

Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na fizikalna svojstva soka od mrkve

Jambrović, Ema

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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:159:287562>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Ema Jambrović

6922/PT

**UTJECAJ ULTRAZVUKA VISOKOG INTENZITETA NA
FIZIKALNA SVOJSTVA SOKA OD MRKVE**

Predmet: Fenomeni prijelaza

Mentor: Doc.dr.sc. Tomislav Bosiljkov

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno – biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za Procesno inženjerstvo

Laboratorij za tehnološke operacije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

UTJECAJ ULTRAZVUKA VISOKOG INTENZITETA NA FIZIKALNA SVOJSTVA

SOKA OD MRKVE

Ema Jambrović, 0058205128

Sažetak:

Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na fizikalna svojstva soka od mrkve. Praćen je utjecaj ultrazvuka nominalne snage 100 W na temperaturu, apsorbanciju, apsorbanciju nakon 24 sata, gustoću, prividnu viskoznost i raspodjelu veličine čestica pri sljedećim procesnim parametrima: amplituda od 20, 60 i 100%, promjer sonde od 7, 10 i 14 mm, te vrijeme tretiranja u rasponu od 2, 6 i 10 minuta. Ispitivanje je provedeno na 27 uzoraka soka od mrkve, koji je dobiven filtrom promjera 0,5 mm, volumena 150 mL. Statistička obrada rezultata napravljena je pomoću programskog paketa „Statistica 12“. Ultrazvuk, kao nova netoplinska tehnologija pokazuje pozitivan utjecaj na promjenu promatranih fizikalnih svojstava sa povećanjem stabilnosti uzorka soka od mrkve.

Ključne riječi: ultrazvuk visokog intenziteta, sok od mrkve, fizikalna svojstva, raspodjela veličine čestica

Rad sadrži: 28 stranica, 25 slika, 1 tablica, 29 literaturnih navoda

Jezik izvornika: Hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Doc.dr.sc. Tomislav Bosiljkov

Pomoć pri izradi: Marko Škegro, mag.ing. upravljanja sigurnošću hrane

Datum obrane: 18. lipnja 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Food Technology

Department of Process Engineering

Laboratory for Unit Operations

Scientific area: Biotechnological sciences

Scientific field: Food Technology

INFLUENCE OF HIGH INTENSITY ULTRASOUND ON PHYSICAL PROPERTIES OF CARROT JUICE

Emma Jambrović, 0058205128

Abstract:

The main goal of this research was an analysis of the high – intensity ultrasound on physical properties of carrot juice. The influence of the high – intensity ultrasound on temperature, absorbance, absorbance after 24 hours, density, apparent viscosity and particle size distribution was observed under following conditions: amplitude 20, 60 and 100 %, probe diameter 7, 10 and 14 mm, time of treatment 2, 6 and 10 minutes. The research was made on 27 examples of carrot juice, which was made with filter diameter a 0,5 mm, and the volume of each sample was 150 mL. Statistic analysis was performed with „Statistica 12“ software. Ultrasound, as new nonthermal treatment, showed a positive statistical influence on all observed physical properties, in the stability of the carrot juice.

Keywords: high– intensity ultrasound, carrot juice, physical properties, particle size distribution

Thesis contains: 28 pages, 25 figures, 1 table, 29 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD Tomislav Bosiljkov, Assistant professor

Technical support and assistance: Marko Škegro, mag.ing.techn.aliment.

Defence date: June 18th, 2018

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Mrkva.....	2
2.2. Ultrazvuk.....	4
2.2.1. Ultrazvučni valovi.....	4
2.2.2. Osnovni parametri ultrazvuka – Fizikalne veličine.....	5
2.2.3. Djelovanje ultrazvuka na tekući medij.....	7
2.2.4. Nastajanje ultrazvuka.....	9
2.2.5. Primjena ultrazvuka u prehrambenoj industriji.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1. Materijali	12
3.2. Metode rada	12
3.2.1. Obrada soka od mrkve ultrazvukom	12
3.2.2. Mjerenje temperature	12
3.2.3. Određivanje apsorbancije	13
3.2.4. Određivanje viskoznosti.....	13
3.2.5. Određivanje gustoće	14
3.2.6. Određivanje raspodjele veličine čestica.....	15
3.2.7. Statistička obrada rezultata	15
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	16
5. ZAKLJUČCI.....	25
6. LITERATURA	26

1. UVOD

Hrana je svaka supstanca ili proizvod, prerađen, djelomično prerađen ili neprerađen, koji je namijenjen konzumaciji. U posljednjih nekoliko godina sve popularniji postaju minimalno prerađeni proizvodni iz kojih se dobivaju namirnice vrhunske kvalitete, pri čemu su njihova nutritivna svojstva, aroma, tekstura i okus gotovo neznatno promijenjeni u odnosu na izvornu namirnicu.

Stoga, sve više dolazi do razvoja novih netoplinskih tehnologija obrade hrane, od kojih se najviše ističe ultrazvuk visokog intenziteta. Svoju primjenu pronalazi u gotovo svim granama prehrambene tehnologije, pa se tako može koristiti za ekstrakciju, homogenizaciju, emulgiranje, kristalizaciju, filtraciju, disperziju agregiranih materijala, promjenu viskoznosti (smanjenje ili povećanje), otpjenjivanje, ekstruziju, inaktivaciju enzima i mikroorganizama, sušenje i dr..

Ranije provedena istraživanja pokazala su da ultrazvuk visokog intenziteta ima utjecaj na promjenu fizikalnih svojstva raznih disperznih sustava kao što su razni povrtni i voćni sokovi, smoothiji, nehomogenizirano mlijeko i sl..

Cilj ovog rada je ispitati pozitivan utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na promjenu fizikalnih svojstva soka od mrkve. Određivala su se slijedeća fizikalna svojstva: temperatura, gustoća, viskoznost, apsorbancija i raspodjela veličine čestica.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Mrkva

Danas je u svijetu sve veći postotak obolijevanja od degenerativnih bolesti, kao što su rak i kardiovaskularne bolesti. Rizik od bolesti može se smanjiti s visokim unosom određenog povrća. Stoga je mrkva svojim nutritivnim sastavom, gdje se ističu β - karoten, vitamini B kompleksa, vitamin C, folna kiselina, kaliji, magneziji i pektin jedna od najzdravijeg povrća (Erenturk&Erenturk, 2007). Međutim, kao i ostatak povrća, mrkva je sezonsko povrće, te nije dostupno u određenom dijelu godine. Kako bi se produžilo konzumno vrijeme namirnice, sa što većim postotkom nutritivnih vrijednosti, potrebno je provoditi određene metode konzerivanja.

Mrkva (*Daucuscarota, L.*) je dvogodišnja biljka koja pripada porodice štitarki (*Umbelliferae*). Značajna je zbog svojeg bogatog nutritivnog sastava, gdje se ističu vitamini i minerali, te također dijetetska i hranjiva vlakna.

Podrijetlo i povijesni razvoj mrkve seže sve do pretpovijesnog razdoblja kada se počela koristiti kao povrće. U 10. stoljeću crvene forme došle su iz Azije, točnije Afganistana u Europu, gdje se pojavio žuti mutant. Sve do 15. stoljeća najraširenije su bile crvene i žute forme, dok je u 17. stoljeću u Nizozemskoj iz bijele mrkve izdvojen narančasti mutant koji se raširio po cijelom svijetu. Danas je divlja mrkva najzastupljenija u livadnoj i korovskoj flori po cijelom svijetu. Najveći proizvođači mrkve su Kina, Rusija i SAD, dok u Europi prva tri mjesta zauzimaju Velika Britanija, Poljska i Nizozemska. U Hrvatskoj se mrkva proizvodi na 3.300 ha s prosječnim prinosom od 9 t/ha, što je dvostruko niže od svjetskih prosjeka. U državama sjeverne Europe prosječni prinos mrkve je za 5 – 6 puta veći nego u Hrvatskoj (Matotan, 2004).

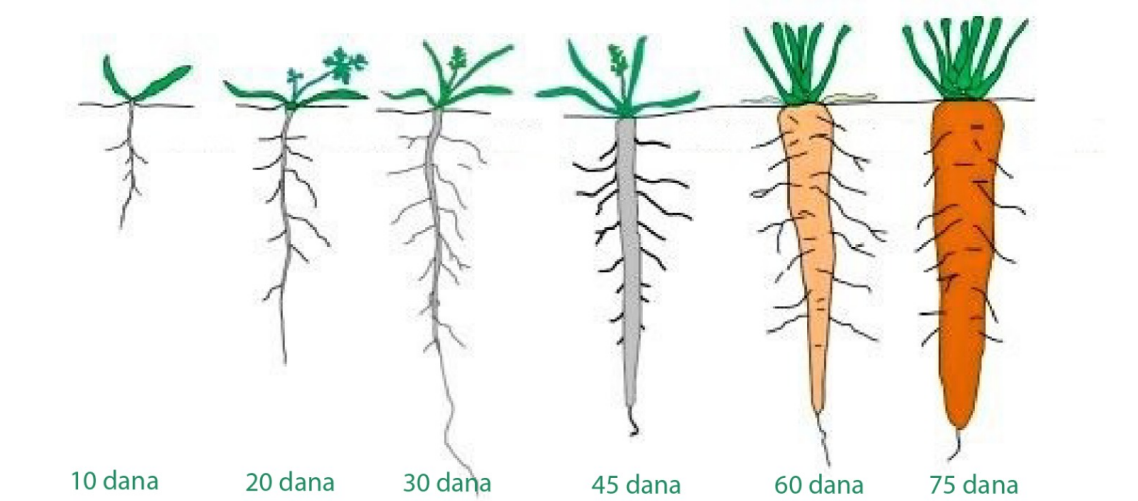
Mrkva ima karakterističan nutritivni sastav, pri čemu se najviše izdvaja postotak suhe tvari koji se kreće 12 – 17 % u kojem prevladavaju ugljikohidrati. Mrkva narančastog korijena sadrži najviše provitamina A tj β – karotena (Parađiković, 2009.), također sadrži vitamine B kompleksa (tiamin, riboflavin, niacin, pantotenska kiselina, piridoksin, biotin, folna kiselina), vitamin C, E i K. Od minerala najzastupljeniji je kaliji (189 – 355 mg/100 g), nakon kojeg slijede kalciji, fosfor, željezo i jod. Nadalje, mrkva sadrži karotenoide, pigmente koji su netopljivi u vodi i staničnom soku. Većinom su koloidno dispergirani u lipidnom mediju. Tetraterpeni koji se sastoje od 8 izoprenskih jedinica koje su smještene simetrično u odnosu na sam centar molekule (C40). Nalaze se u svim dijelovima biljke: korijen, lišće, cvijet, plod i

sjemenke. Osim karotenoida, prisutni su i karoteni (alfa, beta i gama) ugljikovodici koji imaju provitaminska svojstva (Levaj, 2018).

Zadebljali korijen mrkve sastoji se od 3 dijela: vrlo skraćene stabljike (tzv. epikotil), hipokotila i dijela korijena s postranim korjenčićima. Dio korijena s postranim korjenčićima sastoji se od veoma tanke pokožice (periderma), intenzivnije obojenog tkiva kore, sekundarnog floema, kambija i ksilema (srce) koje je svjetlije obojeno (Levaj, 2018).

Prvi kultivari mrkve bili su selekcionirani još u 19. st. Danas se kontinuirano radi na pronalasku novih sorti sa boljim svojstvima, kao što su intenzitet narančaste boje, što veća zastupljenost floema, pravilan i ujednačen oblik zadebljalog korijena, što manja razlika u boji između floema i ksilema, te je također značajan što veći postotak suhe tvari i šećera koji su bitni za preradu ili postotak β – karotena kao provitamina A u dječjoj prehrani.

Berba mrkve provodi se za vrijeme tehnološke zrelosti kada je ona najprikladnija za preradu i skladištenje. U trenutku kada vrhovi lišća počinju žutjeti, naročito donjeg, mrkva ulazi u stadij mirovanja i zrela je za vađenje. Korijen je najbogatiji šećerima, β – karotenom, te se završava proces nakupljanja asimilata u korijenu. Važno je dobro procijeniti vrijeme vađenja, tj. tkivo korijena mora biti dovoljno čvrsto jer u protivnom dolazi do pucanja i lomljenja tijekom vađenja i kasnije same dorade (Slika 1) (Levaj, 2018).



Slika 1. Rast i razvoj korijena mrkve (Anonymous, 2018)

2.2. Ultrazvuk

Objekt koji se pokreće u prostoru stvara zvučne valove. Zvučni valovi su mehaničke vibracije u krutini, tekućini ili plinu. Razlikuju se od elektromagnetskih valova koji mogu prolaziti kroz vakuum, dok zvučni valovi putuju u materiji sa naizmjeničnim ciklusima sažimanja i ekspanzije kada prolaze kroz sam medij.

Ultrazvuk je oblik energije koja se prenosi preko zvučnih valova frekvencija iznad 20 kHz, odnosno iznad gornje granice čujnosti ljudskog uha, koja se nalazi u području od 16 Hz do 20 kHz. Gornja granica frekvencije ultrazvuka nije strogo definirana, ali obično se uzima da je to 5 MHz za plinove i 500 MHz za tekućine i krutine. Hertz, jedinica za zvučnu frekvenciju koja označava broj titraja koje određena čestica napravi u jedinici vremena (1 Hz = broj titraja u sekundi). Na Slici 2 prikazan je spektar zvučnih frekvencija (Mason i Lorimer, 2002).

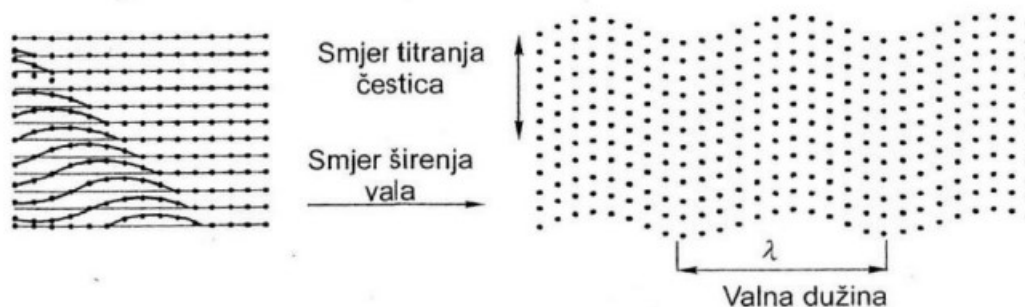


Slika 2. Podjela područja zvuka prema frekvencijama (Povey i Mason, 1998)

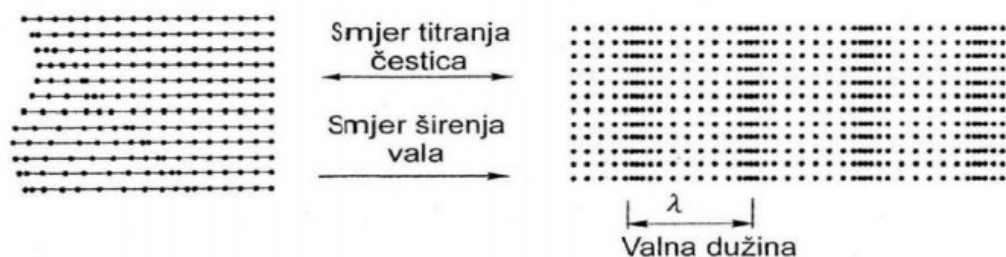
2.2.1. Ultrazvučni valovi

Ultrazvuk se prenosi kroz materijale (krutinu, tekućinu ili plin) koji posjeduju elastična svojstva kao zvučni val. Zvučni val može se prostirati na dva načina, i to transverzalno (poprečno) i longitudinalno. Transverzalno prostiranje vala (Slika 3) je titranje čestica okomito na smjer širenja vala, dok je longitudinalno prostiranje vala (Slika 4) kada čestice titraju u samom smjeru širenja vala. Posebnost longitudinalnih valova jest mogućnost širenja u sva tri agregatna stanja, i u plinovima i tekućinama, dok se u krutinama, koje posjeduju i

smičnu elastičnost te podržavaju tangencijalno naprezanje, uz longitudinalne valove mogu širiti i transverzalni valovi. Širenje vala prenosi se vibracijama na molekule koje se nalaze u mediju pri čemu svaka čestica prenosi gibanje na sljedeću česticu prije no što se vrati u prvobitni položaj. Kroz medij energija se transportira od čestice do čestice (Mason i Lorimer, 2002).



Slika 3. Nastajanje transverznog vala (Krstelj, 2003)



Slika 4. Nastajanje longitudinalnog vala (Krstelj, 2003)

Sve ostale vrste valova nastaju isključivo kombinacijom longitudinalnih i transverzalnih titranja u određenom mediju (Krstelj, 2003).

2.2.2. Osnovni parametri ultrazvuka – Fizikalne veličine

Svaki val definiran je određenim fizikalnim veličinama. Fizikalne veličine koje određuju glavne karakteristike vala su amplituda (A), frekvencija (f), valna duljina (λ), koeficijent prigušenja (a) i brzina vala (v).

Frekvencijom se izražava broj punih titraja, odnosno brjegovaa ili dolova u jedinici vremena. Obrnuto je proporcionalna periodu (T). Period definiramo kao veličinu kojom se iskazuje trajanje jednog ciklusa periodične promjene.

Definira se izrazom (1):

$$f = \frac{1}{T} [\text{Hz}] \quad [1]$$

Amplituda (A) predstavlja intenzitet vibracije koja se stvara kao posljedica zvučnog vala. Definira se kao udaljenost između dvije točke na brijegu (maksimum) i dolu (minimum) zvučnog vala. Što je veća amplituda zvučnog vala, vibracije u materijalu kroz koji se širi zvučni val su veće (De Castro i Capote, 2007a). Sam zvučni val se prilikom prolaska kroz medij raspršuje i apsorbira, pri čemu se javlja prigušenje od strane medija. Tijekom prigušenja dolazi do smanjenja amplitude s povećanjem udaljenosti od izvora ultrazvuka. Koeficijent prigušenja $[\alpha]$ predstavlja mjeru smanjenja amplitude ultrazvučnog vala nakon njegovog prolaska kroz materijal (Dickinson i McClements, 1995). Definira se izrazom (2):

$$A = A_0 e^{-\alpha x} [\%] \quad [2]$$

pri čemu je:

A_0 – početna amplituda [%]; X – prijeđena udaljenost [m] i α – koeficijent prigušenja [Neper m^{-1}].

Valna duljina predstavlja minimalnu udaljenost dviju točaka koje titraju u istoj fazi uzastopnim ciklusima. Jedan ciklus zvučnog vala obuhvaća dvije uzastopne promjene, tj. ciklus ekspanzije i ciklus kompresije. Obrnuto je proporcionalna frekvenciji, dakle što je manja valna duljina, frekvencija je veća (Jewett i Serway, 2008). Što je definirano izrazom (3):

$$\lambda = \frac{v}{f} [m] \quad [3]$$

2.2.3. Djelovanje ultrazvuka na tekući medij

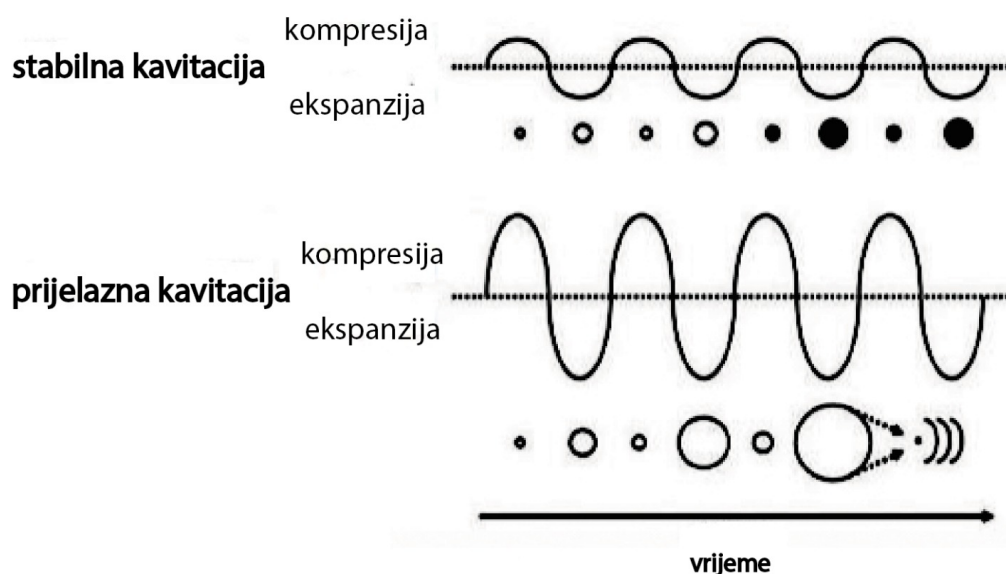
Ultrazvučni valovi širenjem kroz različite medije uzrokuju promjene koje dovode do zagrijavanja uzorka, kavitacije, turbulencija i dr.. Primjena ultrazvuka također dovodi do ubrzanja kemijskih reakcija zbog povećanog gibanja molekula, miješanja i prijenosa mase. Općenito, da bi nastao zvučni val potreban je izvor vibracija visoke energije te pogodan medij kroz koji prolazi val. Tekućina je uglavnom taj medij, budući da samo u njoj može doći do pojave kavitacije (Mason i Lorimer, 2002). Ultrazvuk visokog intenziteta, prilikom nastanka kavitacije uzrokuje trajnu fizikalno – kemijsku promjenu medija (Brnčić i sur., 2009), do koje dolazi zbog fluktuacije tlaka te posljedično dolazi do stvaranja, rasta i snažne implozije mjehurića u tekućini (Suslick, 1998).

Tijekom procesa sonifikacije, prilikom doticaja ultrazvučnog vala s tekućim medijem, nastaju longitudinalni valovi. Longitudinalni valovi stvaraju naizmjenične cikluse ekspanzije pri čemu se stvara negativan tlak i molekule se međusobno udaljavaju, odnosno dolazi do povećanja prosječne udaljenosti i cikluse kompresije gdje se molekule međusobno približavaju tj. dolazi do smanjenja prosječne udaljenosti u mediju. U slučaju dovoljno visokog intenziteta ultrazvuka dolazi do formiranja kavitacijskih mjehurića plina u ekspanzijskom ciklusu. Ukoliko dođe do takve pojave smanjenja tlaka da razmak između molekula prijeđe kritičnu vrijednost. Volumen mjehurića raste sve dok traje sniženje tlaka, odnosno kako dolazi do porasta negativnog tlaka. Do te pojave dolazi ako nastali negativan tlak prevlada lokalnu vlačnu čvrstoću tekućine, što ovisi o prirodi tekućine i njenoj čistoći (Mason i Lorimer, 2002).

Samo djelovanje kavitacije može uzrokovati brzo i potpuno odzračivanje, što dovodi do stvaranja slobodnih radikala zbog kojih može inicirati različite kemijske reakcije. Isto tako u određenim situacijama može inaktivirati enzime i mikroorganizme, te povećati stupanj emulgiranja i homogenizacije (Rahman, 1999).

Ovisno o tipu mjehurića, ultrazvučna kavitacija može biti stabilna i prijelazna (Slika 5). Prijelazna kavitacija, također se naziva i inercijska kavitacija, gdje su mjehurići ili prazni ili ispunjeni parom. Nastanak ovakvih mjehurića odvija se pri intenzitetima većim od 1 Wcm^{-2} i pri nižim frekvencijama ultrazvuka. Životni vijek takvih mjehurića je jedan ili više zvučnih ciklusa, tijekom čega postoji mogućnost proširenja u promjeru najmanje dvostruko od svoje početne veličine. No s druge strane, životni vijek ovih mjehurića nije dovoljno dugačak da bi došlo do bilo kakvog prijenosa mase, pa upravo zbog nedostatka plina koji bi ublažio imploziju, raspad im je vrlo snažan i intenzivan (Bosiljkov i sur., 2011; De Castro i Capote, 2007; Gogate, 2007). Stabilna ultrazvučna kavitacija se također naziva neinercijska

kavitacija. Neinerijsku kavitaciju karakteriziraju stabilni mjehurići koji obično sadrže plin i paru, a nastaju pri niskim intenzitetima ultrazvuka $1 - 3 \text{ Wcm}^{-2}$. Značajka ovih mjehurića je oscilacija oko ravnotežne veličine tijekom mnogobrojnih zvučnih ciklusa. Za razliku od mjehurića inercijske kavitacije, njihov vijek trajanja je dovoljno dugačak da dođe do prijenosa mase, tj. da dođe dodifuzije plina i pare. Tijekom faze ekspanzije ciklusa dolazi do difundiranja plina iz tekućine u mjehurić, dok se u fazi kompresije plin difundira iz mjehurića u tekućinu. Iz razloga što je granična površina veća u fazi ekspanzije, unutarnja difuzija je veća od vanjske, što na kraju rezultira rastom mjehurića (De Castro i Capote, 2007; Leighton, 1998).

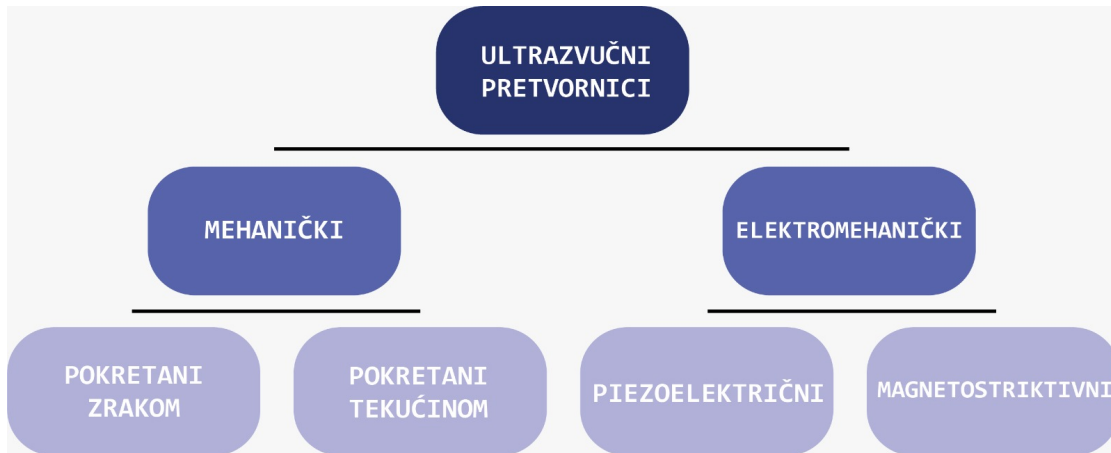


Slika 5. Stabilna ili prijelazna kavitacija (Newman i Bettinger, 2007)

Tipovi mjehurića nisu isključivo stabilne ili prijelazne kategorije. Budući da, tijekom rasta mjehurića dolazi do promjene uvjeta u mediju, te u određenim situacijama stabilni mjehurić može postati prijelazni i raspasti se. Kolaps mjehurića će u ovom slučaju biti manje snažan od onog ispunjenog parom jer će implozija biti ublažena plinom (Leighton, 1998; Ketterling i Apfel, 1998).

2.2.4. Nastajanje ultrazvuka

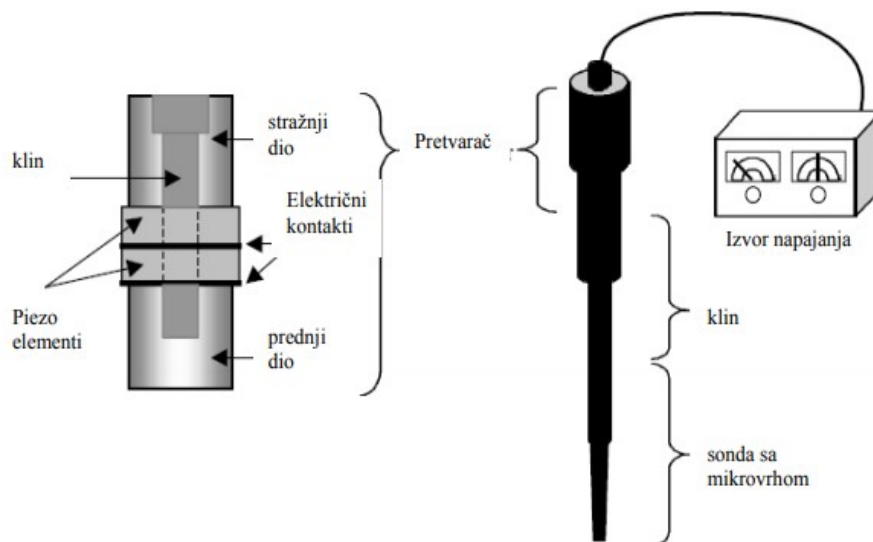
Potrebne su dvije osnovne komponente kako bi nastao ultrazvučni val, medij kojim se zvuk širi i izvor visokoenergetskih vibracija. Kao što je ranije u tekstu spomenuto, medij je uvijek tekući, budući da se kavitacija može odvijati jedino u tekućinama. Kao izvor vibracije koristi se pretvornik koji pretvara mehaničku ili električnu energiju u zvuk visoke frekvencije (Mason i Lorimer, 2002).



Slika 6. Podjela ultrazvučnih pretvornika (Torley i Bhandari, 2007)

Dva osnovna tipa ultrazvučnih pretvornika su mehanički i elektromehanički (Slika 6). Mehanički pretvornici rade na principu koji se bazira na protoku tekućine ili plina kroz rotor, turbinu ili zviždaljku pri čemu nastaje ultrazvuk. Elektromehanički pretvornici djeluju na principu elektrostrikcije koju posjeduju samo određeni materijali (Torley i Bhandari, 2007).

Tip pretvornika koji se najčešće koristi u ultrazvučnim uređajima je elektromehanički piezoelektrični pretvornik (Slika 7). Električna snaga, u takvim uređajima, djeluje kao pokretač stvaranja ultrazvučnih valova. Takav ultrazvučni sustav sastoji se od generatora, čija je funkcija pretvorbe električne energije 50 – 60 Hz u visoku frekvenciju izmjenične struje što iznosi $>20\text{kHz}$ i pretvarača koji pretvara nastalu visoku frekvenciju izmjenične struje u mehaničke vibracije (Mason i Povey, 1998). Visoka frekvencija ima električno polje unutar kojeg dolazi do uzajamnog privlačenja i polarizacije molekula koju omogućava izmjenična struja visoke frekvencije putem dviju elektroda, kao posljedica toga javlja se deformacija piezoelektričnog materijala i fluktuacije u dimenzijama, te isto tako dolazi do stvaranja električnog naboja na površini samog materijala. Nakon što nastanu mehaničke vibracije, zvučni valovi se dalje prenose kroz pojačalo do sonde koja ih tada prenosi na sam tretirani medij (Kost i Wolloch, 2006; Knorr i sur., 2004).



Slika 7. Ultrazvuk visokog intenziteta u obliku sonde s piezoelektričnim pretvaračem (Mason, 1998)

2.2.5. Primjena ultrazvuka u prehrambenoj industriji

Danas je korištenje ultrazvuka u prehrambenoj industriji i prehrambenoj tehnologiji jedan od glavnih predmeta istraživanja i primjene. Razlikujemo ultrazvuk niskog intenziteta koji se koristi kao dijagnostička metoda za detaljno određivanje svojstava prehrambenih sirovina i proizvoda, dok se ultrazvuk visokog intenziteta koristi kao tehnika kojom se mijenjaju određena fizikalno-kemijska svojstva, ultrazvuk visokog intenziteta predstavlja razornu metodu, dok je ultrazvuk niskog intenziteta nerazorna metoda (Brnčić i sur.,2009).

Mehaničkim djelovanjem, ultrazvuk osigurava poboljšanu ekstrakciju koja se može provoditi klasičnim putem. Također je uočen bolji prolazak otapala u stanicu, poboljšani prijenos mase, te razbijanje stjenki stanica u materijalima biljnog porijekla, što na kraju omogućuje lakše otpuštanje/izolaciju staničnih sastojaka (Ruiz i sur.,2003).

Čišćenje je jedna od glavnih metoda za koje se danas primjenjuje ultrazvuk u industriji, budući da se dokazalo ranije provedenim istraživanjima da je to izuzetno učinkovita tehnologija. Također se primjenjuje kod dekontaminacije površine gdje je pritisak tekućine, koji prati kavitacijski kolaps u blizini površine, nesimetričan. Upravo zbog toga površina onemogućava proboj tekućine s te strane, pri čemu snažni mlaz tekućine koji nastaje kao rezultat glavnog toka s druge strane mjehurića, uklanja nečistoće i bakterije s površine.

Između ostalog može doseći i pukotine koje su konvencionalnim metodama čišćenja ne dostižne. Danas se ultrazvuk najviše primjenjuje za pasterizaciju, sterilizaciju i dekontaminaciju instrumenata i sterilnih površina u prehrambenoj industriji (Brnčić i sur.,2009).

Korištenje ultrazvuka nameće se kao nova i unaprijeđena tehnologija sa širokom primjenom u prehrambenoj industriji. I ultrazvuk niskog i visokog intenziteta pokazuju značajan potencijal u određivanju svojstava, sustava i gotovih prehrambenih proizvoda. Neke od glavnih primjena nerazornog ultrazvuka su otkrivanje stranih tijela, određivanje visine nivoa kapljevine i brzina protoka kapljevine u cijevima. Paralelno s razvojem ultrazvuka niskog intenziteta, sve više se razvija i ultrazvuk visokog intenziteta, te isto tako pronalazi svoju primjenu u prehrambenoj industriji. No, za razliku od ultrazvuka niskog intenziteta, djelovanjem ultrazvuka visokog intenziteta dolazi do stvaranja visokog tlaka, temperaturnog gradijenta i smicanja unutar samog prehrambenog sustava, što značajno može utjecati na prvobitnu strukturu materijala, te kao posljedica mogu se stvoriti neke kemijske reakcije. Danas se uvelike koristi za stimuliranje reakcija oksidacije, razaranje mikroorganizama, inhibiciju enzima, zvučno potpomognutu difuziju i ultrazvučno potpomognutu kristalizaciju. Jedna od glavnih prednosti ultrazvuka visokog intenziteta jest mogućnost unaprijeđenja obrade hrane u smislu dobivanja proizvoda boljih senzorskih svojstava, veće nutritivne vrijednosti, također se može znatno uštedjeti energija i na kraju skratiti trajanje samog procesa proizvodnje (Brnčić i sur.,2009).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

U izradi ovog završnog rada, korišten je svježi sok od mrkve. Pripremljen je iz sirove mrkve pomoću sokovnika „Bosch“ filtrom promjera 0,5 mm. Volumen uzorka od 150 ml prije obrade termostatiran je na 20 °C.

3.2. Metode rada

Sok od mrkve obrađen je ultrazvukom visokog intenziteta i nakon obrade određena su slijedeća fizikalna svojstva: temperatura, apsorbancija, apsorbancija nakon 24 sata, viskoznost, gustoća i raspodjela veličine čestica. Na spektrofotometru „Konica Minolta CM3500d“ određivala se apsorbancija pri 360 nm. Gustoća se mjerila na uređaju za mjerenje gustoće „Mettler Toledo Density Meter DE 40“, a viskoznost na uređaju za mjerenje viskoznosti „Fungilab“. Raspodjela veličine čestica određena je naprednom laserskom metodom na laserskom analizatoru za raspodjelu veličine čestica „Malvern Mastersizer 2000“.

3.2.1. Obrada soka od mrkve ultrazvukom

U obradi soka od mrkve korišten je ultrazvučni procesor „dr. Hielscher“ oznake UP 100H maksimalne nominalne snage od 100W. Uzorak volumena 150 mL i obrađen je u laboratorijskim čašama od 200 mL. Provedena su mjerenja pri vrijednostima amplitude od 20, 60 i 100% u vremenu od 2, 6 i 10 minuta, sa sondama promjera 7, 10 i 14 mm. Dubina urona sonde iznosila je 3 cm. Ciklus je tijekom svih mjerenja bio 1.

3.2.2. Mjerenje temperature

Mjerenje temperature provodilo se svakih 30 sekundi u vremenskom periodu od 2, 6 i 10 minuta. Uređaj korišten za mjerenje je infracrveni mjerač temperature „Raytek“ koji radi u temperaturnom području [(- 30) – 200°C]. IR zraku potrebno je usmjeriti na mjereni uzorak, pri čemu se na ekranu uređaja direktno očitava temperatura.

3.2.3. Određivanje apsorbancije

Apsorbancija je mjerena spektrofotometrom uređajem „Konica Minolta CM3500d“, Japan (Slika 8). Prije samog mjerenja bilo je potrebno kalibrirati uređaj upotrebom destilirane vode. Mjerali su se uzorci pri temperaturi od 20°C u staklenoj kiveti promjera 1 cm, napunjene uzorkom do oznake. Mjerila se apsorbancija pri 360 nm (A_{360}) nakon obrade ultrazvukom i nakon 24 sata. Obrada rezultata vršila se pomoću računalnog programa „SpectraMagix™ NX Ver. 1.7.“, „Color Dana Software CM – S 100W“.



Slika 8. Kolorimetar KONICA-MINOLTA CM-3500-d, Japan (Konica Minolta, 2018)

3.2.4. Određivanje viskoznosti

Za mjerenje prividne viskoznosti korišten je uređaj „Fungilab“ sa rotacionim elementom oznake L2 i pripadajućim mjernim intervalom viskoznosti (Slika 9). Za svaki uzorak mjerila se viskoznost pri različitim smičnim brzinama: 50,60 i 100 RPM – a. Mjerenje se provodi u staklenoj čaši volumena 200 ml pri čemu je važno da je rotacioni element u potpunosti uronjen u uzorak.



Slika 9. Uređaj za mjerenje viskoznosti „Fungilab“ (Fungilab, 2018)

3.2.5. Određivanje gustoće

Gustoća je mjerena uređajem „Mettler Toledo Density Meter DE 40“, Švicarska (Slika 10). Radi veće točnosti mjerenja, U – cijev uređaja se prije svakog mjerenja ispire destiliranom vodom. Uzorak se u sam uređaj unosi pomoću plastične šprice, nakon čega slijedi mjerenje gustoće, a dobivena vrijednost očitava se na zaslonu uređaja nakon automatske korekcije temperature na 20°C.



Slika 10. Uređaj za mjerenje gustoće „Mettler Toledo Density Meter DE 40“, Švicarska (MT, 2018)

3.2.6. Određivanje raspodjele veličine čestica

Raspodjela veličine čestica određivala se neposredno nakon obrade ultrazvukom. Korišten je uređaj Mastersizer 2000 (Slika 11). Uzorak se uvodi pomoću šprice u optički sustav unutar kojeg se snima spektar raspršene svjetlosti, pri čemu prolazi kroz mjernu ćeliju na koju je usmjerena laserska zraka. Dolazi do raspršivanja svjetlosti u obrnuto proporcionalnom kutu u odnosu na veličinu čestica, dok se intenzitet svjetlosti mjeri fotoosjetljivim detektorima. Unutar svakog mjerenja uređaj bilježi oko 2000 snimaka, koje zatim uspoređuje i izračunava srednju vrijednost. Dobiveni rezultati se obrađuju koristeći 2 teorije, a to su „Fraunhoferova“ ili „Mie“ teorija. Osim He – Ne lasera (svjetlost crvene boje), izvorom plave svjetlosti manje valne duljine povećana je osjetljivost što povećava mjerni raspon na 0,02 do 2000 μm .



Slika 11. „Malvern Mastersizer 2000“ s vanjskom jedinicom Hydro 2000S (Malvern Panalytical, 2018)

3.2.7. Statistička obrada rezultata

Rezultati su obrađeni programom „Statistica 12“. Analizom varijance (ANOVA) određena je statistička značajnost utjecaja procesnih parametara, te je izražena preko p – vrijednosti. U obzir su uzeti svi rezultati koji imaju ANOVA, p – vrijednost nižu od 0,05 tj. s 95 % –tnom razinom značajnosti. Brojčanom vrijednosti β – standardiziranog koeficijenta utjecaja, očitano iz „Pareto“ dijagrama, izražen je utjecaj procesnih parametara na promatranu veličinu.

4. REZULTATI I RASPRAVA

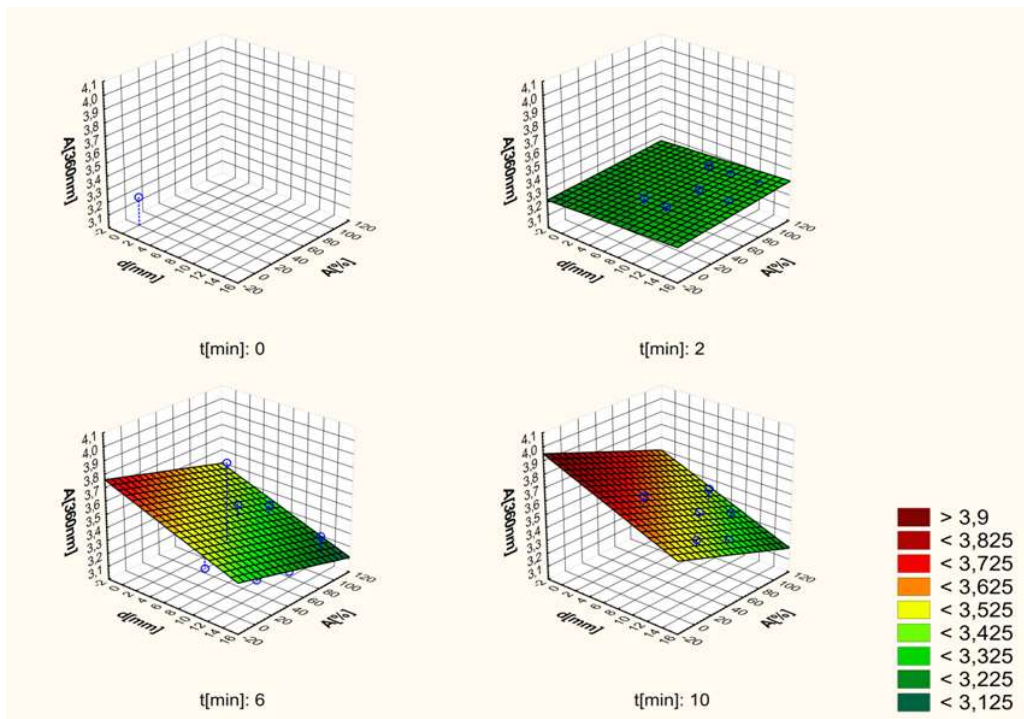
U ovom završnom radu ispitan je utjecaj procesnih parametara ultrazvuka visokog intenziteta pri punom ciklusu: amplituda, promjer sonde i vrijeme obrade. Rezultati su prikazani putem 3D – kategorijskih dijagrama kako bi se što preciznije naglasile promjene promatranih fizikalnih svojstava soka od mrkve. Kod svake pripadajuće kategorizacije oznakom „0“ prikazane su referentne vrijednosti pojedinog fizikalnog svojstva.

Rezultati su kategorizirani prema provedenim ispitivanjima s naglaskom na statističke utjecaje, od kojih se najviše ističu promjeri sonde, vrijeme obrade uzorka i amplituda.

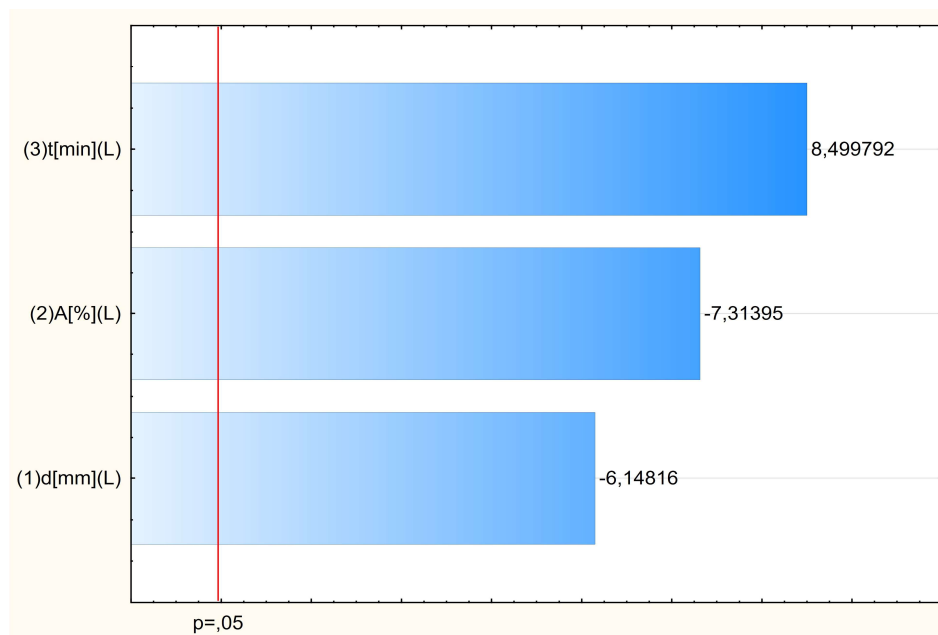
Na Slikama 12 – 21 prikazani su rezultati utjecaja ultrazvuka na apsorbanciju, apsorbanciju nakon 24 sata, temperaturu, viskoznost i gustoću. Radi boljeg razumijevanja i interpretacije dobivenih rezultata utjecaj procesnih parametara na promjenu vrijednosti apsorbancije (A_{360}) i apsorbancije (A_{360}) nakon 24 sata prikazani su odgovarajućim Pareto dijagramom (Slike 13 i 15).

Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na raspodjelu veličine čestica prikazan je Slikama 22 – 25 , tj. prikazan je odnos relativne učestalosti (frekvencijske krivulje) o promjeru veličine čestica soka od mrkve. Oznake uzoraka predstavljaju Amplitudu [%]_Vrijeme obrade [min]_Promjer sonde [mm]

Tablično su prikazane vrijednosti β – koeficijenta za sva određena fizikalna svojstva sa statističkom značajnošću $p < 0,05$ (Tablica 1).

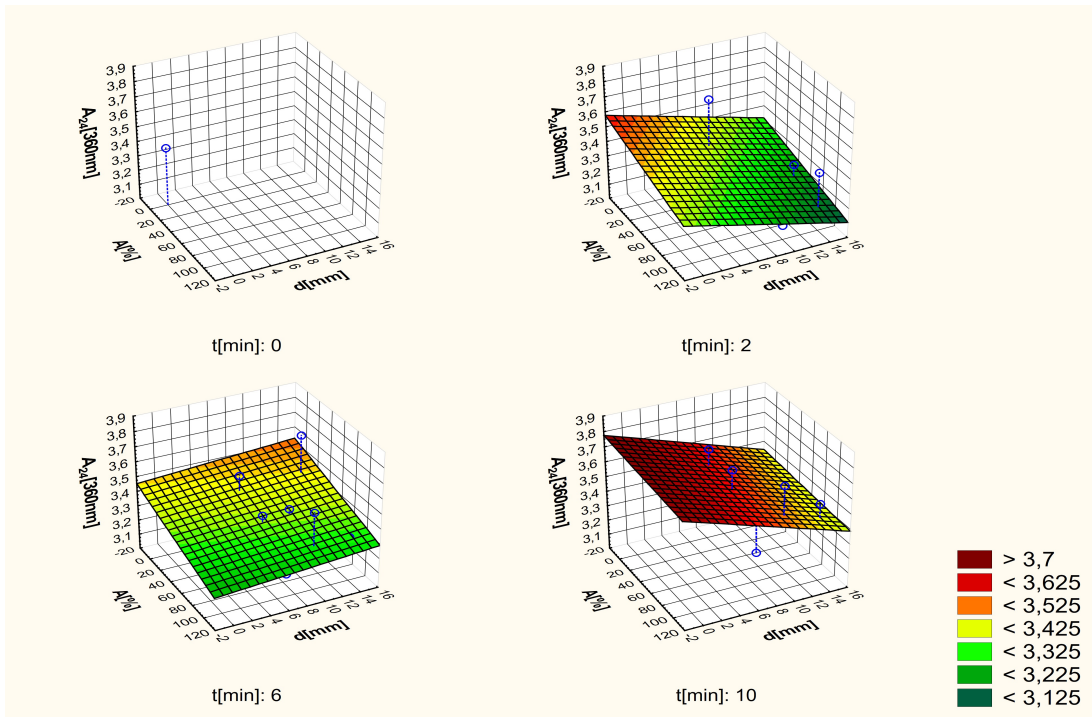


Slika 12. Grafički prikaz utjecaja promjera sonde i amplitude na promjenu **apsorbancije** (A_{360}) kategorizirano prema vremenu obrade.

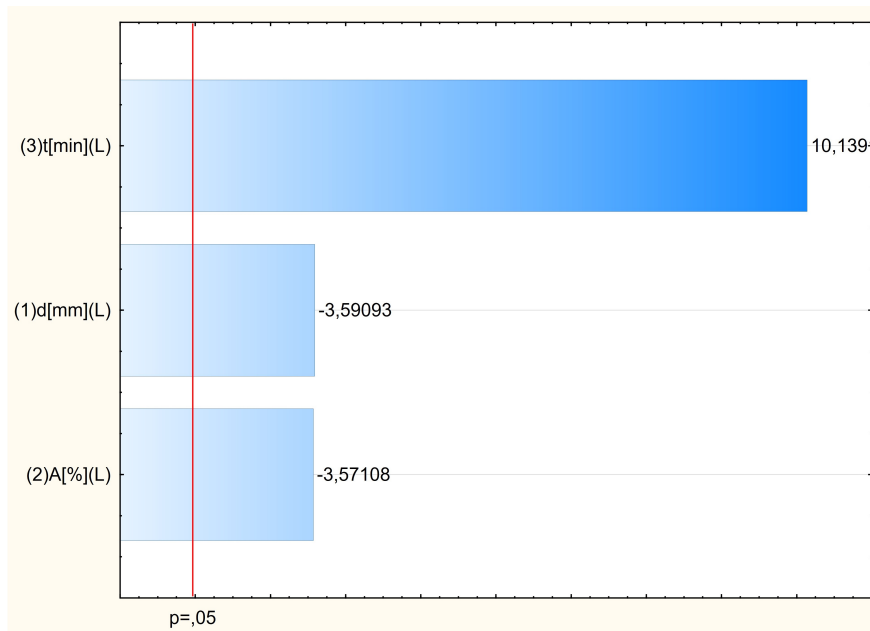


Standardizirani efekt utjecaja (β)

Slika 13. Pareto dijagram – utjecaj vremena obrade, amplitude i promjera sonde na vrijednost **apsorbancije** (A_{360}) izraženog preko standardiziranog efekta utjecaja (β).

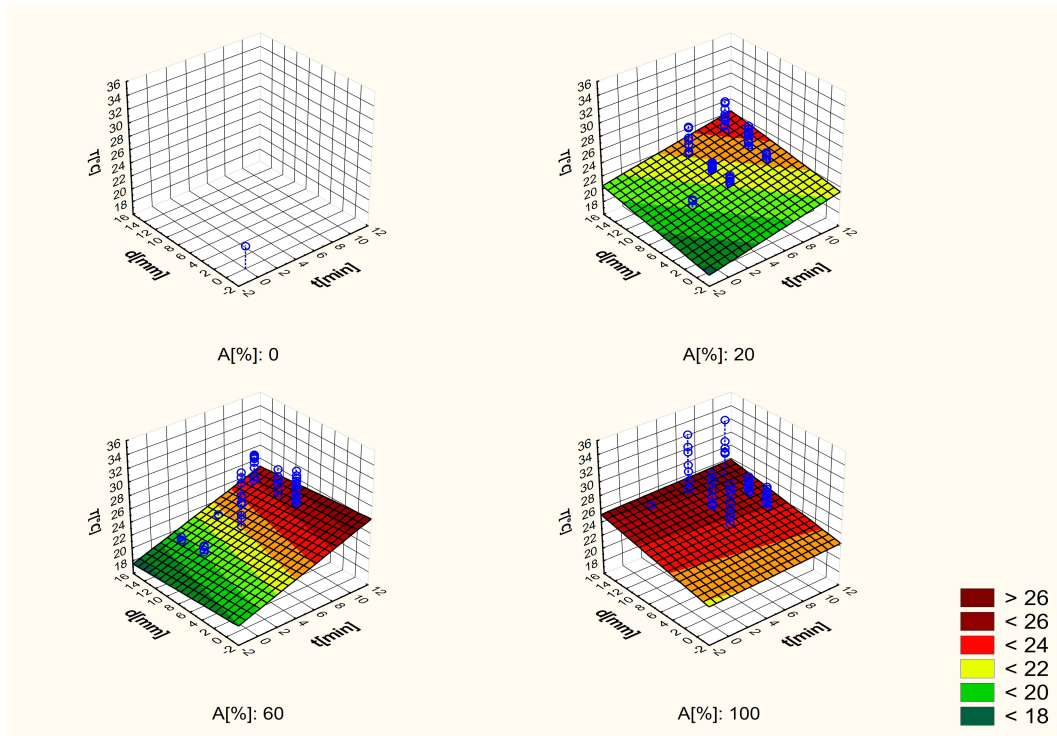


Slika 14. Grafički prikaz utjecaja amplitude i promjera sonde na **apsorbanciju (A_{360}) nakon 24 h** kategorizirano prema vremenu obrade.

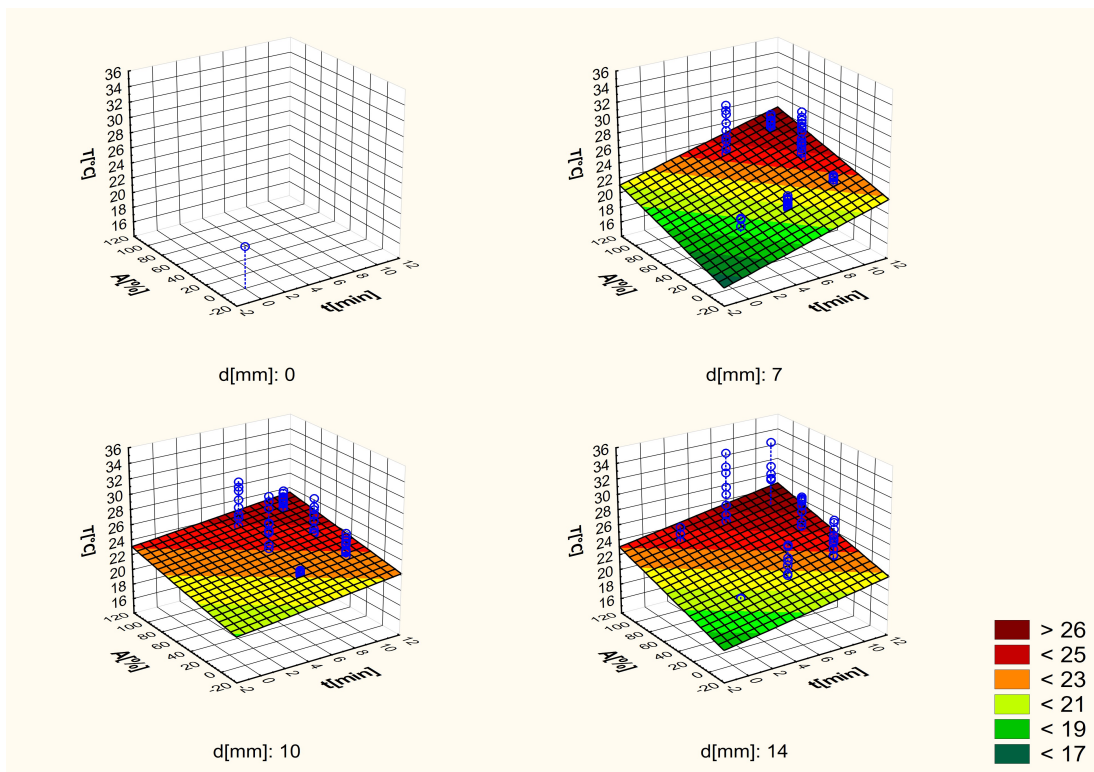


Standardizirani efekt utjecaja (β)

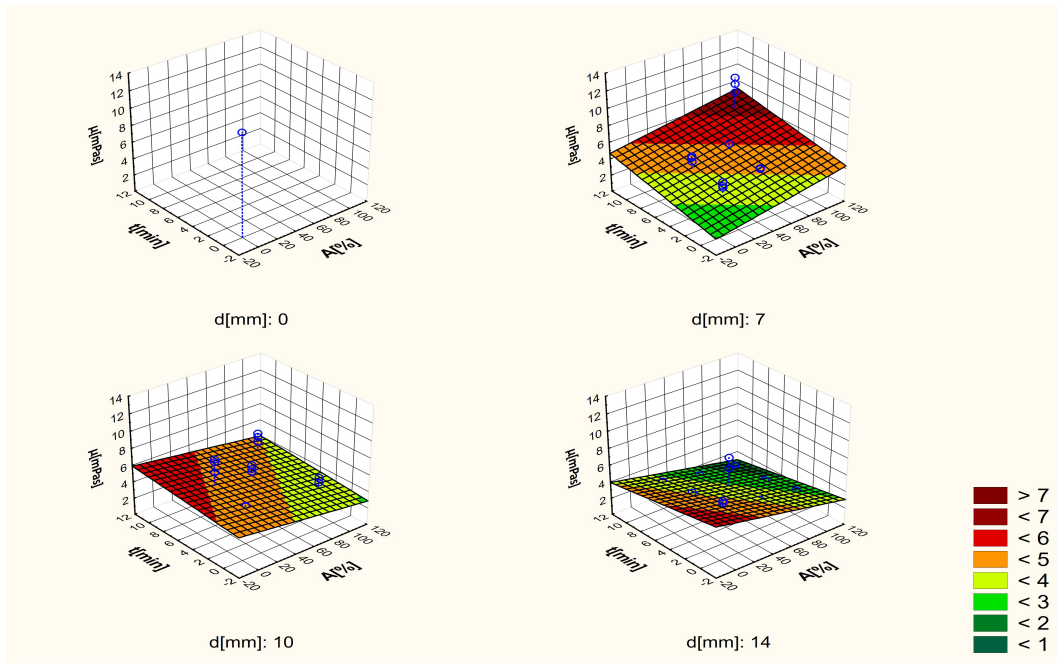
Slika 15. Pareto dijagram – utjecaj vremena obrade, amplitude i promjera sonde na vrijednost **apsorbancije (A_{360}) nakon 24 sata** izraženog preko standardiziranog efekta utjecaja (β).



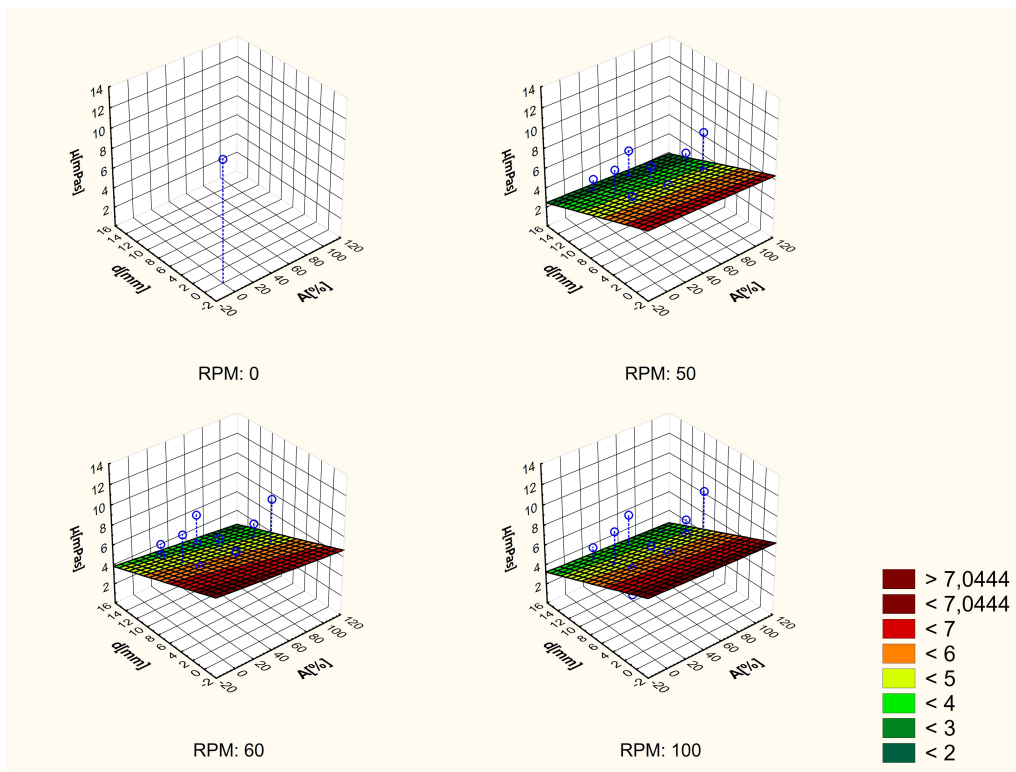
Slika 16. Grafički prikaz utjecaja promjera sonde i vremena obrade uzorka na promjenu **temperature (°C)** kategorizirano prema amplitudi.



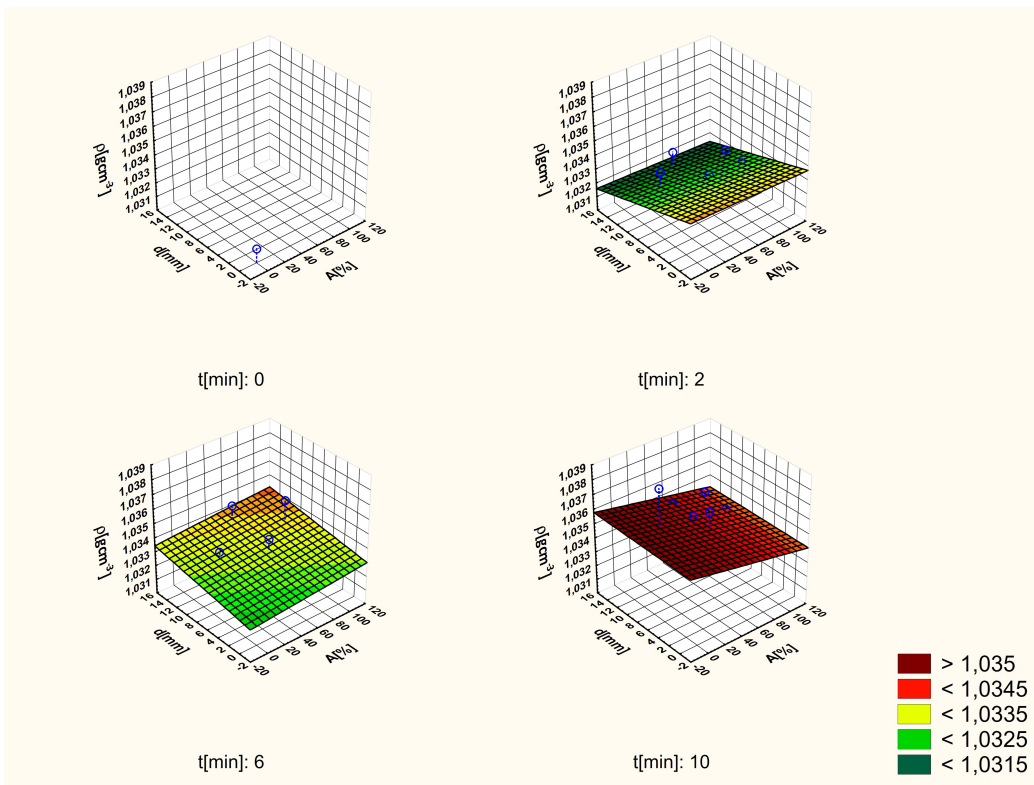
Slika 17. Grafički prikaz utjecaja amplitude i vremena obrade uzorka na promjenu **temperature (°C)** kategorizirano prema promjeru sonde.



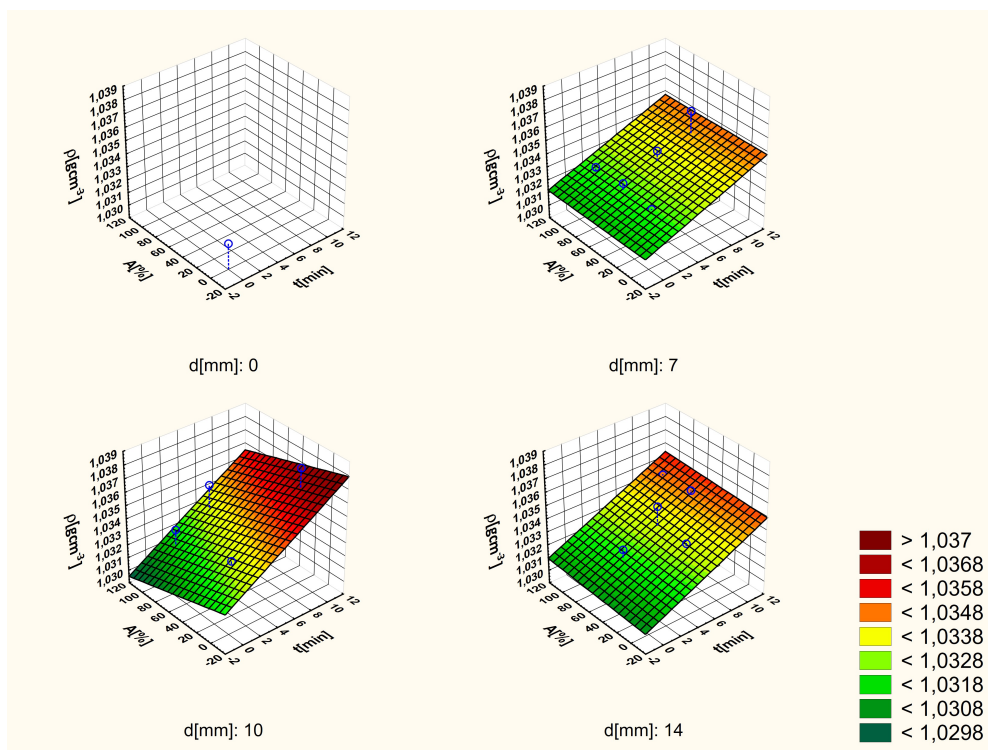
Slika 18. Grafički prikaz utjecaja vremena obrade uzorka i amplitude na promjenu **viskoznosti (mPas)** kategorizirano prema promjeru sonde.



Slika 19. Grafički prikaz utjecaja promjera sonde i amplitude na promjenu **viskoznosti (mPas)** kategorizirano prema brzini smicanja.



Slika 20. Grafički prikaz utjecaja promjera sonde i amplitude na promjenu **gustoće** (gcm^{-3}) kategorizirano prema vremenu obrade.



Slika 21. Grafički prikaz utjecaja amplitude i vremena obrade uzorka na promjenu **gustoće** (gcm^{-3}) kategorizirano prema promjeru sonde.

Tablica 1. Prikaz utjecaja amplitude, vremena obrade, promjera sonde na promjene temperature, gustoće, prividne viskoznosti, apsorbancije i apsorbancije nakon 24 sata sa statističkom značajnošću ($p < 0,05$), izraženih preko standardiziranih koeficijenata utjecaja [β].

Parametri ultrazvuka/Fizikalno svojstvo	A(%)	t (min)	d _{sonde} (mm)
T [°C]	6,445	4,881	1,588
ρ [gcm ⁻³]	-2,601	14,944	0,588
μ [mPas]	-1,605	0,173	-5,213
A ₃₆₀	-7,314	8,500	-6,148
A ₂₄ ₃₆₀	-3,571	10,139	-3,591

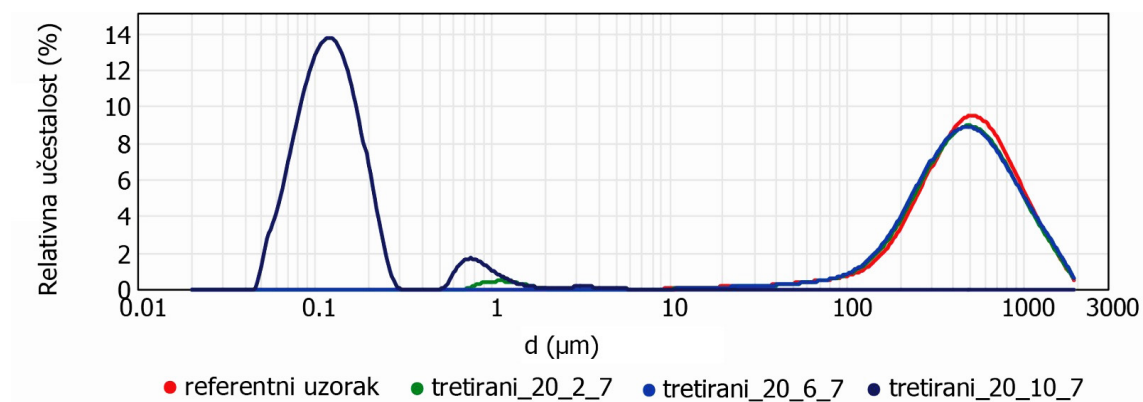
Neznatne razlike u izmjerenim vrijednostima apsorbancije i apsorbancije nakon 24 sata ukazuju na veliku stabilnost tako obrađenih uzoraka. Razina pojedinih utjecaja procesnih parametara najbolje se primjećuje na Pareto dijagramima (Slike 13 i 15) tj. bliskim vrijednostima razine β – standardiziranog koeficijenta utjecaja. Pozitivan utjecaj na povećanje apsorbancije i apsorbancije nakon 24 sata vidljiv je iz pozitivnih vrijednosti β koji se kreću u intervalu od 8,5 – 10,1 (Tablica 1).

Na utjecaj temperature najveći utjecaj imala je amplituda i vrijeme obrade gdje su najviše temperature izmjerene nakon 10 minuta obrade (Slika 16). Suprotno očekivanom, temeljeno na prethodnim spoznajama utjecaja implodirajućeg kavitacijskog mjehurića u disperznim sustavima povećanje promjera sonde ima negativan trend, tj. dovode do smanjenja temperaturnog maksimuma (Bosiljkov i sur., 2011; Karlović i sur., 2014). Budući da brzina smicanja tijekom mjerenja prividne viskoznosti nije pokazala statistički značajan utjecaj ($p > 0,05$) možemo zaključiti da uzorak ima trend prema kapljevini koju opisuju Newtonski fluidi. Nešto veće izmjerene vrijednosti gustoće u odnosu na standardne newtonske fluide kao što su voda i mlijeko ipak ukazuju na veći koeficijent atenuacije u promatranom sustavu i posljedično slabije raspršenje ultrazvučnog vala i energije što se u konačnici najbolje vidi iz razlika odnosa trenutne primijenjene nominalne snage ultrazvučnog procesora i sondi različitog promjera (Slika 17).

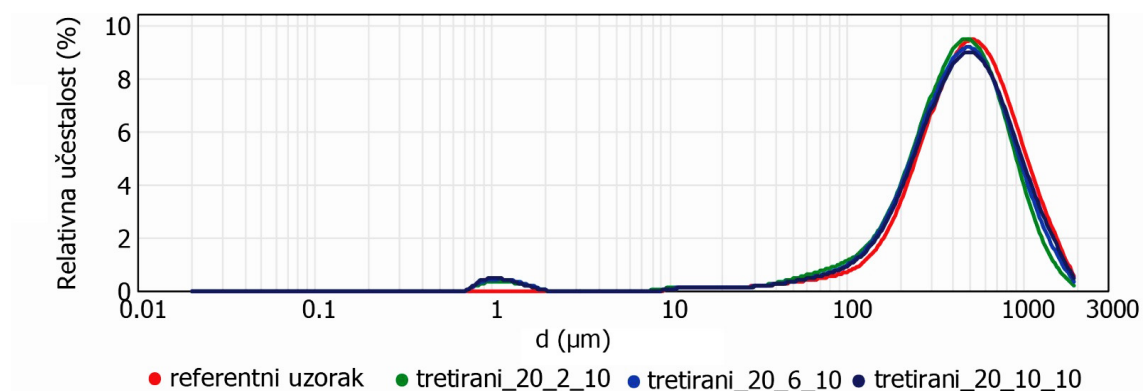
Povećanje brzine smicanja (Slika 19) nije dovelo do značajne promjene vrijednosti prividne viskoznosti ali je zanimljiv utjecaj povećanja promjera sonde koji dovodi do

statistički značajnog smanjenja ove veličine. Pozitivni utjecaj negativne vrijednosti β – koeficijenta ukazuje na smanjenje prividne viskoznosti primjenom sonde od 14 mm (Slika 18). Veći promjer sonde producira manje izlazne intenzitete ali pokriva veću površinu uzorka u konusnoj površini sonde.

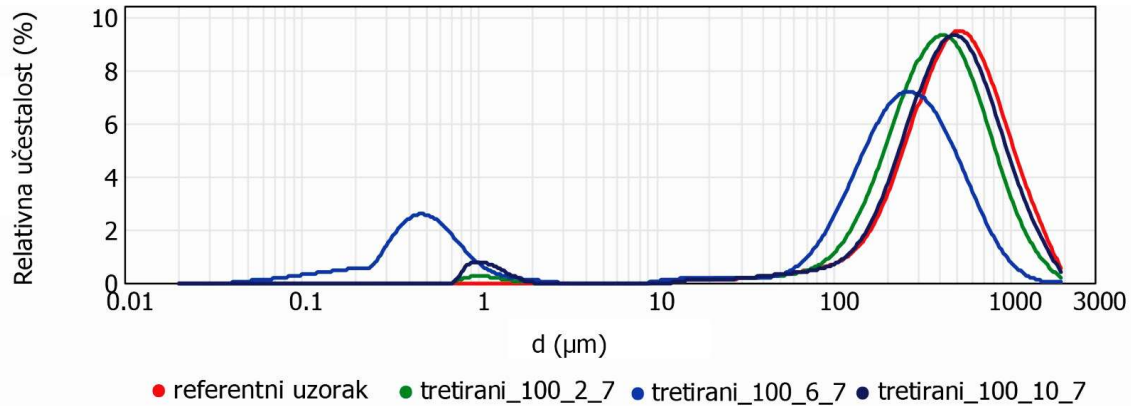
Očekivano, veći promjer sonde ne dovodi do značajne promjene vrijednosti gustoće soka od mrkve, ali vrijeme obrade (10 minuta) dovodi do statistički značajnog povećanja vrijednosti gustoće izraženog preko najveće dobivene vrijednosti $\beta = 14,994$ (Slika 20 i Slika 21).



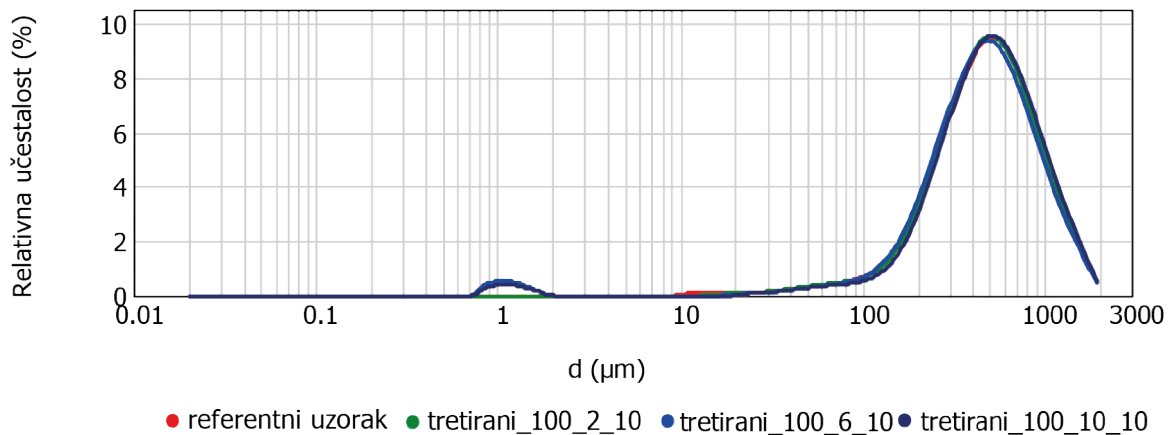
Slika 22. Raspodjela veličine čestica (µm) pri amplitudi od 20% sa sondom 7 mm u vremenu obrade od 2, 6 i 10 minuta u ovisnosti o relativnoj učestalosti (%)



Slika 23. Raspodjela veličine čestica (µm) pri amplitudi od 20% sa sondom 10 mm u vremenu obrade od 2, 6 i 10 minuta u ovisnosti o relativnoj učestalosti (%)



Slika 24. Raspodjela veličine čestica (μm) pri amplitudi od 100% sa sondom 7 mm u vremenu obrade od 2, 6 i 10 minuta u ovisnosti o relativnoj učestalosti (%).



Slika 25. Raspodjela veličine čestica (μm) pri amplitudi od 100% sa sondom 10 mm u vremenu obrade od 2, 6 i 10 minuta u ovisnosti o relativnoj učestalosti (%).

Sukladno prethodno prikazanim utjecajima na promjenu fizikalnih svojstava moguće je primijetiti sinergistički utjecaj promjene fizikalnih svojstava na raspodjelu veličine čestica u obrađenom uzorku. Iz Tablice 1 vidljivo je da povećanje promjera sonde nema utjecaja na povećanje vrijednosti apsorbancije kao ni apsorbancije nakon 24 sata. Isti utjecaj vidljiv je iz usporedbe frekvencijskih krivulja raspodjele veličine čestica (Slika 22 i Slika 23) gdje se pri maksimalnom vremenu obrade sondom promjera 7 mm povećava udio čestica manjeg promjera u intervalu od 0,05 – 0,5 μm koji dovodi do povećanja vrijednosti apsorbancije. Generalno gledajući, najveća je relativna učestalost čestica u intervalu od 120 – 1905 μm kod obje sonde. Sličan utjecaj sonde promjera 7 mm primijećen je i kod maksimalne vrijednosti amplitude gdje je udio čestica manjeg promjera izraženiji pri vremenu obrade od 6 minuta (Slika 24 i Slika 25).

5. ZAKLJUČCI

1. Niže vrijednosti amplitude (20 %) dovode do promjene svih promatranih fizikalnih svojstava osim temperature.
2. Vrijeme obrade se pokazalo kao najmjerodavniji parametar koji dovodi do najizraženijih promjena promatranih fizikalnih svojstava osim kod prividne viskoznosti gdje povećanje promjera sonde dovodi do njegovog smanjenja.
3. Brzine smicanja nemaju statistički značajan utjecaj na promjenu prividne viskoznosti što ukazuje da sok od mrkve ima Newtonski karakter.
4. Manje vrijednosti izlaznih intenziteta primjenom sonde većih promjera utječu na povećanje vrijednosti gustoće.
5. Frekvencijske krivulje ukazuju da se pri nižim vrijednostima amplitude sondom promjera 7 mm povećava udio čestica manjeg promjera i kreće se u intervalu 0,05 – 0,5 μm . Ista raspodjela veličine čestica dobije se i pri maksimalnoj amplitudi što ukazuje na mogućnost minimalnog utroška energije sa ciljem dobivanja soka sa prihvatljivim fizikalnim svojstvima velike stabilnosti.

6. LITERATURA

- Anonymus Carrot Museum <<http://www.carrotmuseum.co.uk/carrotroot.html>> Pristupljeno 21. svibnja 2018.
- Brnčić, M., Tripalo, B., Penava, A., Karlović, D., Ježek, D., Vikić Topić, D., Karlović, S., Bosiljkov, T. (2009) Primjena ultrazvuka visokog intenziteta pri obradi hrane. hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju biotehnologiju i nutricionizam 4: 32-37.
- Bosiljkov, T., Tripalo B., Brnčić M., Ježek D., Karlović S., Jagušć I. (2011) Influence of high intensity ultrasound with different probe diameter on the degree of homogenization (variance) and physical properties of cow milk. African Journal of Biotechnology **10** (1): 34 – 41.
- De Castro, L.M.D., Capote, P.F. (2007) Analytical applications of ultrasound. Elsevier Science, Langford Lane, Oxford, Great Britain.
- Dickinson, E., McClements, D.J., (1995) Advances in food colloids. Springer science & Business media, Berlin, Njemačka.
- Erenturk, S., Erenturk, K., (2007) Comparison of genetic algorithm and neural network approaches for the drying process of carrot. Journal of Food Engineering, Elsevier Science, Langford Lane, Oxford, Great Britain.
- Fungilab (2018) Fungilab, Leading viscosity technology <<http://www.fungilab.com/products/rotational-viscometers/master-series>> Pristupljeno 25. svibnja 2018.
- Gogate P.R., (2007) Application of cavitation reactors for water disinfection: current status and path forward. J. Environ Manage 85:801 – 815.
- Jewett, J.W., Serway, R.A., (2008) Physics for scientists and engineers with modern physics, 7: 474 – 491.
- Karlović, S., Bosiljkov, T., Brnčić, M., Semenski, D., Dujmić, F., Tripalo, B., Ježek, D. (2014) Reducing Fat Globules Particle – Size in Goat Milk: Ultrasound and High Hydrostatic Pressures Approach, Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 28: 499 – 507.
- Ketterling, J. A., Apfel, R. E. (1998) Experimental validation of the dissociation hypothesis for single bubbles on luminescence. Physics Review Letters, 81: 4991–4994.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D. U.,(2004) Applications and potential of ultrasonics in food processing. Trends in Food Science & Technology 15: 261–266.

- Konica Minolta (2018) Konica Minolta Sensing Europe B.V. <<https://www.konicaminolta.eu/en/measuring-instruments/products/colour-measurement/discontinued-products/cm-3500d.html>> Pristupljeno 24. svibnja 2018.
- Kost, J., Wolloch, L., (2006) Ultrasound in Percutaneous Absorption, in: E. Touitou and B. Barry W. (Eds.), Enhancement in Drug Delivery, 317-330.
- Krstelj, V., (2003) Ultrazvučna kontrola. Nastavni materijal, Zagreb: Fakultet strojarstva i brodogradnje.
- Leighton, T.G. (1998) An introduction to acoustic cavitation. In F.A. Duck, A.C. Baker, & H.C. Starritt (Eds.), Ultrasound in medicine, medical science series. Bristol, UK: Institute of Physics Publishing, 11. pogl.
- Levaj, B., (2018) Minimalno procesiranje voća i povrća. Nastavni materijal, Zagreb: Prehrambeno – biotehnološki fakultet.
- Mason, T.J. (1998) Power ultrasound in food processing – The way forward. U: Ultrasound in food processing (Povey, M. J. W., Mason, T. J., ured.), Blackie Academic & Professional, London, 103 - 126.
- Mason, T.J., Lorimer, J.P. (2002) Applied Sonochemistry: The Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing. Wiley – VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- Malvern Panalytical (2018) Malvern Panalytical Ltd., Spectris company <<https://www.malvernpanalytical.com/en/support/product-support/mastersizer-range/mastersizer-2000>> Pristupljeno 23. svibnja 2018.
- Matotan, Z., 2004. Suvremeno povrćarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
- MT (2018) Mettler Toledo, MT. <<https://www.mt.com/gb/en/home/phasedoutproducts/PhaseOutAna/DE40.html>>
- Newman, C. M., Bettinger, T. (2007) Gene therapy progress and prospects: ultrasound for gene transfer. The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information.
- Parađiković, N. (2009) Opće i specijalno povrćarstvo. Nastavni materijal, Osijek: Poljoprivredni fakultet.
- Povey, M.J.W., Mason, T.J. (1998) Ultrasound in Food Processing, Blackie Academic & Professional, London.
- Rahman, A. (1999) Micro – credit initiatives for equitable and sustainable development: Who pays?. World Development, 27: 67 – 82.
- Ruiz J., Capote, F., Castro, M.D. (2003) Identification and quantification of trans fatty acids in bakery products by gas chromatography-mass spectrometry after dynamic ultrasound – assisted extraction. Journal of Chromatography, 1045: 203 – 210.

- Suslick, K.S. (1998) Kirk – Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 4. Izd, Wiley, J. & Sons, New York, 26: 517 – 541.
- Torley, P., Bhandari, B. R. (2007). Ultrasound in food processing and preservation. In M. S. Rahman (Ed.), Handbook of food preservation, Boca Raton, FL, USA, 2: 713 – 740.

Izjava o izvornosti

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

Ema Jambrović

Ime i prezime studenta