

Razvoj funkcionalnih proizvoda na bazi rajčice uz dodatak praha komine masline

Marinčić, Ivona

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:159:618858>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-05**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

Ivona Marinčić

**RAZVOJ FUNKCIONALNIH
PROIZVODA NA BAZI RAJČICE
UZ DODATAK PRAHA KOMINE
MASLINE**

Rad je izrađen u Laboratoriju za održivi razvoj na Zavodu za opće programe Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak, te uz pomoć Josipe Dukić, mag. ing.



European
Commission

Horizon 2020
European Union funding
for Research & Innovation

Ovaj rad financiran je sredstvima projekta PRIMA H2020 GA2032, FunTomP—Functionalized Tomato Products (<https://funtomp.com/>). FunTomP je multidisciplinarni projekt koji uključuje 16 zemalja, a koji ima za cilj preformulirati tradicionalne mediteranske proizvode od rajčice, u različite funkcionalne namirnice koristeći proteine lista (nusproizvodi prerade šećerne repe) i maslina u prahu. U projektu se koriste i nove, te ekološki prihvatljive tehnologije prerade koje će minimalno utjecati na hranjive tvari, s dodatnim zdravstvenim prednostima uz održavanje održivog ciklusa proizvoda i procesa te valoriziranjem poljoprivrednog otpada.

This work was financed by the ongoing project PRIMA H2020 GA2032, FunTomP—Functionalized Tomato Products (<https://funtomp.com/>), a multidisciplinary project involving 16 countries, that aims to reformulate traditional Mediterranean tomato products into different functional foods using leaf proteins (by-products of sugar beet processing) and olive powder and novel and eco-friendly processing technologies that will minimally affect nutrients, with extra health benefits while keeping a sustainable product and process cycle and by valorising agricultural waste.

ZAHVALA

Najprije se zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak na prenesenom znanju, stručnom vodstvu i uloženom vremenu i trudu tijekom izrade diplomskog rada. Veliko hvala asistentici Josipi Dukić, mag. ing., na pomoći i smjernicama prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada te na strpljenju i dostupnosti u svakom trenutku izrade ovog rada.

Zahvaljujem se mami i tati na bezuvjetnoj podršci tijekom cijelog studija i na tome što su vjerovali u mene čak kad i ja sama nisam. Hvala mojoj obitelji i prijateljima koji su bili uz mene uz sve moje padove i uspone. Naposljetku, jedno veliko hvala tetku Peri i tetki Miri koji su mi otvorili vrata svojeg doma i svojim društvom uljepšali dane studiranja.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za opće programe
Laboratorij za održivi razvoj

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

RAZVOJ FUNKCIONALNIH PROIZVODA NA BAZI RAJČICE UZ DODATAK PRAHA KOMINE
MASLINE

Ivona Marinčić, univ. bacc. ing. techn. aliment.

0058210385

Sažetak: Cilj istraživanja bio je razviti funkcionalni sok i sos od rajčice uz dodatak praha komine masline čime se poboljšala nutritivna vrijednost proizvoda. Uzorci funkcionalnih proizvoda bili su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta (amplituda od 100 %, 3 minute), *hot break* tretmanom (85 °C, 3 minute) i toplinskim tretmanom (60 °C, 3 minute). Analiza uzoraka je provedena na dan pripreme uzoraka (0. dan) te nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od + 4 °C. Ispitivan je utjecaj provedenih tretmana i vremena skladištenja na fizikalno-kemijske parametre i mikrobiološku stabilnost proizvoda. Tretmanom ultrazvuka postignuto je najveće povećanje koncentracije ukupnih fenola (10,8 %), likopena (101,7 %) i klorofila *b* (80,6 %) u uzorku funkcionalnog soka od rajčice te najveće povećanje koncentracije klorofila *b* (7,2 %) u uzorku funkcionalnog sosa od rajčice. Također, vrijeme skladištenja je imalo značajan utjecaj vrijednost antioksidacijske aktivnosti u uzorcima soka te na koncentraciju klorofila *b* u uzorcima sosa. Međutim, tretman ultrazvukom visokog intenziteta je imao najmanji utjecaj na redukciju aerobnih mezofilnih bakterija (0,10 log CFU/g) i plijesni (1,05 log CFU/g) u uzorcima funkcionalnog sosa od rajčice.

Ključne riječi: *rajčica, prah komine masline, ultrazvuk visokog intenziteta, ukupni fenoli, vrijeme skladištenja*

Rad sadrži: 63 stranice, 4 slike, 19 tablica, 86 literaturni navod

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak

Pomoć pri izradi: Josipa Dukić, mag. ing.

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Verica Dragović Uzelac (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak (mentor)
3. izv.prof.dr.sc. Sven Karlović (član)
4. prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić (zamjenski član)

Datum obrane: 25. rujna 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of General Programmes
Laboratory for sustainable development

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL TOMATO-BASED PRODUCTS WITH THE ADDITION OF OLIVE POMACE POWDER

Ivona Marinčić, univ. bacc. ing. techn. aliment.

0058210385

Abstract: The aim of the research was to develop functional tomato-based juices and sauces with the addition of olive powder, which improved the nutritional value of the product. Juice and sauce samples were treated with high power ultrasound (100 % amplitude, 3 min), *hot break* treatment (85 °C, 3 min) and thermal treatment (60 °C, 3 min). Samples were analyzed on the day of preparation (0.day) and after 7 days of storage at the temperature of +4 °C. The influence of individual treatments and storage times on physicochemical parameters and microbiological safety of juices and sauces were investigated. Ultrasonic treatment caused the greatest increase in the concentration of total phenols (10.8%), lycopene (101.7 %) and chlorophyll *b* (80.6 %) in the functional tomato juice sample and the greatest increase in the concentration of chlorophyll *b* (7.2 %) in a functional tomato sauce sample. In addition, the storage time had a significant effect on the value of antioxidant activity in the juice samples and on the concentration of chlorophyll *b* in the sauce samples. However, high-intensity ultrasound treatment had the lowest impact on the reduction of aerobic mesophilic bacteria (0.10 log CFU/g) and mold (1.05 log CFU/g) in functional tomato sauce samples.

Keywords: *tomato, olive pomace powder, high power ultrasound, total phenolic content, storage time*

Thesis contains: 63 pages, 4 figures, 19 tables, 86 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Anet Režek Jambrak, PhD, Full professor

Technical support and assistance: Josipa Dukić, MSc

Reviewers:

1. Verica Dragović-Uzelac, PhD, Full professor (president)
2. Anet, Režek Jambrak, PhD, Full professor (mentor)
3. Sven, Karlović, PhD, Associate professor (member)
4. Jasenka Gajdoš Kljusurić, PhD, Full professor (substitute)

Thesis defended: September 25th, 2023

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. RAJČICA	2
2.1.1. Kemijski sastav.....	2
2.1.2. Sok i sos od rajčice.....	4
2.2. PRAH KOMINE MASLINE	5
2.3. VISOKOTLAČNA HOMOGENIZACIJA	5
2.4. ULTRAZVUK	6
2.4.1. Izvedba uređaja.....	7
2.4.2. Mikrobiološka inaktivacija ultrazvukom visokog intenziteta	7
2.5. ANALITIČKE METODE ODREĐIVANJA UKUPNIH FENOLA, ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI I BILJNIH PIGMENATA	8
2.5.1. Kvantitativno određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom.....	8
2.5.2. Kvantitativno određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom	8
2.5.3. Kvantitativno određivanje biljnih pigmenata	9
2.6. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA	9
3. EKSPERIMENTALNI DIO	11
3.1. MATERIJALI	11
3.1.1. Sok i sos od rajčice s dodatkom praha komine masline	11
3.1.2. Kemikalije i standardi	12
3.1.3. Uređaji	13
3.1.4. Laboratorijsko posuđe	13
3.2. METODE	14
3.2.1. Priprema funkcionalnog soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline	14

3.2.3. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta	15
3.2.4. <i>Hot break</i> tretman	16
3.2.5. Toplinski tretman	17
3.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije ukupnih fenola	18
3.2.7. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije pigmentata	20
3.2.8. Spektrofotometrijsko određivanje antioksidacijske aktivnosti.....	21
3.2.9. Mikrobiološka analiza	22
3.3. OBRADA REZULTATA	26
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	27
4.1. UTJECAJ PROVEDENIH TRETMANA I VREMENA SKLADIŠTENJA NA FIZIKALNE PARAMETRE	27
4.1.1. Utjecaj provedenih tretmana na rezultate fizikalnih parametara uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine masline	27
4.1.2. Utjecaj provedenih tretmana na rezultate fizikalnih parametara uzoraka sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline	29
4.2. UTJECAJ PROVEDENIH TRETMANA I VREMENA SKLADIŠTENJA NA KEMIJSKE PARAMETRE	31
4.2.1. Promjene kemijskih parametara soka od rajčice s dodatkom praha komine masline	31
4.2.2. Promjene kemijskih parametara sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline	37
4.3. USPOREDBA UTJECAJA PROVEDENIH TRETMANA NA REZULTATE PARAMETARA.....	42
4.4. REZULTATI MIKROBIOLOŠKE ANALIZE.....	45
4.4.1. Rezultati mikrobiološke analize soka od rajčice s dodatkom praha komine masline	45
4.4.2. Rezultati mikrobiološke analize sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline	47
4.4.3. Usporedba utjecaja provedenih tretmana na rezultate mikrobioloških analiza	48

5. ZAKLJUČAK.....	53
6. LITERATURA.....	54

1. UVOD

Prehrambena industrija je posljednjih godina pokazala povećani interes za razvoj novih funkcionalnih proizvoda iz poljoprivredno-prehrambenih nusproizvoda i to ne samo kao pokušaj postizanja održivijih lanaca proizvodnje hrane već i za zadovoljavanje sve veće potražnje potrošača za zdravom i visoko kvalitetnom hranom. Nusproizvod koji se do sad odbacivao, a može se iskoristiti u razvoju novih proizvoda, je komina masline koja nastaje prilikom proizvodnje maslinovog ulja. Komina masline je bogata bioaktivnim spojevima (dijetalna vlakna, nezasićene masne kiseline, polifenoli), a u obliku praha se može koristiti za obogaćivanje hrane čime se također rješava problem njenog zbrinjavanja (Ribeiro i sur., 2020). Također je dokazano da konzumacija svježeg voća i povrća, posebice rajčice, te njihovih proizvoda smanjuje rizik od pojave raka i kardiovaskularnih bolesti (Lu i sur., 2020). Plodovi rajčice su bogat izvor bioaktivnih spojeva poput minerala, vitamina, fenolnih spojeva i karotenoida koji imaju pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje. Kako bi se očuvali navedeni bioaktivni spojevi i poboljšala kvaliteta proizvoda, sve više se istražuje primjena netoplinskih metoda, poput ultrazvuka visokog intenziteta, za obradu plodova i proizvoda od rajčice (Zhang i sur. 2019). Dosadašnja istraživanja su uglavnom bila usmjerena na utjecaj tretmana ultrazvukom visokog intenziteta na sok od rajčice dok za utjecaj primjene ultrazvuka visokog intenziteta za obradu sosa od rajčice postoji vrlo malo podataka. Vrlo slabo je istražen utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na koncentraciju klorofila *a* i *b* u proizvodima od rajčice te utjecaj ultrazvuka i vremena skladištenja na spomenute namirnice.

Cilj ovog diplomskog rada je bio pridonijeti razvoju novih funkcionalnih proizvoda na bazi rajčice s povećanim bioaktivnim sadržajem primjenom netoplinske tehnike obrade kako bi se povećao rok trajanja proizvoda s minimalnim učinkom na nutritivnu vrijednost. Eksperimentalni dio rada je za cilj imao (1) usporediti utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta s utjecajem hot break tretmana (pri 85 °C, 3 minute) i toplinskog tretmana (pri 60°C, 3 minute) na fizikalne parametre (°Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost), koncentraciju ukupnih fenola, antioksidacijsku aktivnost, koncentraciju pigmenata (likopen, β-karoten, klorofil *a*, klorofil *b*) i mikrobiološku inaktivaciju u uzorcima soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline te (2) odrediti utjecaj skladištenja u trajanju od 7 dana na gore navedene izlazne parametre.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. RAJČICA

Rajčica (*Solanum lycopersicum*, L.) je jednogodišnja biljka koja pripada porodici pomoćnica (*Solanaceae*) (Quinet i sur., 2019). Stabljika rajčice je razgranata i obrasla dlačicama dok je plod najčešće crvene boje, a ovisno o sorti može biti različite veličine, oblika i boje. U botaničkom smislu, rajčica se smatra voćem jer je nastala iz oplođenog cvijeta te sadrži sjemenke. Rajčica dobro raste na glinenim ili muljevitim tlima koja su duboka i dobro drenirana, no rast je ograničen na tlima natopljenim vodom jer je prozračivanje tla u zoni korijena ograničeno, a ispiranje hranjivih tvari pojačano. Uspješan uzgoj najbolje se postiže pri temperaturama od 20 °C do 27 °C i pri pH tla u rasponu od 6,0 do 7,5, no osjetljiva je na povećani salinitet tla i jaki vjetar (Wambugu, 2020). Rajčica se smatra drugim najvažnijim povrćem uz krumpir, a to potvrđuje činjenica da je 2021. godine na približno 5,2 milijuna hektara uzgojeno 189,1 milijuna tona plodova rajčice. Najveći proizvođač rajčice u svijetu 2021. godine bila je Kina s proizvedenih 67,5 milijuna tona, a na području Europske unije se ističu Italija (6,6 milijuna tona) i Španjolska (4,7 milijuna tona) (FAOSTAT,2023).

2.1.1. Kemijski sastav

Na kemijski sastav rajčice može utjecati nekoliko međusobno ovisnih čimbenika kao što su sorta, utjecaj okoliša, zrelost, uvjeti uzgoja i uvjeti skladištenja (Sandeep Kumar i sur., 2021). Voda čini većinski dio kemijskog sastava ploda rajčice s udjelom od 95 % dok ostali dio mase otpada na suhu tvar. Najzastupljeniji makronutrijenti su ugljikohidrati s udjelom od 3,89 % pri čemu 2,63 % čine šećeri. Od šećera najzastupljeniji su glukoza i fruktoza koje se nalaze u približno jednakom omjeru. Ostatak ugljikohidrata čine vlakna u udjelu od 1,2 %, a proteini (0,88 %) i lipidi (0,2 %) čine neznatan dio suhe tvari. Od mineralnih tvari, najzastupljeniji je kalij s koncentracijom od 237 mg/ 100 g ploda (Chaudhary i sur., 2018). Plod rajčice je bogat bioaktivnim spojevima poput vitamina, karotenoida i fenolnih spojeva koji imaju pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje. Ovi bioaktivni spojevi mogu djelovati protuupalno, antimikrobno, antitrombotičko, antialergijsko, kardioprotektivno i antioksidativno (Quinet i sur., 2019). Plod rajčice je bogat karotenoidima te predstavlja glavni izvor likopena u ljudskoj prehrani. Karotenoidi i polifenolni spojevi osim što pridonose nutritivnoj vrijednosti rajčice, također poboljšavaju senzorska svojstva (okus, tekstura, aroma). Plod rajčice bogat je prirodnim antioksidansima poput vitamina C i E, što ga čini dobrim antioksidacijskim sredstvom (Quinet i sur., 2019).

2.1.1.1. Fenolni sastav ploda rajčice

Fenolni spojevi su najveća skupina sekundarnih biljnih metabolita koji pokazuju veliku raznolikost struktura, od jednostavnih spojeva poput fenolnih kiselina do polifenola poput flavonoida. Ovi spojevi se sastoje od jednog ili više aromatskih prstenova koji posjeduju jednu ili više hidroksilnih grupa (Dai i Mumper, 2010). Prema kemijskoj strukturi dijele se na flavonoide (flavonoli, flavoni, flavanoli, flavanoni, antocijani i izoflavoni) i neflavonoide (fenolne kiseline, tanini, stilbeni i lignani) (Shirahigue i Ceccato-Antonini, 2020). Fenolni spojevi igraju važnu ulogu u prevenciji bolesti kod ljudi, odnosno imaju antialergena, antimikrobna, protuupalna, i antioksidativna svojstva te štite organizam od kardiovaskularnih i neuroloških bolesti, dijabetesa i mogućnosti pojave raka (Kumar i sur., 2021; Pattnaik i sur., 2021). Udio i vrsta fenolnih spojeva u plodu rajčice ovisi o zrelosti, sorti, uvjetima uzgoja i utjecaju okoliša. U plodu rajčice od flavonoida najzastupljeniji su kvercetin, kemferol, rutin i narinfenin, a do njihovog nakupljanja dolazi tijekom sazrijevanja rajčice. Što se tiče fenolnih kiselina, najzastupljenije su hidroksicimetne kiseline odnosno kafeinska kiselina, klorogenska kiselina i njeni derivati (Chaudhary i sur., 2018).

2.1.1.2. Pigmenti u plodu rajčice

Pigmenti su prirodni kemijski spojevi koji daju boju i obavljaju različite funkcije u organizmima u kojima se nalaze. Sudjeluju u procesima fotosinteze prilikom čega pigmenti apsorbiraju sunčevu svjetlosnu energiju i pretvaraju ju u kemijsku te također štite od fotooksidativnih oštećenja. Pigmente možemo podijeliti u 4 glavne skupine: antocijani, betalaini, karotenoidi i klorofil. Svaka skupina ima jedinstvenu osnovnu kemijsku strukturu te se sastoji od podskupine derivata koji imaju zamjenske modifikacije osnovne strukture za različite boje i biološke funkcije. Većina pigmenata su esencijalne hranjive tvari, a neke su čak i provitamini za ljude i životinje (Solovchenko i sur., 2019). U zrelom plodu rajčice prevladavaju pigmenti koji pripadaju skupini karotenoida, a osim njih prisutni su i klorofili. Karotenoidi s fenolnim spojevima pridonose nutritivnoj vrijednosti rajčice, utječu na njenu aromu, okus, teksturu i izgled te imaju važnu ulogu u ljudskom zdravlju. Karakteristična crvena boja rajčice potječe od karotenoidnog pigmenta likopena koji čini čak do 90% ukupnih karotenoida. Likopen je linearna molekula koja sadrži jedanaest konjugiranih dvostrukih veza iz kojih proizlazi antioksidacijska aktivnost (Urbonavičienė i sur., 2021). Najčešće se nalazi u trans obliku. Međutim kuhanjem i obradom ploda rajčice, prelazi u cis oblik koji se lakše apsorbira u organizmu. Prilikom toplinske obrade potrebno je paziti da temperatura ne bude previsoka jer može doći do degradacije likopena (rezultat oksidacije) koja se očituje gubitkom

boje i njegovom smanjenom biološkom vrijednošću (Wambugu,2020). Uz likopen, rajčica sadrži značajnu količinu β -karotena i luteina. β -karoten, narančasti pigment, prekursor je vitamina A u ljudskom organizmu. Iako posjeduje manju oksidacijsku aktivnost u usporedbi s likopenom, svejedno povoljno djeluje na ljudsko zdravlje (Chaudary i sur., 2018). Klorofili *a* i *b*, zeleni biljni pigmenti topivi u lipidima, velike su molekule koje sadrže ciklički prsten vezan na ion magnezija. To su amfipatski spojevi koji sadrže hidrofilnu glavu i lipofilni rep. U molekuli klorofila *a*, na sedmom ugljikovom atomu nalazi se metilna grupa koja uzrokuje plavozelenu boju pigmenta, dok se u klorofilu *b* na sedmom ugljikovom atomu nalazi aldehidna grupa koja uzrokuje žutozelenu boju (Sharma i sur., 2021). Studije su pokazale kako klorofil i njihovi derivati imaju veliko antioksidativno i antimutageno djelovanje te pomažu u prevenciji raka (Kang i sur.,2018).

2.1.2. Sok i sos od rajčice

Popularnost rajčice u prehrambenoj industriji se može objasniti činjenicom da se plod rajčice može konzumirati svjež ili prerađen u obliku pelata, soka, sosa, kečapa, koncentrata i drugih proizvoda. U Sjevernoj Americi i zapadnim europskim državama, sok od rajčice je uobičajen proizvod, a popularnost mu raste i u Republici Hrvatskoj. Prema Pravilniku o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju (2013), rajčica se smatra voćem te se od ploda rajčice proizvodi voćni sok. Voćni sok je proizvod koji može fermentirati, ali je nefermentiran, a proizvodi se od jestivog dijela voća koje je zdravo, svježije ili konzervirano hlađenjem ili smrzavanjem jedne ili više vrsta pomiješanih zajedno, a ima boju, aromu i okus karakterističan za sok od voća od kojega potječe. U soku od rajčice, vrijednost stupnjeva Brix-a mora biti najmanje 5,0 (Pravilnik, 2013). Tehnološki proces proizvodnje soka i sosa rajčice započinje na jednak način odnosno započinje zaprimanjem, sortiranjem pranjem i guljenjem plodova rajčice. Sljedeći korak je usitnjavanje i provođenje *hot break* (93-99 °C) ili *cold break* (65-75 °C) postupka. Kod proizvodnje soka od rajčice mogu se upotrijebiti oba postupka, ali karakterističnija je upotreba *cold break* postupka jer se njime očuva boja i okus te je manja viskoznost proizvoda zbog djelovanja enzima. *Hot break* postupak se koristi prilikom proizvodnje koncentrata i sosa od rajčice što rezultira većom viskoznošću, a upotreba visokih temperatura u potpunosti inaktivira pektinaze. Slijedi proces ekstrakcije kako bi se uklonile sjemenke i ostatak kože. Potrebno je provesti postupak dearacije kako bi se uklonio zrak te time smanjila oksidacija i spriječilo pjenjenje tijekom procesa koncentriranja. Zatim se provodi homogenizacija, koja je ujedno posljednji korak proizvodnje soka od rajčice. Svrha homogenizacije je povećanje viskoznosti proizvoda i smanjenje separacije seruma. Nakon

homogenizacije, kod proizvodnje sosa od rajčice, provodi se koncentriranje. Proizvodni proces soka i sosa od rajčice završava pasterizacijom, hlađenjem i punjenjem u odgovarajuću ambalažu pri aseptičkim uvjetima (Wu i sur., 2021).

2.2. PRAH KOMINE MASLINE

Maslina (*Olea europea* L.) je jedno od najstarijih kultiviranih stabala u svijetu, a u prehrambenoj industriji plodovi masline se koriste za proizvodnju ulja i stolnih maslina. Preradom maslina u ulje dobiva se velika količina otpada i to u obliku komine masline (čvrsti otpad) i vegetabilne ili biljne vode (tekuća faza) (Brlek i sur.,2009). Velike količine nusproizvoda i otpada nastalih u prehrambenoj i poljoprivrednoj industriji odgovorne su za značajno iscrpljivanje resursa i nastanak ekoloških problema, a zbog toga industrije su usmjerene na podizanje „sustava hrane bez otpada“. Kominu masline je teško obraditi zbog visokog sadržaja vode i organskih spojeva što ju čini jednim od najvećih zagađivača okoliša i time predstavlja najveći izazov gospodarenja otpadom. Međutim, komina masline je bogata visokovrijednim spojevima poput prehrambenih vlakana, nezasićenih masnih kiselina, minerala i fenolnih spojeva koja bi se u obliku praha mogla iskoristiti za formulaciju novih proizvoda. Ribeiro i suradnici (2020.) su u svom istraživanju proučavali 2 praha komine masline, prah komine masline tekuće i krute faze te su dokazali kako oba imaju veliki potencijal kao višenamjenski sastojak u prehrambenoj industriji. Prah komine masline tekuće faze (LOPP, engl. *liquid-enriched olive pomace powder*) se može koristiti kao izvor manitola, kalija i hidrokisitirozola, a prah komine masline krute faze (POPP, engl. *pulp-enriched olive pomace powder*) kao izvor antioksidativnih prehrambenih vlakana te oleinske i linolne kiseline. Zbog visokog antioksidativnog i antimikrobnog učinka, LOPP može imati primjenu u proizvodnji funkcionalnih proizvoda za poboljšanje ljudskog zdravlja i kao konzervans u proizvodnji hrane. S druge strane, bogatstvo POPP-a vlaknima i nezasićenim masnim kiselinama može dovesti do poželjnog sinergijskih učinaka na zdravlje crijeva, a i smanjiti peroksidaciju lipida. Biološka sigurnost oba praha komine masline je potvrđena te su pokazali odgovarajuća funkcionalna svojstva za primjenu u hrani.

2.3. VISOKOTLAČNA HOMOGENIZACIJA

Homogenizacija je jedna od osnovnih procesnih operacija u proizvodnji različitih prehrambenih proizvoda pa tako i u proizvodnji kečapa, soka, sosa i drugi proizvoda od rajčice. To je tehnološki proces u kojem je raspršeni sustav, suspenzija ili emulzija, prisiljena teći

velikom brzinom kroz uski prolaz (ventil), pri čemu nastaju čestice manjih veličina. Klasična homogenizacija se široko koristi u prehrambenoj industriji za emulgiranje, stabiliziranje, miješanje i smanjenje veličina čestica. Visokotlačna homogenizacija (HPH, engl. *High-pressure homogenization*) je nova tehnologija procesa kontinuiranog protoka koja osim homogenizacije omogućuje pasterizaciju i/ili sterilizaciju tekućina u jednom koraku, dok se tekućina podvrgava visokom tlaku (50-200 MPa) manje od jedne sekunde. Glavni utjecaj HPP opažen je na polisaharidima, proteinima i njihovim kombinacijama, no opseg tih učinaka ovisi o nizu kontroliranih parametara obrade kao što su tlak, dizajn ventila, ulazna temperatura i pH namirnice (Levy i sur., 2020). Visokotlačna homogenizacija se može primijeniti na soku od rajčice kako bi se povećala stabilnost soka, povećala ekstrakcija likopena, povećala konzistencija, smanjila potreba za dodavanjem hidroklorida te smanjilo odvajanje seruma i sedimentacije čestica. HPP utječe na mikrostrukturu soka od rajčice te mijenja njena fizikalna svojstva (Salehi, 2020)

2.4. ULTRAZVUK

Ultrazvuk je zvučni val čija je frekvencija veća od frekvencije ljudskog sluha (>20 kHz), a prema frekvenciji ultrazvučni valovi dijele se na one niske (20-100 kHz) i visoke (iznad 1 MHz) frekvencije. Ultrazvuk visoke frekvencije se primjenjuje u medicinskoj dijagnostici ili ne destruktivnoj kontroli materijala jer ne utječe na medij širenja i ne uzrokuje fizikalne i kemijske promjene u materijalu. Ultrazvuk niske frekvencije može uzrokovati promjene u materijalu te se koristi u procesima kao što su čišćenje, emulgiranje, ekstrakcija, sterilizacija, otplinjavanje, kristalizacija, sušenje, homogenizacija, inaktivacija enzima, inaktivacija mikroorganizama i sterilizacija (Nowacka i sur., 2021).

Temeljni mehanizam djelovanja ultrazvuka visokog intenziteta je akustična kavitacija koja nastaje pri niskim frekvencijama zbog naglog pada tlaka do kojeg dolazi djelovanjem ultrazvučnih valova (Zupanc i sur., 2019). Djelovanjem ultrazvuka visokog intenziteta na tekućinu dolazi do nastanka naizmjeničnih ciklusa kompresije i ekspanzije molekula što utječe na njihovu udaljenost. U području ekspanzije, dolazi do nastanka i rasta mjehurića plina. Mjehurići plina konstantno rastu sve dok ne dostignu kritičnu veličinu koja se postiže kada energija ultrazvuka nije dovoljna za održavanje plinovite faze mjehurića. Navedeno rezultira kondenzacijom i implozijom mjehurića uz pojavu mikropodručja s ekstremnom visokim temperaturama (4200 - 4700 °C) i tlakovima (većim od 100 MPa) koji su posljedica prijelazne kavitacije. Nasuprot navedenom, primjenom ultrazvuka niskog intenziteta dolazi do pojave stabilne kavitacije (Bermudez-Aguirre i Niemira, 2022).

2.4.1. Izvedba uređaja

Ultrazvučni uređaji pretvaraju električnu energiju u mehaničku te se u osnovi sastoje od generatora, pretvornika i emitera. Generator pretvara električnu energiju u signal s frekvencijom od 20 kHz koji aktivira pretvornik. Pretvornik je elektromehanička komponenta koja pretvara električnu energiju visoke frekvencije u mehaničke vibracije, a najčešće upotrebljavani su piezoelektrični pretvornici. Uz generator energije i pretvarač, klasični ultrazvučni uređaj sadrži emiter koji je odgovoran za prijenos zvučnih valova. Prilikom obrade prehrambenih proizvoda, tretman ultrazvukom se može izvesti pomoću ultrazvučne kupelji (indirektan proces) ili sustava sonde (direktan proces). Kod provođenja ultrazvuka indirektnom metodom, ultrazvučni valovi se prenose kroz mediji (vodu) kako bi došli do ciljanog materijala koji se nalazi u ultrazvučnoj kupelji. Zbog velike površine i volumena tekućine kroz koji zvučni valovi prolaze, dolazi do raspršenja njihove energije te na ciljani materijal djeluju manjim intenzitetom. Nasuprot tome, izravnim djelovanjem ultrazvuka na ciljani materijal, jaka kavitacija u blizini vrha sonde može dati intenzitet do 100 puta veći od intenziteta u ultrazvučnoj kupelji (Nunes i sur.,2022).

2.4.2. Mikrobiološka inaktivacija ultrazvukom visokog intenziteta

Najčešća metoda inaktivacije mikroorganizama u hrani je toplinska obrada, no zbog povećane potražnje potrošača za hranom koja je minimalno prerađena sve više industrija se okreće primjeni netoplinskih metoda. Ultrazvuk visokog intenziteta je jedna od netoplinskih metoda koja se pokazala uspješnom u inaktivaciji različitih vrsta mikroorganizama uključujući patogene organizme pri čemu se može koristiti samostalno ili u kombinaciji s drugim tehnologijama (Adekunte i sur., 2010). Glavni mehanizmi predloženi u literaturi za objašnjenje mikrobne inaktivacije primjenom ultrazvuka visoke frekvencije uključuje fenomene prijelazne i stabilne kavitacije. Prijelazna kavitacija stvara pore, pri čemu dolazi do raspada stanične stijenke i oslobađanja citoplazmatskog sadržaja, a stabilna kavitacija uzrokuje eroziju stanične stijenke. Sve to dovodi do letalnog učinka ultrazvuka, odnosno do stanične smrti mikroorganizama (Bermudez-Aguirre i Niemira, 2022). Također djelovanjem kavitacijskih mjehurića u prisutnosti visokog tlaka, temperature i smicanja, plinovi smješteni unutar mjehurića se pretvaraju u slobodne radikale i druge reaktivne vrste koje inaktiviraju mikroorganizme uništavajući njihove stanične strukture. Međutim, nastali slobodni radikali mogu negativno djelovati na tretirani uzorka na način da interakcijom s prehrambenim spojevima uzrokuju štetne učinke na mikronutrijente i makronutrijente prilikom čega može doći do razgradnje askorbinske kiseline te smanjenja koncentracije fenolnih spojeva, nutritivne

vrijednosti i sigurnosti hrane (Nunes,2022). Prednost ultrazvuka u odnosu na druge metode inaktivacije mikroorganizama je to što se ultrazvukom oštećene stanice ne mogu oporaviti (Bermudez-Aguirre i Niemira, 2022). Postupak inaktivacije mikroorganizama ultrazvukom visokih frekvencija ovisi o snazi i amplitudi ultrazvuka, volumenu uzroka, temperaturi, vrsti i karakteristikama (faza rasta, oblik, vrsta stanične stijenke) mikroorganizama te sastavu i fizikalnim svojstvima uzorka (Starek, 2021).

2.5. ANALITIČKE METODE ODREĐIVANJA UKUPNIH FENOLA, ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI I BILJNIH PIGMENATA

2.5.1. Kvantitativno određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom

Jedna od najpopularnijih metoda za kvantitativno određivanje koncentracije ukupnih fenola je Folin-Ciocalteu metoda. Princip na kojem se temelji ova metoda je redukcija Folin-Ciocalteu reagensa u prisutnosti fenolnih spojeva pri čemu nastaje kompleks karakterističnog plavog obojenja koji se mjeri spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 760 nm (Marta i Liu, 2014). Intenzitet plavog obojenja je proporcionalan s koncentracijom fenolnih spojeva u reakcijskom mediju (Gao i sur.,2019). Folin-Ciocalteu metoda ima svoja ograničenja, a to je da Folin-Ciocalteu reagens pokazuje nisku specifičnost jer osim reakcije s fenolnim spojevima, reagira i s proteinima i drugim spojevima kao što su reduksijski polisaharidi i askorbinska kiselina. Međutim bez obzira na navedene nedostatke, ova metoda je validirana metoda koje je ocijenjena i odobrena zbog svoje linearnosti, granica otkrivanja i kvantifikacije, preciznosti, selektivnosti, točnosti i robusnosti (Martins i sur.,2021).

2.5.2. Kvantitativno određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom

Antioksidativna aktivnost se može odrediti različitim kemijskim metodama u kojima se mjerenje provodi spektrofotometrijskim (ORAC, TRAP, HORAC, CUPRAC, PFRAP, FRAP, ABTS, DPPH), elektrokemijskim ili kromatografskim (plinska kromatografija i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti) metodama. Metode određivanja antioksidacijske aktivnosti se prema mehanizmu djelovanja dijele na metode koje ispituju prijenos elektrona (ET, engl. *Electron transfer*) i na one koje ispituju prijenos atoma vodika a (HAT, engl. *Hydrogen atom transfer*). Prednosti spektrofotometrijskih metoda je njihova dostupnost, automatiziranost i brzina provođenja (Munteanu i Apetrei, 2021).

DPPH metoda (DPPH, engl. *2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl*), temelji se na redukciji ljubičasto obojenog DPPH radikala pomoću antioksidansa putem mehanizama prijenosa vodikovog atoma prilikom čega dolazi do nastanka stabilne svijetlo žute. Kako bi se

odredila antioksidacijska aktivnost, koncentracija preostalog ljubičastog DPPH radikala mjeri se UV-Vis spektrofotometrijom pri valnoj duljini od 515 do 520 nm (Sirivibulkovit i sur., 2018). Antioksidacijska aktivnost je obrnuto proporcionalna stupnju obezbojenja, odnosno što je veća antioksidacijska aktivnost to je izraženija promjena boje uzorka (Munteanu i Apetrei, 2021).

2.5.3. Kvantitativno određivanje biljnih pigmenata

Najpouzdanija metoda za određivanje koncentracije biljnih pigmenata je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC, engl. *High Performance Liquid Chromatography*) jer ona omogućava detekciju različitih klorofila, karotenoida i njihovih derivata. Međutim, nedostatak ove metode je visoka cijena uređaja i cjelokupne analize te dugo vrijeme provođenja analize. Zbog navedenih nedostataka HPLC-a, za kvantitativno određivanje pigmenta najčešće se koriste spektrofotometrijske metode (Thrane i sur., 2015). Ova metoda obuhvaća ekstrakciju pigmenta pomoću organskih otapala (etanol, aceton, metanol) te mjerenje njihove apsorbancije pri određenoj valnoj duljini. Osim prikladnog otapala, spektrofotometrijska analiza uključuje i korištenje seta jednadžbi. Prednost spektrofotometrijskog određivanja koncentracija biljnih pigmenata je jednostavnost i niža cijena u odnosu na HPLC, ali nedostatak je što rezultati značajno ovise o korištenoj jednadžbi stoga je potrebno obratiti pozornost na njihov izbor (Picazo i sur., 2013).

2.6. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA

Sokovi od voća i povrća bogat su izvor hranjivih tvari koje su pogodne za rast i aktivnost mikroorganizama, a kako bi se osigurala zdravstvena ispravnost i duži rok trajanja proizvoda ključni korak u preradi voća i povrća je inaktivacija mikroorganizama (Roobab i sur., 2018). U većini razvijenih država, do kontaminacije rajčice mikroorganizama najčešće dolazi tijekom berbe, rukovanja, skladištenja, prijevoza i prerade (Obeng i sur., 2018).

U proizvodima niske pH vrijednosti, poput rajčice i proizvoda od rajčice, najčešći uzročnici kvarenja su nesporogene bakterije mliječne kiseline, kvasci (*Saccharomyces spp.*, *Candida spp.*), plijesni (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*) i bakterije roda *Bacillus*. Iz roda *Bacillus*, ističe se bakterija *Bacillus coagulans* koja je odgovorna za kvarenje soka od rajčice. Iako je *Bacillus coagulans* nepatogena bakterija, može predstavljati opasnosti za sigurnost hrane i zdravlje potrošača zbog sposobnosti povećanja pH vrijednosti kisele hrane čime omogućuje klijanje prisutnih spora iz roda *Clostridium*. Najveći rizik za zdravlje potrošača predstavljaju patogeni mikroorganizmi koji su zaostali u proizvodima zbog neadekvatne obrade. Patogene bakterije koje se najčešće mogu pronaći u

sokovima od voća i povrća su su *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* (Starek i sur.,2021).

Mikrobiološki kriteriji za hranu navedeni su u Zakonu o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 83/2022). Dopušteni broj bakterija bakterija *Escherichia coli* i *Salmonella* u nepasteriziranim sokovima od voća i povrća, definiran je u navedenom zakonu. U nepasteriziranom soku od voća ili povrća, *Salmonella* ne smije biti prisutna u 25 grama uzorka, a navedeni kriterij se primjenjuje na proizvode koji su stavljeni na tržište tijekom roka trajanja. Ispitna referentna metoda za određivanje broja bakterije *Salmonella* je metoda HRN EN ISO 6579, a broj elementarnih jedinica koje čine uzorak je 5. Prema navedenom zakonu, granične vrijednosti broja *E. coli* u nepasteriziranom soku od voća i povrća iznose 100 i 1000 CFU/g. Navedeni kriterij se primjenjuje u proizvodnom procesu, a u slučaju nezadovoljavajućih rezultata potrebno je poraditi na higijeni proizvodnje i izboru sirovine. Ispitne referentne metode za određivanje broja bakterije *E. coli* su HRN ISO 16649-1 ili HRN ISO 16649-2, pri čemu broj elementarnih jedinica koje čine uzorak iznosi 5, a dozvoljeni broj elementarnih jedinica koje smiju imati vrijednost između graničnih vrijednosti je 2.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Sok i sos od rajčice s dodatkom praha komine masline

U provedenom istraživanju, za pripremu soka i sosa od rajčice, upotrijebljena je rajčica sorte Volovsko srce koja je dobivena od tvrtke Ekoprom d.o.o. iz Bešlinca u Hrvatskoj. Sok i sos od rajčice pripremljeni su pomoću sokovnika Ultra Juice Meca ZC600. Nakon provedbe homogenizacije uzoraka pomoću homogenizatora GEA PandaPLUS 2000, funkcionalan dodatak (prah komine masline) dobiven od projektnih partnera iz Turske je dodan u udjelu od 2 % u sok i sos od rajčice. Naposljetku, uzorci su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom.

3.1.1.1. Označavanje uzoraka

Pripremljeno je 4 uzorka soka od rajčice te 4 uzorka sosa od rajčice. Oznake uzoraka i njihova značenja navedene su u Tablici 1. Dopunske oznake uzoraka, koje se dodaju osnovnoj oznaci, a odnose se na vrijeme skladištenja, navedene su u Tablici 2.

Tablica 1. Oznaka kontrolnih i tretiranih uzoraka te njeno značenje

Oznaka uzorka	Značenje oznake	Oznaka uzorka	Značenje oznake
CSOP	Netretirani uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline	CJOP	Netretirani uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline
TSOP	Uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom pri 60 °C	TJOP	Uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom pri 60 °C
HBSOP	Uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran <i>hot break</i> tretmanom prema protokolu	HBJOP	Uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran <i>hot break</i> tretmanom prema protokolu

Tablica 1. Oznaka kontrolnih i tretiranih uzoraka te njeno značenje - *nastavak*

USOP	Uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta	UJOP	Uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta
-------------	---	-------------	---

Tablica 2. Dopunska oznaka uzorka i njeno značenje

Dopunska oznaka	Značenje dopunske oznake
0. dan	Uzorak analiziran nultog dana skladištenja
7. dan	Uzorak analiziran sedmog dana skladištenja

3.1.2. Kemikalije i standardi

1. Destilirana voda (PBF, Zagreb, Hrvatska)
2. Prah komine masline
3. Limunska kiselina (Podravka d.d., Koprivnica, Hrvatska)
4. 50 %-tna limunska kiselina

Priprema: Potrebno je otopiti limunsku kiselinu u destiliranoj vodi u omjeru 1:2.

5. Bijeli kristal šećer (Viro tvornica šećera d.d., Virovitica, Hrvatska)
6. 96 %-tni etanol (Gram-mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
7. 70 %-tni etanol

Priprema: Prema jednadžbi $c_1 \cdot V_1 = c_2 \cdot V_2$ izračunati potrebni volumen 96 %-tnog etanol (V_1). U tikvicu dodati izračunati volumen 96 %-tnog etanola te tikvicu dopuniti destiliranom vodom do oznake.

8. Aceton P.A. (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
9. Heksan (Honeywell Riedel-de Haën, Seelze, Njemačka)
10. Galna kiselina (Acros Organics, New Jersey, SAD)
11. Folin-Ciocalteu reagens (Sigma-Aldrich, Burlington, SAD)
12. Natrijev karbonat, bezvodni (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
13. Otopina A - 10 %-tna otopina Folin-Ciocalteu reagensa

Priprema: 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa otpipetirati u Falcon epruvetu i dodati 90 mL destilirane vode te promiješati na vorteksu

14. Otopina B - 7,5 %-tna otopina natrijevog karbonata

Priprema: Na analitičkoj vagi odvagati 7,5 g natrijevog karbonata te kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu od 100 mL. Odmjernu tikvicu nadopuniti destiliranom vodom do oznake.

15. Trolox®, 97 %, 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina, 97 % (Acros Organics, Geel, Belgija)

16. DPPH - 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (abc GmbH, Karlsruhe, Njemačka)

17. Otopina DPPH

Priprema: Na analitičkoj vagi, odvagati 2,4505 mg DPPH-a te kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu od 100 mL. Odmjernu tikvicu nadopuniti destiliranom vodom do oznake. Uvijek pripremati svježe i čuvati u hladnjaku zaštićeno od svjetlosti.

3.1.3. Uređaji

1. Sokovnik Ultra Juice Meca ZC600 (Tefal, Rumilly, Francuska)
2. Homogenizator GEA PandaPLUS 2000 (Gea Group, Düsseldorf, Njemačka)
3. Refraktometar DHR 95 (SCHMIDT + HAENSCH, Berlin, Njemačka)
4. pH-EC metar HI5521-02 (Hanna Instruments Inc., Zagreb, Hrvatska)
5. Tehnička vaga HCB 1002 (Adam Equipment, Milton Keynes, Ujedinjeno Kraljevstvo)
6. Analitička vaga NBL-254i Nimbus (Adam Equipment Inc., Oxford, SAD)
7. Ultrazvučni uređaj Q700CA Sonicator (Qsonica, Newtown, SAD)
8. Magnetska miješalica s grijanjem MS-H-S (Dlab, Peking, Kina)
9. Vorteks uređaj MX-S (Dlab, Peking, Kina)
10. Ručni homogenizator Tissue Master 125 (OMNI International, Kennesaw, SAD)
11. Centrifuga 5430 (Eppendorf, Hamburg, Njemačka)
12. UV-VIS Spektrofotometar UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis (Shimadzu, Kyoto, Japan)

3.1.4. Laboratorijsko posuđe

1. Laboratorijska čaša (200 mL, 1000 mL)
2. Kapaljka
3. Sterilne čaše
4. Plastične posude
5. Laboratorijska špatula
6. Pipetman Gilson (200 µL, 1000 µL, 5 mL)
7. Menzura (25 mL, 100 mL)

8. Plastične lađice za vaganje
9. Odmjerna tikvica (25 mL, 100 mL, 200 mL)
10. Stakleni lijevci
11. Termometar
12. Plastične epruvete (Falcon) (15 mL, 50 mL)
13. Stalak za epruvete
14. Eppendorf epruveta
15. Kvarcna kiveta
16. Plastična kiveta

3.2. METODE

3.2.1. Priprema funkcionalnog soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline

Priprema funkcionalnih proizvoda na bazi rajčice započeta je pripremom plodova rajčice. Kako bi se olakšalo uklanjanje kožice s plodova rajčice, plodovi rajčice su stavljeni u plastičnu posudu s vrućom vodom na nekoliko sekundi, a zatim su prebačeni u plastičnu posudu s hladnom vodom. Nakon uklanjanja kožice, pomoću sokovnika Ultra Juice Meca ZC600 su pripremljeni sok i sos od rajčice. Željena gustoća soka i sosa od rajčice je postignuta regulacijom ručice na sokovniku na način da je udio pulpe u soku sveden na minimum, a u sosu na maksimum. Sok od rajčice je dodatno razrijeđen dodatkom 300 mL destilirane vode u 400 mL soka. Prije dodavanja praha komine masline, uzorci soka i sosa od rajčice su homogenizirani pomoću uređaja GEA Lab Homogenizer PandaPLUS 2000 na 1000 bara. Prema istraživanju Gavran (2022), optimalni parametri za obradu soka i sosa od rajčice, s obzirom na cilj maksimiziranja antioksidacijske aktivnosti i koncentracije likopena, su tlak homogenizacije od 1000 bara i amplituda ultrazvuka od 100 % . Prah komine masline je dodan u uzorke soka i sosa od rajčice u udjelu od 2 % nakon čega su uzorci homogenizirani pomoću ručnog homogenizatora Tissue Master 125 s 10 mm sondom pri 10000 rpm u trajanju od 30 sekundi.

Pripremljeni sok i sos od rajčice s dodatkom praha komine masline je raspodijeljen u laboratorijske čaše po 100 mL nakon čega su bili podvrgnuti tretmanu ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break* tretmanu ili toplinskom tretmanu. Također, dio uzoraka soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline je ostao netretiran (kontrolni uzorci). Tretirani i netretirani uzorci funkcionalnog soka i sosa od rajčice su raspodijeljeni u Falcon epruvete tako da je u svaku epruvetu odmjereno po 10 mL uzorka. Budući da je određivanje fizikalnih i

kemijskih parametara provedeno nultog i sedmog dana, jedan dio uzoraka je analiziran istog dana, dok je drugi skladišten u trajanju od 7 dana u hladnjaku na temperaturi od +4 °C. Također, sa svrhom provođenja mikrobiološke analize, odvojeno je po 40 mL tretiranih i netretiranih uzoraka u sterilne čaše koji su analizirani nultog i sedmog dana skladištenja na +4 °C.

3.2.2. Određivanje fizikalnih parametara

Nakon provedbe homogenizacije pri 1000 bara, uzorcima soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline, izmjereni su fizikalni parametri. Izmjerena je vrijednost °Brix-a, pH vrijednost i električna vodljivost za netretirane uzorke soka i sosa s dodatkom praha komine masline.

3.2.2.1. *Određivanje pH vrijednosti*

Određivanje pH vrijednost je provedeno pomoću pH-EC metra HI5521-02. Prema uputama partnera projekta, pH vrijednost netretiranog, homogeniziranog soka i sosa od rajčice trebala je iznositi 4. U slučaju da uzorci nisu zadovoljili preporučenu pH vrijednost, ona je prilagođena dodavanjem 50 %-tne otopine limunske kiseline. pH vrijednost se određivala i nakon provedbe tretmana ultrazvukom, toplinskog tretmana i *hot break* tretmana, no tada se izmjerena vrijednost nije prilagođavala.

3.2.2.2. *Određivanje vrijednosti °Brix-a*

Određivanje vrijednosti °Brix-a je provedeno pomoću refraktometra DHR 95. Prema uputama partnera projekta, vrijednost °Brix-a za netretirani, homogenizirani sok od rajčice trebao je iznositi 6, a za netretirani, homogenizirani sos od rajčice 14. Ukoliko uzorci nisu zadovoljili preporučenu vrijednost °Brix-a, ona je prilagođena dodavanjem šećera. Vrijednost °Brix-a je određena i za tretirane uzorke soka i sosa od rajčice, no tad se izmjerena vrijednost nije prilagođavala.

3.2.2.3. *Određivanje električne vodljivosti*

Određivanje električne vodljivosti je provedeno pomoću pH-EC metra HI5522-02 te je provedeno za netretirane i tretirane uzorke soka i sosa od rajčice.

3.2.3. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta

Nakon određivanja fizikalnih parametara, uzorci homogeniziranog soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline podvrgnuti su tretmanu ultrazvukom visokog intenziteta. Cilj provedbe tretmana ultrazvukom visokog intenziteta je inaktivacija prisutnih mikroorganizama i utvrđivanje njegovog utjecaja na fizikalne parametre, sadržaj ukupnih fenola i pigmentata te

na antioksidacijsku aktivnost tretiranih uzoraka. Za provedbu ovog postupka upotrijebljen je ultrazvučni uređaj Q700CA s promjerom sonde od 12 mm pri čemu su uzorci tretirani na temperaturi od 60 °C u trajanju od tri minute pri vrijednosti amplitude od 100 %.

3.2.3.1. Postupak provedbe tretmana ultrazvukom visokog intenziteta

U menzuri je bilo potrebno izmjeriti 100 mL netretiranog, homogeniziranog uzorka te ga prenijeti u laboratorijsku čašu. Laboratorijska čaša s uzorkom je zatim stavljena u kućište ultrazvučnog uređaja te su u nju uronjeni ultrazvučna sonda i termočlanak. Ultrazvučna sonda je postavljena u središte čaše, a termočlanak je postavljen tako da ne dodiruje sondu i stjenke laboratorijske čaše. Zatim je zatvoreno kućište ultrazvučnog aparata i na LCD ekranu uređaja unesena je željena amplituda (100%) i vrijeme tretiranja (3 minute). Nakon postavljanja uvjeta, tretman ultrazvukom visokog intenziteta je pokrenut te je praćena promjena temperatura. Kada je vrijednost temperature dosegla 60 °C, tretman je na kratko zaustavljen. Tada je otvoreno kućište ultrazvučnog uređaja i laboratorijska čaša s uzorkom je postavljena u plastičnu posudu s vodom i ledom (ledena kupelj) koja onemogućava dodatni porast temperature uzorka tijekom tretmana. Vodena kupelj s laboratorijskom čašom ponovno je postavljena u kućište ultrazvučnog uređaja, uronjena je sonda u uzorak te je nastavljena provedba tretmana. Nakon završetka tretmana ultrazvukom visokog intenziteta, 10 mL tretiranog uzorka se odvojilo u dvije Falcon epruvete kako bi se mogli pripremiti uzorci za provođenje određivanja sadržaja ukupnih fenola i pigmenata, antioksidacijske aktivnosti i mjerenje fizikalnih parametara. Pri tome je jedna Falcon epruveta označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. U dvije sterilne čaše za mikrobiološku analizu odvojeno je po 40 mL tretiranog uzorka. Pri tome je jedna sterilna čaša označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. Uzorci označeni kao 0.dan su analizirani isti dan, dok uzorci označeni kao 7.dan su skladišteni u trajanju od 7 dana u hladnjaku na temperaturi od +4 °C.

3.2.4. Hot break tretman

Uz tretman ultrazvukom visokog intenziteta, proveden je i *hot break* tretman na netretiranim, homogeniziranim uzorcima soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline. Ovaj tretman je proveden u svrhu ispitivanja njegovog utjecaja na mikroorganizme, antioksidacijsku aktivnost, sadržaj ukupnih fenola i pigmenata te na vrijednosti fizikalnih parametara. Prema protokolu partnera projekta, tretman je proveden pri 85 °C, a za provedbu tretmana korištena je magnetska miješalica s grijanjem MS-H-S.

3.2.4.1. Provedba hot break tretmana

100 mL netretiranog, homogeniziranog uzorka je odmjereno u menzuri te je taj volumen prenesen u laboratorijsku čašu. Pomoću termometra izmjerena je početna temperatura uzorka, koja prema protokolu partnera projekta treba iznositi 20 °C. Za provođenje *hot break* tretmana pripremljena je laboratorijska čaša od 1 L u koju je usuto otprilike 200 mL vode te je sadržaj laboratorijske čaše zagrijan na magnetskoj miješalici s grijanjem MS-H-S na 90 °C. Nakon što je postignuta temperatura vode od 90 °C, u čašu je uronjena čaša sa uzorkom i započeto je miješanje u trajanju u otprilike 11 minuta. Kada je temperatura uzorka dosegla 85 °C, nastavljeno je miješanje uzorka u trajanju od 3 minute. Zatim je laboratorijska čaša s uzorkom prebačena u posudu s vodom i ledom gdje se uzorak miješao 9 minuta. Nakon provedenog *hot break* tretmana, 10 mL tretiranog uzorka se odvojilo u dvije Falcon epruvete kako bi se mogli pripremiti uzorci za provođenje određivanja sadržaja ukupnih fenola i pigmenta, antioksidacijske aktivnosti i mjerenje fizikalnih parametara. Pri tome je jedna Falcon epruveta označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. U dvije sterilne čaše za mikrobiološku analizu odvojeno je po 40 mL tretiranog uzorka. Pri tome je jedna sterilna čaša označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. Uzorci označeni kao 0.dan su analizirani isti dan, dok uzorci označeni kao 7.dan su skladišteni u trajanju od 7 dana u hladnjaku na temperaturi od +4 °C.

3.2.5. Toplinski tretman

Osim dva prethodno spomenuta tretmana, proveden je i toplinski tretman pri 60 °C u trajanju od 3 minute, a za njegovo provođenje korištena je magnetska miješalica s grijanjem MS-H-S. Toplinski tretman je proveden na netretiranim, homogeniziranim uzorcima soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline. Tretman je proveden kako bi se odredio njegov utjecaj na prisutne mikroorganizme, sadržaj ukupnih fenola i pigmenta, fizikalne parametre i antioksidacijsku aktivnost.

3.2.5.1. Provedba toplinskog tretmana

100 mL netretiranog, homogeniziranog uzorka je odmjereno u menzuri te je taj volumen prenesen u laboratorijsku čašu. U laboratorijsku čašu od 1 L je usuto otprilike 200 mL vode i zagrijano na magnetskoj miješalici s grijanjem. U laboratorijsku čašu s vodom stavljena je laboratorijska čaša s uzorkom u koju je uronjen termometar za praćenje temperature. Kada je doseguta temperatura od 60 °C, započeto je miješanje uzorka u trajanju od 3 minute. Nakon provedenog toplinskog tretmana, 10 mL tretiranog uzorka je odvojeno u dvije Falcon epruvete. Pri tome je jedna Falcon epruveta označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. U

dvije sterilne čaše za mikrobiološku analizu odvojeno je po 40 mL tretiranog uzorka. Pri tome je jedna sterilna čaša označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. Uzorci označeni kao 0.dan su analizirani isti dan, dok uzorci označeni kao 7.dan su skladišteni u trajanju od 7 dana u hladnjaku na temperaturi od +4 °C.

3.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije ukupnih fenola

Prema uputama partnera projekta, određivanje koncentracije ukupnih fenola provedeno je prema Singleton i Rossi (1965) uz modifikacije. Koncentracija ukupnih fenola određena je pomoću Folin-Ciocalteu metode, uz korištenje UV-Vis spektrofotometra UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis-a.

3.2.6.1. Priprema uzorka za određivanje koncentracije ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom

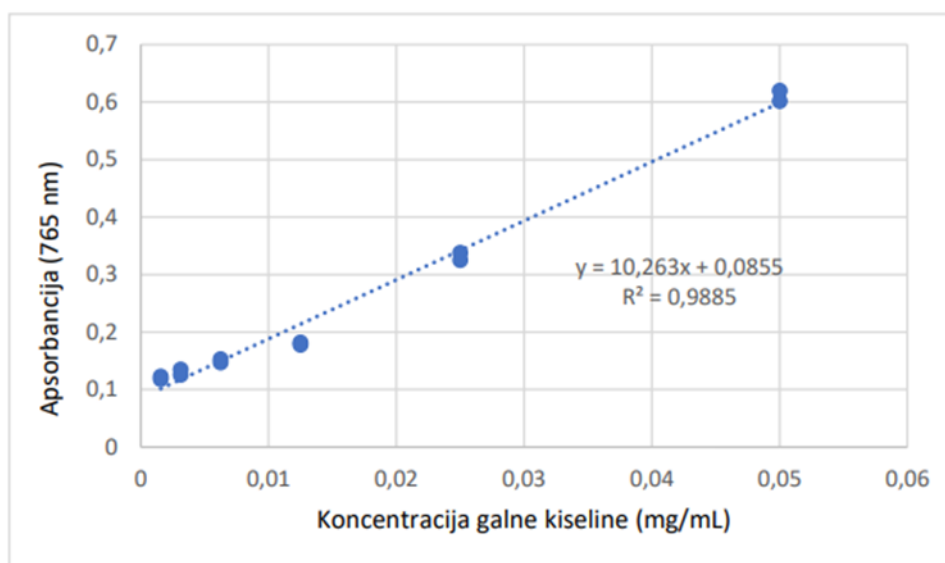
Priprema uzorka za određivanje koncentracije ukupnih fenola je jednaka za uzorke soka i sosa rajčice. Na tehničkoj vagi HCB 1002 odvagano je $2 \pm 0,01$ g tretiranog uzorka u Falcon epruveti. Zatim je dodano 15 mL 70%-tnog etanola i uz pomoć ručnog homogenizatora Tissue Master 125 provedena homogenizacija pri 14 000 rpm u trajanju od 30 do 60 sekundi. Nakon toga su uzorci centrifugirani pri 5000 rpm u trajanju od 5 minuta u centrifugi 5430 te je pomoću pipetmana Gilson prenijet volumen dobivenog supernatanta u novu Falcon epruvetu. Tako pripremljeni uzorak je moguće odmah koristiti za određivanje koncentracije ukupnih fenola ili ga je moguće sigurno skladištiti na -20 °C.

3.2.6.2. Postupak određivanja koncentracije ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom

Reakcijska smjesa je pripremljena u paraleli na način da je u Eppendorf epruvetu prvo otpipetirano 1000 μ L otopine A, zatim 200 μ L uzorka i na kraju 800 μ L otopine B. Sadržaj epruvete se promiješao na vorteks uređaju MX-S te su uzorci pohranjeni na tamno mjesto na 30 minuta kako bi se odvila reakcija. Na jednak način je pripremljena i slijepa proba u kojoj se umjesto 200 μ L uzorka, dodalo 200 μ L 70 %-tnog etanola. Nakon provedene reakcije, uzorci se centrifugiraju pomoću centrifuge 5430 pri 5000 rpm u trajanju od 5 minuta te se mjeri apsorbanacija na 765 nm na UV-Vis spektrofotometru UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis-a. Mjerenje apsorbanacije je provedeno na način da su kvarcna kiveta sa slijepom probom i kvarcna kiveta s uzorkom postavljene na predviđena mjesta u spektrofotometru, a izmjerena koncentracija ukupnih fenola je izražena kao mg ekvivalent galne kiseline/mL te predstavlja srednju vrijednost dvije paralele.

3.2.6.3. Izrada baždarnog dijagrama za određivanje koncentracije ukupnih fenola

Prije postupka određivanja koncentracije ukupnih fenola pripremljenih uzoraka, potrebno je napraviti baždarni dijagram koji prikazuje ovisnost apsorbancije o poznatoj koncentraciji galne kiseline. Prvo je pripremljena standardna otopina galne kiseline koncentracije 0,1 mg/mL na način da je 10 mg galne kiseline otopljeno u 100 mL 70 %-tnog etanola. Zatim su iz standardne otopine galne kiseline pripremljene razrijeđene otopine galne kiseline točno određenih koncentracija. Koncentracije razrijeđenih otopina standarda su iznosile 0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625; 0,003125 i 0,0015625 mg/mL. Nakon toga, slijedilo je postavljanje reakcija na način koji je opisan u potpoglavlju 3.2.5.2. s time da je umjesto 200 μ L uzorka u reakcijsku smjesu dodano 200 μ L otopine galne kiseline. Nakon provedbe reakcije u tami u trajanju od 30 minuta provedeno je centrifugiranje uzoraka na 5000 rpm, a zatim je uslijedilo mjerenje apsorbancije pri valnoj duljini od 765 nm na UV-Vis spektrofotometru. Iz dobivenih podataka, pomoću programa Microsoft Excel, konstruiran je baždarni dijagram koji na x-osi sadrži poznate koncentracije otopina galne kiseline (mg/mL), a na y-osi vrijednost (Slika 1).



Slika 1. Baždarni dijagram ovisnosti apsorbancije o koncentraciji galne kiseline

Dobivena jednadžba pravca baždarnog dijagrama je:

$$y = 10,263 + 0,0855 \quad R^2 = 0,9885 \quad [1]$$

gdje Y predstavlja izmjerenu vrijednost apsorbancije pri 765 nm, x koncentraciju galne kiseline izraženu u mg/mL, a R^2 koeficijent determinacije. Uvrštavanje vrijednosti izmjerene

apsorbancije uzorka u prikazanu jednadžbu omogućava izračun nepoznate koncentracije ukupnih fenola u uzorku.

3.2.7. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije pigmenata

Prema uputama partnera projekta, koncentracija karotenoida i klorofila je istodobno određivana u uzorcima soka i sosa od rajčice prema Nagata i Yamashita (1992). Mjerenje apsorbanije je provedeno pri valnim duljinama od 663 nm, 645 nm, 505 nm i 453 nm korištenjem UV-Vis spektrofotometra s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis-a, a koncentracija likopena, β -karotena, klorofila *a* i klorofila *b* je izračunata prema zadanim formulama.

3.2.7.1. Priprema uzoraka za određivanje koncentracije pigmenata

Na tehničkoj vagi HCB 1002 je odvagano 1 g uzorka u Falcon epruveti. Pripremljena je smjesa acetona i heksana u omjeru 2:3 te je 10 mL pripremljene smjese otapala dodano u Falcon epruvetu s uzorkom. Zatim se smjesa uzorka i otapala homogenizirana ručnim homogenizatorom Tissue Master 125 pri 14 000 rpm u trajanju od 30 do 60 sekundi. Nakon homogenizacije došlo je do razdvajanja faza, pri čemu je gornja faza organska koja sadrži pigmente.

3.2.7.2. Postupak određivanja koncentracije pigmenata

Koncentracija pigmenata u uzorcima soka i sosa od rajčice se određuje iz izdvojene gornje faze (supernatant) koja se otpipetira u plastičnu kivetu. Mjerenje apsorbanije za svaki uzorak se provodi istodobno pri valnim duljinama od 663 nm, 645 nm, 505 nm i 453 nm na UV-Vis spektrofotometru uz programsku podršku LabSolutions UV-Vis-a. Za svaki uzorak je provedeno 5 mjerenja, a konačna vrijednost apsorbanije je iskazana kao srednja vrijednost tih 5 mjerenja. Za slijepu probu uzeta je smjesa acetona i heksana u omjeru 2:3. Koncentracija pigmenata u uzorcima soka i sosa od rajčice se izračunata je uvrštavanjem izmjerene apsorbanije u odgovarajuću jednadžbu za svaki pigment, a izražavala se u mg/100 mL. Jednadžbe za izračun koncentracije pigmenata:

$$\text{Klorofil } a = 0,999 A_{663} - 0,0989 A_{645} \quad [2]$$

$$\text{Klorofil } b = -0,328 A_{663} + 1,77A_{645} \quad [3]$$

$$\beta - \text{karoten} = 0,216 A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453} \quad [4]$$

$$\text{Likopen} = -0,0458 A_{663} + 0,204A_{645} + 0,372A_{505} - 0,080A_{453} \quad [5]$$

Oznake A_{663} , A_{645} , A_{505} i A_{453} se odnose na izmjerene apsorbancije pri valnim duljinama od 663 nm, 645 nm, 505 nm i 453 nm.

3.2.8. Spektrofotometrijsko određivanje antioksidacijske aktivnosti

Prema uputama partnera projekta, određivanje antioksidacijske aktivnost je izvršeno prema Brand-Williams i sur. (1995) uz modifikacije. Antioksidacijska aktivnost određena je DPPH metodom, a za provedbu se koristio UV-VIS spektrofotometar UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis-a.

3.2.8.1. Priprema uzoraka za određivanje antioksidacijske aktivnosti

Uzorci za određivanje antioksidacijske aktivnosti su pripremljeni na identičan način kao i uzorci za određivanje koncentracije ukupnih fenola, što je opisano u potpoglavlju 3.2.6.1.

3.2.8.2. Postupak određivanja antioksidacijske aktivnosti

Postupak određivanja antioksidacijske aktivnosti započinje pripremom otopine DPPH, što je opisano u potpoglavlju 3.1.2.. Reakcijske smjese su pripremljene u paraleli tako da je u Eppendorf epruvetu otpipetirano 1850 μL pripremljene otopine DPPH i 150 μL uzorka. Reakcijska smjesa je promiješana na vorteks uređaju MX-S te je pohranjena na tamno mjesto na 30 minuta kako bi se provela reakcija. Na isti način je pripremljena slijepa proba u 3 paralele no umjesto 150 μL uzorka, dodalo se 150 μL 70 %-tnog etanola. Po završetku reakcije, izmjerila se apsorbancija pri valnoj duljini od 515 nm. Za mjerenje apsorbancije korištene su plastične kivete i UV-Vis spektrofotometar UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis-a. Prvo su izmjerene apsorbancije slijepih proba, a zatim apsorbancije uzoraka na način da je u spektrofotometar postavljana jedna po jedna plastična kiveta. Za svaki uzorak su provedena 3 mjerenja, a konačna apsorbancija je izražena kao srednja vrijednost tih mjerenja. Izračun postotka inhibicije DPPH je ostvaren pomoću formule:

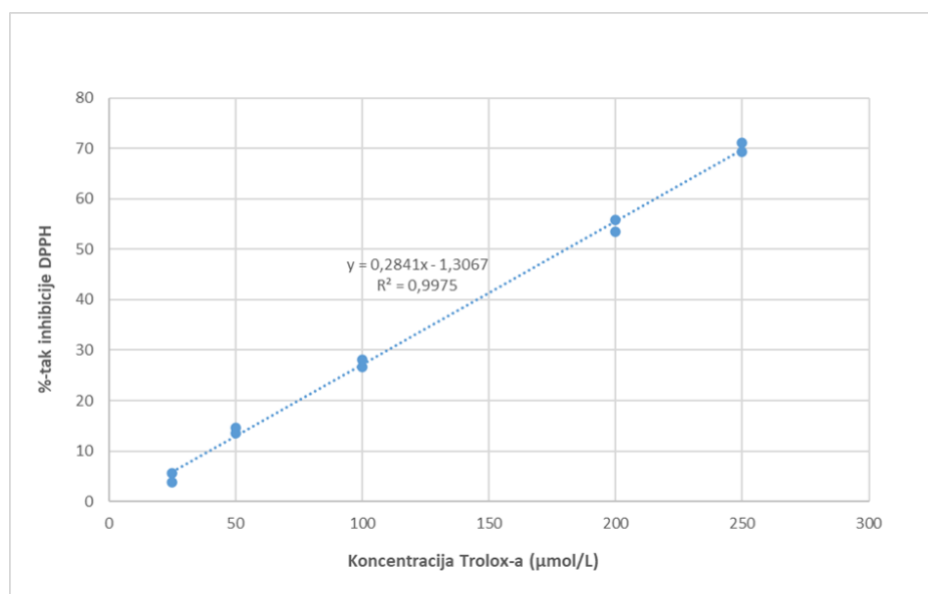
$$\% \text{ inhibicije DPPH} = \left(\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right) * 100 \quad [6]$$

A_0 se odnosi na apsorbanciju slijepa probe (srednja vrijednost 3 mjerenja), a A_1 na apsorbanciju uzorka (srednja vrijednost 2 mjerenja). Antioksidacijska aktivnost se izračunava iz jednadžbe pravca baždarnog dijagrama te je izražena u $\mu\text{mol ET/L}$.

3.2.8.3. Izrada baždarnog dijagrama za određivanje antioksidacijske aktivnosti

Kako bi se mogla izračunati antioksidacijska aktivnost uzoraka soka i sosa od rajčice, nužno je bilo konstruirati baždarni dijagram.

U odmjerne tikvice su pripravljene otopine Troloxa koncentracija 25, 50, 100, 200 i 250 $\mu\text{mol/L}$ pri čemu se Trolox otapa u 96 %-tnom etanolu. Zatim je postavljena reakcija na isti način kao i u potpoglavlju 3.2.8.2. s tim da je u reakcijsku smjesu umjesto 150 μL uzorka dodano 150 μL otopine Troloxa točno određene koncentracije. Slijepa proba je pripravljena na isti način kao i u potpoglavlju 3.2.8.2. Nakon provedbe reakcije u tami u trajanju od 30 minuta uslijedilo je mjerenje apsorbancije pri valnoj duljini od 515 nm na UV-Vis spektrofotometru uz programsku podršku LabSolutions UV-Vis-a. Iz dobivenih podataka, pomoću programa Microsoft Excel, konstruiran je baždarni dijagram koji na x-osi sadrži poznate koncentracije otopina Troloxa ($\mu\text{mol/L}$), a na y-osi vrijednost izračunat postotak inhibicije DPPH (Slika 2).



Slika 2. Baždarni dijagram ovisnosti postotka inhibicije DPPH-a o koncentraciji Troloxa®

Dobivena je jednadžba pravca baždarnog dijagrama:

$$y = 0,2841x - 1,3067 \quad R^2 = 0,9975 \quad [7]$$

Pri čemu y predstavlja postotak inhibicije DPPH-a, x predstavlja koncentraciju Trolox-a izraženog u $\mu\text{mol/L}$, a R^2 predstavlja koeficijent determinacije.

3.2.9. Mikrobiološka analiza

Mikrobiološku analizu uzoraka soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline je izvršio akreditirani laboratorij Centar za kontrolu namirnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta. Za mikrobiološku analizu pripravljeno je, u sterilnu čašu s čepom na navoj, po 40 mL netretiranih i tretiranih uzoraka soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline. Tretirani i netretirani uzorci su razdijeljeni u dvije sterilne čaše s tim da je prvi uzorak označen

kao 0.dan te je dostavljen u laboratorij istog dana kada je provedena njegova priprema kako bi se analiza mogla provesti istog dana, a drugi uzorak je označen kao 7.dan te je skladišten u hladnjaku na +4 °C i dostavljen u laboratorij i analiziran sedam dana nakon njegove pripreme.

Mikrobiološke analize provedene su korištenjem standardnih mikrobioloških ISO metoda koje su navedene u Tablici 3. Mikrobiološke analize su uključivale pripremu osnovnih razrjeđenja uzoraka, inokulaciju hranjive podloge, inkubaciju i očitavanje poraslih kolonija. Za pripremu osnovnog razrjeđenja (10^{-1}) uzoraka korištena je puferirana peptonska voda u omjeru 1:10, a rezultati su izraženi u CFU/g uzorka. U provedbi mikrobioloških analiza korišteni su autoklav i hladnjak za pripremu i čuvanje podloge, precizne vage za pripremu podloga i uzoraka, termosta na 25 °C, 30 °C i 44 °C za provedbu inkubacije te sterilno posuđe, jednokratni sterilan plastični pribor i posuđe.

Tablica 3. Provedene mikrobiološke analize za određene mikroorganizme u netretiranim i tretiranim uzorcima soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline

Mikroorganizam	Metoda	Parametri inkubacije		Hranjiva podloga
		Temperatura	Vrijeme	
<i>Escherichia coli</i>	HRN ISO 16649-2:2001	44 °C	24 h	TBX agar
Aerobne mezofilne bakterije	HRN EN ISO 4833-1:2013	30 °C	72 h	PCA agar
Plijesni	HRN ISO 21527-1:2012	25 °C	5 dana	DRBC agar
<i>Bacillus coagulans</i>	Prema uputama Američkog društva za mikrobiologiju	30 °C	3-5 dana	MRS agar i TSA agar

3.2.9.1. *Escherichia coli*

Mikrobiološka analiza određivanja bakterije *Escherichia coli* provedena je prema metodi HRN ISO 16649-2:2001. Za uzgoj *E. coli* upotrijebljen je Trypton žučni X-glukuronid (TBX) agar kao hranjiva podloga. Za pripremu 1 L TBX agara bilo je potrebno otopiti 20 g triptona, 1,5 g žučnih soli, 75 mg BCIG-a (5-bromo-4-kloro-3-indolil- β -D-glukuronat) i 9 g agara u 1 L destilirane vode. Dobivena smjesa je kuhana i miješana dok nije došlo do potpunog otapanja tvari. Tako pripremljeni medij je presipan u epruvete ili bočice te steriliziran u autoklavu na temperaturi od 121 °C u trajanju od 15 minuta. Pripremljen TBX agar se ohladio i držao na temperaturi od 47 do 50 °C do upotrebe.

Za određivanje broja bakterije *E. coli*, korištena je metoda miješanja uzorka s tekućim agrom (engl. *Pour plate inoculation*). Metoda je provedena tako da se 1 mL uzorka prenese u Petrijevu zdjelicu te se doda 15 mL hranjivog medija u tekućem stanju. Sadržaj Petrijeve zdjelice je promiješan i ostavljen da se ohladi. Zatim je slijedila inkubacija na temperaturi od 44 °C u trajanju do 24 sata i brojanje kolonija.

3.2.9.2. *Aerobne mezofilne bakterija*

Mikrobiološka analiza određivanja aerobnih mezofilnih bakterija provedena je prema metodi HRN EN ISO 4833-1:2013. Za uzgoj aerobnih mezofilnih bakterija upotrebljen je Plate count agar (PCA) kao hranjiva podloga. Za pripremu 1 L PCA agara bilo je potrebno otopiti i 5 g triptona, 2,5 g kvašćevog ekstrakta, 1 g glukoze i 12 g agara u 1 L destilirane vode. Dobivena smjesa je kuhana uz konstantno miješanje sve dok nije došlo do potpunog otapanja tvari. Zatim je pripremljeni medij presipan u epruvete ili bočice te steriliziran u autoklavu na temperaturi od 121 °C u trajanju od 15 minuta.

Za određivanje broja aerobnih mezofilnih bakterija, korištena je metoda miješanja uzorka s tekućim agarom (engl. *Pour plate inoculation*). Metoda je provedena tako da se 1 mL uzorka prenese u Petrijevu zdjelicu te se doda 10 do 15 mL hranjivog medija u tekućem stanju. Sadržaj Petrijeve zdjelice je promiješan i ostavljen da se ohladi. Zatim je slijedila inkubacija na temperaturi od 30 °C u trajanju do 72 sata i brojanje kolonija.

3.2.9.3. *Plijesni*

Mikrobiološka analiza određivanja plijesni provedena je prema metodi HRN ISO 21527-1:2012. Za uzgoj plijesni upotrijebljen je Dikloran-Rose Bengal-kloramfenikolni (DRBC) agar kao hranjiva podloga. Sastav DRBC agara naveden je u Tablici 4. Navedene tvari su otopljene u 1 L destilirane vode te je smjesa kuhana uz konstantno miješanje sve dok nije došlo do potpunog otapanja tvari. Zatim je slijedila sterilizacija u autoklavu na temperaturi od 121 °C u trajanju od 15 minuta. Nakon toga je hranjiva podloga izlivena u Petrijeve zdjelice i ohlađena.

Za određivanja broja plijesni, korištena je metoda razmazivanja uzorka po površini skrnutog agara (engl. *Spread plate*). Metoda je provedena tako da se 1 mL uzorka razmazao po površini DRBC agara. Zatim je slijedila aerobna inkubacija na temperaturi od 25 °C u trajanju od 5 dana i brojanje kolonija.

Tablica 4. Sastav DRBC agara prema HRN ISO 21527-1:2012

Tvar	Koncentracija (g/L)
Enzim iz mesa ili biljnog tkiva (pepton)	5
D-glukoza	10
Monokalijev fosfat	1
Magnezijev sulfat	0,5
Dikloran	0,002
Rose bengal boja	0,025
Kloramfenikol	0,1
Agar	12-15

3.2.9.4. *Bacillus coagulans*

Mikrobiološka analiza određivanja broja bakterija *Bacillus coagulans* provedena je prema metodi koju je opisalo Američko društvo za mikrobiologiju. Za uzgoj bakterije *Bacillus coagulans* upotrijebljen je Man, Rogosa i Sharpe (MRS) agar i Triptikaza-sojin agar (TSA) kao hranjiva podloga. Sastav MRS agara naveden je u Tablici 5. Navedene tvari su otopljene u destiliranoj vodi uz dodatak 1 mL Tween 80 te je volumen dopunjen do 1 L. Smjesa je kuhana sve dok se sve tvari nisu u potpunosti otopile. Zatim je slijedila sterilizacija u autoklavu na temperaturi od 121 °C u trajanju od 15 minuta. Nakon toga hranjiva podloga je izlivena u Petrijeve zdjelice i ohlađena.

Tablica 5. Sastav MRS agara

Tvar	Koncentracija (g/L)
Univerzalni pepton	10
Mesni ekstrakt	5
Kvašćev ekstrakt	5
D-glukoza	20
Dikalijev fosfat	2
Diamonijev hidrogen citrat	2
Natrijev acetat	5
Magnezijev sulfat	0,1
Manganov sulfat	0,05
Agar	12

Za pripremu 1 L TSA agara bilo je potrebno otopiti 15 g triptonskog peptona, 5 g Phytone peptona, 5 g natrijevog klorida i 15 g agara u 1 L destilirane vode. Dobivena smjesa je kuhana uz konstantno miješanje sve dok nije došlo do potpunog otapanja tvari. Zatim je slijedila sterilizacija u autoklavu na temperaturi od 121 °C u trajanju od 15 minuta.

Za određivanje broja bakterije *Bacillus coagulans*, korištena je metoda razmazivanja uzroka po površini skrnutog agara (engl. *Spread plate*). Metoda je provedena tako da se po 0,1 mL uzorka razmazalo po površini MRS i TSA agara. Na MRS agar se uzorak nanosi kako bi se odredio broj bakterija, a TSA agar služi kao potvrda da je *Bacillus coagulans* ustinu prisutna s obzirom na to da na MRS agaru formira nespecifične kolonije. Zatim je slijedila inkubacija na temperaturi od 30 °C u trajanju od 3 do 5 dana i brojanje kolonija.

3.3. OBRADA REZULTATA

Rezultati mjerenja izlaznih parametara (vrijednost °Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracija pigmenata likopena, β-karotena, klorofila *a* i *b* i mikrobiološka ispravnost) u tretiranim i netretiranim uzorcima soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline su obrađeni pomoću Microsoft Excel 365 programa.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu je ispitivan utjecaj tretmana i vremena skladištenja na fizikalne (vrijednost °Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost) i kemijske parametre (koncentraciju ukupnih fenola, antioksidacijsku aktivnost, koncentraciju pigmenata likopena, β-karotena, klorofila *a* i *b*) te na mikrobiološku ispravnost i stabilnost (*Escherichia coli*, aerobne mefozilne bakterije, plijesni i *Bacillus coagulans*) uzoraka soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline.

U ovom istraživanju, ultrazvuk visokog intenziteta odabran je kao alternativan tretman toplinskim tretmanima jer je dokazano da, bilo da se koristi sam ili u kombinaciji s drugim metodama, pozitivno utječe na kvalitetu hrane. Ubraja se u održive tehnologije te se može koristiti za inaktivaciju mikroorganizama i enzima bez utjecaja na kvalitetu hrane (Chavan i sur., 2022). Tijekom provođenja istraživanja maksimalna postignuta temperatura u uzorcima je iznosila 60 °C, a tretiranje je provedeno pri amplitudi od 100 %. Utjecaj tretmana ultrazvukom visokog intenziteta na fizikalne i kemijske parametre, te mikrobiološku ispravnost i stabilnost uzoraka je uspoređen s primjenom *hot break* tretmana i toplinskog tretmana pri 60 °C. Uz navedeno, proučavan je i utjecaj vremena skladištenja na uzorke soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline.

Ispitivanje mikrobiološke ispravnosti uzoraka je provedeno od strane Centra za kontrolu namirnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta prema standardnim ISO metodama koje su navedene u Tablici 3.

4.1. UTJECAJ PROVEDENIH TRETMANA I VREMENA SKLADIŠTENJA NA FIZIKALNE PARAMETRE

4.1.1. Utjecaj provedenih tretmana na rezultate fizikalnih parametara uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine masline

U Tablici 6. su prikazani rezultati mjerenja fizikalnih parametara za uzorke soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon provedbe tretmana. Prikazani rezultati su mjereni nulti dan i sedmi dan skladištenja.

Tablica 6. Rezultati mjerenja fizikalnih parametara u uzorcima soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7.dana skladištenja

Uzorci	°Brix-a		pH		G (mS/cm)	
	Vrijeme skladištenja					
	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan
CJOP	4,0	5,7	4,154	4,128	5,210	4,843
UJOP	2,7	8,5	4,051	4,089	4,995	4,834
HBJOP	4,0	5,6	4,176	4,111	5,694	5,266
TJOP	3,4	8,7	4,116	4,130	5,145	4,983

CJOP-netretirani uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline; UJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; G-električna vodljivost

U odnosu na kontrolni uzorak, vrijednost °Brix-a uzorka 0.dana ostala je nepromijenjena nakon provedbe *hot break* tretmana što odgovara istraživanju Kaur i sur. (2007) koji su istraživali utjecaj različitih tretmana na rajčicu te su prijavili da nije došlo do značajne promjene vrijednosti °Brix-a nakon provedbe *hot break* tretmana (90 °C, 2 minute). Međutim, nakon tretiranja toplinskim tretmanom i ultrazvukom visokog intenziteta je došlo do smanjenja pH vrijednosti što je suprotno istraživanju Oladunjoye i sur. (2021) koji nisu zabilježili značajne promjene pH vrijednosti nakon toplinskog tretmana (90 °C, 10 minuta) u pasteriziranom soku od mombinske šljive. Nakon 7 dana skladištenja, vrijednost °Brix-a tretiranih i netretiranih uzoraka se povećava što odgovara istraživanju Lagnika i sur. (2017) koji su zapazili da u toplinski tretiranim (65 °C, 15 min) uzorcima soka od ananasa nakon 15 dana skladištenja pri sobnoj temperaturi dolazi do povećanja vrijednosti °Brix-a. Razlog povećanja vrijednosti °Brix-a s vremenom skladištenja može biti konverzija netopljivih tvari stanične membrane u topljive tvari ili konverzija organskih kiselina u šećere (Ruiz-Nieto i sur., 1997).

Došlo je do smanjenja pH vrijednosti u uzorcima tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta nultog i sedmog dana skladištenja. Slične rezultate su zabilježili Nadeem i sur. (2018) u uzorcima mješavine soka od mrkve i grožđa nakon provedbe tretmana ultrazvukom pri amplitudi 70 % u trajanju od 5 minuta. pH vrijednost nakon provedbe *hot break* tretmana ostala je gotovo nepromijenjena u odnosu na kontrolni uzorak, a također vrijeme skladištenja nije utjecalo na njenu vrijednost. Kaur i sur. (2007) su istraživali utjecaj različitih tretmana na rajčicu te su prijavili da nije došlo do značajne promjene pH vrijednosti nakon provedbe *hot break* tretmana pri 90 °C u trajanju od 2 minute. Nakon toplinskog tretmana došlo je do

smanjenja pH vrijednosti , a nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C, došlo je do neznačajnog povećanja pH vrijednosti što odgovara istraživanju Oladunjoye i sur. (2021) koji nisu zabilježili značajne promjene pH vrijednosti nakon toplinskog tretmana u pasteriziranom soku od mombinske šljive tretiranom na 90 °C u trajanju od 10 minuta.

Primjetno povećanje električne vodljivosti nakon tretiranja uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine masline zabilježeno je samo kod uzorka tretiranog *hot break* tretmanom, dok se kod UJOP i TJOP uzoraka primjećuje značajan pad. Kumar i sur. (2018) su istraživali utjecaj temperature na sok od grožđa te su primijetili da s porastom temperature tretmana, raste i vrijednost električne vodljivosti. Razlog tome može biti povećanje ionske pokretljivosti kao posljedica strukturnih promjena u tkivu poput razgradnje stanične stjenke i smanjenja viskoznosti. Nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C, dolazi do opadanja vrijednosti električne vodljivosti kod netretiranog i tretiranih uzoraka soka od rajčice, a razlog tome bi mogla biti niska temperatura koja smanjuje ionsku pokretljivost te time smanjuje i vrijednost električne vodljivosti (Kumar i sur., 2018). Dobivene rezultate potvrđuje i istraživanje koje su proveli Aadil i sur. (2014) na ultrazvukom (amplituda od 70%, 30 minuta) tretiranom soku od grejpa prilikom čega su uočili da je tijekom skladištenja u trajanju od 7 dana pri temperaturi od 4±1 °C došlo do pada vrijednosti električne vodljivosti, a tu pojavu su objasnili gubitkom nutrijenata koji su odgovorni za električnu vodljivost.

4.1.2. Utjecaj provedenih tretmana na rezultate fizikalnih parametara uzoraka sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline

U Tablici 7. su prikazani rezultati mjerenja fizikalnih parametara za uzorke sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon provedbe tretmana. Prikazani rezultati su mjereni nulti dan i sedmi dan skladištenja.

Tablica 7. Rezultati mjerenja fizikalnih parametara u uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7.dana skladištenja

Uzorci	°Brix-a		pH		G (mS/cm)	
	Vrijeme skladištenja					
	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan
CSOP	14,1	14,8	4,009	3,991	22,520	4,400
USOP	12,0	15,1	3,898	3,981	4,431	4,353

CSOP-netretirani uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline; USOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; G-električna vodljivost

Tablica 7. Rezultati mjerenja fizikalnih parametara u uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7.dana skladištenja - *nastavak*

HBSOP	16,0	18,9	4,016	3,979	4,630	4,518
TSOP	12,6	15,3	4,040	3,979	4,745	4,392

HBSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom

Primjetno povećanje vrijednost °Brix-a primijećeno je samo nakon provedbe *hot break* tretmana (16,0), dok se kod uzoraka tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta i toplinskim tretmanom primjećuje značajan pad vrijednosti °Brix-a. Hassen i sur. (2019) su također dobili povećane vrijednosti °Brix-a nakon provedbe *hot break* tretmana (90 °C, 7 minuta) na uzorcima polukoncentrirane paste od rajčice. Smanjenje vrijednosti °Brix-a nakon tretmana ultrazvukom može se pripisati mogućem padu u razgradnji organskih kiselina i sadržaja stanične stijenke kao rezultat smanjenog metabolizma voća i inaktivacije enzima (Kalsi i sur., 2022). Također, razlog smanjenja može biti i odvijanje kemijskih reakcija kao što su oksidacija, hidroliza i Maillard-ove reakcije koje dovode do degradacije šećera (Silva i sur., 2020). Nakon 7 dana skladištenja, vidljivo je povećanje vrijednosti °Brix-a u svim netretiranim i tretiranim uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline. Dobivene rezultate potvrđuje istraživanje Aadil i sur. (2014) koje pratilo utjecaj vremena skladištenja na ultrazvukom (amplituda od 70%, 30 minuta) tretiranom soku od grejpa. Kao što je ranije spomenuto, povećanje vrijednosti °Brix-a s vremenom skladištenja, može se objasniti konverzijom organskih kiselina u šećere ili konverzijom netopljivih tvari stanične membrane u topive tvari (Ruiz-Nieto i sur., 1997). Nakon 7 dana skladištenja, u svim netretiranim i tretiranim uzorcima sosa od rajčice je došlo do povećanja vrijednosti °Brix-a. Lagnika i sur. (2017) su istraživali utjecaj vremena skladištenja (26 °C) na sok od ananasa tretiran s ultrazvukom (500 W, 15 minuta) ili toplinskim tretmanom (65 °C i 85 °C, 15 minuta) pri čemu su zaključili da s vremenom skladištenja dolazi do povećanja vrijednosti °Brix-a. Do istog zaključka su došli Aaby i sur. (2018) koji su pratili utjecaj primjene *hot break* tretmana (85 °C, 3 minute) i vremena skladištenja na sok i kašu od jagode. Nakon 14 dana skladištenja kaše od jagode, došlo je do manjeg povećanja °Brix-a vrijednosti. Kao što je ranije spomenuto, povećanje vrijednosti °Brix-a može se objasniti konverzijom organskih kiselina u šećere ili konverzijom netopljivih tvari stanične membrane u topive tvari (Ruiz-Nieto i sur., 1997).

Iz podataka je vidljivo da je najniža pH vrijednost dobivena u uzorku tretiranom ultrazvukom visokog intenziteta (3,898), a slične rezultate zabilježili su Jambrak i sur. (2007)

koji su pad pH vrijednosti objasnili pojavom kavitacije prilikom tretmana ultrazvukom. Kavitacija je stvaranje mjehurića u tekućini koji se mogu eksplozivno urušiti i time stvoriti lokalizirani pritisak čime uzrokuju ispiranje staničnih tvari. Zabilježen je neznatčan porast pH vrijednosti u HBSOP i TSOP uzorcima. Izmjerena pH vrijednost ultrazvukom visokog intenziteta tretiranog uzorka nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C je ostala gotovo nepromijenjena u odnosu na pripadajuće kontrolne uzorke, što ne odgovara rezultatima istraživanja Saeeduddin i sur. (2017) ultrazvukom (amplituda od 70 %, 10 minuta) tretiranog soka od kruške i Cruz-Cansino i sur. (2016) na ultrazvukom (90 %, 5 minuta) tretiranom soku od indijske smokve koji su primijetili smanjenje pH vrijednosti s vremenom skladištenja. Kod USOP i HBSOP uzoraka primijećen je značajni pad pH vrijednosti nakon skladištenja u trajanju od 7 dana. Hassen i sur. (2019) su također zabilježili smanjenje pH vrijednosti u uzorku paste od rajčice nakon provedbe *hot break* tretmana na temperaturi od 90 °C i trajanju od 7 minuta. Također, Sattar i sur. (2020) su istraživali utjecaj toplinskog tretmana (90 °C, 10 min) na sok od breskve te su zaključili da toplinski tretman povećava pH vrijednost uzoraka, dok skladištenje uzrokuje blago smanjenje pH vrijednosti u kontrolnim uzorcima i toplinski tretiranim uzorcima.

Električna vodljivost uzoraka sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline znatno opada nakon provedbe tretmana i s vremenom skladištenja. Dobiveni rezultati odgovaraju rezultatima istraživanja Khandpur i Gogate (2016) o utjecaj ultrazvuka (100 W, 15 minuta) na povrtno i voćno sokove gdje su zapazili značajno smanjenje vrijednosti električne vodljivosti nakon tretmana i skladištenja uzoraka. Zaključili su da smanjenje električne vodljivosti netretiranih uzoraka može biti povezano s povećanjem kiselost uzorka kao rezultat mikrobiološkog kvarenja. Međutim, rezultati dobiveni u istraživanju ne odgovaraju rezultatima Debbarma i sur. (2021) na soku od mrkve koji su zaključili da s električna vodljivost linearno raste s porastom temperature.

4.2. UTJECAJ PROVEDENIH TRETMANA I VREMENA SKLADIŠTENJA NA KEMIJSKE PARAMETRE

4.2.1. Promjene kemijskih parametara soka od rajčice s dodatkom praha komine masline

4.2.1.1. Promjene koncentracije ukupnih fenola soka od rajčice s dodatkom praha komine masline

Rezultati određivanja koncentracije ukupnih fenola uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine od masline prikazani su u Tablici 8. Koncentracija ukupnih fenola izmjerena je u

kontrolom uzorku i u uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri +4 °C.

Tablica 8. Rezultati mjerenja koncentracije ukupnih fenola u uzorcima soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorci	Ukupni fenoli (mg EKG/mL)	
	Vrijeme skladištenja	
	0.dan	7.dan
CJOP	0,065 ± 0,003	0,069 ± 0,006
UJOP	0,072 ± 0,005	0,070 ± 0,004
HBJOP	0,065 ± 0,002	0,073 ± 0,002
TJOP	0,063 ± 0,004	0,070 ± 0,004

CJOP-netretirani uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline; UJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran hot break tretmanom; TJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; EKG- ekvivalent galne kiseline

Koncentracija ukupnih fenola ultrazvukom visokog intenziteta tretiranih uzoraka soka rajčice s dodatkom praha komine masline minimalno se promijenila u odnosu na pripadajući kontroli uzorak kao što je vidljivo u Tablici 8. Yildiz i sur. (2020) u svom istraživanju utjecaja ultrazvuka (120 μm amplitude, 3 minute) na sok od jagode također nisu zabilježili značajnu promjenu ukupnih fenola nakon provedbe tretmana. Pregledom literature, tretman ultrazvukom visokog intenziteta može pozitivno (povećavajući) i negativno (smanjujući) utjecati na koncentraciju ukupnih fenola. Tomadoni i sur. (2017) koji su istraživali utjecaj ultrazvuka (40 kHz, 10 minuta) na sok od jagode, su zabilježili povećanu koncentraciju ukupnih fenola u odnosu na netretirani uzorak dok Rodríguez-Rico i sur. (2022) su u ultrazvukom (75 % amplituda, 15 minuta) tretiranom soku od dinje zapazili značajno smanjenje koncentracije ukupnih fenola. Razlika utjecaja tretmana ultrazvukom na koncentraciju ukupnih fenola može se objasniti s time da stabilnost ukupnih fenola ovisi o vrsti voća, načinu tretiranja i skladištenja (Sattar i sur.,2020). Koncentracija ukupnih fenola ostala je gotovo jednaka nakon provedbe *hot break* tretmana i toplinskog tretmana što odgovara rezultatima istraživanja Kaur i sur. (2007) koji su također zabilježili da, nakon *hot break* tretmana pri 90 °C u trajanju od 2 minute, ne dolazi do značajne promjene koncentracije ukupnih fenola.

Nakon skladištenja u trajanju od 7 dana, koncentracija ukupnih fenola uzoraka podvrgnutih toplinskom i *hot break* tretmanu se minimalno povećala, dok je koncentraciju ukupnih fenola ultrazvukom tretiranog uzorka ostala gotovo nepromijenjena. Kaur i sur, (2007)

su primijetili da je kod uzorka podvrgnog *hot break* tretmanu koncentracija ukupnih fenola ostala jednaka tijekom skladištenja u trajanju od 6 mjeseci pri temperaturi od 7-10 °C što odgovara rezultatima dobivenim u ovom istraživanju. Nasuprot tome, Adulvitayakorn i sur. (2019) su zapazili blago smanjenje koncentracije ukupnih fenola u uzorcima soka šećerne trske nakon toplinskog tretmana (60 °C, 30 min), a Mtaoua i sur. (2016) su zabilježili povećanje koncentracije ukupnih fenola u toplinski tretiranim uzorcima (90 °C, 60 s) soka od datulja nakon 2 tjedna skladištenja pri temperaturi od 4 °C. Isti autori su kao mogući razlog povećanja koncentracije ukupnih fenola naveli biokemijske reakcije koje nastaju kao posljedica prerade i skladištenja hrane mogu dovesti do stvaranja novih spojeva, do oslobađanja fenolnih spojeva iz pektina ili celuloze i/ili djelomične razgradnje kombiniranih oblika te time dovesti do povećanja koncentracije ukupnih fenola tijekom skladištenja (Mtaoua i sur., 2016).

4.2.1.2. Promjene antioksidacijske aktivnosti soka od rajčice s dodatkom praha komine masline

Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine od masline prikazani su u Tablici 9. Antioksidacijska aktivnost izmjerena je u kontrolom uzorku i u uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri +4 °C.

Tablica 9. Rezultati mjerenja antioksidacijske aktivnosti u uzorcima soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorci	Antioksidacijska aktivnost ($\mu\text{mol ET/L}$)	
	Vrijeme skladištenja	
	0.dan	7.dan
CJOP	182,578 \pm 8,781	149,735 \pm 7,299
UJOP	180,082 \pm 15,696	147,883 \pm 10,436
HBJOP	156,176 \pm 0,116	48,502 \pm 4,372
TJOP	168,270 \pm 5,969	36,586 \pm 2,140

CJOP-netretirani uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline; UJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; ET- ekvivalen Troloxa

Prema rezultatima iz Tablice 9., najveća vrijednost antioksidacijske aktivnosti dobivena je u netretiranom uzorku (182,578 \pm 8,781 $\mu\text{mol ET/L}$), a mogući razlog tome je što na njega nije primijenjen proces zagrijavanja koji uslijed primjene povišene temperature može uzorkovati gubitak nutritivnih svojstava i antioksidacijske aktivnosti (Vigneshwaran i sur., 2022). U svim tretiranim uzorcima je primijećen pad antioksidacijske aktivnosti, no najviše kod

uzorka soka tretiranog *hot break* tretmanom. Ghafoor i sur. (2019) su istraživali utjecaj temperature (60 °C; 80 °C; 90 °C; 110 °C; 130 °C, 60 minuta) na antioksidacijsku aktivnost šljive i plodova rašeljke prilikom čega su zaključili da primjena više temperature za tretiranje proizvoda, dovodi do smanjenja vrijednosti antioksidacijske aktivnosti. Također, smanjenje antioksidacijske aktivnosti primijećeno je u uzorcima ultrazvukom tretiranog (40 kHz, 60 °C, 30 minuta) soka od mombinske šljive (Oladunjoye i sur., 2021) i u uzorcima pulpe rajčice tretirane cold break tretmanom pri 60-75 °C i hot break tretmanom pri 85-95°C (Kelebek i sur., 2017).

Skladištenje u trajanju od 7 dana je rezultiralo smanjenjem antioksidacijske aktivnosti u tretiranim i netretiranom uzorku soka od rajčice s dodatkom praha komine masline. Dobiveni rezultati su u skladu s istraživanjem antioksidacijske aktivnosti tijekom skladištenja ultrazvukom tretiranog mutnog soka od jabuke (Bursać Kovačević i sur., 2019) pri čemu su uzorci bili tretirani amplitudom od 40 % i 80% u trajanju od 3, 6 i 9 minuta. Moguć razlog smanjene antioksidativne aktivnosti mogla bi biti jaka tendencija polifenola polimerizaciji. Kada stupanj polimerizacije dosegne kritičnu vrijednost, povećavana molekularna složenost smanjuje dostupnost hidroksilnih skupina za DPPH radikale što dovodi do smanjenja antioksidacijske aktivnosti (Sattar i sur., 2020). Međutim, u istraživanju koje su proveli Kaur i sur. (2007) zapaženo je da je antioksidacijska aktivnost soka od rajčice ostala stabilna nakon *hot break* tretmana (90 °C, 2 minute) i skladištenja u trajanju od 6 mjeseci pri temperaturi od 7 do 10 °C.

4.2.1.3. Promjene koncentracije biljnih pigmenata soka od rajčice s dodatkom praha komine masline

Rezultati određivanja koncentracije biljnih pigmenata uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine od masline prikazani su u Tablici 10 i 11. Koncentracije likopena, β -karotena, klorofila *a* i klorofila *b* izmjerene su u kontrolom uzorku i u uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri +4 °C.

Tablica 10. Rezultati mjerenja koncentracije likopena i β -karotena u uzorcima soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorci	Likopen (mg/100 mL)		β -karoten (mg/100 mL)	
	Vrijeme skladištenja			
	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan
CJOP	0,059 ± 0,001	0,060 ± 0,001	-0,077 ± 0,001	-0,080 ± 0,001
UJOP	0,119 ± 0,000	0,112 ± 0,000	-0,127 ± 0,000	-0,088 ± 0,001
HBJOP	0,058 ± 0,000	0,059 ± 0,000	-0,075 ± 0,001	-0,079 ± 0,000
TJOP	0,066 ± 0,000	0,056 ± 0,000	-0,071 ± 0,000	-0,085 ± 0,001

CJOP-netretirani uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline; UJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom

Koncentracija likopena u ultrazvukom visokog intenziteta tretiranom uzorku pokazuje značajan porast u odnosu na kontrolni uzorak. Porast likopena nakon tretmana ultrazvukom zabilježili su Ordóñez-Santos i sur. (2017) u soku od ogrozda (42 kHz, 40 minuta) i Zhang i sur. (2019) u soku od rajčice (amplituda od 50 μ m, 20 minuta). Povećanje koncentracije karotenoida u ultrazvukom tretiranim uzorcima soka se može objasniti mehaničkim pucanjem stanične stijenke, čime je omogućeno istjecanje karotenoida, i inaktivacijom enzima lipoksigenaze uzrokovano procesima kavitacije (Ordóñez-Santos i sur., 2017). Primjetno povećanje koncentracije likopena zabilježeno je i kod toplinski tretiranog uzorka, a sličan utjecaj toplinskog tretmana na koncentraciju likopena je opažen tijekom analize toplinski (100 °C, 5 minuta) obrađenog soka od rajčice kojem je izmjerena značajno veća koncentracija likopena u odnosu na netretiranu rajčicu (Miljković i sur., 2022). Petruzzi i sur. (2017) su objavili pregledni rad na temu utjecaja toplinskih tretmana na parametre voća i povrća te su zapazili da dolazi do povećanja koncentracije likopena u uzorcima fermentiranog soka od rajčice koji je toplinski tretiran pri temperaturi od 100 °C u trajanju od 5 do 120 minuta. Nasuprot tome, koncentracija likopena u uzorcima soka od rajčice s dodatkom praha komine masline je ostala gotovo ne promijenjena nakon provedbe *hot break* tretmana. Dobiveni rezultati se razlikuju od Makroo i sur. (2017) koji su zabilježili porast koncentracije likopena u uzorcima soka od rajčice na kojima je proveden *hot break* tretman na temperaturi od 90 °C i u trajanju od 5 minuta. Nakon skladištenja u trajanju od 7 dana, koncentracija likopena netretiranog i *hot break* tretmanom tretiranog uzorka je ostala gotovo nepromijenjena, a kod preostalih tretiranih uzoraka (TJOP i UJOP), uočeno je smanjenje koncentracije likopena.

Razlog tome može biti degradacija likopena uzrokovana aktivnošću enzima, svjetlošću ili kisikom (Lepaus i sur., 2023).

Izmjerene koncentracije β -karotena negativne su za tretirane i netretirane uzorke te upućuju na ograničenja predloženih setova jednadžbi za izračun koncentracije proučavanih biljnih pigmenata. Braniša i sur. (2014) u svom istraživanju nisu detektirali prisutnost β -karotena u uzorcima jagode, marelice i masline tretiranima ultrazvukom u trajanju od 3 minute. Kao uzrok dobivene negativne vrijednosti koncentracije β -karotena naveli su preklapanje valnih duljina karotenoida s valnim duljinama klorofila u uzorcima koji sadrže slične koncentracije klorofila i karotenoida.

Tablica 11. Rezultati mjerenja koncentracije klorofila *a* i klorofila *b* u uzorcima soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorci	Klorofil <i>a</i> (mg/100 mL)		Klorofil <i>b</i> (mg/100 mL)	
	Vrijeme skladištenja			
	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan
CJOP	0,013 ± 0,000	0,013 ± 0,001	0,098 ± 0,002	0,102 ± 0,002
UJOP	0,010 ± 0,000	0,012 ± 0,000	0,177 ± 0,001	0,112 ± 0,001
HBJOP	0,013 ± 0,000	0,013 ± 0,000	0,088 ± 0,001	0,099 ± 0,000
TJOP	0,013 ± 0,000	0,012 ± 0,000	0,090 ± 0,001	0,103 ± 0,001

CJOP-netretirani uzorak soa od rajčice s dodatkom praha komine masline; UJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom

Koncentracija klorofila *a* ostala je nepromijenjena kod uzoraka tretiranih toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom, dok je primijećen slab pad nakon provedbe tretmana ultrazvukom visokog intenziteta. Smanjenje koncentracije klorofila *a* neodgovara rezultatima istraživanja koje su proveli Manzoor i sur. (2021) na ultrazvukom (30 kHz, 60 °C, 20 min) tretiranom uzorku soka od špinata. Skladištenje u trajanju od 7 dana nije rezultiralo nikakvim značajnim promjenama koncentracije klorofila *a* u tretiranim i netretiranim uzorcima.

U ultrazvukom visokog intenziteta tretiranom uzorku primijećen je rast koncentracije klorofila *b* (80,6 %) što je u skladu s rezultatima istraživanja Manzoor i sur. (2021) na ultrazvukom (30 kHz, 600 W, 60 °C, 20 min) tretiranom soku od špinata gdje je postotak uvećanja koncentracije klorofila *b* iznosi 25,0 %. Autori istog istraživanja kao razlog povećanju koncentracije klorofila *b* primjenom ultrazvuka navode ultrazvučno potaknutu hidrataciju, bubrenje te proširenje pora na staničnoj stijenci čime se poboljšava ekstrakcija tvari pa tako i

klorofila *b*. Koncentracija klorofila *b* nakon toplinskog i *hot break* tretmana ostala je gotovo ne promijenjena. Usporedbom rezultata dobivenih nultog i sedmog dana skladištenja pri 4 °C, primijećen je različiti utjecaj skladištenja na koncentraciju klorofila *b*. Kod uzorka tretiranog ultrazvukom visokog intenziteta došlo je do smanjenja koncentracije klorofila *b*, a kod netretiranog uzorka i ostalih tretiranih uzoraka, došlo je do njenog povećanja. Grace i sur. (2022) su kao razlog smanjenja koncentracije skladištenja naveli njegovu kemijsku nestabilnost i time osjetljivost na oksidaciju.

4.2.2. Promjene kemijskih parametara sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline

4.2.2.1. Promjene koncentracije ukupnih fenola sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline

Rezultati određivanja koncentracije ukupnih fenola uzoraka sosa od rajčice s dodatkom praha komine od masline prikazani su u Tablici 12. Koncentracija ukupnih fenola izmjerena je u kontrolom uzorku i u uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri +4 °C.

Tablica 12. Rezultati mjerenja koncentracije ukupnih fenola u uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorci	Ukupni fenoli (mg EKG/mL)	
	Vrijeme skladištenja	
	0.dan	7.dan
CSOP	0,058 ± 0,000	0,069 ± 0,000
USOP	0,058 ± 0,003	0,070 ± 0,001
HBSOP	0,067 ± 0,030	0,076 ± 0,008
TSOP	0,060 ± 0,002	0,065 ± 0,000

CSOP-netretirani uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline; USOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran hot break tretmanom; TSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; EKG- ekvivalent galne kiseline

Koncentracija ukupnih fenola karakterizira blagi rast (15,5 %) vrijednosti za uzorak tretiranim *hot break* tretmanom u odnosu na kontrolni uzorak što je u skladu s rezultatima istraživanja Gao i sur. (2021) koji su zaključili da porastom temperature tretmana dolazi do njihovog pojačanog oslobađanja. Kao i u tretiranim uzorcima soka od rajčice, koncentracija ukupnih fenola u toplinski i ultrazvukom tretiranim uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nije se značajno promijenila u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Dobiveni podaci odgovaraju istraživanju koje su proveli Yildiz i sur. (2020) o utjecaju

ultrazvuka (120 μm amplitude, 3 minute) na sok od jagode koji također nisu zabilježili značajnu promjenu ukupnih fenola nakon provedbe tretmana.

Nadalje, tretirani i netretirani uzorci pokazuju porast koncentracije ukupnih fenola nakon skladištenja u trajanju od 7 dana što odgovara rezultatima istraživanja Mtaoua i sur. (2016) su zabilježili povećanje koncentracije ukupnih fenola u toplinski tretiranim uzorcima (90 °C, 60 s) soka od datulja nakon 2 tjedna skladištenja pri temperaturi od 4 °C. Biokemijske reakcije koje nastaju kao posljedica prerade i skladištenja hrane mogu dovesti do stvaranja novih spojeva, do oslobađanja fenolnih spojeva iz pektina ili celuloze i/ili djelomične razgradnje kombiniranih oblika te time dovesti do povećanja koncentracije ukupnih fenola tijekom skladištenja (Mtaoua i sur., 2016). Castro-Lopez i sur. (2016) su istraživali utjecaj vremena skladištenja na sok od nara prilikom čega je zabilježeno povećanje koncentracije ukupnih fenola u uzorcima koji su skladišteni najmanje 12 dana pri 8-11 °C, a kao uzrok ovog porasta naveli su reakcije oksidiranih polifenola, nastajanje novih spojeva koji imaju antioksidacijsku sposobnost zbog koje imaju mogućnost reagiranja s Folin-Ciocalteu reagensom te rast mikroorganizama.

4.2.2.2. Promjene antioksidacijske aktivnosti sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline

Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti uzoraka sosa od rajčice s dodatkom praha komine od masline prikazani su u Tablici 13. Vrijednost antioksidacijske aktivnosti izmjerena je u kontrolom uzorku i u uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri +4 °C.

Tablica 13. Rezultati mjerenja antioksidacijske aktivnosti u uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorci	Antioksidacijska aktivnost ($\mu\text{mol ET/L}$)	
	Vrijeme skladištenja	
	0.dan	7.dan
CSOP	144,770 \pm 6,790	117,866 \pm 1,945
USOP	135,987 \pm 5,439	127,241 \pm 4,070
HBSOP	140,632 \pm 0,593	139,040 \pm 2,651
TSOP	80,030 \pm 0,020	117,782 \pm 7,738

CSOP-netretirani uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline; USOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; ET-ekvivalen Trolox

U svim tretiranim uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline primijećen je pad antioksidacijske aktivnosti. Oladunjoye i sur. (2021) su potvrdili smanjenje vrijednosti antioksidacijske aktivnosti na uzorcima od mombinske šljive koje su tretirane ultrazvukom pri 60 °C. Navedena pojava se može objasniti antagonističkim efektom antioksidanasa (Castro-Lopez i sur., 2016). Također, Koh i sur. (2011) su zabilježili pad antioksidacijske aktivnosti u uzorcima paste od rajčice nakon provedbe *hot break* tretmana pri temperaturi od 93 °C u trajanju od 5 do 10 minuta.

Nakon skladištenja uzoraka u trajanju od 7 dana, jedino kod toplinski tretiranog uzorka sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline je došlo do porasta vrijednosti antioksidacijske aktivnosti što ne odgovara rezultatima istraživanja koje su proveli Sattar i sur. (2020). Prilikom istraživanja utjecaja toplinskog tretmana (90 °C, 10 min) na sok od breskve primijećeno je da nakon tretiranja dolazi do smanjena vrijednosti antioksidacijske aktivnosti te da tijekom skladištenja u trajanju od 10 dana, vrijednost antioksidacijske aktivnosti se smanjuje u tretiranom i netretiranom uzorku. Smanjenje vrijednosti antioksidacijske aktivnosti nakon provedbe tretmana ultrazvukom visokog intenziteta je u skladu s istraživanjem antioksidacijske aktivnosti tijekom skladištenja ultrazvukom tretiranog mutnog soka od jabuke (Bursać Kovačević i sur., 2019) pri čemu su uzorci bili tretirani amplitudom od 40 % i 80% u trajanju od 3, 6 i 9 minuta. Kao što je ranije navedeno, smanjenje antioksidacijske aktivnosti se može objasniti jakom tendencijom polifenola prema polimerizaciji.

4.2.2.3. Promjene koncentracije biljnih pigmenata sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline

Rezultati određivanja koncentracije biljnih pigmenata uzoraka sosa od rajčice s dodatkom praha komine od masline prikazani su u Tablici 14 i 15. Koncentracije likopena, β -karotena, klorofila *a* i klorofila *b* izmjerene su u kontrolom uzorku i u uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri +4 °C.

Tablica 14. Rezultati mjerenja koncentracije likopena i β -karotena u uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorci	Likopen (mg/100 mL)		β -karoten (mg/100 mL)	
	Vrijeme skladištenja			
	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan
CSOP	0,037 ± 0,000	0,023 ± 0,000	-0,116 ± 0,000	-0,081 ± 0,000
USOP	0,029 ± 0,000	0,032 ± 0,000	-0,116 ± 0,000	-0,075 ± 0,001
HBSOP	0,044 ± 0,000	0,024 ± 0,000	0,066 ± 0,000	-0,070 ± 0,000
TSOP	0,041 ± 0,000	0,036 ± 0,000	-0,116 ± 0,000	-0,074 ± 0,001

CSOP-netretirani uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline; USOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom

Najveća koncentracija likopena kod uzoraka sosa od rajčice zabilježena je nakon provedbe *hot break* tretmana prilikom čega je došlo do njenog porasta od 18,9 %. Dobiveni rezultati se podudaraju s rezultatima istraživanja koje su proveli Hassen i sur. (2019) na uzorcima paste od rajčice tretiranima *hot break* tretmanom (90 °C, 7 minuta). Isti autori su zaključili da koncentracija likopena raste s povećanjem temperature jer temperatura olakšava ispuštanje likopena iz matrice stanice rajčice. Također je primijećen porast koncentracije likopena u toplinski tretiranom uzorku sosa od rajčice (10,8 %) što odgovara rezultatima istraživanja koje su proveli Rivero i sur. (2022) na toplinski tretiranom (90–100 °C, 15 minuta) sosu od rajčice. Povećanje koncentracije likopena se može objasniti efektom zagrijavanja i homogenizacije koji rezultira koncentriranjem uzoraka, a samim time i likopena. Toplinskom obradom hrane se razara stanična membrana uzoraka što rezultira slabljenjem veznih sila između likopena i matrice tkiva čineći likopen dostupnijim (Rivero i sur., 2022). U uzroku tretiranom ultrazvukom visokog intenziteta došlo je do smanjenja koncentracije likopena što može biti posljedica pojačanog otpuštanja enzima poput lipoksigenaze kao posljedica poremećaja stijenke stanice zbog djelovanja ultrazvuka. Dokazano je da je ultrazvučna degradacija staničnog tkiva izuzetno brza te da se događa unutar prvih 30 sekundi djelovanja tretmana, a znatno ovisi o intenzitetu/snazi i vremenu izlaganja uzorak ultrazvuku (Amiri-Rigi, Abasi i Scanlon, 2016). Smanjenje koncentracije likopena je zabilježeno i u istraživanju Oliveira i sur. (2015) u ultrazvukom (1000-3000 W/L, 60 °C) tretiranom uzorku pireu od rajčice. Glavni razlozi smanjenja koncentracije likopena nakon provedbe termosonifikacije su stres biljke zbog kojeg dolazi do nastanka visokih koncentracija vodikovog peroksida koji se

neutralizira likopenom, oksidacija likopena askorbinskom kiselinom i reakcije likopena s nusproduktima nastalim djelovanjem peroksidaze.

Nakon sedmodnevnog skladištenja uzoraka sosa, primijećen je pad koncentracije likopena u uzorcima nakon provedbe toplinskog i *hot break* tretmana. Tarazona-Díaz i sur. (2017) su istraživali utjecaj toplinskog tretmana na uzorcima soka od lubenice te su primijetili da s vremenom skladištenja koncentracija likopena se smanjuje u toplinski tretiranim (80 °C, 40 sekundi) i netretiranim uzorcima. Međutim, u istraživanju Koh i sur. (2011) zapaženo je da je došlo do povećanja koncentracije likopena tijekom skladištenja na sobnoj temperaturi u tami tijekom 3 mjeseca na uzorcima paste od rajčice tretiranim *hot break* (93 °C, 5-10 minuta) tretmanom. U uzorcima sosa od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta je došlo do povećanja koncentracije likopena što odgovara istraživanju Martínez-Hernández i sur. (2015) koji su primijetili da proizvodi od rajčice tretirani netermalnim postupcima pokazuju veću stabilnost likopena tijekom skladištenja na temperaturi od 4 °C.

Kao i kod uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine masline, sve vrijednosti koncentracije β -karotena u uzorcima netretiranog i tretiranog funkcionalnog sosa su negativne, a objašnjenje dobivenih rezultata navedeno je u potpoglavlju 4.2.1.3. Dakle, dobivene vrijednosti posljedica su interferencije β -karotena s drugim spojevima koji apsorbiraju svjetlost na istoj valnoj duljini što dovodi do nedostataka korištenja seta jednadžbi za izračun usporedivih količina biljnih pigmenata u uzorcima funkcionalnog sosa na bazi rajčice.

Tablica 15. Rezultati mjerenja koncentracije klorofila *a* i klorofila *b* u uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorci	Klorofil <i>a</i> (mg/100 mL)		Klorofil <i>b</i> (mg/100 mL)	
	Vrijeme skladištenja			
	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan
CSOP	0,010 ± 0,000	0,010 ± 0,000	0,138 ± 0,000	0,086 ± 0,000
USOP	0,010 ± 0,000	0,011 ± 0,000	0,148 ± 0,000	0,088 ± 0,001
HBSOP	0,016 ± 0,000	0,012 ± 0,000	0,084 ± 0,000	0,088 ± 0,001
TSOP	0,010 ± 0,000	0,011 ± 0,000	0,140 ± 0,000	0,088 ± 0,001

CSOP-netretirani uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline; USOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom

Koncentracija klorofila *a* kod uzoraka sosa tretiranih toplinskim tretmanom i ultrazvukom visokog intenziteta je ostala gotovo nepromijenjena u odnosu na kontrolni uzorak pri čemu je koncentracija klorofila *b* veća. U odnosu na kontrolni uzorak, jedino je nakon provedbe *hot break* tretmana primijećen porast koncentracije klorofila *a* što je u skladu s istraživanjem Tomaš i sur. (2019) u kojem je zapaženo da povišena temperatura i dodatak maslinovog ulja u sos od rajčice pozitivno utječe na koncentraciju navedenog pigmenta. Nakon skladištenja u trajanju od 7 dana na temperaturi od 4 °C, koncentracija klorofila *a* u tretiranim i netretiranim uzorcima sosa od rajčice ostaje gotovo nepromijenjena.

Nakon provedbe toplinskog tretmana i tretmana ultrazvukom visokog intenziteta na uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline, primijećeno je povećanje koncentracije klorofila *b* u odnosu na kontrolni uzorak. Smanjenje koncentracije klorofila *b* opaženo je nakon provedbe *hot break* tretmana i to za 60,9 %. Dugotrajno izlaganje klorofila povišenoj temperaturi rezultira njihovim pretvaranjem u feofitin, maslinasto-smeđi spoj koji se raspada na pirofeofitin u procesu dekarboksilacije ili na feoforbide spojeve koji se mogu raspasti na bezbojne molekule te utjecati na boju proizvoda (Jurić i sur., 2020). Prilikom provođenja *hot break* tretmana, korištena je najviša temperatura i najduže vrijeme tretiranja te je to mogući razlog padu koncentracije klorofila *b*. Nakon skladištenja u trajanju od 7 dana, koncentracija klorofila *b* u uzorcima sosa od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta i toplinskog tretmana značajno se smanjuje. Dobiveni rezultati mogu se obrazložiti kemijskom nestabilnošću klorofila koji se lako raspada djelovanjem kisika, enzima, topline i kiselina (Jurić i sur., 2020). Nasuprot tome, nakon sedmodnevnog skladištenja uzorka sosa od rajčice tretiranog *hot break* tretmanom ne dolazi do značajne promjene koncentracije klorofila *b*.

4.3. USPOREDBA UTJECAJA PROVEDENIH TRETMANA NA REZULTATE PARAMETARA

Pregledom rezultata u priloženim tablicama (Tablica 6., 8., 9., 10. I 11.) možemo usporediti utjecaj provedenih tretmana (ultrazvuk visokog intenziteta, *hot break* tretman i toplinski tretman) na ispitivane parametre (°Brix, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, β-karotena, klorofila *a* i klorofila *b*) u uzorcima soka od rajčice u odnosu na kontrolni uzorak pri čemu je mjerenje provedeno nultog dana.

Vrijednost °Brix-a u kontrolnom (netretiranom) uzorku soka od rajčice iznosila je 4,0, a ista vrijednost je izmjerena nakon provedbe *hot break* tretmana i to je ujedno najveća

vrijednost. Najmanja vrijednost °Brix izmjerena je kod uzorka tretiranog ultrazvukom visokog intenziteta te ona iznosi 2,7.

pH vrijednost u kontrolnom uzorku soka od rajčice je iznosila 4,154. Najveći porast pH vrijednosti utvrđen je u uzorku koji je tretiran *hot break* tretmanom te on iznosi 4,176, dok u ostalim tretiranim uzorcima je zabilježen pad pH vrijednosti pri čemu je najniža izmjerena kod uzorka tretiranog ultrazvukom visokog intenziteta te iznosi 4,051. Vrijednost električne vodljivosti uzorka soka od rajčice prati trend ostalih fizikalnih parametara. U usporedbi s kontrolnim uzorkom (5,210 mS/cm), porast vrijednosti električne vodljivosti izmjereno je u uzorku koji je tretiran *hot break* tretmanom (5,694 mS/cm), a najniža vrijednost je izmjerena u uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta (4,995 mS/cm).

Koncentracija ukupnih fenola u kontrolnom uzorku iznosi $0,065 \pm 0,003$ mg EKG/mL. Zabilježeno je povećanje koncentracije ukupnih fenola kod uzorka tretiranog ultrazvukom visokog intenziteta ($0,072 \pm 0,005$ mg EKG/mL) dok je kod ostalih uzoraka ostala gotovo nepromijenjena. Antioksidacijsku aktivnost karakterizira pad vrijednosti u svim tretiranim uzorcima u odnosu na kontrolni uzorak ($182,578 \pm 8,781$ μ mol ET/L), pri čemu je najveći pad zabilježen u uzorku koji je tretiran *hot break* tretmanom ($156,176 \pm 0,116$ μ mol ET/L), a najmanje smanjenje u uzorku tretiranom ultrazvukom visokog intenziteta ($180,082 \pm 15,696$ μ mol ET/L). U usporedbi s kontrolnim uzorkom ($0,059 \pm 0,001$ mg/100 mL), primijećen je rast koncentracije likopena u uzorcima tretiranim toplinskim tretmanom i ultrazvukom visokog intenziteta s tim da je najveća vrijednost zabilježena nakon tretmana ultrazvukom ($0,199 \pm 0,000$ mg/100 mL) dok je nakon tretmana *hot break*-a zabilježen lagani pad koncentracije likopena ($0,058 \pm 0,000$ mg/100 mL).

Vrijednost β -karotena je negativna za sve tretirane i netretirane uzorke s tim da je najmanja vrijednost dobivena nakon tretmana ultrazvukom ($-0,127 \pm 0,000$ mg/100 mL). Koncentracija klorofila a je ostala gotovo nepromijenjena u svim uzorcima u odnosu na kontrolni uzorak ($0,013 \pm 0,000$ mg/100 mL) s tim da je najmanja vrijednost zabilježena kod uzorka tretiranog ultrazvukom visokog intenziteta ($0,010 \pm 0,000$ mg/100 mL). Koncentracija klorofila b u svim uzorcima je veća od koncentracije klorofila a s tim da u kontrolnom uzorku iznosi $0,098 \pm 0,002$ mg/100 mL. Uzorci tretirani *hot break* tretmanom i toplinskim tretmanom pokazali su pad koncentracije klorofila b pri čemu je veći pad za *hot break*-om tretirani uzorak ($0,088 \pm 0,001$ mg/100 mL). Povećanje koncentracije klorofila b zabilježeno je za uzorak tretiran ultrazvukom visokog intenziteta te iznosi $0,177 \pm 0,001$ mg/100 mL.

Pregledom rezultata u priloženim tablicama (Tablica 7., 12., 13., 14. i 15.) možemo usporediti utjecaj provedenih tretmana (ultrazvuk visokog intenziteta, hot break tretman i toplinski tretman) na ispitivane parametre (°Brix, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, β-karotena, klorofila a i klorofila b) u uzorcima sosa od rajčice u odnosu na kontrolni uzorak pri čemu je mjerenje provedeno nultog dana.

Vrijednost °Brix-a u kontrolnim uzorcima sosa od rajčice iznosila je 14,1. Kod uzoraka tretiranih toplinskim tretmanom i ultrazvukom visokog intenziteta primijećen je pad vrijednosti °Brix-a s tim da je najmanja vrijednost izmjerena kod uzorka tretiranog ultrazvukom, a iznosi 12,0. Povećanje vrijednosti °Brix-a u odnosu na kontrolni uzorak je primijećeno kod uzorka tretiranog *hot break* tretmanom (16,0).

U kontrolnom uzorku sosa od rajčice pH vrijednosti iznosi 4,009. Izmjerena pH vrijednost tretiranih uzoraka prati jednaki trend kao i izmjerene vrijednosti °Brix-a odnosno došlo je do smanjenja pH vrijednosti u uzorcima tretiranim toplinskim tretmanom i ultrazvukom visokog intenziteta pri čemu je najmanja vrijednost izmjerena kod uzorka tretiranog ultrazvukom (3,898). Jedino povećanje pH vrijednosti u odnosu na kontrolni uzorak je primijećeno kod uzorka sosa tretiranog *hot break* tretmanom, a iznosi 4,016. Električna vodljivost se značajno smanjila u svim tretiranim uzorcima u odnosu na kontrolni uzorak (22,520 mS/cm) s tim da je najveće smanjenje vrijednosti zabilježeno kod uzorka tretiranog toplinskim tretmanom (4,745 mS/cm), a najveće smanjenje kod uzorka tretiranog ultrazvukom visokog intenziteta (4,431 mS/cm).

Kod svih uzoraka sosa od rajčice nakon provede tretmana je došlo do blagog porasta vrijednosti koncentracije ukupnih fenola u odnosu na kontrolni uzorak ($0,058 \pm 0,000$ mg EKG/mL) s tim da je najveći porast zabilježen kod tretmana *hot break*-om ($0,067 \pm 0,030$ mg EKG/mL), a najmanje kod tretmanom ultrazvukom visokog intenziteta ($0,058 \pm 0,003$ mg EKG/mL). Kao što je ranije objašnjeno, porast koncentracije fenola je moguće objasniti termičkim efektom koji dovodi do pojačanog oslobađanja fenolnih spojeva iz matriksa stanice. Vrijednost antioksidacijske aktivnosti je smanjena u tretiranim uzorcima u odnosu na kontrolni uzorak ($144,770 \pm 6,790$ μmol ET/L). Najveći pad antioksidacijske aktivnosti zabilježen je kod uzorka koji je podvrgnut toplinskom tretmanu ($80,030 \pm 0,020$ μmol ET/L), a najmanji kod uzorka podvrgnutom *hot break* tretmanu ($140,632 \pm 0,593$ μmol ET/L).

U usporedbi s kontrolnim uzorkom sosa od rajčice ($0,037 \pm 0,000$ mg/100 mL), primijećen je rast koncentracije likopena u uzorcima podvrgnutima toplinskom i *hot break* tretmanu s tim da je najveća vrijednost zabilježena nakon provedbe *hot break* tretmana ($0,044 \pm 0,000$ mg/100 mL) dok je nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta zabilježen pad koncentracije likopena ($0,029 \pm 0,000$ mg/100 mL).

Kao i kod uzoraka soka od rajčice, vrijednost β -karotena je negativna za sve tretirane i netretirane uzorke s tim da je najveća vrijednost dobivena nakon tretmana *hot break*-om ($-0,066 \pm 0,000$ mg/100 mL). Koncentracija klorofila a u uzorcima sosa od rajčice podvrgnutima tretmanu ultrazvukom visokim intenzitetom i toplinskim tretmanom je ostala gotovo ne promijenjena u odnosu na kontrolni uzorak ($0,010 \pm 0,000$ mg/100 mL), a najveća vrijednost je dobivena nakon provedbe *hot break* tretmana ($0,016 \pm 0,000$ mg/100 mL). Što se tiče koncentracije klorofila b, najmanja dobivena vrijednost u odnosu na kontrolni uzorak ($0,138 \pm 0,000$ mg/100 mL) je dobivena nakon provedbe *hot break* tretmana ($0,084 \pm 0,000$ mg/100 mL) dok kod ostalih tretiranih uzoraka je primijećen porast koncentracije klorofila b s tim da je najveća vrijednost dobivena u uzroku tretiranom ultrazvukom visokog intenziteta ($0,148 \pm 0,000$ mg/100 mL). Koncentracija klorofila b u svim uzorcima je veća od koncentracije klorofila a.

4.4. REZULTATI MIKROBIOLOŠKE ANALIZE

4.4.1. Rezultati mikrobiološke analize soka od rajčice s dodatkom praha komine masline

Rezultati mikrobiološke analize soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskog tretmana i *hot break* tretmana, kao i netretiranog uzorka, nalaze se u Tablici 16. Netretiranom uzorku i tretiranim uzorcima određene su koncentracije bakterija *E. coli*, *Bacillus coagulans*, aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni. Navedene koncentracije određene su na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri $+4$ °C.

Tablica 16. Rezultati mikrobiološke analize uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorak	Escherichia coli (CFU/g)		Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)		Plijesni (CFU/g)		Bacillus coagulans (CFU/g)	
	Vrijeme skladištenja							
	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan
CJOP	<10	<10	<10	1,0*10 ⁴	<10	1,4*10 ²	<10	<10
UJOP	<10	<10	20	<10	<10	10	<10	<10
HBJOP	<10	<10	1,0*10 ²	<10	<10	<10	<10	<10
TJOP	<10	<10	20	<10	<10	20	<10	<10

CJOP-netretirani uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline; UJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; CFU-broj izraslih kolonija (engl. Colony-Forming Unit)

U kontrolnom uzorku soka od rajčice, svi analizirani mikroorganizmi su imali vrijednost manju od 10 CFU/g iz čega bi se moglo zaključiti da uzorci prije tretmana ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break* tretmana ili toplinskog tretmana nisu bili kontaminirani. U svim tretiranim uzorcima je došlo do povećanja broja aerobnih mezofilnih bakterija. Starek i sur. (2021) su istraživali utjecaj tretmana ultrazvukom na mikroorganizme u svježem soku od rajčice te su zaključili da učinak ultrazvuka ovisi o intenzitetu i trajanju tretmana. Dobro podešeni parametri ultrazvuka mogu izazvati ireverzibilno oštećenje stanica no u suprotnom može izazvati kontra efekt odnosno povećanu metaboličku aktivnost mikroorganizama. Međutim, najveći broj aerobnih mezofilnih bakterija (1,0*10² CFU/g) je dobiven nakon tretiranja uzorka soka *hot break* tretmanom. Ova pojava bi se mogla objasniti kontaminacijom uzorka bakterijama u zadnjem koraku provedbe tretmana ili dužom manipulacijom uzorka. Obzirom da je isti uzorak nakon 7 dana skladištenja imao vrijednost aerobnih mezofilnih bakterija manju od 10 CFU/g, moguće je da je do neočekivanih rezultata došlo zbog greške analitičara.

Nakon skladištenja u trajanju od 7 dana, u kontrolnom uzorku soka od rajčice se povećao broj aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni, dok je broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* ostao isti odnosno ispod 10 CFU/g. Povećanje broja mikroorganizama u kontrolnom uzorku je bilo očekivano jer nikakva radnja nije poduzeta kako bi se uzorak zaštitio. U ultrazvukom visokog intenziteta i toplinski tretiranim uzorcima soka od rajčice je došlo do smanjenja aerobnih mezofilnih bakterija i do blagog povećanja broja plijesni. Petruzzi i sur. (2017) su napravili pregledni rad o utjecaju toplinskog tretmana na sokove od voća i povrća te

su primijetili da toplinskim tretiranjem soka od rajčice pri 74 °C u trajanju od 30 sekundi broj bakterije *E.coli* ostaje ispod limita detekcije barem 21 dan od dana tretiranja. Skladištenje od 7 dana je djelovalo pozitivno na smanjenje broja mikroorganizama u uzorku tretiranom *hot break* tretmanom jer je došlo do smanjenja broja aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni.

4.4.2. Rezultati mikrobiološke analize sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline

Rezultati mikrobiološke analize sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskog tretmana i *hot break* tretmana, kao i netretiranog uzorka, nalaze se u Tablici 17. Netretiranom uzorku i tretiranim uzorcima određene su koncentracije bakterija *E. coli*, *Bacillus coagulans*, aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni. Navedene koncentracije određene su na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri +4 °C.

Tablica 17. Rezultati mikrobiološke analize uzoraka sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 0. i 7. dana skladištenja

Uzorak	Escherichia coli (CFU/g)		Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)		Plijesni (CFU/g)		Bacillus coagulans (CFU/g)	
	Vrijeme skladištenja							
	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan	0.dan	7.dan
CSOP	<10	<10	1,0*10 ²	1,0*10 ⁴	9,0*10 ²	4,0*10 ²	<10	<10
USOP	<10	<10	80	1,0*10 ²	80	70	<10	<10
HBSOP	<10	<10	<10	10	<10	<10	<10	<10
TSOP	<10	<10	<10	1,0*10 ²	<10	<10	<10	<10

CSOP-netretirani uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline; USOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; CFU-broj izraslih kolonija (engl. Colony-Forming Unit)

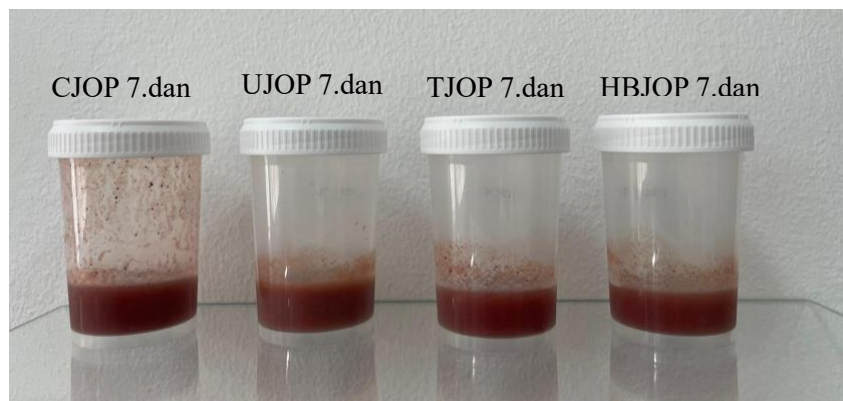
U kontrolnom uzorku sosa od rajčice broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* iznosi manje od 10 CFU/g dok je povišeni broj aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni. Nakon provedbe tretmana ultrazvukom, broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* ostaje nepromijenjen, a broj aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni se smanjuje. Smanjenje broja aerobnih mezofilnih bakterija može biti posljedica termosonifikacije tijekom koje se stvaraju nepovoljni uvjeti visoke temperature i tlaka uslijed kolapsa mjehurića mikro veličine uz pojavu turbulencije, visoke energije i sila smicanja (Vigneshwaran i sur., 2022). Nakon provedbe *hot break* tretmana sve analizirane vrijednosti su ispod 10 CFU/g što odgovara istraživanju Jayathunge i sur. (2019) koji je zaključio da provedba *hot break* tretmana (80–

100°C, 5-10 minuta) je učinkovita u očuvanju mikrobiološke sigurnosti proizvoda od rajčice. Provedba toplinskog tretmana (60 °C, 3 minute) na sosu od rajčice dovodi do smanjenja broja aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni što odgovara rezultatima istraživanja Santhirasegaram i sur. (2013) na toplinski (90 ± 1 °C, 30 sekundi) tretiranom uzorku soka od Chokanan manga. Toplina narušava cjelovitost stanične membrane i oštećuje nukleinske kiseline uzrokujući tako citolitičke učinke što dovodi do smanjena vrijednosti navedenih mikroorganizama.

Tijekom skladištenja sosa od rajčice, kao i u uzorku soka od rajčice s dodatkom praha komine masline, došlo je do povećanja vrijednosti aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u kontrolnom uzorku što je u skladu s očekivanjima jer rast bakterija nije bio ograničen, no broj plijesni se smanjio. Svi tretirani uzorci pokazuju povećani broj aerobnih mezofilnih bakterija. Kao što je već ranije navedeno, ultrazvuk visokog intenziteta može uzrokovati ireverzibilno oštećenje stanica bakterija (Starek i sur., 2021). Oporavak stanica ovisi o fazi rasta u kojoj su se bakterija nalazile tijekom provedbe tretmana. Bakterije imaju ukupno četiri faze rasta: lag faza, eksponencijalna faza, stacionarna faza i faza odumiranja. U eksponencionalnoj fazi rasta stanice bakterija su najaktivnije te je to faza u kojoj se počinju dijeliti, no također su i više osjetljive na nepovoljne uvijete iz okoline u usporedbi s bakterijama u ostalim fazama rasta (Gao i sur., 2014). To potvrđuje istraživanje Starek i sur. (2021) u kojem se aerobne mezofilne bakterije nisu razvile u uzorku soka od rajčice tretiranog ultrazvukom (40 W cm⁻², 37-52 °C, 10 min) ni nakon 10 dana skladištenja pri 4 °C. Prema tome, možemo zaključiti da su u ultrazvukom visokog intenziteta tretiranom uzorku sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline aerobne mezofilne bakterije bile u manje osjetljivoj fazi rasta što im je omogućilo oporavljanje tijekom skladištenja.

4.4.3. Usporedba utjecaja provedenih tretmana na rezultate mikrobioloških analiza

Na Slici 3. prikazani su kontrolni uzorci i tretirani uzorci soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, a tretirani su ultrazvukom visokog intenziteta (UJOP), *hot break* tretmanom (HBJOP) ili toplinskim tretmanom (TJOP).



Slika 3. Prikaz kontrolnog uzorka i tretiranih uzoraka soka od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 7 dana skladištenja (*vlastita fotografija*)

CJOP-netretirani uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline; UJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom

U Tablici 18. navedene su vrijednosti redukcije aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u tretiranim uzorcima soka od rajčice tijekom nultog i sedmog dana skladištenja.

Tablica 18. Redukcija aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni na nulti i sedmi dan skladištenja u uzorcima soka od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break* tretmanom i toplinskim tretmanom

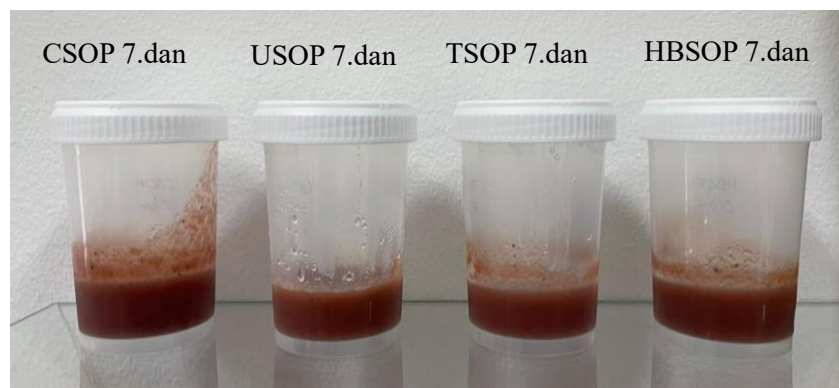
Uzorak	Aerobne mezofilne bakterije (log CFU/g)	Plijesni (log CFU/g)	Uzorak	Aerobne mezofilne bakterije (log CFU/g)	Plijesni (log CFU/g)
TJOP 0.dan	*	0	TJOP 7.dan	3,00	0,85
HBJOP 0.dan	*	0	HBJOP 7.dan	3,00	1,15
UJOP 0.dan	*	0	UJOP 7.dan	3,00	1,15

UJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TJOP-uzorak soka od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; CFU-broj izraslih kolonija (engl. Colony-Forming Unit); *-porast vrijednosti u odnosu na kontra uzorak

U svim tretiranim uzorcima nultog dana, nije postignuta redukcija aerobnih mezofilnih bakterija to jest u odnosu na kontrolni uzorak, provedbom tretmana je došlo do porasta

vrijednosti aerobnih mezofilnih bakterija. Što se tiče plijesni, njihova vrijednost je ostala ne promijenjena u svim tretiranim uzorcima u odnosu na netretirani. Nakon 7 dana skladištenja, svi tretirani uzorci pokazuju jednako smanjenje broja aerobnih mezofilnih bakterija (3,00 log CFU/g). Međutim, najmanja redukcija plijesni, nakon 7 dana skladištenja, ostvarena je u toplinski tretiranom uzorku soka (0,85 log CFU/g).

Na Slici 4. prikazani su kontrolni uzorci i tretirani uzorci sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, a tretirani su ultrazvukom visokog intenziteta (USOP), *hot break* tretmanom (HBSOP) ili toplinskim tretmanom (TSOP).



Slika 4. Prikaz kontrolnog uzorka i tretiranih uzoraka sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline nakon 7 dana skladištenja (*vlastita fotografija*)

CSOP-netretirani uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline; USOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran *hot break* tretmanom; TSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom

U Tablici 19. navedene su vrijednosti redukcije aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u tretiranim uzorcima sosa od rajčice tijekom nultog i sedmog dana skladištenja.

Tablica 19. Redukcija aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni na nulti i sedmi dan skladištenja u uzorcima sosa od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break* tretmanom i toplinskim tretmanom

Uzorak	Aerobne mezofilne bakterije (log CFU/g)	Plijesni (log CFU/g)	Uzorak	Aerobne mezofilne bakterije (log CFU/g)	Plijesni (log CFU/g)
TSOP 0.dan	1,00	1,95	TSOP 7.dan	2,00	1,60
HBSOP 0.dan	1,00	1,95	HBSOP 7.dan	3,00	1,60
USOP 0.dan	0,10	1,05	USOP 7.dan	2,00	0,76

TSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran toplinskim tretmanom; USOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran ultrazvukom visokog intenziteta; HBSOP-uzorak sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline tretiran hot break tretmanom; CFU-broj izraslih kolonija (engl. Colony-Forming Unit)

Usporedbom vrijednosti redukcije aerobnih mezofilnih bakterija mjerene nultog dana koje su dane u Tablici 19. vidljivo je da je najmanja redukcija (0,10 log CFU/g) postignuta u uzorku sosa koji je tretiran ultrazvukom visokog intenziteta. Također, najmanja redukcija plijesni (1,05) je postignuta u uzorku sosa nultog dana koji je tretiran ultrazvukom visokog intenziteta. Za uzroke sosa nultog dana, toplinski tretman i *hot break* tretman imaju jedan utjecaj na redukciju aerobnih mezofilnih bakterija (1,00 log CFU/g) i plijesni (1,95 log CFU/g). Nakon skladištenja u trajanju od 7 dana, najveća redukcija aerobnih mezofilnih bakterija (3,00 log CFU/g) je zabilježena kod uzoraka sosa tretiranih *hot break* tretmanom. Međutim najmanja redukcija plijesni (0,76 log CFU/g) u uzorcima soka nakon 7 dana skladištenja je zabilježena nakon provedbe tretmana ultrazvukom visokog intenziteta.

Kao što je već ranije navedeno, mikrobiološki kriteriji za hranu u Republici Hrvatskoj navedeni su u Zakonu o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 83/2022). U navedenom zakonu definiran je dozvoljeni broj bakterije *Escherichia coli* u nepasteriziranim sokovima od voća i povrća no ne postoje definirani kriteriji za dozvoljeni broj aerobnih mezofilnih bakterija, plijesni i bakterija *Bacillus coagulans*. Također, ne postoje definirani kriteriji za dozvoljeni broj navedenih mikroorganizama u pasteriziranim sokovima voća i povrća. U navedenom zakonu, granične vrijednosti broja bakterija *Escherichia coli* u nepasteriziranom soku od voća i povrća iznose 100 i 1000 CFU/g. S obzirom da je u našem

istraživanju, u svim tretiranim i netretiranim uzorcima soka i sosa od rajčice, utvrđeno da je broj bakterij *Escherichia coli* iznosio manje od 10 CFU/g, možemo zaključiti da ova bakterija u uzorcima nalazila u količini koja je ispod granica propisanih zakonom te da je proizvod zdravstveno ispravan.

5. ZAKLJUČAK

1. Tretmanom ultrazvuka visokog intenziteta postignuto je najveće povećanje koncentracije ukupnih fenola (10,8 %), likopena (101,7 %) i klorofila *b* (80,6 %) u uzorku funkcionalnog soka od rajčice te najveće povećanje koncentracije klorofila *b* (7,2 %) u uzorku funkcionalnog sosa od rajčice, u usporedbi s uzorcima tretiranim toplinskim i *hot break* tretmanom.
2. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta negativno je utjecao na rezultate fizikalnih parametara (°Brix-a, pH i električna vodljivost) uzoraka soka i sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline gdje su dobivene najniže vrijednosti tih parametara u odnosu na uzorke tretirane toplinskim i *hot break* tretmanom.
3. Najveća vrijednost koncentracije ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti u uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline, uočena je nakon provedbe *hot break* tretmana.
4. Skladištenje u trajanju od 7 dana pokazalo se značajnim za sve fizikalne i kemijske parametre, a posebno u uzorcima funkcionalnog soka od rajčice gdje je rezultiralo značajnim smanjenjem antioksidacijske aktivnosti te u uzorcima funkcionalnog sosa od rajčice u kojim je utvrđeno značajno smanjenje koncentracije klorofila *b*.
5. Mikrobiološkom analizom je utvrđeno da bakterije *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* nisu bile u nedozvoljenim količinama (<10 CFU/g). Najveći log redukcije aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u uzorcima sosa od rajčice s dodatkom praha komine masline je postignuta *hot break* (1,00 i 1,95 log CFU/g) i toplinskim tretmanom (1,00 i 1,95 log CFU/g), dok je u uzorcima soka vrijednost plijesni ostala nepromijenjena u svim tretiranim uzorcima, a vrijednost aerobnih mezofilnih bakterija je porasla nakon svih tretmana.
6. Nakon sedmodnevnog skladištenja, zapaženo je povećanje koncentracije aerobnih mezofilnih bakterija u kontrolnim uzorcima soka i sosa te je uočen „oporavak“ istih bakterija tijekom skladištenja u uzorku soka tretiranog ultrazvukom.

6. LITERATURA

Aaby K, Grimsbo IH, Hovda MB, Rode TM (2018) Effect of high pressure and thermal processing on shelf life and quality of strawberry purée and juice. *Food Chem*, **260**, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.100>

Aadil RM, Zeng XA, Abbasi AM, Khan MS, Khalid S, Jabbar S i sur. (2014) Influence of power ultrasound on the quality parameters of grapefruit juice during storage. *Sci Lett J* **3**, 6- 12.

Adekunte AO, Tiwari BK, Cullen PJ, Scannell AGM, O'Donnell CP (2010) Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chem* **122**, 500-507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.026>

Adulvitayakorn S, Azhari S, Hasan H (2019) The effects of conventional thermal, microwave heating, and thermosonication treatments on the quality of sugarcane juice. *J Food Process Press* **44**(2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14322>

Amiri-Rigi A, Abbasi S, Scanlon MG (2016) Enhanced lycopene extraction from tomato industrial waste using microemulsion technique: Optimization of enzymatic and ultrasound pre-treatments. *Innov Food Sci Emerg* **35**, 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.05.004>

Bermudez-Aguirre D, Niemira BA (2022) Pasteurization of Foods with Ultrasound: The Present and the Future. *Appl Sci* **12**, 10416. <https://doi.org/10.3390/app122010416>

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol* **28**, 25-30.

Braniša J, Jenosiva Z, Porubská M, Jomova K, Valko M (2014) Spectrophotometric determination of chlorophylls and carotenoids: An effect of sonication and sample processing. *J Microbiol Biotechnol Food Sci* **3**, 61-64.

Brek Savić T, Voća N, Krička T, Jurišić V (2009) Komina masline kao izvor energije, *Glasnik Zaštite Bilja*, **32**(3), 13-18.

Bursać Kovačević D, Bilobrk J, Buntić B, Bosiljkov T, Karlović S, Rocchetti G i sur. (2019) High-power ultrasound altered the polyphenolic content and antioxidant capacity in cloudy apple juice during storage. *J Food Process Pres*, 14023. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14023>

Castro-Lopez C, Sanchez-Alejo EJ, Saucedo-Pompa S, Rojas R, Aranda-Ruiz J, Martinez Avila GCG (2016) Fluctuations in phenolic content, ascorbic acid and total carotenoids and

antioxidant activity of fruit beverages during storage. *Heliyon* **2**(9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e0015>

Chaudary P, Sharma A, Singh B, Nagpai AK (2018) Bioactivities of phytochemicals present in tomato. *J Food Sci Technol* **55**, 2833-2849. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3221-z>

Chavan P, Sharma P, Sharma SR, Mittal TC, Jaiswal AK (2022) Application of High-Intensity Ultrasound to Improve Food Processing Efficiency: A Review. *Foods* **11**(1), 122. <http://dx.doi.org/10.3390/foods11010122>

Cheng XF, Zhang M, Adhikari B (2014) Changes in Quality Attributes of Strawberry Purees Processed by Power Ultrasound or Thermal Treatments. *Food Sci Technol Res* **20**, 1033-1041. <http://doi.org/10.3136/fstr.20.1033>

Cruz-Cansino Ndel S, Reyes-Hernández I, Delgado-Olivares L, Jaramillo-Bustos DP, Ariza-Ortega JA, Ramírez-Moreno E (2016) Effect of ultrasound on survival and growth of *Escherichia coli* in cactus pear juice during storage. *Braz J Microbiol* **47**(2), 431-437. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.014>

Dai J, Mumper RJ (2010) Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* **15**(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

Debbarma T, Thangalakshmi S, Tadakod M, Singh R, Singh A (2021) Comparative analysis of ohmic and conventional heat-treated carrot juice. *J Food Process Pres.* <https://doi.org/10.1111/jfpp.15687>

FAOSTAT (2022) Tomato production in 2020., Crops and livestock products – Production quantity. FAOSTAT – The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> Pristupljeno 17. srpnja 2023.

Gao MR, Xu QD, He Q, Sun Q, Zeng WC (2019) A theoretical and experimental study: the influence of different standards on the determination of total phenol content in the Folin–Ciocalteu assay. *J Food Meas Charact*, **13**, 1349-1356. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00050-6>

Gao R, Wu Z, Ma Q, Lu Z, Ye F, Zhao G (2021) Effects of Breaking Methods on the Viscosity, Rheological Properties and Nutritional Value of Tomato Paste. *Foods* **10**, 2395. <http://dx.doi.org/10.3390/foods10102395>

Gao S, Lewis GD, Ashokkumar M, Hemar Y (2014) Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 1. Effect of growth phase and capsule properties of the bacteria. *Ultrason Sonochem*, **21**(1), 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.06.006>

Gavran M (2022) Optimiranje parametara ultrazvučne obrade soka i sosa rajčice, te utjecaj na fizikalna svojstva i mikrobiološku ispravnost (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Ghafoor K, Ahmed IAM, Doğu S, Uslu N, Fadimu GJ, Al Juhaimi F i sur. (2019) The Effect of Heating Temperature on Total Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Phenolic Compounds of Plum and Mahaleb Fruits. *Int J Food Eng.* **15**(11-12). <https://doi.org/10.1515/ijfe-2017-0302>

Grace MH, Hoskin RT, Hayes M, Iorizzo M, Kay C, Ferruzzi MG, i sur. (2022) Spray-dried and freeze-dried protein-spinach particles; effect of drying technique and protein type on the bioaccessibility of carotenoids, chlorophylls, and phenolics. *Food chem* **388**, 133017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133017>

Hassen Y, Gebre H, Haile A (2019) Effects of Pre-Heating and Concentration Temperatures on Physico-Chemical Quality of Semi Concentrated Tomato (*Solanum lycopersicum*) Paste. *J Food Process Technol* **10**(6). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.100079>

Jambrak AR, Mason TJ, Paniwnyk L, Lelas V (2007) Accelerated drying of button mushrooms, Brussels sprouts and cauliflower by applying power ultrasound and its rehydration properties. *J Food Eng* **81**(1), 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.009>

Jayathunge KGLR, Stratakos AC, Delgado-Pando G, Koidis A (2019) Thermal and non-thermal processing technologies on intrinsic and extrinsic quality factors of tomato products: A review. *J Food Process Pres* **43**(3), e13901. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13901>

Jurić S, Jurić M, Król-Kilińska Ż, Vlahoviček-Kahlina K, Vinceković M, Dragović-Uzelac V, i sur. (2020) Sources, stability, encapsulation and application of natural pigments in foods. *Food Rev Int* **38**, 1735-1790. <http://doi.org/10.1080/87559129.2020.1837862>

Kalsi BS, Singh S, Alam MS (2022) Influence of ultrasound processing on the quality of guava juice. *J Food Process Eng*, e14163. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14163>

- Kang YR, Park J, Jung SK, Chang YH (2018) Synthesis, characterization, and functional properties of chlorophylls, pheophytins, and Zn-pheophytins. *Food Chem* **245**, 943-950. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.07>
- Kaur C, George B, Deepa N, Jaggi S, Kapoor HC (2007) Viscosity and quality of tomato juice as affected by processing methods. *J Food Quality*, **30**(6), 864–877. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2007.00166.x>
- Kelebek H, Selli S, Kadiroğlu P, Kola O, Kesen S, Uçar B, i sur. (2017) Bioactive compounds and antioxidant potential in tomato pastes as affected by hot and cold break process, *Food Chem* **220**, 31-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.190>
- Khandpur P, Gogate PR (2016) Evaluation of ultrasound based sterilization approaches in terms of shelf life and quality parameters of fruit and vegetable juices. *Ultrason Sonochem* **29**, 337–353. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.10.008>
- Koh E, Charoenprasert S, Mitchell AE (2011) Effects of industrial tomato paste processing on ascorbic acid, flavonoids and carotenoids and their stability over one-year storage. *J Sci Food Agr* **92**(1), 23–28. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4580>
- Kumar T, Smith DD, Kumar S, Vimla B (2018) Effect of Voltage Gradient and Temperature on Electrical Conductivity of Grape (*Vitis vinifera L.*) Juice during Ohmic Heating. *Int J Curr Microbiol App Sci* **7**(5), 1914-1921. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.224>
- Lagnika C, Adjovi Y, Lagnika L, Gogohounga F, Do-Sacramento O, Koulony R i sur. (2017) Effect of Combining Ultrasound and Mild Heat Treatment on Physicochemical, Nutritional Quality and Microbiological Properties of Pineapple Juice. *Food and Nutrition Sciences* **8**, 227-241. <https://doi.org/10.4236/fns.2017.82015>
- Lepaus BM, Santos AKPdO, Spaviero AF, Daud PS, de São José JFB (2023) Thermosonication of Orange-Carrot Juice Blend: Overall Quality during Refrigerated Storage, and Sensory Acceptance. *Molecules* **28**, 2196. <https://doi.org/10.3390/molecules28052196>
- Levy R., Okun Z, Shpigelman A (2020) High-Pressure Homogenization: Principles and Applications Beyond Microbial Inactivation. *Food Engineering Reviews*, **13**(3), 490-508. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09239-8>

Lu C, Ding J, Park HK, Feng H (2020) High intensity ultrasound as a physical elicitor affects secondary metabolites and antioxidant capacity of tomato fruits. *Food Control*, **113**, 107176. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107176>

Makroo HA, Rastogi NK, Srivastava B (2017) Enzyme inactivation of tomato juice by ohmic heating and its effects on physico-chemical characteristics of concentrated tomato paste. *J Food Process Eng* **40**, e12464. <https://doi.org/10.1111/jfpe.1246>

Malta LG, Liu RH (2014) Analyses of Total Phenolics, Total Flavonoids, and Total Antioxidant Activities in Foods and Dietary Supplements. U: Van Alfen NK (ured.) Encyclopedia of Agriculture and Food Systems, Academic Press, Cambridge, str. 305-314. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00058-9>

Manzoor MF, Xu B, Khan S, Shukat R, Ahmed N, Imran M, i sur. (2021) Impact of high-intensity thermosonication treatment on spinach juice: Bioactive compounds, rheological, microbial, and enzymatic activities. *Ultrason Sonochem* **78**, 105740. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105740>

Martínez-Hernández GB, Boluda-Aguilar M, Taboada-Rodríguez A, Soto-Jover S, Marín-Iniesta F, López-Gómez A (2015) Processing, Packaging, and Storage of Tomato Products: Influence on the Lycopene Content. *Food Eng Rev*, **8**(1), 52–75. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9113-3>

Martins GR, Monteiro AF, do Amaral FRL, da Silva AS (2021) A validated Folin-Ciocalteu method for total phenolics quantification of condensed tannin-rich açai (*Euterpe oleracea* Mart.) seeds extract. *J Food Technol*, **58**(12), 4693-4702. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04959-5>

Miljković VM, Momčilović MZ, Zvezdanović JB, Gajić IL, Mrmošani JM, Mihajlov-Krstev T (2022) Carotenoid and flavonoid levels, antioxidant activity and antimicrobial properties of tomato grown in Serbia. *J Food Nutr Res* **61**, 402-414.

Mtaoua H, Sánchez-Vega R, Ferchichi A, Martín-Belloso O (2016) Impact of High-Intensity Pulsed Electric Fields or Thermal Treatment on the Quality Attributes of Date Juice through Storage. *J Food Process Pres* **41**(4), e13052. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13052>

Munteanu IG, Apetrei C (2021) Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci* **22**(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

Nadeem M, Ubaid N, Qureshi TM, Munir M, Mehmood A (2018) Effect of ultrasound and chemical treatment on total phenol, flavonoids and antioxidant properties on carrot-grape juice blend during storage. *Ultrason Sonochem* **45**, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.034>

Nagata M, Yamashita I (1992) Simple method for simultaneous determinations of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J Jpn Soc Food Sci* **39**, 925-928.

Nowacka M, Dadan M, Janowicz M, Wiktor A, Witrowa-Rajchert D, Mandal R i sur. (2021) Effect of nonthermal treatments on selected natural food pigments and color changes in plant material. nonthermal treatments on selected natural food pigments and color changes in plant material. *Compr Rev Food Sci Food Saf* , **20**(5), 5097–5144. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12824>

Nunes BV, da Silva CN, Bastos SC, de Souza VR(2022) Microbiological Inactivation by Ultrasound in Liquid Products. *Food Bioprocess Technol* **15**, 2185–2209. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02818-z>

Obeng FA, Gyasi PB, Olu-Taiwo M, Ayeh-Kumi FP (2018) Microbial Assessment of Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) Sold at Some Central Markets in Ghana. *Biomed Res Int*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2018/6743826>

Oladunjoye AO, Adeboyejo FO, Okekunbi TA, Aderibigbe OR (2021) Effect of thermosonication on quality attributes of hog plum (*Spondias mombin L.*) juice. *Ultrason Sonochem* **70**, 105316. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.10531>

Ordóñez-Santos LE, Martínez-Girón J, Arias-Jaramillo ME (2017) Effect of ultrasound treatment on visual color, vitamin C, total phenols, and carotenoids content in Cape gooseberry juice. *Food Chem* **233**, 96–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.11>

Petruzzi L, Campaniello D, Speranza B, Corbo MR, Sinigaglia M, Bevilacqua A (2017). Thermal Treatments for Fruit and Vegetable Juices and Beverages: A Literature Overview. *Compr Rev Food Sci F* **16**(4), 668–691. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12270>

Picazo A, Rochera C, Vicente E, Miracle MR, Camacho A (2013) Spectrophotometric methods for the determination of photosynthetic pigments in stratified lakes: a critical analysis based on comparisons with HPLC determinations in a model lake. *Limnetica* **32**, 139-158. <https://doi.org/10.23818/limn.32.13>

Pravilnik (2013) Pravilnik o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju. Narodne novine 48, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_04_48_941.html, Pristupljeno 21. srpnja 2023.

Quinet M, Angosto T, Yuste-Lisbona FJ, Blanchard-Gros R, Bigot S, Martinez JP i sur. (2019) Tomato Fruit Development and Metabolism. *Front Plant Sci* **10**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01554>

Ribeiro TB, Oliveira A, Coelho M, Veiga M, Costa, EM, Silva S i sur. (2020) Are olive pomace powders a safe source of bioactives and nutrients? *J Sci Food Agric* **101**(5), 1963–1978. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10812>

Rivero AG, Keutgen AJ, Pawelzik E (2022) Antioxidant Properties of Tomato Fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as Affected by Cultivar and Processing Method. *Horticulturae* **8**, 547. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8060547>

Rodríguez-Rico D, Sáenz-Esqueda M de los Á, Meza-Velázquez JA, Martínez-García JJ, Quezada-Rivera JJ, Umaña MM i sur. (2022) High-Intensity Ultrasound Processing Enhances the Bioactive Compounds, Antioxidant Capacity and Microbiological Quality of Melon (*Cucumis melo*) Juice *Foods* **11**(17), 2648. <http://dx.doi.org/10.3390/foods11172648>

Roobab U, Aadil RM, Madni GM,, Bekhit AED (2018) The Impact of Nonthermal Technologies on the Microbiological Quality of Juices: A Review. *Compr Rev Food Sci F* **17**(2), 437–457. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12336>

Ruiz-Nieto A, Lopez AJM, Lopez MR, Lopez MJ, Medina JJ, Scheer HAT i sur. (1997) Analysis of sucrose's from strawberry culti-vars of commercial interest contents evolution. *Acta Horti* **439**, 663-667.

Saeeduddin M, Abid M, Jabbar S, Wu T, Yuan Q, Riaz A i sur. (2017) Nutritional, microbial and physicochemical changes in pear juice under ultrasound and commercial pasteurization during storage. *J Food Process Pres* **41**(6), 13237. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.13237>

Salehi F (2020) Physico-chemical properties of fruit and vegetable juices as affected by ultrasound: a review, *International Journal of Food Properties*. *Int J Food Prop* **23**, 1748-1765. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1825486>

Sandeep Kumar R, Misal MA, Mahendran R, Loganathan M, Tito Anand M, Anandakumar S (2021) Physico-chemical and physiological properties of 'Shivam' variety tomato at different

Maturity stages. *Int J Chem Stud* **9**, 2117-2122.
<https://doi.org/10.22271/chemi.2021.v9.i1ad.11533>

Santhirasegaram V, Razali Z, Somasundram C (2013) Effects of thermal treatment and sonication on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Ultrason Sonochem*, **20**(5), 1276–1282. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.02.005>

Sattar S, Imran M, Mushtaq Z, Ahmad MH, Arshad MS, Holmes M i sur. (2020) Retention and stability of bioactive compounds in functional peach beverage using pasteurization, microwave and ultrasound technologies. *Food Sci Biotechnol* **29**, 1381–1388.
<https://doi.org/10.1007/s10068-020-00797-5>

Shirahigue LD, Ceccato-Antonini SR (2020) Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. *Cienc Rural*. **50**(4).
<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20190857>

Silva EK, Arruda HS, Pastore GM, Meireles MAA, Saldana MD (2020) Xylooligosaccharides chemical stability after high-intensity ultrasound processing of prebiotic orange juice. *Ultrason sonochem* **63**, 104942. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104942>

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* **16**, 144-158.

Sirivibulkovit K, Nouanthavong S, Sameenoi Y (2018) Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Anal Sci* **34**(7), 795–800. <https://doi.org/10.2116/analsci.18P014>

Solovchenko A, Yahia EM, Chen C (2019) Pigments. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, 225–252. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813278-4.00011-7>

Starek A, Kobus Z, Sagan A, Chudzik B, Pawlat J, Kwiatkowski M i sur. (2021) Influence of ultrasound on selected microorganisms, chemical and structural changes in fresh tomato juice. *Sci Rep* **11**, 3488. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83073-8>

Tarazona-Díaz MP, Martínez-Sánchez A, Aguayo E (2017) Preservation of bioactive compounds and quality parameters of watermelon juice enriched with L-Citrulline through short thermal treatment. *J Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2017/3283054>

Thrane JE, Kyle M, Striebel M, Haande S, Grung M, Rohrlack T i sur. (2015) Spectrophotometric Analysis of Pigments: A Critical Assessment of a High-Throughput

Method for Analysis of Algal Pigment Mixtures by Spectral Deconvolution. *PloS One* **10**. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137645>

Tomaş M, Sađdiç O, Çatalkaya G, Karıncaođlu DK, Güven EÇ (2019) Effects of cooking and extra virgin olive oil addition on bioaccessibility of carotenes in tomato sauce. *Turk J Agric For* **43**, 478-484. <https://doi.org/10.3906/tar-1801-127>

Urbonavićienė D, Bobinas Č, Bobinaitė R, Raudonė L, Trumbeckaitė S, Viškėlis J i sur. (2021) Composition and Antioxidant Activity, Supercritical Carbon Dioxide Extraction Extracts, and Residue after Extraction of Biologically Active Compounds from Freeze-Dried Tomato Matrix. *Processes* **9**. <http://dx.doi.org/10.3390/pr9030467>

Vigneshwaran G, More PR, Arya SS (2022) Non-thermal hydrodynamic cavitation processing of tomato juice for physicochemical, bioactive, and enzyme stability: Effect of process conditions, kinetics, and shelf-life extension. *Curr Res Food Sci* **5**, 313-324. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.01.025>

Vigneshwaran G, More PR, Arya SS (2022) Non-thermal hydrodynamic cavitation processing of tomato juice for physicochemical, bioactive, and enzyme stability: Effect of process conditions, kinetics, and shelf-life extension. *Curr Res Food Sci* **5**, 313-324. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.01.025>

Wambugu RW (2020) Pretreatment and drying effect on the antioxidant, color, rehydration properties and microbial quality of four tomato varieties (master thesis), School of Food and Nutrition Sciences, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, Juja

Wu X, Yu L, Pehrsson PR (2022) Are Processed Tomato Products as Nutritious as Fresh Tomatoes? Scoping Review on the Effects of Industrial Processing on Nutrients and Bioactive Compounds in Tomatoes. *Adv Nutr* **13**(1), 138-151. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab109>

Yildiz S, Pokhrel PR, Unluturk S, Barbosa-Cánovas GV (2020) Changes in Quality Characteristics of Strawberry Juice After Equivalent High Pressure, Ultrasound, and Pulsed Electric Fields Processes. *Food Eng Rev* **13**(5), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09250-z>

Zakon (2022) Zakon o higijeni hrane i mikrobiološkım kriterijima za hranu. Narodne novine 83, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2022_07_83_1248.html Pristupljeno 23. srpnja 2023.

Zhang W, Yu Y, Xie F, Gu X, Wu J, Wang Z (2019) High pressure homogenization versus ultrasound treatment of tomato juice: Effects on stability and in vitro bioaccessibility of carotenoids. *LWT - Food Sci Technol* **116**, 108597. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108597>

Zupanc M, Pandur Ž, Stepišnik Perdih T, Stopar D, Petkovšek M, Dular M (2019) Effects of cavitation on different microorganisms: The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research. *Ultrason Sonochem* **57**, 147-165. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009>

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Ivona Marinčić izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Ivona Marinčić

Vlastoručni potpis