

Primjena blisko infracrvene spektroskopije u praćenju promjena tijekom skladištenja kakao mješavina na bazi meda i zobi

Furčić, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:159:246783>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-03**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2024.

Ivana Furčić

**PRIMJENA BLISKO INFRACRVENE
SPEKTROSKOPIJE U PRAĆENJU
PROMJENA TIJEKOM SKLADIŠTENJA
KAKAO MJEŠAVINA NA BAZI MEDA I ZOBİ**

Rad je izrađen u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju na Zavodu za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Davora Valingera.

Iskreno se zahvaljujem svom mentoru izv. prof. dr. sc. Davoru Valingeru na pomoći, savjetima, razumijevanju, izdvojenom vremenu te velikoj pristupačnosti tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Posebno hvala i obitelji i prijateljima na podršci i ljubavi.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za procesno inženjerstvo
Laboratorij za mjerenje, regulaciju i automatizaciju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

PRIMJENA BLISKO INFRACRVENE SPEKTROSKOPIJE U PRAĆENJU PROMJENA TIJEKOM SKLADIŠTENJA KAKAO MJEŠAVINA NA BAZI MEDA I ZOBİ

Ivana Furčić, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058214769

Sažetak: Prahovi su materijali koji se sastoje od sitnih čestica, obično manjih od jednog milimetra. Dobivaju se drobljenjem, mljevenjem ili kemijskim procesima. Cilj ovog rada bio je istražiti može li NIR spektroskopija u kombinaciji s analizom glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA) te umjetnim neuronskim mrežama odrediti razlike ne samo među uzorcima različitog sastava koji su pripremljeni pri različitoj temperaturi, već i prema vremenu skladištenja. Za uzorke se koristilo 9 ekstrakata i 9 prahova kakaa s dodatkom meda i zobi u različitim omjerima koji su bili sušeni pri tri različite temperature (50, 60, 70 °C) te skladišteni kroz šest mjeseci. Iako je PCA analiza dala dobre rezultate u smislu razdvajanja uzoraka, umjetne neuronske mreže pokazale su se kao idealne za razlučivanje uzoraka ovisno o temperaturi pripreme i mjesecu skladištenja sa R^2 vrijednostima većima od $R^2 = 0,96$ za praškaste uzorke te $R^2 = 0,93$ za tekuće uzorke.

Ključne riječi: kakao prah, analiza glavnih komponenata, umjetne neuronske mreže

Rad sadrži: 41 stranica, 14 slika, 10 tablica, 41 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Davor Valinger

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Davor Valinger (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Maja Benković (član)
4. izv. prof. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević (zamjenski član)

Datum obrane: 30. rujna 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Process Engineering
Laboratory for Measurement, Control and Automatisation

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

APPLICATION OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY IN MONITORING OF CHANGES DURING
STORAGE OF COCOA MIXTURES BASED ON HONEY AND OATS

Ivana Furčić, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058214769

Abstract: Powders are materials consisting of small particles, usually smaller than one millimeter. They are obtained by crushing, grinding or chemical processes. The goal of this work was to investigate whether NIR spectroscopy, in combination with Principal Component Analysis (PCA) and artificial neural networks, can determine differences not only among samples of different composition prepared at different temperatures, but also according to storage time. Nine cocoa powders and nine extracts with the addition of honey and oats in different proportions were used as the samples, which were dried at three different temperatures (50, 60, 70 °C) and stored for six months. Although PCA analysis gave good results in terms of sample separation, artificial neural networks proved to be ideal for sample discrimination depending on preparation temperature and month of storage with R^2 values greater than 0.96 for powder samples and 0.93 for liquid samples.

Keywords: cocoa powders, principal component analysis, artificial neural networks

Thesis contains: 41 pages, 14 figures, 10 tables, 41 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Davor Valinger, PhD, Associate professor

Reviewers:

1. Ana Jurinjak Tušek, PhD (president)
2. Davor Valinger, PhD (mentor)
3. Maja Benković, PhD (member)
4. Danijela Bursać Kovačević, PhD (substitute)

Thesis defended: September 30th, 2024

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. PRAHOVI.....	2
2.2. KAKAO I KAKAO PRAH	2
2.3. PROIZVODNJA KAKAO PRAHA.....	4
2.4. ZOB	5
2.5. MED	7
2.6. SINERGIJSKO DJELOVANJE KAKAO PRAHA, MEDA I ZOB I	8
2.7. BLISKO INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA	9
2.8. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA I KORELACIJSKE MATRICE	10
2.9. UMJETNE NEURONSKE MREŽE	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	14
3.1. MATERIJALI	14
3.1.1. Pribor i aparatura	14
3.1.2. Kemikalije	15
3.2. METODE	15
3.2.1. Priprema ekstrakta prahova	15
3.2.2. Blisko infracrvena spektroskopija	15
3.2.3. Analiza glavnih komponenata i umjetne neuronske mreže	15
4. REZULTATI I RASPRAVA	17
4.1. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA I KORELACIJSKE MATRICE.....	17
4.2. UMJETNE NEURONSKE MREŽE	33
5. ZAKLJUČCI.....	37
6. LITERATURA	38

1. UVOD

Kakao prah se upotrebljava već stoljećima zahvaljujući svom bogatom sastavu, aromi i okusu. U počecima se koristio kao lijek, a danas je vrlo popularan sastojak različitih slastica i napitaka. Osim što ima dobre senzorske karakteristike, kakao prah obiluje pozitivnim nutritivnim i zdravstvenim učincima zahvaljujući prvenstveno polifenolima, skupini spojeva koji su poznati po jakim antioksidacijskim svojstvima. Štite stanice od oksidativnog stresa te smanjuju upale i poboljšavaju funkcije krvnih žila. U današnje vrijeme funkcionalni spojevi postali su predmet brojnih istraživanja te se vrlo često primjenjuju u razvoju novih funkcionalnih proizvoda. Upravo zbog toga, u ovom se radu provela analiza kakao praha obogaćena medom i zobi, koji također posjeduju bogat nutritivni sastav. Med predstavlja prirodni zaslađivač te je vrlo cijenjen sastojak. Bogat je bioaktivnim spojevima, uključujući fenolne kiseline i flavonoide zbog čega obiluje protuupalnim, antioksidacijskim i antibakterijskim svojstvima. Kao i med, zob također doprinosi općem zdravlju čovjeka. Sadrži različite minerale, vitamine, vlakna i antioksidanse, a važno je posebno naglasiti i bogatstvo beta-glukanom koji ima sposobnost snižavanja kolesterola te poboljšava zdravlje i rad srca. Problem do kojeg može doći u ovakvim proizvodima je promjena kvalitete proizvoda tijekom vremena zbog utjecaja različitih faktora poput vlage, temperature i svjetlosti. Posljedično, dolazi do smanjenja nutritivne vrijednosti i zdravstvenog učinka samog proizvoda.

Blisko infracrvena spektroskopija (engl. *Near Infrared Spectroscopy*, NIR) se u posljednje vrijeme sve više koristi pri praćenju promjene kvalitete proizvoda u različitim industrijama. Njezina brzina i nedestruktivnost te mogućnost multivarijatne analize čine je idealnom tehnikom za kontrolu kvalitete u procesima proizvodnje i skladištenja. U tu svrhu, u ovom istraživanju korištena je NIR spektroskopija u kombinaciji s analizom glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA) i umjetnim neuronskim mrežama na uzorcima kakao prahova s dodatkom meda i zobi pripremljenim pri tri različite temperature (50, 60 i 70°C) koji su skladišteni tijekom 6 mjeseci. Cilj ovoga rada bio je pokazati da se pomoću NIR spektroskopije u kombinaciji sa PCA analizom i umjetnim neuronskim mrežama mogu odrediti razlike ne samo među uzorcima koji su pripremljeni pri različitoj temperaturi već i prema vremenu skladištenja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PRAHOVI

Prahovi su čvrsti materijali u obliku čestica veličine koja se mjeri u nanometrима pa sve do veličina u milimetrима. Pa se tako u količini od 1 g praha veličine čestica od otprilike 20 μm nalazi oko 10^8 čestica. Svojstva rasutog praha okarakterizirana su kombiniranim učinkom svojstava pojedinih čestica. Dakle, bitno je uzeti u obzir osobine skupina čestica te karakteristike njihovih interakcija sa fluidom. U praškasti oblik mogu se pretvoriti prehrambeni proizvodi koji su u krutom ili tekućem stanju, a razlog pretvorbe je lakša upotreba, obrada te očuvanje kvalitete i trajnosti proizvoda. Takvi materijali su sipki, mogu se koristiti u vrlo malim količinama, transportiraju se pneumatskim cijevima te je transport jednostavniji. Imaju veliku površinu po jedinici volumena te mogu biti higroskopni što negativno utječe na stabilnost prahova.

Prahovi se mogu dobiti primjenom različitih procesa kao što su sušenje, mljevenje, drobljenje, trljanje, pulverizacija, taloženje, a dvije glavne metode koje se koriste za pretvorbu tekućih materijala u prahove su kristalizacija i sušenje. Uvjeti procesa i karakteristike sirovine iz koje se prah dobiva utječu na to kolika će, odnosno kakva će biti veličina, raspodjela i oblik čestica prahova, njihova svojstva te gustoća prahova. Svi navedeni parametri pridonose funkcionalnim svojstvima prahova, težini odnosno jednostavnosti rukovanja, gustoći pakiranja, protočnosti, površinskoj aktivnosti, kompresibilnosti te segregaciji.

Kako bi se razvili novi proizvodi, prahovi se mogu miješati s drugim sastojcima, ovisno o veličini sastojaka. Postoje tri mehanizma miješanja; konvektivno miješanje uzrokovano rotacijskim gibanjem miješalice, zatim miješanje smicanjem inducirano interferencijom momenta čestica praha koje se kreću različitim brzinama te mehanizam difuzijskog miješanja uzrokovano nasumičnim kretanjem čestica praha (Bhandari i sur., 2023).

Svoju primjenu prahovi su pronašli u prehrambenoj industriji kao aditivi u širokoj paleti proizvoda radi poboljšanja stabilnosti, okusa ili teksture hrane. Osim u prehrambenoj, koriste se i u farmaceutskoj industriji, kozmetičkoj, industriji boja i lakova.

2.2. KAKAO I KAKAO PRAH

Theobroma cacao L., poznat kao i kakaovac, ima izuzetan gospodarski i ekonomski značaj. Svoju produktivnu dob dostiže nakon 3 do 5 godina razvoja, a životni ciklus traje od 25 do čak 40 godina. Njegovo zrno je osnovna sirovina za razne kakao proizvode, što ga čini izuzetno traženim. Čokolada je jedan od najpopularnijih proizvoda koji se temelje na kakaovcu. Svako pojedinačno zrno kakaa sadrži značajnu količinu masti (oko 40-50 % kakao maslaca) i

polifenola, čineći oko 10 % suhe tvari zrna (Rusconi i Consti, 2010). Prvi koji su konzumirali kakao smatraju se pripadnicima naroda Maja iz Srednje Amerike. Zbog pozitivnih učinaka na zdravlje, Maje su nazvale kakaovac "kakawa", što u prijevodu doslovno znači "hrana bogova". Do polovice 17. Stoljeća u Europi se kakao koristio kao lijek za različite bolesti i za promicanje zdravlja (Araujo i sur., 2013). Danas se najviše proizvodi u Africi (63,2 %), Aziji (17,4 %) te Latinskoj Americi (14,1 %) gdje su Brazil i Ekvador vodeći proizvođači.

Na temelju morfoloških svojstava biljke, posebno sjemenki i plodova, kakaovac se klasificira u tri glavne kategorije: Forastero, Criollo i Trinitario (hibrid Forastera i Criolla). Najrasprostranjenija klasa je Forastero, čije su sjemenke spljoštene i male, a kotiledoni su ljubičaste boje zbog visoke koncentracije antocijana. Ova klasa sadrži veći udio masti u usporedbi sa Criollo klasom, što također utječe na vrijednost same sirovine (Al-Khayri i sur., 2019). Kakao zrna bogata su aromom, često voćnog karaktera, ali s izrazito gorčim okusom. Sjemenke Criolla ne sadrže antocijane i imaju žućkasto-bijele kotiledone, ali sadrže više asparaginske kiseline u odnosu na ostale vrste kakaovca. Ova zrna imaju bogat okus i miris, vrlo su slatka i bez gorčine. Zrna Trinitario imaju oštar, gorak okus sa voćnim i blagim kiselkastim mirisom (Gardea i sur., 2017).

Prema članku 12 Pravilnika o kakau i čokoladnim proizvodima definirano je da je kakao prah proizvod dobiven od očišćenih, oljuštenih i prženih kakaovih zrna, koji sadrže najmanje 20 % kakaovog maslaca, računato na suhu tvar i najviše 9 % vode (NN 73/2005). Obrada zrna kakaovca započinje otvaranjem mahune nakon čega se uklanja sluz. Slijedi fermentacija, sušenje, alkalizacija, prženje, mljevenje te prešanje pri čemu dolazi do ispuštanja masti. Od odmašćene mase dobije se kakao prah (Lim, 2011).

Zrna kakaovca sadrže više od 300 različitih sastojaka, prisutnih kako u sirovom, tako i u prženom obliku. Glavne komponente uključuju minerale poput kalija, magnezija, cinka i željeza, zatim kakao maslac sadrži oleinsku, palmitinsku i stearinsku kiselinu, te metilksantine, poput teobromina i kofeina, te polifenole (Araujo i sur., 2013) dok je ljuska kakaovca bogata vitaminom D i teobrominom (Wickramasuriya i Dunwell, 2017). Količina ukupnih fenola i flavonoida u kakaovcu nadmašuje onu u crnom vinu, crnom te zelenom čaju (Badrie i sur., 2014). S obzirom na visoki udio masti (40-50 %) i prisutnost bioaktivnih spojeva kao što su polifenoli, proizvodi bazirani na kakaovcu predstavljaju značajne izvore energije i antioksidansa. Polifenoli se nalaze u stanicama kotiledona koje mogu varirati u boji od bijele do tamnoljubičaste, ovisno o količini polifenola. Među fenolnim spojevima, posebno se ističu tanini i flavonoidi. Flavonoidi pružaju mnoge zdravstvene prednosti, uključujući antiupalno djelovanje protiv kardiovaskularnih bolesti i prevenciju oksidacije kolesterola, što sprečava taloženje masti u stijenkama krvnih žila (De Souza i sur., 2018). Prema Wollgastu i Anklam (2000), pozitivni zdravstveni učinci polifenola kakaovca uključuju antiupalno, antikancerogeno, antialergijsko,

antimikrobno, vazodilacijsko i imunomodulatorno djelovanje. Nadalje, flavanoli i procijanidini kakaa imaju korisne učinke od kojih se izdvaja utjecaj na smanjenje agregacije trombocita kroz povećanje koncentracije epikatehina i katehina u plazmi (Wickramasuriya i Dunwell, 2017).

2.3. PROIZVODNJA KAKAO PRAHA

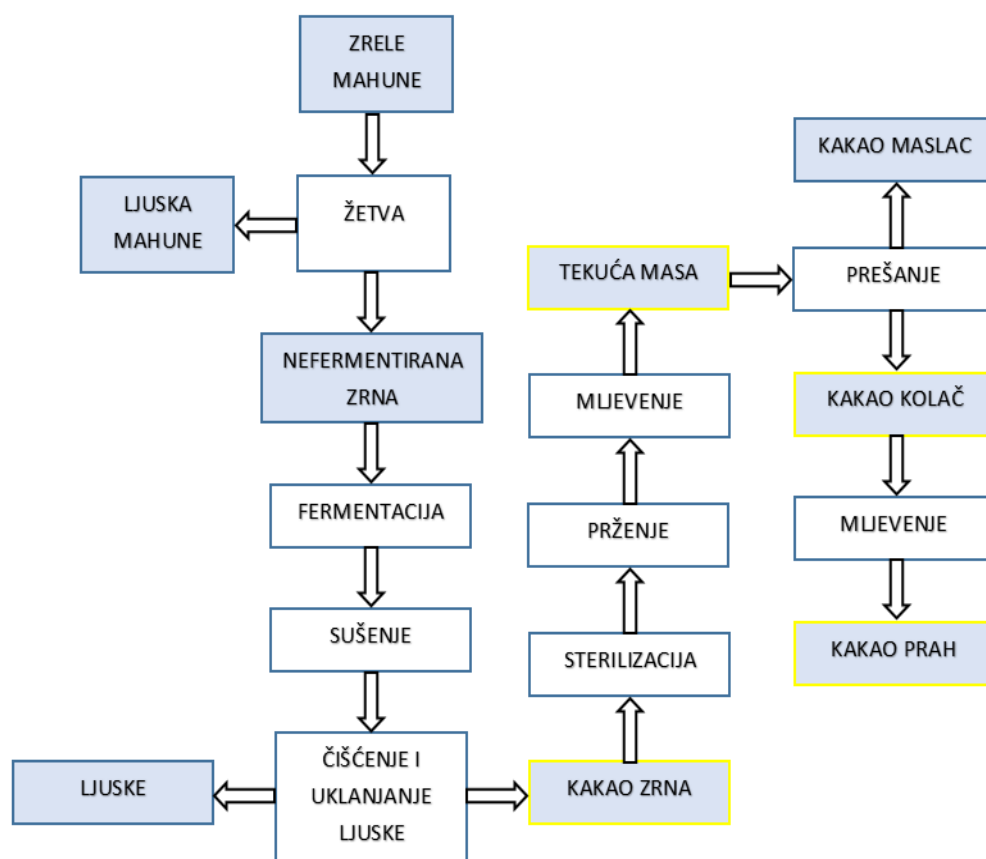
Kod proizvodnje kakao praha ključno je osigurati temeljito mljevenje kakao zrna kako bi se izbjegao osjećaj pijeska u ustima ili neželjeni estetski nedostaci. Početni koraci u procesu proizvodnje uključuju žetvu, fermentaciju i sušenje zrna do sadržaja vlage od približno 6-7 % (Gardea i sur., 2017). Ovi rani koraci igraju ključnu ulogu u definiranju konačne kvalitete proizvoda. Zrna kakaa imaju gorak okus zbog visokog sadržaja fenola. Važno je napomenuti da svježja zrna kakaovca ne sadrže elemente arome ili okusa čokolade te je stoga podvrgavanje zrna obradi (fermentacija, sušenje, pečenje) neophodna. Djelovanjem mikroorganizama (bakterije octene kiseline, kvasci, bakterije mliječne kiseline) pokreće se proces fermentacije te na kraju procesa dolazi do razvoja prekursora okusa kao što su organske kiseline, slobodne aminokiseline i reducirajući šećeri. Nakon procesa fermentacije i reakcija posmeđivanja dolazi do smanjenja polifenola i alkaloida što posljedično smanjuje i gorčinu i neugodnu oporost, a razvija se karakteristična smeđa boja (Wickramasuriya i Dunwell, 2017). Prije daljnje obrade bitno je ukloniti sve nečistoće poput kamenja, metala i drugih kontaminanata.

Uklanjanje ljuske sljedeći je važan korak jer ne doprinosi pozitivnom okusu proizvoda te može rezultirati neugodnim okusom. Ljuska je tvrda i vlaknasta što otežava proces mljevenja i može oštetiti opremu. Ova faza odvajanja treba biti provedena s minimalnim gubitkom sirovine. U praksi se često koriste različite tehnike površinske toplinske obrade poput sušenja s kontinuiranim protokom zagrijanog zraka, sušenja s fluidiziranim slojem, infracrvene sušare ili sustav za vlaženje/predsušenje, kako bi se olakšalo uklanjanje ljuske.

Važna faza u proizvodnji kakao praha koja ključno utječe na okus i kvalitetu jest prženje. Prženjem se razvija karakterističan okus iz prekursora koji su nastali tijekom fermentacije i sušenja zrna. Parametri prženja, poput temperature, količine dodane vode i trajanja procesa, ovise o vrsti korištene opreme. Općenito, temperatura prženja kreće se između 120 i 130 °C, a proces traje od 5 do 35 minuta (Gardea i sur., 2017). Prženjem dolazi do isparavanja nepoželjnih hlapljivih spojeva koji pridonose gorčini i kiselosti. Nakon prženja slijedi faza hlađenja. Važno je napomenuti da se treba izbjeći miješanje sirovih i prženih zrna kakaa kako bi se spriječila kontaminacija mikroorganizmima. Također, ključno je provesti mikrobiološka ispitivanja kako bi se osigurala sigurnost i učinkovitost uklanjanja patogena.

Alkalizacija se može provesti radi poboljšanja mikrobioloških uvjeta, iako može negativno utjecati na okus proizvoda te uzrokovati značajnu degradaciju polifenolnih spojeva. Tretman alkalizacije prvi je predstavio Coenraad Johannes van Houten u 19. stoljeću s ciljem povećanja

topljivosti kakao praha. No nakon što se taj tretman implementirao u industriji pokazalo se da također omogućava i mijenjanje boje i okusa pa tako jako alkalizirani proizvodi imaju tamniju boju, manju trpkocú i gorčinu te veću topljivost. Prirodni kakaovac se miješa s otopinom lužine te se podvrgava kombinacijom različitih vrijednosti tlaka i temperature. Ovisno o pH vrijednosti kakao prah se dijeli u kategoriju jako alkaliziranog kaka (pH>7,6), srednje (pH=7,2), lagano (6<pH<7,2) te tamno prirodni kakao prah (5<pH<6) (Valverde Garcia i sur., 2020). Na slici 1 žutom bojom su označeni proizvodi koji se mogu podvrgnuti alkalizacijom. Slijedi faza mljevenja tijekom koje se generira toplina i masa postaje tekuća. Masa se čuva do nastavka obrade na temperaturi od 40 – 45 °C te se preša kako bi se dobio kolač. Konačni proizvod, kakao prah, dobiva se mljevenjem kakao kolača. Gotov proizvod se treba skladištiti na suhom mjestu kako bi se izbjegle nagle promjene temperature (Kamphuis, 2017). Na slici 1 prikazana je shema proizvodnje kakao praha.



Slika 1. Shema proizvodnje kakao praha (prema Valverde Garcia i sur., 2020).

2.4. ZOB

Zob (*Avena sativa* L.) se izdvaja među ostalim žitaricama zbog obilja hranjivih sastojaka koji su važni za ljudsku prehranu, ishranu stoke, kozmetičke proizvode i zdravstvenu njegu. Uzgaja se već više od 2000 godina diljem svijeta, te je jedna od najstarijih poznatih kultura

ljudskoj civilizaciji (Paudel i sur., 2021). Danas su najveći proizvođači zobi Rusija i Kanada, a slijede ih Australija, Španjolska, SAD, Brazil i Finska. Uzgaja se u vlažnim i hladnim područjima te je osjetljiva na vruće i suho vrijeme. Većina proizvedene zobi koristi se kao hrana za stoku pa se tako na primjer u Finskoj samo 20 % žetve zobi koristi za konzumaciju kod ljudi (Holopainen-Mantila, 2024).

Zob se u početku koristila u medicinske svrhe, no razvojem u području prehrane, sredinom 1980-ih, prepoznata je kao zdrava hrana. Tvari prisutne u zobi pokazale su korist u prevenciji srčanih bolesti (Butt i sur., 2008). Zahvaljujući visokom sadržaju dijetalnih vlakana, fitokemikalija i hranjivih sastojaka, privukla je veliku pažnju. Dijetalna vlakna predstavljaju supstrat za mikrofloru crijeva i imaju ulogu regulacije brzine probave te apsorpcije hranjivih tvari. Konzumacija zobi povezuje se s brojnim zdravstvenim prednostima, uključujući antikancerogeno djelovanje, smanjenje kolesterola i pozitivne učinke na probavne probleme (Rasane i sur., 2013). Navedene koristi moguće su zahvaljujući različitim sastojcima u zobi poput funkcionalnih proteina, vlakana, komponenata lipida i škroba, vitamina i minerala te fitokemikalija. Tako je na primjer beta gluklan identificiran kao najvažnije topivo dijetalno vlakno koje ima hipoglikemijsko, hipolipidemično, antipretilno i antikancerogeno djelovanje dok se od netopivih vlakana izdvajaju celuloza, hemiceluloza i lignin. Topivih vlakana ima više te oni utječu na povećanje osjećaja sitosti i smanjenju apetita nakon konzumacije zobi. Također, zob sadrži raznoliki raspon fenolnih spojeva uključujući esterski povezane alkilne konjugate, esterski povezane konjugate glicerola, ester i esterski vezane gliceride, antranilne kiseline i avenantramide. Avenantramidi (AVA), fenolni su alkaloidi koji imaju nisku molarnu masu i prisutni su samo u zobi te pokazuju antioksidativno, protuupalno i antiproliferativno djelovanje. Dominantni oblici pronađeni u zobi su avenantramid-2c (Avn-C), avenantramid-2p (Avn-A) i avenantramid-2f (Avn-B). Broj dva u nazivu tih spojeva odnosi se na 5-hidroksiantranilnu kiselinu dok slova c, p i f u nazivu predstavljaju vrste kiselina (c-kofeinska, p-kumarinska i f-ferulinska). Najveću antioksidacijsku aktivnost ima avenantramid-2c (Duan i sur., 2023). Svi ostali navedeni spojevi sadrže visoku razinu antioksidativnog djelovanja te su koncentrirani u vanjskom sloju zrna u frakciji mekinja zrna zobi (Rasane i sur., 2013).

Sadržaj glavne aktivne komponente u zobi, beta glukana, varira između 1,8 % i 7 % što ovisi o sorti zobi, mjestu uzgoja, načinu skladištenja i procesiranja. Beta gluklan vrlo je važan u ljudskoj prehrani jer utječe na smanjenje rizika od srčanih bolesti, smanjenje kolesterola u krvi i utječe na regulaciju razine šećera u krvi što posljedično smanjuje rizik od dijabetesa. Sadržaj proteina se kreće od 13 % do 20 %, a sami proteini žitarica mogu se podijeliti ovisno o topljivosti na globuline (topivi u slanoj vodi), albumine (topivi u vodi), prolamine (topivi u razrijeđenoj otopini alkohola) i gluteline (topivi u kiselinama i lužinama). Od navedenih skupina, zob sadrži najviše globulina (oko 80 %) što je u usporedbi sa ostalim žitaricama mnogo više, dok prolamina

sadrži tek oko 15 %. Vrlo je bogata lizinom za razliku od ostalih žitarica te je siromašna glutaminskom kiselinom. Također, zob je bogat izvor energije i nezasićenih masnih kiselina zbog većeg udjela lipida. Od ukupnog sadržaja lipida, udio masti iznosi oko 5 do 9 %. U zobi se nalaze i druge manje komponente poput antioksidativnih spojeva, kao što su fenolni spojevi i steroli, koji također imaju pozitivan utjecaj na zdravlje. Od vitamina je najvažniji vitamin E, čijem djelovanju doprinose tokoferoli i tokotrienoli (Paudel i sur., 2021).

Nutritivne prednosti zobi privukle su pažnju istraživača, potičući povećani interes za njezino korištenje kao sastojka u različitim prehrambenim proizvodima, uključujući i hranu za dojenčad. Zbog odsutnosti glutena, zob nije prikladna za izradu kruha, ali se često upotrebljava u obliku kaše, pahuljica ili žitarica za doručak, pripremljenih od zdrobljene ili valjane zobi (Butt i sur., 2008). Iako je najčešće prisutna u žitaricama za doručak, uključivanje zobi u različite proizvode imalo bi značajne koristi za potrošače zbog njezinih svojstava koja promiču zdravlje (Paudel, 2021).

2.5. MED

Med jest prirodno sladak proizvod što ga medonosne pčele (*Apis mellifera*) proizvode od nektara medonosnih biljaka ili sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja (NN 53/2015). Prema Pravilniku o medu, osnovne vrste meda su prema podrijetlu (cvjetni ili nektarni, medljikovac ili medun), prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja (med u saću, med sa saćem ili dijelovima saća, cijedeni med, vrcani med, prešani med, filtrirani med) te pekarski med, med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje. Boja može varirati od gotovo bezbojne do tamnosmeđe, a to ovisi o vrsti meda.

Med se smatra prirodnim i sirovim sastojkom te se koristi kao zaslađivač, ali i kao terapijski agens zbog svojih povoljnih učinaka na ljudsko zdravlje. Posjeduje ljekovita, kozmetička i farmaceutska svojstva, te je od velike ekološke i ekonomske važnosti (Puranik i sur., 2023). Različite komponente ovog proizvoda pokazuju raznolika biološka djelovanja, uključujući antivirusno, antibakterijsko, antifungalno, antioksidativno, antitumorsko, antidijabetičko, antikancerogeno i protuupalno djelovanje. Antimikrobno djelovanje posljedica je niskog sadržaja kiselosti i vode koja ima inhibira rast određenih bakterija dok je za antioksidativno i antiupalno djelovanje zaslužan sastav koji sadrži flavonoide i fenolne spojeve. Med se primjenjuje kao terapija za opekline, astmu, gastrointestinalne bolesti, inficirane rane i kožne čireve kod ljudi, kao i u veterinarskoj medicini (Al-Kafaween i sur., 2023).

Raznolikost sastava meda proizlazi iz niza faktora kao što su podrijetlo, sezona, način obrade, okolišni uvjeti i geografska lokacija. Ovaj prirodni proizvod sadrži otprilike 180 spojeva,

uključujući proteine, šećere, minerale, slobodne aminokiseline, vitamine, enzime, hidrosimetilfurfural (HMF), pigmente i tvari arome poput kiselina, alkohola, ketona i aldehida, kao i širok spektar polifenolnih spojeva. Gotovo 95 % suhe mase meda zauzimaju ugljikohidrati, od kojih su najzastupljeniji fruktoza (~40 %) i glukoza (~30 %) koji predstavljaju dugotrajan i brz izvor energije. Proteini, uglavnom u obliku enzima poput amilaze, invertaze i glukoza oksidaze, čine oko 0,5 %, dok mineralne tvari, kao što su natrij, kalij, kalcij, sumpor, fosfor, magnezij, željezo, klor i aluminij čine približno 0,2 % suhe mase. Minerali i elementi u tragovima imaju važnu ulogu u održavanju unutarstanične oksidativne ravnoteže, što doprinosi biomedicinskim aktivnostima povezanim s hranom. Od vitamina zastupljeni su vitamini B skupine; tiamin (B1), riboflavin (B2), piridoksin (B6) i niacin (B3), ali je njihova količina u medu vrlo niska. Polifenoli su značajna skupina spojeva koji imaju antioksidativna svojstva i prisutni su u različitim količinama u različitim vrstama meda, u rasponu od 56 do 500 mg/kg ukupnih polifenola. Mogu se izolirati tehnikama poput tekućinske kromatografije-masene spektromatografije (LC – MS) ili visokoučinkovite tekućinske kromatografije (HPLC) (Jibril i sur, 2019). Glavne vrste polifenola uključuju flavonoide (poput luteolina, apigenina, kvercetina, kemferola, galangina i krizina) te fenolne kiseline i njihove derivate odnosno galnu kiselinu, elaginsku kiselinu, cimetnu kiselinu, benzojevu kiselinu, ferulinsku kiselinu, siringinsku kiselinu, kavenu kiselinu, kumarinsku kiselinu, klorogensku kiselinu, zatim hesperetin, miricetin i izoramnetin (Alvarez-Suarez i sur., 2013; Bogdanov, 2016). Flavonoidi imaju citotoksični antitumorni učinak te mogu djelovati kao estrogeno. Antineoplastična, antivirusna, protuupalna i antiulkusna svojstva polifenolnih spojeva ukazuju na njihovu sposobnost u upravljanju kroničnim bolestima kao što su kardiovaskularne bolesti. No, tijekom povijesti znanstvenici su nailazili na brojne izazove tijekom istraživanja upravo zbog raznolike prirode i varijabilnosti tih spojeva u različitim vrstama meda (Jibril i sur, 2019).

2.6. SINERGIJSKO DJELOVANJE KAKAO PRAHA, MEDA I ZOBİ

Kakao prah zajedno sa medom i zobi predstavlja kombinaciju koja može djelovati na poboljšavanje zdravlja. Svaki od pojedinih sastojaka ima svojstva koja pozitivno utječu na zdravlje čovjeka, a zajedno čine smjesu bogatog hranjivog sastava.

Kakao prah bogat je antioksidansima, posebno flavonoidima, koji pomažu u borbi protiv slobodnih radikala, smanjuje upale i poboljšava cirkulaciju odnosno smanjuju oksidativni stres. Do oksidativnog stresa dolazi kad je proizvodnja slobodnih radikala prekomjerna ili ako je prisutnost antioksidansa smanjena. Negativno utječe na zdravlje uzrokujući oštećenja tkiva i stanica, a posljedično može doći do razvoja različitih bolesti poput dijabetesa, srčanih bolesti, Alzheimerove bolesti, ali i ubrzanog starenja. Nadalje, konzumacija hrane koja sadrži kakao

može utjecati na snižavanje krvnog tlaka te utječe na zdravlje srca (Ishaq i Jafri, 2017). Med sadrži esencijalne minerale, slobodne aminokiseline i proteine, vitamine, enzime i fitokemikalije što mu daje značajnu nutritivnu vrijednost. Kao i kakao prah, med ima antioksidativno djelovanje koje uzrokuju fenolni spojevi, peptidi i organske kiseline (Đurović i sur., 2022). Njegova sposobnost da poboljša apsorpciju hranjivih tvari dodatno povećava blagotvorne učinke kakaa. Zob predstavlja izvor bitnih mikronutrijenata kao što su mangan, fosfor i cink, zatim složenih ugljikohidrata, proteina i vlakana. Poboljšava probavu te pomaže u regulaciji šećera u krvi, podržava imunološki sustav te utječe na snižavanje kolesterola zahvaljujući beta-glukanu.

Sinergijsko djelovanje kakao praha, meda i zobi proizlazi iz njihove sposobnosti da zajedno povećavaju energiju, poboljšavaju zdravlje srca te probavu. Kakao prah i med sinergijski povećavaju antioksidativni učinak te smanjuju oksidativni stres, dok zob pruža energiju i podržava zdravu probavu. Prema tome, kombinacija ova tri sastojka može biti zdravi doručak ili međuobrok bogatog okusa i zdravstvenih koristi.

2.7. BLISKO INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA

Bliska infracrvena spektroskopija (engl. *Near Infrared Spectroscopy*, NIR) tehnika je koja koristi vibracije molekula kako bi detektirala apsorpciju elektromagnetskog zračenja u rasponu valnih duljina od 750 do 2500 nm. Ovaj raspon odgovara energiji fotona između $2,56 \cdot 10^{-19}$ do $7,96 \cdot 10^{-20}$ J (Pasquini, 2023).

NIR se ponaša kao val kojeg karakterizira harmonijsko gibanje, a može biti opisano frekvencijom vibracija i valnom duljinom. Vibracije molekula uzrokuju pojavu apsorpcijskih vrpca. Vodikov atom ističe se po svojim najizraženijim vibracijama i najvećim odstupanjima od harmonijskog osciliranja zbog svoje minimalne mase. Upravo zbog toga glavne vrpce u NIR spektru odgovaraju vezama koje sadrže vodik i druge lake atome kao što su ugljik (C-H), dušik (N-H), kisik (O-H) i sumpor (S-H). S druge strane, pojasevi koji proizlaze iz veza kao što su C=O, C-C i C-Cl znatno su manje izraženi, a ponekad ih uopće nema.

Osim kemijskih informacija koje omogućuju identifikaciju sastava, bliski infracrveni spektar također pruža i fizikalne podatke koji su korisni za analizu fizikalnih svojstava uzoraka. Ovi podaci proizlaze iz interakcija među atomima u različitim molekulama, što rezultira promjenama u njihovim vibracijskim energetske stanjima i stvaranjem novih apsorpcijskih vrpca koje dodatno pomiču postojeće. Ove promjene omogućuju razlikovanje kristalnih oblika te određivanje fizikalnih svojstava kao što su viskoznost, veličina čestica u praškastim uzorcima i gustoća. NIR spektroskopija počela se primjenjivati 1970-ih u analizi uzoraka poljoprivredne hrane, a danas je svoju primjenu pronašla za senzorsku i funkcionalnu analizu sastojaka hrane, analizu sastava, međuprodukata tehnološkog procesa te samih finalnih proizvoda. Osim u

prehrambenoj, koristi se i u tekstilnoj, farmaceutskoj te kozmetičkoj industriji kao i u medicini i poljoprivredi (Blanco i Villarroya, 2002).

Blisko infracrvena spektroskopija nudi niz prednosti u usporedbi s alternativnim instrumentalnim tehnikama. Ona je ekonomična, omogućava nedestruktivno mjerenje, zahtijeva minimalnu pripremu uzorka te se lako integrira u procese u postrojenjima. Moguće je mjerenje nekoliko uzoraka u isto vrijeme, uzorci se ne uništavaju te se čuva okoliš jer nisu potrebne nikakve kemikalije (Salguero-Chaparro i sur., 2013; Ozturk i sur., 2023; Dongdong i sur., 2024). Nadalje, primjenjiva je na širok izbor uzoraka te može snimati spektre za tekuće i krute uzorke bez prethodne pripreme omogućujući brzo snimanje spektara i predviđanje kemijskih i fizikalnih parametara iz jednog spektra. Sama analiza traje od 15 do 90 sekundi (Blanco i Villarroya, 2002). Kao nedostatak izdvaja se ovisnost o manje preciznim referentnim metodama.

NIR spektrometar se uglavnom sastoji od izvora zračenja, monokromatora ili nekog drugog uređaja za odabir valne duljine, detektora koji mjeri intenzitet detektirane svjetlosti i pretvaranje svjetlosti koja prolazi ili se reflektira od uzorka u električni signal, držača uzorka i računalnog sustava za prikupljanje i obradu podataka dobivenih iz detektora te generiranje spektralnih podataka.

Nedavne studije prikazale su primjenu NIR-a u određivanju mikronutrijenata (poput proteina, masti i ugljikohidrata), veličine čestica, sadržaja vlage te otkrivanju štetnih tvari u prehrambenim prahovima (Modupalli i sur., 2021; Galvin-King i sur., 2021; Wang i sur., 2022). Iz njih se može zaključiti da je s pomoću NIR-a moguće mjeriti površinska svojstva i svojstva na 1 do 2 mm dubine od same površine. Međutim, zbog sličnosti spektara između namirnica sličnog sastava, veza između dobivenih NIR spektara i svojstava praha hrane vrlo je kompleksna, posebno s obzirom na preklapanje apsorpcijskih vrpca. Posljedično, to otežava razvoj modela za klasificiranje različitih prehrambenih prahova za in-line proizvodnju (Ozturk, 2023).

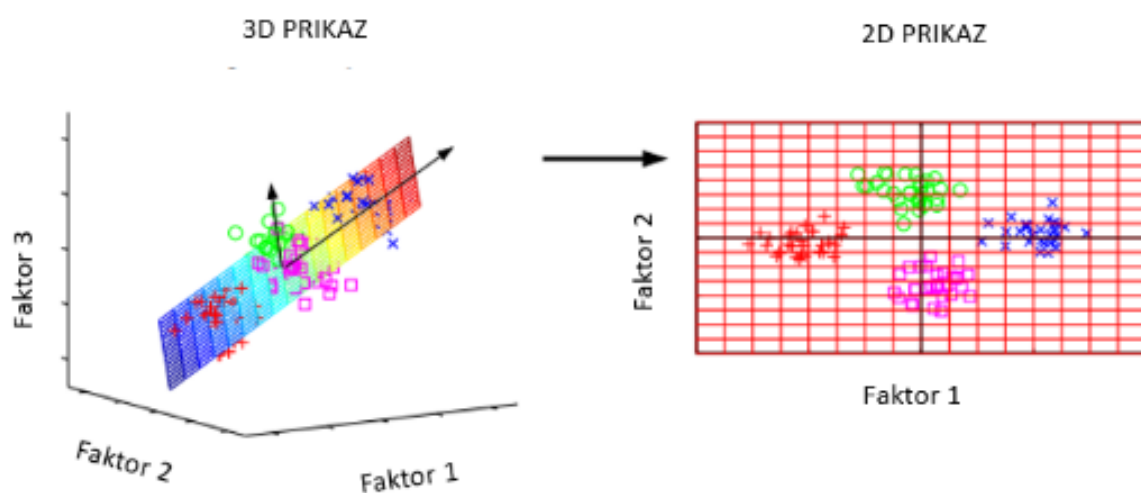
2.8. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA I KORELACIJSKE MATRICE

Analiza glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA), multivarijatna je statistička tehnika koja omogućuje kvalitativnu analizu i grupiranje podataka bez potrebe za fiksnim fizičkim modelom. Osnovni cilj je izvući sve bitne informacije iz tablice podataka te ih izraziti kao novi set varijabli, nazvan "glavne komponente". Na taj su način ključne informacije sadržane u svim varijablama komprimirane u manji broj varijabli. Dobiveni podaci nakon PCA analize koriste se umjesto originalnih podataka kao nove varijable u daljnjim izračunima (Blanco i Villarroya, 2002). Dakle, ova metoda je utemeljena na matematičkoj osnovi te omogućuje

aproksimaciju izvornih podataka koristeći samo nekoliko glavnih komponenti (Greenacre, 2022). Koristi se prije kvantifikacije ili prije detaljne analize kemijskog ili fizikalnog procesa, olakšava identificirati značajne uzorke i njihove karakteristike te se primjenjuje u istraživanju korelacija i varijabilnosti u skupu NIR spektara.

Prva glavna komponenta treba imati maksimalnu varijancu, a svaka sljedeća komponenta izračunava se tako da je ortogonalna prethodnoj i da maksimizira preostalu varijancu. Vrijednosti dobivene kao nove varijable nazivaju se faktorske koordinate i mogu se geometrijski interpretirati kao projekcije opažanja na glavne komponente. Ova tehnika omogućava vizualizaciju odnosa između varijabli: slične varijable grupiraju se zajedno, dok su različiti uzorci udaljeniji jedni od drugih (Abdi i Williams, 2010). To se prikazuje u obliku grafa na način da se uzorci pozicioniraju u kvadrante ili u 3D prostoru, a primjer je vidljiv na slici 2.

Kako bi se dobio bolji uvid u povezanost varijabli, formiraju se korelacijske matrice. Svaka ćelija u matrici predstavlja koeficijent korelacije između dvije ispitivane varijable. Vrijednosti su obično između -1 i 1 gdje broj 1 označava pozitivnu korelaciju odnosno da kako jedna varijabla raste, također raste i druga. Vrijednost 0 označava negativnu korelaciju što znači da kad jedna varijabla raste, druga opada, dok vrijednost -1 znači da nema linearne korelacije između dvije varijable. Struktura korelacijske matrice je u obliku kvadrata u kojoj su stupci i redovi označeni varijablama. Na dijagonali matrice je vrijednost uvijek 1 gdje varijabla korelira sama sa sobom.



Slika 2. 3D (lijevo) i 2D (desno) primjer prikaza podataka dobivenih PCA analizom (*prema Scholz, 2006*)

2.9. UMJETNE NEURONSKE MREŽE

Umjetne neuronske mreže (engl. *Artificial Neural Networks*, ANN), dio područja umjetne inteligencije, predstavljaju jednu od metoda koje se bave stvaranjem računalnih sustava s karakteristikama inteligencije sličnim ljudskom ponašanju (Ujević Andrijić, 2019). Za razliku od tradicionalnih pristupa programiranju, umjetne neuronske mreže uče iz iskustva putem odgovarajućih primjera, poput ljudi. Dakle, umjesto da su unaprijed programirane, one gradiraju svoje znanje otkrivajući obrasce i odnose u podacima (Agatonovic-Kustrin i Beresford, 2000).

Neuronska mreža predstavlja skup međusobno povezanih jednostavnih procesnih elemenata, poznatih kao jedinice ili čvorovi, koji funkcioniraju paralelno i distribuirano, slično biološkom neuronu. Čvorovi se dijele u tri sloja, "ulazni", "skriveni" i "izlazni" sloj (slika 3). Inspirirana građom i funkcioniranjem ljudskog mozga, istraživanja su se usmjerila na razvoj umjetnih neuronskih mreža. U tablici 1 uspoređuju se karakteristike umjetnih neuronskih mreža s biološkim modelom (Ujević Andrijić, 2019).

Tablica 1. Biološki i umjetni neuron (Ujević Andrijić, 2019)

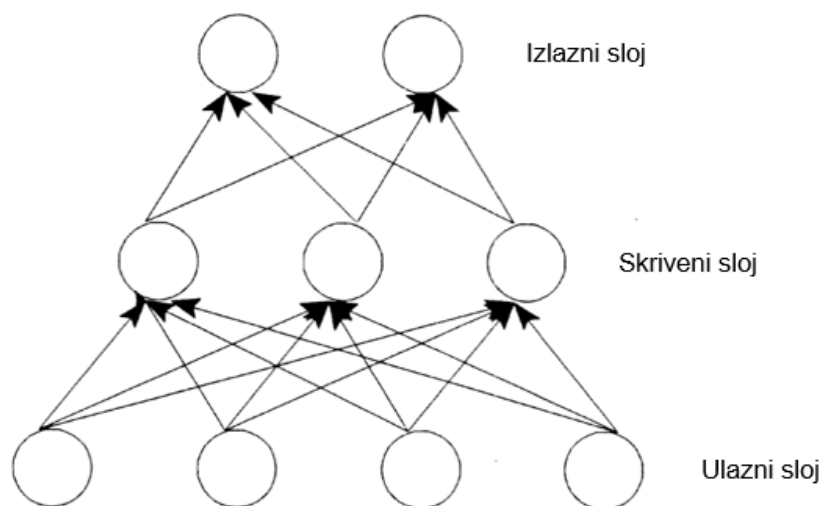
BIOLOŠKI NEURON	UMJETNI NEURON
Prima ulazni signal putem dendrita (sinaptičke veze)	Prima ulaze koji su određeni težinskim koeficijentima
Obrada signala u somi	Obrada ulaza, unutarnji prag – bias
Pretvara određeni ulaz u izlaz putem aksona	Pretvara ulaze u izlaz (prijenosna funkcija)
Šalje informacije putem sinapsi do svih neurona s kojima je neuron povezan	Šalje informaciju prema izlazu i sljedećim neuronima

U širem smislu, umjetna neuronska mreža smatra se umjetnom replikom ljudskog mozga te nastoji simulirati proces učenja i obrade podataka. Omogućava rješavanje problema klasifikacije i predviđanja u situacijama gdje postoji nelinearna veza između ulaznih i izlaznih podataka. Njezine glavne karakteristike uključuju sposobnost rada s nejasnim ili nepotpunim podacima, otpornost na greške, dobru procjenu nelinearnosti te fleksibilnost u radu s velikim brojem varijabli i parametara. Prilagodljive su okolini i sposobne za učenje te se često koriste za modeliranje složenih procesa, raspoznavanje uzoraka, obradu nepreciznih podataka i stvaranje predviđanja (Agatonovic-Kustrin i Beresford, 2000).

Postoji nekoliko načina kako se neuronske mreže mogu razlikovati, uključujući organizaciju

neurona u mreži, modele umjetnih neurona od kojih su građene i algoritme učenja koje primjenjuju. Strukturno, neuronske mreže mogu biti statičke unaprijedne ili dinamičke, ovisno o modelu neurona i načinu prijenosa signala kroz mrežu. Osim toga, mreže se mogu podijeliti na jednoslojne i višeslojne, pri čemu se višeslojne statičke mreže često koriste za identifikaciju i vođenje složenih nelinearnih procesa. Među dinamičnim neuronskim mrežama, višeslojne mreže s elementima zadržske najčešće se primjenjuju (Bolf i Jerbić, 2006). Također, izdvajaju se i neizrazite neuronske mreže kao posebne strukture (Ujević Andrijić, 2019).

Postupak identifikacije procesa s pomoću neuronskih mreža na temelju eksperimentalnih ulazno-izlaznih podataka obuhvaća nekoliko koraka. Prvo, provodi se planiranje i izvođenje eksperimenata ako podaci za modeliranje još nisu dostupni. Nakon toga slijedi prikupljanje i obrada podataka te odabir strukture modela neuronske mreže gdje je potrebno definirati samo topologiju mreže. Sljedeći korak je učenje neuronske mreže i evaluacija modela. Eksperimentalni podaci podijele se u tri skupa: skup za učenje, skup za provjeru i skup za testiranje. Podaci iz skupa za učenje stavljaju se u mrežu, a težinski koeficijenti se kontinuirano računaju dok se pogreška mreže minimizira. Nakon svake iteracije, model se evaluira na skupu za provjeru. Postupak se ponavlja dok se ne ispuni određeni kriterij zaustavljanja, kao što je minimalna pogreška ili maksimalni broj iteracija. Za konačnu provjeru modela koristi se treći skup podataka, skup za testiranje. Ako se performanse modela na ovom skupu ne pokažu zadovoljavajućima, struktura modela se može prilagoditi promjenom broja skrivenih neurona, broja prethodnih vrijednosti ulaza i/ili izlaza, ili aktivacijskih funkcija (Ujević Andrijić, 2019).



Slika 3. Troslojna mreža (prema Basheer i Hajmeer, 2000)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Uzorci koji se koriste u ovom radu su prahovi te ekstrakti mješavina kakao praha, meda i zobi pri različitim omjerima, prikazanim u tablici 2. Uzorci su sušeni pri 50, 60 i 70 °C te skladišteni 6 mjeseci. Nakon svakog mjeseca napravljeni su ekstrakti prahova. Za sve uzorke (prahovi i ekstrakti) snimljeni su NIR spektri koji su kasnije korišteni za kemometriju.

Tablica 2. Omjeri komponenti smjese pojedinih uzoraka

	Med / g	Zob / g	Kakao / g
1	50	50	6,25
2	60	40	7,5
3	40	60	5
4	40	60	7,5
5	60	40	6,25
6	50	50	5
7	60	40	5
8	40	60	6,25
9	50	50	7,5

3.1.1. Pribor i aparatura

Aparatura:

- Analitička vaga (Sartorius TE214S, Göttingen, Njemačka)
- Magnetna miješalica (SB 162-3, Stuart, Staffordshire, Velika Britanija)
- Vorteks (Biosan V-1 plus, Riga, Latvija)
- NIR spektrometar (NIR-128-1.7-USB/6.25/50 µm Control Development inc., Philadelphia, SAD)

Pribor:

- Stalak za epruvete
- Staklene epruvete
- Laboratorijske čaše
- Falcon kivete

- Štoperica
- Staklena pipeta volumena 10 mL

3.1.2. Kemikalije

- Destilirana voda
- Etanol (Kefo d.o.o., Slovenija)

3.2. METODE

3.2.1. Priprema ekstrakta prahova

Prije pripreme ekstrakta potrebno je pripremiti 70 %-tnu otopinu etanola kao ekstrakcijsko otapalo. Izvaži se 3 g usitnjenog uzorka i doda u 90 mL ekstrakcijskog otapala koje je prethodno zagrijano na 70 °C u vodenoj/uljnoj kupelji. Ekstrakcija se provodi 30 minuta pri brzini miješanja od 500 okretaja u minuti, u pokrivenim staklenim čašama kako bi se spriječilo isparavanje otapala. Dobiveni ekstrakt filtrira se pomoću seta za vakuum filtraciju i spremi u Falcon epruvete od 50 mL. Uzorci se čuvaju u zamrzivaču do analize.

3.2.2. Blisko infracrvena spektroskopija

Blisko infracrvena spektroskopija (engl. *Near-Infrared Spectroscopy*, NIRs) analitička je tehnika koja se koristi za identifikaciju i kvantifikaciju kemijskih sastojaka u uzorku analiziranjem apsorpcije elektromagnetske energije u spektralnom opsegu valnih duljina između 800 i 2500 nanometara. Temelji se na apsorpciji svjetlosti uzrokovanoj vibracijama kemijskih veza unutar molekula, osobito O – H, C – H i N – H veza. NIR spektri dobiveni su pomoću NIR spektrometra NIR-128-1.7-USB/6.25/50 µm Control Development inc., Philadelphia, SAD. U sustav za snimanje NIR spektra ubraja se računalo koje ima instaliran Control Development softver Spec32, spektrometar NIR-128-1.7-USB/6.25/50 µm, optički kablovi, monokromatski izvor svjetlosti i sonda koja se uroni u uzorak. Snimanje je provedeno na način da se sonda uroni u prethodno homogeniziran uzorak ekstrakata odnosno prahova. Za svaki uzorak provedeno je tri paralelna mjerenja te su se sve paralele koristile u daljnjem modeliranju. Dobiveni spektralni podaci analiziraju se primjenom PCA analize te umjetnih neuronskih mreža korištenjem softverskog alata *Statistica 14.0* (TIBCO® Statistica, Palo Alto, CA, SAD).

3.2.3. Analiza glavnih komponenta i umjetne neuronske mreže

Kako bi se obradili podaci dobiveni iz NIR spektara koristila se metoda analize glavnih komponenta (engl. *Principal Component Analysis*, PCA), a podaci dobiveni tom metodom

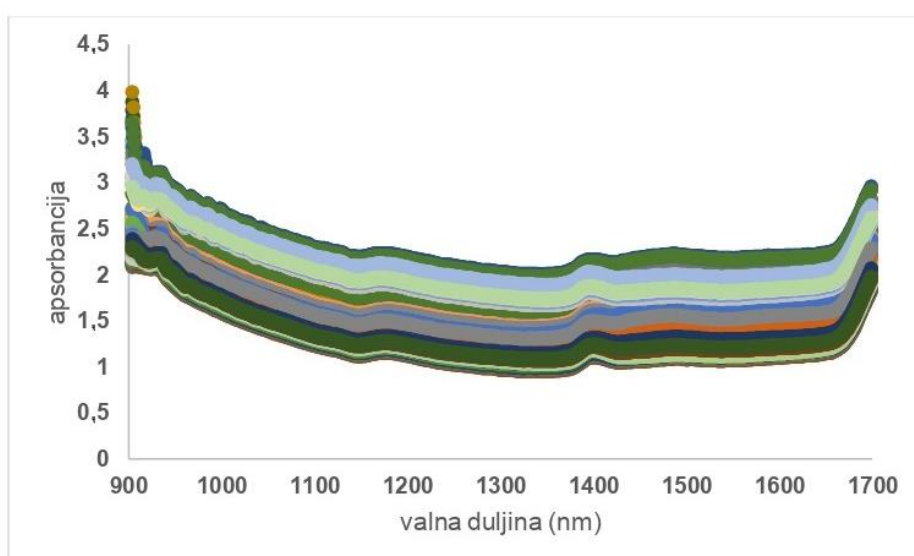
upotrebljeni su u stvaranju umjetnih neuronskih mreža pomoću programa Statistica 14.0. Matrica za krute i tekuće uzorke za PCA analizu bila je 796 x 567. 796 predstavlja valne duljine u rasponu od 904 do 1699 nm, a 567 jednu od značajki; vrijeme/temperatura/uzorak/broj mjerenja ($7 \times 3 \times 9 \times 3 = 567$). Analiza glavnih komponenti kondenzirala je podatke dobivene iz NIR spektara te ih pretvorila u novi skup podataka koji se nazivaju glavni faktori ili glavne komponente. Ovi faktori se koriste za izradu modela umjetnih neuronskih mreža. Rezultati PCA analize izražavaju se kroz omjere dobivenih faktora od kojih prvi faktor uvijek tumači najveći dio varijance, dok ostali faktori obuhvaćaju sve manji udio. Kako bi se dobio što bolji uvid o povezanosti varijabli, u ovom slučaju faktora koji su dobiveni analizom glavnih komponentata te udjela meda, kakaa, zobi, vlage, uzorka, vlage, mjeseca i temperature uzoraka napravljene su korelacijske matrice koje u tabličnom prikazu pokazuju stupanj povezanosti između različitih varijabli. Dimenzija matrice podataka za neuronske mreže za uzorke prahova bila je 567 (uzorci) x 17 (10 od PCA + mjesec, temperatura, uzorak, vlaga, udio meda, zobi i kakaa), a za tekuće uzorke 567 (uzorci) x 16 (10 od PCA + mjesec, temperatura, uzorak, udio meda, zobi i kakaa). Tijekom formiranja umjetnih neuronskih mreža isprobavane su različite kombinacije raspodjele podataka (učenje:testiranje:validacija); 60:20:20, 70:15:15, 70:20:10, 50:30:20 te se za uzorke prahova kao najbolji omjer pokazao 70:20:10, a za uzorke ekstrakata omjer 70:15:15. U obradi podataka u ovom radu kao ulazne varijable za neuronske mreže korišteno je prvih deset faktora koji izražava 99,99 % varijabilnosti te su pokazali pozitivnu ili negativnu korelaciju u korelacijskim matricama sa izlaznim podacima koji su bili mjesec, temperatura, uzorak, vlaga, udio meda, zobi i kakaa.

4. REZULTATI I RASPRAVA

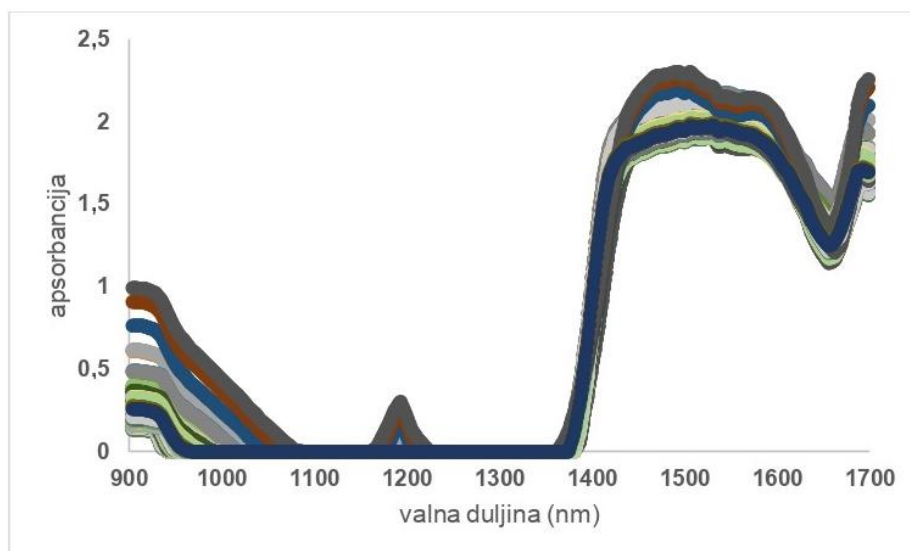
Cilj ovog rada bio je istražiti može li blisko infracrvena spektroskopija u kombinaciji sa analizom glavnih komponentata (engl. *Principal component analysis*, PCA) i umjetnim neuronskim mrežama (engl. *Artificial neural networks*, ANN) odrediti razlike ne samo među uzorcima različitog sastava koji su pripremljeni pri različitoj temperaturi već i prema vremenu skladištenja. Obradivano je devet uzoraka ekstrakta kakao praha s dodatkom meda i zobi te devet uzoraka praha kakaa s dodatkom meda i zobi. Svi uzorci sušeni su pri tri različite temperature (50, 60 i 70 °C) te skladišteni tijekom 6 mjeseci. Prije samog skladištenja te nakon svakog mjeseca skladištenja provedeno je mjerenje s pomoću NIR uređaja, a dobiveni podaci obrađeni su metodom analize glavnih komponentata kako bi se reducirao opseg podataka, te primjenom umjetnih neuronskih mreža.

4.1. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA I KORELACIJSKE MATRICE

Podaci dobiveni NIR spektroskopijom statistički su obrađeni metodom analize glavnih komponentata, faktorskom analizom te primjenom umjetnih neuronskih mreža. Na slici 4 prikazani su sirovi NIR spektri za sve praškaste uzorke. Vidljiva su značajna preklapanja te sličnosti u intenzitetu i obliku. U području između 900 i 930 nm nalazi se najviše preklapanja. Dobiveni spektri za sve tekuće uzorke prikazani su na slici 5. U području valne duljine između 1080 – 1160 te između 1220 – 1380 nm spektri se u potpunosti preklapaju što pokazuje da se u tom području spektri ne razlikuju. Najveće razlike u spektrima nalaze se u području od 900 – 1080 te od 1400 – 1700 nm.



Slika 4. Prikaz sirovih NIR spektara svih praškastih uzoraka



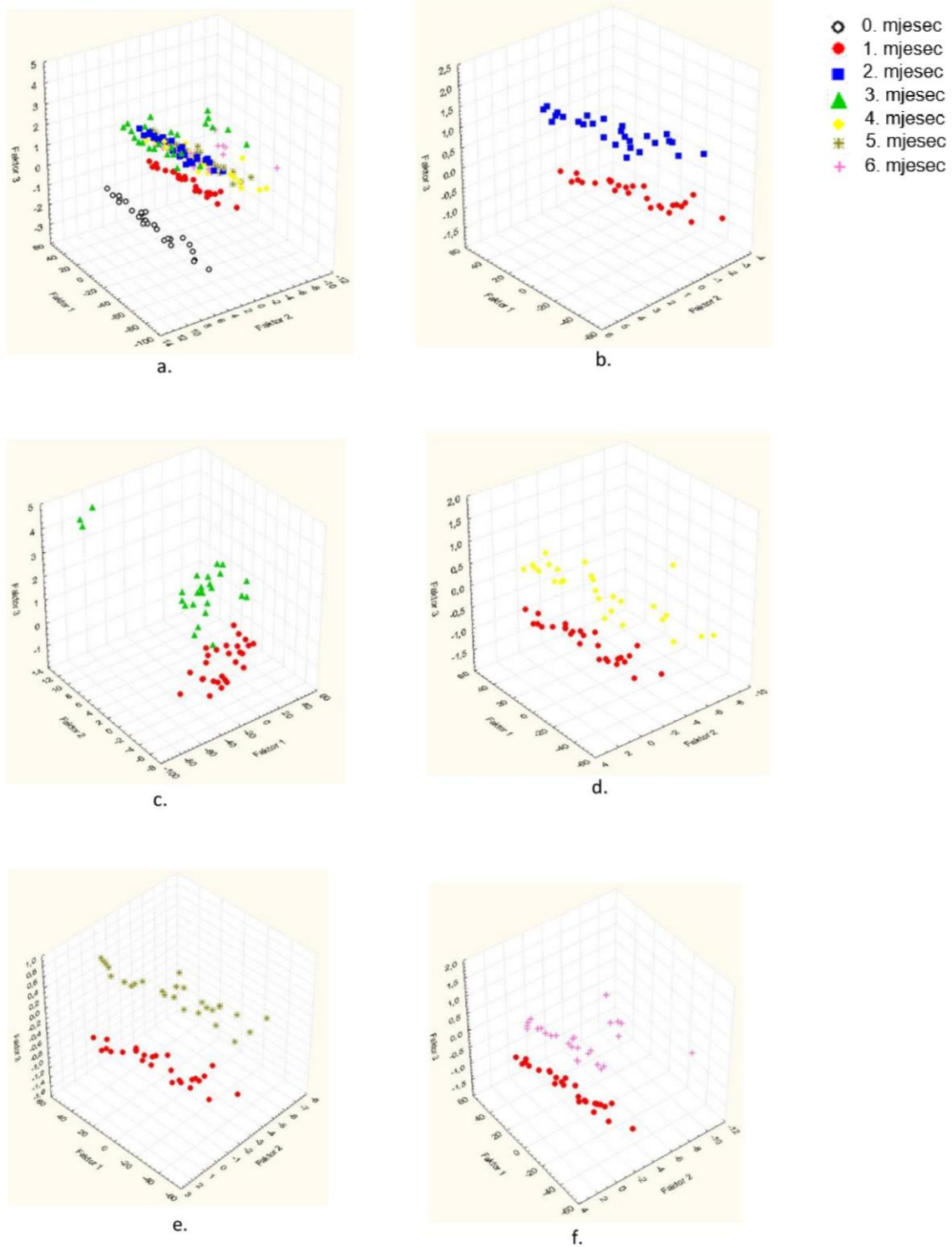
Slika 5. Prikaz sirovih NIR spektara svih tekućih uzoraka

PCA analiza je provedena kako bi se dobiveni podaci reducirali te kako bi se odnos između uzoraka jednostavnije razumio. Millatina i sur. (2024) proveli su istraživanje o detekciji i kvantifikaciji patvorenja kakao praha te su primjenom NIR spektroskopije uspješno proveli razdvajanje patvorenih uzoraka. Nadalje, Trilčová i sur. (2004) su u svom radu dokazali da se NIR spektroskopija uz pomoć statističke evaluacije može koristiti kao pouzdana i brza metoda za provjeru autentičnosti kakao prahova.

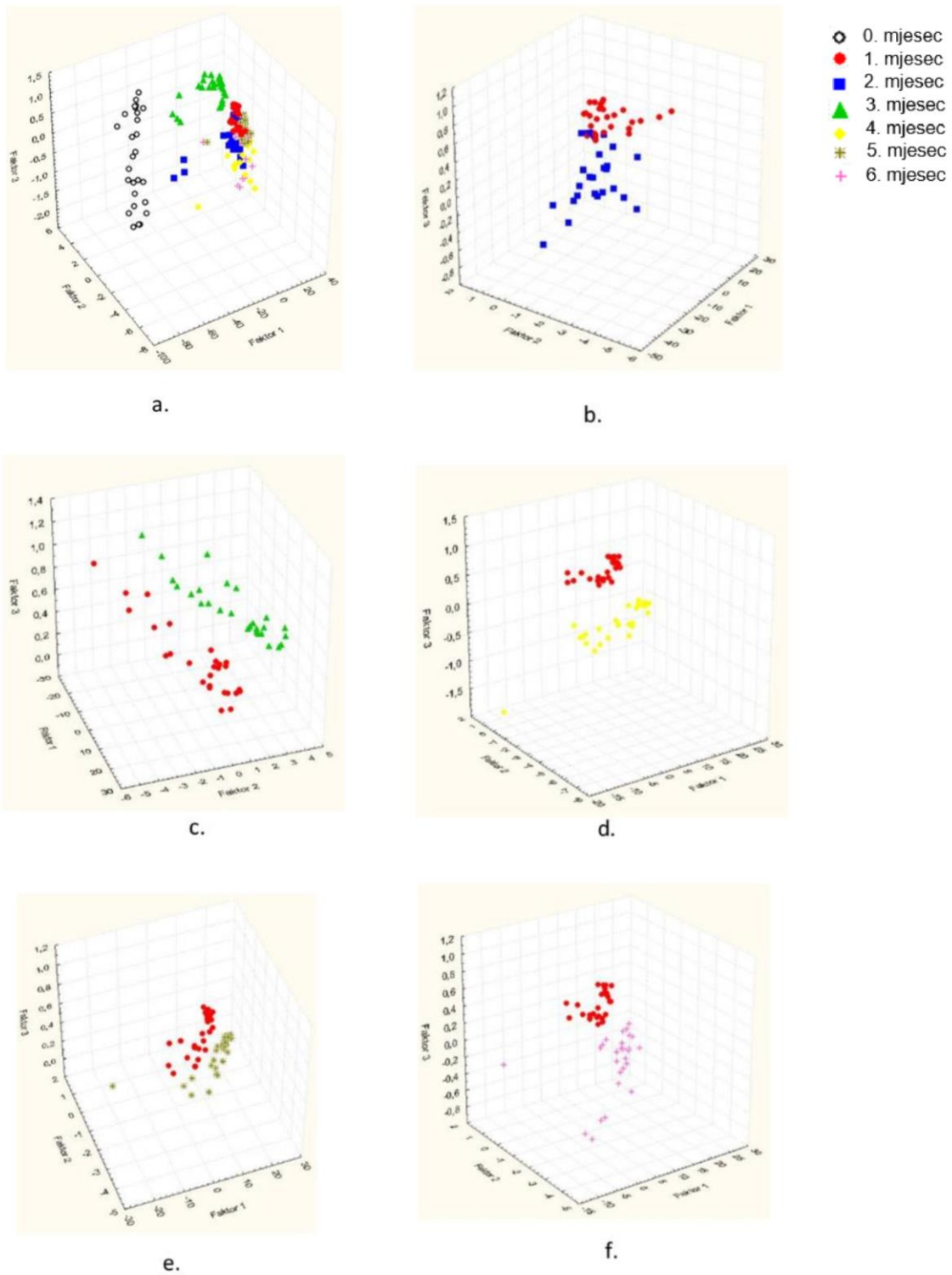
Na slikama 6 – 8 nalazi se 3D prikaz PCA analize prva tri faktora na uzorcima praha smjese kakao praha, meda i zobi sušenih na 50 °C (slika 6), 60 °C (slika 7) odnosno 70 °C (slika 8), dok se na slikama 9 – 11 nalazi 3D prikaz PCA analize prva tri faktora na uzorcima ekstrakata sušenih na 50 °C (slika 9), 60 °C (slika 10) te 70 °C (slika 11). Na svim slikama uzorci na početku analize prikazani su crnim kružićima, nakon jednog mjeseca skladištenja - crvenom bojom, nakon 2 mjeseca skladištenja - plavom, nakon 3 mjeseca skladištenja - zelenom, nakon 4 mjeseca skladištenja - žutom, nakon 5 mjeseci skladištenja - maslinasto zelenom te nakon 6 mjeseci skladištenja - rozom bojom.

Kao što je vidljivo na slikama 6a, 7a i 8a koje pokazuju odnos svih uzoraka prahova na pojedinim temperaturama (50, 60 ili 70 °C) kroz svih šest mjeseci iako su pojedini mjeseci jasno odvojeni od drugih, npr. na slici 6a uzorci na početku analize i nakon jednog mjeseca jasno su odvojeni od drugih uzoraka, kod pojedinih mjeseci dolazi do djelomičnih preklapanja. Ista stvar vidljiva je na slici 7a gdje su uzorci na početku analize te nakon 3 mjeseca skladištenja jasno odvojeni od drugih uzoraka kod kojih dolazi također do određenih preklapanja. Najviše preklapanja vidljivo je na slici 8a gdje se jasno može izdvojiti samo početak analize od ostalih mjeseci. Kako se početak analize u svim slučajevima jasno izdvaja od ostalih mjeseci zanimalo nas je mogu li se uzorci nakon mjesec dana razdvojiti od ostalih uzoraka tj. može li se pokazati

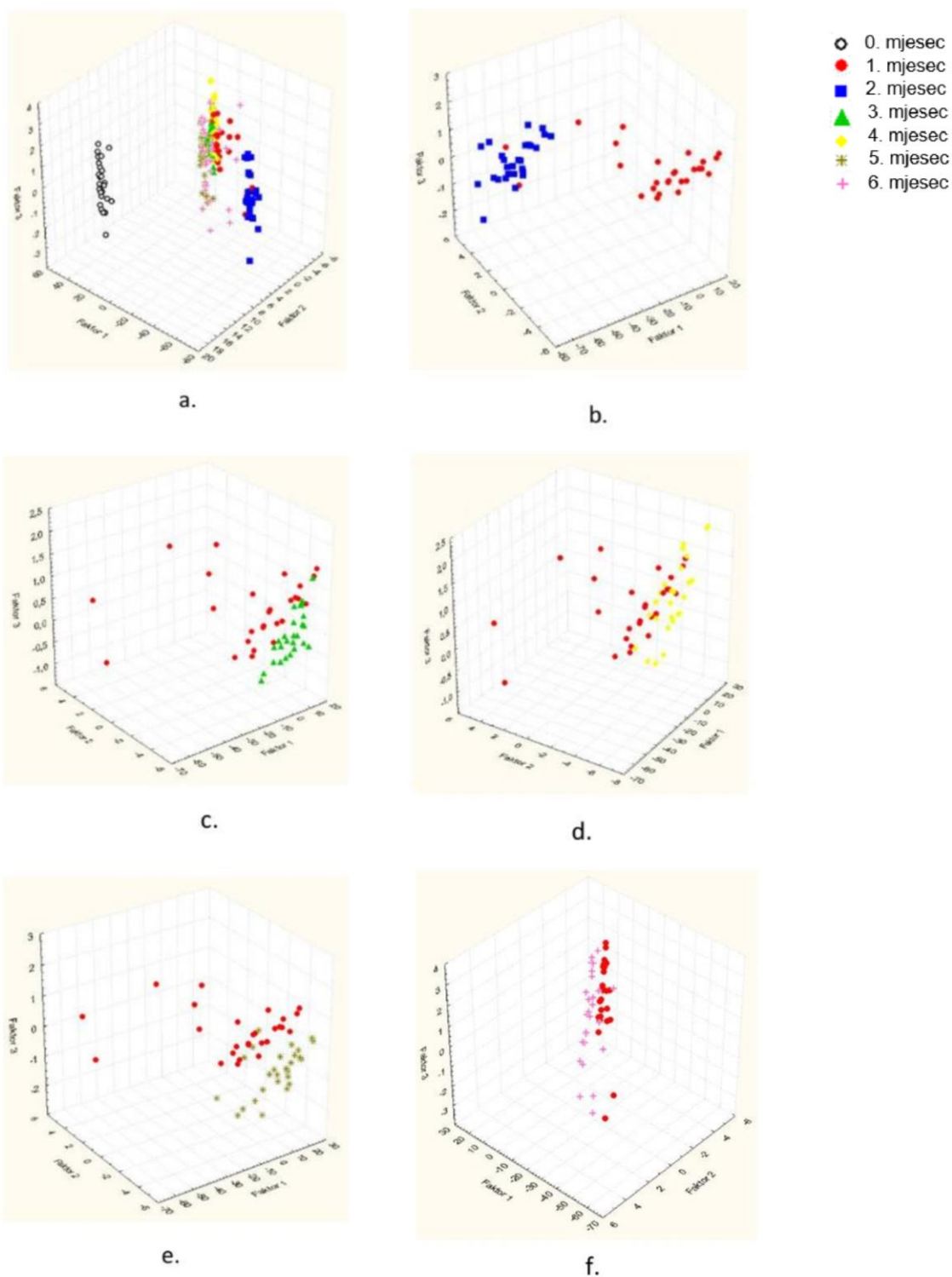
da se pomoću PCA analize mogu razlikovati i uzorci koji su nakon jednog mjeseca te u pojedinim mjesecima. U tu svrhu napravljena je usporedba za svaku temperaturu (50, 60 i 70°C) gdje su uspoređeni uzorci nakon jednog mjeseca i nakon dva mjeseca (slike 6b, 7b, 8b), tri mjeseca (slike 6c, 7c, 8c), četiri mjeseca (slike 6d, 7d, 8d), pet mjeseci (slike 6e, 7e, 8e) i šest mjeseci (slike 6f, 7f, 8f). U slučaju temperatura 50 i 60°C jasno je vidljivo da se u svim slučajevima jasno može razlikovati prvi od ostalih mjeseci, međutim pri 70°C iako se može reći da postoji razdvajanje među uzorcima ipak ima pojedinih uzoraka koji se preklapaju.



Slika 6. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora na uzorcima praha, sušenim na 50 °C, na početku te nakon 1, 2, 3, 4, 5 i 6 mjeseci (a), usporedba 1. i 2. mjeseca (b), usporedba 1. i 3. mjeseca (c), usporedba 1. i 4. mjeseca (d), usporedba 1. i 5. mjeseca (e), usporedba 1. i 6. mjeseca (f)



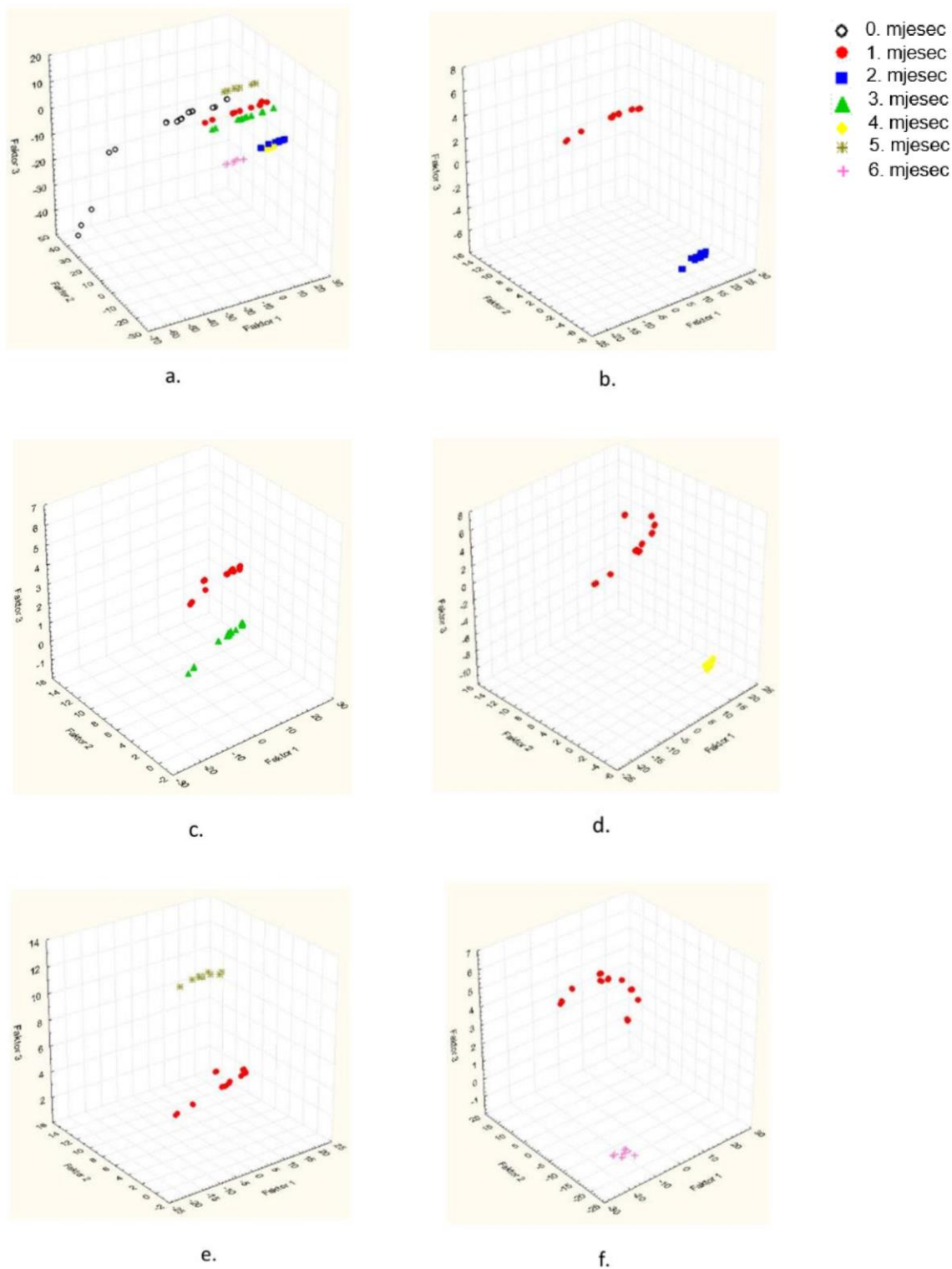
Slika 7. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora na uzorcima praha, sušenim na 60 °C, na početku te nakon 1, 2, 3, 4, 5 i 6 mjeseci (a), usporedba 1. i 2. mjeseca (b), usporedba 1. i 3. mjeseca (c), usporedba 1. i 4. mjeseca (d), usporedba 1. i 5. mjeseca (e), usporedba 1. i 6. mjeseca (f)



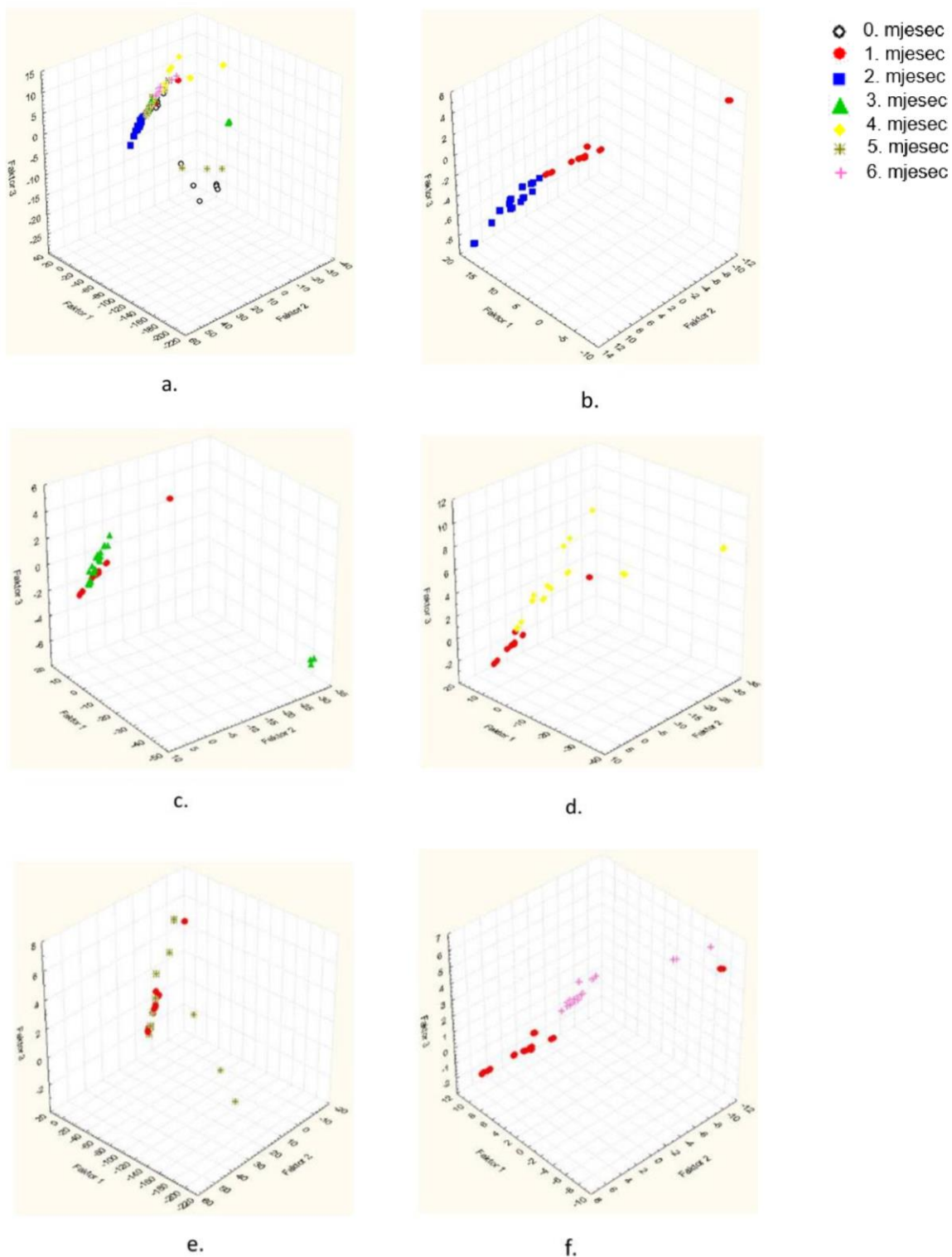
Slika 8. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora na uzorcima praha, sušenim na 70 °C, na početku te nakon 1, 2, 3, 4, 5 i 6 mjeseci (a), usporedba 1. i 2. mjeseca (b), usporedba 1. i 3. mjeseca (c), usporedba 1. i 4. mjeseca (d), usporedba 1. i 5. mjeseca (e), usporedba 1. i 6. mjeseca (f)

Kada se radi o ekstraktima uzoraka vrlo je zanimljiva situacija pri 50°C gdje je za sve uzorke vidljivo jasno razdvajanje (slika 9a). Također, kako je napravljeno za praškaste uzorke i za tekuće uzorke uspoređeni su uzorci nakon mjesec dana i ostalih mjeseci. Za 50°C, kao što je bilo za očekivati, kako je za sve uzorke bilo uspješno razdvajanje tako je kod usporedbe nakon mjesec dana i dva mjeseca (slika 9b), tri mjeseca (slika 9c), četiri mjeseca (slika 9d), pet mjeseci (slika 9e) i šest mjeseci (slika 9f) jasno vidljivo razdvajanje uzoraka.

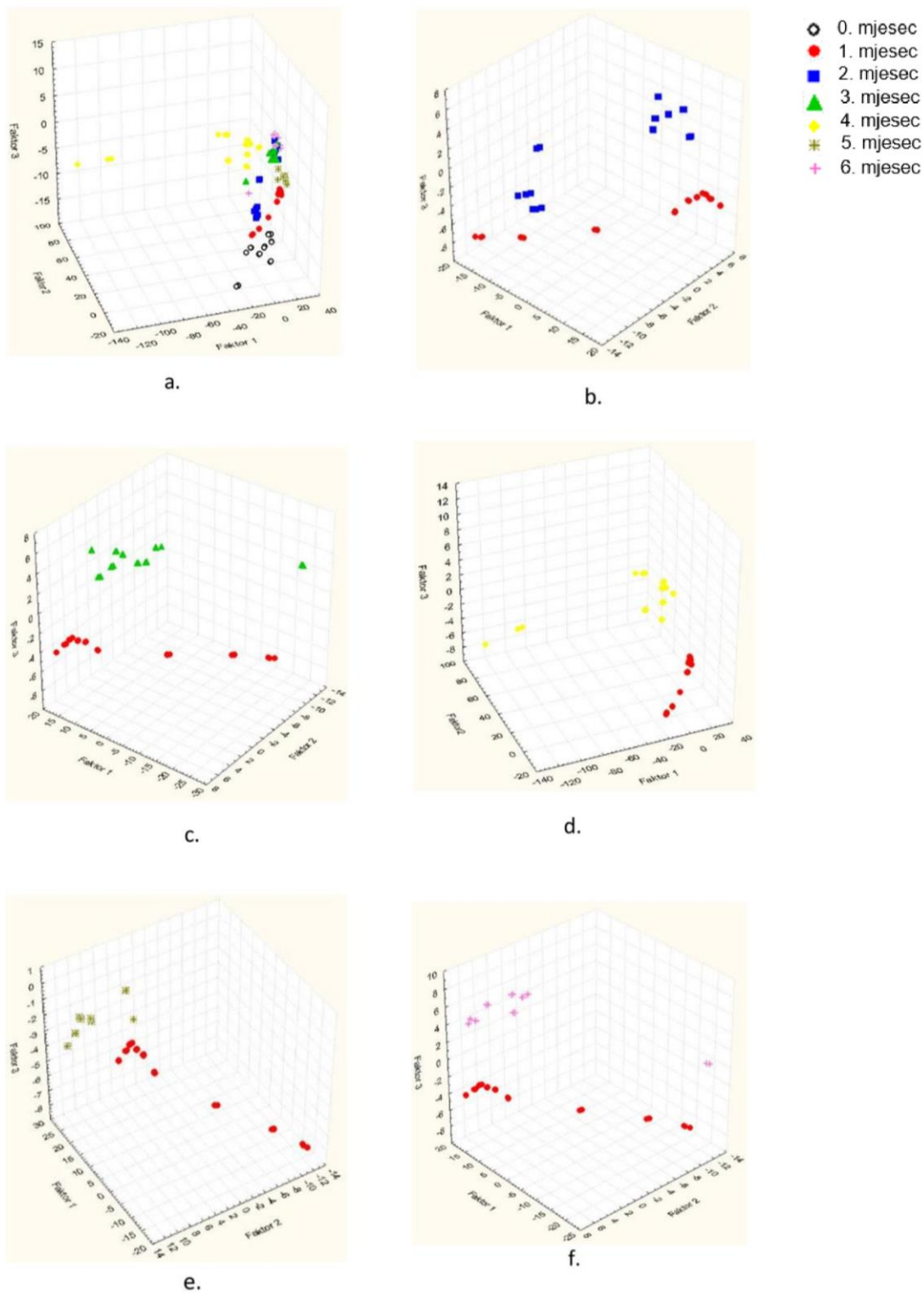
Međutim pri temperaturama 60 i 70°C dolazi do preklapanja kada se radi o svim uzorcima (slike 10a, 11a). Za razliku od praškastih uzoraka u ovom slučaju kada se radi o usporedbi prvog mjeseca i ostalih mjeseci puno jasnija razdvajanja vidljiva su za uzorke pri 70°C (slike 11b, c, d, e, f). Iako pri 60°C postoje razlike između prvog i drugog mjeseca (slika 10b) te šestog mjeseca (slika 10f) za ostale mjesecce postoje određena preklapanja te kao što je vidljivo na slici 10d postoje određeni podaci koji odstupaju tj. „outlieri“. To je također vidljivo i na slikama 10c i 10e.



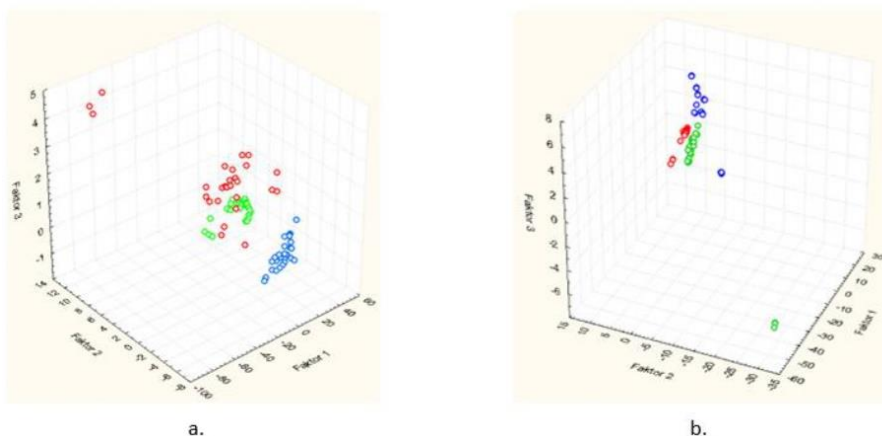
Slika 9. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora na uzorcima ekstrakata, za temperaturu od 50 °C, na početku te nakon 1, 2, 3, 4, 5 i 6 mjeseci (a), usporedba 1. i 2. mjeseca (b), usporedba 1. i 3. mjeseca (c), usporedba 1. i 4. mjeseca (d), usporedba 1. i 5. mjeseca (e), usporedba 1. i 6. mjeseca (f)



Slika 10. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora na uzorcima ekstrakata, za temperaturu od 60 °C na početku te nakon 1, 2, 3, 4, 5 i 6 mjeseci (a), usporedba 1. i 2. mjeseca (b), usporedba 1. i 3. mjeseca (c), usporedba 1. i 4. mjeseca (d), usporedba 1. i 5. mjeseca (e), usporedba 1. i 6. mjeseca (f)



Slika 11. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora na uzorcima ekstrakata, za temperaturu od 70 °C na početku te nakon 1, 2, 3, 4, 5 i 6 mjeseci (a), usporedba 1. i 2. mjeseca (b), usporedba 1. i 3. mjeseca (c), usporedba 1. i 4. mjeseca (d), usporedba 1. i 5. mjeseca (e), usporedba 1. i 6. mjeseca (f)



Slika 12. Rezultati PCA analize za uzorke praha (a) i uzorke ekstrakata (b) nakon 3 mjeseca skladištenja pri 50 (○), 60 (○) i 70 °C (○)

Za usporedbu je li moguće za pojedini mjesec vidjeti razliku između uzoraka samo po temperaturi napravljena je PCA analiza na uzorcima od 3 mjeseca skladištenja. Na slici 12 prikazani su rezultati PCA analize uzoraka praha (12a) i ekstrakata (12b) nakon 3 mjeseca skladištenja, koji su sušeni pri temperaturama od 50, 60 i 70 °C. Podaci prikazani crvenom bojom odnose se na uzorke sušene na temperaturi od 50 °C, zelenom bojom na 60 °C te plavom bojom na temperaturi od 70 °C. Iako je vidljivo grupiranje uzoraka po pojedinim temperaturama, te također par uzoraka koji odstupaju kao što je bilo u slučaju ekstrakata (slike 10c i 10e), puno jasnije razdvajanje dobiveno je za uzorke ekstrakata.

Iako su za grafički prikaz PCA analize korištena samo prva tri faktora, za umjetne neuronske mreže korišteno je prvih 10 faktora jer oni objašnjavaju 99,9 % varijance. Kako bi dobili bolji uvid koji je od faktora povezan sa kojim svojstvom (mjesec skladištenja, temperatura, o kojem uzorku se radi te udio vlage, meda, zobi, kaka) napravljene su korelacijske matrice za praškaste i za tekuće uzorke. U tablici 3 prikazane su vrijednosti koeficijenta korelacije za praškaste uzorke između prvih 10 faktora dobivenih PCA analizom i mjeseca skladištenja, temperaturi, o kojem uzorku se radi te udjelu vlage, meda, zobi, kaka.

Tablica 3. Korelacijska matrica prvih 10 faktora PCA analize, mjeseca skladištenja, temperature, uzorka, udjela vlage, meda, zobi i kakaa za praškaste uzorke

Varijable	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5	F 6	F 7	F 8	F 9	F 10	mjesec	temperatura	uzorak	vlaga	med	zob	kakao
F 1	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,2950	-0,1088	0,0534	-0,1402	-0,2384	0,2384	0,1038
F 2	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	-0,3433	0,2586	-0,0217	0,0262	0,1191	-0,1191	-0,0599
F 3	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	-0,4078	0,1896	0,0665	-0,5634	-0,3532	0,3532	0,1361
F 4	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	-0,3395	-0,0946	0,0619	0,1980	0,1843	-0,1843	-0,0537
F 5	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0351	-0,1278	-0,0280	0,1587	0,0660	-0,0660	0,0248
F 6	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3850	0,0506	0,0246	0,0429	0,0074	-0,0074	0,0584
F 7	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	-0,1187	0,1088	-0,0029	-0,1486	-0,0249	0,0249	0,0352
F 8	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,1986	-0,0367	-0,0504	-0,0007	0,1279	-0,1279	0,0231
F 9	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0835	0,3063	0,0657	-0,4629	0,2658	-0,2658	-0,0079
F 10	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	-0,2895	0,2170	-0,0892	0,0228	-0,0161	0,0161	0,1306
mjesec	0,2950	-0,3433	-0,4078	-0,3395	0,0351	0,3850	-0,1187	0,1986	0,0835	-0,2895	1	0,0000	0,0000	0,0971	0,0000	0,0000	0,0000
temperatura	-0,1088	0,2586	0,1896	-0,0946	-0,1278	0,0506	0,1088	-0,0367	0,3063	0,2170	0,0000	1	0,0000	-0,4621	0,0000	0,0000	0,0000
uzorak	0,0534	-0,0217	0,0665	0,0619	-0,0280	0,0246	-0,0029	-0,0504	0,0657	-0,0892	0,0000	0,0000	1	0,0248	-0,0527	0,0527	-0,0527
vlaga	-0,1402	0,0262	-0,5634	0,1980	0,1587	0,0429	-0,1486	-0,0007	-0,4629	0,0228	0,0971	-0,4621	0,0248	1	0,0485	-0,0485	-0,1177
med	-0,2384	0,1191	-0,3532	0,1843	0,0660	0,0074	-0,0249	0,1279	0,2658	-0,0161	0,0000	0,0000	-0,0527	0,0485	1	-1,0000	0,0000
zob	0,2384	-0,1191	0,3532	-0,1843	-0,0660	-0,0074	0,0249	-0,1279	-0,2658	0,0161	0,0000	0,0000	0,0527	-0,0485	-1,0000	1	0,0000
kakao	0,1038	-0,0599	0,1361	-0,0537	0,0248	0,0584	0,0352	0,0231	-0,0079	0,1306	0,0000	0,0000	-0,0527	-0,1177	0,0000	0,0000	1

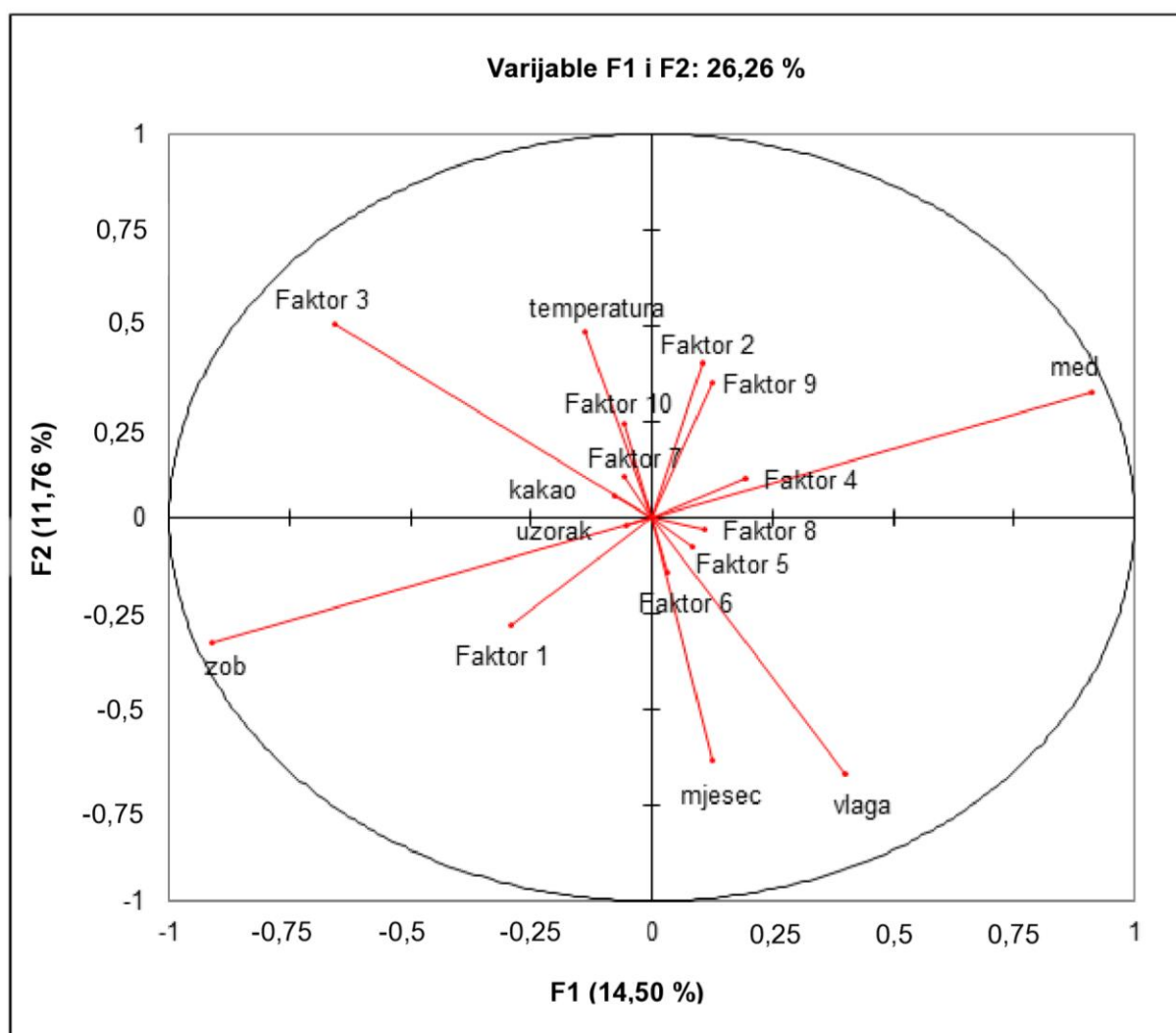
U tablici 3 može se primijetiti da su prva tri faktora koji su korišteni za PCA analizu ili pozitivno ili negativno korelirani sa svim ispitivanim varijablama. Najveće korelacije, i to negativne, vidljive su za faktor 3 i za mjesec skladištenja, što bi značilo da su obrnuto proporcionalni, dok su najmanje korelacije, također negativne, između faktora 2 i raspoznavanja uzorka. Ukoliko se gleda utjecaj svih deset faktora vidljivo je u slučaju mjeseca skladištenja i temperature da je svih deset faktora bitno kako bi se moglo odrediti o kojem mjesecu i temperaturi se radi i stoga koji puta u grafičkom prikazu PCA analize gdje su korištena samo prva tri faktora nije moglo doći do boljeg razdvajanja. Najveća korelacija dobivena je za odnos meda i zobi koja iznosi -1.000 što bi značilo da ukoliko se sastav i promijenio promjenom temperature i vremena skladištenja omjer meda i zobi bio je u istom omjeru ali recipročan. Slijedila je korelacija za faktor 9 i udio vlage (-0,4629) te temperaturu i udio vlage koji iznosi -0,4621 što je i logično jer porastom temperature udio vlage opada. Najmanje korelacije dobivene su za udio zobi i kakaa ovisno o mjesecu i o temperaturi što bi značilo da nije došlo do značajne promjene u sastavu porastom temperature ili vremenom skladištenja.

Korelacijska matrica napravljena je i na uzorcima ekstrakata koji pokazuju slične rezultate. Kao i kod prahova vidljivo je da kada se radi o vremenu skladištenja potrebno je uzeti u obzir svih deset faktora PCA analize. Međutim, kako je kod prahova najveća korelacija bila između faktora 3 i mjeseca skladištenja u ovom slučaju najveća korelacija je između faktora 5 i mjeseca skladištenja. Također najveća korelacija kao i u prethodnom slučaju dobivena je za udio meda i zobi koji je i u ovom slučaju iznosio -1,000 koju je slijedila korelacija od -0,4621 za temperaturu i udio vlage što je identično kao za praškaste uzorke. Najslabije korelacije isto prate prvi slučaj tako da su za udio zobi i kakaa ovisno o mjesecu i o temperaturi dobivene najmanje korelacije.

Tablica 4. Korelacijska matrica prvih 10 faktora PCA analize, mjeseca skladištenja, temperature, uzorka, udjela vlage, meda, zobi i kakaa za uzorke ekstrakata

Varijable	F 1	F 2	F 3	F 4	F 5	F 6	F 7	F 8	F 9	F 10	mjesec	temperatura	uzorak	vlaga	med	zob	kakao
F 1	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	-0,0170	-0,1953	0,0112	0,0690	-0,0540	0,0540	0,0391
F 2	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0782	-0,2588	0,0597	0,1632	0,1181	-0,1181	-0,0590
F 3	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3369	0,0329	0,2896	0,0491	-0,1305	0,1305	-0,1079
F 4	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,2686	-0,1089	0,0806	0,0615	0,0598	-0,0598	0,0393
F 5	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	-0,4366	-0,0733	0,1869	-0,0433	-0,0603	0,0603	-0,0241
F 6	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3466	-0,2764	-0,1954	0,1533	0,0034	-0,0034	0,0146
F 7	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,0000	-0,0146	0,3718	0,0439	-0,0191	-0,0747	0,0747	0,0019
F 8	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	0,0000	0,3423	-0,0798	0,2052	-0,0934	-0,0095	0,0095	-0,0485
F 9	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0000	-0,0678	-0,0709	-0,0150	-0,0728	0,0683	-0,0683	0,0528
F 10	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1	0,0601	-0,0342	-0,1583	-0,0069	0,0217	-0,0217	0,0522
mjesec	-0,0170	0,0782	0,3369	0,2686	-0,4366	0,3466	-0,0146	0,3423	-0,0678	0,0601	1	0,0000	0,0000	0,0971	0,0000	0,0000	0,0000
temperatura	-0,1953	-0,2588	0,0329	-0,1089	-0,0733	-0,2764	0,3718	-0,0798	-0,0709	-0,0342	0,0000	1	0,0000	-0,4621	0,0000	0,0000	0,0000
uzorak	0,0112	0,0597	0,2896	0,0806	0,1869	-0,1954	0,0439	0,2052	-0,0150	-0,1583	0,0000	0,0000	1	0,0248	-0,0527	0,0527	-0,0527
vlaga	0,0690	0,1632	0,0491	0,0615	-0,0433	0,1533	-0,0191	-0,0934	-0,0728	-0,0069	0,0971	-0,4621	0,0248	1	0,0485	-0,0485	-0,1177
med	-0,0540	0,1181	-0,1305	0,0598	-0,0603	0,0034	-0,0747	-0,0095	0,0683	0,0217	0,0000	0,0000	-0,0527	0,0485	1	-1,0000	0,0000
zob	0,0540	-0,1181	0,1305	-0,0598	0,0603	-0,0034	0,0747	0,0095	-0,0683	-0,0217	0,0000	0,0000	0,0527	-0,0485	-1,0000	1	0,0000
kakao	0,0391	-0,0590	-0,1079	0,0393	-0,0241	0,0146	0,0019	-0,0485	0,0528	0,0522	0,0000	0,0000	-0,0527	-0,1177	0,0000	0,0000	1

Kako bi se što bolje vidjela povezanost varijabli napravljeni su biplot grafovi na kojima se kod praškastih uzoraka (slika 13) vidi da u prvom kvadrantu med je najviše povezan sa faktorom 4 te malo manje sa faktorima 9 i 2. U drugom kvadrantu gdje se nalaze temperatura i kakao vidljivo je da je faktor 3 usko povezan sa kakaom dok su faktori 7 i 10 povezani sa temperaturom. U trećem kvadrantu uz uzorak je vezan udio zobi i malo manje faktor 1 dok je u četvrtom kvadrantu uz mjesec vezan faktor 6, a uz vlagu faktori 5 i 8. Međutim, ukoliko se gledaju negativne korelacije najviše do izražaja dolazi med u prvom kvadrantu i zob u trećem kvadrantu gdje se vidi da su totalno recipročne vrijednosti što je isto, malo manje izraženo, u slučaju vlage i faktora 3 te temperature i mjeseca.

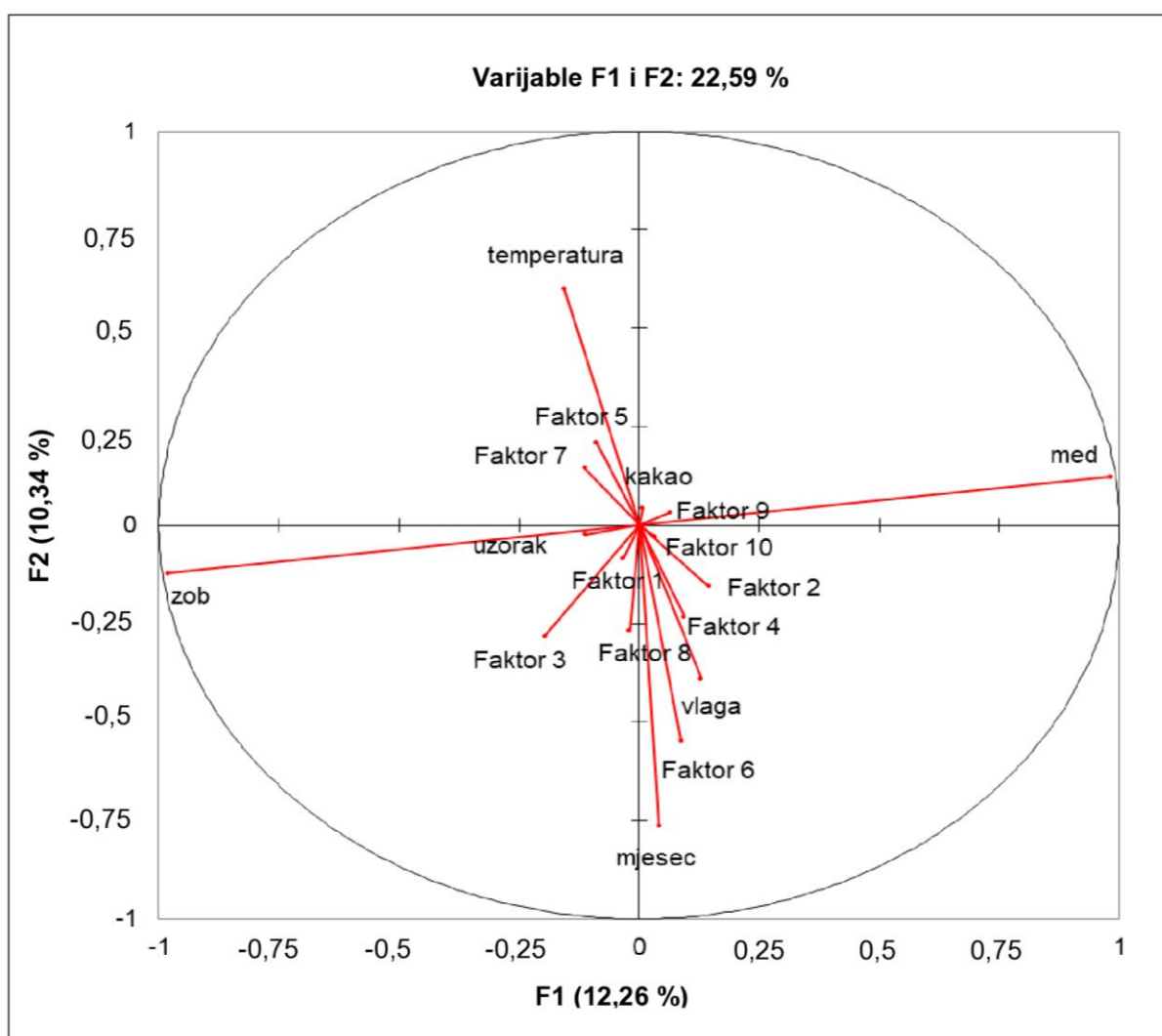


Slika 13. Biplot prikaz svih varijabli za praškaste uzorke

Na biplotu za tekuće uzorke (slika 14) također kao i za praškaste uzorke u prvom kvadrantu nalazi se med koji je u ovom slučaju vezan uz faktor 9 i recipročno vezan sa zobi koja se nalazi u trećem kvadrantu. Kako uz kakao koji se isto tako nalazi u prvom kvadrantu nema pozitivnih

korelacija najviše do izražaja dolazi faktor 3 koji se nalazi u trećem kvadrantu i obrnuto je proporcionalan. U drugom kvadrantu uz temperaturu su vezani faktori 5 i 7 te kao i u prethodnom slučaju vlaga koja se nalazi u četvrtom kvadrantu. U trećem kvadrantu uz uzorak su vezani udio zobi te faktori 1, 3 i 8, a u četvrtom kvadrantu u ovom slučaju uz vlagu je vezano dosta faktora (6, 4, 2 i 10) te naravno temperatura koja se nalazi u 2 kvadrantu.

Ovakvi prikazi daju nam uvid zbog čega je za umjetne neuronske mreže potrebno koji puta koristiti više faktora koji su dobiveni PCA analizom jer ponekad jedna varijabla može biti vezana uz tri ili čak deset faktora dok je za neke varijable dovoljan samo jedan faktor. Naravno, korištenjem više faktora povećava se ukupna varijanca čime se smanjuje pogreška pri daljnjem računanju.



Slika 14. Biplot prikaz svih varijabli za tekuće uzorke

4.2. UMJETNE NEURONSKE MREŽE

Podaci dobiveni analizom glavnih komponenta koristili su se za izradu modela umjetnih neuronskih mreža. Ti modeli predstavljaju povezanost velikog broja i raznolikosti podataka koji su naizgled nespojivi. Pri formiranju neuronskih mreža kao ulaz se koristilo deset glavnih komponenta koje sadrže 99,9 % objašnjenih svojstava, a izlazne varijable bile su vrijeme skladištenja (mjesec), temperatura, uzorak, vlaga, udio meda, udio zobi i udio kakao praha. Tijekom formiranja umjetnih neuronskih mreža kao najbolja kombinacija raspodjele podataka (učenje:testiranje:validacija) za uzorke prahova pokazao se omjer 70:20:10, a za uzorke ekstrakata omjer 70:15:15. Od dvjesto formiranih, u tablici 5 prikazano je pet najboljih modela umjetnih neuronskih mreža za uzorke prahova, dok je u tablici 6 prikazano pet najboljih modela za uzorke ekstrakata, također od dvjesto formiranih neuronskih mreža. Zelenom bojom označena je po jedna mreža u svakoj tablici (tablica 5, tablica 6) za koje se zaključilo da su najbolje za uzorke prahova, odnosno za uzorke ekstrakata. Kako bi se dobila idealna mreža, važno je da je vrijednost preciznosti učenja najviša, a vrijednost preciznosti validacije najniža. S druge strane, učenje bi trebalo imati najnižu vrijednost pogreške, a validacija najveću. Za uzorke prahova najbolja umjetna neuronska mreža je 10-12-7 sa skrivenom tangens hiperbolnom funkcijom, dok je za uzorke ekstrakata kao najbolja umjetna neuronska mreža izabrana mreža 10-12-7 s logističkom skrivenom i logističkom izlaznom aktivacijskom funkcijom.

Tablica 5. Svojstva odabranih umjetnih neuronskih mreža za predviđanje vremena skladištenja, temperature, uzorka, vlage, udjela meda, udjela zobi i udjela kakao praha na uzorcima prahova

NAZIV MREŽE	PRECIZNOST UČENJA	POGREŠKA UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	POGREŠKA TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE	POGREŠKA VALIDACIJE	SKRIVENA AKTIVACIJSKA FUNKCIJA	IZLAZNA AKTIVACIJSKA FUNKCIJA
MLP 10-12-7	0,7164	0,2173	0,6762	0,2501	0,6686	0,2839	Tanh	Identity
MLP 10-13-7	0,7656	0,1808	0,7059	0,2335	0,6663	0,2725	Logistička funkcija	Tanh
MLP 10-13-7	0,7444	0,1958	0,6876	0,2322	0,6558	0,2876	Tanh	Tanh
MLP 10-10-7	0,7213	0,2160	0,6624	0,2546	0,6494	0,2881	Tanh	Tanh
MLP 10-8-7	0,7187	0,2172	0,6769	0,2430	0,6563	0,2748	Tanh	Logistička funkcija

Tablica 6. Svojstva odabranih umjetnih neuronskih mreža za predviđanje vremena skladištenja, temperature, uzorka, vlage, udjela meda, udjela zobi i udjela kakao praha na uzorcima ekstrakata

NAZIV MREŽE	PRECIZNOST UČENJA	POGREŠKA UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	POGREŠKA TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE	POGREŠKA VALIDACIJE	SKRIVENA AKTIVACIJSKA FUNKCIJA	IZLAZNA AKTIVACIJSKA FUNKCIJA
MLP 10-13-7	0,5148	0,3186	0,4842	0,3404	0,4741	0,3495	Tanh	Tanh
MLP 10-10-7	0,5830	0,2823	0,5326	0,3086	0,4513	0,4017	Logistička funkcija	Identity
MLP 10-12-7	0,5994	0,2825	0,5326	0,3192	0,5213	0,3307	Logistička funkcija	Logistička funkcija
MLP 10-12-7	0,5399	0,3100	0,4723	0,3405	0,4652	0,3745	Tanh	Tanh
MLP 10-10-7	0,5387	0,3147	0,5021	0,3377	0,4937	0,3626	Tanh	Identity

Tablica 7 prikazuje efikasnost odabrane neuronske mreže (10-12-7) za predviđanje vrijednosti vremena skladištenja, temperature, uzorka, vlage, udjela meda, zobi ili kakao praha u uzorcima prahova. Vidi se da ima izvrsnu preciznost u predviđanju vremena skladištenja i vlage gdje je preciznost validacije iznad 0,90. Istraživanje koje su proveli Trilčová i sur. (2004) na uzorcima kakao prahova također je pokazalo izvrsne rezultate u smislu visoke R^2 vrijednosti prilikom određivanja vlage pomoću NIR spektroskopije gdje je dobivena vrijednost iznosila 0,95. Također, navedena mreža dobra je i za predviđanje temperature skladištenja, ali problem se javlja kod predviđanja o kojem se točno uzorku (od devet uzoraka prahova) radi te udjela kakao praha gdje je preciznost validacije za uzorak $R^2 = 0,42$, a za kakao prah $R^2 = 0,25$. Kako bi se dobili što bolji rezultati za predviđanje svih varijabli te kako bi se ispitaio utjecaj smanjenja broja izlaznih varijabli, formirane su nove umjetne neuronske mreže s istim ulaznim varijablama, ali za izlaz se koristila samo jedna varijabla (vrijeme/temperatura/uzorak/vlaga/udio meda/udio zobi/udio kakao praha). U tablici 8 nalazi se prikaz rezultata za svako provedeno formiranje mreža sa po jednom izlaznom varijablom gdje je odabrana po jedna najbolja mreža. Uspoređujući rezultate sa tablicom 7 može se vidjeti da su predviđanja vrijednosti za gotovo sve varijable bolja ako se za izlaz koristi samo jedna varijabla. Izdvaja se neuronska mreža za predviđanje vremena skladištenja (10-11-1) gdje je postignuta preciznost kod učenja u vrijednosti od $R^2 = 0,99$, a dobre vrijednosti se nastavljaju i kod testiranja ($R^2 = 0,99$) i validacije ($R^2 = 0,99$). Nadalje, velika razlika se uočava kod predviđanja udjela kakao praha. Kod neuronskih mreža u kojim su se koristile sve varijable kao izlaz, kao preciznost validacije postignuta je vrijednost $R^2 = 0,25$ što je vrlo nisko, dok je kod umjetnih mreža gdje je kao izlaz korištena samo jedna varijabla, udio kakao praha, vrijednost preciznosti validacije iznosila $R^2 = 0,52$. Iako ta vrijednost nije visoka, može se vidjeti pozitivan utjecaj smanjenja broja izlaznih varijabli.

Jedno od istraživanja u kojem su također korištene umjetne neuronske mreže na kakao prahovima proveli su Benković i sur. (2015). U istraživanju su praćene fizikalne i kemijske promjene kakao praha tijekom aglomeracije koje su kasnije korištene za modeliranje. Kao

ulazne varijable korišteni su uvjeti aglomeracije i sastav smjese, a izlazne varijable bile su fizikalna i kemijska svojstva. Izvedba je bila vrlo učinkovita, s visokim vrijednostima koeficijenta determinacije ($R^2_{\text{trening}} = 0,969$; $R^2_{\text{test}} = 0,945$; $R^2_{\text{validacija}} = 0,934$).

Tablica 7. Analiza rezultata najbolje odabrane umjetne neuronske mreže (10-12-7) za predviđanje vrijednosti vremena skladištenja, temperature, uzorka, vlage, udjela meda, zobi i kakao praha u uzorcima prahova

MLP 10-12-7			
VARIJABLA	PRECIZNOST UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE
MJESEC	0,9233	0,9406	0,9485
TEMPERATURA	0,8730	0,8715	0,8514
UZORAK	0,3768	0,3725	0,4242
VLAGA	0,8726	0,8628	0,9010
MED	0,7438	0,6468	0,6420
ZOB	0,7432	0,6490	0,6624
KAKAO PRAH	0,4819	0,3901	0,2509

Tablica 8. Analiza rezultata za najbolje odabrane umjetne neuronske mreže dobivene za predviđanje vremena skladištenja/temperature/uzorka/vlage/udjela meda/udjela zobi/udjela kakao praha u uzorcima prahova

IZLAZNA VARIJABLA	NAZIV MREŽE	PRECIZNOST UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE
MJESEC	MLP 10-11-1	0,9899	0,9872	0,9855
TEMPERATURA	MLP 10-8-1	0,9801	0,9633	0,9592
UZORAK	MLP 10-12-1	0,5634	0,5372	0,5317
VLAGA	MLP 10-5-1	0,9301	0,9168	0,9076
MED	MLP 10-9-1	0,8416	0,7709	0,7126
ZOB	MLP 10-8-1	0,8058	0,7890	0,6914
KAKAO PRAH	MLP 10-12-1	0,7264	0,5428	0,5174

Tablica 9 prikazuje koliko su dobra predviđanja svih varijabli odabrane neuronske mreže (10-12-7) kod uzoraka ekstrakata. Prihvatljive vrijednosti dobivene su za predviđanje vremena skladištenja i temperature, dok su za sve ostale varijable vrijednosti niže. Ako se uspoređuju predviđanja između uzoraka prahova (tablica 7) i uzoraka ekstrakata (tablica 9) vidi se da je jedino predviđanje o kojem se uzorku točno određenog sastava radi bolje kod uzoraka ekstrakata nego kod uzoraka prahova. Također, vidljiva je i razlika kod predviđanja udjela meda i udjela zobi koja je veća kod uzoraka prahova.

Za uzorke ekstrakata također su formirane nove neuronske mreže sa jednakim ulaznim varijablama, ali samo sa jednom izlaznom varijablom, ovisno što je bio subjekt predviđanja. Podaci odabranih mreža prikazane su u tablici 10. Vrijednosti za predviđanje vremena i temperature skladištenja izvrsne su jer im je vrijednost kod učenja za preciznost iznosila $R^2 =$

0,98 (mjesec), odnosno $R^2 = 0,96$ (temperatura). Uspoređujući efikasnost, neuronske mreže formirane sa samo jednom izlaznom varijablom puno bolje predviđaju željenu varijablu kod uzoraka ekstrakata nego kad ima više izlaznih varijabli.

Tablica 9. Analiza rezultata najbolje odabrane umjetne neuronske mreže (10-12-7) za predviđanje vrijednosti vremena skladištenja, temperature, uzorka, vlage, udjela meda, zobi i kakao praha u uzorcima ekstrakata

MLP 10-12-7			
VARIJABLA	PRECIZNOST UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE
MJESEC	0,9319	0,9301	0,8925
TEMPERATURA	0,8305	0,8433	0,8280
UZORAK	0,7172	0,7392	0,6643
MED	0,4873	0,4061	0,3267
ZOB	0,4868	0,4016	0,3257
KAKAO PRAH	0,3104	0,0972	0,2433

Tablica 10. Analiza rezultata za najbolje odabrane umjetne neuronske mreže dobivene za predviđanje vremena skladištenja/temperature/uzorka/vlage/udjela meda/udjela zobi/udjela kakao praha u uzorcima ekstrakata

IZLAZNA VARIJABLA	NAZIV MREŽE	PRECIZNOST UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE
MJESEC	MLP 10-12-1	0,9836	0,9810	0,9448
TEMPERATURA	MLP 10-8-1	0,9616	0,9501	0,9250
UZORAK	MLP 10-10-1	0,7958	0,7153	0,7105
MED	MLP 10-13-1	0,6066	0,5872	0,5206
ZOB	MLP 10-9-1	0,4621	0,4469	0,4449
KAKAO PRAH	MLP 10-12-1	0,5068	0,4476	0,3757

5. ZAKLJUČCI

Nakon provedenog istraživanja može se zaključiti iduće:

1. PCA analizom prikazano je jasno razdvajanje početka analize od ostalih mjeseci pri svim temperaturama.
2. PCA analizom za uzorke prahova dobivena su jasna razdvajanja za pojedine mjesece, no kod nekih mjeseci je došlo do preklapanja uzoraka. Najviše preklapanja javilo se pri temperaturi od 70 °C.
3. Kod uzoraka ekstrakata pri 50°C za sve uzorke vidljivo je jasno razdvajanje, ali pri temperaturama 60 i 70°C dolazi do preklapanja kada se radi o svim uzorcima. Za razliku od praškastih uzoraka kada se radi o usporedbi prvog mjeseca i ostalih mjeseci puno jasnija razdvajanja vidljiva su za uzorke pri 70°C.
4. Puno jasnije razdvajanje uzoraka na temelju temperature skladištenja dobiveno je za uzorke ekstrakata u odnosu na prahove.
5. Za umjetne neuronske mreže bilo bi bolje koristiti više faktora koji su dobiveni PCA analizom jer ponekad jedna varijabla može biti vezana uz jedan ili više faktora. Korištenjem više faktora povećava se ukupna varijanca čime se smanjuje pogreška pri daljnjem računanju što je vidljivo iz biplot grafova.
6. Za uzorke prahova umjetne neuronske mreže pokazale su odlična predviđanja za mjesec skladištenja ($R^2 = 0,99$), temperaturu na kojoj su rađeni eksperimenti ($R^2 = 0,96$) te vlagu ($R^2 = 0,91$).
7. Za uzorke ekstrakata vrijednosti su bile malo niže, iako još uvijek dovoljno dobre za kvalitetnu procjenu, za mjesec skladištenja ($R^2 = 0,94$) te temperaturu na kojoj su rađeni eksperimenti ($R^2 = 0,93$).

6. LITERATURA

Abdi H, Williams LJ (2010) Principal Component Analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics* **2**, 433-459. <https://doi.org/10.1002/wics.101>

Agatonovic-Kustrin A, Beresford R (2000) Basic concepts of artificial neural network (ANN) modeling and its application in pharmaceutical research. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **22**, 717–727. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(99\)00272-1](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(99)00272-1)

Al-Kafaween MA, Alwahsh M, Mohd Hilmi AB, Abulebdah DH (2023) Physicochemical Characteristics and Bioactive Compounds of Different Types of Honey and Their Biological and Therapeutic Properties: A Comprehensive Review. *Antibiotics* **12(2)**, 337. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020337>

Alvarez-Suarez JM, Giampieri F, Battino M (2013) Honey as a Source of Dietary Antioxidants: Structures, Bioavailability and Evidence of Protective Effects Against Human Chronic Diseases. *Current Medicinal Chemistry* **20**, 621-638. doi:10.2174/092986713804999358

Araujo QRD, Gattward JN, Almoosawi S, Parada Costa Silva M das GC, Dantas PADS, Araujo Júnior QRD (2013) Cocoa and Human Health: From Head to Foot—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56(1)**, 1–12. doi:10.1080/10408398.2012.657921

Badrie N, Bekele F, Sikora E, Sikora M (2014) Cocoa Agronomy, Quality, Nutritional, and Health Aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **55**, 620–659. doi:10.1080/10408398.2012.669428

Basheer IA, Hajmeer M (2000) Artificial neural network: fundamentals, computing, design, and application. *Journal of Microbiological Methods* **43**, 3-31. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00201-3](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00201-3)

Bekele F, Phillips-Mora W (2019) Cacao (*Theobroma cacao* L.) Breeding. U: Al-Khayri JM, Jain SM, Johnson DV (ured.) *Advances in Plant Breeding Strategies: Industrial and Food Crops* 6., Springer, str. 409-414. doi:10.1007/978-3-030-23265-8

Benković M, Tušek AJ, Belščak-Cvitanović A, Lenart A, Domian E, Komes D, Bauman I (2015) Artificial neural network modelling of changes in physical and chemical properties of cocoa powder mixtures during agglomeration. *LWT - Food Science and Technology* **64(1)**, 140 - 148. doi: 10.1016/j.lwt.2015.05.028.

Bhandari B, Bansal N, Zhang M, Schuck P (2023) Handbook of Food Powders: Processes and Properties, 2. izd., Elsevier Science, Ujedinjeno Kraljevstvo, str. 1-14.

Blanco M, Villarroya I (2002) NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **21**, 240–250. doi:10.1016/s0165-9936(02)00404-1

Bolf N, Jerbić I (2006) Primjena umjetnih neuronskih mreža pri identificiranju i vođenju procesa. *Kemija u industriji : Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske*, **Vol. 55 No. 11**, 457–468.

Butt MS, Tahir-Nadeem M, Iqbal Khan MK, Shabir R, Butt MS (2008) Oat: unique among the cereals. *European Journal of Nutrition* **47**, 68–79. doi:10.1007/s00394-008-0698-7

De Souza PA, Moreira LF, Sarmiento DHA, da Costa FB (2018) Cacao – Theobroma cacao. *Exotic Fruits*, 69-76. doi:10.1016/b978-0-12-803138-4.00010-1

Dongdong N, Nelis JLD, Dawson AL, Bourne N, Juliano P, Colgrave ML i sur. (2024) Application of near-infrared spectroscopy and chemometrics for the rapid detection of insect protein adulteration from a simulated matrix. *Food Control* **159**. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110268>

Duan W, Zheng B, Li T, Liu RH (2023) Oats and Their Health Benefits. *Journal of Food & Nutritional Sciences* **5(1)**, 9-16.

Đurović V, Mandić L, Mijatović M, Miletić N, Radovanović M, Mladenović J, Pešaković M, Đukić D (2022) Comparative analysis of antibacterial and antioxidant activity of three different types of honey. *Acta Agriculturae Serbica* **27(54)**, 115 – 120. doi: 10.5937/AASer2254115D

Galvin-King P, Haughey SA, Elliott CT (2021) Garlic adulteration detection using NIR and FTIR spectroscopy and chemometrics. *Journal of Food Composition and Analysis* **96**. doi:10.1016/j.jfca.2020.103757

Gardea AA, García-Bañuelos ML, Orozco-Avitia JA, Sánchez-Chávez E, Sastré-Flores B, Ávila-Quezada G (2017) Cacao (*Theobroma cacao* L.). *Fruit and Vegetable Phytochemicals*, 921–940. doi:10.1002/9781119158042.ch43

Greenacre M, Groenen PJF, Hastie T, D'Enza AI, Markos A, Tuzhilina E (2022) Principal component analysis. *Nature Reviews Methods Primers* **2(100)**. <https://doi.org/10.1038/s43586-022-00184-w>

Holopainen-Mantila U, Vanhatalo S, Lehtinen P, Sozer N (2024) Oats as a source of nutritious

alternative protein. *Journal of Cereal Science* **116**. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2024.103862>

Ishaq S, Jafri L (2017) Biomedical Importance of Cocoa (*Theobroma cacao*): Significance and Potential for the Maintenance of Human Health. *Matrix Science Pharma (MSP)* **1(1)**. doi:10.26480/msp.01.2017.01.05

Jibril FI, Hilmi ABM, Manivannan, L (2019) Isolation and characterization of polyphenols in natural honey for the treatment of human diseases. *Bull Natl Res Cent* **43** <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0044-7>

Kamphuis HJ (2017) Production of cocoa mass, cocoa butter and cocoa powder. U: Beckett ST, Fowler MS, Ziegler GR (ured.) Beckett's Industrial Chocolate Manufacture and Use, 5. izd., John Wiley & Sons Ltd

Lim TK (2011) *Theobroma cacao*. *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants* **3**, 208–251. doi:10.1007/978-94-007-2534-8_30

Millatina NRN, Pérez Calle JL, Barea-Sepúlveda M, Setyaningsih W, Palma M (2024) Detection and quantification of cocoa powder adulteration using Vis-NIR spectroscopy with chemometrics approach. *Food Chem*. doi: 10.1016/j.foodchem.2024.139212.

Modupalli N, Naik M, Sunil CK, Natarajan V (2021) Emerging non-destructive methods for quality and safety monitoring of spices. *Trends in Food Science & Technology* **108**, 133-147. doi:10.1016/j.tifs.2020.12.021

Ozturk S, Bowler A, Radz A, Watson NJ (2023) Near-infrared spectroscopy and machine learning for classification of food powders during a continuous process. *Journal of Food Engineering* **341**. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111339>

Pasquini C (2003) Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **14(2)**, 198–219. doi:10.1590/s0103-50532003000200006

Paudel D, Dhungana B, Caffè M, Krishnan P (2021) A Review of Health-Beneficial Properties of Oats. *Foods* **10(11)**, 2591. <https://doi.org/10.3390/foods10112591>

Pravilnik (2015) Pravilnik o kakau i čokoladnim proizvodima. Narodne novine 73, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2005_06_73_1440.html Pristupljeno 12.travnja 2024.

Puranik SI, Akbar AA, Ghagane SC (2023) Economic Benefits of Honey and Honey Products. U: Khalil I, Hua Gan S, Hing Goh B (ured.) Honey: Composition and Health Benefits, 1. izd., Wiley, str. 330-338. <https://doi.org/10.1002/9781119113324.ch24>

Rasane P, Jha A, Sabikhi L, Kumar A, Unnikrishnan VS (2013) Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - a review. *Journal of Food Science and Technology* **52(2)**, 662-675. doi:10.1007/s13197-013-1072-1

Rusconi M, Conti A (2010) Theobroma cacao L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research* **61**, 5-13. doi:10.1016/j.phrs.2009.08.008

Salguero-Chaparro L, Baeten V, Fernández-Pierna JA, Peña-Rodríguez F (2013) Near infrared spectroscopy (NIRS) for on-line determination of quality parameters in intact olives. *Food Chemistry* **139**, 1121–1126. doi:10.1016/j.foodchem.2013.01.002

Scholz M (2006) Approaches to analyse and interpret biological profile data. Max Planck Institut of Molecular Plant Physiology, University of Potsdam, Germany

Trilčová A, Čopíková J, Coimbra MA, Barros A, Egert L, Synytsya A i sur (2004) Application of NIR Analysis to Verify Cocoa Powder Authenticity. *Czech J. Food Sci.* **22**

Ujević Andrijić Ž (2019) Osvježimo znanje: Umjetne neuronske mreže. *Kemija u industriji : Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske*, Vol. **68 No. 5-6**, 219–220.

Valverde García D, Pérez Esteve É & Barat Baviera J M (2020) Changes in cocoa properties induced by the alkalization process: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. doi:10.1111/1541-4337.12581

Wang Z, Wu Q, Kamruzzaman M (2022) Portable NIR spectroscopy and PLS based variable selection for adulteration detection in quinoa flour. *Food Control* **138**. doi:10.1016/j.foodcont.2022.108970

Wickramasuriya A M & Dunwell J M (2017) Cacao biotechnology: current status and future prospects. *Plant Biotechnology Journal* **16(1)**, 4–17. doi:10.1111/pbi.12848

Wollgast J, Anklam E (2000) Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International* **33**, 449–459. doi:10.1016/s0963-9969(00)00069-7