

# Optimiranje parametara ultrazvučne obrade soka i sosa rajčice, te utjecaj na fizikalna svojstva i mikrobiološku ispravnost

---

Gavran, Maristela

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:406311>

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 2022.

Maristela Gavran

**OPTIMIRANJE PARAMETARA  
ULTRAZVUČNE OBRADÉ SOKA I  
SOSA RAJČICE, TE UTJECAJ NA  
FIZIKALNA SVOJSTVA I  
MIKROBIOLOŠKU ISPRAVNOST**

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 diplomski rad je napravljen u sklopu projekta „FunTomP – Functionalized Tomato Products“ (PRIMA H2020 GA2032) inicijative PRIMA (Partnership for Research and Innovation in the Mediterranean Area), financiranog sredstvima programa Europske unije za istraživanje i inovacije, Horizon 2020 (Obzor, 2020).

## ZAHVALA

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

*Najviše se zahvaljujem svojoj obitelji i dečku koji su me bodrili od prvog dana studija. Hvala vam na bezuvjetnoj podršci i razumijevanju.*

## 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

OPTIMIRANJE PARAMETARA ULTRAZVUČNE OBRADE SOKA I SOSA RAJČICE, TE  
UTJECAJ NA FIZIKALNA SVOJSTVA I MIKROBIOLOŠKU ISPRAVNOST  
*Maristela Gavran, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0058212311*

**Sažetak:** Homogenizirani uzorci sosa i soka od rajčice, tretirani su ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim (pri 60 °C, 3 minute) i *hot break* tretmanom (pri 85 °C, 3 minute). Uzorci su analizirani odmah, te su skladišteni pri 4 °C u trajanju od 7 dana, nakon čega su ponovljene iste analize. Utjecaj amplitude ultrazvuka, tlaka homogenizacije i vremena skladištenja određen je multifaktorijskom analizom varijanci za stupnjeve Brix-a, pH vrijednost, električnu vodljivost, ukupne fenole, antioksidacijsku aktivnost, koncentraciju likopena, klorofila *a* i *b* te koncentraciju aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni. Kao statistički značajan ( $p < 0,05$ ), pokazao se utjecaj amplitude na antioksidacijsku aktivnost i koncentraciju klorofila *a* u uzorcima sosa. Tlak homogenizacije imao je statistički značajan utjecaj na električnu vodljivost, antioksidacijsku aktivnost i koncentraciju klorofila *a* u sosu, dok je vrijeme skladištenja statistički značajno utjecalo na antioksidacijsku aktivnost sosa te koncentraciju klorofila *a* i *b* u sosu i soku. Utjecaj tlaka homogenizacije i vremena skladištenja na izlazne parametre sosa i soka od rajčice tretiranog toplinskim i *hot break* tretmanom, ispitan je dvosmjernom analizom varijance.

**Ključne riječi:** *ultrazvuk visokog intenziteta, rajčica, ukupni fenoli, antioksidacijska aktivnost, vrijeme skladištenja*

**Rad sadrži:** 80 stranica, 2 slike, 25 tablica, 78 literaturnih navoda, 16 priloga

**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. izv. prof. dr. sc. Sven Karlović (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak (mentor)
3. prof. dr. sc. Ksenija Markov (član)
4. prof. dr. sc. Jadranka Frece (zamjenski član)

**Datum obrane:** 19. rujna 2022.

## 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

### OPTIMIZATION OF ULTRASOUND PARAMETERS IN THE PROCESSING OF TOMATO JUICE AND SAUCE AND THEIR IMPACT ON PHYSICAL PROPERTIES AND MICROBIOLOGICAL SAFETY

*Maristela Gavran, univ. bacc. ing. techn. aliment. 0058212311*

**Abstract:** Homogenized tomato sauce and juice samples were treated with high power ultrasound, thermal (60 °C, 3 minutes) and hot break treatment (85 °C, 3 minutes). The samples were immediately analyzed and then stored at 4 °C for 7 days, afterwards the same analyses were repeated on the samples. Ultrasound amplitude, homogenization pressure and storage time influence on °Brix, pH, conductivity, total phenolic content, antioxidant activity, lycopene, chlorophyll *a* and *b*, along with total plate and mold count, was determined by MANOVA. The effect of amplitude on antioxidant activity and chlorophyll *a* concentration in the sauce samples was found to be statistically significant ( $p < 0,05$ ). Homogenization pressure had a statistically significant effect on conductivity, antioxidant activity and chlorophyll *a* concentration in sauce samples, while storage time showed statistical significance for antioxidant activity of sauce samples and chlorophyll *a* and *b* concentration in sauce and juice samples. The effect of homogenization pressure and storage time on output parameters of thermally and hot break treated tomato sauce and juice samples was examined by two-factor ANOVA.

**Keywords:** *high power ultrasound, tomato, total phenolic content, antioxidant activity, storage time*

**Thesis contains:** 80 pages, 2 figures, 25 tables, 78 references, 16 supplements

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** Anet Režek Jambrak, PhD, Full professor

**Technical support and assistance:** Josipa Dukić, MSc

#### Reviewers:

1. Sven, Karlović, PhD, Associate professor (president)
2. Anet, Režek Jambrak, PhD, Full professor (mentor)
3. Ksenija, Markov, PhD, Full professor (member)
4. Jadranka, Frece, PhD, Full professor (substitute)

**Thesis defended:** September 19<sup>th</sup>, 2022



# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. RAJČICA .....	2
2.1.1. Kemijski sastav .....	2
2.1.2. Sos i sok od rajčice .....	4
2.2. ULTRAZVUK .....	5
2.2.1. Mikrobiološka inaktivacija ultrazvukom visokog intenziteta .....	6
2.2.2. Izvedba uređaja.....	7
2.3. FIZIKALNI PARAMETRI .....	7
2.4. ANALITIČKE METODE ANALIZE UKUPNIH FENOLA, ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI I BILJNIH PIGMENATA.....	8
2.4.1. Kvantitativno određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom.....	8
2.4.2. Kvantitativno određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom .....	9
2.4.3. Kvantitativno određivanje biljnih pigmenata .....	9
2.5. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA.....	10
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	12
3.1. MATERIJALI .....	12
3.1.1. Rajčica .....	12
3.1.2. Kemikalije .....	14
3.1.3. Uređaji .....	15
3.1.4. Laboratorijsko posuđe .....	16
3.2. METODE .....	16
3.2.1. Određivanje fizikalnih parametara .....	16
3.2.2. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta .....	17
3.2.3. Toplinski tretman.....	19
3.2.4. <i>Hot break</i> tretman .....	19
3.2.5. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije ukupnih fenola.....	20
3.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje antioksidacijske aktivnosti.....	21
3.2.7. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije pigmenata .....	23
3.2.8. Mikrobiološka analiza .....	24
3.3. OBRADA PODATAKA .....	27
3.3.1. Statistička obrada podataka dobivenih nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta.....	27

3.3.2. Statistička obrada podataka dobivenih nakon toplinskog tretmana i <i>hot break</i> tretmana .....	28
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>29</b>
4.1. UTJECAJ PROVEDENIH TRETMANA I VREMENA SKLADIŠTENJA NA REZULTATE PARAMETARA .....	30
4.1.1. Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na rezultate parametara .....	30
4.1.2. Utjecaj toplinskog tretmana na rezultate parametara .....	38
4.1.3. Utjecaj <i>hot break</i> tretmana na rezultate parametara .....	44
4.1.4. Usporedba utjecaja provedenih tretmana na rezultate parametara .....	49
4.2. REZULTATI MIKROBIOLOŠKE ANALIZE .....	56
4.2.1. Rezultati mikrobiološke analize nakon ultrazvuka visokog intenziteta .....	56
4.2.2. Rezultati mikrobiološke analize nakon toplinskog tretmana.....	60
4.2.3. Rezultati mikrobiološke analize nakon <i>hot break</i> tretmana .....	63
4.2.4. Usporedba utjecaja provedenih tretmana na rezultate mikrobioloških analiza .....	65
4.3. REZULTATI STATISTIČKE OBRADE PODATAKA .....	67
4.3.1. Rezultati statističke obrade podataka za uzorke tretirane ultrazvukom visokog intenziteta.....	67
4.3.2. Rezultati statističke obrade podataka za uzorke tretirane toplinskim tretmanom ..	69
4.3.3. Rezultati statističke obrade podataka za uzorke tretirane <i>hot break</i> tretmanom ....	70
<b>5. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>72</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>73</b>

# 1. UVOD

Potrošači i prehrambena industrija su posljednjih godina pokazali povećani interes za proizvodnju nutritivno bogatije, minimalno procesirane hrane visoke kvalitete odnosno funkcionalne hrane. Svježa rajčica i proizvodi od rajčice posjeduju značajnu količinu nutritivno vrijednih komponenti kao što su antioksidansi i opće je poznat njihov pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje u obliku prevencije raznih bolesti kao što su bolesti kardiovaskularnog sustava i različite vrste raka (Sandeep Kumar i sur., 2020). Međutim, potrebno je istražiti mogućnost poboljšanja uvjeta proizvodnje navedenih namirnica s naglaskom na adekvatnije očuvanje prisutnih bioaktivnih spojeva i održivije upravljanje sustavom proizvodnje. Kao jedna od prikladnih tehnologija proizvodnje, navodi se ultrazvuk visokog intenziteta (Starek i sur., 2021).

Dosadašnja istraživanja su uglavnom bila usmjerena na utjecaj tretiranja soka od rajčice ultrazvukom visokog intenziteta, dok za ultrazvukom tretirani sos od rajčice postoji vrlo malo podataka. Rezultati učinka ultrazvuka visokog intenziteta na sadržaj fenolnih spojeva, likopena i antioksidacijske aktivnosti te mikrobiološku inaktivaciju u soku od rajčice su oprečni (Oladunjoye i sur., 2021; Zhang i sur., 2019; Zou i Jiang, 2016). Nadalje, vrlo je slabo istražen utjecaj ultrazvuka na koncentraciju klorofila u proizvodima od rajčice, kao i sinergistički učinak homogenizacije, ultrazvuka visokog intenziteta i vremena skladištenja na spomenute namirnice.

Cilj ovog diplomskog rada je bio pridonijeti unaprjeđivanju tradicionalnih prehrambenih proizvoda s područja Mediterana, sosa i soka od rajčice, istraživanjem utjecaja ultrazvuka visokog intenziteta na iste i mogućnosti razvijanja funkcionalnih proizvoda. Eksperimentalni dio rada je za cilj imao (1) usporediti utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta s utjecajem toplinskog tretmana (pri 60 °C, 3 minute) i *hot break* tretmana (pri 85 °C, 3 minute) na fizikalne parametre (°Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost), koncentraciju ukupnih fenola i pigmenata (likopen,  $\beta$ -karoten, klorofil *a*, klorofil *b*), antioksidacijsku aktivnost i mikrobiološku inaktivaciju u uzorcima sosa i soka od rajčice, (2) provesti optimizaciju uvjeta tretmana ultrazvukom visokog intenziteta i homogenizacije, (3) odrediti utjecaj homogenizacije i skladištenja na gore navedene izlazne parametre.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. RAJČICA

Rajčica (*Solanum lycopersicum*, L.) je jednogodišnja biljka koja pripada porodici *Solanaceae* i smatra se u drugim najvažnijim povrćem uz krumpir (Quinet i sur., 2019). Stabljika rajčice je zeljasta i razgranata te obrasla dlačicama. Plod rajčice je bobica najčešće crvene ili narančaste boje te različitog oblika i veličine. Plodovi su povezani u grozd. U botaničkom smislu, rajčica se smatra voćem jer se plod razvija iz oplodjenog cvijeta i sadrži sjemenke. Međutim, rajčica se generalno smatra povrćem s obzirom na njen okus, udjel šećera i upotrebu u kulinarstvu (Rupp, 2015). Za uzgoj rajčice potrebna je optimalna dnevna (18-25 °C) i noćna temperatura (10-20 °C) te niska do umjerena relativna vlažnost. Rajčica dobro podnosi većinu vrsta tla pri čemu optimalni pH tla iznosi od 5-7, a osjetljiva je na povećani salinitet tla i jaki vjetar (FAOSTAT, 2001). S obzirom na navedeno, rajčica se može uzgajati u većini dijelova svijeta. Najveći proizvođač rajčice u svijetu u 2020. godini bila je Kina s proizvedenih 64,8 milijuna tona, a na području Europske Unije se ističu Italija i Španjolska (FAOSTAT, 2022).

#### 2.1.1. Kemijski sastav

Kemijski sastav ploda rajčice ovisi o sorti, zrelosti, načinu uzgoja, utjecaju okoliša i uvjetima skladištenja (Sandeep Kumar i sur., 2021). Većinu kemijskog sastava ploda rajčice čini voda (oko 95 %), dok preostali dio mase otpada na suhu tvar. Prema Ministarstvu poljoprivrede Sjedinjenih Država (engl. *United States Department of Agriculture, USDA*) (2019), najzastupljeniji makronutrijenti u plodu rajčice su ugljikohidrati u udjelu od 3,89 % pri čemu šećeri čine 2,63 %. Što se tiče sastava šećera, plod rajčice sadrži glukozu i fruktozu. Preostali dio ugljikohidrata čine vlakna čiji udjel iznosi 1,2 %. Neznatan dio suhe tvari čine proteini (0,88 %) i lipidi (0,2 %). Od minerala, ističe se kalij s koncentracijom od 237 mg/100 g ploda (USDA, 2019). Plod rajčice smatra se dobrim izvorom vitamina C, vitamina B9, vitamina K i antioksidanasa kao što su likopen,  $\beta$ -karoten i fenolni spojevi (Sandeep Kumar i sur., 2021; Ademosun i sur., 2021). Nadalje, rajčica posjeduje značajnu antioksidacijsku aktivnost.

##### 2.1.1.1. Fenolni sastav ploda rajčice

Fenolni spojevi su sekundarni biljni metaboliti koji imaju važnu ulogu u rastu i reprodukciji biljaka. Oni određuju morfološke i senzoričke karakteristike biljaka, kao i njihov okus te boju. Ovi spojevi se sastoje od jedne ili više hidroksilnih grupa koje su vezane na

aromatski prsten. Fenolne spojeve karakterizira osjetljivost na visoku temperaturu i svjetlost. Ovi spojevi se dijele na flavonoide, fenolne kiseline, fenolne alkohole, stilbene i lignane (Medina-Torres i sur., 2017). Fenolni spojevi pružaju brojne zdravstvene benefite odnosno posjeduju protuupalna, antialergena, antioksidativna i antimikrobna svojstva, štite kardiovaskularni sustav, smanjuju mogućnost pojave raka, dijabetesa i neuroloških bolesti (Kumar i sur., 2021; Urbonavičiene i sur., 2021; Pattnaik i sur., 2021). Vrste i koncentracije fenolnih spojeva u rajčici ovise o sorti, zrelosti, utjecaju okoliša i uvjetima uzgoja. Flavonoidi koji se po svojoj koncentraciji ističu u plodu rajčice su rutin, kvercetin i naringenin kalkan. U manjoj koncentraciji su pronađeni naringenin, miricetin, kaempferol i njihovi glikozidi. Što se tiče fenolnih kiselina, najzastupljenije su hidroksicimetne kiseline odnosno kafeinska kiselina, klorogenska kiselina i njeni derivati (Wu i sur., 2022).

#### 2.1.1.2. Pigmenti u plodu rajčice

U zrelom plodu rajčice prevladavaju pigmenti koji pripadaju skupini karotenoida, a osim njih prisutni su i klorofili. Karotenoidi su biljni pigmenti topljivi u lipidima i većinom su tetraterpeni. Oni se dijele na dvije skupine, karotene i ksantofile. Karoteni su linearni (likopen) ili ciklični ( $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten) ugljikovodici koje karakterizira narančasta i crvena boja, dok ksantofili (lutein, zeaksantin,  $\beta$ -kriptoksantin) sadrže i atome kisika te ih karakterizira žuta boja (Madia i sur., 2021; Pattnaik i sur., 2021). Karotenoidi su važan dio ljudske prehrane jer pružaju brojne benefite odnosno posjeduju antioksidacijska i antikancerogena svojstva, djeluju kao regulatori imunološkog sustava, preveniraju pojavu kardiovaskularnih bolesti i djeluju sinergistički s drugim antioksidansima (Trombino i sur., 2021; Ademosun i sur., 2021; Urbonavičiene i sur., 2021; Pattnaik i sur., 2021). Rajčica sadrži najviše likopena, linearne molekule koja sadrži jedanaest konjugiranih dvostrukih veza iz kojih proizlazi njegova antioksidacijska aktivnost. Likopen rajčici daje karakterističnu crvenu boju. U svježoj rajčici i određenim proizvodima od rajčice, likopen se većinom nalazi u *trans* obliku (Ademosun i sur., 2021). *Trans* oblik likopena je najstabilniji pri visokim temperaturama, međutim, može doći do izomerizacije dvostrukih veza pri čemu nastaje nestabilniji, ali dostupniji, *cis* oblik. Biodostupnost likopena ovisi i o građi i strukturi matriksa hrane, primjerice, biodostupnost se može povećati kuhanjem. Likopen, kao i  $\beta$ -karoten, osjetljiv je na visoku temperaturu, svjetlost i prisutnost kisika (Madia i sur., 2021). Uz likopen, rajčica sadrži značajnu količinu  $\beta$ -karotena i luteina.  $\beta$ -karoten, narančasti pigment, prekursor je vitamina A u ljudskom organizmu. On posjeduje manju antioksidacijsku aktivnost u usporedbi s likopenom, ali također povoljno utječe na ljudsko zdravlje (Chaudary i sur., 2018).

Klorofili, zeleni biljni pigmenti topljivi u lipidima, velike su molekule koje sadrže ciklički prsten vezan na ion magnezija (Sousa, 2022). Klorofili su amfipatski spojevi odnosno sadrže hidrofilnu glavu i lipofilni rep. Klorofili se dijele u dvije grupe, klorofil *a* i klorofil *b*. U molekuli klorofila *a* je na sedmom ugljikovom atomu prisutna metilna grupa što uzrokuje plavozelenu boju pigmenta, dok je u klorofilu *b* na sedmom ugljikovom atomu prisutna aldehidna grupa što rezultira žutozelenom bojom (Sharma i sur., 2021). Klorofile karakterizira antioksidacijska, protuupalna, antikancerogena i antimutagena aktivnost (Shi i sur., 2022; Kang i sur., 2018). Za klorofile je specifično da provode fotosintezu i karakterizira ih osjetljivost prilikom izloženosti svjetlu, visokoj temperaturi, enzimima, niskoj pH vrijednosti i kisiku (Nowacka i sur., 2021).

### 2.1.2. Sos i sok od rajčice

Plod rajčice može se konzumirati svjež ili prerađen u obliku soka, sosa, pelata, ketchupa, koncentrata i drugih proizvoda što doprinosi popularnosti rajčice. Prerada rajčice u različite proizvode rezultira nastankom otpada odnosno komine koja čini 5-30 % ploda i sastoji se od sjemenki, kože i pulpe (Abbassi i sur., 2021). Prema Pravilniku (2013), rajčica se smatra voćem odnosno od rajčice se proizvodi voćni sok. Voćni sok je nefermentirani proizvod koji može fermentirati, a proizveden je od jestivog dijela zdravog voća koje je svježije ili konzervirano smržavanjem ili hlađenjem jedne ili više vrsta voća te ima karakterističan okus, boju i aromu za voće od kojeg potječe. U soku od rajčice, vrijednost stupnjeva Brix-a mora iznositi minimalno 5,0 (Pravilnik, 2013). Tehnološki proces proizvodnje sosa i soka od rajčice započinje na jednak način odnosno započinje prihvatom, sortiranjem i pranjem plodova rajčice. Sljedeći korak je usitnjavanje i zagrijavanje ploda rajčice odnosno provođenje *hot break* (93-99 °C) ili *cold break* postupka (65-75 °C). *Hot break* postupak se češće koristi prilikom proizvodnje sosa i koncentrata od rajčice jer rezultira većom viskoznošću i potpuno inaktivira pektinaze. Upotreba *cold break*-a je karakterističnija za proizvodnju soka od rajčice s obzirom na to da rezultira manjom retencijom pektinaza i manjom viskoznošću (Goodman i sur., 2006). Slijedi proces ekstrakcije pri čemu se uklanja kožica i sjemenke. Potrebno je provesti deaeraciju kako bi se uklonio zrak i smanjila oksidacija sastojaka te spriječilo pjenjenje tijekom koncentriranja. Nakon toga se provodi homogenizacija sa svrhom povećanja viskoznosti proizvoda i smanjenja separacije seruma. U slučaju da se proizvodi sok od rajčice, homogenizacija je posljednji korak proizvodnje. Kako bi se proizveo sos od rajčice, potrebno je provesti koncentriranje nakon homogenizacije. Naposljetku, sos i sok od rajčice se pasteriziraju, hlade i pakiraju u aseptičnim uvjetima (Wu i sur., 2022).

### 2.1.2.1. Visokotlačna homogenizacija

Homogenizacija se ubraja u jednu od osnovnih operacija u proizvodnji različitih vrsta prehrambenih proizvoda, kao što su mliječni proizvodi i voćni sokovi. Homogenizacije se provodi s ciljem smanjenja veličine čestica, miješanja, dispergiranja i emulgiranja. Visokotlačna homogenizacija (engl. *High-pressure homogenization, HPH*) je postala moguća s pojavom novih homogenizatora. HPH karakterizira provođenje procesa pri povišenom tlaku, do 3000 bara. Povišeni tlak je omogućio inaktivaciju enzima, pasterizaciju, ekstrakciju, mikroenkapsulaciju i stabilizaciju bioaktivnih komponenti tijekom provođenja homogenizacije (Osorio-Arias i sur., 2021). Mehanizam usitnjavanja stanica tijekom visokotlačne homogenizacije nije još točno definiran. Određeni autori su predložili različite mehanizme kao što su fluktuacija tlaka, kavitacija, sudaranje i uzdužno rezanje. Mehanizam visokotlačne homogenizacije prilikom usitnjavanja stanica, razlikuje se ovisno o vrsti i veličini stanice (Innings i sur., 2020). Međutim, visokotlačna homogenizacija se upotrebljava tijekom homogenizacije soka od rajčice kako bi se poboljšala ekstrakcija nutrijenata kao što je likopen (Zhang i sur., 2019). Nadalje, visokotlačna homogenizacije utječe na mikrostrukturu soka od rajčice te mijenja njegova reološka i fizička svojstva (Huang i sur., 2020).

## 2.2. ULTRAZVUK

Ultrazvuk je zvučni val čija frekvencija je veća od frekvencija koje ljudsko uho može registrirati. Prema frekvenciji, ultrazvučni valovi se dijele na one niske (20-100 kHz) i visoke frekvencije (iznad 1 MHz). Ultrazvuk niske frekvencije je ujedno i ultrazvuk visokog intenziteta ili visoke snage i obratno. Ultrazvuk niskog intenziteta ne uzrokuje fizičke i kemijske promjene u tretiranom materijalu, stoga se najčešće koristi u medicinskoj dijagnostici, za čišćenje ili prilikom nedestruktivne kontrole uzorka odnosno mjerenja koncentracije, viskoznosti i slično. Ultrazvuk visokog intenziteta uzrokuje promjene u tretiranom materijalu te se koristi u procesima kao što su ekstrakcija bioaktivnih komponenti, inaktivacija mikroorganizama, inaktivacija enzima, emulgiranje, sinteza, otplinjavanje, smrzavanje, sušenje, kristalizacija, filtracija i homogenizacija. Ultrazvuk pripada netoplinskim tehnologijama i ima veliki potencijal primjene na području prehrambene tehnologije. Nadalje, hrana tretirana ultrazvukom je u skladu sa zahtjevima potrošača za minimalno procesiranom, nutritivno bogatom hranom visoke kvalitete (Nowacka i sur., 2021; Jadhav i sur., 2021).

### 2.2.1. Mikrobiološka inaktivacija ultrazvukom visokog intenziteta

Ultrazvuk visokog intenziteta se pokazao kao uspješan u inaktivaciji različitih vrsta mikroorganizama uključujući patogene mikroorganizme pri čemu se može koristiti samostalno ili u kombinaciji s drugim tehnologijama (Adekunte i sur., 2010). Ultrazvuk visokog intenziteta, kao netoplinska tehnologija, pruža brojne prednosti u konzervaciji voćnih i povrtnih sokova te drugih proizvoda u usporedbi s konvencionalnim toplinskim tehnologijama. Točnije, tretmanom ultrazvukom visokog intenziteta ne dolazi do nepoželjnih efekata na senzorna svojstva, nutritivnu vrijednost i kvalitetu proizvoda (Suo i sur., 2022; Sattar i sur., 2020). Nadalje, zabilježeno je povećanje antioksidacijske aktivnosti, askorbinske kiseline, koncentracije fenolnih spojeva i karotenoida u različitim vrstama voćnih sokova i sosova (Oladunjoye i sur., 2021; Zhang i sur., 2019; Etzbach i sur., 2019; Golmohamadi i sur., 2013). Glavna prednost inaktivacije mikroorganizama pomoću ultrazvuka visokog intenziteta je provođenje mikrobiološke redukcije pri nižim temperaturama u usporedbi s konvencionalnim toplinskim tretmanima kao što je pasterizacija. Isto tako, tretman ima kraće vrijeme trajanja i manji utrošak energije u odnosu na pasterizaciju (Zou i Jiang, 2016). Tretman ultrazvukom visokog intenziteta može uzrokovati određene nedostatke u voćnim sokovima odnosno može negativno utjecati na boju, okus i viskoznost, uzrokovati nastajanje slobodnih radikala i degradaciju lipida (Starek i sur., 2021).

Temeljni mehanizam djelovanja ultrazvuka visokog intenziteta je akustična kavitacija koja nastaje pri niskim frekvencijama zbog naglog pada tlak do kojeg dolazi djelovanjem ultrazvučnih valova (Zupanc i sur., 2019). Za ultrazvuk visokog intenziteta karakteristična je prijelazna akustična kavitacija. Kada ultrazvučni val ostvari kontakt s tekućim medijem, dolazi do nastanka longitudinalnih valova koji uzrokuju područja kompresije i ekspanzije. U području ekspanzije, dolazi do nastanka i rasta mjehurića plina. Mjehurići plina rastu jer je njihova površina veća tijekom ekspanzije odnosno dolazi do smanjenja difuzije plina što za posljedicu ima rast mjehurića. Veličina mjehurića plina postiže kritičnu točku kada energija ultrazvuka nije dovoljna za održavanje plinovite faze mjehurića. Navedeno rezultira kondenzacijom i implozijom mjehurića. Implozijom mjehurića se oslobađa velika količina energije i ostvaruje se mehanički učinak ultrazvuka putem šok valova koji stvaraju područja visokog tlaka do 50 000 MPa (Juraga i sur., 2011). Mehanički učinak se odnosi na sile koje nastaju implozijom mjehurića i njihovo razarajuće djelovanje na staničnu membranu stanice. Tada dolazi do pucanja odnosno stanjivanja stanične membrane pri čemu sadržaj stanice izlazi iz matriksa. Osim mehaničkog učinka, kavitacija uzrokuje kemijski i termički učinak. Kemijski učinak



podrazumijeva nastajanje slobodnih radikala ( $H^+$  i  $OH^-$ ) iz vode koja je prisutna u mjehurićima, a termički učinak se odnosi na generaciju lokaliziranih područja visokih temperatura do 5500 °C. Kombinacijom opisana tri učinka dolazi do inaktivacije mikroorganizama pri čemu se većina inaktivacije ostvaruje mehaničkim učinkom (Starek i sur., 2021; Salehi, 2020; Juraga i sur., 2011). Prema Starek i sur. (2021), inaktivacija mikroorganizama ultrazvukom visokog intenziteta ovisi o snazi i amplitudi ultrazvuka, temperaturi, volumenu uzorka, sastavu i fizikalnim svojstvima uzorka, vrsti i karakteristikama (oblik, faza rasta, vrsta stanične stijenke) mikroorganizama. Isti autori naglašavaju da je tretman ultrazvukom visokog intenziteta manje efikasan u inaktivaciji spora i kvasaca te da može uzrokovati promjene na tretiranom materijalu.

### 2.2.2. Izvedba uređaja

Ultrazvučni valovi su najčešće generirani od strane piezoelektričnog pretvornika koji pretvara električnu energiju visoke frekvencije u mehaničke vibracije. Dio uređaja koji prenosi mehaničke vibracije može biti ultrazvučna sonda, ultrazvučna kupelj i drugi oblici kao što su Barrel sonda i radijalna sonda. Ultrazvučna sonda se koristi tako da se uroni u tretirani tekući medij. Kavitacija se ostvaruje direktno ispod vrha sonde i s obzirom na to da se sva akustična energija usmjerava na malo područje, ultrazvučna sonda uzrokuje kavitaciju visokog intenziteta. Sonde se međusobno razlikuju u promjeru. Ultrazvučna kupelj se sastoji od spremnika tekućeg medija na koji se montira piezoelektrični pretvornik. U ovom slučaju, kavitacija se ostvaruje duž cijelog volumena kupelji. Ova kavitacija je niskog intenziteta zato što je površina djelovanja velika i naziva se stabilnom kavitacijom. Nadalje, ponekad ne dolazi do implozije mjehurića, nego mjehurići stalno osciliraju i proizvode vrtloge male veličine (Zupanc i sur., 2019).

### 2.3. FIZIKALNI PARAMETRI

Stupnjevi Brix-a predstavljaju sadržaj šećera odnosno saharoze u 100 grama uzorka i određuju se refraktometrom. U voću, stupnjevi Brix-a predstavljaju količinu otopljenih tvari s obzirom na to da u voću prevladavaju šećeri. Što je izmjerena vrijednost stupnjeva Brix-a veća, to je analizirani uzorak slađi. Veća vrijednost stupnjeva Brix-a pridonosi punoći okusa proizvoda, ali ne mora nužno značiti da će okus proizvoda biti bolji jer je sadržaj kiselina također važan za percepciju okusa. Nadalje, stupnjevi Brix-a se koriste za objektivno određivanje kvalitete i pomažu prilikom određivanja zrelosti voća kao što je rajčica, spremnosti voća za konzumaciju i preradu u prehrambene proizvode (Kleinhenz i Bumgarner, 2013).

Većina hrane ima pH vrijednost nižu od 7,0 odnosno većina hrane je prirodno kisela. Rajčica i proizvodi od rajčice imaju pH vrijednost između 4,0 i 4,6 zbog čega pripadaju visoko do srednje kiselim namirnicama. Različiti mikroorganizmi (bakterije, kvasci, plijesni) su osjetljivi na pH vrijednost hrane. Rastu bakterija uglavnom pogoduje pH vrijednost iznad 7,0, dok plijesni i kvascima pogoduje pH ispod 7,0. Vrlo visoka i vrlo niska pH vrijednost sprječava rast mikroorganizama. Međutim, hrana ne posjeduje tako ekstremnu pH vrijednost, stoga je potrebno primijeniti neku vrstu konzerviranja hrane (sušenje, tretiranje pri visokim temperaturama, hlađenje, smrzavanje) kako bi se osigurala zdravstvena ispravnost i produžio rok trajanja. Visoko kisela hrana, hrana čija pH vrijednost iznosi manje od 4,6, omogućava primjenu niže temperature prilikom toplinske obrade u usporedbi s hranom niske kiselosti. Razlog tomu je što se spore patogene bakterije *Clostridium botulinum* ne mogu aktivirati ako je pH vrijednost manja od 4,6. Preporučena temperatura pasterizacije za hranu čiji pH iznosi između 4,0 i 4,6, naprimjer rajčica i proizvodi od rajčice, iznosi između 90,5 i 99 °C. Dakle, pH vrijednost je važna za mikrobiološku ispravnost hrane (McGlynn, 2016).

Električna vodljivost označava sposobnost materijala da provodi električnu struju kroz svoju strukturu i definira se omjerom gustoće materijala i snage električnog polja. U analiziranom slučaju, materijal je hrana pri čemu električnu struju provode ioni, a ne elektroni (Zhang, 2007). Na električnu vodljivost hrane utječu temperatura, sadržaj iona, vode i lipida te poroznost. Električna vodljivost hrane se povećava s povećanjem temperature, snage električnog polja i vremena skladištenja, dok ne dođe do prezrelosti u slučaju voća i povrća. Povećanje sadržaja šećera negativno utječe na električnu vodljivost hrane, dok smanjenje tvrdoće hrane utječe pozitivno (Banti, 2020).

## **2.4. ANALITIČKE METODE ANALIZE UKUPNIH FENOLA, ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI I BILJNIH PIGMENATA**

### **2.4.1. Kvantitativno određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom**

Jedna od najpopularnijih metoda za kvantitativno određivanje koncentracije ukupnih fenola je kolorimetrijska metoda, Folin-Ciocalteu metoda (Singleton i Rossi, 1965). Koncept na kojem se temelji ova metoda je redukcija Folin-Ciocalteu reagensa u prisutnosti fenolnih spojeva u lužnatom mediju pri čemu nastaje kompleks karakterističnog plavog obojenja. Plavo obojenje se mjeri pri valnoj duljini od 760 nm pomoću spektrofotometra. Intenzitet plavog obojenja je proporcionalan koncentraciji fenolnih spojeva u analiziranom uzorku. Folin-Ciocalteu reagens je žute boje i sastoji se od fosfovolframove i fosfomolibdenske kiseline koje reduciraju u reakciji s fenolnim spojevima (Schendel, 2019). Folin-Ciocalteu reagens

predstavlja poboljšanje u odnosu na Folin-Denis reagens zbog dodatka litijevog sulfata koji smanjuje količinu taloga koja može nastati tijekom provođenja metode (Malta i Liu, 2014).

#### 2.4.2. Kvantitativno određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom

Antioksidacijska aktivnost se može odrediti jednom od brojnih kemijskih metoda u kojima se mjerenje provodi spektrofotometrijski (DPPH, ORAC, ABTS, HORAC, CUPRAC, FRAP, TRAP, PFRAP), elektrokemijskih metoda ili kromatografskim metodama kao što su plinska kromatografija i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High Performance Liquid Chromatography, HPLC*). Prednost kemijskih metoda je brzo i jednostavno provođenje (Munteanu i Apetrei, 2021). Međutim, one ne uzimaju u obzir ključne biološke parametre (apsorpcija i metabolizam antioksidanasa) koji su potrebni za određivanje *in vivo* učinka antioksidanasa odnosno mjere se posljedice njihovog djelovanja, a ne fiziološka aktivnost (Bender i Graziano, 2015). Prema mehanizmu djelovanja, metode određivanja antioksidacijske aktivnosti dijele se na metode koje ispituju prijenos atoma vodika (engl. *Hydrogen atom transfer, HAT*) i na one koje ispituju prijenos elektrona (engl. *Electron transfer, ET*) (Munteanu i Apetrei, 2021).

DPPH metoda (engl. *2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl, DPPH*), temelji se na prijenosu elektrona s antioksidansa na DPPH radikal pri čemu dolazi do redukcije DPPH radikala. Navedeni radikal karakterizira ljubičasta boja, niska reaktivnost i topljivost u organskim otapalima. Tijekom DPPH metode dolazi do promjene boje iz ljubičaste u svijetlo žutu zbog trošenja DPPH radikala. Antioksidacijska aktivnost je obrnuto proporcionalna stupnju obezbojenja odnosno što je veća antioksidacijska aktivnost to je izraženija promjena boje uzorka. Praćenjem promjene apsorbancije spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 517 nm, određuje se antioksidacijska aktivnost analiziranog spoja (Munteanu i Apetrei, 2021).

#### 2.4.3. Kvantitativno određivanje biljnih pigmenata

Mjerenje koncentracije biljnih pigmenata se najčešće provodi spektrofotometrijski ili tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti. Identifikacija i kvantifikacija biljnih pigmenata ovisi o načinu pripremanja uzorka, metodi određivanja i upotrijebljenom reagensu za ekstrakciju (Braniša i sur., 2014). Određivanje biljnih pigmenata HPLC-om omogućava detekciju različitih klorofila i njihovih derivata te karotenoida. Međutim, nedostatak ove metode je visoka cijena uređaja i provođenja analize te dugo vrijeme provođenja analize. Nasuprot tomu, spektrofotometrijsko određivanje biljnih pigmenata je ekonomski prihvatljivije. Ova metoda obuhvaća ekstrakciju pigmenata i mjerenje njihove apsorbancije pri

određenoj valnoj duljini te računanje koncentracije biljnih pigmenata pomoću jednadžbi. Koncentracije nepoznatih pigmenata u tim jednadžbama su modelirane kao funkcija izmjerene apsorpcije pri valnim duljinama pikova koji su karakteristični za određeni pigment. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije biljnih pigmenata se jednostavno provodi, ali rezultati značajno ovise o korištenoj empirijskoj jednadžbi (Thrane i sur., 2015; Picazo i sur., 2013).

## 2.5. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA

Rajčicu karakterizira visok udjel vode zbog čega je sklona kvarenju kojeg uzrokuju različiti mikroorganizmi. Do zaraze rajčice mikroorganizmima najčešće dolazi tijekom berbe, skladištenja i transporta (Obeng i sur., 2018). U Zakonu o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 83/2022), navedeni su mikrobiološki kriteriji za hranu. Dopušteni broj bakterija *Escherichia coli* i *Salmonella* u nepasteriziranim sokovima od voća i povrća, definiran je u navedenom zakonu. Ne postoje definirani kriteriji za dopušteni broj navedenih mikroorganizama u pasteriziranom sosu i soku od voća ili povrća. Granične vrijednosti broja *E. coli* u nepasteriziranom soku od voća i povrća, prema navedenom zakonu, iznose 100 i 1000 CFU/g, a ovaj kriterij se primjenjuje tijekom proizvodnog procesa. Ispitna referentna metoda za određivanje broja *E. coli* je HRN ISO 16649-1 ili HRN ISO 16649-2. Broj elementarnih jedinica koje čine uzorak iznosi 5, dok dvije elementarne jedinice smiju imati vrijednost između graničnih vrijednosti. U rezanom voću i povrću te u (nepasteriziranim) sokovima od voća ili povrća, *Salmonella* mora biti odsutna u 25 grama uzorka, a ovaj kriterij se primjenjuje za proizvode koji su stavljeni na tržište tijekom roka trajanja. Metoda HRN EN ISO 6579 je ispitna referentna metoda za određivanje broja bakterije *Salmonella*. Broj elementarnih jedinica koje čine uzorak je 5.

S obzirom na pH vrijednost (4,0-4,6), rajčica i proizvoda od rajčice su kiseli i k tome skloni kvarenju kojeg najčešće uzrokuju nesporogene bakterije mliječne kiseline, plijesni (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*), kvasci (*Saccharomyces* spp., *Candida* spp.) i bakterije roda *Bacillus*. Iz roda *Bacillus*, ističe se nepatogena bakterija *Bacillus coagulans* koja uzrokuje kvarenje proizvoda od rajčice odnosno soka od rajčice u kojem je evidentna nekarakteristična kiselost. Iako je nepatogena bakterija, *Bacillus coagulans* može predstavljati opasnost za zdravlje zbog svoje mogućnosti da poveća kiselost hrane i omogući germinaciju potencijalno prisutnih spora bakterija iz roda *Clostridium* (Starek i sur., 2021). Najveći problem za ljudsko zdravlje predstavljaju patogene bakterije koje su zaostale u gotovim proizvodima zbog neadekvatnog procesiranja. Patogene bakterije koje se najčešće

pronalaze u rajčici i proizvodima od rajčice su *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella* sp., *Bacillus cereus*, *Enterobacter* sp. (Obeng i sur., 2018; Van Dyk i sur., 2016).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

##### 3.1.1. Rajčica

Za pripremu soka i sosa od rajčice u istraživanju, upotrijebljena je rajčica sorte Volovsko srce. Rajčica je dobivena od tvrtke Ekoprom d.o.o. iz Bešlinca u Hrvatskoj. Sok i sos od rajčice su pripremljeni pomoću sokovnika Ultra Juice Meca ZC600. Prilikom proizvodnje soka udio pulpe je sveden na minimum, a tijekom proizvodnje sosa na maksimum. To je postignuto regulacijom ručice za udio pulpe koja se nalazi na uređaju. Uzorci soka i sosa su homogenizirani pomoću uređaja GEA Lab Homogenizer PandaPLUS 2000 prije tretmana ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskog tretmana i *hot break* tretmana. Sok od rajčice je razrijeđen prije homogenizacije tako da je na 400 mL soka dodano 300 mL destilirane vode.

##### 3.1.1.1. Označavanje uzoraka

Pripremljeno je 10 uzoraka sosa od rajčice pri čemu je 5 uzoraka homogenizirano pri 500 bara te 5 uzoraka pri 1000 bara. Isto tako, pripremljeno je 10 uzoraka soka od rajčice. Od toga je 5 uzoraka soka homogenizirano pri 500 bara, a preostalih 5 uzoraka pri 1000 bara. Oznake uzoraka, kao i njihova značenja, navedene su u Tablici 1. Dopunske oznake uzoraka, koje se odnose na vrijeme skladištenja i dodaju se osnovnoj oznaci, navedene su u Tablici 2.

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

Oznaka uzorka	Značenje oznake	Oznaka uzorka	Značenje oznake
CS1	Netretirani uzorak sosa od rajčice, homogeniziran pri 500 bar	CJ1	Netretirani uzorak soka od rajčice, homogeniziran pri 500 bar
US1	Uzorak sosa od rajčice tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %, homogeniziran pri 500 bar	UJ1	Uzorak soka od rajčice tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %, homogeniziran pri 500 bar

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

<b>US2</b>	Uzorak sosa od rajčice tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %, homogeniziran pri 500 bar	<b>UJ2</b>	Uzorak soka od rajčice tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %, homogeniziran pri 500 bar
<b>TS1</b>	Uzorak sosa od rajčice tretiran toplinskim tretmanom pri 60 °C, homogeniziran pri 500 bar	<b>TJ1</b>	Uzorak soka od rajčice tretiran toplinskim tretmanom pri 60 °C, homogeniziran pri 500 bar
<b>HBS1</b>	Uzorak sosa od rajčice tretiran <i>hot break</i> tretmanom prema protokolu, homogeniziran pri 500 bar	<b>HBJ1</b>	Uzorak soka od rajčice tretiran <i>hot break</i> tretmanom prema protokolu, homogeniziran pri 500 bar
<b>CS2</b>	Netretirani uzorak sosa od rajčice, homogeniziran pri 1000 bar	<b>CJ2</b>	Netretirani uzorak soka od rajčice, homogeniziran pri 1000 bar
<b>US3</b>	Uzorak sosa od rajčice tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %, homogeniziran pri 1000 bar	<b>UJ3</b>	Uzorak soka od rajčice tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %, homogeniziran pri 1000 bar

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

<b>US4</b>	Uzorak sosa od rajčice tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %, homogeniziran pri 1000 bar	<b>UJ4</b>	Uzorak soka od rajčice tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %, homogeniziran pri 1000 bar
<b>TS2</b>	Uzorak sosa od rajčice tretiran toplinskim tretmanom pri 60 °C, homogeniziran pri 1000 bar	<b>TJ2</b>	Uzorak soka od rajčice tretiran toplinskim tretmanom pri 60 °C, homogeniziran pri 1000 bar
<b>HBS2</b>	Uzorak sosa od rajčice tretiran <i>hot break</i> tretmanom prema protokolu, homogeniziran pri 1000 bar	<b>HBJ2</b>	Uzorak soka od rajčice tretiran <i>hot break</i> tretmanom prema protokolu, homogeniziran pri 1000 bar

**Tablica 2.** Dopunska oznaka uzorka i njeno značenje

Dopunska oznaka	Značenje dopunske oznake
<b>0. dan</b>	Uzorak analiziran nultog dana skladištenja
<b>7. dan</b>	Uzorak analiziran sedmog dana skladištenja

## 3.1.2. Kemikalije

1. Destilirana voda (PBF, Zagreb, Hrvatska)
2. Limunska kiselina (Podravka d.d., Koprivnica, Hrvatska)
3. 50 %-tna otopina limunske kiseline

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

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



Priprema: Prema jednadžbi  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$ , pri čemu je oznaka  $V_1$  volumen 96 %-tnog etanola, izračunati potrebni volumen 96 %-tnog etanola. Dodati izračunati volumen 96 %-tnog etanola u tikvicu te dopuniti destiliranom vodom do oznake.

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

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

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

Priprema: Odvagati 7,5 g natrijevog karbonata na analitičkoj vagi i kvantitativno prenijeti, uz pomoć lijevka, u odmjernu tikvicu od 100 mL. Nadopuniti odmjernu tikvicu do oznake destiliranom vodom i promiješati.

14. Trolox®, 97 %, 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina, 97 % (Acros Organics, Geel, Belgija)
15. 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil - DPPH (abcr GmbH, Karlsruhe, Njemačka)
16. Otopina 2,2-difenil-1-pikril-hidrazila

Priprema: Potrebno je odvagati 2,4505 mg DPPH-a na analitičkoj vagi i prenijeti kvantitativno, uz pomoć lijevka, u odmjernu tikvicu od 100 mL. Nadopuniti odmjernu tikvicu do oznake 96 %-tnim etanolom i promiješati.

### 3.1.3. Uređaji

1. Sokovnik Ultra Juice Meca ZC600 (Tefal, Rumilly, Francuska)
2. Homogenizator GEA Lab Homogenizer PandaPLUS 2000 (Gea Group, Düsseldorf, Njemačka)
3. Refraktometar DHR 95 Handheld Refractometer (SCHMIDT + HAENSCH, Berlin, Njemačka)
4. pH metar HI5521-02 (Hanna Instruments Inc., Zagreb, Hrvatska)
5. Ultrazvučni aparat Q700CA Sonicator (Qsonica, Newtown, SAD)
6. Grijaća ploča MS-H-S (Dlab, Peking, Kina)
7. Tehnička vaga Highland® Portable Precision Balances: HCB 1002 (Adam Equipment, Milton Keynes, Ujedinjeno Kraljevstvo)

8. Analitička vaga NBL-254i Nimbus (Adam Equipment Inc., Oxford, SAD)
9. Centrifuga 5430 (Eppendorf, Hamburg, Njemačka)
10. Ručni homogenizator Tissue Master 125 Homogenizer with 10 mm Probe (OMNI International, Kennesaw, SAD)
11. Vorteks uređaj MX-S (Dlab, Peking, Kina)
12. UV-VIS Spektrofotometar UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis (Shimadzu, Kyoto, Japan)

#### 3.1.4. Laboratorijsko posuđe

1. Pipetman Gilson (200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L, 5 mL)
2. Laboratorijska čaša (200 mL, 1000 mL)
3. Laboratorijska špatula
4. Menzura (25 mL, 100 mL)
5. Odmjerna tikvica (25 mL, 100 mL, 200 mL)
6. Plastične ladice za vaganje
7. Plastične epruvete (Falcon) (15 mL, 50 mL)
8. Stakleni lijevci
9. Stalak za epruvete
10. Termometar
11. Kapaljka
12. Kvarcna kiveta
13. Plastična kiveta
14. Eppendorf epruveta
15. Sterilne čaše
16. Plastične posude

### 3.2. METODE

#### 3.2.1. Određivanje fizikalnih parametara

Nakon što je pomoću uređaja GEA Lab Homogenizer PandaPLUS 2000 provedena homogenizacija soka i sosa od rajčice pri 500 bara odnosno 1000 bara, izmjereni su fizikalni parametri. Izmjerena je vrijednost °Brix-a, pH vrijednost i električna vodljivost za uzorke soka i sosa prije tretmana. Odvojeno je po 10 mL netretiranog soka odnosno sosa u dvije Falcon epruvete kako bi se pripremili uzorci za određivanje ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenta te kako bi se provelo mjerenje fizikalnih parametara nakon sedam dana. Pri tome je jedna epruveta označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. Isto

tako, odvojeno je po 40 mL netretiranog soka odnosno sosa u dvije sterilne čaše za mikrobiološku analizu. Pri tome je jedna sterilna čaša označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. Navedeni fizikalni parametri su izmjereni i za uzorke soka i sosa nakon što je proveden jedan od tretmana.

#### *3.2.1.1. Određivanje stupnjeva Brix-a*

Vrijednost °Brix-a za homogenizirani, netretirani sos od rajčice trebao je iznositi 14, a za homogenizirani, netretirani sok od rajčice trebao je iznositi 6 prema uputama partnera projekta. Ukoliko sok odnosno sos nije zadovoljio navedenu vrijednost °Brix-a, ona je prilagođena dodavanjem šećera. Stupnjevi Brix-a su određeni i za tretirane uzorke soka odnosno sosa od rajčice, ali tada se njihova vrijednost nije prilagođavala. Stupnjevi Brix-a su određeni pomoću refraktometra DHR 95 Handheld Refractometer.

#### *3.2.1.2. Određivanje pH vrijednosti*

Prema uputama partnera projekta, pH vrijednost homogeniziranog, netretiranog sosa odnosno soka od rajčice trebao je iznositi 4. U slučaju da sos odnosno sok nije zadovoljio preporučenu pH vrijednost, ona je prilagođena dodavanjem 50 %-tne otopine limunske kiseline. pH vrijednost je određena i za tretirane uzorke soka odnosno sosa od rajčice, ali tada se vrijednost nije prilagođavala. pH vrijednost je određena pomoću pH metra HI5521-02.

#### *3.2.1.3. Određivanje električne vodljivosti*

Određivanje električne vodljivosti provedeno je za homogenizirane netretirane i tretirane uzorke soka odnosno sosa od rajčice. Mjerenje je provedeno pomoću pH metra HI5521-02.

### **3.2.2. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta**

Homogenizirani sok i sos od rajčice podvrgnuti su tretmanu ultrazvukom visokog intenziteta nakon što su im izmjereni fizikalni parametri. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta je proveden kako bi se inaktivirali prisutni mikroorganizmi i da se utvrdi njegov utjecaj na fizikalne parametre, sadržaj ukupnih fenola i pigmenata te na antioksidacijsku aktivnost soka odnosno sosa od rajčice. Za ovaj postupak upotrijebljen je ultrazvučni aparat Q700CA Sonicator s promjerom sonde od 12 mm. Uzorci su tretirani pri temperaturi od 60 °C u trajanju od 3 minute pri vrijednostima amplitude od 75 % i 100 %. U Tablici 3. prikazan je dizajn eksperimenta napravljen u programu STATGRAPHICS.

**Tablica 3.** Uzorci homogeniziranog soka i sosa od rajčice podvrgnuti tretmanu ultrazvukom visokog intenziteta pri različitim amplitudama

Uzorak		Amplituda (%)	Tlak homogenizacije (bar)
Sos	Sok		
US1	UJ1	75	500
US2	UJ2	100	500
US3	UJ3	75	1000
US4	UJ4	100	1000

### 3.2.2.1. Postupak provedbe tretmana ultrazvukom visokog intenziteta

U menzuru je bilo potrebno usipati 100 mL homogeniziranog, netretiranog uzorka i prenijeti taj volumen u laboratorijsku čašu. Laboratorijska čaša s uzorkom je zatim stavljena u kućište ultrazvučnog aparata i uronjena je ultrazvučna sonda te termočlanak. Ultrazvučna sonda je postavljena u središte čaše pri čemu je morala biti dovoljno odmaknuta od dna čaše. Termočlanak je postavljen tako da ne dodiruje stijenke čaše niti ultrazvučnu sondu, ali morao je biti postavljen što bliže sondi kako bi mjerio temperaturu što točnije. Zatim je zatvoreno kućište ultrazvučnog aparata i na LCD ekranu je unesena željena amplituda, 75 % ili 100 %, te vrijeme tretiranja koje je iznosilo 3 minute. Nakon toga je pokrenut tretman ultrazvukom visokog intenziteta i praćena je izmjerena temperatura na ekranu. Kada je vrijednost temperature dosegla 60 °C, proces je zaustavljen. Tada je otvoreno kućište ultrazvučnog aparata i laboratorijska čaša s uzorkom je postavljena u posudu s ledom i vodom. Posuda s ledom i vodom onemogućava dodatni porast temperature uzorka tijekom tretmana odnosno zadržava izmjerenu temperaturu na 60 °C. Čaša s posudom je vraćena u kućište, uronjena je sonda u uzorak i nastavljena je provedba tretmana. Tretiranje ultrazvukom visokog intenziteta je trajalo 3 minute. Na kraju se po 10 mL tretiranog uzorka odvojilo u dvije Falcon epruvete kako bi se mogli pripremiti uzorci za kemijske analize i provesti mjerenje fizikalnih parametara. Pri tome je jedna Falcon epruveta označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan. Isto tako, odvojeno je po 40 mL tretiranog uzorka u dvije sterilne čaše za mikrobiološke analize. Pri tome je jedna sterilna čaša označena kao uzorak 0. dan, a druga kao uzorak 7.dan.

### 3.2.3. Toplinski tretman

Uz tretman ultrazvukom visokog intenziteta, proveden je i toplinski tretman pri 60 °C. Toplinski tretman je proveden za homogenizirane, netretirane uzorke soka odnosno sosa od rajčice kojima su utvrđeni fizikalni parametri. Ovaj tretman je proveden kako bi se odredio njegov utjecaj na prisutne mikroorganizme, ukupne fenole, antioksidacijsku aktivnost, koncentraciju pigmenata i fizikalne parametre. Toplinski tretman je proveden pri 60 °C u trajanju od 3 minute pri čemu je korištena grijača ploča MS-H-S. Tretirani uzorci su označeni kao TS1 i TS2 u slučaju tretiranja sosa te kao TJ1 i TJ2 u slučaju tretiranja soka od rajčice. Pri čemu broj 1 označava uzorak koji je prethodno homogeniziran pri 500 bara, a broj 2 označava uzorak koji je prethodno homogeniziran pri 1000 bara.

#### 3.2.3.1. Postupak provedbe toplinskog tretmana

Pomoću menzure je bilo potrebno odmjeriti 100 mL homogeniziranog, netretiranog uzorka koji je zatim prenesen u laboratorijsku čašu. U laboratorijsku čašu od 1 L je usipano otprilike 200 mL vode i zagrijano na grijačoj ploči. Laboratorijska čaša s uzorkom je stavljena u čašu s vodom te je uronjen termometar u čašu s uzorkom. Praćen je porast temperature i kada je ona dosegla 60 °C, započeto je miješanje uzorka u trajanju od 3 minute. Nakon provedenog toplinskog tretmana bilo je potrebno odvojiti po 10 mL tretiranog uzorka u dvije Falcon epruvete, pri čemu je jedna označena kao uzorak 0.dan i jedna označena kao uzorak 7.dan, za daljnje kemijske analize i mjerenje fizikalnih parametara. Bilo je potrebno odvojiti i po 40 mL tretiranog uzorka u dvije sterilne čaše za mikrobiološke analize.

### 3.2.4. Hot break tretman

Osim dva prethodno spomenuta tretmana, proveden je i *hot break* tretman za homogenizirane, netretirane uzorke soka i sosa od rajčice. Ovaj tretman je proveden u svrhu ispitivanja njegovog utjecaja na mikroorganizme, vrijednosti fizikalnih parametara, antioksidacijsku aktivnost te sadržaj ukupnih fenola i pigmenata. Tretman je proveden pri 85 °C prema protokolu partnera projekta. Za realizaciju *hot break* tretmana korištena je grijača ploča MS-H-S. Tretirani uzorci sosa su označeni kao HBS1 i HBS2, a tretirani uzorci soka su označeni kao HBJ1 i HBJ2. Brojevi 1 i 2 u oznakama se odnose na tlak prilikom homogenizacije koji je iznosio 500 bara odnosno 1000 bara.

#### 3.2.4.1. Postupak provedbe hot break tretmana

U menzuri je odmjereno 100 mL homogeniziranog, netretiranog uzorka i taj volumen je prenesen u laboratorijsku čašu. Pomoću termometra je bilo potrebno izmjeriti početnu

temperaturu uzorka koja je trebala iznositi oko 20 °C. Pripremljena je laboratorijska čaša volumena od 1 L i u nju je usipano otprilike 200 mL vode te je sadržaj čaše zagrijan na grijačoj ploči na kojoj je temperatura bila postavljena na 90 °C. Nakon što je postignuta temperatura vode od 90 °C, u čašu je uronjena čaša s uzorkom i započeto je miješanje u trajanju od otprilike 11 minuta. Vrijednost temperature uzorka je praćena pomoću termometra. Kada je temperatura uzorka dosegla 85 °C, započeto je miješanje uzorka u trajanju od 3 minute. Zatim je laboratorijska čaša s uzorkom prebačena u posudu s ledom i vodom gdje se uzorak miješao 9 minuta. Nakon provedenog tretmana, slijedi već opisano presipavanje tretiranog uzorka u Falcon epruvete i sterilne čaše.

### 3.2.5. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije ukupnih fenola

Određivanje koncentracije ukupnih fenola provedeno je prema Singleton i Rossi (1965) uz modifikacije, prema uputama partnera projekta. Koncentracija ukupnih fenola određena je pomoću Folin-Ciocalteu metode. UV-VIS spektrofotometar UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis je korišten za provedbu analize. Mjerenje apsorbancije uzoraka provedeno je pri valnoj duljini od 765 nm. Vrijednost izmjerene apsorbancije se kretala između 0 i 1 te je u tom području apsorbancija proporcionalna koncentraciji ukupnih fenola.

#### 3.2.5.1. Priprema uzoraka za određivanje koncentracije ukupnih fenola

Nakon što je proveden jedan od tri tretmana i izmjereni su °Brix-a, pH vrijednost i vodljivost, tretirani uzorak je pripremljen za određivanje koncentracije ukupnih fenola. Na tehničkoj vagi Highland® Portable Precision Balances: HCB 1002 odvagano je 2 g tretiranog uzorka u Falcon epruveti. Zatim je dodano 15 mL 70 %-tnog etanola i uz pomoć ručnog homogenizatora Tissue Master 125 Homogenizer with 10 mm Probe realizirana je homogenizacija pri 14 000 rpm u trajanju od 30 do 60 sekundi. Nakon toga, uzorci su centrifugirani pri 5000 rpm u trajanju od 5 minuta u centrifugi 5430. Pomoću pipetmana Gilson prelijet je volumen dobivenog supernatanta u novu Falcon epruvetu. Pripremljeni uzorak se može odmah koristiti za analizu ukupnih fenola ili skladištiti pri -20 °C. Jednak postupak pripreme je proveden za uzorke soka i sosa od rajčice.

#### 3.2.5.2. Postupak određivanja koncentracije ukupnih fenola

Reakcijske smjese su pripremljene u paraleli na sljedeći način. U Eppendorf epruvetu je prvo pipetirano 1000 µL otopine A, slijedi 200 µL uzorka i na kraju 800 µL otopine B. Naposljetku se sadržaj epruvete promiješao na vorteks uređaju MX-S i uzorci su se zaštitili od svjetla u trajanju od 30 min kako bi se provela reakcija. Uzorak se morao promiješati prije

dodavanja u reakcijsku smjesu. Na jednak način je bila pripremljena i slijepa proba koja je umjesto uzorka sadržavala 200  $\mu\text{L}$  70 %-tnog etanola. Otopina A i otopina B su pripremljene na način koji je opisan u potpoglavlju 3.1.2. Nakon što je provedena reakcija, slijedilo je centrifugiranje uzoraka pomoću centrifuge 5430 pri 5000 rpm u trajanju od 5 minuta. Mjerenje apsorbancije je provedeno pri 765 nm na UV-Vis spektrofotometru UV-2600i uz *software* LabSolutions UV-Vis. Za mjerenje apsorbancije su korištene kvarcne kivete. Kvarcna kiveta sa slijepom probom i kvarcna kiveta s uzorkom su postavljene u predviđena mjesta u spektrofotometru. Izmjerena koncentracija ukupnih fenola, kao srednja vrijednost dvije paralele, izražena je u mg EGK/mL.

### 3.2.5.3. Izrada baždarnog dijagrama za određivanje koncentracije ukupnih fenola

Prije nego što se započne određivanje koncentracije ukupnih fenola pripremljenih uzoraka, nužno je napraviti baždarni dijagram koji prikazuje ovisnost izmjerene apsorbancije o poznatoj koncentraciji galne kiseline. Prvo je pripremljena standardna otopina galne kiseline koncentracije 0,1 mg/mL pri čemu je galna kiselina otopljena u 70 %-tnom etanolu. Iz standardne otopine galne kiseline, pripremljene su otopine galne kiseline poznatih koncentracija u odmjerne tikvice. Koncentracije otopina su iznosile 0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625; 0,003125 i 0,0015625 mg/mL. Nakon toga, postavljene su reakcije uz dodatak otopine A i otopine B na način koji je opisan u potpoglavlju 3.2.5.2. s time da se umjesto uzorka dodalo 200  $\mu\text{L}$  otopine galne kiseline. Slijepa proba je pripremljena na jednak način kao i u potpoglavlju 3.2.5.2. Reakcija se provodila 30 minuta u tami, a zatim su uzorci centrifugirani 5 minuta na 5000 rpm. Slijedilo je mjerenje apsorbancije pri valnoj duljini od 765 nm na UV-Vis spektrofotometru. Pomoću programa Microsoft Excel konstruiran je baždarni dijagram koji na y-osi sadrži vrijednosti apsorbancije, a na x-osi poznate koncentracije otopina galne kiseline (mg/mL) (Prilog 13.). Dobivena je jednadžba pravca baždarnog dijagrama:

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

Pri čemu  $y$  predstavlja izmjerenu vrijednost apsorbancije pri 765 nm,  $x$  predstavlja koncentraciju galne kiseline izraženu u mg/mL, a  $R^2$  predstavlja koeficijent determinacije. Ova jednadžba omogućava izračun nepoznate koncentracije ukupnih fenola u uzorku ukoliko se uvrsti vrijednost izmjerene apsorbancije uzorka..

### 3.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje antioksidacijske aktivnosti

Određivanje antioksidacijske aktivnosti je izvršeno prema Brand-Williams i sur. (1995) uz modifikacije, prema uputama partnera projekta. Antioksidacijska aktivnost je određena

putem DPPH metode. Za provedbu ove analize, upotrijebljen je UV-VIS spektrofotometar UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis. Apsorbancija uzoraka je izmjerena pri valnoj duljini od 515 nm pri čemu se vrijednosti izmjerene apsorbancije kreću između 0 i 1. U tom području je izmjerena apsorbancija proporcionalna koncentraciji.

### 3.2.6.1. 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 3.2.5.1.

### 3.2.6.2. Postupak određivanja antioksidacijske aktivnosti

Reakcijske smjese su pripremljene u paraleli tako da se u Eppendorf epruvetu otpipetiralo 1850  $\mu\text{L}$  otopine DPPH i zatim 150  $\mu\text{L}$  uzorka. Reakcijska smjesa je obvezno promiješana na vorteks uređaju MX-S. Reakcija se provodila u tami u trajanju od 30 minuta. Uzorak se morao promiješati prije dodavanja u reakcijsku smjesu. Isto tako, bilo je potrebno pripremiti slijepu probu u tri paralele na jednak način, ali umjesto uzorka se pipetiralo 150  $\mu\text{L}$  70 %-tnog etanola. Otopina DPPH je pripremljena na način koji je opisan u potpoglavlju 3.1.2. pri čemu se priprema nova otopina DPPH za svaki radni dan. Nakon što je provedena reakcija, slijedilo je mjerenje apsorbancije pri valnoj duljini od 515 nm. U tu svrhu, korišten je UV-Vis spektrofotometar UV-2600i uz *software* LabSolutions UV-Vis. Za mjerenje apsorbancije su korištene plastične kivete. Prvo su izmjerene apsorbancije slijepih proba, a zatim apsorbancije uzoraka tako da je postavljana jedna po jedna plastična kiveta u spektrofotometar. Za svaki uzorak je provedeno 3 mjerenja, a konačna apsorbancija je izražena kao srednja vrijednost tih mjerenja. Konačna vrijednost apsorbancije slijepa probe je izražena kao srednja vrijednost izračunatih srednjih vrijednosti za 3 paralele pri čemu je svaka imala 3 mjerenja.

Izračun postotka inhibicije DPPH je ostvaren pomoću formule:

$$\% \text{ inhibicije DPPH} = \left( \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) * 100 \quad [ 2 ]$$

Pri čemu se  $A_0$  odnosi na apsorbanciju slijepa probe, a  $A_1$  na apsorbanciju uzorka. Konačno, antioksidacijska aktivnost je izražena u  $\mu\text{mol ET/L}$  što je izračunato pomoću jednadžbe pravca baždarnog dijagrama za određivanje antioksidacijske aktivnosti.

Određeni uzorci su prilikom mjerenja apsorbancije pokazivali vrijednosti veće od 1. U tom slučaju, bilo je potrebno razrijediti te uzorke i ponoviti postupak određivanja antioksidacijske aktivnosti kako bi vrijednost apsorbancija bila u linearnom području. Prilikom



određivanja antioksidacijske aktivnosti za spomenute uzorke, bilo je nužno pomnožiti konačni rezultat s faktorom razrjeđenja.

### 3.2.6.3. Izrada baždarnog dijagrama za određivanje antioksidacijske aktivnosti

Prije određivanja antioksidacijske aktivnosti pripremljenih uzoraka, bilo je nužno konstruirati baždarni dijagram koji prikazuje ovisnost antioksidacijske aktivnosti o poznatoj koncentraciji Troloxa. U odmjerne tikvice su pripremljene otopine Troloxa koncentracije 25, 50, 100, 200 i 250  $\mu\text{mol/L}$  pri čemu se Trolox otapao u 96 %-tnom etanolu. Zatim je postavljena reakcija na isti način kao što je opisano u potpoglavlju 3.2.6.2., s time da se umjesto uzorka dodalo 150  $\mu\text{L}$  otopine Troloxa određene koncentracije. Slijepa proba je pripremljena na jednak način kao i u potpoglavlju 3.2.6.2. Odvijanje reakcije se provodilo u tami u trajanju od 30 minuta. Slijedilo je mjerenje apsorbancije pri valnoj duljini od 515 nm na UV-Vis spektrofotometru te se antioksidacijska aktivnost računala istim postupkom koji je opisan u potpoglavlju 3.2.6.2. U programu Microsoft Excel, konstruiran je baždarni dijagram koji na y-osi sadrži izračunati postotak inhibicije DPPH, a na x-osi sadrži poznate koncentracije otopina Troloxa ( $\mu\text{mol/L}$ ) (Prilog 14.).

Dobivena je jednadžba pravca baždarnog dijagrama:

$$y = 0,2841x - 1,3067 \quad R^2 = 0,9975 \quad [ 3 ]$$

Pri čemu  $y$  predstavlja postotak inhibicije DPPH-a,  $x$  predstavlja koncentraciju Troloxa® izraženu u  $\mu\text{mol/L}$ , a  $R^2$  predstavlja koeficijent determinacije. Ova jednadžba omogućava izračun nepoznate antioksidacijske aktivnosti uzorka ukoliko se prvo uvrsti vrijednost izmjerene apsorbancije uzorka u jednadžbu [2], a zatim se dobivena vrijednost uvrsti kao  $y$  u jednadžbu [3].

### 3.2.7. Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije pigmenata

Koncentracija karotenoida i klorofila je istodobno određivana u uzorcima soka i sosa od rajčice prema Nagata i Yamashita (1992), prema uputama partnera projekta. U svrhu provedbe ove analize, upotrijebljen je UV-VIS spektrofotometar UV-2600i s programskom podrškom LabSolutions UV-Vis. Mjerenje apsorbancije je provedeno pri valnim duljinama od 663 nm, 645 nm, 505 nm i 453 nm. Koncentracija likopena,  $\beta$ -karotena, klorofila  $a$  i klorofila  $b$  je izračunata prema zadanim formulama.

### 3.2.7.1. Priprema uzoraka za određivanje koncentracije pigmenata

Nakon što su tretiranim uzorcima soka i sosa od rajčice izmjereni fizikalni parametri, slijedila je priprema uzoraka za određivanje koncentracije pigmenata. Na tehničkoj vagi Highland® Portable Precision Balances: HCB 1002 je odvagano 1 g tretiranog uzorka u Falcon epruveti. Pripremljena je smjesa acetona i heksana u omjeru 2:3 i dodano je 10 mL pripremljene smjese otapala u Falcon epruvetu s uzorkom. Slijedila je homogenizacija ručnim homogenizatorom Tissue Master 125 Homogenizer with 10 mm Probe pri 14 000 rpm u trajanju od 30 do 60 sekundi. Došlo je do automatskog razdvajanja faza pri čemu su nastale dvije faze. Gornja faza je organska faza koja sadrži pigmente.

### 3.2.7.2. Postupak određivanja koncentracije pigmenata

Tijekom pripreme uzoraka je provedena ekstrakcija pigmenata smjesom acetona i heksana. Izdvojena gornja faza odnosno supernatant je otpipetirana u plastičnu kivetu. Mjerenje apsorbancije se za svaki uzorak provodilo istodobno pri valnim duljinama od 663, 645, 505 i 453 nm na UV-Vis spektrofotometru. Pomoću *software-a* LabSolutions UV-Vis, analizirane su izmjerene vrijednosti apsorbancije. Za svaki uzorak je provedeno 5 mjerenja, a konačna vrijednost apsorbancije je iskazana kao srednja vrijednost tih 5 mjerenja. Slijepa proba sadržavala je smjesu acetona i heksana u omjeru 2:3.

Izmjerene apsorbancije su uvrštene u odgovarajuću jednadžbu za svaki pigment i izračunata je koncentracija pigmenta. Koncentracija pigmenta se izražavala u mg/100 mL.

Jednadžbe za izračun koncentracije pigmenata:

$$Likopen = -0,0458 * A_{663} + 0,204 * A_{645} + 0,372 * A_{505} - 0,0806 * A_{453} \quad [ 4 ]$$

$$\beta - karoten = 0,216 * A_{663} - 1,22 * A_{645} - 0,304 * A_{505} + 0,452 * A_{453} \quad [ 5 ]$$

$$Klorofil a = 0,999 * A_{663} - 0,0989 * A_{645} \quad [ 6 ]$$

$$Klorofil b = -0,328 * A_{663} + 1,77 * A_{645} \quad [ 7 ]$$

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

### 3.2.8. Mikrobiološka analiza

Analizu je izvršio akreditirani laboratorij, Centar za kontrolu namirnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta. Za mikrobiološku analizu je pripremljeno po 40 mL netretiranih i tretiranih uzoraka soka i sosa od rajčice. Uzorci su dostavljeni u sterilnim plastičnim čašama s čepom na navoj. Svaki uzorak je pripremljen u dvije paralele. Prvi uzorak je označen kao 0.

dan i dostavljen je u laboratorij te analiziran istog dana kada je provedena njegova priprema. Drugi uzorak je označen kao 7.dan. On je bio skladišten u hladnjaku na +4 °C i dostavljen je u laboratorij te analiziran sedam dana nakon njegove pripreme.

Mikrobiološke analize provedene su prema standardnim ISO metodama koje su navedene u Tablici 4. Mikrobiološka ispitivanja uključuju pripremu osnovnih razrjeđenja uzoraka, inokulaciju i inkubaciju te očitavanje poraslih kolonija. Puferirana peptonska voda, pripremljena u omjeru 1:10, korištena je za pripremu osnovnih razrjeđenja ( $10^{-1}$ ) uzoraka. U provedbi mikrobioloških analiza su upotrijebljeni autoklav i hladnjak, precizna vaga, termostati na 25, 30 i 44 °C, stakleno posuđe i jednokratni sterilni plastični pribor te posuđe. Za mikrobiološko ispitivanje je korišten 1 g uzorka te su dobiveni rezultati izraženi u CFU/g uzorka.

**Tablica 4.** Provedene mikrobiološke analize za određene mikroorganizme u netretiranim i tretiranim uzorcima soka i sosa od rajčice

Mikroorganizam	Metoda ispitivanja	Parametri inkubacije		Hranjiva podloga
		Temperatura (°C)	Vrijeme (h)	
<i>Escherichia coli</i>	HRN ISO 16649-2:2001	44	24	TBX agar
Aerobne mezofilne bakterije	HRN EN ISO 4833-1:2013	30	72	PCA agar
Plijesni	HRN ISO 21527-1:2012	25	105	DRBC agar
<i>Bacillus coagulans</i>	Prema uputama Američkog društva za mikrobiologiju	30	72-105	MRS agar i TSA agar

### 3.2.8.1. *Escherichia coli*

Broj bakterije *Escherichia coli* u uzorcima je ispitivan prema metodi HRN ISO 16649-2:2001. Inkubacija je provedena prema parametrima temperature i vremena koji su navedeni u Tablici 4. Za uzgoj *E.coli* upotrijebljen je 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- $\beta$ -D-glukuronat) i 9 g agara u 1 L destilirane vode. Dobivena smjesa je kuhana i konstantno miješana kako bi došlo do potpunog otapanja tvari. Medij je presipan u epruvete ili bočice te je steriliziran u autoklavu pri 121 °C u trajanju od 15 minuta. Hranjivi medij se zatim ohladio i održavao pri temperaturi od 47-50 °C.

Za određivanje broja *E.coli*, korištena je metoda miješanja uzorka s tekućim agarom (engl. *Pour plate*). Metoda je provedena tako da je 1 mL uzorka prenesen na Petrijevu zdjelicu i dodano je 15 mL TBX agara. Sadržaj je promiješan i ostavljen da se ohladi, a zatim je slijedila inkubacija i brojanje kolonija.

#### 3.2.8.2. Aerobne mezofilne bakterije

Broj aerobnih mezofilnih bakterija (engl. *Total plate count, TPC*) u uzorcima je ispitivan prema metodi HRN EN ISO 4833-1:2013. Inkubacija je provedena prema parametrima temperature i vremena koji su navedeni u Tablici 4. Za uzgoj aerobnih mezofilnih bakterija, upotrijebljen je PCA agar kao hranjiva podloga. Za pripremu 1 L PCA agara, bilo je potrebno otopiti 5 g triptona, 2,5 g kvašćevog ekstrakta, 1 g glukoze i 12 g agara u 1 L destilirane vode. Zatim je smjesa kuhana uz miješanje kako bi se tvari u potpunosti otopile. Smjesa je presipana u epruvete ili bočice i sterilizirana u autoklavu na 121 °C u trajanju od 15 minuta. Temperatura hranjive podloge je održavana na 44-47 °C.

Za određivanje broja aerobnih mezofilnih bakterija, korištena je metoda miješanja uzorka s tekućim agarom (engl. *Pour plate*). Metoda je provedena na jednak način kao što je opisano u potpoglavlju 3.2.8.1., s time da je dodan PCA agar. Ukoliko je potrebno, dodan je sloj sterilnog agara preko inokuliranog uzorka. Slijedila je inkubacija i brojanje kolonija.

#### 3.2.8.3. Plijesni

Broj plijesni (engl. *Total mold count, TMC*) u uzorcima je ispitivan prema metodi HRN ISO 21527-1:2012. Inkubacija je provedena prema parametrima temperature i vremena koji su navedeni u Tablici 4. Za uzgoj plijesni, upotrijebljen je DRBC agar kao hranjiva podloga. Sastav DRBC agara je naveden u Prilogu 15. Navedene tvari su otopljene u 1 L destilirane vode i smjesa je kuhana dok se tvari u potpunosti nisu otopile. Slijedilo je autoklaviranje pri 121 °C u trajanju od 15 minuta. Nakon toga je hranjiva podloga izlivena u Petrijeve zdjelice i ohlađena.

Za određivanje broja plijesni, korištena je metoda razmazivanja 1 mL uzorka po površini skrutnutog agara (engl. *Spread plate*). Slijedila je inkubacija i brojanje kolonija.

#### 3.2.8.4. *Bacillus coagulans*

Broj bakterije *Bacillus coagulans* u uzorcima je ispitivan prema metodi koju je opisalo Američko društvo za mikrobiologiju. Inkubacija je provedena prema parametrima temperature i vremena koji su navedeni u Tablici 4. Za uzgoj bakterije *Bacillus coagulans* upotrijebljen je MRS i TSA agar kao hranjiva podloga. Tvari za pripremu MRS agara su pripremljene prema podacima u Prilogu 16. i otopljene u destiliranoj vodi uz dodatak 1 mL Tween 80 te je volumen dopunjen do 1 L. Smjesa se kuhala dok se tvari nisu otopile u potpunosti. Slijedilo je autoklaviranje pri 121 °C u trajanju od 15 minuta. Nakon toga je hranjiva podloga izlivena u Petrijeve zdjelice i ohlađena.

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. Slijedilo je kuhanje i miješanje dok se tvari u potpunosti nisu otopile. Autoklaviranje je provedeno pri 121 °C u trajanju od 15 minuta.

Za određivanje broja bakterije *Bacillus coagulans*, korištena je metoda razmazivanja 0,1 mL uzorka po površini skrnutog agara (engl. *Spread plate*). Slijedila je inkubacija i brojanje kolonija. Uzorak je nanesen na MRS agar i TSA agar. Uzorak se nanosi na MRS agar kako bi se mogao odrediti broj bakterija. *Bacillus coagulans* slabo raste na TSA agaru, ali se uzorak nanosi kako bi se potvrdilo da je ova bakterija uistinu prisutna s obzirom na to da na MRS agaru formira nespecifične kolonije.

### 3.3. OBRADA PODATAKA

#### 3.3.1. Statistička obrada podataka dobivenih nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta

Program STATGRAPHICS Centurion XV (Statgraphics Technologies Inc., Virginia, SAD) je upotrijebljen za postavljanje dizajna eksperimenta i optimizaciju parametara tretmana ultrazvukom visokog intenziteta. Analiziran je utjecaj ulaznih varijabli na izlazne varijable. Ulazne varijable bile su amplituda (75 i 100 %), tlak homogenizacije (500 i 1000 bara) i vrijeme skladištenja (0 i 7 dana). Izlazne varijable uključivale su pH vrijednost, °Brix-a, električnu vodljivost (mS/cm), koncentraciju ukupnih fenola (mg EGK/mL), antioksidacijsku aktivnost ( $\mu\text{mol ET/L}$ ), koncentraciju aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni (CFU/mL), koncentraciju likopena (mg/100 mL),  $\beta$ -karotena (mg/100 mL), klorofila *a* (mg/100 mL) i klorofila *b* (mg/100 mL).

Multifaktorijska analiza varijanci (engl. *Multivariate analysis of variance*, MANOVA) je korištena prilikom obrade podataka. Podaci su analizirani za uzorke soka i sosa

od rajčice. Cilj ove metode je utvrditi imaju li ulazne varijable utjecaj na izlazne varijable ukoliko se uzimaju u obzir samostalno ili u kombinaciji s drugim ulaznim varijablama. Određena ulazna varijabla ima statistički značaj ukoliko je  $p$ -vrijednost manja od 0,05. Optimizacija parametara tretmana ultrazvukom visokog intenziteta, izvršena je metodom odzivne površine (engl. *Response Surface Methodology*, RSM). Tom metodom su utvrđene optimalne vrijednosti ulaznih varijabli pomoću kojih se mogu postići optimalne vrijednosti izlaznih varijabli.

### 3.3.2. Statistička obrada podataka dobivenih nakon toplinskog tretmana i *hot break* tretmana

Izlazni podaci (°Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracije pigmenata i broj aerobnih mezofilnih bakterija te plijesni) su statistički obrađeni nakon toplinskog tretmana odnosno nakon *hot break* tretmana. Za statističku obradu podataka korištena je dvosmjerna analiza varijance (engl. *Analysis of variance*, ANOVA) bez replikacije u programu Microsoft Excel 365. Pomoću ANOVA-e je određen značaj utjecaja tlaka homogenizacije (500 i 1000 bar) i vremena skladištenja (0 i 7 dana) na izlazne podatke pri čemu se nešto smatra statistički značajnim ukoliko je  $p$ -vrijednost manja od 0,05.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu ispitivan je utjecaj tri različita tretmana na fizikalne parametre ( $^{\circ}$ Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost), prinos ukupnih fenola i pigmenata (likopen,  $\beta$ -karoten, klorofil *a* i *b*), antioksidacijsku aktivnost te mikrobiološku ispravnost (*E.coli*, TPC, TMC, *Bacillus coagulans*) uzoraka sosa i soka od rajčice. Optimiranje parametara (amplituda 75 ili 100 %, tlak homogenizacije 500 ili 1000 bara) tretmana ultrazvukom visokog intenziteta je također bio jedan od ciljeva istraživanja kako bi se osigurala zdravstvena ispravnost, adekvatna pH vrijednost, vrijednost  $^{\circ}$ Brix-a i električna vodljivost te maksimizirao prinos ukupnih fenola i pigmenata te antioksidacijska aktivnost. Ultrazvuk visokog intenziteta odabran je kao tretman jer se ubraja u netoplinske, održive tehnologije pri čemu je tijekom provođenja istraživanja maksimalna postignuta temperatura iznosila 60  $^{\circ}$ C. Tretiranje uzoraka provedeno je pri amplitudama od 75 i 100 %. Toplinski tretman pri 60  $^{\circ}$ C i *hot break* tretman provedeni su kako bi se usporedio njihov utjecaj na fizikalne parametre, prinos ukupnih fenola i pigmenata, antioksidacijsku aktivnost te mikrobiološku ispravnost uzoraka s utjecajem ultrazvuka visokog intenziteta. Uz navedeno, proučavan je utjecaj različitih parametara homogenizacije i utjecaj skladištenja na uzorke sosa i soka od rajčice.

Koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost i koncentracija pigmenata određene su spektrofotometrijskim metodama. Za određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom, apsorbancija je mjerena pri 765 nm, a za određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom mjerena je pri 515 nm. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost dva paralelna mjerenja (ukupni fenoli) odnosno šest paralelnih mjerenja (antioksidacijska aktivnost)  $\pm$  standardna devijacija. Određivanje koncentracije likopena,  $\beta$ -karotena, klorofila *a* i klorofila *b* provedeno je istodobno pri čemu je apsorbancija mjerena pri 663 nm, 645 nm, 505 nm i 453 nm. Koncentracije su izračunate prema formulama [4], [5], [6] i [7], a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost pet paralelnih mjerenja  $\pm$  standardna devijacija. Svi rezultati su prikazani tablično.

Mikrobiološka ispitivanja provedena su od strane Centra za kontrolu namirnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta prema standardnim ISO metodama koje su navedene u Tablici 4., a dobiveni rezultati su prikazani tablično.

Statistička obrada podataka tretmana ultrazvukom visokog intenziteta izrađena je pomoću *software*-a STATGRAPHICS Centurion XV pri čemu su ulazne varijable amplituda (75 i 100 %), tlak homogenizacije (500 i 1000 bara) i vrijeme skladištenja (0 i 7 dana).

Rezultati MANOVA-e izraženi su za sve izlazne parametre uzoraka soka odnosno sosa od rajčice. Rezultati su izraženi pomoću *p*-vrijednosti, Paretovog dijagrama, tablice s optimalnim vrijednostima, jednadžbe regresije i dijagrama odzivne površine. Obrada rezultata toplinskog i *hot break* tretmana, izvedena je pomoću programa Microsoft Excel 365 odnosno pomoću ANOVA-e. Pomoću ANOVA-e utvrđeno je imaju li tlak homogenizacije (500 i 1000 bara) i vrijeme skladištenja (0 i 7 dana) statistički značajan ( $p < 0,05$ ) utjecaj na vrijednosti izmjerenih parametara.

#### 4.1. UTJECAJ PROVEDENIH TRETMANA I VREMENA SKLADIŠTENJA NA REZULTATE PARAMETARA

##### 4.1.1. Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na rezultate parametara

##### 4.1.1.1. Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na uzorke sosa od rajčice

U Tablici 5. prikazani su rezultati mjerenja pH vrijednosti, stupnjeva Brix-a, električne vodljivosti, koncentracije ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije likopena,  $\beta$ -karotena, klorofila *a* te klorofila *b* za uzorke sosa od rajčice koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta u odnosu na pripadajuće netretirane uzorke. Prikazani rezultati su mjereni na dan pripreme i nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 5.** Rezultati mjerenja fizikalnih parametara, ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenta na nulti i sedmi dan skladištenja za uzorke sosa od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta (US1, US2, US3, US4) u odnosu na netretirane uzorke (CS1, CS2)

Uzorak	°Brix-a	pH	G (mS/cm)	UF (mg EGK/mL)	AA ( $\mu$ mol ET/L)	Likopen (mg/100 mL)	$\beta$ -karoten (mg/100 mL)	Klorofil <i>a</i> (mg/100 mL)	Klorofil <i>b</i> (mg/100 mL)
CS1 0.dan	14	4,023	12,33	0,014 $\pm$ 0,000	37,754 $\pm$ 0,122	0,018 $\pm$ 0,001	-0,074 $\pm$ 0,000	0,064 $\pm$ 0,002	0,087 $\pm$ 0,003
US1 0.dan	13,6	4,011	2,506	0,013 $\pm$ 0,000	30,491 $\pm$ 0,138	0,032 $\pm$ 0,003	-0,063 $\pm$ 0,000	0,064 $\pm$ 0,000	0,087 $\pm$ 0,000
US2 0.dan	12,5	3,962	2,465	0,014 $\pm$ 0,001	43,809 $\pm$ 2,265	0,023 $\pm$ 0,000	-0,069 $\pm$ 0,000	0,064 $\pm$ 0,000	0,087 $\pm$ 0,000
CS2 0.dan	14,2	4,009	18,84	0,027 $\pm$ 0,001	52,804 $\pm$ 1,953	0,031 $\pm$ 0,000	-0,071 $\pm$ 0,000	0,065 $\pm$ 0,000	0,087 $\pm$ 0,000
US3 0.dan	15,6	4,046	3,767	0,027 $\pm$ 0,000	55,183 $\pm$ 1,641	0,032 $\pm$ 0,000	-0,070 $\pm$ 0,000	0,064 $\pm$ 0,000	0,086 $\pm$ 0,000



**Tablica 5.** Rezultati mjerenja fizikalnih parametara, ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenata na nulti i sedmi dan skladištenja za uzorke sosa od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta (US1, US2, US3, US4) u odnosu na netretirane uzorke (CS1, CS2) - *nastavak*

US4 0.dan	15,5	4,081	3,788	0,023 ± 0,002	46,624 ± 2,34	0,035 ± 0,000	-0,070 ± 0,000	0,064 ± 0,000	0,086 ± 0,000
CS1 7.dan	14,8	4,069	2,55	0,016 ± 0,001	24,125 ± 1,785	0,016 ± 0,000	-0,078 ± 0,000	0,067 ± 0,000	0,090 ± 0,000
US1 7.dan	14,1	4,038	2,507	0,017 ± 0,001	9,975 ± 0,310	0,014 ± 0,000	-0,079 ± 0,001	0,068 ± 0,000	0,093 ± 0,001
US2 7.dan	14,3	4,013	2,566	0,018 ± 0,000	27,033 ± 2,052	0,020 ± 0,000	-0,073 ± 0,000	0,068 ± 0,000	0,093 ± 0,001
CS2 7.dan	15,6	4,034	3,827	0,025 ± 0,001	33,781 ± 2,372	0,043 ± 0,000	-0,070 ± 0,000	0,065 ± 0,000	0,087 ± 0,000
US3 7.dan	16	3,99	3,775	0,024 ± 0,002	39,134 ± 2,293	0,021 ± 0,000	-0,076 ± 0,000	0,067 ± 0,000	0,091 ± 0,000
US4 7.dan	15,3	3,993	3,741	0,027 ± 0,001	35,278 ± 2,557	0,026 ± 0,000	-0,075 ± 0,000	0,068 ± 0,001	0,093 ± 0,000

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Troloxa

Nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta, određeni uzorci (US1 0.dan, US2 0.dan) pokazuju smanjenje vrijednosti °Brix-a u odnosu na njihov kontrolni uzorak (CS1 0.dan), dok ostali uzorci (US3 0.dan, US4 0.dan) pokazuju povećanje vrijednosti °Brix-a u odnosu na kontrolni uzorak (CS2 0.dan). Međutim, navedeni rezultati nisu statistički značajni. Izmjerena pH vrijednost tretiranih uzoraka je ostala gotovo nepromijenjena u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak neovisno o amplitudi ultrazvuka ili tlaku homogenizacije. Dobiveni rezultati nisu statistički značajni ( $p > 0,05$ ) što je u skladu s rezultatima autora Etbach i sur. (2019) i Cheng i sur. (2014) koji su ispitali utjecaj ultrazvuka na °Brix-a i pH vrijednost sosa peruanske jagode odnosno sosa od jagode. Isto tako, utjecaj vremena skladištenja pri 4 °C na °Brix-a i pH vrijednost pokazao se kao statistički neznačajan za tretirane uzorke sosa. Međutim, vidljiv je porast °Brix-a nakon 7 dana skladištenja za sve tretirane uzorke s iznimkom uzorka US4. Razlog tomu, može biti konverzija netopljivih tvari stanične membrane u topljive tvari ili konverzija organskih kiselina u šećere (Ruiz-Nieto i sur., 1997). Također je vidljiv blagi porast pH vrijednosti u tretiranim uzorcima nakon 7 dana skladištenja (osim uzoraka US3 i US4) što se može objasniti spomenutom konverzijom organskih kiselina u šećere. Slične

rezultate su zabilježili Bishnoi i sur. (2015) u uzorcima pulpe od jagode. Obradom podataka je utvrđeno da optimalna pH vrijednost za uzorke sosa tretirane ultrazvukom iznosi 4,074, a postiže se nultog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 100 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara. Optimalna vrijednost °Brix-a iznosi 15,84 i postiže se pri amplitudi ultrazvuka od 75 %, tlaku homogenizacije od 1000 bara i pri nultom danu skladištenja.

Električna vodljivost tretiranih uzoraka ima negativan trend odnosno svi uzorci pokazuju smanjenje u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Rezultati izmjerene električne vodljivosti nakon provedenog tretmana ultrazvukom u uzorcima sosa, pokazuju da ukoliko je jednak tlak homogenizacije, a različita amplituda ultrazvuka (uzorci US1 0.dan i US2 0.dan; US3 0.dan i US4 0.dan), rezultati se ne razlikuju značajno ( $p > 0,05$ ). Dobiveni rezultati se razlikuju od rezultata prijašnjeg rada gdje je u sosu od jagode zabilježeno značajno povećanje električne vodljivosti u odnosu na kontrolni uzorak što je objašnjeno promjenom strukture makromolekula i oslobađanjem elektrolita djelovanjem ultrazvuka (Cheng i sur., 2014). Nadalje, utjecaj vremena skladištenja se pokazao kao statistički neznačajan. Obrada rezultata MANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije ima statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) na električnu vodljivost uzoraka sosa. Iz rezultata je vidljivo da povećanjem tlaka homogenizacije dolazi i do povećanja električne vodljivosti u sosu od rajčice. Razlog tomu, može biti da veći tlak (1000 bar) uzrokuje povećanje temperature, a time i povećanje električne vodljivosti što su autori Icier i Ilicali (2005) zabilježili u sosu od marelice i breskve tretiranom Ohmskim zagrijavanjem. Obradom podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost električne vodljivosti za uzorke sosa tretirane ultrazvukom iznosi 3,79 mS/cm, a postiže se nultog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 75 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara.

Koncentracija ukupnih fenola tretiranih uzoraka sosa od rajčice se nije značajno promijenila u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak kao što je vidljivo u Tablici 5. Dobiveni rezultati se podudaraju s rezultatima Golmohamadi i sur. (2013) koji su ispitali utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na sos od maline. Obrada podataka MANOVA-om je pokazala da amplituda ultrazvuka, tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj ( $p > 0,05$ ) na koncentraciju ukupnih fenola u tretiranim uzorcima sosa od rajčice. Vidljiv je blagi porast koncentracije ukupnih fenola nakon 7 dana skladištenja za sve tretirane uzorke (s iznimkom uzorka US4 koji pokazuje blago smanjenje). Nasuprot tomu, Sattar i sur. (2020) su zabilježili smanjenje ukupnih fenola tijekom skladištenja (pri 4 °C u hladnjaku tijekom perioda od 10-30 dana) u uzorcima soka od breskve tretiranim ultrazvukom. Isti autori su naveli da stabilnost ukupnih fenola ovisi o vrsti voća, načinu tretiranja i skladištenja. Obradom

podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost ukupnih fenola za uzorke sosa tretirane ultrazvukom iznosi 0,026 mg EGK/mL, a postiže se sedmog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 100 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara.

MANOVA-om je utvrđeno da tlak homogenizacije, amplituda, vrijeme skladištenja kao i interakcija tlaka i amplitude imaju statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) na antioksidacijsku aktivnost tretiranih uzoraka sosa. Uzorci CS2 0.dan, US3 0.dan i US4 0.dan imaju znatno veću antioksidacijsku aktivnost u odnosu na CS1 0.dan, US1 0.dan i US2 0.dan. Razlog tomu, može biti što su potonji uzorci homogenizirani pri nižem tlaku (500 bar) u odnosu na prvo navedene uzorke. Prema Prilogu 1. vidljivo je da tlak homogenizacije ima pozitivan utjecaj na antioksidacijsku aktivnost. Što se tiče utjecaja amplitude ultrazvuka, kada se usporede uzorci tretirani pri jednakom tlaku, a različitoj amplitudi, vidljivo je povećanje antioksidacijske aktivnosti s povećanjem amplitude (US1 0.dan i US2 0.dan). Povećanje antioksidacijske aktivnosti nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta je zabilježeno i u uzorcima sosa od jagode (Cheng i sur., 2014). Uzorci US1 0.dan i US4 0.dan pokazuju smanjenje antioksidacijske aktivnosti u odnosu na pripadajuću kontrolu što se može objasniti interakcijom tlaka i amplitude koja ima negativan utjecaj na antioksidacijsku aktivnosti (Prilog 1.). Antioksidacijska aktivnost kontrolnih i tretiranih uzoraka se značajno smanjila nakon 7 dana skladištenja pri čemu je najveće smanjenje zabilježeno za uzorak US1 (67,29 %), a najmanje za US4 (24,34 %). Galani i sur. (2017) su također zabilježili značajno smanjenje antioksidacijske aktivnosti nakon 15 dana skladištenja rajčice pri 4 °C. Isto tako, Aadil i sur. (2014) su uočili smanjenje antioksidacijske aktivnosti u uzorcima soka od grejpfruta tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta tijekom 7 dana skladištenja pri 4 °C. Navedena pojava se objašnjava antagonističkim efektom antioksidanasa (Castro-Lopez i sur., 2016). Obradom podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost antioksidacijske aktivnosti za uzorke sosa tretirane ultrazvukom iznosi 55,063  $\mu\text{mol ET/L}$ , a postiže se nultog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 75 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara.

Rezultati koncentracije likopena tretiranih uzoraka pokazuju blagi porast u odnosu na pripadajuću kontrolu što je u skladu s rezultatima Zhang i sur. (2019) koji su ispitivali utjecaj ultrazvuka na koncentraciju likopena u soku od rajčice. Povećanje likopena se može objasniti puknućem stanične membrane djelovanjem ultrazvuka zbog čega likopen dospijeva u matriks hrane (Suo i sur., 2022). Nadalje, svi tretirani uzorci pokazuju smanjenje likopena nakon 7 dana skladištenja. Slične rezultate su dobili Suo i sur. (2022) u uzorcima soka od bundeve koji su tretirani ultrazvukom. Međutim, obrada podataka je pokazala da tlak homogenizacije,

amplituda i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na sadržaj likopena u tretiranim uzorcima sosa od rajčice. Izmjerena koncentracija  $\beta$ -karotena negativna je za sve uzorke. Braniša i sur. (2014) su dobili negativne vrijednosti koncentracije  $\beta$ -karotena u uzorcima jagode, marelice i maline tretiranim ultrazvukom pri čemu su koncentraciju također određivali prema Nagata i Yamashita (1992) odnosno prema jednadžbi [5]. Isti autori su kao uzrok toga naveli preklapanje valnih duljina karotenoida s valnim duljinama klorofila u uzorcima koji sadrže slične koncentracije karotenoida i klorofila te su zaključili da postoje ograničenja u upotrebi jednadžbi [4]-[7]. Koncentracija klorofila *a* i klorofila *b* tretiranih uzoraka je gotovo nepromijenjena u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak pri čemu je koncentracija klorofila *b* veća u svim uzorcima u odnosu na klorofil *a*. MANOVA-om je utvrđeno da tlak homogenizacije, amplituda ultrazvuka, vrijeme skladištenja, interakcija amplitude i vremena skladištenja te interakcija tlaka i vremena skladištenja imaju statistički značajan utjecaj na koncentraciju klorofila *a*. Isto tako, utvrđeno je da vrijeme skladištenja ima statistički značajan utjecaj na koncentraciju klorofila *b*. Nakon 7 dana skladištenja, tretirani uzorci pokazuju porast klorofila *a* i klorofila *b*. Porast klorofila *a* iznosio je najviše 6,25 % (US1, US2, US4), a najmanje 4,69 % (US3). Za klorofil *b*, porast je iznosio najviše 8,14 % (US4), a najmanje 5,81 % (US3). Nasuprot tomu, rezultati prijašnjih znanstvenih radova pokazuju da se koncentracija klorofila u rajčici smanjuje tijekom skladištenja pri 4 °C (Park i sur., 2018; Tadesse i sur., 2015). Obradom podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost likopena za uzorke sosa tretirane ultrazvukom iznosi 0,034 mg/100 mL, a postiže se nultog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 100 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara. Nadalje, utvrđeno je da optimalna vrijednost klorofila *a* za uzorke sosa tretirane ultrazvukom iznosi 0,068 mg/100 mL, a optimalna vrijednost klorofila *b* iznosi 0,093 mg/100 mL. Obje optimalne vrijednosti se postižu sedmog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 100 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara.

Uzorak US3 0.dan pokazuju najveću vrijednost koncentracije ukupnih fenola ( $0,027 \pm 0,000$ ), antioksidacijske aktivnosti ( $55,183 \pm 1,641$ ), koncentracije klorofila *a* ( $0,064 \pm 0,000$ ) i klorofila *b* ( $0,086 \pm 0,000$ ). Najveću koncentraciju likopena ( $0,035 \pm 0,000$ ) ima uzorak US4 0.dan.

#### *4.1.1.2. Utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na uzorke soka od rajčice*

U Tablici 6. prikazani su rezultati mjerenja pH vrijednosti, stupnjeva Brix-a, električne vodljivosti, koncentracije ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije likopena,  $\beta$ -karotena, klorofila *a* te klorofila *b* za uzorke soka od rajčice koji su tretirani ultrazvukom

visokog intenziteta u odnosu na pripadajuće netretirane uzorke. Prikazani rezultati su mjereni na dan pripreme i nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 6.** Rezultati mjerenja fizikalnih parametara, ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenta na nulti i sedmi dan skladištenja za uzorke soka od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta (UJ1, UJ2, UJ3, UJ4) u odnosu na netretirane uzorke (CJ1, CJ2)

Uzorak	°Brix-a	pH	G (mS/cm)	UF (mg EGK/mL)	AA (μmol ET/L)	Likopen (mg/100 mL)	β-karoten (mg/100 mL)	Klorofil a (mg/100 mL)	Klorofil b (mg/100 mL)
CJ1 0.dan	5,9	3,948	15,62	0,012 ± 0,001	39,478 ± 1,627	0,051 ± 0,000	-0,110 ± 0,000	0,096 ± 0,000	0,137 ± 0,001
UJ1 0.dan	5,7	3,994	3,158	0,013 ± 0,001	35,313 ± 2,336	0,048 ± 0,000	-0,114 ± 0,000	0,096 ± 0,000	0,138 ± 0,000
UJ2 0.dan	5,2	3,998	3,066	0,012 ± 0,000	32,892 ± 0,913	0,065 ± 0,000	-0,106 ± 0,000	0,092 ± 0,000	0,132 ± 0,000
CJ2 0.dan	5,9	3,949	14,56	0,015 ± 0,001	25,513 ± 0,206	0,043 ± 0,000	-0,115 ± 0,001	0,099 ± 0,000	0,143 ± 0,001
UJ3 0.dan	5,6	3,986	3,183	0,011 ± 0,000	28,435 ± 0,848	0,053 ± 0,000	-0,115 ± 0,000	0,100 ± 0,000	0,145 ± 0,000
UJ4 0.dan	5,7	3,937	3,17	0,015 ± 0,000	51,846 ± 2,612	0,044 ± 0,000	-0,120 ± 0,000	0,101 ± 0,000	0,146 ± 0,000
CJ1 7.dan	6,2	3,983	2,925	0,017 ± 0,000	25,319 ± 0,412	0,034 ± 0,000	-0,098 ± 0,000	0,085 ± 0,000	0,122 ± 0,001
UJ1 7.dan	6,1	4	3,047	0,018 ± 0,001	34,591 ± 2,373	0,048 ± 0,000	-0,093 ± 0,000	0,084 ± 0,000	0,119 ± 0,001
UJ2 7.dan	6,3	3,988	3,173	0,016 ± 0,000	24,352 ± 1,122	0,043 ± 0,000	-0,086 ± 0,000	0,079 ± 0,000	0,111 ± 0,000
CJ2 7.dan	6,9	3,999	2,92	0,017 ± 0,001	18,912 ± 1,526	0,041 ± 0,000	-0,085 ± 0,000	0,076 ± 0,000	0,106 ± 0,000
UJ3 7.dan	6,6	3,994	2,965	0,018 ± 0,001	29,004 ± 0,541	0,029 ± 0,000	-0,090 ± 0,000	0,073 ± 0,000	0,102 ± 0,001
UJ4 7.dan	6,7	3,972	3,047	0,017 ± 0,001	28,174 ± 1,991	0,039 ± 0,000	-0,082 ± 0,000	0,070 ± 0,000	0,097 ± 0,001

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Troloxa

Prema rezultatima u Tablici 6., vidljivo je smanjenje °Brix-a u svim tretiranim uzorcima soka od rajčice u odnosu na pripadajuću kontrolu. Nadalje, jednako kao i uzorcima sosa, vidljivo je

povećanje °Brix-a nakon 7 dana skladištenja za sve tretirane uzorke soka. Aadil i sur. (2014) su zabilježili jednak trend povećanja °Brix-a tijekom skladištenja soka od grejpfruta koji je prethodno tretiran ultrazvukom. Kao što je ranije spomenuto, ta pojava se može objasniti konverzijom organskih kiselina u šećere ili konverzijom netopljivih tvari stanične membrane u topljive tvari (Ruiz-Nieto i sur., 1997). Nakon tretmana ultrazvukom i 7 dana skladištenja, pH vrijednost tretiranih uzoraka je ostala gotovo nepromijenjena u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Međutim, tlak homogenizacije, amplituda ultrazvuka i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na °Brix-a i pH vrijednost što je utvrđeno MANOVA-om. Adekunte i sur. (2010) su također zabilježili da amplituda ultrazvuka nema statistički značajan utjecaj na pH vrijednost i °Brix-a u soku od rajčice. Obradom podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost °Brix-a za uzorke soka tretirane ultrazvukom iznosi 6,788, a postiže se sedmog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 100 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara. Optimalna pH vrijednost iznosi 3,999 i postiže se amplitudom ultrazvuka od 75 %, tlakom homogenizacije od 500 bara tijekom nultog dana skladištenja.

Električna vodljivost u svim uzorcima soka od rajčice znatno opada nakon tretiranja ultrazvukom pri čemu uzorci tretirani amplitudom od 100 % (US2, US4) pokazuju veći pad. Isto tako, pad električne vodljivosti se nastavlja tijekom skladištenja (osim u uzorku UJ2). Aadil i sur. (2014) su u soku od grejpfruta, koji je tretiran ultrazvukom visokog intenziteta, uočili porast električne vodljivosti, a tijekom skladištenja je došlo do pada vrijednosti. Pad električne vrijednosti su objasnili gubitkom nutrijenata koji su ključni za električnu vodljivost. Statistička obrada podataka MANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije, amplituda i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan ( $p > 0,05$ ) utjecaj na električnu vodljivost. Obradom podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost električne vodljivosti za uzorke soka tretirane ultrazvukom iznosi 3,198 mS/cm, a postiže se nultog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 75 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara.

Kao i u tretiranim uzorcima sosa od rajčice, koncentracija ukupnih fenola u uzorcima UJ1 0.dan, UJ2 0.dan, UJ3 0.dan i UJ4 0.dan nije se značajno promijenila u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Nakon 7 dana skladištenja, vidljiv je blagi porast koncentracije ukupnih fenola u svim tretiranim uzorcima. Castro-Lopez i sur. (2016) zabilježili su povećanje koncentracije ukupnih fenola od 12. dana skladištenja voćnih napitaka pri 8-11 °C. Kao uzrok ovog porasta, naveli su rast mikroorganizama, reakcije oksidiranih polifenola i nastajanje novih spojeva koji imaju antioksidacijsku sposobnost te mogu reagirati s Folin-Ciocalteu reagensom. Nasuprot tomu, drugi autori su prijavili porast ukupnih fenola nakon tretmana ultrazvukom te

pad koncentracije ukupnih fenola tijekom skladištenja pri 4 °C u soku od breskve odnosno soku od grejpfruta (Sattar i sur., 2020; Aadil i sur., 2014). Obrada podataka MANOVA-om pokazala je da amplituda ultrazvuka, tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na koncentraciju ukupnih fenola u tretiranim uzorcima soka od rajčice. Obradom podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost ukupnih fenola za uzorke soka tretirane ultrazvukom iznosi 0,018 mg EGK/mL, a postiže se sedmog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 75 % i tlaku homogenizacije od 500 bara.

Rezultati izmjerene antioksidacijske aktivnosti tretiranih uzoraka soka od rajčice ne pokazuju određeni trend. Uzorci UJ1 0.dan i UJ2 0.dan imaju manju antioksidacijsku aktivnost u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok uzorci UJ3 0.dan i UJ4 0.dan imaju veću antioksidacijsku vrijednost. Zhang i sur. (2019) su također utvrdili smanjenje antioksidacijske aktivnosti u soku od rajčice tretiranom ultrazvukom. Kao što je ranije navedeno, smanjenje antioksidacijske aktivnosti se objašnjava antagonističkim efektom antioksidanasa (Castro-Lopez i sur., 2016). Nasuprot tomu, Oladunjoye i sur. (2021) su utvrdili povećanje antioksidacijske aktivnosti u soku od mombinske šljive koji je tretiran ultrazvukom. Isti autori su kao razlog za navedeno povećanje naveli veću biodostupnost fenolnih spojeva ili smanjeno formiranje slobodnih hidrosil radikala djelovanjem kavitacije. Nakon 7. dana skladištenja, antioksidacijska aktivnost tretiranih uzoraka soka ostala je nepromijenjena ili je došlo do njenog smanjenja. Slične rezultate su zabilježili i drugi autori (Aadil i sur, 2014). Obrada podataka MANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije, amplituda ultrazvuka i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na antioksidacijsku aktivnost. Obradom podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost antioksidacijske aktivnosti za uzorke soka tretirane ultrazvukom iznosi 49,793  $\mu\text{mol ET/L}$ , a postiže se nultog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 100 % i tlaku homogenizacije od 1000 bara.

Kao i u ultrazvukom tretiranim uzorcima sosa od rajčice, koncentracija likopena u tretiranim uzorcima soka pokazuje blagi porast u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak (s iznimkom uzorka UJ1). Porast likopena nakon tretmana ultrazvukom su zabilježili Zhang i sur. (2019) u soku od rajčice te Oladunjoye i sur. (2021) u soku od mombinske šljive. Nakon 7 dana skladištenja, došlo je do pada koncentracije likopena u uzorcima UJ2, UJ3 i UJ4, dok je u uzorku UJ1 ostala nepromijenjena. Negativan trend koncentracije likopena tijekom 8 dana skladištenja pri 4 °C, zabilježen je u soku od bundeve tretiranom ultrazvukom te soku od nara (Suo i sur., 2022; Castro-Lopez i sur., 2016). Kao što je ranije navedeno, Suo i sur. (2022) povećanje likopena nakon tretmana ultrazvukom objašnjavaju djelovanjem kavitacije na

staničnu membranu, njenim oštećenjem i oslobađanjem likopena u matriks. Castro-Lopez i sur. (2016) kao uzrok smanjenja likopena tijekom skladištenja, navode oksidaciju i polimerizaciju dvostrukih veza. Obrada podataka je pokazala da tlak homogenizacije, amplituda i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na sadržaj likopena u tretiranim uzorcima soka od rajčice. Kao i u ultrazvukom tretiranim uzorcima sosa od rajčice, koncentracija  $\beta$ -karotena negativna je za sve analizirane uzorke. Objašnjenje dobivenih rezultata navedeno je u potpoglavlju 4.1.1.1. Koncentracija klorofila *a* i klorofila *b* u tretiranim uzorcima soka je za određene uzorke ostala jednaka u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok se u nekim uzorcima smanjila odnosno povećala. Općenito, koncentracija klorofila *b* je u svim uzorcima veća od koncentracije klorofila *a*. MANOVA je pokazala da vrijeme skladištenja ima statistički značajan utjecaj na koncentracije klorofila *a* i klorofila *b*. Koncentracije klorofila u tretiranim uzorcima se nakon 7 dana skladištenja znatno smanjuju. Dobiveni rezultati su u skladu s radovima prijašnjih autora koji su utvrdili smanjenje klorofila u rajčici tijekom skladištenja pri 4 °C (Park i sur, 2018; Tadesse i sur., 2015). Najveće smanjenje klorofila *a* zabilježeno je za uzorak UJ4 (30,70 %), a najmanje za UJ1 (12,5 %). Za klorofil *b*, najveće smanjenje zabilježeno je za uzorak UJ4 (33,56 %), a najmanje za UJ1 (13,77 %). Obradom podataka je utvrđeno da optimalna vrijednost likopena za uzorke soka tretirane ultrazvukom iznosi 0,061 mg/100 mL, a postiže se nultog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 100 % i tlaku homogenizacije od 500 bara. Optimalna vrijednost za klorofil *a* iznosi 0,101 mg/100 mL, a za klorofil *b* iznosi 0,146 mg/100 mL. Ona se postiže nultog dana skladištenja pri amplitudi ultrazvuka od 100 % te tlaku homogenizacije od 1000 bara.

Uzorak UJ4 0.dan pokazuju najveću vrijednost koncentracije ukupnih fenola ( $0,015 \pm 0,000$ ), antioksidacijske aktivnosti ( $51,846 \pm 2,612$ ), koncentracije klorofila *a* ( $0,101 \pm 0,000$ ) i klorofila *b* ( $0,146 \pm 0,000$ ). Najveću koncentraciju likopena ( $0,065 \pm 0,000$ ) ima uzorak UJ2 0.dan.

#### 4.1.2. Utjecaj toplinskog tretmana na rezultate parametara

##### 4.1.2.1. Utjecaj toplinskog tretmana na uzorke sosa od rajčice

U Tablici 7. prikazani su rezultati mjerenja pH vrijednosti, stupnjeva Brix-a, električne vodljivosti, koncentracije ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije likopena,  $\beta$ -karotena, klorofila *a* te klorofila *b* za uzorke sosa od rajčice koji su tretirani toplinskim tretmanom pri 60 °C u odnosu na pripadajuće netretirane uzorke. Prikazani rezultati su mjereni na dan pripreme i nakon 7 dana skladištenja.



**Tablica 7.** Rezultati mjerenja fizikalnih parametara, ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenata na nulti i sedmi dan skladištenja za uzorke sosa od rajčice tretiranima toplinskim tretmanom (TS1, TS2) u odnosu na netretirane uzorke (CS1, CS2)

Uzorak	°Brix-a	pH	G (mS/cm)	UF (mg EGK/mL)	AA (μmol ET/L)	Likopen (mg/100 mL)	β-karoten (mg/100 mL)	Klorofil a (mg/100 mL)	Klorofil b (mg/100 mL)
CS1 0.dan	14	4,023	12,33	0,014 ± 0,000	37,754 ± 0,122	0,018 ± 0,001	-0,074 ± 0,000	0,064 ± 0,002	0,087 ± 0,003
TS1 0.dan	12,6	4,006	2,46	0,018 ± 0,001	35,956 ± 0,209	0,028 ± 0,000	-0,057 ± 0,000	0,064 ± 0,000	0,064 ± 0,000
CS2 0.dan	14,2	4,009	18,84	0,023 ± 0,001	52,804 ± 1,953	0,031 ± 0,000	-0,071 ± 0,000	0,065 ± 0,000	0,087 ± 0,000
TS2 0.dan	16,2	4,067	3,915	0,022 ± 0,001	69,392 ± 3,308	0,024 ± 0,000	-0,076 ± 0,000	0,064 ± 0,000	0,064 ± 0,000
CS1 7.dan	14,8	4,069	2,55	0,016 ± 0,001	24,125 ± 1,785	0,016 ± 0,000	-0,078 ± 0,000	0,067 ± 0,000	0,090 ± 0,000
TS1 7.dan	13,1	4,029	2,489	0,017 ± 0,000	18,672 ± 0,570	0,016 ± 0,000	-0,090 ± 0,000	0,071 ± 0,000	0,071 ± 0,000
CS2 7.dan	15,6	4,034	3,827	0,025 ± 0,001	33,781 ± 2,372	0,043 ± 0,000	-0,070 ± 0,000	0,065 ± 0,000	0,087 ± 0,000
TS2 7.dan	16,1	3,996	3,946	0,027 ± 0,002	20,493 ± 1,312	0,042 ± 0,000	-0,065 ± 0,001	0,065 ± 0,000	0,065 ± 0,000

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox

Prema Tablici 7., rezultati °Brix-a tretiranih uzoraka se smanjuju (TS1 0.dan) u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak odnosno povećavaju se (TS2 0.dan). Nakon 7 dana skladištenja, došlo je do povećanja °Brix-a za uzorak TS1, dok su se °Brix-a blago smanjili za uzorak TS2. Statistička obrada podataka pomoću ANOVA-e, pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan ( $p > 0,05$ ) utjecaj na vrijednost °Brix-a. Što se tiče pH vrijednosti tretiranih uzoraka, ona prati jednak trend kao i °Brix-a. Uzorak TS1 0.dan pokazuje smanjenje pH vrijednosti u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, a TS2 0.dan pokazuje porast. Nakon 7 dana skladištenja, uzorak TS1 karakterizira porast pH vrijednosti, a uzorak TS2 blago smanjenje. Međutim, tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan ( $p > 0,05$ ) utjecaj na pH vrijednost. Slične rezultate su dobili Cheng i sur. (2014) za toplinski tretiran (pri 90 °C, 1 minuta) sos od jagode.

Električna vodljivost tretiranih uzoraka ima negativan trend odnosno svi uzorci pokazuju smanjenje u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, kao i kod uzoraka tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta. Uzorak TS1 0.dan pokazuje smanjenje od 80,05 %, a uzorak TS2 0.dan 79,22 %. Nasuprot tomu, sos od jagode tretiran pri 90 °C u trajanju od 1 minute pokazao je statistički značajno povećanje električne vodljivosti (Cheng i sur., 2014). Navedeno povećanje autori su objasnili promjenom strukture makromolekula djelovanjem topline i oslobađanjem mineralnih tvari koje povećavaju električnu vodljivost. Nakon 7.dana skladištenja, došlo je do blagog porasta električne vodljivosti u oba tretirana uzorka. Statistička obrada podataka je pokazala da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja imaju statistički značajan ( $p < 0,05$ ) utjecaj na vrijednost električne vodljivosti tretiranih uzoraka.

Rezultati koncentracije ukupnih fenola ne prate određeni trend odnosno vrijednost ukupnih fenola za uzorak TS1 0.dan se povećala u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok se vrijednost za uzorak TS2 0.dan smanjila u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Da rezultati koncentracije ukupnih fenola u toplinski tretiranim uzorcima mogu biti oprečni, pokazuju i radovi drugih autora. Rivero i sur. (2022) zabilježili su povećanje ukupnih fenola u toplinski tretiranom sosu od rajčice (pri 90-100 °C, 15 minuta) te su utvrdili da se udjel ukupnih fenola povećava dužom toplinskom obradom rajčice zbog koncentriranja. Nasuprot tomu, Cheng i sur. (2014) utvrdili su pad vrijednosti ukupnih fenola u toplinski tretiranom sosu od jagode (pri 90 °C, 1 minuta). Isto tako, nakon 7 dana skladištenja došlo je do smanjenja koncentracije ukupnih fenola za uzorak TS1 i povećanja za uzorak TS2. Međutim, statistička obrada podataka pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan ( $p > 0,05$ ) utjecaj na pH vrijednost.

Antioksidacijska aktivnost tretiranih uzoraka pri 60 °C razlikuje se ovisno o uzorku odnosno zabilježeno je njeno smanjenje za uzorak TS1 0.dan te porast za uzorak TS2 0.dan. Smanjenje antioksidacijske aktivnosti u toplinski tretiranom sosu od jagode zabilježili su Cheng i sur. (2014), dok su Rivero i sur. (2022) u toplinski tretiranom sosu od rajčice zabilježili značajan porast antioksidacijske aktivnosti. Nakon 7 dana skladištenja, izmjerene antioksidacijske aktivnosti oba tretirana uzorka pokazuju osjetni pad. ANOVA-om je utvrđeno da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan ( $p > 0,05$ ) utjecaj na pH vrijednost.

Koncentracija likopena pokazuje porast vrijednosti za uzorak TS1 0.dan, dok se za uzorak TS2 0.dan smanjuje. Porast koncentracije likopena u sosu od rajčice koji je toplinski

tretiran pri 90-100 °C u trajanju od 15 minuta, zabilježili su Rivero i sur. (2022). Isti autori kao uzrok povećanja likopena navode efekt zagrijavanja i homogenizacije. Također su naveli da do povećanja biodostupnosti likopena može doći zbog uništavanja stanične membrane pri čemu slabe veze između likopena i matriksa te dolazi do pojačanja *cis*-izomerizacije likopena. Nadalje, nakon skladištenja došlo je do smanjenja koncentracije likopena u TS1. Nasuprot tomu, koncentracija likopena se nakon 7 dana skladištenja povećala u uzorku TS2. Kao i kod uzoraka tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta, vrijednost  $\beta$ -karotena je negativna za sve uzorke. Objašnjenje dobivenih rezultata navedeno je u potpoglavlju 4.1.1.1. Koncentracija klorofila *a* ostala je jednaka za TS1 0.dan u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok za TS2 0.dan pokazuje blago smanjenje. Oba uzorka karakterizira porast koncentracije klorofila *a* nakon 7 dana skladištenja. Što se tiče koncentracije klorofila *b*, oba tretirana uzorka pokazuju smanjenje u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak te povećanje vrijednosti nakon 7 dana skladištenja. Međutim, statistička obrada podataka pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan ( $p>0,05$ ) utjecaj na pH vrijednost.

Uzorak TS2 0.dan pokazuju najveću vrijednost koncentracije ukupnih fenola ( $0,022 \pm 0,001$ ) i antioksidacijske aktivnosti ( $69,392 \pm 3,308$ ) Najveću koncentraciju likopena ( $0,028 \pm 0,000$ ) ima uzorak TS1 0.dan, a koncentracije klorofila *a* i klorofila *b* su jednake.

#### 4.1.2.2. Utjecaj toplinskog tretmana na uzorke soka od rajčice

U Tablici 8. prikazani su rezultati mjerenja pH vrijednosti, stupnjeva Brix-a, električne vodljivosti, koncentracije ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije likopena,  $\beta$ -karotena, klorofila *a* te klorofila *b* za uzorke soka od rajčice koji su tretirani toplinskim tretmanom pri 60 °C u odnosu na pripadajuće netretirane uzorke. Prikazani rezultati su mjereni na dan pripreme i nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 8.** Rezultati mjerenja fizikalnih parametara, ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenata na nulti i sedmi dan skladištenja za uzorke soka od rajčice tretiranima toplinskim tretmanom (TJ1, TJ2) u odnosu na netretirane uzorke (CJ1, CJ2)

Uzorak	°Brix-a	pH	G (mS/cm)	UF (mg EGK/mL)	AA ( $\mu$ mol ET/L)	Likopen (mg/100 mL)	$\beta$ -karoten (mg/100 mL)	Klorofil <i>a</i> (mg/100 mL)	Klorofil <i>b</i> (mg/100 mL)
CJ1 0.dan	5,9	3,948	15,62	$0,012 \pm 0,001$	$39,478 \pm 1,627$	$0,051 \pm 0,000$	$-0,110 \pm 0,000$	$0,096 \pm 0,000$	$0,137 \pm 0,001$
TJ1 0.dan	5,3	3,97	3,119	$0,015 \pm 0,001$	$28,629 \pm 0,578$	$0,039 \pm 0,001$	$-0,117 \pm 0,000$	$0,100 \pm 0,001$	$0,145 \pm 0,002$

**Tablica 8.** Rezultati mjerenja fizikalnih parametara, ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenta na nulti i sedmi dan skladištenja za uzorke soka od rajčice tretiranima toplinskim tretmanom (TJ1, TJ2) u odnosu na netretirane uzorke (CJ1, CJ2) - *nastavak*

CJ2 0.dan	5,9	3,949	14,56	0,015 ± 0,001	25,513 ± 0,206	0,043 ± 0,000	-0,115 ± 0,001	0,099 ± 0,000	0,143 ± 0,001
TJ2 0.dan	5,6	3,964	3,037	0,012 ± 0,000	30,348 ± 2,127	0,044 ± 0,000	-0,120 ± 0,000	0,104 ± 0,000	0,151 ± 0,000
CJ1 7.dan	6,2	3,983	2,925	0,017 ± 0,000	25,319 ± 0,412	0,034 ± 0,000	-0,098 ± 0,000	0,085 ± 0,000	0,122 ± 0,001
TJ1 7.dan	6,5	3,972	3,052	0,016 ± 0,000	7,994 ± 0,644	0,032 ± 0,000	-0,082 ± 0,000	0,074 ± 0,000	0,103 ± 0,001
CJ2 7.dan	6,9	3,999	2,92	0,017 ± 0,001	18,912 ± 1,526	0,041 ± 0,000	-0,085 ± 0,000	0,076 ± 0,000	0,106 ± 0,000
TJ2 7.dan	6,7	3,974	3,095	0,017 ± 0,001	22,741 ± 0,707	0,039 ± 0,000	-0,078 ± 0,001	0,071 ± 0,000	0,098 ± 0,001

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox

Prema Tablici 8., °Brix-a se smanjuju u uzorcima soka od rajčice nakon toplinskog tretmana pri 60 °C u trajanju od 3 minute. Rezultati pokazuju da je smanjenje °Brix-a veće za uzorak TJ2 0.dan i iznosi 5,10 %. Statistička obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije nema statistički značajan utjecaj na vrijednosti °Brix-a, dok vrijeme skladištenja ima ( $p < 0,05$ ). Nakon 7 dana skladištenja, vrijednosti °Brix-a značajno se povećavaju pri čemu uzorak TJ1 pokazuje veće povećanje (22,64 %) u odnosu na TJ2. Što se tiče pH vrijednosti, nakon toplinskog tretmana došlo je do blagog povećanja. Nakon 7 dana skladištenja, pH vrijednost je ostala jednaka za uzorak TJ1, dok je za uzorak TJ2 zabilježeno blago povećanje. Nasuprot tomu, Sattar i sur. (2020) utvrdili su značajno smanjenje pH vrijednosti u toplinski tretiranom soku od breskve (90 °C, 1 minuta) tijekom skladištenja pri 4 °C. Međutim, ANOVA je pokazala da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na pH vrijednost. U pastereziranom soku od mombinske šljive (90 °C, 10 minuta) također nije zabilježena značajna promjena °Brix-a i pH vrijednosti nakon toplinskog tretmana (Oladunjoye i sur., 2021).

Kao i u ranije opisanim uzorcima sosa i soka od rajčice, vrijednost električne vodljivosti se osjetno smanjila nakon toplinskog tretmana u svim uzorcima soka od rajčice. Međutim, tlak

homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na električnu vodljivost. Isto tako, električna vodljivost nastavlja opadati tijekom skladištenja za uzorak TJ1, dok uzorak TJ2 pokazuje blagi porast električne vodljivosti.

Koncentracija ukupnih fenola u toplinski tretiranim uzorcima soka od rajčice ne prati određen trend. U uzorku TJ1 0.dan došlo je do porasta koncentracije ukupnih fenola u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok je pad koncentracije zabilježen u uzorku TJ2 0.dan. Toplinski tretirani sok od breskve također pokazuje blagi porast ukupnih fenola nakon tretmana (Sattar i sur., 2020), a u pasteriziranom soku od mombinske šljive autori su utvrdili pad vrijednosti (Oladunjoye i sur., 2021). Isti autori su prijavili kontinuirani pad koncentracije ukupnih fenola tijekom 30 dana skladištenja pri 4 °C, dok je u ovom istraživanju nakon 7 dana skladištenja u oba uzorka izmjeren porast koncentracije ukupnih fenola. Statistička obrada podataka je pokazala da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na sadržaj ukupnih fenola.

Došlo je do smanjenja antioksidacijske aktivnosti u uzorku TJ1 0.dan nakon toplinskog tretmana u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, a u uzorku TJ2 0.dan izmjeren je porast. Rezultati uzorka TJ1 0.dan podudaraju se s rezultatima autora Oladunjoye i sur. (2021) koji su zabilježili pad antioksidacijske vrijednosti za pasterizirani sok od mombinske šljive. Skladištenje u trajanju od 7 dana rezultiralo je smanjenjem antioksidacijske aktivnosti za oba uzorka. Dobiveni rezultati su u skladu s istraživanjima antioksidacijske aktivnosti tijekom skladištenja toplinski tretiranog soka od breskve (Sattar i sur., 2020), soka od baobaba (Tembo i sur., 2017) i soka od Roselle-manga (Mgaya-Kilima i sur., 2015). ANOVA-om je utvrđeno da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja imaju statistički neznačajan utjecaj na antioksidacijsku aktivnost.

Koncentracija likopena pokazuje pad vrijednosti za toplinski tretiran TJ1 0.dan odnosno porast za toplinski tretiran TJ2 0.dan. Nakon 7 dana skladištenja, vrijednosti koncentracije likopena opadaju za oba tretirana uzorka. Što se tiče koncentracije  $\beta$ -karotena, ona je negativna za sve uzorke. Objašnjenje dobivenih rezultata navedeno je u potpoglavlju 4.1.1.1. Koncentracije klorofila *a* i klorofila *b* prate jednak trend nakon toplinskog tretmana pri 60 °C u trajanju od 3 minute i nakon sedmodnevnog skladištenja. Vrijednosti klorofila *a* i *b* rastu nakon toplinskog tretmana za oba uzorka te ih karakterizira pad vrijednosti nakon 7 dana skladištenja. Tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na koncentracije pigmenta.

Uzorak TJ1 0.dan pokazuju najveću vrijednost koncentracije ukupnih fenola ( $0,015 \pm 0,001$ ), dok najveću vrijednost antioksidacijske aktivnosti ( $30,348 \pm 2,127$ ) pokazuje uzorak TJ2 0.dan. Najveću koncentraciju likopena ( $0,044 \pm 0,000$ ), klorofila *a* ( $0,104 \pm 0,000$ ) i klorofila *b* ( $0,151 \pm 0,000$ ) ima uzorak TJ2 0.dan.

#### 4.1.3. Utjecaj *hot break* tretmana na rezultate parametara

##### 4.1.3.1. Utjecaj *hot break* tretmana na uzorke sosa od rajčice

U Tablici 9. prikazani su rezultati mjerenja pH vrijednosti, stupnjeva Brix-a, električne vodljivosti, koncentracije ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije likopena,  $\beta$ -karotena, klorofila *a* te klorofila *b* za uzorke sosa od rajčice koji su tretirani *hot break* tretmanom u odnosu na pripadajuće netretirane uzorke. Prikazani rezultati su mjereni na dan pripreme i nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 9.** Rezultati mjerenja fizikalnih parametara, ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenata na nulti i sedmi dan skladištenja za uzorke sosa od rajčice tretiranim *hot break* tretmanom (HBS1, HBS2) u odnosu na netretirane uzorke (CS1, CS2)

Uzorak	°Brix-a	pH	G (mS/cm)	UF (mg EGK/mL)	AA ( $\mu$ mol ET/L)	Likopen (mg/100 mL)	$\beta$ -karoten (mg/100 mL)	Klorofil <i>a</i> (mg/100 mL)	Klorofil <i>b</i> (mg/100 mL)
CS1 0.dan	14	4,023	12,33	$0,014 \pm 0,000$	$37,754 \pm 0,122$	$0,018 \pm 0,001$	$-0,074 \pm 0,000$	$0,064 \pm 0,002$	$0,087 \pm 0,003$
HBS1 0.dan	12,9	4,01	2,297	$0,013 \pm 0,001$	$45,759 \pm 1,661$	$0,041 \pm 0,000$	$-0,064 \pm 0,000$	$0,065 \pm 0,000$	$0,088 \pm 0,000$
CS2 0.dan	14,2	4,009	18,84	$0,023 \pm 0,001$	$52,804 \pm 1,953$	$0,031 \pm 0,000$	$-0,071 \pm 0,000$	$0,065 \pm 0,000$	$0,087 \pm 0,000$
HBS2 0.dan	16,3	4,091	3,834	$0,023 \pm 0,001$	$68,424 \pm 2,166$	$0,032 \pm 0,000$	$-0,069 \pm 0,000$	$0,064 \pm 0,000$	$0,086 \pm 0,000$
CS1 7.dan	14,8	4,069	2,55	$0,016 \pm 0,001$	$24,125 \pm 1,785$	$0,016 \pm 0,000$	$-0,078 \pm 0,000$	$0,067 \pm 0,000$	$0,090 \pm 0,000$
HBS1 7.dan	12,7	4,013	2,574	$0,016 \pm 0,001$	$13,583 \pm 0,163$	$0,023 \pm 0,000$	$-0,071 \pm 0,000$	$0,070 \pm 0,000$	$0,096 \pm 0,001$
CS2 7.dan	15,6	4,034	3,827	$0,025 \pm 0,001$	$33,781 \pm 2,372$	$0,043 \pm 0,000$	$-0,070 \pm 0,000$	$0,065 \pm 0,000$	$0,087 \pm 0,000$
HBS2 7.dan	16,1	3,99	3,878	$0,028 \pm 0,001$	$32,046 \pm 0,639$	$0,024 \pm 0,000$	$0,071 \pm 0,000$	$0,062 \pm 0,000$	$0,084 \pm 0,000$

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox

Uzorak HBS1 0.dan, koji je homogeniziran pri 500 bara, pokazuje smanjenje °Brix-a u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok HBS2 0.dan, koji je homogeniziran pri 1000 bara, pokazuje porast °Brix-a u odnosu na kontrolni uzorak. Isti trend je zabilježen kod uzoraka sosa od rajčice koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta i toplinskim tretmanom. Hassen i sur. (2019) su prijavili izraženi porast stupnjeva Brix-a nakon *hot break* tretmana pri čemu je tretman imao statistički značajan utjecaj na vrijednost stupnjeva Brix-a. Koh i sur. (2011) su također zabilježili porast stupnjeva Brix-a u pasti od rajčice nakon *hot break* (93 °C, 5-10 minuta) tretmana. Nakon 7 dana skladištenja, vrijednost °Brix-a povećala se za uzorak HBS1, a za uzorak HBS2 se smanjila. Statistička obrada podataka ANOVA pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja imaju statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) na vrijednost °Brix-a. Što se tiče pH vrijednosti, nakon tretmana došlo je do njenog smanjenja u uzorku HBS1 0.dan, dok je povećanje zabilježeno u uzorku HBS2 0.dan. U uzorku HBS1 došlo je do povećanja pH vrijednosti tijekom 7 dana skladištenja, a u uzorku HBS2 došlo je do smanjenja. ANOVA je pokazala da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj ( $p > 0,05$ ) na pH vrijednost. Hassen i sur. (2019) su također zabilježili smanjenje pH vrijednosti u uzorku paste od rajčice koji je tretiran *hot break*-om (90 °C, 7 minuta) pri čemu tretman nije imao statistički značajan utjecaj na pH vrijednost.

Nakon *hot break* tretmana, električna vodljivost uzoraka HBS1 0.dan i HBS2 0.dan značajno se smanjila u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak pri čemu veće smanjenje pokazuje HBS1 0.dan i ono iznosi 81,37 %. Nakon 7 dana skladištenja, zabilježen je blagi porast vrijednosti električne vodljivosti za HBS1 i HBS2. Obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan ( $p > 0,05$ ) utjecaj na rezultat električne vodljivosti u uzorcima sosa od rajčice tretiranim *hot break*-om.

Koncentraciju ukupnih fenola karakterizira blagi pad vrijednosti za uzorak HBS1 0.dan, dok je koncentracija ostala nepromijenjena za uzorak HBS2 0.dan. Pad vrijednosti ukupnih fenola se može objasniti degradacijom fenolnih spojeva uslijed djelovanja topline i oksidacije (Toydemir i sur., 2022). Nasuprot tomu, Gao i sur. (2021) zaključili su prema rezultatima paste od rajčice tretirane *hot break*-om (pri 90 °C, 10 minuta) da porastom temperature dolazi do pojačanog oslobađanja fenolnih spojeva iz matriksa stanice. Njihov zaključak je u skladu s rezultatima istraživanja utjecaja *hot break* tretmana na pastu od rajčice (Kelebek i sur., 2017). Nadalje, oba tretirana uzorka pokazuju porast koncentracije ukupnih fenola nakon 7 dana skladištenja. Međutim, obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije i

vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan ( $p>0,05$ ) utjecaj na rezultat ukupnih fenola u uzorcima HBS.

Antioksidacijska aktivnost tretiranih uzoraka veća je u odnosu na antioksidacijsku aktivnosti pripadajućih kontrolnih uzoraka. Nasuprot tomu, Koh i sur. (2011) zabilježili su pad antioksidacijske aktivnosti u uzorcima paste od rajčice nakon *hot break* tretmana (93 °C, 5-10 minuta). Oba tretirana uzorka karakterizira pad antioksidacijske aktivnosti nakon 7 dana skladištenja pri čemu je pad izraženiji za uzorak HBS1 i iznosi 70,32 %. Gore spomenuti autori prijavili su jednaka zapažanja za tretiranu pastu od rajčice tijekom 12 mjeseci skladištenja pri sobnoj temperaturi u mraku. Obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije nema statistički značajan utjecaj na antioksidacijsku aktivnost uzoraka sosa od rajčice koji su tretirani *hot break* tretmanom, dok vrijeme skladištenja ima ( $p<0,05$ ).

Koncentraciju likopena karakterizira porast nakon *hot break* tretmana za oba tretirana uzorka. Rezultati rada se ne podudaraju s rezultatima drugih autora (Gao i sur., 2021; Koh i sur., 2011) koji su zabilježili pad koncentracije likopena nakon tretmana *hot break*-om što je objašnjeno oksidacijom ili izomerizacijom likopena. Nadalje, oba tretirana uzorka pokazuju pad koncentracije likopena nakon 7 dana skladištenja što je suprotno od rezultata koji su dobili Koh i sur. (2011) tijekom skladištenja pri sobnoj temperaturi u mraku tijekom 3 mjeseca. Što se tiče koncentracije  $\beta$ -karotena, ona je negativna za sve uzorke. Objašnjenje dobivenih rezultata navedeno je u potpoglavlju 4.1.1.1. Koncentracije klorofila *a* i klorofila *b* prate jednak trend za oba tretirana uzorka. Uzorak HBS1 0.dan karakterizira povećanje koncentracija klorofila u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok uzorak HBS2 0.dan pokazuje pad vrijednosti. Nakon 7 dana skladištenja, zabilježen je porast vrijednosti klorofila za HBS1 te pad vrijednosti klorofila za HBS2. Obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na koncentracije pigmenata u uzorcima sosa od rajčice tretiranim *hot break* tretmanom.

Uzorak HBS2 0.dan pokazuju najveću vrijednost koncentracije ukupnih fenola ( $0,023 \pm 0,001$ ) i najveću vrijednost antioksidacijske aktivnosti ( $68,424 \pm 2,166$ ). Najveću koncentraciju likopena ( $0,041 \pm 0,000$ ), klorofila *a* ( $0,065 \pm 0,000$ ) i klorofila *b* ( $0,088 \pm 0,000$ ) ima uzorak HBS1 0.dan.

#### 4.1.3.2. Utjecaj *hot break* tretmana na uzorke soka od rajčice

U Tablici 10. prikazani su rezultati mjerenja pH vrijednosti, stupnjeva Brix-a, električne vodljivosti, koncentracije ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije likopena,



$\beta$ -karotena, klorofila *a* te klorofila *b* za uzorke soka od rajčice koji su tretirani *hot break* tretmanom u odnosu na pripadajuće netretirane uzorke. Prikazani rezultati su mjereni na dan pripreme i nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 10.** Rezultati mjerenja fizikalnih parametara, ukupnih fenola, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije pigmenata na nulti i sedmi dan skladištenja za uzorke soka od rajčice tretiranima *hot break* tretmanom (HBJ1, HBJ2) u odnosu na netretirane uzorke (CJ1, CJ2)

Uzorak	°Brix-a	pH	G (mS/cm)	UF (mg EGK/mL)	AA ( $\mu$ mol ET/L)	Likopen (mg/100 mL)	$\beta$ -karoten (mg/100 mL)	Klorofil <i>a</i> (mg/100 mL)	Klorofil <i>b</i> (mg/100 mL)
CJ1 0.dan	5,9	3,948	15,62	0,012 $\pm$ 0,001	39,478 $\pm$ 1,627	0,051 $\pm$ 0,000	-0,110 $\pm$ 0,000	0,096 $\pm$ 0,000	0,137 $\pm$ 0,001
HBJ1 0.dan	5,3	4,03	3,42	0,012 $\pm$ 0,000	27,188 $\pm$ 0,092	0,052 $\pm$ 0,000	-0,113 $\pm$ 0,000	0,102 $\pm$ 0,000	0,147 $\pm$ 0,001
CJ2 0.dan	5,9	3,949	14,56	0,015 $\pm$ 0,001	25,513 $\pm$ 0,206	0,043 $\pm$ 0,000	-0,115 $\pm$ 0,001	0,099 $\pm$ 0,000	0,143 $\pm$ 0,001
HBJ2 0.dan	5,7	4,01	3,45	0,012 $\pm$ 0,000	47,749 $\pm$ 1,586	0,039 $\pm$ 0,000	-0,115 $\pm$ 0,000	0,097 $\pm$ 0,000	0,139 $\pm$ 0,000
CJ1 7.dan	6,2	3,983	2,925	0,017 $\pm$ 0,000	25,319 $\pm$ 0,412	0,034 $\pm$ 0,000	-0,098 $\pm$ 0,000	0,085 $\pm$ 0,000	0,122 $\pm$ 0,001
HBJ1 7.dan	6,6	3,994	3,121	0,016 $\pm$ 0,001	12,954 $\pm$ 1,127	0,028 $\pm$ 0,000	-0,073 $\pm$ 0,001	0,067 $\pm$ 0,000	0,090 $\pm$ 0,001
CJ2 7.dan	6,9	3,999	2,92	0,017 $\pm$ 0,001	18,912 $\pm$ 1,526	0,041 $\pm$ 0,000	-0,085 $\pm$ 0,000	0,076 $\pm$ 0,000	0,106 $\pm$ 0,000
HBJ2 7.dan	7,2	4,015	3,317	0,017 $\pm$ 0,000	14,545 $\pm$ 1,191	0,034 $\pm$ 0,000	-0,069 $\pm$ 0,000	0,066 $\pm$ 0,000	0,089 $\pm$ 0,000

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox

Prema rezultatima u Tablici 10., vrijednosti °Brix-a smanjuju se nakon tretmana *hot break*-om što je zabilježeno u oba tretirana uzorka. Veće smanjenje °Brix-a zabilježeno je za uzorak HBJ1 0.dan. Statistička obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije nema statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na vrijednost °Brix-a, dok vrijeme skladištenja ima ( $p<0,05$ ). Nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C, došlo je do povećanja vrijednosti °Brix-a u oba tretirana uzorka. Veći porast vrijednosti °Brix-a zabilježen je u uzorku HBJ1 i iznosi 24,53 %. Oba tretirana uzorka karakterizira povećanje pH vrijednosti u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, u uzorku HBJ1 zabilježeno je smanjenje pH vrijednosti, dok je u uzorku HBJ2 zabilježeno blago povećanje. Međutim,

obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj ( $p > 0,05$ ) na pH vrijednost. Kaur i sur. (2007) prijavili su da nije došlo do značajne promjene vrijednosti °Brix-a i pH vrijednosti nakon *hot break* tretmana (pri 90 °C, 2 minute).

Električna vodljivost se osjetno smanjila u uzorcima soka od rajčice nakon *hot break* tretmana, kao što je zabilježeno i u ranije komentiranim uzorcima. Vrijednost električne vodljivosti nastavlja opadati nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C za oba tretirana uzorka. ANOVA-om je utvrđeno da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj ( $p > 0,05$ ) na rezultate električne vodljivosti.

Koncentracija ukupnih fenola u uzorku HBJ1 0.dan je ostala jednaka u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok je u uzorku HBJ2 0.dan zabilježeno smanjenje koncentracije. Kaur i sur. (2007) su također zabilježili da je koncentracija ukupnih fenola u soku od rajčice ostala gotovo jednaka nakon *hot break* tretmana (pri 90 °C, 2 minute). Isti autori su prijavili da je koncentracija ukupnih fenola ostala jednaka tijekom skladištenja od 6 mjeseci pri 7-10 °C što se razlikuje od rezultata dobivenih u ovom istraživanju. Oba tretirana uzorka pokazuju porast koncentracije ukupnih fenola nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C. Međutim, statistički obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj ( $p > 0,05$ ) na vrijednosti ukupnih fenola.

Uzorak HBJ1 0.dan karakterizira pad antioksidacijske aktivnosti u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak nakon *hot break* tretmana. Za razliku od toga, uzorak HBJ2 0.dan pokazuje povećanje antioksidacijske aktivnosti u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Nakon 7 dana skladištenja, došlo je do osjetnog pada antioksidacijske aktivnosti u oba tretirana uzorka. Dobiveni rezultati se razlikuju od rezultata Kaur i sur. (2007) koji su zabilježili da je antioksidacijska aktivnost soka od rajčice ostala stabilna nakon *hot break* tretmana i skladištenja od 6 mjeseci pri 7-10 °C. ANOVA-om je utvrđeno da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj na vrijednost antioksidacijske aktivnosti.

Izmjerena koncentracija likopena u uzorku HBJ1 0.dan pokazuje blagi porast u odnosu na CJ1 0.dan, a u uzorku HBJ2 0.dan je zabilježen pad koncentracije likopena u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Makroo i sur. (2017) zabilježili su porast koncentracije likopena u uzorcima soka od rajčice koji su tretirani *hot break*-om (pri 90 °C, 5 minuta). Nasuprot tomu, Hsu (2008) je utvrdio blagi, statistički neznačajan pad koncentracije likopena u uzorcima soka

od rajčice tretiranih *hot break*-om (pri 92 °C, 2 minute). Nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, u oba tretirana uzorka je utvrđen pad koncentracije likopena. Obrada podataka ANOVA-om pokazala je da nijedna od dvije ulazne varijable (tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja) nema statistički značajan utjecaj na koncentraciju likopena. Što se tiče koncentracije  $\beta$ -karotena, ona je negativna za sve uzorke. Objašnjenje dobivenih rezultata navedeno je u potpoglavlju 4.1.1.1. Koncentracija klorofila *a* i klorofila *b* prati jednak trend za tretirane uzorke odnosno HBJ1 0.dan karakterizira povećanje koncentracije klorofila *a* i klorofila *b* u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, dok uzorak HBJ2 0.dan karakterizira pad koncentracija. U oba tretirana uzorka je izmjereno smanjenje koncentracije klorofila *a* i klorofila *b* nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C. ANOVA-om je utvrđeno da tlak homogenizacije nema statistički značajan utjecaj na koncentraciju klorofila *a* ili klorofila *b*, a vrijeme skladištenja ima statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) na koncentracije oba klorofila.

Tretirani uzorci imaju jednaku vrijednost koncentracije ukupnih fenola ( $0,012 \pm 0,000$ ). Najveću vrijednost antioksidacijske aktivnosti ( $47,749 \pm 1,586$ ) ima uzorak HBJ2 0.dan. Najveću koncentraciju likopena ( $0,052 \pm 0,000$ ), klorofila *a* ( $0,102 \pm 0,000$ ) i klorofila *b* ( $0,147 \pm 0,001$ ) ima uzorak HBJ1 0.dan.

#### 4.1.4. Usporedba utjecaja provedenih tretmana na rezultate parametara

Na Slici 1. grafički su prikazani rezultati ispitivanih parametara (°Brix, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, klorofila *a* i klorofila *b*) u uzorcima sosa od rajčice (homogenizirani pri 500 ili 1000 bara) koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom ili *hot break* tretmanom pri čemu su parametri izmjereni na nulti dan skladištenja.

Vrijednost °Brix-a u kontrolnim uzorcima sosa od rajčice iznosila je 14,0 odnosno 14,2. Usporedbom izmjerenih vrijednosti °Brix-a u tretiranim uzorcima (Slika 1.) može se zaključiti da uzorci koji su homogenizirani pri 500 bara (US1, US2, TS1, HBS1) pokazuju smanjenje vrijednosti °Brix-a nakon provedenog tretmana, dok uzorci homogenizirani pri 1000 bara (US3, US4, TS2, HBS2) pokazuju povećanje vrijednosti °Brix-a u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Najveće povećanje °Brix-a zabilježeno je za uzorak homogeniziran pri tlaku od 1000 bara i tretiran *hot break*-om, a najmanje smanjenje zabilježeno je u uzorku koji je homogeniziran pri tlaku od 500 bara i tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %.

U kontrolnim uzorcima sosa od rajčice pH vrijednost iznosi 4,023 odnosno 4,009. Izmjerena pH vrijednost tretiranih uzoraka prati jednak trend kao i izmjerene vrijednosti stupnjeva Brix-a. U uzorcima koji su homogenizirani pri 500 bara (US1, US2, TS1, HBS1), zabilježen je pad pH vrijednosti u odnosu na netretirani uzorak, a u uzorcima koji su homogenizirani pri 1000 bara (US3, US4, TS2, HBS2) došlo je do porasta pH vrijednosti (Slika 1.). Uzorak homogeniziran pri tlaku od 1000 bara i tretiran *hot break*-om karakterizira najveće povećanje pH vrijednosti, a najmanje smanjenje pH vrijednosti je zabilježeno u uzorku koji je homogeniziran pri tlaku od 500 bara i tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %. Općenito, niti jedan tretman nije pokazao značajan utjecaj na pH vrijednost.

Električna vodljivost se smanjila u svim tretiranim uzorcima u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak, neovisno o vrsti tretmana i tlaku homogenizacije (Slika 1.). Smanjenje električne vodljivosti za tretirane uzorke iznosi između 79 i 81 %. Ukoliko se usporede uzorci homogenizirani pri 500 bara, vidljivo je da uzorak tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 % pokazuje najmanje smanjenje električne vodljivosti u odnosu na netretirani uzorak. Nadalje, usporedbom uzoraka koji su homogenizirani pri 1000 bara, vidljivo je da uzorak tretiran toplinskim tretmanom pokazuje najmanje smanjenje električne vodljivosti u odnosu na netretirani uzorak. Vrijednosti električne vodljivosti netretiranih uzoraka sosa od rajčice nalaze se u Tablici 5., 7. i 9.

Na Slici 1. vidljivo je da uzorci sosa od rajčice koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta (amplituda 75 i 100 %) i homogenizirani pri 500 bara pokazuju gotovo nepromijenjenu vrijednost koncentracije ukupnih fenola u odnosu na netretirani uzorak. Za razliku od toga, uzorci homogenizirani pri 500 bara i tretirani toplinskim tretmanom odnosno *hot break* tretmanom, pokazuju porast koncentracije ukupnih fenola. U svim tretiranim uzorcima koji su homogenizirani pri 1000 bara, zabilježen je porast koncentracije ukupnih fenola pri čemu je najveći porast zabilježen u uzorku koji je tretiran *hot break*-om. Porast koncentracije ukupnih fenola se može objasniti termičkim efektom odnosno povećanje temperature dovodi do pojačanog oslobađanja fenolnih spojeva iz matriksa stanice, kao što je ranije objašnjeno. Vrijednosti koncentracije ukupnih fenola netretiranih uzoraka sosa od rajčice nalaze se u Tablici 5., 7. i 9.

Antioksidacijska aktivnost prati jednak trend kao i dosad opisani parametri odnosno antioksidacijska aktivnost je generalno veća u uzorcima sosa od rajčice koji su homogenizirani pri 1000 bara u odnosu na one homogenizirane pri 500 bara (Slika 1.). Vrijednosti

antioksidacijske aktivnosti netretiranih uzoraka sosa od rajčice nalaze se u Tablici 5., 7. i 9. Kada se međusobno usporede tretirani uzorci koji su homogenizirani pri 500 bara, uočljivo je da je došlo do pada antioksidacijske aktivnosti u uzorcima US1 i TS1, dok uzorci US2 i HBS1 pokazuju porast. Od uzoraka homogeniziranih pri 1000 bara, jedino uzorak US4 pokazuje smanjenje antioksidacijske aktivnosti. Najveći porast antioksidacijske vrijednosti (31,41 %) i najveća vrijednost općenito, zabilježena je u uzorku koji je homogeniziran pri 1000 bara i tretiran toplinskim tretmanom.

Došlo je do porasta koncentracije likopena u svim tretiranim uzorcima (Slika 1.). Najveće povećanje likopena zabilježeno je u uzorku homogeniziranom pri 500 bara i tretiranom *hot break* tretmanom. Povećanje likopena se može objasniti puknućem stanične membrane i slabljenjem veza između likopena i matriksa te *cis*-izomerizacijom likopena, kao što je ranije navedeno. Koncentracija likopena tretiranih uzoraka korištena je kao referent prilikom optimizacije parametara ultrazvuka visokog intenziteta. Prema tomu, najveću koncentraciju likopena od uzoraka sosa od rajčice koji su tretirani ultrazvukom, ima uzorak homogeniziran pri 1000 bara i tretiran pri amplitudi od 100 %. Statistička obrada podataka MANOVA-om potvrdila je da se optimalna vrijednost likopena postiže pri opisanim parametrima. Vrijednosti koncentracije likopena netretiranih uzoraka sosa od rajčice nalaze se u Tablici 5., 7. i 9.

Koncentracija klorofila *a* u tretiranim uzorcima sosa od rajčice ostala je nepromijenjena u odnosu na netretirane uzorke odnosno tlak homogenizacije i parametri te vrsta tretmana nisu osjetno smanjili ili povećali njenu vrijednost (Slika 1.). Što se tiče koncentracije klorofila *b*, vidljivo je da je ostala gotovo nepromijenjena u svim tretiranim uzorcima osim u uzorcima koji su tretirani toplinskim tretmanom. U uzorcima TS1 i TS2 zabilježen je pad koncentracije klorofila *b*. Vrijednosti koncentracije klorofila *a* i klorofila *b* netretiranih uzoraka sosa od rajčice nalaze se u Tablici 5., 7. i 9.

Na Slici 2. grafički su prikazani rezultati ispitivanih parametara (°Brix, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, klorofila *a* i klorofila *b*) u uzorcima soka od rajčice (homogenizirani pri 500 ili 1000 bara) koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom ili *hot break* tretmanom pri čemu su parametri izmjereni na nulti dan skladištenja.

Svi tretirani uzorci soka od rajčice pokazuju smanjenje vrijednosti °Brix-a u odnosu na netretirane uzorke (Slika 2.). Najmanje smanjenje zabilježeno je u uzorku homogeniziranom

pri 500 bara i tretiranom ultrazvukom pri amplitudi od 75% te u uzorcima koji su homogenizirani pri 1000 bara pri čemu je jedan tretiran ultrazvukom pri amplitudi od 100 % odnosno tretiran je *hot break*-om. Vrijednosti °Brix-a netretiranih uzoraka soka od rajčice nalaze se u Tablici 6., 8. i 10.

U svim tretiranim uzorcima zabilježen je porast pH vrijednosti u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak s iznimkom uzorka koji je homogeniziran pri 1000 bara i tretiran ultrazvukom pri amplitudi od 100 % (Slika 2.). U Tablici 6., 8. i 10., nalaze se pH vrijednosti netretiranih uzoraka soka od rajčice. Najveći porast pH vrijednosti utvrđen je u uzorcima koji su tretirani *hot break* tretmanom.

Kao i u tretiranim uzorcima sosa od rajčice, u svim tretiranim uzorcima soka od rajčice zabilježen je pad vrijednosti električne vodljivosti u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak (Slika 2.). Vrijednosti električne vodljivosti netretiranih uzoraka soka od rajčice nalaze se u Tablici 6., 8. i 10. Najmanje smanjenje električne vodljivost izmjereno je u uzorcima koji su tretirani *hot break*-om.

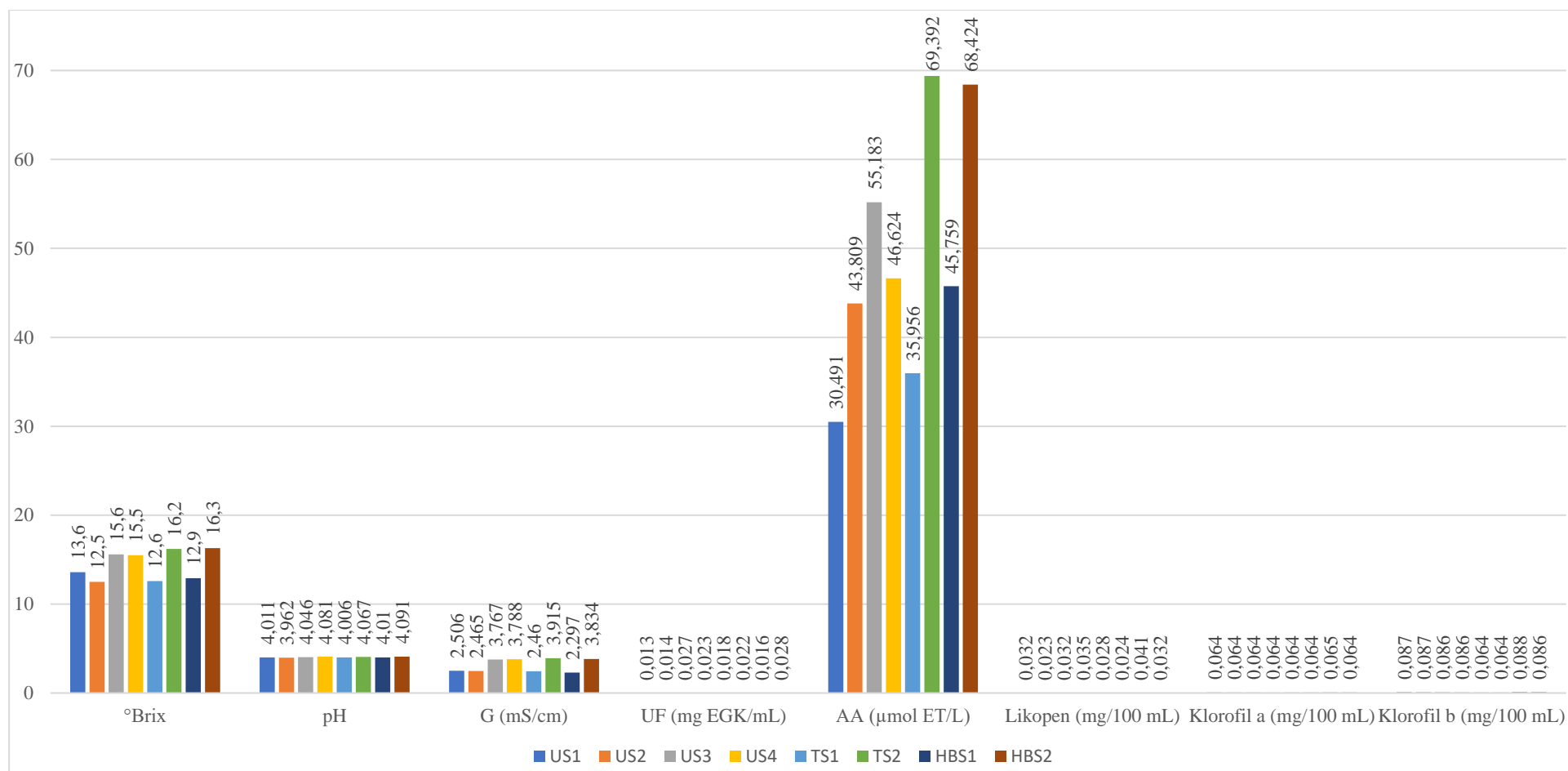
Prema Slici 2., koncentracija ukupnih fenola u uzorcima soka od rajčice koji su homogenizirani pri 500 bara ostala je gotovo nepromijenjena osim u uzorku koji je tretiran toplinskim tretmanom. U uzorku TJ1 došlo je do blagog porasta koncentracije ukupnih fenola u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak. Što se tiče uzoraka koji su homogenizirani pri 1000 bara, u svima je zabilježen pad koncentracije ukupnih fenola osim u uzorku koji je tretiran ultrazvukom pri amplitudi od 100 %. U tom uzorku je koncentracija ukupnih fenola ostala nepromijenjena. Koncentracije ukupnih fenola netretiranih uzoraka soka od rajčice nalaze se u Tablici 6., 8. i 10.

Antioksidacijsku aktivnost karakterizira pad vrijednosti u svim tretiranim uzorcima koji su homogenizirani pri 500 bara pri čemu je najveći pad zabilježen u uzorku koji je tretiran *hot break*-om (Slika 2.). Nasuprot tomu, svi tretirani uzorci koji su homogenizirani pri 1000 bara pokazuju porast antioksidacijske aktivnosti. Najveći porast i općenito najveća vrijednost, izmjerena je u uzorku koji je tretiran ultrazvukom pri amplitudi od 100 % i iznosi 103,21 %. Antioksidacijska aktivnost netretiranih uzoraka soka od rajčice nalaze se u Tablici 6., 8. i 10.

Koncentracija likopena u tretiranim uzorcima ne slijedi određeni trend što je vidljivo na Slici 2. U tretiranim uzorcima koji su homogenizirani pri 500 bara, došlo je do porasta koncentracije likopena u uzorcima UJ2 i HBJ1 te do pada u uzorcima UJ1 i TJ1. Porast vrijednosti je veći u uzorku koji je tretiran ultrazvukom pri amplitudi od 100 % i iznosi 27,45

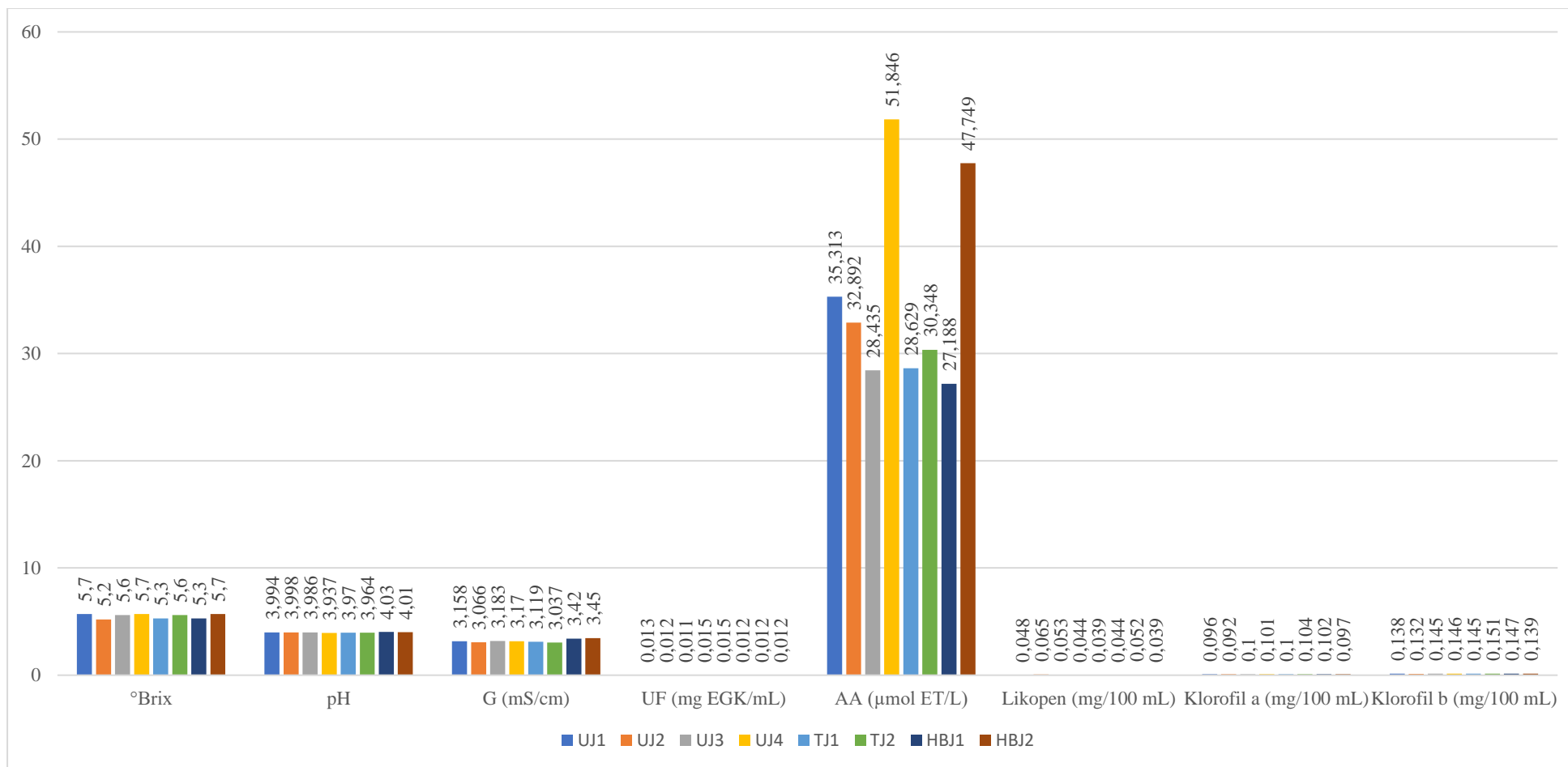
% . Što se tiče uzoraka koji su homogenizirani pri 1000 bara, porast koncentracije likopena zabilježen je u svim tretiranim uzorcima osim uzorka koji je tretiran *hot break*-om. Najveći porast likopena je zabilježen u uzorku koji je tretiran ultrazvukom pri amplitudi od 75 %. Kao što je već spomenuto, koncentracija likopena tretiranih uzoraka korištena je kao referent prilikom optimizacije parametara ultrazvuka visokog intenziteta. Najveća koncentracija likopena u uzorcima soka od rajčice koji su tretirani ultrazvukom, postignuta je u uzorku koji je homogeniziran pri 500 bara i tretiran pri amplitudi od 100 % što je potvrđeno i MANOVA-om. Koncentracija likopena netretiranih uzoraka soka od rajčice nalaze se u Tablici 6., 8. i 10.

Koncentracija klorofila *a* se smanjila ili ostala jednaka u uzorcima koji su tretirani ultrazvukom, a homogenizirani su pri 500 bara (Slika 2.). Nasuprot tomu, uzorci homogenizirani pri 500 bara i tretirani toplinskim tretmanom odnosno *hot break*-om pokazali su povećanje koncentracije klorofila *a* pri čemu je porast veći za uzorak HBJ1. U svim uzorcima koji su homogenizirani pri 1000 bara, došlo je do povećanja koncentracije klorofila *a* s iznimkom uzorka HBJ2. Najveći porast zabilježen je u uzorku koji je tretiran toplinskim tretmanom. Došlo je do povećanja koncentracije klorofila *b* u svim uzorcima koji su homogenizirani pri 500 bara osim u uzorku UJ2. Najveće povećanje zabilježeno je u uzorku koji je tretiran *hot break* tretmanom. Što se tiče uzoraka homogeniziranih pri 1000 bara, porast koncentracije klorofila *b* zabilježen je u svim uzorcima osim u uzorku HBJ2. Najveći porast je izmjeren za uzorak koji je tretiran toplinskim tretmanom. Koncentracija klorofila *a* i klorofila *b* netretiranih uzoraka soka od rajčice nalaze se u Tablici 6., 8. i 10.



**Slika 1.** Grafički prikaz rezultata ispitivanih parametara (°Brix-a, pH vrijednost, G-električna vodljivost, UF-koncentracija ukupnih fenola, AA-antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, klorofila *a* i klorofila *b*) na nulti dan skladištenja u uzorcima sosa od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom koji su homogenizirani pri 500 i 1000 bara





**Slika 2.** Grafički prikaz rezultata ispitivanih parametara (°Brix-a, pH vrijednost, G-električna vodljivost, UF-koncentracija ukupnih fenola, AA-antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, klorofila *a* i klorofila *b*) na nulti dan skladištenja u uzorcima soka od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom i *hot break* tretmanom koji su homogenizirani pri 500 i 1000 bara

## 4.2. REZULTATI MIKROBIOLOŠKE ANALIZE

### 4.2.1. Rezultati mikrobiološke analize nakon ultrazvuka visokog intenziteta

**Tablica 11.** Rezultati mikrobiološke analize na nulti i sedmi dan skladištenja za netretirane uzorke (CS1, CS2) i uzorke sosa od rajčice tretirane ultrazvukom visokog intenziteta (US1, US2, US3, US4)

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)	Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)	Plijesni (CFU/g)	<i>Bacillus coagulans</i> (CFU/g)
CS1 0.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	1,0*10 <sup>2</sup>	<10
US1 0.dan	<10	6,0*10 <sup>2</sup>	20	<10
US2 0.dan	<10	4,0*10 <sup>2</sup>	<10	<10
CS2 0.dan	<10	3,0*10 <sup>4</sup>	1,6*10 <sup>2</sup>	<10
US3 0.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	<10	<10
US4 0.dan	<10	30	<10	<10
CS1 7.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	<10	<10
US1 7.dan	<10	2,0*10 <sup>4</sup>	5,0*10 <sup>2</sup>	<10
US2 7.dan	<10	1,7*10 <sup>3</sup>	<10	<10
CS2 7.dan	<10	2,0*10 <sup>3</sup>	2,0*10 <sup>2</sup>	<10
US3 7.dan	<10	3,0*10 <sup>3</sup>	1,0*10 <sup>2</sup>	<10
US4 7.dan	<10	1,0*10 <sup>2</sup>	30	<10

U Tablici 11. prikazan je broj bakterije *Escherichia coli*, aerobnih mezofilnih bakterija, plijesni i bakterije *Bacillus coagulans* u netretiranim odnosno kontrolnim uzorcima i uzorcima sosa od rajčice koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta. Broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* iznosi manje od 10 CFU/g za sve analizirane uzorke. S obzirom na navedeno, zaključeno je da uzorci nisu bili kontaminirani tim bakterijama prije tretmana ultrazvukom visokog intenziteta. Uzorci US1, US2, US4 pokazuju porast aerobnih mezofilnih bakterija nakon 7 dana što je u skladu s očekivanjima jer rast bakterija nije bio ograničen. Određeni uzorci (CS2, US3) pokazuju smanjenje broja aerobnih mezofilnih bakterija nakon 7 dana (Tablica 11.). MANOVA je pokazala da vrijeme skladištenja nema statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj aerobnih mezofilnih bakterija u sosu od rajčice. Uzorci US1, CS2, US3 i US4 pokazuju porast plijesni nakon 7 dana što je u skladu s očekivanjima jer rast plijesni nije

bio ograničen (Tablica 11.). Uzorak CS1 pokazuje smanjenje broja plijesni nakon 7 dana skladištenja (Tablica 11.). MANOVA je pokazala da vrijeme skladištenja nema statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj plijesni u sosu od rajčice.

**Tablica 12.** Rezultati mikrobiološke analize na nulti i sedmi dan skladištenja za netretirane uzorke (CJ1, CJ2) i uzorke soka od rajčice tretirane ultrazvukom visokog intenziteta (UJ1, UJ2, UJ3, UJ4)

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)	Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)	Plijesni (CFU/g)	<i>Bacillus coagulans</i> (CFU/g)
CJ1 0.dan	<10	$5,0 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^2$	<10
UJ1 0.dan	<10	$6,0 \cdot 10^2$	40	<10
UJ2 0.dan	<10	30	<10	<10
CJ2 0.dan	<10	<10	$1,0 \cdot 10^3$	<10
UJ3 0.dan	<10	90	50	<10
UJ4 0.dan	<10	<10	<10	<10
CJ1 7.dan	<10	$1,0 \cdot 10^4$	$7,0 \cdot 10^2$	<10
UJ1 7.dan	<10	$1,0 \cdot 10^4$	<10	<10
UJ2 7.dan	<10	<10	<10	<10
CJ2 7.dan	<10	$1,0 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^2$	<10
UJ3 7.dan	<10	$1,0 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^2$	<10
UJ4 7.dan	<10	<10	<10	<10

U Tablici 12. prikazan je broj bakterija *Escherichia coli*, aerobnih mezofilnih bakterija, plijesni i bakterije *Bacillus coagulans* u netretiranim uzorcima i uzorcima soka od rajčice koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta. Broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* iznosi manje od 10 CFU/g za analizirane uzorke. Zaključeno je da uzorci nisu bili kontaminirani tim bakterijama prije tretmana ultrazvukom visokog intenziteta. Nakon 7 dana skladištenja, uzorci UJ1, CJ2 i UJ3 pokazuju porast aerobnih mezofilnih bakterija što je u skladu s očekivanjima jer rast bakterija nije bio ograničen, a uzorci CJ1 i UJ2 pokazuju smanjenje broja bakterija (Tablica 12.). MANOVA je pokazala da vrijeme skladištenja nema statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj aerobnih mezofilnih bakterija u soku od rajčice.

Nakon 7 dana skladištenja, uzorci CJ1 i UJ3 pokazuju porast broja plijesni u skladu s očekivanjima. Uzorci UJ1 i CJ2 pokazuju smanjenje broja plijesni nakon 7 dana. MANOVA je pokazala da vrijeme skladištenja nema statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj plijesni u soku od rajčice.

**Tablica 13.** Redukcija aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni na nulti dan skladištenja u uzorcima sosa (US1, US2, US3, US4) i soka od rajčice (UJ1, UJ2, UJ3, UJ4) tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta

Uzorak	Redukcija AMB-a (log CFU/g)	Redukcija plijesni (log CFU/g)	Uzorak	Redukcija AMB-a (log CFU/g)	Redukcija plijesni (log CFU/g)
US1 0.dan	1,22	0,69	UJ1 0.dan	1,92	0,70
US2 0.dan	1,40	1,00	UJ2 0.dan	3,22	1,30
US3 0.dan	0,48	1,00	UJ3 0.dan	*	1,30
US4 0.dan	3,00	1,00	UJ4 0.dan	*	2,00

\*AMB-aerobne mezofilne bakterije; \* -redukciju nije bilo moguće izračunati

U Tablici 13. prikazane su vrijednosti redukcije aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u uzorcima sosa i soka od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta. Uzorak US4 0.dan pokazuje najveću redukciju aerobnih mezofilnih bakterija (3 log CFU/g) u odnosu na njemu pripadajući kontrolni uzorak CS2 0.dan, dok uzorak US3 0.dan pokazuje najmanju redukciju (0,48 log CFU/g). Rezultati u Tablici 13. pokazali su da povećanje amplitude ultrazvuka, za uzorke koji su homogenizirani pri istom tlaku, uzrokuje veću redukciju aerobnih mezofilnih bakterija u soku od rajčice. Navedeno se može objasniti činjenicom da amplituda utječe na intenzitet kavitacije pri čemu direktno utječe na broj nastalih mjehurića (Hosseini i sur., 2015). Nadalje, intenzitet kavitacije znatno utječe na mikroorganizme. Mehanički i termički utjecaj kavitacije su izraženiji pri tretmanu ultrazvukom visokog intenziteta. Djelovanjem ultrazvuka visokog intenziteta nastaju veći mjehurići čija implozija je agresivnija i oslobađa se više energije odnosno veći je prijenos mase. Isto tako, na područjima implozije mjehurića dolazi do stvaranja visokih temperatura. Oslobađanje značajne količine energije i generacija područja visokih temperatura, dovodi do oštećenja stanične membrane mikroorganizama i njihove inaktivacije (Zupanc i sur., 2019). Oladunjoye i sur. (2021) su naveli da niska pH vrijednost soka pojačava učinak kavitacije tijekom tretmana ultrazvukom tako da potiče oslobađanje različitih unutarstaničnih komponenti. Međutim, statistička obrada

podataka MANOVA pokazala je da utjecaj vrijednosti amplitude (75 ili 100 %) i tlak homogenizacije nemaju statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj aerobnih mezofilnih bakterija u sosu od rajčice.

Rezultati u Tablici 13. pokazuju da uzorak US1 0.dan ima najmanju redukciju plijesni (0,69 log CFU/g), dok za ostale uzorke redukcija iznosi minimalno 1 log CFU/g. Kao i kod rezultata za aerobne mezofilne bakterije, povećanjem amplitude dolazi do povećanja redukcije plijesni u uzorcima sosa od rajčice (uzorak US2 0.dan u odnosu na US1 0.dan). Međutim, statistička obrada podataka MANOVA pokazala je da utjecaj vrijednosti amplitude (75 ili 100 %) i tlak homogenizacije nemaju statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj plijesni u sosu od rajčice.

Rezultati u Tablici 13. pokazuju da najveću redukciju aerobnih mezofilnih bakterija, za uzorke soka od rajčice, ima UJ2 0.dan (3,22 log CFU/g). Uzorak UJ1 0.dan ima najmanju redukciju (1,92 log CFU/g). Kao i kod uzoraka sosa od rajčice, s povećanjem amplitude ultrazvuka došlo je do povećanja redukcije aerobnih mezofilnih bakterija. Statistička obrada podataka MANOVA, pokazala je da vrijednost amplitude i tlak homogenizacije nemaju statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj aerobnih mezofilnih bakterija u soku od rajčice. Uzorak UJ3 0.dan pokazuje porast bakterija u odnosu na kontrolni uzorak CJ2 0.dan što je suprotno očekivanjima i može se objasniti predugom manipulacijom uzorka nakon tretmana. Uzorak UJ4 0.dan ima manje od 10 CFU/g kao i kontrolni uzorak zbog čega se ne može izračunati točna vrijednost redukcije odnosno ne može se utvrditi je li došlo do redukcije (Tablica 12.). Prema dobivenim rezultatima, ne može se zaključiti točan utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na aerobne mezofilne bakterije u uzorcima soka od rajčice.

Rezultati u Tablici 13. pokazuju da uzorak UJ1 0.dan ima najmanju redukciju plijesni (0,70 log CFU/g), dok je najveća redukcija zabilježena za uzorak UJ4 0.dan (2,00 log CFU/g). Može se zaključiti da povećanjem amplitude dolazi do povećanja redukcije plijesni u uzorcima soka od rajčice. Statistička obrada podataka MANOVA, pokazala je da vrijednost amplitude i tlak homogenizacije nemaju statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj plijesni u soku od rajčice. Zou i Jiang (2016) utvrdili su da je tretmanom ultrazvukom visokog intenziteta (ultrazvučna kupelj, frekvencija 40 kHz, snaga 0,5 W/cm<sup>2</sup>) postignuta statistički značajna ( $p<0,05$ ) redukcija aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u uzorcima soka od mrkve. Isti autori su zaključili da se inaktivacija mikroorganizama povećava s povećanjem trajanja tretmana ultrazvukom. Navedeno je u skladu s Yamamoto i sur. (2015). Isto tako, Starek i sur.

(2021) zaključili su da je tretman ultrazvukom (28 i 40 W/cm<sup>2</sup>) u trajanju od 2 minute nedovoljan za efektivnu redukciju mikroorganizama u soku od rajčice te da se povećanjem vremena trajanja tretmana povećava redukcija mikroorganizama. Isti autori navode da učinak tretmana ultrazvukom ovisi o vrsti soka koji se tretira te da se inaktivacija mikroorganizama ultrazvukom ostvaruje kombiniranim učinkom mehaničkih (kavitacija) i kemijskih (nastanak slobodnih radikala i vodikovog peroksida) mehanizama.

#### 4.2.2. Rezultati mikrobiološke analize nakon toplinskog tretmana

U Tablici 14. prikazan je broj bakterija *Escherichia coli*, aerobnih mezofilnih bakterija, plijesni i bakterije *Bacillus coagulans* u netretiranim odnosno kontrolnim uzorcima (CS1, CS2) i uzorcima sosa od rajčice koji su tretirani toplinskim tretmanom. Broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* iznosi manje od 10 CFU/g za sve analizirane uzorke. S obzirom na navedeno, zaključeno je da uzorci nisu bili kontaminirani tim bakterijama prije toplinskog tretmana.

**Tablica 14.** Rezultati mikrobiološke analize na nulti i sedmi dan skladištenja za netretirane uzorke (CS1, CS2) i uzorke sosa od rajčice tretirane toplinskim tretmanom (TS1, TS2)

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)	Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)	Plijesni (CFU/g)	<i>Bacillus coagulans</i> (CFU/g)
CS1 0.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	1,0*10 <sup>2</sup>	<10
TS1 0.dan	<10	40	<10	<10
CS2 0.dan	<10	3,0*10 <sup>4</sup>	1,6*10 <sup>2</sup>	<10
TS2 0.dan	<10	<10	<10	<10
CS1 7.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	<10	<10
TS1 7.dan	<10	8,0*10 <sup>2</sup>	<10	<10
CS2 7.dan	<10	2,0*10 <sup>3</sup>	2,0*10 <sup>2</sup>	<10
TS2 7.dan	<10	<10	<10	<10

Uzorak TS1 pokazuje porast broja aerobnih mezofilnih bakterija nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C što je u skladu s očekivanjima. Uzorci CS1 i TS2 nakon 7 dana skladištenja pokazuju jednaku vrijednost aerobnih mezofilnih bakterija. U uzorku CS2 zabilježen je pad broja aerobnih mezofilnih bakterija (Tablica 14.). Obrada podataka ANOVA-om pokazala je da vrijeme skladištenja nema statistički značajan utjecaj na broj aerobnih mezofilnih bakterija.

Nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, u tretiranim uzorcima je izmjeren broj plijesni opet iznosio manje od 10 (Tablica 14.). Uzorak CS1 karakterizira smanjenje broja plijesni nakon skladištenja. U uzorku CS2 došlo je do povećanja broja plijesni što je očekivano s obzirom na to da rast plijesni nije bio ograničen. Utjecaj tlaka homogenizacije i vremena skladištenja na broj plijesni u tretiranim uzorcima sosa od rajčice nije mogao biti utvrđen s obzirom na to da su vrijednosti za sve tretirane uzorke bile jednake odnosno iznosile su manje od 10.

U Tablici 15. prikazan je broj bakterija *Escherichia coli*, aerobnih mezofilnih bakterija, plijesni i bakterije *Bacillus coagulans* u netretiranim odnosno kontrolnim uzorcima i uzorcima soka od rajčice koji su tretirani toplinskim tretmanom. Broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* iznosi manje od 10 CFU/g za sve analizirane uzorke. S obzirom na navedeno, zaključeno je da uzorci nisu bili kontaminirani tim bakterijama prije toplinskog tretmana.

**Tablica 15.** Rezultati mikrobiološke analize na nulti i sedmi dan skladištenja za netretirane uzorke (CJ1, CJ2) i uzorke soka od rajčice tretirane toplinskim tretmanom (TJ1, TJ2)

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)	Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)	Plijesni (CFU/g)	<i>Bacillus coagulans</i> (CFU/g)
CJ1 0.dan	<10	5,0*10 <sup>4</sup>	2,0*10 <sup>2</sup>	<10
TJ1 0.dan	<10	40	<10	<10
CJ2 0.dan	<10	<10	1,0*10 <sup>3</sup>	<10
TJ2 0.dan	<10	6,0*10 <sup>2</sup>	20	<10
CJ1 7.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	7,0*10 <sup>2</sup>	<10
TJ1 7.dan	<10	<10	<10	<10
CJ2 7.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	2,7*10 <sup>2</sup>	<10
TJ2 7.dan	<10	<10	<10	<10

Uzorci CJ1, TJ1 i TJ2 pokazuju smanjenje broja aerobnih mezofilnih bakterija nakon 7 dana skladištenja (Tablica 15.). Uzorak CJ2 pokazuje povećanje broja aerobnih mezofilnih bakterija nakon 7 dana skladištenja što je u skladu s očekivanjima. Obrada podataka ANOVA-om pokazala je da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nemaju statistički značajan utjecaj ( $p>0,05$ ) na broj aerobnih mezofilnih bakterija. U Tablici 15. vidljivo je da je došlo do porasta broja plijesni nakon 7 dana skladištenja u uzorku CJ1. U uzorku TJ1 je opet zabilježen broj plijesni manji od 10, dok je u uzorcima CJ2 i TJ2 utvrđeno smanjenje broja plijesni.

**Tablica 16.** Redukcija aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni na nulti dan skladištenja u uzorcima sosa (TS1, TS2) i soka od rajčice (TJ1, TJ2) tretiranim toplinskim tretmanom

Uzorak	Redukcija AMB-a (log CFU/g)	Redukcija plijesni (log CFU/g)	Uzorak	Redukcija AMB-a (log CFU/g)	Redukcija plijesni (log CFU/g)
TS1 0.dan	2,40	1,00	TJ1 0.dan	3,10	1,30
TS2 0.dan	3,48	1,20	TJ2 0.dan	*	1,70

\*AMB-aerobne mezofilne bakterije; \*-redukciju nije bilo moguće izračunati

Vrijednosti redukcije aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u uzorcima sosa i soka od rajčice tretiranim toplinskim tretmanom prikazane su u Tablici 16. Uzorak TS2 0.dan pokazuje najveću redukciju aerobnih mezofilnih bakterija (3,48 log CFU/g) u odnosu na netretirani uzorak CS2 0.dan. Dobiveni rezultati ukazuju na to da povećanje tlaka homogenizacije dovodi do veće redukcije aerobnih mezofilnih bakterija s obzirom na to da su uzorci tretirani pri jednakim uvjetima. Međutim, statistička obrada podataka ANOVA pokazala je da tlak homogenizacije nema statistički značajan utjecaj ( $p > 0,05$ ) na broj aerobnih mezofilnih bakterija u sosu od rajčice.

U uzorku TS2 0.dan utvrđena je najveća redukcija plijesni (1,20 log CFU/g) u odnosu na netretirani uzorak (Tablica 16.). Kao i kod rezultata aerobnih mezofilnih bakterija, povećanje tlaka homogenizacije dovodi do veće redukcije plijesni s obzirom na to da su uzorci tretirani pri jednakim uvjetima.

Nije moguće odrediti koji od toplinski tretiranih uzoraka soka od rajčice pokazuje veću redukciju aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na pripadajući kontrolni uzorak (Tablica 16.). Razlog tomu je što je broj aerobnih mezofilnih bakterija u tretiranom uzorku TJ2 0.dan veći nego u netretiranom uzorku CJ2 0.dan. Uzrok navedenog porasta bakterija se može objasniti predugom manipulacijom uzorka nakon tretmana.

U Tablici 16. vidljivo je da je u uzorku TJ2 0.dan zabilježena najveća redukcija plijesni (1,70 log CFU/g) u odnosu na kontrolni uzorak CJ2 0.dan. Kao i kod toplinskih tretiranih uzoraka sosa od rajčice, povećanjem tlaka homogenizacije došlo je do povećane redukcije plijesni. Međutim, ANOVA-om je utvrđeno da tlak homogenizacije i vrijeme skladištenja nema statistički značajan utjecaj na broj plijesni u uzorcima soka od rajčice.



#### 4.2.3. Rezultati mikrobiološke analize nakon *hot break* tretmana

U Tablici 17. prikazan je broj bakterija *Escherichia coli*, aerobnih mezofilnih bakterija, plijesni i bakterije *Bacillus coagulans* u netretiranim odnosno kontrolnim uzorcima i uzorcima sosa od rajčice koji su tretirani *hot break* tretmanom. Broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* iznosi manje od 10 CFU/g za sve analizirane uzorke. S obzirom na navedeno, zaključeno je da uzorci nisu bili kontaminirani tim bakterijama prije *hot break* tretmana.

**Tablica 17.** Rezultati mikrobiološke analize na nulti i sedmi dan skladištenja za netretirane uzorke (CS1, CS2) i uzorke sosa od rajčice tretirane *hot break* tretmanom (HBS1, HBS2)

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)	Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)	Plijesni (CFU/g)	<i>Bacillus coagulans</i> (CFU/g)
CS1 0.dan	<10	$1,0 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^2$	<10
HBS1 0.dan	<10	<10	<10	<10
CS2 0.dan	<10	$3,0 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^2$	<10
HBS2 0.dan	<10	<10	<10	<10
CS1 7.dan	<10	$1,0 \cdot 10^4$	<10	<10
HBS1 7.dan	<10	<10	<10	<10
CS2 7.dan	<10	$2,0 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^2$	<10
HBS2 7.dan	<10	<10	<10	<10

Vidljivo je da je nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C broj aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima CS1, HBS1 i HBS2 ostao jednak (Tablica 17.). U uzorku CS2 je zabilježeno smanjenje aerobnih mezofilnih bakterija. Utjecaj tlaka homogenizacije i vremena skladištenja na broj aerobnih mezofilnih bakterija u tretiranim uzorcima sosa od rajčice nije mogao biti utvrđen s obzirom na to da su vrijednosti bile jednake za sve tretirane uzorke odnosno izražene su kao manje od 10. Nakon 7 dana skladištenja, broj plijesni u tretiranim uzorcima je i dalje iznosio manje od 10 (Tablica 17.). U uzorku CS2 zabilježeno je povećanje broja plijesni, u skladu s očekivanjima. U uzorku CS1 utvrđeno je smanjenje broja plijesni.

U Tablici 18. prikazan je broj bakterija *Escherichia coli*, aerobnih mezofilnih bakterija, plijesni i bakterije *Bacillus coagulans* u netretiranim odnosno kontrolnim uzorcima i uzorcima soka od rajčice koji su tretirani *hot break* tretmanom. Broj bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* iznosi manje od 10 CFU/g za sve analizirane uzorke. S obzirom na navedeno, zaključeno je da uzorci nisu bili kontaminirani tim bakterijama prije *hot break* tretmana.

**Tablica 18.** Rezultati mikrobiološke analize na nulti i sedmi dan skladištenja za netretirane uzorke (CJ1, CJ2) i uzorke soka od rajčice tretirane *hot break* tretmanom (HBJ1, HBJ2)

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)	Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)	Plijesni (CFU/g)	<i>Bacillus coagulans</i> (CFU/g)
CJ1 0.dan	<10	5,0*10 <sup>4</sup>	2,0*10 <sup>2</sup>	<10
HBJ1 0.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	1,0*10 <sup>2</sup>	<10
CJ2 0.dan	<10	<10	1,0*10 <sup>3</sup>	<10
HBJ2 0.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	1,0*10 <sup>2</sup>	<10
CJ1 7.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	7,0*10 <sup>2</sup>	<10
HBJ1 7.dan	<10	<10	<10	<10
CJ2 7.dan	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	2,7*10 <sup>2</sup>	<10
HBJ2 7.dan	<10	<10	<10	<10

Nakon 7 dana skladištenja, u uzorcima CJ1, HBJ1 i HBJ2 zabilježeno je smanjenje aerobnih mezofilnih bakterija (Tablica 18.). Obrada podataka ANOVA-om nije bila moguća jer su rezultati bili jednaki odnosno ne postoji varijanca koju je moguće analizirati. Nakon 7 dana skladištenja, uzorci HBJ1, HBJ2 i CJ2 pokazuju smanjenje broja plijesni (Tablica 18.). Ni u ovom slučaju obrada podataka ANOVA-om nije bila izvediva jer su rezultati bili jednaki.

**Tablica 19.** Redukcija aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni na nulti dan skladištenja u uzorcima sosa (HBS1, HBS2) i soka od rajčice (HBJ1, HBJ2) tretiranim *hot break* tretmanom

Uzorak	Redukcija AMB-a (log CFU/g)	Redukcija plijesni (log CFU/g)	Uzorak	Redukcija AMB-a (log CFU/g)	Redukcija plijesni (log CFU/g)
HBS1 0.dan	3,00	1,00	HBJ1 0.dan	0,70	0,30
HBS2 0.dan	3,48	1,20	HBJ2 0.dan	*	1,00

\*AMB-aerobne mezofilne bakterije; \*-redukciju nije bilo moguće izračunati

Vrijednosti redukcije aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u uzorcima sosa i soka od rajčice tretiranim *hot break* tretmanom prikazane su u Tablici 19. Najveća redukcija aerobnih mezofilnih bakterija u uzorku sosa od rajčice tretiranom *hot break*-om, postignuta je u uzorku HBS2 0.dan i iznosi 3,48 log CFU/g. Može se pretpostaviti da je primjena većeg tlaka homogenizacije (1000 bara) rezultirala većom redukcijom.

Najveća redukcija plijesni u uzorcima sosa od rajčice tretiranim *hot break*-om, postignuta je u uzorku HBS2 0.dan i iznosi 1,20 log CFU/g (Tablica 19.). Kao uzrok veće redukcije plijesni u navedenom uzorku, može se navesti veći tlak homogenizacije (1000 bara) u odnosu na uzorak HBS1 0.dan. Utjecaj tlaka homogenizacije i vremena skladištenja na plijesni nije mogao biti utvrđen jer je broj plijesni za sve tretirane uzorke bio jednak odnosno iznosio je manje od 10.

Prema rezultatima navedenima u Tablici 19., ne može se zaključiti koji od dva tretirana uzorka soka od rajčice pokazuje veću redukciju aerobnih mezofilnih bakterija. Uzorak HBJ2 0.dan ima veći broj aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na netretirani uzorak CJ2 0.dan zbog čega bi vrijednost redukcije bila negativna, što je vidljivo u Tablici 18. Razlog tomu može biti preduga manipulacija uzorkom HBJ2 0.dan nakon tretmana.

Što se tiče redukcije plijesni, zabilježen je jednak trend kao i kod prethodno analiziranih uzoraka. Uzorak HBJ2 0.dan pokazuje veću redukciju u odnosu na uzorak HBJ1 0.dan i ona iznosi 1,00 log CFU/g (Tablica 19.).

#### 4.2.4. Usporedba utjecaja provedenih tretmana na rezultate mikrobioloških analiza

U Prilogu 9. i 10. prikazani su kontrolni uzorci i tretirani uzorci sosa od rajčice koji su homogenizirani pri 500 odnosno 1000 bara, a tretirani su ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom pri 60 °C ili *hot break* tretmanom.

Usporedbom vrijednosti redukcije aerobnih mezofilnih bakterija koje su dane u Tablici 13., 16. i 19., vidljivo je da je najveća redukcija (3,48 log CFU/mL) postignuta u uzorku sosa koji je homogeniziran pri 1000 bara i tretiran *hot break* tretmanom i u uzorku koji je homogeniziran pri 1000 bara i tretiran toplinskim tretmanom pri 60 °C. Najmanja redukcija aerobnih mezofilnih bakterija ostvarena je u uzorku koji je homogeniziran pri 1000 bara i tretiran je ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %. Što se tiče uzoraka koji su tretirani ultrazvukom, najveća redukcija postignuta je u uzorku koji je homogeniziran pri 1000 bara i tretiran pri amplitudi od 100 %, a ona iznosi 3,00 log CFU/mL. Vrijednosti redukcije plijesni u uzorcima sosa od rajčice zadane su u Tablici 15., 18. i 21. Prema zadanim podacima, vidljivo je da je najveća redukcija plijesni (1,20 log CFU/mL) postignuta u uzorcima sosa koji su homogenizirani pri 1000 bara i tretirani toplinskim tretmanom pri 60 °C odnosno *hot break* tretmanom. Najmanja redukcija plijesni (0,69 log CFU/mL) je postignuta u uzorku homogeniziranom pri 500 bara i tretiranom ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %.

U Prilogu 11. i 12. prikazani su kontrolni uzorci i tretirani uzorci soka od rajčice koji su homogenizirani pri 500 odnosno 1000 bara, a tretirani su ultrazvukom visokog intenziteta, toplinskim tretmanom pri 60 °C ili *hot break* tretmanom.

U Tablici 13., 16. i 19. navedene su vrijednosti redukcije aerobnih mezofilnih bakterija u tretiranim uzorcima soka od rajčice tijekom nultog dana skladištenja. U uzorku koji je homogeniziran pri 500 bara i tretiran ultrazvukom pri amplitudi od 100 %, postignuta je najveća redukcija (3,22 log CFU/mL). Najmanja redukcija postignuta je u uzorku koji je homogeniziran pri 500 bara i tretiran *hot break*-om (0,70 log CFU/mL). Vrijednosti redukcije plijesni u uzorcima soka od rajčice zadane su u Tablici 13., 16. i 19. Najveća redukcija (2,00 log CFU/mL) ostvarena je u uzorku koji je homogeniziran pri 1000 bara i tretiran ultrazvukom pri amplitudi od 100 %. U uzorku homogeniziranom pri 500 bara i tretiranom *hot break*-om, ostvarena je najmanja redukcija plijesni (0,30 log CFU/mL).

Mikrobiološki kriteriji za hranu navedeni su u Zakonu o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 83/2022). U navedenom zakonu definiran je dozvoljeni broj bakterija *Escherichia coli* i *Salmonella* u nepasteriziranim sokovima od voća i povrća. Ne postoje definirani kriteriji za dozvoljeni broj aerobnih mezofilnih bakterija, plijesni i bakterije *Bacillus coagulans*. Isto tako, ne postoje definirani kriteriji vezani za broj spomenutih mikroorganizama u pasteriziranom sosu i soku od voća i povrća. Granične vrijednosti broja *E. coli* u

nepasteriziranom soku od voća i povrća, prema navedenom zakonu, iznose 100 i 1000 CFU/g. S obzirom na to da je u svim netretiranim i tretiranim uzorcima sosa i soka od rajčice utvrđeno da je broj *E. coli* iznosio manje od 10 CFU/g, zaključeno je da se ova bakterija u uzorcima nalazila u količini koja je ispod granica propisanih zakonom.

### **4.3. REZULTATI STATISTIČKE OBRADJE PODATAKA**

#### 4.3.1. Rezultati statističke obrade podataka za uzorke tretirane ultrazvukom visokog intenziteta

##### *4.3.1.1. Rezultati statističke obrade i optimiranja parametara za uzorke sosa od rajčice*

U Tablici 20. prikazane su *p*-vrijednosti za uzorke sosa od rajčice koji su homogenizirani pri 500 i 1000 bara te tretirani ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi 75 i 100 %. *P*-vrijednost pokazuje utjecaj ulazne varijable (amplituda, tlak homogenizacije, vrijeme skladištenja) i interakcije ulaznih varijabli na izlazne varijable (stupnjevi Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, klorofila *a* i *b* te broja aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni). Utjecaj ulazne varijable ili interakcije istih, smatra se statistički značajnim ukoliko je *p*-vrijednost manja od 0,05 odnosno ako se varijable značajno razlikuju od 0 u intervalu pouzdanosti od 95 %. U Prilogu 1. – 4. nalazi se prikaz Pareto dijagrama, jednadžbe regresije, dijagrama odzivne površine i rezultati optimizacije za izlazne parametre uzoraka sosa od rajčice koji su tretirani ultrazvukom.

**Tablica 20.** Prikaz  $p$  – vrijednosti za uzorke sosa od rajčice koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta

Ulazna varijabla	Izlazna varijabla									
	°Brix-a	pH	G	UF	AA	Likopen	Klorofil a	Klorofil b	TPC	TMC
A:Amplituda	0,5353	0,6363	0,9795	0,7469	0,0341	0,7868	0,0209	0,4482	0,4305	0,3970
B:Tlak homogenizacije	0,1503	0,3675	0,0196	0,1077	0,0094	0,3336	0,0157	0,2932	0,7687	0,5159
C:Vrijeme skladištenja	0,4137	0,4479	0,7542	0,4091	0,0095	0,2150	0,0015	0,0415	0,6813	0,3866
AB	0,9665	0,2952	0,8743	0,7226	0,0143	0,5721	0,0512	0,4102	0,8599	0,4848
AC	0,7753	0,9097	0,8201	0,5000	0,0722	0,4607	0,0407	0,3722	0,7371	0,4078
BC	0,4682	0,1573	0,5301	0,4857	0,0617	0,9888	0,0186	0,6102	0,4704	0,5326

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox; TPC- aerobne mezofilne bakterije; TMC-plijesni

\*\*utjecaj parametra je statistički značajan ako je  $p < 0,05$ ; statistički značajne vrijednosti su označene crveno

#### 4.3.1.2. Rezultati statističke obrade i optimiranja parametara za uzorke soka od rajčice

U Tablici 21. prikazane su  $p$ -vrijednosti za uzorke soka od rajčice koji su homogenizirani pri 500 i 1000 bara te tretirani ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi 75 i 100 %. Kao i kod rezultata statističke obrade podataka za uzorke sosa od rajčice,  $p$ -vrijednost pokazuje utjecaj ulazne varijable i interakcije ulaznih varijabli na izlazne varijable. U Prilogu 5. – 8. nalazi se prikaz Pareto dijagrama, jednadžbe regresije, dijagrama odzivne površine i rezultati optimizacije za izlazne parametre uzoraka soka od rajčice koji su tretirani ultrazvukom.

**Tablica 21.** Prikaz  $p$  – vrijednosti za uzorke soka od rajčice koji su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta

Ulazna varijabla	Izlazna varijabla									
	°Brix-a	pH	G	UF	AA	Likopen	Klorofil a	Klorofil b	TPC	TMC
A:Amplituda	0,9097	0,3173	0,5562	1,0000	0,6541	0,9106	0,2030	0,1767	0,1481	0,3440
B:Tlak homogenizacije	0,3145	0,2810	0,6365	0,6976	0,6431	0,3811	0,3312	0,2816	0,1778	0,4511
C:Vrijeme skladištenja	0,1257	0,5310	0,2180	0,1243	0,2989	0,3232	0,0253	0,0226	0,5159	0,7048
AB	0,6051	0,3813	0,8235	0,3716	0,2776	0,6637	0,3210	0,3107	0,1826	0,4511
AC	0,5000	0,8406	0,2384	0,4278	0,3014	0,7915	0,3595	0,3054	0,4848	0,7048
BC	0,6051	0,4717	0,2228	0,7578	0,5542	0,7236	0,0648	0,0571	0,5326	0,5000

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox; TPC- aerobne mezofilne bakterije; TMC-plijesni

\*\*utjecaj parametra je statistički značajan ako je  $p < 0,05$ ; statistički značajne vrijednosti su označene crveno

#### 4.3.2. Rezultati statističke obrade podataka za uzorke tretirane toplinskim tretmanom

U Tablici 22. prikazane su  $p$ -vrijednosti, dobivene dvosmjernom analizom varijance bez replikacije, za uzorke sosa od rajčice koji su homogenizirani pri 500 odnosno 1000 bara i tretirani toplinskim tretmanom pri 60 °C u trajanju od 3 minute.  $P$ -vrijednost pokazuje ima li tlak homogenizacije ili vrijeme skladištenja statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) na izlazne varijable (stupnjevi Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, klorofila  $a$  i  $b$  te broj aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni).

**Tablica 22.** Prikaz *p*-vrijednosti za uzorke sosa od rajčice koji su tretirani toplinskim tretmanom pri 60 °C

Ulazna varijabla	Izlazna varijabla									
	°Brix-a	pH	G	UF	AA	Likopen	Klorofil a	Klorofil b	TPC	TMC
Tlak homogenizacije	0,0577	0,8157	0,0004	0,2578	0,4654	0,5972	0,5000	0,5000	0,4758	X
Vrijeme skladištenja	0,6257	0,6994	0,0212	0,6257	0,2837	0,8743	0,4097	0,4097	0,5000	X

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox; TPC- aerobne mezofilne bakterije; TMC-plijesni; X-nije moguće odrediti zbog jednakih vrijednosti za sve uzorke

\*\*utjecaj parametra je statistički značajan ako je  $p < 0,05$ ; statistički značajne vrijednosti su označene crveno

*P*-vrijednosti, dobivene dvosmjernom analizom varijance bez replikacije, za uzorke soka od rajčice koji su homogenizirani pri 500 i 1000 bara te su tretirani toplinskim tretmanom pri 60 °C u trajanju od 3 minute prikazane su u Tablici 23. Smatra se da ulazna varijabla ima statistički značajan utjecaj ukoliko je *p*-vrijednost manja od 0,05.

**Tablica 23.** Prikaz *p*-vrijednosti za uzorke soka od rajčice koji su tretirani toplinskim tretmanom pri 60 °C

Ulazna varijabla	Izlazna varijabla									
	°Brix-a	pH	G	UF	AA	Likopen	Klorofil a	Klorofil b	TPC	TMC
Tlak homogenizacije	0,1257	0,7048	0,8075	0,7048	0,4261	0,1051	0,9097	0,9423	0,5000	0,5000
Vrijeme skladištenja	0,0277	0,3743	0,9542	0,3743	0,2752	0,1051	0,0752	0,0734	0,4677	0,5000

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox; TPC- aerobne mezofilne bakterije; TMC-plijesni

\*\*utjecaj parametra je statistički značajan ako je  $p < 0,05$ ; statistički značajne vrijednosti su označene crveno

#### 4.3.3. Rezultati statističke obrade podataka za uzorke tretirane *hot break* tretmanom

U Tablici 24. i 25. prikazane su *p*-vrijednosti, dobivene dvosmjernom analizom varijance bez replikacije, za uzorke sosa odnosno soka od rajčice koji su homogenizirani pri



500 i 1000 bara te su tretirani *hot break* tretmanom. *P*-vrijednost pokazuje ima li tlak homogenizacije ili vrijeme skladištenja statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) na izlazne varijable (stupnjevi Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih fenola, antioksidacijska aktivnost, koncentracija likopena, klorofila *a* i *b* te broj aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni).

**Tablica 24.** Prikaz *p*-vrijednosti za uzorke sosa od rajčice koji su tretirani *hot break* tretmanom

Ulazna varijabla	Izlazna varijabla									
	°Brix-a	pH	G	UF	AA	Likopen	Klorofil <i>a</i>	Klorofil <i>b</i>	TPC	TMC
Tlak homogenizacije	0,00000007891622678	0,6761	0,0521	0,0577	0,0648	0,5704	0,4208	0,3949	X	X
Vrijeme skladištenja	0,0000001342	0,5189	0,3997	0,1560	0,0390	0,2338	0,7422	0,6560	X	X

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox; TPC- aerobne mezofilne bakterije; TMC-plijesni; X-nije moguće odrediti zbog jednakih vrijednosti za sve uzorke

\*\*utjecaj parametra je statistički značajan ako je  $p < 0,05$ ; statistički značajne vrijednosti su označene crveno

**Tablica 25.** Prikaz *p*-vrijednosti za uzorke soka od rajčice koji su tretirani *hot break* tretmanom

Ulazna varijabla	Izlazna varijabla									
	°Brix-a	pH	G	UF	AA	Likopen	Klorofil <i>a</i>	Klorofil <i>b</i>	TPC	TMC
Tlak homogenizacije	0,1257	0,9845	0,4033	0,5000	0,4508	0,7753	0,3743	0,4208	X	X
Vrijeme skladištenja	0,0454	0,5879	0,2336	0,0704	0,2422	0,3692	0,0385	0,0416	X	X

\*G-električna vodljivost; UF-ukupni fenoli; EGK-ekvivalent galne kiseline; AA-antioksidacijska aktivnost; ET-ekvivalent Trolox; TPC- aerobne mezofilne bakterije; TMC-plijesni; X-nije moguće odrediti zbog jednakih vrijednosti za sve uzorke

\*\*utjecaj parametra je statistički značajan ako je  $p < 0,05$ ; statistički značajne vrijednosti su označene crveno

## 5. ZAKLJUČCI

1. Uzorci sosa od rajčice tretirani ultrazvukom, prate jednak trend za sve izlazne parametre, osim za koncentraciju ukupnih fenola koja je ostala gotovo nepromijenjena, kao i uzorci sosa tretirani toplinskim ili *hot break* tretmanom.
2. Ultrazvukom visokog intenziteta ostvareno je najveće povećanje antioksidacijske aktivnosti (103,21 % - tlak homogenizacije 1000 bara, amplituda 100 %) i koncentracije likopena (27,45 % - tlak homogenizacije 500 bara, amplituda 100 %; 23,26 % - tlak homogenizacije 1000 bara, amplituda 75 %) u uzorcima soka u usporedbi s uzorcima tretiranim toplinskim i *hot break* tretmanom. Uzorci soka tretirani ultrazvukom generalno prate jednak trend vrijednosti kao i uzorci tretirani toplinskim i *hot break* tretmanom.
3. Mikrobiološkom analizom je utvrđeno da su bakterije *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* bile prisutne u dozvoljenoj količini. Najveća redukcija aerobnih mezofilnih bakterija i plijesni u uzorcima sosa postignuta je toplinskim i *hot break* tretmanom, dok je u uzorcima soka najveća redukcija ostvarena ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %.
4. Statistička analiza rezultata dobivenih nakon tretmana ultrazvukom, pokazala je da su tlak homogenizacije od 1000 bara i amplituda ultrazvuka od 100 % optimalni parametri za obradu sosa od rajčice, dok su se za sok od rajčice kao optimalni parametri pokazali tlak homogenizacije od 500 bara i amplituda ultrazvuka od 100 % s obzirom na cilj maksimiziranja koncentracije likopena.
5. Za uzorke sosa od rajčice tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, statističkom analizom rezultata utvrđeno je da amplituda ima statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) na antioksidacijsku aktivnost i koncentraciju klorofila *a*. U uzorcima soka nije zabilježen statistički značajan utjecaj amplitude.
6. Utjecaj tlaka homogenizacije pokazao se statistički značajan ( $p < 0,05$ ) na izlazne vrijednosti električne vodljivosti, antioksidacijske aktivnosti i koncentracije klorofila *a* sosa od rajčice tretiranog ultrazvukom, električne vodljivosti sosa od rajčice tretiranog toplinskim tretmanom i stupnjeva Brix-a sosa od rajčice tretiranog *hot break* tretmanom.
7. Statističkom analizom rezultata, utvrđeno je da vrijeme skladištenja ima statistički značajan utjecaj ( $p < 0,05$ ) na izlazne vrijednosti stupnjeva Brix-a sosa tretiranog toplinskim tretmanom te soka tretiranog toplinskim i *hot break* tretmanom; električne vodljivosti sosa tretiranog toplinskim tretmanom; antioksidacijske aktivnosti sosa tretiranog ultrazvukom i *hot break* tretmanom; koncentracije klorofila *a* i *b* sosa i soka tretiranog ultrazvukom te soka tretiranog *hot break* tretmanom.

## 6. LITERATURA

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.

Abbassi N, Talhajt SA, Fadel S, Ahra M (2021) Tomato Pomace Valorization by Oil and Bioactive Compounds Extraction: Case Of Souss-Massa Region. *Am J innov res appl sci* **12**, 211-216.

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>

Ademosun OT, Adebayo AH, Ajanaku KO (2021) Solanum lycopersicum and Daucus carota: effective anticancer agents (a mini review). *J Phys:Conf Ser* **1943**. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1943/1/012169>

Banti M (2020) Review on Electrical Conductivity in Food, the Case in Fruits and Vegetables. *World J Food Sci Technol* **4**, 80-89. <https://doi.org/10.11648/j.wjfst.20200404.11>

Bender C, Graziano S (2015) Evaluation of the antioxidant activity of foods in human cells. *Nutrafoods* **14**, 79-85.

Bishnoi C, Sharma RK, Godara AK, Sharma VK, Kundu SS (2015) Effect of storage temperature and duration on sugar content and sensory acceptability of strawberry pulp. *J Appl Nat Sci* **7**, 745-749. <https://doi.org/10.31018/jans.v7i2.677>

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.

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**, e00152 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00152>

- 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>
- 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>
- Etzbach L, Pfeiffer A, Schieber A, Weber F (2019) Effects of thermal pasteurization and ultrasound treatment on the peroxidase activity, carotenoid composition, and physicochemical properties of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) puree. *LWT - Food Sci Technol* **100**, 69-74. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.032>
- FAOSTAT (2001) Tomato. FAOSTAT – The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database, <https://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/tomato/en/>. Pristupljeno 17. kolovoza 2022.
- 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>. Pristupljeno 17. kolovoza 2022.
- Galani JHY, Patel JS, Patel NJ, Talati JG (2017) Storage of Fruits and Vegetables in Refrigerator Increases their Phenolic Acids but Decreases the Total Phenolics, Anthocyanins and Vitamin C with Subsequent Loss of their Antioxidant Capacity. *Antioxidants* **6**, 59. <https://doi.org/10.3390/antiox6030059>
- 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. <https://doi.org/10.3390/foods10102395>
- Golmohamadi A, Moller G, Powers J, Nindo C (2013) Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrason Sonochem* **20**, 1316-1323. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.020>
- Goodman CL, Fawcett S, Barringer SA (2006) Flavor, Viscosity, and Color Analyses of Hot and Cold Break Tomato Juices. *J Food Sci* **67**, 404-408. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11418.x>
- 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/10.4172/2157-7110.1000795>

- Hosseini S, Gharachorloo M, Ghiassi Tarzi B, Ghavami M, Bakhoda H (2015) Effects of Ultrasound Amplitude on the Physicochemical Properties of Some Edible Oils. *J Am Oil Chem Soc* **92**, 1717-1724. <https://doi.org/10.1007/s11746-015-2733-1>
- Hsu KC (2008) Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. *LWT- Food Sci Technol* **41**, 450-459. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.022>
- Huang X, Liu Q, Yang Y, He WQ (2020) Effect of high pressure homogenization on sugar beet pulp: Rheological and microstructural properties. *LWT - Food Sci Technol* **125**. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109245>
- Icier F, Ilicali C (2005) Temperature dependent electrical conductivities of fruit purees during ohmic heating. *Food Res Int* **38**, 1135-1142. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.04.003>
- Innings F, Alameri M, Koppmaier UH, Hakansson A (2020) A mechanistic investigation of cell breakup in tomato juice homogenization. *J Food Eng* **272**. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109858>
- Jadhav HB, Annapure US, Deshmukh RR (2021) Non-thermal Technologies for Food Processing. *Front Nutr* **8**. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.657090>
- Juraga E, Sobota Šalamon B, Herceg Z, Režek Jambrak A (2011) Application of high intensity ultrasound treatment on *Enterobacteriae* count in milk. *Mljekarstvo* **61**, 125-134
- 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.2017.11.079>
- Kaur C, George B, Deepa N, Jaggi S, Kapoor HC (2007) Viscosity and quality of tomato juice as affected by processing methods. *J Food Qual* **30**, 864-877. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2007.00166.x>
- Kelebek H, Selli S, Kadiroglu P, Kola O, Kesen S, Ucar 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.190>
- Kleinhenz MD, Bumgarner NR (2013) Using °Brix as an Indicator of Vegetable Quality: An Overview of the Practice. Ohio Agricultural Research and Development Center. <https://ohioline.osu.edu/factsheet/HYG1650#:~:text=%C2%B0Brix%20values%20are%20im>

[portant.vegetable%20quality%E2%80%94flavor%20or%20sweetness](#) Pristupljeno 20. kolovoza 2022.

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 Agric* **92**, 23-28. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4580>

Kumar K, Srivastav S, Sharanagat VS (2021) Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrason Sonochem* **70**. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>

Madia VN, De Vita D, Ialongo D, Tudino V, De Leo A, Scipione L i sur. (2021) Recent Advances in Recovery of Lycopene from Tomato Waste: A Potent Antioxidant with Endless Benefits. *Molecules* **26**, 4495. <https://doi.org/10.3390/molecules26154495>

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.12464>

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>

McGlynn W (2016) The Importance of Food pH in Commercial Canning Operations. Oklahoma State University. <https://extension.okstate.edu/fact-sheets/the-importance-of-food-ph-in-commercial-canning-operations.html#top> Pristupljeno 20. kolovoza 2022.

Medina-Torres N, Ayora-Talavera T, Espinosa-Andrews H, Sanchez-Contreras A, Pacheco N (2017) Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy* **7**. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>

Mgaya-Kilima B, Remberg SF, Chove BE, Wicklund T (2015) Physicochemical and antioxidant properties of roselle-mango juice blends; effects of packaging material, storage temperature and time. *Food Sci Nutr* **3**, 100-109.

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

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. *Compr Rev Food Sci Food Saf* **20**, 5097-5144. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12824>
- Obeng FA, Gyasi PB, Olu-Taiwo M, Ayehkumi FP (2018) Microbial Assessment of Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) Sold at Some Central Markets in Ghana. *Biomed Res Int* **2018**, 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.2020.105316>
- Osorio-Arias JC, Vega-Castro O, Martinez-Monteaagudo SI (2021) Fundamentals of High-Pressure Homogenization of Foods. U: Knoerzer K, Muthukumarappan M (ured.) *Innovative Food Processing Technologies*, 3.izd [online], Elsevier Inc., Amsterdam, Nizozemska, str. 244-273. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.23021-7>
- Park MH, Sangwanankul P, Baek DR (2018) Changes in carotenoid and chlorophyll content of black tomatoes (*Lycopersicon esculentum* L.) during storage at various temperatures. *Saudi J Biol Sci* **25**, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.10.002>
- Pattnaik M, Pandey P, Martin GJO, Mishra HN, Ashokkumar M (2021) Innovative Technologies for Extraction and Microencapsulation of Bioactives from Plant-Based Food Waste and Their Applications in Functional Food Development. *Foods* **10**, 279. <https://doi.org/10.3390/foods10020279>
- 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](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_04_48_941.html), Pristupljeno 17. kolovoza 2022.
- 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>



- 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>
- Ruiz-Nieto A, Lopez AJM, Lopez MR, Lopez MJ, Medina JJ, Scheer HAT, Lieten F, Dijkstra J (1997) Analysis of sucrose's from strawberry culti-vars of commercial interest contents evolution. *Acta Horti* **439**, 663-667.
- Rupp R (2015, 09. veljače) Is a Tomato a Fruit? It Depends on How You Slice It. National Geographics. <https://www.nationalgeographic.com/culture/article/fruit-or-vegetable>.  
Pristupljeno 17. kolovoza 2022.
- 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>
- 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>
- Schendel RR (2019) Phenol content in sprouted grains. U: Feng H, Nemzer B, DeVries JW (ured.) *Sprouted Grains: Nutritional Value, Production and Applications*, Elsevier Inc., Amsterdam, Nizozemska, str. 247-315. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00010-5>
- Sharma M, Usmani Z, Gupta VK, Bhat R (2021) Valorization of fruits and vegetable wastes and by-products to produce natural pigments. *Crit Rev Biotechnol* **41**, 535-563. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1873240>
- Shi M, Gu J, Wu H, Rauf A, Emran TB, Khan Z i sur. (2022) Phytochemicals, Nutrition, Metabolism, Bioavailability, and Health Benefits in Lettuce—A Comprehensive Review. *Antioxidants* **11**. <https://doi.org/10.3390/antiox11061158>
- Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* **16**, 144-158.



Sousa C (2022) Anthocyanins, Carotenoids and Chlorophylls in Edible Plant Leaves Unveiled by Tandem Mass Spectrometry. *Foods* **11**. <https://doi.org/10.3390/foods11131924>

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>

Suo G, Zhou C, Su W, Hu X (2022) Effects of ultrasonic treatment on color, carotenoid content, enzyme activity, rheological properties, and microstructure of pumpkin juice during storage. *Ultrason Sonochem* **84**, 105974. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105974>

Tadesse TN, Ibrahim AM, Abteu WG (2015) Degradation and Formation of Fruit Color in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in Response to Storage Temperature. *Am J Food Technol* **10**, 147-157. <https://doi.org/10.3923/ajft.2015.147.157>

Tembo DT, Holmes MJ, Marshall LJ (2017) Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*) pulp from malawi. *J Food Comp Anal* **58**, 40-51.

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>

Toydemir G, Subasi BG, Hall RD, Beekwilder J, Boyacioglu D, Capanoglu E (2022) Effect of food processing on antioxidants, their bioavailability and potential relevance to human health. *Food Chem: X* **14**, 100334. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100334>

Trombino S, Cassano R, Procopio D, Di Gioia M, Barone E (2021) Valorization of Tomato Waste as a Source of Carotenoids. *Molecules* **26**, 5026. <https://doi.org/10.3390/molecules26165062>

Urbonavičiene D, Bobinas Č, Bobinaite R, Raudone L, Trumbeckaite S, Viškelis 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**, 467. <https://doi.org/10.3390/pr9030467t>

USDA (2019) FoodData Central. USDA – United States Department of Agriculture. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170457/nutrients>. Pristupljeno 17. kolovoza 2022.

Van Dyk BN, De Bruin W, Du Plessis EM, Korsten L (2016) Microbiological Food Safety Status of Commercially Produced Tomatoes from Production to Marketing. *J Food Prot* **79**, 392-406. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-300>

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**, 138-151. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab109>

Yamamoto K, King PM, Wu X, Mason TJ, Joyce EM (2015) Effect of ultrasonic frequency and power on the disruption of algal cells. *Ultrason Sonochem* **24**, 165-171. <http://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.11.002>

Zakon (2022) Zakon o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu. Narodne novine 83, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2022\\_07\\_83\\_1248.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2022_07_83_1248.html) Pristupljeno 13.kolovoza 2022.

Zhang H (2007) Electrical properties of foods. U: Barbosa-Canovas GV (ured.) Encyclopedia of Life Support Systems, Eolss Publishers Co Ltd, Oxford, Ujedinjeno Kraljevstvo, str. 115-125.

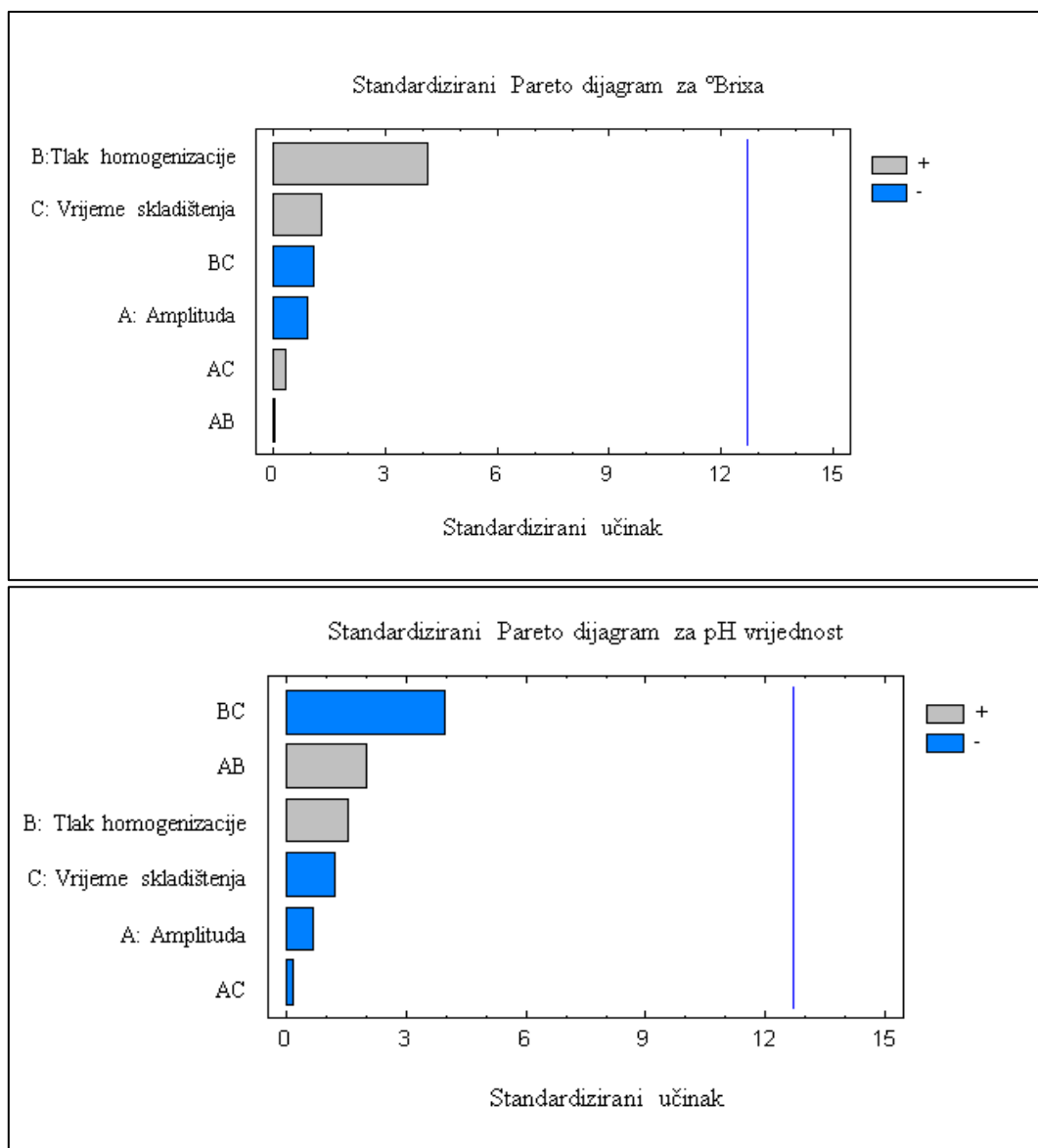
Zhang W, Yu Y, Xie F, Gu X, Wu J, Wang Z (2019) High pressure homogenization versus ultrasound treatment of tomato juice: Effects on stability and in vitro bioaccessibility of carotenoids. *LWT - Food Sci Technol* **116**, 108597. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108597>

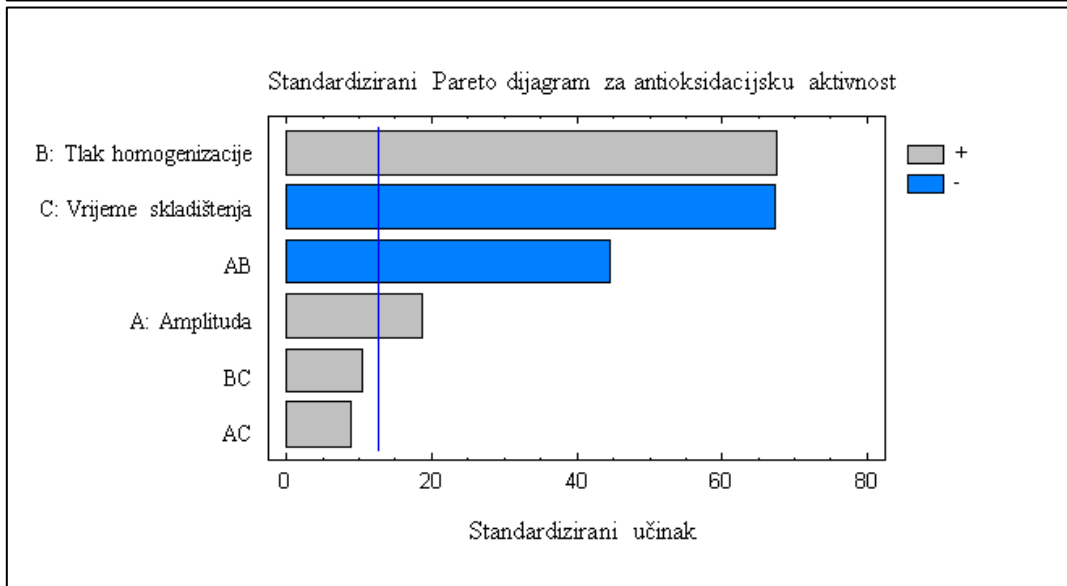
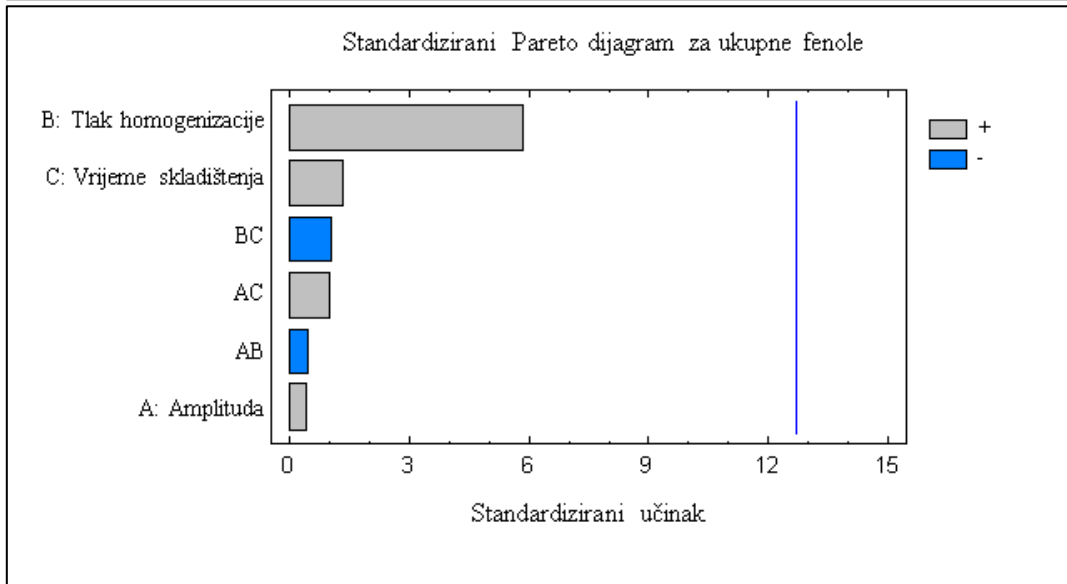
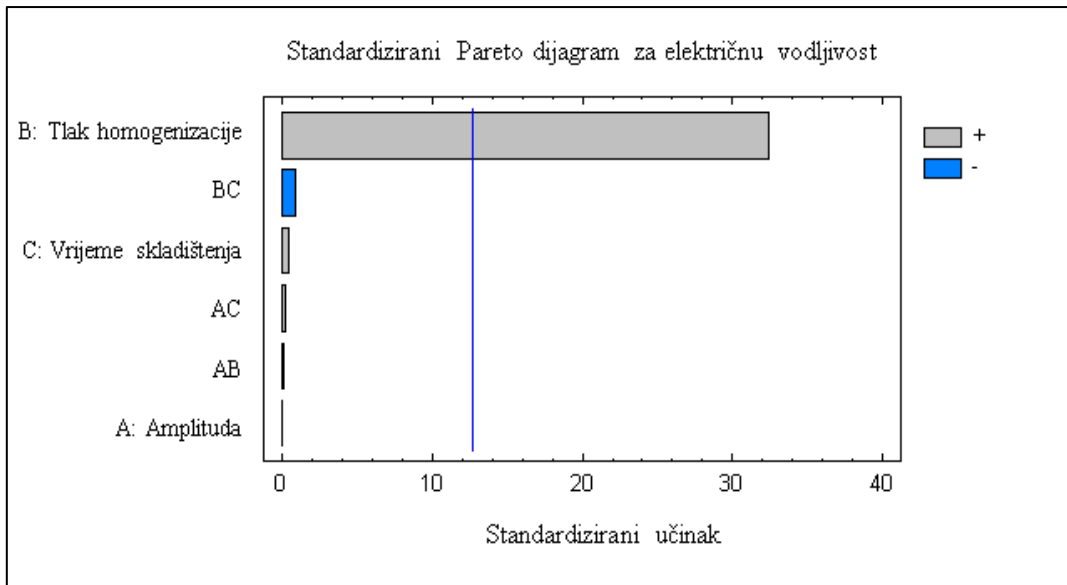
Zou Y, Jiang A (2016) Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Sci Technol* **36**, 111-115. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.0061>

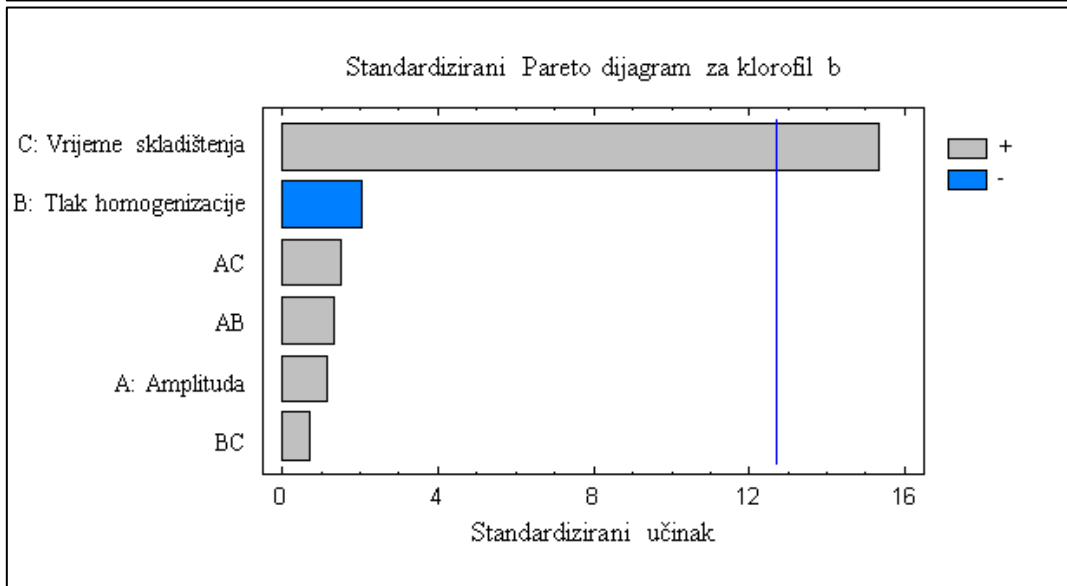
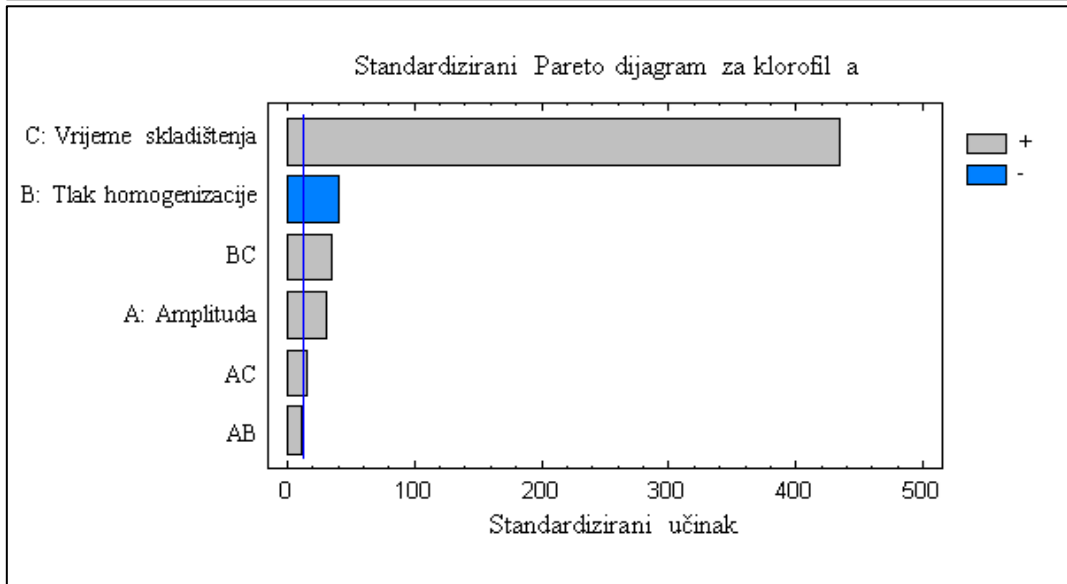
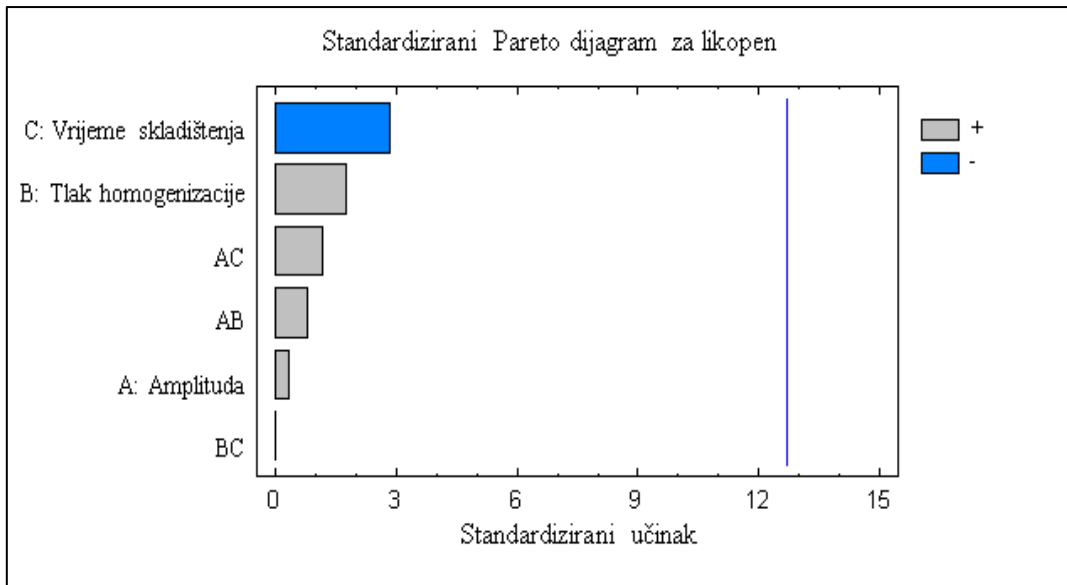
Zupanc M, Pandur Ž, Stepišnik Perdih T, Stopar D, Petkovšek M, Dular M (2019) Effects of cavitation on different microorganisms: The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research. *Ultrason Sonochem* **57**, 147-165. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009>

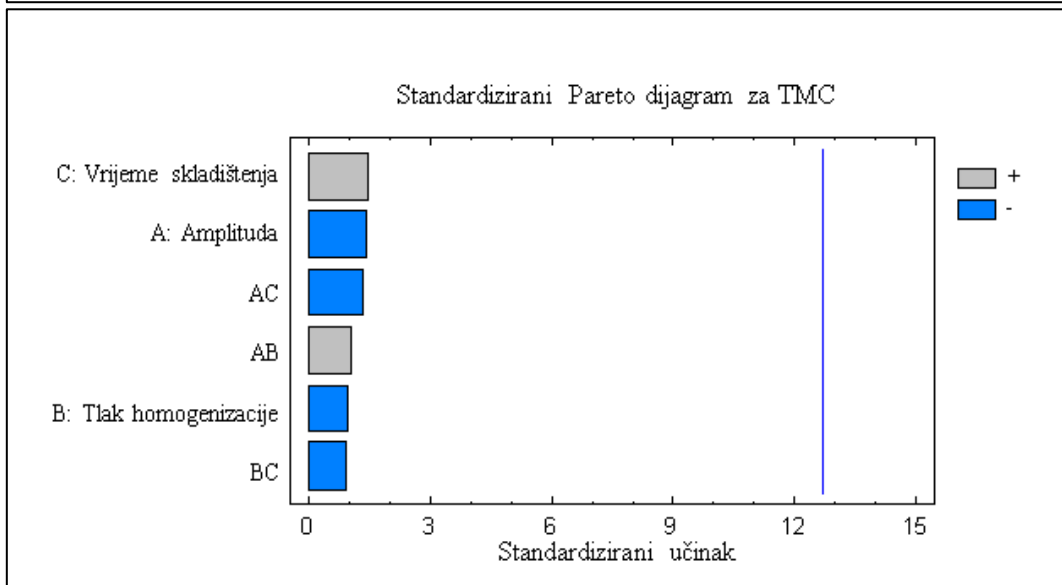
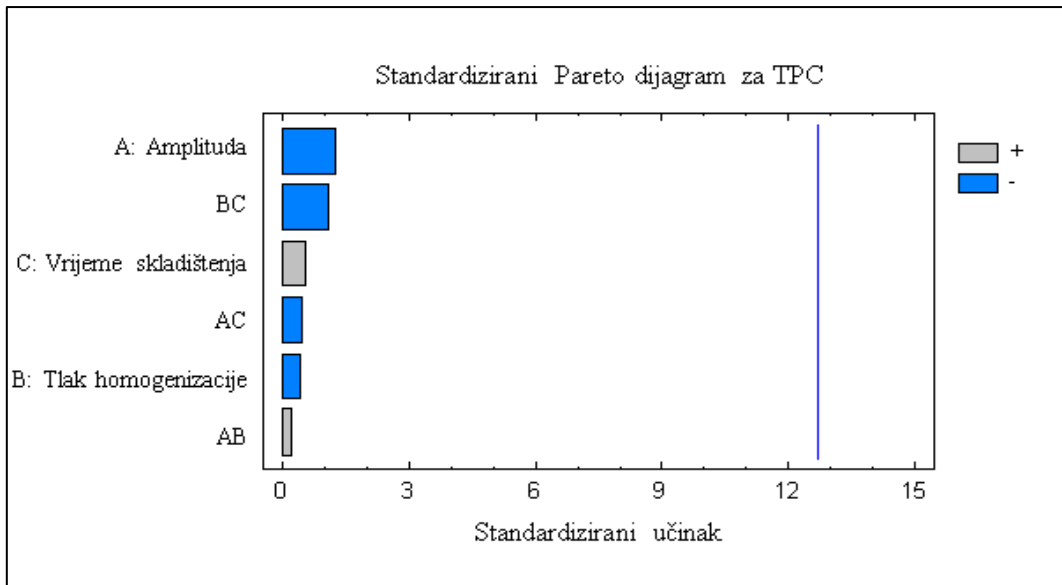
## 7. PRILOZI

**Prilog 1.** Grafički prikaz utjecaja ulaznih varijabli (amplituda, tlak homogenizacije, vrijeme skladištenja) i njihovih interakcija na izlazne varijable (stupnjevi Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, ukupni fenoli, antioksidacijska aktivnost, likopen, klorofil *a*, klorofil *b*, TPC-aerobne mezofilne bakterije, TMC-plijesni) u uzorcima sosa od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta









**Prilog 2.** Jednadžbe regresije za stupnjeve Brix-a, pH vrijednost, G (električna vodljivost), UF (ukupni fenoli), AA (antioksidacijska aktivnost), likopen, klorofil *a*, klorofil *b*, TPC (aerobne mezofilne bakterije) i TMC (plijesni) u uzorcima sosa od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta. A- amplituda ultrazvuka, B – tlak homogenizacije, C – vrijeme skladištenja

$$^{\circ}\text{Brix -a} = 12,9125 - 0,027*A + 0,00465*B + 0,139286*C + 0,000004*A*B + 0,002*A*C - 0,0003*B*C$$

$$\text{pH} = 4,228 - 0,00364*A - 0,000238*B + 0,0234286*C + 0,00000448*A*B - 0,0000228571*A*C - 0,0000317143*B*C$$

$$G = 1,14713 + 0,00053*A + 0,0026925*B + 0,00610714*C - 0,00000124*A*B + 0,000128571*A*C - 0,0000201429*B*C$$

$$UF = -0,00245625 + 0,0000535*A + 0,000033275*B - 0,000591071*C - 1,22E-7*A*B + 0,0000187143*A*C - 9,78571E-7*B*C$$

$$AA = -97,2623 + 1,37896*A + 0,177279*B - 5,48112*C - 0,00171169*A*B + 0,0241209*A*C + 0,00141378*B*C$$

$$\text{Likopen} = 0,0604792 - 0,000446704*A - 0,0000271695*B - 0,00544539*C + 4,48399E-7*A*B + 0,0000455533*A*C + 3,53699E-8*B*C$$

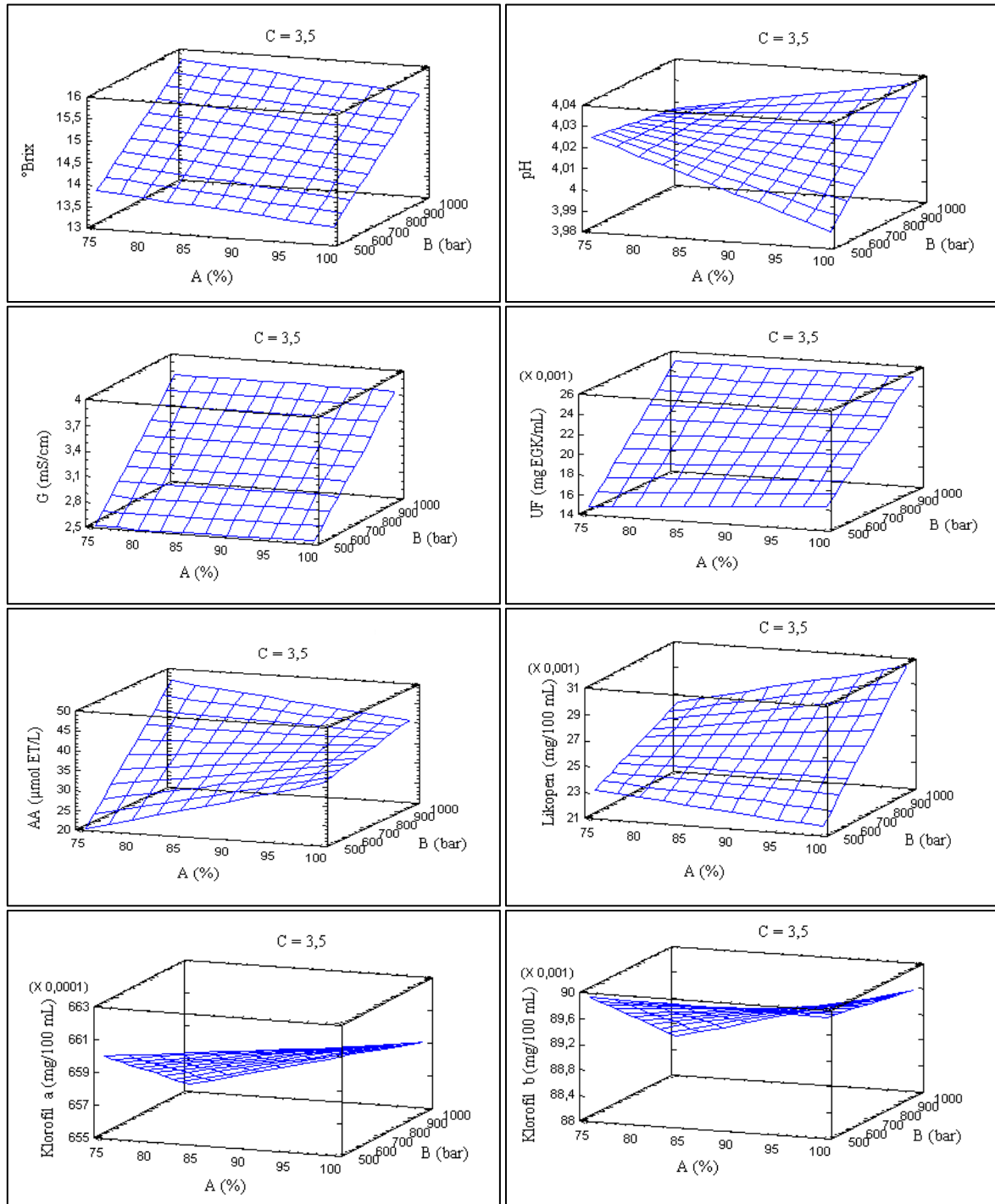
$$\text{Klorofil } a = 0,0656804 - 0,00000747038*A - 0,00000270485*B + 0,000264876*C + 1,65938E-8*A*B + 0,00000149405*A*C + 1,63671E-7*B*C$$

$$\text{Klorofil } b = 0,0939579 - 0,0000667356*A - 0,00000928167*B + 0,000144994*C + 8,21232E-8*A*B + 0,00000665815*A*C + 1,54766E-7*B*C$$

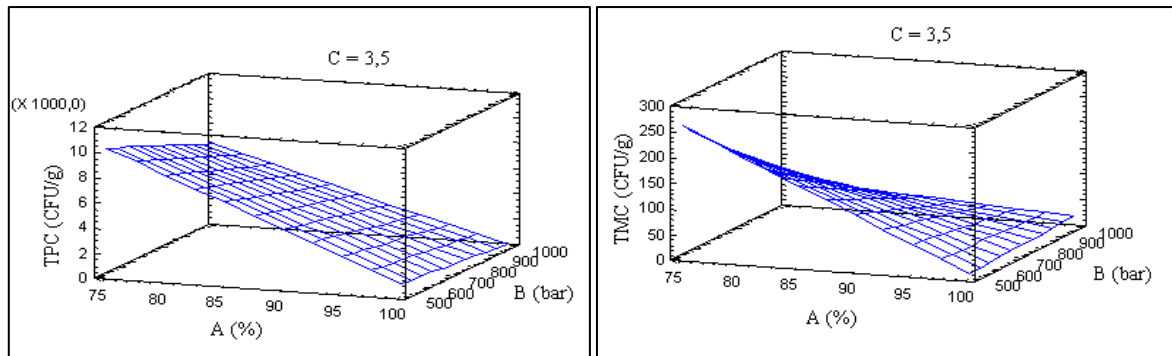
$$TPC = 28561,3 - 372,3*A - 10,675*B + 6209,64*C + 0,2252*A*B - 31,5143*A*C - 3,94714*B*C$$

$$TMC = 1166,25 - 13,1*A - 1,515*B + 198,214*C + 0,0172*A*B - 1,57143*A*C - 0,0528571*B*C$$

**Prilog 3.** Dijagrami odzivne površine za stupnjeve Brix-a, pH vrijednost, G (električna vodljivost), UF (ukupni fenoli), AA (antioksidacijska aktivnost), likopen, klorofil *a*, klorofil *b*, TPC (aerobne mezofilne bakterije) i TMC (plijesni) u uzorcima sosa od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta. A- amplituda ultrazvuka, B – tlak homogenizacije, C – vrijeme skladištenja







**Prilog 4.** Rezultati optimizacije ulaznih varijabli (amplituda ultrazvuka, tlak homogenizacije, vrijeme skladištenja) za optimalne vrijednosti izlaznih varijabli (stupnjevi Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, ukupni fenoli, antioksidacijska aktivnost, likopen, klorofil *a*, klorofil *b*, aerobne mezofilne bakterije i plijesni) u uzorcima sosa od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta

°Brix-a			
Ulazna varijabla	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
Amplituda ultrazvuka	75,0	100,0	75,0
Tlak homogenizacije	500,0	1000,0	1000,0
Vrijeme skladištenja	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 15,8375

pH vrijednost			
Ulazna varijabla	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
Amplituda ultrazvuka	75,0	100,0	100,0
Tlak homogenizacije	500,0	1000,0	1000,0
Vrijeme skladištenja	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 4,074

<b>Električna vodljivost</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	75,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 3,78637 mS/cm

<b>Ukupni fenoli</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	100,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	7,0

Optimalna vrijednost: 0,0260813 mg EGK/mL

<b>Antioksidacijska aktivnost</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	75,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 55,0625  $\mu$ mol ET/L

<b>Likopen</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	100,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 0,0334791 mg/100 mL

<b>Klorofil a</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	100,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	7,0

Optimalna vrijednost: 0,0679335 mg/100 mL

<b>Klorofil b</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	100,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	7,0

Optimalna vrijednost: 0,092974 mg/100 mL

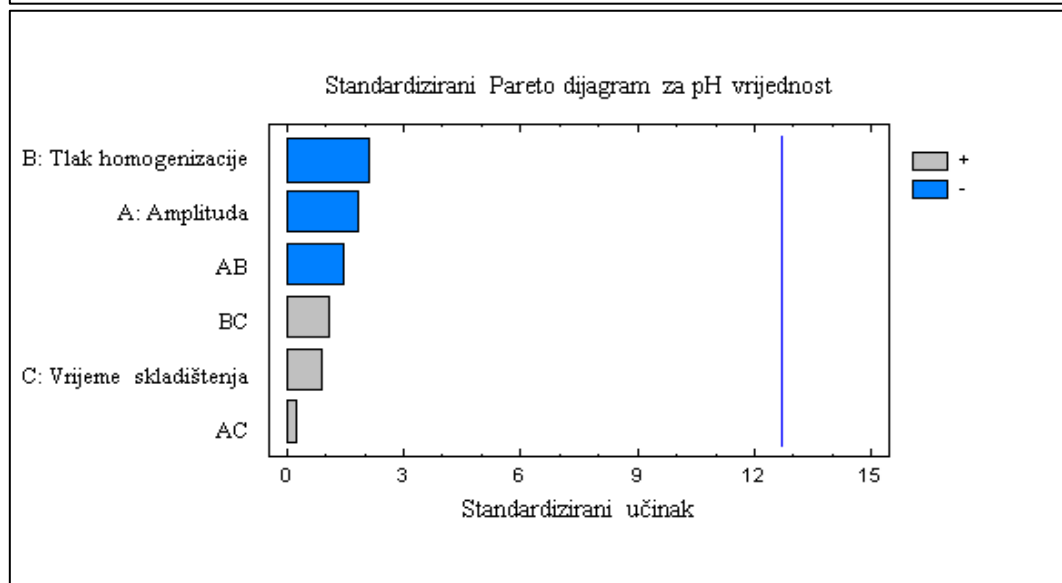
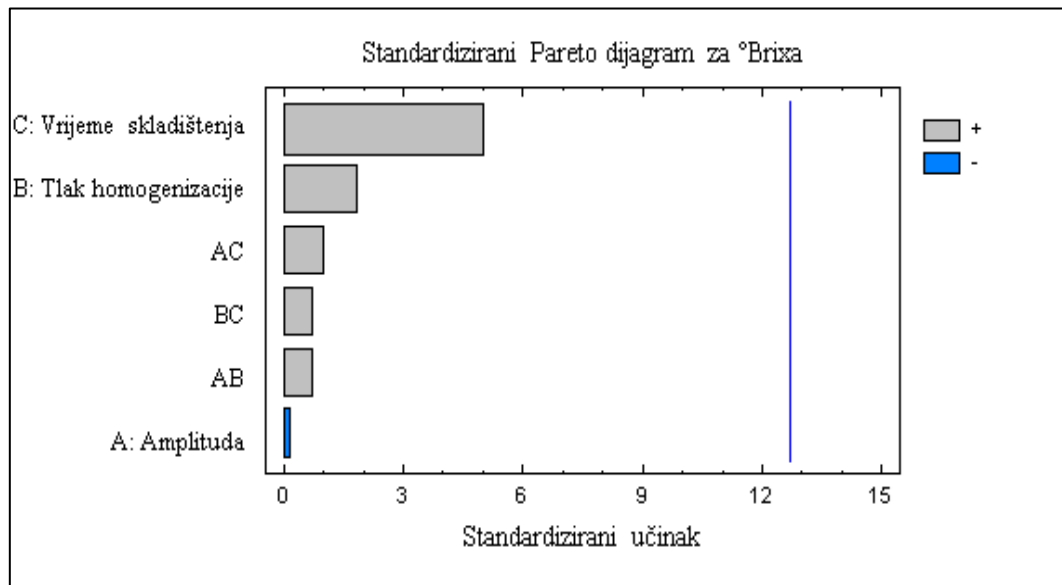
<b>Aerobne mezofilne bakterije</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	75,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	500,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	7,0

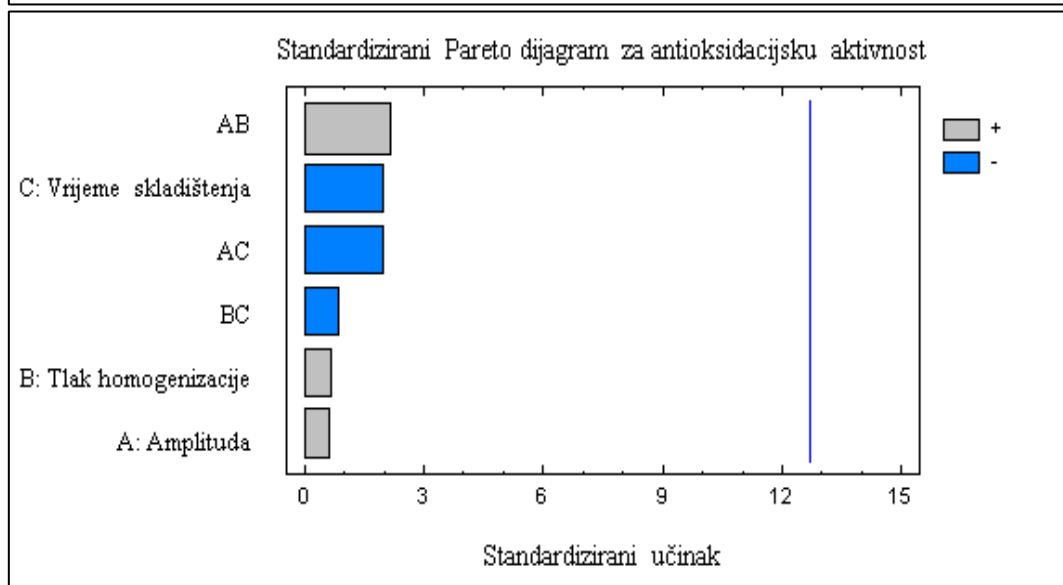
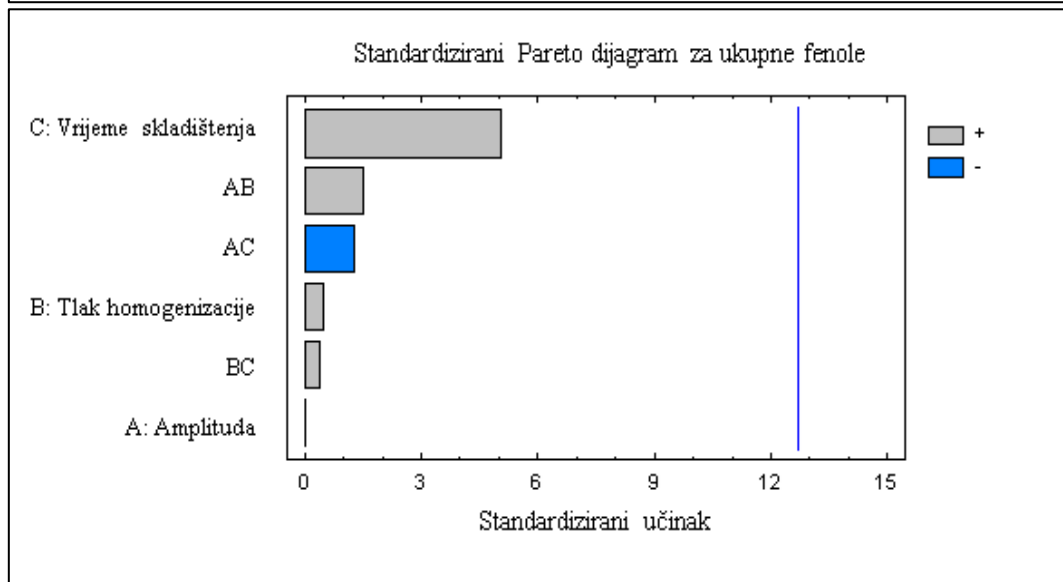
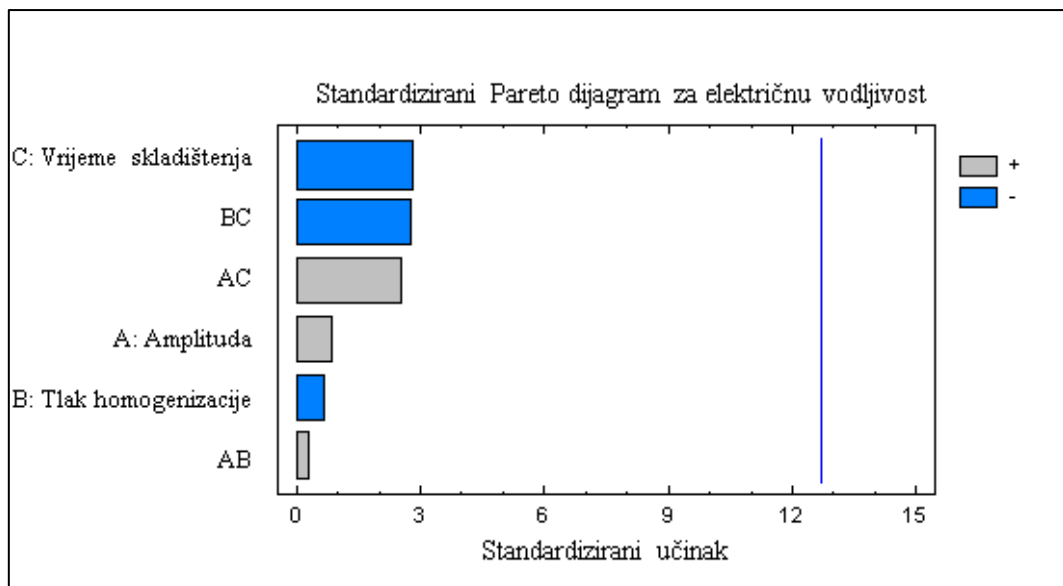
Optimalna vrijednost: 16853,8 CFU/g

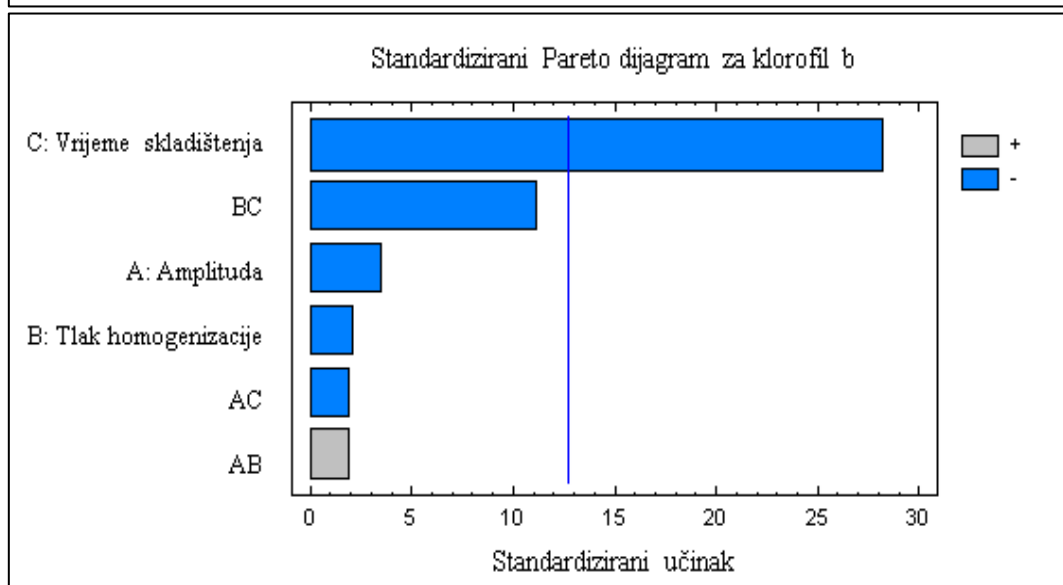
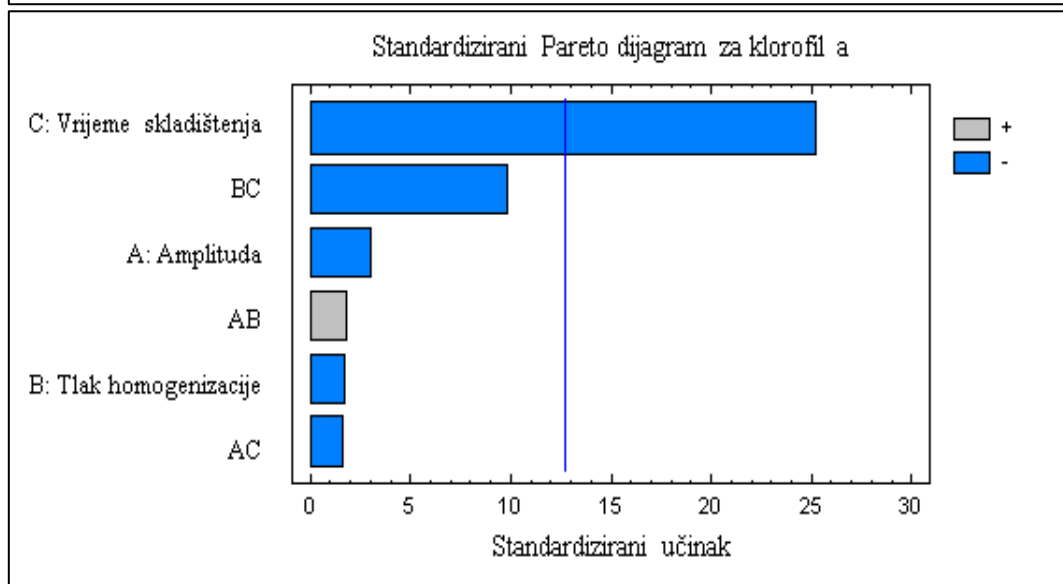
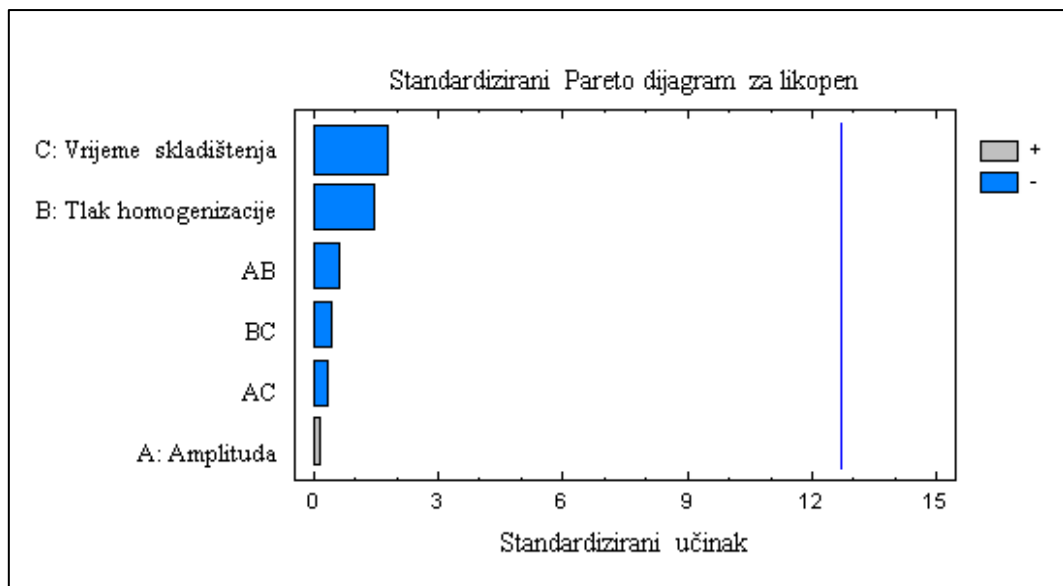
<b>Plijesni</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	75,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	500,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	7,0

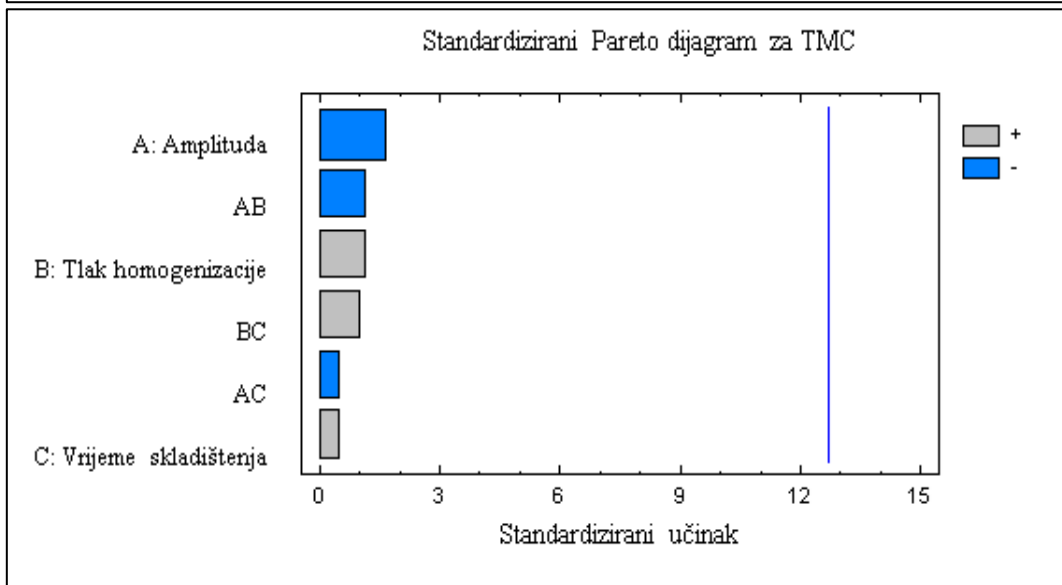
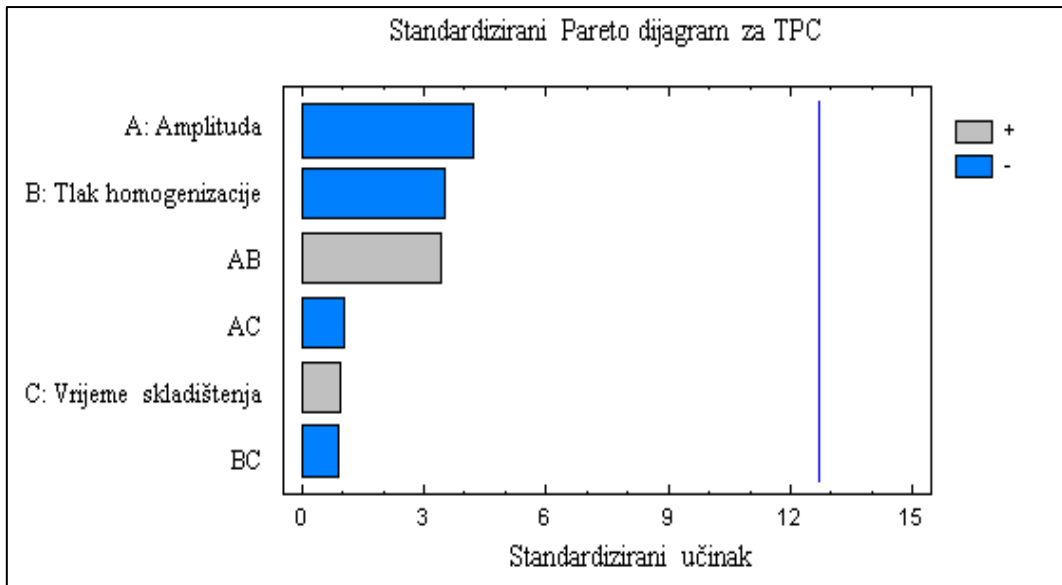
Optimalna vrijednost: 448,75 CFU/g

**Prilog 5.** Grafički prikaz utjecaja ulaznih varijabli (amplituda, tlak homogenizacije, vrijeme skladištenja) i njihovih interakcija na izlazne varijable (stupnjevi Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, ukupni fenoli, antioksidacijska aktivnost, likopen, klorofil *a*, klorofil *b*, TPC-aerobne mezofilne bakterije, TMC-plijesni) u uzorcima soka od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta











**Prilog 6.** Jednadžbe regresije za stupnjeve Brix-a, pH vrijednost, G (električna vodljivost), UF (ukupni fenoli), AA (antioksidacijska aktivnost), likopen, klorofil *a*, klorofil *b*, TPC (aerobne mezofilne bakterije) i TMC (plijesni) u uzorcima soka od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta. A- amplituda ultrazvuka, B – tlak homogenizacije, C – vrijeme skladištenja

$$^{\circ}\text{Brix-a} = 7,2625 - 0,023*A - 0,00135*B - 0,103571*C + 0,00002*A*B + 0,002*A*C + 0,0000714286*B*C$$

$$\text{pH} = 3,94388 + 0,00099*A + 0,0001515*B - 0,00639286*C - 0,00000252*A*B + 0,0000314286*A*C + 0,00000671429*B*C$$

$$G = 3,32313 - 0,00315*A + 0,0000065*B - 0,0544643*C + 0,0000014*A*B + 0,000894286*A*C - 0,0000481429*B*C$$

$$UF = 0,0227125 - 0,000115*A - 0,00001835*B + 0,00158214*C + 2,12E-7*A*B - 0,0000125714*A*C + 2,E-7*B*C$$

$$AA = 83,8447 - 0,637488*A - 0,111273*B + 8,3415*C + 0,0014097*A*B - 0,091594*A*C - 0,00197726*B*C$$

$$\text{Likopen} = 0,000800208 + 0,000730381*A + 0,0000504423*B + 0,00230415*C - 7,63944E-7*A*B - 0,0000317591*A*C - 0,00000216807*B*C$$

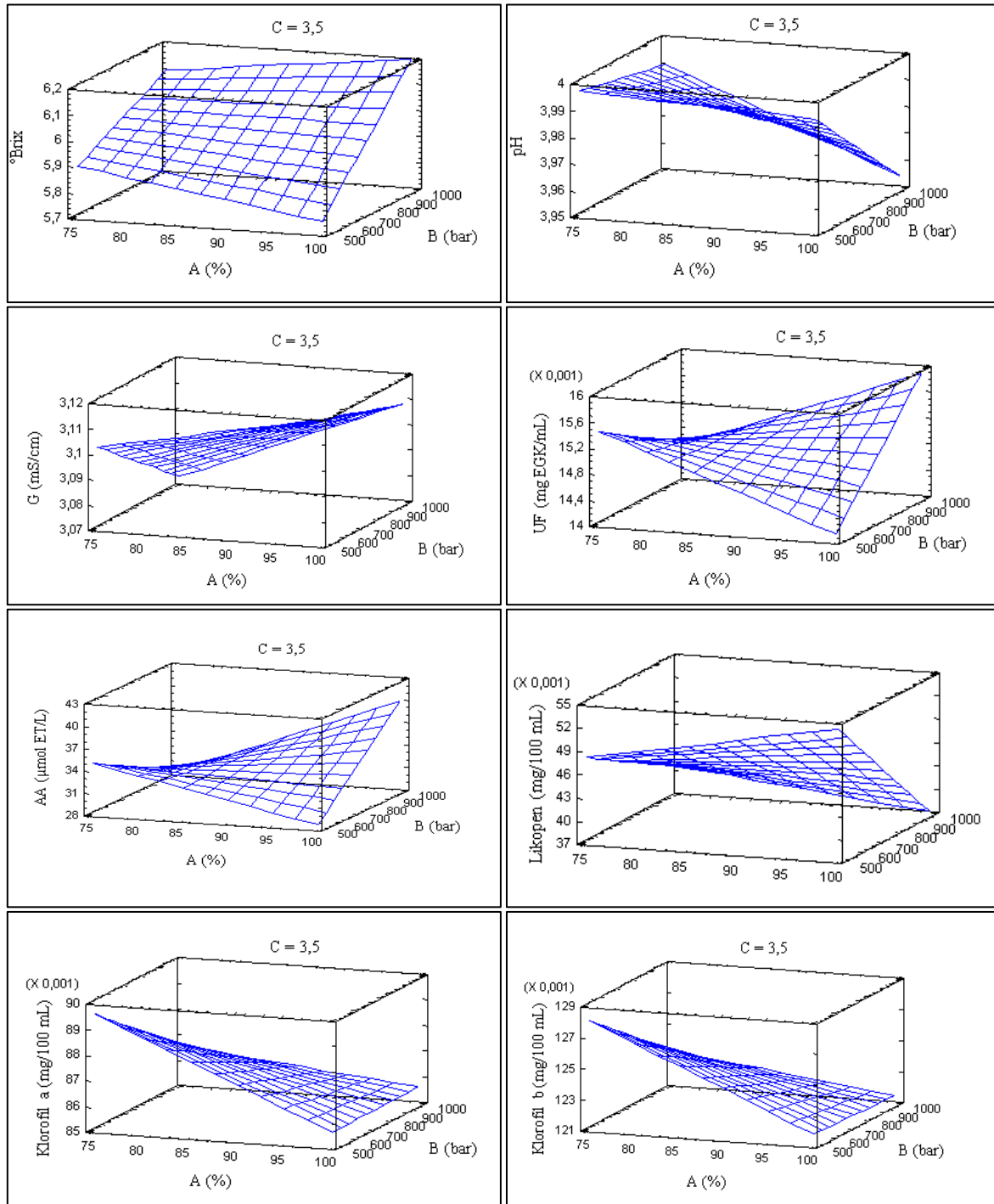
$$\text{Klorofil } a = 0,107064 - 0,000225969*A - 0,00000762351*B + 0,00178703*C + 2,37841E-7*A*B - 0,000014797*A*C - 0,00000458617*B*C$$

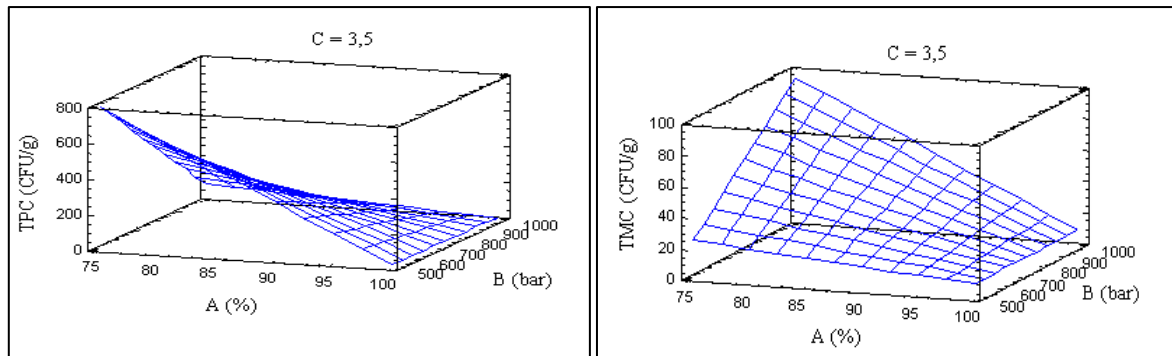
$$\text{Klorofil } b = 0,153862 - 0,000337116*A - 0,00000971876*B + 0,00309906*C + 3,50871E-7*A*B - 0,0000255733*A*C - 0,00000739931*B*C$$

$$TPC = 5366,25 - 54,7*A - 5,395*B + 161,071*C + 0,0556*A*B - 1,22857*A*C - 0,0528571*B*C$$

$$TMC = -225,0 + 2,8*A + 0,5*B + 4,28571*C - 0,0056*A*B - 0,171429*A*C + 0,0171429*B*C$$

**Prilog 7.** Dijagrami odzivne površine za stupnjeve Brix-a, pH vrijednost, G (električna vodljivost), UF (ukupni fenoli), AA (antioksidacijska aktivnost), likopen, klorofil *a*, klorofil *b*, TPC (aerobne mezofilne bakterije) i TMC (plijesni) u uzorcima soka od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta. A- amplituda ultrazvuka, B – tlak homogenizacije, C – vrijeme skladištenja





**Prilog 8.** Rezultati optimizacije ulaznih varijabli (amplituda ultrazvuka, tlak homogenizacije, vrijeme skladištenja) za optimalne vrijednosti izlaznih varijabli (stupnjevi Brix-a, pH vrijednost, električna vodljivost, ukupni fenoli, antioksidacijska aktivnost, likopen, klorofil *a*, klorofil *b*, aerobne mezofilne bakterije i plijesni) u uzorcima soka od rajčice tretiranima ultrazvukom visokog intenziteta

°Brix-a			
Ulazna varijabla	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
Amplituda ultrazvuka	75,0	100,0	100,0
Tlak homogenizacije	500,0	1000,0	1000,0
Vrijeme skladištenja	0,0	7,0	7,0

Optimalna vrijednost: 6,7875

pH vrijednost			
Ulazna varijabla	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
Amplituda ultrazvuka	75,0	100,0	75,0
Tlak homogenizacije	500,0	1000,0	500,0
Vrijeme skladištenja	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 3,99938

<b>Električna vodljivost</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	75,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 3,19837 mS/cm

<b>Ukupni fenoli</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	75,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	500,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	7,0

Optimalna vrijednost: 0,0180375 mg EGK/mL

<b>Antioksidacijska aktivnost</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	100,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 49,7931  $\mu$ mol ET/L

<b>Likopen</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	100,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	500,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 0,0608622 mg/100 mL

<b>Klorofil a</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	100,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 0,100628 mg/100 mL

<b>Klorofil b</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Optimalna vrijednost
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	100,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	0,0

Optimalna vrijednost: 0,145519 mg/100 mL

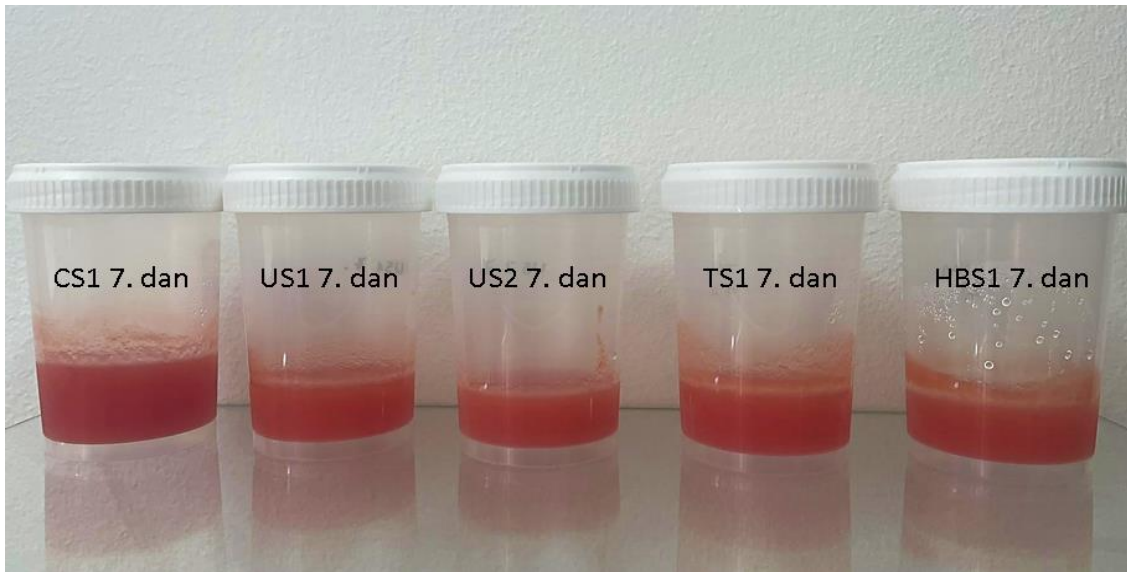
<b>Aerobne mezofilne bakterije</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	75,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	500,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	7,0

Optimalna vrijednost: 948,75 CFU/g

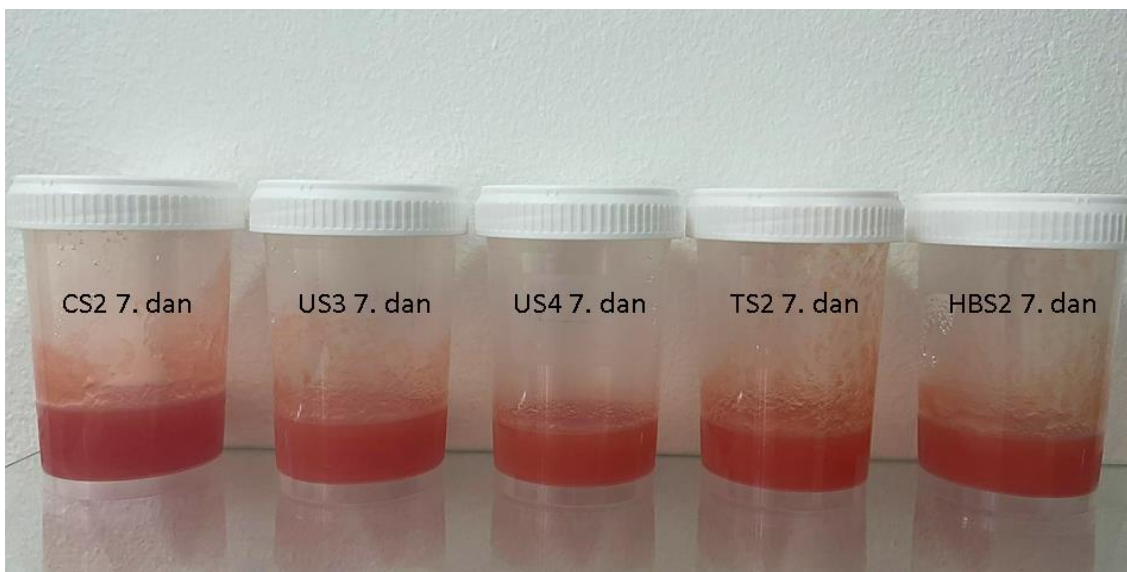
<b>Plijesni</b>			
<b>Ulazna varijabla</b>	<b>Minimalna vrijednost</b>	<b>Maksimalna vrijednost</b>	<b>Optimalna vrijednost</b>
<b>Amplituda ultrazvuka</b>	75,0	100,0	75,0
<b>Tlak homogenizacije</b>	500,0	1000,0	1000,0
<b>Vrijeme skladištenja</b>	0,0	7,0	7,0

Optimalna vrijednost: 125,0 CFU/g

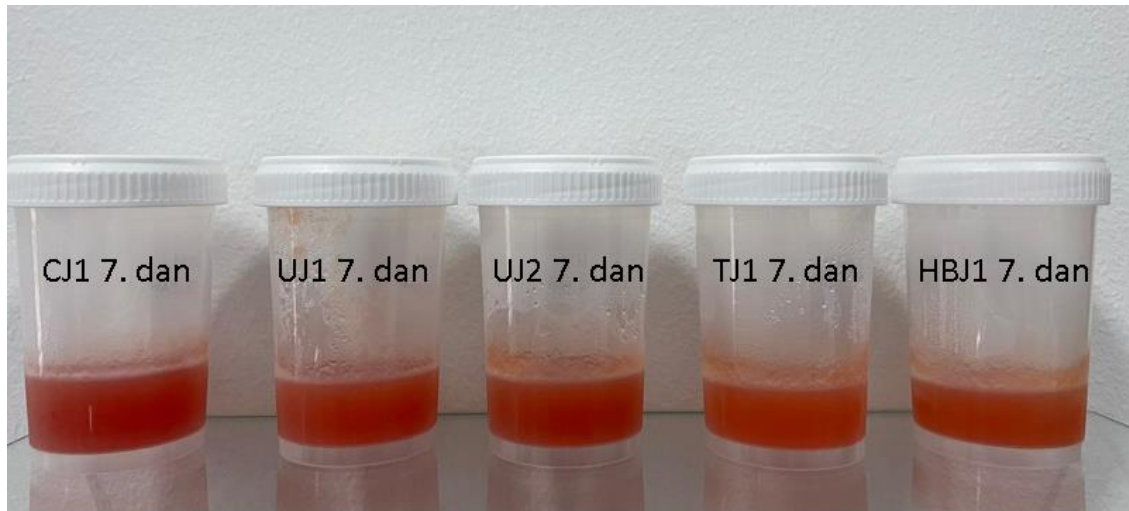
**Prilog 9.** Prikaz kontrolnog uzorka i tretiranih uzoraka sosa od rajčice nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, homogenizirani pri 500



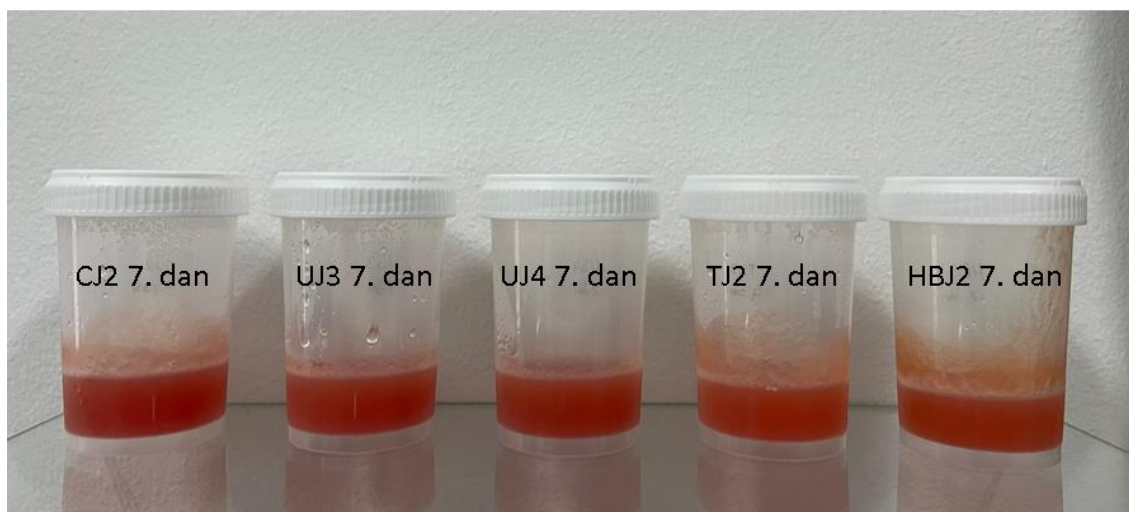
**Prilog 10.** Prikaz kontrolnog uzorka i tretiranih uzoraka sosa od rajčice nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, homogenizirani pri 1000 bara



**Prilog 11.** Prikaz kontrolnog uzorka i tretiranih uzoraka soka od rajčice nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, homogenizirani pri 500 bara

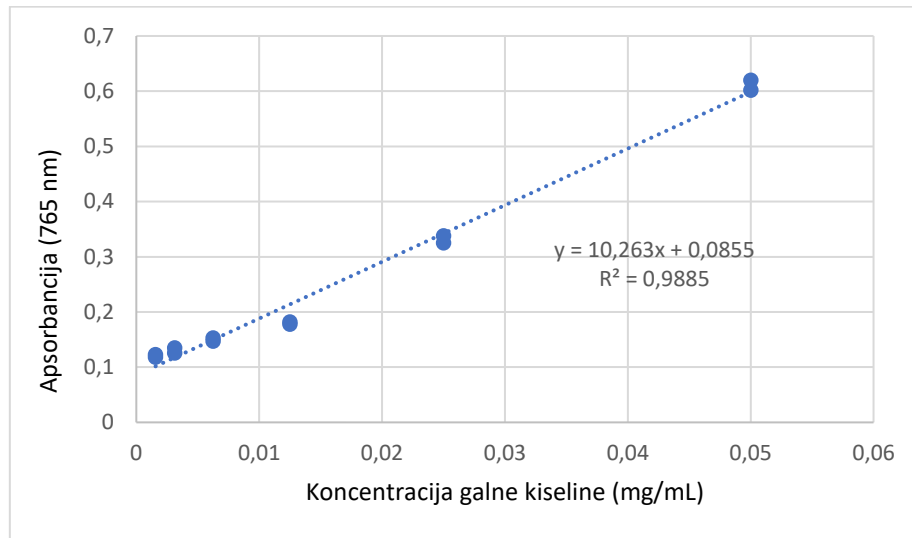


**Prilog 12.** Prikaz kontrolnog uzorka i tretiranih uzoraka soka od rajčice nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C, homogenizirani pri 1000 bara

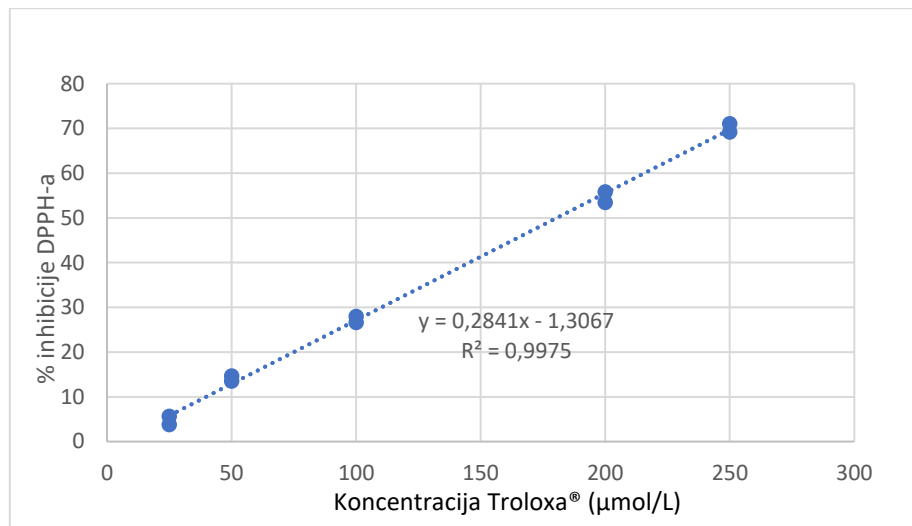




**Prilog 13.** Baždarni dijagram ovisnosti apsorbancije o koncentraciji galne kiseline



**Prilog 14.** Baždarni dijagram ovisnosti postotka inhibicije DPPH-a o koncentraciji Troloxa®



**Prilog 15.** Sastav DRBC agara prema ISO 21527-1

<b>Tvar</b>	<b>Koncentracija (g/L)</b>
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
Dikloran	0,002

**Prilog 16.** Sastav MRS agara

<b>Tvar</b>	<b>Koncentracija (g/L)</b>
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
Diamonijev hidrogen citrat	2

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Maristela Gavran

Vlastoručni potpis