

# Utjecaj ekstruzije na biodostupnost selena i cinka u ekstrudiranim proizvodima s dodatkom agrofortificirane pšenice

---

Kajić, Nikolina

Doctoral thesis / Disertacija

2022

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:109:172984>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-22**

REPOZITORIJ

PTFS

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  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Nikolina Kajić, dipl. ing. agr.**

**UTJECAJ EKSTRUZIJE NA BIODOSTUPNOST SELENA I  
CINKA U EKSTRUDIRANIM PROIZVODIMA S DODATKOM  
AGROFORTIFICIRANE PŠENICE**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

Osijek, listopad 2022.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

## DOKTORSKA DISERTACIJA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Poslijediplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija i nutricionizam

Smjer: Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambene tehnologije

Katedra za tehnologiju ugljikohidrata

Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

UDK: 664.696.2(043.3)

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Znanstvena grana:** Inženjerstvo

**Tema rada** prihvaćena je na VI. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 31. ožujka 2022.

**Mentor:** prof. dr. sc. *Jurislav Babić*

**Komentor:** izv. prof. dr. sc. *Antun Jozinović*

### UTJECAJ EKSTRUZIJE NA BIODOSTUPNOST SELENA I CINKA U EKSTRUDIRANIM PROIZVODIMA S DODATKOM AGROFORTIFICIRANE PŠENICE

*Nikolina Kajić, 0113141015*

**Sažetak:** Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj postupka ekstruzije na biodostupnost cinka i selena primjenom različitih temperatura ekstruzije: 170 °C, 180 °C i 190 °C te dodavanjem biofortificirane pšenice cinkom i selenom u udjelima 10, 20, 30 i 40 % u proizvodnji kukuruznih snack proizvoda. Istraživanje je obuhvatilo određivanje fizikalnih, reoloških i kemijskih svojstava neekstrudiranih i ekstrudiranih uzoraka te biodostupnosti cinka i selena, kao i senzornih svojstava odabranih snack proizvoda. Dobiveni rezultati pokazuju kako je ekstruzija pri različitim temperaturama imala utjecaj na sva fizikalna svojstva ekstrudata. Dodavanjem različitih udjela biofortificirane pšenice smanjio se ekspanzijski omjer i lomljivost, dok su se nasipna masa i tvrdoća povećale. Postupak ekstruzije pri različitim temperaturama, kao i dodavanje različitih udjela biofortificirane pšenice, značajno su utjecali na promjenu boje. Proces biofortifikacije sirovina značajno je povećao udio minerala i proteina. Vrijednosti viskoznosti značajno su se smanjile pri različitim temperaturnim profilima ekstruzije i različitim udjelima pšenice. Različiti temperaturni profili doveli su do povećanja sadržaja ukupnog škroba i većeg oštećenja škroba, dok su se vrijednosti tih svojstava smanjile dodavanjem različitih udjela pšenice biofortificirane cinkom i selenom. Proces ekstruzije pokazao je pozitivan učinak na biodostupnost i cinka i selena. Prihvatljivu senzorsku ocjenu dobili su svi uzorci ekstrudata, s naglaskom na to da su veći utjecaj na senzorska svojstva imali različiti udjeli dodane biofortificirane pšenice nego temperature ekstruzije.

**Ključne riječi:** ekstruzija, biofortifikacija, cink, selen, biodostupnost

**Rad sadrži:** 102 stranice  
27 slika  
15 tablica  
1 prilog  
203 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

- |    |  |               |
|----|--|---------------|
| 1. | prof. dr. sc. <i>Drago Šubarić</i>             | predsjednik   |
| 2. | prof. dr. sc. <i>Đurđica Ačkar</i>             | član          |
| 3. | prof. dr. sc. <i>Zdenko Lončarić</i>           | član          |
| 4. | dr. sc. <i>Daniela Horvat</i> , znan. savj.    | zamjena člana |
| 5. | prof. dr. sc. <i>Daliborka Koceva Komlenić</i> | zamjena člana |

**Datum obrane:** 11. listopada 2022.

**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, a u **elektroničkom (pdf format) obliku** u Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici u Osijeku 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 Technology and Nutrition**  
**Department of Food Technology**  
**Subdepartment of Carbohydrates Technology**  
Franje Kuhača 18, 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. VI. held on March 31, 2022.

**Mentor:** *Jurislav Babić*, PhD, prof.

**Co-mentor:** *Antun Jozinović*, PhD, associate prof.

### **EFFECT OF EXTRUSION ON BIOACCESSIBILITY OF SELENIUM AND ZINC IN EXTRUDED PRODUCTS WITH THE ADDITION OF AGROFORTIFIED WHEAT**

*Nikolina Kajić*, 0113141015

**Summary:** The aim of this study was to determine the impact of the extrusion process on the bioaccessibility of Zn and Se, using different extrusion temperatures: 170 °C, 180 °C and 190 °C and addition of biofortified wheat with Zn and Se in contents of 10, 20, 30 and 40%, in the production of corn snack products. The research included determination of physical, rheological and chemical properties of non-extruded and extruded samples and bioaccessibility of Zn and Se, as well as sensory properties of selected snack products. The obtained results show that extrusion at different temperatures affected all physical properties of extrudates. The addition of different proportions of biofortified wheat reduced the expansion ratio and fracturability, while bulk density and hardness increased. The extrusion process at different temperatures as well as the addition of different proportions of biofortified wheat significantly affected the color change. The process of biofortification of raw materials has significantly increased the contents of minerals and proteins. The values of viscosity decreased significantly at different temperature profiles and different proportions of wheat. Different temperature profiles led to an increase in total starch content and greater starch damage, while the values of these properties decreased with the addition of different proportions of wheat biofortified with Zn and Se. The extrusion process showed a positive effect on the bioaccessibility of both zinc and selenium. All samples of extrudates received an acceptable sensory score, where the different proportions of added biofortified wheat had a greater impact on the sensory properties than extrusion temperatures.

**Key words:** extrusion, biofortification, zinc, selenium, bioaccessibility

**Thesis contains:** 102 pages  
27 figures  
15 tables  
1 supplement  
203 references

**Original in:** Croatian

#### **Defense committee:**

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. <i>Drago Šubarić</i> , PhD, prof.               | chair person |
| 2. <i>Đurđica Ačkar</i> , PhD, prof.               | member       |
| 3. <i>Zdenko Lončarić</i> , PhD, prof.             | member       |
| 4. <i>Daniela Horvat</i> , PhD, scientific advisor | stand-in     |
| 5. <i>Daliborka Koceva Komlenić</i> , PhD, prof.   | stand-in     |

**Defense date:** October 11, 2022

**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 University Library of Osijek and Repository of the Faculty of Food Technology Osijek.

**Duboko zahvalna Bogu na snazi, strpljenju i ustrajnosti.**

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1. UVOD U EKSTRUZIJU</b> .....	<b>6</b>
2.1.1. Povijesni razvoj ekstruzije .....	7
2.1.2. Proizvodi ekstruzije .....	7
<b>2.2. GRAĐA I PRINCIP RADA EKSTRUDERA</b> .....	<b>9</b>
<b>2.3. PODJELA EKSTRUDERA</b> .....	<b>11</b>
2.3.1. Podjela ekstrudera prema termodinamičkim uvjetima rada .....	11
2.3.2. Podjela ekstrudera prema načinu stvaranja tlaka .....	11
2.3.3. Podjela ekstrudera prema veličini smicanja .....	14
<b>2.4. SIROVINE ZA PROIZVODNJU EKSTRUDIRANIH PROIZVODA</b> .....	<b>14</b>
2.4.1. Kukuruz .....	14
2.4.2. Pšenica .....	16
<b>2.5. BIOFORTIFIKACIJA</b> .....	<b>18</b>
2.5.1. Biofortifikacija cinkom .....	19
2.5.2. Biofortifikacija selenom .....	21
<b>2.6. VAŽNOST CINKA I SELENA U LJUDSKOM ORGANIZMU</b> .....	<b>23</b>
2.6.1. Cink .....	23
2.6.2. Selen .....	24
<b>2.7. BIODOSTUPNOST</b> .....	<b>25</b>
2.7.1. Biodostupnost cinka .....	26
2.7.2. Biodostupnost selena .....	27
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>29</b>
<b>3.1. ZADATAK</b> .....	<b>30</b>
<b>3.2. MATERIJAL</b> .....	<b>32</b>
<b>3.3. METODE</b> .....	<b>32</b>
3.3.1. Priprema sirovina i zamjesa za ekstruziju .....	32
3.3.2. Ekstruzija .....	33
3.3.3. Određivanje fizikalnih svojstava .....	34
3.3.4. Određivanje kemijskih svojstava .....	38
3.3.5. Određivanje biodostupnosti cinka i selena u zamjesima i ekstrudatima .....	44
3.3.6. Određivanje senzorskih svojstava .....	45
3.3.7. Statistička obrada podataka .....	45
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>47</b>
<b>4.1. FIZIKALNA SVOJSTVA</b> .....	<b>48</b>
4.1.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO) .....	48
4.1.2. Nasipna masa ekstrudata (BD) .....	49
4.1.3. Tekstura (tvrdoća i lomljivost) ekstrudata .....	50
4.1.4. Boja zamjesa i ekstrudata .....	52
4.1.5. Reološka svojstva zamjesa i ekstrudata .....	56

<b>4.2. KEMIJSKA SVOJSTVA</b> .....	<b>60</b>
4.2.1. Osnovni kemijski sastav (udio suhe tvari, proteina, masti i pepela) .....	60
4.2.2. Udio škroba u zamjesima i ekstrudatima .....	61
4.2.3. Stupanj oštećenosti škroba (DS) .....	63
<b>4.3. BIODOSTUPNOST CINKA I SELENA</b> .....	<b>64</b>
<b>4.4. SENZORSKA SVOJSTVA</b> .....	<b>66</b>
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>69</b>
<b>5.1. FIZIKALNA SVOJSTVA</b> .....	<b>70</b>
5.1.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO) .....	70
5.1.2. Nasipna masa ekstrudata (BD) .....	71
5.1.3. Tekstura (tvrdoća i lomljivost) ekstrudata .....	71
5.1.4. Boja zamjesa i ekstrudata .....	72
5.1.5. Reološka svojstva zamjesa i ekstrudata .....	74
<b>5.2. KEMIJSKA SVOJSTVA</b> .....	<b>75</b>
5.2.1. Osnovni kemijski sastav (udio suhe tvari, proteina, masti i pepela) .....	75
5.2.2. Udio škroba .....	76
5.2.4. Stupanj oštećenosti škroba (DS) .....	76
<b>5.3. BIODOSTUPNOST CINKA I SELENA</b> .....	<b>77</b>
5.3.1. Biodostupnost cinka .....	77
5.3.2. Biodostupnost selena .....	78
<b>5.4. SENZORSKA SVOJSTVA</b> .....	<b>79</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>81</b>
<b>7. LITERATURA</b> .....	<b>85</b>
<b>8. PRILOZI</b> .....	<b>101</b>

## **1. UVOD**



Prehrana većine svjetske populacije temelji se na žitaricama, odnosno prehrambenim proizvodima na bazi žitarica (Bouis i Welch, 2010; Cakmak i Kutman, 2018). Prehrana temeljena na žitaricama u manjku je važnih mikronutrijenata kao što su cink i selen. Manjak spomenutih mikronutrijenata u prehrani može dovesti do usporavanja rasta i razvoja te štetnih učinaka na imunološki sustav i kognitivne sposobnosti (Gupta i sur., 2020). Osim toga, nedostatak mikronutrijenata u prehrani uzrokuje velike ekonomske gubitke zbog smanjenja produktivnosti i povećanja troškova zdravstvenog sustava (Stein, 2014).

Cink i selen jačaju imunološki sustav, doprinose normalnom rastu i razvoju te odvijanju metaboličkih procesa (Brown i sur., 2001; Terrin i sur., 2015; Alibabić i Mujić, 2016; Olza i sur., 2017). Cink je posebice važan za djecu mlađu od pet godina radi njihova rasta i razvoja (Wessells i Brown, 2012). Osim toga, cink je važan za apsorpciju vitamina, posebice vitamina B skupine i sastavnim je dijelom inzulina (Katalinić, 2011). Selen se nalazi u gotovo svakoj stanici ljudskog organizma i važan je za normalno funkcioniranje mišića i reproduktivnih organa, bitan je antioksidans te smanjuje toksičnost pojedinih teških metala kao što je živa (Toth i Csapo, 2018).

Pothranjenost mikroelementima može se ublažiti biofortifikacijom, tj. agronomskim i oplemenjivačkim (genetskim) postupcima obogaćivanja jestivih dijelova biljaka esencijalnim elementima (kao što su željezo, cink, selen, bakar, magnezij i dr.), koja predstavlja potencijalno rješenje za poboljšanje nutritivnih svojstava različitih prehrambenih namirnica i njihovih prerađevina (Zhou i sur., 2020; Schiavon i sur., 2020). Agronomska biofortifikacija jednostavniji je i povoljniji pristup nego genetska biofortifikacija, a provodi se dodavanjem mikrohraniva različitim metodama gnojidbe u različitim fazama razvoja usjeva (Cakmak i Kutman, 2018). Na taj način, ovisno o uvjetima tla, načinu aplikacije te vrsti mikronutrijenta, moguće je povećati koncentraciju mikronutrijenata u žitaricama (Sharma i Lal, 1993; Yilmaz i sur., 1998; Rengel, 2001; Singh, 2008).

Kukuruz je glavna sirovina za proizvodnju ekstrudiranih proizvoda zbog visokog udjela škroba koji uvjetuje dobru ekspanziju karakterističnu za takvu vrstu proizvoda (O'Shea i Gallagher, 2019). Postupak ekstruzije koristi se za proizvodnju grickalica baziranih na brašnu žitarica, odnosno škrobu. Brojna dosadašnja istraživanja proizvodnje ekstrudiranih proizvoda temelje se na dodavanju različitih sirovina smjesi za ekstrudiranje u svrhu povećanja prehrambene vrijednosti te poboljšanja svojstava ekstrudiranih proizvoda (Jozinović i sur., 2017; Obradović i sur., 2015; Jozinović i sur., 2019; Panak Balentić i sur., 2019; Obradović i sur., 2021). Da bi se dobili proizvodi ekstruzije dobre ekspanzije, potrebno je optimirati neke parametre ekstruzije. Količina dodanih sastojaka u smjesu za ekstruziju utječe na fizikalna i senzorska svojstva ekstrudiranih proizvoda (Tumwine i Asiimwe, 2019). Rezultati različitih studija pokazuju utjecaj različitih procesnih parametara na senzorske i teksturalne

karakteristike ekstrudiranih proizvoda (Jozinović i sur., 2016; Prahba i sur., 2021; Gholamipour-Shirazi i sur., 2020).

Cilj ovog rada jest istražiti mogućnost proizvodnje nutritivno obogaćenih ekstrudiranih proizvoda dodavanjem brašna pšenice agrobiofortificirane selenom i cinkom. Dodavanjem različitih količina brašna agrobiofortificirane pšenice, kao i različitim parametrima ekstruzije, utvrdit će se optimalni uvjeti i omjeri dodanog pšeničnog brašna kako bi se postigla zadovoljavajuća kemijska, reološka i senzorska svojstva gotovih proizvoda. Određivanjem koncentracija i biodostupnosti cinka i selena u proizvodima dat će se odgovor na pretpostavke o mogućnostima korištenja takvog načina obogaćivanja proizvoda s manjkom mikronutrijenata u ljudskoj prehrani.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. UVOD U EKSTRUZIJU

Ekstruzija se definira kao proces kojim se sastojci izlažu visokim tlakovima, visokim temperaturama i velikim silama smicanja u kratkom vremenu (Roye i sur., 2020).

Sa stajališta transportnih fenomena ekstruzijska obrada smatra se kombinacijom nekoliko procesa, uključujući protok fluida, prijenos topline i tvari, miješanje, smicanje, smanjenje veličine čestica, topljenje, teksturiranje, karamelizaciju, plastificiranje i oblikovanje (Karwe, 2009).

Procesom ekstruzije sastojci se miješaju, kondicioniraju i transformiraju u rastaljeni fluid, pritom dolazi do razgradnje ili oslobađanja funkcionalnih spojeva uslijed strukturnih i kemijskih promjena uzrokovanih djelovanjem nekih od procesnih varijabli kao što su temperatura, sadržaj vlage ili brzina pužnice (Qamar, 2018). Taj proces dovodi do strukturnih promjena i fizikalno-kemijskih transformacija sastojaka hrane kao što su taljenje i depolimerizacija škroba, denaturacija proteina i oksidacija lipida. Osim procesnih varijabli, na opseg tih transformacija, utječu i karakteristike sirovina (Roye i sur., 2020).

Ekstruzija je proces obrade materijala relativno niske vlažnosti u usporedbi s uobičajenim načinima termičke obrade hrane. Vlažnost se u procesu ekstruzije kreće u rasponu od 10 do 40 %. Osim niske vlažnosti, proces ekstruzije karakterizira i korištenje vrlo visokih temperatura, obično u rasponu 100 – 180 °C. Primjena visokih temperatura smanjuje vrijeme obrade i omogućuje potpunu transformaciju sirovine u funkcionalni oblik za 30 – 120 s (Guy, 2001).

Jednopusna ekstruzija koristi se za jednostavnije formulacije, dok je dvopusna ekstruzija prikladnija za smjese s više sastojaka i proizvode koji zahtijevaju veću fleksibilnost i kontrolu kvalitete (Bouvier i Campanella, 2014).

Jednopusni ekstruderi obično se koriste za izradu različitih vrsta tjestenine, kukuruznih snack proizvoda, žitarica za doručak i hrane za kućne ljubimce jer su ekonomični u te svrhe. Dvopusni ekstruderi koriste se za proizvodnju ekspaniranih snack proizvoda, teksturiranih proteina i proizvodnju specijalnih ekstrudiranih prehrambenih proizvoda. Dvopusni ekstruderi mogu koristiti sirovine finije veličine čestica koje sadrže više proteina i vlakana (Ganjyal, 2020).

### 2.1.1. Povijesni razvoj ekstruzije

Prvi ekstruderi razvijeni su već 70-ih godina 19. stoljeća u svrhu proizvodnje kobasica. Šira primjena jednopusnih ekstrudera započela je tijekom 30-ih godina 20. stoljeća, za proizvodnju tjestenine od griza i vode. Korišteni su i pri procesu izrade gotovih žitarica za doručak u svrhu oblikovanja vrućeg, prethodno skuhanog tijesta. U objema primjenama brzina smicanja bila je niska. Tijekom kasnih 30-ih i 40-ih godina 20. stoljeća izravno ekspanzirani proizvodi napravljeni su pomoću ekstrudera koji su se odlikovali iznimno visokim brzinama smicanja (Karwe, 2009).

Vjeruje se da je General Mills Inc. (SAD) prvi uveo jednopusni ekstruder u liniji za preradu gotovih žitarica za jelo u kasnim 30-ima 20. stoljeća (Riaz, 2000). Prvi ekspanzirani ekstrudirani proizvod, izrađen 1936., bio je grickalica na bazi kukuruza. U 50-im godinama 20. stoljeća dolazi do razvoja suhe, ekstruzijom pripremljene, hrane za kućne ljubimce. Šezdesetih godina prošlog stoljeća dolazi do razvoja ekspanziranih žitarica te pripreme teksturiranih biljnih proteina (sirovine na bazi ekstruzijom kuhane soje). U proizvodnji navedenih proizvoda koristili su se jednopusni ekstruderi. Od ranih 70-ih godina 20. stoljeća počinje primjena tehnologije dvopusne ekstruzije, a korištena je uglavnom u različitim industrijama za preradu žitarica (grickalice, žitarice za doručak, teksturirani biljni proteini, sastojci hrane kao što su prethodno kuhano brašno, hrana za kućne ljubimce itd.) (Ganjyal, 2020).

### 2.1.2. Proizvodi ekstruzije

Ekstruzija se koristi u proizvodnji gotovih prehrambenih proizvoda, sastojaka hrane te hrane za kućne ljubimce (Riaz, 2000). Koristi se za proizvodnju izravno ekspanziranih grickalica, žitarica za doručak, tjestenine, rezanaca i slastica (**Slika 1**) (Ganjyal, 2020).

Ekstruzija se može koristiti i za modifikaciju sastojaka hrane, npr. modificirana brašna i škrob (Liu i sur., 2017; Zhang i sur., 2016), kemijski modificirani škrobovi te modificirana vlakna (Guo i sur., 2018). Također, ekstruderi se intenzivno koriste za proizvodnju djelomično kuhanih proizvoda, primjerice proizvoda u obliku peleta. Razlika u proizvodnji tih proizvoda jest to što se ne šire prilikom izlaza iz ekstrudera. Nakon istiskivanja suše se korištenjem sporog procesa sušenja. Ostale primjene ekstruzije uključuju proizvodnju visokovlažnih zamjena za meso, teksturiranih proteinskih proizvoda, prešanje odnosno ekstrakciju ulja te proizvodnju punjenih proizvoda (Ganjyal, 2020).



**Slika 1** Različiti ekstrudirani proizvodi (Ganyal, 2020)

U proizvodnji ekspanziranih proizvoda najčešće se koriste rafinirana brašna žitarica jer imaju visoku sposobnost ekspaniranja. Brašna od cjelovitog zrna obično imaju relativno nižu ekspanziju u usporedbi s rafiniranim brašnom zbog prisutnosti relativno visokog udjela vlakana i proteina. Struktura ekspaniranog (ekstrudiranog) proizvoda nastaje formiranjem otopljenog fluida iz biopolimera i izlaska mjehurića vodene pare, pri čemu se formira porozna struktura. Nakon ekspanzije brz pad temperature, uzrokovan isparavanjem i porastom viskoznosti zbog gubitka vlage, očvršne staničnu strukturu. Škrobni polimeri vrlo dobro ekspandiraju, no prosječna veličina polimera većine prirodnih škrobova prevelika je za optimalnu ekspanziju. Najzastupljeniji polimer amilopektin ima veliku molekularnu masu, što rezultira niskom ekspanzijom (1 – 2 mL/g). Međutim, primjenom visokih razina mehaničkog smicanja tijekom ekstruzijskog kuhanja dolazi do djelomične depolimerizacije i smanjenja molekularne težine polimera. Manje molekule omogućuju znatno veći protok mjehurića vodene pare te veću ekspanziju (1 – 25 mL/g). Visokoamilozni prirodni škrob iz kukuruza daje najveću ekspanziju od svih prirodnih škrobova (Ganjyal, 2020).

Proteini se mogu koristiti za izmjenu strukture u ekstrudatima u visokim koncentracijama. Značajno su manji nego škrobni polimeri u otopini, formiraju komplekse veće viskoznosti koji služe za stvaranje filmova i zadržavaju dio vodene pare unutar proizvoda. Njihova viskoznost pri hlađenju omogućuje stvaranje porozne strukture te sprječava skupljanje proizvoda. Jedan od primjera jest pšenični gluten (hidrofobni protein) koji može tvoriti polimere veće molekularne težine od svog prirodnog oblika (Guy, 2001).

### ***Izravno ekspanzirani proizvodi***

Izravno ekspanzirani proizvodi imaju laganu, prozračnu ili hrskavu teksturu. U proizvodnji tih proizvoda koristi se izravna ekspanzija pri kojoj se škrobni materijal širi (ekspandira) izlazeći iz kućišta ekstrudera (**Slika 2**).

Ekspanzirani proizvodi nastaju od prirodnih biopolimera različitih sirovina, poput brašna žitarica, gomolja bogatih škrobom, mahunarki, uljarica i drugih sirovina bogatih proteinima. Ostali sastojci, poput soli, vlakana, šećera, sredstava za dizanje tijesta i dr., zajedno s

brašnom ili škrobom kao glavnim sastojcima, koriste se u manjim količinama. Najčešće korišteni materijali jesu pšenično i kukuruzno brašno, ali i drugi materijali bogati škrobom, poput rižinog brašna, krumpira, raži, ječma, zobi, sirka, manioke, tapioke, kvinoje, prosa i sl. (Ganjyal, 2020).



**Slika 2** Primjeri izravno ekspanziranih proizvoda (Ganjyal, 2020)

## 2.2. GRAĐA I PRINCIP RADA EKSTRUDERA

Glavni dijelovi ekstrudera uključuju: **motor, kućište, pužnicu, sapnicu i rezalicu**. Mogu sadržavati i druge dijelove koji pomažu u pripremi mješavine sastojaka prije ekstruzije ili naknadne obrade ekstrudiranih proizvoda nakon ekstruzije (**Slika 3**).

Važan dio ekstrudera jest **motor** koji daje energiju za okretanje pužnice ekstrudera. Pužnica ekstrudera smještena je u kućištu. **Kućište** se obično dijeli na zone ili sekcije jednake veličine. To osigurava željenu mogućnost grijanja ili hlađenja različitih dijelova ekstrudera cijelom dužinom pužnice. Zagrijavanje se vrši parom / toplom vodom ili električnim zavojnicama oko cijevi. Hlađenje se postiže hladnom vodom koja kruži oko dijelova kućišta ili prisilnim strujanjem hladnog zraka. **Pužnice** su često modulirane s mogućnošću promjene njihova profila. Modifikacijom profila pužnice postižu se različite funkcije, odnosno različite mogućnosti primjene ekstrudera. Voda se dodaje u ekstruder kroz otvor za ubrizgavanje koji se nalazi u prvoj ili drugoj zoni kućišta ekstrudera, gdje je unutarnji tlak sličan atmosferskim uvjetima (Ganjyal, 2020).

Ekstruder je često podijeljen u tri zone: zonu transporta, zonu kompresije i zonu taljenja smjese. Profil pužnice prilagođen je za postizanje specifičnih funkcija u svakoj od navedenih zona.



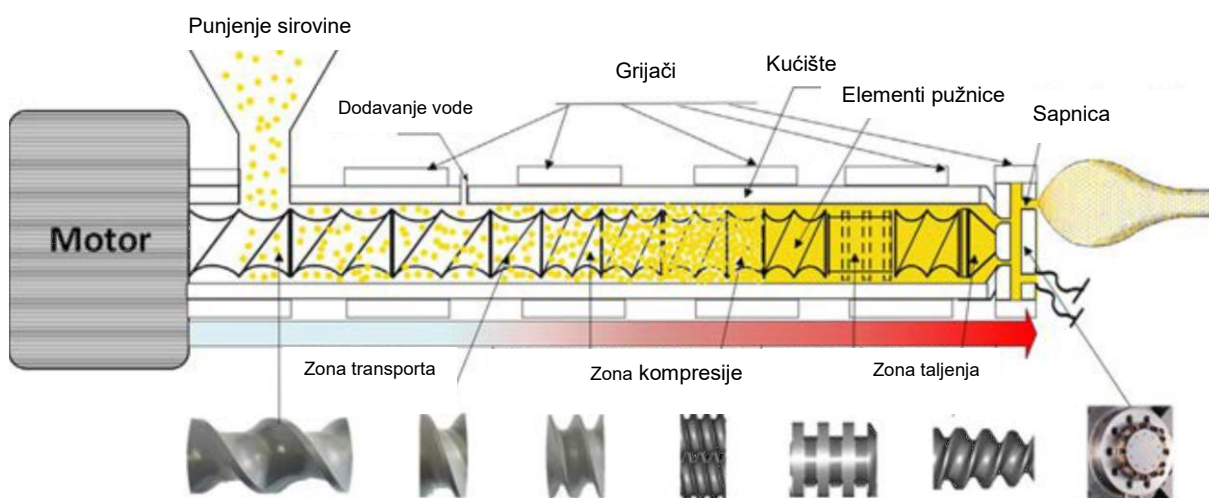
Zona transporta dizajnirana je za sustavno prenošenje materijala na kompresijski dio u ekstruderu. U tom odjeljku pužni elementi često su dizajnirani velikog nagiba i volumena.

Zona kompresije mjesto je gdje se materijal istovremeno zbija i miješa. U tom su odjeljku elementi puža kratkog nagiba za olakšano zbijanje. Zbijanje, istovremeno s otežanim kretanjem materijala, dovodi do stvaranja topline uslijed smicanja među česticama hrane i između čestica hrane i površine puža i/ili kućišta.

Zona taljenja mjesto je gdje se materijal dovodi u stanje taljenja uslijed stvaranja topline nastale djelovanjem mehaničkog smicanja i tlaka. U tom je dijelu tlak obično visok uslijed zbijanja materijala i ograničenja kretanja materijala kroz sapnicu koja se nalazi na kraju kućišta. **Sapnica** je vrlo važan dio ekstrudera koji stvara ograničenje/suženje te formira krajnji oblik proizvoda. Suženje uzrokuje povišen tlak u zoni ispred sapnice, što značajno utječe na smicanje u posljednjoj zoni ekstrudera. Nakon kućišta i sapnice sustav obično ima postavljenu rezalicu. **Rezalica** može biti „izravna, gdje noževi rezalice režu proizvod pri izasku iz ekstrudera; ili sustav u kojem se proizvod polaže na pokretnu traku te se reže nakon određenih modifikacija“ (Ganjyal, 2020).

Kvaliteta ekstrudiranih proizvoda može se uvelike poboljšati predkondicioniranjem sirovih sastojaka. Predkondicioner koristi se za kondicioniranje sirovine prije ulaska u ekstruder, pri čemu se dodaje voda ili para kako bi se postigla željena vlažnost smjese (Guy, 2001).

Nakon što se proizvod ekstrudira, mogu se napraviti i neke modifikacije proizvoda. Dodatna oprema uključuje sustave za dehidraciju (sušilice ili friteze), sustave za začinjavanje i sustave za pakiranje (Ganjyal, 2020).



**Slika 3** Shematski prikaz ekstrudera (Ganjyal, 2020)

## 2.3. PODJELA EKSTRUDERA

U tehnologiji prehrambenih proizvoda ekstruderi se dijele s obzirom na:

1. termodinamičke uvjete rada;
2. način stvaranja tlaka u uređaju;
3. veličinu smicanja (Lovrić, 2003).

### 2.3.1. Podjela ekstrudera prema termodinamičkim uvjetima rada

S obzirom na termodinamičke uvjete rada razlikuju se:

- a) **autogeni (adijabatski) ekstruderi** – ekstruderi koji rade pri približno adijabatskim uvjetima. Kod njih toplina se razvija konverzijom mehaničke energije prilikom gibanja materijala u uređaju, a potrebna je niska vlažnost sirovina (8 – 14 %);
- b) **izotermni ekstruderi** – ekstruderi u kojima se određena konstantna temperatura održava hlađenjem, odnosno odvođenjem topline nastale pretvorbom mehaničke energije u toplinu;
- c) **politropski ekstruderi** – ekstruderi koji rade između adijabatskih i izotermnih uvjeta te se, u prehrambenoj industriji, većinom koristi upravo taj tip ekstrudera (Lovrić, 2003).

### 2.3.2. Podjela ekstrudera prema načinu stvaranja tlaka

S obzirom na način stvaranja tlaka razlikuju se:

- a) **ekstruderi viskozno-vlačnog toka (neizravnog tipa)** – ekstruderi u kojima se materijal tijekom gibanja ponaša kao nenjutnovski fluid, što bitno utječe na promjenu svojstava ishodišnog materijala i definiranje svojstava gotovog proizvoda; tip ekstrudera koji se najviše primjenjuje u konditorskoj industriji;
- b) **ekstruderi pozitivnog tlaka (izravnog tipa)** – stvaraju pozitivan tlak, a mogu biti:
  - klipni ekstruderi,
  - pužni (vijčani) ekstruderi.

### ***Klipni ekstruderi***

Klipni ekstruder najjednostavniji je tip ekstrudera koji se sastoji od klipa i kućišta. Klip tlači materijal kroz kućište, pri čemu ne dolazi do smicanja, a svojstva ekstrudata gotovo su nepromijenjena u odnosu na ishodišni materijal.

### ***Pužni (vijčani) ekstruderi***

Kod pužnih ili vijčanih ekstrudera, zbog viskoznog gibanja materijala između puževa te između puževa i kućišta, dolazi do smicanja, oslobađanja topline te miješanja materijala. Što je niža vlažnost materijala, veća je sila smicanja pa se oslobađa veća količina topline. Ti ekstruderi upotrebljavaju se u postupcima proizvodnje proizvoda kod kojih nije poželjna značajna promjena u odnosu na ishodišni materijal. Pužni ekstruderi, s obzirom na konstrukcijsku izvedbu, mogu se podijeliti u dvije osnovne grupe:

- jednopužni ekstruderi,
- dvopužni ekstruderi (Lovrić, 2003).

Osnovna razlika između jednopužnih i dvopužnih ekstrudera jest u mehanizmu transporta. Kod jednopužnih ekstrudera transport materijala vrši se zbog razlike sila trenja i smicanja na mjestima dodira materijala s pužnicom i kućištem. Kod dvopužnih ekstrudera, s uzajamno zahvaćenim puževima, onemogućeno je okretanje materijala s pužnicom. U tom slučaju trenje je od manjeg značenja, iako i geometrija pužnice ima određeni utjecaj (Lovrić, 2003).

U ekstruderu s jednim vijkom kućište igra značajnu ulogu u stvaranju smicanja, zajedno s vijkom. Smicanje nastaje zbog trljanja materijala uz kućište i površinu pužnice te između čestica sirovine. Kod dvopužnog ekstrudera smicanje nastaje zbog trljanja čestica jedne o drugu, dok se materijal transportira pomoću dvaju puževa duž kućišta (Ganjyal, 2020).

### ***Jednopužni ekstruderi***

Tipičan sustav jednopužne ekstruzije sastoji se od spremnika za doziranje, kućišta s jednim pužem, glave sa sapnicom i rezalice (**Slika 3**). Jednopužni ekstruderi dijele se prema tipu puža na:

- paralelni puž, kod kojeg je promjer isti cijelom dužinom puža;
- puž promjenjivog promjera, kod kojeg se promjer puža povećava dužinom puža, s većim promjerom na kraju puža prema sapnici.

Dizajn puža promjenjivog promjera pomaže komprimirati materijale uz gnječenje i miješanje, dok u slučaju puža ujednačenog promjera dizajn kućišta ima značajniju ulogu u postizanju kompresije i miješanja. Rad jednopužnog ekstrudera ovisi o nastalom tlaku na sapnici, klizanju materijala na stijenci kućišta i stupnju napunjenosti puža. Punjenje puža određuje brzina doziranja, brzina pužnice te viskoznost materijala (Ganjyal, 2020).

Iako su jednopužni ekstruderi za hranu relativno jednostavni za upotrebu, nedostatak im je ograničeno miješanje materijala. Ako se u smjesi koristi više komponenti, potrebno ih je dobro promiješati prije doziranja u ekstruder. Jednopužni ekstruderi uobičajeno procesiraju prethodno pripremljene sirovine, predkondicionirane s dodanom vodom, jer se relativno slabo miješaju (Guy, 2001).

### **Dvopužni ekstruderi**

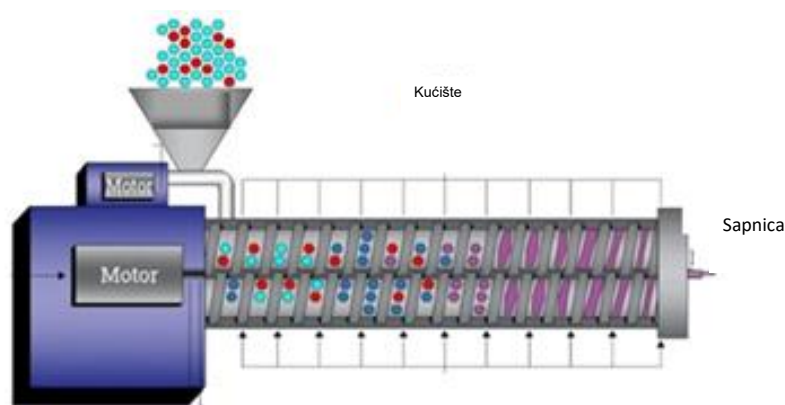
Dvopužni ekstruderi sadrže dva puža jednake dužine smještena unutar istog kućišta (**Slika 4**). Dvopužni ekstruderi kategoriziraju se prema smjeru rotacije i stupnju međusobnog zahvaćanja puževa, a dijele se na:

1. proturotirajuće ekstrudere s dvama puževima i
2. korotirajuće ekstrudere s dvama puževima.

U suprotnom rotirajućem položaju puževi ekstrudera okreću se u suprotnom smjeru, dok se u korotirajućem položaju puževi okreću u istom smjeru. Te dvije kategorije mogu se dalje podijeliti na temelju položaja puževa jednog u odnosu na drugi na: međusobno isprepletene i neisprepletene dvopužne ekstrudere.

Kod proturotirajućeg ekstrudera puževi zajedno tlače proizvod prema naprijed, dok kod korotirajućeg dvopužnog ekstrudera jedan puž čisti drugi u pomicanju proizvoda naprijed (Guy, 2001). Iz tog razloga takvi ekstruderi nazivaju se još i „samočišćenim ekstruderima“ (Moscicki, 2011).

Puževi korotirajućeg dvopužnog ekstrudera imaju posebne dijelove koji obavljaju različite funkcije u procesu ekstruzije. Pužni dijelovi mogu biti zaobljeni ili kvadratni i mogu se klasificirati kao: potpuno međusobno povezani i samobrišući. Samobrišući puževi sprječavaju nakupljanje sastojaka na površinama kanala koji mogu uzrokovati tlak i prekid prijenosa. Dvopužni ekstruderi sa suprotnim rotiranjem često se koriste u obradi tijesta, u konditorskoj industriji, proizvodnji žvakaćih guma te preradi materijala bogatih vlaknima (Moscicki, 2011). Konusno proturotirajući dvopužni ekstruder koristi se za oblikovanje konditorskih proizvoda koji sadrže relativno visok udio masti (Ganjyal, 2020).



**Slika 4** Shematski prikaz dvopužnog ekstrudera (<https://engineeringlearn.com/types-of-extruders-application-working-principle/>) (1. 4. 2022.)

### 2.3.3. Podjela ekstrudera prema veličini smicanja

a) **Niskosmični ekstruderi (ekstruderi hladnog oblikovanja)** – imaju glatko kućište, puževi su dubokih navoja, a brzina okretanja puža mala je. Primjenjuju se za oblikovanje tijesta, keksa, mesnih proizvoda i određenih konditorskih proizvoda;

b) **srednjesmični ekstruderi** – puževi unutar ekstrudera postižu visoke tlakove, kućište je sa žljebovima kako bi se poboljšalo miješanje, a toplina se dovodi izvana. Nema ekspanzije na izlazu iz ekstrudera, a koriste se za dobivanje proizvoda mekane konzistencije i s većim udjelom vlage;

c) **visokosmični ekstruderi (Collet ekstruderi)** - imaju kućište sa žljebovima i puževe plitkih navoja. Temperatura sirovina pri niskim udjelima vlage (oko 12 %) brzo doseže vrijednost iznad 175 °C, pri čemu dolazi do depolimerizacije i želatinizacije škroba. Na izlazu iz ekstrudera dolazi do ekspanzije i sušenja proizvoda, a koriste se za proizvodnju ekspandiranih snack proizvoda (Riaz, 2000).

## 2.4. SIROVINE ZA PROIZVODNJU EKSTRUDIRANIH PROIZVODA

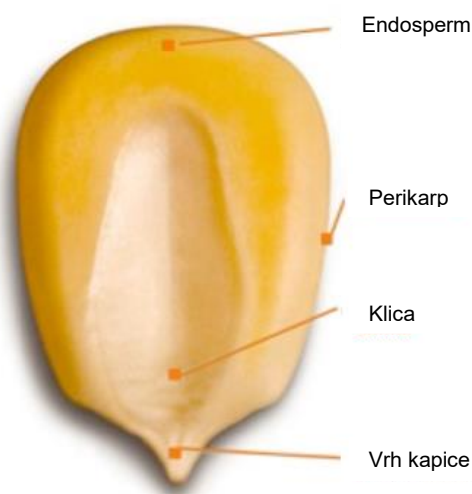
### 2.4.1. Kukuruz

Kukuruz (*Zea mays* L.) jednogodišnja je prosolika žitarica koja pripada porodici *Poaceae*. Po proizvodnji u svijetu na trećem je mjestu nakon riže i pšenice (Sandhu i sur., 2007), s najvećim potencijalom prinosa među žitaricama. Najveći proizvođač kukuruza jesu Sjedinjene Američke Države (SAD), koje obuhvaćaju oko 35 % ukupne svjetske proizvodnje kukuruza (Shah i sur., 2016).

Cjelovito zrno kukuruza sastoji se od četiriju dijelova:

- endosperma (82 % – 84 %),
- klice (10 % – 12 %),
- omotača (5 % – 6 %) i
- vrha kapice (1 %) (**Slika 5**).

Škrob, neškrobni polisaharidi, proteini i lipidi raspoređeni su heterogeno u zrnu kukuruza. Škrob je dominantna komponenta (60 % – 78 %, s. tv.) normalnog zrna kukuruza, a najviše ga je u endospermu (98 % – 99 % ukupnog škroba) (Yongfeng i Jane, 2016).



**Slika 5** Građa zrna kukuruza (<https://www.e-education.psu.edu/egee439/node/672>)

(1. 4. 2022.)

Škrob se sastoji od dvaju različitih polisaharida izgrađenih od  $\alpha$ -D-glukoze: amiloze i amilopektina. Udio amiloze i amilopektina u škrobu običnog kukuruza iznosi približno 75 % amilopektina i 25 % amiloze, dok voštani kukuruz sadrži 95 % ili više amilopektina. Od neškrobnih polisaharida u zrnu kukuruza najzastupljeniji su hemiceluloza (70 %) i celuloza (22 %). Zrno kukuruza sadrži od 6 do 12 % proteina, smještenih uglavnom u endospermu i klici. Sadržaj lipida kreće se od 3 do 6 %, a većina ih je smještena u klici (Fassio i sur., 2015).

Kukuruzne klice sadrže oko 45 – 50 % ulja. Ulje sadrži 14 % zasićenih masnih kiselina, 30 % mononezasićenih masnih kiselina i 56 % polinezasićenih masnih kiselina, od kojih je 54 – 60 % linolna kiselina, 25 – 31 % oleinska kiselina, 11 – 13 % palmitinska kiselina, 2 – 3 % stearinska kiselina i 1 % linolenska kiselina.

Od vitamina i minerala zrno kukuruza sadrži vitamin C, vitamin E, vitamin K, vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (niacin), vitamin B3 (riboflavin), vitamin B5 (pantotenska kiselina), vitamin B6 (piridoksin), folnu kiselinu, selen i kalij (Shah i sur., 2016).

Osim što sadrži osnovne hranjive tvari, nutritivne karakteristike kukuruza ogledaju se i u njegovim jedinstvenim fitokemikalijama kao što su fenolne kiseline (vanilinska kiselina, siringinska kiselina, kumarinska kiselina, ferulinska kiselina i kofeinska kiselina) sadržanim u frakcijama omotača zrna i klice u visokim koncentracijama (87 %). Osim fenolnih kiselina, tu su i flavonoidi, biljni steroli i druge fitokemikalije (lignin i vezane fitokemikalije) (Sheng i sur., 2018).

Postoje dva osnovna načina prerade kukuruza: mokro i suho mljevenje. Suhim mljevenjem kukuruza dobiju se kukuruzna krupica, kukuruzno brašno i kukuruzne mekinje različite veličine čestica. Osnovni proizvodi dobiveni mokrim mljevenjem kukuruza jesu kukuruzni škrob i klica (iz koje se proizvodi kukuruzno ulje), dok se kukuruzni gluten, ljuska (poznata i kao „kukuruzna vlakna“) i krute tvari iz vode za močenje smatraju nusproizvodima takvog načina obrade (Yongfeng i Jane, 2016).

Kukuruz je vrlo važna sirovina za proizvodnju različitih ekstrudiranih prehrambenih proizvoda zbog izvrsnih karakteristika ekspanzije. Za taj proces koriste se kukuruzne prerađevine kojima je prethodno uklonjena klica. Kukuruzno brašno bez klice sadrži 80 – 90 % ugljikohidrata, 6 – 8 % proteina, i 0,5 – 2 % masti u suhoj tvari (Srichuwong i sur., 2017).

Kukuruzno brašno malih granulacija koristi se za stvaranje proizvoda finije strukture, dok veća granulacija kukuruzne krupice stvara ekspaniranu i otvoreniju strukturu proizvoda te proizvode debljih stijenki i staklastije teksture (Yongfeng i Jane, 2016).

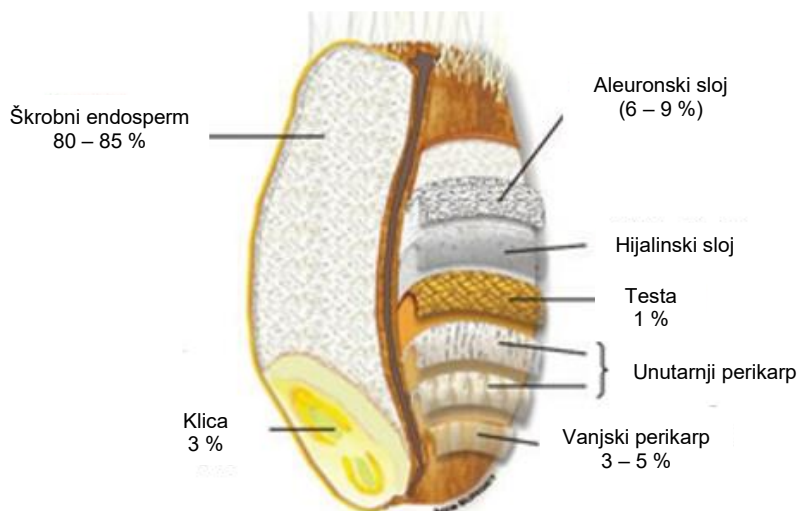
Temperatura taljenja normalnog kukuruznog škroba jest oko 150 °C pri 20 % sadržaja vlage te 70 °C pri 60 %-tnoj vlažnosti (Srichuwong i sur., 2017).

### 2.4.2. Pšenica

Pšenica (*Triticum sp.*) najraširenija je poljoprivredna kultura u svijetu. Najveći proizvođači pšenice jesu Kina, Indija, Ruska Federacija, SAD, Australija, Njemačka i Francuska.

Plod pšenice osigurava gotovo 55 % ugljikohidrata, odnosno 20 % kalorija u prosječnoj prehrani. Sadrži ugljikohidrate (78,10 %), proteine (14,70 %), masti (2,10 %), minerale (2,10 %), posebice cink i željezo, kao i znatan udio vitamina (tiamin i vitamin B). Pšenica je, također, dobar izvor minerala u tragovima, poput selena i magnezija (Ganyal, 2020).

Zrno pšenice (*caryopsis*) sastoji se od: perikarpa, odnosno omotača ploda, endosperma i klice (**Slika 6**).



**Slika 6** Građa zrna pšenice (Brouns i sur., 2012)

**Omotač ploda pšenice** sastoji se od perikarpa, sjemene ljuske (teste) i aleuronskog sloja. Čini oko 14 % zrna pšenice. Sadrži malu količinu proteina, veće količine vitamina B-kompleksa, minerala u tragovima i neprobavljivog celuloznog materijala.

**Endosperm** čini 80 – 85 % zrna pšenice. Sadrži najveći udio bjelančevina u zrnu, škrob, željezo i vitamine B-kompleksa, kao što su riboflavin, niacin i tiamin (Kumar i sur., 2011).

**Klica** pšenice predstavlja embrij zrna pšenice i zauzima 3 % zrna. Klica, ili zametak pšenice, relativno je bogata proteinima i mastima te sadrži vitamine B kompleksa. Pšenične klice bogate su vitaminom E, magnezijem, pantotenskom kiselinom, fosforom, tiaminom, niacinom i cinkom (Shewry, 2009).

Pšenično brašno pokazuje umjerenu ekspanziju i mekanu teksturu, a pšenični gluten ima visoku elastičnost. Općenito, ekstrudati od integralnog pšeničnog brašna imaju nižu ekspanziju i tamniju boju. To se može objasniti prisutnošću vlakana, reakcijom posmeđivanja ili oksidacijom lipida nakon ekstruzije (Heinieo i sur., 2016). Veći sadržaj vlakana i udio masti doprinosi niskoj ekspanziji ekstrudata cjelovitih žitarica (Robin i sur., 2015).



## 2.5. BIOFORTIFIKACIJA

„Biofortifikacija“ ili „biološka fortifikacija“ pojam je koji definira nutritivno poboljšane poljoprivredne kulture, s povećanom biodostupnošću ljudskoj populaciji, koje se razvijaju i uzgajaju korištenjem suvremenih biotehnoloških tehnika u konvencionalnom uzgoju biljaka (Garg i sur., 2018). Agronomska biofortifikacija predstavlja obogaćivanje mikronutrijentima primjenom odgovarajućih gnojiva, dok se razvoj novih sorti konvencionalnim uzgojem biljaka naziva genetskom biofortifikacijom (Ram i sur., 2015).

Procjenjuje se da jedna od triju osoba na svijetu pati od tzv. „skrivena gladi“, pojma koji opisuje nedovoljan unos minerala i vitamina prehranom, što za posljedicu ima negativan utjecaj na zdravlje. Taj termin opisuje prehranu s dovoljno kalorija, ali pothranjenost mikronutrijentima. U prehrani velikog dijela svjetske populacije nedostaje željeza (Fe), cinka (Zn), kalcija (Ca), magnezija (Mg), selena (Se) i joda (I), što ne samo da utječe na zdravlje stanovništva nego i na gospodarstvo određene zemlje. Najveći nedostatak prevladava u područjima gdje prehrana nije raznolika, odnosno gdje se u prehrani ne uzimaju odgovarajuće količine voća, povrća ili hrane životinjskog porijekla koja sadrži relativno velike količine mikronutrijenata (Kennedy i sur., 2003).

Mineralna pothranjenost rješava se unosom veće količine ribe i namirnica životinjskog porijekla, nadomjeskom minerala suplementima, obogaćivanjem hrane ili povećanjem biodostupnosti mineralnih elemenata u sirovinama. Od spomenutih strategija najviše se zagovara strategija biofortifikacije usjeva primjenom odgovarajućih mineralnih gnojiva uz korištenje sorti koje imaju povećanu sposobnost apsorpcije mineralnih elemenata tijekom vegetacije (White i Broadley, 2009).

Biofortifikacija poljoprivrednih plodova predstavlja potencijalno rješenje za spomenuti problem u prehrani (mineralne pothranjenosti) (Zhou i sur., 2020; Schiavon i sur., 2020). Ona je relativno isplativa, održiva te osigurava dugoročan način prehrane bogate mikronutrijentima (Meenakshi i sur., 2010; Qaim i sur., 2007). Posebno se naglašava da biofortifikacija omogućava relativno jednostavno povećanje unosa mikronutrijenata u prehrani stanovništva koje ima ograničen pristup raznolikoj prehrani, suplementima i komercijalno obogaćenoj hrani (Saltzman i sur., 2013).

Biofortifikacija ima niz prednosti kada se primjenjuje u zemljama u razvoju. Prije svega – cilj joj je populacija kojoj je potrebna veća količina namirnica. Osim toga, cilj su joj ruralna područja za koja se procjenjuje da 2/3 siromašnog dijela populacije predstavljaju samostalni ili mali poljoprivrednici ili radnici bez zemlje. Te populacije, uglavnom, oslanjaju se na povoljnije i dostupnije osnovne namirnice kao što su riža ili kukuruz (Shenggen i Pandya-

Lorch, 2020). Unatoč ubrzanju urbanizaciji, porastu prihoda i povećanju standarda, prehrana ruralnih područja i dalje se, u velikoj mjeri, temelji na osnovnoj hrani kao što su žitarice i gomoljasti usjevi (Msangi i sur., 2010). U zemljama u razvoju strategija biofortifikacije usmjerava se na osnovnu hranu koja prevladava u prehrani (Pfeiffer i McClafferty, 2007). Ciljane namirnice uključuju osnovne žitarice, tj. rižu, pšenicu i kukuruz, a zatim grah i manioku (White i Broadley, 2009). Smatra se da postoji nekoliko preduvjeta za široko prihvaćanje proizvoda dobivenih od biofortificiranih sirovina, kako u razvijenim zemljama tako i u zemljama u razvoju. Važno je da takvi proizvodi nisu značajno skuplji od osnovnih namirnica te da se biofortifikacijom ne mijenja izgled, okus, tekstura ili kvaliteta dobivenog proizvoda (Bouis i sur., 2003).

Proces biofortifikacije ima za cilj povećati sadržaj vitamina i minerala u usjevu tijekom uzgoja biljaka korištenjem transgentskih tehnika ili određene agronomske prakse (Bouis i Saltzman, 2017). Agronomskom biofortifikacijom osigurava se kratkoročno povećanje mikronutrijenata u kulturama upotrebom različitih formulacija gnojiva (Saltzman i sur., 2013). Agronomske strategije za povećanje koncentracije minerala u jestivim tkivima biljaka oslanjaju se na primjenu mineralnih gnojiva ili poboljšanje topljivosti i dostupnosti mineralnih elemenata u tlu. Ako se usjevi uzgajaju na područjima gdje su mineralni elementi nedostupni u tlu, primjenjuje se ciljana primjena topljivih anorganskih gnojiva u korijenje ili lišće. U situacijama kada se mineralni elementi ne prenose lako u jestiva tkiva, vrši se folijarna primjena topljivih anorganskih gnojiva (White i Broadley, 2009). Brojne studije pokazuju pozitivan učinak korištenja mineralnih gnojiva na usjevima, odnosno dolazi do povećanja sadržaja mikroelemenata kao što su cink i selen (Gomez-Coronado i sur., 2016; Hartikainen, 2005; Cakmak i sur., 2004; Lyons i sur., 2003).

Transgeni pristupi korisni su kada nije moguće osigurati dovoljne količine biodostupnih mikronutrijenata u konvencionalnom usjevu. Međutim, razvijene transgentske linije potrebno je uzgajati u konvencionalnom uzgoju nekoliko godina kako bi se osiguralo stabilno nasljeđivanje transgenih osobina (Saltzman i sur., 2013).

### **2.5.1. Biofortifikacija cinkom**

Polovina ukupne površine tla koja se u svijetu koristi za proizvodnju žitarica sadrži niske koncentracije biljci dostupnog cinka, što utječe na prinos i nutritivne osobine zrna (Graham i Welch, 1996). Posljedica nedostatka cinka u tlu niska je koncentracija cinka u zrnu žitarica, što, za populaciju čija se prehrana temelji na žitaricama, predstavlja glavni uzrok niskog unosa cinka u ljudski organizam (Alloway, 2009).

Agronomska fortifikacija cinkom pokazala se povoljnim, brzim i sigurnim načinom, primjenjivim na mnogobrojne usjeve. Primjena agronomske fortifikacije cinkom može imati za cilj povećanje prinosa, ali i povećanje koncentracije cinka u zrnu žitarica ili u drugim dijelovima biljaka ostalih usjeva. Cink se pokazao vrlo korisnim u poboljšanju prinosa i sadržaja cinka u zrnu različitih žitarica (Afzal i sur., 2017; Phattarakul i sur., 2012; Khan i sur., 2021). Povećanjem koncentracije cinka u zrnu gnojidbom tla ili folijarnom primjenom dodatno se povećava vitalnost sjemena i energičnost sadnica (Velu i sur., 2014). Nadalje, folijarna primjena cinkovih gnojiva može povećati koncentraciju cinka u listovima, gomoljima i plodovima (Broadley i sur., 2007). Otprilike polovina ciljanog porasta koncentracije cinka u zrnu riže ostvaruje se primjenom folijarne gnojidbe, dok takav način primjene kod kukuruza rezultira slabijim učinkom (Phattarakul i sur., 2012). Istraživanja su pokazala da je primjenom cinkovih gnojiva, posebice u kombinaciji s dušičnim gnojivima, moguće povećati koncentracije cinka u zrnu žitarica za oko  $100 \text{ mgkg}^{-1}$  i sjemenkama mahunarki oko  $120 \text{ mgkg}^{-1}$  (White i Broadley, 2009).

Kada je, osim visokog prinosa zrna, cilj i visoka koncentracija cinka, preporučuje se kombinirana primjena gnojidbe tla cinkom te folijarna gnojidba tijekom vegetacije (Velu i sur., 2014). Primjenom cinkovih gnojiva u predstjetvenoj gnojidbi značajno se povećava prinos zrna i koncentracija cinka u zrnu pšenice (Hussain i sur., 2013).

Cink se primjenjuje na usjeve u obliku  $\text{ZnSO}_4$  ili kao sintetički kelati (Cakmak, 2008; Broadley i sur., 2007). Prilikom primjene mikronutrijenata važno je optimizirati koncentraciju elementa i odgovarajuću fazu vegetacije kako bi se postigli zadovoljavajući rezultati (Ram i sur., 2015; Zhang i sur., 2010).

Zbog opasnosti od toksičnosti u tlu s previsokim sadržajem cinka, kao i ograničene iskoristivosti dodanih gnojiva, preporučuje se dodavanje „srednjih“ količina cinkovih gnojiva. U tom slučaju postoji mogućnost da se, kod standardnih sorti pšenice, ne postigne željena koncentracija cinka u zrnu (Aziz, 2018). U istraživanju Yaseen i Hussain (2021) na tlima prosječnog sadržaja cinka pokazala se bolja učinkovitost gnojidbe cink-gnojivima na genetski modificiranim sortama pšenice u usporedbi sa standardnim sortama.

Povećanje koncentracije cinka u zrnu učinkovitije je kada se folijarna gnojiva primjenjuju u kasnoj fazi rasta. Osim povećanja koncentracije cinka u cijelom zrnu, značajno se povećala i koncentracija u škrobnom endospermu. Među različitim oblicima primijenjenih cink-gnojiva u usporedbi s drugim oblicima primijenjenih gnojiva, u pogledu povećanja koncentracije cinka u zrnu, najučinkovitijim pokazao se  $\text{ZnSO}_4$  (Velu i sur., 2014).

Pojačana učinkovitost mikronutrijenata može se postići miješanjem anorganskih soli mikronutrijenata s različitim organskim materijalima. Prilikom raspadanja organskih gnojiva nastaju brojni spojevi poput huminske i fulvo kiseline te biološke tvari poput organskih kiselina, aminokiselina i polifenola, koji djeluju kao kelati, sredstva koja tvore stabilne komplekse s prirodnim mikronutrijentima. Na takav način sprječava se taloženje, fiksiranje, oksidacija te ispiranje mikronutrijenata, što dodatno poboljšava učinkovitost primijenjenih sredstava za biofortifikaciju (Yadav i sur., 2011).

### 2.5.2. Biofortifikacija selenom

Problem nedostatka selena u prehrani pogađa 15 – 20 % svjetske populacije (Thavarajah i sur., 2017). U ljudski organizam selen se unosi konzumiranjem biljaka bogatih tim elementom, ali i proizvoda životinjskog porijekla. Sadržaj selena u hrani biljnog porijekla odraz je sadržaja tog elementa u tlima proizvodnog područja. Sadržaj selena u hrani varira jer je sadržaj selena u tlu neravnomjerno raspoređen i jednako tako dostupan za biljke. Predviđa se da će se manjak selena povećati uslijed klimatskih promjena, uglavnom u poljoprivrednim područjima (Jones i sur., 2017).

Biljka iz tla uzima selen u obliku selenata koji se, zatim, pretvaraju u organske oblike selenocistein i selenometionin, a u navedenom obliku biodostupni su za ljudski probavni trakt (Khanam i Platel, 2016). Selen je važan mikronutrijent koji ima ulogu antioksidansa u poljoprivrednim usjevima. Primjenom selen-gnojiva učinkovito se ublažava apsorpcija određenih elemenata toksičnih metalom u ratarskim usjevima, kao što je, primjerice, arsen (Radawiec i sur., 2021). Osim niske koncentracije selena u tlu, javlja se i problem bioraspoloživosti selena, što dodatno utječe na kapacitet njegove apsorpcije od strane biljaka (Khanam i sur., 2020). Dostupnost selena u tlima uvjetovana je pH vrijednošću tla, redoks-potencijalom, kapacitetom kationske izmjene i koncentracije S, Fe, Al i C u tlu (Hossain i sur., 2021).

Biofortifikacija selenom najučinkovitija je mjera povećanja koncentracije selena u poljoprivrednim usjevima. Biljke pogodne za ispitivanje učinka biofortificiranja selenom jesu pšenica i riža jer se naširoko koriste za konzumaciju u svjetskoj populaciji. Osim toga, te biljke ne akumuliraju više od 1,0 mg Se kg<sup>-1</sup> suhe tvari (Ramkissoo i sur., 2019). U usjevima žitarica selen se, u obliku seleno-metionina, pohranjuje u endospermu. Iz tog razloga mljeveni proizvodi poput bijelog brašna značajni su izvori bioraspoloživog selena (Bruulsema i sur., 2012).

Koncentracija selena u hrani ovisna je o koncentraciji selena koji je dostupan biljci u tlu. Nekoliko je učinkovitih metoda biofortificiranja selenom: anorganska gnojidba tla, folijarna

primjena selenovih gnojiva, ali i organska gnojiva. Primjena gnojiva  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  i  $\text{K}_2\text{SeO}_4$  omogućava dostupnost selena usjevima, s tim što primjenom selenita, ili manje topljivih oblika selenata, osigurava dugotrajniji učinak primjene (Broadley i sur., 2006). Različiti oblici gnojiva različito utječu na količinu selena u tlu jer mijenjaju koncentraciju različitih iona unutar tla.

Na mehanizam apsorpcije selena utječe mnogo čimbenika kao što su doza, oblik gnojidbe ili oblik mikroelementa (Izydorczyk i sur., 2021). Selenat je učinkovitiji oblik za upotrebu u gnojidbi tla od selenita (Boldrin i sur., 2016). U studijama ispitivanja učinkovitosti biofortifikacije selenovim gnojivima najčešće se koriste male količine od 10 do 20 g Se ha<sup>-1</sup>. Rezultati nekoliko studija pokazali su da je folijarna gnojidba višestruko učinkovitija od primjene selena u tlu (Ros i sur., 2016).

Provedene su i studije obogaćivanja uobičajeno korištenih gnojiva koja opskrbljuju makronutrijente dušik (N), fosfor (P), kalij (K) i sumpor (S) selenom u svrhu biofortificiranja usjeva. Rezultati su pokazali da folijarna primjena selena s dušikom dovodi do dvostruko većeg unosa i sadržaja selena u biljkama u usporedbi sa samostalnom primjenom selena folijarno (Radawiec i sur., 2021; Ramkissoo i sur., 2019).

Apsorpcija selena u tlima povećava se dodatkom organskih tvari. Određena istraživanja pokazala su da je biofortifikacija selenom najučinkovitija kada je korišten organski selen. Novija istraživanja idu u smjeru korištenja biljaka kao što su mahunarke, koje imaju snažnu interakciju s mikroorganizmima, u svrhu poboljšanja učinkovitosti biofortifikacije selenom (Malagoli i sur., 2015). Agronomska biofortifikacija ima za cilj i smanjenje ispiranja selena u podzemne vode s obzirom na to da se selen veže na organsku tvar tla i ostaje u tlu. Međutim, široka primjena selena u visokim koncentracijama nije ekonomski održiva. Folijarna primjena selenata pokazala se ekonomičnijom i učinkovitijom za povećanje koncentracije selena u zrnu žitarica jer zahtijeva manju količinu gnojiva, čime se izbjegava prekomjerno taloženje u okolišu (Sarwar i sur., 2020).

## 2.6. VAŽNOST CINKA I SELENA U LJUDSKOM ORGANIZMU

### 2.6.1. Cink

Cink, važan mineral u tragovima, potreban je za metaboličku aktivnost 300 tjelesnih enzima, a smatra se bitnim za diobu stanica te sintezu DNK i proteina. Ti enzimi uključeni su u metabolizam proteina, ugljikohidrata, masti i alkohola. Cink je također ključan za rast tkiva, zacjeljivanje rana, oštrinu okusa, rast i održavanje vezivnog tkiva, funkciju imunološkog sustava, mineralizaciju kostiju, pravilnu funkciju štitnjače, zgrušavanje krvi, kognitivne funkcije, rast fetusa i proizvodnju sperme (Bhowmik i sur., 2010).

Cink je izrazito važan tijekom razdoblja ubrzanog rasta i razvoja djece te za tkiva s brzim staničnim diferenciranjem i izmjenom tvari, kao što su imunološki sustav i gastrointestinalni trakt. Posebno važne funkcije na koje utječe cink odnose se na ishod trudnoće, fizički rast, osjetljivost na infekciju i neurobihevioralni razvoj (Brown i sur., 2004; Brown i sur., 2002; Anderson, 2004).

Na staničnoj razini funkciju cinka možemo podijeliti u tri kategorije: katalitičku, strukturnu i regulatornu. *Katalitička funkcija*: gotovo 100 različitih enzima ovisi o cinku zbog njihove sposobnosti da kataliziraju vitalne kemijske reakcije. *Strukturna funkcija*: cink igra važnu ulogu u strukturi proteina i staničnih membrana. Gubitak cinka iz biološke membrane povećava osjetljivost na oksidativno oštećenje i narušava njihove funkcije. *Regulatorna funkcija*: utvrđeno je da cink regulira ekspresiju gena djelujući kao transkripcijski čimbenik. Cink također ima ulogu u oslobađanju hormona i prijenosu živčanih impulsa (Bhowmik i sur., 2010). Preporučena dnevna doza unosa cinka u organizam iznosi 10 – 15 mg (<https://ods.od.nih.gov/factsheets/Zinc-HealthProfessional/#en5>) (1. 4. 2022.)

Nedostatak cinka u ljudskom tijelu uzrokuje niz poremećaja (kao što su anoreksija, gubitak apetita, nedostatak mirisa i okusa). Uslijed negativnog utjecaja na imunološki sustav nedostatak cinka može izazvati arteriosklerozu i anemiju te limfopeniju, atrofiju timusa i smanjenu proizvodnju antitijela. Nedostatak cinka kod trudnica može se manifestirati kroz smanjenje stanica mozga fetusa te njegov mentalni razvoj. Nedostatak cinka kod djece ometa normalan rast i razvoj, utječe negativno na intelektualni razvoj i zdravlje reproduktivnog sustava. Kod odraslih muškaraca manjak cinka može dovesti do hiperplazije prostate smanjujući reproduktivnu funkciju i plodnost (Brown i sur., 2001).

Apsorpciju cinka određuje topljivost u lumenu crijeva, uvjetovana kemijskim oblikom cinka i prisutnošću specifičnih inhibitora i pojačivača apsorpcije. Glavni inhibitor apsorpcije cinka jest fitat koji nepovratno veže cink u uvjetima prisutnim u lumenu crijeva (Roohani i sur., 2013).

Za procjenu apsorpcije cinka iz mješovite prehrane molarni omjer fitata i cinka može se izračunati kao sadržaj fitata u hrani/660 (molekulska težina fitata) podijeljen sa sadržajem cinka u hrani/65,4 (molekularna težina cinka). Prehrana s molarnim omjerom fitat-cink većim od 15 ima relativno slabu biodostupnost cinka, ona s molarnim omjerom fitat-cink između pet i 15 ima srednju biodostupnost cinka, a ona s molarnim omjerom fitat-cink manjim od pet ima relativno dobru biodostupnost cinka (WHO, 1996).

Namirnice životinjskog porijekla, riba i rakovi, najbogatiji su izvori cinka, s tim da te namirnice ne sadrže fitat, stoga su posebno dobri izvori apsorpcije cinka. Jaja i mliječni proizvodi također su bez fitata, iako imaju nešto manji sadržaj cinka od namirnica životinjskog porijekla. Većina žitarica i mahunarke imaju srednju razinu cinka, ali njihov visok sadržaj fitata smanjuje količinu cinka dostupnog za apsorpciju. Uslijed fermentacije žitarica mikroorganizmi proizvode fitaze koje razgrađuju fitate, čime se povećava količina apsorbirajućeg cinka. Škrobno korijenje i gomolji imaju manji sadržaj cinka od mahunarki i žitarica. Voće i povrće nisu bogati izvori cinka (Roohani i sur., 2013).

### 2.6.2. Selen

Selen je esencijalni bioelement prisutan u ljudskom organizmu u tragovima, najviše u skeletnim mišićima. Biološka važnost selena povezana je s njegovom pojavom u proteinima i enzimima. Taj element dio je aktivnog centra glutacion peroksidaze (GPx), enzima čija je uloga zaštita tkiva od oksidativnog stresa i štetnog djelovanja slobodnih radikala (Brigelius-Flohé i Flohé, 2017). Osim u ulozi antioksidansa, selen pokazuje pozitivan učinak na prevenciju raka (Fraczek i Pasternak, 2013; Kieliszek i Błazejak, 2016). Antikancerogeni mehanizmi selena odnose se na uvođenje promjena u metabolizmu kancerogena mijenjajući mehanizam interakcije između kancerogena i DNK (Woo i Lim, 2017). Selen utječe na rad štitnjače kroz metabolizam i aktivaciju hormona štitnjače. Također, pokazuje pozitivnu interakciju u kombinaciji s vitaminom E, što rezultira stimulacijom imuniteta (Kieliszek, 2019).

Nedostatak selena utječe na rad kardiovaskularnog sustava i može biti izravnim uzrokom infarkta miokarda. Keshanova bolest endemska je kardiomiopatija uočena kod djece, adolescenata i trudnica u kineskoj regiji Keshan, mjestu gdje je razina selena u tlu i hrani izrazito niska. Za nedostatak selena vezuje se i Kashin-Beckova bolest, vid osteoartropatije u populacijama s nedostatkom selena u tlu (Kieliszek, 2019).

Umjeren nedostatak selena u svakodnevnoj prehrani utječe na smanjeno funkcioniranje imunитета, živčanog sustava, razvoj depresije ili intenziviranje tjeskobe (Shahid i sur., 2018).

Višak selena može biti otrovan za organizam. Trovanje tim elementom dovodi do razvoja anemije, ukočenosti kostiju, gubitka kose i sljepoće. Ostali simptomi trovanja selenom jesu: anemija, suhi kašalj, groznica i dr. (Aldosary i sur., 2012).

Proizvodi biljnog i životinjskog porijekla glavni su izvori selena u ljudskoj prehrani. Biljke nakupljaju selen u obliku selenata (IV) ili (VI), koji se zatim pretvaraju u organske oblike, posebno selenometionin i selenocistein. Selenocistein prednjači u proizvodima životinjskog porijekla. Glavni izvori selena u prehrani jesu žitarice, meso i mliječni proizvodi, riba, morski plodovi, mlijeko i orašasti plodovi. Bogat izvor selena jesu i morska sol, jaja, iznutrice, kruh, gljive, češnjak i šparoge. Voće i povrće karakterizira nizak sadržaj selena (Smrkolj i sur., 2005; Kieliszek i Błażej, 2013). Proizvodi od žitarica pokrivaju približno 50 % dnevnog unosa selena, dok udio iz mesa, peradi i ribe čini 35 %. Voda i pića daju 5 – 25 % selena, a voće manje od 10 %. Svježe povrće osigurava oko 11 % selena u prehrani. Toplinska obrada prehrambenih proizvoda dovodi do gubitka selena zbog stvaranja hlapljivih spojeva selena (Kieliszek, 2019).

### 2.7. BIODOSTUPNOST

Svaka vrsta hrane smatra se biočinkovitom ako osigurava energiju te pridonosi očuvanju zdravlja ljudi. Da bi se na kvantitativan način izrazila biočinkovitost, koriste se pojmovi biodostupnost, bioraspoloživost i bioaktivnost komponenata hrane. Ti pojmovi proučavaju se *in vivo*, *ex vivo* i *in vitro* metodama, a izražavaju se različitim mjernim jedinicama (Dima i sur., 2020).

**Biodostupnost** elementa dio je konzumirane hranjive komponente topljive u crijevima i naknadno dostupne za apsorpciju kroz epitelne stanice crijeva (Stahl i sur., 2002). Ta frakcija elementa procjenjuje se *in vitro* simulacijom probave u dvama koracima: želučana probava s pepsinom pri pH 2, a potom crijevna probava s amilazom, pankreatinom i žučnim solima pri neutralnom pH (Kapolna i Fodor, 2007; Alming i sur., 2014).

**Bioraspoloživost** nutrijenata definira se kao dio konzumirane količine nekog elementa koja dopire do organa i tkiva te sudjeluje u osnovnim metaboličkim i biološkim procesima (Parada i Aguilera, 2007). Mjerenje bioraspoloživosti postiže se različitim *in vivo* metodama (Brake i sur., 2017).



**Bioaktivnost** je sposobnost spoja za pokazivanje biološkog učinka. Da bi bili bioaktivni, spojevi moraju biti apsorbirani kroz crijevni epitelni sloj, raspoređeni u organe i tkiva gdje su uključeni u razne biokemijske procese koji imaju neku zdravstvenu korist (Dima i sur., 2020).

### 2.7.1. Biodostupnost cinka

Biodostupnost cinka definira se kao udio ukupno unesenog cinka u organizam koji se apsorbira u metabolički aktivan oblik (House, 1999). Prehrana na bazi žitarica ne može osigurati dovoljne količine tog mikronutrijenta za apsorpciju u organizmu zbog niske biodostupnosti cinka iz zrna žitarica. Biodostupnost cinka u ljudskom organizmu smanjena je zbog visoke razine fitinske kiseline koja inhibira njegovu biodostupnost (Afify i sur., 2011). Sadržaj fitata u žitaricama varira od 0,06 do 2,22 %, od kojih se najmanji sadržaj nalazi u riži (Reddy i Sathe, 2002). Kod žitarica je fitat uglavnom koncentriran u aleuronskom sloju, osim kod kukuruza, gdje je većina smještena u klici. Sadržaj fitatne kiseline u žitaricama varira od 0,5 do 2,0 % (Gibson i sur., 2010; Coulibaly i sur., 2011). Fitat se smatra jedinim značajnijim inhibirajućim čimbenikom za biodostupnost cinka u prehrani (Hambidge i sur., 2010). Pojam fitat odnosi se na fitinsku kiselinu (mio-inozitol heksafosfat), sastavljen od inozitolnog prstena sa šest fosfat esterskih skupina i pridruženih soli: magnezijev, kalcijev ili kalijev fitat. Važno je napomenuti da mio-inozitol fosfati s manje od pet fosfatnih skupina ne djeluju inhibirajuće na apsorpciju cinka (Lonnerdal i sur., 1989). Taj prirodni antinutrijent smanjuje biodostupnost cinka zbog sposobnosti stvaranja kompleksa sa cinkom, čime se smanjuje topljivost, probavljivost i apsorpcija u organizmu (Iqbal i sur., 1994). Osim fitata, postoje još neki elementi koji mogu djelovati na smanjenje apsorpcije cinka. Željezo, na primjer, inhibira apsorpciju cinka samo kada se konzumira u obliku suplemenata te kada su željezo i cink u molarnom omjeru 25:1. Visoke koncentracije kalcija mogu pogoršati inhibicijski učinak fitata stvaranjem kalcij-cink-fitatnog kompleksa u crijevima (Grusak i Fleige, 2012).

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) definira tri kategorije prehrane s visokom, srednjom, ili niskom dostupnošću cinka, temeljene na udjelu energije iz životinjskih izvora, vrsti prerade žitarica, količini anorganskih kalcijevih soli i molarnom omjeru cink : fitat. Procjena je da se apsorbira oko 45 – 55 % elementa iz prehrane visoke biodostupnosti, 30 – 35 % iz prehrane srednje biodostupnosti, te 10 – 15 % iz prehrane niske biodostupnosti (WHO, 1996).

Najčešće korišteni načini povećanja koncentracije cinka u zrnu žitarica jesu genetska i agronomska biofortifikacija (La Frano i sur., 2014). U tu svrhu koriste se cinkov sulfat ili cinkov oksid. Cinkov oksid poželjan je zbog povoljnije cijene, međutim, njegova apsorpcija

kod osoba poremećenog lučenja želučane kiseline može biti ograničavajuća (López de Romaña i sur., 2003).

Rezultati određenih studija ukazuju na to da nema značajnih razlika u apsorpciji cinka iz cinkovog oksida u odnosu na cinkov sulfat, bez obzira na molarni omjer fitat : cink obroka (Brown i sur., 2007). Utvrđena je i značajna varijabilnost u koncentracijama cinka u cijelom zrnju, kao i koncentracijama cinka i željeza nakon *in vitro* probave (Rebekić i sur., 2017).

Genetskim inženjeringom i uzgojem biljaka nastoji se smanjiti sadržaj fitatne kiseline u kukuruzu, riži i pšenici na raspon 0,52 – 56 mgg<sup>-1</sup> (Imran i Rehim, 2016).

Biodostupnost cinka određuje se statičkim *in vitro* modelima probave koji se sastoje od triju faza: simulacija probave u ustima, simulacija probave u želucu i simulacija probave u tankom crijevu (Kiers i sur., 2000). Osim toga, za procjenu biodostupnosti cinka koriste se i *in vivo* modeli proučavanja na ljudima. S obzirom na složenost *in vivo* proučavanja, koristi se alternativni *in vitro* probava/Caco-2 stanični model. Taj model smatra se najboljim pristupom, u smislu troška i vremena, kako bi se istražila biodostupnost različitih komponenata hrane kao nadopuna *in vivo* studijama (Wei i sur., 2012).

### 2.7.2. Biodostupnost selena

Selen se u biljkama asimilira u organskom obliku koji je raspoloživiji za apsorpciju u ljudskom organizmu (Hartikainen, 2005). Zbog važnosti selena za ljudski organizam preporučuje se povećanje unosa selena, posebice u regijama niskih razina selena u tlu. Preporučena dnevna doza unosa selena kod odraslih ljudi kreće se od 55 do 70 µg (<https://ods.od.nih.gov/factsheets/selenium-HealthProfessional/#en5>) (1. 4. 2022.)

Preporuke za konzumiranje ili nadomjestak selena ne uvažavaju različite kemijske oblike selena u namirnicima (organske ili anorganske), bez obzira što imaju različit učinak na organizam (Amoako i sur., 2009). Nepostojanje korelacije unosa selena i učinka na zdravlje ljudi djelomično objašnjava razlika u biodostupnosti različitih vrsta selena. Na biodostupnost selena, osim njegovog kemijskog oblika, utječu i drugi makro i mikronutrijenti u prehranbenim proizvodima. Organski oblik selena u formi seleno metionina, koji se nalazi u proizvodima od žitarica, smatra se učinkovitijim za sprječavanje nedostatka selena, dok se anorganski oblik selena u formi selenita dugoročno ne preporučuje zbog moguće toksičnosti.

Selen se najlakše apsorbira u obliku organskih spojeva u prisutnosti vitamina A, D i E. Biodostupnost sadržanog selena u hrani, također, određuju prehranbeni čimbenici kao što su sadržaj masti, proteina i teških metala. Utvrđeno je da hrana bogata proteinima sadrži

višu razinu selena od hrane s niskim sadržajem proteina (Fraczek i Pasternak, 2013; Kieliszek i Błazejak, 2016). Istraživanja su pokazala da vitamini E i A povećavaju biodostupnost selena, dok ga teški metali i vlakna inhibiraju (Reeves i sur., 2007).

Rezultati istraživanja biodostupnosti selena u zrnima riže biofortificirane selenom pokazali su značajno povećanje antioksidativnog kapaciteta u zrnima riže. Glavne pronađene vrste selena u zrnima riže bile su organski spojevi selena, SeMet (54 % ukupnog selena) i SeCys (21 % ukupnog selena) (Thiry i sur., 2012).

Za proučavanje bioraspoloživosti i biodostupnosti selena koriste se različite metode ispitivanja. *In vitro* ispitivanja imaju prednost jer su brža, povoljnija i jednostavnija u odnosu na *in vivo* metode. U svrhu *in vitro* ispitivanja raspoloživosti selena razvijen je posebni model stanične kulture koji koristi Caco-2 stanice. Biodostupnost selena podrazumijeva analizu selena u fecesu, bioraspoloživost se određuje analizom selena u urinu i tkivu (Thiry i sur., 2012).

Biodostupnost selena ocjenjuje se specijacijskom analizom u kojoj se iz sadržaja ukupnog selena određuju vrste selena. Među metodama za specijaciju selena atomska apsorpcijska spektrometrija prikladna je metoda za određivanje ukupnog selena (Do i sur, 2001). Za analizu vrsta selena koristi se HPLC-induktivno spregnuta plazma (Dumont i sur., 2006).

Selen se u pšeničnom brašnu nalazi velikim dijelom u obliku selenometionina (Warburton i Goenaga-Infante, 2007) koji predstavlja učinkovit oblik selena za povećanje sadržaja u serumu i drugim pokazateljima statusa selena (Stangoulis i Graham, 2003). Budući da se selen minimalno gubi iz zrna tijekom procesa mljevenja i pečenja, biofortifikacija smatra se učinkovitim procesom povećanja unosa bioraspoloživog selena kod populacije s pomanjkanjem tog elementa u prehrani (Hart i sur., 2011).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Ciljevi istraživanja ove disertacije bili su:

- ispitati utjecaj različitih temperaturnih režima ekstruzije na fizikalna, kemijska, reološka i senzorska svojstva ekstrudiranih proizvoda;
- ispitati utjecaj različitih udjela dodane pšenice agrofortificirane selenom i cinkom na fizikalna, kemijska, reološka i senzorna svojstva ekstrudiranih proizvoda;
- ispitati utjecaj ekstruzije na biodostupnost cinka i selena u ekstrudiranim proizvodima s dodatkom agrofortificirane pšenice.

Da bi se uspješno realizirali ciljevi ove doktorske disertacije, provedene su sljedeće aktivnosti:

#### 1. Priprema sirovina, zamjesa i provedba ekstruzije

- upotreba kukuruzne krupice kao osnovne sirovine prikladne za proizvodnju snack proizvoda;
- upotreba agrofortificirane pšenice sa selenom i cinkom (razvijena na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek);
- mljevenje pšenice nakon sušenja na laboratorijskom mlinu IKA MF10 uz upotrebu sita otvora 2 mm;
- određivanje udjela suhe tvari u sirovinama (ISO 6540);
- priprema zamjesa za ekstruziju sastavljenih od kukuruzne krupice kao osnovne sirovine, uz dodatak pšenice agrofortificirane selenom i cinkom u udjelima 10 %, 20 %, 30 % i 40 %, te uzorka čiste kukuruzne krupice za kontrolu. Zamjesi su pripremljeni pomoću laboratorijskog miksera, pri čemu im se podesila vlažnost na 15 % dodatkom demineralizirane vode, nakon čega su čuvani preko noći u rashladnoj vitrini na temperaturi 4 °C kako bi se vlaga ravnomjerno rasporedila. Zamjesi su, prije ekstruzije, temperirani na sobnoj temperaturi;
- ekstruzija zamjesa u jednopužnom laboratorijskom ekstruderu 19/20 DN (Brabender GmbH, Duisburg, Njemačka), pri sljedećem režimu:
  - temperaturni profili: 140/170/170 °C, 150/180/180 °C i 160/190/190 °C

- konfiguracija puža: 4 : 1
- promjer sapnice: 4 mm;
- sušenje ekstrudata na sobnoj temperaturi i pakiranje dijela ekstrudata u vrećice sa zatvaračem za fizikalne analize i senzorska svojstva te mljevenje preostalog dijela ekstrudata na laboratorijskom mlinu (IKA MF10) uz upotrebu sita otvora 2 mm za kemijske analize i određivanje reoloških svojstava.

#### 2. Određivanje fizikalnih svojstava

- ekspanzijski omjer ekstrudata – računski, iz podataka o promjeru ekstrudata i sapnice;
- nasipna masa ekstrudata – računski, iz podataka o duljini, promjeru i masi ekstrudata;
- tvrdoća i lomljivost ekstrudata pomoću analizatora teksture (TA.XT2 Plus, Stable Micro System), uz primjenu metode za mjerenje tvrdoće i lomljivosti štapića pomoću noža;
- boja zamjesa i ekstrudata pomoću kromametra (Konica Minolta CR-300) s nastavkom za praškaste materijale u sustavima CIELab i LCh.

#### 3. Određivanje reoloških svojstava neekstrudiranih i ekstrudiranih uzoraka

- određivanje viskoznosti brašna Brabenderovim mikroviskoamilografom.

#### 4. Određivanje kemijskih svojstava zamjesa i ekstrudata:

- suha tvar (ISO 6540);
- udio pepela (ISO 5984);
- udio masti (ISO 6492);
- udio proteina (ISO 5983-2);
- određivanje udjela škroba - polarimetrijska metoda (ISO 6493:2000);
- određivanje stupnja oštećenosti škroba (AACC 76-31.01).

#### 5. Određivanje biodostupnosti cinka i selena u zamjesima i ekstrudatima

- simulacija probave *in vitro* prema metodi po Kiersu (Kiers i sur., 2000);
- utvrđivanje koncentracije selena i cinka induktivno spregnutom plazmom optičkom emisijskom spektrometrijom (ICP-OES).

#### 6. Određivanje senzorskih svojstava ekspandiranih proizvoda

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

## 3.2. MATERIJAL

U istraživanju korišteni su sljedeći materijali:

- kukuruzna krupica darovana iz mlina Đakovo, tvrtke Žito d.o.o. Osijek, proizvedena u 2014. godini;
- biofortificirana pšenica sa selenom i cinkom darovana s Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, dobivena iz vegetacijskog pokusa provedenog s trima sortama pšenice (Divana, Srpanjka i Simonida) u vegetaciji 2011./2012.

## 3.3. METODE

### 3.3.1. Priprema sirovina i zamjesa za ekstruziju

Kukuruzna krupica korištena je u obliku darovanom iz mlina bez naknadne obrade, a prethodno osušena biofortificirana pšenica samljevena je na laboratorijskom mlinu (IKA MF10 Staufen, Njemačka), (**Slika 7**), kroz sito otvora 2 mm. Nakon pripreme sirovina, određen im je udio suhe tvari (ISO 6540).



**Slika 7** Laboratorijski mlin IKA MF10 (Jozinović, 2015)

Za pripremu zamjesa za proces ekstruzije korištena je kukuruzna krupica kao osnovna sirovina kojoj je dodana pšenica agrofortificirana selenom ili cinkom pojedinačno u udjelima 10, 20, 30 i 40 % s. tv. Zamjesi su napravljeni u laboratorijskom mikseru uz upotrebu demineralizirane vode u svrhu podešavanja vlažnosti zamjesa na 15 %. Pripremljeni zamjesi ostavljeni su preko noći u rashladnoj vitrini na temperaturi 4 °C kako bi došlo do ravnomjernog raspoređivanja vlage unutar njih. Prije procesa ekstruzije zamjesi su temperirani na sobnu temperaturu, a dio njih odvojen je u vrećice sa zatvaračem i čuvan dalje na 4 °C za daljnju analizu u neekstrudiranom stanju.

#### **3.3.2. Ekstruzija**

Proces ekstruzije prethodno pripremljenih zamjesa proveden je u jednopužnom laboratorijskom ekstruderu (19/20 DN, Brabender GmbH, Duisburg, Njemačka) (**Slika 8**), pri sljedećem režimu:

- temperaturni profili: 140/170/170 °C, 150/180/180 °C i 160/190/190 °C;
- konfiguracija puža: 4 : 1;
- promjer sapnice: 4 mm.

Dobiveni ekstrudati ostavljeni su preko noći na sušenje pri sobnoj temperaturi, nakon čega je jedan dio ekstrudata zapakiran u vrećice sa zatvaračem za daljnje određivanje fizikalnih i senzorskih svojstva, a drugi dio samljeven je na laboratorijskom mlinu (IKA MF10) upotrebom sita otvora 2 mm. Uzorci ekstrudata, nakon mljevenja, zapakirani su u vrećice sa zatvaračem i ostavljeni na temperaturi 4 °C do određivanja kemijskih analiza, reoloških svojstava te biodostupnosti selena i cinka.





**Slika 8** Laboratorijski jednopužni ekstruder Brabender 19/20 DN

### 3.3.3. Određivanje fizikalnih svojstava

#### 3.3.3.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO)

Uzorcima suhих ekstrudata izmjeren je promjer pomoću pomičnog mjerača (u milimetrima). Mjerenje je provedeno u pet ponavljanja za svaki uzorak te se računski dobije ekspanzijski omjer koji predstavlja omjer promjera ekstrudata i promjera sapnice ekstrudera (4 mm) (Brnčić i sur., 2008) **(1)**. Rezultati mjerenja izraženi su kao srednja vrijednost sa standardnom devijacijom i prikazani su grafički.

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

gdje je:

EO – ekspanzijski omjer,

$d_e$  – promjer ekstrudata [mm],

$d_s$  – promjer sapnice [mm].

#### 3.3.3.2. Nasipna masa ekstrudata (BD)

Nasipna masa određena je prema metodi Alvarez-Martinez i sur. (1988.), gdje se nasipna masa ekstrudata odredi računski prema formuli **(2)**:

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

gdje je:

BD – nasipna masa ekstrudata [ $\text{gcm}^{-3}$ ],

m – masa ekstrudata [g],

d – promjer ekstrudata [cm],

L – dužina ekstrudata [cm].

#### **3.3.3.3. Tekstura (tvrdoća i lomljivost) ekstrudata**

Tvrdoća i lomljivost ekstrudata određeni su na analizatoru teksture (TA.XT2 Plus, Stable Micro System, Velika Britanija), (**Slika 9**), primjenom metode za mjerenje tvrdoće (N) i lomljivosti (mm) štapića pomoću noža. Mjerenje je provedeno u 10 paralelnih mjerenja, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost sa standardnom devijacijom te su prikazani i grafički.



**Slika 9** Analizator teksture TA.XT2 Plus, Stable Micro System

Ekstrudati su prilikom testiranja izloženi sljedećim parametrima:

- brzina prije mjerenja:  $1,0 \text{ mms}^{-1}$ ;
- brzina za vrijeme mjerenja:  $1,0 \text{ mms}^{-1}$ ;
- brzina nakon mjerenja:  $10 \text{ mms}^{-1}$ ;
- put noža: 3 mm.

### 3.3.3.4. Boja zamjesa i ekstrudata

Za određivanje boje prethodno samljevenih ekstrudata, kao i neekstrudiranih smjesa, korišten je kromametar (Konica Minolta CR-400), (**Slika 10**), s nastavkom za praškaste materijale. Mjerenja boje određivana su u sustavima CIELab i LCh uz prethodno kalibriranje kromametra pomoću bijele kalibracijske pločice.



**Slika 10** Kromametar Konica Minolta CR-400 (Jozinović, 2015)

Svaki uzorak mjereno je u pet ponavljanja u sustavima Lab i LCh, određena je srednja vrijednost sa standardnom devijacijom, a rezultati su prikazani tablično. Ukupna promjena boje izračunavana je prema formuli **(3)**:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (b - b_0)^2 + (a - a_0)^2} \quad (3)$$

gdje je:

$\Delta E$  – ukupna promjena boje; određena računski iz formule **(3)** (Jozinović i sur., 2012),

$L^*$  - svjetlina (engl. *Luminosity*),

$a^*$  - pozitivne vrijednosti u domeni crvene su boje, a negativne vrijednosti u domeni zelene su boje,

$b^*$  - pozitivne vrijednosti u domeni žute su boje, a negativne vrijednosti u domeni plave su boje,

parametri s indeksom „0“ označavaju vrijednosti boje za kontrolni neekstrudirani uzorak kukuruzne krupice.

### 3.3.3.5. **Određivanje viskoznosti brašna Brabenderovim viskografom**

Viskoznost je određivana pomoću Brabenderovog Mikro visko-amilografa, (Brabender, Duisburg, Njemačka), (**Slika 11**), po metodi Jozinović i sur. (2012).



**Slika 11** Brabenderov Mikro visko-amilograf

Prema navedenoj metodi uzorci su izvagani u posudu Brabenderovog Mikro visko-amilografa da bi se dobilo 115 g vodene suspenzije s 14 % s. tv. Prilikom mjerenja uzorci prolaze sljedeći temperaturni program:

- zagrijavanje 30 – 92 °C, brzina zagrijavanja 7,5 °Cmin<sup>-1</sup>;
- izotermno zadržavanje na 92 °C, 5 minuta;
- hlađenje 92 – 50 °C, brzina hlađenja 7,5 °Cmin<sup>-1</sup>;
- izotermno zadržavanje na 50 °C, 1 minuta.

Prilikom mjerenja mjerno tijelo okreće se brzinom od 250 okretaja min<sup>-1</sup>, pri čemu se očitavaju sljedeći parametri:

1. početna temperatura želatinizacije škroba [°C];
2. viskoznost vrha – predstavlja maksimalnu vrijednost viskoznosti nastale želatinizacijom škroba, izražava se 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 – dobije se računski oduzimanjem vrijednosti viskoznosti nakon 5 minuta miješanja na 92 °C od vrijednosti viskoznosti vrha i predstavlja stabilnost tijekom miješanja pri visokim temperaturama (92 °C) [BU];

8. „setback“ – dobije se računski oduzimanjem vrijednosti viskoznosti nakon 5 minuta miješanja na 92 °C od vrijednosti viskoznosti pri 50 °C i predstavlja sklonost škrobne paste retrogradaciji [BU].

### 3.3.4. Određivanje kemijskih svojstava

#### 3.3.4.1. Određivanje udjela suhe tvari (ISO 6540)

Udio suhe tvari određen je u laboratorijskom sušioniku s ventilacijom (Memmert UFE 500, Schwabach, Njemačka), (Slika 12). Uzorci sirovina, zamjesa i samljevenih ekstrudata, mase 5 g, sušeni su na temperaturi 130 °C do konstantne mase. Mjerenje se vrši u dvjema paralelama za svaki uzorak, a udio suhe tvari ( $W_{s.tv.}$ ) računa se prema formuli (4):

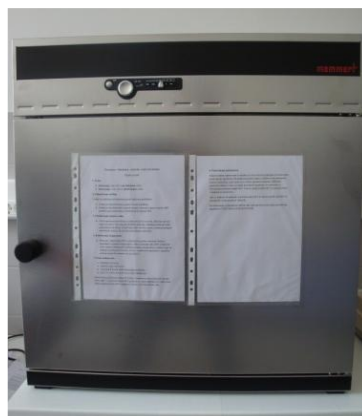
$$W_{s.tv.} [\%] = \frac{m_2}{m_1} \times 100 \quad (4)$$

gdje je:

$W_{s.tv.}$  – udio suhe tvari [%],

$m_2$  – masa uzorka prije sušenja [g],

$m_1$  – masa uzorka nakon sušenja [g].



**Slika 12** Laboratorijski sušionik Memmert UFE 500 (Jozinović, 2015)

### **3.3.4.2. Određivanje udjela pepela (ISO 5984)**

Udio pepela određen je spaljivanjem 5 g uzorka u mufolnoj peći na  $550 \pm 20$  °C do potpunog sagorijevanja organske tvari. Porculanski lončići prethodno se žare na temperaturi 550 °C u trajanju od 30 minuta, hlade i izvažu na analitičkoj vagi. Uzorak se, najprije, spaljuje na električnoj ploči do karboniziranja, a zatim se u mufolnoj peći (Nabertherm, Njemačka) žari na 550 °C u trajanju od 180 minuta (**Slika 13**). Lončići s uzorcima prvo se hlade 1 minutu, a potom prebace u eksikator na potpuno hlađenje te se važu na analitičkoj vagi. Svaki uzorak mjeri se u dvjema paralelama, a udio pepela računa se prema formuli:

$$W_A [\%] = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (5)$$

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].



**Slika 13** Mufolna peć (Jozinović, 2015)

### **3.3.4.3. Određivanje udjela masti (ISO 6492)**

Udio masti određen je ekstrakcijom u ekstraktoru po Soxhletu (**Slika 14**). Na prethodno osušenu i izvaganu tikvicu s kuglicama za vrenje stavlja se posuda za ekstrakciju s tuljkom u kojemu je izvagano 5 g uzorka, potom se dodaje petroleter za izvođenje ekstrakcije i posuda za ekstrakciju spoji se s hladilom. Otapalo se, zatim, predestilira, ostatak ispari na vodenoj kupelji, a tikvica se suši na 103 °C do konstantne mase. Ohlađeni uzorci, rađeni u dvjema paralelama, izvažu se na analitičkoj vagi. Udio masti računa se prema formuli (6):

$$W_M [\%] = \frac{m_M}{m_0} \times 100 \quad (6)$$

gdje je:

$w_M$  – udio masti [%],

$m_M$  – masa ekstrahirane masti [g],

$m_0$  – masa uzorka [g].



**Slika 14** Aparatura za ekstrakciju masti po Soxhletu (Jozinović, 2015)

**3.3.4.4. Određivanje udjela proteina (ISO 5983-2)**

Udio proteina određen je na uređaju Kjelttec TM 2300 (Foss, Danska). U Kjeldahl kivete za digestiju odvaži se 0,5 g uzorka te se, uz dodatak Kjeldahl tableta i 20 mL 96 %-tne H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, vrši spaljivanje na bloku za digestiju. Tim postupkom oslobađa se dušik u obliku NH<sub>3</sub> koji s H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> daje (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Destilacija se u destilacijskoj jedinici provodi djelovanjem lužine (NaOH), pri čemu se oslobađa amonijak koji se predestilira u tikvicu s H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, a potom slijedi titracija s 0,1 M HCl i izračuna se udio dušika prema formuli (7):

$$W_N [\%] = \frac{\{(a-b) \times C_{\text{kis}} \times f_{\text{kis}} \times 1,4007\}}{m_{\text{uzorka}}} \quad (7)$$

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<sup>-1</sup>],

$f$  – faktor kiseline,

$m$  – masa uzorka [g].

Udio proteina računa se iz dobivenog udjela dušika prema formuli (8):

$$W_p [\%] = W_N \times F \quad (8)$$

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 škroba – polarimetrijska metoda (ISO 6493:2000)**

Princip metode:

Škrob u uzorku razgrađuje se razrijeđenom kloridnom kiselinom, tako dolazi do želatinizacije i hidrolize otopljenog škroba. Proteini se iz smjese otklanjaju pomoću Carrezovih reagensa te se određuje optička aktivnost filtrirane otopine. Rezultati optičkih tvari koje nisu škrob korigiraju se za optičku aktivnost te se izračunava sadržaj škroba.

Postupak:

#### 1. Određivanje potrošnje kiseline

U Erlenmayerovu tikvicu odvaži se 2,5 g uzorka te doda 25 mL vode, nakon čega se sadržaj homogenizira. pH vrijednost korigira se pomoću kloridne kiseline ( $c = 0,31 \text{ mol/L}$ ) do  $\text{pH } 3,0 \pm 0,1$ . Ta pH vrijednost mora ostati stalna tijekom dviju minuta, a ukoliko se podigne iznad 3,1, utoliko se postupak ponavlja. Na kraju se izračunava ukupna množina kloridne kiseline koja je reagirala s uzorkom.

#### 2. Određivanje ukupne optičke aktivnosti

U odmjernu tikvicu od 100 mL odvaži se 2,5 g uzorka te se doda dva puta po 25 mL kloridne kiseline ( $c = 0,31 \text{ mol/L}$ ) i količina kiseline izračunata pod točkom 1. zbog kompenzacije utrošene kiseline. Tikvica se, zatim, uroni u kipuću vodenu kupelj na 15 minuta, uz snažnu trešnju prvih triju minuta kako bi se spriječilo taloženje uzorka na stijenke tikvice. Nakon 15 minuta doda se 30 mL hladne vode ( $T=10 \text{ }^\circ\text{C}$ ), a sadržaj tikvice dodatno se ohladi pod tekućom hladnom vodom. Potom se doda 5 mL Carrezovog reagensa II (10,6 g  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \times 3\text{H}_2\text{O}$  u 100 mL vode), uz protresanje kroz 1 minutu, te 5 mL Carrezovog reagensa I (21,91 g  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  i 3 g ledene octene kiseline u 100 mL vode), uz protresanje kroz 1 minutu. Tikvica se dopuni do oznake te se sadržaj filtrira, a prvih nekoliko mililitara filtrata odbaci se. Na polarimetru (cijevi dužine 200 mm) očita se optička aktivnost filtrata ( $\alpha_1$ ).

#### 3. Određivanje optičke aktivnosti komponenata uzorka topivih u etanolu

U odmjernu tikvicu od 100 mL odvaži se 5 g uzorka te doda dva puta po 40 mL etanola (40 % v/v). Potrebno je dodati i količinu kiseline izračunatu pod točkom 1., uz to da se volumen suspenzije uzorka ne promijeni za više od 1 mL. Suspenzija se protrese te, uz protresanje svakih 10 minuta, odstoji 1 sat na sobnoj temperaturi. Tikvica se dopuni etanolom do oznake, a sadržaj profiltrira, uz odbacivanje prvih nekoliko mililitara filtrata. U tikvicu od 100 mL

otpipetira se 50 mL filtrata i doda 2 mL kloridne kiseline ( $c = 7,73 \text{ mol/L}$ ). Sadržaj se kuha u vodenoj kupelji u trajanju od 15 minuta te se doda 30 mL hladne vode ( $T = 10 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Sadržaj se ohladi pod tekućom hladnom vodom te se dodaju Carezovi reagensi. Tikvica se dopuni vodom do oznake, sadržaj se filtrira i očitava se optička aktivnost ( $\alpha_2$ ).

#### 4. Kontrola polarimetra

Na seriju od 20 uzoraka potrebno je napraviti verifikaciju polarimetra provjerom optičke aktivnosti saharoze koja mora biti  $13,30 \pm 0,10$  pri  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Udio škroba u uzorku (g/kg) računa se prema formuli (9):

$$W = 20000 / \alpha_{D20} \cdot (2,5 \cdot \alpha_1 / m_1 - 5 \cdot \alpha_2 / m_2) \quad (9)$$

$m_1$  – masa uzorka u g izvagana pod točkom 2.,

$m_2$  – masa uzorka u g izvagana pod točkom 3.,

$\alpha_{D20}$  – specifična optička aktivnost čistog škroba, izražena u stupnjevima (za kukuruz 184,6).

#### **3.3.4.6. Određivanje stupnja oštećenosti škroba (AACC 76-31.01)**

Stupanj oštećenosti škroba određen je uz pomoć Megazyme enzimskih kitova. Korištena je metoda hidrolize oštećenih škrobnih granula uzorka djelovanjem fungalne  $\alpha$ -amilaze pri  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  kroz 10 minuta. Enzimska hidroliza prekida se dodavanjem razrijeđene sulfatne kiseline nakon 10 minuta na  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Uzorak se centrifugira pri 3000 okretaja  $\text{min}^{-1}$  tijekom 5 minuta, a alikvot supernatanta tretira se pročišćenom amiloglukozidazom. Glukoza nastala tom reakcijom reagira s GOPOD reagensom, a intenzitet obojenja određuje se spektrofotometrijski pri 510 nm.

Stupanj oštećenosti škroba izračunava se prema formuli (10):

$$DS [\%] = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 5,4 \quad (10)$$

gdje je:

DS - stupanj oštećenosti škroba [%],

$\Delta E$  - razlika apsorbance uzorka i apsorbance slijepe probe,

F - konverzija apsorbance u  $\mu\text{g}$  ( $F = 150 \text{ } (\mu\text{g glukoze}) / \text{apsorbanca GOPOD sa } 150 \mu\text{g gukoze}$ ),

$W$  - masa suhe tvari uzorka = masa uzorka  $\times$  udio suhe tvari,

5,4 - faktor koji pretvara slobodnu glukozu, koja se detektira, u bezvodnu glukozu koja se nalazi u škrobu.

### 3.3.5. Određivanje biodostupnosti cinka i selena u zamjesima i ekstrudatima

#### 3.3.5.1 Simulacija probave in vitro prema metodi po Kiersu

Ova metoda zasniva se na simulaciji probave u ustima, želucu i crijevima. U 5 g uzorka, prethodno suspendiranog u destiliranoj vodi, dodana je otopina usta, koja se sastoji od 2 mL  $\alpha$ -amilaze (s 12.500 jedinica), zatim  $1,5 \text{ g/L}^{-1}$  NaCl,  $1,5 \text{ g/L}^{-1}$   $\text{K}_2\text{HPO}_4$  i  $0,5 \text{ g/L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (pH 7,0). Uzorci se inkubiraju tijekom 30 minuta na  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  u vodenoj kupelji s treskalicom (**Slika 15**). Uzorak se, zatim, podešava na pH 4,0, upotrebom 5M HCl. Suspenzije se inkubiraju s 8 mL otopine želuca ( $0,1 \text{ g/L}^{-1}$  lipaze,  $0,125 \text{ g/L}^{-1}$  pepsina,  $3,1 \text{ g/L}^{-1}$  NaCl,  $1,1 \text{ g/L}^{-1}$  KCl,  $0,6 \text{ g/L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $0,11 \text{ g/L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$ , pri pH 4,0) tijekom 1 h na  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . pH se s  $\text{NaHCO}_3$  podešava na 6,0. U uzorke se, zatim, dodaje 10 mL 2 % otopine gušterače ( $20,0 \text{ g/L}^{-1}$  pankreatina,  $5,0 \text{ g/L}^{-1}$  žuči,  $5,0 \text{ g/L}^{-1}$  NaCl,  $0,68 \text{ g/L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $0,3 \text{ g/L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $0,84 \text{ g/L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$ ) i inkubiraju se tijekom 30 minuta na  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Uzorci su centrifugirani na 3000 okretaja tijekom 15 minuta na  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . U epruvete je prelivena tekuća faza uzorka za spektrometriju.



**Slika 15** Vodena kupelj s treskalicom GFL 1092 (<https://www.wotol.com/product/gfl-1092-shaking-water-bath/2148652>) (1. 4. 2022.)

### 3.3.5.2. **Određivanje koncentracije cinka i seleno induktivno spregnutom plazmom s masenom spektrometrijom (ICP – OES)**

Induktivno spregnuta plazma s masenom spektrometrijom predstavlja metodu koja se koristi za mjerenje količine metala i metaloida u uzorcima biološkog porijekla. Koncentracije cinka i seleno u uzorcima nakon provedene simulacije probave *in vitro*, kao i koncentracija ukupnog udjela tih elemenata, utvrđene su pomoću induktivno spregnute plazme - optičko emisijske spektrometrije (ICP-OES), proizvođača Perkin Elmer (model: Optima 2100 DV) (**Slika 16**).



**Slika 16** ICP-AES Optima 2100 DV

(<http://www.speciation.net/Database/Instruments/PerkinElmer-Inc/Optima-2100-DV-;i185>) (1. 4. 2022.)

### 3.3.6. **Određivanje senzorskih svojstava**

Određivanje senzorskih svojstava uzoraka provedeno je u tvornici Karolina d.o.o. Osijek, prema metodi kvantitativnih skala odgovora (ISO 4121:2003). Ocjenjivao se vanjski izgled, struktura, konzistencija, miris i okus, a ocjenjivanje je provodio panel od 10 treniranih ocjenjivača.

### 3.3.7. **Statistička obrada podataka**

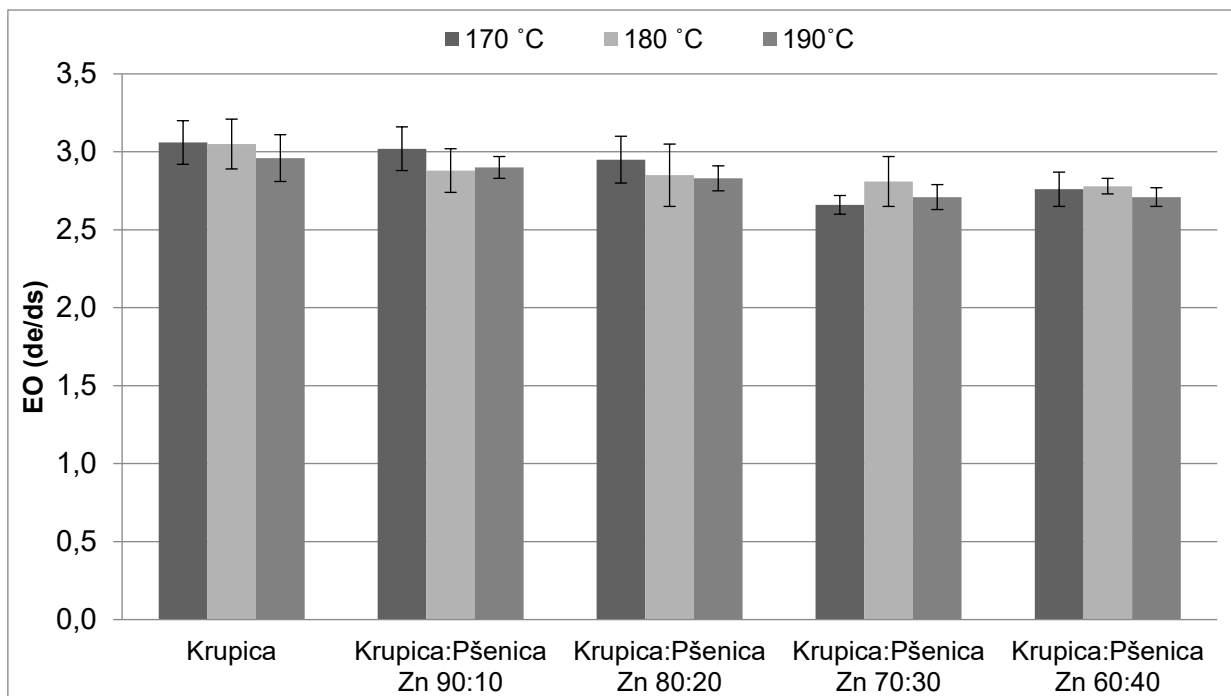
Dobiveni podaci statistički su obrađeni u programu Statistica 10 (StatSoft) i Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft). Od statističkih metoda u programu Statistica 10 korištene su analiza varijance (ANOVA) i Fischerov test najmanje značajne razlike (LSD) s faktorom značajnosti na razini 95 % ( $p < 0,05$ ).



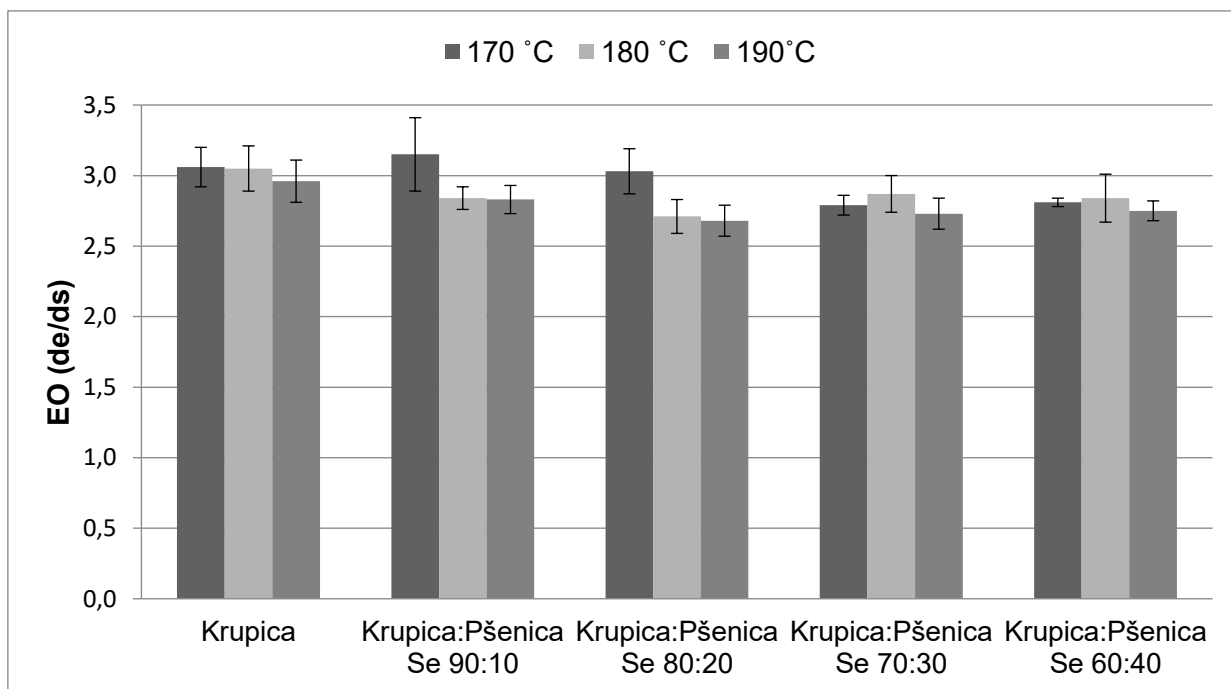
## **4. REZULTATI**

## 4.1. FIZIKALNA SVOJSTVA

### 4.1.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO)

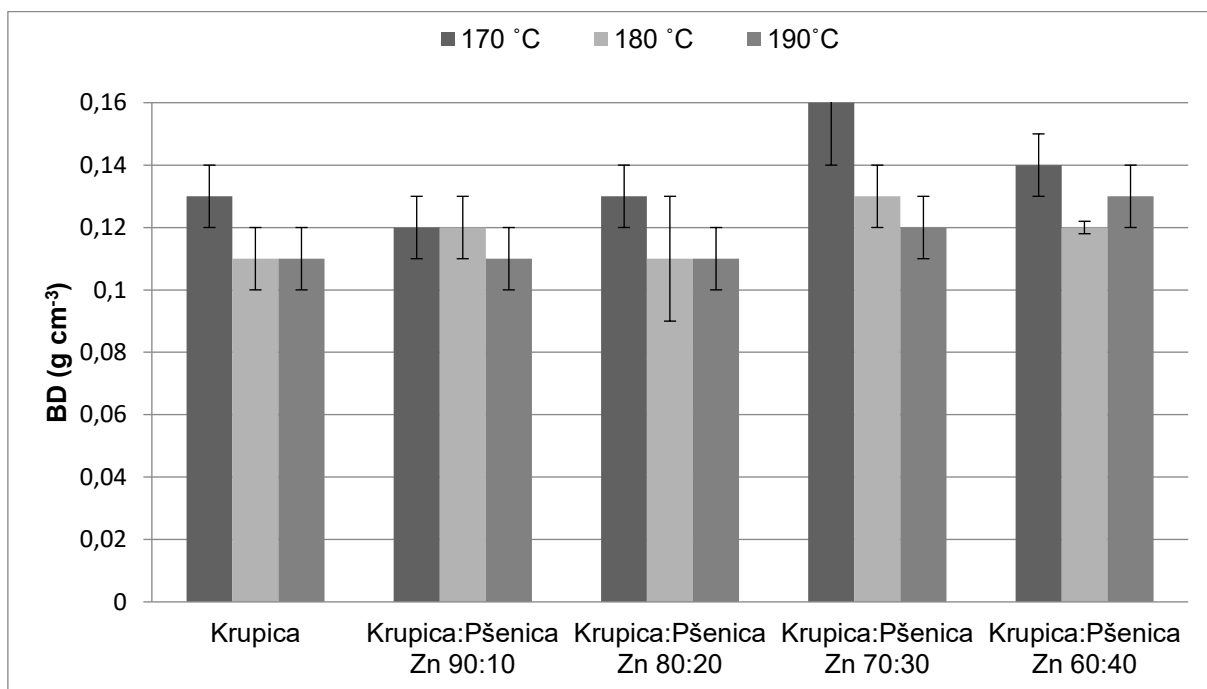


**Slika 17** Utjecaj dodatka pšenice fortificirane cinkom na ekspanzijski omjer (EO) kukuruznih ekstrudata

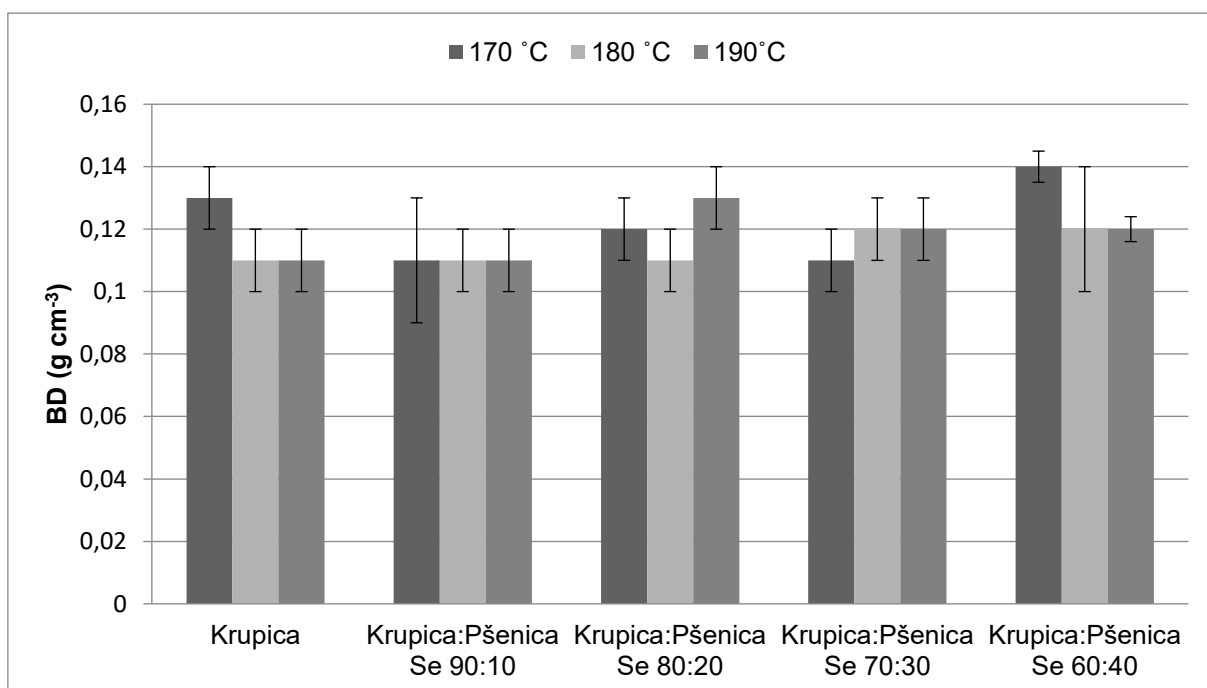


**Slika 18** Utjecaj dodatka pšenice fortificirane selenom na ekspanzijski omjer (EO) kukuruznih ekstrudata

## 4.1.2. Nasipna masa ekstrudata (BD)



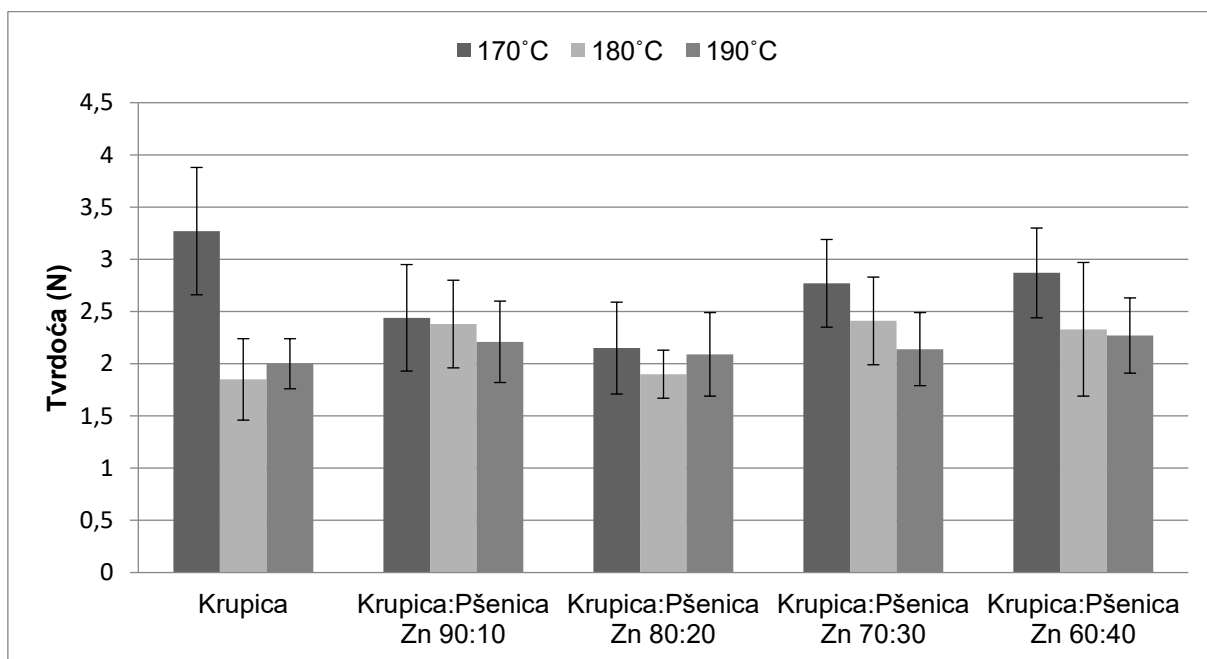
Slika 19 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane cinkom na nasipnu gustoću (BD) kukuruznih ekstrudata



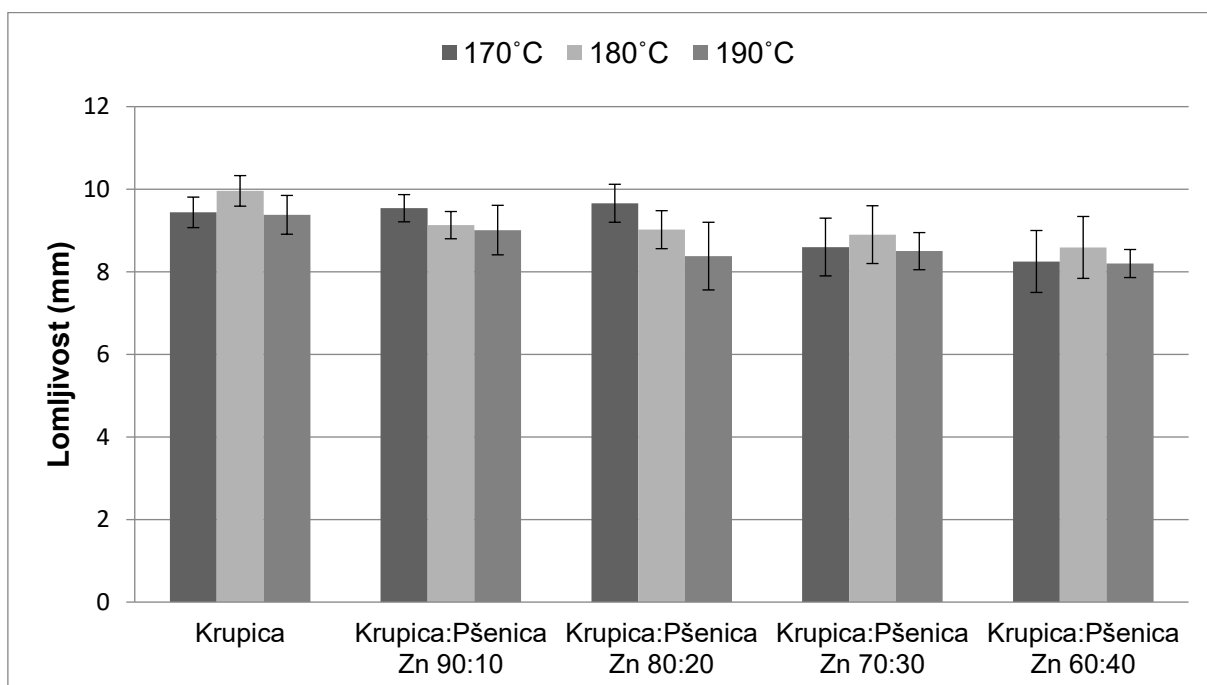
Slika 20 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane selenom na nasipnu gustoću (BD) kukuruznih ekstrudata



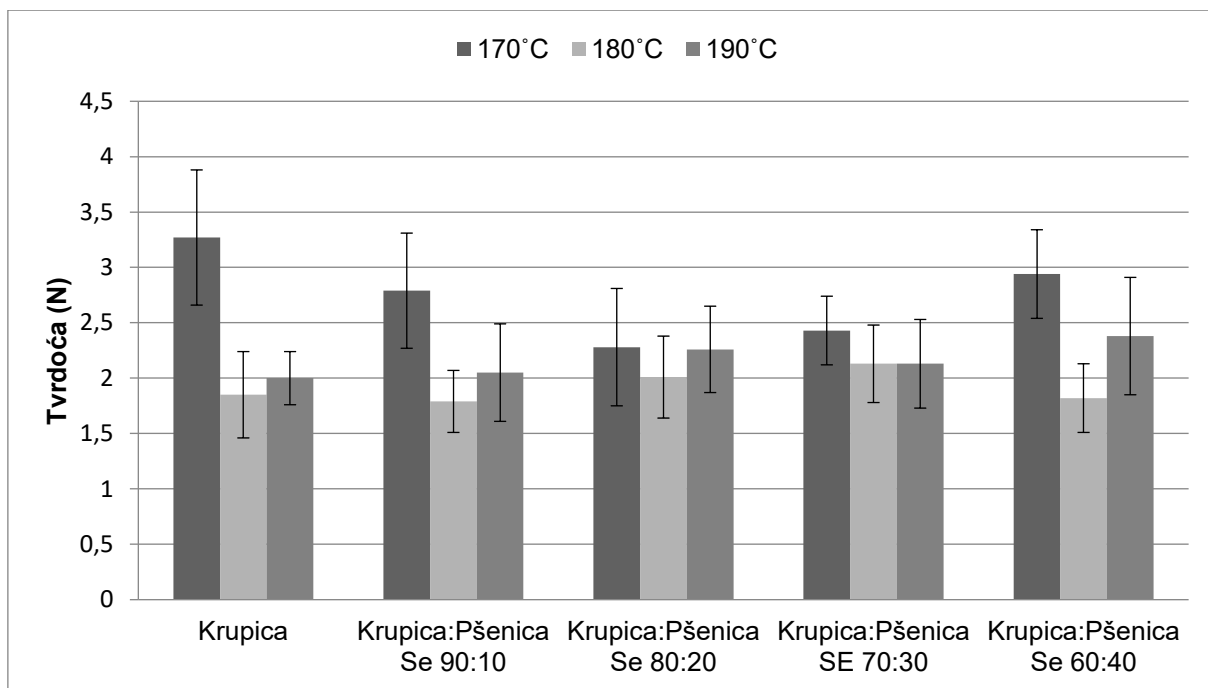
## 4.1.3. Tekstura (tvrdoća i lomljivost) ekstrudata



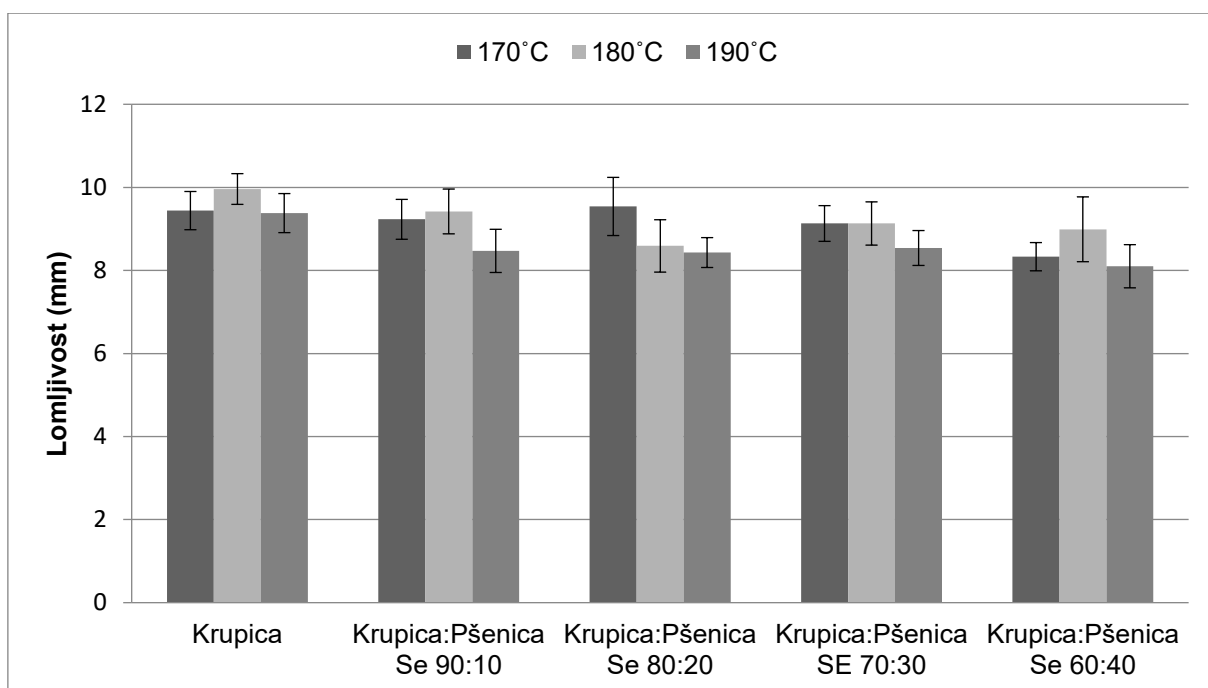
Slika 21 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane cinkom na tvrdoću kukuruznih ekstrudata



Slika 22 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane cinkom na lomljivost kukuruznih ekstrudata



Slika 23 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane selenom na tvrdoću kukuruznih ekstrudata



Slika 24 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane selenom na lomljivost kukuruznih ekstrudata

## 4.1.4. Boja zamjesa i ekstrudata

Tablica 1 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane cinkom na boju zamjesa

Uzorak	NEEKSTRUĐIRANO						ΔE
	L*	a*	b*	C	h°		
Kukuruzna krupica	64,92 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,47 ± 0,20 <sup>c</sup>	36,13 ± 0,81 <sup>d</sup>	36,16 ± 0,81 <sup>d</sup>	87,68 ± 0,27 <sup>a</sup>		
Krupica:Pšenica Zn 90:10	62,56 ± 0,12 <sup>c</sup>	1,45 ± 0,07 <sup>c</sup>	34,30 ± 0,17 <sup>c</sup>	34,33 ± 0,17 <sup>c</sup>	87,58 ± 0,13 <sup>a</sup>		2,99
Krupica:Pšenica Zn 80:20	60,33 ± 0,49 <sup>b</sup>	0,85 ± 0,18 <sup>a</sup>	28,15 ± 0,69 <sup>b</sup>	28,14 ± 0,68 <sup>b</sup>	88,27 ± 0,39 <sup>b</sup>		9,23
Krupica:Pšenica Zn 70:30	60,66 ± 0,17 <sup>b</sup>	1,12 ± 0,16 <sup>b</sup>	28,70 ± 0,53 <sup>b</sup>	28,72 ± 0,53 <sup>b</sup>	87,77 ± 0,30 <sup>a,b</sup>		8,58
Krupica:Pšenica Zn 60:40	59,55 ± 0,43 <sup>a</sup>	1,04 ± 0,25 <sup>a,b</sup>	23,29 ± 0,22 <sup>a</sup>	23,31 ± 0,21 <sup>a</sup>	87,44 ± 0,64 <sup>a</sup>		13,93

Tablica 2 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane cinkom na boju ekstrudata

Uzorak	L*	a*	b*	C	h°	ΔE
Kukuruzna krupica	65,09 ± 0,29 <sup>e</sup>	-2,45 ± 0,09 <sup>a</sup>	35,34 ± 0,28 <sup>e</sup>	35,42 ± 0,28 <sup>e</sup>	93,96 ± 0,12 <sup>d</sup>	4,00
Krupica:Pšenica Zn 90:10	63,33 ± 0,20 <sup>d</sup>	-2,04 ± 0,05 <sup>b</sup>	30,98 ± 0,08 <sup>d</sup>	31,05 ± 0,08 <sup>d</sup>	93,76 ± 0,09 <sup>d</sup>	6,43
Krupica:Pšenica Zn 80:20	62,18 ± 1,28 <sup>c</sup>	-1,33 ± 0,13 <sup>c</sup>	27,05 ± 0,09 <sup>c</sup>	27,08 ± 0,09 <sup>c</sup>	92,80 ± 0,26 <sup>c</sup>	9,89
Krupica:Pšenica Zn 70:30	57,38 ± 0,13 <sup>a</sup>	-0,23 ± 0,07 <sup>d</sup>	24,45 ± 0,25 <sup>b</sup>	24,45 ± 0,25 <sup>b</sup>	90,55 ± 0,16 <sup>b</sup>	14,01
Krupica:Pšenica Zn 60:40	61,59 ± 0,05 <sup>b</sup>	-1,12 ± 0,07 <sup>d</sup>	24,41 ± 0,08 <sup>a</sup>	24,44 ± 0,08 <sup>a</sup>	92,63 ± 0,16 <sup>a</sup>	12,45
EKSTRUDIRANO 180 °C						
Kukuruzna krupica	64,43 ± 0,23 <sup>d</sup>	-2,58 ± 0,06 <sup>a</sup>	35,07 ± 0,10 <sup>e</sup>	35,17 ± 0,11 <sup>e</sup>	94,22 ± 0,10 <sup>c</sup>	4,22
Krupica:Pšenica Zn 90:10	64,95 ± 0,11 <sup>e</sup>	-2,54 ± 0,04 <sup>a</sup>	31,52 ± 0,22 <sup>d</sup>	31,53 ± 0,22 <sup>d</sup>	94,62 ± 0,04 <sup>d</sup>	6,11
Krupica:Pšenica Zn 80:20	61,88 ± 0,03 <sup>b</sup>	-1,25 ± 0,09 <sup>b</sup>	26,75 ± 0,23 <sup>c</sup>	26,74 ± 0,27 <sup>c</sup>	92,67 ± 0,19 <sup>b</sup>	10,23
Krupica:Pšenica Zn 70:30	62,38 ± 0,07 <sup>c</sup>	-1,89 ± 0,09 <sup>c</sup>	25,30 ± 0,17 <sup>b</sup>	25,37 ± 0,17 <sup>b</sup>	94,26 ± 0,19 <sup>c</sup>	11,62
Krupica:Pšenica Zn 60:40	59,16 ± 0,09 <sup>a</sup>	-0,67 ± 0,10 <sup>d</sup>	21,29 ± 0,10 <sup>a</sup>	21,29 ± 0,10 <sup>a</sup>	91,81 ± 0,28 <sup>a</sup>	16,07
EKSTRUDIRANO 190 °C						
Kukuruzna krupica	67,15 ± 0,16 <sup>e</sup>	-2,52 ± 0,04 <sup>a</sup>	34,51 ± 0,16 <sup>e</sup>	34,60 ± 0,16 <sup>e</sup>	94,18 ± 0,07 <sup>d</sup>	4,86
Krupica:Pšenica Zn 90:10	63,70 ± 0,52 <sup>d</sup>	-2,11 ± 0,12 <sup>b</sup>	30,27 ± 0,06 <sup>d</sup>	30,34 ± 0,06 <sup>d</sup>	93,98 ± 0,23 <sup>c,d</sup>	6,97
Krupica:Pšenica Zn 80:20	63,08 ± 0,41 <sup>c</sup>	-1,53 ± 0,13 <sup>c</sup>	23,16 ± 0,27 <sup>b</sup>	23,22 ± 0,28 <sup>b</sup>	93,77 ± 0,29 <sup>c</sup>	13,43
Krupica:Pšenica Zn 70:30	62,27 ± 0,33 <sup>b</sup>	-1,42 ± 0,14 <sup>c</sup>	25,89 ± 0,06 <sup>c</sup>	25,93 ± 0,07 <sup>c</sup>	93,12 ± 0,32 <sup>b</sup>	10,96
Krupica:Pšenica Zn 60:40	60,04 ± 0,26 <sup>a</sup>	-0,83 ± 0,03 <sup>d</sup>	20,55 ± 0,10 <sup>a</sup>	20,57 ± 0,09 <sup>a</sup>	92,32 ± 0,07 <sup>a</sup>	16,49

**Tablica 3** Utjecaj dodatka pšenice fortificirane selenom na boju zamjesa

Uzorak	NEEKSTRUDIRANO					
	L*	a*	b*	C	h°	ΔE
Kukuruzna krupica	64,92 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,47 ± 0,20 <sup>a</sup>	36,13 ± 0,81 <sup>d</sup>	36,16 ± 0,81 <sup>d</sup>	87,69 ± 0,27 <sup>b</sup>	
Krupica:Pšenica Se 90:10	62,81 ± 0,20 <sup>d</sup>	1,70 ± 0,18 <sup>b</sup>	33,85 ± 0,94 <sup>c</sup>	33,88 ± 0,98 <sup>c</sup>	87,02 ± 0,42 <sup>c</sup>	3,11
Krupica:Pšenica Se 80:20	62,49 ± 0,18 <sup>c</sup>	1,64 ± 0,10 <sup>a,b</sup>	33,09 ± 0,15 <sup>c</sup>	33,13 ± 0,15 <sup>c</sup>	87,16 ± 0,17 <sup>c</sup>	3,90
Krupica:Pšenica Se 70:30	59,55 ± 0,24 <sup>b</sup>	2,22 ± 0,15 <sup>c</sup>	27,38 ± 0,43 <sup>b</sup>	27,47 ± 0,43 <sup>b</sup>	85,37 ± 0,28 <sup>b</sup>	10,29
Krupica:Pšenica Se 60:40	57,90 ± 0,24 <sup>a</sup>	2,84 ± 0,14 <sup>d</sup>	24,52 ± 0,39 <sup>a</sup>	24,69 ± 0,39 <sup>a</sup>	83,39 ± 0,34 <sup>a</sup>	13,63

Tablica 4 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane selenom na boju ekstrudata

Uzorak	L*	a*	b*	C	h°	ΔE
Kukuruzna krupica	65,09 ± 0,29 <sup>d</sup>	-2,45 ± 0,09 <sup>a</sup>	35,34 ± 0,28 <sup>e</sup>	35,42 ± 0,28 <sup>e</sup>	93,96 ± 0,12 <sup>c</sup>	4,00
Krupica:Pšenica Se 90:10	63,32 ± 0,25 <sup>c</sup>	-2,27 ± 0,09 <sup>b</sup>	32,00 ± 0,32 <sup>d</sup>	32,08 ± 0,32 <sup>d</sup>	94,05 ± 0,13 <sup>c</sup>	5,79
Krupica:Pšenica Se 80:20	63,02 ± 0,12 <sup>c</sup>	-1,85 ± 0,13 <sup>c</sup>	30,12 ± 0,12 <sup>c</sup>	30,17 ± 0,12 <sup>c</sup>	93,59 ± 0,11 <sup>b</sup>	7,13
Krupica:Pšenica Se 70:30	59,96 ± 0,44 <sup>a</sup>	-1,15 ± 0,18 <sup>d</sup>	27,51 ± 0,23 <sup>b</sup>	27,53 ± 0,24 <sup>b</sup>	92,40 ± 0,36 <sup>a</sup>	10,28
Krupica:Pšenica Se 60:40	61,59 ± 0,05 <sup>b</sup>	-1,12 ± 0,07 <sup>d</sup>	24,41 ± 0,08 <sup>a</sup>	24,44 ± 0,08 <sup>a</sup>	92,63 ± 0,16 <sup>a</sup>	12,45
EKSTRUDIRANO 180 °C						
Kukuruzna krupica	64,43 ± 0,23 <sup>d</sup>	-2,58 ± 0,06 <sup>a</sup>	35,07 ± 0,10 <sup>e</sup>	35,17 ± 0,11 <sup>e</sup>	94,22 ± 0,10 <sup>c</sup>	4,22
Krupica:Pšenica Se 90:10	63,21 ± 0,12 <sup>c</sup>	-1,62 ± 0,05 <sup>b</sup>	31,27 ± 0,09 <sup>d</sup>	31,31 ± 0,08 <sup>d</sup>	92,97 ± 0,10 <sup>b</sup>	6,01
Krupica:Pšenica Se 80:20	62,95 ± 0,37 <sup>b,c</sup>	-1,34 ± 0,11 <sup>c</sup>	27,91 ± 0,36 <sup>c</sup>	27,95 ± 0,36 <sup>c</sup>	92,75 ± 0,23 <sup>b</sup>	8,90
Krupica:Pšenica Se 70:30	62,70 ± 0,21 <sup>b</sup>	-1,25 ± 0,13 <sup>c</sup>	26,12 ± 0,11 <sup>b</sup>	26,16 ± 0,28 <sup>b</sup>	92,74 ± 0,26 <sup>b</sup>	10,71
Krupica:Pšenica Se 60:40	60,34 ± 0,40 <sup>a</sup>	-0,39 ± 0,10 <sup>d</sup>	24,28 ± 0,28 <sup>a</sup>	24,28 ± 0,27 <sup>a</sup>	90,94 ± 0,24 <sup>a</sup>	12,84
EKSTRUDIRANO 190 °C						
Kukuruzna krupica	67,15 ± 0,16 <sup>e</sup>	-2,52 ± 0,04 <sup>a</sup>	34,51 ± 0,16 <sup>e</sup>	34,60 ± 0,16 <sup>e</sup>	94,18 ± 0,07 <sup>c</sup>	4,86
Krupica:Pšenica Se 90:10	64,37 ± 0,15 <sup>d</sup>	-2,26 ± 0,05 <sup>b</sup>	30,74 ± 0,07 <sup>d</sup>	30,82 ± 0,08 <sup>d</sup>	94,21 ± 0,09 <sup>c</sup>	6,58
Krupica:Pšenica Se 80:20	63,86 ± 0,25 <sup>c</sup>	-1,75 ± 0,18 <sup>c</sup>	28,33 ± 0,11 <sup>c</sup>	28,39 ± 0,12 <sup>c</sup>	93,54 ± 0,36 <sup>b</sup>	8,50
Krupica:Pšenica Se 70:30	62,47 ± 0,47 <sup>b</sup>	-1,52 ± 0,16 <sup>d</sup>	26,38 ± 0,27 <sup>b</sup>	26,41 ± 0,29 <sup>b</sup>	93,28 ± 0,30 <sup>b</sup>	10,49
Krupica:Pšenica Se 60:40	60,96 ± 0,44 <sup>a</sup>	-0,63 ± 0,11 <sup>e</sup>	22,91 ± 0,13 <sup>a</sup>	22,91 ± 0,13 <sup>a</sup>	91,58 ± 0,28 <sup>a</sup>	13,96

## 4.1.5. Reološka svojstva zamjesa i ekstrudata

Tablica 5 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane cinkom na viskoznost zamjesa

Uzorak	NEEKSTRUDIRANO							"Setback" (BU)
	Viskoznost vrha (BU)	Viskoznost pri 92 °C (BU)	Viskoznost nakon miješanja na 92 °C (BU)	Viskoznost pri 50 °C (BU)	Viskoznost nakon miješanja na 50 °C (BU)	Kidanje (BU)		
Kukuruzna krupica	45,25 ± 20,01 <sup>a</sup>	496,50 ± 21,92 <sup>d</sup>	92,00 ± 0,0 <sup>a</sup>	23,50 ± 6,36 <sup>a</sup>	499,00 ± 18,38 <sup>d</sup>	925,50 ± 12,02 <sup>b</sup>	878,50 ± 17,65 <sup>c</sup>	
Krupica:Pšenica Zn 90:10	35,40 ± 3,25 <sup>a</sup>	453,50 ± 7,78 <sup>c</sup>	91,30 ± 0,71 <sup>a</sup>	21,50 ± 9,19 <sup>a</sup>	449,50 ± 3,54 <sup>c</sup>	901,50 ± 10,61 <sup>b</sup>	898,00 ± 0,0 <sup>c,d</sup>	
Krupica:Pšenica Zn 80:20	60,25 ± 33,30 <sup>a</sup>	503,50 ± 0,71 <sup>d</sup>	92,15 ± 0,21 <sup>a</sup>	81,50 ± 2,12 <sup>b</sup>	500,50 ± 6,36 <sup>d</sup>	937,50 ± 27,58 <sup>b</sup>	932,00 ± 14,14 <sup>d</sup>	
Krupica:Pšenica Zn 70:30	65,25 ± 39,67 <sup>a</sup>	295,50 ± 17,68 <sup>a</sup>	92,20 ± 0,42 <sup>a</sup>	25,50 ± 36,06 <sup>a</sup>	301,00 ± 15,56 <sup>a</sup>	753,50 ± 10,61 <sup>a</sup>	706,50 ± 12,02 <sup>a</sup>	
Krupica:Pšenica Zn 60:40	34,25 ± 0,78 <sup>a</sup>	344,50 ± 12,02 <sup>b</sup>	91,85 ± 0,35 <sup>a</sup>	581 ± 4,24 <sup>a,b</sup>	336,50 ± 12,02 <sup>b</sup>	775,00 ± 9,90 <sup>a</sup>	807,00 ± 19,80 <sup>b</sup>	





**Tablica 7** Utjecaj dodatka pšenice fortificirane selenom na viskoznost zamjesa

Uzorak	NEEKSTRUDIRANO							
	Viskoznost vrha (BU)	Viskoznost pri 92 °C (BU)	Viskoznost nakon miješanja na 92 °C (BU)	Viskoznost pri 50 °C (BU)	Viskoznost nakon miješanja na 50 °C (BU)	Kidanje (BU)	“Setback” (BU)	
Kukuruzna krupica	45,25 ± 20,01 <sup>a</sup>	496,50 ± 21,92 <sup>c</sup>	92,00 ± 0,0 <sup>a,b</sup>	23,50 ± 6,36 <sup>a</sup>	499,00 ± 18,38 <sup>c</sup>	925,50 ± 12,02 <sup>b,c</sup>	878,50 ± 17,65 <sup>b</sup>	
Krupica:Pšenica Se 90:10	48,85 ± 8,27 <sup>a</sup>	481,00 ± 24,04 <sup>c</sup>	92,30 ± 0,14 <sup>b</sup>	37,00 ± 1,41 <sup>a</sup>	483,00 ± 22,63 <sup>c</sup>	998,00 ± 31,11 <sup>c</sup>	956,50 ± 34,65 <sup>c</sup>	
Krupica:Pšenica Se 80:20	61,40 ± 36,06 <sup>a</sup>	392,00 ± 42,43 <sup>b</sup>	91,50 ± 0,28 <sup>a</sup>	33,50 ± 27,58 <sup>a</sup>	284,50 ± 33,23 <sup>b</sup>	902,00 ± 33,94 <sup>b</sup>	863,50 ± 28,99 <sup>b</sup>	
Krupica:Pšenica Se 70:30	34,05 ± 1,20 <sup>a</sup>	328,00 ± 12,73 <sup>a,b</sup>	92,25 ± 0,49 <sup>b</sup>	50,50 ± 2,12 <sup>a</sup>	326,50 ± 13,44 <sup>a</sup>	783,00 ± 57,98 <sup>a</sup>	767,00 ± 21,21 <sup>a</sup>	
Krupica:Pšenica Se 60:40	75,55 ± 22,13 <sup>a</sup>	283,50 ± 16,26 <sup>a</sup>	92,60 ± 0,0 <sup>b</sup>	34,50 ± 14,85 <sup>a</sup>	287,00 ± 14,14 <sup>a</sup>	701,50 ± 23,33 <sup>a</sup>	712,00 ± 8,49 <sup>a</sup>	

Tablica 8 Utjecaj dodatka pšenice fortificirane selenom na viskoznost ekstrudata

Uzorak	Viskoznost vrha (BU)	Viskoznost pri 92 °C (BU)	Viskoznost nakon miješanja na 92 °C (BU)	Viskoznost pri 50 °C (BU)	Viskoznost nakon miješanja na 50 °C (BU)	Kidanje (BU)	"Setback" (BU)
Kukuruzna krupica	30,65 ± 0,07 <sup>a</sup>	132,00 ± 4,24 <sup>b</sup>	52,65 ± 0,92 <sup>b</sup>	57,00 ± 1,41 <sup>b</sup>	46,00 ± 4,24 <sup>b</sup>	170,50 ± 28,99 <sup>b</sup>	178,00 ± 28,28 <sup>b</sup>
Kr:Pš Se 90:10	33,40 ± 0,0 <sup>a</sup>	97,50 ± 4,95 <sup>b</sup>	49,75 ± 2,47 <sup>ab</sup>	19,00 ± 1,41 <sup>a</sup>	3,00 ± 0,0 <sup>a</sup>	146,00 ± 2,83 <sup>b</sup>	145,50 ± 0,71 <sup>b</sup>
Kr:Pš Se 80:20	31,65 ± 1,48 <sup>a</sup>	122,00 ± 26,87 <sup>b</sup>	50,85 ± 0,92 <sup>ab</sup>	50,50 ± 21,92 <sup>b</sup>	35,00 ± 22,63 <sup>b</sup>	164,50 ± 23,33 <sup>b</sup>	171,00 ± 21,21 <sup>b</sup>
Kr:Pš Se 70:30	37,50 ± 0,28 <sup>b</sup>	47,50 ± 10,61 <sup>a</sup>	46,60 ± 1,98 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	77,50 ± 0,71 <sup>a</sup>	85,00 ± 0,0 <sup>a</sup>
Kr:Pš Se 60:40	40,45 ± 3,18 <sup>b</sup>	41,50 ± 3,54 <sup>a</sup>	50,30 ± 2,12 <sup>ab</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	90,00 ± 4,24 <sup>a</sup>	92,00 ± 1,41 <sup>a</sup>
EKSTRUDIRANO 180 °C							
Kukuruzna krupica	31,40 ± 0,71 <sup>a</sup>	123,00 ± 12,73 <sup>b</sup>	49,15 ± 6,86 <sup>a</sup>	25,00 ± 8,49 <sup>b</sup>	11,50 ± 7,78 <sup>b</sup>	133,00 ± 31,11 <sup>c</sup>	138,00 ± 33,84 <sup>c</sup>
Kr:Pš Se 90:10	31,35 ± 0,07 <sup>a</sup>	107,00 ± 2,73 <sup>b,c</sup>	44,55 ± 2,90 <sup>a</sup>	5,00 ± 7,07 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	87,50 ± 9,19 <sup>ab,c</sup>	94,00 ± 9,90 <sup>b,c</sup>
Kr:Pš Se 80:20	35,00 ± 5,80 <sup>a</sup>	63,50 ± 28,99 <sup>b</sup>	39,45 ± 1,20 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	63,00 ± 16,97 <sup>ab</sup>	70,00 ± 16,97 <sup>ab</sup>
Kr:Pš Se 70:30	32,70 ± 2,12 <sup>a</sup>	81,50 ± 13,44 <sup>b,c</sup>	46,10 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,00 ± 11,31 <sup>ab</sup>	1,50 ± 2,12 <sup>a</sup>	109,00 ± 12,73 <sup>b,c</sup>	120,00 ± 7,07 <sup>b,c</sup>
Kr:Pš Se 60:40	34,75 ± 6,29 <sup>a</sup>	13,00 ± 18,38 <sup>a</sup>	36,30 ± 8,63 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	33,50 ± 28,99 <sup>a</sup>	35,50 ± 27,58 <sup>a</sup>
EKSTRUDIRANO 190 °C							
Kukuruzna krupica	30,75 ± 0,07 <sup>a</sup>	70,50 ± 2,12 <sup>b,c</sup>	42,65 ± 2,76 <sup>a</sup>	4,00 ± 5,66 <sup>a</sup>	8,00 ± 11,31 <sup>a</sup>	140,50 ± 14,85 <sup>c</sup>	146,00 ± 12,73 <sup>c</sup>
Kr:Pš Se 90:10	39,85 ± 1,77 <sup>a</sup>	26,00 ± 2,83 <sup>ab</sup>	45,05 ± 5,30 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	20,00 ± 28,28 <sup>a</sup>	22,00 ± 31,11 <sup>a</sup>
Kr:Pš Se 80:20	34,65 ± 0,07 <sup>a</sup>	86,00 ± 0,0 <sup>c</sup>	45,90 ± 2,69 <sup>a</sup>	1,50 ± 2,12 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	91,50 ± 19,09 <sup>b,c</sup>	96,00 ± 24,04 <sup>b,c</sup>
Kr:Pš Se 70:30	36,90 ± 8,06 <sup>a</sup>	11,00 ± 15,56 <sup>a</sup>	40,50 ± 13,72 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	70,00 ± 12,73 <sup>ab</sup>	77,00 ± 16,97 <sup>ab</sup>
Kr:Pš Se 60:40	37,00 ± 6,51 <sup>a</sup>	50,50 ± 34,65 <sup>ab,c</sup>	44,30 ± 4,81 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	50,50 ± 20,51 <sup>ab</sup>	55,00 ± 21,21 <sup>ab</sup>

## 4.2. KEMIJSKA SVOJSTVA

### 4.2.1. Osnovni kemijski sastav (udio suhe tvari, proteina, masti i pepela)

**Tablica 9** Osnovni kemijski sastav (udio suhe tvari, proteina, masti i pepela

Uzorak	Vlaga (%)	Pepeo (%)	Masti (%)	Proteini (%)
Kukuruzna krupica	11,94 ± 0,06 <sup>c</sup>	0,18 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,05 <sup>a</sup>	8,29 ± 0,13 <sup>a</sup>
Pšenica Zn	7,17 ± 0,10 <sup>b</sup>	1,90 ± 0,007 <sup>b</sup>	1,45 ± 0,02 <sup>b</sup>	14,28 ± 0,76 <sup>b</sup>
Pšenica Se	8,60 ± 0,24 <sup>a</sup>	1,89 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,66 ± 0,03 <sup>a</sup>	12,00 ± 1,00 <sup>b</sup>

## 4.2.2. Udio škroba u zamjesima i ekstrudatima

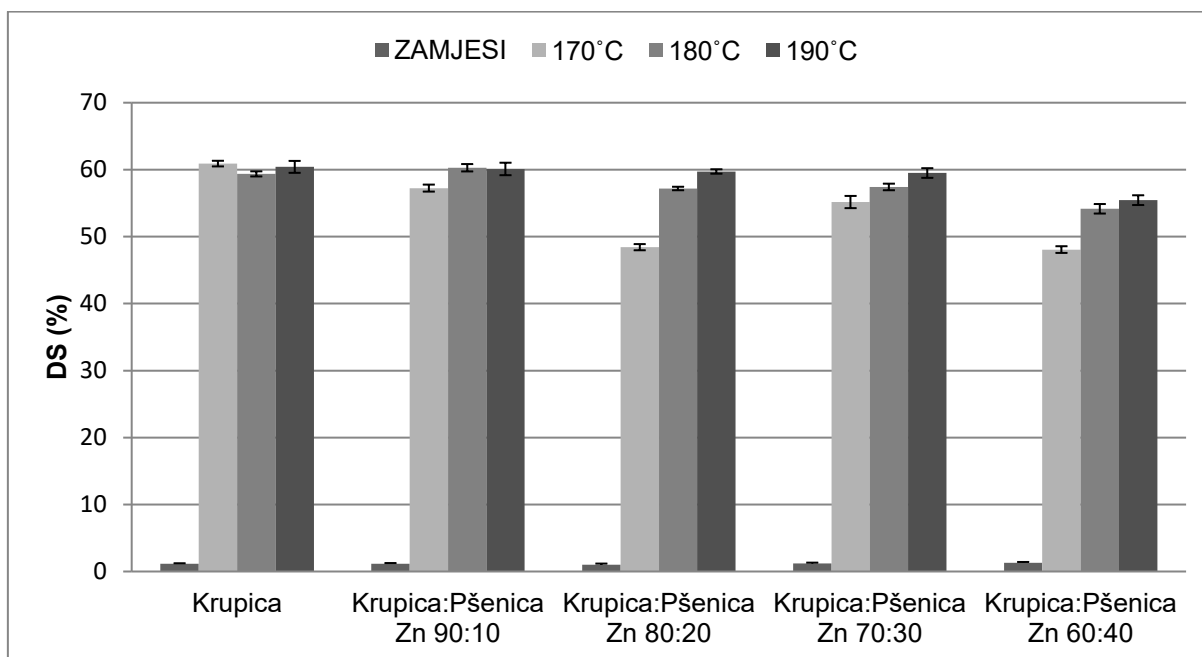
Tablica 10 Udio škroba u krupici, zamjesima i ekstrudatima s dodatkom pšenice biofortificirane cinkom

Uzorak	NEEKSTRUDIRANO	EKSTRUDIRANO		
		170 °C	180 °C	190 °C
	Udio škroba (% s.tv.)	Udio škroba (% s.tv.)	Udio škroba (% s.tv.)	Udio škroba (% s.tv.)
Kukuruzna krupica	72,95 ± 0,32 <sup>d</sup>	74,29 ± 0,31 <sup>d</sup>	74,30 ± 0,08 <sup>e</sup>	74,80 ± 0,07 <sup>e</sup>
Krupica:Pšenica Zn 90:10	70,70 ± 0,53 <sup>c</sup>	72,70 ± 0,68 <sup>c</sup>	72,95 ± 0,06 <sup>d</sup>	72,74 ± 0,07 <sup>d</sup>
Krupica:Pšenica Zn 80:20	69,66 ± 0,04 <sup>b</sup>	71,50 ± 0,02 <sup>a</sup>	71,65 ± 0,19 <sup>c</sup>	70,95 ± 0,58 <sup>c</sup>
Krupica:Pšenica Zn 70:30	65,43 ± 0,08 <sup>a</sup>	70,90 ± 0,02 <sup>a</sup>	70,70 ± 0,34 <sup>b</sup>	69,52 ± 0,03 <sup>b</sup>
Krupica:Pšenica Zn 60:40	65,74 ± 0,21 <sup>a</sup>	67,29 ± 0,03 <sup>b</sup>	67,48 ± 0,06 <sup>a</sup>	67,27 ± 0,08 <sup>a</sup>

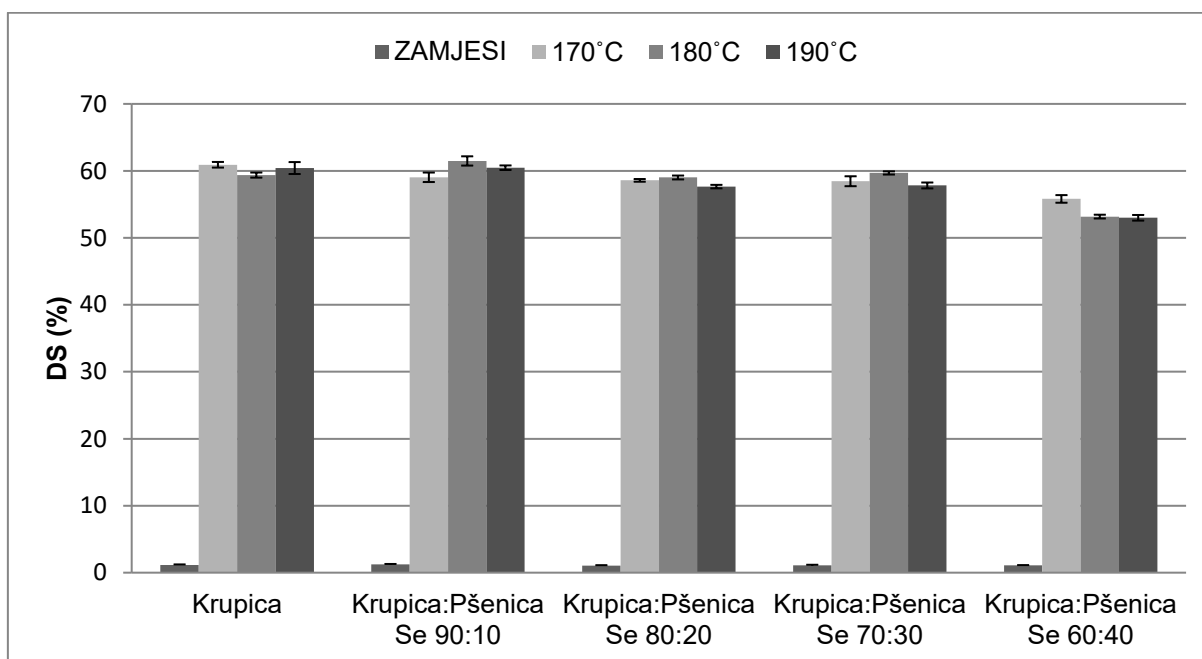
**Tablica 11** Udio škroba u krupici, zamjesima i ekstrudatima s dodatkom pšenice biofortificirane selenom

Uzorak	NEEKSTRUDIRANO	EKSTRUDIRANO		
		170 °C	180 °C	190 °C
	Udio škroba (% s.tv.)	Udio škroba (% s.tv.)	Udio škroba (% s.tv.)	Udio škroba (% s.tv.)
Kukuruzna krupica	72,95 ± 0,32 <sup>a</sup>	74,29 ± 0,31 <sup>b</sup>	74,30 ± 0,08 <sup>e</sup>	74,80 ± 0,07 <sup>e</sup>
Krupica:Pšenica Se 90:10	72,93 ± 0,52 <sup>a</sup>	73,68 ± 0,16 <sup>a,b</sup>	73,66 ± 0,26 <sup>d</sup>	73,98 ± 0,01 <sup>d</sup>
Krupica:Pšenica Se 80:20	71,25 ± 0,28 <sup>d</sup>	72,86 ± 0,45 <sup>a</sup>	71,15 ± 0,25 <sup>c</sup>	71,62 ± 0,08 <sup>c</sup>
Krupica:Pšenica Se 70:30	68,71 ± 0,44 <sup>c</sup>	71,14 ± 0,33 <sup>d</sup>	69,81 ± 0,11 <sup>b</sup>	70,43 ± 0,17 <sup>b</sup>
Krupica:Pšenica Se 60:40	67,44 ± 0,01 <sup>b</sup>	68,32 ± 0,94 <sup>c</sup>	67,85 ± 0,32 <sup>a</sup>	68,68 ± 0,01 <sup>a</sup>

### 4.2.3. Stupanj oštećenosti škroba (DS)



**Slika 25** Utjecaj dodatka pšenice biofortificirane cinkom te postupka ekstruzije na stupanj oštećenosti škroba (DS) u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima



**Slika 26** Utjecaj dodatka pšenice biofortificirane selenom te postupka ekstruzije na stupanj oštećenosti škroba (DS) u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima

## 4.3. BIODOSTUPNOST CINKA I SELENA

Tablica 12 Biodostupnost cinka u zamjesima i ekstrudatima

UZORAK	UKUPAN UDIO	BIODOSTUPNO
	Zn (mg/kg)	Zn (mg/kg)
NEEKSTRUDIRANO		
Kukuruzna krupica	3,07 ± 0,18 <sup>a</sup>	1,34 ± 0,72 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 90:10	7,03 ± 0,27 <sup>b</sup>	2,43 ± 0,90 <sup>a,b</sup>
Krupica:Pšenica Zn 80:20	13,60 ± 0,99 <sup>c</sup>	2,26 ± 0,22 <sup>a,b</sup>
Krupica:Pšenica Zn 70:30	14,93 ± 0,38 <sup>c</sup>	3,36 ± 0,83 <sup>b,c</sup>
Krupica:Pšenica Zn 60:40	21,01 ± 2,26 <sup>d</sup>	4,02 ± 0,38 <sup>c</sup>
EKSTRUDIRANO 170 ° C		
Kukuruzna krupica	3,36 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,11 ± 0,24 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 90:10	9,05 ± 0,29 <sup>b</sup>	1,77 ± 0,18 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 80:20	15,15 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,92 ± 0,58 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 70:30	20,40 ± 0,30 <sup>d</sup>	1,40 ± 0,41 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 60:40	22,43 ± 0,29 <sup>e</sup>	1,37 ± 0,82 <sup>a</sup>
EKSTRUDIRANO 180 ° C		
Kukuruzna krupica	3,45 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,27 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 90:10	7,59 ± 0,47 <sup>b</sup>	1,43 ± 0,98 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 80:20	12,97 ± 0,57 <sup>c</sup>	1,91 ± 0,49 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 70:30	18,05 ± 0,27 <sup>d</sup>	1,40 ± 0,33 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Zn 60:40	22,24 ± 1,18 <sup>e</sup>	1,69 ± 0,29 <sup>a</sup>
EKSTRUDIRANO 190 ° C		
Kukuruzna krupica	3,51 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,43 ± 0,30 <sup>a,b</sup>
Krupica:Pšenica Zn 90:10	8,61 ± 0,37 <sup>b</sup>	2,08 ± 0,46 <sup>b</sup>
Krupica:Pšenica Zn 80:20	15,04 ± 0,77 <sup>c</sup>	1,72 ± 0,24 <sup>a,b</sup>
Krupica:Pšenica Zn 70:30	18,49 ± 0,22 <sup>d</sup>	1,70 ± 0,36 <sup>a,b</sup>
Krupica:Pšenica Zn 60:40	23,01 ± 0,37 <sup>e</sup>	1,40 ± 0,27 <sup>a</sup>

Tablica 13 Biodostupnost selena u zamjesima i ekstrudatima

UZORAK	UKUPAN UDIO	BIODOSTUPNO
	Se ( $\mu\text{g/g}$ )	Se ( $\mu\text{g/g}$ )
NEEKSTRUDIRANO		
Kukuruzna krupica	21,89 $\pm$ 0,002 <sup>a</sup>	0,04 $\pm$ 0,014 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 90:10	84,74 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>	0,27 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>
Krupica:Pšenica Se 80:20	111,86 $\pm$ 0,009 <sup>c</sup>	0,27 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>
Krupica:Pšenica Se 70:30	192,01 $\pm$ 0,005 <sup>d</sup>	0,23 $\pm$ 0,13 <sup>a,b</sup>
Krupica:Pšenica Se 60:40	254,59 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	0,25 $\pm$ 0,12 <sup>a,b</sup>
EKSTRUDIRANO 170 ° C		
Kukuruzna krupica	30,55 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	0,55 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 90:10	92,81 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>	0,37 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 80:20	160,51 $\pm$ 0,008 <sup>c</sup>	0,41 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 70:30	222,27 $\pm$ 0,009 <sup>d</sup>	0,51 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 60:40	304,48 $\pm$ 0,025 <sup>e</sup>	0,53 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
EKSTRUDIRANO 180 ° C		
Kukuruzna krupica	28,00 $\pm$ 0,002 <sup>a</sup>	0,54 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 90:10	86,08 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>	0,37 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 80:20	131,46 $\pm$ 0,006 <sup>c</sup>	0,41 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 70:30	180,41 $\pm$ 0,009 <sup>d</sup>	0,50 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 60:40	267,08 $\pm$ 0,009 <sup>e</sup>	0,51 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
EKSTRUDIRANO 190 ° C		
Kukuruzna krupica	22,90 $\pm$ 0,003 <sup>a</sup>	0,55 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 90:10	96,33 $\pm$ 0,013 <sup>b</sup>	0,29 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 80:20	140,69 $\pm$ 0,037 <sup>c</sup>	0,39 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 70:30	211,69 $\pm$ 0,012 <sup>d</sup>	0,53 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
Krupica:Pšenica Se 60:40	289,37 $\pm$ 0,018 <sup>e</sup>	0,47 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>



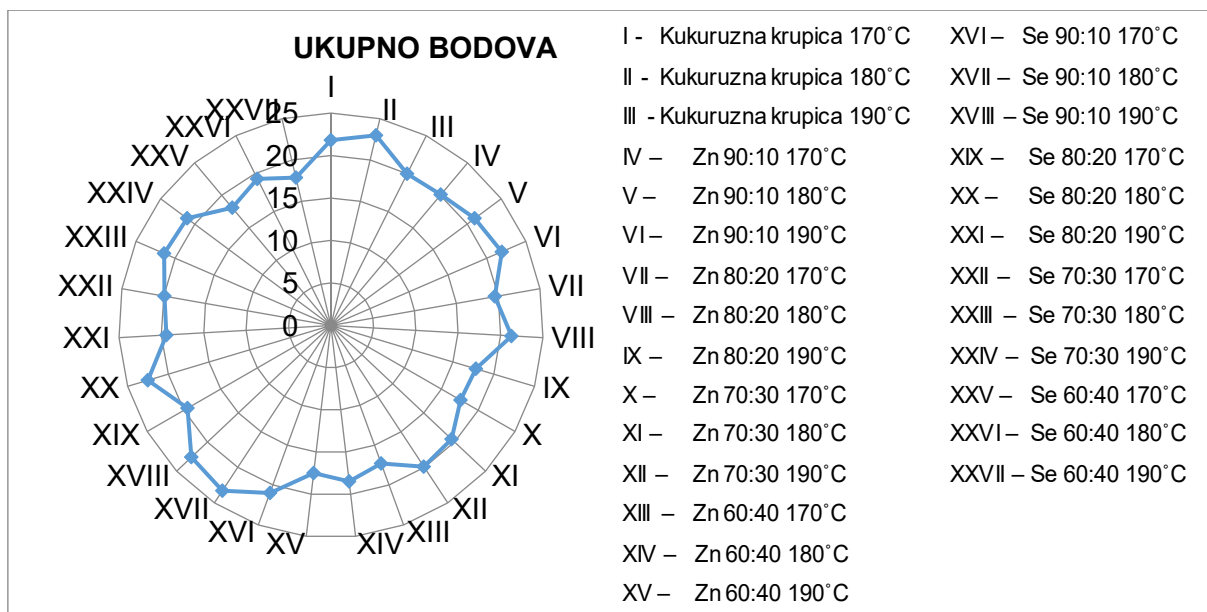
## 4.4. SENZORSKA SVOJSTVA

Tablica 14 Senzorska procjena ispitivanih parametara ekstrudata s dodatkom pšenice obogaćene cinkom

Uzorak	Vanjski izgled	Struktura	Konzistencija	Miris	Okus
Kukuruzna krupica 170 °C	4,60 ± 0,52 e	3,80 ± 0,71 a,b,c	4,00 ± 0,76 a,b,c	4,80 ± 0,46 a,b	4,60 ± 0,52 d,e
Kukuruzna krupica 180 °C	4,50 ± 0,53 d,e	4,50 ± 0,53 c	4,40 ± 0,52 c	4,90 ± 0,35 b	4,80 ± 0,46 e
Kukuruzna krupica 190 °C	4,70 ± 0,49 a,b,c,d,e	4,70 ± 0,53 a,b,c	4,30 ± 0,76 a,b,c	4,70 ± 0,49 a,b	4,70 ± 0,49 a,b,c,d,e
Krupica: Pšenica Zn 90:10 170 °C	4,30 ± 0,71 b,c,d,e	3,50 ± 0,53 a,b	3,60 ± 0,52 a,b,c	4,60 ± 0,52 a,b	4,10 ± 0,64 a,b,c,d,e
Krupica: Pšenica Zn 90:10 180 °C	4,50 ± 0,53 d,e	4,00 ± 0,53 a,b,c	3,80 ± 0,71 a,b,c	4,60 ± 0,52 a,b	4,30 ± 0,71 b,c,d,e
Krupica: Pšenica Zn 90:10 190 °C	4,40 ± 0,52 c,d,e	4,40 ± 0,52 b,c	4,10 ± 0,64 a,b,c	4,60 ± 0,52 a,b	4,40 ± 0,52 c,d,e
Krupica: Pšenica Zn 80:20 170 °C	4,00 ± 0,53 a,b,c,d,e	3,60 ± 0,52 a,b,c	3,80 ± 0,71 a,b,c	4,40 ± 0,74 a,b	3,90 ± 0,83 a,b,c,d,e
Krupica: Pšenica Zn 80:20 180 °C	4,30 ± 0,46 b,c,d,e	4,30 ± 0,46 b	4,30 ± 0,46 b,c	4,50 ± 0,76 a,b	4,00 ± 0,76 a,b,c,d,e
Krupica: Pšenica Zn 80:20 190 °C	4,10 ± 0,38 a,b,c,d	4,00 ± 0,58 a,b,c	3,90 ± 0,69 a,b	4,30 ± 0,76 a	4,00 ± 0,82 a,b,c
Krupica: Pšenica Zn 70:30 170 °C	3,50 ± 0,53 a,b,c	3,30 ± 0,71 a	3,30 ± 0,71 a	4,10 ± 0,83 a,b	3,50 ± 0,53 a,b,c
Krupica: Pšenica Zn 70:30 180 °C	3,90 ± 0,64 a,b,c,d,e	3,90 ± 0,64 a,b,c	3,60 ± 0,52 a,b,c	4,40 ± 0,52 a,b	3,80 ± 0,46 a,b,c,d
Krupica: Pšenica Zn 70:30 190 °C	3,80 ± 0,46 a,b,c,d,e	3,90 ± 0,35 a,b,c	4,00 ± 0,53 a,b,c	4,40 ± 0,52 a,b	3,90 ± 0,64 a,b,c,d,e
Krupica: Pšenica Zn 60:40 170 °C	3,30 ± 0,46 a	3,30 ± 0,71 a	3,30 ± 0,71 a,b	4,10 ± 0,83 a,b	3,40 ± 0,52 a,b
Krupica: Pšenica Zn 60:40 180 °C	3,60 ± 0,74 a,b,c,d	3,60 ± 0,74 a,b,c	3,80 ± 0,71 a,b,c	4,00 ± 0,76 a,b	3,50 ± 0,53 a,b,c
Krupica: Pšenica Zn 60:40 190 °C	3,40 ± 0,52 a,b	3,50 ± 0,93 a,b	3,50 ± 0,76 a,b,c	3,90 ± 0,64 a,b	3,30 ± 0,71 a

**Tablica 15** Senzorska procjena ispitivanih parametara ekstrudata s dodatkom pšenice obogaćene selenom

Uzorak	Vanjski izgled	Struktura	Konzistencija	Miris	Okus
Kukuruzna krupica 170 °C	4,60 ± 0,52 <sup>c</sup>	3,80 ± 0,71 <sup>a,b,c</sup>	4,00 ± 0,76 <sup>a,b</sup>	4,80 ± 0,46 <sup>a</sup>	4,60 ± 0,52 <sup>b,c</sup>
Kukuruzna krupica 180 °C	4,50 ± 0,53 <sup>c</sup>	4,50 ± 0,53 <sup>b,c</sup>	4,40 ± 0,52 <sup>a,b</sup>	4,90 ± 0,35 <sup>a</sup>	4,80 ± 0,46 <sup>c</sup>
Kukuruzna krupica 190 °C	4,70 ± 0,49 <sup>b,c</sup>	4,70 ± 0,53 <sup>a,b,c</sup>	4,30 ± 0,76 <sup>a,b</sup>	4,70 ± 0,49 <sup>a</sup>	4,70 ± 0,49 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 90:10 170 °C	4,50 ± 0,53 <sup>c</sup>	3,80 ± 0,46 <sup>a,b,c</sup>	3,80 ± 0,44 <sup>a,b</sup>	4,60 ± 0,52 <sup>a</sup>	4,40 ± 0,52 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 90:10 180 °C	4,50 ± 0,53 <sup>c</sup>	4,80 ± 0,46 <sup>c</sup>	4,50 ± 0,53 <sup>b</sup>	4,80 ± 0,46 <sup>a</sup>	4,80 ± 0,46 <sup>c</sup>
Krupica:Pšenica Se 90:10 190 °C	4,50 ± 0,53 <sup>c</sup>	4,50 ± 0,76 <sup>b,c</sup>	4,30 ± 0,46 <sup>a,b</sup>	4,80 ± 0,46 <sup>a</sup>	4,60 ± 0,52 <sup>b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 80:20 170 °C	4,30 ± 0,46 <sup>b,c</sup>	3,40 ± 0,52 <sup>a</sup>	3,40 ± 0,52 <sup>a</sup>	4,50 ± 0,53 <sup>a</sup>	4,00 ± 0,53 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 80:20 180 °C	4,40 ± 0,52 <sup>c</sup>	4,80 ± 0,46 <sup>c</sup>	4,40 ± 0,52 <sup>a,b</sup>	4,60 ± 0,52 <sup>a</sup>	4,40 ± 0,62 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 80:20 190 °C	4,40 ± 0,53 <sup>a,b,c</sup>	4,40 ± 0,53 <sup>a,b,c</sup>	4,00 ± 0,58 <sup>a,b</sup>	4,70 ± 0,45 <sup>a</sup>	4,60 ± 0,53 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 70:30 170 °C	3,90 ± 0,35 <sup>a,b,c</sup>	3,60 ± 0,74 <sup>a,b</sup>	4,00 ± 0,76 <sup>a,b</sup>	4,40 ± 0,74 <sup>a</sup>	4,00 ± 0,76 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 70:30 180 °C	3,90 ± 0,35 <sup>a,b,c</sup>	4,00 ± 0,53 <sup>a,b,c</sup>	4,50 ± 0,53 <sup>b</sup>	4,60 ± 0,52 <sup>a</sup>	4,40 ± 0,52 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 70:30 190 °C	4,00 ± 0,53 <sup>a,b,c</sup>	4,30 ± 0,46 <sup>a,b,c</sup>	4,40 ± 0,52 <sup>a,b</sup>	4,40 ± 0,52 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,35 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 60:40 170 °C	3,40 ± 0,52 <sup>a,b</sup>	3,40 ± 0,74 <sup>a</sup>	3,50 ± 0,76 <sup>a,b</sup>	4,30 ± 0,71 <sup>a</sup>	3,60 ± 0,52 <sup>a,b</sup>
Krupica:Pšenica Se 60:40 180 °C	3,80 ± 0,71 <sup>a,b,c</sup>	3,90 ± 0,64 <sup>a,b,c</sup>	3,90 ± 0,64 <sup>a,b</sup>	4,00 ± 0,53 <sup>a</sup>	3,80 ± 0,71 <sup>a,b,c</sup>
Krupica:Pšenica Se 60:40 190 °C	3,60 ± 0,53 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,38 <sup>a,b</sup>	4,30 ± 0,49 <sup>a,b</sup>	4,60 ± 0,79 <sup>a</sup>	3,90 ± 0,90 <sup>a</sup>



**Slika 27** Ukupna senzorska ocjena odabranih snack proizvoda

## **5. RASPRAVA**

## 5.1. FIZIKALNA SVOJSTVA

### 5.1.1. Ekspanzijski omjer ekstrudata (EO)

Ekspanzija ekstrudata najčešće se izražava ekspanzijskim omjerom (EO) koji predstavlja omjer promjera ekstrudata i sapsnice. Utjecaj dodatka pšenice biofortificirane cinkom i selenom prikazan je na **Slikama 17 i 18**. Uočava se da povećanjem temperature ekstruzije u većini uzoraka blago opada omjer ekspanzije ekstrudiranih proizvoda, ali taj utjecaj temperature nije toliko izražen, koliki je utjecaj dodavanja pšenice biofortificirane cinkom ( $2,71 \pm 0,13$ ) i selenom ( $2,68 \pm 0,11$ ) u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice ( $3,06 \pm 0,14$ ). Stoga se može zaključiti da je opadanje ekspanzijskog omjera, uglavnom, uvjetovano povećanjem udjela dodane pšenice biofortificirane cinkom i selenom. Maskus i Arntfield (2015) također su utvrdili da se smanjenjem temperature povećava omjer ekspanzije grickalica od ekstrudiranog graška. Smanjivanje ekspanzijskog omjera pod utjecajem viših temperatura u zavisnosti je od vrste škroba i sadržaja vlage, a nastaje povećanjem dekstrinizacije, pojačanim smanjenjem tvrdoće i potencijalnom strukturnom razgradnjom škroba uslijed visokog tlaka pare, što dovodi do kolapsa škrobne strukture (Korkerd i sur., 2016).

Razlika u ekspanzijskom omjeru objašnjava se različitim uvjetima ekstruzije, veličinama čestica te sastavu sirovine u pogledu sadržaja vlakana, proteina i škroba. Smanjenje ekspanzije može biti posljedica povećanja sadržaja proteina, što rezultira smanjenjem količine škroba jer se protein ne širi tako dobro kao škrob (Yagci i Gogus, 2009). Rezultati istraživanja različitih autora pokazuju sličnost s dobivenim rezultatima, dodavanjem različitih omjera pojedinih sirovina smjesi za ekstruziju. Povećanjem udjela bučinog brašna smanjuje se omjer ekspanzije ekstrudiranih peleta u istraživanju Norfezah i sur. (2013). Ačkar i sur. (2018) utvrdili su da se omjer ekspanzije smanjio proporcionalno količini dodanih različitih nusproizvoda prehrambene industrije. Brojne druge studije vezane uz korištenje nusproizvoda u procesu ekstruzije pokazuju tendenciju smanjenja ekspanzijskog omjera ekstrudata povećanjem sadržaja nusproizvoda (Kaisangsri i sur., 2016.; da Silva Alves i sur., 2018). Takve rezultate istraživanja pokazuju, prije svega, ekstrudati kojima su dodani nusproizvodi s povećanim sadržajem netopljivih vlakana (Mazlan i sur., 2019; Wang i sur., 2019). Širenje ekstrudata povezano je s veličinom, brojem i distribucijom mjehurića. Povećanje sadržaja vlakana smanjuje veličinu stanice, što dovodi do prijevremenog pucanja stanica s mjehurićima, a to rezultira smanjenjem ukupne ekspanzije (Mendonca i sur., 2000).

### 5.1.2. Nasipna masa ekstrudata (BD)

Nasipna gustoća predstavlja važan pokazatelj teksture u proizvodnji ekstrudiranih proizvoda. To je mjera širenja do kojeg je došlo tijekom procesa ekstruzije (Filii i sur., 2013). Utjecaj dodatka pšenice fortificirane cinkom i selenom na nasipnu gustoću (BD) kukuruznih ekstrudata prikazan je na **Slikama 19 i 20**. Promjena parametra ekstruzije i dodavanje različitih razina biofortificirane pšenice cinkom i selenom dalo je različite rezultate u nasipnoj gustoći ekstrudata.

Povećanjem temperature ekstruzije BD se smanjivao, a vrijednosti su se kretale u rasponu od 0,16 do 0,11 g cm<sup>-1</sup>. Trend smanjivanja nasipne gustoće povećanjem temperature ekstruzije može biti povezan s ponašanjem glutena na višim temperaturama. Ryu i Walker (1995) utvrdili su da kod ekstrudata od pšeničnog brašna, na temperaturama većim od 140 °C, do izražaja dolazi plastična priroda glutena. Smanjenje BD-a s porastom temperature također se povezuje s povećanjem stupnja pregrijavanja vode u ekstruderu, što dovodi do stvaranja mjehurića i snižavanja viskoziteta, a to rezultira manjom gustoćom ekstrudata. Navedeno je utvrđeno u istraživanju žitarica za doručak od integralnog brašna pšenice (Oliveira i sur., 2017). Foley i Rosentrater (2013) utvrdili su da se BD smanjivao rastom temperatura i brzine pužnice ekstrudera zbog veće ekspanzije krajnjeg proizvoda. Povećanje želatinizacije škroba porastom temperature rezultira povećanjem volumena i smanjenjem nasipne gustoće ekstrudata (Haile i sur., 2012). Manja nasipna gustoća poželjno je svojstvo ekstrudata jer ukazuje na lakši krajnji proizvod (Maskus i Arntfield, 2015). Slični učinci temperature ekstruzije dokazani su i za ekstrudate na bazi modificiranog kukuruznog škroba i sojinih proteina razlikom u tlaku vodene pare unutar ekstrudera i atmosferskog tlaka na izlaznoj točki sapnice (Sahu i sur., 2022).

Povećanjem udjela dodane pšenice biofortificirane cinkom i selenom povećavale su se i vrijednosti BD-a. Trend povećanja BD-a dodatkom različitih omjera bučinog brašna kukuruznoj krupici zabilježili su i Nor i sur. (2013). Hernandez-Diaz i sur. (2007) utvrdili su da se vrijednosti BD-a povećavaju povećanjem razine sadržaja pšeničnih mekinja. Te rezultate moguće je objasniti činjenicom da se unutar ekstrudera, pri malim koncentracijama, molekule vlakana poravnavaju u smjeru toka povećavajući mogućnost ekspanzije. Vlakna također vezuju dio vlage prisutne u matriksu, čime se smanjuje njegova mogućnost ekspanzije.

### 5.1.3. Tekstura (tvrdoća i lomljivost) ekstrudata

Tvrdoću ekstrudata određuje sila potrebna za lom uzorka (Altan i Maskan, 2011). To teksturalno svojstvo usko je vezano s nasipnom gustoćom i ekspanzijskim omjerom ekstrudata (Meng i sur., 2010). Utjecaji dodatka različitih udjela pšenice obogaćene cinkom i

selenom i različitim temperatura ekstruzije na tvrdoću i lomljivost ekstrudata prikazani su na **Slikama od 22 do 24**. Analizirajući rezultate, vidljivo je da tvrdoća ekstrudata opada povećanjem temperature ekstrudera, bilo da se radi o kukuruznoj krupici ili dodavanjem različitih omjera pšenice obogaćene cinkom i selenom. Sličnost su uočili Obradović i sur. (2018) utvrdivši da ekstrudati dobiveni na višim temperaturama imaju manju tvrdoću pri različitim razinama dodane mrkve u prahu i askorbinske kiseline te Huang i Liang (2019) dodavanjem rižinog brašna u kukuruzne ekstrudate te Shruthi i sur. (2019) istražujući ekstrudate na bazi kukuruza. Smanjenje tvrdoće porastom temperature povezano je, prije svega, s većom ekspanzijom na višim temperaturama (Kumar i sur., 2010). Rastom temperature ekstrudera povećava se i stupanj želatinizacije, što posljedično rezultira poboljšanjem vrijednosti hrskavosti ekstrudata (Kesre i Masatcioglu, 2022).

Promatrajući pojedinačno temperature ekstruzije, utvrđeno je da se tvrdoća ekstrudata smanjuje povećanjem sadržaja pšenice obogaćene cinkom i selenom samo kod temperature od 170 °C, dok se na temperaturi od 180 °C tvrdoća ekstrudata poveća pri udjelima od 20 i 30 %, a pri temperaturi od 190 °C blago povećava povećanjem dodanih udjela pšenice i kod cinka i selena. Obradović i sur. (2018) i Huang i Liang (2019) utvrdili su da se dodavanjem različitih sirovina tvrdoća ekstrudata smanjuje. Ekstrudati s visokim udjelom vlakana slabo zadržavaju plin tijekom ekstruzije, što smanjuje ekspanziju. Smanjena sposobnost širenja mjehurića objašnjava se niskom adhezijom između škroba i vlakana te smanjenom interakcijom između molekula škroba. Komponente omotača koje su netopljive u vodi imaju negativan učinak na teksturalna svojstva ekstrudata (Sibakov i sur., 2015).

Lomljivost predstavlja odgovor uređaja na naprezanje zbog sekvencijalnog loma manjih podjedinica ispitivanog materijala (Barrett i Kaletunc, 1998). Prema dobivenim rezultatima za lomljivost ekstrudata, to svojstvo također opada povećanjem temperature ekstruzije i povećanjem sadržaja brašna. Rezultate smanjivanja lomljivosti zabilježili su i Jozinović i sur. (2017), gdje je povećanje sadržaja konopljinog pogače smanjilo lomljivost ekstrudata. Slično su izvijestili Obradović i sur. (2018) i Shruthi i sur. (2019), gdje je također uočeno smanjivanje lomljivosti ekstrudata povećanjem temperature ekstruzije.

#### **5.1.4. Boja zamjesa i ekstrudata**

Boja ekstrudiranih proizvoda varira u zavisnosti od različitih parametara kao što su sadržaj vlage sirovina, temperatura i sadržaj kemijskih komponenata sirovina te njihovog omjera u smjesi za ekstruziju. Da bi se dobio proizvod željene boje, potrebno je kontrolirati boju sastojaka, kao i pratiti proizvod tijekom cijelog postupka proizvodnje (Menegassi i sur., 2011). CIELAB L\*, a\*, b\* najčešće je korištena ljestvica za ocjenu boje u hrani kojom se mjeri stupanj svjetline (L\*), crvenilo, odnosno zelenilo ( $\pm a^*$ ) i žutilo ili plavetnilo ( $\pm b^*$ ) (Bakalov i

sur., 2016).  $L^*$ ,  $C^*$  i  $h^\circ$  sustav razvijen je za ispravljanje ograničenja  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  sustava koji ne odgovara u potpunosti percepciji boje ljudskim okom (Mesnier i sur., 2014).

Utjecaj dodatka pšenice biofortificirane cinkom i selenom u kukuruznu krupicu na promjenu boje u zamjesima prikazan je u **Tablici 1 i 3**. Rezultati za parametar  $L^*$ , odnosno stupanj svjetline zamjesa, pokazuju da dodatak biofortificirane pšenice i cinkom i selenom rezultira smanjenjem parametra  $L^*$ , što ukazuje na to da je došlo do potamnijanja zamjesa. Razlog potamnijanja zamjesa jest korištenje cjelovite pšenice čiji je omotač značajno tamnije boje od kukuruzne krupice. Slojevi pšeničnog omotača sastoje se od polisaharida (celuloze, arabinoksilana, lignina, glukomanana i  $\beta$ -glukana) koji brašnu daju smeđi izgled. Vrijednost  $a^*$  označava jesu li uzroci u domeni crvene boje (pozitivne vrijednosti) ili u domeni zelene boje (negativne vrijednosti). Rezultati za  $a^*$  vrijednost zamjesa kretali su se od  $1,47 \pm 0,20$  do  $1,04 \pm 0,25$  za cink, odnosno  $1,47 \pm 0,20$  do  $2,84 \pm 0,14$  za selen. Vidljivo je kako se vrijednost  $a^*$  za zamjese s dodatkom biofortificirane pšenice cinkom smanjila, a za zamjese s dodatkom biofortificirane pšenice selenom povećala. Kod zamjesa s dodatkom pšenice biofortificirane i cinkom i selenom sve vrijednosti parametra  $b^*$  pozitivne su, što znači da se nalaze u domeni žute boje, dodatkom većih udjela pšenice smanjuju se. Zasićenost boje ( $C$ ) ima trend smanjivanja dodatkom različitih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom. Ton boje ( $h^\circ$ ) zamjesa kod uzoraka s dodatkom različitih udjela pšenice biofortificirane cinkom nema statistički značajne promjene u odnosu na kontrolni uzorak čiste kukuruzne krupice ( $87,68 \pm 0,27$ ), osim kod udjela od 20 % pšenice ( $88,27 \pm 0,39$ ). Kod zamjesa s dodatkom pšenice biofortificirane selenom vrijednost parametra  $h^\circ$  statistički se značajno smanjuje povećanjem udjela dodane pšenice. Ukupna promjena boje ( $\Delta E$ ) kod zamjesa s biofortificiranim pšenicom cinkom kreće se u rasponu od 2,99 do 13,93, a kod pšenice biofortificirane selenom u rasponu od 3,11 do 13,63.

Promatrajući rezultate nakon provedene ekstruzije, prikazane u **Tablici 2 i 4**, uočava se da je došlo do povećanja  $L^*$  vrijednosti porastom temperature ekstruzije kod svih udjela, osim kod udjela 40 % pšenice biofortificirane i cinkom i selenom. Povećanje vrijednosti  $L^*$  povećanjem temperature sukladno je istraživanju Nayak i sur. (2011). Uzrok povećanja vrijednosti  $L^*$  najvjerojatnije je razgradnja pigmenata i veće inkorporacije zraka u ekstrudatima (Altan i sur., 2008). Rezultati su također u skladu s rezultatima Oliveira i sur. (2017), prilikom korištenja pšeničnog brašna za dobivanje žitarica za doručak i Ferreira i sur. (2012), prilikom dodatka pšeničnih mekinja u ekstrudirane grickalice na bazi kukuruza. Vrijednost  $L^*$  ekstruzijom se smanjuje proporcionalno povećanju dodanog udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom pri svim temperaturama. Smanjenje parametra  $L^*$  dodatkom viših udjela zabilježili su i Muñoz-Pabon i sur. (2022) dodavanjem različitih udjela proteinskog brašna kvinoje kukuruznoj krupici, Jozinović i sur. (2016) dodatkom pirovog brašna te Yagci i Gogus (2009) dodavanjem brašna lješnjaka kukuruznoj krupici. Promjena boje ekstrudata rezultat je



Maillardove reakcije, reakcija karamelizacije, hidrolize i razgradnje pigmenta (Santillan Moreno i sur., 2011). Uspoređujući rezultate parametra  $a^*$  prije i poslije ekstruzije, došlo je do značajne promjene i svi zamjese prešli su u domenu zelene boje dodavanjem pšenice biofortificirane i cinkom i selenom. Povećanjem temperature ekstruzije povećava se i negativna vrijednost parametra  $a^*$  kod dodatka pšenice biofortificirane i cinkom i selenom, dok se povećanjem udjela dodane pšenice u obama slučajevima statistički značajno smanjuje vrijednost parametra  $a^*$ . Takav trend smanjenja vrijednosti parametra  $a^*$  dodavanjem različitih udjela cjelovite pšenice, odnosno rižinog brašna, zabiježen je i u drugim istraživanjima (Oliveira i sur., 2018; Jan i sur., 2021). Rezultat se pripisuje tomu što pigmenti prolaze degradaciju uslijed toplinskog učinka procesa ekstruzije (Durge i sur., 2013). Trend smanjenja prate i parametri  $b^*$  i C u slučaju dodavanja pšenice biofortificirane i cinkom i selenom uspoređujući uzorke prije i poslije ekstruzije, kao i promatrajući ih iz perspektive primjene različitih temperaturnih profila i različitih dodanih udjela biofortificirane pšenice. Smanjenje parametra  $b^*$  uzrokuje, prije svega, razgradnja žutog pigmenta. Nakon provedenog procesa ekstruzije parametar  $h^\circ$  povećao se u odnosu na vrijednosti tog parametra kod zamjesa. Trend povećanja prati i povećanje temperature ekstruzije, no dodavanje različitih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom pri svim temperaturama smanjuje vrijednost tog parametra. Ukupna promjena boje ( $\Delta E$ ) nakon postupka ekstruzije povećava se primjenom različitih temperatura i dodavanjem različitih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom. Najveća promjena boje uočava se kod uzorka s dodanih 40 % pri temperaturi 190 °C i iznosi 16,49 za uzorak s dodatkom pšenice biofortificirane cinkom i 13,96 za uzorak s dodatkom pšenice biofortificirane selenom. Ako je razlika u boji iznad 6, boje se nalaze u različitim grupama boja (Jozinović i sur., 2016).

### 5.1.5. Reološka svojstva zamjesa i ekstrudata

U **Tablicama 5 i 7** prikazan je utjecaj dodavanja različitih udjela pšenice biofortificirane cinkom i selenom na reološka svojstva zamjesa za ekstruziju u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice. Iz dobivenih rezultata može se uočiti kako se viskoznost vrha, koja predstavlja maksimalnu viskoznost želatinizacije škroba, smanjila pri udjelima 10 % (minimalna vrijednost  $34,25 \pm 0,78$ ) i 40 % pšenice biofortificirane cinkom, a pri udjelima 20 % i 30 % (maksimalna vrijednost  $65,25 \pm 39,67$ ) povećavala u odnosu na kukuruznu krupicu ( $45,25 \pm 20,01$ ), no bez statistički značajnih razlika. Kod dodatka pšenice biofortificirane selenom također nema statistički značajnih razlika u vrijednostima viskoznosti vrha, s tim da je samo vrijednost dodanog udjela od 30 % bila manja u odnosu na vrijednost kukuruzne krupice, dok su ostale vrijednosti bile veće. Najveću vrijednost viskoznosti vrha imao je uzorak s 40 % ( $75,55 \pm 22,13$ ) dodane pšenice biofortificirane selenom. O povećanju

viskoznosti dodavanjem dijetalnih vlakana izvijestili su Elleuch i sur., (2011). Lecumberri i sur. (2007) objasnili su da povećan sadržaj vlakana ne tvori viskozne otopine, što dovodi do niže viskoznosti. Takvi rezultati u skladu su i s istraživanjem Masli i sur. (2018).

Vrijednosti *tople viskoznosti* (viskoznost nakon 5 min miješanja na 92 °C) zamjesa s dodanom pšenicom biofortificiranom i cinkom i selenom ne pokazuju statistički značajne promjene vrijednosti u odnosu na kukuruznu krupicu. Hladna viskoznost (viskoznost pri 50 °C) povećava se i kod zamjesa s dodatkom pšenice biofortificirane cinkom, a maksimum se postiže dodavanjem 40 % udjela, a kod zamjesa s dodatkom pšenice biofortificirane selenom pri 30 % dodanog udjela. Vrijednosti za „kidanje“ (stabilnost tijekom miješanja pri visokim temperaturama) i „setback“ (sklonost škrobne paste retrogradaciji) smanjuju se dodavanjem većih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom.

Utjecaj parametara ekstruzije i različitih udjela dodane pšenice biofortificirane cinkom i selenom na viskoznost ekstrudata prikazan je u **Tablicama 6 i 8**. Iz dobivenih rezultata vidljivo je kako se dodatkom pšenice biofortificirane i cinkom i selenom smanjuju vrijednosti viskoznosti u odnosu na neekstrudirane zamjese. Do rezultata smanjivanja viskoznosti povećanjem udjela heljdinog brašna u mješavinama došli su i Singh i sur. (2019), a objašnjavaju ga manjom želatinizacijom škroba (Singh i sur., 2016). O trendu smanjivanja viskoznosti neekstrudiranih uzoraka povećanjem koncentracije dodane konoplje te daljnjem smanjenju vrijednosti nakon ekstruzije izvijestili su i Jozinović i sur. (2017). Usporedbom rezultata dobivenih za udio ukupnog škroba (TS) u zamjesima u odnosu na kontrolni uzorak kukuruzne krupice (**Tablice 10 i 11**) i stupanj oštećenosti škroba u ekstrudiranim uzorcima u usporedbi sa zamjesima (**Slike 25 i 26**) može se zaključiti da su niže vrijednosti za viskoznost vrha, toplu i hladnu viskoznost povezane s manjim udjelima TS-a i većim stupnjem oštećenog škroba nakon ekstruzije. Također, trend smanjenja odnosi se i na različite temperature ekstruzije. Ti rezultati u skladu su sa rezultatima Singh i sur. (2019).

## 5.2. KEMIJSKA SVOJSTVA

### 5.2.1. Osnovni kemijski sastav (udio suhe tvari, proteina, masti i pepela)

Osnovni kemijski sastav sirovina u ovom istraživanju prikazan je u **Tablici 9**. Iz dobivenih rezultata za sadržaj vlage najveći sadržaj ima kukuruzna krupica ( $11,94 \pm 0,06$ ), a najmanji pšenica biofortificirana cinkom ( $7,17 \pm 0,10$ ). Statistički značajno veći sadržaj pepela imaju pšenice u odnosu na kukuruznu krupicu, s obzirom na biofortifikaciju s mineralima, s tim da

nema razlika u sadržaju pšenica biofortificirane cinkom i selenom. Približno jednak sadržaj masti imale su kukuruzna krupica ( $1,69 \pm 0,05$ ) i pšenica biofortificirana selenom ( $1,66 \pm 0,03$ ), a statistički značajno manji sadržaj pšenica biofortificirana cinkom ( $1,45 \pm 0,02$ ). Sadržaj proteina značajno se povećao biofortifikacijom i cinkom i selenom u odnosu na kukuruznu krupicu ( $8,29 \pm 0,13$ ), s tim da pšenica biofortificirana cinkom ima najveći sadržaj proteina ( $14,28 \pm 0,76$ ) od svih promatranih sirovina.

### 5.2.2. Udio škroba

Ukupni škrob u sirovinama, zamjesima i ekstrudatima određivao se polarimetrijskom metodom koja se temelji na primjeni razrijeđene kloridne kiseline, gdje dolazi do želatinizacije i hidrolize topljenog škroba. Udio ukupnog škroba u sirovinama kretao se od minimalnih  $58,78 \pm 0,08$  za pšenicu biofortificiranu selenom te  $60,83 \pm 0,37$  za pšenicu biofortificiranu cinkom do maksimalne vrijednosti  $72,95 \pm 0,32$  za kukuruznu krupicu.

Udio škroba u krupici, zamjesima i ekstrudatima s dodatkom pšenice biofortificirane cinkom i selenom, prikazani su u **Tablicama 10 i 11**. Promatrajući rezultate s gledišta različitih primijenjenih temperatura ekstruzije, vidljivo je da se sadržaj ukupnog škroba (TS) povećao ekstruzijom u odnosu na zamjese, bez značajnih razlika povećanjem temperature ekstruzije. Najveća vrijednost dobivena je kod uzorka čiste kukuruzne krupice ekstrudirane na  $190\text{ }^{\circ}\text{C}$  i iznosila je  $74,80 \pm 0,07$ . Ti rezultati u skladu su s prethodnim istraživanjima Jozinović i sur. (2012), zatim Zamora (2003) te Arribas i sur. (2017).

Rezultati sadržaja ukupnog škroba u odnosu na različite udjele dodane pšenice biofortificirane i cinkom i selenom pokazuju smanjenje sadržaja ukupnog škroba proporcionalno udjelu dodane pšenice biofortificirane cinkom i selenom, a najmanja vrijednost dobivena je dodavanjem 40 % udjela u zamjes s kukuruznom krupicom i iznosi  $67,44 \pm 0,01$ . Smanjenje sadržaja škroba u ekstrudatima s dodatkom cjelovitog brašna pšenice dobili su i Oliveira i sur. (2015) te Arribas i sur. (2017) u ekstrudatima na bazi riže.

### 5.2.4. Stupanj oštećenosti škroba (DS)

Stupanj oštećenosti škroba u zamjesima i ekstrudatima određen je uz pomoć Megazyme enzimskih kitova. Utjecaj dodatka pšenice biofortificirane cinkom te postupka ekstruzije na stupanj oštećenosti škroba (DS) u kukuruznim zamjesima i ekstrudatima prikazan je na **Slikama 25 i 26**. Dodatak različitih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom nije značajno utjecao na stupanj oštećenosti škroba (DS), a najnižu vrijednost u uzorcima imao je zamjes s dodatkom 20 % udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom.

Postupak ekstruzije značajno je povećao DS u svim uzorcima, a vrijednosti su, u velikoj mjeri, bile veće od 50 %. Međutim, vrijednosti DS-a nisu se značajnije mijenjale rastom temperature ekstruzije. Rezultati povećanja vrijednosti DS-a primjenom procesa ekstruzije zabilježili su i Jozinović i sur. (2021) te Ačkar i sur. (2014). Veći stupanj oštećenja škroba u ekstrudiranim kukuruznim proizvodima posljedica je fragmentacije unutar granule škroba uzrokovane intenzivnim smicanjem unutar ekstrudera (Platt-Lucero i sur., 2013). Mehaničko smicanje uzrokuje želatinizaciju škroba i denaturaciju proteina (Yu i sur., 2012). Temperatura unutar ekstrudera jedan je od najvažnih čimbenika za određivanje stupnja želatinizacije škroba i denaturacije proteina (Mulla i sur., 2011).

Utjecaj dodatka različitih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom proporcionalno je smanjivao vrijednosti DS-a dodatkom većih udjela biofortificirane pšenice i cinkom i selenom, i u zamjesima i na različitim temperaturama. Najmanju vrijednost DS-a imao je uzorak s 40 % dodanog udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom. Rezultati su u skladu s istraživanjima Kabir i sur. (2022).

### 5.3. BIODOSTUPNOST CINKA I SELENA

#### 5.3.1. Biodostupnost cinka

Biodostupnost određenih minerala u žitaricama niska je zbog stvaranja netopljivih kompleksa s dijetalnim vlaknima, fitatima ili proteinima (Cheftel, 1986). U teorijskom dijelu ovog rada opisan je inhibirajući učinak pojedinih tvari na biodostupnost cinka. Rezultati za ukupan udio i biodostupnost cinka u zamjesima i ekstrudatima prikazani su u **Tablici 12**. Iz rezultata vidljivo je da se sadržaj ukupnog i biodostupnog cinka u zamjesima povećavao proporcionalno dodanim udjelima pšenice biofortificirane cinkom. Najveći udio ukupnog cinka u zamjesima iznosio je  $21,01 \pm 2,26$  mg/kg. Nakon probave *in vitro* vrijednost biodostupnog cinka u zamjesima smanjila se, a najvišu biodostupnost imao je uzorak s 40 % udjela biofortificirane pšenice i iznosio je  $4,02 \pm 0,38$  mg/kg, dok je najmanja vrijednost biodostupnog cinka iznosila  $1,34 \pm 0,72$  mg/kg kod kontrolnog uzorka čiste kukuruzne krupice.

Utjecaj različitih temperaturnih režima, kao i različitih udjela dodane pšenice biofortificirane cinkom, na udio ukupnog cinka pozitivan je jer se povećanjem temperature i udjela dodane pšenice povećava i udio ukupnog cinka u ekstrudatima. Najveća vrijednost iznosi  $23,01 \pm 0,37$  mg/kg za uzorak s 40 % udjela, dok kontrolni uzorak čiste kukuruzne krupice na 170 °C ima udio ukupnog cinka  $3,36 \pm 0,12$  mg/kg. Vrijednosti za biodostupan cink, također, povećavaju se rastom temperature ekstruzije u odnosu na kontrolni uzorak. Međutim, nema

statistički značajne razlike u vrijednostima dodavanjem različitih udjela biofortificirane pšenice na temperaturama 170 °C i 180 °C, dok se na temperaturi ekstruzije 190 °C udio biodostupnog cinka smanjuje dodavanjem većih udjela biofortificirane pšenice i statistički je značajno manji pri 40 % udjela dodane pšenice. Razlog povećanja biodostupnog cinka najvjerojatnije je povezan sa smanjenjem udjela fitinske kiseline kao glavnog inhibitora apsorpcije cinka u organizmu. Veživanje fitinske kiseline s različitim mineralima, posebice s cinkom, rezultira netopljivim solima sa smanjenjem bioraspoloživosti minerala uslijed stvaranja netopljivih soli (Coulibaly i sur., 2011). Heydysz i sur. (2022) pokazali su da se procesom ekstruzije s različitim temperaturnim profilima smanjuje razina fitatne kiseline u uzorcima graha. Proces ekstruzije značajno je smanjio sadržaj TIA, RS-a i fitata-P za oko 62 %, u istraživanju Zaworska-Zakrzewska i sur. (2022). Ta istraživanja u skladu su s Augustin i Cole (2022), koji su također dokazali smanjenje udjela fitatne kiseline uslijed primjene procesa ekstruzije. Pri povišenoj temperaturi aktivira se enzim fitaza što doprinosi hidrolizi fitata. Osim toga, visoke temperature pospješuju termičku razgradnju fitata (Widderich i sur., 2022).

### 5.3.2. Biodostupnost selena

Rezultati za ukupan udio i biodostupnost selena u zamjesima i ekstrudatima prikazani su u Tablici 13. Iz rezultata je vidljivo da se sadržaj ukupnog i biodostupnog selena u zamjesima povećavao proporcionalno dodanim udjelima pšenice biofortificirane selenom. Najveći udio ukupnog selena u zamjesima iznosio je  $254,59 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$ . Nakon probave *in vitro* vrijednost biodostupnog selena u zamjesima smanjila se bez statistički značajne razlike vrijednosti pri dodavanju različitih udjela biofortificirane pšenice. Najviša vrijednost biodostupnog selena iznosila je  $0,27 \pm 0,17$ , dok je najmanja vrijednost biodostupnog selena iznosila  $0,04 \pm 0,014 \mu\text{g/g}$  kod kontrolnog uzorka čiste kukuruzne krupice.

Utjecaj ekstruzije na sadržaj selena pozitivan je jer se sadržaj i ukupnog i biodostupnog selena povećao u odnosu na neekstrudirane zamjese. Dodavanjem različitih udjela biofortificirane pšenice selenom na udio ukupnog selena pozitivan je jer se povećanjem udjela dodane pšenice statistički značajno povećava i udio ukupnog selena u ekstrudatima. Najveća vrijednost iznosi  $304,48 \pm 0,025 \mu\text{g/g}$  za uzorak sa 40 % udjela pri temperaturi ekstruzije 170 °C, dok kontrolni uzorak čiste kukuruzne krupice na 190 °C ima udio ukupnog selena  $22,90 \pm 0,003 \mu\text{g/g}$ . Udio ukupnog selena smanjuje se rastom temperature ekstruzije. Vrijednosti za biodostupni selen ne mijenjaju se značajno rastom temperature ekstruzije, a nema ni statistički značajne razlike u vrijednostima dodavanjem različitih udjela biofortificirane pšenice na svim temperaturama ekstruzije.

Nekoliko je čimbenika koji utječu na variranje sadržaja biodostupnog selena. Jedan od najvažnijih jest kemijski oblik selena, koji u ovom istraživanju nije određivan. Selen, u formi selenata ili selenita, apsorbira se vrlo dobro, ali se manje zadržava u tijelu od organskih oblika selena, kao što su selenometionin i selenocistein (Burk i sur., 2006). Na apsorpciju selena utječe i sadržaj vlakana (Reeves i sur., 2005) te način obrade hrane (Todd, 2006). Rezultati istraživanja Reeves i sur. (2007) na temu apsorpcije selena iz integralne i obične pšenice pokazali su kako je prisutnost omotača ploda pšenice smanjila apsorpciju selena u odnosu na kontrolni uzorak. Kao najvjerojatniji uzrok tomu navode neprobavljiva vlakna u pšeničnim mekinjama. Vlakna „inkapsuliraju“ proteine na koje je vezan selen čineći ih nedostupnima enzimima u gornjem dijelu probavnog trakta, stoga se proteini i selen neprobavljeni transportiraju u debelo crijevo gdje podliježu bakterijskoj fermentaciji. Bakterije selen ugrađuju u svoju biomasu, zbog čega se on ne apsorbira ni u debelom crijevu.

Istraživanje Tangjaidee i sur., (2019) na ekstrudatima riže pokazuje da je sadržaj selena u obogaćenim ekstrudiranim uzorcima statistički značajno veći od kontrolnih uzoraka, a Li i sur. (2008) pokazali su da je biodostupnost selena veća u ekstrudiranoj soji u odnosu na prženu.

#### 5.4. SENZORSKA SVOJSTVA

Fizikalno-kemijske promjene koje prolaze sirovine prilikom procesa ekstruzije pod utjecajem različitih parametara gdje dolazi do razgradnje škroba, denaturacije proteina i sl., utječu na izgled, miris, okus i teksturu ekstrudiranih proizvoda. Senzorska procjena ispitivanih parametara kukuruznih ekstrudata s dodatkom pšenice obogaćene cinkom i selenom prikazana je u **Tablicama 14 i 15**. Ocjene su dane na temelju vanjskog izgleda, strukture, konzistencije, mirisa i okusa odabranih ekstrudata prema ocjenjivačkom listiću (**Prilog 1**).

Dobiveni rezultati pokazuju zadovoljavajuće ocjene svih ocjenjivanih svojstava promatrajući ih s aspekta različitih temperatura ekstruzije. Ocjene su se kretale u rasponu od 4,9 do 4,0. Najniže je ocijenjena konzistencija i struktura ekstrudata pri 170 °C.

Veći utjecaj na senzorska svojstva pokazali su različiti udjeli dodane pšenice biofortificirane i cinkom i selenom. Vanjski izgled ekstrudata imao je zadovoljavajuće ocjene za udjele od 10 i 20 % biofortificirane pšenice cinkom, a kod ekstrudata s dodatkom pšenice biofortificirane selenom nešto niže ocjene dobili su ekstrudati s 40 % udjela. Ocjene za strukturu ekstrudata kontinuirano se smanjuju dodatkom većih udjela pšenice, a zadovoljavajuće rezultate pokazuju udjeli do 30 % biofortificirane pšenice cinkom i selenom. Konzistencija ekstrudata s dodatkom biofortificirane pšenice selenom bolje je ocijenjeno senzorsko svojstvo nego kod ekstrudata s pšenicom biofortificiranom cinkom. Dodavanje pšenice biofortificirane i cinkom i selenom nije značajno utjecalo na miris dobivenih ekstrudata pri bilo kojem udjelu. Ocjene za

okus ekstrudata kreću se od 4,8 do 3,3 što ukazuje na prihvatljivost ekstrudata od strane ocjenjivača sve do udjela dodane pšenice biofortificirane i cinkom i selenom od 40 %.

S obzirom na prikazan ukupni zbroj bodova svih navedenih svojstava (**Slika 27**), najbolje ocijenjeni uzorak jest ekstrudat s udjelom od 10 % pšenice biofortificirane selenom, i to pri temperaturi ekstruzije od 180 °C. Najniže ocijenjen uzorak jest ekstrudat s 40 % dodanog udjela pšenice biofortificirane cinkom ekstrudiran na 170 °C.

## **6. ZAKLJUČCI**



Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Povećanjem temperature ekstruzije u većini uzoraka blago opada ekspanzijski omjer ekstrudata, ali taj utjecaj temperature nije toliko izražen koliki je utjecaj dodavanja pšenice biofortificirane cinkom i selenom. Stoga se može zaključiti da je opadanje ekspanzijskog omjera, uglavnom, uvjetovano povećanjem udjela dodane pšenice biofortificirane cinkom i selenom.
2. Promjena temperaturnih profila ekstruzije i dodavanje različitih udjela biofortificirane pšenice cinkom i selenom dali su različite rezultate u nasipnoj masi ekstrudata. Povećanjem temperature ekstruzije nasipna masa ekstrudata smanjivala se, što predstavlja pozitivan učinak na konačni proizvod, a u skladu je s rezultatima za ekspanzijski omjer ekstrudata. Međutim, povećavanjem udjela dodane pšenice biofortificirane cinkom i selenom povećavale su se vrijednosti nasipne mase, što ukazuje na povećanje tvrdoće krajnjeg proizvoda.
3. Tvrdoća ekstrudata smanjila se povećanjem temperature ekstruzije, bilo da se radi o kukuruznoj krupici ili uzorcima s dodatkom pšenice obogaćene i cinkom i selenom. Tvrdoća ekstrudata, također, smanjivala se povećanjem sadržaja pšenice obogaćene cinkom i selenom, ali samo kod temperature od 170 °C, dok se na temperaturi od 180 °C tvrdoća ekstrudata povećala pri udjelima od 20 i 30 %. Prema dobivenim rezultatima za lomljivost ekstrudata, vrijednosti su također smanjene s povećanjem temperature ekstruzije i povećanjem sadržaja dodane pšenice.
4. Ukupna promjena boje ( $\Delta E$ ) nakon postupka ekstruzije povećala se i primjenom različitih temperatura ekstruzije i dodavanjem različitih udjela pšenice biofortificirane cinkom i selenom. Najveća promjena boje uočena je kod uzoraka s dodanih 40 % pšenice pri temperaturi 190 °C i iznosi 16,49 za uzorak s dodatkom pšenice biofortificirane cinkom i 13,96 za uzorak s dodatkom pšenice biofortificirane selenom.
5. Dodatkom pšenice biofortificirane i cinkom i selenom smanjene su vrijednosti viskoznosti u odnosu na neekstrudirane zamjese. Također, trend smanjenja viskoznosti zabilježen je i pri povećanju temperature ekstruzije.
6. Sadržaj pepela i proteina statistički se značajno povećao dodatkom pšenice biofortificirane i cinkom i selenom u odnosu na kukuruznu krupicu, s tim da pšenica biofortificirana cinkom ima najveći sadržaj proteina od svih promatranih sirovina.
7. Udio ukupnog škroba različito je reagirao na različite parametre. Primjenom različitih temperatura ekstruzije, sadržaj škroba povećavao se, dok se dodavanjem različitih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom smanjivao.
8. Postupak ekstruzije značajno je povećao stupanj oštećenosti škroba u svim uzorcima. Utjecaj dodatka različitih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom proporcionalno

je smanjivao vrijednosti oštećenog škroba dodatkom većih udjela pšenice biofortificirane i cinkom i selenom.

9. Ekstruzija je pokazala pozitivan utjecaj na biodostupnost cinka i selena jer su se vrijednosti biodostupnog cinka i selena povećale u odnosu na neekstrudirane uzorke. Nema statistički značajnih razlika dodavanjem različitih udjela biofortificirane pšenice na sadržaj biodostupnog cinka i selena, dok su se promjenom temperaturnog režima vrijednosti biodostupnog cinka povećavale, a vrijednosti biodostupnog selena smanjivale.
10. Dobiveni rezultati pokazuju zadovoljavajuće ocjene svih ocjenjivanih svojstava promatrajući ih s aspekta različitih temperatura ekstruzije. Ocjene su se kretale u rasponu od 4,9 do 4,0. Veći utjecaj na senzorska svojstva pokazali su različiti udjeli dodane pšenice biofortificirane i cinkom i selenom.



## **7. LITERATURA**

- 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 and Emerging Technologies*. (47): 517-524, 2018.
- Ačkar Đ, Jozinović A, Šubarić D, Babić J, Jokić S, Vračević R: Influence of semolina moisture content on extrudate properties. *Glasnik Zaštite Bilja*, (37), 4, 2014.
- Afify AE-MMR, El-Beltagi HS, Abd El-Salam SM, Omran AA: Bioavailability of Iron, Zinc, Phytate and Phytase Activity during Soaking and Germination of White Sorghum Varieties. *PLoS ONE*, 6(10): e25512, 2011.
- Afzal U, Muhammad, Zamir MSI, Mohi Ud Din S, Bilal A, Salahuddin M, Khan SI: Impact of Different Zinc Application Methods on Yield and Yield Components of Various Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. *American Journal of Plant Sciences*, 8:13, 2017.
- Ahmadi Kabir J, Azizi MH, Abbastabar Ahangar H, Aarabi A: Physicochemical, rheological, and baking properties of composite Brotchen bread made from foxtail millet flour. *Acta Alimentaria*, 2022.
- Aldosary BM, Sutter ME, Schwartz M, Morgan BW: Case series of selenium toxicity from a nutritional supplement. *Clinical Toxicology*, 50:57–64, 2012.
- Alibabić V, Mujić I: Pravilna prehrana i zdravlje. Veleučilište u Rijeci, 2016.
- Alloway BJ: Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environmental Geochemistry and Health*, 31:537–548, 2009.
- Alminger M, Aura AM, Bohn T, Dufour C, El SN, Gomes A, Santos CN: In vitro models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 413–436, 2014.
- Altan A, Maskan M: Development of extruded foods by utilizing food industry by-products. In M. Maskan & A. Altan (Eds.), *Advances in food extrusion* (pp. 121–168). New York: CRC Press, 2011.
- 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.
- Amoako PO, Uden PC, Tyson JF: Speciation of selenium dietary supplements; formation of S-(methylseleno) cysteine and other selenium compounds. *Analytica Chimica Acta*, 652, 315–323, 2009.
- Anderson JJ: Minerals. In: Mahan LK, Escott-stump S, editors. *Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy*. USA: WB Saunders Co, 120–63, 2004.
- Arribas C, Cabellos B, Sánchez C, Cuadrado C, Guillamón E, Pedrosa MM: The impact of extrusion on the nutritional composition, dietary fiber and in vitro digestibility of gluten-free snacks based on rice, pea and carob flour blends. *Food & Function*, 8(10), 3654–3663, 2017.
- Augustin MA, Cole MB: Towards a sustainable food system by design using faba bean protein as an example. *Trends in Food Science & Technology*, 125, 1-11, 2022.
- Aziz N: Response of wheat varieties to different zinc application methods. *Pure and Applied Biology*, 8:489–495, 2018.

- Bakalov IY, Petrova TV, Ruskova MM, Kalcheva – Karadzhova KD, Penov ND: The effect of extrusion variables on the colour of bean-based extrudates *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 48, 407 – 411, 2016.
- Barrett AH, Kaletunc G: Quantitative Description of Fracturability Changes in Puffed Corn Extrudates Affected by Sorption of Low Levels of Moisture. *Cereal Chemistry*, 75(5):695-698, 1998.
- Bhowmik D, Bhattacharjee C, Sampath Kumar KP: A potential medicinal importance of zinc in human health and chronic disease, *International Journal of Pharmaceutical and Bio-Medical Science*, 1: 05-11, 2010.
- Boldrin PF, de Figueiredo MA, Yang Y, Luo H, Giri S, Hart JJ, Li L: Selenium promotes sulfur accumulation and plant growth in wheat (*Triticum aestivum*). *Physiologia Plantarum*, 158(1), 80–91, 2016.
- Bouis HE: Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 403-411, 2003.
- Bouis HE, Saltzman E: Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. *Global Food Security* 12:49–58. 2017.
- Bouis HE, Welch RM: Biofortification—a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global South. *Crop Science*, 50:20–32, 2010.
- Bouvier JM, Campanella OH.: *Extrusion Processing Technology*, John Wiley & Sons, Ltd, West Sussex, 2014.
- Brake K, Gumireddy A, Tiwari A, Chauhan H, Kumari D: In vivo studies for drug development via oral delivery: Challenges, animal models and techniques. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 8, 560, 2017.
- Brigelius-Flohé R, Flohé L: Selenium and redox signaling, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 617: 48–59, 2017.
- Broadley MR, White PJ, Bryson RJ, Meacham MC, Bowen HC, Johnson SE, Hawkesford MJ, McGrath SP, Zhao F-J, Breward N et al.: Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65: 169–181, 2006.
- Broadley MR, White PJ, Hammond JP, Zelko I, Lux A: Zinc in plants. *New Phytologist* 173: 677–702, 2007.
- Brouns F, Hemery Y, Price R, Anson NM: Wheat Aleurone: Separation, Composition, Health Aspects, and Potential Food Use. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52:553–568, 2012.
- Brown KH, Peerson JM, Rivera J, Allen LH: Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: A meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, 75:1062-71, 2002.
- Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z, Gibson RS, King JC, et al.: Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food & Nutrition Bulletin*, 25:S99-203, 2004.
- Brown KH, Wessells KR, Hess SY: Zinc Bioavailability from Zinc-Fortified Foods. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 3:174-81, 2007.

- Brown KH, Wuehler SE, Peerson JM: The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. *Food & Nutrition Bulletin*, 22:113-125, 2001.
- Bruulsema, T.W.; Heffer, P.; Welch, R.M.; Cakmak, I.; Moran, K.: Fertilizing Crops to Improve Human Health: A Scientific Review. *Better Crop. Plant Food* ,96: 29–31, 2012.
- Burk RF, Norsworthy BK, Hill KE, Motley AK, Byrne DW. Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial. *Cancer Epidemiological Biomarkers Preview*, 15:804–10, 2006.
- Cakmak I: Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification. *Plant Soil*, 302: 1-17, 2008.
- Cakmak I, Kutman UB: Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science*, 69:172–180, 2018.
- Cakmak I, Torun A, Millet E, Feldman M, Fahima T, Korol A, Nevo E, Braun HJ, Ozkan H: *Triticum dicoccoides*: an important genetic resource for increasing zinc and iron concentration in modern cultivated wheat. *Soil Science Plant Nutrition*, 50:1047-1054, 2004.
- Cheftel JC: Nutritional effects of extrusion-cooking. *Food Chemistry*, 20(4): 263-283, 1986.
- Coulibaly A, Kouakou B, Chen J: Phytic Acid in Cereal Grains: Structure, Healthy or Harmful Ways to Reduce Phytic Acid in Cereal Grains and Their Effects on Nutritional Quality. *Science Alert*, 2011.
- da Silva Alves PL, Berrios Jose JDJ, Pan J, Ramirez Ascheri JL: Passion fruit shell flour and rice blends processed into fiber-rich expanded extrudates. *CyTA - J. Food*, 16 (1), 901–90, 2018.
- Dima C, Elham Assadpour E, Dima S, Jafari S M.: Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by in vitro methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1–22, 2020.
- Do B, Robinet S, Pradeau D, Guyon F: Speciation of arsenic and selenium compounds by ion-pair reversed-phase chromatography with electrothermic atomic absorption spectrometry - Application of experimental design for chromatographic optimization. *Journal of Chromatography*, 1:87-98, 2001.
- Dumont E, Ogra Y, Vanhaecke F, Suzuki K T, Cornelis R: Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS): a powerful combination for selenium speciation in garlic (*Allium sativum*). *Analytical and bioanalytical chemistry*, (5):1196-206, 2006.
- Durge AV, Sarkar S, Survase SA, Singhal RS: Impact of Extrusion on Red Beetroot Colour Used as Pre-extrusion Colouring of Rice Flour. *Food and Bioprocess Technology*. 6, 570–575, 2013.
- 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.

- Fassio AS, Restaino EA, Cozzolino D: Determination of oil content in whole corn (*Zea mays* L.) seeds by means of near infrared reflectance spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*, 110: 171–175, 2015.
- Ferreira RE, Chang YK, Steel CJ: Influence of wheat bran addition and of thermoplastic extrusion process parameters on physical properties of cornbased expanded extruded snacks. *Alimentos e Nutriç~ao Araraquara*, 22(4), 507 – 520, 2012.
- Filli KB, Nkama I, Jideani VA, Abubakar UM: Application of response surface methodology for the evaluation of proximate composition and functionality of millet-soybean fura extrudates. *Wudpecker J. Food Technol.* 1 (5), 74–92, 2013.
- Foley JJ, Rosentrater KA: *Physical properties of extruded corn coproducts*. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2013.
- Fraczek A, Pasternak K: Selenium in medicine and treatment. *Journal of Elementology*, 18: 145–163, 2013.
- Ganjyal GM: *Extrusion Cooking*, Elsevier Inc., Duxford, 2020.
- Garg M, Sharma N, Sharma S, Kapoor P, Kumar A, Chunduri V, Aror P: Biofortified Crops Generated by Breeding, Agronomy, and Transgenic Approaches Are Improving Lives of Millions of People around the World. *Frontiers in Nutrition*, 2018.
- Gholamipour-Shirazi A, Kamlow MA, Norton IT, Mills T: How to Formulate for Structure and Texture via Medium of Additive Manufacturing-A Review. *Foods*, 9:497, 2020.
- Gibson RS, Bailey KB, Gibbs M, Ferguson EL: A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. *Food & Nutrition Bulletin*, 2: 134-46, 2010.
- Gomez-Coronado F, Poblaciones MJ, Almeida AS, Cakmak I: Zinc (Zn) concentration of bread wheat grown under Mediterranean conditions as affected by genotype and soil/foiar Zn application. *Plant Soil*, 2016.
- Graham RD, Welch RM: Breeding for staple-food crops with high micronutrient density. In Working Papers on Agricultural Strategies for Micronutrients, No. 3, 1996.
- Grusak MA, Fleige LE: Application of in vitro bioaccessibility and bioavailability methods for calcium, carotenoids, folate, iron, magnesium, polyphenols, zinc, and vitamins B(6), B(12), D, and E. *Frontiers in Physiology*, 3:317, 2012.
- Guo Y, Liu W, Wu B, Wu P, Duan Y, Yang Q, Ma H: Modification of garlic skin dietary fiber with twin-screw extrusion process and in vivo evaluation of Pb binding. *Food Chemistry*, 550–557, 2018.
- Gupta S, Brazier AKM, Lowe NM: Zinc deficiency in low- and middle-income countries: prevalence and approaches for mitigation. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 33:624–643, 2020.
- Guy R: *Extrusion cooking: Technologies and applications*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2001.
- Haile M, Zhongli P, Baoguo L, Griffiths GA, Olson DA, Wall MM, McHughc TH: Properties of extruded expandable breadfruit products. *Food Science and Technology*, 46(1): 326-334, 2012.



- Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Sheng X, Krebs NF: Zinc bioavailability and homeostasis. *The American journal of clinical nutrition*, 5:1478S-1483, 2010.
- Hart DJ, Fairweather-Tait SJ, Broadley SJ, Dickinson SJ, Foot I, Knott P, McGrath SP, Mowat H, Norman K, Scott PR, Stroud JL, Tucker M, White PJ, Zhao FJ, Hurst R: Selenium concentration and speciation in biofortified flour and bread: Retention of selenium during grain biofortification, processing and production of Se-enriched food. *Food Chemistry*, 126: 1771–1778, 2011.
- Hartikainen H: Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18: 309–318. 2005.
- Heinieo RL, Noort MWJ, Katina K, Alam SA, Sozer N, de Kock HL, et al.: Sensory characteristics of wholegrain and bran-rich cereal foods—a review. *Trends in Food Science and Technology*, 47, 25–38, 2016.
- Hejdysz M, Kaczmarek SA, Bedford MR: The effect of different temperatures applied during extrusion on the nutritional value of faba bean and degradation of phytic P isomers. *Animal Feed Science and Technology*, 285, 115221, 2022.
- Hernandez-Diaz JR, Quintero-Ramos A, Barnard J, Balandran-Quintana RR: Functional Properties of Extrudates Prepared with Blends of Wheat Flour/Pinto Bean Meal with Added Wheat Bran. *Food Science and Technology International*, 13(4):301–308, 2007.
- Hossain A, Skalicky M, Brestic M, Maitra S, Sarkar S, Ahmad Z, Vemuri H, Garai S, Mondal M, Bhatt R, Kumar P, Banerjee P, Saha S, Islam T, Laing AM: Selenium Biofortification: Roles, Mechanisms, Responses and Prospects. *Molecules*, 26: 881, 2021.
- House WA: Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. *Field Crops Research*, 60: 115–141, 1999.
- Huang Y, Liang J: Optimization and characteristics of extruded puffed snacks with *Agaricus bisporus* powder and rice flour. *Journal of Food Process Engineering*, (42):1-8, 2019.
- Hussain S, Maqsood MA, Rengel Z, Aziz T, Abid M: Estimated zinc bioavailability in milling fractions of biofortified wheat grains and in flours of different extraction rates. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15: 921–926, 2013.
- Imran M, Rehim A: Zinc Fertilization Approaches for Agronomic Biofortification and Estimated Human Bioavailability of Zinc in Maize Grain. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2016.
- Iqbal TH, Lewis KO, Cooper BT: Phytase activity in the human and rat small intestine. *Gut*, 35:1233–6, 1994.
- Izydorczyk G, Ligas B, Mikula K, Witek-Krowiak A, Moustakas K, Chojnacka K: Biofortification of edible plants with selenium and iodine – A systematic literature review. *Science of the Total Environment*, 754, 2021.
- Jan N, Naik HR, Gani G, Bashir O, Hussain SZ, Rather AH, Zargar IA, Wani SM, Amin T: Optimization of process for the development of rice flour incorporated low-gluten wheat based pretzels: Evaluation of its physicochemical, thermal and textural characteristics. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20, 116–127, 2021.

- Jones GD, Droz B, Greve P, Gottschalk P, Poffet D, McGrath SP, Seneviratne SI, Smith, P.; Winkel, L.H: Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci* 114: 2848–2853, 2017.
- 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.
- Jozinović A, Šubarić D, Ačkar Đ, Babić J, Orkić V, Guberac S, Miličević B: Food Industry By-Products as Raw Materials in the Production of Value-Added Corn Snack Products, *Foods*, 10(5), 946, 2021.
- 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*, Vol. 4 No. 2, 95-101, 2012.
- Jozinović A, Ačkar Đ, Jokić S, Babić J, Panak Balentić J, Banožić M, Šubarić D: Optimization of extrusion variables for the production of corn snack products enriched with defatted hemp cake. *Czech Journal of Food Sciences*, 6:507-516, 2017.
- Jozinović A, Panak Balentić J, Ačkar Đ, Babić J, Pajin B, Miličević B, Guberac S, Vrdoljak A, Šubarić D: Cocoa husk application in the enrichment of extruded snack products. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43:13866, 2019.
- Kabir JA, Azizi MH, Abbastabar ahanger H, Arabi A: Effect of foxtail millet flour on physicochemical properties of refined wheat flour and dough rheological behavior. *Journal of food science and technology (Iran)*, 19 (124): 359-369, 2022.
- Kaisangsri N, Kowalski RJ, Wijesekara I, Kerdchoechuen O, Laohakunjit N, Ganjyal GM: Carrot pomace enhances the expansion and nutritional quality of corn starch extrudates. *Food Science and Technology*, 68, 391-399, 2016.
- Kapolna E, Fodor P: Bioavailability of selenium from selenium-enriched green onions (*Allium fistulosum*) and chives (*Allium schoenoprasum*) after “in vitro” gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58, 282–296, 2007.
- Karwe MV: *Food extrusion*. In: Food Engineering Volume III, Encyclopedia of life Support Systems, Barbosa-Canovas, G.V., ED., EOLSS Publishers, Oxford, pp. 227–236, 2009.
- Katalinić V: *Temeljno znanje o prehrani*. Kemijsko-tehnološki fakultet Split, Split, 2011.
- Kennedy G, Nantel G, Shetty P: The scourge of “hidden hunger”: global dimensions of micronutrient deficiencies. *Food, Nutrition & Agriculture*, 32, 8–16, 2003.
- Kesre C, Masatcioglu MT: Physical characteristics of corn extrudates supplemented with red lentil bran. *Food Science and Technology*, 153, 112530, 2022.
- Khan WA, Shabala S, Cuin TA, Zhou M, Penrose B: Avenues for biofortification of zinc in barley for human and animal health: a meta-analysis. *Plant Soil*, 2021.
- Khanam R, Kumar A, Nayak AK, Shahid M, Tripathi R, Vijayakumar S, Bhaduri D, Kumar U, Mohanty S, Panneerselvam P, Chatterjee D, Satapathy BS, Pathak H: Metal(loid)s (As, Hg, Se, Pb and Cd) in paddy soil: bioavailability and potential risk to human health. *The Science of the total environment*, 2020.

- Khanam A, Platel K: Bioaccessibility of selenium, selenomethionine and selenocysteine from foods and influence of heat processing on the same. *Food Chemistry*, 194: 1293–1299, 2016.
- Kieliszek M.: Selenium–Fascinating Microelement, Properties and Sources in Food. *Molecules*, 24: 1298, 2019.
- Kieliszek M, Błażej S: Current knowledge on the importance of selenium in food for living organisms: A review. *Molecules*, 21: 609, 2016.
- Kieliszek M, Błażej S: Selenium: Significance, and outlook for supplementation. *Nutrition*, 29:713–718, 2013.
- Kiers J, Nout R, Rombouts F: In vitro digestibility of processed and fermented soya bean, cowpea and maize. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(9): 1325-1331, 2000.
- Korkerd S, Wanlapa S, Puttanlek C, Uttapap D, Rungsardthong V: Expansion and functional properties of extruded snacks enriched with nutrition sources from food processing by-products. *Journal of Food Science and Technology*, (53): 561–570, 2016.
- Kumar N, Sarkar BC, Sharma HK: Development and characterization of extruded product of carrot pomace, rice flour and pulse powder. *African Journal of Food Science*. (11): 703 – 717, 2010.
- Kumar P, Yadava RK, Gollen B, Kumar S, Verma RK, Yadav S.: Nutritional Contents and Medicinal Properties of Wheat: A Review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011.
- La Frano MR, de Moura FF, Boy E, Lonnerdal B, Burri BJ: Bioavailability of iron, zinc, and provitamin A carotenoids in biofortified staple crops. *Nutrition Reviews*, 72: 289–307, 2014.
- Lecumberri E, Mateos R, Izquierdo-Pulido M, Rupérez P, Goya L, Bravo L: Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physicochemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry*, 104, 948–954, 2007.
- Li L, Jiang HX, Campbell M, Blanco M, Jane J.: Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. *Carbohydrate Polymers*, 3:396–404, 2008.
- Liu Y, Chen J, Luo S, Li C, Ye J, Liu C, Gilbert RG: Physicochemical and structural properties of pregelatinized starch prepared by improved extrusion cooking technology. *Carbohydrate polymers*. 265–272, 2017.
- Lonnerdal B, Sandberg A, Sandstrom B, Kunz C: Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. *The Journal of nutrition*, 119:211–4, 1989.
- López de Romaña D, Lönnerdal B, Brown KH: Absorption of zinc from wheat products fortified with iron and either zinc sulfate or zinc oxide. *The American journal of clinical nutrition*, 2: 279-83, 2003.
- Lovrić T: Ekstruzija (Ekstruzijsko kuhanje). U *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva* (Lovrić T, ur.). Hinus, Zagreb, 287-299, 2003.

- Lyons G, Stangoulis J, Graham R: High-selenium wheat: biofortification for better health. *Nutrition Research Reviews*, 16: 45–60.2003.
- Malagoli M, Schiavon M, Stefano dall'Acqua S, Pilon-Smits EAH: Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Frontiers in Plant Science*, 6: 2801, 2015.
- Maskus H, Arntfield S: Extrusion processing and evaluation of an expanded, puffed pea snack product. *Journal of Nutrition and Food Science*. (5): 378, 2015.
- Masli MDP, Rasco BA, Ganjyal GM: Composition and physicochemical characterization of fiber-rich food processing by-products. *Journal of Food Sciences*, 83, 956–965, 2018.
- Mazlan MM, Talib RA, Mail NF, Taip FS, Chin NL, Sulaiman R, Shukri R, Nor MZM: Effects of extrusion variables on corn-mango peel extrudates properties, torque and moisture loss. *International Journal of Food Properties*, (22),1, 54–70, 2019.
- Meenakshi JV, Johnson N, Manyong V, DeGroot H, Javelosa J, Yanggen D, Naher F: How cost-effective is biofortification in combating micronutrient malnutrition? An ex ante assessment. *World Development*, 38 (1), 64–75. 2010.
- Mendonca S, Grossmann MVE, Verhe R: Corn Bran as a Fibre Source in Expanded Snacks. *Lebensmittelwissenschaft Untersuchung-Technol*, 33, 2–8, 2000.
- Menegassi B, Pilosof AMR, Arêas JAG: Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria) flour. *Food Science and Technology*, (44), 9, 1915-1921, 2011.
- Meng X, Threinen D, Hansen M, Driedger D: Effects of extrusion conditions on system parameters and physical properties of chickpea flour-based snack. *Food Research International*, 43, 650–658, 2010.
- Mesnier X, Gregory C, França-Berthon P, Boukobza F, Bily A: Heat and light colour stability of beverages coloured with a natural carotene emulsion: Effect of synthetic versus natural water soluble antioxidants. *Food Research International*, 65, 149–155, 2014.
- Móscicki L: Extrusion - Cooking Techniques: Applications, Theory and Sustainability. WILEY-VCH, Weinheim, Germany, 2011.
- Móscicki L, Wójtowicz A: Raw Materials in the Production of Extrudates. U *Extrusion - Cooking Techniques: Applications, Theory and Sustainability* (Móscicki L, ur.). WILEY-VCH, Weinheim, Germany, 45-63, 2011.
- Msangi S, Sulser TB, Bouis A, Hawes D, Batka M: *Integrated Economic Modeling of Global and Regional Micronutrient Security*. HarvestPlus Working Paper 5. Washington, DC: HarvestPlus. 2010.
- Mulla MZ, Bharadwaj VR, Annapure US, Singhal RS: Effect of formulation and processing parameters on acrylamide formation: A case study on extrusion of blends of potato flour and semolina. *LWT - Food Science and Technology*, 44 (7): 1643-1648, 2011.
- Muñoz-Pabon KS, Parra-Polanco AS, Roa-Acosta DF, Hoyos-Concha JL and Bravo-Gomez JE: Physical and Paste Properties Comparison of Four Snacks Produced by High Protein Quinoa Flour Extrusion Cooking. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6:852224, 2022.

- Nayak B, Berrios JDJ, Powers JD, Tang J: Effect of Extrusion on the Antioxidant Capacity and Color Attributes of Expanded Extrudates Prepared from Purple Potato and Yellow Pea Flour Mixes. *Journal of Food Science*, 76(6), C874–C883, 2011.
- Nor N, Carr A, Hardacre A, Brennan C: The Development of Expanded Snack Product Made from Pumpkin Flour-Corn Grits: Effect of Extrusion Conditions and Formulations on Physical Characteristics and Microstructure. *Foods*, 2(2), 160–169, 2013.
- Norfezah, MN, Carr A, Hardacre A, Brennan CS: The Development of Expanded Snack Product Made from Pumpkin Flour-Corn Grits: Effect of Extrusion Conditions and Formulations on Physical Characteristics and Microstructure. *Foods*. (2): 160-169, 2013.
- Obradović V, Babić J, Dragović-Uzelac V, Jozinović A, Ačkar Đ, Šubarić D: Properties of Extruded Snacks Prepared from Corn and Carrot Powder with Ascorbic Acid Addition. *Processes*, 9:1367, 2021.
- Obradović V, Babić J, Jozinović A, Ačkar Đ, Panak Balentić J, Grec M, Šubarić D: Textural and sensory characteristics of extruded snacks prepared from corn and carrot powder with ascorbic acid addition. *Poljoprivreda*, (1): 52-58, 2018.
- Obradović V, Babić J, Šubarić D, Ačkar Đ, Jozinović A, 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.
- Oliveira LC, Alencar NM, Steel CJ: Improvement of sensorial and technological characteristics of extruded breakfast cereals enriched with whole grain wheat flour and jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel. *Food Science and Technology*, 90, 207–214, 2018.
- Oliveira LC, Rosell CM, Steel CJ: Effect of the addition of whole-grain wheat flour and of extrusion process parameters on dietary fibre content, starch transformation and mechanical properties of a ready-to-eat breakfast cereal. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(6), 1504–1514, 2015.
- Oliveira LC, Schmiele M, Steel CJ: Development of whole grain wheat flour extruded cereal and process impacts on color, expansion, and dry and bowl-life texture. *Food Science and Technology*, 75, 261-270, 2017.
- Olza J, Aranceta-Bartrina J, González-Gross M, Ortega RM, Serra-Majem L, Varela-Moreiras G, Gil A: Reported Dietary Intake and Food Sources of Zinc, Selenium, and Vitamins A, E and C in the Spanish Population: Findings from the ANIBES Study. *Nutrients*, 9:697-716, 2017.
- O'Shea N, Gallagher E: Evaluation of novel-extruding ingredients to improve the physicochemical and expansion characteristics of a corn-puffed snack-containing pearled barley. *European Food Research and Technology*, 245:1293–1305, 2019.
- Parada J, Aguilera JM: Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, 2: 21–32, 2007.
- Panak Balentić J, Jozinović A, Ačkar Đ, Babić J, Miličević B, Benšić M, Jokić S, Šarić A, Šubarić D: Nutritionally improved third generation snacks produced by supercritical CO<sub>2</sub> extrusion I. Physical and sensory properties. *Journal of food process engineering*, 42:2, 2019.

- Pfeiffer W.H., McClafferty, B.: HarvestPlus: breeding crops for better nutrition. *Crop Science*, 47: 88-105.2007.
- Phattarakul N, Rerkasem B, Li LJ, Wu LH, Zou CQ, Ram H, Sohu VS, Kang BS, Surek H, Kalayci M, Yazici A, Zhang FS, Cakmak I: Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant Soil*, 361: 131–141, 2012.
- Platt-Lucero LC, Ramírez-Wong B, Torres-Chávez PI, López-Cervantes J, Sánchez-Machado DI, Carvajal-Millán E, Morales-Rosas I: Effect of xylanase on extruded nixtamalised corn flour and tortilla: Physicochemical and rheological characteristics. *Journal of Food Process Engineering*. 36:179-186, 2013.
- Prabha K, Ghosh P, Abdullah S, Rosmin MJ, Krishnan R, Singh Rana S, Chandra Pradhan R: Recent development, challenges, and prospects of extrusion technology. *Future Food*, 3:1-15, 2021.
- Qaim M, Stein AJ, Meenakshi JV: Economics of biofortification. *Agricultural Economics*, 37, 119–133. 2007.
- Qamar SZ: *Extrusion of Metals, Polymers and Food Products*, Intechopen, 2018.
- Radawiec A, Szulc W, Rutkowska B: Selenium Biofortification of Wheat as a Strategy to Improve Human Nutrition. *Agriculture*, 2: 144, 2021.
- Ram H, Sohu VS, Cakmak I, Singh K, Buttar GS, Sodhi GPS, Gill HS, Bhagat I, Singh P, Dhaliwal SS, Mavi GS: Agronomic fortification of rice and wheat grains with zinc for nutritional security. *Current Science*, 6: 1171-1176, 2015.
- Ramkisson C, Degryse F, da Silva RC, Baird R, Young SD, Bailey EH, McLaughlin MJ: Improving the efficacy of selenium fertilizers for wheat biofortification. *Scientific Reports*. 20, 9(1):19520, 2019.
- Rebekić A, Grubišić S, Petrović S, Lončarić Z.: In vitro bioavailability of zinc and iron in wheat grain. *Proceedings of 52nd Croatian and 12th International Symposium on Agriculture*, 2017.
- Reddy N, Sathe S: *Food Phytates*. Boca Raton, FL: CRC Press LLC, 2002.
- Reeves PG, Gregoire BR, Garvin DF, Hareland GA, Lindlauf JE, Johnson LK, et al.: Determination of selenium bioavailability from wheat mill fractions in rats by using the slope-ratio assay and a modified Torula yeastbased diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 516–522, 2007.
- Reeves PG, Leary PD, Gregoire BR, Finley JW, Lindlauf JE, Johnson LK: Selenium bioavailability from buckwheat bran in rats fed a modified AIN-93G torula yeast-based diet. *The Journal of Nutrition*. 135, 2627–2633, 2005.
- Rengel Z: Genotypic differences in micronutrient use efficiency in crops. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32:1163-1186, 2001.
- 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.

- Robin F, Theoduloz C, Srichuwong S: Properties of extruded whole grain cereals and pseudocereals flours. *International Journal of Food Science and Technology*, 10: 2152–2159, 2015.
- Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R: Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences*, 18:144-57, 2013.
- Ros G, Rotterdam A, Bussink D, Bindraban P: Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: an agro-ecosystem approach. *Plant Soil*, 404, 99–112, 2016.
- Roye C, Henrion M, Chanvrier H, De Roeck K, De Bondt Y, Liberloo I, King R, Courtin CM: Extrusion-Cooking Modifies Physicochemical and Nutrition-Related Properties of Wheat Bran, *Foods*, 9, 738, 2020.
- Ryu GH, Walker CE: The Effects of Extrusion Conditions on the Physical Properties of Wheat Flour Extrudates. *Starch - Stärke*, 47(1), 33–36, 1995.
- Sahu C, Patel S, Tripathi AK: Effect of extrusion parameters on physical and functional quality of soy protein enriched maize based extruded snack. *Applied Food Research* 2, 100072, 2022.
- Saltzman A, Birol E, Bouis H, Boy E, de Moura FF, Islam Y, Pfeiffer WH: Biofortification: Progress toward a more nourishing future. *Global Food Security*, 2(1): 9-17. 2013.
- Sandhu KS, Singh N, Malhi NS: Some Properties of Corn Grains and Their Flours I: Physicochemical, Functional and Chapati-Making Properties of Flours. *Food Chemistry*, 101, 938-946, 2007.
- 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.
- Sarwar N, Akhtar M, Kamran M A, Imran M, Riaz M A, Kamran K, Hussain S: Selenium biofortification in food crops: Key mechanisms and future perspectives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2020.
- Schiavon M, Nardi S, Dalla Vecchia F, Ertani A: Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. *Plant Soil*, 16:1-26, 2020.
- Shah TR, Prasad K, Kumar P: Maize—A potential source of human nutrition and health: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1-9, 2016.
- Shahid M, Niazi NK, Khalid S, Murtaza B, Bibi I, Rashid MI: A critical review of selenium biogeochemical behavior in soil-plant system with an inference to human health, *Environmental Pollution*, 234:915–934, 2018.
- Sharma SK, Lal F: Estimation of critical limit of DTPA zinc for wheat in Pellusters of southern Rajasthan. *Journal of Indian Society of Soil Science*, 41:197-198, 1993.
- Sheng S, Li T, Liu R: Corn phytochemicals and their health benefits, *Food Science and Human Wellness*, 7: 185–195, 2018.
- Shenggen F, Pandya-Lorch R: *Reshaping Agriculture for Nutrition and Health*. International Food Policy Research Institute. Washington, 2020.

- Shewry PR: The HEALTHGRAIN programme opens new opportunities for improving wheat for nutrition and health. *Nutrition Bulletin*, (2): 225–231, 2009.
- Shruthi VH, Hiregoudar S, Nidoni U: Evaluation of textural properties of corn based extruded products. *Plant Archives*, (2): 2405-2410, 2019.
- Sibakov JK, Kirjoranta SJ, Alam SA, Kokkonen H, Jurvelin JS, Jouppila K, Poutanen KS, Sozer N: Effect of Oat Bran Fractions on Extrudates Made of Defatted Oats. *Food Bioprocess Technology*, 8:445–458, 2015.
- Singh JP, Kaur A, Shevkani K, Singh N, Singh B: Physicochemical characterisation of corn extrudates prepared with varying levels of beetroot (*Beta vulgaris*) at different extrusion temperatures. *International Journal of Food Science and Technology*, 2016.
- Singh JP, Kaur A, Singh B, Singh N, Singh B: Physicochemical evaluation of corn extrudates containing varying buckwheat flour levels prepared at various extrusion temperatures. *Journal of Food Science and Technology*, 2019.
- Singh MV: Micronutrient Deficiencies in Crops and Soils in India. In (Springer D): Alloway BJ (eds) *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*, 2008.
- Smrkolj P, Pograjc L, Hlastan-Ribič C, Stibilj V: Selenium content in selected Slovenian foodstuffs and estimated daily intakes of selenium. *Food Chemistry*, 90:691–697, 2005.
- Srichuwong S, Curti D, Austin S, King R, Lamothe L, Hernandez HG: Physicochemical properties and starch digestibility of whole grain sorghums, millet, quinoa and amaranth flours, as affected by starch and non-starch constituents. *Food Chemistry*, 2017.
- Stahl W, van den Berg H, Arthur J, Bast A, Dainty J, Faulks RM, et al.: Bioavailability and metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*, 23, 39–100, 2002.
- Stangoulis J, Graham R: Trace-element uptake and distribution in plants, *Journal of Nutrition*, 133: 1502S-1505S, 2003.
- Stein AJ: Rethinking the measurement of under nutrition in a broader health context. *Global Food Security*, 3:193–199, 2014.
- Tanjaidee, P, Xiang J, Yin H, Wen X, Quek SY: Selenium, fibre, and protein enrichment of rice product: extrusion variables and product properties. *Food Quality and Safety*, 3: 1, 40-51, 2019.
- Terrin G, Canani RB, di Chiara M, Pietravalle A, Aleamdri V, Conte De Curtis M: Zinc in early life: a key element in the fetus and preterm neonate. *Nutrients*, 7:10427–10446, 2015.
- Thavarajah D, Abare A, Mapa I, Coyne CJ, Thavarajah P, Kumar S: Selecting lentil accessions for global selenium biofortification. *Plants*, 6:34, 2017.
- Thiry C, Ruttens A, De Temmerman L, Schneider I Y, Pussemier L.: Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. *Food Chemistry*, 130: 767–784, 2012.
- Todd SE: *Metabolism of selenium in cats and dogs*. PhD thesis, Massey University, 2006.



- Toth RJ, Csapo J: The role of selenium in nutrition A review. *Acta Universitatis Sapientiae Alimentaria*, 11:128-144, 2018.
- Tumwine G, Asiiimwe AA: Effect of barrel temperature and blending ratio on the sensory and physical properties of cassava-extruded snacks. *Cogent Food and Agriculture*, 5, 2019.
- Velu G, Ortiz-Monasterio I, Cakmak I, Hao Y, Singh RP: Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. *Journal of Cereal Science*, 59, 365-372, 2014.
- Wang J, Xia S, Wang B, Ali F, Li X: Effect of twin-screw extrusion on gelatinization characteristics of oat powder. *Food Processing and Engineering*, 42, 13014, 2019.
- Warburton E, Goenaga-Infante H: Methane mixed plasma – Improved sensitivity of inductively coupled plasma mass spectrometry detection for selenium speciation analysis of wheat-based food. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 22, 370–376, 2007.
- Wei Y, Shohag MJI, Yang X : Biofortification and Bioavailability of Rice Grain Zinc as Affected by Different Forms of Foliar Zinc Fertilization. *PLOS ONE*, 9: 45428, 2012.
- Wessells KR, Brown KH: Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. *PLoS ONE*, 7:50568, 2012.
- White PJ, Broadley MR: Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, 182: 49–84. 2009.
- Widderich N, Mayer N , Ruff AJ, Reckels B, Lohkamp F, Visscher C, Schwaneberg U , Kaltschmitt M , Liese A, Bubenheim P: Conditioning of Feed Material Prior to Feeding: Approaches for a Sustainable Phosphorus Utilization. *Sustainability*, 14, 3998, 2022.
- Woo J, Lim W: Anticancer effect of selenium. *The Ewha Medical Journal*, 40: 17–21, 2017.
- World Health Organization. *Trace elements in human nutrition and health*. Geneva: WHO, 1996.
- Yadav RS, Patel AM, Dodia IN, Aglodiya AV, Patel V Augustine N: Agronomic bio-fortification of wheat (*Triticum aestivum* L.) through iron and zinc enriched organics. *Journal of Wheat Research*, 3(1): 46-51, 2011.
- Yagcı S, Gogus 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.
- Yaseen MK, Hussain S: Zinc-biofortified wheat required only a medium rate of soil zinc application to attain the targets of zinc biofortification. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 67, 2021.
- Yilmaz A, Ekiz H, Gultekin I, Torun B, Barut H, Karanlık S, Cakmak I: Effect of seed zinc content on grain yield and zinc concentration of wheat grown in zinc-deficient calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition*, 21:257–264, 1998.

- Yongfeng A, Jane J: Macronutrients in Corn and Human Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 2016.
- Yu L, Ramaswamy H, Boye J: Twin-screw Extrusion of corn flour and soy protein isolate (SPI) blends: A response surface analysis. *Food and Bioprocess Technology*, 5 (2): 485-497, 2012.
- Zamora NC: Effect of extrusion on the activity of anti-nutritional factors and in vitro 550 digestibility of protein and starch in flours of *Canavalia ensiformis*. *Archivos latinoamericanos 551 de nutricion*, 53, 293-298, 2003.
- Zaworska-Zakrzewska A, Kasproicz-Potocka M, Ciołek K, Pruszyńska-Oszmałek 3E, Stuper-Szablewska K, Rutkowski A: The Effects of Protease Supplementation and Faba Bean Extrusion on Growth, Gastrointestinal Tract Physiology and Selected Blood Indices of Weaned Pigs. *Animals*, 12, 563, 2022.
- Zhang X, Chen Y, Zhang R, Zhong Y, Luo Y, Xu S, Guo D: Effects of extrusion treatment on physicochemical properties and in vitro digestion of pregelatinized high amylose maize flour. *Journal of Cereal Sciences*, 68, 108–115, 2016.
- Zhang Y, Shi R, Rezaul K, Zhang F, Zou C: Iron and Zinc Concentrations in Grain and Flour of Winter Wheat As Affected by Foliar Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 23, 12268–12274, 2010.
- Zhou X, Yang J, Kronzucker HJ, Shi W: Selenium Biofortification and Interaction With Other Elements in Plants: A Review. *Frontiers in Plant Sciences*, 11:586421, 2020.



## **8. PRILOZI**

## Prilog 1 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: $\frac{\Sigma(P.B.)}{\Sigma(C.Z.)}$	

Napomena ocjenjivača:

\_\_\_\_\_

Potpis ocjenjivača:

\_\_\_\_\_