

# Svojstva kvalitete trodimenzijski tiskanoga snack proizvoda obogaćenog s fermentiranim posijama pšenice i amaranta

---

Iveković, Sofija

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:144870>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2022.

Sofija Iveković

**SVOJSTVA KVALITETE  
TRODIMENZIJSKI TISKANOGA  
SNACK PROIZVODA  
OBOGAĆENOG S  
FERMENTIRANIM POSIJAMA  
PŠENICE I AMARANTA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju žitarica na Zavodu za prehrambeno tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. Dubravke Novotni te uz pomoć dr. sc. Matee Habuš.

Diplomski rad je izrađen u sklopu istraživačkog projekta '*Razvoj nove generacije snack proizvoda namijenjenih potrošačima s posebnim prehrambenim potrebama primjenom tehnologija 3D tiskanja*' financiranog od strane Hrvatske zaklade za znanost (IP-2020-02-3829).

## ZAHVALA

*Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr sc. Novotni na pomoći tijekom pisanja rada te dr. sc. Habuš na pomoći tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela rada. Također se zahvaljujem obitelji na podršci tijekom studija te prijateljima i kolegama koji su razdoblje studiranja učinili ljepšim.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za prehrambeno tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za kemiju i tehnologiju žitarica

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

## SVOJSTVA KVALITETE TRODIMENZIJSKI TISKANOGA SNACK PROIZVODA OBOGAĆENOG S FERMENTIRANIM POSIJAMA PŠENICE I AMARANTA

*Sofija Iveković*, univ. bacc. ing. techn. aliment.  
0058210434

**Sažetak:** Posije mogu obogatiti *snack* proizvode prehrambenim vlaknima, ali pri tome negativno utječu na tehnološka i senzorska svojstva proizvoda. Cilj ovoga rada je bio odrediti utjecaj fermentacije posija pšenice i amaranta na reološka, fizikalna i senzorska svojstva 3D tiskanih *snackova*. Fermentacija je provedena koristeći pekarski kvasac (*Saccharomyces cerevisiae*) samostalno ili u kombinaciji sa LV1 starterom, *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom. Određeni su reologija tijesta, preciznost tiska, točnost oblika i deformacija tijekom pečenja, boja, tekstura i senzorska svojstva pečenih 3D *snackova*. Fermentacija je utjecala na povećanje vrijednosti kompleksne viskoznosti i naprezanja na granici razvlačenja, bolju preciznost tiska, manju deformaciju tijekom pečenja i manju tvrdoću *snackova*. Intenzitet pojedinih senzorskih svojstava je ovisio o vrsti posija i načinu fermentacije, a rezultati hedonističke senzorske analize su bili slični između uzoraka sa pšeničnim i posijama amaranta.

**Ključne riječi:** *Fermentacija, 3D tiskanje, snack proizvodi, pšenične posije, posije amaranta*

**Rad sadrži:** 52 stranica, 17 slika, 7 tablica, 81 literaturnih navoda, 1 prilog

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Dubravka Novotni

**Pomoć pri izradi:** dr. sc. Matea Habuš

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. izv. prof. dr. sc. Nikolina Čukelj Mustač
2. izv. prof. dr. sc. Dubravka Novotni
3. izv. prof. dr. sc. Tomislava Vukušić Pavičić
4. doc. dr. sc. Maja Benković

**Datum obrane:** 30. rujna 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Graduate university study programme:** Food Engineering

### QUALITY PROPERTIES OF 3D PRINTED SNACK ENRICHED WITH FERMENTED WHEAT AND AMARANTH BRAN

*Sofija Iveković*, univ. bacc. ing. techn. aliment.

0058210434

**Abstract:** Bran can enrich snacks with dietary fiber, but it has a negative technological effect on the production process and on the sensory characteristics of the final product. The aim of this study was to investigate the impact of bioprocessing of wheat and amaranth bran on rheological, physical and sensory characteristics of 3D printed snacks. Bran was bioprocessed with *Saccharomyces cerevisiae* alone or combined with commercial starter LV1, *Limosilactobacillus fermentum*, yeast *Kluyveromyces marxianus*, or inulinase. Dough rheology, printing precision, shape accuracy, shrinkage in baking, colour, texture and sensory characteristics were determined. Bioprocessing of the bran resulted in higher complex viscosity and yield stress values, better printing precision, less shrinkage during baking and softer snacks. The intensity of sensory characteristics depended on the bran type and bioprocessing agent but hedonistic analysis results were similar between snacks with wheat and amaranth bran.

**Keywords:** *Fermentation, 3D printing, snack, wheat bran, amaranth bran*

**Thesis contains:** 52 pages, 17 figures, 7 tables, 81 references, 1 supplement

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** Dubravka Novotni, Assistant professor

**Technical support and assistance:** *dr. sc. Matea Habuš*

#### Reviewers:

1. Nikolina Čukelj Mustač, PhD, Assistant professor
2. Dubravka Novotni, PhD, Assistant professor
3. Tomislava Vukušić Pavičić, PhD, Assistant professor
4. Maja Benković, PhD

**Thesis defended:** September 30<sup>th</sup>, 2022



## Sadržaj

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. PŠENIČNE POSIJE .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2. POSIJE AMARANTA .....</b>	<b>5</b>
2.2.1. Utjecaj dodatka posija na reologiju tijesta .....	7
2.2.2. Utjecaj posija na senzorska svojstva hrane od žitarica .....	8
<b>2.3. FERMENTACIJA I ENZIMSKA OBRADA POSIJA.....</b>	<b>9</b>
<b>2.4. SNACK PROIZVODI .....</b>	<b>11</b>
2.4.1. Novi trendovi u proizvodnji <i>snack</i> proizvoda.....	12
<b>2.5. 3D-TISAK .....</b>	<b>12</b>
2.5.1. Tehnike 3D-tiskanja hrane .....	14
2.5.2. 3D-tisak u proizvodnji <i>snack</i> proizvoda .....	16
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1. MATERIJALI .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2. METODE RADA .....</b>	<b>19</b>
3.2.1. Bioproceniranje posija.....	20
3.2.2. Priprema tijesta.....	21
3.2.3. Određivanje reoloških svojstava tijesta.....	22
3.2.4. 3D tiskanje <i>snack</i> proizvoda .....	22
3.2.4. Pečenje <i>snack</i> proizvoda .....	23
3.2.5. Određivanje ponovljivosti i preciznosti tiska te točnosti oblika .....	24
3.2.6. Određivanje parametara boje <i>snack</i> proizvoda nakon pečenja .....	25
3.2.7. Određivanje teksture <i>snack</i> proizvoda nakon pečenja .....	26
3.2.8. Senzorska analiza 3D <i>snack</i> proizvoda .....	26
3.2.9. Obrada rezultata .....	27
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA .....</b>	<b>28</b>
<b>4.2. FIZIKALNA SVOJSTVA PEČENIH SNACK PROIZVODA .....</b>	<b>34</b>
4.2.1. Točnost oblika, masa, dimenzije i deformacija oblika.....	34
4.2.2. Tvrdća pečenih <i>snackova</i> .....	36
4.2.3. Boja pečenih <i>snack</i> proizvoda.....	37

<b>4.3. REZULTATI SENZORSKE ANALIZE .....</b>	<b>39</b>
<b>5. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>43</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>44</b>
<b>7. PRILOZI.....</b>	<b>1</b>
<b>7. PRILOZI</b>	
<b>Prilog 1 - Obrazac za senzorsku analizu</b>	

# 1. UVOD

Posljednjih godina je vidljiv rastući interes potrošača o utjecaju hrane na zdravlje zbog čega raste potražnja za funkcionalnom hranom koja ima specifične fiziološke učinke na organizam. Jedna skupina čija je potražnja u porastu zbog pozitivnog učinka na zdravlje su prehrambena vlakna čiji su najbolji izvor cjelovite žitarice odnosno njihove posije (Katina i sur., 2005). Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation*, WHO) je preporučila unos 25 g ili više prehrambenih vlakana dnevno (WHO, 2003). Međutim, dodatak vlakana u količinama koje bi imale pozitivan učinak na zdravlje uzrokuju tehnološke probleme tijekom proizvodnje te loša organoleptička svojstva proizvoda (Coda i sur., 2015; Katina i sur., 2005). Osim toga, neka vlakna prisutna u žitaricama, poput fruktana i galaktooligosaharida, se ubrajaju u skupinu fermentabilnih oligosaharida, disaharida, monosaharida i poliola tj. FODMAP-e (engl. *Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides and Polyols*, FODMAP) koji mogu pojačati simptome oboljelih od sindroma iritabilnog crijeva (Nyyssölä i sur., 2020). Stoga su istraživanja usmjerena na razvoj metoda obrade cjelovitih žitarica ili njihovih posija kako bi se umanjili njihovi negativni utjecaji, a da se pri tome očuva njihova nutritivna vrijednost (Coda i sur., 2015).

Jedna od metoda koja se sve više primjenjuje je bioproceniranje posija žitarica fermentacijom i enzimskom obradom. Fermentacija žitarica je jedan od najstarijih biotehnoloških procesa, a seže sve do staroga Egipta gdje su se kruh i pivo proizvodili spontanom fermentacijom pomoću kvasaca i bakterija mliječne kiseline. Danas ponovno raste interes za primjenom fermentacije u preradi žitarica pri čemu se primjenjuju specifične kulture uz kontroliranu fermentaciju (Poutanen i sur., 2009). Istraživanja pokazuju kako je fermentacija učinkovita metoda za modifikaciju pojedinih tvari posija žitarica kako bi se poboljšala njihova tehnološka svojstva, a time se omogućava razvoj kvalitetnijih proizvoda sa cjelovitim žitaricama (Coda i sur., 2015). Fermentacija i enzimska obrada također mogu značajno smanjiti količine FODMAP-a do razine koja je dozvoljena za osobe oboljele od sindroma iritabilnog crijeva. (Habuš i sur. 2022; Struyf i sur., 2017; Prückler i sur., 2015).

Skupina prehrambenih proizvoda koja pruža potencijal za razvoj proizvoda s cjelovitim žitaricama su *snack* proizvodi. Radi se o skupini proizvoda čija je potrošnja u porastu zbog njihove praktičnosti koja odgovara brzom i užurbanom načinu života (Riaz, 2016; Brennan i sur., 2013). Vrijednost tržišta *snack* proizvoda na svjetskoj razini je u 2020. godini iznosila 95,8

milijardi dolara što je 8,4 milijardi dolara više nego u 2019. godini. Do 2026. godine je predviđen rast tržišta na 138 milijardi dolara (Statista, 2021).

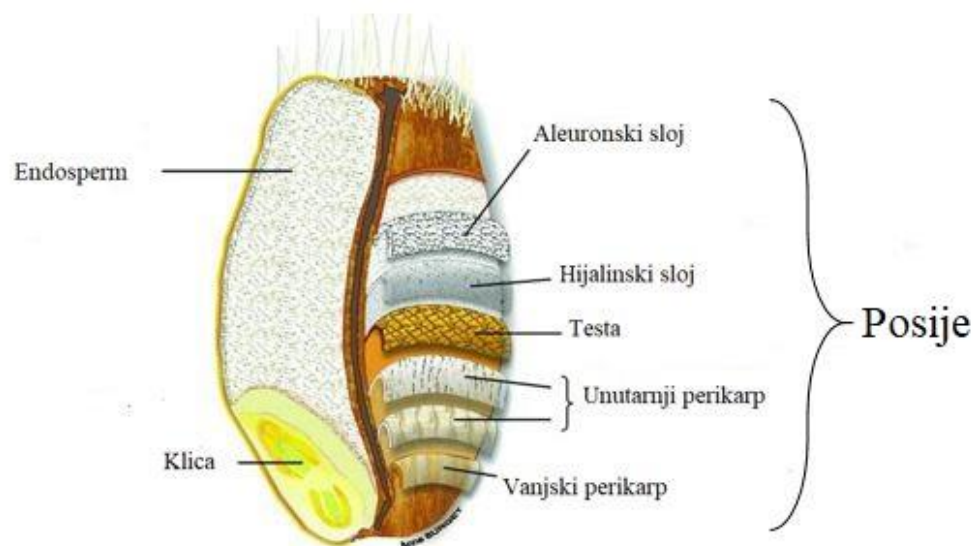
Potrošači sve više biraju zdravije *snack* proizvode sa manje soli i šećera, a više vlakana s time da su i dalje važna privlačna senzorska svojstva proizvoda (Crofton i sur., 2013). Tehnologija proizvodnje koja to može omogućiti je 3D tiskanje hrane. Radi se o tehnologiji aditivne proizvodnje koja omogućava personalizirane karakteristike proizvoda poput oblika, boje, okusa, teksture te nutritivnoga sastava (Nachal i sur., 2019), a istraživanja pokazuju uspješnu primjenu 3D tiskanja ekstruzijom za proizvodnju zdravijih *snack* proizvoda (Habuš i sur., 2021a; Keerthana i sur., 2020; Lille i sur., 2020). Vrijednost 3D tiskanja na svjetskoj razini je u 2020. godini iznosila 475 milijuna dolara, a do 2027. se procjenjuje rast do 1,3 milijardi dolara zbog mogućnosti rada s različitim namirnicama te povećanom potražnjom za hranom proizvedenom upravo ovom tehnologijom (Lee, 2021).

Stoga je cilj ovoga rada bio razviti *snack* proizvode s dodatkom fermentiranih posija pšenice i amaranta koristeći tehnologiju 3D tiskanja ekstruzijom te utvrditi utjecaj vrste i tretmana posija na reološka svojstva tijesta te fizikalna svojstva pečenih *snack* proizvoda. Također je provedena senzorska analiza pečenih *snack* proizvoda kako bi se utvrdila prihvaćenost 3D tiskanog *snacka* s neobrađenim i fermentiranim posijama od strane potrošača.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. PŠENIČNE POSIJE

Posije ili mekinje su najvažniji nusproizvod koji nastaje tijekom procesa suhoga mljevenja zrna pšenice (lat. *Triticum aestivum*) te čine otprilike 25 % ukupne mase zrna (Prückler i sur., 2014). U sastav posija ulaze vanjski slojevi zrna: perikarp ili usplođe, omotač sjemena ili testa, hijalinski sloj, aleuronski sloj, a mogu sadržavati dijelove endosperma te klice (Slika 1.). Posije se ponajprije koriste kao stočna hrana, ali se sve više počinju koristiti i za prehranu ljudi zbog svoje visoke nutritivne vrijednosti i pozitivnih utjecaja na zdravlje, a prednjači primjena u proizvodnji integralnih pšeničnih proizvoda, kruha, peciva, keksa, tjestenine, žitarica za doručak, *snack* proizvoda, hrane za djecu, mliječnih proizvoda, umaka, dresinga i drugih prehrambenih proizvoda (Ćurić i sur., 2019; Hemdane i sur., 2016; Prückler i sur., 2014).

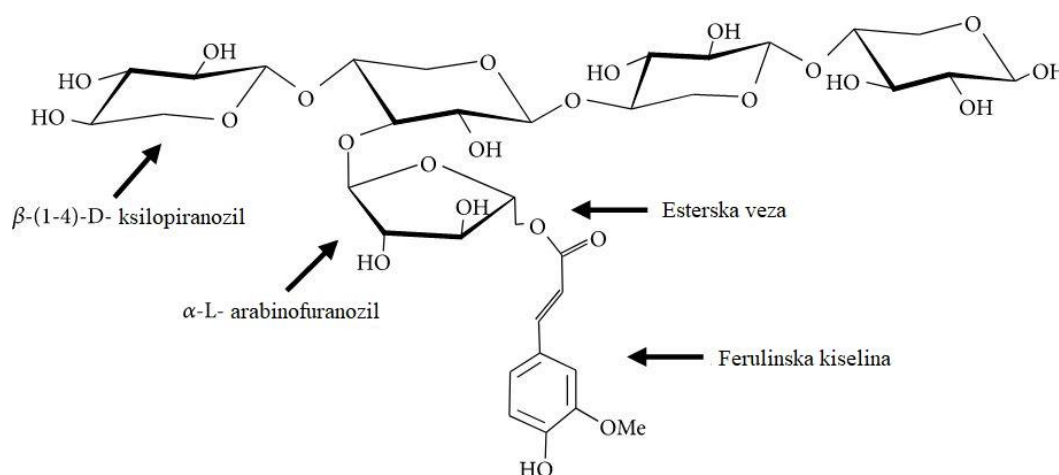


**Slika 1.** Građa zrna pšenice (prema Onipe i sur., 2015)

U kemijskom sastavu pšeničnih posija prisutni su voda (12 %), proteini (13-18 %), škrob (1-2 %), prehrambena vlakna (arabinoksilani, beta-glukani, celuloza, lignini; 43-45 %) te lipidi (3-5 %). Bioaktivne tvari poput alkilrezorcina, fenolnih kiselina (fitinska, siringinska, vanilinska, sinapinska, ferulinska, *p*-kumarinska), flavonoida, karotenoida, lignana, sterola, glutationa, vitamina (B skupina, K, E) i minerala (Fe, Zn, Mn, Mg, P) također su prisutne u

sastavu pšeničnih posija, a doprinose nutritivnoj i funkcionalnoj vrijednosti posija (Ćurić i sur., 2019; Onipe i sur., 2015). Netopljiva vlakna i fenolne kiseline se nalaze u perikarpu, alkilrezorcinoli su najviše zastupljeni u testi, a aleuronski sloj sadrži lignane, proteine uravnoteženoga sastava aminokiselina, vitamine, minerale, fitinsku kiselinu i antioksidanse (Onipe i sur., 2015). Prückler i sur. (2014) ističu kako podaci o udjelu bioaktivnih tvari u pojedinim slojevima zrna mogu varirati zbog različitih analitičkih metoda, tehnologija mljevenja, sorti i mjestu uzgoja pšenice.

Prehrambena vlakna čine trećinu do polovicu sastava pšeničnih posija (Habuš i sur., 2021a) pri čemu manje od 5 % ukupnih vlakana čine topljiva dok ostatak čine netopljiva vlakna (Onipe i sur., 2015). Od topljivih vlakana prevladavaju topljivi arabinoksilani (< 4 %) i  $\beta$ -glukani (< 3 %), a od netopljivih vlakana su najzastupljeniji netopljivi arabinoksilani (11-26 %) i celuloza (11 %) (Apprich i sur., 2014). Arabinoskilani su građeni od molekula  $\beta$ -D-ksilopiranozila linearno povezanih  $\beta$ -1, 4 vezama te molekula  $\alpha$ -L-arabinofuranozila koje se vežu na kisikov atom na C-(O)-2 i/ili C-(O)-3 poziciji kao pobočni ogranci. Ogranci  $\alpha$ -L-arabinofuranozila mogu biti nasumično esterificirani ferulinskom kiselinom na C-5 poziciji kao što je prikazano na slici 2 (Apprich i sur., 2014). Arabinoksilani vanjskih slojeva zrna su netopljivi, visokosupstituirani i omjera arabinoza / ksiloza 1,02 – 1,14 dok su arabinoksilani aleuronskog sloja većinom topljivi, linearni i omjera arabinoza / ksiloza 0,31 (Pietiäinen i sur., 2022; Messia i sur., 2016).

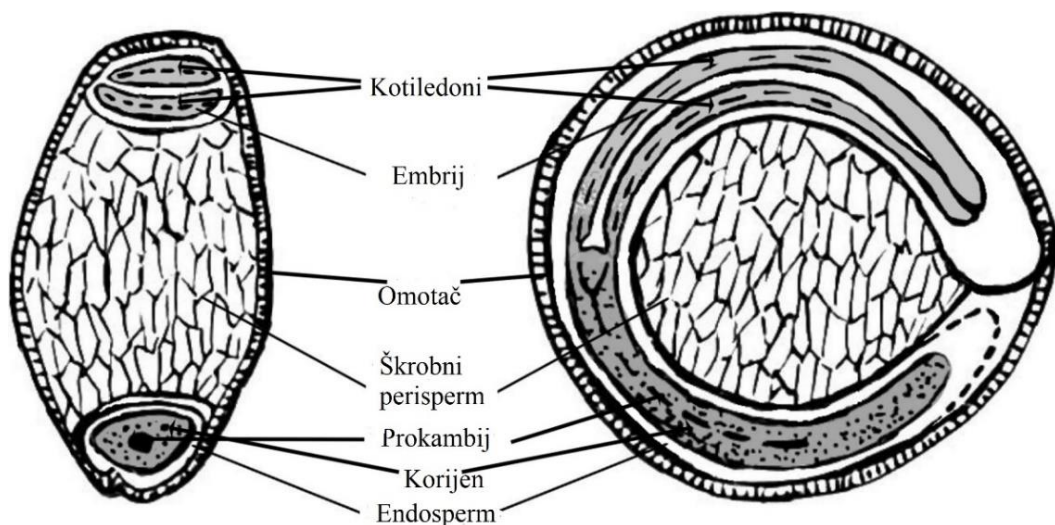


**Slika 2.** Građa arabinoksilana esterificiranog ferulinskom kiselinom (prema De Andaflores i sur., 2020)

Osim toga, brašno od cjelovitoga zrna i posije pšenice sadrže značajan udio fermentabilnih oligosaharida, disaharida, monosaharida i poliola ili skraćeno FODMAP-a (engl. *Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides and Polyols, FODMAP*). U FODMAP – e se ubrajaju fruktani, galaktooligosaharidi, laktoza, fruktoza (kada je u suvišku naspram glukoze), sorbitol, manitol i ksilitol. Radi se o ugljikohidratima koji se ne apsorbiraju u tankome crijevu pa ih, dolaskom u debelo crijevo, crijevna mikroflora razgrađuje do kratkolančanih masnih kiselina i plinova. Kod zdravih osoba FODMAP – i imaju prebiotičko djelovanje, ali kod oboljelih od sindroma iritabilnog crijeva mogu značajno pogoršati simptome bolesti. Pšenične posije sadrže najviše fruktana (0,7 – 2,9 g / 100 g suhe tvari) poput inulina i galaktooligosaharida (0,2 g / 100 g suhe tvari) poput rafinoze (Nyssölä i sur., 2020).

## 2.2. POSIJE AMARANTA

Amarant (lat. *Amaranthus L.*) spada u skupinu bezglutenskih pseudožitarica u koju se ubraja više od 60 vrsta, a zrna vrsta *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus cruentus* i *Amaranthus hypochondriacus* su nutritivno najvrjednija (Mykolenko i sur., 2020). Zrno amaranta je izvrstan izvor proteina bogatih lizinom, ugljikohidrata (škrob, inozitol, saharoza, glukoza, fruktoza, rafinoza, maltoza, stahioza), vlakana, lipida, vitamina (E i B skupine) i minerala (Ca, Mg, Na, Mn, Cu, Fe i Se), a sadrži i polifenolne spojeve (flavonoidi i fenolne kiseline) (Mykolenko i sur., 2020; Wolosik i sur., 2019). Građa zrna amaranta je prikazana na slici 3. Embrij i endosperm sadrže proteine, lipide i minerale, perisperm škrob, a omotač vlakna, vitamine, minerale i polifenolne spojeve (Martinez – Lopez i sur., 2020).



**Slika 3.** Građa zrna amaranta (prema Martinez – Lopez i sur., 2020)

Amarant karakterizira specifičan sastav prehrambenih vlakana koji je sličniji voću, povrću i leguminozama nego žitaricama. Ovisno o sorti, zrno amaranta sadrži 10 – 25 % prehrambenih vlakana od čega 33 – 44 % čine topljiva vlakna, a uključuju ksiloglukane (40 – 60 %) te pektinske polisaharide s arabinanom (34 – 55 %). Netopljiva vlakna uključuju homogalaguronane i ramnogalakturonane – I s arabinanom u pobočnim ograncima (55 – 60 %), razgranate ksiloglukane s disaharidima i trisaharidima u pobočnim ograncima (30 %) i celulozu (Zhu, 2020; Lamonthe i sur., 2015).

Iako bezglutenske žitarice poput zobi, prosa, riže i kukuruza sadrže male količine FODMAP-a (Biskierski i sur., 2011), proizvodi koji sadrže bezglutenske pseudožitarice poput amaranta mogu imati veći sadržaj FODMAP-a (Cyrkot i sur., 2021). Habuš i sur. (2022) su odredili udio fruktana u posijama amaranta koji je iznosio 0,96 g / 100 g suhe tvari, što je 2,5 puta manje u odnosu na pšenične posije gdje su odredili 2,64 g fruktana / 100 g suhe tvari.

U odnosu na ostale žitarice, amarant sadrži više lipida (do 10 %) u kojima prevladavaju nezasićene masne kiseline, a prisutni su i fosfolipidi, steroli, skvalan, tokoferoli i karotenoidi. Upravo zbog toga se većina amaranta (70 %) koristi za proizvodnju hladno prešanog ulja prilikom čega kao nusproizvod zaostaju posije amaranta.

Posije amaranta sadrže proteine, ugljikohidrate, vlakna, vitamine, minerale, polifenole te zaostale lipide. Usprkos nutritivno bogatom sastavu, posije amaranta se rijetko koriste u proizvodnji prehrambenih proizvoda, najviše zbog nedostatka teoretskoga i praktičnoga znanja kako ih primijeniti u proizvodnji (Mykolenko i sur., 2020).

U odnosu na pšenično brašno, brašno amaranta i njegovih nusproizvoda ima manji udio vode, veću sposobnost vezanja vode i veću amilolitičku aktivnost. S obzirom na to da amarant ne sadrži gluten, ne može se koristiti samostalno jer se dobiva tijesto loše konzistencije i stabilnosti koje nema dobra svojstva zadržavanja plina što rezultira proizvodom tvrde teksture i manjega volumena. Dodatak 5-20 % posija amaranta u pšenično brašno uzrokuje slabiji razvoj glutenske mreže zbog prisutnosti vlakana koja ometaju pravilno formiranje škrobno-glutenskoga matriksa te imaju visoku sposobnost vezanja vode što dovodi do kompeticije za vezanje vode između vlakana i glutena (Mykolenko i sur., 2020). Također, dodatak većeg udjela amaranta može rezultirati slatkastim okusom proizvoda (Mykolenko i sur., 2020). Miranda-Ramos i sur. (2019) su ustanovili da dodatak 25 % brašna amaranta značajno poboljšava nutritivna svojstva kruha, a da pri tome ne utječe negativno na tehnološka i senzorska svojstva dok su Sanz-Panella i sur. (2013) uočili da dodatak 30-40 % amaranta može smanjiti dostupnost mineralnih tvari zbog prisutnosti fitata.



### 2.2.1. Utjecaj dodatka posija na reologiju tijesta

Usprkos povećanju nutritivne vrijednosti proizvoda u koje se dodaju, neobrađene posije pokazuju negativan učinak na reologiju i teksturu tijesta, uključujući manju jakost tijesta, manju toleranciju na miješanje i fermentaciju tijesta, manji volumen konačnoga proizvoda, povećanu tvrdoću proizvoda te lošija organoleptička svojstva u odnosu na proizvode s bijelim pšeničnim brašnom zbog čega nisu popularni među potrošačima. Negativni učinci dodatka posija u tijesto se mogu objasniti kroz kombinaciju fizikalnih, kemijskih i biokemijskih mehanizama (Navrotsky i sur, 2019; Hemdane i sur, 2016).

Za negativne učinke najvećim dijelom su odgovorna prehrambena vlakna posija. Naime, prehrambena vlakna imaju veliku sposobnost vezanja vode zbog čega se smanjuje količina vode dostupne za hidrataciju proteina glutena i formiranje glutenske mreže. Prehrambena vlakna imaju veliki broj hidroksilnih skupina u svojoj strukturi preko kojih s molekulama vode formiraju vodikove veze. Posljedično, produljuje se vrijeme razvoja tijesta, manja je otpornost i rastezljivost tijesta te sposobnost zadržavanja plinova što rezultira manjim volumenom i lošijom, tvrdom teksturom gotovih proizvoda (Onipe i sur., 2015; Prückler i sur., 2014). Zbog velike sposobnosti vezanja vode, dodatak posija negativno utječe na strukturu keksa pri čemu uzrokuju smanjeno širenje tijekom pečenja i promjene u strukturi (Pareyt i Delcour, 2008). Sozer i sur. (2014) navode da je dodatak 20-30 % pšeničnih posija povećao žvackljivost, mrvljenje i osjećaj suhoće u ustima, a ustinjavanje posija sa 450  $\mu\text{m}$  na 68  $\mu\text{m}$  je povećalo tvrdoću keksa. Dodatak posija u smjese za ekstrudiranje dovodi do veće tvrdoće, manje hrskavosti i manje ekspanzije kao posljedica prisutnosti vlakana koja ometaju formiranje škrobnoga matriksa koji je potreban za pravilnu ekspanziju proizvoda (Robin i sur., 2011).

Na formiranje glutenske mreže utječu i fenolne kiseline u posijama, posebice ferulinska kiselina, koje djeluju na izmjene tiolnih skupina (SH) i disulfidnih veza (SS) čime se mijenja proces agregacije proteina glutena. Ferulinska kiselina najvećim dijelom je esterskim vezama povezana sa arabinoksilanima te se kovalentno povezuje sa tirozinskim skupinama glutena čime utječe na slabije formiranje glutenske mreže (Navrotsky i sur., 2019; Huang i sur., 2018).

Nadalje, čestice posija mogu fizički ometati pravilno formiranje glutena tako što onemogućavaju kontakt između čestica brašna, a može doći i do njihove inkorporacije u stijenke mjehurića plina dovodeći do njihove koalescencije što rezultira smanjenom sposobnošću zadržavanja plinova, manjim volumenom te tvrdom i grubom teksturom proizvoda sa dodatkom posija (Hemdane i sur., 2016.) Noort i sur. (2010) navode da manje

čestice posija imaju veći negativni učinak na razvoj glutenske mreže i volumen kruha u odnosu na veće čestice. Usitnjavanjem posija dolazi do povećanja ukupne površine posija, a time se povećava udio dostupnih arabinoksilana koji se preko esterski vezane ferulinske kiseline povezuju sa proteinima glutena te time sprječavaju formiranje glutenske mreže. Također, tijekom mljevenja posija, može doći do oslobađanja raznih enzima ili glutationa koji formira disulfidne veze sa cisteinskim skupinama glutena čime se ometa formiranje glutenske mreže, a konačan proizvod je manjeg volumena, elastičnosti i veće tvrdoće (Navrotskyi i sur., 2019; Noort i sur., 2010).

Dodatak pšeničnih posija može ometati pravilnu želatinizaciju škroba te formiranje škrobno-proteinskoga matriksa što dovodi do tvrdog, gumenog i žvakljivog proizvoda (Liu i sur., 2017).

### 2.2.2 Utjecaj posija na senzorska svojstva hrane od žitarica

Hrana sa pozitivnim učincima na zdravlje bi trebala imati privlačna senzorska svojstva kako bi ju potrošači odabrali i konzumirali. Međutim, dodatak posija uzrokuje pjeskovitu ili zrnatu teksturu u ustima, tamniju boju proizvoda te opor i gorak okus koji zaostaje u ustima (Heinić i sur., 2016; Prückler i sur., 2014; Coda i sur., 2014). Stoga je važno identificirati uzroke senzorskih nedostataka hrane s cjelovitim žitaricama s obzirom na to da je glavni razlog njihove rijetke uporabe u pekarskoj industriji negativni utjecaj na senzorska svojstva proizvoda.

Upravo je gorak okus najizraženija karakteristika proizvoda sa dodatkom posija i cjelovitih žitarica, a za koji su odgovorni polifenolni spojevi podrijetlom iz vanjskih dijelova zrna. Međutim, oni su odgovorni za gorčinu samo u slobodnom obliku kada se mogu vezati za okusne receptore. Prisutnost polifenola također može katalizirati Maillardove reakcije čiji su produkti identificirani kao izvor gorčine u kruhu iz cjelovitoga pšeničnoga brašna. Okusu gorčine doprinose peptidi male molekulske male koji nastaju uslijed aktivnosti proteolitičkih enzima tijekom procesiranja. Hidroliza lipida uslijed djelovanja lipaza te oksidacija nastalih masnih kiselina lipooksigenazama također doprinosi gorčini proizvoda, ali i kraćem roku trajanja te razvoju nepoželjnih aroma (Heinio i sur., 2016).

Za tamniju boju odgovorna je aktivnost polifenol oksidaze, enzima iz skupine oksidoreduktaza koji kataliziraju reakciju hidroksilacije monofenola i oksidaciju *o*-difenola u *o*-kvinone koji zatim reagiraju sa fenolnim skupinama fenolnih kiselina što dovodi do formiranja obojanih spojeva te nepoželjnog tamnjenja proizvoda (Niu i sur., 2014). Osim polifenol oksidaze, u posijama su prisutne lipooksigenaze i peroksidaze iz skupine oksidoreduktaza,

amilaze, peptidaze, lipaze i ksilanaze iz skupine hidrolaza te protein disulfid izomeraze iz skupine izomeraza (Habuš i sur., 2021b i c; Hemdane i sur., 2016).

### **2.3. FERMENTACIJA I ENZIMSKA OBRADA POSIJA**

Znanstvenici i proizvođači hrane primjenjuju razne metode kako bi poboljšali tehnološka i nutritivna svojstva posija, a jedna od njih je bioprocisiranje posija fermentacijom i enzimskom obradom. Radi se o procesu koji je relativno jednostavan i jeftin, a temelji na iskorištavanju biološke aktivnosti enzima ili mikrobnih stanica (kvasaca i bakterija) kako bi se poboljšali reologija tijesta i sensorika gotovoga proizvoda (Prückler i sur., 2015; Hartikainen i sur., 2014). Fermentacija utječe na strukturu zrna djelujući specifično na određene tvari čime se poboljšavaju njegova nutritivna i tehnološka svojstva (Coda i sur., 2015). Tijekom fermentacije, bakterije mliječne kiseline proizvode mliječnu i octenu kiselinu čime se pH vrijednost snižava ispod 5. Kvasci proizvode CO<sub>2</sub> i etanol, a interakcija između kvasaca i bakterija je važna za metaboličku aktivnost tijekom fermentacije. Pad pH vrijednosti potiče aktivnost enzima poput amilaza, proteaza, hemicelulaza i fitaza, a promjene nastale njihovom aktivnošću zajedno s metabolitima mikroorganizama utječu na tehnološka i nutritivna svojstva fermentiranih žitarica (Poutanen i sur., 2009).

Jedan od najviše istraživanih pristupa je primjena enzima radi povećanja topljivosti prehrambenih vlakana i modificiranja složene strukture staničnih stijenki zrna (Coda i sur., 2015). Prvenstveno se nastoji povećati topljivost arabinoksilana koji su najzastupljenija prehrambena vlakna u pšeničnim posijama, a imaju veliki utjecaj na njihova funkcionalna svojstva (Delcour i sur., 2012). Delcour i sur. (2012) su koristili hidrolitičke enzime poput endoksilanaza kako bi hidrolizirali  $\beta$ -1,4 veze u glavnome lancu čime su dobili ksilooligosaharide koji su bili supstrati za  $\beta$ -ksilozidaze koje su katalizirale nastajanje oligosaharida arabinoksilana. Povećanje topljivosti arabinoksilana pozitivno je utjecalo na reologiju tijesta i kvalitetu kruha. Nadalje, Santala i sur. (2013) su uočili kako je tretman posija sa ksilanazom pri manjem udjelu vode (40 %) imao veći utjecaj na povećanje topljivosti arabinoksilana u odnosu na isti tretman pri većem udjelu vode (90 %).

Kako bi se smanjila količina FODMAP – a, prvenstveno fruktana, u posijama ili cjelovitome zrnu, primjenjuju se tretmani inulinazama i invertazama. Inulinaze kataliziraju hidrolizu glikozidnih veza inulina pri čemu egzoinulinaze cijepaju veze na kraju lanca inulina čime dolazi do oslobađanja fruktoze, a endoksilanaze cijepaju veze unutar lanca čime nastaju

fruktooligosaharidi (Nyyssölä i sur., 2020). Primjerice, Struyf i sur. (2017) su u tijesto sa cjelovitim pšeničnim brašnom, uz *Saccharomyces cerevisiae* (pekarski kvasac), dodali smjesu egzo- i endoinulinaza proizvedenih pomoću plijesni *Aspergillus niger*. Rezultati su pokazali da je nakon 2 sata razgrađeno više od 95 % ukupnih fruktana, a nastalu glukozu i fruktozu je *S. cerevisiae* iskoristio tijekom fermentacije. *S. cerevisiae* također može razgraditi fruktane jer proizvodi invertaze koje hidroliziraju kratkolančane fruktooligosaharide, ali s obzirom na to da su intracelularne ili vezane za staničnu stijenku, otežan je kontakt s fruktanima. Iako je zabilježeno da se korištenjem *S. cerevisiae* može razgraditi 40 – 80 % fruktana iz pšenice, to je još uvijek nedovoljno za osobe osjetljive na FODMAP – e (Nyyssölä i sur., 2020). Stoga se *S. cerevisiae* koristi u kombinaciji sa kvascem *Kluyveromyces marxianus* koji proizvodi fruktanaze, ali nema sposobnost fermentacije maltoze, glavnog fermentabilnog šećera koji nastaje iz oštećenoga škroba. Kombinacijom ove dvije kulture je uspješno smanjen udio fruktana za više od 90 %, dok je koristeći samo *S. cerevisiae* razgrađeno 56 % fruktana iz cjelovitog pšeničnog brašna (Struyf i sur., 2017). Nadalje, Prückler i sur. (2015) su koristeći bakterije mliječne kiseline nakon 18 sati fermentacije zabilježili smanjenje udjela fruktana u pšeničnim posijama od 77 do 99 %. Habuš i sur. (2022) su istražili utjecaj fermentacije i enzimske obrade na sadržaj FODMAP-a u posijama pšenice i amaranta. Posije su obradili sa LV1 starter kulturom, *S. cerevisiae* samostalno ili u kombinaciji sa *L. fermentum*, *K. marxianus* i inulinazom. Rezultati su pokazali kako su sve obrađene posije sadržavale manje fruktana pri čemu je kod pšeničnih posija obrađenih LV1 starterom te kombinacijom *S. cerevisiae* i inulinaze došlo do razgradnje 93 % fruktana, a posije amaranta obrađene sa *S. cerevisiae* samostalno ili u kombinaciji s inulinazom su imale 92 % i 95 % manje fruktana. Također je zabilježen porast fruktoze i manitola uslijed razgradnje fruktana, a koji se ubrajanju u FODMAP-e.

Znanstvenici također istražuju utjecaj fermentacije bakterijama i kvascima sa ili bez dodatka enzima na svojstva tijesta. Primjerice, Katina i sur. (2012) su uočili da je tretman posija mješavinom enzima koji razgrađuju razne ugljikohidrate potaknuo rast *L. brevis* zbog većeg udjela fermentabilnih šećera koji su nastali. Posljedično, niža pH vrijednost je potaknula rad endogenih enzima posija što je zajedno sa mikrobnim enzimima dovelo do povećanja udjela topljivih arabinoksilana i bioaktivnih spojeva. Messia i sur. (2016) su proveli fermentaciju pšeničnoga brašna s dodatkom pšeničnih posija koristeći *Lactobacillus brevis*, smjesu enzima (ksilanaza, amilaza, celulaza) te njihovu kombinaciju. Rezultati su pokazali da je tijesto dobiveno fermentacijom imalo kraće vrijeme razvoja, bilo je stabilnije te je imalo bolju sposobnost zadržavanja plinova nastalih tijekom fermentacije u odnosu na standard s

netretiranim posijama. Prisutnost bakterija je potaknula aktivnost kvasaca te je bila povećana proizvodnja CO<sub>2</sub> dok je pad pH vrijednosti uslijed fermentacije povećao sposobnost glutena da zadrži nastali CO<sub>2</sub>. Također, uzorci fermentirani bakterijama te kombinacijom bakterija i enzima sadržavali su veći udio topljivih arabinoksilana zbog djelovanja hidrolitičkih enzima koji su razgradili velike lance arabinoksilana cijepajući ih na manje ksilooligosaharide veće topljivosti. Porast udjela topljivih arabinoksilana je omogućio bolju distribuciju vode tj. dovoljno dostupne vode za razvoj glutenske mreže i povoljnih viskoelastičnih svojstava tijesta. Poboljšanje reoloških svojstava tijesta sa pšeničnim posijama također su uočili Hartikainen i sur. (2014), Coda i sur. (2014) te Zhang i sur. (2018) koji su koristili kombinaciju hidrolitičkih enzima sa kvascima ili bakterijama što je dovelo do povećanja udjela topljivih vlakana i bolje distribucije vode u tijestu.

## 2.4. SNACK PROIZVODI

*Snack* proizvodi predstavljaju specifičnu skupinu prehrambenih proizvoda čija popularnost i konzumacija sve više rastu (Riaz, 2016). Procjenjuje se da će u 2022. prihodi od snack proizvoda na globalnoj razini iznositi 412,6 milijardi eura dok je u razdoblju između 2022. – 2027. predviđen porast prihoda od 3,16 %. Za 2022. godinu se predviđa konzumacija od 8,6 kg *snack* proizvoda po osobi (Statista, 2022). *Snack* proizvodi mogu se opisati kao brzi obroci odnosno hrana koja se konzumira između obroka te se ubrajaju se u kategoriju hrane spremne za jelo (engl. *Ready-To-Eat-Food*, RTE) tj. hrane koja se može konzumirati bez potrebne toplinske obrade ili druge vrste procesiranja (EFSA, 2022; Riaz, 2016). Potražnja za ovom vrstom hrane koja je praktična i pristupačna je sve više u porastu zbog promjene životnih i prehrambenih navika potrošača uslijed ubrzanog načina života (Riaz, 2016; Brennan i sur, 2013).

Ovisno o tehnologiji proizvodnje i sastavu razlikuju se 3 kategorije *snack* proizvoda:

- 1) *Snack* proizvodi prve generacije – prirodni proizvodi poput orašastih plodova, čipsa i kukuruznih kokica
- 2) *Snack* proizvodi druge generacije – proizvodi od jednog sastojka jednostavnoga oblika poput kukuruznoga/tortilja čipsa i direktno ekspanziranih proizvoda
- 3) *Snack* proizvodi treće generacije (polu-proizvodi ili peleti) – proizvodi od više sastojaka dobiveni kuhanjem ekstruzijom pri niskom tlaku i sušenjem do otprilike 10 % vlage (Riaz, 2016)

#### 2.4.1. Novi trendovi u proizvodnji *snack* proizvoda

Zbog sve veće svijesti potrošača o sastavu hrane koju konzumiraju, industrija *snack* proizvoda doživljava velike promjene jer potrošačima nije više dovoljan samo dobar okus ili miris proizvoda, već i dobar izgled, zanimljiva senzorska i teksturalna svojstva te nutritivan sastav proizvoda (Riaz i sur., 2016 Brennan i sur., 2013;). Potrošači žele zdravije *snack* proizvode s malo kalorija, masnoća, soli i šećera, a većim udjelom cjelovitih žitarica, vlakana, posija, zobi, sjemenki, orašastih plodova i bobičastoga voća. Također žele proizvode bez umjetnih bojila, okusa i sladila koji će im dati osjećaj sitosti i imati pozitivan utjecaj na zdravlje. (Crofton i sur., 2013). Stoga se proizvođači okreću novim formulacijama obogaćenima sastojcima koji povećavaju nutritivnu vrijednost proizvoda (Brennan i sur., 2013).

Unutar kategorije *snack* proizvoda, najviše istraživanja se provodi u svrhu razvoja zdravih *snack* proizvoda od žitarica koristeći razne funkcionalne sastojke poput cjelovitih žitarica, vlakna i omega-3 masnih kiselina (Crofton i sur., 2013). Grasso (2020) navodi kako brojni nusproizvodi poput komine voća i povrća, pogače iz proizvodnje ulja, posije žitarica, sirutka ili iskorišteni pivarski ječam mogu biti izvor za nutritivno obogaćivanje *snack* proizvoda od žitarica.

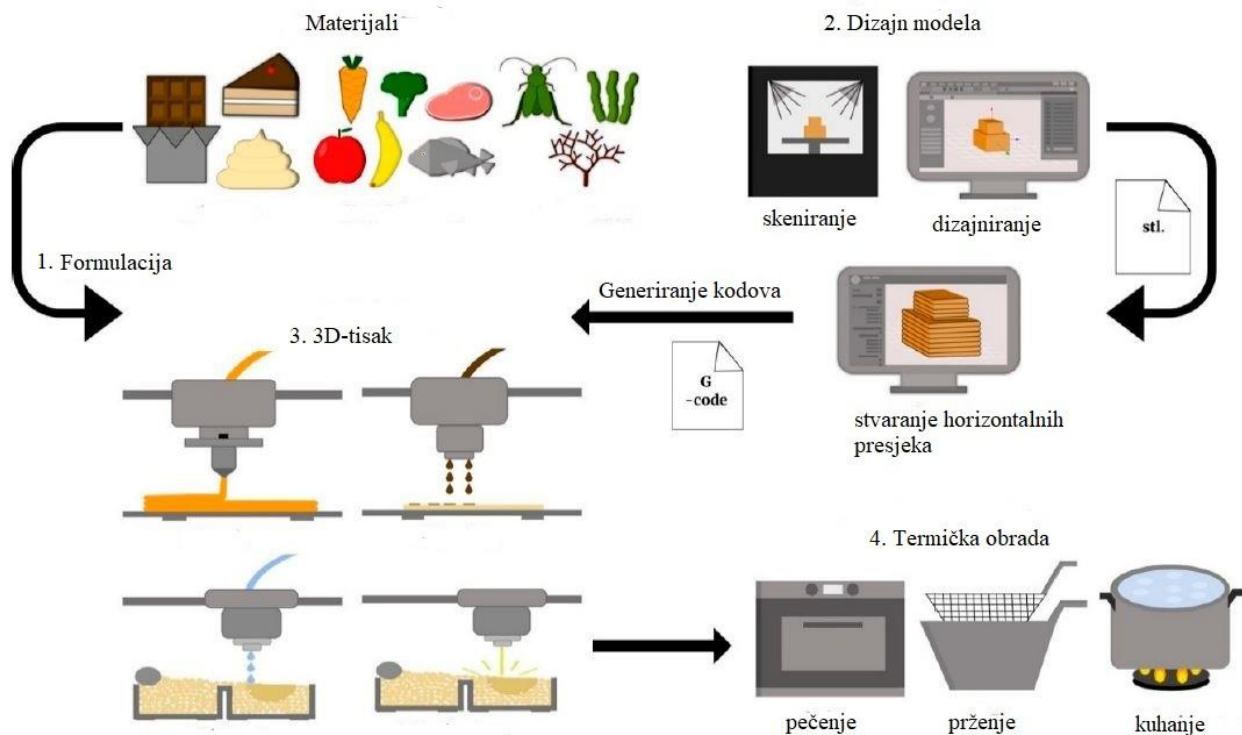
Primjerice, Prosepio i sur. (2020) proizveli su ekstrudirane *snack* proizvode s dodatkom brašna i posija leguminoza (grašak i slanutak) kao izvor vlakana i visoko vrijednih proteina koji mogu biti alternativa bezglutenskim proizvodima. Nadalje, brojne cjelovite žitarice poput pira, kvinoje, amaranta i pšenice su korištene za razvoj ekstrudiranih *snack* proizvoda poboljšane nutritivne vrijednosti i teksture te bez negativnog učinka na organoleptička svojstva proizvoda i prihvaćenost od strane potrošača (Kojić i sur., 2022; Diaz i sur., 2013; Ding i sur., 2006; Chávez-Jáuregui i sur., 2000)

### 2.5. 3D-TISAK

3D-tisak ili aditivna proizvodnja je tehnologija koja bilježi rastući interes u brojnim područjima poput biotehnologije, farmacije, medicine, aeronautike, građevine, strojarske industrije te u svemirskim istraživanjima, a sve se više primjenjuje u području dizajna i razvoja hrane (Tejada-Ortigoza i Cuau-Urquizo, 2022). Radi se o digitalno kontroliranom procesu koji uključuje konstrukciju složenih geometrijskih oblika sloj po sloj koristeći kemijske reakcije, fazne tranzicije ili druge interakcije za povezivanje slojeva (Nachal i sur., 2019). Potražnja za 3D-tiskanom hranom je u porastu zbog veće svijesti potrošača o hrani koju konzumiraju te zbog želje za novim i personaliziranim senzorskim doživljajima što potiče razvoj inovativnih

tehnologija koje zadovoljavaju nove standarde potrošača (Pereira i sur., 2021). 3D-tisak omogućava personalizirani pristup hrani prilagođavajući se željama i potrebama različitih dobnih skupina ili različitim životnim stilovima pri čemu može omogućiti personalizirane karakteristike poput oblika, boje, okusa, teksture te nutritivnoga sastava (Nachal i sur., 2019). Na sve veću potražnju ove tehnologije ukazuju podaci da je vrijednost tržišta 3D-tiskane hrane u 2020. godini iznosila 475 milijuna dolara, a do 2023. godine je predviđen rast od 46,1 % čime bi vrijednost ovoga tržišta dosegla 525,6 milijuna dolara (Lee, 2021).

Proces 3D-tiskanja hrane slijedi 4 osnovna koraka kao što je prikazano na slici 3. Formulacija se odnosi na odabir materijala uzimajući u obzir njihovo međudjelovanje i sposobnost tiskanja. Materijali za 3D tiskanje dijele se na 3 skupine: materijali prirodno pogodni za tiskanje, materijali prirodno nepogodni za tiskanje i alternativni materijali. Materijali prirodno pogodni za tiskanje uključuju hidrogelove, čokoladu, sir, tijesto i sl. Ovi materijali omogućavaju jednostavan razvoj recepture i prilagodljivi su uvjetima tiskanja (Tejada-Ortigoza i Cuau-Urquizo, 2022; Nachal i sur., 2019). Materijali prirodno nepogodni za 3D tiskanje uključuju meso, voće i povrće. Kako bi se mogli 3D tiskati potrebno im je dodati hidrokoloide poput karagenana, gume arabike, ksantan gume ili želatine kako bi mogli zadržati oblik tijekom i nakon tiskanja (Pereira i sur., 2021). Alternativni materijali za 3D tiskanje su alge, gljive i kukci, a potražnja za njima je u porastu jer se radi o materijalima koji su bogati proteinima, vlaknima i raznim bioaktivnim tvarima te omogućavaju razvoj zdravijih i održivih 3D tiskanih proizvoda. Dizajniranje modela se provodi pomoću računalnog programa za dizajn (engl. *Computer Aided Design*, CAD) ili skeniranjem postojećega objekta. Zatim se model pretvara u niz horizontalnih presjeka tijekom čega se generiraju G- i M- kodovi za svaki sloj. Kodovi se šalju do 3D pisača koji tiskaju jedan po jedan sloj do konačnoga proizvoda. Nakon tiskanja proizvoda, često je potrebna dodatna obrada (pečenje, prženje, sušenje) kako bi se osigurala stabilnost oblika, mikrobiološka ispravnost, trajnost ili kako bi se poboljšala senzorska svojstva (Tejada-Ortigoza i Cuau-Urquizo, 2022; Nachal i sur., 2019).



**Slika 4.** Osnovni koraci 3D-tiskanja hrane (prema Pereira i sur., 2021)

### 2.5.1. Tehnike 3D-tiskanja hrane

U području 3D-tiskanja hrane se primjenjuju tehnike tintnoga tiskanja (engl. *Inkjet*), selektivnoga sinteriranja (engl. *Selective Sintering*), tisak primjenom tekućega veziva (engl. *Binder Jetting*), tisak na bazi ekstruzije (engl. *Extrusion*) i bio-printanje. Na odabir tehnike utječe vrsta materijala koji se koriste te da li su u tekućem, praškastom ili polukrutom stanju. Naime, ekstruzija zahtijeva materijale veće viskoznosti koji mogu samostalno zadržavati oblik dok tintni pisači zahtijevaju materijale male viskoznosti. Selektivno sinteriranje i tisak primjenom tekućega veziva koriste praškaste materijale koje povezuje djelovanje lasera, topline ili tekuće vezivo (Pereira i sur., 2021).

Tintni tisak se najviše primjenjuje za površinsko ispunjavanje ili ukrašavanje proizvoda, a koristi materijale niske viskoznosti koje glava pisača kroz mlaznice ispušta u kontinuiranom mlazu ili u obliku kapljica (Pereira i sur., 2021). Ova tehnika se primjenjuje u proizvodnji kolača, kekisa, pekarskih proizvoda i pizze (Sun i sur., 2015a).

Selektivno sinteriranje ili okrupnjavanje je tehnika u kojoj se praškasti materijal nanosi na podlogu nakon čega se sinterirajući izvor (laser ili vrući zrak) kreće u smjeru X i Y osi u obliku zadanoga dizajna pri čemu dolazi do povezivanja i okrupnjavanja čestica (Sun i sur.,



2015b). Nakon što je završen jedan sloj, nanosi se novi sloj praškastoga materijala preko tiskanoga sloja, a podloga se spušta kako bi se mogao stvoriti novi sloj. Pri tome materijal koji nije sinteriran djeluje kao potpora formiranim slojevima pa nema potrebe za dodatnom potpornom strukturom (Pereira i sur., 2021). Svaki sloj se zagrijava ispod točke taljenja materijala kako bi se olakšalo povezivanje s prethodnim slojevima i kako ne bi došlo do deformacije formiranih slojeva. Ova tehnika omogućava stvaranje kompleksnih oblika u kratkome vremenu i bez potrebe za dodatnom obradom, ali je pogodna samo za materijale s visokim udjelom šećera i masnoća koji imaju nisku točku taljenja (Sun i sur., 2015b).

Tisak pomoću tekućega vezivnoga sredstva također povezuje čestice praškastoga materijala kako bi se formirali slojevi, ali za povezivanje se koristi tekuće vezivno sredstvo koje raspršuje glava pisača, a uzrokuje aglomeraciju čestica. Ova metoda koristi materijale poput šećera i praškova na bazi šećera i čokolade za proizvodnju konditorskih proizvoda (Pereira i sur. 2021).

Bio-printanje je tehnika koju znanstvenici koriste za uzgoj tkiva iz kultura stanica koristeći tehnike ekstruzije, tintnoga tiskanja ili laserski potpomognuto tiskanje. Ovom tehnikom se nastoji proizvesti *in vitro* meso ili biljne zamjene za meso kao alternativa tradicionalno uzgojenome mesu (Pereira i sur., 2021).

3D tiskanje ekstruzijom je korišteno u izradi ovoga rada, a ujedno je najčešće korištena tehnika za tiskanje hrane koja se temelji na ekstrudiranju tj. istiskivanju hrane pod tlakom kroz sapnicu čime dolazi do depozicije sloja po sloj na podlogu prema odabranomu dizajnu. Sapnica se nalazi na glavi pisača koja se može kretati po tri osi odnosno u 3D-prostoru pri čemu ostaje okomita na podlogu (Tejada-Ortigoza i Cuau-Urquizo, 2022; Pereira i sur., 2021). Razlikuju se toplinska ekstruzija pri kojoj je hrana u krutom stanju te ju je prije tiskanja potrebno zagrijati do polu-tekućega stanja i ekstruzija na sobnoj temperaturi pri kojoj proces ovisi o reološkim svojstvima hrane koja se ekstrudira. Ovisno o formulaciji, slojevi se nakon printanja povežu hlađenjem ili je potrebno dodatno procesiranje (Tejada-Ortigoza i Cuau-Urquizo, 2022; Nachal i sur., 2019). Iako je ova tehnika je pogodna za printanje viskoznih i mekih sirovina poput tijesta, čokolade, sira, mesnih pasti i pire krumpira, stvaranje kompleksnih ili prezicnih oblika je ograničeno zbog sklonosti iskrivljavanju i izobličenju materijala nakon tiskanja. Stoga je potrebno poznavati svojstva materijala, mehanizam ekstruzije, procesne čimbenike (visina i promjer sapnice, brzina tiskanja) te postupke dodatne obrade nakon ekstruzije kako bi se dobio proizvod željenih karakteristika (Lee, 2021; Liu i sur., 2017).

Prema mehanizmu ekstrudiranja, razlikuju se pužna ekstruzija, ekstruzija zrakom i ekstruzija pomoću šprice. Tijekom pužne ekstruzije, materijal se ubacuje kroz spremnik na vrhu ekstrudera, a do sapnice ga potiskuje rotirajuća pužnica. Ovaj proces omogućava stalno dodavanje materijala u spremnik i kontinuirano tiskanje proizvoda, ali nije pogodan za materijale velike viskoznosti i mehaničke čvrstoće. Tehnika ekstruzije zrakom primjenjuje komprimirani zrak za potiskivanje materijala kroz sapnicu ekstrudera, a pogodna je za tekućine ili materijale male viskoznosti. Ekstruzija pomoću šprice primjenjuje se za tiskanje materijala velike viskoznosti i mehaničke čvrstoće te omogućava stvaranje kompleksnih struktura visoke rezolucije (Lee, 2021; Liu i sur., 2017).

### 2.5.2. 3D-tisak u proizvodnji *snack* proizvoda

Potrošači pokazuju sve veću težnju za zdravijim *snack* proizvodima s većim udjelom proteina, vlakana i bioaktivnih komponenti (Saleh i sur., 2019). Međutim, zdraviji proizvodi su često percipirani kao neprivlačni i bljutavi u odnosu na konvencionalne proizvode (Pereira i sur., 2021). Znanstvenici razvijaju razne pristupe kako bi uspostavili ravnotežu između nutritivnoga sastava, iskorištenja sirovina i održive proizvodnje (Jagadiswaran i sur., 2021). U tom okviru se ističe tehnologija 3D-tiskanja koja omogućava proizvodnju vizualno i teksturno privlačnih te zdravijih proizvoda koristeći sastojke koji inače nisu popularni među potrošačima kao što su nusproizvodi prehrambene industrije te alternativni sastojci poput algi, gljiva ili kukaca (Pereira i sur., 2021; Nachal., 2019).

Stoga su brojna istraživanja usmjerena na razvoj nutritivno obogaćenih 3D-tiskanih proizvoda pri čemu su najveći izazovi reologija smjese za tiskanje, preciznost i stabilnost tiska te kompatibilnost s tradicionalnim metodama obrade (sušenje, pečenje) koje su često potrebne kod 3D-tiskanih proizvoda na bazi žitarica (Lille i sur., 2020; Lille i sur., 2017).

Lille i sur. (2017) su istražili utjecaj raznih mješavina proteina i vlakana na 3D-tiskanje ekstruzijom te na preciznost tiska i stabilnost proizvoda. Najbolje rezultate su dobili s 10 % škroba, 15 % obranoga mlijeka u prahu, 60 % polumasnoga mlijeka u prahu, 30 % posija raži, 35 % koncentrata proteina zobi ili 45 % koncentrata proteina faba graha. Uočili su da je dodatak vlakana doveo do začepljenja mlaznice pisača uslijed veličine čestica te da je na preciznost tiska i obradu nakon tiskanja pozitivno utjecao veći udio suhe tvari kao i veća točka tečenja smjese. Nadovezujući se na prethodno istraživanje, Lille i sur. (2020) su proizveli *snack* proizvod s dodatkom mlijeka u prahu i raženoga brašna od cjelovitoga zrna. Uočili su da je dodatak mlijeka

u prahu doprinio volumenu, sjaju i senzorskim svojstvima pečenoga proizvoda dok je dodatak raženoga brašna poboljšao stabilnost i čvrstoću pečenih proizvoda. Krishnaraj i sur. (2019) su proizveli 3D-tiskani *snack* proizvod bogat vlaknima koristeći proso, zlatni grah, pečeni slanutak i sjemenke ajovana. Proizvod s najboljim senzorskim svojstvima, teksturom i minimalnim promjenama boje postignut je sušenjem mikrovalovima u odnosu na sušenje vrućim zrakom i prženje u dubokom ulju. Jagodiswaran i sur. (2021) su proizveli 3D-tiskane kekse obogaćene vlaknima, proteinima te bioaktivnim spojevima koristeći usitnjenu kominu grožđa kao nusproizvod i pšeničnu krupicu. Proizvedeni keksi su imali zadovoljavajuću strukturu i senzorska svojstva. Nadalje, Habuš i sur. (2021a) su istražili utjecaj dodatka različitih brašna, temperature, pH vrijednosti i obrade pšeničnih posija ultrazvukom visokog intenziteta, pulsirajućim svjetlom i mikrovalovima u vakuumu na boju i kvalitetu tiskanja *snack* proizvoda. Uočeno je kako su niža temperatura printanja, veća pH vrijednost i prethodno procesiranje posija umanjili nepoželjne promjene boje, a procesiranje je također doprinjelo viskoznosti tijesta, a time i većoj preciznosti tiska. Keerthana i sur. (2020) su koristili prah od šampinjona kao alternativan izvor vlakana u proizvodnji 3D-tiskanoga *snack* proizvoda, Severini i sur. (2018) su kao alternativan izvor proteina koristili usitnjene ličinke velikoga brašnara (lat. *Tenebrio molitor*) dok su Uribe-Wandurraga i sur. (2020) koristili mikroalge kao funkcionalni sastojak za 3D-tiskani *snack* proizvod.

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

U ovome radu su za pripremu smjesa korištene pšenične posije industrijskoga mlina Farina tvrtke Granolio d. d. (Zagreb, Hrvatska) veličine čestica  $177,00 \pm 2,26 \mu\text{m}$ , posije amaranta tvrtke RICH OIL (Dnjevar, Ukrajina) veličine čestica  $242,08 \pm 0,46 \mu\text{m}$ , suhi pekarski kvasac (Lesaffre Adriatic Inc., Prigorje Brdovečko, Hrvatska), zobeno brašno (Garden Ltd., Zagreb, Hrvatska), proteini riže (Biovega, Ltd., Zagreb, Hrvatska), proteini graška (Biovega, Ltd., Zagreb, Hrvatska), suncokretovo ulje (Zvijezda Ltd., Zagreb, Hrvatska), kuhinjska sol (Solana Pag Inc., Pag, Hrvatska) i prašak za pecivo (Podravka Inc., Koprivnica, Hrvatska). Za fermentaciju posija su korišteni LV1 starter koji je sadržavao *Lactobacillus brevis*, *Lactocaseibacillus casei* i *Saccharomyces chevalieri* (Lesaffre Adriatic Inc., Prigorje Brdovečko, Hrvatska), *Limosilactobacillus fermentum* (DSM 20052 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, DSMZ, Braunschweig, Njemačka)), *Kluyveromyces marxianus* (NBRC 1777 (Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu)) i enzim inulinaza izoliran iz plijesni *Aspergillus niger* (EC 3.2.1.26, 2000 U/g (BIO-CAT, Troy, VA, SAD)). Nutritivni sastav pšeničnih posija, posija amaranta, proteina riže, proteina graška i zobenog brašna je prikazan u tablicama 1-3.

**Tablica 1.** Nutritivni sastav pšeničnih posija i posija amaranta (izražen kao udio na suhu tvar) (Habuš i sur., 2022)

	Pšenične posije	Posije amaranta
Proteini	17,8 %	17,0 %
Ugljikohidrati	25,6 %	57,5 %
Vlakna	36,1 %	11,4 %
- od čega topljiva	4,6 %	1,7 %
Masti	4,3 %	4,2 %
Mineralne tvari	3,6 %	2,3 %

**Tablica 2.** Nutritivna vrijednost proteina graška i riže u 100 g (deklaracija proizvođača)

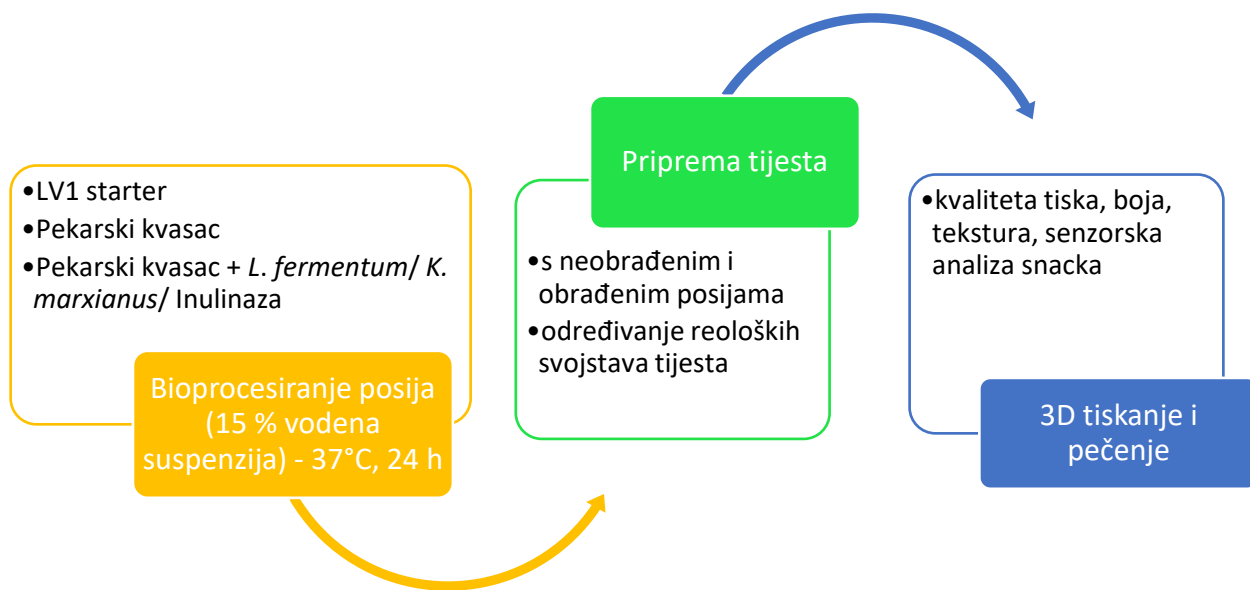
	Proteini graška	Proteini riže
Energija	381 kcal/ 1614 kJ	392 kcal/ 1660 kJ
Masti	4,5 g	4,5 g
- Od kojih zasićene	1,5 g	2,2 g
Ugljikohidrati	1,1 g	2,9 g
- Od toga šećeri	0,0 g	1,25 g
Bjelančevine	83,7 g	83 g
Soli	1,3 g	< 0,05 g

**Tablica 3.** Nutritivna vrijednost zobnoga brašna u 100 g (deklaracija proizvođača)

Energija	371 kcal/ 1569 kJ
Masti	5,6 g
- Od kojih zasićene	1,2 g
Ugljikohidrati	69,6 g
- Od toga šećeri	0,6 g
Bjelančevine	9,5 g
Vlakna	2,15 g
Soli	> 0,01g

### 3.2. METODE RADA

Na slici 5. je shematski prikazano provođenje eksperimentalnoga dijela ovoga rada. Bioprocesiranje pšeničnih posija (PŠP) i posija amaranta (PAM) je provedeno pomoću LV1 startera, pekarskoga kvasca, *L. fermentum*, *K. marxiaus* i inulinaze. Zatim je pripravljeno tijesto kojemu su određena reološka svojstva nakon čega je slijedilo 3D-tiskanje snack proizvoda kojima su nakon pečenja određena fizikalna svojstva. Na kraju je provedena senzorska analiza pečenoga snack proizvoda.



**Slika 5.** Shematski prikaz provođenja eksperimentalnog dijela

### 3.2.1. Bioprocesiranje posija

Pribor i aparatura:

- 1) Tehnička vaga (Kern & Sohn GmbH, D-72336, Balingen, Njemačka)
- 2) Metalna žlica
- 3) Staklena menzura od 100 mL
- 4) Stakleni štapić
- 5) Pipeta od 1 mL
- 6) Plastične čaše (urinarke)

Postupak rada:

Vodne suspenzije (15 % m/m) PŠP i PAM su bile inkubirane s LV1 starterom (0,6 % masenog udjela posija) ili s pekarskim kvascem *S. cerevisiae* ( $10^4$  CFU (engl. *Colony Forming Units*, CFU – jedinice koje formiraju kolonije)/ g posija ili otprilike 0,06 % m/m na masu posija) samostalno ili u ko-kulturi s *K. marxianus*  $10^4$  CFU/ g posija), *L. fermentum* ( $10^4$  CFU/ g posija) ili inulinazom (0,1 % m/m na masu posija) u plastičnim čašama (urinarke) na 37 °C, 24 h. Trajanje bioprocesiranja tj. fermentacije je određeno preliminarnim eksperimentima. Kultura *L. fermentum* je prethodno uzgojena u MRS bujonu (Biolife, Monza, Italija) sa 2 % glukoze (w/v) dok je bujon za uzgoj *K. marxianus* sadržavao ekstrakt kvasca, pepton i glukozu (1,2 i 2

% m/v). Obje kulture su bile inkubane na 37 °C nakon čega su centrifugirane i otopljene u sterilnoj vodi. Inokulum je zatim homogeniziran vorteksiranjem 1 min i odmah upotrijebljen za fermentaciju zajedno sa pekarskim kvascem pri čemu je dodatak vode umanjen za količinu koja je dodana inokulumom.

### 3.2.2. Priprema tijesta

Aparatura i pribor:

- 1) Ručni mikser (Gorenje d. o. o., Model M350LBW, Slovenija)
- 2) Plastična posuda
- 3) Tehnička vaga (Kern & Sohn GmbH, D-72336, Balingen, Njemačka)
- 4) Metalna žlica
- 5) Staklena menzura od 20 mL
- 6) Pipeta od 10 mL
- 7) pH metar

Postupak rada:

Smjese za tisak su pripremljene prema recepturi u Tablici 4.

**Tablica 4.** Receptura za 3D-snack proizvod

Sastojak	Masa ili volumen
Proteini graška <sup>a</sup> / riže <sup>b</sup>	5 g
Kuhinjska sol (NaCl)	0,1 g
Natrijev hidrogenkarbonat (NaHCO <sub>3</sub> )	0,15 g
Suncokretovo ulje	3 g
Tretirane posije (suspenzija)	21 mL
Neobrađene posije <sup>c</sup>	3 g
Sterilna vodovodna voda <sup>c</sup>	21 mL
Zobeno brašno	15 g

a – dodano u smjesu sa pšeničnim posijama; b – dodano u smjesu sa posijama amaranta; c – kontrolni uzorak

Smjese za 3D tiskani snack proizvod su pripremljene prema AACC 10-50.01 metodi u 3 koraka uz određene preinake. Proteini graška ili riže, kuhinjska sol, natrijev hidrogenkarbonat i suncokretovo ulje su izvagani na tehničkoj vagi u plastičnu posudu te su pomoću ručnoga miksera miksani 3 min sporo. Nakon toga je dodana suspenzija fermentiranih PŠP ili PAM te

je smjesa miksana 1 min sporo i 1 min pri srednjoj brzini. Na kraju je dodano zobeno brašno te je smjesa miksana 2 min sporo. Kontrolni uzorci s neobrađenim posijama su pripremljeni sa 3 g posija koje su dodane u prvom koraku te sterilnom vodovodnom vodom koja je dodana u drugom koraku. Nakon pripreme, tijestu su određena reološka svojstva te je odmah 3D tiskano ekstruzijom pri čemu je od svakog tijesta tiskano 10 uzoraka *snacka*.

### 3.2.3. Određivanje reoloških svojstava tijesta

Reološka svojstva tijesta su provedena oscilacijskim mjerenjima koristeći MCR 92 reometar (Anton Par, Graz, Austrija). Prilikom mjerenja je korišten sustav paralelnih ploča promjera 25 mm i razmaka između ploča 1 mm. Uzorak tijesta je stavljen između ploča, a nakon spuštanja ploča, višak tijesta je uklonjen. Test amplitude je proveden pri brzini smicanja 0,01-100 s<sup>-1</sup> i konstantnoj frekvenciji 1 Hz radi utvrđivanja linearne viskoelastične regije (LVER) i smičnoga naprezanja (0,05 %). Test frekvencije je proveden u rasponu frekvencija 1-30 Hz pri 20 °C i konstantnoj amplitudi tj. smičnome naprezanju koje je određeno u testu amplitude. Provedena su 2 mjerenja za svaki uzorak nakon čega su izračunati modul elastičnosti ( $G'$ ), modul viskoznosti ( $G''$ ), točka tečenja, faktor gubitka ( $\tan \delta = G'' / G'$ ), kompleksna viskoznost i naprezanje na granici razvlačenja pomoću računalnoga softvera Anton Paar RheoCompass (verzija 1.30.999, Graz, Austrija).

### 3.2.4. 3D tiskanje *snack* proizvoda

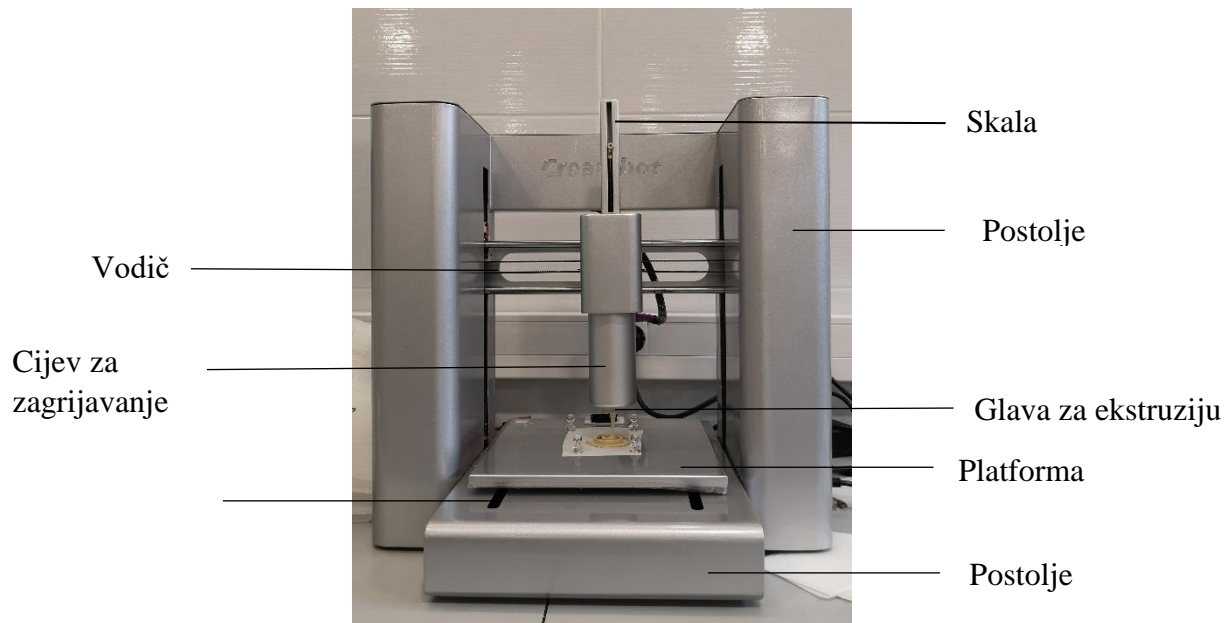
Aparatura i pribor:

- 1) 3D pisač (Createbot 3D Food Printer – Multi-Ingredient Support. Ningbo Createbot Electronic Technology Co., Ltd., Ningbo, Kina)
- 2) Metalna žlica
- 3) Plastična šprica
- 4) Plastična sapnica primjera 1 mm
- 5) pH metar

Postupak rada:

Za trodimenzionalno tiskanje *snack* proizvoda je korišten 3D pisač koji se temelji na tehnici ekstruzije. Osnovni dijelovi pisača su prikazani na slici 6.





**Slika 6.** 3D pisac hrane Createbot (vlastita fotografija)

Postupak rada:

Pripremljeno tijesto se pomoću metalne žlice prebacilo u plastičnu špricu koja se zatim stavila u cijev za zagrijavanje dok je na glavu za ekstruziju stavljena plastična sapnica promjera 1 mm. Nakon toga se u postavkama pisaca odabrao oblik pod nazivom „Circle“ koji je imao 25 slojeva visine 0,4 mm i širine 2 mm te su određeni sljedeći parametri printanja: brzina printanja 25 mm/s i temperatura 20 °C. Vrijeme potrebno za tiskanje jednoga uzorka je iznosilo 6 minuta i 47 sekundi, a za svaku recepturu je tiskano po 10 *snack* proizvoda. Odmah nakon tiskanja uzorcima je određena masa.

#### 3.2.4. Pečenje *snack* proizvoda

Aparatura i pribor:

- 1) Pekarski limovi
- 2) Etažna pećnica (EBO 64-320 IS 600, Wiesheu GmbH, Njemačka)

Postupak rada:

Uzorci su nakon tiskanja poslagani na pekarske limove i pečeni 18 min u etažnoj pećnici pri temperaturi 140 °C na donjemu grijaču i 160 °C na gornjemu grijaču. Pečeni *snack* proizvodi su ohlađeni na sobnu temperaturu nakon čega im je određena masa, boja, preciznost tiska te točnost oblika.

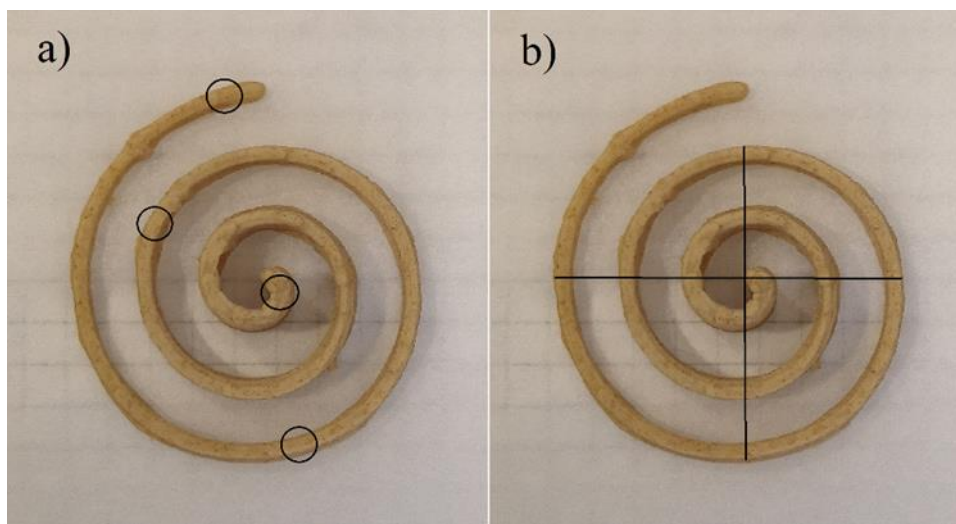
### 3.2.5. Određivanje ponovljivosti i preciznosti tiska te točnosti oblika

Aparatura i pribor:

- 1) Analogno pomično mjerilo
- 2) Računalo i program ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, SAD)

Postupak rada:

Kako bi se odredila kvaliteta tiska, uzorcima se nakon pečenja i hlađenja mjerila visina, širina linije s gornje strane te promjer koristeći analogno pomično mjerilo. Na slici 7. su prikazane točke i linije na kojima su provedena mjerenja.



**Slika 7.** Točke na kojima su mjereni: a) visina *snacka* i širina linije s gornje strane b) promjer *snacka*

Također, kvaliteta tiska je izražena određivanjem preciznosti tiska (%) prema formuli:

$$\text{Preciznost tiska (\%)} = \left( \frac{D_L}{D_n} \right) \times 100 \quad [2]$$

Gdje je:

$D_L$  – širina gornje linije 3D tiskanoga *snacka* (cm)

$D_n$  – promjer sapnice (cm)

Neposredno nakon tiska i pečenja, svaki uzorak je fotografiran. Točnost oblika (%) pečenih *snackova* je određena digitalnom analizom fotografija u računalnom programu ImageJ pri čemu je određeno odstupanje oblika svakoga uzorka od posljednjeg uzorka (10.) koji je

tiskan s najvećom točnošću tj. imao je najpoželjniji oblik. Obrada fotografija je započela ručnim i automatskim uklanjanjem smetnji nakon čega su prilagođene dimenzije i kontrast fotografija te se odredila granična vrijednost pretvaranja fotografija u boji u fotografije u sivim tonovima, a potom u binarne fotografije koje su se sastojale samo od crnih i bijelih piksela pri čemu su crni pikseli označavali oblik 3D *snacka*, a bijeli pikseli pozadinu (Slika 8.). Na temelju broja crnih piksela i ukupnoga broja piksela se odredilo koliko oblik svakoga snacka odstupa od željenoga oblika tj. od posljednjega *snacka* te kolika je točnost oblika (%) i ponovljivost 3D tiska.



Slika 8. Obrada fotografija u ImageJ programu: a) fotografija uzorka prije obrade b) nakon prilagođavanja kontrasta c) binarna fotografija

Uz preciznost tiska i točnost oblika, određena je i deformacija oblika tijekom pečenja prema formuli:

$$Deformacija\ oblika = \left( \frac{X_t - X_p}{X_t} \right) \times 10 \quad [3]$$

Gdje je:

$X_t$  – ukupni bijeli pikseli tiskanih *snackova*

$X_p$  – ukupni bijeli pikseli pečenih *snackova*

### 3.2.6. Određivanje parametara boje *snack* proizvoda nakon pečenja

Aparatura i pribor:

- 1) Kolorimetar (Konica Minolta CM-700d, Japan)

Postupak rada:

Prije mjerenja je provedena kalibracija kolorimetra s bijelim standardom (100 %-tna refleksija) te crnim valjkom (0 % refleksije) te je područje mjerenja podešeno na valne duljine između 400 i 700 nm. Određivanje parametara boje snack proizvoda ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) je provedeno nakon pečenja i hlađenja *snackova*. Parametar  $a^*$  mjeri pozitivne vrijednosti za crvenu i negativne vrijednosti za zelenu boju, parametar  $b^*$  mjeri pozitivne vrijednosti za žutu i negativne vrijednosti za plavu boju, a parametar  $L^*$  označava mjeru svjetline uzorka (Pathare i sur., 2012).

Svakom snacku (10 za svaku recepturu) je nakon pečenja određen indeks posmeđivanja (IP) prema sljedećoj formuli:

$$IP = 100 \times \frac{\left( \left( \left( \frac{a^* + 1,75 \times L^*}{5,645 \times L^* + a^* - 3,012 \times b^*} \right) \right) \right)^{-0,31}}{0,17} \quad [4]$$

Gdje je:

$L^*$  - svjetlina uzorka

$a^*$  - parametar za crvenu boju

$b^*$  - parametar za žutu boju

### 3.2.7. Određivanje teksture *snack* proizvoda nakon pečenja

Aparatura i pribor:

- 1) Teksturometar (Ametek Lloyd Instruments Ltd., West Sussex, UK)

Postupak rada:

Tekstura tj. tvrdoća *snack* proizvoda je određena pomoću testa rezanja pri brzini 2 mm/s koristeći teksturometar koji je bio opremljen sa mjernom ćelijom kapaciteta 50 kg i Warner – Bratzler sondom za analizu sa oštricom tipa giljotine. Uzorak se postavio na platformu ispod giljotine nakon čega je ona ručno spuštена radi kalibracije uređaja. Nakon kalibracije svim je pečenim snack proizvodima određena tvrdoća pri čemu je mjerena sila potrebna da dođe do pucanja proizvoda.

### 3.2.8. Senzorska analiza 3D *snack* proizvoda

Senzorska analiza 3D tiskanih *snack* proizvoda s i bez dodatka fermentiranih posija amaranta i pšenice je provedena uz 13-eročlani panel prosječne starosti 35 godina, a sastojao

se od 11 žena i 2 muškarca koji su svi zaposlenici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu. Senzorska analiza je provedena tijekom dva dana pri čemu su jedan dan analizirani snackovi s pšeničnim posijama, a drugi dan snackovi s posijama amaranta. Uzorcima su nasumično dodijeljene troznamenkaste šifre te su posluženi nasumičnim redoslijedom. Provedena je deskriptivna senzorska analiza pri čemu je svakom uzorku ocijenjen vanjski izgled (ujednačenost boje površine), miris (kvasac, posije), okus (slano, gorko, naknadni gorki okus) i aroma (fermentirano, ulje) na ljestvici od 0 (nije prisutno) do 5 (vrlo jako izraženo). Također je provedena je hedonistička senzorska analiza pri čemu su uzorci mogli biti ocijenjeni na ljestvici od 1 (izrazito mi se ne sviđa) do 5 (izrazito mi se sviđa). Korišteni obrazac za senzorsku analizu je prikazan u Prilogu 1.

### 3.2.9. Obrada rezultata

Rezultati dobiveni eksperimentalnim radom su statistički analizirani i grafički prikazani koristeći Microsoft Office Excel 2016. Svi rezultati su izraženi kao srednja vrijednost sa pripadajućom standardnom devijacijom dok je za usporedbu uzoraka korištena analiza varijance (engl. *Analysis of Variance*, ANOVA) s Tukey post-hoc testom koji je proveden pomoću programa Statistica 10 (Stat Soft Inc., SAD). Pri tome je za dobivene rezultate postavljena granica statističke značajnosti  $p < 0,05$ .

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

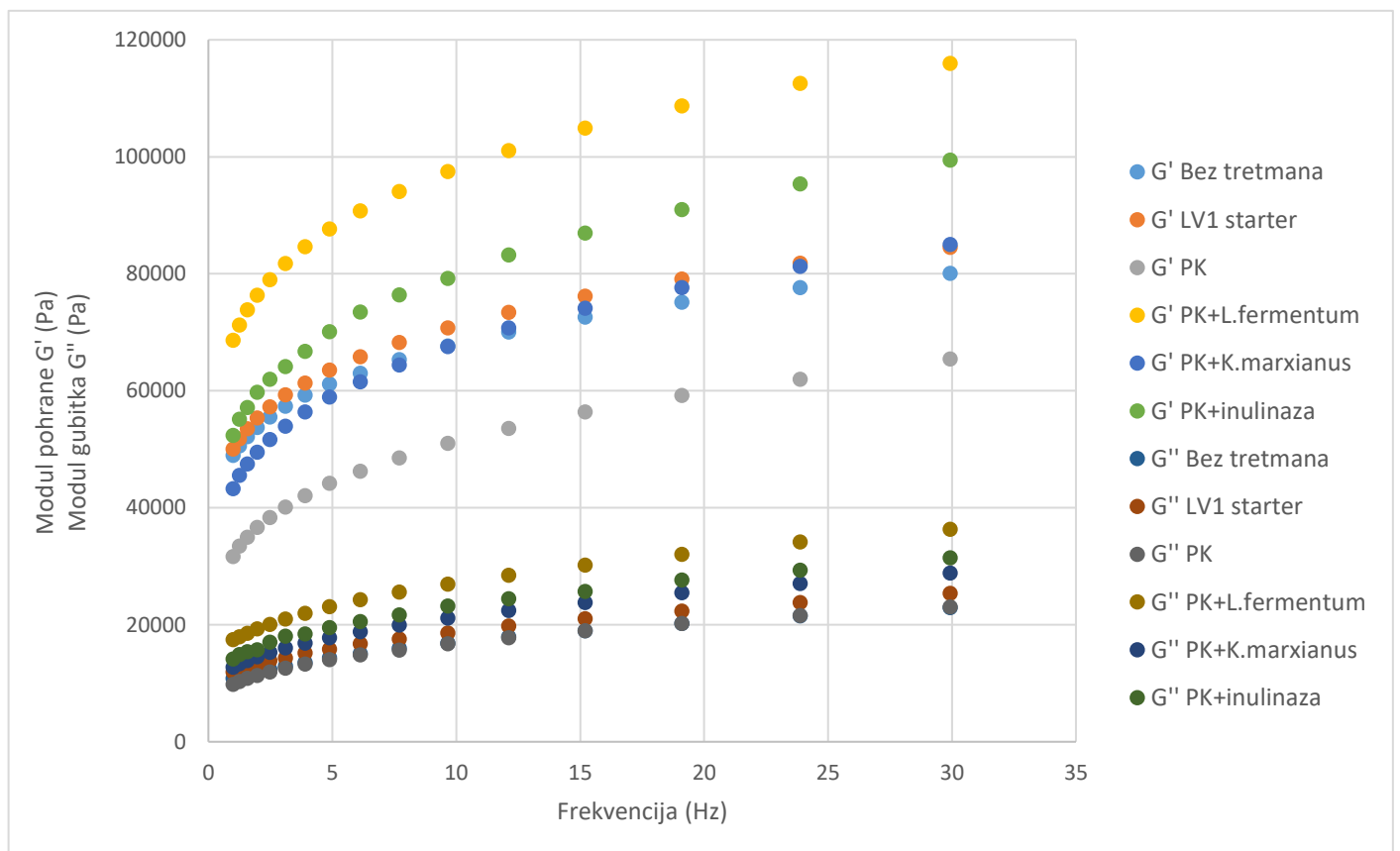
Cilj ovoga rada je bio proizvesti *snack* proizvode s dodatkom fermentiranih posija pšenice i amaranta koristeći tehnologiju 3D tiskanja ekstruzijom te utvrditi utjecaj vrste i tretmana posija na reološka svojstva tijesta te fizikalna svojstva pečenih *snack* proizvoda. Fermentacija je provedena koristeći LV1 starter, pekarski kvasac samostalno i u kombinaciji s *L. fermentum*, *K. marxianus* ili inulinazom. Fermentacija je provedena 24 h pri 37 °C nakon čega je pripravljeno tijesto kojemu su određena reološka svojstva te je tiskano koristeći 3D pisac na bazi ekstruzije. *Snack* proizvodi su nakon tiskanja pečeni te su im određeni boja kolorimetrom, tekstura teksturometrom, dimenzije pomičnim mjerilom, a točnost oblika i deformacija obradom fotografija *snackova* u programu ImageJ. Također su provedene deskriptivna i hedonistička senzorska analiza pečenih *snack* proizvoda kako bi se utvrdila prihvaćenost 3D tiskanih *snackova* s neobrađenim i fermentiranim posijama od strane potrošača. Rezultati su prikazani grafički ili tablično kao srednja vrijednost 10 uzoraka sa pripadajućom standardnom devijacijom, a razlike između uzoraka su utvrđene analizom varijance i Tukey post – hoc testom.

### 4.1. REOLOŠKA SVOJSTVA TIJESTA

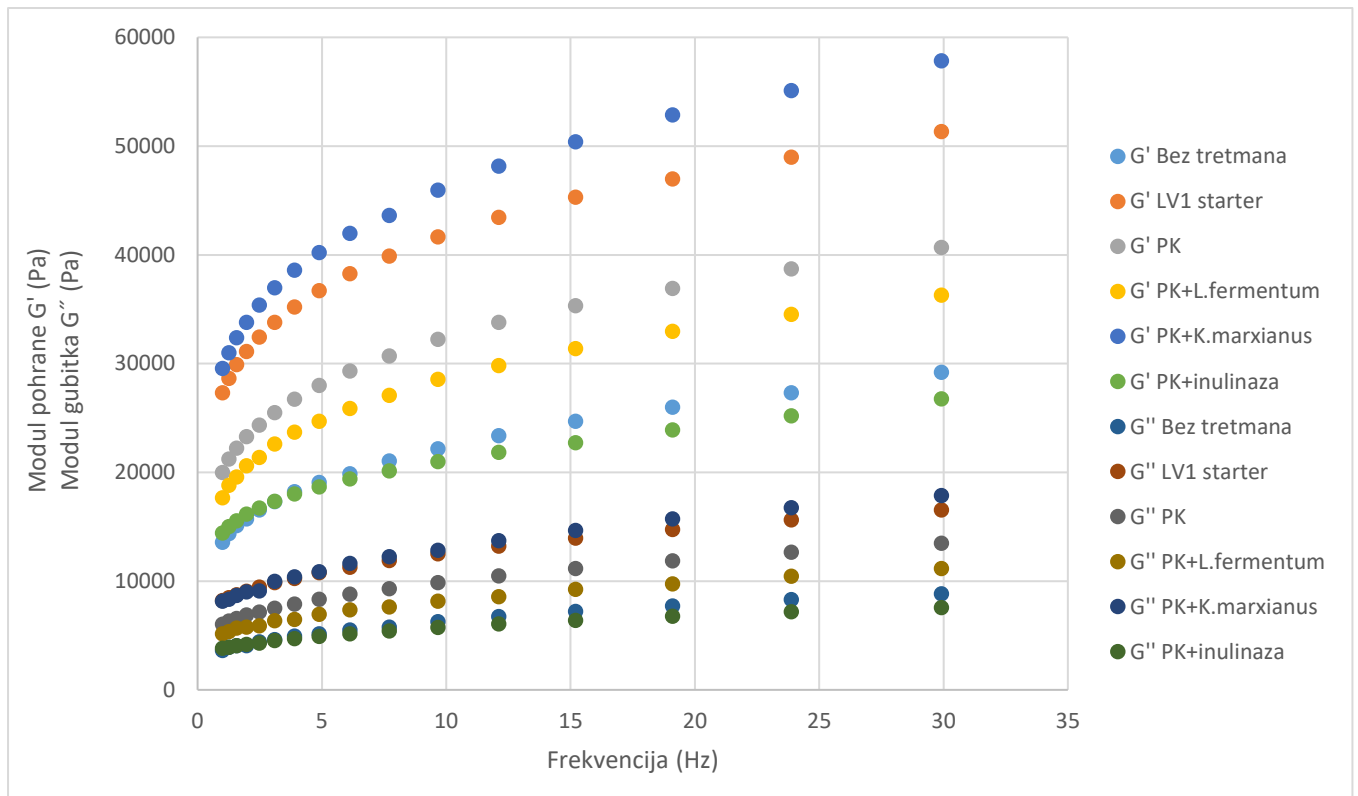
Tijesto mora zadovoljiti dva uvjeta kako bi se moglo uspješno 3D tiskati metodom ekstruzije. Ono se mora s lakoćom ekstrudirati kroz sapnicu pisaca i mora imati sposobnost podupiranja tiskanih slojeva i zadržavanja tiskanoga oblika (Yang i sur., 2018). Tehnika 3D tiskanja ekstruzijom zahtijeva dovoljno nisku viskoznost tijesta kako bi moglo kontinuirano teći kroz sapnicu, ali dovoljno visoku da održi integritet prethodno tiskanih slojeva (Liu i sur., 2018). Tijekom ekstruzije, na materijal djeluje smično naprezanje koje utječe na tečenje materijala te stabilnost ekstrudiranoga oblika. Stoga je poželjno da se materijal ponaša kao ne-Newtonova tekućina te da pokazuje pseudoplastična svojstva što znači da tijekom porasta smičnoga naprezanja pada viskoznost materijala (Jiang i sur., 2019).

Rezultati reološke analize uzoraka tijesta su pokazali kako je interakcija između vrsta posija i načina njihovoga bioprocesiranja statistički značajno ( $p < 0,01$ ) utjecala na sve reološke parametre koji su određivani. Iz grafičkoga prikaza ovisnosti modula pohrane ( $G'$ ) i modula gubitka ( $G''$ ) o frekvenciji na slikama 9. i 10. je vidljivo kako su vrijednosti  $G'$  bile veće u odnosu na  $G''$  u linearnoj viskoelastičnoj regiji za sve uzorke. Modul pohrane ( $G'$ ) označava energiju koja je pohranjena tijekom ciklusa oscilatornoga naprezanja, ukazuje na otpor materijala deformaciji tijekom naprezanja te utječe na sposobnost podupiranja tiskanih slojeva

i zadržavanja oblika nakon 3D tiskanja, a modul gubitka ( $G''$ ) označava otpuštanje energije te ukazuje na sposobnost ekstrudiranja materijala kroz sapnicu 3D pisača tijekom ekstruzije (Liu i sur., 2017; Yang i sur., 2018). Veće vrijednosti  $G'$  u odnosu na  $G''$  ukazuju na pseudoplastično ponašanje koje je poželjno za stabilnost oblika nakon 3D tiskanja ekstruzijom (Liu i sur., 2017; Pulatsu i sur., 2021). Istraživanja prethodno provedena na 3D tiskanju ekstruzijom također su zabilježila kako su najbolju stabilnost imali snackovi tiskani iz smjesa sa pseudoplastičnim ponašanjem tj. većim vrijednostima  $G'$  u odnosu na  $G''$  (Habuš i sur., 2021a; Uribe-Wandurraga i sur., 2020; Lille i sur., 2017).



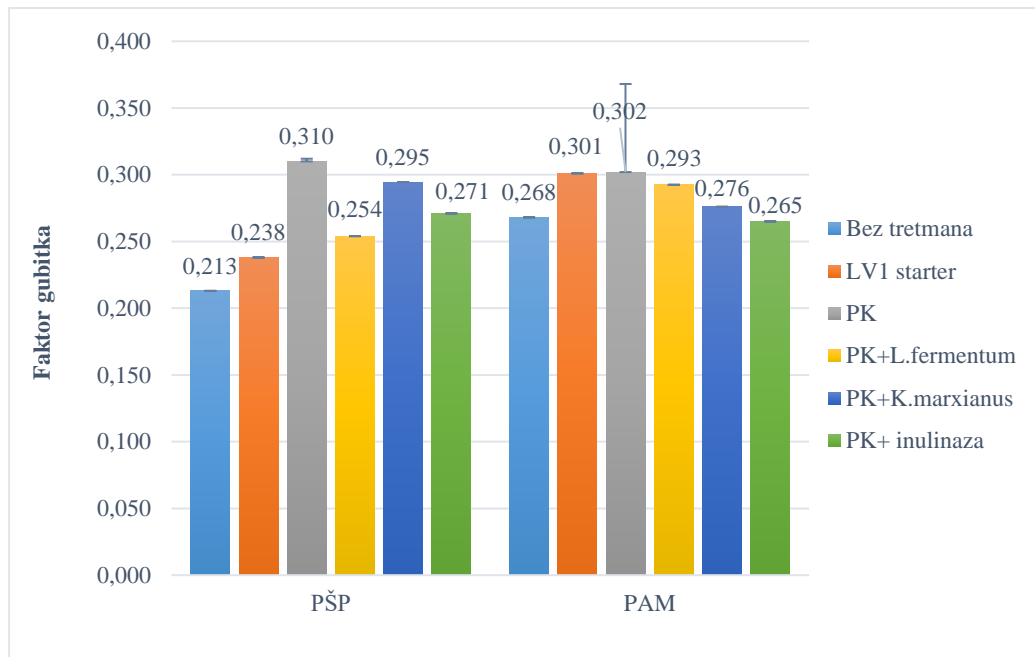
**Slika 9.** Grafički prikaz ovisnosti  $G'$  i  $G''$  modula o frekvenciji za tijesta sa pšeničnim posijama bez tretmana, s dodatkom LV1 startera, pekarskoga kvasca (PK) samostalno i u kombinaciji sa *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom



**Slika 10.** Grafički prikaz ovisnosti  $G'$  i  $G''$  modula o frekvenciji za tijesta sa posijama amaranta bez tretmana, s dodatkom LV1 startera, pekarskoga kvasca (PK) samostalno i u kombinaciji sa *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom

Svim uzorcima s obrađenim posijama je zabilježen porast faktora gubitka u odnosu na uzorke s netretiranim posijama. Tijesto sa pšeničnim posijama koje su fermentirane pekarskim kvascem te tijesta s posijama amaranta fermentiranim pekarskim kvascem ili s LV1 starterom su imala najveće vrijednosti faktora gubitka (Slika 11.) što znači da su ti uzorci pokazali najveću sposobnost apsorpcije i otpuštanja energije tijekom naprezanja odnosno najizraženije viskoelastično ponašanje. Faktor gubitka se računa iz omjera  $G''$  i  $G'$  ( $\tan\delta = G''/G'$ ) te ukazuje da li materijal pokazuje elastično ili viskozno ponašanje. Ako je veći od 1, ispitivani materijal pokazuje dominantno viskozno ponašanje nalik tekućinama, a kada je manji od 1, materijal pokazuje dominantno elastično ponašanje nalik krutinama (Liu i sur., 2017).





**Slika 11.** Vrijednosti faktora gubitka za tijesta sa pšeničnim posijama (PŠP) i posijama amaranta (PAM) bez tretmana, s dodatkom LV1 startera, pekarskoga kvasca (PK) samostalno i u kombinaciji sa *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom

U tablici 5. su prikazane vrijednosti za kompleksnu viskoznost, naprezanje na granici razvlačenja, točku tečenja i preciznost tiska, a koje su sve bile veće kod tijesta sa neobrađenim pšeničnim posijama u odnosu na tijesta sa neobrađenim posijama amaranta.

**Tablica 5.** Reološka svojstva tijesta

Tretman	Kompleksna viskoznost (Pa s)	Naprezanje na granici razvlačenja (Pa)	Točka tečenja (Pa)	Preciznost tiska (%)
<b>Pšenične posije</b>				
Bez tretmana	7920,0 ± 150,7 <sup>cd</sup>	20,3 ± 0,1 <sup>d</sup>	265,4 ± 0,4 <sup>de</sup>	84,3 ± 2,6 <sup>cde</sup>
LV1 starter	8184,1 ± 185,0 <sup>c</sup>	25,0 ± 1,0 <sup>cd</sup>	447,2 ± 0,8 <sup>c</sup>	86,3 ± 3,1 <sup>cd</sup>
PK	10466,2 ± 182,2 <sup>b</sup>	34,0 ± 1,0 <sup>bc</sup>	533,8 ± 0,5 <sup>b</sup>	93,1 ± 2,8 <sup>a</sup>
PK+ <i>L.fermentum</i>	11275,5 ± 27,5 <sup>a</sup>	51,4 ± 1,0 <sup>a</sup>	612,0 ± 1,6 <sup>a</sup>	94,9 ± 2,4 <sup>a</sup>
PK+ <i>K.marxianus</i>	7182,2 ± 11,8 <sup>d</sup>	27,0 ± 1,0 <sup>bcd</sup>	467,4 ± 0,6 <sup>c</sup>	84,0 ± 2,7 <sup>de</sup>
PK+ inulinaza	8632,3 ± 15,9 <sup>c</sup>	26,4 ± 0,7 <sup>bcd</sup>	472,5 ± 8,9 <sup>c</sup>	88,4 ± 4,0 <sup>bc</sup>
<b>Posije amaranta</b>				
Bez tretmana	2237,6 ± 24,1 <sup>g</sup>	5,1 ± 0,7 <sup>e</sup>	126,9 ± 1,0 <sup>f</sup>	83,3 ± 2,6 <sup>de</sup>
LV1 starter	4540,0 ± 139,5 <sup>e</sup>	37,4 ± 3,2 <sup>b</sup>	301,3 ± 4,4 <sup>d</sup>	82,8 ± 2,7 <sup>de</sup>
PK	3326,3 ± 73,1 <sup>f</sup>	27,9 ± 4,7 <sup>bcd</sup>	290,9 ± 2,2 <sup>d</sup>	86,1 ± 2,6 <sup>cd</sup>
PK+ <i>L.fermentum</i>	2931,7 ± 182,5 <sup>fg</sup>	2,2 ± 0,4 <sup>e</sup>	229,3 ± 2,4 <sup>e</sup>	80,1 ± 1,2 <sup>e</sup>
PK+ <i>K.marxianus</i>	4879,6 ± 209,2 <sup>e</sup>	7,3 ± 0,1 <sup>e</sup>	290,9 ± 6,7 <sup>d</sup>	90,8 ± 2,0 <sup>ab</sup>
PK+inulinaza	2503,4 ± 125,3 <sup>g</sup>	20,8 ± 3,1 <sup>d</sup>	221,3 ± 2,5 <sup>e</sup>	84,0 ± 3,4 <sup>de</sup>

Vrijednosti označene različitim slovima unutar istoga stupca se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,01$ ); PK – pekarski kvasac

Kompleksna viskoznost označava otpor viskoznom ili elastičnom tečenju materijala tijekom oscilacijskog gibanja (Habuš i sur., 2021a). Fermentacija pšeničnih posija je dovela do porasta kompleksne viskoznosti tijesta, najviše kod tijesta s posijama fermentiranim s pekarskim kvascem i kombinacijom pekarskoga kvasca i *L. fermentum*. Jedino kod tijesta sa pšeničnim posijama fermentiranim kombinacijom pekarskoga kvasca i *K. marxianus* nije došlo do porasta kompleksne viskoznosti u odnosu na tijesto s neobrađenim posijama. Sva tijesta s fermentiranim posijama amaranta su imala veću kompleksnu viskoznost u odnosu na tijesto s neobrađenim posijama amaranta, a najveći porast je zabilježen kod tijesta s posijama fermentiranim kombinacijom pekarskoga kvasca i *K. marxianus* ili s LV1 starterom. Tijesta sa pšeničnim posijama su imala veće vrijednosti kompleksne viskoznosti u odnosu na tijesta s posijama amaranta što se može objasniti većim udjelom vlakana u pšeničnim posijama. Istraživanja su prethodno potvrdila povezanost prisutnosti vlakana s viskoznošću smjesa za 3D tiskanje. Vukušić Pavičić i sur. (2021) su istraživali utjecaj različitih vrsta brašna i masnoća na reološka svojstva tijesta za 3D tiskane kekse. Uočili su da su tijesta s najvećom viskoznošću sadržavala raženo brašno i brašno rogača koja su bogata vlaknima. Nadalje, Uribe-Wandurraga i sur. (2020) su uočili da je dodatak mikroalgi Spirulina i Chlorella u smjese za 3D tiskanje ekstruzijom utjecao na porast viskoznosti zbog vlakana, polisaharida i proteina iz mikroalgi. Porast viskoznosti uslijed dodatka vlakana također su uočili Jagadiswaran i sur. (2021) dodatkom praha od komine grožđa u smjesu za 3D tiskane kekse te Keerthana i sur. (2020) dodatkom praha od gljiva u smjesu za 3D tiskane snack proizvode.

Naprezanje na granici razvlačenja (engl. *Yield Stress*) opisuje naprezanje nakon kojega vrijednosti  $G'$  i  $G''$  počinju opadati odnosno naprezanje pri kojemu počinje narušavanje strukture materijala uslijed plastične deformacije koja nastaje nakon rasterećenja materijala. Vrijednost naprezanja na granici razvlačenja se odnosi na otpor tiskanoga tijesta deformaciji pod djelovanjem vanjskoga naprezanja uključujući gravitaciju i taloženje novih slojeva tijesta tijekom tiskanja (Lille i sur., 2017). Fermentacija pšeničnih posija je dovela do porasta naprezanja na granici razvlačenja kod svih fermentiranih uzoraka u odnosu na tijesto s neobrađenim posijama, a najviše kod tijesta s posijama fermentiranim kombinacijom pekarskoga kvasca i *L. fermentum*. Kod tijesta s fermentiranim posijama amaranta je također zabilježen porast naprezanja na granici razvlačenja kod svih uzoraka, osim kod tijesta s posijama fermentiranim pekarskim kvascem i *L. fermentum* gdje je zabilježen pad od 56,86 %

u odnosu na tijesto na neobrađenim posijama. Lille i sur. (2017) su prethodno uočili pozitivnu povezanost između visokih vrijednosti naprezanja na granici razvlačenja i stabilnosti oblika nakon 3D tiskanja.

Točka tečenja označava minimalno naprezanje pri kojemu materijal počinje teći. Kod obje vrste posija je nakon fermentacije zabilježen porast točke tečenja što znači da je potrebno više snage za ekstruziju tijesta kroz sapnicu pisača i početak 3D tiskanja. Uzorci kojima su zabilježene najveće vrijednosti naprezanja na granici razvlačenja ujedno su imali najveće vrijednosti točke tečenja. Fermentacija pšeničnih posija pekarskim kvascem te kombinacijom pekarskoga kvasca i *L. fermentum* kao i fermentacija posija amaranta LV1 starterom, pekarskim kvascem ili kombinacijom pekarskoga kvasca i *K. marxianus* je dovela do najvećega porasta točke tečenja tijesta.

Reološka svojstva tijesta imaju značajni utjecaj na preciznost tiska koja je povezana s ponovljivošću i ujednačenosti 3D tiskanih oblika te njihovom kvalitetom. Da bi preciznost tiska bila visoka, tijesto mora biti odgovarajuće viskoznosti kako bi se moglo ekstrudirati te podupirati slojeve tijesta bez deformacije oblika (Liu i sur., 2017). Rezultati su pokazali kako su uzorci s najboljom preciznošću bili oni koji su imali najveće vrijednosti kompleksne viskoznosti (Tablica 5). Tijesta sa pšeničnim posijama fermentiranima pekarskim kvascem te kombinacijom pekarskoga kvasca i *L. fermentum* su tiskana s najvećom preciznošću (>90 %). Kod tijesta sa posijama amaranta sa preciznošću > 90 % su tiskani uzorci s posijama fermentiranima kombinacijom pekarskoga kvasca i *K. marxianus*. Povezanost između viskoznosti smjese za 3D tiskanje i preciznosti tiska prethodno su uočili Pulatsu i sur. (2020) koji su istraživali sposobnost tiskanja različitih smjesa za kekse. Rezultati su pokazali da su smjese s najvećim vrijednostima viskoznosti ujedno bile najpogodnije za 3D tiskanje ekstruzijom jer su zadržale oblik tijekom i nakon tiskanja. S druge strane, smjese s nižim vrijednostima viskoznosti nisu bile prikladne za tiskanje jer nisu mogle zadržati oblik. Tijesta s pšeničnim posijama su imala veću preciznost tiska u odnosu na tijesta sa posijama amaranta što se može objasniti većim udjelom vlakana i prisutnošću proteina glutena u pšeničnim posijama. Vukušić Pavičić i sur. (2021) su također uočili kako prisutnost vlakana pozitivno utječe na preciznost tiska, a time i na bolju ponovljivost i kvalitetu tiska.

## 4.2. FIZIKALNA SVOJSTVA PEČENIH SNACK PROIZVODA

### 4.2.1. Točnost oblika, masa, dimenzije i deformacija oblika

Kako bi se dodatno odredila ponovljivost tiska tj. razlika između tiskanih *snackova* (1. *snack* od 2. itd.), pečenim *snackovima* su neposredno nakon pečenja i hlađenja određeni masa, visina, širina linije i promjer. Točnost oblika (%) je određena analizom crnih piksela u ImageJ programu uspoređujući svaki uzorak pojedine recepture sa posljednjim tj. 10. uzorkom koji je tiskan s najvećom točnošću. Dobivene vrijednosti su prikazane u tablici 6.

**Tablica 6.** Točnost oblika, masa i dimenzije pečenih *snack* proizvoda

Tretman	Točnost oblika (%)	Masa (g)	Visina (cm)	Širina linije (cm)	Promjer (cm)
<b>Pšenične posije</b>					
Bez tretmana	94,3 ± 2,9 <sup>abcd</sup>	1,11 ± 0,02	0,45 ± 0,01	0,16 ± 0,00	3,30 ± 0,13
LV1 starter	89,7 ± 4,2 <sup>d</sup>	1,11 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,45 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,25 ± 0,08 <sup>d</sup>
PK	93,1 ± 3,6 <sup>bcd</sup>	1,12 ± 0,11 <sup>ab</sup>	0,46 ± 0,01 <sup>bc</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>ab</sup>	3,69 ± 0,15 <sup>ab</sup>
PK+ <i>L.fermentum</i>	96,1 ± 3,9 <sup>abc</sup>	1,11 ± 0,07 <sup>ab</sup>	0,47 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>ab</sup>	3,51 ± 0,15 <sup>c</sup>
PK+ <i>K.marxianus</i>	95,6 ± 2,0 <sup>abc</sup>	1,11 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,46 ± 0,02 <sup>abc</sup>	0,16 ± 0,00 <sup>b</sup>	3,65 ± 0,05 <sup>ac</sup>
PK+ inulinaza	97,6 ± 1,6 <sup>ab</sup>	1,12 ± 0,14 <sup>a</sup>	0,46 ± 0,03 <sup>abc</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>ab</sup>	3,58 ± 0,12 <sup>bc</sup>
<b>Posije amaranta</b>					
Bez tretmana	92,0 ± 5,7 <sup>cd</sup>	1,10 ± 0,10	0,46 ± 0,02	0,16 ± 0,01	3,65 ± 0,10
LV1 starter	91,3 ± 1,8 <sup>cd</sup>	1,10 ± 0,09 <sup>ab</sup>	0,47 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,17 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,69 ± 0,18 <sup>ab</sup>
PK	96,5 ± 3,9 <sup>abc</sup>	1,11 ± 0,04 <sup>ab</sup>	0,46 ± 0,01 <sup>abc</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>ab</sup>	3,72 ± 0,03 <sup>ab</sup>
PK+ <i>L.fermentum</i>	96,1 ± 2,8 <sup>abc</sup>	1,11 ± 0,18 <sup>b</sup>	0,46 ± 0,02 <sup>abc</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>ab</sup>	3,70 ± 0,08 <sup>ab</sup>
PK+ <i>K.marxianus</i>	91,4 ± 1,7 <sup>cd</sup>	1,10 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,48 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,17 ± 0,00 <sup>ab</sup>	3,77 ± 0,03 <sup>a</sup>
PK+inulinaza	98,6 ± 1,4 <sup>a</sup>	1,11 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,47 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,16 ± 0,00 <sup>b</sup>	3,59 ± 0,03 <sup>bc</sup>

Vrijednosti unutar istoga stupca označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ); PK – pekarski kvasac

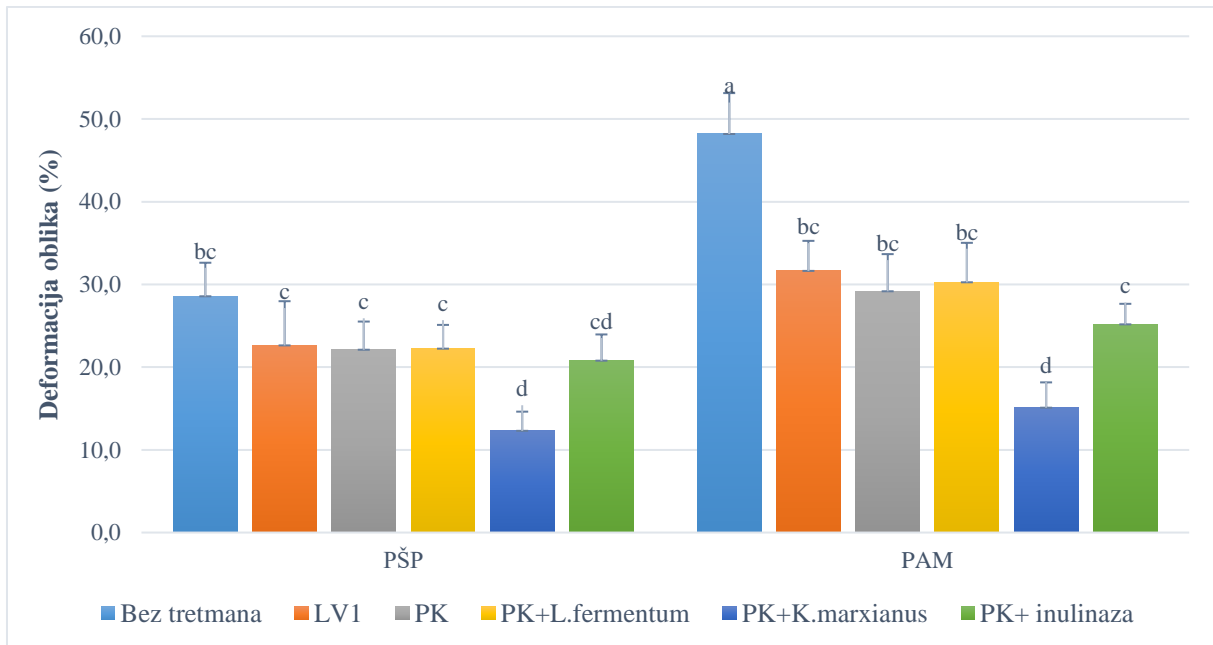
Obrada posija je statistički značajno ( $p < 0,05$ ) utjecala na masu pečenih *snackova* dok je interakcija načina obrade i vrsta posija statistički značajno ( $p < 0,05$ ), ali malo utjecala na točnost oblika (%), visinu, širinu linije i promjer pečenih *snackova*. Tijesta s obje vrste posija su u prosjeku tiskana s velikom točnošću (PŠP 94,4 %, PAM 94,3 %) što ukazuje na izvrsnu ponovljivost tiskanja. Uzorci tiskani s najvećom točnošću kod obje vrste posija su bili fermentirani s pekarskim kvascem u kombinaciji sa inulinazom. Razlika u masi je uočena između uzorka sa pšeničnim posijama fermentiranim s pekarskim kvascem i inulinazom te uzorka s posijama amaranta fermentiranim s pekarskim kvascem i *L. fermentum*. Uzorci s posijama amaranta se nisu značajno razlikovali u vrijednostima visine ( $p > 0,05$ ) dok je kod uzorka sa pšeničnim posijama značajna razlika ( $p < 0,05$ ) zabilježena između uzorka fermentiranih s LV1 starterom i uzorka fermentiranih s pekarskim kvascem i *L. fermentum*.

Uzorci sa pšeničnim posijama se nisu značajno ( $p > 0,05$ ) razlikovali u širini linije dok je između uzoraka s posijama amaranta fermentiranih s LV1 i uzoraka fermentiranih s pekarskim kvascem i inulinazom zabilježena značajna razlika ( $p < 0,05$ ). Između uzoraka s posijama amaranta fermentiranih s pekarskim kvascem i *K. marxianus* te uzoraka fermentiranih s pekarskim kvascem i inulinazom je zabilježena statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) za vrijednosti promjera. Kod uzoraka sa pšeničnim posijama značajna razlika u promjeru ( $p < 0,05$ ) je zabilježena između uzoraka s pekarskim kvascem te uzoraka s pekarskim kvascem i *L. fermentum*. Uzorci fermentirani s LV1 značajno ( $p < 0,05$ ) su se razlikovali u promjeru od svih ostalih uzoraka.

Habuš i sur. (2021a) prethodno nisu zabilježili značajne razlike u vrijednostima mase, visine, širine linije i promjera 3D tiskanih *snackova* proizvedenih sa pšeničnim posijama obrađenim pulsirajućim svjetlom, ultrazvukom i mikrovalovima. S druge strane, Vukušić Pavičić i sur. (2021) su zabilježili značajne razlike u masi, visini, širini i promjeru 3D tiskanih keksa.

3D tiskane oblike je nakon tiskanja potrebno termički obraditi kako bi se mogli konzumirati, kako bi se poboljšao okus, izgled, ali i stabilnost proizvoda tijekom rukovanja, skladištenja i bilo koje naknadne radnje (Pulatsu i sur., 2020). Međutim, zadržavanje preciznoga 3D oblika tijekom toplinske obrade je često velika prepreka kod 3D tiskanja hrane (Lipton i sur., 2015). Stabilnost 3D tiskanih oblika tijekom toplinske obrade ukazuje na sposobnost zadržavanja oblika bez značajnih deformacija i promjena dimenzija tijekom obrade, a time i na kvalitetu tiska. (Pulatsu i sur., 2020). Kako bi se vidjela stabilnost 3D tiskanih oblika tijekom toplinske obrade pečenjem, određena je deformacija oblika (%) analizom piksela tiskanih i pečenih *snackova* u programu ImageJ. Statistička analiza je pokazala značajan ( $p < 0,01$ ) utjecaj interakcije vrste posija i načina obrade na deformaciju oblika (%) tijekom pečenja. Prema grafičkom prikazu na slici 12. je vidljivo kako su uzorci s posijama amaranta tijekom pečenja više deformirali (prosječno 29,9 %) u odnosu na uzorke sa pšeničnim posijama (prosječno 21,4 %) pri čemu su kod obje vrste posija obrađeni uzorci manje deformirali u odnosu na uzorke s netretiranim posijama. Najmanja deformacija je kod obje vrste posija zabilježena kod uzoraka fermentiranih kombinacijom pekarskoga kvasca i *K. marxianus*. Pulatsu i sur. (2020) su prethodno razvili 3D tiskane kekse s različitim vrstama brašna (pšenica, riža, tapioka), masnoća (maslac, šortening), šećerom i mlijekom u prahu. Uočili su da je udio pojedinih sastojaka imao utjecaj na deformaciju 3D tiskanih keksa tijekom pečenja pri čemu je dodatak veće količine šećera i mlijeka u prahu u smjesu je uzrokovao veće deformacije tijekom pečenja. Nadovezujući

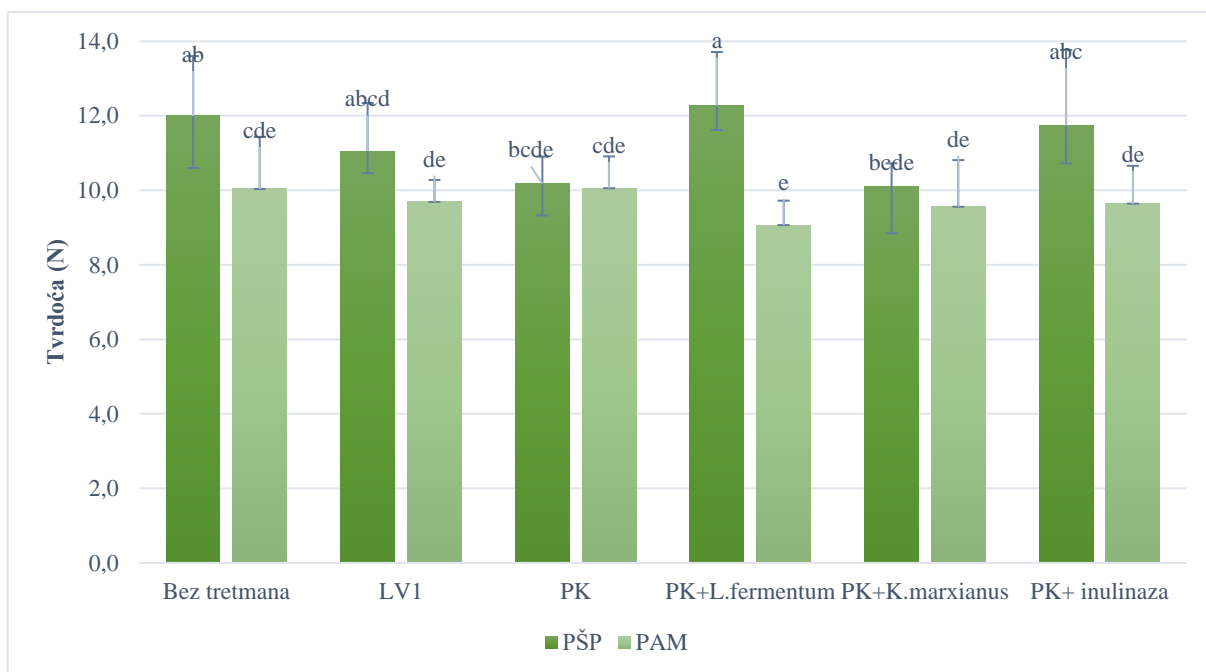
se na prethodno istraživanje, Pulatsu i sur. (2021) su zaključili kako je zagrijavanje tijesta prije tiskanja uvelike doprinijelo stabilnosti keksa tijekom pečenja te manjoj deformaciji oblika, a time i boljoj kvaliteti konačnoga proizvoda.



**Slika 12.** Deformacija oblika 3D tiskanih *snackova* sa pšeničnim posijama (PŠP) i posijama amaranta (PAM) bez tretmana, s dodatkom LV1 startera, pekarskoga kvasca (PK) samostalno i u kombinaciji sa *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom nakon pečenja; Stupci označeni različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

#### 4.2.2. Tvrdoća pečenih *snackova*

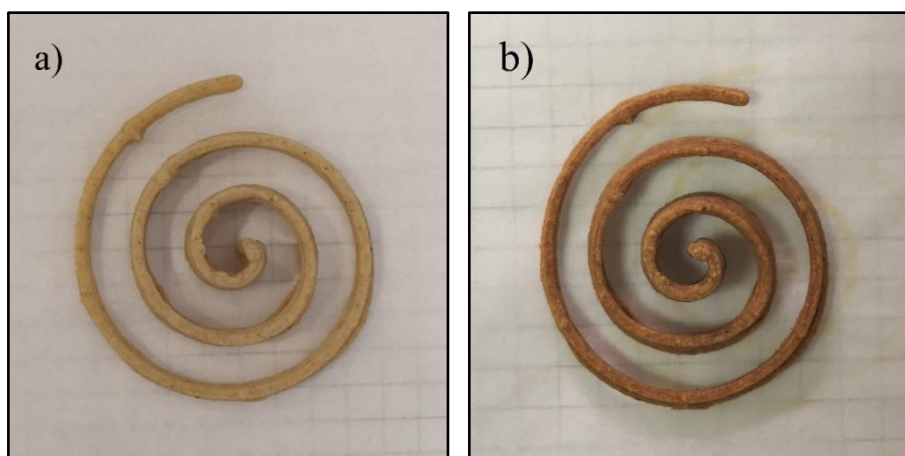
Tvrdoća pečenih *snackova* statistički je značajno ovisila o interakciji vrsta i načina obrade posija ( $p < 0,01$ ), a rezultati analize teksture su prikazani na slici 13. Svi uzorci sa pšeničnim posijama su bili tvrdi (10,1 – 12,3 N) u odnosu na uzorke s posijama amaranta (9,1 – 10,1 N). Fermentacija obje vrste posija je dovela do smanjene tvrdoće, osim kod uzorka sa pšeničnim posijama fermentiranima pekarskim kvascem i *L. fermentum*. Lille i sur. (2020) su zabilježili slične vrijednosti tvrdoće (11 – 20 N) 3D tiskanih *snackova* sa raženim brašnom i mlijekom u prahu. Nadalje, Hartikainen i sur. (2014) su uočili manju tvrdoću kruha proizvedenoga s dodatkom pšeničnih posija koje su prethodno fermentirane ili obrađene enzimima u odnosu na kruh s neobrađenim pšeničnim posijama.



**Slika 13.** Vrijednosti tvrdoće pečenih *snackova* sa pšeničnim posijama (PŠP) i posijama amaranta (PAM) bez tretmana, s dodatkom LV1 startera, pekarskoga kvasca (PK) samostalno i u kombinaciji sa *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom sa standardnim devijacijama; Stupci označeni različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

#### 4.2.3. Boja pečenih *snack* proizvoda

Površinska boja hrane je prvi parametar kvalitete koji potrošači primjećuju na proizvodu i jedan je od ključnih za njegovo prihvaćanje ili odbijanje. Posmeđivanje hrane je proces razvoja smeđe boje, a izražen je prilikom procesiranja hrane pečenjem, sušenjem ili prženjem. Razlikuju se enzimsko i neenzimsko posmeđivanje hrane. U pekarskim proizvodima posmeđivanje je neenzimsko te je povezano s povišenom temperaturom pri kojoj dolazi do karamelizacije ugljikohidrata, posebice saharoze i reducirajućih šećera te Maillardovih reakcija između reducirajućih šećera i aminokiselina, proteina ili drugih spojeva koji sadrže dušik (Pathare i sur., 2013). Na slici 14. je prikazana boja *snackova* nakon tiska te nakon obrade pečenjem.



**Slika 14.** a) Boja *snacka* prije pečenja b) Boja *snacka* nakon pečenja

Kako bi se odredilo posmeđivanje proizvoda nakon pečenja, određen je indeks posmeđivanja (IP) koji se definira kao čistoća smeđe boje i najčešće je korišten indikator posmeđivanja proizvoda (Pathare i sur., 2021)

Statistička analiza je pokazala značajan utjecaj interakcije vrste posija i načina obrade na parametre boje i indeks posmeđivanja ( $p < 0,05$ ). Rezultati prikazani u tablici 7. pokazuju da su svi uzorci s posijama amaranta bili svjetliji u odnosu na uzorke sa pšeničnim posijama i imali su manje izraženu crvenu te više izraženu žutu boju u odnosu na uzorke sa pšeničnim posijama. Indeks posmeđivanja u prosjeku je bio veći kod uzoraka za pšeničnim posijama (44,01) u odnosu na uzorke s posijama amaranta (40,03). Svi uzorci s obrađenim posijama su imali veće vrijednosti indeksa posmeđivanja u odnosu na kontrolne uzorke osim uzoraka koji su fermentirani kombinacijom pekarskoga kvasca i *L. fermentum*. Veće vrijednosti IP kod tretiranih uzoraka možda su povezane s povećanom aktivnošću proteaza uslijed fermentacije što dovodi do povećanja udjela slobodnih aminokiselina koje sudjeluju u Maillardovim reakcijama posmeđivanja (Poutanen i sur., 2009; Pathare i sur., 2021). Habuš i sur. (2021a) su zabilježili slične vrijednosti indeksa posmeđivanja (prosječno 42) kod pečenih 3D *snackova* sa prethodno obrađenim pšeničnim posijama.



**Tablica 7.** Vrijednosti boje pečenih *snackova*

Tretman	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	IP
<b>Pšenične posije</b>				
Bez tretmana	57,8 ± 2,0 <sup>c</sup>	5,8 ± 1,3 <sup>d</sup>	17,2 ± 0,4 <sup>b</sup>	42,3 ± 3,6 <sup>cd</sup>
LV1 starter	60,3 ± 0,9 <sup>b</sup>	6,1 ± 0,4 <sup>cd</sup>	18,8 ± 0,7 <sup>cd</sup>	44,2 ± 1,5 <sup>bc</sup>
PK	56,7 ± 1,0 <sup>cd</sup>	7,6 ± 0,2 <sup>ab</sup>	17,0 ± 0,8 <sup>b</sup>	44,8 ± 1,2 <sup>bc</sup>
PK+ <i>L.fermentum</i>	53,7 ± 1,8 <sup>e</sup>	5,6 ± 1,0 <sup>de</sup>	15,3 ± 1,1 <sup>a</sup>	40,6 ± 1,7 <sup>de</sup>
PK+ <i>K.marxianus</i>	55,0 ± 0,4 <sup>de</sup>	6,9 ± 0,3 <sup>bc</sup>	16,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	44,0 ± 0,7 <sup>bc</sup>
PK+ inulinaza	60,1 ± 0,3 <sup>b</sup>	7,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	20,0 ± 0,2 <sup>cdef</sup>	48,2 ± 0,3 <sup>a</sup>
<b>Posije amaranta</b>				
Bez tretmana	64,9 ± 0,8 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,2 <sup>f</sup>	19,0 ± 0,6 <sup>cde</sup>	37,8 ± 1,1 <sup>e</sup>
LV1 starter	64,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,2 <sup>f</sup>	19,3 ± 0,3 <sup>cdef</sup>	39,0 ± 1,0 <sup>e</sup>
PK	64,4 ± 1,5 <sup>a</sup>	5,0 ± 0,3 <sup>e</sup>	20,2 ± 0,4 <sup>f</sup>	42,7 ± 1,0 <sup>bcd</sup>
PK+ <i>L.fermentum</i>	63,8 ± 0,7 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,3 <sup>f</sup>	18,6 ± 0,8 <sup>c</sup>	37,8 ± 2,0 <sup>e</sup>
PK+ <i>K.marxianus</i>	60,9 ± 0,8 <sup>b</sup>	5,3 ± 0,2 <sup>de</sup>	20,0 ± 0,6 <sup>def</sup>	45,1 ± 1,3 <sup>b</sup>
PK+inulinaza	64,3 ± 2,0 <sup>a</sup>	5,3 ± 0,3 <sup>de</sup>	20,1 ± 1,1 <sup>ef</sup>	42,7 ± 1,0 <sup>bcd</sup>

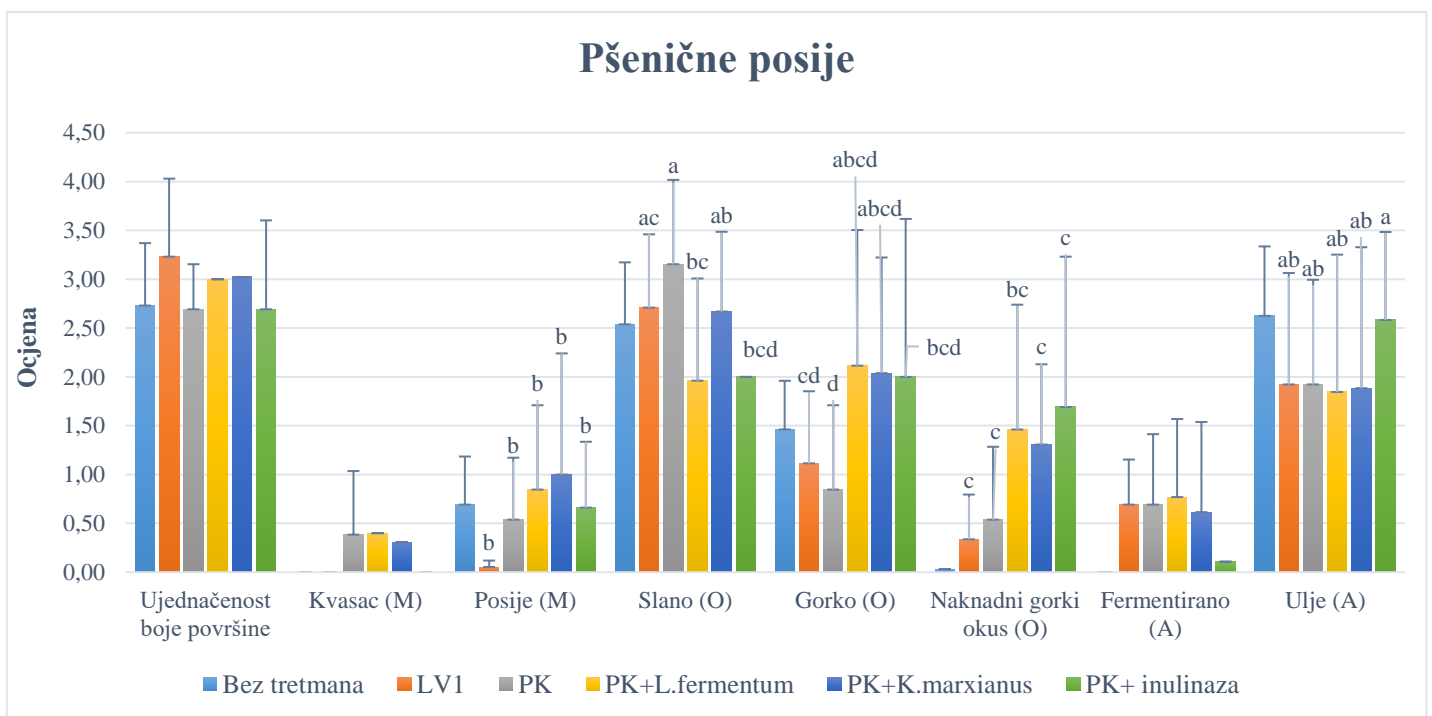
Vrijednosti unutar istoga stupca označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ); PK – pekarski kvasac, IP – indeks posmeđivanja

### 4.3. REZULTATI SENZORSKE ANALIZE

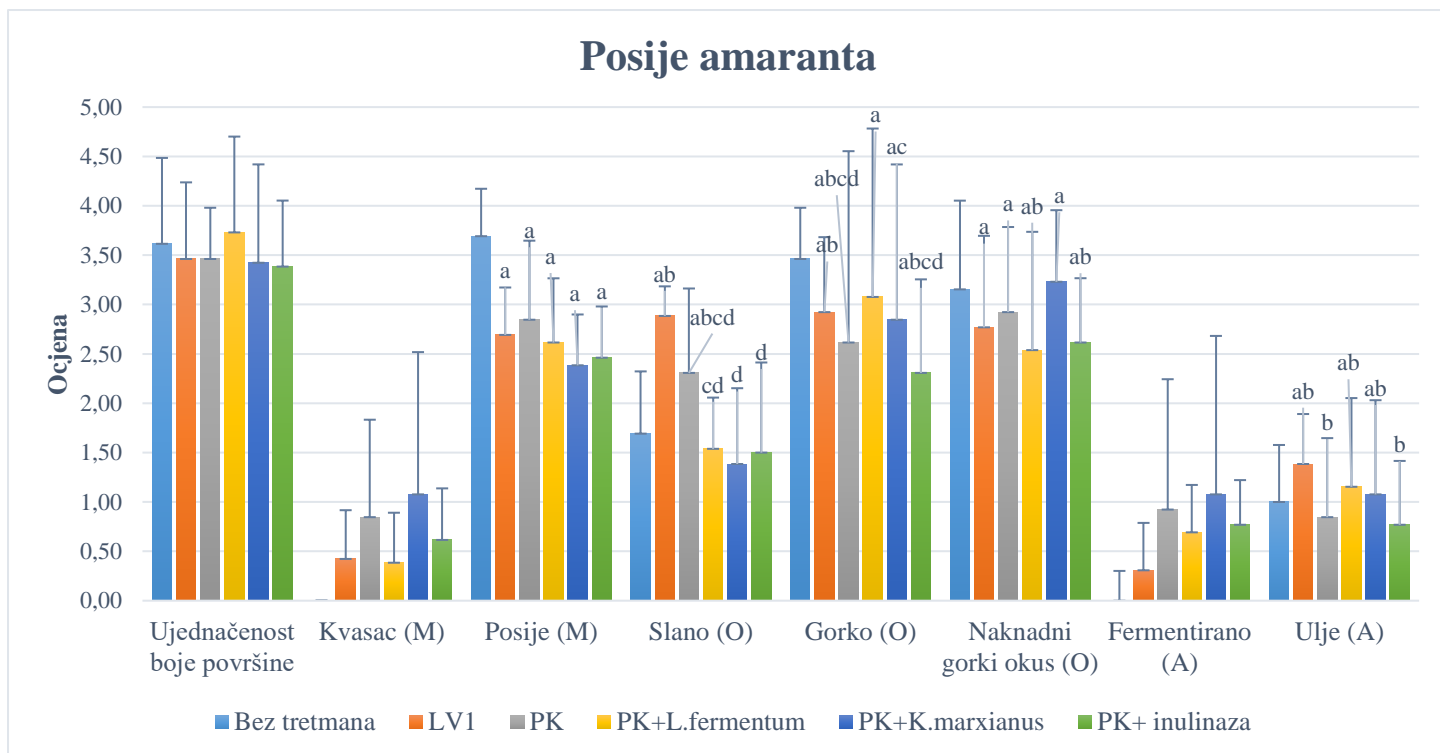
Toplinska obrada 3D tiskanih proizvoda može značajno utjecati na njihova fizikalno-kemijska svojstva koja su izravno povezana sa senzorskom kvalitetom i prihvaćenosti od potrošača (Keerthana i sur., 2020). Kao što je opisano u prethodnom poglavlju, tijekom pečenja dolazi do posmeđivanja uslijed Maillardovih reakcija što utječe na konačnu boju proizvoda (Pathare i sur., 2021), ali ove reakcije također mogu utjecati na razvoj spojeva arome koji utječu na okus pečenih proizvoda (Keerthana i sur., 2020). Primjerice, Hassan i sur. (2008) te Salmenkallio-Marttila i sur. (2001) su prethodno zabilježili poboljšanje senzorske kvalitete kruhova s dodatkom fermentiranih pšeničnih posija.

Kako bi se odredila senzorska kvaliteta *snackova* sa dodatkom fermentiranih ili netretiranih posija amaranta i pšenice, provedene su deskriptivna senzorska analiza te hedonistička senzorska analiza. Rezultati deskriptivne senzorske analize (Slika 15. i 16.) *snackova* su pokazali statističku značajnu razliku između uzoraka u svim ocjenjivanim svojstvima ( $p < 0,05$ ). U usporedbi sa *snackovima* sa pšeničnim posijama, *snackovi* s posijama amaranta su imali ujednačeniju boju površine, izraženiji gorki okus i naknadni gorki okus, miris po kvascu i posijama te manje izraženi okus po ulju. Značajan utjecaj interakcije između vrste posija i načina obrade je uočen kod gorkog okusa ( $p < 0,01$ ), slanocće ( $p = 0,02$ ) i mirisa po

posijama ( $p < 0,01$ ). *Snackovi* s neobrađenim pšeničnim posijama su imali najmanje izražen naknadni gorki okus, a fermentacija pšeničnih posija s pekarskim kvascem je rezultirala najmanje gorkim *snackovima*. Heiniö i sur. (2003) navode kako dodatak posija uzrokuje izraženiju gorčinu i naknadni okus zbog toga što su u posijama prisutni razni polifenolni spojevi, a Luikonen i sur. (2003) su tijekom fermentacije raženoga brašna kvascem i bakterijama mliječne kiseline uočili porast slobodnih polifenola u tijestu te ujedno izraženiju gorčinu i intenzivniji naknadni okus u gotovom proizvodu. Očekivano, *snackovi* s fermentiranim posijama amaranta i pšenice su imali značajno izraženiji okus po fermentiranomu ( $p < 0,01$ ) u odnosu na kontrolne *snackove*. Fermentacija posija je umanjila miris po posijama kod *snackova* s posijama amaranta dok je isti učinak kod *snackova* sa pšeničnim posijama postignut nakon tretmana s LV1, pekarskim kvascem ili kombinacijom pekarskoga kvasca i inulinaze.



**Slika 15.** Rezultati deskriptivne senzorske analize *snackova* sa pšeničnim posijama (PŠP) bez tretmana, s dodatkom LV1 startera, pekarskoga kvasca (PK) samostalno i u kombinaciji sa *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom ( $n = 13$ ) sa standardnim devijacijama; M – miris, O – okus, A – aroma; stupci za pojedino svojstvo označeni različitim slovima se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )



**Slika 16.** Rezultati senzorske analize *snackova* sa posijama amaranta (PAM) bez tretmana, s dodatkom LV1 startera, pekarskoga kvasca (PK) samostalno i u kombinaciji sa *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom (n = 13) sa standardnim devijacijama; M – miris, O – okus, A – aroma; stupci za pojedino svojstvo označeni različitim slovima se statistički značajno razlikuju (p < 0,05)

Rezultati hedonističke senzorske analize su prikazani na slici 17. Statistička analiza nije pokazala značajan utjecaj vrste i tretmana posija na ocjene hedonističke analize (p > 0,05). Ocjene za *snackove* sa pšeničnim posijama su se kretale između 2,73 i 3,75, a ocjene za *snackove* s posijama amaranta su se kretale između 2,62 i 3,23. Razlog bolje ocjene *snackova* sa pšeničnim posijama možda je izraženiji okus gorčine i naknadni gorki okus kod *snackova* s posijama amaranta što je uočeno tijekom deskriptivne senzorske analize. Rezultati hedonističke analize ukazuju na potrebu za poboljšanjem recepture za *snack* proizvode kako bi se poboljšala prihvaćenost od strane potrošača.



**Slika 17.** Rezultati hedonističke senzorske analize *snackova* sa pšeničnim posijama (PŠP) i posijama amaranta (PAM) bez tretmana, s dodatkom LV1 startera, pekarskoga kvasca (PK) samostalno i u kombinaciji sa *Limosilactobacillus fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* ili inulinazom (n=13) sa standardnim devijacijama

## 5. ZAKLJUČCI

1. Obrada pšeničnih posija i posija amaranta fermentacijom utječe na bolja reološka svojstva tijesta, posebno na porast kompleksne viskoznosti i naprezanja na granici razvlačenja te rezultira većim vrijednostima  $G'$  u odnosu na  $G''$  koje ukazuju na pseudoplastično ponašanje zbog čega je fermentacija prikladan način prethodne obrade posija za tehnologiju 3D tiskanja ekstruzijom
2. Veće vrijednosti kompleksne viskoznosti doprinose boljoj preciznosti tiska
3. Obrada pšeničnih posija i posija amaranta fermentacijom doprinosi manjoj deformaciji 3D oblika tijekom pečenja, smanjenoj tvrdoći i većem indeksu posmeđivanja
4. Intenzitet pojedinog senzorskog svojstva ovisi o vrsti posija i načinu fermentacije, a *snackovi* s posijama amaranta imaju ujednačeniju boju površine, izraženiji gorki okus i naknadni gorki okus, miris po kvascu i posijama te manje izraženi okus po ulju
5. Prosječne hedonističke ocjene 3,25 za snackove sa pšeničnim posijama i 3,00 za snackove sa posijama amaranta ukazuju na potrebu za doradom recepture kako bi se poboljšala senzorska svojstva *snackova*

## 6. LITERATURA

AACC (2000) Official methods 10-50.05, 22-85.01 and 76 -21.01. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists International. AACC.

Apprich S, Tirpanalan Ö, Hell J, Reisinger M, Böhmendorfer S, Siebenhandl-Ehn S, i sur. (2014) Wheat bran-based biorefinery 2: Valorization of products. *Food Sci Technol-Leb* **56**, 222–231. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.003>

Biesiekierski JR, Rosella O, Rose R, Liels K, Barrett JS, Shepherd SJ, i sur. (2011) Quantification of fructans, galacto-oligosaccharides and other short-chain carbohydrates in processed grains and cereals. *J Hum Nutr Diet* **24**, 154–176. <https://doi.org/10.1111/j.1365277X.2010.01139.x>

Brennan MA, Derbyshire E, Tiwari BK, Brennan CS (2013) Ready-to-eat snack products: the role of extrusion technology in developing consumer acceptable and nutritious snacks. *Int J Food Sci Tech* **48**, 893–902. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12055>

Chávez-Jáuregui RN, Silva MEMP, Areas JAG (2000) Extrusion Cooking Process for Amaranth (*Amaranthus caudatus* L.). *J Food Sci* **65**, 1009–1015. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb09408.x>

Coda R, Kärki I, Nordlund E, Heiniö RL, Poutanen K, Katina K (2014) Influence of particle size on bioprocess induced changes on technological functionality of wheat bran. *Food Microbiol* **37**, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.05.011>

Coda R, Katina K, Rizzello CG (2015) Bran bioprocessing for enhanced functional properties. *Curr Opin Food Sci* **1**, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.11.007>

Crofton EC, Markey A, Scannel, AGM (2013) Consumers' expectations and needs towards healthy cereal based snacks: An exploratory study among Irish adults. *Brit Food J* **115**, 1130-1148. <https://doi.org/10.1108/BFJ-08-2011-0213>

Ćurić D, Novotni D, Voučko B, Čukelj Mustać N (2019) Mogućnosti upotrebe nusproizvoda mlinske industrije za proizvodnju funkcionalne hrane. U: Šubarić D, Babić J (ured.) Neke mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, str. 37-62.

- De Anda-Flores Y, Carvajal-Millan E, Lizardi-Mendoza J, Rascon-Chu A, Martínez-López AL, Marquez-Escalante J, i sur. (2020) Covalently Cross-Linked Nanoparticles Based on Ferulated Arabinoxylans Recovered from a Distiller's Dried Grains Byproduct. *Processes* **8**, 691. <https://doi.org/10.3390/pr8060691>
- Delcour JA, Rouau X, Courtin CM, Poutanen K, Ranieri R (2012) Technologies for enhanced exploitation of the health-promoting potential of cereals. *Trends Food Sci Technol* **25**, 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.01.007>
- Diaz JMR, Kirjoranta S, Tenitz S, Penttilä PA, Serimaa R, Lampi AM, i sur. (2013) Use of amaranth, quinoa and kañiwa in extruded corn-based snacks. *J Cereal Sci* **58**, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.04.003>
- Ding QB, Ainsworth P, Plunkett A, Tucker G, Marson H (2006) The effect of extrusion conditions on the functional and physical properties of wheat-based expanded snacks. *J Food Eng* **73**, 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.01.013>
- EFSA (2022) Ready-to-eat-food. EFSA – European Food Safety Authority, <https://www.efsa.europa.eu/en/glossary/ready-eat-food>. Pristupljeno 6. lipnja 2022.
- Grasso S (2020) Extruded snacks from industrial by-products: A review. *Trends Food Sci Technol* **99**, 284-294. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.012>
- Habuš M, Golubić P, Vukušić Pavičić T, i sur. (2021a) Influence of Flour Type, Dough Acidity, Printing Temperature and Bran Pre-processing on Browning and 3D Printing Performance of Snacks. *Food Bioprocess Technol* **14**, 2365–2379 <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02732-w>
- Habuš M, Mykolenko S, Iveković S, Pastor K, Kojić J, Drakula S, i sur. (2022) Bioprocessing of Wheat and Amaranth Bran for the Reduction of Fructan Levels and Application in 3D-Printed Snacks. *Foods* **11**, 1649. <https://doi.org/10.3390/foods11111649>
- Habuš M, Novotni D, Gregov M, Čukelj Mustač N, Voučko B, Ćurić D (2021b) High-intensity ultrasound treatment for prolongation of wheat bran oxidative stability. *LWT – Food Sci Technol* **151**, 112110. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112110>
- Habuš M, Novotni D, Gregov M, Štifter S, Čukelj Mustač N, Voučko B, Ćurić D (2021c) Influence of particle size reduction and high-intensity ultrasound on polyphenol oxidase, phenolics, and technological properties of wheat bran. *J Food Process Pres* **45**, 15204. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15204>

- Hartikainen K, Poutanen K, Katina K (2014) Influence of Bioprocessed Wheat Bran on the Physical and Chemical Properties of Dough and on Wheat Bread Texture. *Cereal Chem* **91**, 115–123. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-04-13-0074-R>
- Hassan E, Awad A, Alkareem A, Mustafa A (2008) Effect of fermentation and particle size of wheat bran on the antinutritional factors and bread quality. *Pak J Nutr* **7**, 521 - 526. <https://doi.org/10.3923/pjn.2008.521.526>
- Heiniö RL, Katina K, Wilhelmson A, Myllymaki O, Rajamaki T, Latva-Kala K, i sur. (2003) Relationship between sensory perception and flavour-active volatile compounds of germinated, sourdough fermented and native rye following the extrusion. *Lebensm Wiss Technol* **36**, 533–545. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00057-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00057-4)
- Heiniö RL, Noort MWJ, Katina K, Alam SA, Sozer N, de Kock HL, i sur. (2016) Sensory characteristics of wholegrain and bran-rich cereal foods – A review. *Trends Food Sci Technol* **47**, 25-38. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.002>
- Hemdane S, Jacobs PJ, Dornez E, Verspreet J, Delcour JA, Courtin CM (2016) Wheat (*Triticum aestivum* L.) Bran in Bread Making: A Critical Review. *Compr Rev Food Sci F* **15**, 28–42. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12176>
- Huang L, Zhang X, Zhang H, Wang J (2018) Interactions between dietary fiber and ferulic acid changed the aggregation of gluten in a whole wheat model system. *Food Sci Technol-Leb* **91**, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.027>
- Jagadiswaran B, Alagarasan V, Palanivelu P, Theagarajan R, Moses JA, Anandharamakrishnan C (2021) Valorization of food industry wasteland by-products using 3D printing: A study on the development of value-added functional cookies, *Future Foods* **4**, 100036. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100036>
- Jiang H, Zheng L, Zou Y, Tong Z, Han S, Wang S (2019) 3D food printing: main components selection by considering rheological properties. *Crit Rev Food Sci Nutr* **59**, 2335–2347. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1514363>
- Katina K, Arendt E, Liukkonen KH, Autio K, Flander L, Poutanen K (2005) Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends Food Sci Technol* **16**, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.03.008>



- Katina K, Juvonen R, Laitila A, Flander L, Nordlund E, Kariluoto S, i sur. (2012) Fermented Wheat Bran as a Functional Ingredient in Baking. *Cereal Chem* **89**, 126–134. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-11-0106>
- Keerthana K, Anukiruthika T, Moses JA, Anandharamakrishnan C (2020) Development of fiber-enriched 3D printed snacks from alternative foods: A study on button mushroom. *J Food Eng* **287**, 110116. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110116>
- Kojić J, Belović M, Krulj J, Pezo L, Teslić N, Kojić P, i sur (2022) Textural, Color and Sensory Features of Spelt Wholegrain Snack Enriched with Betaine. *Foods* **11**, 475. <https://doi.org/10.3390/foods11030475>
- Krishnaraj P, Anukiruthika T, Choudhary P, Moses JA, Anandharamakrishnan C (2019) 3D Extrusion Printing and Post-Processing of Fibre-Rich Snack from Indigenous Composite Flour. *Food Bioprocess Technol* **12**, 1776–1786. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02336-5>
- Lamothe LM, Srichuwong S, Reuhs BL, Hamaker BR (2015) Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. *Food Chem* **167**, 490–496. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.022>
- Lee J (2021) A 3D Food Printing Process for the New Normal Era: A Review. *Processes* **9**, 1495. <https://doi.org/10.3390/pr9091495>
- Lille M, Kortekangas A, Heiniö RL, Sozer N (2020) Structural and Textural Characteristics of 3D-Printed Protein- and Dietary Fibre-Rich Snacks Made of Milk Powder and Wholegrain Rye Flour. *Foods* **9**, 1527. <https://doi.org/10.3390/foods9111527>
- Lille M, Nurmela A, Nordlund E, Metsä-Kortelainen S, Sozer N (2017) Applicability of protein and fiber-rich food materials in extrusion-based 3D printing. *J Food Eng* **220**, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.034>
- Lipton JI, Cutler M, Nigl F, Cohen D, Lipson H (2015) Additive Manufacturing for the Food Industry - A review *Trends Food Sci Technol* **43**, 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.02.004>
- Liu W, Brennan M, Serventi L, Brennan C (2017) Effect of Wheat Bran on Dough Rheology and Final Quality of Chinese Steamed Bread. *Cereal Chem* **94**, 581–587. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-09-16-0234-R>

- Liu Z, Zhang M, Bhandari B, Yang C (2018) Impact of rheological properties of mashed potatoes on 3D printing. *J Food Eng* **220**, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.017>
- Liu Z, Zhang M, Bhandari B, Wang Y (2017) 3D printing: Printing precision and application in food sector. *Trends Food Sci Technol* **69**, 83-94. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.018>
- Liukkonen KH, Katina K, Wilhelmson A, Myllymaki O, Lampi AM, Kariluoto S, i sur. (2003) Process-induced changes on bioactive compounds in whole grain rye. *Proc Nutr Soc* **62**, 117–122. <https://doi.org/10.1079/PNS2002218>
- Martinez-Lopez A, Millan-Linares MC, Rodriguez-Martin NM, Millan F, Montserrat-de la Paz, S (2020) Nutraceutical value of kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.). *J Funct Foods* **65**, 103735. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103735>
- Messia MC, Reale A, Maiuro L, Candigliota T, Sorrentino E, Marconi E (2016) Effects of pre-fermented wheat bran on dough and bread characteristics. *Jour Cereal Sci* **69**, 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.03.004>
- Miranda-Ramos KC, Sanz-Ponce N, Haros CM (2019) Evaluation of technological and nutritional quality of bread enriched with amaranth flour. *Lebensm – Wiss Technol* **114**, 108418. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108418>
- Mykolenko S, Zhygunov D, Rudenko T (2020) Baking properties of different amaranth flours as wheat bread ingredients. *Food Sci Technol Int* **14**, 62-71. <https://doi.org/10.15673/fst.v14i4.1896>
- Nachal N, Moses JA, Karthik P, Anandharamakrishnan C (2019) Applications of 3D Printing in Food Processing. *Food Eng Rev* **11**, 123-141. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09199-8>
- Navrotskyi S, Guo G, Baenziger PS, Xu L, Rose DJ (2019) Impact of wheat bran physical properties and chemical composition on whole grain flour mixing and baking properties. *Jour Cereal Sci* **89**, 102790. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102790>
- Niu M, Hou GG, Li X, Wang L, Chen Z (2014) Inhibitory effects of ultrasound combined with ascorbic acid or glutathione on enzymatic darkening of whole-wheat raw noodles. *LWT - Food Sci Technol* **59**, 901–907. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.056>

- Noort MWJ, van Haaster D, Hemery Y, Schol HA, Hamer RJ (2010) The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality – Evidence for fibre–protein interactions. *Jour Cereal Sci* **52**, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.03.003>
- Nyyssölä A, Ellilä S, Nordlund E, Poutanen K (2020) Reduction of FODMAP content by bioprocessing. *Trends Food Sci Technol* **99**, 257 – 272. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.004>
- Onipe OO, Jideani AIO, Beswa D (2015) Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products. *Int J Food Sci Tech* **50**, 2509–2518. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12935>
- Pareyt B, Delcour JA (2008) The role of wheat flour constituents, sugar, and fat in low moisture cereal based products: a review on sugar-snap cookies. *Crit Rev Food Sci Nutr* **48**, 824-839. <http://dx.doi.org/10.1080/10408390701719223>.
- Pathare PB, Opara UL, Al-Said FAJ (2013) Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol* **6**, 36–60 <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
- Pereira T, Barroso S, Gil MM (2021) Food Texture Design by 3D Printing: A Review. *Foods* **10**, 320. <https://doi.org/10.3390/foods10020320>
- Pietiäinen S, Moldin A, Ström A, Malmberg C, Langton M (2022) Effect of physicochemical properties, pre-processing, and extraction on the functionality of wheat bran arabinoxylans in breadmaking – A review, *Food Chem* **383**, 132584. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132584>.
- Poutanen K, Flander L, Katina K (2009) Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiol* **26**, 693-699. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.011>.
- Proserpio C, Bresciani A, Marti A, Pagliarini E (2020) Legume Flour or Bran: Sustainable, Fiber-Rich Ingredients for Extruded Snacks? *Foods* **9**, 1680. <https://doi.org/10.3390/foods9111680>
- Prückler M, Lorenz C, Endo A, Kraler M, Dürschmid K, Hendriks K, Michlmayr H (2015) Comparison of homo- and heterofermentative lactic acid bacteria for implementation of fermented wheat bran in bread. *Food Microbiol* **49**, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.02.014>

- Prückler M, Siebenhandl-Ehn S, Apprich S, Höltinger S, Haas C, Schmid E, Kneifel W (2014) Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization. *Food Sci Technol-Leb* **56**, 211–221. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.004>
- Pulatsu ET, Su JW, Kenderes SM, Lin J, Vardhanabhuti B, Lin M (2021) Effects of Ingredients and Pre-heating on the Printing Quality and Dimensional Stability in 3D Printing of Cookie Dough. *J Food Eng* **294**, 110412. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110412>
- Pulatsu ET, Su JW, Lin J, Lin M (2020) Factors affecting 3D printing and post-processing capacity of cookie dough. *Innov Food Sci Emerg Technol* **61**, 102316. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102316>
- Riaz MN (2016) Snack Foods: Processing. U: Wrigley C, Corke H, Seetharaman K, Faubion J (ured.) Encyclopedia of Food Grains, 2. izd., Academic Press, Oxford, str. 414-422. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00160-8>
- Robin F, Dubois C, Pineau N, Schuchmann HP, Palzer S (2011) Expansion mechanism of extruded foams supplemented with wheat bran. *J Food Eng* **107**, 80-89. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.041>
- Salmenkallio-Marttila M, Katina K, Autio K (2001) Effect of bran fermentation on quality and microstructure of high-fibre wheat bread. *Cereal Chem* **78**, 429–435. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.4.429>
- Santala OK, Nordlund EA, Poutanen KS (2013) Treatments with Xylanase at High (90 %) and Low (40 %) Water Content Have Different Impacts on Physicochemical Properties of Wheat Bran. *Food Bioprocess Technol* **6**, 3102–3112. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0967-6>
- Sanz-Penella JM, Wronkowska M, Soral-Smietana M, Haros M (2013) Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value. *Lebensm – Wiss Technol* **50**, 679–685. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.031>
- Severini C, Azzollini D, Albenzio M, Derossi A (2018) On printability, quality and nutritional properties of 3D printed cereal based snacks enriched with edible insects. *Int Food Res J* **106**, 666–676. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.034>
- Sozer N, Cicerelli L, Heiniö R, Poutanen K (2014) Effect of wheat bran addition on in vitro starch digestibility, physico-mechanical and sensory properties of biscuits. *J Cereal Sci* **60**, 105-113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2014.01.022>

Statista (2021) Value of the savory snacks market worldwide from 2019 to 2026. Statista – the statistics portal, <https://www.statista.com/statistics/1196800/global-savory-snack-market-size/>. Pristupljeno 8. lipnja 2022.

Statista (2022) Snack food. Statista – the statistics portal, <https://www.statista.com/outlook/cmo/food/confectionery-snacks/snack-food/worldwide>. Pristupljeno 8. lipnja 2022.

Struyf N, Laurent J, Verspreet J, Verstrepen KJ, Courtin CM (2017) *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianus* co-cultures allow reduction of fermentable oligo-, di, and monosaccharides and polyols levels in whole wheat bread. *J Agric Food Chem* **65**, 8704. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02793>

Sun J, Peng Z, Zhou W, Fuh JYH, Hong GS, Chiu A (2015a) A Review on 3D Printing for Customized Food Fabrication. *Procedia Manuf* **1**, 308–319. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2015.09.057>

Sun J, Zhou W, Huang D, Fuh JYH, Hong GS (2015b) An Overview of 3D Printing Technologies for Food Fabrication. *Food Bioprocess Technol* **8**, 1605–1615. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1528-6>

Tejada-Ortigoza V, Cuan-Urquiza E (2022) Towards the Development of 3D-Printed Food: A Rheological and Mechanical Approach. *Foods* **11**, 1191. <https://doi.org/10.3390/foods11091191>

Uribe-Wandurraga ZN, Zhang L, Noort MWJ, Schutyser MAI, García-Segovia P, Martínez-Monzó J (2020) Printability and Physicochemical Properties of Microalgae-Enriched 3D-Printed Snacks. *Food Bioprocess Technol* **13**, 2029–2042. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02544-4>

Vukušić Pavičić T, Grgić T, Ivanov M, Novotni D, Herceg Z (2021) Influence of Flour and Fat Type on Dough Rheology and Technological Characteristics of 3D-Printed Cookies. *Foods* **10**, 193. <https://doi.org/10.3390/foods10010193>

WHO (2003) Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. WHO – World Health Organisation, <https://www.who.int/publications/i/item/924120916X>. Pristupljeno 14. srpnja 2022.

Wolosik K i Markowska A (2019) *Amaranthus Cruentus* Taxonomy, Botanical Description, and Review of its Seed Chemical Composition. *Nat Prod Commun* **14**, 1–10. <https://doi.org/10.1177/1934578x19844141>

Yang F, Zhang M, Prakash S, Liu Y (2018) Physical properties of 3D printed baking dough as affected by different compositions. *Innov Food Sci Emerg Technol* **49**, 202-210. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.01.001>

Zhang B, Wendan Y, Wang F, Omedi JO, Liu R, Huang J, Li S (2018) Use of *Kluyveromyces marxianus* pre-fermented wheat bran as a source of enzyme mixture to improve dough performance and bread biochemical properties. *Cereal Chem* **96**, 142-153. <https://doi.org/10.1002/cche.10125>

Zhu F (2020) Dietary fiber polysaccharides of amaranth, buckwheat and quinoa grains: A review of chemical structure, biological functions and food uses. *Carbohydr Polym* **248**, 116819. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116819>

## 7. PRILOZI

### Prilog 1. Obrazac za senzorsku analizu

Ime i prezime: \_\_\_\_\_ Datum: \_\_\_\_\_

Dob: \_\_\_\_\_ Oznaka uzorka: P/A

#### Deskriptivna senzorska analiza

Odredite u svim uzorcima **intenzitet pojedinog svojstva** na ljestvici od **0 do 5**, gdje je:

- 0 – nije prisutno
- 1 – jedva prepoznatljivo
- 2 – slabo izraženo
- 3 – umjereno izraženo
- 4 – jako izraženo
- 5 – vrlo jako izraženo

Senzorsko Svojstvo		Ref	101	711	312	221	186	303
Vanjski izgled	Ujednačenost boje površine							
Miris	Kvasac							
	Posije							
Okus	Slano							
	Slatko							
	Gorko							
	Naknadni gorki okus							
Aroma	Fermentirano (kvasac, mliječno)							
	Ulje							

#### Hedonistička senzorska analiza

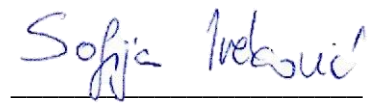
Na ljestvici od 1 do 5 ocijenite uzorak s obzirom na sveukupni doživljaj, pri čemu je značenje ocjena:

- 1 – izrazito mi se ne sviđa
- 2 – umjereno mi se ne sviđa
- 3 – niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa
- 4 – umjeren mi se sviđa
- 5 – izrazito mi se sviđa

Uzorak	303	711	312	221	486	101
Ocjena sviđanja						

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Handwritten signature of Sofija Iveković in blue ink, written over a horizontal line.

Vlastoručni potpis