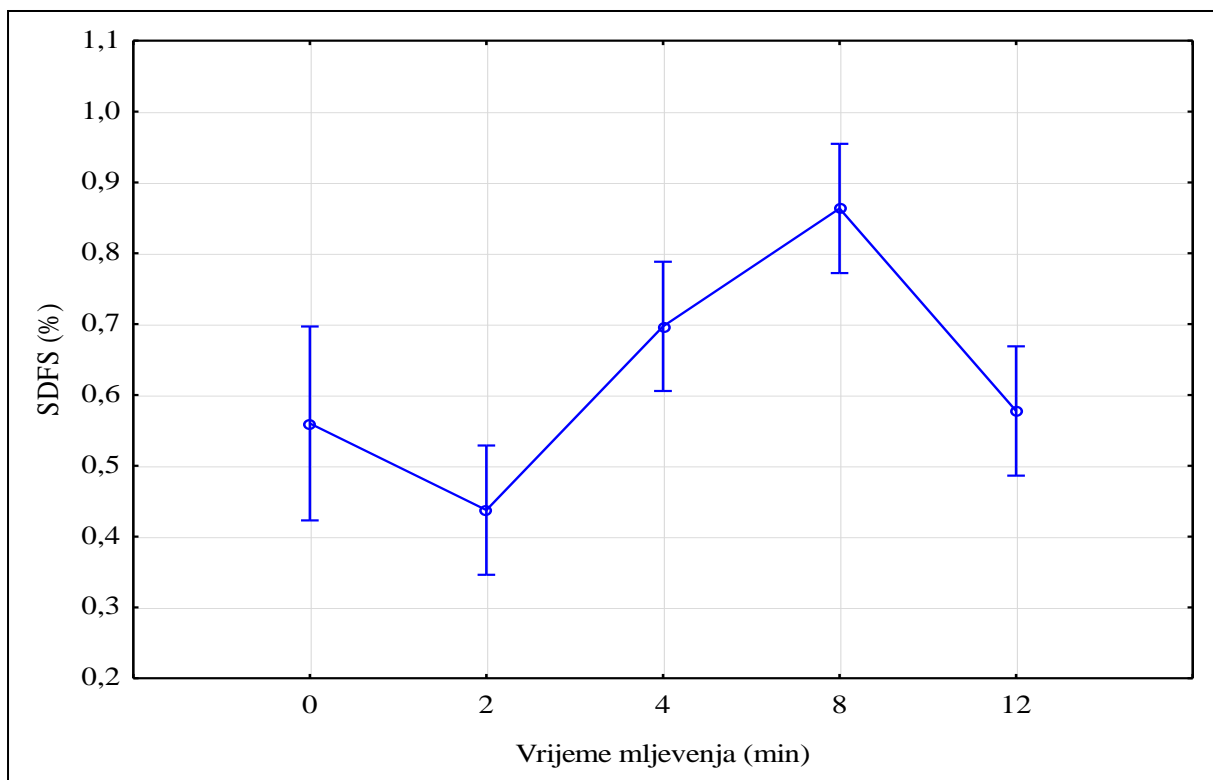
Ovisnost udjela SDFS u posijama prosa o primijenjenom hlađenju prikazana je na Slici 4.



Slika 4. Ovisnost udjela SDFS u posijama prosa o primjeni hlađenja tijekom mljevenja

Prema rezultatima Tukey testa primjena hlađenja tekućim dušikom tijekom mljevenja posija prosa ima statistički značajan pozitivan utjecaj na udjel SDFS ($p = 0,005$), odnosno dovodi do povećanja njihovog udjela (Slika 4). Primjenom hlađenja dobiveno je statistički značajno povećanje udjela SDFS u uzorcima mljevenima 4 minute (povećanje za 35,59 %, $p < 0,001$), 8 minuta (povećanje za 40,28 %, $p < 0,001$) i 12 minuta (povećanje 9,05 %, za $p < 0,001$), u odnosu na netretirani uzorak. Jedino je u uzorku mljevenom 2 minute primjenom hlađenja došlo do statistički značajnog ($p < 0,001$) smanjenja udjela SDFS za 21,16 % (Slika 3). Iz navedenog je vidljivo da primjena hlađenja dovodi do povećanja udjela SDFS u svim uzorcima koji su bili mljeveni 4 minute ili dulje.

Ovisnost udjela SDFS o vremenu mljevenja prikazana je na Slici 5.



Slika 5. Ovisnost udjela SDFS (%) o vremenu mljevenja (min)

Prema rezultatima Tukey testa vrijeme mljevenja posija prosa ima statistički značajan utjecaj na udjel SDFS. Prema Slici 5 je do statistički značajnog porasta udjela SDFS u odnosu na netretirani uzorak došlo jedino u uzorcima posija prosa mljevenim 8 minuta ($p = 0,002$).

U odnosu na netretirani uzorak, mljevenjem sa i bez primjene hlađenja u trajanju od 2 minute dolazi do smanjenja udjela SDFS za 4,17 % do 26,22 %, mljevenjem 4 minute dolazi do povećanja udjela SDFS za 17,99 % do 59,99 %, mljevenjem 8 minuta za 43,99 % do 101,98 % te mljevenjem 12 minuta za 10,03 % do 19,99 % (Slika 3). Najveći udjel SDFS izmjeren je u uzorku mljevenom 8 minuta uz primjenu hlađenja i iznosio je $1,01 \pm 0,00$ % (Slika 3).

Funkcionalnost vlakana, kao i njihova fizikalno-kemijska svojstva, mogu se mijenjati kemijskim, enzimskim, mehaničkim, termičkim i termomehaničkim procesima. Veličina čestica ima važnu ulogu u kontroliranju rada probavnog sustava poput vremena prolaska, fermentacije i izlučivanja. Ona može varirati tijekom prolaska kroz probavni sustav kao rezultat žvakanja i degradacije bakterija u debelom crijevu, ali može biti i rezultat prethodne prerade poput mljevenja (Dhingra i sur., 2012; Guillon i Champ, 2000). Ova tvrdnja potvrđena je u drugim radovima gdje je zaključeno kako tretmani usitnjavanja poput mljevenja mogu učinkovito smanjiti veličinu čestica IDF do mikro-veličina. Utvrđena je

značajna preraspodjela IDF u SDFS u uzorcima mrkve, narančine kore i ječma. Autori istraživanja su kao objašnjenje naveli promjenu u strukturi i veličini čestica IDF (Liu i sur., 2016; Chau i sur., 2007; Zhu i sur., 2015).

U radu Zhu i sur. (2010) zaključili su kako je smanjenje udjela IDF u oljuštenom zrnu ječma uzrokovano degradacijom hemiceluloze, celuloze i lignina na manje molekule (Zhu i sur., 2010). U prilog tome govori i rad Raghavendra i sur. (2006) u kojem je zaključeno kako je postupak mljevenja kokosovog brašna rezultirao narušavanjem strukture vlakana i razaranjem kristalne rešetke, čime je osigurano povećanje ukupne površine za upijanje vode (Raghavendra i sur., 2006). Stabilnost uređenog (kristalna rešetka) ili neuređenog sustava određuje hoće li pojedina vlakna biti topljiva ili ne. Ukoliko pojedina vlakna tvore kristalnu rešetku, ona će biti energetski stabilnija u čvrstom stanju nego u otopini (Guillon i Champ, 2000).

U radu Gouveia i sur. (2002) utvrđeno je da kombinacija mljevenja i hlađenja dovodi do značajnih promjena u udjelima vlakana u različitim mješavinama žitarica za doručak te zaključuju kako je kriomljevenje vrlo uspješan proces brzog usitnjavanja čestica, a niže temperature mljevenja dovode do manjih veličina čestica (Gouveia i sur., 2002). U skladu s navedenim je i zaključak diplomskog rada Habuš (2018) gdje je zaključeno kako mljevenje posija prosa dovodi do smanjenja veličine čestica, pri čemu je manja veličina čestica dobivena korištenjem kriomljevenja. Duljim vremenom mljevenja postignuta je manja veličina čestica, osim u slučaju kriomljevenja nakon 12 minuta kada se pretpostavlja da je porast veličine čestica izazvan stvaranjem aglomerata (Habuš, 2018).

Rezultati dobiveni u ovom istraživanju su u skladu s prethodno navedenim istraživanjima. Moguće je da je uslijed mljevenja sa i bez primjene hlađenja došlo do degradacije i smanjenja veličine čestica IDF što je rezultiralo preraspodjelom IDF u SDFS tj. porastom udjela SDFS.

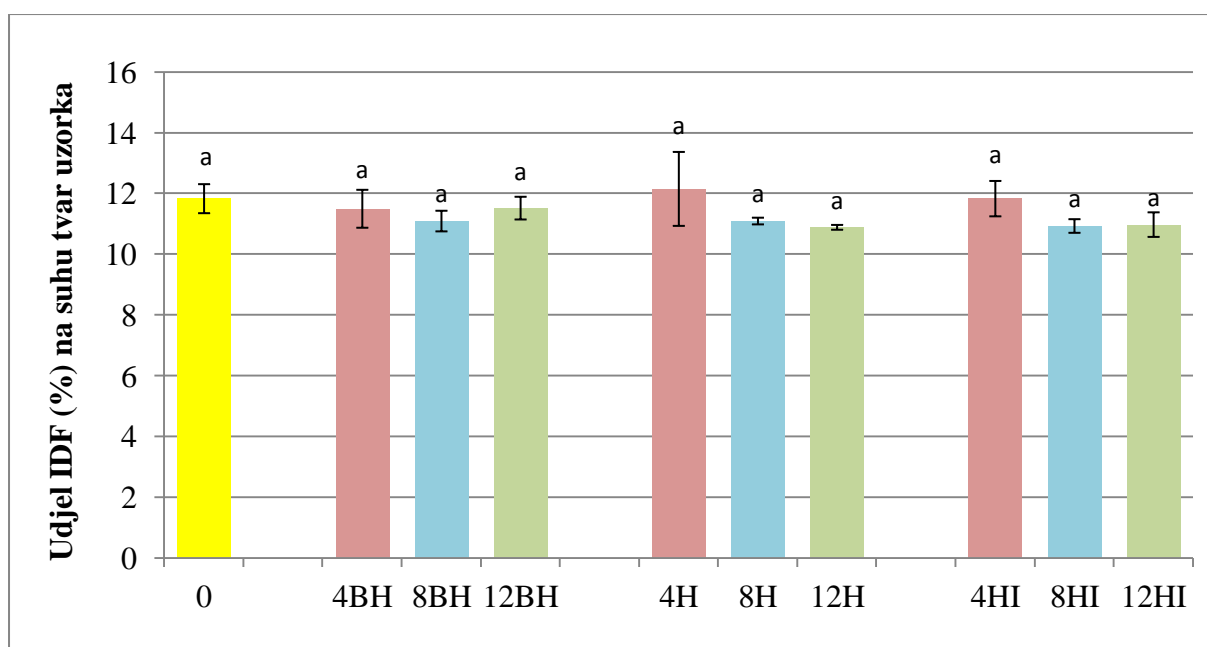
U radu Lestienne i sur. (2007) zaključeno je kako ljuštenje zrna prosa ima veliki utjecaj na smanjenje udjela vlakana konačnog proizvoda (Lestienne i sur., 2007). Prisutnost ljuske doprinosi povećanju udjela IDF. Prehrambena vlakna su većinom prisutna u vanjskim slojevima zrna poput ljuske i aleuronskog sloja. Posije su posebno bogate vlaknima jer vanjski slojevi bogati ne-škrobnim polisaharidima nisu razrijeđeni velikim udjelima škroba (Steadman i sur., 2001; Brouns i sur., 2012). Dobiveni rezultati udjela IDF i SDFP u odabranoj frakciji posija prosa u odnosu na oljušteno zrno prosa u skladu su sa zaključcima

prethodnih istraživanja navedenih u radu. Uklanjanjem ljuske zrna prosa koja je najbogatija vlaknima dolazi do značajnog smanjenja njihovog udjela u oljuštenom zrnu.

4.2. UTJECAJ KRIOMLJEVENJA NA UDJEL VLAkana U UZORCIMA BUČINE POGAČE

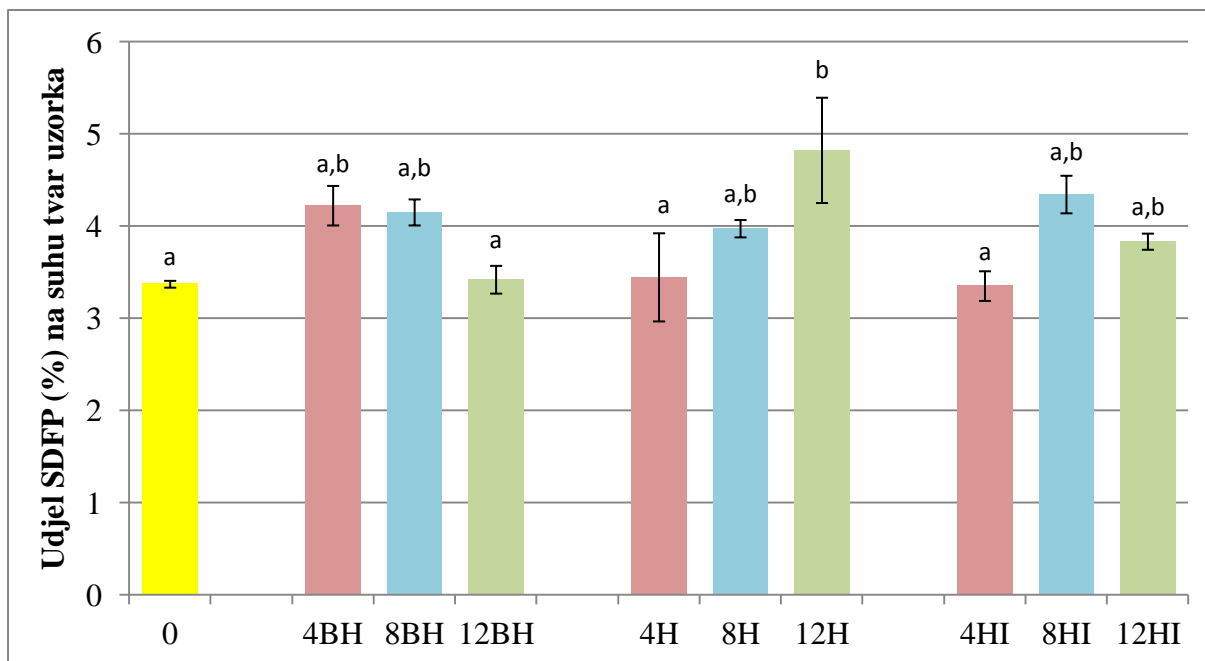
Na sljedećim slikama prikazani su rezultati udjela navedenih skupina vlakana u uzorcima bučine pogače.

Udjel IDF u uzorcima bučine pogače tretirane kriomljevenjem prikazan je na Slici 6.



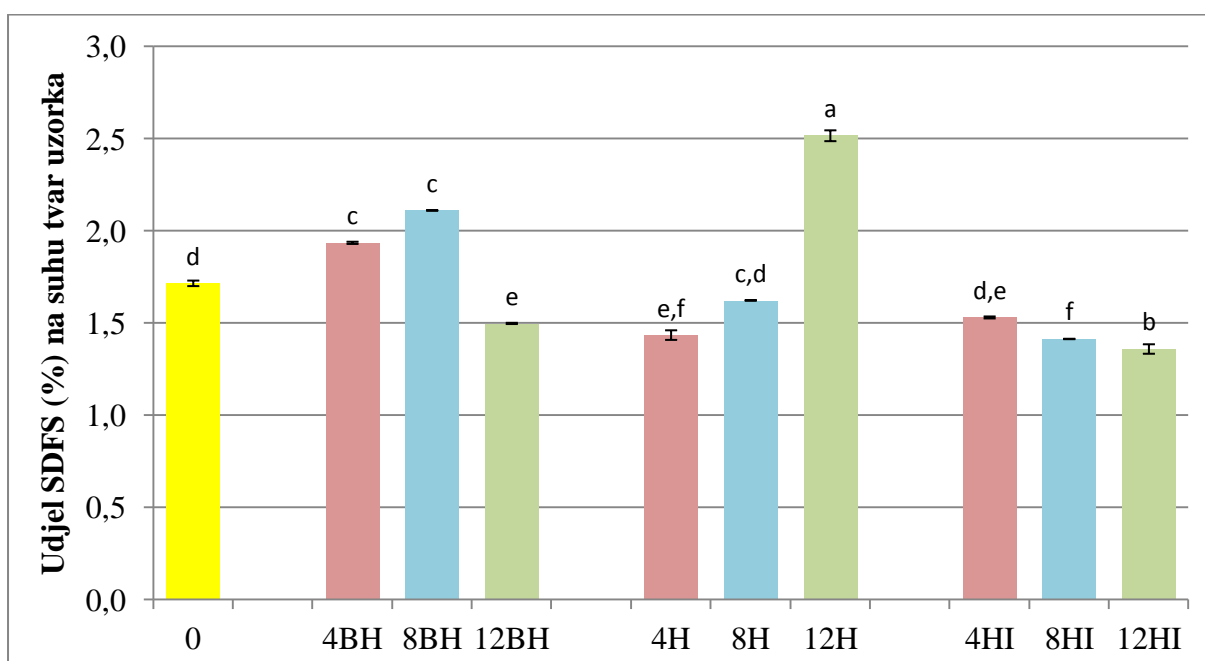
Slika 6. Udjel IDF u uzorcima bučine pogače tretiranih kriomljevenjem (istim slovom označene su vrijednosti među kojima nema statistički značajne razlike ($p > 0,05$))

Udjel IDF izmjeren u uzorcima bučine pogače iznosio je od 10,88 % do 12,14 % (Slika 6). Udjel SDFP u uzorcima bučine pogače tretirane kriomljevenjem prikazan je na Slici 7.



Slika 7. Udjel SDFP u uzorcima bučine pogače tretirane kriomljevenjem (različitim slovima su označene statistički značajne razlike između dobivenih vrijednosti ($p \leq 0,05$))

Udjel SDFP kretao se u rasponu od 1,3 % do 2,5 %. Mljevenjem bučine pogače 12 minuta uz primjenu hlađenja došlo je do statistički značajnog povećanja udjela SDFP za 43,13 % ($p = 0,007$), u odnosu na netretirani uzorak (0) (Slika 7). Udjel SDFS u uzorcima bučine pogače tretirane kriomljevenjem prikazan je na Slici 8.



Slika 8. Udjel SDFS u uzorcima bučine pogače tretirane kriomljevenjem (različitim slovima su označene statistički značajne razlike između dobivenih vrijednosti ($p \leq 0,05$))

Udjel SDFS u uzorcima bučine pogače iznosio je od 1,36 % do 2,51 % (Slika 8).

Utvrđeno je i povećanje udjela SDFS u uzorcima mljevenim bez primjene hlađenja 4 minute za 12,82 % ($p = 0,001$) i 8 minuta za 23,08 % ($p = 0,001$) u odnosu na uzorak 0, dok je smanjenje udjela za 14,54 % ($p = 0,030$) utvrđeno u uzorku mljevenom 12 minuta bez primjene hlađenja. U uzorku mljevenom uz primjenu hlađenja 4 minute došlo je do smanjenja udjela SDFS za 19,60 % ($p = 0,004$) u odnosu na uzorak 0, dok je u uzorku mljevenom 12 minuta uz primjenu hlađenja došlo do povećanja za 46,72 % ($p < 0,001$). U uzorcima u kojima je primijenjeno hlađenje i intermedijarno hlađenje tijekom mljevenja došlo je do smanjenja udjela SDFS za 21,37 % ($p < 0,001$) u uzorku mljevenom 8 minuta i za 26,26 % ($p < 0,001$) u uzorku mljevenom 12 minuta (Slika 8).

Usporedbom uzoraka koji su mljeveni 4 minute, u odnosu na mljevenje bez primjene hlađenja utvrđeno je smanjenje udjela SDFS za 34,93 % ($p < 0,001$) u uzorku u kojem je primijenjeno hlađenje i za 26,48 % ($p < 0,001$) u uzorku u kojem je primijenjeno i hlađenje i intermedijarno hlađenje. Smanjenje udjela SDFS u odnosu na mljevenje bez primjene hlađenja utvrđeno je i u uzorcima mljevenim 8 minuta i to za 49,39 % ($p < 0,001$) ukoliko je primijenjeno i hlađenje i intermedijarno hlađenje. U usporedbi s uzorcima mljevenim bez primjene hlađenja tijekom 12 minuta je do povećanja udjela SDFS za 68,05 % ($p < 0,001$) došlo ukoliko je primijenjeno hlađenje, dok je primjenom i hlađenja i intermedijarnog hlađenja došlo do smanjenja udjela SDFS za 10,23 % ($p < 0,001$) (Slika 8).

ANOVA testom utvrđeno je da, obzirom na sve dobivene rezultate, primjena različitog vremena mljevenja, hlađenja i intermedijarnog hlađenja sveukupno nema statistički značajan utjecaj na udjel vlakana, što je potvrđeno i Tukey testom ($p > 0,05$). Iako nije utvrđen sveukupni značajni utjecaj, Tukey testom su utvrđene statistički značajne razlike između udjela SDFP i SDFS pojedinih uzoraka kako je prethodno opisano. Između uzoraka nije bilo statistički značajne razlike u udjelima IDF ($p > 0,05$).

Najveći izmjereni udjeli SDFP ($4,82 \pm 0,57$ %) i SDFS ($2,51 \pm 0,03$ %) izmjereni su u uzorku mljevenom 12 minuta uz primjenu hlađenja te se može zaključiti da se pri navedenim uvjetima mljevenja postiže statistički značajno povećanje udjela topljivih vlakana u bučinoj pogači (Slika 7 i Slika 8).

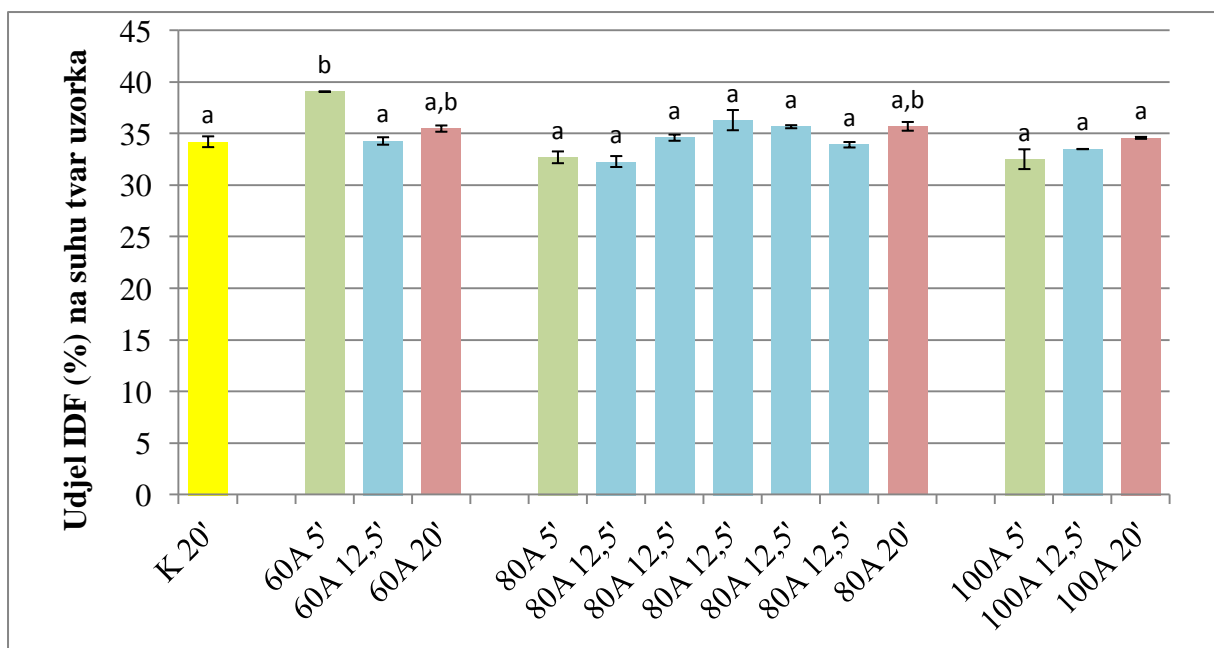
Dobiveni rezultati nisu pokazali kako mljevenje i hlađenje dovode do značajnih promjena u udjelima vlakana te stoga nisu u potpunosti u skladu sa sličnim istraživanjima autora Gouveia

i sur. (2002), Liu i sur. (2016), Chau i sur. (2007) i Zhu i sur. (2015). Mogući uzrok navedenih neslaganja je razlika u ispitivanoj sirovini, budući da su navedena istraživanja provedena na različitim sirovinama, ali ne i na bučinoj pogači.

Rezultati ispitivanja utjecaja trajanja mljevenja i primjene hlađenja su pokazali kako postoji sveukupno statistički značajan utjecaj vremena mljevenja i primjene hlađenja na uzorke posija prosa, dok isti ne postoji za uzorke bučine pogače. Budući da prema dobivenim rezultatima netretirane posije prosa sadrže $34,21 \pm 0,40$ % IDF, $1,02 \pm 0,07$ % SDFP i $0,50 \pm 0,00$ % SDFS, a bučina pogača bez tretmana sadrži $11,82 \pm 0,48$ % IDF, $3,37 \pm 0,04$ % SDFP i $1,71 \pm 0,01$ % SDFS, moguće je da utvrđene razlike u rezultatima utjecaja ispitivanih faktora između različitih sirovina proizlaze upravo iz razlika između sastava i ostalih svojstava sirovina, kao i sastava samih vlakana.

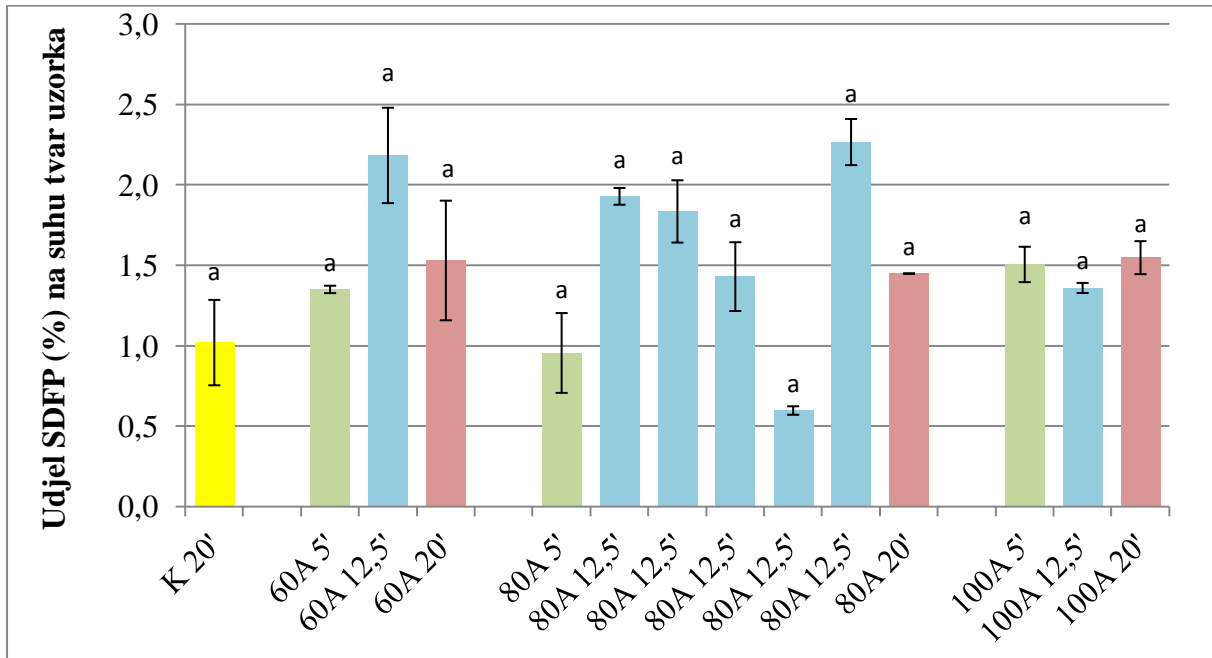
4.3. UTJECAJ ULTRAZVUKA VISOKOG INTENZITETA NA UDJEL VLAKANA U POSIJAMA PROSA

Na sljedećim slikama prikazani su rezultati udjela navedenih skupina vlakana u uzorcima posija prosa tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta (UVI). Udjel IDF u uzorcima posija prosa tretiranim UVI prikazan je na Slici 9.



Slika 9. Udjel IDF u uzorcima posija prosa tretiranim UVI (različitim slovima su označene statistički značajne razlike između dobivenih vrijednosti ($p \leq 0,05$))

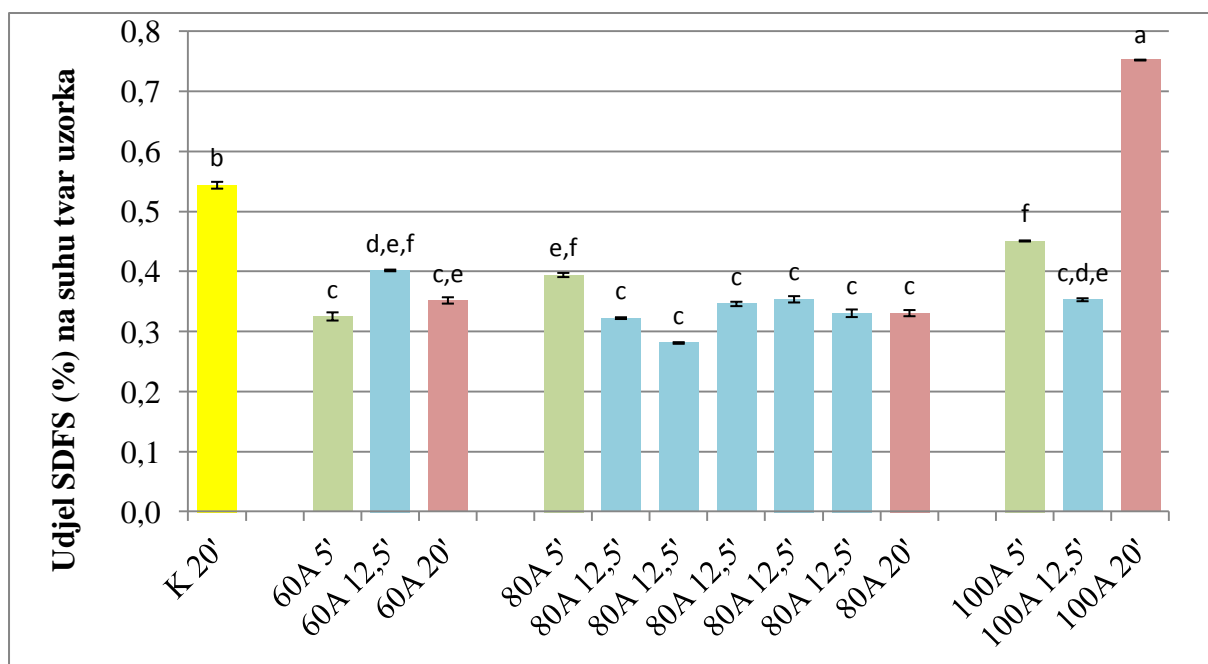
Udjel IDF u uzorcima iznosio je od 32,29 % do 39,07 %. Utvrđeno je povećanje udjela IDF za 14,20 % ($p = 0,014$) u uzorku 60A 5' u odnosu na kontrolni uzorak K 20'. Između ostalih uzoraka tretiranih UVI i kontrolnog uzorka ne postoje statistički značajne razlike u udjelu IDF (Slika 9). Udjel SDFP u uzorcima posija prosa tretiranim UVI prikazan je na Slici 10.



Slika 10. Udjel SDFP u uzorcima posija prosa tretiranim UVI (istim slovom označene su vrijednosti među kojima nema statistički značajne razlike ($p > 0,05$))

Udjel SDFP u uzorcima posija prosa tretiranim UVI iznosio je od 0,60 % do 2,27 % i prema dobivenim rezultatima nema statistički značajne razlike u udjelu SDFP između svih tretiranih i kontrolnog uzorka. Utvrđeno je da je raspon udjela SDFP u uzorcima na koje je primijenjen isti tretman UVI, 80A 12,5' u pet ponavljanja od 0,60 % do 2,27 % (Slika 10). Ovaj podatak ukazuje da je najveći i najmanji udjel SDFP izmjeren u uzorcima koji su tretirani pri istim uvjetima, što govori o neujednačenosti utjecaja tretmana UVI na udjel SDFP.

Udjeli SDFS u uzorcima posija prosa tretiranim UVI prikazani su na Slici 11.

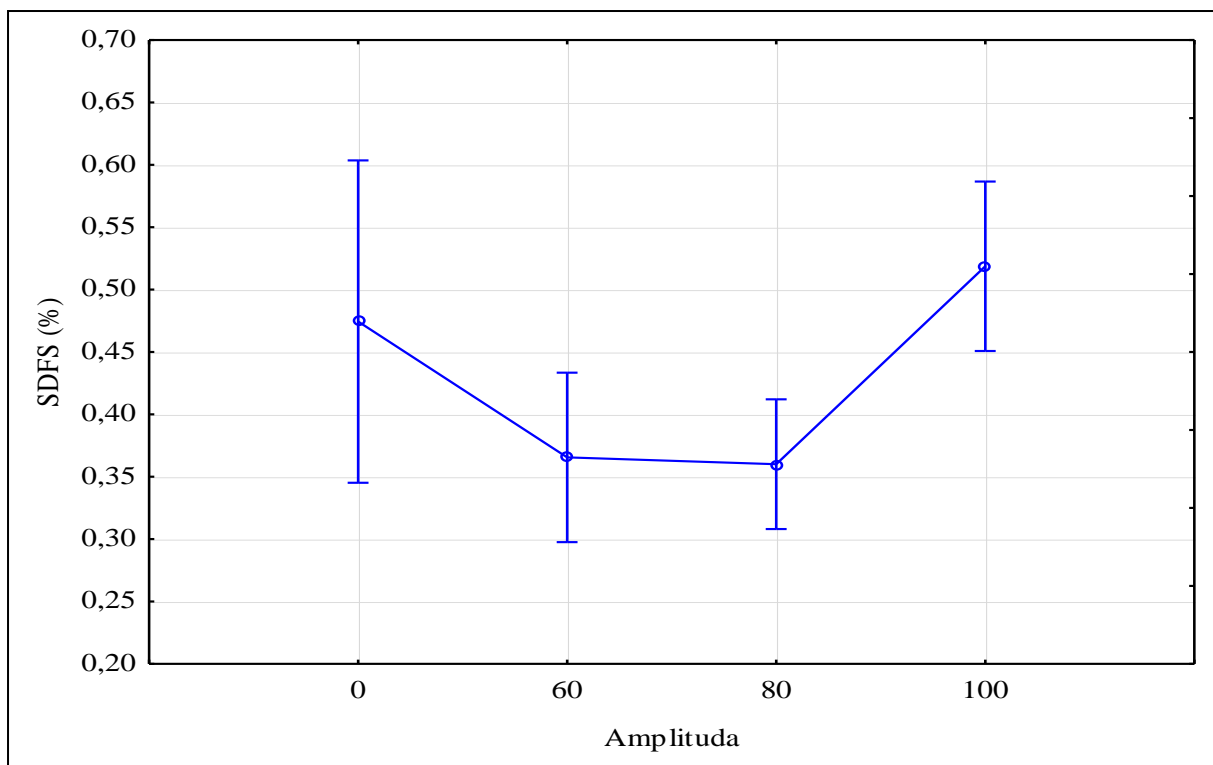


Slika 11. Udjel SDFS u uzorcima posija prosa tretiranim UVI (različitim slovima su označene statistički značajne razlike između dobivenih vrijednosti ($p \leq 0,05$))

Udjel SDFS u uzorcima kretao se od 0,28 % do 0,75 % (Slika 11).

ANOVA testom utvrđeno je kako, s obzirom na sve dobivene rezultate, amplituda ultrazvučnog vala sveukupno ima statistički značajan utjecaj ($p = 0,012$) na udjel vlakana, dok vrijeme tretiranja nema statistički značajan utjecaj ($p = 0,172$), što je potvrđeno i Tukey testom ($p > 0,05$).

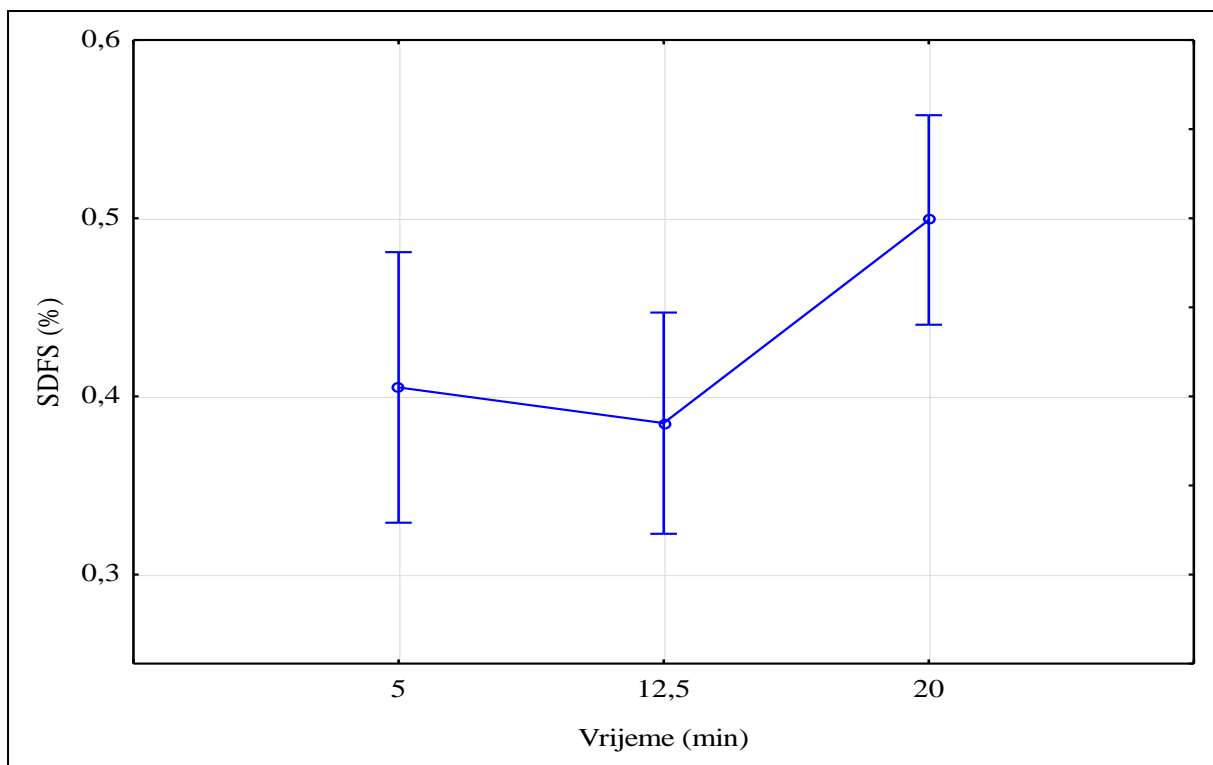
Prema rezultatima Tukey testa amplituda tretmana UVI nema statistički značajan utjecaj na udjel IDF i SDFP u tretiranim uzorcima, dok je statistički značajan utjecaj amplitude utvrđen za udjel SDFS. Ovisnost udjela SDFS o amplitudi UVI prikazan je na Slici 12.



Slika 12. Ovisnost udjela SDFS (%) u uzorcima posija prosa o amplitudi ultrazvučnih valova

Iz Tukey testa vidljivo je kako se udjel SDFS u uzorcima tretiranim UVI amplitude 80 % statistički značajno smanjuje ($p = 0,011$) u odnosu na netretirani uzorak, dok pri tretmanu UVI amplitude 60 % i 100 % nema statistički značajne razlike (Slika 12).

Također, Tukey testom utvrđen je statistički značajan utjecaj vremena tretiranja uzoraka na udjel SDFS. Na Slici 13 prikazana je ovisnost udjela SDFS o vremenu tretmana.



Slika 13. Ovisnost udjela SDFS (%) u uzorcima posija prosa o vremenu tretmana UVI (min)

Prema rezultatima Tukey testa, između trajanja tretmana UVI 5 minuta i 12,5 minuta nema statistički značajne razlike ($p = 0,404$), dok pri tretmanu od 20 minuta dolazi do statistički značajnog povećanja udjela SDFS u odnosu na uzorke tretirane 5 minuta ($p = 0,049$) i u odnosu na one tretirane 12,5 minuta ($p < 0,001$) (Slika 13).

Rezultati Tukey testa ukazuju na statistički značajno smanjenje ($p < 0,05$) udjela SDFS kod svih uzoraka tretiranih UVI, osim kod uzorka tretiranog 20 minuta UVI amplitude 100 % kod kojeg je došlo do statistički značajnog povećanja udjela SDFS za 38,35 % ($p < 0,001$), u odnosu na kontrolni uzorak (Slika 11).

U uzorcima tretiranim UVI amplitude 60 % došlo je do statistički značajnog povećanja udjela SDFS u uzorku tretiranom 12,5 minuta za 23,57 % ($p = 0,009$) u odnosu na onaj tretiran 5 minuta. U uzorcima tretiranim amplitudom UVI 80 % utvrđeno je statistički značajno smanjenje udjela SDFS s produljenjem vremena tretmana za 20,67 % ($p = 0,002$) u uzorku tretiranom 12,5 minuta i za 19,24 % ($p = 0,040$) u uzorku tretiranom 20 minuta, u odnosu na uzorak tretiran 5 minuta. U uzorcima tretiranim UVI amplitude 100 % došlo je do statistički značajnog smanjenja udjela SDFS za 27,34 % ($p < 0,001$) u uzorku tretiranom 12,5 minuta i do statistički značajnog povećanja za 66,83 % ($p < 0,001$) u uzorku tretiranom 20 minuta u odnosu na uzorak tretiran 5 minuta (Slika 11).

U uzorcima tretiranim 5 minuta povećanjem amplitude dolazi do statistički značajnog povećanja za 21,23 % ($p = 0,021$) u uzorku tretiranom amplitudom 80 % i za 38,65 % ($p < 0,001$) u uzorku tretiranom amplitudom 100 % u odnosu na uzorak tretiran amplitudom 60 %. Statistički značajna razlika utvrđena je između uzoraka tretiranih 12,5 minuta i to smanjenje udjela SDFS za 23,00 % ($p < 0,001$) u uzorku tretiranom amplitudom 80 % u odnosu na onaj tretiran amplitudom 60 %. U uzorcima tretiranim UVI 20 minuta, utvrđeno je statistički značajno povećanje udjela SDFS za 113,80 % ($p < 0,001$) u uzorku tretiranom amplitudom 100 % u odnosu na uzorak tretiran amplitudom 60 % (Slika 11).

Najveći udjel SDFS od $0,75 \pm 0,00$ % izmjeren je u uzorku tretiranom 20 minuta ultrazvučnim valovima amplitude 100 % (Slika 11).

Topljiva vlakna većinom čine pektinske tvari, gume i sluzi. Pektinske tvari izgrađuju staničnu stjenku, dok se gume i sluzi nalaze u specijaliziranim sekretornim stanicama (Dhingra i sur., 2012; Jenkins, 1978). Ultrazvuk visokog intenziteta ima razarajuće djelovanje na staničnu stjenku i staničnu membranu, kao i utjecaj na reakcije polimerizacije/depolimerizacije (Herceg, 2009). S obzirom na navedeno, moguće da je tretmanom ultrazvukom visokog intenziteta amplitude 100 % došlo do razaranja staničnih membrana i stjenki, što je rezultiralo većim oslobađanjem topljivih vlakana. Dobiveni rezultati su u skladu s rezultatima dobivenim u radu Zhang i sur. (2017) u kojem su ispitivana svojstva topljivih vlakana kore papaje (*Carica papaya*) dobivena ultrazvukom potpomognutom ekstrakcijom te je utvrđeno kako tretman ultrazvukom utječe na smanjenje stupnja polimerizacije što dovodi do bolje topljivosti vlakana. Moguće je da je do povećanja udjela SDFS u uzorku tretiranom 20 minuta amplitudom ultrazvučnog vala 100 % došlo upravo zbog navedenih utjecaja ultrazvuka na prehrambena vlakna.

U radu Zhu i sur. (2015) zaključeno je kako, osim mljevenja, i miješanje može pridonijeti promjeni strukture vlakana. U skladu s time, Elleuch i sur. (2011) tvrde da mehaničko procesiranje poput miješanja otvara strukturu vlakana mehaničkim smicanjem što pridonosi oslobađanju hidroksilnih skupina celuloze čineći ih pristupačnijima za vezanje s vodom.

Dobiveni veći udjel SDFS u kontrolnom uzorku (miješan 20 minuta na magnetskoj miješalici) u odnosu na većinu uzoraka tretiranih UVI mogao bi biti posljedica utjecaja miješanja na povećanje udjela topljivih vlakana.

5. ZAKLJUČCI

Temeljem dobivenih rezultata, rasprave i pregleda literature može se zaključiti:

1. Odabrana frakcija posija prosa sadrži 34,21 % do 35,41 % IDF, 1,02 % do 1,67 % SDFP i 0,50 % do 0,54 % SDFS. Oljušteno zrno prosa sadrži ~9,4 puta manje IDF i za 78,0 % manje SDFP u odnosu na odabranu frakciju.
2. Netretirana bučina pogača sadrži $11,82 \pm 0,48$ % IDF, $3,37 \pm 0,04$ % SDFP i $1,71 \pm 0,01$ % SDFS.
3. Primjena hlađenja tekućim dušikom i različitih vremena mljevenja posija prosa nema statistički značajan utjecaj na udjel IDF i SDFP, za razliku od SDFS za koje je utvrđen statistički značajan utjecaj. Primjena hlađenja dovodi do povećanja udjela SDFS u svim uzorcima mljevenim 4 minute i dulje. Vrijeme mljevenja od 8 minuta dovodi do statistički značajnog povećanja udjela SDFS. Najveći udjel SDFS u posijama prosa, $1,01 \pm 0,00$ %, izmjeren je u uzorku mljevenom 8 minuta uz primjenu hlađenja.
4. Primjena hlađenja i intermedijarnog hlađenja tekućim dušikom te različitih vremena mljevenja bučine pogače nema statistički značajan utjecaj na udjel svih vrsta određivanih vlakana. Najveći udjeli SDFP $4,82 \pm 0,57$ % i SDFS $2,51 \pm 0,03$ % izmjereni su u uzorku mljevenom 12 minuta uz primjenu hlađenja. U odnosu na netretirani uzorak, pri navedenim uvjetima mljevenja dolazi do statistički značajnog povećanja udjela topljivih vlakana u bučinoj pogači.
5. Tretman posija prosa UVI pri različitim uvjetima (vrijeme i amplituda) nema statistički značajan utjecaj na udjel IDF i SDFP, za razliku od SDFS na koje ima statistički značajan utjecaj. Tretman UVI amplitude 80 % dovodi do statistički značajnog smanjenja udjela SDFS, dok se produljenjem tretmana UVI s 5 na 20 minuta postiže statistički značajno povećanje istog. Najveći udjel SDFS izmjeren je u uzorku tretiranom 20 minuta UVI amplitude 100 % i iznosio je $0,75 \pm 0,00$ %.
6. Kriomljevenje i UVI imaju potencijal u poboljšanju omjera netopljivih i topljivih vlakana, no kako bi se optimizirali uvjeti tretmana, potrebno je provesti dodatna istraživanja.

6. LITERATURA

AOAC Official Method 2011.25 (2011) Insoluble, Soluble, and Total Dietary Fiber in Foods.

Alfawaz, M. A. (2004) Chemical Composition and Oil Characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Seed Kernels. *Res. Bult.* **129**, 5–18.

Anonymous 1 (2018) Krio-mljevenje, <<http://utp.solgroup.com/hr/sol-for-industry/hrana-i-pice/krio-mljevenje>>. Pristupljeno 10. siječnja 2018.

Asgary, S., Moshtaghian Seyyed, J., Setorki, M., Kazemi, S., Rafieian-kopaei, M., Adelnia, A., Shamsi, F. (2011) Hypoglycaemic and hypolipidemic effects of pumpkin (*Cucurbita pepo L.*) on alloxan-induced diabetic rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* **5** (23), 2620–2626.

Brnčić, M., Markučić, D., Omelić, M., Tripalo, B., Ježek, D. (2009) Primjena ultrazvuka niskog intenziteta pri otkrivanju stranih tijela u prehrambenim sustavima. *Croatian Journal of Food Science and Technology* **4** (1–2), 18–22.

Brouns, F., Hemery, Y., Price, R., Anson, N. M. (2012) Wheat aleurone: Separation, composition, health aspects, and potential food use. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **52**(6), 553–568.

Chau, C.-F., Huang, Y.-L. (2003) Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibres prepared from peel of the *Citrus sinensis L.* Cv. Liucheng. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 2615–2618.

Chau, C.-F., Wang, Y.-T., Wen, Y. L. (2007) Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. *Food Chem.* **100**, 1402–1408.

Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., Patil, R. T. (2012) Dietary fibre in foods: a review. *J. Food Sci. Technol.* **49**, 255–266.

Dodevska, M., Šobajić, S., Djordjević, B. (2015) Fibre and polyphenols of selected fruits, nuts and green leafy vegetables used in Serbian diet. *J. Serb. Chem. Soc.* **80**, 21–33.

- Dorić, M., Vidaković, S. (2018) Tehnologija kriogene meljave u iskorištavanju nutritivnog potencijala pogače bučinih sjemenki kao nusproizvoda proizvodnje bučinog ulja, studentski rad. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Drmić, H., Režek Jambrak, A. (2010) Ultrazvučna ekstrakcija bioaktivnih spojeva. *Croatian Journal of Food Science and Technology* **2** (2), 22–33.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H. (2011) Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.* **124**, 411–421.
- Gaćina, N. (2014) Alternativne sirovine prehrambenih vlakana. Zbornih radova Veleučilišta u Šibeniku, **1 – 2**, 123 – 130.
- Gouveia, S. T., Lopes, G. S., Fatibello-Filho, O., Nogueira A. R. A., Nóbrega, J. A. (2002) Homogenization of breakfast cereals using cryogenic grinding. *J. Food Eng.* **51**, 59–63. doi: 10.1016/S0260-8774(01)00037-1
- Gudelj, A. (2018) Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na bioaktivne spojeve posija prosa. Diplomski rad. Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.
- Guillon, F., Champ, M. (2000) Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Res Int.* **33**, 233–245.
- Habuš, M. (2018) Utjecaj kriomljevenja na veličinu čestica i bioaktivne spojeve posija prosa. Diplomski rad. Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.
- Herceg, Z., Brnčić, M., Režek Jambrak, A., Rimac Brnčić, S., Badanjak, M., Sokolić, I. (2009) Mogućnost primjene ultrazvuka visokog intenziteta u mljekarskoj industriji. *Mljekarstvo* **59**, 65–69.
- Herceg, Z. (2009) Procesiranje hrane ultrazvukom. U: Procesi konzerviranja hrane, novi postupci, Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb, str. 53–68.
- Howarth, N. C., Saltzman, E., Roberts, S. B. (2001) Dietary fiber and weight regulation. *Nut. Rev.* **59**, 129–139.

ICC 105/2 (1994) Determination of Crude Protein in Cereals and Cereal Products for Food and for Feed, modifikacija metode

Issoufou, A., Mahamadou, G., Guo-Wei, L. (2013) Millets: Nutritional composition, some health benefits and processing – A Review. *Emir. J. Food. Agricult.* **25**, 501–508. doi: 10.9755/ejfa.v25i7.12045

Jenkins D. J. A., Wolever, T. M. S., Leeds, A. R., Gassull, M. A., Haisman, P., Dilawari, J., Goff, D. V., Meta, G. L., Albert, K. G. M. M. (1978) Dietary fibres, fibre analogues and glucose tolerance: importance of viscosity. *Br. Med. J.* **1**, 1392–1394.

Kalinova, J. (2007) Nutritionally Important Components of Proso Millet (*Panicum miliaceum L.*). *Food* **1** (1), 91–100.

Katalinić, V. (2011) Temeljito znanje o prehrani, Sveučilišni priručnik, Kemijsko-tehnološki Fakultet, Sveučilište u Splitu, Split, str.39.

Kaur, B., Srivastav, P. P. (2018) Effect of cryogenic grinding on chemical and morphological characteristics of mango (*Mangifera indica L.*) peel powder. *J. Food Process. Press.* **42**, doi: 10.1111/jfpp.13583

Koprivnjak O. (2014) Kvaliteta, sigurnost i konzerviranje hrane, Studio TiM, Rijeka.

Kralik, G., Grčević, M., Gajčević-Kralik, Z. (2010) Animalni proizvodi kao funkcionalna hrana. *Krmiva* **52** (1), 3–13.

Lattimer, J. M., Haub, M. D. (2010). Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients* **2**(12), 1266–1289.

Lestienne, I., Buisson, M., Lullien-Pellerin, V., Picq, C., Treche, S. (2007) Losses of nutrients and antinutritional factors during abrasive decortication of two pearl millet cultivars (*Pennisetum glaucum*). *Food Chem.* **100**(4), 1316–23.

Linde (2018) Linde plin d.o.o. Mljevenje začina, <<http://www.lindeplin.hr/sadrzaj.php?gs=55>>. Pristupljeno 10. siječnja 2018.

Liu, Y., Wang, L., Liu, F., Pan, S. (2016) Effect of Grinding Methods on Structural, Physicochemical, and Functional Properties of Insoluble Dietary Fiber from Orange Peel. *Int. J. Polym. Sci.* 1–7. doi: 10.1155/2016/6269302

- Macfarlane, G. T., Macfarlane, S. (2012) Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J. AOAC Int.* **95**(1), 50–60.
- McCleary, B., DeVries, J. W., Rader, J. I., Cohen, G., Prosky, L., Mugford, D. C., Champ, M., Okuma, K. (2011) Determination of Insoluble, Soluble and Total Dietary Fiber (Codex Definition) by an Enzymatic-Gravimetric Method and Liquid Chromatography. *Cereal Food. World* **56**, 238–247.
- Megazyme (2013a) Dietary Fiber Measurement Product Guide, Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98 YV29, Ireland.
- Megazyme (2013b) Integrated total dietary fiber, assay procedure including resistant starch and non-digestible oligosaccharides, AOAC method 2011.25. Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98 YV29, Ireland.
- Mercola, J. (2013) 9 Health Benefits of Pumpkin Seeds <>. Pristupljeno 20. kolovoza 2018.
- Moslavac, T., Jokić, S., Pozderović, A., Pichler, A., Škof, B. (2014) Proizvodnja i stabilizacija hladno prešanog bučinog ulja. *Glasnik zaštite bilja* **6**, 70–79.
- Parnell, J. A., Reimer, R. A. (2012) Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroidetes and Firmicutes in lean and obese. *Br. J. Nutr.* **107**(4), 601–613.
- Pirman, T., Marič, M., Orešnik, A. (2007) Changes in digestibility and biological value of pumpkin seed cake protein after limiting amino acids supplementation. *Krmiva* **49** (2), 95–100.
- Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizikalnih i kemijskih analiza za kontrolu kvalitete žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, tjestenina i brzo smrznutih tijesta (2011) *Narodne novine* **28**, Zagreb.
- Pravilnik o navođenju hranjivih vrijednosti hrane (2009) *Narodne novine* **29**, Zagreb.
- Raghavendra, S. N., Ramachandra Swamy, S. R., Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., Kumar, S., Tharanathan, R. N. (2006) Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: a source of dietary fibre. *J. Food Eng.* **72**, 281–286.

- Reyes-Caudillo, E., Tecante, A., Valdivia-Lo'pez, M.A. (2008) Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. *Food Chem.* **107**, 656–663.
- Režek Jambrak, A., Herceg, Z., Grbavac J. (2014) Mogućnosti primjene ultrazvuka visoke snage u mesnoj industriji. *Meso XVI* (4), 336–341.
- Sarita, Singh, E. (2016) Potential of Millets: Nutrients Composition and Health Benefits. *Int. J. Sci. Innov. Res.* **5** (2), 46–50.
- Singh, K. K., Goswami, T. K. (2007) Cryogenic grinding of cloves. *J. Food Process. Press.* **24**, 57–71. doi: 10.1111/j.1745-4549.2000.tb00405.x
- Steadman, K. J., Burgoon, M. S., Lewis, B. A., Edwardson, S. E., Obendorf, R. L. (2001) Buckwheat Seed Milling Fractions: Description, Macronutrient Composition and Dietary Fibre. *J. Cereal. Sci.* **33**, 271–278.
- Tarek-Tilistyák, J., Agócs, J., Lukács, M., Dobró-Tóth, M., Juhász-Román, M., Dinya, Z., Jekó, J., Máthe, E. (2014) Novel breads fortified trough oilseed and nut cakes. *Acta Aliment. Hung.* **43**, 444–451. doi: 10.1556/AAlim.43.2014.3.11
- Wong, J. M., de Souza, R., Kendall, C. W., Emam, A., Jenkins, D. J. (2006) Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J. Clin. Gastroenterol.* **40**(3), 235–243.
- Uredba (EZ) br. 1924/2006 Europskog parlamenta i vijeća od 20. prosinca 2006. o prehranbenim i zdravstvenim tvrdnjama koje se navode na hrani (2006) *Službeni list Europske unije* **404**.
- Uredba Komisije (EU) br. 432/2012 od 16. svibnja 2012. o utvrđivanju popisa dopuštenih zdravstvenih tvrdnji koje se navode na hrani, osim onih koje se odnose na smanjenje rizika od bolesti te na razvoj i zdravlje djece (2012) *Službeni list Europske unije* **136**.
- Zhang, W., Zeng, G., Pan, Y., Chen, W., Huang, W., Chen, H., Li, Y. (2017) Properties of soluble dietary fiber – polysaccharide from papaya peel obtained through alkaline or ultrasound-assisted alkaline extraction. *Carbohydr. Polym.* **172**, 102–112.
- Zhu, F., Du, B., Xu, B. (2015) Superfine grinding improves functional properties and antioxidant capacities of bran dietary fibre from Qingke (hull-less barley) grown in Qinghai-Tibet Plateau, China. *J. Cereal. Sci.* **65**, 43–47.

Zhu, K. X., Huang, S., Peng, W., Qian, H. F., Zhou H. M. (2010) Effect of ultrafine grinding on hydration and antioxidant properties of wheat bran dietary fiber. *Food Res. Int.* **43**, 943–948.

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

Diana Nejašmić