

Utjecaj tehnologije ultrazvuka visoke snage na stabilnost fenolnih spojeva u sokovima od jagode

Bičanić, Paula

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:462763>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-02**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

Paula Bičanić
0058210803

**UTJECAJ TEHNOLOGIJE ULTRAZVUKA VISOKE
SNAGE NA STABILNOST FENOLNIH SPOJEVA U
SOKOVIMA OD JAGODE**

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog projekta: Tehnologija preprekama i 3D printanje za okolišno prihvatljivu proizvodnju funkcionalnih voćnih sokova (3D-SustJuice) (IP-2019-04-2105)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević

Zagreb, 2022. g.
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za kemiju i tehnologiju voća i povrća

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Utjecaj tehnologije ultrazvuka visoke snage na stabilnost
fenolnih spojeva u sokovima od jagode
Paula Bičanić, 0058210803**

Sažetak: Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj tehnologije ultrazvuka visoke snage (engl. *High Power Ultrasound*, HPU) na stabilnost fenolnih spojeva u sokovima od jagode prije i nakon sedmodnevnog skladištenja pri 4 °C. Sokovi su pripremljeni od prethodno odmrznutih jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) sorte 'Albion', različitih stupnjeva zrelosti (75 % i 100%). Ispitivan je utjecaj parametara HPU tretmana – amplitude (25, 50, 75 i 100 %), pulsa (50 i 100%) te vremena obrade (5 i 10 minuta) na udio ukupnih fenola u uzorcima. U tretiranim i netretiranim uzorcima uočen je veći udio ukupnih fenola kod nižeg stupnja zrelosti jagoda. Skladištenjem netretiranih sokova nije došlo do značajne promjene koncentracije ukupnih fenola u uzorcima, za razliku od HPU tretiranih sokova kod kojih je uočen pad iste. Povećanjem amplitude kod HPU tretmana koncentracija ukupnih fenola se smanjila, dok puls i vrijeme obrade nisu pokazali značajan utjecaj na njihovu stabilnost.

Ključne riječi: HPU, polifenoli, sok od jagode, stupanj zrelosti

Rad sadrži: 27 stranica, 4 slike, 5 tablica, 36 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević

Pomoć pri izradi: mag. ing. Anica Bebek Markovinović

Datum obrane:

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Chemistry and Technology of Fruits and Vegetables

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

The influence of high-power ultrasound technology on the stability of phenolic compounds in strawberry juices

Paula Bičanić, 0058210803

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of the high-power ultrasound treatment (HPU) on polyphenolic stability in strawberry juice before and after 7-day storage at 4 °C. Juices were made of unfrozen strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivar 'Albion', which were harvested at different ripeness stage (75 % and 100 %). The effect of HPU treatment parameters - amplitude (25, 50, 75 and 100 %), pulse (50 and 100 %) and the treatment time (5 and 10 minutes) on total phenolic composition was investigated. In both treated and untreated samples concentration of total phenolics was higher at lower ripeness stage of strawberries. The decrease of total phenolics in treated samples was noticed after storage, while there was no significant difference in phenolic composition of untreated juice. Increasing amplitude caused decrease of total phenolics level. Pulse and treatment time did not affect total phenolic stability.

Keywords: HPU, polyphenolics, strawberry juice, ripeness stage

Thesis contains: 27 pages, 4 figures, 5 tables, 36 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Danijela Bursać Kovačević, PhD, Associate Professor

Technical support and assistance: Anica Bebek Markovinović

Thesis defended:

Sadržaj

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO	2
2.1.	JAGODA (<i>FRAGARIA ANANASSA</i> X DUCH.).....	2
2.1.1.	KEMIJSKI SASTAV JAGODE.....	3
2.1.2.	BIOAKTIVNI SPOJEVI JAGODE.....	4
2.1.3.	SOK OD JAGODE	5
2.1.4.	STABILNOST FENOLNIH SPOJEVA SOKA OD JAGODE.....	7
2.2.	TEHNOLOGIJA ULTRAZVUKA VISOKE SNAGE U KONZERVIRANJU VOĆNIH SOKOVA.....	8
2.2.1.	PRIMJENA TEHNOLOGIJE ULTRAZVUKA VISOKE SNAGE (HPU) U OBRADI SOKA OD JAGODE.....	9
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	10
3.1.	MATERIJALI.....	10
3.2.	METODE RADA	11
3.2.1.	PRIPREMA SOKA OD JAGODE	11
3.2.2.	TRETMAN SOKOVA HPU (HIGH POWER ULTRASOUND) TEHNOLOGIJOM.....	11
3.2.3.	ODREĐIVANJE pH VRIJEDNOSTI.....	13
3.2.4.	ODREĐIVANJE TOPLJIVE SUHE TVARI	14
3.2.5.	POSTUPAK EKSTRAKCIJE UKUPNIH FENOLA U UZORCIMA SOKA OD JAGODE	14
3.2.6.	SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLA	15
4.	REZULTATI I RASPRAVA	18
4.1.	UTJECAJ ZRELOSTI I SKLADIŠTENJA NA UDIO UKUPNIH FENOLA U NETRETIRANIM SOKOVIMA OD JAGODE.....	18
4.2.	UTJECAJ TRETMANA ULTRAZVUKOM VISOKE SNAGE NA UDIO FENOLNIH SPOJEVA U SOKOVIMA OD JAGODE	19
5.	ZAKLJUČCI	22
6.	LITERATURA	23

1. UVOD

Zbog primamljivog izgleda, a još više primamljivijih senzorskih svojstava, jagode su omiljeno voće velikog broja ljudi različitih životnih dobi. Osim što su ugodne za konzumaciju, jagode su korisne i sa zdravstvenog aspekta kao bogat izvor polifenolnih spojeva koji u ljudskom organizmu djeluju kao antioksidansi te mogu pomoći u prevenciji raznih bolesti. Ipak, konzumacija ovog sezonskog voća u svježem stanju u našem je podneblju ograničena na kratak proljetni period. Stoga su proizvodi od jagoda dobra alternativa svježim plodovima koja ljubiteljima ovog voća omogućava uživanje tijekom cijele godine. No ti proizvodi, poput pekmeza, džemova i sokova, nakon proizvodnje prolaze postupak pasterizacije kako bi se zaštitili od utjecaja štetnih mikroorganizama, tj. kako bi se produljila njihova trajnost. Pritom su izloženi povišenim temperaturama koje uzrokuju degradaciju bioaktivnih spojeva, uključujući polifenole, ali i narušavaju se senzorska svojstva proizvoda. Stoga se u tehnologiji voća otvara prostor za nove tehnološke postupke koji bi mogli zamijeniti tradicionalne toplinske tretmane i tako doprinijeti očuvanju izvornih svojstava i kvalitete voćnih proizvoda. Jedna od takvih je i tehnologija ultrazvuka visoke snage, koja je predmet ovog rada. Tretman voćnih sokova ultrazvukom visoke snage u dosadašnjim je istraživanjima pokazao visok potencijal te zainteresirao brojne znanstvenike iz područja kemije i tehnologije voća i povrća, ali i mnogo šire. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj tretmana ultrazvukom visoke snage na stabilnost fenolnih spojeva u sokovima od jagoda različitih stupnjeva zrelosti. Nadalje, cilj je bio ispitati kako promjena parametara HPU tretmana – amplitude, pulsa i vremena obrade utječe na stabilnost fenolnih spojeva te mijenja li se udio fenolnih spojeva u soku od jagode tijekom sedmodnevnog skladištenja pri 4 °C.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JAGODA (*Fragaria ananassa* x *Duch.*)

U skupinu jagodastog voća ubraja se širok spektar biljnih vrsta te velik broj kultivara i genotipova, koji su najčešće dostupni kao kultivirane, poludivlje i divlje vrste. Jagode pripadaju porodici ružovki (*Rosaceae*), rodu *Fragaria*. Zahvaljujući svojim senzorskim obilježjima te raznolikosti bioaktivnih komponenata koje sadrže, ali i svojoj prilagodljivosti na različite klimatske i okolišne uvjete, jagode su najrasprostranjenije jagodasto voće na svijetu, uzgajane na površini od 244 tisuće hektara (Costa, 2019). Ova višegodišnja zeljasta biljka najveći prinos daje kroz prve dvije godine uzgoja, a kasnije on značajno slabi. Razmnožava se vegetativno, pomoću vriježa, dugih izdanaka koji se nalaze na površini zemlje (Šimić, 2016).

Prema podacima Organizacije za prehranu i poljoprivredu (engl. *Food and Agriculture Organization – FAO*), uzgoj jagoda u Hrvatskoj u posljednjem se desetljeću gotovo udvostručio. U 2011. godini jagode su se uzgajale na 158 ha površine, pri čemu je uzgojeno 1962 tone plodova, dok je u 2020. godini površina uzgoja porasla na 300 ha te prinos od 2630 tona jagoda (FAO, 2022). Uzgoj jagoda u svijetu od visoke je ekonomske i komercijalne važnosti. Osim konzumacije svježih plodova, čiji je rok trajnosti prilično ograničen, jagode se mogu skladištiti smrznute, osušene ili se prerađuju u proizvode poput sokova, džemova, želea i jogurta. Zbog povoljnog utjecaja koji imaju na zdravlje, jagode se koriste kao dodatak nutricionističkim proizvodima poput raznih napitaka, brašna, praškastih proizvoda (González-Domínguez i sur., 2020).

Jagode se, kao i drugo jagodasto voće, ističu među ostalim vrstama voća, zbog visokog udjela minerala, vitamina, vlakana te polifenolnih spojeva. Među fenolima, posebno su značajni antocijani koji jagodama daju crvenu boju te su vrlo važni sa zdravstvenog aspekta (López-Pedrouso i sur., 2020; Aaby i sur., 2018).

Uravnotežena prehrana usko je povezana s održavanjem zdravlja ljudskog organizma. Pod pojmom uravnotežene prehrane podrazumijeva se pojačana konzumacija voća i povrća, kao izvora vlakana i esencijalnih spojeva ključnih za sprječavanje kroničnih bolesti (Bursać Kovačević i sur., 2020). Sukladno tome, jagode su vrlo poželjne u prehrani zbog svojih antioksidacijskih i protuupalnih svojstava. Njihovom se konzumacijom smanjuje rizik od kroničnih degenerativnih oboljenja poput hiperglikemije, povišene razine masti u krvi, različitih upala, bolesti krvožilnog sustava, raka i drugih oboljenja (González-Domínguez i sur., 2020).

2.1.1. Kemijski sastav jagode

Kemijski sastav pojedine biljne vrste određen je njezinim genotipom, no na njega značajno utječu i drugi faktori poput geografskog podrijetla, uvjeta uzgoja te okolišnih uvjeta. Osim kemijskog sastava, ovi faktori određuju senzorska te nutritivna svojstva biljaka, na temelju kojih se pri kontroli kvalitete hrane određuje podrijetlo, autentičnost i sljedivost prehrambenih proizvoda (González-Domínguez i sur., 2020).

Najveći udio među topljivim komponentama jagoda zauzimaju šećeri (glukoza, fruktoza i saharoza) te organske kiseline od kojih su najzastupljenije limunska i jabučna. Od minerala, najzastupljeniji je kalij, a značajne su koncentracije fosfora, magnezija, kalcija te natrija. Jagode su vrlo bogat izvor vitamina C i folata. U Tablici 1 prikazan je kemijski sastav pet sorti jagoda uzgajanih pri različitim uvjetima (u zatvorenom i otvorenom sustavu) (González-Domínguez i sur., 2020).

Tablica 1. Koncentracije šećera (g kg^{-1}), organskih kiselina (g kg^{-1}) i minerala (g kg^{-1}) u jagodama sorti Aromas, Camarosa, Diamante, Medina i Ventana (*prema* González-Domínguez, 2020)

Spoj	Aromas	Camarosa	Diamante	Medina	Ventana
Saharoza	6.9 ± 4.8	14.1 ± 2.3	9.2 ± 1.7	6.7 ± 3.4	10.0 ± 3.1
Glukoza	11.9 ± 4.4	11.7 ± 3.2	12.4 ± 3.0	12.3 ± 3.9	14.6 ± 3.9
Fruktoza	11.6 ± 4.1	11.0 ± 2.8	11.5 ± 2.4	11.4 ± 3.8	13.3 ± 3.4
Ukupni šećeri	30.5 ± 12.8	36.7 ± 6.3	33.1 ± 5.7	30.4 ± 10.2	37.9 ± 8.7
Askorbinska kiselina	0.1 ± 0.04	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.02	0.2 ± 0.08	0.2 ± 0.1
Limunska kiselina	5.1 ± 2.0	6.3 ± 0.8	5.3 ± 1.1	4.7 ± 1.4	5.3 ± 0.8
Jabučna kiselina	0.5 ± 0.1	2.4 ± 0.4	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.2
Ukupne kiseline	5.8 ± 2.2	8.9 ± 2.9	6.2 ± 1.3	5.5 ± 1.5	6.4 ± 0.8
Barij	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.06	0.4 ± 0.06	0.4 ± 0.02	0.4 ± 0.04
Kalcija	210.7 ± 24.1	244.2 ± 35.4	156.4 ± 20.1	195.4 ± 33.2	235.2 ± 28.6
Bakar	4.6 ± 1.9	4.8 ± 1.1	4.8 ± 1.4	4.9 ± 1.4	5.4 ± 1.3
Željezo	7.8 ± 1.2	7.6 ± 1.1	5.8 ± 1.6	8.7 ± 1.1	7.5 ± 1.9

Tablica 1. Koncentracije šećera (g kg^{-1}), organskih kiselina (g kg^{-1}) i minerala (g kg^{-1}) u jagodama sorti Aromas, Camarosa, Diamante, Medina i Ventana – *nastavak (prema González-Domínguez, 2020)*

Spoj	Aromas	Camarosa	Diamante	Medina	Ventana
Kalij	2843.5 ± 287.6	2788.2 ± 357.4	2098.1 ± 210.2	2844.8 ± 351.9	3597.9 ± 443.5
Magnezij	226.7 ± 26.9	179.3 ± 26.0	142.5 ± 20.1	167.5 ± 23.7	222.6 ± 30.7
Mangan	8.8 ± 1.9	6.9 ± 1.0	5.9 ± 1.9	6.8 ± 1.1	9.9 ± 1.1
Natrij	189.1 ± 28.9	116.0 ± 23.7	98.3 ± 21.5	88.9 ± 17.4	126.2 ± 16.1
Stroncij	6.0 ± 1.0	3.6 ± 1.7	3.1 ± 1.5	4.8 ± 1.8	5.6 ± 1.7
Cink	3.2 ± 0.9	7.5 ± 0.8	3.74 ± 0.49	3.47 ± 0.33	4.26 ± 0.30

2.1.2. Bioaktivni spojevi jagode

Zbog povoljnog utjecaja koji ima na ljudsko zdravlje, jagoda se smatra funkcionalnom hranom. Tomu doprinose bioaktivni spojevi u sastavu jagode, među kojima su najznačajniji polifenoli, koji svojim antioksidativnim svojstvima sprječavaju nastanak slobodnih radikala u organizmu, sudjeluju u regulaciji ekspresije gena uključenih u metabolizam, omogućuju preživljavanje i proliferaciju stanica te štite i obnavljaju oštećene DNA molekule (Giampieri i sur., 2015). Crvenu boju jagoda ima zahvaljujući antocijanima, bioaktivnim spojevima iz skupine flavonoida. Osim obojenja koje je prvi kriterij kod potrošača, ovi spojevi imaju i vrlo snažan pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje. Primjerice, pomažu u prevenciji krvožilnih bolesti, kontroli tjelesne mase i dijabetesa, imaju antikancerogeno djelovanje i dr. Iako se sastav jagoda razlikuje ovisno o vrsti i drugim čimbenicima, većinu antocijana u jagodama čine monoglukozidi, koji su prilično nestabilni u odnosu na antocijane sastavljene od više polisaharida. Njihova se koncentracija u proizvodima od jagode značajno smanjuje tijekom skladištenja, što proizvodnju proizvoda od jagode čini vrlo izazovnom te otvara prostor istraživanjima i razvoju novih procesa i tehnologija (Aamer i sur., 2021).

U Tablici 2 prikazan je fenolni sastav triju različitih sorti jagoda. Među ispitivanima, sorta Camarosa najbogatija je fenolnim spojevima te je pokazala najvišu antioksidacijsku aktivnost. S obzirom na uočene razlike u fenolnom sastavu jagoda, razlikuje se i njihov doprinos ljudskom

zdravlju. Stoga se otvara mogućnost selekcije pojedinih sorti bogatijih određenim fenolnim spojevima i dobivanja sorti koje će biti značajni faktori u proizvodnji funkcionalnih prehrambenih proizvoda (Kelebek i Selli, 2011).

Tablica 2. Fenolni sastav jagoda sorte Camarosa, Seyhun i Osmanli prikazan u mg/100g
(prema Kelebek i Selli, 2011)

	Camarosa	Seyhun	Osmanli
Antocijani			
Cijanidin-3-glukozid	4.37±0.05	1.91±0.01	1.13±0.02
Pelargonidin-3-glukozid	36.58±0.60	4.29±0.10	9.17±0.91
Pelargonidin-3-rutinozid	3.14±0.07	0.23±0.01	0.12±0.01
Flavan-3-oli			
Katehin	4.29±0.01	6.09±0.04	6.88±0.04
Fenolne kiseline			
p-kumarinska kiselina	1.74±0.18	1.14±0.08	0.90±0.09
Ferulinska kiselina	2.05±0.08	1.16±0.04	1.02±0.00
Elegitanini			
Galolil bis-HHDP glukoza	2.75±0.83	3.01±0.09	5.16±0.13
Sanguin-H6	6.43±0.25	2.45±0.03	6.36±0.02
Lambertianin C	8.65±2.22	13.96±0.59	2.81±0.12
Flavonoli			
Kvercetin-3-glukuronid	0.69±0.01	0.61±0.04	3.48±0.12
Kvercetin-3-pentozid	0.32±0.03	0.51±0.08	0.32±0.02
Kempferol-3-glukozid	0.40±0.03	0.09±0.01	0.12±0.01
Kempferol heksozid	0.68±0.04	0.50±0.02	1.10±0.00

2.1.3. Sok od jagode

Najveći udio uzgojenih jagoda konzumira se u svježem stanju. Tek se oko 25 % ukupne proizvodnje prerađuje u proizvode poput sokova, džemova, kompota, sušenih jagoda i sl. (Turk i sur., 2017).

Prema Pravilniku, 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 (Pravilnik 48/2013).

Proces proizvodnje soka od jagode u industriji započinje pranjem jagoda ili odmrzavanjem jagoda ukoliko su skladištene u zamrzivaču. Slijedi pasiranje i depektinizacija voćnog tkiva, prešanje, filtracija, deaeracija te pasterizacija soka (Turk i sur., 2017). Za industrijsku preradu i proizvodnju soka optimalne su sorte jagoda s većim udjelom suhe tvari, jače obojanog i čvrstog mesa, dobre arome, a važno je i lako odvajanje peteljke od ploda (Dubrović, 2012). Rezultati najnovijih istraživanja upućuju na dobar potencijal sorte 'Albion' u proizvodnji voćnih sokova (Bebek Markovinović i sur., 2022) (slika 1).



Slika 1. Svježi plodovi jagode sorte 'Albion' (vlastita fotografija)

S obzirom na važnost bioaktivnih komponenata koje sadrži svježa jagoda, potrebno je proces proizvodnje soka, kao i drugih proizvoda od jagode prilagoditi i usmjeriti na maksimalno očuvanje tih spojeva. S tim ciljem u posljednje vrijeme sve se više ispituju inovativne tehnologije u preradi sokova kao alternativa klasičnom postupku pasterizacije (Putnik i sur., 2019). U obradi voćnih sokova poseban potencijal pokazuju ultrazvuk visokog intenziteta, visoki hidrostatski tlak te pulsirajuće električno polje (Škegro i sur., 2021; Bursać Kovačević i sur., 2019; Koubaa i sur., 2018; Gabrić i sur., 2017). Ove tehnologije od posebnog su interesa u industrijskom razmjeru jer poput pasterizacije omogućavaju proizvodnju zdravstveno ispravnog proizvoda. Također, rezultati dosadašnjih spoznaja upućuju na značajno nižu stopu degradacije bioaktivnih spojeva poput fenola i antocijana uslijed primjene ovih tehnologija u

obradi prehrambenog proizvoda u usporedbi s klasičnim toplinskim postupkom pasterizacije (Barba i sur., 2017; Herceg i sur., 2016). Zbog svog sastava koji uključuje polifenolne spojeve i brojne mikronutrijente te navedenih prednosti koje ima za ljudsko zdravlje, sok od jagode ubraja se u funkcionalnu hranu (Basu i sur., 2014).

2.1.4. Stabilnost fenolnih spojeva soka od jagode

Pasterizacija je danas najčešće korištena metoda konzerviranja voćnih sokova s ciljem produljenja roka trajnosti. Ipak, primjena topline negativno utječe na nutritivno vrijedne sastojke iz voća, ali i senzorska svojstva voćnih proizvoda, zbog čega je nužno pronaći učinkovitu zamjenu za ovaj tretman (Tomandoni i sur., 2015).

Namirnice biljnog podrijetla često su bogat izvor fenolnih spojeva, što je vrlo značajno s obzirom da velik broj fenolnih spojeva ima antioksidacijska svojstva te pomažu u prevenciji srčanih i malignih oboljenja, dijabetesa, upalnih djelovanja, mutageneze u stanicama i dr. (Khoddami i sur., 2013). Kod prerađivanja voća i povrća, pa tako i jagoda, uslijed primjene povišene temperature tijekom procesa pasterizacije dolazi do rupture staničnih stijenki te direktnog izlaganja fitokemikalija povišenoj temperaturi i kisiku. Neka, pak, istraživanja navode da uslijed samog procesa pasterizacije, ne dolazi do značajne promjene u koncentraciji ukupnih fenola, antocijana ili antioksidacijske aktivnosti. Ipak, pojedinačno gledano, koncentracija nekih spojeva, poput kampeferola, pasterizacijom se značajno smanjuje, dok koncentracija drugih, poput katehina i epikatehina, značajno raste, vjerojatno zbog poboljšane ekstraktabilnosti ovih sastavnica koje se hidrolizom oslobađaju iz polimernih struktura (Oliviera i sur., 2013). Antocijani su vrlo osjetljivi na povišenu temperaturu, a njihova se degradacija povećava proporcionalno trajanju toplinskog tretmana uslijed djelovanja enzima polifenoloksidaze (de la Rosa, 2019).

Najveći dio oksidacije fenola odvija se tijekom skladištenja proizvoda. Naime, antioksidacijska aktivnost te ukupna koncentracija antocijana tijekom skladištenja pasteriziranih jagoda pri sobnoj temperaturi tijekom 90 dana smanjuje se za 73 %, tj. 97 % u odnosu na vrijednost prije skladištenja. Ipak, ovaj je značajan pad vrijednosti mogao biti umanjen optimizacijom termičkog procesa prije samog skladištenja, čime bi se umanjio negativan učinak procesa, tj. smanjila dezintegracija staničnih organela, a time i izloženost fenolnih spojeva neenzimatskoj oksidaciji tijekom skladištenja (Oliviera i sur., 2013).

2.2. TEHNOLOGIJA ULTRAZVUKA VISOKE SNAGE U KONZERVIRANJU VOĆNIH SOKOVA

Tehnologija ultrazvuka podrazumijeva primjenu zvučnih valova frekvencije više od 20 kHz. Širenjem zvučnih valova kroz medij, dolazi do kompresije i dekompresije među česticama medija te stvaranja turbulentnog strujanja, što dovodi do porasta energije unutar sustava. U prehrambenoj industriji postoje dvije kategorije ultrazvuka, podijeljene prema razlici u intenzitetu i frekvenciji ultrazvučnih valova. To su ultrazvuk niskog intenziteta te ultrazvuk visokog intenziteta (engl. *High Power Ultrasound, HPU*), koji je predmet ovog rada. Obje su tehnologije u procesu istraživanja kao održiva i učinkovitija zamjena za dosad primjenjivane tehnologije u prehrambenoj industriji (Putnik i Bursać Kovačević, 2021; Milić i sur., 2022). HPU tehnologija zasniva se na kavitaciji, tj. nastanku i rastu sitnih mjehurića zraka te njihovoj imploziji, a primjenjiva je kod procesa emulgiranja, odzračivanja, pasterizacije, u regulaciji mikrostruktura, modifikaciji teksturalnih obilježja kod proizvoda od masti, sono-kristalizaciji, koncentriranju, smrzavanju, odmrzavanju, sušenju i dr. (Bhargava i sur., 2021).

Jedna od prednosti korištenja HPU tehnologije u odnosu na standardne metode konzerviranja voćnih sokova je očuvanje kvalitete proizvoda zbog izostanka povišene temperature. Također, HPU je ekološki prihvatljiva tehnologija, omogućuje bržu preradu hrane te smanjuje troškove proizvodnje jer zamjenjuje više koraka nužnih u standardnoj obradi prehrambenih proizvoda. Kvaliteta i senzorska svojstva konačnog proizvoda bolji su u odnosu na standardni postupak proizvodnje, a produljuje se i trajnost proizvoda. Ipak, ova tehnologija nije pokazala najbolji učinak na inaktivaciju mikroorganizama i enzima, no u kombinaciji s neznatno povišenom temperaturom i tlakom postiže se značajniji efekt u tom pogledu (Putnik i sur., 2020). Sam HPU također uzrokuje povišenje temperature kod primjene viših frekvencija i duljeg trajanja procesa, što može dovesti do degradacije senzorskih i nutritivnih svojstava tretiranog proizvoda, kao i kod klasičnih toplinskih tretmana. Osim toga, uslijed kavitacije nastaju slobodni radikali, čija prisutnost u voćnim sokovima može dovesti do denaturacije proteina te smanjenja koncentracije ukupnih fenola, ali i degradacije askorbinske kiseline (Bhargava i sur., 2021).

Unatoč brojnim prednostima i najlakšem prelasku na scale-up proizvodnju, ova netermička metoda još uvijek nije pronašla značajno mjesto u masovnoj proizvodnji u industriji voćnih sokova. Jedan od razloga je nepostojanje uređaja industrijskih kapaciteta, ali i strah od ulaganja u njihovu proizvodnju s obzirom da nije dovoljno istraženo kako bi ovako proizvedeni sokovi

bili prihvaćeni od potrošača. Ipak, s obzirom na brojne navedene prednosti koje ova tehnologija nudi, zaključci su brojnih istraživanja kako je potrebno preuzeti rizik i pružiti joj priliku u komercijalnoj proizvodnji (Dolas i sur., 2019).

2.2.1. Primjena tehnologije ultrazvuka visoke snage (HPU) u obradi soka od jagode

Kao posljedica kavitacije tijekom HPU tretmana povećava se lokalni tlak i temperatura u mediju, raste puls te dolazi do intenzivnog smicanja i turbulencije. Navedene pojave dovode do razaranja staničnih dijelova u soku, ali i uništenja mikroorganizama. Preživjeli mikroorganizmi teže se prilagođavaju novonastalim uvjetima te dolazi do njihovog sporijeg razmnožavanja tijekom skladištenja soka. U kombinaciji s UV tretmanom, HPU pokazuje značajne rezultate kao moguća zamjena za klasični proces pasterizacije sokova. Potrebna je optimizacija procesa kako bi se postigli rezultati istovjetni onima kod klasičnog uništenja mikroorganizama pasterizacijom. Primjerice, produljenjem tretmana s 15 na 30 minuta postiže se značajna razlika u pogledu uništenja mikroorganizama i mikrobiološke ispravnosti proizvoda tijekom skladištenja. HPU tretman može se koristiti kao samostalan tretman za smanjenje broja mikroorganizama, no puno bolje rezultate pokazuje u kombinaciji s drugim tretmanima. Osim UV tretmana, prirodni antimikrobni preparati poput esencijalnih ulja narančine kore pokazali su se vrlo efikasni (Khandpur i Gogate, 2016).

Osim na nutritivnu vrijednost, toplinski tretmani negativno utječu i na neka od fizikalnih svojstava proizvoda. U usporedbi s termički tretiranim sokovima, gustoća sokova tretiranih HPU tehnologijom je manja. Jedan od mogućih uzroka je isparavanje vode prilikom zagrijavanja kod pasterizacije, pri čemu zaostaje veći udio suhe tvari. Osim toga, primjenom HPU tehnologije sok se homogenizira pri čemu dolazi do smanjenja njegove gustoće uslijed povećanja koncentracije otopljene suhe tvari, tj. smanjenja udjela suspendiranih krutih čestica. Skladištenjem HPU tretiranog soka od jagode pri 4 °C tijekom 10 tjedana uočeno je kako tijekom prva 4 tjedna nije došlo do promjene gustoće soka, no nakon četvrtog tjedna, gustoća soka počela se postepeno smanjivati, što je vjerojatno posljedica početka kvarenja ili fermentacije (Khandpur i Gogate, 2016).

Termičkom obradom voćnih sokova dolazi do degradacije pigmenata te posmeđivanja tijekom Maillardovih reakcija. Prema Khandpuru i Gogateu (2016), sokovi tretirani HPU tehnologijom pokazali su značajnu stabilnost boje tijekom skladištenja u odnosu na termički tretirane sokove.

Također, HPU tehnologijom sprječava se promjena okusa soka koja može biti prisutna kod klasične pasterizacije („efekt kuhanja“).

Za razliku od toplinskih tretmana koji mogu nepovoljno djelovati na bioaktivne spojeve, HPU tretman potpomaže njihovu ekstrakciju iz voćnog tkiva koje biva dezintegrirano uslijed kavitacije. Tako je u istraživanju provedenom u soku kivija uočen porast koncentracije limunske kiseline, ukupnih fenola i flavonoida nakon HPU tretmana u odnosu na netretirani sok (Wang i sur., 2019).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za pripremu soka od jagode u eksperimentalnom dijelu ovog rada korištene su jagode (*Fragaria x ananassa* Duch.) sorte Albion, uzgajivača Jagodar-HB d.o.o. (Petrovina Turopoljska, Zagrebačka županija), ubrane u dva stadija zrelosti: 75%-tna zrelost plodova (jagode Z1) te 100%-tna zrelost plodova (jagode konzumne zrelosti Z2) (slika 2). Jagode su nakon branja dopremljene u Laboratorij, gdje su očišćene (odstranjene su im peteljke te su oprane) i posušene staničevinom te su skladištene u plastičnim posudicama pri -18 °C. 24 sata prije proizvodnje soka, približno 2,5 kg jagoda po svakoj zrelosti (Z1 i Z2) premještene su iz zamrzivača u hladnjak (4 °C) kako bi uzorci na dan provedbe pokusa bili odmrznuti.



Slika 2. Plodovi jagode (*Fragaria x ananassa*) sorte Albion u dva stadija zrelosti: 75 % dozreli plodovi (A) i 100 % dozreli plodovi (B) (vlastita fotografija)

3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema soka od jagode

U prvom dijelu pokusa pripremljen je sok od jagode pomoću sokovnika za hladno prešanje Kuvings B6000 (VerVita d.o.o., Hrvatska), snage 240 W, brzine okretaja 60 o/min i promjera filtera 0,2 mm. Rad sokovnika zasniva se na sporo rotirajućem vijku od ULTEM®-a (polieterimid) koji svojim gornjim dijelom reže namirnicu, a zatim ju povlači prema donjem dijelu vijka te pritišće uz stijenke sita istiskujući iz nje sok. Za provedbu pokusa pripremljeno je približno 1250 mL soka od jagoda zrelosti Z1, te približno 1250 mL soka od jagoda zrelosti Z2.

3.2.2. Tretman sokova HPU (High Power Ultrasound) tehnologijom

Uzorci soka od jagode tretirani su ultrazvukom visoke snage (UP400St, 400 W, 24 Hz, Hielscher Ultrasonics GmbH, Njemačka) (slika 3) uz promjenu parametara – amplitude, pulsa te vremena tretiranja, prema navedenom planu pokusa (tablica 3). Uređaj UP400St sastoji se od digitalnog ultrazvučnog procesora, sonotrode izrađene od titana DN22 (546 mm²), postolja od nehrđajućeg čelika te kutije za zaštitu od buke izrađene od akrilnog stakla. Maksimalna snaga ultrazvučnog procesora UP400St iznosi 400 W, amplituda je podesiva od 20 do 100 %, puls od 10 do 100 %, a vrijeme tretiranja određuje se ručno u rasponu od 0,1 sekunde do 99 dana. Uređaj sadrži i digitalni termometar raspona od -50 do 200 °C za mjerenje temperature uzorka prije, tijekom i nakon tretmana.

Uzorci sokova od jagode u volumenu od 60 mL tretirani su u staklenim čašama volumena 100 mL, uronjeni u hladnu vodenu kupelj s ledom kako bi se tijekom HPU tretmana smanjio utjecaj temperature.



Slika 3. Tretman soka od jagode ultrazvukom visoke snage (UP400St, 400 W, 24 Hz, Hielscher Ultrasonics GmbH, Njemačka) (vlastita fotografija)

Tablica 3. Plan pokusa tretiranja sokova od jagode HPU tehnologijom

ID	SOK	Tretman	Amplituda (%)	Puls (%)	Vrijeme tretiranja (min.)
1	Z1	KONTROLA			
2	Z1	HPU	25	50	5
3	Z1	HPU	25	50	10
4	Z1	HPU	25	100	5
5	Z1	HPU	25	100	10
6	Z1	HPU	50	50	5
7	Z1	HPU	50	50	10
8	Z1	HPU	50	100	5
9	Z1	HPU	50	100	10
10	Z1	HPU	75	50	5
11	Z1	HPU	75	50	10
12	Z1	HPU	75	100	5
13	Z1	HPU	75	100	10
14	Z1	HPU	100	50	5
15	Z1	HPU	100	50	10
16	Z1	HPU	100	100	5
17	Z1	HPU	100	100	10

Tablica 3. Plan pokusa tretiranja sokova od jagode HPU tehnologijom – nastavak

ID	SOK	Tretman	Amplituda (%)	Puls (%)	Vrijeme tretiranja (min.)
18	Z2	KONTROLA			
19	Z2	HPU	25	50	5
20	Z2	HPU	25	50	10
21	Z2	HPU	25	100	5
22	Z2	HPU	25	100	10
23	Z2	HPU	50	50	5
24	Z2	HPU	50	50	10
25	Z2	HPU	50	100	5
26	Z2	HPU	50	100	10
27	Z2	HPU	75	50	5
28	Z2	HPU	75	50	10
29	Z2	HPU	75	100	5
30	Z2	HPU	75	100	10
31	Z2	HPU	100	50	5
32	Z2	HPU	100	50	10
33	Z2	HPU	100	100	5
34	Z2	HPU	100	100	10

ID – oznaka uzorka: Z1-sok od jagode zrelosti 75 %, Z2-sok od jagode zrelosti 100 %, KONTROLA – netretirani uzorak, HPU – tretman ultrazvukom visoke snage

3.2.3. Određivanje pH vrijednosti

Određivanje pH vrijednosti temelji se na direktnom očitavanju brojčane vrijednosti prikazane na ekranu digitalnog pH-metra.

Aparatura i pribor

- pH metar Mettler-Toledo FiveEasy F20 (Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Švicarska)
- staničevina
- destilirana voda
- staklena čašica volumena 50 mL

Postupak mjerenja

Prije svakog mjerenja pH vrijednosti potrebno je elektrodu pH metra isprati destiliranom vodom i posušiti staničevinom. Suha elektroda uranja se u uzorak soka od jagode te se nakon

stabilizacije očitava pH vrijednost na digitalnom ekranu uređaja.

3.2.4. Određivanje topljive suhe tvari

Određivanje topljive suhe tvari temelji se na direktnom očitavanju vrijednosti prikazane na digitalnom refraktometru. Prikazana brojčana vrijednost prikazuje količinu topljive suhe tvari u uzorku izraženu u stupnjevima Brix ($^{\circ}\text{Bx}$).

Aparatura i pribor

- digitalni refraktometar (ATAGO PAL-3, Atago Co., LTD, Tokyo, Japan)
- staklena čaša
- staničevina
- Mikropipeta Eppendorf 1000 μL

Postupak mjerenja

Prije svakog mjerenja refraktometar je potrebno baždariti pomoću destilirane vode na vrijednost 0,0 $^{\circ}\text{Bx}$. Potom se na staklenu prizmu uređaja pomoću mikropipete Eppendorf prenosi 300 μL uzorka te se očitava vrijednost topljive suhe tvari prikazana na ekranu.

3.2.5. Postupak ekstrakcije ukupnih fenola u uzorcima soka od jagode

Aparatura i pribor:

- Ultrazvučna kupelj (DT 514 H SONOREX DIGITEC 13,5L, 860W, 40 kHz, Bandelin electronic, Njemačka)
- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Odmjerne tikvice, volumena 25 mL, 1000 mL
- Menzura, volumena 100mL, 1000 mL
- Pipeta, volumena 10 mL
- Mikropipeta Eppendorf, volumena 5000 μL
- Erlenmeyerova tikvica sa šlifom, volumena 50 mL
- Stakleni lijevak, filter papir

- Plastične epruvete falcon, volumena 50 mL
- Tresilica mini Vortex PV-1 (Grant Instruments Ltd., Cambs, Engleska)

Otapala:

- Mravlja kiselina 98 % p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Metanol za HPLC ≤ 99.9 % (Honeywell, Riedel-de-Haën TM, Francuska)
- 1%-tna mravlja kiselina u 80%-tnom metanolu (v/v)

Priprema ekstrakcijskog otapala: 80 %-tni metanol pripremi se tako da se 800 mL metanola prenese se u odmjernu tikvicu od 1 L te nadopuni destiliranom vodom do oznake. U drugu odmjernu tikvicu volumena 1 L otpipetira se 10 mL mravlje kiseline i nadopuni do oznake prethodno pripremljenim 80 %-tnim metanolom.

Neposredno prije provedbe ekstrakcije, uzorci soka se kratko homogeniziraju pomoću tresilice mini Vortex. Postupak ekstrakcije provodi se tako da se 5 mL homogeniziranog uzorka soka od jagode otpipetira u Erlenmeyerovu tikvicu sa šlifom volumena 50 mL te se nadoda 20 mL ekstrakcijskog otapala (1% mravlja kiselina u 80%-tnom metanolu, v/v). Tako pripremljena smjesa ekstrahira se u ultrazvučnoj kupelji pri temperaturi od 50 °C kroz 15 minuta. Nakon provedene ekstrakcije supernatanti se profiltriraju u odmjerne tikvice volumena 25 mL i nadopune ekstrakcijskim otapalom do oznake te skladište na 4 °C do provedbe analiza (Bursać Kovačević et al., 2016).

3.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih fenola

Aparatura i pribor:

- UV/Vis Spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka)
- Staklene kivete
- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Plastična lađica za vaganje, špatula
- Pipete, volumena 5 mL, 10 mL

- Mikropipete Eppendorf, volumena 200 μL i 1000 μL
- Staklene epruvete i stalak za epruvete
- Odmjerne tikvice, volumena 25 mL i 100 mL, 1000 mL
- Staklena čaša volumena 200 mL
- Staklena menzura od 100 mL i 1 L

Otapala i reagensi:

- Folin-Ciocalteu reagens (F.C. reagens), 5x razrijeđen (Fisher Scientific UK, Loughborough, Velika Britanija)
- Etanol 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Natrijev karbonat anhidrid (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Otopina natrijevog karbonata, 7,5 % (w/v)

Priprema 7,5 %-tne otopine natrijeva karbonata provodi se tako da se u plastičnoj ladici za vaganje odvaže 500 mg galne kiseline, koja se pomoću 10 mL 96 %-tnog etanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL te se u navedenom volumenu otopi. Potom se tikvica dopuni destiliranom vodom do oznake.

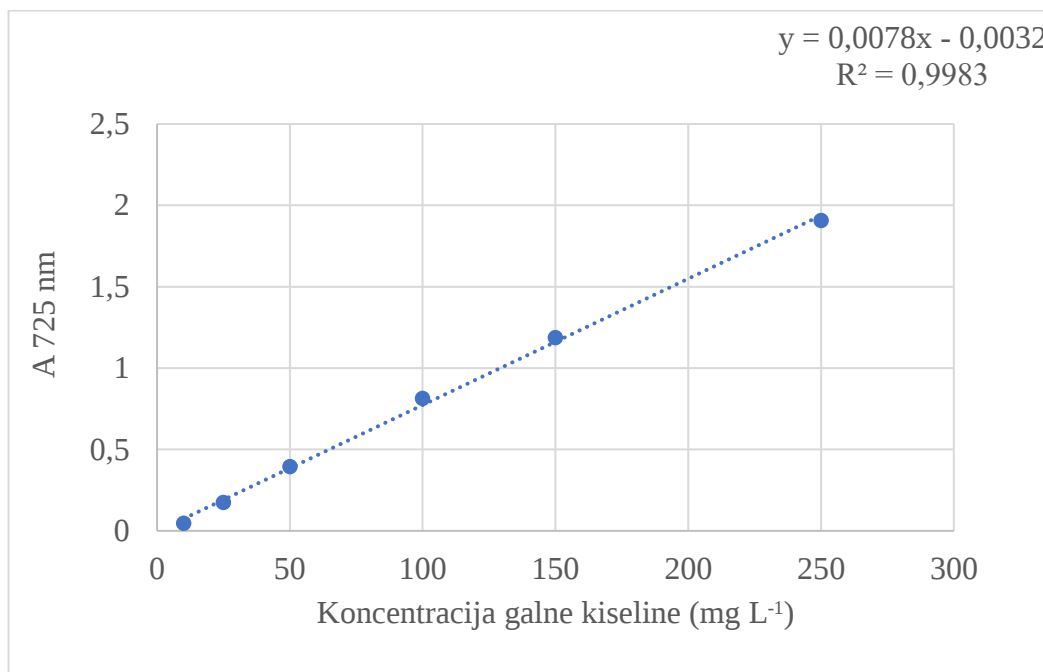
Ukupni fenoli u uzorcima soka od jagode određuju se tako da se otpipetira 400 μL ekstrakta razrijeđenog 1:1 (200 μL ekstrakta + 200 μL ekstrakcijskog otapala), 400 μL F.C. reagensa (koji je prethodno razrijeđen destiliranom vodom 5x) i 4 mL 7,5 %-tne otopine natrijeva karbonata. Reakcija se odvija pri sobnoj temperaturi kroz 20 minuta te se potom mjeri apsorbancija pri valnoj duljini 725 nm. Određivanje se provodi u paraleli, a kao slijepa proba koristi se ekstrakcijsko otapalo.

Izrada baždarnog pravca

Za izradu baždarnog pravca odvaže se 500 mg galne kiseline koja se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL pomoću 10 mL 96%-tnog etanola. Odvaga se otopi u navedenom volumenu etanola te se tikvica dopuni destiliranom vodom do oznake. Od dobivene otopine galne kiseline (5 g L^{-1}) rade se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 25 mL tako da

se otpipetira 50, 125, 250, 500, 750 i 1250 μL alikvota standardne otopine galne kiseline te se tikvice nadopune destiliranom vodom do oznake. Dobivene otopine galne kiseline poznatih su koncentracija od 10, 25, 50, 100, 150 i 250 mg L^{-1} . U staklene epruvete otpipetira se po 400 μL otopine standarda svake od navedenih koncentracija te se dodaje 400 μL F.C. reagensa razrijeđenog 5x i 4 mL 7,5%-tne otopine natrijeva karbonata (w/v). Slijepa proba priprema se na isti način, osim što se umjesto otopine standarda uzima 400 μL destilirane vode. Reakcijska smjesa stoji 20 minuta pri sobnoj temperaturi, nakon čega se mjeri apsorbancija pri valnoj duljini 725 nm.

Izmjerene vrijednosti apsorbancija koriste se za izradu baždarnog pravca pomoću programa Microsoft Excel pri čemu se koncentracije galne kiseline (mg/L) nanose na os apscisu, a izmjerene vrijednosti apsorbancije na ordinatu. Iz dobivene jednadžbe pravca izračuna se koncentracija ukupnih fenola (slika 4).



Slika 4. Baždarni pravac za standard galne kiseline

Na temelju dobivenih rezultata izvedena je jednadžba pravca:

$$y = 0,0078x - 0,0032$$

gdje je:

y – apsorbancija uzorka pri 725 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg L^{-1})

4. REZULTATI I RASPRAVA

U provedenom istraživanju ispitivan je utjecaj tretmana ultrazvukom visoke snage na udio ukupnih fenola u sokovima od jagode sorte 'Albion'. Sokovi su proizvedeni iz jagoda različitih stupnjeva zrelosti – 75 % i 100 %. Ispitana je i razlika u udjelu ukupnih fenola s obzirom na zrelost plodova te promjena udjela ukupnih fenola tijekom sedmodnevnog skladištenja netretiranog i HPU tretiranog soka pri 4 °C. Dobiveni rezultati prikazani su u Tablicama 4 i 5.

4.1. UTJECAJ ZRELOSTI I SKLADIŠTENJA NA UDIO UKUPNIH FENOLA U NETRETIRANIM SOKOVIMA OD JAGODE

Prema rezultatima dobivenim analizom 8 uzoraka, prosječan udio ukupnih fenola u netretiranim sokovima proizvedenim od jagoda sorte 'Albion' stupnja zrelosti 75 % i 100 % iznosi 96,92 mg GAE 100 mL⁻¹. Srednja vrijednost koncentracije ukupnih fenola u ispitivanim uzorcima niža je u usporedbi s rezultatima ranijih istraživanja, no poznato je kako koncentracija ukupnih fenola varira ovisno o sorti jagode, stupnju zrelosti, uvjetima uzgoja, načinu na koji je uzorak tretiran i dr. (Tomandoni i sur., 2015).

Netretirani sokovi od jagoda 75 %-tne zrelosti pokazali su veći udio ukupnih fenola od sokova proizvedenih od jagoda 100 %-tne zrelosti (tablica 4). Hyesung i sur. (2019) navode kako promjena udjela ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta tijekom zrenja ovise o sorti jagoda. Primjerice, kod istraživanja sorata 'Seolhyang' i 'Maehyang' tijekom zrenja nije došlo

do promjene u koncentraciji ukupnih fenola, dok je kod sorte 'Janghee' udio ukupnih fenola u zrelim jagodama bio niži nego u nezrelim, kao i kod sorte 'Albion' ispitivane u ovom istraživanju.

Skladištenjem soka od jagode pri 4 °C tijekom 7 dana nije došlo do promjene udjela ukupnih fenola (tablica 4). Ovisno o temperaturi skladištenja, udio ukupnih fenola može se mijenjati s vremenom. Primjerice, u istraživanju provedenom na plodovima jagode skladištenima tijekom 11 dana pri 0 °C, 5 °C i 10 °C, jagode skladištene pri 0 °C zadržale su konstantan udio ukupnih fenola, dok se kod jagoda skladištenih pri 5 °C i 10 °C udio ukupnih fenola do jedanaestog dana povećavao, nakon čega se počeo smanjivati (Ayala-Zavala, 2004).

Tablica 4. Srednje vrijednosti udjela ukupnih fenola u ovisnosti o stupnju zrelosti i vremenu skladištenja netretiranih sokova od jagode (mg GAE 100 mL⁻¹_{soka})

Parametar	n	Ukupni fenoli
Zrelost (%)		p≤0.01 [†]
75	4	103.1±1.26 ^a
100	4	90.73±1.26 ^b
Skladištenje (dani)		p=0.09 [‡]
0	4	94.90±1.26 ^a
7	4	98.94±1.26 ^a
Prosječna vrijednost	8	96.92±0.89

*Srednje vrijednosti označene različitim slovima međusobno se statistički razlikuju na p≤0,05

4.2. UTJECAJ TRETMANA ULTRAZVUKOM VISOKE SNAGE NA UDIO FENOLNIH SPOJEVA U SOKOVIMA OD JAGODE

Nakon tretmana 128 uzoraka soka od jagode ultrazvukom visoke snage (od kojih su 64 uzorka zrelosti 75 % te 64 uzorka zrelosti 100 %), izračunat je prosječan udio ukupnih fenola u uzorcima te iznosi 85,60 mg GAE 100 mL⁻¹ (tablica 5). Prosječna vrijednost ukupnih fenola smanjila se nakon tretmana ultrazvukom visoke snage u odnosu na netretirane sokove, što potvrđuje rezultate ranijih istraživanja ove tehnologije. Prema Bursać Kovačević i sur. (2019), udio ukupnih fenola u soku od jabuke smanjen je nakon tretmana ultrazvukom visoke snage za 32,94 % u odnosu na vrijednosti prije tretmana. Moguće je da do pada koncentracije ukupnih

fenola nakon HPU tretmana dolazi zbog stvaranja hidroksil radikala tijekom tretmana. Ovi spojevi mogu potaknuti hidrolizu glikozidnih dijelova fenolnih spojeva, pri čemu nastaju nestabilni aglikonski oblici fenola. Također, mjehurići zraka nastali tijekom kavitacije sadrže vodenu paru ili plinove O_2 i N_2 , koji potiču reakcije oksidacije, a time i degradaciju fenolnih komponenti. Ipak, prema nekim istraživanjima provedenim na sokovima od grožđa, manga, kruške, jagode i ogrozda udio ukupnih fenola porastao je nakon provedenog HPU tretmana u odnosu na udio prije tretmana. Mogući uzrok tome je otpuštanje fenolnih spojeva iz stanica uslijed njihove ruptуре prilikom kavitacije (Tomandoni i sur., 2016; Ordóñez-Santos i sur., 2017).

Prosječan udio ukupnih fenola u HPU tretiranim sokovima veći je kod sokova od jagoda zrelosti 75 %, nego kod sokova od jagoda 100 %-tne zrelosti (tablica 5). Ovaj je rezultat očekivan ako uzmemo u obzir početne vrijednosti, gdje su i netretirani sokovi od jagoda nižeg stupnja zrelosti sadržavali veći udio fenola.

Za razliku od netretiranih sokova, kod kojih tijekom skladištenja nije došlo do značajne promjene udjela ukupnih fenola, skladištenjem sokova tretiranih ultrazvukom visoke snage tijekom 7 dana, prosječni udio ukupnih fenola se smanjio sa 87,25 mg GAE 100 mL⁻¹ na 83,95 mg GAE 100 mL⁻¹. Dobiveni rezultati odgovaraju vrijednostima postojećih istraživanja gdje je također uočen pad koncentracije ukupnih fenola. Ipak, u istraživanju provedenom na soku od jabuke tretiranom HPU tehnologijom, udio ukupnih fenola nakon skladištenja soka tijekom 7 dana pri 4 °C snizio se za gotovo 90 % u odnosu na vrijednost prije skladištenja (Bursać Kovačević i sur., 2019). U ovom istraživanju ta je promjena značajno manja.

U Tablici 5 prikazan je utjecaj triju parametara ultrazvučnog tretmana na sadržaj ukupnih fenola u tretiranim sokovima od jagode. Pri najnižoj ispitivanoj amplitudi 25 % prosječna koncentracija ukupnih fenola je najviša. Povećanjem amplitude do 75 % koncentracija ukupnih fenola pada. Prema rezultatima postojećih istraživanja, očekivano je da će pri amplitudi 100 % sadržaj ukupnih fenola biti najniži, no ovo istraživanje pokazalo je kako je sadržaj ukupnih fenola kod amplitude 100 % istovjetan onome kod amplitude 50 %, što možemo pripisati pogrešci kod provedbe pokusa.

Promjena pulsa s 50 % na 100 % nije utjecala na prosječan udio ukupnih fenola, kao ni produljenje trajanja tretmana s 5 na 10 minuta (tablica 5). Dobiveni rezultat potvrđuje istraživanje Bursać Kovačević i sur. (2019), gdje produljenje HPU tretmana od 3 do 9 minuta nije prouzročilo značajnu promjenu u koncentraciji ukupnih fenola u sokovima od jagode. S obzirom da vrijeme obrade ne utječe na udio ukupnih fenola, radi uštede energije poželjno je

birati kraće tretiranje proizvoda.

S druge strane, prema Wangu i sur., (2019), koji su sok od jagode tretirali HPU tehnologijom tijekom 4, 8, 12 i 16 min., donesen je zaključak kako udio fenolnih spojeva raste produljenjem trajanja tretmana do 12 minuta, nakon čega ponovno pada. Kao uzrok povećanja udjela fenolnih spojeva, Wang i sur. (2019) navode rupturu stanica tijekom HPU tretmana, pri čemu dolazi do pojačane ekstrakcije fenola iz straničnih dijelova.

Tablica 5. Srednje vrijednosti udjela ukupnih fenola u ovisnosti o stupnju zrelosti, vremenu skladištenja te procesnim parametrima tretmana ultrazvukom visoke snage (mg GAE 100

mL⁻¹ soka)

Parametar	n	Ukupni fenoli
Zrelost (%)		p≤0.01 [†]
75	64	92.61±0.49 ^a
100	64	78.59±0.49 ^b
Skladištenje (dani)		p≤0.01 [†]
0	64	87.25±0.49 ^a
7	64	83.95±0.49 ^b
Amplituda (%)		p≤0.01 [†]
25	32	89.08±0.69 ^a
50	32	86.22±0.69 ^b
75	32	82.16±0.69 ^c
100	32	84.94±0.69 ^b
Puls (%)		p=0.02 [†]
50	64	84.88±0.49 ^b
100	64	86.32±0.49 ^a
Vrijeme obrade (min)		p=0.09 [‡]
5	64	84.97±0.49 ^a
10	64	86.23±0.49 ^a
Prosječna vrijednost	128	85.60±0.34

*Srednje vrijednosti označene različitim slovima međusobno se statistički razlikuju na p≤0,01

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata ovog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. HPU tretirani sokovi od jagode pokazali su niži udio ukupnih fenola u odnosu na netretirane sokove.
2. Uzorci netretiranog soka od jagode 75 %-tne zrelosti imali su veći udio ukupnih fenola u odnosu na uzorke sokova od jagode zrelosti 100 %. Skladištenjem netretiranih sokova tijekom 7 dana pri 4 °C nije došlo do značajne promjene udjela ukupnih fenola.
3. Uzorci soka od jagode zrelosti 75 % tretirani HPU tehnologijom imali su veći udio ukupnih fenola od sokova proizvedenih od jagoda zrelosti 100 %. Tijekom sedmodnevnog skladištenja tretiranih sokova došlo je do smanjenja koncentracije ukupnih fenola.
4. Povećanje amplitude kod HPU tretmana dovelo je do smanjenja udjela ukupnih fenola u uzorcima, osim kod uzoraka tretiranim najvišom amplitudom gdje se trend smanjenja koncentracije ukupnih fenola nije nastavio, što možemo pripisati mjernoj pogrešci.
5. Puls i vrijeme obrade kao parametri HPU tretmana nisu pokazali značajan utjecaj na udio fenolnih spojeva u soku od jagode. Ipak, s obzirom na različite zaključke među istraživanjima parametara HPU tretmana, potrebno je daljnje istraživanje ove tehnologije i njenih mogućnosti.

6. LITERATURA

Aaby K, Haugland Grimsbo I, Befring Hovda M, Mari Rode T (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>

Aamer R, Aamin WA, Attia RS (2021) Enhancement of color stability in strawberry nectar during storage. *Ann. Agric. Sci.* **66**, 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2021.08.003>

Ayala-Zavala JF, Wang SY, Wang CY, González-Aguilar GA (2004) Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT – Food Sci. Technol.* **37**, 687-695. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.002>

Barba FJ, Putnik P, Bursać Kovačević D, Poojary MM, Roohinejad S, Lorenzo JM i sur. (2017) Impact of conventional and non-conventional processing on prickly pear (*Opuntia* spp.) and their derived products: From preservation of beverages to valorization of by-products. *Trends Food Sci. Technol.* **67**, 260-270. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.012>

Basu A, Nguyen A, Betts NM, Lyons TJ (2014) Strawberry As a Functional Food: An Evidence-Based Review. *Crit. Rev. Food Sci.* **54**(6), 790-806. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.608174>

Bebek Markovinović A, Putnik P, Duralija B, Krivohlavek A, Ivešić M, Mandić Andačić I (2022) Chemometric Valorization of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. ‘Albion’ for the Production of Functional Juice: The Impact of Physicochemical, Toxicological, Sensory, and Bioactive Value. *Foods* **11**(5), 640. <https://doi.org/10.3390/foods11050640>

Bhargava N, Mor RS, Kumar K, Sharanagat VS (2021) Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrason. Sonochem.* **70**, 105293. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105293>

Bursać Kovačević D, Brdar D, Fabečić P, Barba FJ, Lorenzo JM, Putnik P (2020) Strategies to Achieve a Healthy and Balanced Diet: Fruits and Vegetables as a Natural Source of Bioactive Compounds. U: Barba FJ, Putnik P, Bursać Kovačević D (ured.), *Agri-Food Industry Strategies for Healthy Diets and Sustainability*, 1. izd., Academic Press, str. 51-88. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817226-1.00002-3>

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. Preserv.* **43(8)**, e14023. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14023>

Costa RC, Calvete EO, dos Santos Trentin N, Trevizan Chiomento JL, Stockmans De Nardi F (2019) Characterization of external morphanatomy of the strawberry identifies new structure. *Sci. Hortic.* **254**, 70-76. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.03.052>

de la Rosa LA, Moreno-Escamilla JO, Rodrigo-García J, Alvarez-Parrilla E (2019) Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables 1. izd., Yahia EM, Carrillo-Lopez A, Mexico, str. 253-271

Dolas R, Saravananb C, Pal Kaura B (2019) Emergence and era of ultrasonic's in fruit juice preservation: A review. *Ultrason. Sonochem* **58**, 104609. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.026>

Dubrović I (2012) Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na antioksidacijsku aktivnost te mikrobiološku kakvoću soka od jagode (doktorski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

FAO (2022) Crops and livestock products. FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://www.fao.org/faostat/en/#data>, Pristupljeno 9. lipnja 2022.

Gabrić D, Barba FJ, Roohinejad S, Gharibzahedi SMT, Radojčin M, Putnik P i sur. (2017) Pulsed electric fields as an alternative to thermal processing for preservation of nutritive and physicochemical properties of beverages: A review. *J Food Process Eng* **41(1)**, 12638-12638.

<https://doi.org/10.1111/jfpe.12638>

Giampieri F, Forbes-Hernandez TY, Gasparrini M, Alvarez-Suarez JM, Afrin S, Bompadre S, Quiles JL, Mezzettia B, Battino M (2015) Strawberry as a health promoter: an evidence based review. *Food Funct.* **6**, 1386-1398. <https://doi.org/10.1039/c5fo00147a>

González-Domínguez R, Sayago A, Akhatou I, Fernández-Recamales Á (2020) Multi-Chemical Profiling of Strawberry as a Traceability Tool to Investigate the Effect of Cultivar and Cultivation Conditions. *Foods* **9**, 96. <https://doi.org/10.3390/foods9010096>

Herceg Z, Bursać Kovačević D, Gajdoš Kljusurić J, Režek Jambrak A, Zorić Z, Dragović-Uzelac V (2016) Gas phase plasma impact on phenolic compounds in pomegranate juice. *Food Chem.* **190**, 665-672. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.135>

Hyesung H, Young-Jun K, Youngjae S (2019) Influence of ripening stage and cultivar on physicochemical properties, sugar and organic acid profiles, and antioxidant compositions of strawberries. *Food Sci. Biotechnol.* **28**, 1659-1667. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00610-y>

Kelebek H, Selli S (2011) Characterization of phenolic compounds in strawberry fruits by RP-HPLC-DAD and investigation of their antioxidant capacity. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **34**, 2495-2504. <http://dx.doi.org/10.1080/10826076.2011.591029>

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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.10.008>

Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH (2013) Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules* **18**, 2328-2375. <https://doi/10.3390/molecules18022328>

Koubaa M, Barba FJ, Bursać Kovačević D, Putnik P, Santos MD, Queirós RP i sur. (2018) Pulsed Electric Field Processing of Fruit Juices. U: Rajauria G, Tiwari B (ured.) *Fruit Juices*, 1. izd., Academic Press, str. 437-449. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00022-9>

López-Pedrouso M, Bursać Kovačević D, Oliveira, Putnik P, Moure A, Lorenzo JM I sur. (2020) In vitro and in vivo Antioxidant Activity of Anthocyanins. U: Lorenzo JM, Barba FJ, Munekata P (ured.) *Anthocyanins - antioxidant properties, sources and health benefits*, 1.izd., Nova Science Publishers Inc., New York, USA, str. 169-204.

Milić A, Daničić T, Tepić Horecki A, Šumić Z, Teslić N, Bursać Kovačević D i sur. (2022) Sustainable Extractions for Maximizing Content of Antioxidant Phytochemicals from Black and Red Currants. *Foods* **11**, 325. <https://doi.org/10.3390/foods11030325>

Oliveira A, Almeida DPF, Pintado M (2013) Changes in Phenolic Compounds During Storage of Pasteurized Strawberry. *Food Bioproc Tech* **7**, 1840–1846. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1239-9>

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://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.114>

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 16. veljače 2022.

Putnik P, Bursać Kovačević D (2021) Sustainable Functional Food Processing. *Foods* **10**(7), 1438. <https://doi.org/10.3390/foods10071438>

Putnik P, Kresoja Ž, Bosiljkov T, Režek Jambrak A, Barba FJ, Lorenzo JM I sur. (2019) Comparing the effects of thermal and non-thermal technologies on pomegranate juice quality: A review. *Food Chem.*, **279**, 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.131>

Putnik P, Pavlić B, Šojić B, Zavadlav S, Žuntar I, Kao L i sur. (2020) Innovative hurdle technologies for the preservation of functional fruit juices. *Foods* **9**(6), 699. <https://doi.org/10.3390/foods9060699>

Šimić E (2016) Zaštita nasada jagode od proljetnih mrazova (diplomski rad), Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Škegro M, Putnik P, Bursać Kovačević D, Kovač AP, Salkić L, Čanak I i sur. (2021) Chemometric Comparison of High-Pressure Processing and Thermal Pasteurization: The Nutritive, Sensory, and Microbial Quality of Smoothies. *Foods* **10**(6), 1167. <https://doi.org/10.3390/foods10061167>

Tomadoni B, Viacava G, Cassani L, Moreira MR, Ponce A (2015) Novel biopreservatives to enhance the safety and quality of strawberry juice. *J. Food Sci. Technol.* **53**(1), 281-292. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2068-9>

Turk M, Perino S, Cenders A, Petitcolas E, Ssoubat T, Chemat F (2017) Alternative process for strawberry juice processing: Microwave hydrodiffusion and gravity. *LWT – Food Sci. Technol.* **84**, 626-633. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.030>

Wang J, Wang J, Ye J, Kranthi Vanga S, Raghavan V (2019) Influence of high-intensity ultrasound on bioactive compounds of strawberry juice: Profiles of ascorbic acid, phenolics, antioxidant activity and microstructure. *Food Control* **96**, 128-136. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.007>

Izjava o izvornosti

Ja Paula Bičanić izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mog rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis